

การแสดงออกของทิวเมอร์เนคโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟาในไลเคนพลาแนสในช่องปาก



นางสาว วิไลรัตน์ สฤกษ์ชัยกุล

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเวชศาสตร์ช่องปาก ภาควิชาเวชศาสตร์ช่องปาก

คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2547

ISBN 974-17-6575-4

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

EXPRESSION OF TUMOR NECROSIS FACTOR-ALPHA IN ORAL LICHEN PLANUS



Miss Wilairat Sarideechaikul

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science in Oral Medicine

Department of Oral Medicine

Faculty of Dentistry

Chulalongkorn University

Academic Year 2004

ISBN 974-17-6575-4

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การแสดงผลของทอเมอร์เนคโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟา ในไลเคนพลาแนสในช่องปาก
โดย	นางสาววิไลรัตน์ สฤกษ์ชัยกุล
สาขาวิชา	เวชศาสตร์ช่องปาก
อาจารย์ที่ปรึกษา	ศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง กอบกาญจน์ ทองประสม
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ กิตติพงษ์ หนูไทย

คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยอนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วน
หนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

..... คณบดีคณะทันตแพทยศาสตร์
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง จุติมา ภูศิริ)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ ดร. มโน คุรัตน์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(ศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง กอบกาญจน์ ทองประสม)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ กิตติพงษ์ หนูไทย)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ ดร. พลธรรม ไชยฤทธิ)

..... กรรมการ
(อาจารย์ทันตแพทย์หญิง ดร. กนกพร พะลัง)

วิไลรัตน์ สฤทธิชัยกุล : การแสดงออกของทูเมอร์เนคโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟา
ในไลเคนพลาแนสในช่องปาก (EXPRESSION OF TUMOR NECROSIS FACTOR-ALPHA
IN ORAL LICHEN PLANUS) อ. ที่ปรึกษา : ศ. ทพญ. กอบกาญจน์ ทองประสม,
อ.ที่ปรึกษาร่วม : ผศ. ทพ. กิตติพงษ์ ดนุไทย, 87 หน้า ISBN 974-17-6575-4

ไลเคนพลาแนสในช่องปากเป็นโรคที่มีการอักเสบเรื้อรังชนิดหนึ่งของเยื่อเมือกในช่องปาก
อย่างไรก็ตามสาเหตุของการเกิดโรคไลเคนพลาแนสในช่องปากยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด หลักฐานใน
ปัจจุบันสนับสนุนว่าระบบภูมิคุ้มกันชนิดเซลล์เป็นสื่อ (cell-mediated immunity) เกี่ยวข้องในการเกิด
พยาธิสภาพของรอยโรคไลเคนพลาแนสในช่องปาก และอาจถูกควบคุมด้วยซัยโตไคน์และ receptors
หลายชนิด ทูเมอร์เนคโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟา (Tumor necrosis factor-alpha, TNF- α) เป็นซัยโต
ไคน์ที่ทำให้เกิดการอักเสบซึ่งอาจเกี่ยวข้องในกระบวนการตายของเบซัลเซลล์เคอราติโนซัยต์ในเยื่อ
ผิวของรอยโรคไลเคนพลาแนสในช่องปาก การศึกษาในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบการ
แสดงออกของ TNF- α ในรอยโรคไลเคนพลาแนสในช่องปากเปรียบเทียบกับเนื้อเยื่อปกติ ขึ้นเนื่องจาก
ผู้ป่วยไลเคนพลาแนสในช่องปากจำนวน 20 ราย และกลุ่มควบคุมจำนวน 20 ราย ส่งตรวจด้วยวิธีการ
ทางพยาธิวิทยาและอิมมูโนฮิสโตเคมีที่เชื่อมด้วยแอนติบอดีต่อ TNF- α ผลการศึกษาพบว่าผู้ป่วยไลเคน
พลาแนสในช่องปากจาก 18 ใน 20 ราย (ร้อยละ 90) แสดงปฏิกิริยาที่ให้ผลบวกต่อ TNF- α ซึ่งพบ
TNF- α ทั้งหมดในโมโนนิวเคลียร์เซลล์ ในขณะที่มีเพียง 7 จาก 20 ราย (ร้อยละ 35) ที่พบ TNF- α
ในเคอราติโนซัยต์ ส่วนเนื้อเยื่อปกติมีโมโนนิวเคลียร์เซลล์เพียง 1-2 เซลล์ ที่ให้ผลบวกต่อ TNF- α
ในขณะที่เคอราติโนซัยต์ในเนื้อเยื่อปกติทั้งหมดไม่พบการแสดงออกของ TNF- α อย่างไรก็ตาม
จำนวนโมโนนิวเคลียร์เซลล์ที่ให้ผลบวกต่อ TNF- α และโมโนนิวเคลียร์เซลล์บริเวณลามินา โพรเปรีย
ของรอยโรคไลเคนพลาแนสในช่องปากมีค่าสูงกว่ากลุ่มเนื้อเยื่อปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ(P=0.000)
เช่นเดียวกับจำนวนเคอราติโนซัยต์ที่ให้ผลบวกต่อ TNF- α ของรอยโรคไลเคนพลาแนสในช่องปากมีค่า
สูงกว่ากลุ่มเนื้อเยื่อปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ(P=0.004) ส่วนจำนวนเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อ TNF- α
และโมโนนิวเคลียร์เซลล์บริเวณลามินา โพรเปรียของผู้ป่วยไลเคนพลาแนสในช่องปากระหว่างชนิด
ผื่นลิ้นและชนิดแผลถลอกไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากการศึกษาี้แสดงว่าการ
เพิ่มการแสดงออกของ TNF- α อาจมีบทบาทสำคัญในการเกิดพยาธิสภาพของรอยโรคไลเคนพลาแนส
ในช่องปาก

ภาควิชา	เวชศาสตร์ช่องปาก	ลายมือชื่อนิสิต.....
สาขาวิชา	เวชศาสตร์ช่องปาก	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....
ปีการศึกษา	2547	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

4676122132 : MAJOR ORAL MEDICINE

KEY WORD: ORAL LICHEN PLANUS / TUMOR NECROSIS FACTOR-ALPHA

WILAIRAT SARIDEECHAIGUL : EXPRESSION OF TUMOR NECROSIS FACTOR-ALPHA IN ORAL LICHEN PLANUS. THESIS ADVISOR : PROF. KOBKAN THONGPRASOM, THESIS COADVISOR : KITTIPONG DHANUTHAI, 87 pp. ISBN: 974-17-6575-4.

Oral lichen planus (OLP) is a chronic inflammatory oral mucosal disease. However, the cause of OLP remains unknown. Current evidence suggests that cell-mediated immunity is involved in the pathogenesis of OLP and it may be regulated by various cytokines and their receptors. Tumor necrosis factor- α (TNF- α) is a proinflammatory cytokine which may be involved in the basal keratinocyte apoptosis in OLP lesional epithelium. The present study investigated the expression of TNF- α in OLP compared with normal oral mucosa. Twenty OLP and 20 control tissue biopsies were sent for histopathologic examination and immunologically stained with antibody to TNF- α . The results showed that 18 out of 20 OLP cases (90%) showed positive staining to TNF- α . All of the TNF- α positive were observed in mononuclear cells, whereas only 7 out of 20 OLP cases (35%) were detected in keratinocytes. Only few mononuclear cells in normal oral mucosa showed TNF- α positive, while all of the keratinocytes in normal mucosa were TNF- α negative. However, the number of mononuclear cells positive for TNF- α and mononuclear cells in lamina propria of OLP were statistically higher than normal oral mucosa ($p=0.000$). Likewise, the number of keratinocytes positive for TNF- α of OLP were also statistically higher than that of normal oral mucosa ($p=0.004$). The number of cells positive for TNF- α and mononuclear cells in lamina propria of OLP between atrophic and erosive types were not statistically different. These findings suggest that increased expression of TNF- α may play an important role in the pathogenesis of OLP.

Department	Oral Medicine	Student's signature.....
Field of study	Oral Medicine	Advisor's signature.....
Academic year	2004	Co-advisor's signature.....

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี เนื่องจากความช่วยเหลืออย่างดียิ่งจากผู้มีพระคุณหลายท่าน ซึ่งผู้ทำวิทยานิพนธ์ขอขอบพระคุณไว้ ณ โอกาสนี้

ศ. ทพญ. กอบกาญจน์ ทองประสม อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ได้ให้ความรู้แนวความคิด รวมทั้งคำแนะนำต่างๆที่เป็นประโยชน์ในการทำวิทยานิพนธ์จนสำเร็จเป็นที่เรียบร้อย

ศ. ทพ. กิตติพงษ์ คนุไทย อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมวิทยานิพนธ์ ซึ่งได้ให้ความรู้และคำแนะนำที่เป็นประโยชน์ในการทำวิทยานิพนธ์ รวมทั้งเอื้อเฟื้ออุปกรณ์ที่ใช้ในการทำวิจัย

ศ. ทพ. ดร. พลธรรม ไชยฤทธิ์ ภาควิชาวินิจฉัยโรคช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ได้มอบชิ้นเนื้อในคนปกติ สำหรับงานวิจัยนี้

อ.ทพญ. มณฑารพ ชัยมุสิก กลุ่มงานทันตกรรม โรงพยาบาลสระบุรี จังหวัดสระบุรี ได้ช่วยเหลือเกี่ยวกับการส่งผู้ป่วยเข้าร่วมในโครงการวิจัย

อ.ทพญ. ดร. พรพรรณ พิบูลย์รัตนกิจ ที่ได้ให้ความช่วยเหลือในเรื่องผู้ป่วยไคเคนพลานัสในช่องปากในโครงการวิจัยนี้

อ.ทพญ. ภัทรายุ แต่บรรพกุล และเจ้าหน้าที่ทุกท่านที่คลินิกตรวจพิเศษโรคในช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ที่ได้ให้ความช่วยเหลือในเรื่องผู้ป่วยไคเคนพลานัสในช่องปาก

คณาจารย์ทุกท่านของภาควิชาเวชศาสตร์ช่องปากและภาควิชาทันตพยาธิวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้ให้ความรู้ รวมทั้งแนวความคิด ตลอดจนข้อคิดเห็นต่างๆ ที่เป็นประโยชน์ต่อการศึกษาวิจัยในครั้งนี้

เจ้าหน้าที่ทุกท่านที่คลินิกเวชศาสตร์ช่องปากและเจ้าหน้าที่ของภาควิชาทันตพยาธิวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้ให้ความช่วยเหลือเตรียมอุปกรณ์ที่ใช้ในการทำวิจัย รวมทั้งอำนวยความสะดวกตลอดการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้

อาจารย์ไพพรรณ พิทยานนท์ ที่ช่วยแนะนำด้านสถิติและการวิเคราะห์ข้อมูล

กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ทุกท่าน ที่ได้ให้คำแนะนำและตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์

ผู้ป่วยทุกท่านที่ให้ความร่วมมือในการเก็บตัวอย่างชิ้นเนื้อในการทำวิจัยในครั้งนี้

ท้ายนี้ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา รวมทั้งขอขอบคุณพี่ น้องและเพื่อนๆที่ได้ให้

กำลังใจมาตลอดในการทำวิทยานิพนธ์จนสำเร็จลุล่วง ประโยชน์และความรู้ที่ได้จากการศึกษาวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยขอมอบแก่ทุกๆท่านที่มีส่วนเกี่ยวข้อง

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ซ
สารบัญภาพ.....	ฅ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	3
สมมติฐานการวิจัย.....	3
ขอบเขตการวิจัย.....	4
ข้อตกลงเบื้องต้น.....	4
ความไม่สมบูรณ์ของการวิจัย.....	4
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	5
บทที่ 2 วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง.....	6
ตอนที่ 1 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับโรคไลเคนพลาเน็ต.....	6
ตอนที่ 2 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับ TNF- α	25
ตอนที่ 3 บทบาทของ TNF- α ในรอยโรคไลเคนพลาเน็ตในช่องปาก.....	29
บทที่ 3 ระเบียบวิธีวิจัย.....	33
วิธีดำเนินการวิจัย.....	33
การวิเคราะห์ข้อมูลและสถิติที่ใช้ในการวิจัย.....	41
บทที่ 4 ผลการศึกษา.....	42
บทที่ 5 อภิปรายผลและสรุปผลการวิจัย.....	59
รายการอ้างอิง.....	64
ภาคผนวก.....	76
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	87

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1. แสดงยาที่มีความเกี่ยวข้องกับการเกิดรอยโรคไลเคนอยด์.....	9
2. เซลล์ที่เป็นแหล่งกำเนิดของ TNF- α	26
3. แสดงจำนวนผู้ป่วย เพศ อายุ ระยะเวลาของการเกิดโรค ชนิด ตำแหน่งและบริเวณ ที่ตัดชิ้นเนื้อตัวอย่างของรอยโรคในช่องปากของผู้ป่วยไลเคนพลาเน็ตส์ที่เข้าร่วมการ ศึกษา	43
4. เพศ อายุ ตำแหน่งที่ตัดชิ้นเนื้อตัวอย่างของรอยโรค และระยะเวลาของการเกิดโรค ของผู้ป่วยไลเคนพลาเน็ตส์ในช่องปากและกลุ่มควบคุมเนื้อเยื่อปกติ.....	44
5. แสดงค่าเฉลี่ยของจำนวน โมโนนิวเคลียร์เซลล์ที่มีการแสดงออกทางอิมมูโนฮิสโตเคมี ต่อ TNF- α และค่าเฉลี่ยของโมโนนิวเคลียร์เซลล์บริเวณลามินา โพรเปรียของผู้ป่วย ไลเคนพลาเน็ตส์ในช่องปากและกลุ่มควบคุมเนื้อเยื่อปกติ ที่กำลังขยายขนาด 200 เท่า ...	46
6. แสดงค่าเฉลี่ยของจำนวนเคอราติโนไซต์ที่มีการแสดงออกทางอิมมูโนฮิสโตเคมีต่อ TNF- α และค่าเฉลี่ยของเคอราติโนไซต์บริเวณเยื่อผิวของผู้ป่วยไลเคนพลาเน็ตส์ใน ช่องปากและกลุ่มควบคุมเนื้อเยื่อปกติ ที่กำลังขยายขนาด 200 เท่า.....	47
7. แสดงผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของ TNF- α ในกลุ่มไลเคนพลาเน็ตส์ในช่องปากและ กลุ่มควบคุม.....	48
8. แสดงค่าเฉลี่ยของโมโนนิวเคลียร์เซลล์ และเคอราติโนไซต์ที่มีการแสดงออกทาง อิมมูโนฮิสโตเคมีต่อ TNF- α และค่าเฉลี่ยของโมโนนิวเคลียร์เซลล์บริเวณลามินา โพรเปรียในรอยโรคไลเคนพลาเน็ตส์และกลุ่มควบคุมเนื้อเยื่อปกติ.....	49
9. แสดงผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของ TNF- α ในกลุ่มไลเคนพลาเน็ตส์ในช่องปากชนิด แผลถลอกและชนิดฝ่อลีบ.....	50
10. แสดงค่าเฉลี่ยของโมโนนิวเคลียร์เซลล์ และเคอราติโนไซต์ที่มีการแสดงออกทาง อิมมูโนฮิสโตเคมีต่อ TNF- α และค่าเฉลี่ยของโมโนนิวเคลียร์เซลล์บริเวณลามินา โพรเปรียในรอยโรคไลเคนพลาเน็ตส์ในช่องปากชนิดฝ่อลีบและชนิดแผลถลอก.....	51

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1. แสดงสมมติฐานการเกิดพยาธิสภาพในรอยโรคไลเคนพลาเนียในช่องปากที่เกี่ยวข้องกับกลไกแอนติเจนที่จำเพาะ (antigen-specific mechanisms).....	15
2. แสดงสมมติฐานการเกิดพยาธิสภาพในรอยโรคไลเคนพลาเนียในช่องปากที่เกี่ยวข้องกับกลไกแบบไม่จำเพาะ (non-specific mechanisms).....	17
3. แสดงลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของรอยโรคไลเคนพลาเนียในช่องปาก.....	20
4. แผนผังแสดงแนวทางการรักษารอยโรคไลเคนพลาเนียในช่องปาก.....	23
5. แสดงโครงสร้าง monomer ของ TNF- α	27
6. แสดงโครงสร้าง trimer ของ TNF- α ซึ่งมีลักษณะคล้ายระฆัง (bell-shaped trimer)	27
7. แสดง receptors ของ TNF- α (TNF-RI , TNF-RII) และ adaptor protein ที่เกี่ยวข้อง... ..	28
8. แสดงการส่งสัญญาณของ TNF ผ่าน TNF-receptor-mediated signaling และเหนี่ยวนำให้เกิดกระบวนการตายของเซลล์ (apoptosis) (รูปด้านซ้าย) หรือเกิดการกระตุ้น NF- κ B แล้วเกิดการตอบสนองต่อการอักเสบ (รูปด้านขวา).....	29
9. แผนภูมิรูปภาพแสดงค่าเฉลี่ยของเซลล์ที่มีการแสดงออกทางอิมมูโนฮิสโตเคมีต่อ TNF- α ในรอยโรคไลเคนพลาเนียในช่องปากชนิดฝ่อลีบและชนิดแผลถลอกเปรียบเทียบับเนื้อเยื่อปกติ.....	52
10. แสดงการปรากฏของ TNF- α ในกลุ่มควบคุมผลบวกบริเวณซัยโตพลาสซึมของเคอราติโนซัยต์ (ลูกศร) ในรอยโรคมะเร็งในช่องปากชนิดสแควมัสเซลล์คาร์ซิโนมา (squamous cell carcinoma) (การย้อมด้วยวิธีอิมมูโนเปอร์ออกซิเดสโดยใช้แอนติบอดีต่อ TNF- α ย้อมทับด้วยสีฮีมาทอกไซลีน, กำลังขยายx200).....	53
11. แสดงกลุ่มควบคุมผลลบของชิ้นเนื้อไลเคนพลาเนียในช่องปากที่ไม่ได้ primary antibody (การย้อมด้วยวิธีอิมมูโนเปอร์ออกซิเดสโดยแทนที่แอนติบอดีต่อ TNF- α ด้วย PBS ย้อมทับด้วยสีฮีมาทอกไซลีน, กำลังขยายx200).....	54
12. แสดงกลุ่มควบคุมของเนื้อเยื่อปกติในช่องปาก (normal mucosa) (การย้อมด้วยวิธีอิมมูโนเปอร์ออกซิเดสโดยใช้แอนติบอดีต่อ TNF- α ย้อมทับด้วยสีฮีมาทอกไซลีน, กำลังขยายx200).....	55
13. ลักษณะของรอยโรคไลเคนพลาเนียในช่องปากชนิดฝ่อลีบของผู้ป่วยรายที่ 3	56

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่

หน้า

14. แสดงการปรากฏของ TNF- α ในโมนอนิวเคลียร์เซลล์ที่มีการแทรกซึมบริเวณใต้ชั้นเยื่อผิวและบริเวณใกล้เคียงกับเบซัลเซลล์ (ลูกศร) ในผู้ป่วยไลเคนพลาเนียในช่องปากชนิดฝ่อลีบของผู้ป่วยรายที่ 3 (การย้อมด้วยวิธีอิมมูโนเปอร์ออกซิเดสโดยใช้แอนติบอดีต่อ TNF- α ย้อมทับด้วยสีฮีมาทอกไซลิน, กำลังขยายx200) 56
15. ลักษณะของรอยโรคไลเคนพลาเนียในช่องปากชนิดแผลถลอกของผู้ป่วยรายที่ 11 57
16. แสดงการปรากฏของ TNF- α ในโมนอนิวเคลียร์เซลล์ที่มีการแทรกซึมบริเวณใต้ชั้นเยื่อผิว (ลูกศร) ในผู้ป่วยไลเคนพลาเนียในช่องปากชนิดแผลถลอกของผู้ป่วยรายที่ 11 (การย้อมด้วยวิธีอิมมูโนเปอร์ออกซิเดสโดยใช้แอนติบอดีต่อ TNF- α ย้อมทับด้วยสีฮีมาทอกไซลิน, กำลังขยายx200)..... 57
17. ลักษณะของรอยโรคไลเคนพลาเนียในช่องปากชนิดแผลถลอกของผู้ป่วยรายที่ 13 58
18. แสดงการปรากฏของ TNF- α ในเบซัลเคอราติโนไซต์ (หัวลูกศร) และโมนอนิวเคลียร์เซลล์ที่มีการแทรกซึมบริเวณใต้ชั้นเยื่อผิว (ลูกศร) ในผู้ป่วยไลเคนพลาเนียในช่องปากชนิดแผลถลอกของผู้ป่วยรายที่ 13 (การย้อมด้วยวิธีอิมมูโนเปอร์ออกซิเดสโดยใช้แอนติบอดีต่อ TNF- α ย้อมทับด้วยสีฮีมาทอกไซลิน, กำลังขยายx200) 58

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ไลเคนพลาแนส (lichen planus) เป็นโรคเรื้อรังชนิดหนึ่งของเยื่อเมือกในช่องปากและผิวหนัง (chronic mucocutaneous disease) อาจพบรอยโรคของไลเคนพลาแนสที่ผิวหนังเพียงอย่างเดียว หรือพบรอยโรคเฉพาะในช่องปาก หรืออาจพบรอยโรคทั้งในช่องปากและผิวหนังได้ ลักษณะรอยโรคในช่องปากมีหลายรูปแบบซึ่งทำให้ผู้ป่วยมีอาการแตกต่างกัน ลักษณะเฉพาะของรอยโรคไลเคนพลาแนสจะเป็นลายเส้นสีขาว ประกอบด้วยตุ่มคัน (papules) เล็กๆ เบียดกันจนแน่นกลายเป็นเส้นสีขาวหนาตัวขึ้นจากเยื่อเมือกปกติ เซ็ดดูไม่ออก และอาจปรากฏการอักเสบแดงร่วมด้วยหรือไม่ก็ได้ ผู้ป่วยมักมาพบทันตแพทย์ด้วยอาการระคายเคือง หรือปวดเสียวปวดร้อนในช่องปาก รับประทานอาหารรสจัดไม่ได้ บางรายมีอาการเจ็บปวดรุนแรงมีเลือดออก ผู้ป่วยไม่สามารถรับประทานอาหารได้ปกติ ทำให้สุขภาพอ่อนแอลง ไลเคนพลาแนสเป็นรอยโรคที่พบได้บ่อยในช่องปาก และรอยโรคที่เกิดขึ้นในช่องปากเป็นระยะเวลานานๆ โดยไม่ได้รับการรักษา จะมีโอกาสเปลี่ยนเป็นมะเร็งในช่องปากได้ (1-3)

สาเหตุของการเกิดโรคไลเคนพลาแนสยังไม่ทราบแน่ชัด ในปัจจุบันเชื่อว่า ที-ลิมโฟซัยต์ (T-lymphocytes) มีบทบาทสำคัญเกี่ยวกับการเกิดรอยโรคชนิดนี้ โดยที่มีความผิดปกติเกี่ยวกับกลไกของระบบภูมิคุ้มกันชนิดเซลล์เป็นสื่อ (cell-mediated immunity) จากหลายการศึกษาสนับสนุนบทบาทของ CD8+ T cells (cytotoxic T cells) ทำให้เกิดรอยโรคขึ้น ซึ่งพบที-ลิมโฟซัยต์แทรกอยู่ภายในชั้นเยื่อเมือกและใต้ชั้นเยื่อเมือกในรอยโรคไลเคนพลาแนส ส่วนใหญ่เป็นชนิด CD8+ T lymphocytes (4-6) ร่วมกับพบการตายของเซลล์เคอราติโนซัยต์ (apoptotic keratinocytes) ในบริเวณใกล้เคียง (5, 6) นอกจากนั้นใต้ชั้นเยื่อเมือกจะพบที-ลิมโฟซัยต์ชนิด CD4+ T cells ใกล้กับเบซัลเซลล์เคอราติโนซัยต์ (basal cell keratinocytes) (5)

จากการศึกษาบริเวณรอยโรคจะพบเซลล์นำเสนอแอนติเจน (antigen presenting cells) เป็นจำนวนมากทั้งในชั้นเยื่อเมือกและชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันซึ่งทำหน้าที่เป็นตัวส่งผ่านแอนติเจน

ให้กับที-ลิมโฟไซต์ (7) เมื่อมีการกระตุ้นจากภายนอก เช่น การติดเชื้อไวรัส สารจากเชื้อแบคทีเรีย การบาดเจ็บจากเหตุกายภาพ ยารักษาโรคทางระบบ การไวต่อการสัมผัส (contact sensitivity) หรือ สารอื่นๆ (8) เซลล์นำเสนอแอนติเจนและเคอราติโนไซต์ (keratinocytes) จะมีการหลั่งคีโมไคน์ (chemokines) ออกมาทำให้เกิดการดึงดูดเซลล์และลิมโฟไซต์มาในบริเวณนั้น (9) เซลล์นำเสนอแอนติเจนจะส่งผ่านแอนติเจนทาง Major histocompatibility complex (MHC) Class II โมเลกุลให้ที-ลิมโฟไซต์ชนิด CD4+ T cells (helper T cell) และจะเพิ่มระดับการแสดงออกของแอนติเจนโดย MHC Class II โมเลกุลของเซลล์นำเสนอแอนติเจนจะมีการแสดง CD40 , CD80 และหลั่งไซโตไคน์ชนิด Interleukin-12 (IL-12) เพื่อส่งเสริมให้ CD4+ T cells ชนิด T-helper1 เซลล์ (T_H1) หลั่งไซโตไคน์ชนิด Interleukin-2 (IL-2) และ Interferon-gamma (IFN- γ) (10) ส่วนเบซัลเซลล์เคอราติโนไซต์ (basal cell keratinocytes) จะส่งผ่านแอนติเจนทาง MHC Class I โมเลกุลให้ที-ลิมโฟไซต์ชนิด CD8+ T cells (10-12) อีกทั้งการหลั่งสารไซโตไคน์ชนิด IL-2 และ IFN- γ จาก CD4+ T cells จะไปกระตุ้น CD8+ T cells ให้หลั่งไซโตไคน์ชนิด tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) ซึ่งไซโตไคน์นี้จะไปจับกับตัวรับของ TNF- α receptor 1 (TNF R1) บนผิวเซลล์เคอราติโนไซต์ แล้วกระตุ้นให้เกิดการตายของเซลล์เคอราติโนไซต์ (apoptotic keratinocytes) ทำให้เกิดการทำลายเซลล์ชั้นเบซัลเซลล์ เกิดเป็นลักษณะเฉพาะของรอยโรคไลเคนพลาเนียสขึ้น (5, 13-16)

รอยโรคที่เกิดการอักเสบจากการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันชนิดเซลล์เป็นสื่อ (T-cell mediated inflammatory lesions) ซึ่งเกี่ยวข้องกับการสร้างและหลั่งไซโตไคน์ของเซลล์ชนิด T-helper1 (T_H1) และ T-helper2 (T_H2) โดยที่ T_H1 เซลล์จะผลิตไซโตไคน์ชนิด IL-2, IFN- γ และ TNF- α ซึ่งจะทำให้เกิดการอักเสบ (proinflammatory cytokines) ในขณะที่ T_H2 เซลล์จะผลิตไซโตไคน์ชนิด IL-4, -5, -10 และ -13 ซึ่งทำหน้าที่ต้านการอักเสบ (anti-inflammatory cytokines) (17) จากผลของการเปลี่ยนแปลงสมดุลของระดับไซโตไคน์ที่ผลิตจาก T_H1 เซลล์ และ T_H2 เซลล์จะมีผลกระทบต่อระดับของ TNF- α (18) มีหลายการศึกษาที่อธิบายบทบาทของ TNF- α ในการควบคุมปฏิกิริยาของระบบภูมิคุ้มกันซึ่ง TNF- α เป็นไซโตไคน์แรกที่เกิดขึ้นในปฏิกิริยา T-cell mediated immunopathological reactions และมีบทบาทสำคัญในการควบคุมไซโตไคน์ชนิดอื่น (16) รวมทั้งยังกระตุ้นให้เกิดกระบวนการตายของเซลล์ (apoptosis) และส่งเสริมให้เกิด cytotoxic effect ที่เซลล์บริเวณนั้นด้วย ในปี 1996 Younes และคณะ ได้ศึกษาผู้ป่วยที่มีไลเคนพลาเนียสในช่องปาก 8 ราย จากการตรวจด้วยวิธีทางอิมมูโนฮิสโตเคมี พบ TNF- α ในรอยโรคของผู้ป่วยทุกราย ในขณะที่เนื้อเยื่อปกติจากผู้ป่วยทั้งหมด 10 ราย ตรวจพบ TNF- α ในผู้ป่วยเพียง 3 ราย (19) จากการศึกษาของ Sklavounou และคณะ (2000) ในผู้ป่วยที่มีไลเคนพลาเนียสในช่องปาก 22 ราย จากการตรวจด้วยวิธีเดียวกัน พบ TNF- α ในรอยโรคของผู้ป่วย 17 ราย ในขณะที่เนื้อเยื่อปกติ

ตรวจไม่พบ TNF- α (20) ดังนั้นการสร้างหรือการหลั่ง TNF- α ในรอยโรคไลเคนพลาเนียสน่าจะมีบทบาทสำคัญในการควบคุมการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันที่ทำให้เกิดพยาธิสภาพของโรคนี้ขึ้น

อย่างไรก็ตามในปัจจุบันการศึกษาถึงสาเหตุและกลไกของภูมิคุ้มกันที่ทำให้เกิดรอยโรคไลเคนพลาเนียสยังไม่ทราบแน่ชัด แต่จากรายงานที่ผ่านมาสันนิษฐานว่าซัยโตไคน์ที่พบบริเวณรอยโรคจะมีบทบาทสำคัญในการควบคุมการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันที่ทำให้เกิดพยาธิสภาพขึ้น ดังนั้นการศึกษาเกี่ยวกับความสัมพันธ์ของระดับ TNF- α ซึ่งเป็นซัยโตไคน์ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดพยาธิสภาพในรอยโรคไลเคนพลาเนียส จึงเป็นการศึกษาที่น่าสนใจซึ่งยังไม่มีรายงานในผู้ป่วยคนไทยมาก่อน ข้อมูลที่ได้ อาจจะมีประโยชน์ในการศึกษาเกี่ยวกับกลไกของการเกิดโรคและแนวทางในการรักษาผู้ป่วยไลเคนพลาเนียส ซึ่งอาจนำไปสู่การค้นพบยา immunomodulator ที่เหมาะสมในการรักษารอยโรคนี้ในอนาคต

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาเปรียบเทียบการแสดงออกของ TNF- α ในรอยโรคไลเคนพลาเนียสในช่องปากกับเนื้อเยื่อกลุ่มควบคุม โดยใช้การตรวจด้วยวิธีทางอิมมูโนฮิสโตเคมี รวมทั้งศึกษาถึงความสัมพันธ์ของการแสดงออกของ TNF- α ในรอยโรคไลเคนพลาเนียสในช่องปากชนิดฝ่อลีบและชนิดแผลถลอก

สมมติฐานของการวิจัย

รอยโรคไลเคนพลาเนียสในช่องปากมีการแสดงออกของ TNF- α สูงกว่าเนื้อเยื่อปกติ

ขอบเขตการวิจัย

การวิจัยนี้ทำการศึกษาการแสดงออกของ TNF- α ในผู้ป่วยที่มีรอยโรคไลเคนพลาเนียในช่องปาก ซึ่งมารับการรักษาที่

- คลินิกบัณฑิตศึกษา ภาควิชาเวชศาสตร์ช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- กลุ่มงานทันตกรรม โรงพยาบาลสระบุรี จ.สระบุรี

ข้อตกลงเบื้องต้น

ผู้ป่วยไลเคนพลาเนียในช่องปากที่ได้รับเลือกเข้าการศึกษานี้ มีอายุระหว่าง 20-70 ปี โดยมีรอยโรคไลเคนพลาเนียในช่องปากชนิดฝ่อลีบหรือชนิดแผลถลอกที่ได้รับการวินิจฉัยโรคจากการตรวจทางคลินิก และลักษณะทางพยาธิของรอยโรค ผู้ป่วยไม่เคยได้รับการรักษาด้วยยาステียรอยด์ทั้งชนิดรับประทาน หรือทาเฉพาะที่ หรือยาอื่น ๆ ในการรักษารอยโรคไลเคนพลาเนียในช่องปาก หรือหยุดการรักษารอยโรคไลเคนพลาเนียในช่องปากอย่างน้อย 1 เดือน นอกจากนี้ ผู้ป่วยไม่มีโรคประจำตัวที่ร้ายแรง และไม่ได้อยู่ระหว่างรับประทานยาหรือเป็นโรคเป็นประจำ หรือมีวัสดุทางทันตกรรมใดๆในช่องปากที่สัมผัสกับรอยโรคและสงสัยว่าเป็นรอยโรคคล้ายรอยโรคไลเคนพลาเนีย (lichenoid drug eruptions or contact lichenoid lesions)

ความไม่สมบูรณ์ของการวิจัย

เนื่องจากการศึกษาเกือบทั้งหมดเป็นการศึกษาในห้องปฏิบัติการซึ่งสามารถที่จะควบคุมได้ ทำให้ความคลาดเคลื่อนในงานวิจัยที่อาจเกิดขึ้นจะน้อย การตรวจหาการแสดงออกของ TNF- α โดยใช้วิธีทางอิมมูโนฮิสโตเคมีเป็นเครื่องมือที่ค่อนข้างมีประสิทธิภาพ เนื่องจากมีความละเอียด และมีความเหมาะสมในการตรวจหาโปรตีนในเนื้อเยื่อ แต่เนื่องจากแอนติบอดีที่นำมาใช้ในการทดสอบมีราคาแพง การศึกษานี้จึงไม่สามารถทดสอบร่วมกับแอนติบอดีชนิดอื่นได้

นอกจากนี้งานวิจัยครั้งนี้ได้ทำในกลุ่มตัวอย่างที่มีขนาดเล็กเนื่องจากข้อจำกัดเกี่ยวกับการหาตัวอย่างและงบประมาณ ซึ่งถ้าอัตราการตรวจพบต่ำจะไม่สามารถทราบความสัมพันธ์ของการแสดงออกของ TNF- α ในรอยโรคไลเคนพลาเนียได้ อย่างไรก็ตามผลจากงานวิจัยนี้อาจสามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาความสัมพันธ์ของการเกิดพยาธิสภาพของรอยโรคไลเคนพลาเนียในช่องปากผู้ป่วยคนไทยต่อไป

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

การวิจัยครั้งนี้ใช้การตรวจด้วยวิธีทางอิมมูโนฮิสโตเคมีศึกษาถึงการแสดงออกของ TNF- α ในรอยโรคไลเคนพลาเนียในช่องปากกับเนื้อเยื่อปกติว่ามีความแตกต่างกันหรือไม่ การแสดงออกของ TNF- α ซึ่งเป็นไซโตไคน์ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดพยาธิสภาพในรอยโรคไลเคนพลาเนียจะเป็นข้อมูลที่มีประโยชน์ในการศึกษาถึงกลไกของการเกิดโรคไลเคนพลาเนียในช่องปากในผู้ป่วยคนไทยซึ่งยังไม่มีผู้ใดศึกษามาก่อน อีกทั้งเป็นแนวทางในการรักษาผู้ป่วยไลเคนพลาเนียซึ่งผลของการวิจัยอาจนำไปสู่การค้นพบยา immunomodulator ที่เหมาะสมในการรักษารอยโรคนี้ในอนาคต

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

ตอนที่ 1 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับโรคไลเคนพลาแนส

ไลเคนพลาแนสเป็นโรคที่มีการอักเสบเรื้อรังของเยื่อผิวหนังที่พบได้บ่อย สามารถพบได้ที่ผิวหนังและ/หรือเยื่อเมือกในบริเวณอื่นๆของร่างกายที่มีต้นกำเนิดจากเซลล์สความัส (squamous cell origin) (21-23) การเหนี่ยวนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของแอนติเจนที่ผิวหนังหรือเยื่อเมือกทำให้เกิดการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันชนิดเซลล์เป็นสื่อ (cell-mediated immunity) ทำให้เกิดรอยโรคขึ้น อย่างไรก็ตามในปัจจุบันสาเหตุยังไม่ทราบแน่ชัด (23) รอยโรคไลเคนพลาแนสในช่องปากมักจะปรากฏเป็นรอยโรคสีขาว โดยส่วนใหญ่มักจะพบทั้งสองข้างของเยื่อเมือกช่องปาก บางครั้งอาจมีแผลร่วมด้วย ผู้ป่วยมักมีอาการระคายเคือง เจ็บ หรือปวดแสบปวดร้อนในช่องปาก รอยโรคนี้มีความสำคัญเนื่องจากมีรายงานพบความเป็นไปได้ในการเปลี่ยนเป็นมะเร็งในช่องปาก ได้ (4, 24, 25)

ระบาดวิทยา (epidemiology)

จากรายงานอุบัติการณ์ของการเกิดรอยโรคไลเคนพลาแนสที่มีรอยโรคเฉพาะที่ผิวหนัง (cutaneous lichen planus) พบได้ประมาณร้อยละ 1 ของประชากร ในขณะที่ไลเคนพลาแนสในช่องปาก (oral lichen planus) พบได้ร้อยละ 0.1-4 ขึ้นอยู่กับกลุ่มประชากรที่ศึกษา (22, 26, 27) ประมาณร้อยละ 28 ของผู้ป่วยไลเคนพลาแนสในช่องปากจะพบรอยโรคที่ผิวหนังร่วมด้วย (26, 28-30) ผู้ป่วยไลเคนพลาแนสส่วนใหญ่อยู่ในช่วงวัยกลางคนถึงสูงอายุโดยพบมากในช่วงอายุประมาณ 40-70 ปี (31) ส่วนในเด็กพบได้น้อย (32) อัตราส่วนของการเป็นโรคนี้ในเพศหญิงต่อเพศชายเป็น 3:2 (24) สำหรับผู้ป่วยไลเคนพลาแนสในช่องปากคนไทยที่มารับการรักษาที่ภาควิชาเวชศาสตร์ช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย พบว่าส่วนมากอยู่ในช่วงอายุ 40-60 ปี โดยมีอัตราส่วนในการเป็นโรคนี้ในเพศหญิงต่อเพศชายเป็น 4:1 (1)

ลักษณะทางคลินิก

ลักษณะทางคลินิกของไลเคนพลาเน็ตส์ได้มีการอธิบายเป็นครั้งแรกโดย Wilson ในปี ค.ศ. 1869 รอยโรคบริเวณผิวหนังของไลเคนพลาเน็ตส์มีลักษณะเป็นตุ่มนูนขนาดเล็ก 1-2 มิลลิเมตร มีสีค่อนข้างม่วงจนถึงแดง มักพบบริเวณข้อพับแขน ขา และบริเวณหลัง การเรียงตัวของรอยโรคพบได้หลายรูปแบบ ผู้ป่วยอาจมีอาการคันร่วมด้วย นอกจากนี้ในผู้ป่วยบางรายอาจพบลายเส้นสีขาวที่พื้นผิวของรอยโรค ลักษณะคล้ายตาข่ายหรือร่างแหสีขาว เรียกว่า เส้นตาข่ายวิกแฮม (Wickham's striae) ถ้ารอยโรคถูกรบกวน เช่น ถูกเกา จะทำให้รอยโรคมีการเรียงตัวเป็นแนวยาว ลักษณะดังกล่าวเรียกว่า ปราบฏุกการณ์เคอบเนอร์ (Koebner's phenomenon) บริเวณอื่นที่สามารถพบรอยโรคไลเคนพลาเน็ตส์ ได้แก่ glans penis เยื่อเมือกช่องคลอด (vulvar mucosa) และเล็บ (22, 33)

ลักษณะรอยโรคไลเคนพลาเน็ตส์ในช่องปากมีหลายรูปแบบ โดยพบลักษณะตุ่มนูนสีขาวหรือเส้นสีขาวหนานูนขึ้นจากเยื่อเมือกปกติ อาจพบรอยแดงหรือแผลร่วมด้วย สามารถแบ่งลักษณะของโรคอย่างกว้างๆได้เป็น 2 ชนิด คือ ชนิดไม่ถลอก (non-erosive) และชนิดถลอก (erosive) ในปี 1968 Andreasen (34) ได้แบ่งรูปแบบของรอยโรคไลเคนพลาเน็ตส์ในช่องปากออกเป็น 6 ชนิด ได้แก่ (1) ชนิดร่างแห (reticular) ซึ่งเป็นรูปแบบที่พบบ่อย มีลักษณะเป็นลายเส้นสีขาวเรียงตัวคล้ายตาข่าย ร่างแห หรือลายลูกไม้ บริเวณที่พบบ่อยที่สุดคือ เยื่อบุกระพุ้งแก้มโดยมักจะพบทั้งสองข้าง นอกจากนี้อาจพบได้ในบริเวณลิ้น เหงือก และริมฝีปาก (2) ชนิดตุ่มตัน (papular) มีลักษณะเป็นตุ่มตันเล็กๆสีขาวหลายตุ่มกระจัดกระจาย พบบ่อยที่บริเวณกระพุ้งแก้ม ต้องวินิจฉัยแยกโรคออกจากฟอร์ดัยส์กรานูลส์ (fordyce's granule) (3) ชนิดฝ้าขาว (plaque) มีลักษณะเป็นแผ่นสีขาว นูน เรียบ คล้ายลิ่วโคเพลเคีย (leukoplakia) อาจพบได้ในหลายตำแหน่งของช่องปาก ซึ่งมักพบบริเวณด้านบนของลิ้น (dorsum of tongue) และเยื่อบุกระพุ้งแก้ม รูปแบบนี้มักพบได้บ่อยในผู้ป่วยที่สูบบุหรี่ (4) ชนิดฝ่อลีบ (atrophic) ลักษณะมีการอักเสบของเยื่อผิวเป็นรอยแดงและบาง (thin red - appearing epithelium) ซึ่งมักพบลายเส้นสีขาวรอบๆรอยโรคร่วมด้วย พบได้บ่อยในบริเวณเหงือกยึด (attached gingiva) รูปแบบนี้มักทำให้ผู้ป่วยมีอาการปวดแสบปวดร้อนในช่องปากได้โดยเฉพาะเมื่อสัมผัสกับอาหารแข็ง (5) ชนิดตุ่มน้ำ (bullous) ซึ่งรูปแบบนี้พบบได้น้อยกว่ารูปแบบอื่นๆ เป็นตุ่มน้ำขนาดเล็ก (vesicular) หรือตุ่มน้ำขนาดใหญ่ (bullous) มีขนาดตั้งแต่ 1-2 มิลลิเมตร หรือขนาดใหญ่กว่า 5 มิลลิเมตร ตุ่มน้ำอาจแตกง่ายแล้วทำให้เกิดแผลและมีอาการเจ็บ พบบ่อยในบริเวณกระพุ้งแก้มโดยเฉพาะส่วนล่างด้านหลังบริเวณใกล้กับฟันกรามซี่ที่สองและสาม นอกจากนี้อาจพบได้ในบริเวณลิ้น เหงือก และเยื่อบุด้านในของริมฝีปาก ต้อง

วินิจฉัยแยกโรคออกจากเพมฟิกัสวัลกาติส (pemphigus vulgaris) และบีโนนัมวักัสเมมเบรนเพมฟิกอยด์ (benign mucous membrane pemphigoid) (6) ชนิดแผลถลอก (erosive) มีลักษณะเป็นแผลปกคลุมด้วย fibrinous plaque หรือ pseudomembrane บริเวณขอบๆของรอยโรคมักพบลายเส้นสีขาวร่วมด้วย รูปแบบนี้อาจเกิดขึ้นจากรูปแบบฝ่อลีบแล้วเย็บผิวที่บางหลุดออกไปทำให้เกิดรอยถลอกหรือแผลขึ้น ซึ่งพบได้บ่อยและก่อให้เกิดอาการได้ตั้งแต่ปวดเสปปวดรื้อนเพียงเล็กน้อยถึงเจ็บปวดมาก นอกจากนี้ Eisen (2) ได้แบ่งลักษณะทางคลินิกของรอยโรคไลเคนพลาแนสอย่างง่ายออกเป็น 3 กลุ่ม คือ (1) ชนิดร่างแหซึ่งรวมถึงลักษณะเส้นสีขาว แผ่นฝ้าขาวและตุ่มตัน (2) ชนิดฝ่อลีบสีแดง (3) ชนิดถลอกลึกซึ่งรวมถึงลักษณะแผล (ulceration) และตุ่มน้ำ อย่างไรก็ตามจากรายงานล่าสุดในปี 2004 Lodi และคณะ (35) ได้แบ่งลักษณะทางคลินิกของรอยโรคไลเคนพลาแนสในช่องปากออกเป็น 5 กลุ่ม ได้แก่ (1) ชนิดร่างแห (2) ชนิดตุ่มตัน (papular) (3) ชนิดฝ้าขาว (plaque) (4) ชนิดฝ่อลีบ (atrophic) (5) ชนิดแผล (ulcerative)

สาเหตุของการเกิดโรคไลเคนพลาแนส

สาเหตุของการเกิดโรคไลเคนพลาแนสยังไม่ทราบแน่ชัด ในปัจจุบันเชื่อว่าที-ลิมโฟซัยต์ (T-lymphocytes) มีบทบาทสำคัญในการเกิดพยาธิสภาพของโรค โดยที่มีความผิดปกติเกี่ยวกับกลไกของระบบภูมิคุ้มกันชนิดเซลล์เป็นสื่อ (cell-mediated immunity) นอกจากนี้ได้มีการรายงานถึงปัจจัยที่อาจมีความสัมพันธ์กับโรคไลเคนพลาแนสไว้ ดังนี้

(1) ปัจจัยด้านพันธุกรรม

ไลเคนพลาแนสที่เกิดจากด้านกรรมพันธุ์ (familial lichen planus) พบได้น้อย และยังไม่มีการศึกษาแสดงความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญที่เกี่ยวกับ HLA antigen (27, 36, 37)

(2) วัสดุทางทันตกรรม

วัสดุทางทันตกรรม เช่น อะมัลกัม (amalgam) ครอบฟันโลหะ ฟันปลอมชนิดถอดได้ ซึ่งสัมผัสกับรอยโรคที่คล้ายไลเคนพลาแนสในช่องปากที่เรียกว่า ไลเคนอยด์มิวโคไซติส (lichenoid mucositis) ปฏิกริยาที่เกิดขึ้นนี้อาจเป็นผลจากการแพ้หรือปฏิกริยาจากสารประกอบของวัสดุทางทันตกรรมที่ปลดปล่อยออกมา ปากฏการณ์เคออบเนอร์ หรือผลจากการสะสมของคราบ

จุลินทรีย์บนผิวของวัสดุอุด (38) ซึ่งผู้ป่วยจะให้ประวัติการเกิดรอยโรคภายหลังการบูรณะฟัน และในผู้ป่วยบางรายเมื่อรีวัสดุอุดอะมัลกัมออกแล้วอุดใหม่ด้วยวัสดุอุดที่เหมาะสมพบว่ารอยโรคจะหายไปได้หรือมีลักษณะดีขึ้น (39-41) อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าวัสดุอุดชนิดคอมโพสิต (composite) ที่ใช้อุดแทนอะมัลกัมสามารถทำให้เกิดรอยโรคไลเคนอยด์ได้เช่นกัน (40)

(3) ยา

การใช้ยาในการรักษาโรคทางระบบต่างๆของร่างกายอาจกระตุ้นให้เกิดรอยโรคไลเคนอยด์ได้ ยาที่มีรายงานว่ามีความเกี่ยวข้องกับการเกิดรอยโรคไลเคนอยด์แสดงในตารางที่ 1

Allopurinol	Mepacrine
Amiphenazole	Mercury
Amphotericin B	Methopromazine
Arsenic	Methyldopa
Bismuth	NSAIDS
Captopril	Oxprenolol
Carbamazepine	Palladium
Chloroquine	Para-amino salicylic acid
Chlorothiazide	Penicillamine
Chlorpropamide	Phenothiazine
Cimetidine	Phenylbutazone
Cinnarizine	Practolol
Cyamide (calcium carbamide)	Propranolol
Cycloserine	Pyrimethamine
Dapsone	Pyritinol
Demeclocycline	Quinacrine
Fenclofenac	Quinidine
Flunarizine	Rofecoxib
Furosemide	Spirolactone
Gold	Streptomycin
Imatinib	Sulfametoxazole
Indomethacin	Sulfasazine
Isoniazid	Sulfonylureas
Ketoconazole	Tetracycline
Labetalol	Thiazides
Levamisole	Tolbutamide
Levopromazine	Tripolidine
Lithium	Zidovudine
Lorazepam	etc.

ตารางที่ 1 แสดงยาที่มีความเกี่ยวข้องกับการเกิดรอยโรคไลเคนอยด์ (1, 22, 42-44)

(4) จุลชีพที่ทำให้เกิดการติดเชื้อ

มีรายงานเกี่ยวกับความสัมพันธ์ของไลเคนพลาแนสในช่องปากกับเชื้อแบคทีเรีย เช่น gram-negative anaerobic bacillus และ spirochetes แต่ความสัมพันธ์ยังไม่ได้รับการยืนยัน จากการศึกษาอื่น (22, 45, 46) นอกจากนี้มีหลายการศึกษาที่แสดงให้เห็นว่ามีการเพิ่มความชุกของเชื้อราแคนดิดาในรอยโรคไลเคนพลาแนสในช่องปาก ซึ่งมีรายงานการพบเชื้อ *Candida albicans* ในรอยโรคไลเคนพลาแนสในช่องปากตั้งแต่ร้อยละ 2-50 (47-51) อีกทั้งพบว่าเมื่อได้รับการรักษาด้วยยาต้านเชื้อราจะช่วยให้อาการของรอยโรคไลเคนพลาแนสในช่องปากดีขึ้น (22, 52, 53)

ส่วนความเกี่ยวข้องกับไวรัสที่มีรายงาน ได้แก่ การติดเชื้อเอช ไอ วี (HIV), Herpes simplex 1 (HSV-1), Epstein-Barr virus (EBV), Cytomegalovirus (CMV), Herpes virus 6 (HHV-6) และ Human papillomaviruses (HPV) (35) นอกจากนี้มีรายงานเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างไลเคนพลาแนสและการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ ซี (hepatitis C virus) จากหลายการศึกษาพบอุบัติการณ์การติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ ซี ในผู้ป่วยไลเคนพลาแนสในอัตราที่สูงในประเทศอิตาลี ญี่ปุ่น สเปนและไทย (54-58) แต่ไม่พบอุบัติการณ์ดังกล่าวในประเทศอังกฤษและเนเธอร์แลนด์ (59, 60) ซึ่งความแตกต่างของการศึกษาอาจเกี่ยวข้องกับปัจจัยทางด้านภูมิศาสตร์ของความชุกของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ ซี ในแต่ละประเทศ

(5) ภูมิคุ้มกันเนื้อเยื่อตัวเอง (autoimmunity)

มีรายงานเกี่ยวกับความสัมพันธ์ของไลเคนพลาแนสกับโรคภูมิคุ้มกันเนื้อเยื่อตัวเองหลายโรค ได้แก่ alopecia areata, dermatitis herpetiformis, dermatomyositis, Hashimoto's thyroiditis, hyperthyroidism, lupus erythematosus, morphea, myasthenia gravis, pemphigus foliaceus, pemphigus vulgaris, pernicious anemia, rheumatoid arthritis, Sjögren's syndrome, scleroderma และ vitiligo (22) อย่างไรก็ตามจากการศึกษาเปรียบเทียบในผู้ป่วยไลเคนพลาแนสมากกว่า 50 ราย ไม่พบความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญระหว่างโรคไลเคนพลาแนสกับโรคภูมิคุ้มกันเนื้อเยื่อตัวเอง (61)

(6) การแพ้อาหาร

ผู้ป่วยไคเคนพลานัสในช่องปากหรือรอยโรคไคเคนอยด์บางรายมีปฏิกิริยาแพ้ต่ออาหารหรือส่วนประกอบของอาหารบางชนิด เช่น ซินนามอน (cinnamon) อัลดีไฮด์ (aldehyde) (22)

(7) ความเครียด

ไคเคนพลานัสมีความเกี่ยวข้องกับความเครียดทางอารมณ์ จากการศึกษารายงานว่ามีการเพิ่มขึ้นของระดับความเครียด ความวิตกกังวล ภาวะซึมเศร้า และความผิดปกติทางด้านจิตใจในผู้ป่วยไคเคนพลานัสในช่องปาก (62) นอกจากนี้ความเครียดยังเป็นอีกหนึ่งสาเหตุที่พบได้บ่อยในผู้ป่วยไคเคนพลานัสในช่องปากที่มีอาการรุนแรงขึ้นแบบเฉียบพลัน (acute exacerbation) (2, 63)

(8) อุปนิสัย

จากการศึกษาในผู้ป่วยไคเคนพลานัสในช่องปากชาวอินเดียกลุ่มหนึ่งจะมีนิสัยการสูบบุหรี่และการเคี้ยวหมากมากกว่าผู้ที่ไม่เป็นไคเคนพลานัสในช่องปาก (64, 65)

(9) โรคเบาหวานและความดันโลหิตสูง

มีผู้รายงานว่าโรคเบาหวานมีความสัมพันธ์กับไคเคนพลานัสในช่องปาก (66) แต่จากหลายการศึกษาในผู้ป่วยโรคเบาหวาน พบว่าความชุกของโรคไคเคนพลานัสในช่องปากของผู้ป่วยโรคเบาหวานมีค่าต่ำ จึงน่าจะเป็นความบังเอิญหรืออาจเป็นผลจากยาที่ใช้ในการรักษาโรค อย่างไรก็ตามในผู้ป่วยโรคเบาหวานที่มีรอยโรคไคเคนพลานัสในช่องปากจะพบความชุกสูงของรอยโรคในบริเวณลิ้นและเป็นชนิดแผลถลอก (67) สำหรับความดันโลหิตที่สูงขึ้นในผู้ป่วยไคเคนพลานัสไม่มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ(68) โรคความดันโลหิตสูงและโรคเบาหวานที่พบร่วมกับรอยโรคไคเคนพลานัสในช่องปากเชื่อว่าจะน่าจะเป็นผลมาจากยาที่ใช้รักษาโรคทั้งสองชนิดมีส่วนกระตุ้นให้เกิดรอยโรคที่เรียกว่า ไคเคนอยด์ (69)

(10) เนื้องอกชนิดร้ายแรง

พบรอยโรคไลเคนอยด์ในผู้ป่วยที่เป็นเนื้องอกของผิวหนังและ/หรือเยื่อเมือกหลายโรค ซึ่งลักษณะทางคลินิกของรอยโรคไลเคนพลาเน็ตที่พบสัมพันธ์กับเนื้องอกส่วนใหญ่เป็นชนิดคุ่มน้ำขนาดใหญ่ นอกจากนี้ไลเคนพลาเน็ตได้รายงานว่าพบได้ในผู้ป่วยที่เป็นมะเร็งเต้านม, metastatic adenocarcinoma, retroperitoneal sarcoma, stomach cancer, thymoma, Castleman's tumor, craniopharyngioma, pituitary adenoma และ non-Hodgkin's lymphoma (22)

(11) โรคลำไส้ (bowel disease)

จากหลายรายงานพบความสัมพันธ์ระหว่างโรคแผลของลำไส้ใหญ่ (ulcerative colitis) และไลเคนพลาเน็ต นอกจากนี้โรคของลำไส้อื่นๆที่มีรายงาน ได้แก่ coeliac disease และ Crohn's disease (22) อย่างไรก็ตามบางรายงานก็ไม่พบความสัมพันธ์ดังกล่าว (70)

(12) ความสัมพันธ์อื่นๆ

ความสัมพันธ์ของไลเคนพลาเน็ตกับโรคอื่นๆที่มีรายงาน ได้แก่ psoriasis, lichen sclerosis, urolithiasis, สารที่ใช้ในการรักษาน้ำตื้นน้ำดี, mesangioproliferative glomerulonephritis, erythema dyschromicum และ Turner's syndrome with endocrinopathies (22)

มีหลายการศึกษาที่ไม่สามารถแสดงความสัมพันธ์ระหว่างสภาวะการขาดสารอาหารและไลเคนพลาเน็ตได้ ถึงแม้ว่าจะมีรายงานว่าเมื่อมีการให้วิตามินบีหนึ่ง บีสอง และซี สามารถช่วยให้อรอยโรคไลเคนพลาเน็ตดีขึ้น (22, 71)

การเกิดพยาธิสภาพของโรค (pathogenesis)

ในปัจจุบันมีหลายรายงานทางด้านภูมิคุ้มกันและพยาธิวิทยาสนับสนุนว่าโรคไลเคนพลาเน็ตเป็นโรคที่เกิดจากการอักเสบเรื้อรังที่เกี่ยวข้องกับความผิดปกติของระบบภูมิคุ้มกันชนิดเซลล์เป็นสื่อ (cell-mediated chronic inflammatory lesions) โดยพบที-ลิมโฟไซต์และแมกโครฟาจเป็นจำนวนมากที่บริเวณรอยโรค ร่วมกับพบการทำลายเบซัลเคอราติโนไซต์ อีกทั้งในการรักษา

ไลเคนพลาแนสโดยทั่วไปจะกีดการตอบสนองของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกัน ลดการแทรกซึมของเซลล์อักเสบ และทำให้รอยโรคดีขึ้น (72, 73) จากหลักการดังกล่าวยิ่งสนับสนุนว่าไลเคนพลาแนส มีสาเหตุมาจากการเปลี่ยนแปลงการทำงานของทีเซลล์ (74) อย่างไรก็ตามแอนติเจนที่กระตุ้นให้เกิดความผิดปกติของระบบภูมิคุ้มกันในรอยโรคไลเคนพลาแนสในช่องปากนั้นยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด เชื่อกันว่ามาจากปัจจัยทั้งภายในและภายนอกของแต่ละคน โดยมีปัจจัยทางพันธุกรรมช่วยส่งเสริมให้เกิดรอยโรคไลเคนพลาแนสขึ้น (22) แอนติเจนต่างๆ เช่น การติดเชื้อไวรัส สารจากเชื้อแบคทีเรีย การบาดเจ็บจากเหตุกายภาพ ยา สารเคมี สารก่อภูมิแพ้ต่างๆ หรือแอนติเจนของผู้ป่วยเอง (autoantigens) ซึ่งจะกระตุ้นให้เซลล์นำเสนอแอนติเจนและเคอราติโนไซต์ มีการหลั่งทีโมไคน์และซัยโตไคน์ออกมาทำให้เกิดการดึงดูดเซลล์อักเสบต่างๆมาในบริเวณนั้นและเกิดการตายของเซลล์เบซัลเคอราติโนไซต์ เกิดเป็นลักษณะเฉพาะของรอยโรคไลเคนพลาแนสขึ้น (35, 75)

CD8+ T cells

จากหลายการศึกษาสนับสนุนบทบาทของ CD8+ T cells (cytotoxic T cells) ทำให้เกิดรอยโรคขึ้น ซึ่งพบที-ลิมโฟไซต์แทรกอยู่ภายในชั้นเยื่อผิวและบริเวณใกล้กับเบซัลเคอราติโนไซต์ที่มีการทำลาย (damaged basal keratinocytes) ในรอยโรคไลเคนพลาแนสในช่องปาก ส่วนใหญ่เป็นชนิด CD8+ T cells (4-6) ซึ่งสนับสนุนด้วยการศึกษาของ Sugerman และคณะ (6) ในปี ค.ศ. 2000 ได้แสดงตำแหน่งของ CD8+ T cells ซึ่งอยู่ในตำแหน่งเดียวกัน (co-localized) กับที่มีการตายของเซลล์เคอราติโนไซต์ (apoptotic keratinocytes) นอกจากนี้ทีเซลล์ที่ได้จากการ clone จากรอยโรคจะประกอบด้วยทีเซลล์หลักที่เป็นพิษต่อเซลล์ (cytotoxic) คือ CD8+ และทีเซลล์หลักที่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ (non-cytotoxic) คือ CD4+ (8) ในระยะแรกของการเกิดโรค CD8+ T cells บริเวณรอยโรคจะจดจำแอนติเจนที่สัมพันธ์กับ MHC Class I บนผิวของเคอราติโนไซต์ หลังจากนั้น CD8+ cytotoxic T cells จะไปกระตุ้นการตายของเซลล์เคอราติโนไซต์ในรอยโรคไลเคนพลาแนสในช่องปาก (35)

CD4+ T cells

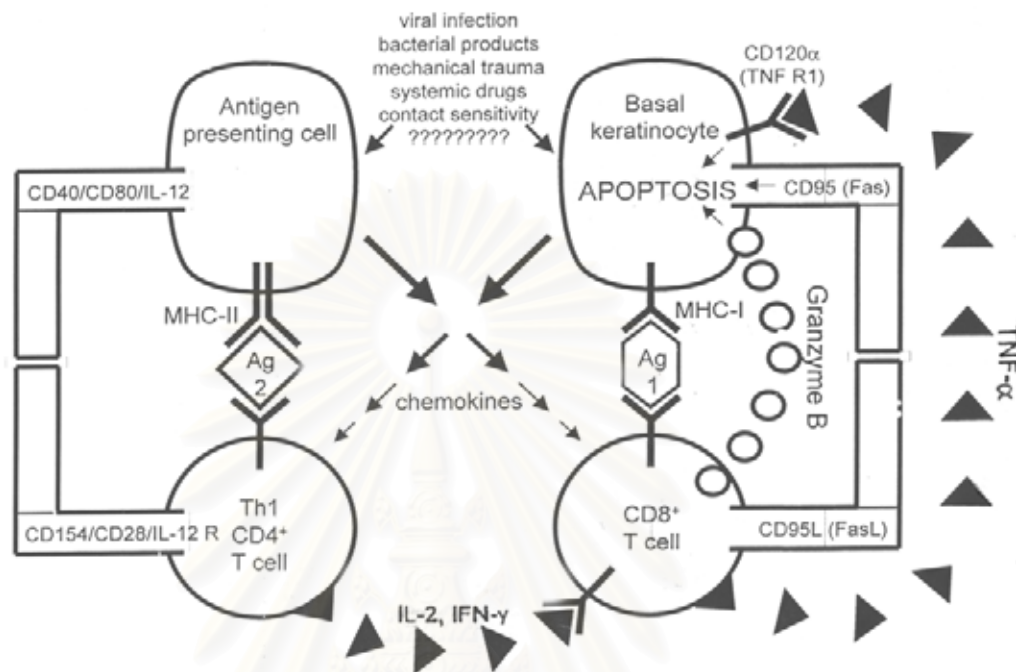
ขณะที่ลิมโฟไซต์ส่วนใหญ่ที่อยู่ในชั้นลามินา โพรเปรีย (lamina propria) เป็นชนิด CD4+ มีการเพิ่มจำนวนของเซลล์แลงเกอร์ฮานส์ร่วมกับเพิ่มการแสดงออกของ MHC Class II (7, 76) เช่นเดียวกับเคอราติโนไซต์ในบริเวณรอยโรคที่มีการแสดงออกของ MHC Class II (4, 77) ดังนั้น CD4+ T cells จะถูกกระตุ้นโดยแอนติเจนที่สัมพันธ์กับ MHC Class II บนผิวของเซลล์

แลงเกอร์ฮันส์หรือเคอราติโนไซต์ในรอยโรคไลเคนพลาเนียในช่องปาก (35) เมื่อมีการแสดงออกของแอนติเจนในระดับสูงจะพบมีการแสดงออกของ CD40 และ CD80 และการหลั่ง Interleukin-12 (IL-12) จากเซลล์นำเสนอแอนติเจน (antigen presenting cells) ที่มี MHC Class II ในรอยโรคไลเคนพลาเนียในช่องปากซึ่งจะไปส่งเสริมให้ T-helper1 เซลล์ (T_H1) CD4+ T cell ตอบสนองร่วมกับการหลั่ง Interleukin-2 (IL-2) และ Interferon-gamma (IFN- γ) ซึ่งสนับสนุนด้วยการศึกษาที่ผ่านมามีพบการแสดงออกของ IFN- γ ในทีเซลล์ที่อยู่ใกล้กับเบซัลเคอราติโนไซต์ในรอยโรคไลเคนพลาเนียในช่องปาก รวมถึงพบการสร้างและการหลั่ง IFN- γ จากทีเซลล์ที่นำมาจากรอยโรคไลเคนพลาเนียในช่องปาก (5, 11, 12)

ข้อมูลเหล่านี้จึงสนับสนุนว่าเซลล์แลงเกอร์ฮันส์หรือเคอราติโนไซต์ในไลเคนพลาเนียในช่องปากมีการแสดงแอนติเจนที่สัมพันธ์กับ MHC Class II ให้กับ CD4+ helper T cell แล้วกระตุ้นให้ T_H1 เซลล์หลั่ง IL-2 และ IFN- γ ส่วน CD8+ cytotoxic T cells อาจถูกกระตุ้นโดยการทำงานร่วมกันระหว่าง (1) แอนติเจนที่สัมพันธ์กับ MHC Class I บนเบซัลเคอราติโนไซต์ (2) T_H1 CD4+ T cell หลั่ง IL-2 และ IFN- γ หลังจากนั้น CD8+ cytotoxic T cells ที่ถูกกระตุ้นจะไปกระตุ้นให้เกิดการตายของเซลล์เบซัลเคอราติโนไซต์ นอกจากนี้การสร้าง IFN- γ ในบริเวณนั้นจะไปทำให้เกิดการแสดงออกของ MHC Class II บนเคอราติโนไซต์ให้คงอยู่ แล้วไปส่งเสริมให้รอยโรคไลเคนพลาเนียเกิดการเรื้อรังขึ้น (13, 15)

อย่างไรก็ตามกลไกที่ CD8+ cytotoxic T cells ไปกระตุ้นให้เกิดการตายของเซลล์เคอราติโนไซต์นั้นยังไม่ทราบแน่ชัด ในปี 2004 Lodi และคณะ (35) ได้อธิบายกลไกที่อาจเป็นไปได้ไว้ ดังนี้ (1) ทีเซลล์จะมีการหลั่งไซโตไคน์ชนิด TNF- α ซึ่งไซโตไคน์นี้จะไปจับกับตัวรับของ TNF- α receptor 1 (TNF R1) บนผิวของเคอราติโนไซต์ (2) CD95L (FasL) ที่อยู่บนผิวของทีเซลล์จะจับกับ CD95 (Fas) ที่อยู่บนผิวของเคอราติโนไซต์ (3) ทีเซลล์มีการหลั่ง granzyme B เข้าไปในเคอราติโนไซต์โดยผ่านทาง perforin-induced membrane pores หลังจากนั้นจะไปกระตุ้นกระบวนการ caspase cascade ทำให้เกิดการตายของเซลล์เคอราติโนไซต์ขึ้น (ดังภาพที่ 1)

Immunopathogenesis of OLP



ภาพที่ 1 แสดงสมมติฐานการเกิดพยาธิสภาพในรอยโรคไลเคนพลาเนียในช่องปากที่เกี่ยวข้องกับกลไกแอนติเจนที่จำเพาะ (antigen-specific mechanisms) (35)

Mast cells

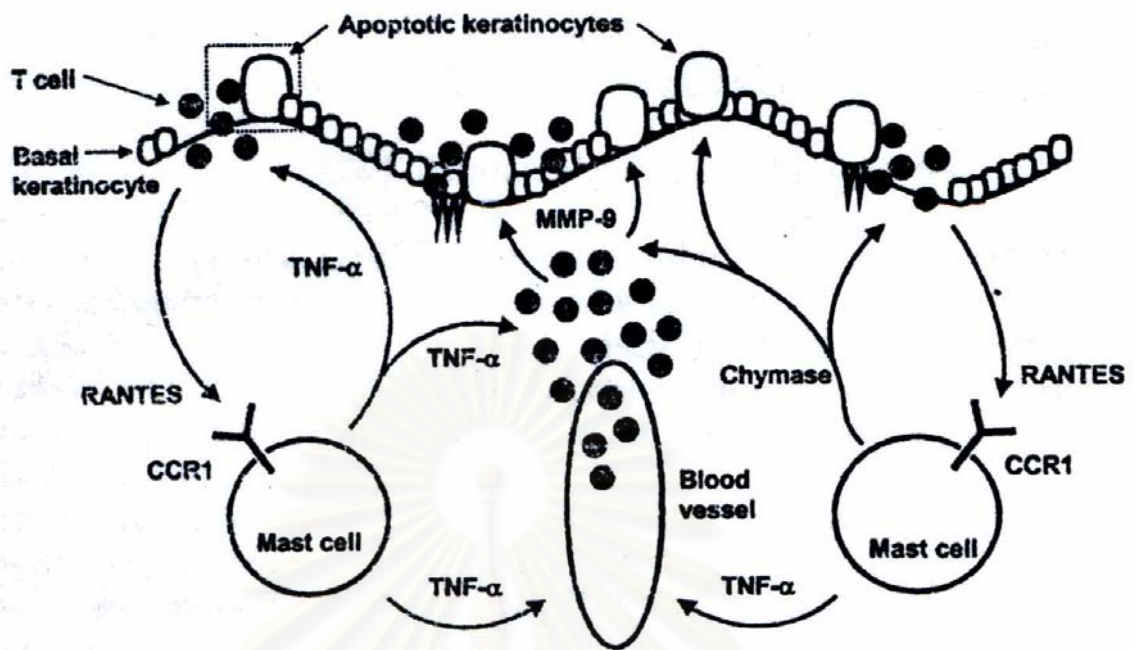
ในปี 1997 Zhao และคณะได้รายงานการเพิ่มขึ้นของความหนาแน่นของเซลล์มาสต์ (mast cells) ในรอยโรคไลเคนพลาเนียในช่องปาก (78) ประมาณร้อยละ 60 ของเซลล์มาสต์มีลักษณะ degranulation เมื่อเปรียบเทียบกับเยื่อ مخاطปกติซึ่งพบประมาณร้อยละ 20 (79) เซลล์มาสต์ที่ degranulation จะหลั่งสารที่ทำให้เกิดการอักเสบ (proinflammatory mediators) เช่น TNF- α และ chymase ในรอยโรคไลเคนพลาเนียในช่องปาก โดย TNF- α จะเพิ่มการแสดงออกของ endothelial cell adhesion molecule (CD62E, CD54 และ CD106) ซึ่งทำให้เกิดการยึดเกาะของลิมโฟไซต์บริเวณผนังหลอดเลือดและมีการเคลื่อนตัวของออกนอกหลอดเลือด (extravasation) ในที่สุด (80-82) บทบาทของ TNF- α โดยละเอียดจะกล่าวในตอนต่อไป ส่วน chymase เป็นเอนไซม์จากเซลล์มาสต์ที่ย่อยโปรตีนได้ (mast cell protease) ซึ่งจะเป็นตัวกระตุ้น MMP-9 (matrix

metalloproteinase - 9) (83) ที่หลังจากทีเซลล์ให้ทำลายชั้นเบสเมมเบรันทึ่เมมเบรอน (basement membrane) ในรอยโรคไลเคนพลาเน็ตในช่องปาก (80, 84)

Chemokines

ในปี 2002 Zhao และคณะ (85) มีรายงานการแสดงออกของ RANTES (regulated on activation, normal T-cell expressed and secreted) ในทีเซลล์บริเวณรอยโรคไลเคนพลาเน็ตในช่องปาก ซึ่ง RANTES จะดึงดูดเซลล์มาสต์เข้ามาในบริเวณรอยโรค (chemotaxis) และกระตุ้นให้เซลล์มาสต์เกิด degranulation ในรอยโรคไลเคนพลาเน็ตในช่องปาก อีกทั้งทีเซลล์และเซลล์มาสต์ในรอยโรคยังพบการแสดงออกของ CCR1 (CC chemokine receptor 1) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาอื่นอีกที่ได้รายงานการแสดงออกของคีโมไคน์หลายชนิดในเบสเซลล์เคอราติโนไซต์บริเวณรอยโรคไลเคนพลาเน็ต (86) ข้อมูลเหล่านี้จึงสนับสนุนว่าทีเซลล์และเคอราติโนไซต์มีการสร้างคีโมไคน์ออกมาดึงดูดเซลล์อักเสบต่างๆให้เข้ามาในบริเวณรอยโรคแล้วทำให้เกิดพยาธิสภาพในรอยโรคขึ้น (35)

จากข้อมูลดังกล่าวข้างต้นมีกลไกแบบไม่จำเพาะหลายอย่างที่เกี่ยวข้องกับการเกิดพยาธิสภาพในรอยโรคไลเคนพลาเน็ตในช่องปาก ได้แก่ RANTES ที่หลังจากทีเซลล์กระตุ้นให้เซลล์มาสต์เกิด chemotaxis และ degranulation อีกทั้ง TNF- α ที่หลังจากเซลล์มาสต์จะไปกระตุ้นให้มีการแสดงออกของ endothelial cell adhesion molecule นอกจากนั้นเซลล์มาสต์จะมีการหลั่ง chymase มากระตุ้น MMP-9 ให้หลั่งออกจากทีเซลล์ ทั้ง proteases ที่หลังจากเซลล์มาสต์และ MMP-9 ที่หลังจากทีเซลล์จะไปทำให้ชั้นเบสเมมเบรอนของเยื่อผิวเกิดการฉีกขาด ซึ่งจะไปกระตุ้นให้เกิดการตายของเซลล์เคอราติโนไซต์ แล้ว CD8+ T cells จะเกิดการเคลื่อนผ่านชั้นเบสเมมเบรอนที่ฉีกขาดเข้าไปในชั้นเยื่อผิว อีกทั้ง RANTES ที่หลังจากทีเซลล์จะทำให้เซลล์อักเสบต่างๆคงอยู่ในบริเวณนั้นนานขึ้น นอกจากนั้นคีโมไคน์ที่หลังจากทีเซลล์และเคอราติโนไซต์จะทำให้ทีเซลล์ที่ไม่จำเพาะ (non-specific T cells) เกิดการรวมตัวขึ้นในบริเวณนั้น (8) (ดังภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 แสดงสมมติฐานการเกิดพยาธิสภาพในรอยโรคไลเคนพลาเนียในช่องปากที่เกี่ยวข้องกับกลไกแบบไม่จำเพาะ (non-specific mechanisms) (8)

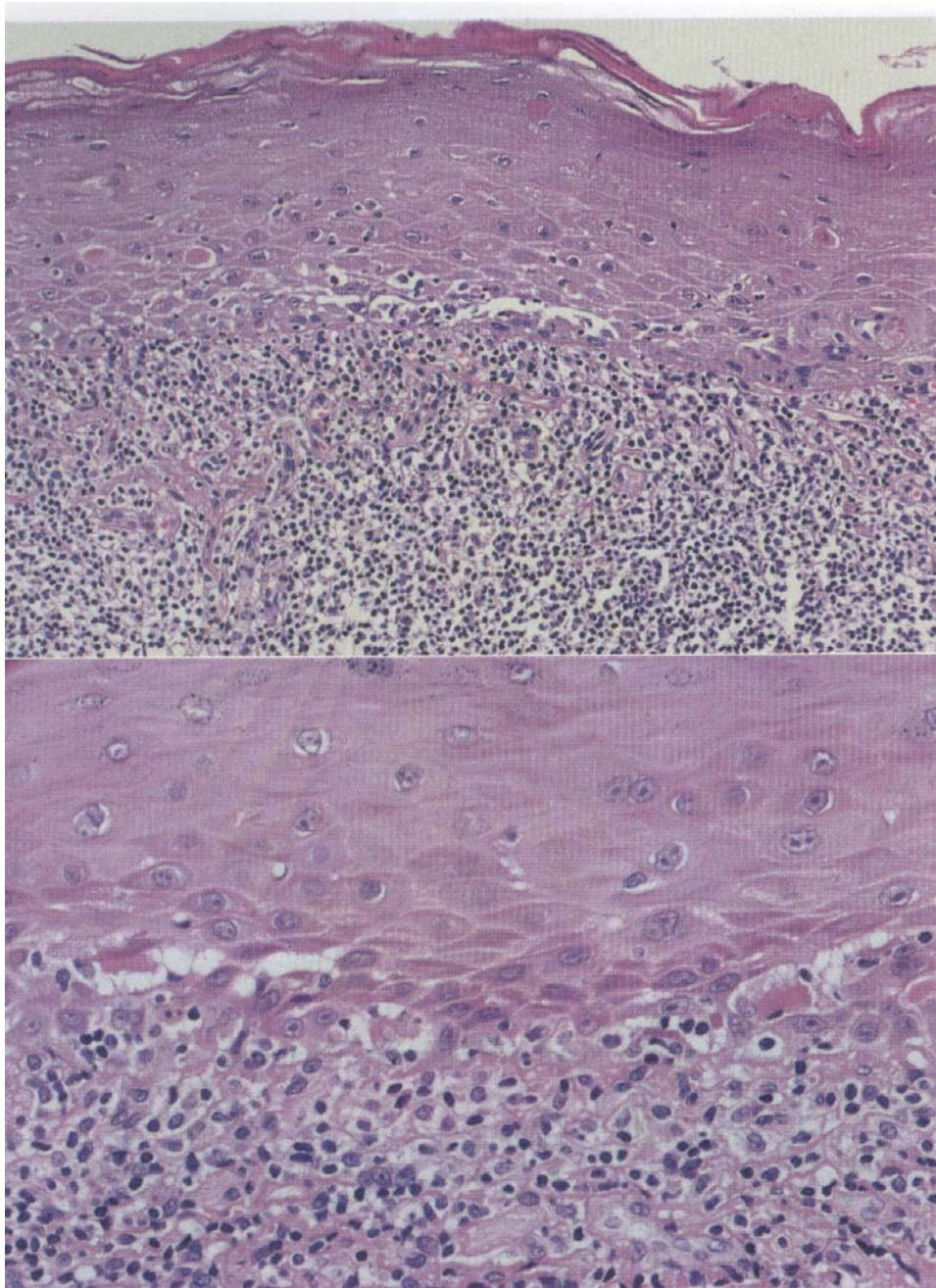
จากการวิเคราะห์หลักฐานที่ผ่านมาสันับสนุนสมมติฐานการเกิดพยาธิสภาพในรอยโรคไลเคนพลาเนียในช่องปากที่มีความเกี่ยวข้องทั้งกลไกแบบแอนติเจนที่จำเพาะ (antigen-specific mechanisms) และกลไกแบบไม่จำเพาะ (non-specific mechanisms) โดยสรุปไว้ดังนี้คือ (8)

1. การแสดงออกของแอนติเจนของไลเคนพลาเนีย (lichen planus antigen) จะสัมพันธ์กับ MHC Class I โมเลกุลบนเคอราติโนไซต์ในตำแหน่งของการเกิดรอยโรคไลเคนพลาเนียในช่องปาก
2. antigen-specific CD8+ cytotoxic T lymphocytes ในเยื่อเมิวบริเวณรอยโรค จะถูกกระตุ้นและหลั่ง TNF-α ร่วมกับมีการทำงานของ granzyme B และ Fas มากกระตุ้นให้เกิดการตายของเซลล์เคอราติโนไซต์

3. MMPs จากบริเวณรอยโรคจะไปทำให้ TNF- α ถูกกระตุ้นและหลั่งออกจาก CD8+ cytotoxic T lymphocytes
4. เซลล์มาสต์จะเพิ่มการแสดงออกของ CCR1 และมีการกระตุ้นให้เซลล์มาสต์ภายในรอยโรคเกิดการ migration และ degranulation
5. เซลล์มาสต์ที่เกิดการ degranulation จะหลั่ง TNF- α ซึ่งจะไปเพิ่มการแสดงออกของ adhesion molecules ของเซลล์บุผิวหลอดเลือดให้ลิ้มโฟซัยต์มาชิดเกาะ (adhesion) และออกไปภายนอกหลอดเลือด (extravasation)
6. TNF- α ที่หลั่งจากเซลล์มาสต์จะไปเพิ่มการหลั่ง RANTES และ MMP-9 จากที่เซลล์ในบริเวณรอยโรคไลเคนพลาเนียในช่องปาก
7. ทีเซลล์ในรอยโรคที่ถูกกระตุ้นจะหลั่งคีโมไคน์ออกมาดึงดูดลิ้มโฟซัยต์ออกมาภายนอกหลอดเลือดให้ไปที่เยื่อบุผิวบริเวณรอยโรค
8. เซลล์มาสต์ที่เกิด degranulation จะหลั่ง chymase มาทำลายชั้นเบสเม้นท์เมมเบรนของเยื่อบุผิวโดยตรง หรือจากการกระตุ้นผ่าน MMP-9 ซึ่งหลังจากที่เซลล์ในบริเวณรอยโรค
9. ชั้นเบสเม้นท์เมมเบรนของเยื่อบุผิวที่เกิดการฉีกขาดจะทำให้ลิ้มโฟซัยต์ผ่านเข้าไปในเยื่อบุผิวของรอยโรคไลเคนพลาเนียในช่องปากง่ายขึ้น
10. ส่วนเคอราติโนซัยต์ในบริเวณรอยโรคที่ยังคงมีชีวิตอยู่ ต่อไปจะเกิดการตายของเซลล์ตามมา (keratinocyte apoptosis)

ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยา (histopathologic features) มีดังนี้ (24, 25, 87)

1. มีการหนาตัวของชั้นเคอราตินที่ไม่มีหรือมีนิวเคลียส (hyperorthokeratosis or hyperparakeratosis)
2. เซลล์ในชั้นกรานูลาร์ (granular cell layer) หนาตัว
3. เซลล์ชั้นพริกเกิล (prickle cell layer) มีการหนาตัว เรียกว่า อะแคนโทซิส (acanthosis)
4. รอยโรคบริเวณผิวหนังมักพบว่า rete ridge จะมีลักษณะเป็นฟันเลื่อย (saw tooth appearance) ส่วนรอยโรคในช่องปากไม่ค่อยพบลักษณะดังกล่าว
5. เบซัลเซลล์มีการสลายตัว (basal cell degeneration)
6. ลิมโฟไซต์บริเวณลามินา โพรเปรียเรียงตัวเป็นแถบแบนหนาแน่นเป็นจำนวนมาก และพบว่าลิมโฟไซต์ส่วนใหญ่เป็น ที- ลิมโฟไซต์
7. อาจพบเคอราติโนไซต์ที่ถูกทำลายบริเวณรอยต่อของเยื่อผิวหนังกับเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน เรียกว่า colloid bodies
8. การตรวจด้วยวิธีทางอิมมูโนฟลูออเรสเซนซ์โดยใช้เนื้อเยื่อของผู้ป่วย (direct immunofluorescence) จะพบว่ามีกรดไฟบริน (fibrin) อิมมูโนโกลบูลินเอ็ม (IgM) และคอมพลีเมนต์ 3 (C3) ที่บริเวณชั้นเบสเมมเบรน



ภาพที่ 3 แสดงลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของรอยโรคไลเคนพลาเนียในช่องปาก (25)

การวินิจฉัย

การวินิจฉัยโรคไลเคนพลาเนตส์ขึ้นกับลักษณะทางคลินิกและประวัติของการเป็นโรคเรื้อรังในช่องปากและ/หรือที่ผิวหนัง การอาศัยลักษณะทางคลินิกเพียงอย่างเดียวอาจไม่เพียงพอเนื่องจากโรคมีความคล้ายคลึงกับรอยโรคอื่นๆ เช่น ลิวโคเพลเคีย (leukoplakia) ลูปัสอีริทีมาโตซัส (lupus erythematosus) หรือมะเร็ง (carcinoma) เป็นต้น ดังนั้นการวินิจฉัยทางพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อจึงเป็นสิ่งจำเป็น (23) ส่วนการตรวจด้วยวิธีทางอิมมูโนฟลูออเรสเซนซ์โดยใช้เนื้อเยื่อของผู้ป่วย (direct immunofluorescence) จะช่วยยืนยันการวินิจฉัยโรคและวินิจฉัยแยกโรคนี้ออกจากโรคอื่นที่มีลักษณะทางคลินิกใกล้เคียงกันได้ สำหรับการตรวจด้วยอิมมูโนฟลูออเรสเซนซ์โดยใช้เนื้อเยื่ออื่นที่ไม่ใช่ของผู้ป่วย (indirect immunofluorescence) Lamey และคณะ (88) ในปี ค.ศ. 1995 ได้รายงานในบางกลุ่มของประชากรจะพบแอนติบอดีในกระแสเลือด (circulating antibodies) จับกับซัยโตพลาสซึมของเบซัลเคอราติโนซัยต์ ซึ่งมักพบมากในไลเคนอยด์ที่เกิดจากยา (lichenoid drug reactions) อย่างไรก็ตามลักษณะดังกล่าวนี้ไม่สามารถนำมาใช้เป็นตัวชี้วัดเพื่อแยกความแตกต่างระหว่างในไลเคนอยด์ที่เกิดจากยาออกจากไลเคนพลาเนตส์ที่ไม่ทราบสาเหตุ (idiopathic lichen planus) ได้ (89)

การวินิจฉัยแยกโรคไลเคนอยด์ออกจากโรคไลเคนพลาเนตส์ที่ไม่ทราบสาเหตุอาจทำได้ยากเนื่องจากทั้งโรคไลเคนอยด์และไลเคนพลาเนตส์มีลักษณะทางคลินิกและลักษณะทางพยาธิวิทยาที่คล้ายกัน (90) แต่มีผู้ที่ตั้งข้อสังเกตว่าโรคไลเคนอยด์มีแนวโน้มที่จะพบเพียงข้างเดียว มีแผลถลอก และอาจพบในตำแหน่งที่ไม่ค่อยพบโรคไลเคนพลาเนตส์ที่ไม่ทราบสาเหตุ เช่น เพดานปาก (88, 90) อย่างไรก็ตามการให้การวินิจฉัยทางคลินิกอาจทำได้โดยการหยุดยาหรือเปลี่ยนยาหรือเปลี่ยนวัสดุบูรณะฟันที่เป็นสาเหตุ แล้วจะทำให้รอยโรคหายไปหรืออาการดีขึ้น (22)

การรักษา

ปัจจุบันได้มีวิธีการรักษาและยาหลายชนิดในการรักษาโรคไลเคนพลาเนตส์แต่ยังไม่มียาหรือวิธีการใดที่สามารถรักษารอยโรคให้หายขาดได้ โดยผู้ป่วยส่วนใหญ่ที่หยุดการรักษาแล้วรอยโรคมักกำเริบขึ้นมาใหม่ ดังนั้นเป้าหมายในการรักษาจึงเพื่อบรรเทาอาการเจ็บ และระงับการ

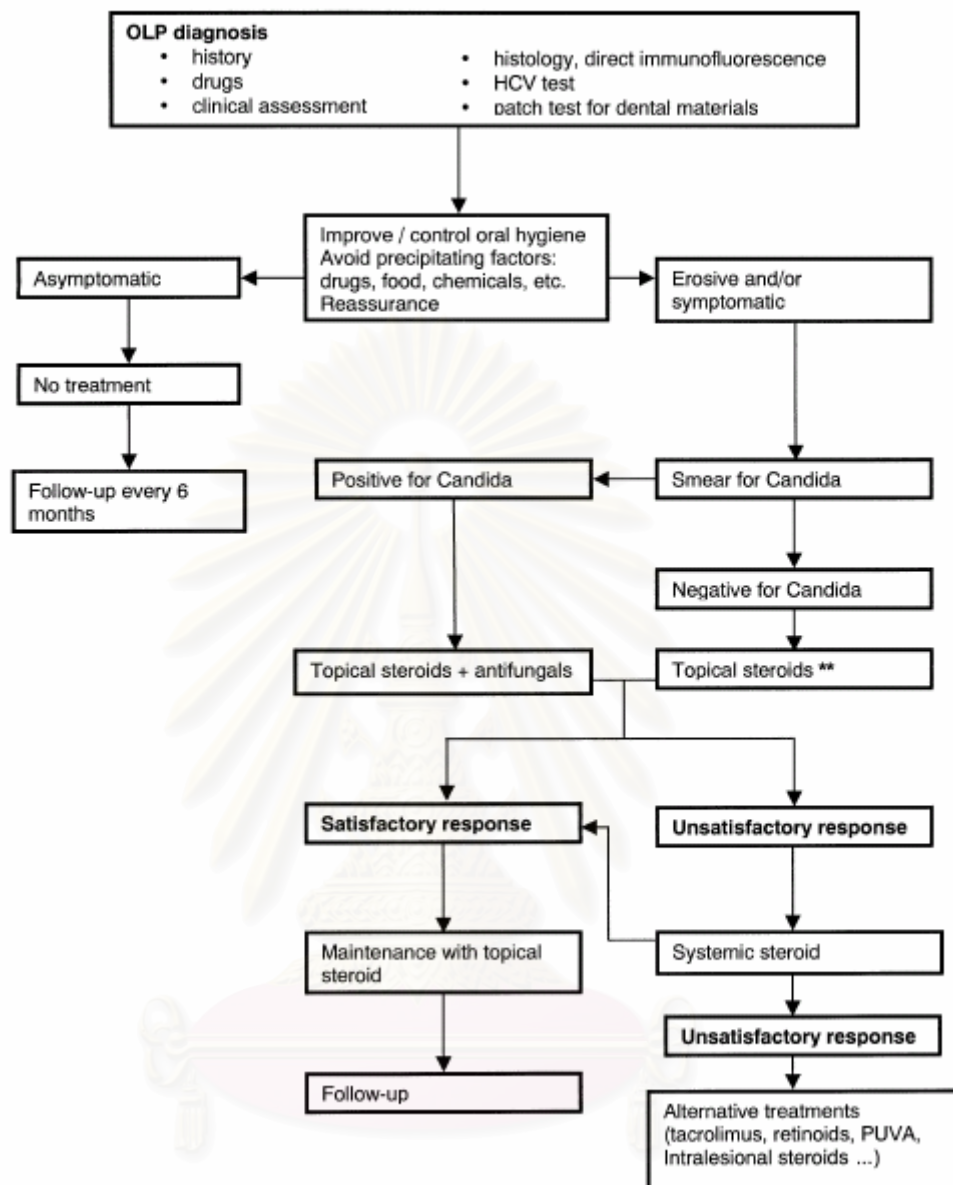
เกิดภาวะแทรกซ้อน เนื่องจากมีรายงานว่ารอยโรคไลเคนพลาเนียในช่องปากที่ปรากฏอยู่เป็นระยะเวลานานมีโอกาสเปลี่ยนเป็นมะเร็งในช่องปากได้ประมาณร้อยละ 0-5.3 (91) นอกจากนี้การให้การรักษาผู้ป่วยไลเคนพลาเนียต้องคำนึงถึงปัจจัยหลายๆอย่าง ได้แก่ ธรรมชาติของโรคที่เป็นเรื้อรังทำให้ต้องใช้ยาต้านการอักเสบและยากดภูมิคุ้มกันเป็นระยะเวลานาน ประวัติทางการแพทย์ สภาพจิตใจของผู้ป่วย ความร่วมมือในการให้การรักษา และโอกาสในการเกิดปฏิกิริยาจากการใช้ยาาร่วมกัน (drug interaction) ซึ่งปัจจัยเหล่านี้มีส่วนสำคัญในการพิจารณาแนวทางในการวางแผนการรักษาผู้ป่วยด้วย (92)

ในรายที่ผู้ป่วยไม่มีอาการ เช่น ปรากฏเป็นลายเส้นสีขาวในช่องปาก ควรแนะนำผู้ป่วยให้ดูแลสุขภาพในช่องปากให้ดีและให้กลับมาตรวจสุขภาพช่องปากเป็นระยะ ส่วนในรายที่มีการอักเสบแดง รอยถลอก หรือแผล มักทำให้ผู้ป่วยมีอาการปวดแสบปวดร้อนหรือเจ็บปวดมากในช่องปาก ควรให้การรักษารอยโรคเพื่อให้ผู้ป่วยลดความเจ็บปวดและสามารถรับประทานอาหารได้ตามปกติ

ทันตแพทย์ควรตรวจสภาพในช่องปากของผู้ป่วยเพื่อประเมินสุขภาพในช่องปากและกำจัดสิ่งระคายเคืองต่างๆในช่องปาก จุดฟันให้อยู่ในสภาพที่ปกติ เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดการเสียดสีบริเวณรอยโรค และขูดหินน้ำลายให้เรียบร้อย เนื่องจากการสะสมของคราบจุลินทรีย์และหินน้ำลายอาจกระตุ้นให้เกิดการอักเสบของรอยโรคมมากขึ้น ซึ่งอาจส่งผลให้เกิดอาการเจ็บบริเวณแผลมากขึ้นด้วย (93)

จากรายงานการรักษาโรคไลเคนพลาเนียในช่องปากมีหลายวิธี ได้แก่ การรักษาด้วยยา การรักษาด้วยวิธีทางศัลยกรรม และวิธีการอื่นๆ ในปี ค.ศ. 2004 Lodi และคณะ (91) ได้สรุปแนวทางการรักษารอยโรคไลเคนพลาเนียในช่องปากไว้ดังภาพที่ 4

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาพที่ 4 แผนผังแสดงแนวทางการรักษารอยโรคไลเคนพลาเนียในช่องปาก (91)

วิธีการรักษาไลเคนพลาเนียในช่องปากที่นิยมมากที่สุด คือ การใช้สเตียรอยด์ซึ่งมีทั้งชนิดรับประทาน ชนิดฉีด ชนิดพ่น และชนิดทาเฉพาะที่ การใช้สเตียรอยด์ชนิดรับประทานมักใช้ในรายที่มีอาการรุนแรงเท่านั้น เนื่องจากมีผลข้างเคียงหลายประการ รูปแบบที่นิยมใช้จึงเป็นชนิดทาเฉพาะที่ เช่น ไตรแอมซิโนโลนอะเซทโทไนด์ (triamcinolone acetonide) ฟลูโอซิโนโลนอะเซทโทไนด์ (flucinolone acetonide) ฟลูโอซิโนไนด์ (flucinonide) เบต้าเมทาโซลวาเลอเรต (betamethasone valerate) โคลเบตาโซลโพรพิโอเนต (clobetasol propionate) และไฮโดรคอร์ติโซน (hydrocortisone) ซึ่งจากการศึกษาต่างๆไม่พบผลเสียนอกจากการติดเชื้อราแคนดิดาซึ่งเกิดขึ้น

ในช่องปากระหว่างการรักษา แต่สามารถรักษาด้วยยาต้านเชื้อรา นอกจากนี้พบว่ากรดคีอรา แคนดิดาอาจเป็นปัจจัยร่วมในการเกิดรอยแผลอักเสบในผู้ป่วยไลเคนพลาเน็ต จึงมีการนำยาต้านเชื้อรามาใช้ร่วมกับยาสเตียรอยด์เฉพาะที่ เช่น นิสเตติน(nystatin) และยาในกลุ่มเอโซล (azole) (91, 94-96)

การรักษาด้วยยาอื่นๆ ได้แก่ การใช้อนุพันธ์ของวิตามินเอ ซึ่งมีทั้งชนิดรับประทานและชนิดทาเฉพาะที่ ยาควบคุมภูมิต้านทาน เช่น อะซาไทโอพรีน (azathioprine) ซัยโคลสปอริน (cyclosporine) ทาโครลิมีส (tacrolimus) ยาต้านเชื้อจุลชีพ เช่น เตตราไซคลิน (tetracycline) ไฮดรอกซีคลอโรควินซัลเฟต (hydroxychloroquine sulphate) นอกจากนี้ยาอื่นๆที่มีรายงาน เช่น แดปโซน (dapsone) ลีวาไมโซล (levamisole) ฮิวแมนอินเตอร์เฟอรอนเบต้า (HuIFN-beta) อินเตอร์เฟอรอนอัลฟา (systemic interferon-alpha) ฟีนโทอิน (phenytoin) ไกลซีร์ริซิน (glycyrrhizin) และเมซาลาซีน (mesalazine) (1, 22, 91, 92)

การรักษาด้วยการศัลยกรรม ได้แก่ การศัลยกรรมตัดออก (surgical excision) ซึ่งแนะนำในกรณีที่มีฝ้าขาวแยกออกได้ชัดเจนหรือมีแผลถลอกที่ไม่หาย (97, 98) การใช้ศัลยกรรมด้วยความเย็น (cryosurgery) หรือการใช้คาร์บอนไดออกไซด์เลเซอร์ (CO₂ laser) ได้นำมาใช้ในการรักษาไลเคนพลาเน็ตที่มีอาการรุนแรงและไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยวิธีอื่นๆ ไม่พบผลเสียแทรกซ้อนนอกจากมีการกำเริบขึ้นมาใหม่ของรอยโรค (99) มีการนำศัลยกรรมตัดด้วยวิธี free gingival graft มาใช้รักษาไลเคนพลาเน็ตที่มีแผลถลอก (100) ในบริเวณที่ทำศัลยกรรมไปไม่พบรอยโรคขึ้นมาใหม่และอาการหายสมบูรณ์เมื่อติดตามเป็นระยะเวลา 3 ปี 6 เดือน (101) อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าการทำศัลยกรรมอาจกระตุ้นให้เกิดรอยโรคไลเคนพลาเน็ตในช่องปากได้ (102)

วิธีการรักษาอื่นๆ เช่น การฉายแสงและเคมีบำบัด (photochemotherapy) ได้แก่ การใช้ psoralen และ ultraviolet A (PUVA) ซึ่งจะใช้ในการรักษาไลเคนพลาเน็ตที่อาการรุนแรงและมีแผลถลอกที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาทั่วไป ผลข้างเคียงจากการรักษาพบว่ามีอาการคลื่นไส้ มึนงง มีอาการทางตา อาการชาและปวดศีรษะ (103) นอกจากนี้มีรายงานเกี่ยวกับการรักษาด้วย PUVA ทำให้ผู้ป่วยมีโอกาสเป็นมะเร็งได้ (104) อย่างไรก็ตามการรักษาด้วยวิธีดังกล่าวต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป

ตอนที่ 2 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับ TNF- α

Tumor necrosis factor (TNF, TNF- α , cachectin) เป็นไซโตไคน์ที่สร้างจากเซลล์หลายชนิดที่ตอบสนองต่อการอักเสบ การติดเชื้อ การบาดเจ็บ และสภาพแวดล้อมอื่นๆที่เกิดขึ้น (105, 106) TNF- α ยังมีบทบาทที่สำคัญในขบวนการอักเสบและตอบสนองต่อระบบภูมิคุ้มกัน เช่น มีคุณสมบัติต้านไวรัส ควบคุมการเจริญเติบโตของเซลล์ การหายของบาดแผล นอกจากนี้ TNF- α ยังกระตุ้นการเจริญเติบโตของหลอดเลือด (angiogenesis) การละลายตัวของกระดูกและการเพิ่มจำนวนของไฟโบรบลาสต์ (fibroblasts) แต่จะยับยั้งการเพิ่มจำนวนและกระตุ้นการเปลี่ยนแปลงของเคอราติโนไซต์ (107-109) ที่สำคัญ TNF- α มีความเกี่ยวข้องกับการเกิดพยาธิสภาพของโรคมุ้มน้ำเนื้อเยื่อของตัวเองและโรคที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบหลายชนิดได้แก่ systemic lupus erythematosus, rheumatoid arthritis, psoriasis และ Crohn's disease (110-112) ยิ่งไปกว่านั้น TNF- α ยังเป็นไซโตไคน์หลักที่เกี่ยวข้องในปฏิกิริยาการตอบสนองต่อภูมิคุ้มกันชนิดเซลล์เป็นสื่อ (T cell-mediated immunity) (113) ซึ่งมีความสำคัญในการควบคุมไซโตไคน์ในรอยโรคไลเคนพลาเนียในช่องปาก (16)

เซลล์ที่เป็นแหล่งกำเนิด

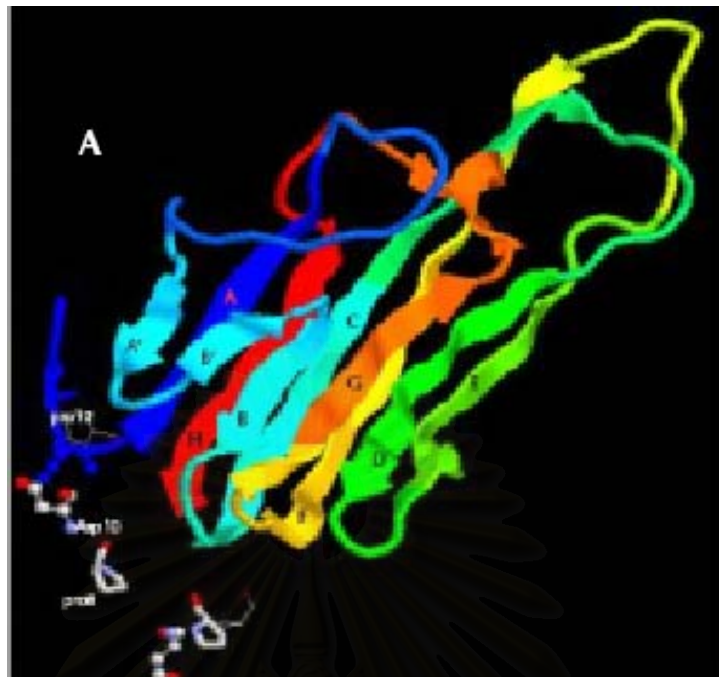
เซลล์หลักที่เป็นแหล่งกำเนิดของ TNF- α คือ activated mononuclear phagocytes ในขณะที่เซลล์หลายชนิดที่ถูกกระตุ้นจะสามารถหลั่ง TNF- α ออกมาได้แก่ ที และ บี-ลิมโฟไซต์, natural killer cells, เซลล์บุผิวหลอดเลือด (endothelial cells), เซลล์มาสต์, ไฟโบรบลาสต์, เซลล์แลงเกอร์ฮานส์ และเคอราติโนไซต์ (ตารางที่ 2) ส่วนตัวกระตุ้นการสร้าง TNF- α ที่สำคัญ ได้แก่ endotoxin, ไวรัสบางชนิด, immune complexes, neuropeptide, substance P และ Interleukin-1 (IL-1) (16, 114)

Cellular sources of TNF-α
monocytes / macrophages
T lymphocytes , B lymphocytes
natural killer cells
endothelial cells
mast cells
fibroblasts
Langerhans cells
keratinocytes

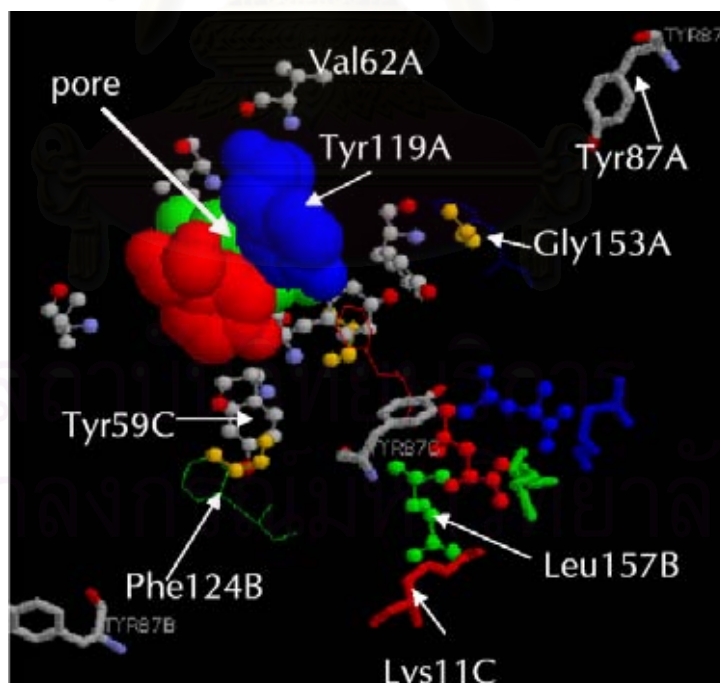
ตารางที่ 2 เซลล์ที่เป็นแหล่งกำเนิดของ TNF- α (16, 113, 115, 116)

โครงสร้างของ TNF- α

TNF- α เป็นโปรตีนที่ประกอบด้วย 2 รูปแบบ ได้แก่ (1) pro-TNF คือ สารตั้งต้น (precursor) ของ TNF- α ที่มีน้ำหนักโมเลกุลขนาด 26 กิโลดัลตัน ซึ่งเป็นโปรตีนชนิด type II transmembrane ที่มีส่วนของปลายอะมิโน (amino terminus) อยู่ในซัยโตพลาสซึม และปลายคาร์บอกซิล (carboxyl terminus) อยู่นอกเซลล์ เมื่อ pro-TNF ถูกสร้างขึ้นบนพลาสมาเมมเบรน (plasma membrane) แล้วส่วนที่ยื่นออกไปนอกเซลล์ (extracellular domain) จะถูกย่อยสลายโปรตีนเพื่อหั่ง TNF- α ออกมา (2) mature TNF- α เป็นโปรตีนขนาด 17 กิโลดัลตัน ซึ่งเป็นรูปแบบที่มีประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ (active form) (105) จากการศึกษาคystallographic แสดงโครงสร้าง monomer ของ TNF- α (ภาพที่ 5) และโครงสร้าง trimer ของ TNF- α ซึ่งมีลักษณะคล้ายระฆัง (bell-shaped trimer) (ภาพที่ 6) (117)



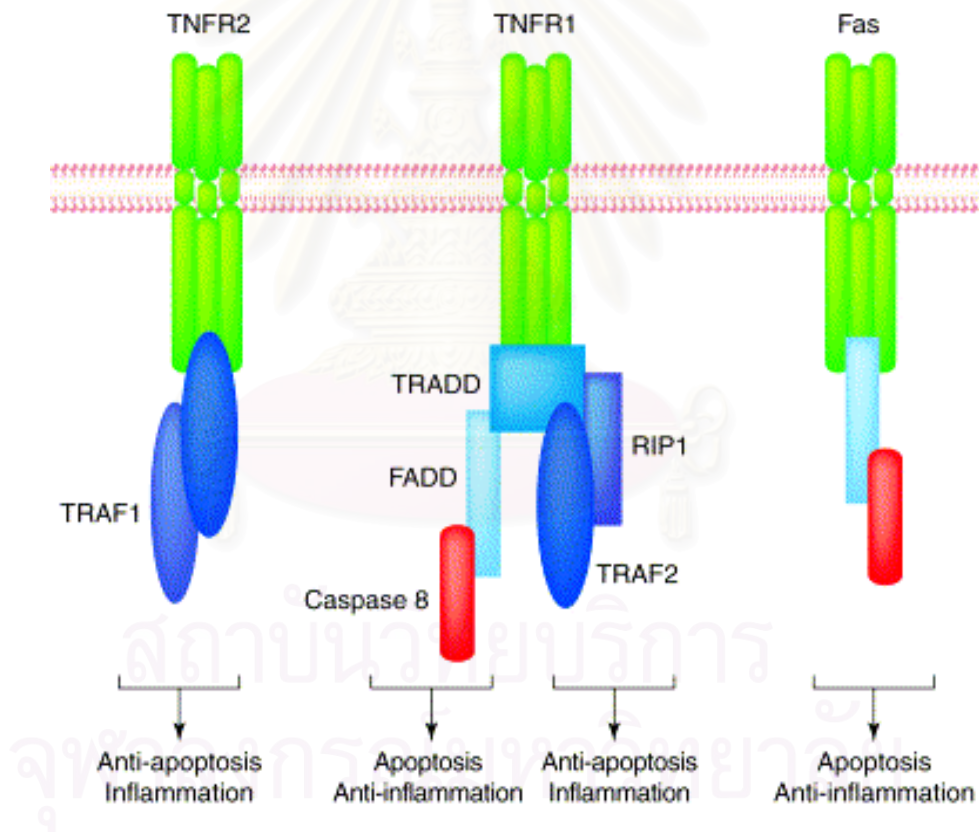
ภาพที่ 5 แสดงโครงสร้าง monomer ของ TNF- α (117)



ภาพที่ 6 แสดงโครงสร้าง trimer ของ TNF- α ซึ่งมีลักษณะด้ายระฆัง (bell-shaped trimer) (117)

Receptors ของ TNF- α

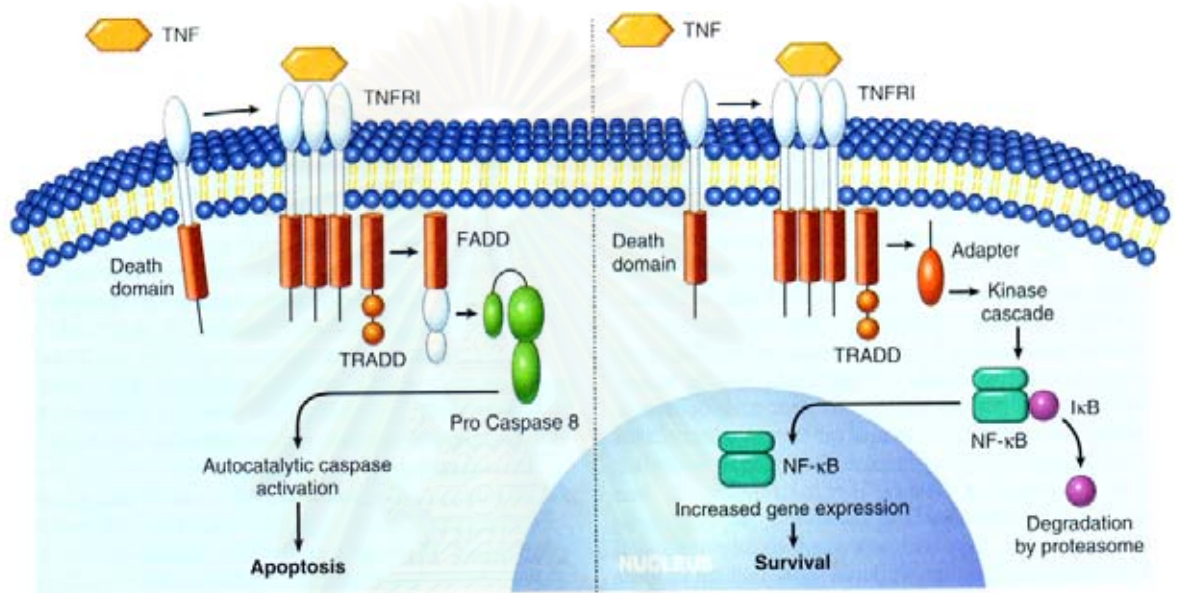
TNF- α มีบทบาทสำคัญในกระบวนการตอบสนองภูมิคุ้มกัน การอักเสบ และ apoptosis ซึ่ง TNF- α จะทำงานโดยการจับกับ receptor ที่จำเพาะ 2 ชนิด คือ type I TNF receptor (TNF-RI) หรือ p55 receptor ที่มีโมเลกุลขนาด 55 กิโลดัลตัน และ type II TNF receptor (TNF-RII) หรือ p75 receptor ที่มีโมเลกุลขนาด 75 กิโลดัลตัน (105, 114) เมื่อ TNF- α จับกับ receptor จะเกิด trimerization แล้วทำให้มีการเพิ่มขึ้นของโปรตีนที่ใช้ในการส่งสัญญาณกับ receptor ที่อยู่ในส่วนไซโตพลาสซึม แล้วจะมีการควบคุมให้ส่งสัญญาณผ่านทาง proapoptotic signaling pathway หรือ antiapoptotic signaling pathway ขึ้นกับธรรมชาติของ receptor และ adaptor proteins ที่เกี่ยวข้อง (ภาพที่ 7) ซึ่งทำให้ TNF- α สามารถออกฤทธิ์ให้ผลในทางตรงข้ามกันได้ (106, 118, 119)



ภาพที่ 7 แสดง receptors ของ TNF- α (TNF-RI, TNF-RII) และ adaptor protein ที่เกี่ยวข้อง (106)

TNF- α จะส่งสัญญาณให้เกิดกระบวนการตายของเซลล์ (apoptosis) ได้โดยไซโตไคน์จะไปเหนี่ยวนำ receptor และ adaptor protein TRADD (TNFR-adaptor protein with a dead domain) ให้มาจับกับ FADD (Fas-associated protein with a dead domain) เพื่อจะไป

กระตุ้น pro-caspase 8 ทำให้เกิด autocatalytic activation ทำให้เกิดการตายของเซลล์ขึ้น อย่างไรก็ตามในสภาวะเดียวกัน TNFR1 ที่จับกับ TRADD และมี adaptor proteins ตัวอื่นมาจับ มีผลทำให้เกิดการกระตุ้นการแตกตัวของ I κ B ออกไปแล้วจะเกิด nuclear factor- κ B (NF- κ B) ซึ่ง NF- κ B เป็น transcription factor จะไปเพิ่มการแสดงออกของยีน ทำให้เซลล์สามารถมีชีวิตอยู่และเกิดการตอบสนองต่อการอักเสบต่อไป ดังภาพที่ 8 (120)



ภาพที่ 8 แสดงการส่งสัญญาณของ TNF ผ่าน TNF-receptor-mediated signaling และเหนี่ยวนำให้เกิดกระบวนการตายของเซลล์ (apoptosis) (รูปด้านซ้าย) หรือเกิดการกระตุ้น NF- κ B แล้วเกิดการตอบสนองต่อการอักเสบ (รูปด้านขวา) (120)

ตอนที่ 3 บทบาทของ TNF- α ในรอยโรคไลเคนพลาเนียช่องปาก

ไลเคนพลาเนียช่องปากเป็นโรคที่เกิดจากการอักเสบจากการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันชนิดเซลล์เป็นสื่อ และมีการสะสมของที-ลิมโฟไซต์ภายในรอยโรคโดยออกมาจากเส้นเลือดขนาดเล็กในบริเวณนั้นแล้วเคลื่อนที่ไปยังเยื่อหุ้มของช่องปาก TNF- α มีหน้าที่สำคัญในการทำให้ที-ลิมโฟไซต์มาอยู่บริเวณรอยโรค โดยทำงานผ่านทาง การเหนี่ยวนำให้เพิ่มการแสดงออกของ CD62E, CD54, CD106 adhesion molecule ของเซลล์บุผิวหลอดเลือด (endothelial cells) และเคอราติโนไซต์ (4, 81, 121) อีกทั้งเซลล์มาสต์ที่เกิดการ degranulation จะหลั่ง TNF- α ซึ่งจะเพิ่มการแสดงออกของ adhesion molecules ซึ่งทำให้เกิดการยึดเกาะของลิมโฟไซต์บริเวณผนัง

หลอดเลือดแล้วมีการเคลื่อนตัวออกนอกหลอดเลือด (extravasation) (80-82) นอกจากนั้นยังมีการปรากฏของแลงเกอร์ฮานส์เซลล์ที่อยู่ในระยะถูกกระตุ้นเป็นจำนวนมากในชั้นเยื่อเมือกในบริเวณรอยโรค (122, 123) ดังนั้นหลักฐานเหล่านี้จึงสนับสนุนบทบาทของ TNF- α ต่อโมเลกุลบนผิวของทีลิมโฟไซต์ เคอราติโนไซต์ เซลล์บุหลอดเลือด และแลงเกอร์ฮานส์เซลล์ ความสัมพันธ์ของ TNF- α กับกลไกการเกิดพยาธิสภาพของรอยโรคไลเคนพลาเนียส ได้แสดงไว้ดังภาพที่ 1 (35)

สำหรับการศึกษาความสัมพันธ์ของ TNF- α ในผู้ป่วยไลเคนพลาเนียส มีรายงานว่าตรวจพบการเพิ่มขึ้นของระดับ TNF- α ในซีรัมของผู้ป่วยไลเคนพลาเนียสอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมปกติ โดยพบการเพิ่มขึ้นของระดับ TNF- α ในซีรัมของผู้ป่วยไลเคนพลาเนียส 19 ราย จากผู้ป่วยทั้งหมด 26 ราย ซึ่งในผู้ป่วยไลเคนพลาเนียสมีระดับ TNF- α ในซีรัมประมาณ 5.2 ± 3.1 ยูนิท/มิลลิลิตร ในขณะที่กลุ่มควบคุมปกติมีระดับ TNF- α ในซีรัมประมาณ 3.1 ± 1.2 ยูนิท/มิลลิลิตร (124) ซึ่งสอดคล้องกับหลายการศึกษาที่ผ่านมา (125-128) จากข้อมูลเหล่านี้จึงช่วยสนับสนุนบทบาทของ TNF- α ในการเหนี่ยวนำให้เกิดพยาธิสภาพในบริเวณรอยโรคไลเคนพลาเนียส

การใช้เทคนิคอิมมูโนฮิสโตเคมีสตรี้ (immunohistochemistry) ในการตรวจหา TNF- α ในรอยโรคไลเคนพลาเนียสในช่องปาก

จากการศึกษาชิ้นเนื้อ frozen sections ของผู้ป่วยที่มีไลเคนพลาเนียสในช่องปากจำนวน 8 ราย พบการแสดงออกของเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อ TNF- α ในทุกเซลล์ที่อยู่ภายในชั้นเยื่อเมือก และพบการติดสีเข้มของเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อ TNF- α ในเซลล์อักเสบที่มีการแทรกซึมในส่วนบนของชั้นลามินา โพรเปรียของผู้ป่วยทั้ง 8 ราย ในขณะที่เนื้อเยื่อปกติจากผู้ป่วยทั้งหมด 10 ราย ตรวจพบการแสดงออกของ TNF- α ในผู้ป่วยเพียง 3 ราย โดยพบการแสดงออกของเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อ TNF- α เพียงบางเซลล์ที่อยู่ภายในชั้นเยื่อเมือก (19)

ต่อมาในปี 2000 มีผู้ศึกษาในชิ้นเนื้อที่แช่ใน 10% ฟอรัมาลินและอยู่ในบล็อกพาราฟินของผู้ป่วยไลเคนพลาเนียสในช่องปาก 22 ราย พบการแสดงออกของเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อ TNF- α ในเซลล์ที่อยู่ภายในชั้นเยื่อเมือกจากชั้นเบซัลเซลล์ถึงชั้นพาราเคอราติน (parakeratin layer) โดยพบการติดสีเข้มของเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อ TNF- α บริเวณชั้นโดพลาสซึมของเคอราติโนไซต์ใน

ผู้ป่วย 9 ราย ในขณะที่อีก 8 ราย พบการติดสีอ่อนถึงปานกลางของเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อ TNF- α ของเคอราติโนไซต์ ส่วนรูปแบบการติดสีของเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อ TNF- α มีลักษณะติดสีอ่อนในส่วนล่างของชั้นเยื่อผิวหนัง ในขณะที่ส่วนบนของชั้นพริกเกิล (prickle cell layer) ของชั้นเยื่อผิวหนังติดสีเข้มที่สุด ในส่วนชั้นที่มีการแทรกซึมของเซลล์อักเสบในรอยโรคไลเคนพลาเนียสพบจำนวนเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อ TNF- α < ร้อยละ 15 ถึง 40 ในผู้ป่วย 11 ราย ส่วนผู้ป่วยอีก 6 ราย พบจำนวนเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อ TNF- α มากกว่าร้อยละ 40 ในขณะที่เนื้องอกไฟโบรมาตรวจไม่พบการแสดงออกของเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อ TNF- α (20)

นอกจากนั้นในปี 2003 ได้ศึกษาการแสดงออกของ TNF- α ในชั้นเนื้อที่อยู่บนเปลือกพาราฟินของผู้ป่วยไลเคนพลาเนียสในช่องปาก 6 ราย จากการตรวจทางอิมมูโนฮิสโตเคมีด้วย standard method โดยใช้แอนติบอดีชนิดโมโนโคลนัล แอนติบอดี พบการแสดงออกของเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อ TNF- α ในโมโนนิวเคลียร์เซลล์ (mononuclear cells) ที่มีแทรกซึมบริเวณใต้ชั้นเยื่อผิวหนังและบริเวณใกล้กับเบซัลเซลล์ นอกจากนี้พบการติดสีของเบซัลเคอราติโนไซต์ มีลักษณะคล้ายเส้นต่อเนื่อง (continuous band) ในรอยโรคไลเคนพลาเนียส (5)

เนื่องจากรอยโรคไลเคนพลาเนียสที่ปรากฏในช่องปากเป็นระยะเวลาาน โดยเฉพาะชนิดดลอกกลีคและชนิดฝ่อลีบสามารถเปลี่ยนเป็นมะเร็งในช่องปากได้ (1, 2) มีการศึกษาความสัมพันธ์ของ TNF- α กับมะเร็งในช่องปาก โดยได้ศึกษาขึ้นเนื้อจากผู้ป่วยมะเร็งในช่องปากชนิดสแควมัสเซลล์คาร์ซิโนมา (squamous cell carcinoma) พบการแสดงออกของเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อ TNF- α ในเซลล์มะเร็งในช่องปากชนิดสแควมัสเซลล์คาร์ซิโนมา โดยพบการติดสีของเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อ TNF- α บริเวณไซโตพลาสซึมรอบๆนิวเคลียส (perinuclear cytoplasm) และในบางเซลล์มีการติดสีเข้มกระจายในไซโตพลาสซึมจากผู้ป่วย 3 ใน 9 ราย จากกลุ่ม high-grade malignancy (129)

การตรวจทางอิมมูโนฮิสโตเคมีด้วยวิธี ABC (avidin-biotin-peroxidase-complex) โดยใช้แอนติบอดีชนิดโพลีโคลนัล แอนติบอดี พบการแสดงออกของเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อ TNF- α ในชั้นเนื้อเหืองจากผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบในผู้ใหญ่ 9 ราย พบการแสดงออกของเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อ TNF- α ในเซลล์เยื่อผิวหนังของร่องเหงือกในชั้นเบซัลเซลล์ ส่วนในชั้นลามินา โพรเปรียพบการแสดงออกของเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อ TNF- α ในเซลล์โมโนไซต์ แมกโครฟาจ ไฟโบรบลาสต์ และเซลล์บุผิวหลอดเลือด (130)

จากงานวิจัยที่ผ่านมาเชื่อว่า TNF- α มีความสัมพันธ์กับการเกิดพยาธิสภาพของ การเกิดโรคไลเคนพลาเน็ตในช่องปาก แต่ยังไม่เคยมีการศึกษาในผู้ป่วยคนไทยมาก่อน ดังนั้น งานวิจัยนี้จะเป็นการศึกษาแรกที่จะแสดงความสัมพันธ์ของกลไกการเกิดโรคในผู้ป่วยคนไทย และ จะเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับงานวิจัยต่อไปในอนาคต



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 3

ระเบียบวิธีวิจัย

วิธีดำเนินการวิจัย

1. ประชากรที่ศึกษา

1.1 กลุ่มผู้ป่วยโรคเอดส์ในช่องปากจำนวน 20 ราย ที่มารับการรักษาที่

- คลินิกบัณฑิตศึกษา ภาควิชาเวชศาสตร์ช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- กลุ่มงานทันตกรรม โรงพยาบาลสระบุรี จ.สระบุรี

ผู้ป่วยดังกล่าวมีอายุระหว่าง 20-70 ปี โดยมีรอยโรคเอดส์ในช่องปากชนิดฝ่อลีบหรือชนิดแผลถลอกที่ได้รับการวินิจฉัยโรคจากการตรวจทางคลินิก และลักษณะทางพยาธิของรอยโรค ผู้ป่วยไม่เคยได้รับการรักษาด้วยยาต้านไวรัสทั้งชนิดรับประทาน หรือทาเฉพาะที่ หรือยาอื่นๆในการรักษารอยโรค เอดส์ในช่องปาก หรือหยุดการรักษารอยโรคเอดส์ในช่องปากอย่างน้อย 1 เดือน นอกจากนั้นผู้ป่วยไม่มีโรคประจำตัวที่ร้ายแรง และไม่ได้อยู่ระหว่างรับประทานยาต้านไวรัสเป็นประจำ หรือมีวัสดุทางทันตกรรมใดๆในช่องปากที่สัมผัสกับรอยโรคและสงสัยว่าเป็นรอยโรคคล้ายรอยโรคเอดส์ ผู้ป่วยทุกรายจะได้อ่านและลงชื่อในเอกสารยินยอมเข้าร่วมการศึกษาวิจัย ซึ่งได้ผ่านความเห็นชอบจากคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมในมนุษย์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จากนั้นได้ทำการตรวจในช่องปากผู้ป่วย บันทึกประวัติ ข้อมูล และรายละเอียดของผู้ป่วยในฟอร์มบันทึกข้อมูล

ลักษณะทางคลินิกของรอยโรคไลเคนพลาเนียในช่องปากชนิดต่างๆจะได้รับการแบ่งลักษณะและความรุนแรงของรอยโรค โดยจัดลำดับคะแนน ดังนี้คือ (131)

คะแนน 5 : รอยโรคเป็นลายเส้นสีขาวหนาตัวขึ้นจากพื้นผิว (keratotic white striae) เชื้อดงไม่ออก ร่วมกับรอยแผลถลอกแดง (erosive lesion) ขนาดใหญ่ตั้งแต่ 1 ตารางเซนติเมตรขึ้นไป

คะแนน 4 : รอยโรคเป็นลายเส้นสีขาวเชื้อดงไม่ออก ร่วมกับรอยแผลถลอกแดงขนาดเล็กกว่า 1 ตารางเซนติเมตร

คะแนน 3 : รอยโรคเป็นลายเส้นสีขาวเชื้อดงไม่ออก ร่วมกับรอยแดง (erythematous lesion) ขนาดใหญ่ตั้งแต่ 1 ตารางเซนติเมตรขึ้นไป

คะแนน 2 : รอยโรคเป็นลายเส้นสีขาวเชื้อดงไม่ออก ร่วมกับรอยแดงขนาดเล็กกว่า 1 ตารางเซนติเมตร

คะแนน 1 : รอยโรคเป็นลายเส้นสีขาวจางๆเชื้อดงไม่ออก ไม่พบรอยแดงหรือแผล

คะแนน 0 : ลักษณะเนื้อเยื่อปกติ ไม่พบรอยโรค

1.2 กลุ่มควบคุมเป็นขึ้นเนื่องจากเนื้อเยื่อปกติในช่องปาก ซึ่งได้รับจาก ผศ.ทพ.ดร. พลธรรม ไชยฤทธิ์ ภาควิชาวินิจฉัยโรคช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จำนวน 20 ราย โดยขึ้นเนื้อทั้งหมดนี้ได้มาระหว่างการผ่าฟันคุด ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของโครงการวิจัย และผ่านคณะกรรมการจริยธรรมในการวิจัยของมหาวิทยาลัยขอนแก่นแล้ว

2. วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

2.1 วัสดุอุปกรณ์

1. ชุดตรวจ (mouth mirror, forceps, explorer)
2. เครื่องมือตัดชิ้นเนื้อชนิดเจาะ (punch biopsy \varnothing 6 mm. ; Diethelm & Co., Ltd., Thailand)
3. ยาชา (2% Scandonest, Thailand) และเข็มฉีดยา (needle 27 gauge x 1 inch; Terumo, Thailand)
4. glass slide และ cover slip
5. moist chamber
6. ตู้เย็นรักษาอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (VM Lab Co., Ltd., Thailand)
7. เครื่องดูดควันและสารเคมี (ERLA series 4000, USA)
8. กล้องจุลทรรศน์ชนิดแสงขาว (Olympus BH-2, Japan)
9. เครื่องชั่งน้ำหนัก (Metler Toledo, Switzerland)
10. หม้อต้มน้ำ waterbath (GFL D-3000 Burgwedel 1 , Germany)
11. เครื่อง microtome (AO 820, Germany)
12. เครื่องอบสไลด์ (Chicago Surgical & Electrical Co., USA)
13. อุปกรณ์เครื่องแก้วสำหรับการย้อมสไลด์

14. ฟิล์มถ่ายภาพ (Kodak 100)

15. อุปกรณ์เบ็ดเตล็ด เช่น ปิเปต เทปติดฉลาก ฝักก๊อช กระดาษซับ และ coplin jar

2.2 น้ำยาและสารเคมี

1. น้ำยาและสารเคมีทั่วไป

- formalin 10%
- absolute alcohol
- methyl alcohol
- hydrogen peroxide 30%
- acetone
- 0.01 M sodium citrate pH6.0
- PBS (phosphate buffered saline)
- calcium chloride
- hematoxylin stain
- xylene
- Scott tap water

- acid alcohol

2. น้ำยาและสารเคมีในการตรวจทางอิมมูโนฮิสโตเคมี

- 3-aminopropyl-triethoxysilane (APES; Sigma, USA)

- goat anti-human TNF- α primary antibody (polyclonal, Santa Cruz Biotechnology, USA)

- goat ABC staining system (Santa Cruz Biotechnology, USA) :

1.5% normal blocking serum

biotinylated secondary antibody

avidin-biotinylated horseradish peroxidase (AB reagents)

peroxidase substrate

DAB chromogen (3-3' diaminobenzidine tetrahydrochloride)

substrate buffer

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3. วิธีการศึกษา

3.1 การเก็บตัวอย่างชิ้นเนื้อ

ทำการเก็บตัวอย่างชิ้นเนื้อจากผู้ป่วยไคเคนพลาน้ำสในช่องปาก ด้วยวิธี punch biopsy ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร ในบริเวณที่นิคยาซาเฉพาะที่ของรอยโรคที่ต้องการเก็บชิ้นเนื้อ แล้วห้ามเลือดด้วยผ้าก๊อชบริเวณที่ตัดชิ้นเนื้อ และนำตัวอย่างชิ้นเนื้อที่แช่ใน 10% ฟอर्मาลินส่งไปยังภาควิชาทันตพยาธิวิทยาทันที

3.2 การตรวจด้วยวิธีการทางอิมมูโนฮิสโตเคมี

นำตัวอย่างชิ้นเนื้อที่แช่ใน 10% ฟอर्मาลินแล้วใส่ลงในบล็อคนิคราฟีน แล้วนำมาตัดชิ้นเนื้อด้วยเครื่อง microtome ในห้องปฏิบัติการตรวจสอบชิ้นเนื้อทางพยาธิวิทยา โดยตัดที่ความหนา 5 ไมครอน แล้วนำมาติดบนสไลด์แก้วที่สะอาดและได้รับการเคลือบสารยึดติดเนื้อเยื่อด้วย 3-aminopropyl-triethoxysilane ซึ่งได้เตรียมไว้ล่วงหน้า จากนั้นนำตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ได้ตัดและวางบนแผ่นสไลด์แก้ว มาอบด้วยเครื่องอบสไลด์ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง แล้วทำการย้อมตัวอย่างชิ้นเนื้อและตรวจด้วยวิธีทางอิมมูโนฮิสโตเคมี

วิธีการทางอิมมูโนฮิสโตเคมีซึ่งมีการดัดแปลงจากการศึกษาของ Sklavounou และคณะ (20) ในปี ค.ศ. 2000 ประกอบด้วยขั้นตอนการย้อมสไลด์ดังต่อไปนี้

1. จัดสไลด์แก้วออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มทดลองซึ่งเป็นชิ้นเนื้อไคเคนพลาน้ำสในช่องปาก และกลุ่มควบคุมเนื้อเยื่อโดยใช้เนื้อเยื่อปกติในช่องปาก (normal mucosa) สำหรับกลุ่มควบคุมผลบวกโดยใช้ชิ้นเนื้อรอยโรคมะเร็งในช่องปากชนิดสแควมัสเซลล์คาร์ซิโนมา (squamous cell carcinoma) (20) ซึ่งทั้งหมดจะถูกทำปฏิกิริยากับแอนติบอดีต่อ TNF- α ส่วนกลุ่มควบคุมผลลบของชิ้นเนื้อไคเคนพลาน้ำสในช่องปากที่ไม่ใส่ primary antibody จะแทนที่ด้วย phosphate buffered saline (PBS)
2. กำจัดพาราฟินและแทนที่น้ำในชิ้นเนื้อบนแผ่นสไลด์ด้วย xylene 2 ครั้งๆ ละ 10 นาที และ absolute alcohol 2 ครั้งๆ ละ 15 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำสะอาด

3. ทำการแช่ตำแหน่งการจดจำของแอนติบอดีบนสายโปรตีน (antigen retrieval) ด้วยการใช้หม้อต้ม waterbath ให้ความร้อนกับสไลด์แก้วใน 0.01 M sodium citrate buffer (pH 6.0) โดยให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 50 นาที หลังจากทำการแช่ตำแหน่งการจดจำของแอนติบอดีแล้วนำสไลด์ที่อยู่ในภาชนะดังกล่าวออกจากหม้อต้ม waterbath ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 30 นาที จากนั้นนำสไลด์ทั้งหมดมาล้างด้วยน้ำสะอาดเป็นเวลา 10 นาที
4. นำสไลด์มาแช่ลงใน 2% hydrogen peroxide เป็นเวลา 10 นาที เพื่อกำจัด endogenous peroxidase
5. ล้างด้วยน้ำสะอาดเป็นเวลา 5 นาที
6. นำสไลด์แก้วมาแช่และล้างใน phosphate buffered saline (PBS) เป็นเวลา 10 นาที
7. ใ้ goat anti-human TNF- α antibody (polyclonal, 1:50, Santa Cruz Biotechnology, USA) ด้วย 1.5% normal blocking serum in PBS เก็บไว้ใน moist chamber ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ข้ามคืน (overnight incubation) สำหรับกลุ่มควบคุมผลลบทำการทดลองในลักษณะเดียวกัน โดย primary antibody จะถูกแทนที่ด้วย PBS
8. จากนั้นนำมาล้างด้วย PBS 2 ครั้งๆ ละ 15 นาที
9. ใ้ biotinylated secondary antibody ที่เหมาะสมกับชนิดของ primary antibody เก็บไว้ใน moist chamber ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 60 นาที
10. จากนั้นนำมาล้างด้วย PBS 2 ครั้งๆ ละ 15 นาที
11. ใ้ avidin-biotinylated horseradish peroxidase เก็บใน moist chamber ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที
12. จากนั้นนำมาล้างด้วย PBS 2 ครั้งๆ ละ 15 นาที

13. ใส่ peroxidase substrate, DAB chromogen และ substrate buffer ที่เตรียมไว้ให้ทำปฏิกิริยากับชิ้นเนื้อตัวอย่างเป็นเวลา 10 นาที
14. ล้างสไลด์ด้วยน้ำสะอาดเป็นเวลา 5 นาที
15. นำมาข้อมทับ (counterstain) ด้วยสีฮีมาทอกไซลิน
16. นำสไลด์ที่ผ่านการทำปฏิกิริยาแช่ลงใน acid alcohol และ Scott tap water แล้วไปทำการดึ่งน้ำออกจากตัวอย่างเนื้อเยื่อบนสไลด์แก้วด้วยการแช่ลงใน alcohol และ xylene
17. ปิดด้วย cover slip

3.3 การประเมินปริมาณของการติดสี

หลังจากนั้นทำการประเมินปริมาณของการติดสี (stained cells) โดยอ่านผลและบันทึกข้อมูลด้วยการถ่ายภาพจากกล้องจุลทรรศน์ชนิดแสงขาวโดยมีเกณฑ์ ดังนี้

3.3.1. การเลือกตำแหน่งชิ้นเนื้อที่นับเซลล์

การเลือกตำแหน่งชิ้นเนื้อที่จะนับเซลล์บริเวณรอยต่อของเยื่อผิวกับเนื้อเยื่อเกี่ยวพันของชิ้นเนื้อผู้ป่วย ผู้ป่วยละ 4 ตำแหน่ง คือ บริเวณซ้ายสุด 1 ตำแหน่ง กลาง 2 ตำแหน่ง และขวาสุด 1 ตำแหน่ง และทำการถ่ายภาพโดยใช้ objective เลนส์ ที่กำลังขยาย 40 เท่า และถ่ายภาพโดยผ่านเลนส์อีกตัวที่มีกำลังขยาย 5 เท่า ทำให้กำลังขยายทั้งหมด 200 เท่า

3.3.2. การนับจำนวนเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อ TNF- α ในเนื้อเยื่อ

การแสดงออกของเซลล์ที่ให้ผลบวกทางอิมมูโนฮิสโตเคมีต่อ TNF- α คือเซลล์ที่ติดสีน้ำตาลบริเวณนิวเคลียส (nucleus) และ/ หรือ ไซโตพลาสซึม (cytoplasm) และ/ หรือ ผนังเซลล์ (cell membrane) ทำการนับซ้ำ 2 ครั้ง และใช้ผู้อ่านผล 2 คน

3.3.3. การนับแยกเซลล์ที่ให้ผลบวก

เซลล์ที่มีการติดสีน้ำตาลที่บริเวณซัยโตพลาสซึม และ/หรือนิวเคลียสของเซลล์ที่อยู่ในบริเวณรอยโรคจะถูกนับแยกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ เคอราติโนไซต์ และโมโนนิวเคลียร์เซลล์ โดยนับทั้งแมคโครฟาจและลิมโฟไซต์ที่บริเวณรอยโรคไลเคนพลาเนีย โดยนับรวมกันเป็นโมโนนิวเคลียร์เซลล์ที่ให้ผลบวก (positive mononuclear cells) ตามการศึกษาของ Sklavounou และคณะ (20) ในปี ค.ศ. 2000

3.3.4. การนับโมโนนิวเคลียร์เซลล์ที่แทรกซึมบริเวณลามินา โพรเปรีย

การนับโมโนนิวเคลียร์เซลล์ที่แทรกซึมบริเวณรอยโรค (mononuclear cell count) โดยนับทั้งแมคโครฟาจและลิมโฟไซต์ที่แทรกซึมบริเวณลามินา โพรเปรียในบริเวณรอยโรคไลเคนพลาเนีย

การวิเคราะห์ข้อมูลและสถิติที่ใช้ในการวิจัย

การทดสอบทางสถิติต่างๆจะใช้โปรแกรม SPSS 11.5 for windows คำนวณหาค่า p โดยกำหนดระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$ โดยนำข้อมูลที่ตรวจนับได้โดย immunostaining จากรอยโรคไลเคนพลาเนียในช่องปากเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยเปรียบเทียบความแตกต่างของการแสดงออกของโปรตีน TNF- α และจำนวนโมโนนิวเคลียร์เซลล์ที่แทรกซึมบริเวณลามินา โพรเปรียในรอยโรคไลเคนพลาเนียและเนื้อเยื่อกลุ่มควบคุมด้วยวิธี independent-sample t test หรือ Mann-Whitney U

การเปรียบเทียบความแตกต่างของจำนวนผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของ TNF- α ระหว่างกลุ่มไลเคนพลาเนียในช่องปากและกลุ่มควบคุมใช้วิธี Chi-square

การทดสอบความสัมพันธ์ของการแสดงออกของ TNF- α และชนิดของรอยโรคไลเคนพลาเนียในช่องปากใช้วิธี Chi-square

ข้อมูลพื้นฐานทั่วไปของผู้ป่วย และลักษณะเซลล์ที่มีการติดสีในรอยโรคไลเคนพลาเนียในช่องปากใช้สถิติเชิงพรรณนา (descriptive statistics)

บทที่ 4

ผลการศึกษา

จำนวนผู้ป่วย เพศ อายุ ระยะเวลาของการเกิดโรค ชนิด ตำแหน่งและบริเวณที่ตัดชิ้นเนื้อตัวอย่างของรอยโรคในช่องปากของผู้ป่วยไคเนพลาเน็ตที่เข้าร่วมการศึกษา

ผู้ป่วยไคเนพลาเน็ตในช่องปากจำนวน 20 ราย ที่เข้าร่วมการศึกษานี้ประกอบด้วย ผู้ป่วยหญิง 14 ราย (ร้อยละ 70) และผู้ป่วยชาย 6 ราย (ร้อยละ 30) คิดเป็นอัตราส่วนหญิง : ชาย ประมาณ 2:1

อายุเฉลี่ยของกลุ่มผู้ป่วยไคเนพลาเน็ตในช่องปากเท่ากับ 38.65 ± 11.17 ปี (ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน) โดยมีช่วงอายุอยู่ระหว่าง 17-61 ปี ระยะเวลาของการเกิดรอยโรคนับถึงวันที่ทำการศึกษาอยู่ในช่วง 1 สัปดาห์ ถึง 120 เดือน และมีระยะเวลาเฉลี่ยของการเกิดรอยโรคนับถึงวันที่ทำการศึกษาเท่ากับ 29.99 ± 37.69 เดือน

ชนิดของรอยโรคไคเนพลาเน็ตในช่องปากที่ตรวจพบคือ ชนิดแผลถลอก 13 ราย (ร้อยละ 65) และ ชนิดฝ่อลีบ 7 ราย (ร้อยละ 35)

ตำแหน่งของรอยโรคไคเนพลาเน็ตในช่องปากในผู้ป่วยหนึ่งรายอาจพบรอยโรคได้หลายตำแหน่งในช่องปาก โดยตำแหน่งที่พบมากที่สุดคือ บริเวณเยื่อบุกระพุ้งแก้ม 19 ราย (ร้อยละ 95) บริเวณที่พบรองลงมาตามลำดับ ได้แก่ บริเวณเหงือก 7 ราย (ร้อยละ 35) บริเวณลิ้น 5 ราย (ร้อยละ 25) บริเวณรอยต่อระหว่างกระพุ้งแก้มและเหงือก 4 ราย (ร้อยละ 20) ส่วนบริเวณริมฝีปาก เยื่อริมฝีปาก เพดานปาก และพื้นช่องปากพบตำแหน่งละ 1 ราย (ร้อยละ 5) สำหรับบริเวณที่ตัดชิ้นเนื้อตัวอย่างของรอยโรคไคเนพลาเน็ตในช่องปาก บริเวณที่ตัดบ่อยที่สุดคือ เยื่อบุกระพุ้งแก้ม 18 ราย (ร้อยละ 90) บริเวณรองลงมา ได้แก่ รอยต่อระหว่างกระพุ้งแก้มและเหงือก 1 ราย (ร้อยละ 5) และเหงือก 1 ราย (ร้อยละ 5) ซึ่งข้อมูลทั้งหมดแสดงดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 แสดงจำนวนผู้ป่วย เพศ อายุ ระยะเวลาของการเกิดโรค ชนิด ตำแหน่งและบริเวณที่
ตัดขึ้นเนื้อตัวอย่างของรอยโรคในช่องปากของผู้ป่วยไลเคนพลาเน็ตที่เข้าร่วมการศึกษา

จำนวนผู้ป่วย	20 คน
เพศ	หญิง 14 คน (ร้อยละ 70) ชาย 6 คน (ร้อยละ 30)
อัตราส่วน หญิง : ชาย	2 : 1
ช่วงอายุ	17 - 61 ปี
อายุเฉลี่ย	38.65 ± 11.17 ปี
ระยะเวลาของการเกิดรอยโรค (นับถึงวันที่ทำการศึกษา)	1 สัปดาห์- 120 เดือน
ระยะเวลาเฉลี่ยของการเกิดรอย โรค (นับถึงวันที่ทำการศึกษา)	29.99 ± 37.69 เดือน
ชนิดของรอยโรค	แผลดลอก 13 (ร้อยละ 65) ฝ่อลิบ 7 (ร้อยละ 35)
ตำแหน่งของรอยโรคในช่อง ปาก*	เยื่อกระพุ้งแก้ม 19 (ร้อยละ 95) เหงือก 7 (ร้อยละ 35) ลิ้น 5 (ร้อยละ 25) รอยต่อระหว่างกระพุ้งแก้มและเหงือก 4 (ร้อยละ 20) ริมฝีปาก 1 (ร้อยละ 5) เยื่อริมฝีปาก 1 (ร้อยละ 5) เพดานปาก 1 (ร้อยละ 5) พื้นช่องปาก 1 (ร้อยละ 5)
บริเวณที่ตัดขึ้นเนื้อตัวอย่างของ รอยโรคในช่องปาก	เยื่อกระพุ้งแก้ม 18 (ร้อยละ 90) รอยต่อระหว่างกระพุ้งแก้มและเหงือก 1 (ร้อยละ 5) บริเวณเหงือก 1 (ร้อยละ 5)

* ผู้ป่วยหนึ่งรายอาจพบรอยโรคได้หลายตำแหน่งในช่องปาก

จากการศึกษาเปรียบเทียบข้อมูลต่างๆในกลุ่มผู้ป่วยไลเคนพลาเนียในช่องปากและกลุ่มควบคุมได้แสดงผลการศึกษาไว้ดังนี้

อายุ เพศ และตำแหน่งที่ตัดชิ้นเนื้อตัวอย่างของรอยโรคในช่องปากของกลุ่มผู้ป่วยไลเคนพลาเนียในช่องปากและกลุ่มควบคุม

กลุ่มผู้ป่วยไลเคนพลาเนียในช่องปากจำนวน 20 ราย ประกอบด้วยผู้ป่วยชาย 6 ราย และผู้ป่วยหญิง 14 ราย คิดเป็นอัตราส่วนชาย : หญิง ประมาณ 1:2 ช่วงอายุอยู่ระหว่าง 17-61 ปี โดยมีอายุเฉลี่ย 38.65 ± 11.17 ปี สำหรับตำแหน่งที่ตัดชิ้นเนื้อตัวอย่างของรอยโรคไลเคนพลาเนียในช่องปาก ได้แก่ เยื่อบุกระพุ้งแก้ม 18 ราย รอยต่อระหว่างกระพุ้งแก้มและเหงือก 1 ราย และบริเวณเหงือก 1 ราย

กลุ่มควบคุมจำนวน 20 ราย เป็นเพศชาย 7 ราย และเพศหญิง 13 ราย คิดเป็นอัตราส่วนชาย : หญิง ประมาณ 1:2 ช่วงอายุระหว่าง 16-38 ปี โดยมีอายุเฉลี่ย 21.35 ± 4.32 ปี ส่วนตำแหน่งที่ตัดชิ้นเนื้อตัวอย่างจากเนื้อเยื่อปกติในช่องปาก ได้แก่ เหงือกใกล้กับฟันกรามซี่สุดท้าย (retromolar area) 19 ราย และเยื่อบุริมฝีปาก 1 ราย (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 เพศ อายุ ตำแหน่งที่ตัดชิ้นเนื้อตัวอย่างของรอยโรค และระยะเวลาของการเกิดโรคของผู้ป่วยไลเคนพลาเนียในช่องปากและกลุ่มควบคุมเนื้อเยื่อปกติ

กลุ่ม	เพศ ชาย:หญิง	อายุเฉลี่ย (ปี)	ตำแหน่งที่ตัด ชิ้นเนื้อ*	ระยะเวลาเฉลี่ยของ การเกิดโรค (เดือน)
ไลเคนพลาเนีย (20 ราย)	1:2	$38.65 \pm 11.17 (17-61)$	B=18 M=1 G=1	29.99 ± 37.69 (0.25-120)
เนื้อเยื่อปกติ (20 ราย)	1:2	$21.35 \pm 4.32 (16-38)$	R=19 L=1	-

*B = buccal mucosa

G = gingiva

R = retromolar area

M = mucobuccal fold

L = labial mucosa

ผลการตรวจทางอิมมูโนฮิสโตเคมี

พบว่ามีการแสดงออกทางอิมมูโนฮิสโตเคมีต่อ TNF- α ในผู้ป่วยไลเคนพลาเนียในช่องปาก 18 ใน 20 ราย (ร้อยละ 90) โดยพบการแสดงออกของ TNF- α ได้ในเซลล์หลายชนิด ได้แก่ โมโนนิวเคลียร์เซลล์ เคอราติโนไซต์ และเซลล์แลงเกอร์ฮานส์ ซึ่งในผู้ป่วยทั้ง 18 ราย พบการแสดงออกของเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อ TNF- α ในโมโนนิวเคลียร์เซลล์ โดยพบประมาณร้อยละ 0-11.07 ของโมโนนิวเคลียร์เซลล์ที่มีการแทรกซึมบริเวณใต้ชั้นเยื่อผิวหนังในบริเวณรอยโรค ซึ่งรูปแบบการติดสีมีลักษณะเป็นเม็ดกระจายเข้มเต็มเซลล์ นอกจากนี้พบการแสดงออกของเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อ TNF- α ที่บริเวณเคอราติโนไซต์ในผู้ป่วย 7 จาก 20 ราย (ร้อยละ 35) โดยพบการติดสีของเซลล์ในชั้นเบซัลเซลล์และชั้นพริกเกิล (prickle cell layer) ประมาณร้อยละ 0-27.34 ในผู้ป่วย 2 จาก 7 ราย พบการติดสีที่ชัดเจนบริเวณเบซัลเคอราติโนไซต์ซึ่งรูปแบบการติดสีในเคอราติโนไซต์มีลักษณะเป็นจุดเล็กๆกระจายรอบๆเซลล์ นอกจากนี้พบการแสดงออกของ TNF- α ในเซลล์แลงเกอร์ฮานส์เป็นจำนวนมากบริเวณชั้นเยื่อผิวหนังในบริเวณรอยโรคของผู้ป่วย 1 ราย (ร้อยละ 5) ในขณะที่กลุ่มควบคุมเนื้อเยื่อปกติพบการแสดงออกของเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อ TNF- α เพียง 2 ราย (ร้อยละ 10) โดยพบใน โมโนนิวเคลียร์เซลล์บริเวณใต้ชั้นเยื่อผิวหนัง 1-2 เซลล์ (ตารางที่ 5 และ 6)

ตารางที่ 5 แสดงค่าเฉลี่ยของจำนวนโมโนนิวเคลียร์เซลล์ที่มีการแสดงออกทางอิมมูโนฮิสโตเคมีต่อ TNF- α และค่าเฉลี่ยของโมโนนิวเคลียร์เซลล์บริเวณลามินา โพรเปรียของผู้ป่วย ไคเคนพลาเนียในช่องปากและกลุ่มควบคุมเนื้อเยื่อปกติ ที่กำลังขยายขนาด 200 เท่า

OLP*				Normal mucosa		
No.	Type**	No. of positive mononuclear cells	Mononuclear cell count	No.	No. of positive mononuclear cells	Mononuclear cell count
1	E-LP	7.33	245.60	1	0.50	35.25
2	E-LP	6.75	243.75	2	0.00	33.25
3	A-LP	6.55	207.00	3	0.00	43.75
4	A-LP	5.33	211.00	4	0.00	25.75
5	E-LP	1.50	208.67	5	0.00	33.75
6	E-LP	7.00	212.50	6	0.50	23.00
7	E-LP	11.50	135.50	7	0.00	25.75
8	A-LP	8.25	200.00	8	0.00	34.25
9	E-LP	14.17	128.00	9	0.00	17.00
10	E-LP	0.00	280.00	10	0.00	24.25
11	E-LP	16.33	222.00	11	0.00	20.50
12	A-LP	8.67	146.67	12	0.00	29.50
13	E-LP	6.67	117.00	13	0.00	27.25
14	A-LP	3.67	194.00	14	0.00	33.25
15	A-LP	5.00	159.00	15	0.00	26.75
16	A-LP	8.33	92.00	16	0.00	17.25
17	E-LP	2.00	145.00	17	0.00	27.50
18	E-LP	6.67	158.67	18	0.00	17.75
19	E-LP	2.33	94.67	19	0.00	13.25
20	E-LP	0.00	156.67	20	0.00	28.50
Total	E-LP=13 A-LP = 7	Mean \pm SD 6.40 \pm 4.30	Mean \pm SD 177.88 \pm 52.14	Total	Mean \pm SD 0.05 \pm 0.15	Mean \pm SD 26.88 \pm 7.53

*OLP = Oral lichen planus

** A-LP = Atrophic oral lichen planus

E-LP = Erosive oral lichen planus

ตารางที่ 6 แสดงค่าเฉลี่ยของจำนวนเคอราตินโนซัยต์ที่มีการแสดงออกทางอิมมูโนฮิสโตเคมีต่อ TNF- α และค่าเฉลี่ยของเคอราตินโนซัยต์บริเวณเยื่อผิวของผู้ป่วยไลเคนพลาแนส ในช่องปากและกลุ่มควบคุมเนื้อเยื่อเยื่อปกติ ที่กำลังขยายขนาด 200 เท่า

OLP*				Normal mucosa		
No.	Type**	No. of positive keratinocytes	Keratinocyte count	No.	No. of positive keratinocytes	Keratinocyte count
1	E-LP	0.00	101.00	1	0.00	71.75
2	E-LP	2.00	41.00	2	0.00	56.25
3	A-LP	3.00	58.67	3	0.00	72.50
4	A-LP	0.00	37.50	4	0.00	65.00
5	E-LP	0.00	45.00	5	0.00	41.75
6	E-LP	0.00	38.00	6	0.00	70.75
7	E-LP	0.00	47.50	7	0.00	86.00
8	A-LP	0.00	25.00	8	0.00	93.25
9	E-LP	3.33	59.33	9	0.00	93.00
10	E-LP	0.00	64.00	10	0.00	88.75
11	E-LP	0.00	60.33	11	0.00	60.50
12	A-LP	0.67	59.67	12	0.00	75.25
13	E-LP	17.50	64.00	13	0.00	78.75
14	A-LP	0.00	68.00	14	0.00	71.75
15	A-LP	1.00	56.67	15	0.00	104.50
16	A-LP	0.00	57.00	16	0.00	83.00
17	E-LP	0.00	33.50	17	0.00	103.25
18	E-LP	10.33	41.00	18	0.00	87.00
19	E-LP	0.00	45.00	19	0.00	71.00
20	E-LP	0.00	35.50	20	0.00	81.50
Total	E-LP=13	Mean \pm SD	Mean \pm SD	Total	Mean \pm SD	Mean \pm SD
20	A-LP = 7	1.89 \pm 4.39	51.88 \pm 16.74	20	0.00 \pm 0.00	77.77 \pm 15.52

*OLP = Oral lichen planus

** A-LP = Atrophic oral lichen planus

E-LP = Erosive oral lichen planus

การเปรียบเทียบการแสดงออกของ TNF- α ในกลุ่มผู้ป่วยไลเคนพลาเนียในช่องปากและกลุ่มควบคุม

กลุ่มผู้ป่วยไลเคนพลาเนียในช่องปากจำนวน 20 ราย มีการแสดงออกทางอิมมูโนฮิสโตเคมีต่อ TNF- α ในผู้ป่วย 18 ราย ในขณะที่กลุ่มควบคุมเนื้อเยื่อปกติจำนวน 20 ราย พบการแสดงออกทางอิมมูโนฮิสโตเคมีต่อ TNF- α ใน 2 ราย (ตารางที่ 7)

ตารางที่ 7 แสดงผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของ TNF- α ในกลุ่มไลเคนพลาเนียในช่องปากและกลุ่มควบคุม

การแสดงออกทางอิมมูโนฮิสโตเคมี ต่อ TNF- α	กลุ่ม	
	ไลเคนพลาเนียในช่องปาก(คน)	เนื้อเยื่อปกติ(คน)
มี	18	2
ไม่มี	2	18

เมื่อใช้วิธี Chi-square และ Fisher's Exact Test เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มทั้งสอง พบว่าการแสดงออกทางอิมมูโนฮิสโตเคมีต่อ TNF- α ในกลุ่มผู้ป่วยไลเคนพลาเนียในช่องปาก แตกต่างจากกลุ่มควบคุมเนื้อเยื่อปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.000$)

โมโนนิวเคลียร์เซลล์และเคอราตินocytes ที่มีการแสดงออกทางอิมมูโนฮิสโตเคมีต่อ TNF- α ของกลุ่มผู้ป่วยไลเคนพลาเนียในช่องปากและกลุ่มควบคุม

โมโนนิวเคลียร์เซลล์ที่มีการแสดงออกทางอิมมูโนฮิสโตเคมีต่อ TNF- α ในกลุ่มผู้ป่วยไลเคนพลาเนียในช่องปากมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 6.40 ± 4.30 เซลล์ ในขณะที่กลุ่มควบคุมเนื้อเยื่อปกติมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.05 ± 0.15 เซลล์ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนโมโนนิวเคลียร์เซลล์ที่มีการแสดงออกทางอิมมูโนฮิสโตเคมีต่อ TNF- α ด้วยวิธี Mann-Whitney U พบว่าค่าเฉลี่ยของจำนวนโมโนนิวเคลียร์เซลล์ที่มีการแสดงออกทางอิมมูโนฮิสโตเคมีต่อ TNF- α ของกลุ่มผู้ป่วยไลเคนพลาเนียในช่องปากมีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมเนื้อเยื่อปกติที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.000$) ดังตารางที่ 8

เคอราตินocytes ที่มีการแสดงออกทางอิมมูโนฮิสโตเคมีต่อ TNF- α ในกลุ่มผู้ป่วยไลเคนพลาแนสในช่องปากมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.89 ± 4.39 เซลล์ ในขณะที่กลุ่มควบคุมเนื้อเยื่อปกติมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.00 ± 0.00 เซลล์ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนเคอราตินocytes ที่มีการแสดงออกทางอิมมูโนฮิสโตเคมีต่อ TNF- α ด้วยวิธี Mann-Whitney U พบว่าค่าเฉลี่ยของจำนวนเคอราตินocytes ที่มีการแสดงออกทางอิมมูโนฮิสโตเคมีต่อ TNF- α ของกลุ่มผู้ป่วยไลเคนพลาแนสในช่องปากมีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมเนื้อเยื่อปกติที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.004$) ดังตารางที่ 8

โมโนนิวเคลียร์เซลล์ที่แทรกซึมบริเวณลามินา โพรเปรียในรอยโรคไลเคนพลาแนสในช่องปากและกลุ่มควบคุม

โมโนนิวเคลียร์เซลล์ที่แทรกซึมบริเวณลามินา โพรเปรียในรอยโรคไลเคนพลาแนสในช่องปากมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 177.88 ± 52.14 เซลล์ ในขณะที่กลุ่มควบคุมเนื้อเยื่อปกติมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 26.88 ± 7.53 เซลล์ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของโมโนนิวเคลียร์เซลล์ที่แทรกซึมบริเวณลามินา โพรเปรียด้วยวิธี Mann-Whitney U พบว่าค่าเฉลี่ยของโมโนนิวเคลียร์เซลล์ที่แทรกซึมบริเวณลามินา โพรเปรียในกลุ่มผู้ป่วยไลเคนพลาแนสในช่องปากมีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมเนื้อเยื่อปกติที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.000$) ดังตารางที่ 8

ตารางที่ 8 แสดงค่าเฉลี่ยของโมโนนิวเคลียร์เซลล์และเคอราตินocytes ที่มีการแสดงออกทางอิมมูโนฮิสโตเคมีต่อ TNF- α และค่าเฉลี่ยของโมโนนิวเคลียร์เซลล์บริเวณลามินา โพรเปรียในรอยโรคไลเคนพลาแนสและกลุ่มควบคุมเนื้อเยื่อปกติ

กลุ่ม	ค่าเฉลี่ยโมโนนิวเคลียร์เซลล์ที่ให้ผลบวกต่อ TNF- α (เซลล์)	ค่าเฉลี่ยเคอราตินocytes ที่ให้ผลบวกต่อ TNF- α (เซลล์)	ค่าเฉลี่ยโมโนนิวเคลียร์เซลล์บริเวณลามินา โพรเปรีย (เซลล์)
ไลเคนพลาแนส	6.40 ± 4.30	1.89 ± 4.39	177.88 ± 52.14
เนื้อเยื่อปกติ	0.05 ± 0.15	0.00 ± 0.00	26.88 ± 7.53

* $p = 0.000$

** $p = 0.004$

การแสดงออกทางอิมมูโนฮิสโตเคมีต่อ TNF- α ในรอยโรคไลเคนพลาแนสในช่องปากชนิดฝ่อลีบ และชนิดแผลถลอก

กลุ่มผู้ป่วยไลเคนพลาแนสในช่องปากจำนวน 20 ราย ประกอบด้วยชนิดแผลถลอก 13 ราย และชนิดฝ่อลีบ 7 ราย พบว่ามีการแสดงออกทางอิมมูโนฮิสโตเคมีต่อ TNF- α ในผู้ป่วยไลเคนพลาแนสในช่องปากชนิดแผลถลอก 11 ราย (ร้อยละ 84.61) ในขณะที่ชนิดฝ่อลีบพบการแสดงออกทางอิมมูโนฮิสโตเคมีต่อ TNF- α ในผู้ป่วยทั้ง 7 ราย (ร้อยละ 100) เมื่อใช้วิธี Chi-square และ Fisher's Exact Test เปรียบเทียบระหว่างชนิดทั้งสอง พบว่าการแสดงออกทางอิมมูโนฮิสโตเคมีต่อ TNF- α ในรอยโรคไลเคนพลาแนสในช่องปากชนิดแผลถลอกแตกต่างจากชนิดฝ่อลีบแต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.521$) ตารางที่ 9

ตารางที่ 9 แสดงผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของ TNF- α ในกลุ่มไลเคนพลาแนสในช่องปากชนิดแผลถลอกและชนิดฝ่อลีบ

การแสดงออกทางอิมมูโนฮิสโตเคมีต่อ TNF- α	ไลเคนพลาแนสในช่องปาก (คน)	
	ชนิดแผลถลอก	ชนิดฝ่อลีบ
มี	11	7
ไม่มี	2	0

โมโนนิวเคลียร์เซลล์ที่มีการแสดงออกทางอิมมูโนฮิสโตเคมีต่อ TNF- α ในกลุ่มไลเคนพลาแนสในช่องปากชนิดฝ่อลีบมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 6.54 ± 1.95 เซลล์ ในขณะที่กลุ่มไลเคนพลาแนสในช่องปากชนิดแผลถลอกมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 6.33 ± 5.23 เซลล์ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนโมโนนิวเคลียร์เซลล์ที่มีการแสดงออกทางอิมมูโนฮิสโตเคมีต่อ TNF- α ด้วยวิธี independent-sample t test พบว่าค่าเฉลี่ยของจำนวนโมโนนิวเคลียร์เซลล์ที่มีการแสดงออกทางอิมมูโนฮิสโตเคมีต่อ TNF- α ของกลุ่มผู้ป่วยไลเคนพลาแนสในช่องปากชนิดฝ่อลีบมีค่าสูงกว่าชนิดแผลถลอกแต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.918$) ตารางที่ 10

เคอราติโนไซต์ที่มีการแสดงออกทางอิมมูโนฮิสโตเคมีต่อ TNF- α ในกลุ่มผู้ป่วยไลเคนพลาแนสในช่องปากชนิดฝ่อลีบมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.67 ± 1.10 เซลล์ ในขณะที่กลุ่ม

ไลเคนพลาแนสในช่องปากชนิดแผลถลอกมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.55 ± 5.35 เซลล์ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนเคอราติโนไซต์ที่มีการแสดงออกทางอิมมูโนฮิสโตเคมีต่อ TNF- α ด้วยวิธี independent-sample t test พบว่าค่าเฉลี่ยของจำนวนเคอราติโนไซต์ที่มีการแสดงออกทางอิมมูโนฮิสโตเคมีต่อ TNF- α ของกลุ่มผู้ป่วยไลเคนพลาแนสในช่องปากชนิดแผลถลอกมีค่าสูงกว่าชนิดฝ่อลิบแต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.375$) ตารางที่ 10

โมนอนิวเคลียร์เซลล์ที่แทรกซึมบริเวณลามินา โพรเปรียในรอยโรคไลเคนพลาแนสในช่องปากชนิดฝ่อลิบมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 172.81 ± 43.24 เซลล์ ในขณะที่ชนิดแผลถลอกมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 180.62 ± 57.85 เซลล์ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของโมนอนิวเคลียร์เซลล์ที่แทรกซึมบริเวณลามินา โพรเปรียด้วยวิธี independent-sample t test พบว่าค่าเฉลี่ยของโมนอนิวเคลียร์เซลล์ที่แทรกซึมบริเวณลามินา โพรเปรียในรอยโรคไลเคนพลาแนสในช่องปากชนิดแผลถลอกมีค่าสูงกว่าชนิดฝ่อลิบแต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.759$) ตารางที่ 10

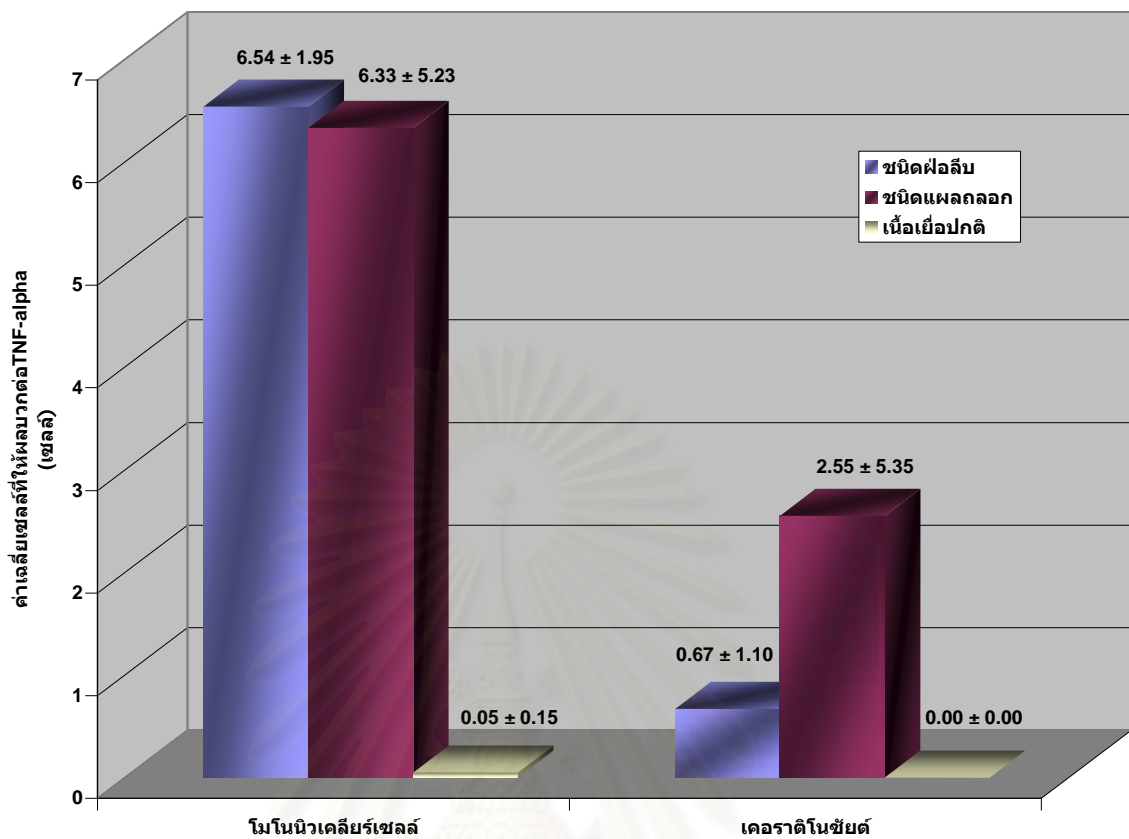
ตารางที่ 10 แสดงค่าเฉลี่ยของโมนอนิวเคลียร์เซลล์และเคอราติโนไซต์ที่มีการแสดงออกทางอิมมูโนฮิสโตเคมีต่อ TNF- α และค่าเฉลี่ยของโมนอนิวเคลียร์เซลล์บริเวณลามินา โพรเปรียในรอยโรคไลเคนพลาแนสในช่องปากชนิดฝ่อลิบและชนิดแผลถลอก

ไลเคนพลาแนส ในช่องปาก	ค่าเฉลี่ยโมนอนิวเคลียร์ เซลล์ที่ให้ผลบวกต่อ TNF- α (เซลล์)	ค่าเฉลี่ยเคอราติโนไซต์ที่ ให้ผลบวกต่อ TNF- α (เซลล์)	ค่าเฉลี่ยโมนอนิวเคลียร์ เซลล์บริเวณลามินา โพรเปรีย (เซลล์)
ชนิดฝ่อลิบ (score 3)	6.54 ± 1.95	0.67 ± 1.10	172.81 ± 43.24
ชนิดแผลถลอก (score 4-5)	6.33 ± 5.23	2.55 ± 5.35	180.62 ± 57.85

* $p = 0.918$

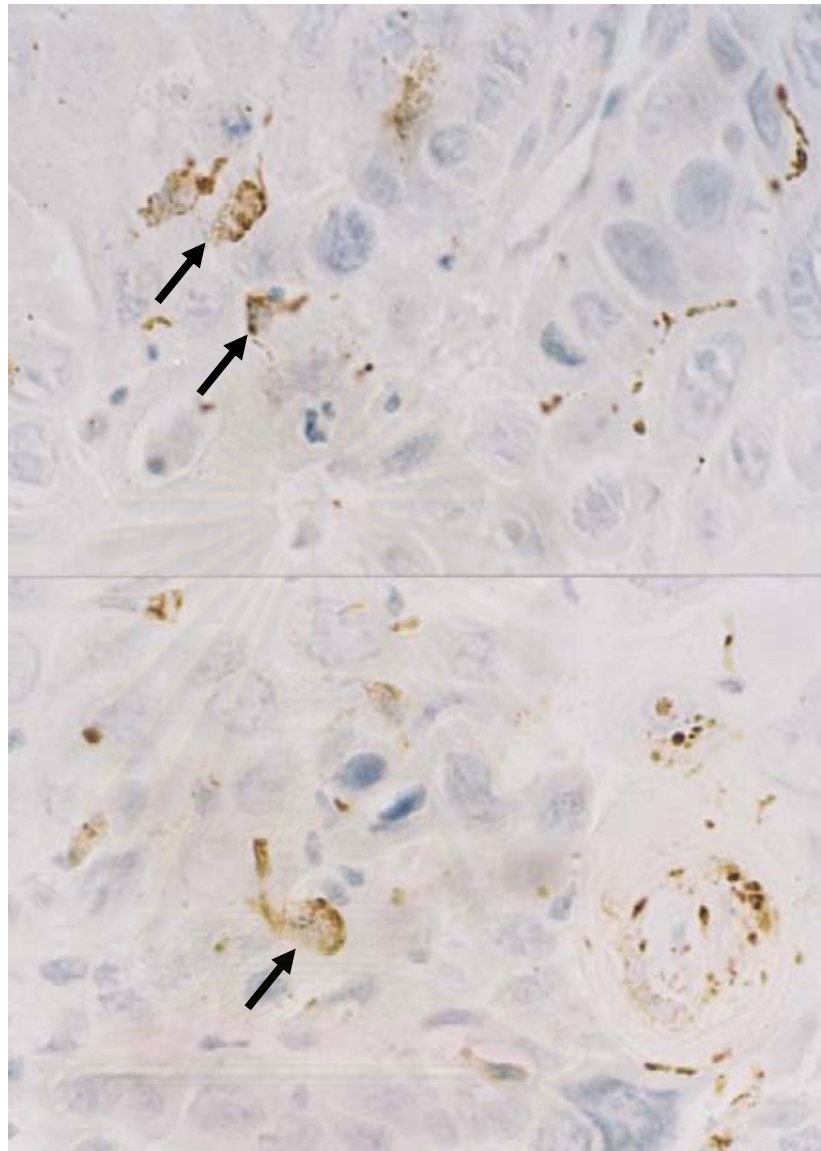
** $p = 0.375$

*** $p = 0.759$

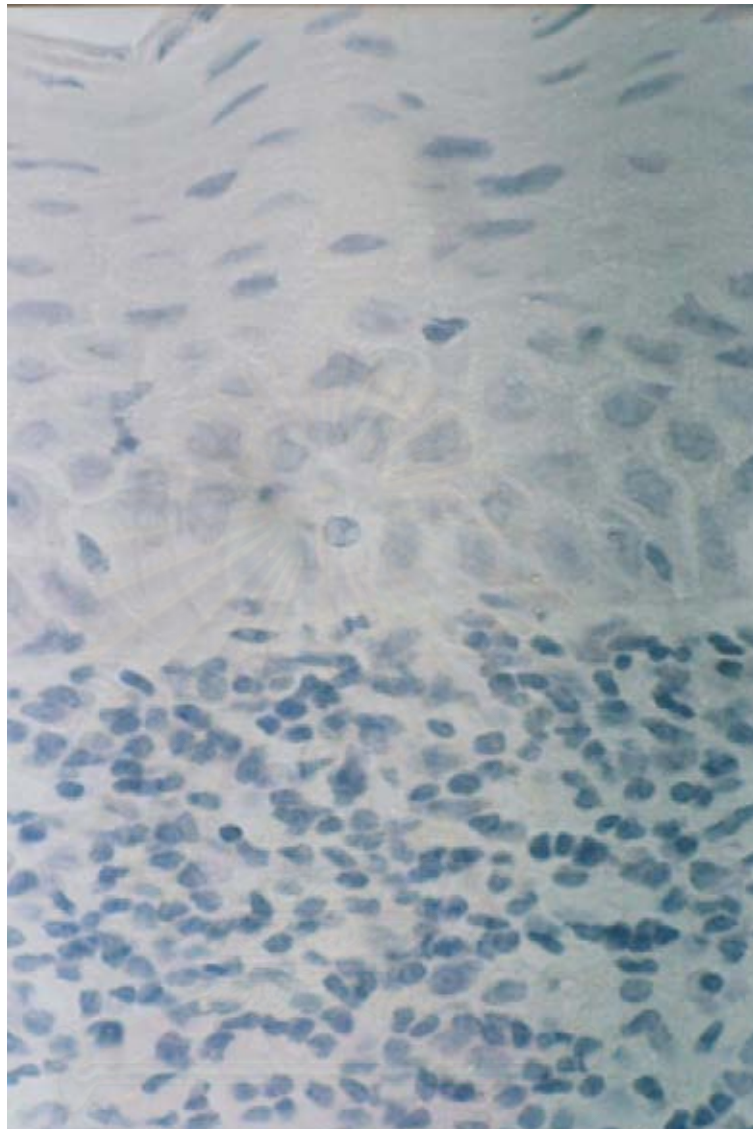


ภาพที่ 9 แผนภูมิรูปภาพแสดงค่าเฉลี่ยของเซลล์ที่มีการแสดงออกทางอิมมูโนฮิสโตเคมีต่อ TNF- α ในรอยโรคไลเคนพลาเนียสในช่องปากชนิดฝอลิบและชนิดแผลถลอกเปรียบเทียบกับเนื้อเยื่อปกติ

การแสดงออกทางอิมมูโนฮิสโตเคมีต่อ TNF- α ในกลุ่มควบคุมผลบวกบริเวณซัยโตพลาสซึมของเคอราติโนไซต์ในรอยโรคมะเร็งในช่องปากชนิดสแควมัสเซลล์คาร์ซิโนมา (squamous cell carcinoma) ดังภาพที่ 10 สำหรับกลุ่มควบคุมผลลบของชิ้นเนื้อไลเคนพลาเนียสในช่องปากที่ไม่ได้ primary antibody และกลุ่มควบคุมของเนื้อเยื่อปกติในช่องปาก (normal mucosa) ไม่แสดงการติดสีอิมมูโนฮิสโตเคมีต่อ TNF- α ดังภาพที่ 11 และ 12

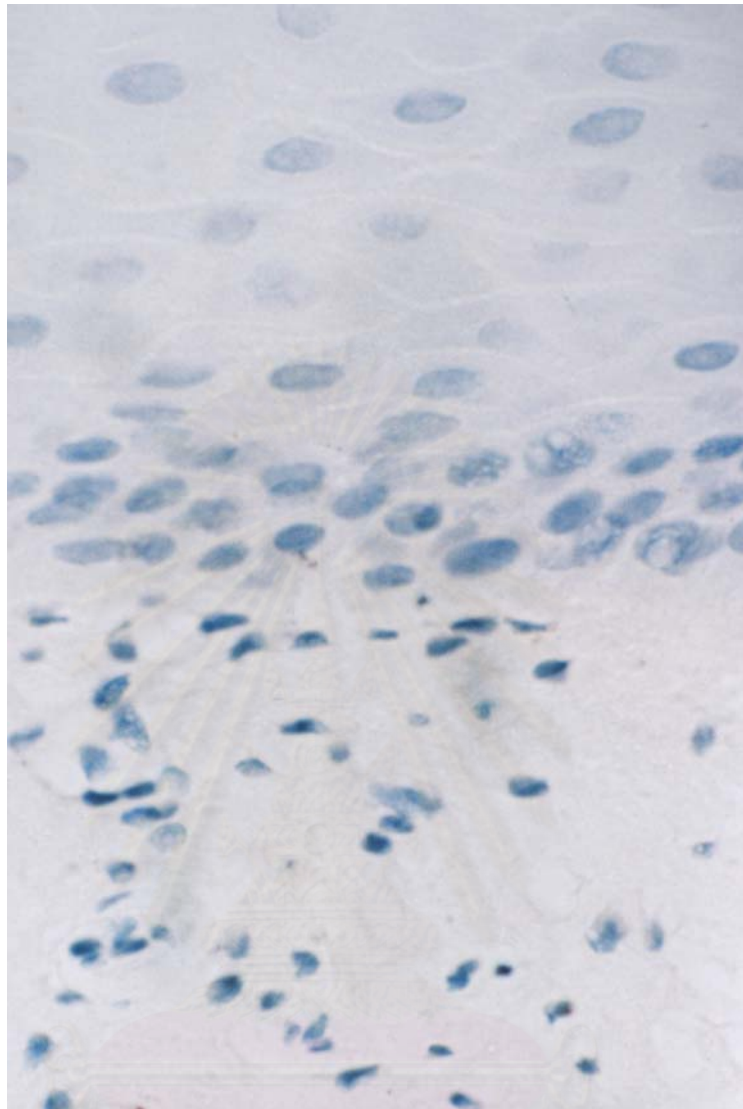


ภาพที่ 10 แสดงการปรากฏของ TNF- α ในกลุ่มควบคุมผลบวกบริเวณซัยโตพลาสซึมของเคอราติโนไซต์ (ลูกศร) ในรอยโรคมะเร็งในช่องปากชนิดสแควมัสเซลล์คาร์ซิโนมา (squamous cell carcinoma) (การย้อมด้วยวิธีอิมมูโนเปอร์ออกซิเดสโดยใช้แอนติบอดีต่อ TNF- α ย้อมทับด้วยสีฮีมาทอกไซลีน, กำลังขยายx200)



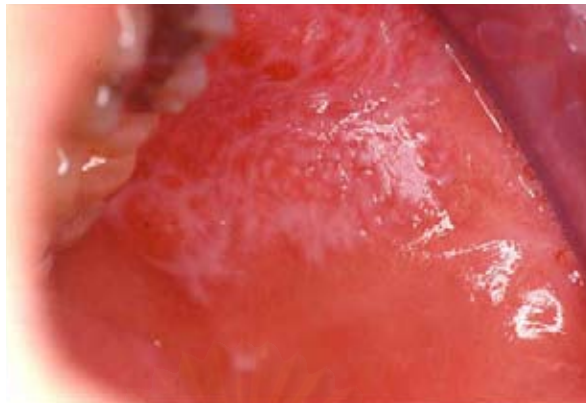
ภาพที่ 11 แสดงกลุ่มควบคุมผลลบของชิ้นเนื้อไลเคนพลาเนตในช่องปากที่ไม่ได้ primary antibody (การย้อมด้วยวิธีอิมมูโนเปอร์ออกซิเดส โดยแทนที่แอนติบอดีต่อ TNF- α ด้วย PBS ย้อมทับด้วยสีฮีมาทอกไซลีน, กำลังขยายx200)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

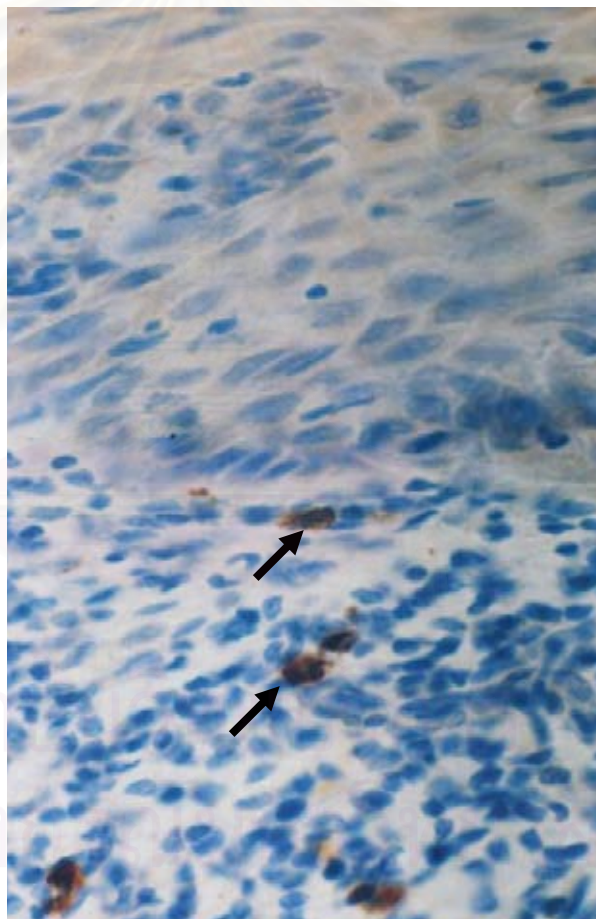


ภาพที่ 12 แสดงกลุ่มควบคุมของเนื้อเยื่อปกติในช่องปาก (normal mucosa) (การย้อมด้วยวิธีอิมมูโนเปอร์ออกซิเดสโดยใช้แอนติบอดีต่อ TNF- α ย้อมทับด้วยสีฮีมาทอกไซลิน, กำลังขยาย x200)

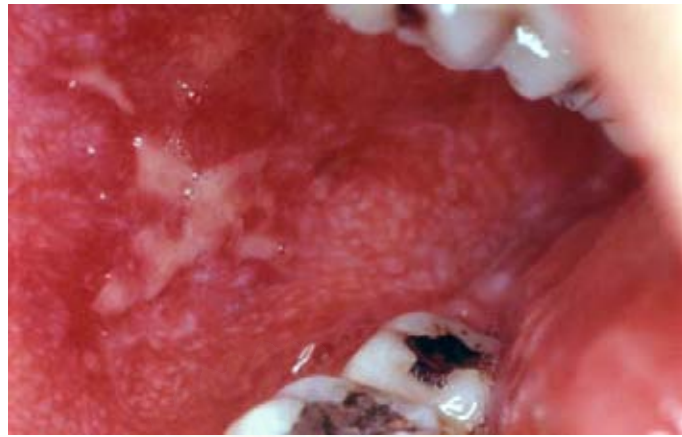
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



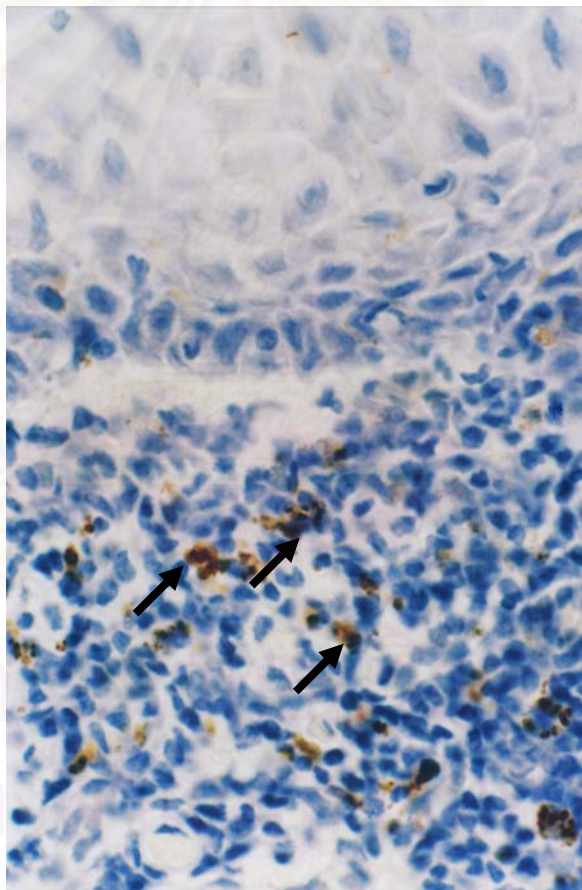
ภาพที่ 13 ลักษณะของรอยโรคไลเคนพลาเนียในช่องปากชนิดฝ่อลีบของผู้ป่วยรายที่ 3



ภาพที่ 14 แสดงการปรากฏของ TNF- α ในโมโนนิวเคลียร์เซลล์ที่มีการแทรกซึมบริเวณใต้ชั้นเยื่อผิวและบริเวณใกล้เคียงเบซัลเซลล์ (ลูกศร) ในผู้ป่วยไลเคนพลาเนียในช่องปากชนิดฝ่อลีบของผู้ป่วยรายที่ 3 (การย้อมด้วยวิธีอิมมูโนเปอร์ออกซิเดสโดยใช้แอนติบอดีต่อ TNF- α ย้อมทับด้วยสีฮีมาทอกไซลิน, กำลังขยายx200)



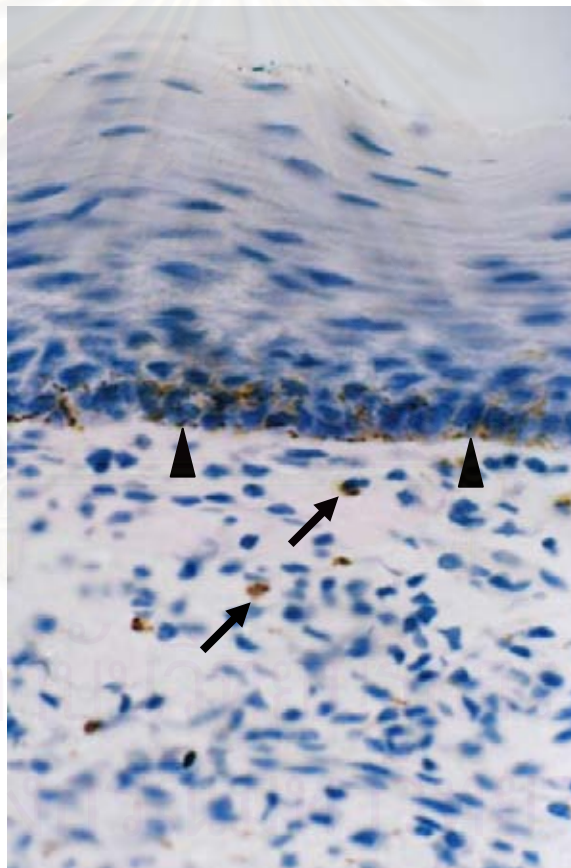
ภาพที่ 15 ลักษณะของรอยโรคไลเคนพลาเนียในช่องปากชนิดแผลถลอกของผู้ป่วยรายที่ 11



ภาพที่ 16 แสดงการปรากฏของ TNF- α ในโมโนนิวเคลียร์เซลล์ที่มีการแทรกซึมบริเวณใต้ชั้นเยื่อผิว (ลูกศร) ในผู้ป่วยไลเคนพลาเนียในช่องปากชนิดแผลถลอกของผู้ป่วยรายที่ 11 (การย้อมด้วยวิธีอิมมูโนเปอร์ออกซิเดสโดยใช้แอนติบอดีต่อ TNF- α ย้อมทับด้วยสีฮีมาทอกไซลีน, กำลังขยายx200)



ภาพที่ 17 ลักษณะของรอยโรคไลเคนพลาเนียในช่องปากชนิดแผลถลอกของผู้ป่วยรายที่ 13



ภาพที่ 18 แสดงการปรากฏของ TNF- α ในเบซัลเคอราติโนไซต์ (หัวลูกศร) และโมนิวเคลียร์เซลล์ที่มีการแทรกซึมบริเวณใต้ชั้นเยื่อผิว (ลูกศร) ในผู้ป่วยไลเคนพลาเนียในช่องปากชนิดแผลถลอกของผู้ป่วยรายที่ 13 (การย้อมด้วยวิธีอิมมูโนเปอร์ออกซิเดสโดยใช้แอนติบอดีต่อ TNF- α ย้อมทับด้วยสีฮีมาทอกไซลิน, กำลังขยายx200)

บทที่ 5

อภิปรายผลและสรุปผลการวิจัย

อภิปรายผลการวิจัย

จากการศึกษาในครั้งนี้ทำการเปรียบเทียบการแสดงออกของ TNF- α ในรอยโรคไลเคนพลาเนียในช่องปากและกลุ่มควบคุมเนื้อเยื่อปกติ โดยใช้การตรวจด้วยวิธีทางอิมมูโนฮิสโตเคมี พบการแสดงออกของเซลล์ที่ทำให้ผลบวกทางอิมมูโนฮิสโตเคมีของ TNF- α ในโมโนนิวเคลียร์เซลล์ที่มีการแทรกซึมบริเวณใต้ชั้นเยื่อผิวของผู้ป่วยไลเคนพลาเนียในช่องปาก 18 ราย จาก 20 ราย ซึ่งมากกว่าในกลุ่มเนื้อเยื่อปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.000$) ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Younes และคณะ (19) ในปี ค.ศ. 1996 และ Sklavounou และคณะ (20) ในปี ค.ศ. 2000 อย่างไรก็ตามกลุ่มควบคุมที่ใช้ในการศึกษาของ Sklavounou และคณะ มีความแตกต่างกับการศึกษาในครั้งนี้ โดย Sklavounou และคณะได้ใช้กลุ่มควบคุมเนื้อเยื่อจากไฟโรโบรมา ในขณะที่การศึกษานี้ใช้กลุ่มควบคุมเป็นเนื้อเยื่อปกติในช่องปาก

นอกจากนี้ศึกษาเกี่ยวกับจำนวนโมโนนิวเคลียร์เซลล์และเคอราติโนไซต์ที่มีการแสดงออกทางอิมมูโนฮิสโตเคมีต่อ TNF- α และโมโนนิวเคลียร์เซลล์บริเวณลามินา โพรเปรียของรอยโรค พบว่าค่าเฉลี่ยของทั้งจำนวนโมโนนิวเคลียร์เซลล์และเคอราติโนไซต์ที่มีการแสดงออกทางอิมมูโนฮิสโตเคมีต่อ TNF- α และโมโนนิวเคลียร์เซลล์บริเวณลามินา โพรเปรียของรอยโรคไลเคนพลาเนียในช่องปากสูงกว่ากลุ่มเนื้อเยื่อปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากผลดังกล่าวอาจแสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ของการเพิ่มขึ้นของโปรตีน TNF- α ในรอยโรคไลเคนพลาเนียในช่องปากเมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อเยื่อปกติ ยิ่งไปกว่านั้นในการศึกษานี้ได้แสดงให้เห็นชัดว่าในรอยโรคไลเคนพลาเนียในช่องปากมีการเพิ่มขึ้นของเซลล์อักเสบเป็นจำนวนมากที่บริเวณรอยโรค ซึ่งเป็นไปได้ว่าการเพิ่มระดับของโปรตีน TNF- α มีความสำคัญกับภาวะการอักเสบในรอยโรคไลเคนพลาเนีย

การแสดงออกทางอิมมูโนฮิสโตเคมีต่อ TNF- α สามารถพบได้ในเซลล์หลายชนิด ได้แก่ โมโนนิวเคลียร์เซลล์ เคอราติโนไซต์ และเซลล์แลงเกอร์ฮานส์ ซึ่งในผู้ป่วยทั้ง 18 ราย (ร้อยละ 90) พบการแสดงออกของเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อ TNF- α ในโมโนนิวเคลียร์เซลล์ที่มีการแทรกซึมบริเวณใต้ชั้นเยื่อผิวและบริเวณใกล้เคียงกับเบซัลเซลล์ ในขณะที่พบการแสดงออกของเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อ TNF- α ที่บริเวณเคอราติโนไซต์ในผู้ป่วย 7 จาก 20 ราย (ร้อยละ 35) ซึ่งการติดสีของเคอราติโนไซต์ในผู้ป่วยแต่ละรายพบเพียงเล็กน้อย แม้ว่าในผู้ป่วย 2 ราย จะพบการติดสีที่ชัดเจนในเบซัลเคอราติโนไซต์ ซึ่งคล้ายกับในการศึกษาของ Khan และคณะ (5) ในปี ค.ศ. 2003 นอกจากนี้รูปแบบการติดสีในเคอราติโนไซต์มีลักษณะเป็นจุดเล็กๆกระจายรอบๆเซลล์ ซึ่งต่างจากรูปแบบการติดสีของโมโนนิวเคลียร์เซลล์ จากหลักฐานเหล่านี้จึงอาจเป็นไปได้ว่าในเคอราติโนไซต์มีระดับของ TNF- α ในปริมาณน้อย หรือเคอราติโนไซต์ในรอยโรคไม่ได้เป็นแหล่งหลักในการสร้าง TNF- α จากการที่พบการแสดงออกทางอิมมูโนฮิสโตเคมีต่อ TNF- α ในโมโนนิวเคลียร์เซลล์ในผู้ป่วยทุกรายที่มีการแสดงออกของเซลล์ที่ให้ผลบวก และมีรูปแบบการติดสีที่เป็นเม็ดกระจายเข้มเต็มเซลล์ อาจเป็นหลักฐานสนับสนุนว่าโมโนนิวเคลียร์เซลล์ในบริเวณนั้นอยู่ในภาวะถูกกระตุ้นทำให้มีการแสดง TNF- α ในปริมาณมาก ซึ่งเป็นไปได้ว่าโมโนนิวเคลียร์เซลล์ที่อยู่ในภาวะถูกกระตุ้นนี้จะเป็แหล่งหลักในการสร้าง TNF- α ก่อนแล้วค่อยกระตุ้นให้เบซัลเคอราติโนไซต์และเซลล์อื่นในบริเวณใกล้เคียงมีการสร้าง TNF- α ขึ้น

สำหรับความสัมพันธ์ของการแสดงออกของ TNF- α ระหว่างชนิดรอยโรคไลเคนพลาเน็ตในช่องปาก ซึ่งจากการศึกษานี้ในกลุ่มผู้ป่วยไลเคนพลาเน็ตพบรอยโรคในช่องปากเพียง 2 ชนิด คือ ชนิดแผลถลอก 13 ราย มีการแสดงออกของ TNF- α ร้อยละ 84.61 และชนิดฝ่อลิบ 7 ราย มีการแสดงออกของ TNF- α ร้อยละ 100 เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนโมโนนิวเคลียร์เซลล์ที่มีการแสดงออกทางอิมมูโนฮิสโตเคมีต่อ TNF- α ของกลุ่มผู้ป่วยไลเคนพลาเน็ตในช่องปากชนิดฝ่อลิบมีค่าสูงกว่าชนิดแผลถลอก แต่ในขณะที่ค่าเฉลี่ยของเคอราติโนไซต์ที่มีการแสดงออกทางอิมมูโนฮิสโตเคมีต่อ TNF- α และโมโนนิวเคลียร์เซลล์ที่แทรกซึมบริเวณลามินา โพรเปรียในกลุ่มผู้ป่วยไลเคนพลาเน็ตในช่องปากชนิดแผลถลอกมีค่าสูงกว่าชนิดฝ่อลิบ อย่างไรก็ตามค่าทั้งสามไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อาจเนื่องมาจากข้อจำกัดของจำนวนผู้ป่วยที่แตกต่างกันและมีจำนวนน้อย ดังนั้นถ้าเพิ่มกลุ่มตัวอย่างศึกษาให้มากขึ้นอาจสามารถบอกถึงความสัมพันธ์ของการแสดงออกของ TNF- α ในรอยโรคไลเคนพลาเน็ตในช่องปากของแต่ละชนิดได้ ซึ่งข้อมูลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้เป็นไปได้ว่า TNF- α อาจไม่ใช่ส่วนสำคัญในการแสดงลักษณะทางคลินิกของของรอยโรคทั้งสองชนิด Jungell และคณะ ได้เสนอว่ามีความแตกต่างของทีเซลล์ระหว่างชนิดของรอยโรคไลเคนพลาเน็ต (132) นอกจากนี้มีอีกหลายรายงานเกี่ยวกับความแตกต่างของ

ความสัมพันธ์ระหว่างด้านกรรมพันธุ์ โครงสร้างในระดับอุลตรา (ultrastructure) และลักษณะทางของคลินิกของชนิดของรอยโรคไลเคนพลาเนียส (132-134) ส่วนความแตกต่างทางด้านกลไกการเกิดพยาธิสภาพของระบบภูมิคุ้มกันระหว่างชนิดของรอยโรคไลเคนพลาเนียสนั้นยังไม่ชัดเจน (74)

อย่างไรก็ตาม TNF- α อาจมีโอกาพบได้ในเนื้อเยื่อปกติ จากการศึกษที่ผ่านมา Kristensen และคณะ (135) ในปี ค.ศ. 1993, Walsh และคณะ (136) ในปี ค.ศ. 1995 และ Younes และคณะ (19) ในปี ค.ศ. 1996 พบการแสดงออกของ TNF- α ในเคอราติโนไซต์ของเนื้อเยื่อปกติ ในขณะที่การศึกษากลับนี้พบการแสดงออกของ TNF- α ในเซลล์อักเสบ 1-2 เซลล์ ที่อยู่ใต้ชั้นเยื่อผิวของเนื้อเยื่อปกติของผู้ป่วย 2 ราย จาก 20 ราย ซึ่งผลดังกล่าวอาจแสดงได้ว่ามีเซลล์อักเสบบางเซลล์ที่มีการสร้าง TNF- α ออกมาเพื่อควบคุมการทำงานของเซลล์ในบริเวณนั้นให้อยู่ในภาวะสมดุล ทำให้เห็นลักษณะทางคลินิกของเนื้อเยื่อเป็นปกติ

ในการศึกษานี้ผู้ป่วย 2 ราย ไม่พบการแสดงออกของ TNF- α ในรอยโรค เช่นเดียวกับในการศึกษาของ Sklavounou และคณะ (20) ซึ่งไม่พบการแสดงออกของ TNF- α ในผู้ป่วย 5 ราย จาก 22 ราย จึงอาจเป็นไปได้ว่าระดับของ TNF- α ในผู้ป่วยไลเคนพลาเนียสในช่องปาก บางรายมีปริมาณน้อยจนไม่สามารถตรวจพบ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการวิจัยในสัตว์ทดลองที่กระตุ้นให้เกิดรอยโรคอักเสบเรื้อรัง เช่น Arthritis ไม่สามารถตรวจพบการแสดงออกของ TNF- α ในเซลล์อักเสบในรอยโรคระยะเรื้อรัง (chronic stage) เช่นกัน (137) หรือมีไซโตไคน์อื่นที่มีบทบาทสำคัญทำให้เกิดพยาธิสภาพในรอยโรคไลเคนพลาเนียสของผู้ป่วยรายดังกล่าว

TNF- α เป็นไซโตไคน์ที่มีหน้าที่สำคัญหลายอย่างในกระบวนการอักเสบ การตอบสนองของภูมิคุ้มกัน และทำให้เกิดกระบวนการตายของเซลล์ (apoptosis) (138) โดยไซโตไคน์นี้จะไปเหนี่ยวนำให้มีการหลั่งลิโปไคน์เพื่อไปดึงดูดเซลล์อักเสบให้เข้ามาในบริเวณนั้น ทำให้เริ่มเกิดกระบวนการอักเสบขึ้น (139) การทำงานของ TNF- α ในรอยโรคไลเคนพลาเนียสจะมีความเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงการเจริญของชั้นเยื่อผิวของช่องปาก รวมทั้งทำให้มีการรวมตัวของเซลล์อักเสบมากขึ้นในรอยโรค และเหนี่ยวนำไซโตไคน์ชนิดอื่นที่ควบคุมการตอบสนองต่อการอักเสบ (140) ยิ่งไปกว่านั้นยังมีบทบาทในการควบคุมกระบวนการตายของเซลล์ ซึ่งทำให้ TNF- α ถือว่าเป็นไซโตไคน์สำคัญที่เกี่ยวข้องกับการตายของเซลล์ในชั้นเบซัลซึ่งพบได้ในบริเวณเยื่อผิวของรอยโรคไลเคนพลาเนียสในช่องปาก (20)

การเกิดพยาธิสภาพของรอยโรคไลเคนพลาเน็ตในช่องปากก่อนข้างซับซ้อนและในปัจจุบันยังไม่มีชื่อสรุปที่ชัดเจน Khan และคณะ (5) ในปี ค.ศ. 2003 ได้รายงานเกี่ยวกับกลไกของระบบภูมิคุ้มกันในรอยโรคไลเคนพลาเน็ตในช่องปากอาจถูกควบคุมด้วยไซโตไคน์ และ receptors หลายชนิด ซึ่งจากรายงานที่ผ่านมาสนับสนุนว่าไซโตไคน์ที่พบบริเวณรอยโรคจะมีบทบาทสำคัญในการควบคุมการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันที่ทำให้เกิดพยาธิสภาพขึ้น สำหรับการวิจัยนี้เป็นการศึกษาเริ่มแรกซึ่งยังไม่มีผู้ใดศึกษาในผู้ป่วยไทยมาก่อน จากผลการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นชัดเจนถึงการเพิ่มขึ้นของ TNF- α ในรอยโรคไลเคนพลาเน็ตในช่องปากของผู้ป่วยคนไทย ซึ่งเป็นหลักฐานที่สำคัญในการสนับสนุนบทบาทของ TNF- α มีความสัมพันธ์เกี่ยวข้องกับภาวะการอักเสบในรอยโรคไลเคนพลาเน็ตในช่องปาก ดังนั้นข้อมูลที่ได้จึงมีประโยชน์ในการศึกษาถึงความเป็นไปได้ของการเกิดโรคไลเคนพลาเน็ตในช่องปากในผู้ป่วยคนไทย อีกทั้งเป็นแนวทางในการรักษาในผู้ป่วยไลเคนพลาเน็ต ซึ่งผลของการวิจัยอาจนำไปสู่เป้าหมายของการรักษาที่เหมาะสมของรอยโรคนี้ในอนาคต



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สรุปผลการวิจัย

การตรวจด้วยวิธีทางอิมมูโนฮิสโตเคมีพบการแสดงออกของ TNF- α ในรอยโรคไลเคนพลาเนียในช่องปากของผู้ป่วยคนไทย 18 ใน 20 ราย (ร้อยละ 90) และค่าเฉลี่ยของเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อ TNF- α และโมโนนิวเคลียร์เซลล์บริเวณลามินา โพรเปรียของรอยโรคไลเคนพลาเนียในช่องปากสูงกว่ากลุ่มเนื้อเยื่อปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างชนิดฝ่อลีบและชนิดแผลถลอกของผู้ป่วยไลเคนพลาเนียในช่องปาก จากการศึกษาี้แสดงให้เห็นว่าการเพิ่มขึ้นของ TNF- α มีความสัมพันธ์เกี่ยวข้องกับพยาธิสภาพของรอยโรคไลเคนพลาเนียในช่องปากของผู้ป่วยคนไทย

ข้อเสนอแนะ

สำหรับงานวิจัยในครั้งนี้มีข้อจำกัดหลายด้านเกี่ยวกับการหาตัวอย่างและงบประมาณ ทำให้การเก็บข้อมูลต้องใช้ระยะเวลาาน รวมทั้งแอนติบอดีที่นำมาใช้ในการทดสอบมีราคาแพงจึงไม่สามารถทดสอบร่วมกับแอนติบอดีชนิดอื่นได้ ดังนั้นงานวิจัยต่อไปถ้ามีตัวอย่างศึกษาเพิ่มขึ้นและใช้แอนติบอดีอื่นร่วมด้วย อาจทำให้พบผลการวิจัยที่แตกต่างจากเดิม อย่างไรก็ตามการศึกษานี้ได้แสดงความสัมพันธ์ของการแสดงออกของ TNF- α ในรอยโรคไลเคนพลาเนียอย่างชัดเจน สิ่งที่น่าสนใจต่อไปคือ บทบาทของ TNF- α เกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างการแสดงออกของ TNF- α ในโมโนนิวเคลียร์เซลล์กับการตายของเซลล์ในชั้นเบซัลเซลล์ของรอยโรคไลเคนพลาเนีย รวมทั้งความสัมพันธ์ต่อไซโตไคน์ชนิด IL-2 และ IFN- γ เพื่อนำไปประยุกต์เป็นแนวทางในการรักษารอยโรคนี้ต่อไป

รายการอ้างอิง

1. กอบกาญจน์ ทองประสม. รอยโรคในช่องปากที่เกี่ยวข้องกับความผิดปกติของระบบภูมิคุ้มกัน. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 2543 หน้า 5-56.
2. Eisen D. The clinical features, malignant potential and systemic associations of oral lichen planus: a study of 723 patients. *J Am Acad Dermatol* 2002; 46: 207-14.
3. Chainani-Wu N, Silverman S Jr, Lozada-Nur F, Mayer P, Watson JJ. Oral lichen planus: patient profile, disease progression and treatment responses. *J Am Dent Assoc* 2001; 132: 901-9.
4. Walsh LJ, Savage NW, Ishii T, Seymour GJ. Immunopathogenesis of oral lichen planus. *J Oral Pathol Med* 1990; 19: 389-96.
5. Khan A, Farah CS, Savage NW, Walsh LJ, Harbrow DJ, Surgerman PB. Th1 cytokines in oral lichen planus. *J Oral Pathol Med* 2003; 32: 77-83.
6. Sugerman PB, Savage NW, Zhou X, Walsh LJ, Bigby M. Oral lichen planus. *Clin Dermatol* 2000; 18: 533-9.
7. Farthing PM, Matear P, Cruchley AT. The activation of Langerhans cells in oral lichen planus. *J Oral Pathol Med* 1990; 19: 81-5.
8. Sugerman PB, Savage NW, Walsh LJ, Zhao ZZ, Zhou XJ, Khan A, Seymour GJ, Bigby M. The pathogenesis of oral lichen planus. *Crit Rev Oral Biol Med* 2002; 13: 350-65.
9. Yamamoto T, Osaki T, Yoneda K, Ueta E. Cytokine production by keratinocytes and mononuclear infiltrates in oral lichen planus. *J Oral Pathol Med* 1994; 23: 309-15.
10. Constant SL, Bottomly K. Induction of Th1 and Th2 CD4+ T cell responses: the alternative approaches. *Annu Rev Immunol* 1997; 15: 297-322.
11. Simark-Mattsson C, Jontell M, Bergenholtz G, Heyden M, Dahlgren UI. Distribution of interferon-gamma mRNA-positive cells in oral lichen planus lesions. *J Oral Pathol Med* 1998; 27: 483-8.
12. Simark-Mattsson C, Bergenholtz G, Jontell M, Eklund C, Seymour GJ, Sugerman PB, Savage NW, Dahlgren UI. Distribution of interleukin-2, -4, -10, tumor necrosis factor- α and transforming growth factor- β mRNAs in oral lichen planus. *Arch Oral Biol* 1999; 44: 499-507.

13. Morhenn VB, Wood GS. Gamma interferon-induced expression of class II major histocompatibility complex antigens by human keratinocytes. Effects of conditions of culture. *Ann NY Acad Sci* 1988; 548: 321-30.
14. Firth NA, Rich AM, Radden BG. Assessment of the value of immunofluorescence microscopy in the diagnosis of oral mucosal lichen planus. *J Oral Pathol Med* 1990; 19: 295-7.
15. Albanesi C, Cavani A, Girolomoni G. Interferon-gamma-stimulated human keratinocytes express the genes necessary for the production of peptide-loaded MHC class II molecules. *J Invest Dermatol* 1998; 110: 138-42.
16. Sugerman PB, Savage NW, Seymour GJ, Walsh LJ. Is there a role for Tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) in oral lichen planus? *J Oral Pathol Med* 1996; 25: 219-24.
17. Abbas AK, Murphy KM, Sher A. Functional diversity of helper T lymphocytes. *Nature* 1996; 383: 787-93.
18. Hernandez-Pando R, Rook GA. The role of TNF- α in T-cell-mediated inflammation depends on the T_H1/ T_H2 cytokine balance. *Immunology* 1994; 82: 591-5.
19. Younes F, Quartey EL, Kiguwa S, Partridge M. Expression of TNF and the 55-kDa TNF receptor in epidermis, oral mucosa, lichen planus, and squamous cell carcinoma. *Oral Dis* 1996; 2: 25-31.
20. Sklavounou A, Chrysomali E, Scorilas A, Karameris A. TNF- α expression and apoptosis-regulating proteins in oral lichen planus: a comparative immunohistochemical evaluation. *J Oral Pathol Med* 2000; 29: 370-5.
21. Scully C, EI-Kom M. Lichen planus: review and update in pathogenesis. *J Oral Pathol Med* 1985; 14: 431-8.
22. Scully C, Beyli M, Ferreiro MC, Ficarra G, Gill Y, Griffiths M, et al. Update on oral lichen planus: etiopathogenesis and management. *Crit Rev Oral Biol Med* 1998; 9: 86-122.
23. Carrozzo M, Uboldi de Capei M, Dametto E et al. Tumor necrosis factor- α and Interferon- γ polymorphisms contribute to susceptibility to oral lichen planus. *J Invest Dermatol* 2004; 122: 87-94.
24. Neville BW, Damm DD, Allen CM, Bouquot JE. *Oral & maxillofacial pathology*. 2nd ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company. 2002: 680-5.

25. Regezi JA, Sciubba JJ, Jordan RCK. *Oral pathology: clinical-pathologic correlations*. 4th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company. 2003: 92-7.
26. Greenberg MS, Glick M. *Burket's Oral Medicine*. 10th ed. Ontario: BC Decker Inc. 2003; 107-10.
27. Bagan JV, Eisen D, Scully C. The diagnosis and management of oral lichen planus: a consensus approach. *Oral Biosci Med* 2004; 1: 21-7.
28. Zegarelli DJ, Sabbagh E. Relative incidence of intraoral pemphigus vulgaris, mucous membrane pemphigoid and lichen planus. *Ann Dent* 1989; 48: 5-7.
29. Black MM. Lichen planus and lichenoid eruptions. In: Rook A, Wilkinson DS, Ebling FJG, et al, eds. *Textbook of dermatology*. 4th ed. Boston: Blackwell. 1986.
30. Conklin RJ, Blasberg B. Oral lichen planus. *Dermatol Clin* 1987; 5: 663-73.
31. Salem G. Oral lichen planus among 4277 patients from Gizan, Saudi Arabia. *Community Dent Oral Epidemiol* 1989; 17: 322-4.
32. Scully C, Almeida OPD, Welbury R. Oral lichen planus in childhood. *Br J Dermatol* 1994; 131: 131-3.
33. Katta R. Lichen planus. *Am Fam Physician* 2000; 61: 3319-24, 3327-8.
34. Andreasen JO. Oral lichen planus. A clinical evaluation of 115 cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1968; 25: 31-42.
35. Lodi G, Scully C, Carrozzo M, Sugerman PB, Thongprasom K. Current controversies in oral lichen planus: report of an international consensus meeting. Part 1. Viral infections and etiopathogenesis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2004 (in press).
36. Mahood JM. Familial lichen planus. A report of nine cases from four families with a brief review of the literature. *Arch Dermatol* 1983; 119: 292-4.
37. Grunnet N, Schmidt H. Occurrence of lichen planus in a family. Genetic susceptibility or coincidence? *Clin Exp Dermatol* 1983; 8: 379-400.
38. Holmstrup P. Reactions of the oral mucosa related to silver amalgam. *J Oral Pathol Med* 1991; 20: 1-7.
39. Finne K, Goransson K, Winkler L. Oral lichen planus and contact allergy to mercury. *Int J Oral Surg* 1982; 11: 236-9.

40. Lind PO, Hurlen B, Lyberg T, Aas E. Amalgam related oral lichenoid reaction. *Scand J Dent Res* 1986; 94: 448-51.
41. Laine J, Kalimo K, Forssell H, Happonen R-P. Resolution of oral lichenoid lesions after replacement of amalgam restorations in patients allergic to mercury compounds. *Br J Dermatol* 1992; 126: 10-5.
42. Abdollahi M, Radfar M. A review of drug-induced oral reactions. *J Contemp Dent Pract* 2003; 4: 10-31.
43. Bagan JV, Thongprasom K, Scully C. Adverse oral reactions associated with the COX-2 inhibitor Rofecoxib. *Oral Dis* 2004; 10: 401-3.
44. Lim DS, Muir J. Oral lichenoid reaction to imatinib (STI 571, Gleevec). *Dermatology* 2002; 205: 169-71.
45. Postma C. Experiments in the culture of the organism of lichen planus by Jacob and Helmbolds method. *Arch Derm Syphilol* 1937; 36: 836.
46. Fry L, Withers M. Lichen planus: failure to cultivate viruses or mycoplasma. *Br J Dermatol* 1969; 80: 384.
47. Holmstrup P, Dabelsteen E. The frequency of Candida in oral lichen planus. *Scand J Dent Res* 1974; 82: 584-7.
48. Simon M Jr, Hornstein OP. Prevalence rate of Candida in the oral cavity of patients with oral lichen planus. *Arch Dermatol Res* 1980; 267: 317-8.
49. Lundström IMC, Anneroth GB, Holmberg K. Candida in patients with oral lichen planus. *Int J Oral Surg* 1984; 13: 226-38.
50. Krogh P, Holmstrup P, Thorn JJ, Vedtofte P, Pindborg JJ. Yeast species and biotypes associated with oral leukoplakia and lichen planus. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1987; 63: 48-54.
51. Hatchuel DA, Peters E, Lemmer J, Hille JJ, McGaw WT. Candidal infection in oral lichen planus. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1990; 70: 172-5.
52. Silverman S Jr, Gorsky M, Lozada-Nur F, Giannotti K. A prospective study of findings and management in 214 patients with oral lichen planus. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1991; 72: 665-70.
53. Eisen D. The therapy of oral lichen planus. *Crit Rev Oral Biol Med* 1993; 4: 141-58.

54. Sanchez-Perez J, Castro De M, Buezo GF, Fernandez-Herrera J, Borque MJ, Garcia-Diez A. Lichen planus and hepatitis C virus: prevalence and clinical presentation of patients with lichen planus and hepatitis C virus infection. *Br J Dermatol* 1996; 134: 715-9.
55. Bagan JV, Ramon C, Gonzalez L, Diago M, Milian MA, Cors R, et al. Preliminary investigation of the association of oral lichen planus and hepatitis C. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1998; 85: 532-6.
56. Carrozzo M, Gandolfo S, Carbone M, Colombatto P, Broccoletti R, Garzino-Demo P, et al. Hepatitis C virus infection in Italian patients with oral lichen planus: a prospective case-control study. *J Oral Pathol Med* 1996; 25: 527-33.
57. Klanrit P, Thongprasom K, Rojanawatsirivej S, Theamboonlers A, Poovorawan Y. Hepatitis C virus infection in Thai patients with oral lichen planus. *Oral Dis* 2003; 9: 292-7.
58. Tanei R, Watanabe K, Nishiyama S. Clinical and histopathologic analysis of the relationship between lichen planus and chronic hepatitis C. *J Dermatol* 1995; 22: 316-23.
59. Ingafou M, Porter SR, Scully C, Toe CG. No evidence of HCV infection or liver disease in British patients with oral lichen planus. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1998; 27: 65-6.
60. Van der Meij EH, van der Waal I. Hepatitis C virus infection and oral lichen planus: a report from the Netherlands. *J Oral Pathol Med* 2000; 29: 255-8.
61. Shuttleworth D, Graham-Brown RAC, Campbell AC. The autoimmune background in lichen planus. *Br J Dermatol* 1986; 115: 199-203.
62. Rojo-Moreno JL, Bagan JV, Rojo-Moreno J, Donat JS, Milian MA, Jimenez Y. Psychological factors and oral lichen planus. A psychometric evaluation of 100 cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1998; 86: 687-91.
63. McCartan BE. Psychological factors associated with oral lichen planus. *J Oral Pathol Med* 1995; 24: 273-5.
64. Pindborg JJ, Mehta FS, Daftary DK, Gupta RC, Bhonsle RB. Prevalence of oral lichen planus among 7639 Indian villagers in Kerala, South India. *Acta Derm Venereol (Stockh)* 1972; 52: 216-20.

65. Daftary DK, Bhonsie RB, Musti RB, Pindborg JJ, Mehta FS. An oral lichen planus-like lesion in Indian betel tobacco chewers. *Scand J Dent* 1980; 88: 244-5.
66. Lundström I. Incidence of diabetes mellitus in patients with oral lichen planus. *Int J Oral Surg* 1983; 12: 147-52.
67. Bagan JV, Milian-Masanet MA, Penarrocha-Diago M, Jimenez Y. A clinical study of 205 patients with oral lichen planus. *J Oral Maxillofac Surg* 1992; 50: 116-8.
68. Christensen E, Holmstrup P, Jorgensen FW, Jensen BN, Pindborg JJ. Glucose tolerance in patients with oral lichen planus. *J Oral Pathol* 1977; 6: 143-51.
69. Lamey P-J, Gibson J, Barclay SC, Miller S. Grinspan's syndrome: a drug-induced phenomenon? *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1990; 70: 184-5.
70. Scully C, Porter SR, Eveson JW. Oral lichen planus and coeliac disease. *Lancet* 1993; 341: 1660.
71. Jolly M, Nobile S. Vitamin status of patients with oral lichen planus. *Aust Dent* 1977; 22: 446-50.
72. Bhan AK, Harrist TJ, Murphy GF, Mihm MC Jr. T cell subsets and Langerhans cells in lichen planus : in situ characterization using monoclonal antibodies. *Br J Dermatol* 1981; 105: 617-22.
73. Buechner S. T-cell subsets and macrophages in lichen planus. *Dermatologica* 1984; 169: 325-9.
74. Rodriguez-Nunez I, Blanco-Carrion A, Garcia AG, Rey JG. Peripheral T-cell subsets in patients with reticular and atrophic-erosive oral lichen planus. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2001; 91: 180-8.
75. Thornhill MH. Immune mechanisms in oral lichen planus. *Acta Odontol Scand* 2001; 59: 174-7.
76. Rich AM, Reade PC. A quantitative assessment of Langerhans cells in oral mucosal lichen planus and leukoplakia. *Br J Dermatol* 1989; 120: 223-8.
77. Farthing PM, Cruchley AT. Expression of MHC class II antigens (HLA DR, DP and DQ) by keratinocytes in oral lichen planus. *J Oral Pathol Med* 1989; 18: 305-9.
78. Zhao ZZ, Savage NW, Pujic Z, Walsh LJ. Immunohistochemical localization of mast cells and mast cell-nerve interactions in oral lichen planus. *Oral Dis* 1997; 3: 71-6.

79. Zhao ZZ, Sugerman PB, Zhou XJ, Walsh LJ, Savage NW. Mast cell degranulation and the role of T cell RANTES in oral lichen planus. *Oral Dis* 2001; 7: 246-51.
80. Klein LM, Lavker RM, Matis WL, Murphy GF. Degranulation of human mast cells induces an endothelial antigen central to leukocyte adhesion. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 8972-6.
81. Walsh LJ, Trinchieri G, Waldorf HA, Whitaker D, Murphy GF. Human dermal mast cells contain and release tumor necrosis factor alpha, which induces endothelial leukocyte adhesion molecule 1. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 4220-4.
82. Walton LJ, Thornhill MH, Farthing PM. VCAM-1 and ICAM-1 are expressed by Langerhans cells, macrophages and endothelial cells in oral lichen planus. *J Oral Pathol Med* 1994; 23: 262-8.
83. Fang KC, Raymond WW, Blount JL, Caughey GH. Dog mast cell alpha-chymase activates progelatinase B by cleaving the Phe88-Gln89 and Phe91-Glu92 bonds of the catalytic domain. *J Biol Chem* 1997; 272: 25628-35.
84. Zhou XJ, Sugerman PB, Savage NW, Walsh LJ. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in oral lichen planus. *J Cutan Pathol* 2001; 28: 72-82.
85. Zhao ZZ, Sugerman PB, Walsh LJ, Savage NW. Expression of RANTES and CCR1 in oral lichen planus and association with mast cell migration. *J Oral Pathol Med* 2002; 31: 158-62.
86. Spandau U, Toksoy A, Goebeler M, Brocker EB, Gillitzer R. MIG is a dominant lymphocyte-attractant chemokine in lichen planus lesions. *J Invest Dermatol* 1998; 111: 1003-9.
87. WHO Collaborating Center for Oral Precancerous Lesions. Definitions of leukoplakia and related lesions: an aid to studies on oral precancer. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1978; 46: 518-39.
88. Lamey PJ, McCartan BE, MacDonald DG, MacKie RM. Basal cell cytoplasmic autoantibodies in oral lichenoid reactions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1995; 79: 44-9.
89. McCartan BE, Lamey P. Lichen planus-specific antigen in oral lichen planus and oral lichenoid drug eruptions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2000; 89: 585-87.

90. Rice PJ, Hamburger J. Oral lichenoid drug eruptions: their recognition and management. *Dent Update* 2002; 29: 442-7.
91. Lodi G, Scully C, Carrozzo M, Sugerman PB, Thongprasom K. Current controversies in oral lichen planus: Report of an international consensus meeting. Part 2. Clinical management and malignant transformation *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2004 (in press).
92. Carrozzo M, Gandolfo S. The management of oral lichen planus. *Oral Dis* 1999; 5: 196-205.
93. Holmstrup P, Schiotz AW, Hyug D, Westergaard W. Effect of dental plaque control on gingival lichen planus. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1990; 69: 585-90.
94. Vincent SD, Fotos PG, Baker KA, Williams TP. Oral lichen planus: the clinical, historical and therapeutic features of 100 cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1990; 70: 165-71.
95. Carbone M, Conrotto D, Carrozzo M, Broccoletti R, Gandolfo S, Scully C. Topical corticosteroids in association with miconazole and chlorhexidine in the long-term management of atrophic-erosive oral lichen planus: a placebo-controlled and comparative study between clobetasol and fluocinonide. *Oral Dis* 1999; 5: 44-9.
96. Gonzalez-Moles MA, Morales P, Rodriguez-Archilla A, Isabel IR, Gonzalez-Moles S. Treatment of severe chronic oral erosive lesions with clobetasol propionate in aqueous solution. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2002; 93: 264-70.
97. Emslie ES, Hardman FG. The surgical treatment of oral lichen planus. *Trans St Johns Hosp Dermatol Soc* 1970; 56: 43-4.
98. Vedtofte P, Holmstrup P, Hjorting-Hansen E, Pindborg JJ. Surgical treatment of premalignant lesions of the oral mucosa. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1987; 16: 656-64.
99. Bekke JP, Baart JA. Six years' experience with cryosurgery in the oral cavity. *Int J Oral Surg* 1979; 8: 251-70.
100. Hovick CJ, Kalkwarf KL. Treatment of localized oral erosive lichen planus lesions with free soft tissue grafts. *Periodontal Case Rep* 1987; 9: 21-4.

101. Tamizi M, Moayedi M. Treatment of gingival lichen planus with a free gingival graft: a case report. *Quintessence Int* 1992; 23: 249-51.
102. Katz J, Goultchin J, Benoliel R, Rotstein I, Pisanti S. Lichen planus evoked by periodontal surgery. *J Clin Periodontol* 1988; 15: 263-5.
103. Lundquist G, Forsgren H, Gajecki M, Emtestam L. Photochemotherapy of oral lichen planus. A controlled study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1995; 79: 554-8.
104. Lindelof B, Sigurgeirsson B, Tegner E, et al. PUVA and cancer: a large-scale epidemiological study. *Lancet* 1991; 338: 91-3.
105. Zhang M, Tracey KJ. Tumor necrosis factor. In: Thomson AW, ed. *The cytokine handbook*. 3rd ed. California: Academic Press, 1998: 517-48.
106. Baud V, Karin M. Signal transduction by tumor necrosis factor and its relatives. *Trends Cell Biol* 2001; 11: 372-7.
107. Pillai S, Bikle DD, Eessalu TE et al. Binding and biological effects of tumour necrosis alpha on cultured human neonatal foreskin keratinocytes. *J Clin Invest* 1989; 83: 816-21.
108. Semenzato G. Tumour necrosis factor: a cytokine with multiple biological activities. *Br J Cancer* 1990; 61: 354-61.
109. Fiers W. Tumour necrosis factor: characterisation at the molecular, cellular and in vivo level. *Fed Eur Biochem Soc Lett* 1991; 285: 199-212.
110. Al-Janadi M, Al-Balla S, Al-Dalaan A, Raziuddin S. Cytokine profile in systemic lupus erythematosus, rheumatoid arthritis, and other rheumatic diseases. *J Clin Immunol* 1993; 13: 58-67.
111. Ettehadi P, Greaves MW, Walluch D, Aderka D, Camp RDR. Elevated tumour necrosis factor-alpha (TNF- α) biological activity in psoriatic skin lesions. *Clin Exp Immunol* 1994; 96: 146-51.
112. Brennan FM, Feldmann M. Cytokines in autoimmunity. *Current Opinion in Immunology* 1996; 8: 872-7.
113. Vassalli P. The pathophysiology of tumor necrosis factors. *Annu Rev Immunol* 1992; 10: 411-52.

114. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. *Cellular and molecular immunology*. 5th ed. Philadelphia :W.B.Saunders Company, 2003: 247-97.
115. Tracey KJ, Cerami A. Tumor necrosis factor, other cytokines and disease. *Annu Rev Cell Biol* 1993; 9: 317-43.
116. Seymour GJ, Savage NW, Walsh LJ. *Immunology for the Health Sciences*. Sydney: McGraw Hill, 1995; 82-5.
117. Eck MJ, Sprang SR. The structure of tumor necrosis factor- α at 2.6 Å resolution. Implications for receptor binding. *J Biol Chem* 1989; 264: 17595-605.
118. Karin M, Lin A. NF- κ B at the crossroads of life and death. *Nat Immunol* 2002; 3: 221-7.
119. Sartorius U, Schmitz I, Krammer PH. Molecular mechanisms of death-receptor-mediated apoptosis. *Chembiochem* 2001; 2: 20-9.
120. Cotran RS, Kumar V, Collins T. *Robbins pathologic basis of disease*. 6th ed. Philadelphia: W.B.Saunders Company, 1999: 23-5.
121. Verdickt GM, Savage NW, Dodd NM, Walsh LJ. Expression of the CD54 (ICAM-1) and CD11a (LFA-1) adhesion molecules in oral mucosal inflammation. *J Oral Pathol Med* 1992; 21: 65-9.
122. Walsh LJ, Ishii T, Gemmell E, Savage NW, Seymour GJ. Immunohistological analysis of epithelial cell populations in oral lichen planus. *J Oral Pathol Med* 1990; 19: 177-81.
123. Ishii T, Walsh LJ, Seymour GJ, Powell RN. Modulation of Langerhans cell surface antigen expression by recombinant cytokines. *J Oral Pathol Med* 1990; 19: 355-9.
124. Sklavounou A, Chrysomali E, Iakovou M, Garinis GA, Karameris A. Elevated serum levels of the apoptosis related molecules TNF- α , Fas/Apo-1 and Bcl-2 in oral lichen planus. *J Oral Pathol Med* 2004; 33: 386-90.
125. Yamamoto T, Yoneda K, Ueta E, Osaki T. Serum cytokines, interleukin-2 receptor, and soluble intercellular adhesion molecule-1 in oral disorders. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1994; 78: 727-35.
126. Karagouni EE, Dotsika EN, Sklavounou A. Alteration in peripheral blood mononuclear cell function and serum cytokines in oral lichen planus. *J Oral Pathol Med* 1994; 23: 28-35.

127. Miklos S, Gruschwitz MS. In situ expression and serum levels of tumor necrosis factor alpha receptors in patients with lichen planus. *Acta Derm Venereol* 1997; 77: 191-3.
128. Erdem MT, Gulec AI, Kiziltunc A, Yildirim A, Atasoy M. Increased serum levels of tumor necrosis factor alpha in lichen planus. *Dermatology* 2003; 207: 367-70.
129. Nakano Y, Kobayashi W, Sugai S, Kimura H, Yagihashi S. Expression of tumor necrosis factor- α and Interleukin-6 in oral squamous cell carcinoma. *Jpn J Cancer Res* 1999; 90: 858-66.
130. Tervahartiala T, Koski H, Xu J-W, Häyrynen-Immonen R, Hietanen J, Sorsa T, Kontinen YT. Tumor necrosis factor- α and its receptors, p55 and p75, in gingiva of adult periodontitis. *J Dent Res* 2001; 80: 1535-9.
131. Thongprasom K, Luengvisut P, Wongwatanakij A, Boonjatturus C. Clinical evaluation in treatment of oral lichen planus with topical fluocinolone acetonide: a 2-year follow-up. *J Oral Pathol Med* 2003; 32: 315-22.
132. Jungell P, Malmstrom M, Wartiovaara J, Kontinen Y, Sane J. Ultrastructure of oral leukoplakia and lichen planus I. Basal region and inflammatory cells. *J Oral Pathol* 1987; 16: 170-8.
133. Porter SR, Kirby A, Olsen I, Barret W. Immunologic aspects of dermal and oral lichen planus. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1997; 83: 358-66.
134. Bagan JV, Milian MA, Martinez P, Penarrocha M. Gingivitis descamativas crónicas por liquen plano atrófico y/o erosive presentación de 48 casos. *Avances en Periodoncia* 1993; 5: 45-9.
135. Kristensen M, Chu CQ, Eedy DJ, Feldmann M, Brennan FM, Breathnach SM. Localization of tumour necrosis factor-alpha (TNF- α) and its receptors in normal and psoriatic skin: epidermal cells express the 55-kD but not the 75-kD TNF receptor. *Clin Exp Immunol* 1993; 94: 354-62.
136. Walsh LJ, Davis MF, Xu LJ, Savage NW. Relationship between mast cell degranulation and inflammation in the oral cavity. *J Oral Pathol Med* 1995; 24: 266-72.
137. Sakedai M, Tominaga K, Habu M et al. Involvement of tumor necrosis factor- α and interleukin-8 in antigen-induced arthritis of the rabbit temporomandibular joint. *J Oral Pathol Med* 2004; 33: 102-10.

138. Locksley RM, Killeen N, Lenardo MJ. The TNF and TNF receptor superfamilies: integrating mammalian biology. *Cell* 2001; 104: 487–501
139. Banno T, Gazel A, Blumenberg M. Effects of tumor necrosis factor- α (TNF α) in epidermal keratinocytes revealed using global transcriptional profiling. *J Biol Chem* 2004; 279: 32633-42.
140. Ulich THR, Castillo J, Keys M et al. Kinetics and mechanisms of recombinant human interleukin 1 and tumor necrosis factor- α induced changes in circulating numbers of neutrophils and lymphocytes. *J Immunol* 1987; 139: 3406-15.



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

เอกสารประกอบคำแนะนำการศึกษาผู้ป่วยโรคไคนพลาเน็ตในช่องปากและผลการพิจารณา จริยธรรมการวิจัย

เอกสารประกอบคำแนะนำการศึกษาผู้ป่วยโรคไคนพลาเน็ตในช่องปาก

การศึกษาวิจัยเรื่อง

“ทูเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟา ในโรคไคนพลาเน็ต ที่รักษาด้วยฟลูออซิโนโลน อะเซทโทไนด์
ความเข้มข้น 0.1%”

ผู้ทำการศึกษาวิจัย

ศ. ทพญ. กอบกาญจน์ ทองประสม

ภาควิชาเวชศาสตร์ช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์
มหาวิทยาลัย

ผศ.ทพ. กิตติพงษ์ ดนุไทย

ภาควิชาทันตพยาธิวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์
มหาวิทยาลัย

ผู้ช่วยทำการศึกษาวิจัย ทพญ. วิไลรัตน์ สฤกษ์ชัยกุล

นิติตปริญาโท ภาควิชาเวชศาสตร์ช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์
จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย

ท่านเป็นผู้ป่วยโรคไคนพลาเน็ตในช่องปากและได้รับการรักษาที่คลินิก
เวชศาสตร์ช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ท่านจะได้รับการตรวจและ
รักษาตามปกติที่คลินิกเวชศาสตร์ช่องปาก การศึกษาวิจัยนี้เป็นการศึกษาถึงกลไกของการเกิด
โรคไคนพลาเน็ตในช่องปาก และกลไกการทำงานของยาฟลูออซิโนโลน อะเซทโทไนด์ ความ
เข้มข้น 0.1% โดยดูจากผลการตรวจชิ้นเนื้อของผู้ป่วยก่อนและหลังการรักษาด้วยยาดังกล่าวเพื่อ

ประโยชน์ในการศึกษากลไกของการเกิดโรค และกลไกการทำงานของยาซึ่งอาจนำไปสู่การค้นพบยาที่เหมาะสมในการรักษารอยโรคเรื้อรังนี้ต่อไปในอนาคต

การศึกษานี้ใช้วิธีการตรวจชิ้นเนื้อผู้ป่วยก่อนการรักษา และผู้ป่วยจะได้รับการรักษาด้วยยาเป็นระยะเวลา 1 เดือน โดยไม่ต้องเสียค่าใช้จ่ายใดๆ หลังจากนั้นนัดผู้ป่วยกลับมาตรวจชิ้นเนื้ออีกครั้งหลังการรักษา 1 เดือน เพื่อประเมินประสิทธิภาพของยาดังกล่าว

ประโยชน์ที่ได้รับจากการศึกษานี้

ท่านจะได้รับการตรวจชิ้นเนื้อเพื่อการวินิจฉัยโรค จะทราบกลไกที่มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคไลเคน พลาแนสในช่องปากของท่าน และจะได้รับการรักษาด้วยยาฟลูโอซิโนโลน อะเซทโทไนด์ ความเข้มข้น 0.1% เป็นระยะเวลา 1 เดือน โดยท่านไม่ต้องเสียค่าใช้จ่ายใดๆ นอกจากนี้จะมีการให้คำปรึกษาเกี่ยวกับการปฏิบัติตัวของผู้ป่วยโดยผู้ที่อยู่ในคณะวิจัยในการศึกษานี้ด้วย

ผลข้างเคียงจากการศึกษานี้

ท่านอาจได้รับผลข้างเคียงจากการศึกษานี้ คือ ผลจากการตรวจชิ้นเนื้อเพียงเล็กน้อย ซึ่งหายได้เองภายใน 7 วัน หากท่านมีข้อสงสัยประการใด หรือเกิดผลข้างเคียงใดๆ จากการศึกษาดังกล่าว ท่านสามารถติดต่อ

ศ. ทพญ. กอบกาญจน์ ทองประสม

ภาควิชาเวชศาสตร์ช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โทรศัพท์ 02-2188935, 02-2188768

ทพญ. วิไลรัตน์ สฤษฏีชัยกุล คลินิกบัณฑิตศึกษา ภาควิชาเวชศาสตร์ช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โทรศัพท์ 02-2188768 หรือ 01-6613325

เพื่อให้คำแนะนำ หรือบำบัดรักษาโดยไม่เสียค่าใช้จ่าย ได้ตลอดเวลา

ความร่วมมือในการศึกษา

ความร่วมมือในการศึกษาเป็นไปด้วยความสมัครใจ การเข้าร่วมหรือการปฏิเสธ การเข้าร่วมโครงการนี้จะไม่มีการรักษาของท่าน และผู้ที่อยู่ในคณะวิจัยในการศึกษานี้ยินดีจะตอบข้อข้องใจของท่านด้วยความเต็มใจ และท่านจะได้รับสำเนายินยอมเข้าร่วมการศึกษาด้วย 1 ชุด

ใบยินยอมเข้าร่วมการศึกษา “ทูเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟา ในไลเคนพลาเน็ต ที่รักษาด้วยฟลูออซิโนโลน อะเซทโทไนด์ ความเข้มข้น 0.1%”

ข้าพเจ้าได้อ่านข้อความข้างต้นแล้ว มีความเข้าใจทุกประการและได้ลงนามในใบยินยอมเข้าร่วมการศึกษานี้ด้วยความสมัครใจ

.....

(.....)

ผู้เข้าร่วมโครงการ

.....

(ศ. ทพญ. กอบกาญจน์ ทองประสม)

หัวหน้าโครงการวิจัย

.....

(.....) พยาน

สถาบันวิทยบริการ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

.....

(.....) พยาน

วันที่...../...../.....



No.372/2003

Study Protocol and Consent Form Approval

The Ethics Committee of the Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand has approved the following study to be carried out according to the protocol and informed consent dated and/or amended as follows in compliance with the ICH/GCP.

Study Title : Expression of tumor necrosis factor - α in oral lichen planus treated with fluocinolone acetonide 0.1%

Study Code : -

Centre : Chulalongkorn University

Principle Investigator : Prof. Kobkan Thongprasom

Protocol Date : October 1, 2003

Document Reviewed : -

(Professor Anek Aribarg, M.D.)
Chairman of Ethics Committee

(Professor Soottiporn Chittmittrapap, M.D.)
Associate Dean for Research Affairs

Date of Approval : November 24, 2003

Approval Expire : November 24, 2006

* A list of the Ethics Committee members (names and positions) present at the Ethics Committee meeting on the date of approval of this study has been attached. This Study Protocol Approval Form will be forwarded to the Principal Investigator.

ภาคผนวก ข

ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การเปรียบเทียบการแสดงออกของ TNF- α ในกลุ่มผู้ป่วยโรคเอดส์ในช่องปากและกลุ่มควบคุม

Crosstabs

BEPOSTRE * group Crosstabulation

Count		group		Total
		test	control	
BEPOSTR	0	2	18	20
E	1	18	2	20
Total		20	20	40

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	25.600(b)	1	.000		
Continuity Correction(a)	22.500	1	.000		
Likelihood Ratio	29.445	1	.000		
Fisher's Exact Test				.000	.000
Linear-by-Linear Association	24.960	1	.000		
N of Valid Cases	40				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 10.00.

การเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโมโนนิวเคลียร์เซลล์และเคอราตินocytes
ที่มีการแสดงออกทางอิมมูโนฮิสโตเคมีต่อ TNF- α และค่าเฉลี่ยของโมโนนิวเคลียร์เซลล์บริเวณ
ลามินา โพรเปรียในรอยโรคไลเคนพลาเนตัสและกลุ่มควบคุม

Frequencies

Statistics

group			before positive mononuclear cells	keratinocyte positive cell	before lymphocyte count
test	N	Valid	20	20	20
		Missing	0	0	0
	Mean		6.4025	1.8915	177.8850
	Std. Deviation		4.29943	4.39462	52.14392
	Minimum		.00	.00	92.00
	Maximum		16.33	17.50	280.00
control	N	Valid	20	20	20
		Missing	0	0	0
	Mean		.0500	.0000	26.8875
	Std. Deviation		.15390	.00000	7.52648
	Minimum		.00	.00	13.25
	Maximum		.50	.00	43.75

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

group			before positive mononuclear cells	keratinocyte positive cell	before lymphocyte count
test	N		20	20	20
	Normal Parameters(a,b)	Mean	6.4025	1.8915	177.8850
		Std. Deviation	4.29943	4.39462	52.14392
	Most Extreme Differences	Absolute	.149	.333	.141
		Positive	.149	.330	.141
		Negative	-.114	-.333	-.121
	Kolmogorov-Smirnov Z		.666	1.491	.632
Asymp. Sig. (2-tailed)		.767	.023	.819	
control	N		20	20	20
	Normal Parameters(a,b)	Mean	.0500	.0000	26.8875
		Std. Deviation	.15390	.00000(c)	7.52648
	Most Extreme Differences	Absolute	.527		.101
		Positive	.527		.088
		Negative	-.373		-.101
	Kolmogorov-Smirnov Z		2.358		.452
Asymp. Sig. (2-tailed)		.000		.987	

a Test distribution is Normal.

b Calculated from data.

c The distribution has no variance for this variable. One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test cannot be performed.

Mann-Whitney Test

Ranks

	group	N	Mean Rank	Sum of Ranks
before positive mononuclear cells	test	20	29.40	588.00
	control	20	11.60	232.00
	Total	40		
keratinocyte positive cell	test	20	24.00	480.00
	control	20	17.00	340.00
	Total	40		
before lymphocyte count	test	20	30.50	610.00
	control	20	10.50	210.00
	Total	40		

Test Statistics(b)

	before positive mononuclear cells	keratinocyte positive cell	before lymphocyte count
Mann-Whitney U	22.000	130.000	.000
Wilcoxon W	232.000	340.000	210.000
Z	-5.147	-2.859	-5.411
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000	.004	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000(a)	.060(a)	.000(a)

a Not corrected for ties.

b Grouping Variable: group

การเปรียบเทียบผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของ TNF- α ในรอยโรคไลเคนพลาเนียในช่องปากของชนิดฝ่อลีบและชนิดแผลถลอก

Crosstabs

BEPOSTRE * type Crosstabulation

Count

		type		Total
		E-LP	A-LP	
BEPOSTR	0	2	0	2
E	1	11	7	18
Total		13	7	20

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	1.197(b)	1	.274		
Continuity Correction(a)	.098	1	.755		
Likelihood Ratio	1.841	1	.175		
Fisher's Exact Test				.521	.411
Linear-by-Linear Association	1.137	1	.286		
N of Valid Cases	20				

a Computed only for a 2x2 table

b 2 cells (50.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .70.

การเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโมโนนิวเคลียร์เซลล์และเคอราตินocytes
 ที่มีการแสดงออกทางอิมมูโนฮิสโตเคมีต่อ TNF- α และค่าเฉลี่ยของโมโนนิวเคลียร์เซลล์บริเวณ
 ลามินา โพรเปรียในรอยโรคไลเคนพลาเนียช่องปากชนิดฝ่อลีบและชนิดแผลถลอก

Frequencies

Statistics

type			before positive mononuclear cells	keratinocyte positive cell	before lymphocyte count
E-LP	N	Valid	13	13	13
		Missing	0	0	0
	Mean		6.3269	2.5508	180.6177
	Std. Deviation		5.23025	5.34996	57.85283
	Minimum		.00	.00	94.67
	Maximum		16.33	17.50	280.00
A-LP	N	Valid	7	7	7
		Missing	0	0	0
	Mean		6.5429	.6671	172.8100
	Std. Deviation		1.94670	1.10554	43.24353
	Minimum		3.67	.00	92.00
	Maximum		8.67	3.00	211.00

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

type			before positive mononuclear cells	keratinocyte positive cell	before lymphocyte count
E-LP	N		13	13	13
		Normal Parameters(a,b)	Mean	6.3269	2.5508
		Std. Deviation	5.23025	5.34996	57.85283
	Most Extreme Differences	Absolute	.193	.376	.186
		Positive	.193	.376	.186
		Negative	-.142	-.317	-.148
	Kolmogorov-Smirnov Z		.697	1.354	.672
Asymp. Sig. (2-tailed)		.717	.051	.758	
A-LP	N		7	7	7
		Normal Parameters(a,b)	Mean	6.5429	.6671
		Std. Deviation	1.94670	1.10554	43.24353
	Most Extreme Differences	Absolute	.238	.298	.259
		Positive	.162	.298	.189
		Negative	-.238	-.273	-.259
	Kolmogorov-Smirnov Z		.631	.789	.686
Asymp. Sig. (2-tailed)		.821	.562	.734	

a Test distribution is Normal.

b Calculated from data.

T-Test

Group Statistics

	type	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
before positive mononuclear cells	E-LP	13	6.3269	5.23025	1.45061
	A-LP	7	6.5429	1.94670	.73578
before lymphocyte count	E-LP	13	180.6177	57.85283	16.04549
	A-LP	7	172.8100	43.24353	16.34452
keratinocyte positive cell	E-LP	13	2.5508	5.34996	1.48381
	A-LP	7	.6671	1.10554	.41786

Independent Samples Test

group			Levene's Test for Equality of Variances	
			F	Sig.
test	before positive mononuclear cells	Equal variances assumed	3.569	.075
	before lymphocyte count	Equal variances assumed	2.166	.158
	keratinocyte positive cell	Equal variances assumed	3.776	.068

Independent Samples Test

group			t-test for Equality of Means						
			t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
								Lower	Upper
test	before positive mononuclear cells	Equal variances assumed	-.104	18	.918	-.2159	2.07021	-4.56528	4.13341
		Equal variances not assumed	-.133	16.751	.896	-.2159	1.62654	-3.65153	3.21966
	before lymphocyte count	Equal variances assumed	.312	18	.759	7.8077	25.04780	-44.81578	60.43116
		Equal variances not assumed	.341	15.800	.738	7.8077	22.90417	-40.79694	56.41232
	keratinocyte positive cell	Equal variances assumed	.910	18	.375	1.8836	2.06960	-2.46444	6.23169
		Equal variances not assumed	1.222	13.805	.242	1.8836	1.54152	-1.42700	5.19425

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาววิไลรัตน์ สฤษฏีชัยกุล เกิดวันที่ 13 ต.ค. พ.ศ. 2521 ที่จังหวัดขอนแก่น สำเร็จการศึกษาปริญญาตรีทันตแพทยศาสตรบัณฑิต จากมหาวิทยาลัยขอนแก่น ในปีการศึกษา 2545 และได้รับการบรรจุในตำแหน่งพนักงานสายวิชาการ (อาจารย์) ที่ภาควิชาวินิจฉัยโรคช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร หลังจากนั้นในปีการศึกษา 2546 ได้รับการอนุมัติให้ลาศึกษาต่อในหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเวชศาสตร์ช่องปาก ที่ภาควิชาเวชศาสตร์ช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย