


การแสดงผลของพี 53 และการปรากฏของโปรตีนไซโทเคอรติน และไฟริเฟอเรทีฟเซลล์นิวเคลียร์แอนติเจน  
ในเนื้ออกอะมีโลบลาสโตมาที่มีการเรียงตัวแบบพอลลิคูลาร์ แบบเพลกซีฟอร์ม  
และแบบผสมของพอลลิคูลาร์และเพลกซีฟอร์ม



นายสรสัณห์ รังสิยานนท์

ศูนย์วิทยทรัพยากร

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาชีววิทยาช่องปาก

คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2544

ISBN 974-03-0931-3

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

THE P53, CYTOKERATIN AND PROLIFERATIVE CELL NUCLEAR ANTIGEN EXPRESSION IN THE  
AMELOBLASTOMA WITH FOLLICULAR, PLEXIFORM AND MIXED FOLLICULAR-PLEXIFORM  
HISTOLOGICAL PATTERNS

SORASUN RUNGSIYANONT

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Science in Oral Biology

Program in Oral Biology

Faculty of Dentistry

Chulalongkorn University


Academic Year 2001

ISBN 974-03-0931-3

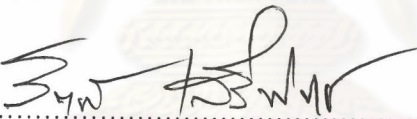
หัวข้อวิทยานิพนธ์      การแสดงออกของพี 53 และการปรากฏของโปรตีนไซโทเคอราทิน และ  
โพรลิเฟอเรทีฟเซลล์นิวเคลียร์แอนติเจนในเนื้ออกอะมีโลบลาสโทมาที่มี  
การเรียงตัวแบบพอลลิคูลาร์ แบบเพลกซิฟอร์ม และแบบผสมของ  
พอลลิคูลาร์และเพลกซิฟอร์ม  
โดย                              นาย สรสิทธิ์ รั้งสิยานนท์  
สาขาวิชา                      ชีววิทยาช่องปาก  
อาจารย์ที่ปรึกษา              รองศาสตราจารย์ ทันทแพทย์หญิง ดร. สมพร สวัสดิ์สรรพ

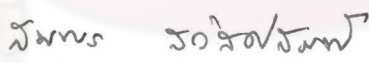
---

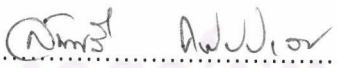
คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็น  
ส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

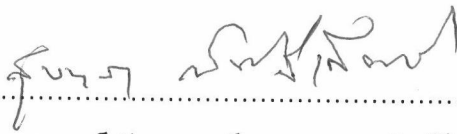
  
..... คณบดี คณะทันตแพทยศาสตร์  
(รองศาสตราจารย์ ทันทแพทย์ สุวสิทธิ์ เกียรติพงษ์สาร)

กรรมการสอบวิทยานิพนธ์

  
..... ประธานกรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ ทันทแพทย์ ดร. รัตน์ เสรีนิราช)

  
..... อาจารย์ที่ปรึกษา  
(รองศาสตราจารย์ ทันทแพทย์หญิง ดร. สมพร สวัสดิ์สรรพ)

  
..... กรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ ทันทแพทย์หญิง สมศรี โรจนวัฒน์ศิริเวช)

  
..... กรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ ทันทแพทย์ ดร. สุนทรา พันธุ์มีเกียรติ)

  
..... กรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันทแพทย์ กิตติพงษ์ ดนุไทย)

## บทคัดย่อวิทยานิพนธ์

นาย สรสิทธิ์ รังสิยานนท์ : การแสดงออกของ p53 และการปรากฏของโปรตีนไซโทเคอราติน และ โพรลิเฟอเรทีฟเซลล์นิวเคลียร์แอนติเจนในเนื้องอกอะมีโลบลาสโตมาที่มีการเรียงตัวแบบฟอลลิคูลาร์ แบบเพลกซิฟอร์ม และแบบผสมของฟอลลิคูลาร์และเพลกซิฟอร์ม. (THE P53, CYTOKERATIN AND PROLIFERATIVE CELL NUCLEAR ANTIGEN EXPRESSION IN THE AMELOBLASTOMA WITH FOLLICULAR, PLEXIFORM AND MIXED FOLLICULAR-PLEXIFORM HISTOLOGICAL PATTERNS). อ. ที่ปรึกษา : รองศาสตราจารย์ทันตแพทย์หญิง ดร. สมพร สวัสดิ์สรรพ , 65 หน้า. ISBN 974-03-0931-3.

เนื้องอกอะมีโลบลาสโตมาจัดเป็นเนื้องอกที่มีต้นกำเนิดมาจากเนื้อเยื่อที่เกี่ยวข้องกับฟัน พฤติกรรมของอะมีโลบลาสโตมา คือ พบมีความรุนแรงและลุกลามเฉพาะที่ รวมถึงมีอัตราการเกิดเป็นซ้ำได้สูงมาก วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้ เพื่อศึกษาการแสดงออกของ p53 และการปรากฏของโปรตีนไซโทเคอราติน และ โพรลิเฟอเรทีฟเซลล์นิวเคลียร์แอนติเจนในเนื้องอกอะมีโลบลาสโตมาที่มีการเรียงตัวแบบฟอลลิคูลาร์ แบบเพลกซิฟอร์ม และแบบผสมของฟอลลิคูลาร์และเพลกซิฟอร์ม ที่อาจมีผลต่อพฤติกรรมของโรค ตัวอย่างศึกษาได้มาจากชิ้นเนื้องอกจำนวน 30 ตัวอย่างที่ได้รับการวินิจฉัยแล้วว่า เป็นอะมีโลบลาสโตมา และมีลักษณะการเรียงตัวของเซลล์ที่เข้ากับหลักเกณฑ์ที่กำหนด คือ มีการเรียงตัวแบบฟอลลิคูลาร์ แบบเพลกซิฟอร์ม และแบบผสมของฟอลลิคูลาร์และเพลกซิฟอร์ม โดยศึกษาเนื้อเยื่อตัวอย่างด้วยวิธีอิมมูโนเปอร์ออกซิเดส โดยใช้แอนติบอดีต่อ CK, PCNA และ P53 ผลการศึกษาพบว่า เซลล์เนื้องอกอะมีโลบลาสโตมาที่มีการเรียงตัวแบบฟอลลิคูลาร์ แบบเพลกซิฟอร์ม และแบบผสมของฟอลลิคูลาร์และเพลกซิฟอร์ม ให้ผลการศึกษาที่ไม่แตกต่างกัน กล่าวคือพบมีการปรากฏของ CK ที่ไซโทพลาซึมของเซลล์รูปดาว โดยไม่พบที่เซลล์คล้ายอะมีโลบลาสต์ ในขณะที่ PCNA และ P53 มีการปรากฏเฉพาะที่นิวเคลียสของเซลล์คล้ายอะมีโลบลาสต์ ซึ่งเรียงตัวอยู่ตามขอบของกลุ่มเซลล์เนื้องอก โดยเซลล์ที่มีการปรากฏของ P53 มีจำนวนน้อยกว่าเซลล์ที่มีการปรากฏของ PCNA แสดงให้เห็นว่าเซลล์เหล่านี้ไม่มีความว่องไวในการเพิ่มจำนวน จากการศึกษาชี้ให้เห็นว่า เซลล์เนื้องอกอะมีโลบลาสโตมาที่มีการเรียงตัว 3 แบบ มีการแสดงออกของโปรตีน CK, PCNA และ P53 ไม่แตกต่างกัน และอาจแสดงถึงคุณสมบัติในการเป็นเนื้องอกชนิดไม่ร้ายแรง

สาขาวิชา ชีววิทยาช่องปาก  
ปีการศึกษา 2544

ลายมือชื่อนิสิต .....  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....  
.....

## ABSTRACT

# # 4376116132 : MAJOR Oral Biology

KEY WORD: Ameloblastoma / Cytokeratin / Immunohistochemistry / P53 / Proliferative cell nuclear antigen

MR. SORASUN RUNGSIYANONT : THE P53 , CYTOKERATIN AND PROLIFERATIVE CELL NUCLEAR ANTIGEN EXPRESSION IN THE AMELOBLASTOMA WITH FOLLICULAR, PLEXIFORM AND MIXED FOLLICULAR-PLEXIFORM HISTOLOGICAL PATTERNS. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. SOMPORN SWASDISON, 65 pp. ISBN 974-03-0931-3.

Ameloblastoma is an odontogenic tumor of jaw bone. The tumor is aggressive, locally invasive and has high rate of recurrence. The purpose of this study was to investigate the expression of cytokeratin (CK), proliferative cell nuclear antigen (PCNA) and P53 in ameloblastoma of follicular, plexiform and mixed follicular-plexiform histological patterns. In this study, 30 ameloblastoma cases were retrieved from the file of Department of Oral Pathology, Chulalongkorn University. These lesions were divided into 3 groups as follicular, plexiform and mixed follicular-plexiform histological patterns. The paraffin sections of these ameloblastoma cases were processed and studied by immunoperoxidase technique using the antibodies specific for CK, PCNA and P53. The results showed that these three histological patterns of ameloblastoma demonstrated the same staining pattern. The positive CK-stain were found in the cytoplasm of the stellate like cells while the ameloblast like cells were not. The PCNA and P53 positive cells were found in nuclei of the ameloblast like cells lined periphery of the ameloblastic units or strands. The PCNA positive cells seemed to be more frequent than P53 positive cells. These results suggested that the tumor cells of these 3 histological patterns have similar protein expressions and might represent the true benign tumor cells in regarding of CK, PCNA and P53 syntheses.

Field of study      Oral Biology  
Academic year      2001

Student's signature ..... *Sornnu Ruitt* .....  
Advisor's signature ..... *Somporn Swasdison* .....

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยความช่วยเหลืออย่างดียิ่งของ รองศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง ดร. สมพร สวัสดิธรรม อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ที่ได้ให้ความรู้ แนวคิด ตลอดจนข้อคิดเห็นต่าง ๆ ที่เป็นประโยชน์ต่อการศึกษาวิจัยและให้การดูแลการทดลองในห้องปฏิบัติการโดยตลอด รวมทั้งยังให้คำแนะนำ และช่วยแก้ไขข้อบกพร่องในการทำวิทยานิพนธ์จนเป็นที่เรียบร้อย

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณคณาจารย์และเจ้าหน้าที่ของภาควิชาทันตพยาธิวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยตลอดจนผู้มีส่วนช่วยเหลือทุกท่านที่ไม่ได้กล่าวถึงในที่นี้ ที่ได้เอื้อเฟื้อตัวอย่างเนื้อเยื่อศึกษา เครื่องมือวิจัยและสารเคมีเพื่อการวิจัย รวมถึงความช่วยเหลือในการจัดหาและจัดเตรียมตัวอย่างต่าง ๆ ซึ่งทำให้การวิจัยทดลองสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

การวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากเงินกองทุนเพื่อการวิจัย ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ประจำปีการศึกษา 2544

ท้ายนี้ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดาและคู่ชีวิต ที่ให้การสนับสนุนและให้กำลังใจ กับผู้วิจัยเสมอมา รวมถึงคณาจารย์ภาควิชาศัลยศาสตร์และเวชศาสตร์ช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ทุกท่านที่ให้การสนับสนุนการลาศึกษาต่อในครั้งนี้ ประโยชน์ ความรู้ และคุณค่าที่ได้รับจากการศึกษาวิจัยนี้ ผู้วิจัยขอมอบแต่ทุกคนที่มีส่วนเกี่ยวข้อง และผู้มีพระคุณทุกท่าน

สรลัคน์ รังสิยานนท์

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## สารบัญ

บทที่	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ณ
สารบัญภาพ.....	ม
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ.....	ฐ
บทที่	
1. บทนำ.....	1
2. เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง .....	3
อะมีโลบลาสโตมา .....	3
การแบ่งชนิดของอะมีโลบลาสโตมา.....	4
หลักเกณฑ์ในการรักษา .....	7
คุณสมบัติและลักษณะของเซลล์เนื้องอกอะมีโลบลาสโตมา.....	7
CK Biomarker .....	10
PCNA Biomarker .....	11
P53 Biomarker .....	13
3. วิธีดำเนินการวิจัย .....	16
กลุ่มตัวอย่าง.....	16
เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย .....	16
วิธีการดำเนินการวิจัย.....	18
การวิเคราะห์ข้อมูล.....	21
4. ผลการวิเคราะห์ข้อมูล.....	22
ผลการศึกษาด้วยแอนติบอดีต่อ CK, PCNA และ P53 ในกลุ่มควบคุม.....	22
ผลการศึกษาด้วยแอนติบอดีต่อ CK.....	23
ผลการศึกษาด้วยแอนติบอดีต่อ PCNA.....	23
ผลการศึกษาด้วยแอนติบอดีต่อ P53 .....	24

## สารบัญ

	หน้า
5. สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ .....	25
อภิปรายผล .....	25
สรุปผลการวิจัย.....	28
ข้อเสนอแนะ.....	29
รายการอ้างอิง .....	30
ภาคผนวก.....	66
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์ .....	70



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



## สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 แสดงผลการติดสีเมื่อย้อมด้วยแอนติบอดีต่อ CK ..... 36 ของอะมีโลบลาสโตมาชนิดฟอลลิคูลาร์	36
ตารางที่ 2 แสดงผลการติดสีเมื่อย้อมด้วยแอนติบอดีต่อ CK ..... 37 ของอะมีโลบลาสโตมาชนิดเพรกซิฟอร์ม	37
ตารางที่ 3 แสดงผลการติดสีเมื่อย้อมด้วยแอนติบอดีต่อ CK ..... 38 ของอะมีโลบลาสโตมาชนิดผสมในส่วนของเซลล์เนื้องอก ที่มีการเรียงตัวแบบฟอลลิคูลาร์	38
ตารางที่ 4 แสดงผลการติดสีเมื่อย้อมด้วยแอนติบอดีต่อ CK ..... 39 ของอะมีโลบลาสโตมาชนิดผสมในส่วนของเซลล์เนื้องอก ที่มีการเรียงตัวแบบเพรกซิฟอร์ม	39
ตารางที่ 5 แสดงผลการติดสีเมื่อย้อมด้วยแอนติบอดีต่อ PCNA ..... 40 ของอะมีโลบลาสโตมาชนิดฟอลลิคูลาร์	40
ตารางที่ 6 แสดงผลการติดสีเมื่อย้อมด้วยแอนติบอดีต่อ PCNA ..... 41 ของอะมีโลบลาสโตมาชนิดเพรกซิฟอร์ม	41
ตารางที่ 7 แสดงผลการติดสีเมื่อย้อมด้วยแอนติบอดีต่อ PCNA ..... 42 ของอะมีโลบลาสโตมาชนิดผสมในส่วนของเซลล์เนื้องอก ที่มีการเรียงตัวแบบฟอลลิคูลาร์	42
ตารางที่ 8 แสดงผลการติดสีเมื่อย้อมด้วยแอนติบอดีต่อ PCNA..... 43 ของอะมีโลบลาสโตมาชนิดผสมในส่วนของเซลล์เนื้องอก ที่มีการเรียงตัวแบบเพรกซิฟอร์ม	43

## สารบัญตาราง (ต่อ)

	หน้า
ตารางที่ 9 แสดงผลการตัดสินเมื่อข้อมด้วยแอนติบอดีต่อ P53 .....44 ของอะมีโลบลาสโตมาชนิดฟอลลิคูลาร์	44
ตารางที่ 10 แสดงผลการตัดสินเมื่อข้อมด้วยแอนติบอดีต่อ P53 ..... 45 ของอะมีโลบลาสโตมาชนิดเพรกซิฟอร์ม	45
ตารางที่ 11 แสดงผลการตัดสินเมื่อข้อมด้วยแอนติบอดีต่อ P53.....46 ของอะมีโลบลาสโตมาชนิดผสมในส่วนของเซลล์เนื้องอก ที่มีการเรียงตัวแบบฟอลลิคูลาร์	46
ตารางที่ 12 แสดงผลการตัดสินเมื่อข้อมด้วยแอนติบอดีต่อ P53.....47 ของอะมีโลบลาสโตมาชนิดผสมในส่วนของเซลล์เนื้องอก ที่มีการเรียงตัวแบบเพรกซิฟอร์ม	47

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## สารบัญภาพ

		หน้า
ภาพที่ 1	แสดงลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้องอกอะมีโลบลาสโตมา ..... 48 ชนิดต่าง ๆ ตามการแบ่งของ Shafer et al (1992)	48
ภาพที่ 2	แสดงลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาที่มีการผันแปรของเนื้องอก..... 50 อะมีโลบลาสโตมาตามการแบ่งของ WHO (Kramer et al,1992)	50
ภาพที่ 3	แสดงลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของอะมีโลบลาสโตมาที่มี..... 52 การเรียงตัวแบบฟอลลิคูลาร์ เฟลคซิฟอร์ม และแบบผสมของ ฟอลลิคูลาร์และเฟลคซิฟอร์ม เมื่อย้อมด้วยสีฮีมาทอกไซลิน และอีโอซิน	52
ภาพที่ 4	แสดงลักษณะการติดสีของเนื้องอกไฟโบรมาซึ่งใช้เป็นกลุ่มควบคุม..... 54 สำหรับการย้อมเนื้องอกอะมีโลบลาสโตมาด้วยวิธีอิมมูโน- เปอร์ออกซิเดสโดยใช้แอนติบอดีต่อ CK	54
ภาพที่ 5	แสดงลักษณะการติดสีของเนื้องอกอะมีโลบลาสโตมาที่มีการเรียงตัว..... 56 แบบฟอลลิคูลาร์ เฟลคซิฟอร์มและแบบผสมของฟอลลิคูลาร์และ เฟลคซิฟอร์ม ด้วยวิธีอิมมูโนเปอร์ออกซิเดสโดยใช้แอนติบอดีต่อ CK	56
ภาพที่ 6	แสดงลักษณะการติดสีของเนื้องอกสความัสเซลล์คาร์ซิโนมา ..... 58 ซึ่งใช้เป็นกลุ่มควบคุมสำหรับการย้อมเนื้องอกอะมีโลบลาสโตมา ด้วยวิธีอิมมูโนเปอร์ออกซิเดสโดยใช้แอนติบอดีต่อ PCNA	58
ภาพที่ 7	แสดงลักษณะการติดสีของเนื้องอกอะมีโลบลาสโตมาที่มีการ..... 60 เรียงตัวแบบฟอลลิคูลาร์ เฟลคซิฟอร์มและแบบผสมของฟอลลิคูลาร์ และเฟลคซิฟอร์มด้วยวิธีอิมมูโนเปอร์ออกซิเดสโดยใช้แอนติบอดีต่อ PCNA	60

## สารบัญภาพ (ต่อ)

	หน้า
ภาพที่ 8	62
แสดงลักษณะการติดสีของเนื้องอกสความัสเซลล์คาร์ซิโนมา ซึ่ง.....	
ใช้เป็นกลุ่มควบคุมสำหรับการย้อมเนื้องอกอะมีโลบลาสโตมาด้วย	
วิธีอิมมูโนเปอร์ออกซิเดสโดยใช้แอนติบอดีต่อ P53	
ภาพที่ 9	64
แสดงลักษณะการติดสีของเนื้องอกอะมีโลบลาสโตมาที่มีการ.....	
เรียงตัวแบบฟอลลิคูลาร์ เฟลคซิฟอร์มและแบบผสมของฟอลลิคูลาร์	
และเฟลคซิฟอร์ม ด้วยวิธีอิมมูโนเปอร์ออกซิเดสโดยใช้แอนติบอดีต่อ	
P53	

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

P53	= โปรตีนพี 53
p53	= จีนพี 53
PCNA	= โปรตีนโพรลิเฟอเรทีฟนิวเคลียร์แอนติเจน
CK	= โปรตีนไซโทเคอราติน
AgNORs	= Argyrophillic nuclear organizer regions
Tris	= Hydroxy methyl-aminomethane
TBS	= Tris buffer saline solution
DAB	= 3-3 Diaminobenzidine tetrahydrochloride
BSA	= Bovine serum albumin
NaCl	= Sodium chloride
HCl	= Hydrochloric acid
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	= Hydrogen peroxide
1N	= 1 normal
0.01M	= 0.01 molar
g	= กรัม
L	= ลิตร
ml	= มิลลิลิตร
ul	= ไมโครลิตร

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย