บทที่ 2

ปริทัศน์วรรณกรรม

อะมีโลบลาสโทมา

อะมีโลบลาสโทมา จัดเป็นกลุ่มของเนื้องอกชนิดไม่ร้ายแรง (benign) ที่มีต้นกำเนิดมาจากเนื้อเยื่อที่เกี่ยวข้องกับฟัน (odontogenic tumor)(Juan, 1996) เนื้องอกชนิดนี้พบได้ประมาณ 11-13% ของเนื้องอกที่มีต้นกำเนิดมาจากเนื้อเยื่อที่เกี่ยวข้องกับฟัน (Neville et al, 1995) Regezi and Sciubba (1999) ได้กล่าวถึงลักษณะทางคลินิกของ อะมีโลบลาสโทมาไว้ดังนี้ คือ

1. มีการเจริญของก้อนเนื้องอกอย่างช้า ๆ โดยไม่แสดงสภาวะคุกคามอวัยวะข้างเคียงให้ตรวจพบได้ในช่วงระยะต้นของการเกิดโรค

2. ทำให้มีการขยายขนาดของกระดูกขากรรไกร ซึ่งอะมีโลบลาสโทมานี้มักเกิดในกระดูกขากรรไกรล่าง

3. มีการเจริญลุกลามอย่างเฉพาะที่ ไม่แพร่กระจายไปที่บริเวณหรืออวัยวะอื่น

4. มีอัตราการเกิดซ้ำหลังการรักษาในครั้งแรก (recurrence) ได้สูงมาก

มีบ้างในบางกรณีของอะมีโลบลาสโทมาที่พบได้ว่ามีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและพฤติกรรมของเซลล์ ไปเป็นเนื้องอกชนิดร้ายแรง (malignant behavior) (Setsuko et al,1999)

ลักษณะทางภาพรังสีของเนื้องอกนี้ พบเป็นได้ทั้งแบบรอยโรคเงาดำวงเดียว (unilocular) หรือ หลายวง (multilocular) ก็ได้ (Norman and Paul,1999) จากรายงานการวิจัยในคณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยพบว่าในผู้ป่วย 142 รายที่เป็นเนื้องอกอะมีโลบลาสโทมา มีภาพรังสีเป็นแบบเงาดำหลายวงซ้อนกันมากที่สุด รองลงมาคือแบบเงาดำวงเดียวและแบบเงาดำวงเล็ก ๆ คล้ายฟองสบู่น้อยที่สุด ขอบของเงาดำที่เห็นได้จากภาพถ่ายรังสีส่วนมากจะเรียบ ในรายที่ก้อนเนื้องอกขยายใหญ่ออกไปมากจะเห็นกระดูกทึบบางมาก (วินัย ศิริจิตร, 2527)

การแบ่งชนิดของอะมีโลบลาสโทมา

ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของอะมีโลบลาสโทมามีได้หลายแบบ Shafer et al, (1984) ได้จัดแบ่งอะมีโลบลาสโทมาโดยอาศัยลักษณะทางจุลกายวิภาค (histological appearance) ไว้ดังนี้

1. ฟอลลิคูลาร์อะมีโลบลาสโทมา (follicular ameloblastoma)

อะมีโลบลาสโทมาชนิดนี้ประกอบไปด้วยเซลล์ 2 ชนิด คือเซลล์รูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า (columnar) ที่มีลักษณะคล้ายเซลล์อะมีโลบลาสต์ (ameloblast-like cell) และเซลล์ที่คล้ายเซลล์รูปดาว (stellate like cell) โดยลักษณะของเซลล์คล้ายอะมีโลบลาสต์ จะพบมีการกลับด้านของนิวเคลียส (reverse polarity) และพบช่องว่างในเซลล์ (vacuole) ที่ฐานของเซลล์ด้วย เซลล์เนื้องอกทั้งสองชนิดนี้เรียงตัวเป็นกลุ่มโดยมีลักษณะการเรียงตัวของเซลล์คล้ายอะมีโลบลาสต์อยู่ที่ขอบของกลุ่มเซลล์เนื้องอกล้อมรอบส่วนตรงกลางซึ่งมีเซลล์รูปดาวกระจายอยู่ทั่วไป (ภาพที่ 1A)

2. เพลกซิฟอร์มอะมีโลบลาสโทมา (Plexiform ameloblastoma)

เนื้องอกชนิดนี้ประกอบไปด้วยเซลล์คล้ายอะมีโลบลาสต์จัดเรียงตัวเป็นสายยาวและสานกันคล้ายร่างแห หรือเป็นปื้นแผ่น (anastomosing cords or sheets) ซึ่งโดยมากแล้วกลุ่มเซลล์พวกนี้มักจะมีรูปร่างเป็นสี่เหลี่ยมเตี้ย ๆ (low cuboidal cell) ส่วนลักษณะของเซลล์รูปดาวอาจจะมีให้เห็นได้บ้างแต่ไม่เด่นชัดนัก (ภาพที่ 1B)

3. อะแคนโทมาตัสอะมีโลบลาสโทมา (Acanthomatous ameloblastoma)

อะมีโลบลาสโทมาชนิดนี้มีลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาคล้ายกับชนิดฟอลลิคูลาร์ กล่าวคือ เซลล์คล้ายอะมีโลบลาสต์ เรียงตัวตามแนวขอบของกลุ่มเซลล์เนื้องอก แต่ที่แตกต่างจากชนิดฟอลลิคูลาร์คือ จะพบการเปลี่ยนแปลงของกลุ่มเซลล์รูปดาว ไปเป็นกลุ่มเซลล์เยื่อบุผิวชนิดสความัส (squamous cell metaplasia) ในบางบริเวณ อาจจะพบก้อนเคอราตินได้ (keratin mass) (ภาพที่ 1C)

4. แกรนูลาร์เซลล์อะมีโลบลาสโทมา (Granular cell ameloblastoma)

เนื้องอกชนิดนี้ประกอบด้วยกลุ่มเซลล์เนื้องอกคล้ายกับอะมีโลบลาสโทมาชนิดฟอลลิคูลารและอะแคนโทมาตัสแต่จะแตกต่างกันอย่างเด่นชัดตรงที่ลักษณะของเซลล์ใน

บริเวณกลางของกลุ่มเซลล์เนื้องอกจะพบกลุ่มแกรนูลาร์เซลล์ (granular cell) ซึ่งเป็นเซลล์ที่มีรูปร่างกลมและขนาดใหญ่ ไซโทพลาซึมของเซลล์มีแกรนูลติดสีแดง (eosinophillic granule) แทนที่กลุ่มเซลล์รูปดาว หรือเซลล์บุผิวชนิดสความัสที่พบในชนิดฟอลลิคูลาร์และอะแคนโทมาตัส (ภาพที่ 1D)

5. เดสโมพลาสติกอะมีโลบลาสโทมา (Desmoplastic ameloblastoma)

สำหรับอะมีโลบลาสโทมาชนิดนี้ บางครั้งถูกจัดว่าเป็นชนิดที่มีลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาผันแปรไปจากอะมีโลบลาสโทมา (histological variant) โดยลักษณะของเนื้องอกประกอบ ไปด้วยกลุ่มเซลล์ที่มีลักษณะคล้ายอะมีโลบลาสต์อยู่ร่วมกันเป็นกระจุกเล็ก ๆ หรือกลุ่มเซลล์พวกโอดอนโทเจนิกเอ็พพิทีเลียม (odontogenic epithelium) กระจายอยู่ในส่วนพยุงหรือสโตรมา (stroma) ที่ประกอบด้วยเนื้อเยื่อยึดต่อ (connective tissue) และแถบคอลลาเจนที่หนาแน่น (dense collagenous bundle) ไม่ค่อยพบเซลล์คล้ายอะมีโลบลาสต์ที่มีรูปร่างเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า อะมีโลบลาสโทมาชนิดนี้มีลักษณะที่แตกต่างจากอะมีโลบลาสโทมาอื่นคือมีแนวโน้มของการเกิดโรคที่บริเวณส่วนหน้าของกระดูกขากรรไกร (anterior regions of the jaws) มีรายงานว่าบางครั้งลักษณะทางภาพรังสีและอัตราการเกิดของอะมีโลบลาสโทมาชนิดนี้ใกล้เคียงกับรอยโรคอื่นในกลุ่มเส้นใยและกระดูก (fibro-osseous lesion)(Norman and Paul,1999; Noel and Gowing, 1980; Smith, 1992) (ภาพที่ 1E)

6. เบซัลลอยด์อะมีโลบลาสโทมา (Basaloid ameloblastoma)

อะมีโลบลาสโทมาชนิดนี้จัดเป็นชนิดที่พบได้น้อยมาก โดยจะมีลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของเซลล์เนื้องอกคล้ายกับเบซัลเซลล์คาร์ซิโนมา (basal cell carcinoma) แต่มีพฤติกรรมของโรคที่รุนแรงน้อยกว่า กล่าวคือพบเซลล์พวกเบซัลลอยด์อยู่กระจัดกระจายทั่วไปและจะไม่พบองค์ประกอบของเซลล์รูปดาวเหมือนกับที่พบในอะมีโลบลาสโทมาชนิดอื่น ดังที่กล่าวไปแล้วข้างต้น (ภาพที่ 1F)

นอกเหนือจากชนิดต่าง ๆ ของอะมีโลบลาสโทมา ที่จัดแบ่งไว้ตามที่กล่าวข้างต้นแล้ว WHO (Kramer et al, 1992) ยังได้แบ่งชนิดที่มีการผันแปร (variation) ของอะมีโลบลาส-โทมา ไว้ดังนี้คือ

1. เคอราโทอะมีโลบลาสโทมา (Keratoameloblastoma)

อะมีโลบลาสโทมาชนิดนี้ จัดเป็นชนิดที่มีการสร้างเคอราตินอย่างมาก และพบไมโครซิสต์ (microcyst) ที่บุด้วยเอ็พพิทีเลียมชนิดพาราเคอราติน (parakeratinized epithelium)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เอ็พพิทีเลียม (epithelial components) มีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นเนื้องอกชนิดร้ายแรง (malignant transformation) และเนื้องอกที่แพร่กระจายออกไปมีลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของเซลล์เนื้องอกเป็นชนิดร้ายแรงด้วย ซึ่งแตกต่างไปจากอะมีโลบลาสโทมาชนิดไม่ร้ายแรงอย่างชัดเจน (Shafer et al, 1984; Lau et al,1998)

หลักเกณฑ์ในการรักษา

ถึงแม้ว่าอะมีโลบลาสโทมาจะเป็นเนื้องอกชนิดไม่ร้าย แต่พฤติกรรมของเนื้องอกเป็นแบบลุกลามเฉพาะที่อย่างมาก การรักษาด้วยการผ่าตัดและขูดเอาเนื้องอกออกทั้งหมดทำได้ยาก เพราะเซลล์เนื้องอกมักจะลุกลามแทรกซึมเข้าไปในกระดูกและเนื้อเยื่อข้างเคียงซึ่งไม่สามารถตรวจพบได้ด้วยภาพรังสี (Reichart, Phillipsen and Soner,1995) ดังนั้นในการผ่าตัดรักษาจึงต้องมีการตัดเอาส่วนเนื้องอกและเนื้อเยื่อปกติข้างเคียงออกมาด้วย การรักษาแบบอนุรักษ์ (conservative treatment) ของอะมีโลบลาสโทมาชนิดที่มีเงาดำหลายวงจะทำให้มีอัตราการเกิดซ้ำได้ในช่วงระยะ 5 ปี ถึง 75% ในขณะที่ การรักษาโดยการผ่าตัดอย่างถอนรากถอนโคน (radical surgery) จะช่วยลดอัตราการเกิดซ้ำได้มาก คือการเกิดซ้ำของโรคในช่วง 5 ปีมีเพียง 15 % (Setsuko et al,1999) นอกจากนี้การเกิดซ้ำหรือการแพร่กระจายของเนื้องอก หลังจากที่ได้รับการผ่าตัดรักษาอะมีโลบลาสโทมาแล้วหลายปีก็จะมีลักษณะการแสดงออกทางจุลพยาธิที่ต่างออกไปจากอะมีโลบลาสโทมาดั้งเดิม (malignant transformation from classic ameloblastoma) (Daramola et al, 1980; Azumi et al, 1981) ในปัจจุบัน การรักษาที่ดีที่สุดของเนื้องอกอะมีโลบลาสโทมายังเป็นที่โต้แย้งกันอยู่ ประเด็นสำคัญที่สุดคือการให้การวินิจฉัยโรคที่แม่นยำและการตรวจพบรอยโรคตั้งแต่ระยะต้น ๆ เป็นสิ่งสำคัญอย่างมาก อีกทั้งการตรวจทางคลินิก ทางภาพรังสี และทางจุลพยาธิวิทยาอย่างละเอียด จะช่วยให้การรักษาและการพยากรณ์โรคดีมากยิ่งขึ้น (Cawson and Eveson,1987)

คุณสมบัติและลักษณะของเซลล์เนื้องอกอะมีโลบลาสโทมา

มีรายงานการวิจัยหลายฉบับที่ศึกษาถึงลักษณะทางเซลล์ชีววิทยา (cell biology) ของอะมีโลบลาสโทมา เพื่อให้เข้าใจถึงธรรมชาติของเนื้องอกที่อาจมีอิทธิพลกับความรุนแรงของโรค ชนิดของโรค รวมไปถึงกลไกต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดเป็นเนื้องอก

Mir-Salim and Jahnke (1998) ได้ศึกษาถึงลักษณะของเซลล์เนื้องอกอะมีโลบลาสโทมาที่เกิดกับโพรงอากาศในขากรรไกรบน (maxillary sinus) จำนวน 8 ตัวอย่างซึ่งประกอบด้วย ชนิดฟอลลิคูลาร์ ชนิดเพลกซิฟอร์ม และชนิดอะแคนโทมาตัส โดยศึกษาลักษณะ

ทางจุลพยาธิวิทยาของเซลล์เนื้องอกด้วยกล้องจุลทรรศน์ระบบใช้แสงขาว (light microscope) เปรียบเทียบกับเมื่อดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนชนิดทรานสมิสชัน (transmission electron microscope) ทำให้ทราบถึงรายละเอียดการเรียงตัวของเซลล์ที่คล้ายอะมีโลบลาสต์ที่แตกต่างกันในอะมีโลบลาสโทมาชนิดต่าง ๆ Do Carmo and Silva (1998) ศึกษาถึงการแสดงออกของ Argyrophillic nuclear organizer regions (AgNORs) ซึ่งจัดเป็นส่วนหนึ่งในสายพันธุกรรม โดยมีความสำคัญคือโปรทีนที่สร้างมาจากการถอดรหัสบนสายพันธุกรรมช่วงนี้จะบ่งบอกถึงการมีอัตราการแบ่งตัวของเซลล์ (cell proliferative activity) ของอะมีโลบลาสโทมาเทียบกับอะดีโนมาตอยโอดอนโตเจนิกทูเมอร์ (adenomatoid odontogenic tumor) ซึ่งเนื้องอกทั้งสองชนิดนี้ต่างก็มีต้นกำเนิดมาจากเนื้อเยื่อที่เกี่ยวข้องกับฟันเหมือนกัน พบว่าลักษณะของ AgNORs ที่แสดงออกมานั้นไม่มีความแตกต่างกัน ถึงแม้ว่าจะมีพฤติกรรมที่แสดงออกทางคลินิกแตกต่างกันก็ตาม แต่ในด้านของดรรชนีการเพิ่มจำนวนของเซลล์เนื้องอก (proliferative index) อะมีโลบลาสโทมาจะมีค่าสูงกว่าอะดีโนมาตอยโอดอนโตเจนิกทูเมอร์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ในปี 1997 Rosa et al ได้ศึกษาเปรียบเทียบอะมีโลบลาสโทมากับเบซัลเซลล์คาร์ซิโนมา เพราะเนื้องอกทั้งสองชนิดนี้ ต่างก็มีลักษณะทางจุลกายวิภาคและรูปแบบในการเจริญของเนื้องอกคล้ายคลึงกัน โดยศึกษาลักษณะการปรากฏของ AgNORs และพบว่าเนื้องอกทั้งสองชนิดมีการติดของสีที่แตกต่างกัน กล่าวคือ ในเบซัลเซลล์คาร์ซิโนมาพบจำนวนการติดสีได้มากกว่าและพบการติดสีเป็นจุดเล็ก ๆ อยู่ภายในนิวเคลียส ในขณะที่อะมีโลบลาสโทมาแสดงการติดสีเป็นจุดใหญ่ ๆ เพียง 1-2 จุดภายในนิวเคลียสเท่านั้น

ในปัจจุบันมีการศึกษาถึงลักษณะรายละเอียดด้านอื่น ๆ ของอะมีโลบลาสโทมาอย่างกว้างขวาง โดยส่วนใหญ่ใช้วิธีการทางอิมมูโนฮิสโตเคมีและอิมมูโนไซโตเคมี (immunohistochemistry and immunocytochemistry) Pripatnanont et al (1998) ได้ศึกษาคุณสมบัติในการสร้างและหลั่งสารพวก osteolytic cytokines และ adhesion molecules โดยเซลล์เนื้องอกอะมีโลบลาสโทมา ทั้งนี้เนื่องจากมีรายงานว่า cytokines เหล่านี้มีผลต่อความสามารถและธรรมชาติของเซลล์เนื้องอกในการลุกลามและทำลายกระดูก (Meghji et al,1991) ผลการศึกษาพบว่า อะมีโลบลาสโทมาสามารถสังเคราะห์ cytokines สองชนิดในการทำลายกระดูก คือ อินเตอร์ลิวคิน-1 (interleukin-1) และอินเตอร์ลิวคิน-6 (interleukin-6) ได้ โดยการสังเคราะห์ส่วนใหญ่จะมาจากบริเวณเซลล์รูปดาวที่เป็นองค์ประกอบของเซลล์เนื้องอกชนิดนี้ด้วย

Kumamoto and Ooya (1999) ศึกษาเกี่ยวกับ E-cadherin และ alpha-catenin ซึ่งโปรทีนทั้งสองชนิดเป็น cell adhesion molecules ในส่วนที่เป็นเอ็พพิทีเลียมของเนื้องอกอะมี-

โลบลาสโทมาหลายชนิด และพบการแสดงออกของ E-cadherin และ alpha-catenin อย่างชัดเจนมากที่บริเวณเซลล์รูปดาวของอะมีโลบลาสโทมาที่ศึกษา ในขณะที่อะมีโลบลาสโทมาชนิดร้ายแรงและอะมีโลบลาสติกคาร์ซิโนมา พบการลดลงของ E-cadherin และ alpha-catenin อย่างเด่นชัด

เนื่องจากอะมีโลบลาสโทมาเป็นเนื้องอกที่มีลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาได้หลายชนิด ทำให้มีผู้สนใจศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะทางจุลพยาธิวิทยากับพฤติกรรมการแสดงออกทางคลินิก Onguti, Howell and William (1999) ได้ศึกษาถึงการแสดงออกของเคอราตินในอะมีโลบลาสโทมาที่พบในประชากรประเทศเคนยาเป็นจำนวน 39 ตัวอย่าง และพบว่าในบริเวณที่มีเคอราตินหนาแน่นเป็นบริเวณที่มีความเจริญและลุกลามอย่างมาก (rapid growth)

การศึกษาในด้านอื่น ๆ ของอะมีโลบลาสโทมายังมีอีกหลายแนวทาง ตัวอย่างเช่น Kumamoto (1997) ศึกษาถึง apoptosis-related factor ใน apoptotic cell ในอะมีโลบลาส-โทมา และพบว่าในอะมีโลบลาสโทมาจะมีการแสดงออกของ apoptotic cell ในจำนวนที่สูงมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับเนื้องอกที่มีต้นกำเนิดเกี่ยวข้องกับฟันชนิดอื่น ๆ โดยการพบมี apoptotic cell เป็นการช่วยบอกได้ถึงการเกิดเป็นมะเร็ง (oncogenesis) และการมีการเปลี่ยนสภาพของเซลล์ได้ (cell differentiation) อีกทั้งยังขยายผลการศึกษาและให้การเสนอแนะว่าการเกิด apoptotic cell มีบทบาทอย่างมากต่อการเกิดเป็นมะเร็ง และการเปลี่ยนสภาพของเซลล์

สำหรับการศึกษาโดยใช้เทคนิคอิมมูโนฮิสโตเคมีด้วยการใช้แอนติบอดีชนิดต่าง ๆ โดยในแต่ละชนิด มีข้อจำกัดและความเฉพาะเจาะจง ในด้านคุณสมบัติของแอนติบอดีต่างกันไป มีผู้นำแอนติบอดีหลายชนิดมาใช้เพื่อการศึกษาในอะมีโลบลาสโทมา ตัวอย่างเช่น Takahashi et al (1998) ได้ศึกษาอะมีโลบลาสโทมาโดยใช้ PCNA antibody เพื่อเป็นดรรชนีที่ช่วยบอกถึงการแบ่งตัวของเซลล์เนื้องอก หรือ Cavalhais et al (1999) ได้ทำการศึกษาการแสดงออกของ P53 และ MDM2 โปรทีน (ซึ่งจัดเป็นส่วนประกอบของจีนก่อมะเร็ง (oncogene) และจะถูกกระตุ้นให้มีการสร้างมากขึ้นได้ด้วยโปรทีน P53) ในโรคเนื้องอกและถุงน้ำที่มีต้นกำเนิดมาจากเนื้อเยื่อที่เกี่ยวข้องกับฟัน ทำให้รู้ถึงรายละเอียดของลักษณะการเกิดโรค (pathogenesis) ของเนื้องอกและถุงน้ำเหล่านี้ เห็นได้ว่าในปัจจุบันได้มีนักวิทยาศาสตร์สนใจศึกษาลักษณะและรายละเอียดของอะมีโลบลาสโทมาในแง่มุมต่าง ๆ มากยิ่งขึ้น ทั้งนี้โดยการศึกษาด้วยวิธีการทางอิมมูโนฮิสโตเคมี

จะช่วยให้ได้ข้อมูลเกี่ยวกับพฤติกรรมของเซลล์เนื้องอกอะมีโลบลาสโทมา ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อการให้การรักษาผู้ป่วยและการพยากรณ์ของโรคได้ดีขึ้น

CK Biomarker

CK (cytokeratin) จัดเป็นโปรทีนโครงสร้าง (structural protein) ที่สามารถพบได้ส่วนใหญ่ในเอ็พพิทีเลียม CK ประกอบไปด้วยสายเปปไทด์ (peptide) 20 สายโดยประมาณ และมี น้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 40,000 ถึง 68,000 ดาลตัน (Steven and Lowe,1992) กระบวนการสร้าง CK จะถูกกำหนดด้วยจีนหลายกลุ่ม ทำให้การแสดงออกของ CK ทั้งคุณสมบัติทางเคมีและวิทยาอิมมูน (chemical and immunologic properties) มีได้แตกต่างกันได้หลายชนิด

CK สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ โดยแบ่งตามลักษณะของการบิดงอของโครงสร้าง (conformation) ดังนี้ คืออัลฟาเคอราติน (alpha keratin) ซึ่งจะมีสายโปรทีนเป็นชนิดอัลฟา และเบต้าเคอราติน (beta keratin) ซึ่งจะมีสายโปรทีนเป็นชนิดหักไปมา (zigzag) หรือเป็นแผ่นที่มีรอยจีบ (pleated sheet) (Gartner and James,1997) ในปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์ได้ค้นพบและจัดชนิดของ CK ออกตามคุณสมบัติทางเคมีและวิทยาอิมมูนออกได้เป็นหลายชนิด ได้แก่ B-keratin, cytokeratin d, cytikeratin hax, cytokeratin hbx, cytokeratin 13, cytokeratin 16, cytokeratin 17, cytokeratin 18, cytokeratin 19, cytokeratin 4, cytokeratin 8, cytokeratin 9, endo-a cytokeratin, endo-a protein, endo-b cytokeratin, keratin 9 และ keratin 19 (Brown and Gatter ,1990)

CK เป็นโปรทีนที่มีลักษณะเป็นเส้นใยแข็ง (fibrous protein หรือ scleroprotein) พบได้มากที่ชั้นหนังกำพร้า เส้นผม ขน และเล็บ และส่วนของอินทรียสาร (organic matrix) ของผิวเคลือบฟันด้วย (Junqueira et al,1995) โปรทีน CK นี้พบได้ในไซโทพลาซึมของเซลล์ (Onguti et al,1999) ซึ่งจะต่างจากโปรทีน P53 และ PCNA ที่พบในนิวเคลียสของเซลล์ ในปัจจุบันมีการผลิตแอนติบอดีต่อ CK ออกมาหลายชนิด ทั้งนี้เนื่องมาจาก CK ที่ค้นพบในองค์ประกอบของเซลล์นั้นมีมากมายหลายชนิด (Tungeka et al, 1991) โดยแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันในแง่ของการปรากฏในเซลล์ระยะต่าง ๆ และชนิดของเอ็พพิทีเลียมที่แตกต่างกัน (Key, 1993) ตัวอย่างเช่น cytokeratin 17 พบได้ที่เยื่อบุหลอดลม และปอด cytokeratin 10 พบได้ในเยื่อบุผิวชนิดสความัสทั้งที่มีเคอราติน และไม่มีเคอราติน หรือ cytokeratin 19 พบได้ในเยื่อบุท่อและต่อมต่าง ๆ เป็นต้น (Bando, 1993) นอกจากนี้บางชนิดสามารถใช้เป็น specific marker ของการใช้ดูว่าเซลล์มี epithelial differentiation หรือไม่ (Ogden et al, 1992b) และยังสามารถใช้เป็นดรรชนีของ tumor identification และ classification ได้ เช่น ใช้ช่วยในการแยกเนื้องอกที่มีจุดกำเนิดจาก

เอ็พพิทีเลียม (epithelial tumor) ออกจากเนื้องอกในกลุ่มที่มีจุดกำเนิดไม่เกี่ยวกับเอ็พพิทีเลียม (non epithelial tumor) หรือ กลุ่มลิมโฟมา (lymphoma) และกลุ่มที่มีจุดกำเนิดจากเนื้อเยื่อประสาท (neural tumors) นอกจากนี้ ยังสามารถใช้ช่วยบอกถึงภาวะการเปลี่ยนสภาพไปในทางเลวร้าย (poorly differentiate tumors) ได้ด้วย (Robbin et al, 1987)

สำหรับอะมีโลบลาสโทมา ซึ่งจัดเป็นโรคเนื้องอกที่มีต้นกำเนิดมาจากฟัน และเป็นกลุ่มที่เป็นเอ็พพิทีเลียมด้วยนั้น มีนักวิทยาศาสตร์หลายกลุ่มนำแอนติบอดีต่อ CK มาใช้เพื่อดูการแสดงออกของเนื้องอกและใช้ในการพยากรณ์โรคด้วย Lau et al (1998) พบว่าไม่มีการแสดงออกของ CK ในอะมีโลบลาสติกคาร์ซิโนมา (ameloblastic carcinoma) ซึ่งแตกต่างไปจากอะมีโลบลาสโทมาทั่วไป และเสนอแนะว่าการแสดงออกของ CK น่าจะใช้เป็น marker ในการบอกถึงสภาวะคุกคามของโรค และเป็นมะเร็งได้ (aggressiveness and malignancy) จากการที่อะมีโลบลาสโทมามีอัตราของการเกิดซ้ำได้สูง และในบางกรณีอาจจะพบการแบ่งเซลล์ ซึ่งเป็นลักษณะของการเปลี่ยนของโรคไปเป็นมะเร็งได้ด้วย (Gardner,1996)

ดังนั้นการแสดงออกและแบบแผนในการแสดงออกของ CK จึงมีประโยชน์ที่จะนำมาใช้ช่วยประเมินสภาวะของการเปลี่ยนไปเป็นมะเร็ง หรือการพยากรณ์ของโรคเนื้องอกที่เลวร้ายลงได้

จากการที่ marker ทั้งสามชนิดนี้ มีคุณค่าต่อการพิจารณาถึงพฤติกรรมของเซลล์เนื้องอก ดังนั้นจึงอาจจะนำมาใช้ประโยชน์เพื่อการให้การพยากรณ์โรคที่ชัดเจนขึ้นได้

PCNA Biomarker

PCNA (proliferating cell nuclear antigen) เป็นโปรทีนที่อยู่ในรูปของ acidic non–histone auxiliary protein ของเอนไซม์ DNA polymerase (Bravo et al,1987) โดยโปรทีน PCNA มีขนาด 36 กิโลดาลตัน หรือในอีกลักษณะหนึ่งจะอยู่ในรูปของ polymerase delta accessory protein หรือ cyclin ซึ่งมีบทบาทสำคัญมากต่อกระบวนการสังเคราะห์ DNA (replication ช่วง S-Phase) โดยโปรทีน PCNA นี้สามารถตรวจพบได้ในนิวคลีโอพลาซึม (nucleoplasm) ตลอดช่วงของวงจรของเซลล์ (celi cycle)

โปรทีน PCNA เริ่มตรวจพบได้ในช่วง G1 Phase จากนั้นจะค่อย ๆ ลดลงในช่วง G2 และช่วง M phase (Wood et al,1991) สำหรับในเซลล์เนื้อเยื่อปกตินั้น การตรวจพบโปรทีน PCNA เพิ่มขึ้นสามารถบอกได้แต่เพียงว่ากำลังมีกระบวนการแบ่งและเพิ่มจำนวนของเซลล์ (Harrison , 1993) แต่ที่น่าสนใจก็คือในกลุ่มของเซลล์เนื้องอกจะพบว่าสัดส่วนของ PCNA positive

cell ต่อเซลล์ที่ปกติจะมีสัดส่วนที่เพิ่มขึ้น จึงทำให้มีผู้นำไปเป็นดรรชนีบ่งบอกถึง proliferative activity ในการวิเคราะห์โรคทางพยาธิวิทยา (Piatelli et al, 1998)

ในปัจจุบันได้มีการพัฒนาและนำ PCNA มาใช้ประเมินสภาวะความสามารถในการเจริญและแบ่งตัวของเซลล์เนื้องอกแบบต่าง ๆ อย่างกว้างขวาง (Shindoh et al,1995) และมีรายงานการศึกษา PCNA ในโรคเนื้องอกที่มีต้นกำเนิดมาจากฟัน (Li et al, 1995) และแสดงให้เห็นว่าการศึกษาเกี่ยวกับ PCNA นั้นยังสามารถนำมาทดลองซ้ำ (reproducibility) โดยให้ผลการศึกษาคงที่ในเนื้อเยื่อที่อยู่ในบล็อคพาราฟินได้ (Mighell,1995)

ในด้านการพยากรณ์ของเนื้องอกต่าง ๆ นั้น PCNA ได้รับการพัฒนาเพื่อใช้เป็นตัวบ่งชี้ และแยกความสามารถในการแบ่งตัวของเนื้องอกออกจากรอยโรคที่ไม่ใช่เนื้องอกด้วย (Robbin et al,1987) ปัจจุบันมีการผลิตแอนติบอดีต่อ PCNA เพื่อใช้เป็นข้อมูลพยากรณ์โรคสำหรับเนื้องอกในกลุ่มมะเร็ง (Bravo et al,1987; Yu et al,1990) และนักวิทยาศาสตร์หลายกลุ่มยังเชื่อว่าลักษณะการแสดงออกของ PCNA นั้น มีความสัมพันธ์กับลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาด้วย กล่าวคือเมื่อเซลล์แสดงลักษณะของการเป็นมะเร็งตามลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาสูงเท่าใดก็จะมีค่าการแสดงออกของโปรทีน PCNA สูงตามไปด้วยด้วย (Wood et al,1991; Hall, 1990)

สำหรับการใช้ PCNA เพื่อการพยากรณ์โรคอะมีโลบลาสโทมานั้น มีรายงานว่าในฟอลลิคูลาร์อะมีโลบลาสโทมานั้นจะให้ผลบวก (positive result) ต่อ PCNA เฉพาะเซลล์เนื้องอกในส่วนขอบของกลุ่มเซลล์เนื้องอกเท่านั้น แต่ในพวกเพลกซิฟอร์มอะมีโลบลาสโทมาจะพบมากในเซลล์เนื้องอกส่วนตรงกลางรอยโรค (Kim and Inyook,1994)

Reichart et al (1995) รายงานเกี่ยวกับอะมีโลบลาสโทมาไว้ว่าอัตราการเกิดของอะมีโลบลาสโทมาชนิดต่าง ๆ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในส่วนที่เกี่ยวข้องกับเพศ และอะมีโลบลาสโทมาชนิดฟอลลิคูลาร์ และเพลกซิฟอร์ม จัดเป็นชนิดที่มีการเกิดได้บ่อยเมื่อเทียบกับชนิดอื่น อีกทั้งมีรายงานว่าอะมีโลบลาสโทมาชนิดฟอลลิคูลาร์ มีอัตราการเกิดซ้ำสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับชนิดเพลกซิฟอร์ม (Ueno et al,1989) ซึ่งจากรายงานวิจัยดังกล่าวยังพบอีกว่า ผลการแสดงออกของ PCNA ในอะมี-โลบลาสโทมาชนิดฟอลลิคูลาร์สูงกว่าในชนิดเพลกซิฟอร์มด้วย ทำให้แปลผลการวิจัยได้ว่า อะมีโลบลาสโทมาชนิดฟอลลิคูลาร์มีอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์สูงกว่าชนิดเพลกซิฟอร์ม (Ueno et al,1989)

สำหรับอะมีโลบลาสโทมาที่มีการเกิดซ้ำ (recurrent ameloblastoma) และอะมีโลบลาสติกคาร์ซิโนมา (ameloblastic carcinoma) มีการแสดงออกของ PCNA เพิ่มขึ้นอย่าง

เด่นชัดและมีนัยสำคัญทางสถิติมากกว่าในอะมีโลบลาสโทมาทั่วไป (Kim and Inyook,1994) จึงมีผู้นำ PCNA มาใช้เพื่อวิเคราะห์และพยากรณ์โรค รวมถึงทำนายแนวโน้มในการเกิดซ้ำของโรคและในทางการเปลี่ยนไปเป็นมะเร็งได้

P53 Biomarker

P53 จัดเป็นนิวเคลียร์โปรทีนชนิดที่เกี่ยวข้องกับการก่อมะเร็ง (oncoprotein) มีน้ำหนักโมเลกุล 53,000 ดาลตัน และสามารถพบได้ในเซลล์เนื้องอก โดยเฉพาะอย่างยิ่งการปรากฏของ P53 จะเด่นชัดมากในช่วงมะเร็งระยะสุดท้าย หรือในช่วงที่เซลล์เนื้องอกกำลังมีการแบ่งตัว (Ogden,1992) จีนที่ทำหน้าที่ควบคุม P53 นั้น อยู่บนโครโมโซม 17p และทำหน้าที่เป็นจีนกดการเกิดเนื้องอก (tumor suppressor)(Roitt and Lehner, 1997) ในความเป็นจริงแล้ว เซลล์ปกติทุกเซลล์สามารถสร้าง P53 โปรทีนได้ แต่จะปรากฏในเซลล์เพียงช่วงเวลาสั้น คือ ประมาณ 6-30 นาที ทำให้ไม่สามารถตรวจพบระดับโปรทีนนี้ได้ในเซลล์ที่ปกติ เมื่อเซลล์ได้รับอันตรายจากสารหรือสภาวะต่าง ๆ ที่ทำให้เกิดอันตรายกับสารพันธุกรรมที่อยู่ภายในเซลล์ เช่น การได้รับรังสีเอกซ์ หรือสารพิษอัลฟาทอกซิน เป็นต้น เซลล์จะถูกกระตุ้นให้สร้างโปรทีน P53 สูงกว่าในภาวะปกติทั่วไป และมีความคงทนอยู่ในเซลล์ได้นานกว่าปกติ (Robert and Carole, 1992) โปรทีน P53 นี้ เชื่อว่าทำหน้าที่ต่างๆ คือ (Roitt and Lehner,1997; Weir, 1987)

1. กระตุ้นการสร้างโปรตีน p21 $^{waf\text{-}l/ciip\text{-}l}$ ซึ่งจะจับและหยุดยั้งการทำงานของสารประกอบ G1-cyclin/CDK และ PCNA อันมีความสำคัญในการแบ่งตัวของเซลล์ ในวงจรการแบ่งตัวของเซลล์ (cell cycle)

2. กระตุ้น gadd 45 และทำให้เกิดการหยุดชะงักของวงจรการแบ่งตัวของเซลล์ที่ระยะ G1 (G1arrest) กลไกการทำงานของ gadd 45 ยังไม่เป็นที่ทราบกันในปัจจุบัน

3. จับกับ TATA-box binding protein เป็นผลให้เกิดการหยุดยั้งการเกิด DNA replication

4. กระตุ้นการสร้างโปรทีน bax และกดการสร้างโปรทีน bcl2 ทำให้เกิด apoptosis (โปรทีน bax จัดเป็น apoptotic inducing protein ส่วน bcl2 จัดเป็น apoptotic inhibiting protein)

5. กระตุ้นการสร้างโปรทีน mdm-2 ซึ่งทำหน้าที่ควบคุมวัฏจักรของเซลล์ในระยะ G1/S โปรทีน P53 นี้จึงถูกเรียกว่าเป็น "genome guardian" หรือ "checkpoint control" (Lane,1992)

หน้าที่ในข้อ 5 นั้นเป็นการควบคุมโปรทีน P53 เอง ซึ่งจัดเป็นวงจรควบคุมตัวเอง ในขณะที่หน้าที่ในข้อ 1-4 นั้นเป็นส่วนที่ช่วยให้ p53 ทำหน้าที่ควบคุมวัฏจักรของเซลล์ในระยะ

G1 และระยะ S หน้าที่ของ p53 ในเซลล์ปกติ คือกดการเกิดเนื้องอกโดยควบคุมการเคลื่อนผ่านวัฏจักรของเซลล์ เมื่อเซลล์เกิดความเสียหายของ DNA ความผิดปกติของจีนนี้จะเป็นผลให้จีนมีคุณสมบัติลดการกดการเกิดเนื้องอกและเกิดเป็นจีนก่อมะเร็ง ความผิดปกติของจีน p53 ในเซลล์มะเร็งที่พบบ่อยคือการกลายพันธุ์ (mutation) ที่ตำแหน่ง Exon 5-8 ของจีน การกลายพันธุ์เกิดขึ้นที่จีน p53 มีผลทำให้โปรทีนที่สร้างขึ้นจากจีน p53 มีโครงสร้างแตกต่างไปจากโปรทีน P53 ปกติ (mutant protein) มีอายุของโปรทีนภายในเซลล์ยาวนานมากขึ้น (Raybaud et al, 2000) เมื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการกลายพันธุ์ของ p53 และการดำเนินโรคมะเร็งพบว่ามีความเกี่ยวข้องกับการพยากรณ์โรคที่ไม่ดีของโรคมะเร็งหลายชนิด เช่น มะเร็งที่ลำไส้ใหญ่ มะเร็งกระเพาะอาหาร (Ogden,1992) มะเร็ง- เต้านม มะเร็งรังไข่ (Lambkin,1994) และมะเร็งสมอง (Boyle et al,1993) นอกจากนี้มะเร็งที่พบบริเวณศีรษะและคอ (Dolcetti et al, 1992) ก็มีการพบระดับของโปรทีน P53 ที่เพิ่มขึ้นสูงกว่าปกติด้วย

สำหรับในประเด็นของการใช้ P53 เพื่อเป็นตัวบ่งชี้การพยากรณ์โรคนั้นพบว่า P53 ได้ถูกนำมาประยุกต์ใช้เพื่อทำนายผลการรักษาและการพยากรณ์โรคทั้งในรอยโรคประเภท premalignant และ malignant lesions ที่เกิดกับอวัยวะต่าง ๆ ของคน (Girod et al,1993; Lazzaro and Cleveland, 2000) อีกทั้งยังมีงานวิจัยบางฉบับบ่งบอกถึงการมีความสัมพันธ์ต่อกันระหว่างการรอดชีวิตของผู้ป่วยจากโรคมะเร็งและการแสดงออกที่มากเกินของโปรทีน P53 (Boyle et al, 1993) กล่าวคือ ในกลุ่มที่มีชีวิตรอดจากโรคมะเร็ง และการพยากรณ์ของโรคดีนั้นจะไม่พบการแสดงออกที่มากเกินไปของ P53 แต่ในขณะเดียวกันในกลุ่มผู้ป่วยที่มีการพยากรณ์ของโรคที่ไม่ดีจะพบการแสดงออกของ P53 เพิ่มขึ้นอย่างมาก (Dolcetti et al,1992) จากการศึกษาของ Picter (1995) พบการแสดงออกมากเกินของโปรทีน P53 ในรอยโรคที่ร้ายแรงที่เกี่ยวข้องกับฟันและยังพบว่าการแสดงออกมากเกินของโปรทีนนี้สัมพันธ์กับการเจริญของเนื้อเยื่อที่มีต้นกำเนิดเกี่ยวข้องกับฟันของรอยโรคด้วย โดยพบเซลล์ที่มีโปรทีน P53 ในบริเวณ basal layer ของส่วนเอ็พพิทีเลียมของรอยโรค แต่ในการศึกษานี้ไม่สามารถบอกได้ว่าการที่โปรทีน P53 มีการแสดงออกมากเกินปกตินี้เกิดมาจากความผิดปกติที่จีนของโปรทีน P53 หรือไม่ แต่ได้ตั้งข้อสันนิษฐานว่าการแสดงออกของโปรทีนนี้อาจมาจากการมีสภาวะการแบ่งตัวของเซลล์ที่บริเวณนั้นเอง

มีรายงานวิจัยที่นำ P53 มาใช้เพื่อศึกษาการแสดงออกของโปรทีน P53 โดยใช้กลุ่มตัวอย่างเป็นโรคเนื้องอกในช่องปากชนิดต่าง ๆ เช่น สความัสเซลล์คาร์ซิโนมา (squamous cell carcinoma) (Reybaud et al, 1996) ลิวโคเพลเคีย (leukoplakia) และ พลีโอมอร์ฟิคอะดีโนมา (pleomorphic adenoma) (Tsuji et al, 1995) และพบการแสดงออกของ โปรทีน P53 ที่มากเกินปกติ Konstantinos et al (1999) เปรียบเทียบการแสดงออกของโปรทีน P53 ระหว่าง

แกลนดูลาร์โอดอนโทจีนิคซีสต์ (glandular odontogenic cyst) กับ เดนติเจอรัสซีสต์ (dentigerous cyst) ก็พบการแสดงออกที่มากเกินปกติของโปรทีน P53 เช่นกัน

Ogden et al (1992a) ทำการทดลองที่เกี่ยวกับการแสดงออกของโปรทีน P53 ในโอดอนโทจีนิกเคอราโทซีสต์ (odontogenic keratocyst) และพบว่าในส่วนของเซลล์บุผนังถุงน้ำ มีการแสดงออกที่มากเกินปกติของโปรทีน P53 ที่บริเวณฐานของเอ็พพิทีเลียม (basal layer)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย