

การแสดงผลของซีดี 146 ในรอยโรคโคโรนา แพลนัสและมะเร็งช่องปากในผู้ป่วยไทย



นางสาวสรินทร์ ปริญญาตรี

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย

The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR)  
are the thesis authors' files submitted through the University Graduate School.

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเวชศาสตร์ช่องปาก ภาควิชาเวชศาสตร์ช่องปาก

คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2560

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

CD146 expression in oral lichen planus and oral cancer in Thai patients

Miss Sarinthon Pariyawathee



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

Department of Oral Medicine

Faculty of Dentistry

Chulalongkorn University

Academic Year 2017

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การแสดงออกของซีดี 146 ในรอยโรคไลเคน แพลนัสและ มะเร็งช่องปากในผู้ป่วยไทย
โดย	นางสาวสรินธร ปริยะวาที
สาขาวิชา	เวชศาสตร์ช่องปาก
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	ศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง กอบกาญจน์ ทองประสม
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ ดร. เอกรัฐ ภัทรธราธิป

คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วน  
หนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

.....คณบดีคณะทันตแพทยศาสตร์  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ ดร.สุจิต พูลทอง)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง ดร.พรพรรณ พิบูลย์รัตนกิจ)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก  
(ศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง กอบกาญจน์ ทองประสม)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ ดร. เอกรัฐ ภัทรธราธิป)

.....กรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ ดร.ชาญวิทย์ ประพัฒน์จรัส)

.....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง ดร.อรุณวรรณ หล้าอุบล)

สรินธร ปรียะวาทิ : การแสดงออกของซีดี 146 ในรอยโรคไลเคน แพลนัสและมะเร็งช่องปากในผู้ป่วยไทย (CD146 expression in oral lichen planus and oral cancer in Thai patients) อ.ที่ปริกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ศ. ทญ. กอบกาญจน์ ทองประสม, อ.ที่ปริกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: ผศ. ทพ. ดร. เอกรัฐ ภัทรธราธิป, 103 หน้า.

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการแสดงออกของซีดี 146 ในเยื่อเมือกช่องปากปกติ (NOM) ไลเคน แพลนัสช่องปาก (OLP) อีพิทีเลียล ดิสเพลเซียช่องปาก (OED) และมะเร็งเยื่อบุผิวเซลล์สควอมัสช่องปาก (OSCC) ในผู้ป่วยไทย โดยนำชิ้นเนื้อจากกลุ่มตัวอย่าง กลุ่มละ 20 ชิ้นมาทำการศึกษาด้วยวิธีทางอิมมูโนฮิสโตเคมี เพื่อประเมินจำนวนเคอราติโนไซต์ที่มีการแสดงออกของซีดี 146 และความเข้มในการติดสี พบว่ามีการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญของค่าเฉลี่ยร้อยละของจำนวนเคอราติโนไซต์ที่มีการแสดงออกของซีดี 146 ในกลุ่ม OLP ( $P < 0.001$ ) และกลุ่ม OED ( $P < 0.001$ ) เมื่อเทียบกับกลุ่ม NOM โดยกลุ่ม NOM, OLP, OED มีค่าเฉลี่ยร้อยละของจำนวนเคอราติโนไซต์ที่มีการแสดงออกของซีดี 146 เท่ากับ  $19.04 \pm 15.32$ ,  $59.40 \pm 24.48$ ,  $60.04 \pm 28.87$  ตามลำดับ พบการลดลงอย่างมีนัยสำคัญของค่าเฉลี่ยร้อยละของจำนวนเคอราติโนไซต์ที่มีการแสดงออกของซีดี 146 ในกลุ่ม OSCC เมื่อเทียบกับกลุ่ม OED ( $P < 0.001$ ) โดยค่าเฉลี่ยร้อยละของจำนวนเคอราติโนไซต์ที่มีการแสดงออกของซีดี 146 ในกลุ่ม OSCC เท่ากับ  $22.13 \pm 21.03$  พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของความเข้มในการติดสีระหว่างกลุ่ม NOM กับกลุ่ม OLP ( $P < 0.05$ ) กลุ่ม NOM กับกลุ่ม OED ( $P < 0.05$ ) กลุ่ม OLP กับกลุ่ม OED ( $P < 0.05$ ) กลุ่ม OLP กับกลุ่ม OSCC ( $P < 0.05$ ) และกลุ่ม OED กับกลุ่ม OSCC ( $P < 0.05$ ) ชิ้นเนื้อส่วนใหญ่ของกลุ่ม NOM และกลุ่ม OSCC ติดสีเข้มระดับจาง กลุ่ม OLP ติดสีเข้มปานกลาง และกลุ่ม OED ติดสีเข้ม ผลการศึกษานี้พบว่าซีดี 146 อาจมีบทบาทหลายด้านในรอยโรคข้างต้น โดยมีการแสดงออกที่เพิ่มขึ้นในไลเคน แพลนัสและอีพิทีเลียล ดิสเพลเซียช่องปาก แต่มีการแสดงออกลดลงในมะเร็งเยื่อบุผิวเซลล์สควอมัสช่องปาก ซีดี 146 จึงอาจเกี่ยวข้องกับพยาธิกำเนิดของโรคไลเคน แพลนัสช่องปาก และการสูญเสียการแสดงออกของซีดี 146 อาจเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงจากอีพิเลียล ดิสเพลเซียไปเป็นมะเร็งเยื่อบุผิวเซลล์สควอมัสช่องปากได้

ภาควิชา เวชศาสตร์ช่องปาก

ลายมือชื่อนิสิต .....

สาขาวิชา เวชศาสตร์ช่องปาก

ลายมือชื่อ อ.ที่ปริกษาหลัก .....

ปีการศึกษา 2560

ลายมือชื่อ อ.ที่ปริกษาร่วม .....

# # 5975841032 : MAJOR ORAL MEDICINE

KEYWORDS: CD146 / DYSPLASIA / ORAL LICHEN PLANUS / SQUAMOUS CELL CARCINOMA / THAI

SARINTHON PARIYAWATHEE: CD146 expression in oral lichen planus and oral cancer in Thai patients. ADVISOR: PROF. KOBKAN THONGPRASOM, CO-ADVISOR: ASST. PROF. EKARAT PHATTARATARATIP, Ph.D., 103 pp.

The aim of the study was to investigate the expression of CD146 in normal oral mucosa (NOM), oral lichen planus (OLP), oral epithelial dysplasia (OED), and oral squamous cell carcinoma (OSCC) in Thai patients. Twenty specimens from each group were evaluated using immunohistochemistry. The number of CD146<sup>+</sup> keratinocytes and the staining intensity were assessed. We found the significant increase in the mean percentages of CD146<sup>+</sup> keratinocytes in OLP ( $P < 0.001$ ) and OED ( $P < 0.001$ ), compared to that of NOM. The number of CD146<sup>+</sup> keratinocytes in NOM, OLP and OED were  $19.04 \pm 15.32$ ,  $59.40 \pm 24.48$ ,  $60.04 \pm 28.87$ , respectively. A significant decrease in mean percentage of CD146<sup>+</sup> keratinocytes was observed in OSCC compared to OED ( $P < 0.001$ ). The mean percentage of CD146<sup>+</sup> keratinocytes in OSCC was  $22.13 \pm 21.03$ . There were significant differences in staining intensity between the NOM and OLP ( $P < 0.05$ ), NOM and OED ( $P < 0.05$ ), OLP and OED ( $P < 0.05$ ), OLP and OSCC ( $P < 0.05$ ) and OED and OSCC ( $P < 0.05$ ). In most cases, the staining intensity was mild in NOM and OSCC, moderate in OLP and strong in OED. These results suggest that CD146 may play multiple roles in these lesions. Its expression was upregulated in OLP and OED, but downregulated in OSCC. CD146 may be involved in the pathogenesis of OLP and the loss of CD146 may underlie the progression of OED into invasive OSCC.

Department: Oral Medicine

Field of Study: Oral Medicine

Academic Year: 2017

Student's Signature .....

Advisor's Signature .....

Co-Advisor's Signature .....

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องจากความช่วยเหลืออย่างดียิ่งจากผู้มีพระคุณหลายท่าน ซึ่งผู้ทำวิทยานิพนธ์ขอขอบพระคุณไว้ ณ โอกาสนี้

ศาสตราจารย์ ทนตแพทย์หญิง กอบกาญจน์ ทองประสม อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ที่ได้ให้ความช่วยเหลืออย่างดียิ่งในทุกๆด้าน ตั้งแต่คัดเลือกหัวข้อวิทยานิพนธ์ที่น่าสนใจ ให้ความรู้ คำแนะนำต่างๆที่เป็นประโยชน์ในการทำวิทยานิพนธ์ ตลอดจนช่วยตรวจทานแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนสำเร็จลุล่วงเป็นอย่างดี

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทนตแพทย์ ดร.เอกรัฐ ภัทรธราธิป อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ได้ให้ความช่วยเหลืออย่างดียิ่ง ตั้งแต่ให้กรุณาให้ความรู้เกี่ยวกับการอ่านผลการตรวจชิ้นเนื้อทางจุลพยาธิวิทยา การคัดเลือกชิ้นเนื้อที่จะใช้ทำการวิจัย คำแนะนำต่างๆที่เป็นประโยชน์ในการทำวิทยานิพนธ์ ตลอดจนช่วยตรวจทานแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนสำเร็จลุล่วงเป็นอย่างดี

รองศาสตราจารย์ ทนตแพทย์หญิง ดร.พรพรรณ พิบูลย์รัตนกิจ ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ในเรื่องผู้ป่วยโรคไตคน แพลนัสในช่องปากสำหรับโครงการวิจัยนี้

รองศาสตราจารย์ ทนตแพทย์ นายแพทย์ สมชาย เศรษฐศิริสมบัติ ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ในการหาอาสาสมัครสุขภาพดีซึ่งเป็นกลุ่มควบคุมในการวิจัยครั้งนี้

รองศาสตราจารย์ ทนตแพทย์หญิง ดร. ริสา ชัยศุภรัตน์ ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ในเรื่องชิ้นเนื้อของผู้ป่วยกลุ่มการศึกษาต่างๆ ตลอดจนให้ความเอื้อเฟื้ออุปกรณ์ที่ใช้ในการทำวิจัย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทนตแพทย์หญิง ดร. สรณินทร์ จันทรางศุ ที่ได้ให้ความช่วยเหลือและให้คำปรึกษาในเรื่องการวิเคราะห์ข้อมูล และสถิติ ที่เหมาะสมกับงานวิจัย

คณาจารย์คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ที่ได้ให้คำแนะนำต่างๆ รวมถึงช่วยในการตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ ตลอดจนเจ้าหน้าที่ภาควิชาเวชศาสตร์ช่องปาก

เจ้าหน้าที่งานอิมมูโนฮิสโตเคมี สถาบันพยาธิวิทยา กรมการแพทยศาสตร์ กระทรวงสาธารณสุขที่ได้ช่วยให้ความรู้ในกระบวนการย้อมชิ้นเนื้อด้วยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมี

ท้ายที่สุดนี้ผู้วิจัยขอกราบพระคุณบิดา มารดา รวมทั้งขอขอบคุณน้องและเพื่อนๆที่ได้ให้กำลังใจมาตลอดในการทำวิทยานิพนธ์ ประโยชน์และความรู้ที่ได้จากการวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยขอมอบแต่ทุกๆท่านที่มีส่วนเกี่ยวข้อง

## สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ญ
สารบัญภาพ .....	ฎ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา .....	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย .....	5
สมมติฐานของการวิจัย.....	5
ขอบเขตของการวิจัย.....	5
ข้อตกลงเบื้องต้น.....	5
ความไม่สมบูรณ์ของการวิจัย.....	6
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	6
บทที่ 2 วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง.....	7
ตอนที่ 1 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับรอยโรคไลเคน แพลนัส .....	7
ตอนที่ 2 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับมะเร็งช่องปาก.....	16
ตอนที่ 3 ความเกี่ยวข้องของโมเลกุลอีตีดกับการดำเนินไปของโรคมะเร็ง.....	19
ตอนที่ 4 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับซิติ 146 .....	23
บทที่ 3 ระเบียบวิธีวิจัย.....	33
วิธีดำเนินการวิจัย .....	33
การออกแบบวิจัย.....	33

ประชากรที่ศึกษา.....	33
การคำนวณขนาดของกลุ่มตัวอย่าง .....	33
ข้อมูลทั่วไปของกลุ่มการศึกษา.....	35
เกณฑ์การคัดเลือกผู้เข้าร่วมโครงการ (Inclusion criteria).....	37
เกณฑ์การคัดผู้ป่วยออกจากโครงการ (Exclusion criteria) .....	39
วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี.....	40
วัสดุอุปกรณ์ .....	40
น้ำยาและสารเคมี.....	41
วิธีการศึกษา .....	42
การเก็บตัวอย่างชิ้นเนื้อ.....	42
การตรวจด้วยวิธีการทางอิมมูโนฮิสโตเคมี .....	42
การวิเคราะห์ข้อมูล .....	44
การประเมินการติตสีของเคอราติโนไซต์.....	44
การประเมินระดับความเข้มของการติตสี .....	44
การนับจำนวนเซลล์.....	46
สรุปลำดับขั้นตอนการพิจารณาความเข้มและการนับเคอราติโนไซต์ที่มีการแสดงออกของ ซีดี 146.....	47
สถิติที่ใช้ในการวิจัย.....	50
บทที่ 4 ผลการศึกษา.....	51
การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละของจำนวนเคอราติโนไซต์ที่มีการแสดงออกของซีดี 146 ในชิ้นเนื้อจากกลุ่มควบคุม กลุ่มไลเคน แพลนัสช่องปาก กลุ่มอีพิทีเลียล ดิสเพลเซียช่อง ปาก และกลุ่มมะเร็งเยื่อบุผิวเซลล์สควอมัสช่องปาก .....	51



การเปรียบเทียบสัดส่วนความเข้มในการติดสีของเคอราตินไนโซตินในชั้นเนื้อของกลุ่มควบคุม กลุ่มไลเคน แพลนัสช่องปาก กลุ่มอีพิทีเลียล ดิสเพลเซียช่องปาก และกลุ่มมะเร็งเยื่อบุผิว เซลล์สควอมัสช่องปาก.....	54
บทที่ 5 อภิปรายผลและสรุปผลวิจัย.....	62
อภิปรายผลการศึกษา.....	62
สรุปผลการวิจัย.....	68
ข้อเสนอแนะ.....	68
รายการอ้างอิง.....	69
ภาคผนวก.....	78
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	103



## สารบัญตาราง

ตารางที่ 1	แสดงรายชื่อของยาที่มีรายงานกระตุ้นให้เกิดรอยโรคไลเคนอยด์ช่องปาก.....	10
ตารางที่ 2	แสดงเกณฑ์การวินิจฉัยโรคไลเคน แพลนัสช่องปากที่ดัดแปลงจาก van der Meij และ van der Waal ในปี ค.ศ. 2003 .....	15
ตารางที่ 3	แสดงลักษณะอีพิทีเลียล ดิสเพลเซียตามระดับความรุนแรงและลักษณะของมะเร็ง เยื่อเมิวเซลล์สควอมัสช่องปาก.....	18
ตารางที่ 4	ความสัมพันธ์และบทบาทของซีดี 146 ในโรคที่มีความเกี่ยวข้องกับการอักเสบ.....	27
ตารางที่ 5	ตัวอย่างความสัมพันธ์และบทบาทของซีดี 146 กับโรคมะเร็งชนิดต่างๆ.....	28
ตารางที่ 6	แสดงข้อมูลทั่วไปของแต่ละกลุ่มการศึกษา.....	36
ตารางที่ 7	แสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละของจำนวนเคอราติโนไซต์ที่มีการแสดงออกของซีดี 146 ในชั้นเนื้อระหว่างกลุ่มที่ทำการศึกษา .....	53
ตารางที่ 8	แสดงการเปรียบเทียบระดับความเข้มและสัดส่วนในการติดสีของเคอราติโนไซต์ในชั้นเนื้อระหว่างกลุ่มที่ทำการศึกษา.....	55

## สารบัญภาพ

ภาพที่ 1 แสดงกลไกการเกิดโรคไลเคน แพลนัสช่องปากชนิดที่มีแอนติเจนจำเพาะ .....	12
ภาพที่ 2 แสดงกลไกการเกิดโรคไลเคน แพลนัสช่องปากชนิดแบบไม่จำเพาะ .....	13
ภาพที่ 3 แสดงเหตุการณ์สำคัญที่เกี่ยวข้องกับการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง .....	22
ภาพที่ 4 แสดงโครงสร้างและบทบาทของซีดี 146 ในเซลล์เยื่อบุหลอดเลือด .....	24
ภาพที่ 5 แสดง EPIC ที่เซลล์.....	26
ภาพที่ 6 แสดงการกระตุ้นวิถีการส่งสัญญาณ PI3K/AKT .....	30
ภาพที่ 7 แสดงการกระตุ้นวิถีการส่งสัญญาณ VEGFR/NF-κB.....	31
ภาพที่ 8 แสดงการยับยั้งการกระตุ้นวิถีการส่งสัญญาณ canonical Wnt .....	32
ภาพที่ 9 แสดงเกณฑ์การให้คะแนนลักษณะทางคลินิกของไลเคน แพลนัสช่องปาก .....	38
ภาพที่ 10 แสดงระดับคะแนนเกณฑ์การตัดสินใจที่ใช้ในการศึกษา.....	45
ภาพที่ 11 แสดงลำดับขั้นตอนการนับจำนวนเคอราตินโนไซต์ด้วยโปรแกรม Adobe Photoshop.....	49
ภาพที่ 12 การแสดงออกของซีดี 146 ในเคอราติโนไซต์ของชิ้นเนื้อจากกลุ่มควบคุม.....	57
ภาพที่ 13 การแสดงออกของซีดี 146 ในเคอราติโนไซต์ของชิ้นเนื้อที่ได้จากกลุ่มผู้ป่วยไลเคน แพลนัสช่องปาก .....	57
ภาพที่ 14 การแสดงออกของซีดี 146 ในเคอราติโนไซต์ของชิ้นเนื้อที่ได้จากกลุ่มผู้ป่วยอีพิทีเลียล ดิสเพลเซียช่องปาก.....	58
ภาพที่ 15 การแสดงออกของซีดี 146 ในเคอราติโนไซต์ของชิ้นเนื้อที่ได้จากกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งเยื่อ บุผิวเซลล์สควมัสช่องปาก .....	59

ภาพที่ 16 แผนภูมิแท่งแสดงจำนวนผู้ป่วยที่มีระดับความเข้มและสัดส่วนในการติดสีของ  
เคอราติโนไซต์ในแต่ละกลุ่มการศึกษา.....60

ภาพที่ 17 การแสดงออกของซีดี 146 ในชิ้นเนื้ออกุ่มควบคุมผลบวก .....61

ภาพที่ 18 แสดงชิ้นเนื้ออกุ่มควบคุมผลลบ .....61



## บทที่ 1

### บทนำ

#### ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

โรคไลเคน แพลนัสช่องปาก (oral lichen planus; OLP) เป็นรอยโรคอักเสบเรื้อรังที่เกิดขึ้นกับเยื่อเมือกในช่องปากที่พบได้บ่อย รอยโรคนี้อาจพบร่วมกับรอยโรคที่ผิวหนังได้ แต่ส่วนใหญ่มักพบในช่องปากเพียงตำแหน่งเดียว สาเหตุของการเกิดโรคนั้นยังไม่เป็นที่ทราบแน่นอน เชื่อกันว่ามีพยาธิกำเนิดเกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันชนิดเซลล์เป็นสื่อที่ผิดปกติ ผู้ป่วยมักมาพบทันตแพทย์ด้วยอาการระคายเคือง ปวดแสบปวดร้อนในช่องปาก รับประทานอาหารรสจัดไม่ได้ (1, 2) บางรายมีอาการเจ็บรุนแรงและมีเลือดออก อาการแสดงในช่องปากของไลเคน แพลนัสจะเห็นเป็นลายเส้นสีขาวไปจนถึงฝ้าสีขาวหรือมีรอยแดงของการอักเสบร่วมด้วย บางครั้งอาจเป็นแผลถลอกเกิดขึ้นกับเยื่อเมือกช่องปากหลายตำแหน่ง นอกจากนี้รอยโรคไลเคน แพลนัสยังถูกจัดอยู่ในกลุ่มรอยโรคที่มีแนวโน้มเกิดมะเร็ง (potentially malignant disorders; PMDs) (2) และมีหลายรายงานที่พบว่ารอยโรคไลเคน แพลนัสช่องปากที่ปรากฏในช่องปากเป็นระยะเวลานาน มีโอกาสเปลี่ยนเป็นมะเร็งในช่องปากได้ โดยเฉพาะรอยโรคที่ปรากฏในช่องปากชนิดแผลถลอก (ulcerative type) และชนิดฝ่อลีบ (atrophic type) (1, 3) สำหรับรอยโรคที่มีแนวโน้มเกิดมะเร็งอื่นๆที่พบได้ เช่น กลุ่มที่มีความผิดปกติของเซลล์ในชั้นเยื่อเมือกหรืออีพิทีเลียล ดิสเพลเซีย (epithelial dysplasia) ซึ่งระดับความรุนแรงจะถูกแบ่งตามการลุกลามของเซลล์ที่มีความผิดปกติเทียบกับความหนาของชั้นเยื่อเมือก หากเซลล์เยื่อเมือกที่มีความผิดปกติเพิ่มการลุกลามลงสู่เนื้อเยื่อเกี่ยวพันชั้นล่างก็จะเป็นลักษณะของมะเร็ง (4) โดยร้อยละ 90 ของมะเร็งช่องปากที่พบ คือ มะเร็งเยื่อเมือกเซลล์สควอมนัสช่องปาก (oral squamous cell carcinoma; OSCC) (4, 5) อ้างอิงข้อมูลจากสถาบันมะเร็งแห่งชาติของประเทศไทย ทะเบียนมะเร็งระดับโรงพยาบาลปี พ.ศ. 2557 พบว่ามะเร็งริมฝีปากและช่องปากติดเป็นอันดับ 6 จาก 15 อันดับของมะเร็งที่มีจำนวนผู้ป่วยที่ขึ้นทะเบียนมะเร็งใหม่มากที่สุดในปี พ.ศ. 2557 โดยเพศชายมีมะเร็งริมฝีปากและช่องปากติดเป็นอันดับ 6 และเพศหญิงเป็นอันดับ 8 จาก 15 อันดับแรกของมะเร็งทั้งหมดเมื่อแยกตามเพศ (6) ดังนั้นการตรวจพบมะเร็งช่องปากตั้งแต่ระยะเริ่มแรก จึงมีความสำคัญอย่างมากต่อการรักษาและต่อคุณภาพชีวิตผู้ป่วย ทั้งนี้ลักษณะของรอยโรคที่มีการเปลี่ยนแปลงเป็นมะเร็งในระยะแรก มักมีลักษณะทางคลินิกเป็นปื้นสีขาว (white patch) อาจมีปื้นแดง (red patch) ร่วมด้วยก็ได้ หรืออาจมีลักษณะคล้ายแผลเรื้อรัง ผู้ป่วยส่วนใหญ่มักไม่มีอาการ (4) ทั้งนี้มีรายงานจากหลายการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าโรคไลเคน แพลนัสช่องปากเป็นรอยโรคที่อาจมีโอกาสเกิดการเปลี่ยนแปลง

ไปเป็นมะเร็งได้ ซึ่งอัตราการเปลี่ยนแปลง (malignant transformation rate) ค่อนข้างกว้าง คือ ตั้งแต่ร้อยละ 0.4-12.5 แต่โดยเฉลี่ยจะมีอัตราการเปลี่ยนแปลงประมาณร้อยละ 1.09 (7) ในบางครั้ง รอยโรคไลเคน แพลนัสช่องปากและรอยโรคที่มีการเปลี่ยนแปลงเป็นมะเร็งในระยะแรกนั้นความ คล้ายคลึงกันทั้งลักษณะรอยโรคและอาการแสดงของผู้ป่วย ส่งผลให้การแยกรอยโรคทั้งสองออกจาก กันในทางคลินิกทำได้ยาก ทันตแพทย์จึงมีความจำเป็นต้องวินิจฉัยแยกโรคโดยทำการซักประวัติ ส่ง ตรวจทางจุลพยาธิวิทยาและตัดชิ้นเนื้อออกตรวจ (biopsy) รวมทั้งตรวจเพิ่มเติมอื่นๆเพื่อวินิจฉัยโรค ให้ได้แน่นอน

ซีดี 146 คือ melanoma cell adhesion molecule (MCAM) เป็นไกลโคโพรตีนที่อยู่ใน บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์มีความสำคัญต่อการพัฒนาการของเซลล์ ทำหน้าที่เหมือนกาวยึดระหว่างโมเลกุล การเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของโมเลกุลนี้มักจะเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนรูปร่างของเซลล์และ โครงสร้างของเนื้อเยื่อ ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของการยึดติดระหว่างเซลล์จัดเป็นอีกหนึ่งขั้นตอนสำคัญใน การแพร่กระจายเซลล์มะเร็ง (8, 9) โดยกลไกการทำงานของซีดี 146 ต่อการเกิดมะเร็งยังไม่เป็นที่ ทราบแน่ชัด (10) แต่อาจมาจากการรบกวนการยึดกันระหว่างเซลล์ (intercellular adhesion) ซึ่ง การรบกวนการทำงานของโมเลกุลยึดติดนั้นถือเป็นลักษณะของมะเร็งในระหว่างขบวนการของการ แทรกตัวและการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง โดยการรบกวนการยึดติดนั้นสามารถพบได้ทั้งระหว่าง เซลล์มะเร็งกับเซลล์มะเร็งและระหว่างเซลล์มะเร็งกับเซลล์ปกติ (8, 9) โดยซีดี 146 มีบทบาทต่อการ ส่งเสริมการเกิดมะเร็งหลายชนิดและยังถูกใช้เป็นตัวบ่งชี้ของการแทรกและกระจายตัวของเมลาโนมา (11) แต่อย่างไรก็ตามมีบางรายงานพบว่าโมเลกุลนี้มีกตการเจริญเติบโตของมะเร็งเต้านมเช่นกัน (9) นอกจากนี้ซีดี 146 ยังมีบทบาทในการกระบวนการสร้างเส้นเลือด (angiogenesis) และยังถูกใช้เป็นตัว บ่งชี้ของเซลล์หลอดเลือดอีกด้วย (12) ดังนั้นบทบาทของซีดี 146 จึงควรต้องมีการศึกษาเพิ่มเติม เพื่อให้เข้าใจกลไกของซีดี 146 มากขึ้น สำหรับการศึกษาก็เกี่ยวข้องกับซีดี 146 ในปัจจุบันมัก เกี่ยวข้องกับเมลาโนมา (9) แต่มีการศึกษาของ Weninger และคณะในปี ค.ศ. 2000 (13) ที่ศึกษา การแสดงออกของซีดี 146 ในเคอราติโนไซต์ (keratinocyte) ซึ่งเป็นเซลล์ในชั้นเยื่อบุผิวหนังและทำ การตรวจซ้ำเพื่อยืนยันน้ำหนักโมเลกุลของซีดี 146 ซึ่งเท่ากับ 113 kDa ด้วยวิธีเวสเทิร์น บลอท (western blot) พบว่ามีการแสดงออกเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญของซีดี 146 ในเคอราติโนไซต์ของ ผู้ป่วยที่เป็นโรคผิวหนังอักเสบ เช่น สะเก็ดเงิน และไลเคน แพลนัส ในทุกตัวอย่างชิ้นเนื้อ โดยในโรค สะเก็ดเงินจะมีการติดสีอยู่ในระดับเข้มและสัดส่วนของเซลล์ที่ติดสีอยู่ในช่วงร้อยละ 50-80 สำหรับ โรคไลเคน แพลนัสจะมีความเข้มของการติดสีในระดับปานกลางถึงเข้ม มีสัดส่วนของเซลล์ที่ติดสีอยู่ ในช่วงร้อยละ 50-80 เช่นกัน สำหรับมะเร็งเยื่อบุผิวเซลล์สควอมีส (SCC) พบว่ามีการแสดงออกของ ซีดี 146 ในระดับต่ำทั้งสัดส่วนเซลล์ที่ติดสี ระดับความเข้มของการติดสี และพบว่ามีเพียงครึ่งหนึ่งของ ชิ้นเนื้อตัวอย่างที่ย้อมติดซีดี 146 โดยพบว่าซีดี 146 มีการติดสีบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ของเคอราติโนไซต์

โดยเฉพาะบริเวณที่มีการสัมผัสกันของเซลล์ซึ่งสอดคล้องกันเพราะซีดี 146 เป็นไกลโคโปรตีนบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ มีความสำคัญต่อการยึดเกาะกันของเซลล์ ดังนั้นจึงอาจเป็นไปได้ที่จะไม่พบหรือพบการแสดงออกน้อยลงในรอยโรคมะเร็ง เนื่องจากลักษณะของมะเร็งนั้นจะมีการเปลี่ยนแปลงการยึดติดระหว่างเซลล์ดังที่กล่าวไว้ข้างต้น อย่างไรก็ตามการศึกษาดังกล่าวนี้นี้เป็นการศึกษาที่ตรวจสอบความสัมพันธ์ของการแสดงออกของซีดี 146 กับรอยโรคในกลุ่มโรคผิวหนังอักเสบและมะเร็งบริเวณผิวหนังหลายชนิด ทำให้มีตัวอย่างขึ้นเนื้อที่เป็นรอยโรคไลเคน แพลนัสและมะเร็งเยื่อบุผิวเซลล์สควอมีสค่อนข้างน้อย

ในปัจจุบันการเสียชีวิตของผู้ป่วยโรคมะเร็งมากถึงร้อยละ 90 สัมพันธ์กับการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง (14, 15) โดยช่วงเหตุการณ์สำคัญที่จะเกิดขึ้นในการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง (metastasis) สามารถแบ่งได้ทั้งหมด 8 ช่วงเหตุการณ์ (15, 16) ดังนี้

1. ก้อนมะเร็งมีการเพิ่มขนาดใหญ่ขึ้น ทำให้มีภาวะขาดออกซิเจนนำมาซึ่งการเหนี่ยวนำการสร้างหลอดเลือดใหม่มาเลี้ยงก้อนมะเร็ง
2. สร้างสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งก่อนการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง
3. มีการลดการยึดกันระหว่างเซลล์ทำให้เซลล์เยื่อบุผิวสูญเสียการยึดติดระหว่างเซลล์
4. เซลล์มะเร็งลุกลามผ่านเยื่อฐาน
5. เซลล์มะเร็งเข้าสู่หลอดเลือดหรือหลอดน้ำเหลืองที่อยู่บริเวณใกล้เคียง
6. เซลล์มะเร็งเกาะติดผนังหลอดเลือดที่เลี้ยงอวัยวะเป้าหมาย
7. เซลล์มะเร็งออกจากหลอดเลือดเพื่อไปยังอวัยวะเป้าหมาย
8. เซลล์มะเร็งเจริญเติบโตในอวัยวะเป้าหมาย

โดยโมเลกุลยึดติดนอกจากจะมีบทบาทสำคัญในส่วนของ การลุกลามและแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งแล้วก็ยังมีความสำคัญในช่วงอื่นๆ เช่น ช่วงการสร้างเส้นเลือดมาหล่อเลี้ยงก้อนมะเร็ง ช่วงสร้างสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมก่อนการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง โดยกลไกในการเหนี่ยวนำการสร้างสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมนั้นยังไม่ทราบแน่ชัด แต่คาดว่าโมเลกุลยึดติดอาจทำหน้าที่คล้ายกับสารสื่อกลางที่เหนี่ยวนำเซลล์ที่อยู่ภายในสิ่งแวดล้อมใกล้เคียงกับเซลล์มะเร็งให้ค่อยๆปรับและสร้างสิ่งแวดล้อมที่เหมาะสมแก่เซลล์มะเร็ง (15) โดยซีดี 146 นั้นเป็นอีกหนึ่งโมเลกุลยึดติดที่มีบทบาทสำคัญต่อมะเร็งหลายชนิด ซึ่งมีทั้งการส่งเสริมและการกวดการเจริญเติบโตของมะเร็ง โดยการแสดงบทบาทที่ต่างกันอาจเกี่ยวข้องกับปัจจัยภายในอื่นๆของสิ่งแวดล้อมระดับเซลล์ของมะเร็ง รวมไปถึงลักษณะที่มีความหลากหลายของเซลล์มะเร็งแต่ละชนิด (8)

ในปัจจุบันยังไม่มีการศึกษาเกี่ยวกับลักษณะการแสดงออกซีดี 146 กับรอยโรคไลเคน แพลนัสช่องปากและในอีพิทีเลียล ดิสเพลเซียช่องปาก ดังนั้นการศึกษานี้จึงเป็นการศึกษาแรกที่จะช่วยให้เข้าใจลักษณะการแสดงออกของซีดี 146 ในรอยโรคช่องปากดังกล่าว สำหรับการแสดงออกของซีดี 146 ในมะเร็งเยื่อบุผิวเซลล์สควอเมัสช่องปาก มีผู้ที่ทำการศึกษาค่อนข้างน้อย มีการศึกษาโดย Pires และคณะในปี ค.ศ. 2003 (17) ซึ่งไม่พบการแสดงออกของซีดี 146 ในมะเร็งเยื่อบุผิวเซลล์สควอเมัสช่องปาก แต่อย่างไรก็ตามในการศึกษาดังกล่าวใช้กลุ่มผู้ป่วยค่อนข้างน้อย สำหรับผลการศึกษาเพิ่มเติมทางอิมมูโนฮิสโตเคมีในการศึกษาคั้งนี้ อาจถูกนำไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการต่อยอดงานวิจัยเพื่อประยุกต์เอาซีดี 146 มาเป็นตัวบ่งชี้ของการเกิดมะเร็งในช่องปากหรืออาจเป็นประโยชน์ที่จะใช้การแสดงออกของซีดี 146 แยกรอยโรคไลเคน แพลนัสช่องปากที่มีลักษณะทางคลินิกคล้ายกันกับอีพิทีเลียล ดิสเพลเซียช่องปากออกจากกัน ซึ่งจะช่วยให้สามารถตรวจพบความผิดปกติของเซลล์ได้ตั้งแต่ระยะเริ่มแรก ทำให้การวางแผนการรักษาและการติดตามผู้ป่วยมีความเหมาะสม รวมทั้งยังเป็นประโยชน์ต่อคุณภาพชีวิตของผู้ป่วยต่อไปด้วย





### วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาการแสดงออกของซีดี 146 บนเคอราติโนไซต์ของเนื้อเยื่อช่องปากจากอาสาสมัครสุขภาพดี ผู้ป่วยโรคไลเคน แพลนัสช่องปาก ผู้ป่วยอีพิทีเลียล ดิสเพลเซียช่องปาก และผู้ป่วยมะเร็งเยื่อบุผิวเซลล์สควอมัสช่องปาก

### สมมติฐานของการวิจัย

มีความแตกต่างกันของการแสดงออกของซีดี 146 บนเคอราติโนไซต์ของเนื้อเยื่อช่องปากที่ได้จากอาสาสมัครสุขภาพดีและเนื้อเยื่อจากผู้ป่วยโรคไลเคน แพลนัสช่องปาก อีพิทีเลียล ดิสเพลเซียช่องปาก และมะเร็งเยื่อบุผิวเซลล์สควอมัสช่องปาก

### ขอบเขตของการวิจัย

การวิจัยในครั้งนี้ศึกษาการแสดงออกของซีดี 146 โดยใช้เนื้อเยื่อที่ได้จากผู้ป่วยไทยที่มีรอยโรคไลเคน แพลนัสช่องปาก ซึ่งมารับการรักษาที่คลินิกบัณฑิตศึกษา ภาควิชาเวชศาสตร์ช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เนื้อเยื่อช่องปากปกติที่ได้จากอาสาสมัครสุขภาพดีที่ต้องการมารับการผ่าฟันคุด เนื้อเยื่อจากผู้ป่วยอีพิทีเลียล ดิสเพลเซียช่องปาก และมะเร็งเยื่อบุผิวเซลล์สควอมัสช่องปากได้ที่คลินิกศัลยศาสตร์และภาควิชาทันตพยาธิวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

### ข้อตกลงเบื้องต้น

กลุ่มประชากรตัวอย่างในการศึกษาเป็นกลุ่มผู้ป่วยไลเคน แพลนัสช่องปาก กลุ่มผู้ป่วยอีพิทีเลียล ดิสเพลเซียช่องปาก และกลุ่มที่เป็นมะเร็งเยื่อบุผิวเซลล์สควอมัสช่องปาก โดยผู้ป่วยโรคไลเคน แพลนัสช่องปากต้องได้รับการวินิจฉัยทั้งลักษณะทางคลินิกและลักษณะทางจุลพยาธิวิทยา ซึ่งผู้ป่วยอาจมีหรือไม่มีรอยโรคเกิดที่ผิวหนังร่วมด้วยก็ได้ แต่ต้องไม่ได้รับยาเพื่อรักษารอยโรคในช่องปากก่อนเข้าร่วมการศึกษาอย่างน้อย 3 เดือน นอกจากนี้ผู้ป่วยไลเคน แพลนัสช่องปาก ต้องไม่มีโรคประจำตัว และไม่มีวัสดุทางทันตกรรมสัมผัสกับรอยโรค เช่น อะมัลกัม ครอบฟันที่เป็นโลหะ หรือไม่ได้อยู่ระหว่างรับประทานยารักษาโรค หรือสงสัยว่าเป็นรอยโรคที่คล้าย ไลเคน แพลนัสที่เรียกว่า รอยโรคไลเคนอยด์ช่องปาก (oral lichenoid lesions) สำหรับผู้ป่วยกลุ่มอีพิทีเลียล ดิสเพลเซียช่องปากและมะเร็งเยื่อบุผิวเซลล์สควอมัสช่องปาก ต้องได้รับการวินิจฉัยยืนยันด้วยผลการตรวจลักษณะทางจุลพยาธิวิทยา

### ความไม่สมบูรณ์ของการวิจัย

เนื่องจากการศึกษานี้เป็นการศึกษาแรกที่ศึกษาความสัมพันธ์ของการแสดงออกของซีดี 146 กับรอยโรคไลเคน แพลนัสช่องปาก อีพิทีเลียล ดิสเพลเซียช่องปาก และเป็นการศึกษาเพิ่มเติมใน มะเร็งเยื่อเมือกเซลล์สควอมีสช่องปาก ประกอบกับเป็นการศึกษาแรกที่ใช้การบันทึกผลโดยการนับ จำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของซีดี 146 เพื่อหาค่าเฉลี่ยซึ่งจะนำมาหาความแตกต่างในการแสดงออกของซีดี 146 ในรอยโรคข้างต้น ทำให้ไม่สามารถหาการศึกษาตัวอย่างที่เหมาะสมในการคำนวณขนาดของกลุ่มประชากรตัวอย่างได้ ดังนั้นทางคณะผู้วิจัยจึงได้เลือกงานวิจัยที่มีรูปแบบเดียวกัน คือ Cross-sectional study โดยเป็นการศึกษาการแสดงออกของซีดี 146 ในโรคมะเร็ง หลอดอาหารด้วยวิธีทางอิมมูโนฮิสโตเคมี ซึ่งใกล้เคียงกับการศึกษาครั้งนี้มากที่สุดแทน

### ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

การตรวจหาการแสดงออกของซีดี 146 ด้วยวิธีทางอิมมูโนฮิสโตเคมีในรอยโรคไลเคน แพลนัสช่องปากรวมทั้งในอีพิทีเลียล ดิสเพลเซียช่องปากนั้น ยังไม่เคยมีผู้ใดทำการศึกษามาก่อน ส่วน การศึกษาความสัมพันธ์กับมะเร็งเยื่อเมือกเซลล์สควอมีสช่องปากก็ยังมีศึกษาในจำนวนที่น้อยมาก ดังนั้นการศึกษานี้จึงเป็นการศึกษาที่อาจนำมาซึ่งองค์ความรู้ใหม่ และยังทำให้เข้าใจบทบาทของ โมเลกุลยึดติดในรอยโรคดังกล่าวมากขึ้น นอกจากนี้ผลการศึกษาที่ได้ยังเป็นข้อมูลพื้นฐานในศึกษาเพื่อ การประยุกต์เอาซีดี 146 มาเป็นตัวแยกโรคในกลุ่มไลเคน แพลนัสช่องปาก กลุ่มอีพิทีเลียล ดิสเพลเซีย ช่องปากและมะเร็งเยื่อเมือกเซลล์สควอมีสช่องปากออกจากกัน ซึ่งจะเป็นประโยชน์อย่างมากต่อการ รักษา รวมทั้งการทำนายพยากรณ์ของโรคในอนาคต

## บทที่ 2

### วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

#### ตอนที่ 1 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับรอยโรคไลเคน แพลนัส

##### - ระบาดวิทยา (Epidemiology)

โรคไลเคน แพลนัสเป็นโรคที่มีการอักเสบเรื้อรัง โดยสามารถพบรอยโรคได้ทั้งบริเวณผิวหนังและเยื่อภายในช่องปาก (18) สำหรับผู้ป่วยที่มีรอยโรคที่ผิวหนังมักจะแสดงอาการของโรคในช่องปากได้ประมาณร้อยละ 60 ของผู้ป่วย แต่มีเพียงร้อยละ 15 ของผู้ป่วยที่เป็นโรคไลเคน แพลนัสช่องปากที่จะมีการแสดงรอยโรคที่ผิวหนัง (19) นอกจากนี้โรคไลเคน แพลนัสยังพบได้ที่บริเวณอื่นๆ ของร่างกาย เช่น บริเวณหลอดอาหาร ส่วนเยื่อตา (conjunctivae) อวัยวะสืบพันธุ์ เล็บและหนังศีรษะซึ่งอาจเห็นเป็นลักษณะผรุ้งได้ (20) โรคไลเคน แพลนัสมักพบได้บ่อยในผู้ป่วยอายุช่วง 50-70 ปี และพบได้น้อยในเด็กแต่หากพบมักจะพบรอยโรคที่ผิวหนังด้วย (21) โดยโรคจะพบในเพศหญิงมากกว่าเพศชาย (4, 19, 21) สำหรับการศึกษานี้ผู้ป่วยไทยพบว่าโรคไลเคน แพลนัสช่องปากพบได้บ่อยในช่วงอายุ 40-60 ปี และในเพศหญิงต่อเพศชายในสัดส่วน 4:1 (22) สำหรับค่าความชุกของโรคไลเคน แพลนัสช่องปาก พบว่ามีค่าร้อยละ 1.27 โดยประมาณ (23, 24)

##### - ลักษณะทางคลินิก (Clinical features)

คำว่า “ไลเคน แพลนัส” ถูกตั้งขึ้นโดยนายแพทย์ชาวอังกฤษที่ชื่อ Sir Erasmus Wilson ในปี ค.ศ. 1869 (25) โดยลักษณะทางคลินิกจะเป็นตุ่มคันสีขาหรือเส้นขาวหนานูนขึ้นจากเยื่อเมือกปกติ มีการเรียงตัวเป็นลายเส้นขาวคล้ายร่างแหเรียกว่า เส้นตาข่ายของวิกแฮม (Wickham's striae) โดยอาจพบรอยแดงหรือแผลร่วมด้วย (21) จากการรายงานการประชุมระดับนานาชาติในปี ค.ศ. 2005 Lodi และคณะ (26) ได้แบ่งรูปแบบของรอยโรคไลเคน แพลนัสช่องปากออกเป็น 5 รูปแบบ คือ

##### 1. ชนิดร่างแห (reticular)

มีลักษณะเป็นเส้นขาวเรียงตัวคล้ายตาข่ายร่างแห หรือลายลูกไม้ โดยรอยโรคชนิดนี้มักไม่มีอาการ

##### 2. ชนิดตุ่มคัน (papular)

มีลักษณะเป็นตุ่มคันเล็กๆ สีขาวหลายตุ่ม กระจุกกระจาย

### 3. ชนิดฝ้าขาว (plaque)

มีลักษณะเป็นแผ่นสีขาว นูน เรียบ โดยรอยโรครูปแบบนี้มักพบได้บ่อยในคนสูบบุหรี่

### 4. ชนิดฝ่อลีบ (atrophic)

มีลักษณะการอักเสบของเยื่อบุผิวเป็นรอยแดงและบาง มักพบลายเส้นสีขาวรอบๆ รอยโรคชนิดนี้มักทำให้ผู้ป่วยมีอาการปวดแสบร้อนในช่องปาก

### 5. ชนิดแผลถลอก (ulcerative/erosive)

มีลักษณะเป็นแผลที่ถูกปกคลุมด้วยแผ่นเยื่อเมือกเทียม (pseudomembrane) และ บริเวณขอบของรอยโรคมักพบลายเส้นสีขาวร่วมด้วย นอกจากนี้อาจพบเลือดออก เมื่อเช็ดบริเวณรอยโรค โดยไลเคน แพลนัสช่องปากชนิดนี้มักทำให้ผู้ป่วยมีอาการได้ ตั้งแต่ปวดแสบร้อนเล็กน้อยถึงเจ็บปวดมาก

สำหรับตำแหน่งภายในช่องปากที่พบโรคไลเคน แพลนัสได้บ่อย คือ บริเวณกระพุ้งแก้ม เหงือก และลิ้น โดยผู้ป่วยมักมาพบทันตแพทย์ด้วยอาการนำได้หลากหลายตั้งแต่รู้สึกไม่สบายในช่องปาก เจ็บแสบเวลารับประทานอาหารรสจัดหรืออาการเจ็บแสบเกิดขึ้นได้เอง (1, 22) โดยการศึกษาในคนไทยที่ทำการศึกษาในผู้ป่วยโรคไลเคน แพลนัสช่องปากจำนวน 533 คน พบว่า ผู้ป่วยมักมีอาการสำคัญ คือ รู้สึกปวดแสบร้อนในช่องปากประมาณร้อยละ 72.9 มีอาการเจ็บประมาณร้อยละ 26.5 รู้สึกระคายในช่องปากประมาณร้อยละ 6.4 และอาการอื่นๆอีกประมาณร้อยละ 7.9 โดยรอยโรคมักพบที่ตำแหน่งกระพุ้งแก้มมากที่สุดและไลเคน แพลนัสชนิดฝ่อลีบเป็นชนิดที่พบได้บ่อยที่สุด (22)

รอยโรคไลเคนอยด์ช่องปากเป็นรอยโรคที่มีลักษณะทางคลินิกหรือลักษณะทางจุลพยาธิวิทยา หรือทั้งสองอย่างคล้ายกับโรคไลเคน แพลนัสช่องปาก แต่มีลักษณะไม่ครบตามเกณฑ์การวินิจฉัยที่ปรับปรุงโดย van der Meij และ van der Waal ในปี ค.ศ. 2003 ทั้งหมด (27) สามารถแบ่งได้เป็น 4 ชนิด (28) คือ

#### 1. รอยโรคไลเคนอยด์ช่องปากที่เกี่ยวข้องกับการสัมผัส (oral lichenoid contact lesion; OLCLs)

ลักษณะรอยโรคคล้ายไลเคน แพลนัสช่องปาก มีลักษณะรูปร่างสัมพันธ์และสัมผัสกับวัสดุ (direct topographic relationship) เช่น อะมัลกัม ซึ่งเป็นสาเหตุที่พบได้บ่อยวัสดุทันตกรรม โดยรอยโรคส่วนใหญ่อาจหายไปภายในหลายเดือน หลังจากเปลี่ยนวัสดุที่เป็นสาเหตุ

2. รอยโรคไลเคนอยด์ช่องปากที่มีสาเหตุจากยา (oral lichenoid drug reaction; OLDR)

ลักษณะรอยโรคคล้ายไลเคน แพลนัสช่องปาก ที่พบในผู้ป่วยที่มีประวัติได้รับยาเป็นประจำ ซึ่งการวินิจฉัยโรคว่าเป็นโรคไลเคนอยด์ช่องปากที่มีสาเหตุจากยา การพิจารณาช่วงเวลาผู้ป่วยได้รับยาและการเกิดโรคเป็นข้อมูลสำคัญ โดยผู้ป่วยจะต้องเกิดรอยโรคภายหลังจากได้รับยา ส่วนระยะเวลาในการเกิดโรคนั้นไม่แน่นอน ยาที่เป็นสาเหตุส่วนใหญ่ได้แสดงไว้ในตารางที่ 1 สำหรับการให้คำวินิจฉัยสุดท้ายจะพิจารณาจากการหยุดยาที่สงสัยว่าเป็นสาเหตุของโรคแล้วรอยโรคดีขึ้นหรือหายไป และเมื่อผู้ป่วยได้รับยาตัวเดิมรอยโรคจะกลับมาเป็นใหม่อีกครั้ง

3. รอยโรคไลเคนอยด์ช่องปากเนื่องจากภาวะแทรกซ้อนจากการเปลี่ยนถ่ายไขกระดูก (graft-versus-host Disease; GVHD)

ลักษณะรอยโรคคล้ายไลเคน แพลนัสช่องปาก สามารถพบในผู้ป่วยที่ได้รับการผ่าตัดเปลี่ยนถ่ายไขกระดูกได้ถึงร้อยละ 80 โดยสามารถพบได้ทุกตำแหน่งในช่องปาก รวมทั้งบริเวณเพดานช่องปากซึ่งเป็นตำแหน่งที่ไม่ค่อยพบรอยโรคไลเคน แพลนัส

4. รอยโรคไลเคนอยด์ช่องปากที่ไม่สามารถจำแนกกลุ่มได้ (OLL unclassified)

มักเป็นรอยแดงพบที่บริเวณเหงือก โดยไม่มีอาการแสดงของไลเคน แพลนัสช่องปากแบบปกติ หรือเป็นรอยโรคมีลักษณะคล้ายไลเคน แพลนัสช่องปาก แต่ขาดลักษณะเฉพาะ 1 อย่างหรือมากกว่าในทางคลินิก เช่น มีรอยโรค 2 ข้าง เป็นต้น

ตารางที่ 1 แสดงรายชื่อของยาที่มีรายงานกระตุ้นให้เกิดรอยโรคไลเคนอยด์ช่องปาก (29-31)

กลุ่มของยาที่เป็นตัวกระตุ้น	ตัวอย่างยา
ยาระงับอาการวิตกกังวล ยารักษาโรคทางจิตเวช ยาต้านเศร้า	Benzodiazepines Lithium Tricyclic antidepressants
ยาปฏิชีวนะ	Isoniazid, Rifampin, Streptomycin, Tetracycline
ยากันชัก	Carbamazepine, Phenytoin, Valproate
ยารักษาโรคเบาหวาน	Glipizide, Insulin, Tolbutamide
ยาลดความดันโลหิตสูง	Atenolol, Captopril, Chlorothiazide, Enalapril, Furosemide, Hydrochlorothiazide, Metoprolol
ยาต้านเชื้อรา	Amphotericin B, Ketoconazole
ยาต้านมาลาเรีย	Chloroquine, Hydroxychloroquine, Quinacrine
ยาต้านไวรัส	Zidovudine
ยาต้านอักเสบที่ไม่ใช่สเตียรอยด์	Aspirin, Diclofenac, Ibuprofen, Indomethacin, Naproxen
ยาอื่นๆ	Allopurinol, Bismuth, Dapsone, Gold, Penicillamine

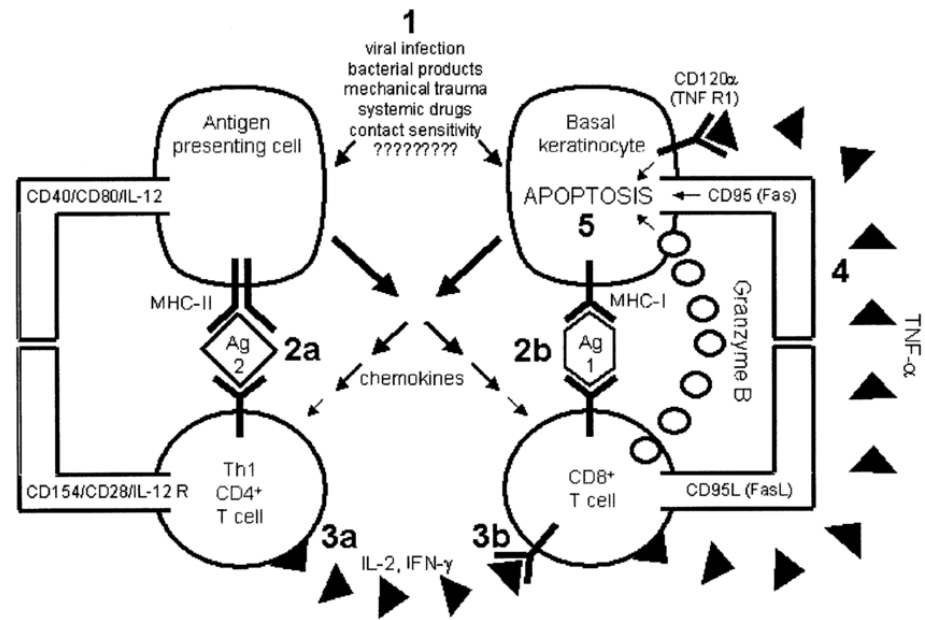
#### - การเกิดพยาธิสภาพของโรค (Pathogenesis)

ปัจจุบันกลไกในการเกิดโรคไลเคน แพลนัสช่องปากยังไม่ทราบแน่ชัด แต่เชื่อว่าโรคนี้ที่เกิดจากความผิดปกติของระบบภูมิคุ้มกันชนิดที่มีทีเซลล์เป็นสื่อ โดยกลไกการเกิดโรคแบ่งออกเป็นของ 2 แบบ คือ กลไกการเกิดโรคชนิดที่มีแอนติเจนจำเพาะ (26) และกลไกการเกิดโรคชนิดไม่จำเพาะ (32) สำหรับกลไกการเกิดโรคชนิดที่มีแอนติเจนจำเพาะแสดงดังภาพที่ 1 โดยเซลล์นำเสนอแอนติเจน (antigen-presenting cell; APC) และเบซัลเคอราติโนไซต์ (basal keratinocyte) จะถูกกระตุ้นจากการติดเชื้อไวรัส สารจากแบคทีเรีย การบาดเจ็บจากเหตุกายภาพ ยา การสัมผัสกับสารก่อภูมิแพ้

หรือการถูกกระตุ้นจากสารอื่นๆที่ไม่สามารถระบุได้ โดยเซลล์นำเสนอแอนติเจนและเบซิลเคอราติโนไซต์ที่ถูกกระตุ้นจะหลั่งซีโมไคน์เพื่อดึงดูดให้ลิมโฟไซต์เข้ามาที่บริเวณรอยโรค เซลล์นำเสนอแอนติเจนจะนำเสนอแอนติเจนแก่ทีเซลล์ผ่านโมเลกุล Major histocompatibility complex (MHC) บนผิวเซลล์ โดยแอนติเจนที่ถูกนำเสนอผ่าน MHC class II จะถูกนำเสนอต่อซีดี 4<sup>+</sup> ทีเซลล์ ซึ่งพบได้มากในชั้นลามินา โพรเพรีย (lamina propria) ของรอยโรค (26) โดยจะมีการแสดงออกร่วมกันของซีดี 40 และซีดี 80 จากเซลล์นำเสนอแอนติเจนกับซีดี 154, ซีดี 28 และอินเตอร์ลิวคิน-12อาร์ ที่อยู่บนซีดี 4<sup>+</sup> ทีเซลล์ จากนั้นซีดี 4<sup>+</sup> ทีเซลล์ก็จะหลั่งอินเตอร์ลิวคิน-2 (interleukin-2; IL-2) และอินเตอร์เฟียรอน-แกมมา (interferon- $\gamma$ ; IFN- $\gamma$ ) ซึ่งอินเตอร์เฟียรอน-แกมมาจะทำให้การแสดงออกของ MHC class II คงอยู่และส่งผลให้เกิดการทำลายแบบเรื้อรังของรอยโรค สำหรับซีดี 8<sup>+</sup> ทีเซลล์ซึ่งส่วนใหญ่ถูกพบในชั้นเยื่อผิวใกล้กับเบซิลเคอราติโนไซต์ (26) จะถูกกระตุ้นได้จากการนำเสนอแอนติเจนผ่าน MHC class I ของเบซิลเคอราติโนไซต์และจากอินเตอร์ลิวคิน-2 และอินเตอร์เฟียรอน-แกมมาที่หลั่งมาจากซีดี 4<sup>+</sup> ทีเซลล์ เมื่อซีดี 8<sup>+</sup> ทีเซลล์ถูกกระตุ้นจะทำให้เกิดการตายของเบซิลเคอราติโนไซต์ได้จาก 3 กลไกดังนี้

1. ผ่านการจับกันของ Fas (CD95) ที่อยู่บนเบซิลเคอราติโนไซต์และ FasL (CD95L) บนซีดี 8<sup>+</sup> ทีเซลล์
2. ซีดี 8<sup>+</sup> ทีเซลล์หลั่งทูเมอร์เนกโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟา (tumor necrosis factor- $\alpha$ ; TNF- $\alpha$ ) เข้าไปจับกับตัวรับทูเมอร์เนกโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟา 1 (TNF- $\alpha$  receptor 1; TNF-R1) บนผิวเคอราติโนไซต์
3. ซีดี 8<sup>+</sup> ทีเซลล์หลั่งแกรนไทม์ บี (granzyme B) ผ่านช่อง perforin-induced membrane pore เข้าไปทำลายเคอราติโนไซต์โดยตรง

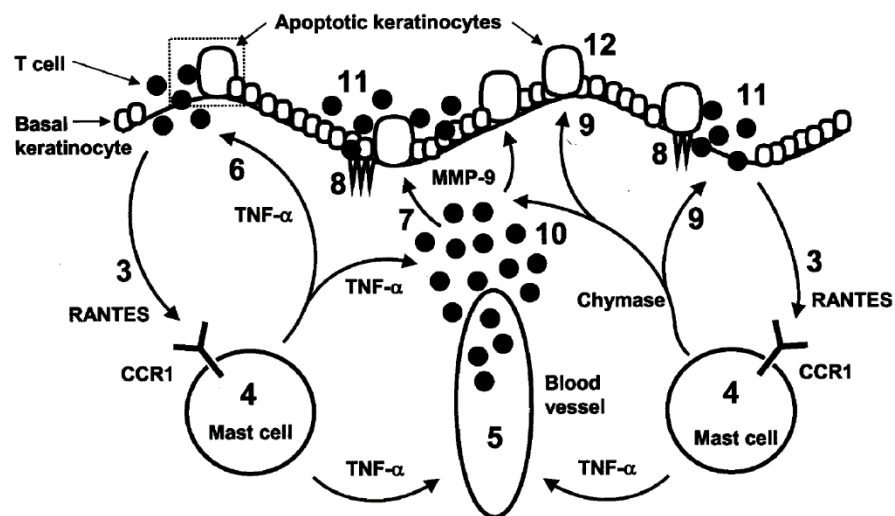
## Immunopathogenesis of OLP



ภาพที่ 1 แสดงกลไกการเกิดโรคไลเคน แพลนัสช่องปากชนิดที่มีแอนติเจนจำเพาะ (26)



ส่วนกลไกการเกิดพยาธิสภาพของไลเคน แพลนัสช่องปากแบบไม่จำเพาะแสดงดังภาพที่ 2 เชื่อกันว่าทีเซลล์จะหลั่ง RANTES (regulated on activation, normal T-cell expressed and secreted) ซึ่งจะไปดึงดูดมาสต์เซลล์ (mast cell) ให้เข้ามาที่บริเวณรอยโรคและทำให้แกรนูโลในมาสต์เซลล์เกิดการแตกตัว (degranulation) และปลดปล่อยซัยโตไคน์ที่กระตุ้นการอักเสบ (pro-inflammatory cytokines) เช่น ทูเมอร์เน็กโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟา ไปเหนี่ยวนำให้มีการแสดงออกของโมเลกุลยึดติดของผนังหลอดเลือด (endothelial adhesion molecules) เช่น ซีดี 62อี, ซีดี 54, ซีดี 106 ทำให้ลิมโฟไซต์เคลื่อนที่ออกจากหลอดเลือดมายังบริเวณรอยโรคมากขึ้น นอกจากนี้มาสต์เซลล์ยังหลั่งเอนไซม์ไคเมส (chymase) ซึ่งเอนไซม์นี้สามารถทำลายเคอราตินไซต์ได้โดยตรง และยังสามารถกระตุ้นให้ทีเซลล์หลั่งแมทริกซ์เมทัลโลโปรทีเนส-9 (matrix metalloproteinase; MMP-9) มาทำลายเคอราตินไซต์ได้ด้วย (32)



ภาพที่ 2 แสดงกลไกการเกิดโรคไลเคน แพลนัสช่องปากชนิดแบบไม่จำเพาะ (32)

### - ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยา

ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของรอยโรคไลเคน แพลนัส มีได้หลายแบบแต่จะมีลักษณะเฉพาะดังนี้ (4, 21)

1. มีการหนาตัวขึ้นของเคอราตินในชั้นเยื่อบุผิวหรือสตราตัม คอร์เนียม (stratum corneum) โดยพบได้ทั้งแบบเคอราติโนไฮต์ที่ไม่มีนิวเคลียส (orthokeratosis) และแบบเคอราติโนไฮต์ที่ยังมีนิวเคลียส (parakeratosis)
2. เซลล์ในชั้นสตราตัม แกรนูโลซัม (stratum granulosum) หนาตัว
3. เซลล์ชั้นสตราตัม สไปโนซัม (stratum spinosum) มีการเพิ่มจำนวนขึ้น ทำให้มีการหนาตัวของชั้นเพิ่มขึ้น ที่เรียกว่า อะแคนโทซิส (acanthosis)
4. อาจพบหรือไม่พบบริเวณเรเต ริดจ์ (rete ridge) ที่มีการหนาตัวแบบ hyperplastic ก็ได้ ส่วนเรเต ริดจ์ ที่มีลักษณะแบบฟันเลื่อย (saw tooth appearance) มักพบที่รอยโรคบริเวณผิวหนัง (19, 21)
5. พบการทำลายของเบซัลเคอราติโนไซต์ในชั้นเยื่อบุผิว (basal cell degeneration)
6. พบเคอราติโนไฮต์ที่ถูกทำลายบริเวณรอยต่อของเยื่อบุผิวกับเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (epithelial-connective tissue junction) เรียกว่า คอลลอยด์ บอดี (colloid bodies) หรือ ชิวัตต์ บอดี (civatte body)
7. พบลิมโฟไซต์มีการเรียงตัวเป็นแถบหนาแน่นจำนวนมาก (band-like infiltration) ซึ่งส่วนมากเป็นทีเซลล์
8. เมื่อนำเนื้อเยื่อผู้ป่วยมาตรวจด้วยวิธีทางอิมมูโนฟลูออเรสเซนซ์ (direct immunofluorescence) จะพบมีการติดไฟบริน (fibrin) ในลักษณะ shaggy (21) รวมทั้งอิมมูโนโกลบูลินเอ็ม (IgM) และคอมพลีเมนต์ 3 (C3) ที่บริเวณชั้นเนื้อเยื่อฐาน

### - การวินิจฉัย (Diagnosis)

ในปี ค.ศ. 2003 van der Meij และ van der Waal ได้ปรับเสนอเกณฑ์ในการวินิจฉัยแยกโรคไลเคน แพลนัสช่องปากใหม่ ซึ่งเป็นการปรับปรุงเกณฑ์การวินิจฉัยในปี ค.ศ. 1978 ขององค์การอนามัยโลก (World Health Organization) พบว่าเกณฑ์ที่ปรับใหม่นี้มีความละเอียดมากขึ้น รวมทั้งยังได้รับความเห็นชอบเพิ่มมากขึ้นจากทั้งทันตแพทย์และทันตพยาธิแพทย์ (oral pathologist) ดังแสดงในตารางที่ 2 (27)

**ตารางที่ 2** แสดงเกณฑ์การวินิจฉัยโรคไลเคน แพลนัสช่องปากที่ดัดแปลงจาก van der Meij และ van der Waal ในปี ค.ศ. 2003 (27)

<p align="center"><b>เกณฑ์การวินิจฉัยสำหรับไลเคน แพลนัสช่องปากและรอยโรคไลเคนอยด์ช่องปาก</b></p>
<p><b>เกณฑ์ทางคลินิก</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- มีรอยโรคทั้งสองข้าง อาจสมมาตรกันหรือไม่สมมาตรกันก็ได้</li> <li>- รอยโรคอาจมีลักษณะเป็นรอยถลอก ฝ่อลีบ ตุ่มน้ำใส หรือเป็นฝ้าขาว โดยต้องพบลักษณะของร่างแหสีขาวปรากฏอยู่ในตำแหน่งใดตำแหน่งหนึ่งในช่องปาก</li> <li>- พบลายเส้นขาว ลักษณะเหมือนลายลูกไม้ หรือพบเป็นเส้นสีขาวอมเทาหนาขึ้นจากเนื้อเยื่อปกติซึ่งจะพบได้ในไลเคน แพลนัสช่องปากชนิดร่างแห</li> </ul> <p>รอยโรคทั้งหมดที่มีลักษณะทางคลินิกคล้ายคลึงกับไลเคน แพลนัสช่องปากแต่มีลักษณะไม่ครบทุกข้อที่กล่าวมา ใช้คำว่า “ลักษณะทางคลินิกเข้ากันได้กับ”</p>
<p><b>เกณฑ์ทางจุลพยาธิวิทยา</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- พบแถบของกลุ่มเซลล์ซึ่งส่วนมากเป็นลิมโฟไซต์มีการเรียงตัวหนาแน่น ชัดเจน ที่เนื้อเยื่อเกี่ยวพันชั้นบน</li> <li>- พบการเสื่อมสลายของเบซิลเคอราติโนไซต์ในชั้นเยื่อบุผิว</li> <li>- ไม่พบเซลล์เยื่อบุผิวที่มีดีสเพลเซีย</li> </ul> <p>เมื่อลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาไม่ชัดเจนตามลักษณะที่กล่าวมา ใช้คำว่า “ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาเข้ากันได้กับ”</p>
<p><b>คำวินิจฉัยสุดท้ายเป็นไลเคน แพลนัสช่องปากหรือไลเคนอยด์ช่องปาก</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- ต้องใช้ทั้งเกณฑ์ทางคลินิกและทางจุลพยาธิวิทยาในการพิจารณา โดยจะต้องมีครบทุกเกณฑ์จากทั้งทางคลินิกและทางจุลพยาธิวิทยา จึงสามารถวินิจฉัยว่าเป็นโรคไลเคน แพลนัสช่องปากได้</li> <li>- สำหรับคำว่า “ไลเคนอยด์ช่องปาก” จะให้คำวินิจฉัยนี้ได้ก็ต่อเมื่ออยู่ในเงื่อนไขอย่างใดอย่างหนึ่งดังต่อไปนี้ <ol style="list-style-type: none"> <li>1. ลักษณะทางคลินิกครบเกณฑ์ของการเป็นไลเคน แพลนัสช่องปาก แต่ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาเพียง “เข้ากันได้กับ” ไลเคน แพลนัสช่องปาก</li> <li>2. ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาครบเกณฑ์ของการเป็นไลเคน แพลนัสช่องปาก แต่ลักษณะทางคลินิกเพียง “เข้ากันได้กับ” ไลเคน แพลนัสช่องปาก</li> <li>3. ทั้งลักษณะทางคลินิกและจุลพยาธิวิทยาเพียง “เข้ากันได้กับ” ไลเคน แพลนัสช่องปาก</li> </ol> </li> </ul>

## - การเปลี่ยนแปลงเป็นมะเร็งของรอยโรคไลเคน แพลนัสช่องปาก

รายงานการเปลี่ยนแปลงเป็นมะเร็งของรอยโรคไลเคน แพลนัสช่องปากจนถึงปัจจุบันยังมีความไม่ชัดเจน จากการศึกษาในปี ค.ศ. 2014 ในผู้ป่วย 7,806 คน (7) พบว่าไลเคน แพลนัสช่องปากมีอัตราการเปลี่ยนแปลงเป็นมะเร็งตั้งแต่ร้อยละ 0.4-12.5 โดยอัตราการเปลี่ยนแปลงเฉลี่ยอยู่ที่ร้อยละ 1.09 มักพบในผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นเป็นไลเคน แพลนัสหรือไลเคนอยด์ช่องปากมาแล้วประมาณ 51.4 เดือน ผู้ป่วยมีอายุตั้งแต่ 60.8 ปีขึ้นไป และมักพบการเปลี่ยนแปลงได้ในเพศหญิง สำหรับอัตราการเปลี่ยนแปลงเป็นมะเร็งในผู้ป่วยไทย จากการศึกษาโดย Thongsprasom และคณะในปี ค.ศ. 2010 พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงเป็นมะเร็งที่ร้อยละ 0.2 ซึ่งพบในอัตราที่ต่ำ (22) แต่อย่างไรก็ตามการเปลี่ยนแปลงของโรคมักขึ้นกับปัจจัยอีกหลายอย่าง เช่น ระยะเวลาการเป็นโรค ชนิดของรอยโรค ตำแหน่งที่พบรอยโรค (21)

## ตอนที่ 2 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับมะเร็งช่องปาก

จากการสำรวจระดับนานาชาติในปี ค.ศ. 2012 พบว่าอุบัติการณ์การเกิดโรครวมกันของมะเร็งริมฝีปาก มะเร็งช่องปากและมะเร็งคอหอยอยู่ที่ร้อยละ 3.8 ของผู้ป่วยมะเร็งทั้งหมด (33) ส่วนในประเทศไทย สถาบันมะเร็งแห่งชาติได้ทำการเก็บข้อมูลในผู้ป่วยมะเร็งในปี ค.ศ. 2013 พบว่ามะเร็งริมฝีปากและช่องปากอยู่เป็นอันดับ 6 จากมะเร็งที่พบบ่อยที่สุด 10 ตำแหน่ง โดยเพศชายมีมะเร็งริมฝีปากและช่องปากเป็นอันดับ 6 และเพศหญิงเป็นอันดับ 8 จาก 15 อันดับแรกของมะเร็งทั้งหมดเมื่อแยกตามเพศ (6) ร้อยละ 90 ของมะเร็งช่องปากชนิดร้ายแรง คือ มะเร็งเยื่อบุผิวเซลล์สควอมีสช่องปาก (4, 5) สำหรับลักษณะทางคลินิกของมะเร็งเยื่อบุผิวเซลล์สควอมีสช่องปาก พบว่ามีอาการแสดงได้หลากหลาย อาจพบลักษณะรอยขาว (white patch) รอยแดง (red patch) หรือมีทั้งรอยขาวและแดงร่วมกัน (red and white patch) พบเป็นก้อนงอกขึ้นมา (exophytic) หรือมีการหว่าลงไป (endophytic) หรืออาจพบลักษณะคล้ายแผลเรื้อรังก็ได้ (4, 34) โดยในช่วงแรกผู้ป่วยมักไม่มีอาการ (4) ผู้ป่วยจึงไม่ได้ให้ความสนใจในการมาทำการรักษา ดังนั้นหากทันตแพทย์พบรอยโรคที่มีลักษณะดังกล่าว โดยไม่สามารถหาสาเหตุรอยโรคที่ชัดเจนได้หรือพบในผู้ป่วยสูงอายุ รอยโรคอยู่ในตำแหน่งเสี่ยง เช่น บริเวณข้างลิ้นส่วนท้าย (posterior lateral tongue) บริเวณหลังลิ้น (ventral tongue) (4) หรือผู้ป่วยมีปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็ง เช่น สูบบุหรี่ เคี้ยวหมาก เป็นต้น (4) ทันตแพทย์ควรต้องพิจารณาตัดชิ้นเนื้อออกตรวจเพื่อดูลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาซึ่งอาจพบมีการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ในชั้นเยื่อบุผิวไปจนถึงเป็นมะเร็งเยื่อบุผิวเซลล์สควอมีสช่องปากได้

- การเปลี่ยนแปลงของเซลล์ในชั้นเยื่อผิวหรืออีพิทีเลียล ดิสเพลเซีย (epithelial dysplasia)

ลักษณะการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ในชั้นเยื่อผิวถูกจัดแบ่งได้ตามลักษณะของเซลล์ที่เปลี่ยนไป ซึ่งมีลักษณะดังนี้ (35)

1. การเปลี่ยนแปลงของลักษณะเซลล์

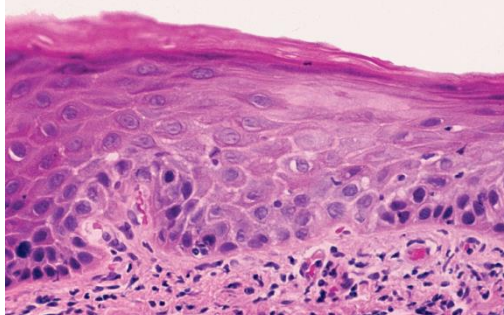
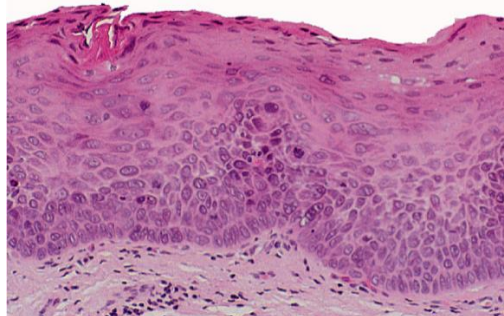
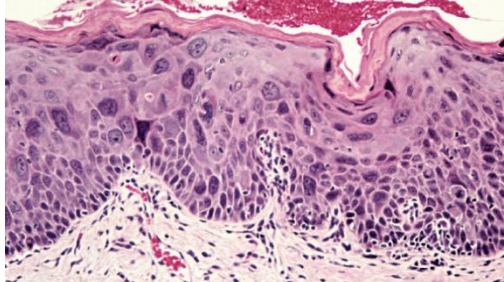
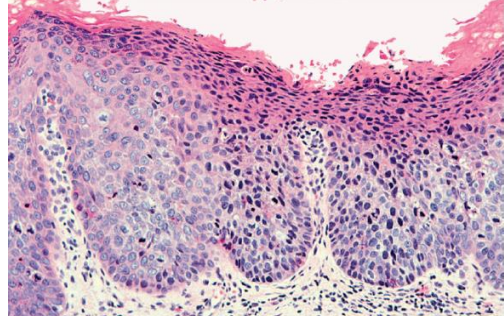
1. มีการสูญเสียสภาพการเรียงตัวของเซลล์
2. มีความผิดปกติของเซลล์เริ่มจากส่วนฐานขึ้นมาถึงเซลล์สควอมีส
3. อาจพบลักษณะความผิดปกติของเซลล์ทั้งชั้นเยื่อผิว (carcinoma in situ)
4. มีการเพิ่มความหนาแน่นของเซลล์
5. มีการเพิ่มจำนวนของเปซัลเซลล์
6. พบความผิดปกติของกระบวนการสร้างเคอราติน เช่น เคอราติโนไซต์มีการสร้างเคอราตินก่อนเวลา (dyskeratosis) หรือพบเคอราตินเพิร์ล (keratin pearl) ในชั้นเยื่อผิว
7. บริเวณเรเต เพก (rete pegs) มีการขยายคล้ายรูปหยดน้ำ
8. พบการเหยียดยื่นทุติยภูมิของเรเต เพกส่วนปลาย (secondary extensions on rete tips)

2. การเปลี่ยนแปลงของเซลล์

1. มีความหลากหลายทั้งขนาดและรูปร่างของนิวเคลียสซึ่งผิดไปจากปกติ
2. มีความหลากหลายทั้งขนาดและรูปร่างของเซลล์ซึ่งผิดไปจากปกติ
3. สัดส่วนของนิวเคลียสต่อไซโตพลาสซึมของเซลล์เพิ่มขึ้น
4. นิวเคลียสติดสีเข้มขึ้น
5. มีลักษณะการแบ่งตัวของเซลล์ที่ผิดปกติ
6. มีการเพิ่มขึ้นของทั้งจำนวนและขนาดของนิวเคลียส

- ระดับความรุนแรงของความผิดปกติของเซลล์ในชั้นเยื่อผิวได้ออกเป็น 4 ระดับ และหากเซลล์ที่มีความผิดปกติมีการลุกลามผ่านเนื้อเยื่อฐานลงสู่น้ำเยื่อเกี่ยวพันชั้นล่างได้ก็จะถือเป็นลักษณะของมะเร็งเยื่อผิวเซลล์สควอมีส ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 แสดงลักษณะอีพิทีเลียล ดิสเพลเซียตามระดับความรุนแรงและลักษณะของมะเร็งเยื่อบุผิวเซลล์สควอมีสช่องปาก (4, 35, 36)

รอยโรค	ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยา
	<p><b>อีพิทีเลียล ดิสเพลเซียระดับน้อย</b> (mild epithelial dysplasia)</p> <p>เซลล์มีการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนมากขึ้นไม่เกินหนึ่งในสามของความหนาของชั้นเยื่อบุผิว โดยเซลล์ที่มีความผิดปกติมักพบภายในและบริเวณรอบๆชั้นเบซัลเซลล์</p>
	<p><b>อีพิทีเลียล ดิสเพลเซียระดับปานกลาง</b> (moderate epithelial dysplasia)</p> <p>เซลล์และนิวเคลียสมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง นิวเคลียสดิสโตเซีย่ม พบการแบ่งเซลล์ที่ผิดปกติได้ชัดเจนกว่าอีพิทีเลียล ดิสเพลเซียระดับน้อย โดยเซลล์ที่มีความผิดปกติจะขยายตัวจนถึงกึ่งกลางของชั้นเยื่อบุผิว</p>
	<p><b>อีพิทีเลียล ดิสเพลเซียระดับรุนแรง</b> (severe epithelial dysplasia)</p> <p>เซลล์และนิวเคลียสจะแสดงลักษณะการเปลี่ยนแปลงชัดเจน มีรูปร่างหลากหลาย นิวเคลียสดิสโตเซีย่ม มีการแบ่งตัวผิดปกติ โดยพบเซลล์ที่มีความผิดปกติจากชั้นเบซัลเซลล์มากกว่าสองในสามของชั้นเยื่อบุผิว</p>
	<p><b>คาร์ซิโนมา อินไซตู</b> (carcinoma in situ)</p> <p>เซลล์มีลักษณะผิดปกติทั้งชั้นเยื่อบุผิว แต่ไม่มีการลุกลามของโรคลงสู่ชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันด้านล่าง</p>



### ตอนที่ 3 ความเกี่ยวข้องของโมเลกุลยึดติดกับการดำเนินไปของโรคมะเร็ง

ในการเจริญเติบโตของมะเร็งรวมทั้งการแพร่กระจายสู่อวัยวะเป้าหมายนั้นมีความเกี่ยวข้องกันหลายอย่าง ซึ่งโมเลกุลยึดติดก็เป็นอีกส่วนหนึ่งที่มีความสำคัญเกี่ยวข้องในหลายกระบวนการของการพัฒนาการลุกลามรวมทั้งการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง โดยช่วงเหตุการณ์สำคัญที่เกี่ยวข้องกับการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง สามารถแบ่งได้ทั้งหมด 8 ช่วงเหตุการณ์ ดังนี้ (15, 16)

1. ก้อนมะเร็งมีการเพิ่มขนาดมากขึ้นทำให้เกิดสถานะขาดออกซิเจน แล้วเกิดการเหนี่ยวนำการสร้างเส้นเลือด โดยเซลล์มะเร็งสามารถสร้างไซโตไคน์ที่กระตุ้นการอักเสบ (pro-inflammatory cytokines) เช่น ทูเมอร์เนกโรซิสแฟกเตอร์ (tumor necrosis factor; TNF) รวมทั้งไซโตไคน์ที่สามารถกระตุ้นการสร้างเส้นเลือดใหม่ เช่น วาสคูลาร์ เอ็นโดทีเลียล โกรทแฟกเตอร์-เอ (vascular endothelial growth factor-A; VEGF-A) ทำให้เซลล์ผนังหลอดเลือดเกิดการเพิ่มจำนวนและเคลื่อนที่เข้ามาสู่ก้อนมะเร็งตามความเข้มข้นของระดับไซโตไคน์ (chemoattractant gradient) แล้วสร้างเป็นเส้นเลือดใหม่ที่ให้อาหารและออกซิเจนแก่ก้อนมะเร็ง โมเลกุลยึดติดหลายชนิดมีบทบาทในกระบวนการสร้างเส้นเลือด เช่น อินทิกรินชนิดต่างๆ (integrins) ที่มีการแสดงออกในปริมาณที่แตกต่างกันระหว่างภายในและภายนอกของผนังหลอดเลือด ทำให้เซลล์ผนังหลอดเลือดเกิดการเคลื่อนที่เพื่อไปสร้างเส้นเลือดใหม่ โดยเฉพาะอินทิกรินชนิด  $\alpha\beta 3$  ( $\alpha\beta 3$  integrins) ซึ่งเป็นอินทิกรินที่มีการแสดงออกมากในเซลล์ผนังหลอดเลือดช่วงที่มีการซ่อมแซมทั้งในภาวะปกติและในภาวะที่มีพยาธิสภาพ (37) นอกจากนี้ยังพบการแสดงออกในเส้นเลือดที่สร้างขึ้นใหม่ด้วย (15)

2. การเตรียมสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมบริเวณอวัยวะเป้าหมายก่อนการแพร่กระจายเข้าไปของเซลล์มะเร็ง เป็นกระบวนการที่ทำให้บริเวณอวัยวะเป้าหมายมีสถานะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง ในปัจจุบันองค์ประกอบของสิ่งแวดล้อมระดับเซลล์ของอวัยวะเป้าหมายนั้นยังไม่ทราบแน่ชัด ขึ้นกับทั้งชนิดของมะเร็ง โมเลกุลยึดติดและโกรทแฟกเตอร์ (growth factors) แต่

อย่างไรก็ตามเชื่อว่าองค์ประกอบของสิ่งแวดล้อมในอวัยวะเป้าหมายมีความคล้ายคลึงกับสิ่งแวดล้อมของก้อนมะเร็งเริ่มต้น (primary tumor) (15) โดยตัวอย่างโมเลกุลยึดที่มีความเกี่ยวข้องในช่วงนี้คือ อินทีกรินชนิด  $\alpha 4 \beta 1$  ( $\alpha 4 \beta 1$  integrins) ซึ่งจะมีการแสดงออกเพิ่มขึ้นที่บริเวณอวัยวะเป้าหมาย และเป็นตัวช่วยที่สำคัญที่ทำให้เซลล์มะเร็งเดินทางเข้ามายังอวัยวะเป้าหมาย (15)

3. การลดความหนาแน่นของการยึดกันระหว่างเซลล์ทำให้เซลล์เยื่อบุผิวสูญเสียการยึดติด ส่งผลให้เซลล์สามารถเคลื่อนที่ได้มากขึ้น การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวมีความสำคัญมากต่อการลุกลามของเซลล์มะเร็งลงสู่เนื้อเยื่อเกี่ยวพันชั้นล่าง โดยพบว่าโมเลกุลยึดติดชนิดอี-แคดฮีริน (epithelial-cadherins; E-cadherins) ที่มีการแสดงออกที่ลดลงนั้น มีความเกี่ยวข้องอย่างมากในกระบวนการดังกล่าว เนื่องจากในภาวะปกติแคดฮีรินจะไปจับกับเส้นใยแอกติน แล้วเกิดเป็นแอดฮีเร็นซิงก์ชัน (adherens junction) ซึ่งช่วยในการยึดติดระหว่างเซลล์ (38) ดังนั้นเมื่อเซลล์มะเร็งมีการแสดงออกของอี-แคดฮีรินลดลง เซลล์มะเร็งก็จะสามารถแยกหลุดออกจากกันได้ง่ายขึ้น (15)

4. เซลล์มะเร็งเคลื่อนที่แทรกผ่านผนังหลอดเลือดที่อยู่ใกล้เคียง เนื่องจากหลอดเลือดที่ถูกเหนี่ยวนำให้สร้างขึ้นโดยเซลล์มะเร็งจะมีลักษณะโครงสร้างที่ไม่สมบูรณ์ (39) ส่งผลให้เซลล์มะเร็งสามารถลุกลามเข้ามาได้ง่าย นอกจากนี้เซลล์มะเร็งยังมีการแสดงออกของโมเลกุลยึดติดอินทีกรินชนิด  $\alpha v \beta 3$  ซึ่งเมื่อไปจับกับแอล 1 (L1) ที่เป็นไลแกนด์บนเซลล์ผนังหลอดเลือดก็จะช่วยเหนี่ยวนำให้เซลล์มะเร็งสามารถเคลื่อนที่เข้ามาภายในหลอดเลือดได้ดีขึ้น (15, 16) รวมทั้งการที่อินทีกรินชนิด  $\alpha v \beta 3$  สามารถจับกับไวโบรเนคติน (vibronectin) ซึ่งเป็นโปรตีนที่มีการแสดงออกบนผนังหลอดเลือด ส่งผลให้เกิดการแสดงออกของเอนไซม์แมทริกซ์เมทัลโลโปรทีเนส-2 จึงเกิดการย่อยสลายเนื้อเยื่อ ช่วยให้เซลล์มะเร็งเคลื่อนที่ได้สะดวกขึ้น (15, 16)

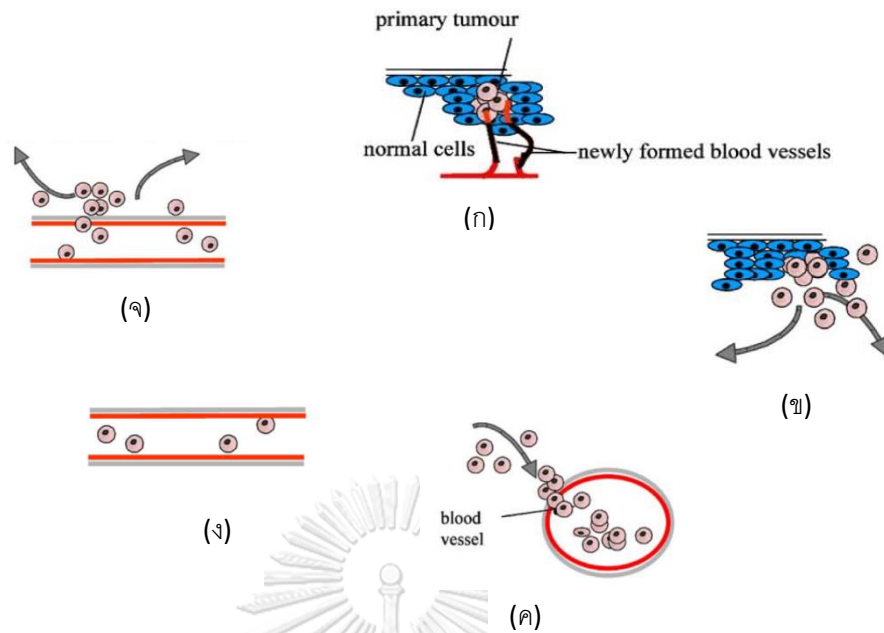
5. หลังจากที่เซลล์มะเร็งแทรกตัวเข้ามาอยู่ภายในหลอดเลือดแล้ว เซลล์มะเร็งจะเคลื่อนที่ไปยังอวัยวะเป้าหมาย โดยการเคลื่อนที่ของเซลล์มะเร็งภายในหลอดเลือดนั้นไม่ได้ขึ้นอยู่กับทิศทางของกระแสเลือด แต่เซลล์มะเร็งจะค่อยเคลื่อนที่ไปตามผนังหลอดเลือดโดยมีโมเลกุลยึดติดอินทีกรินชนิด  $\beta 1$  ( $\beta 1$ -intergrin) เป็นตัวช่วยในการเคลื่อนที่ไปยังอวัยวะเป้าหมาย (40) สำหรับการเดินทางไปยังอวัยวะเป้าหมายของเซลล์มะเร็งนั้นมีหลายทฤษฎี เช่น เชื่อว่าเซลล์มะเร็งจะเคลื่อนที่ไปเรื่อยๆ จนถึงติดอยู่ที่เครือข่ายของเส้นเลือดฝอย (capillary bed) แล้วเกิดพัฒนาต่อไปเป็นมะเร็งที่อวัยวะดังกล่าว (41, 42) แต่ในปัจจุบันเชื่อว่าการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งไปยังอวัยวะเป้าหมายนั้นมีความจำเพาะ โดย Stephen Paget ได้เสนอทฤษฎี “Seed and Soil” ซึ่งกล่าวว่าเซลล์มะเร็งเลือกจะเคลื่อนที่ไปยังอวัยวะที่มีสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต โดยเซลล์มะเร็งแต่ละชนิดก็จะมีลักษณะของสิ่งแวดล้อมที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน ทำให้เกิดการเคลื่อนไปยังอวัยวะเป้าหมายที่มีความจำเพาะกับชนิดของมะเร็งต่างกันด้วย (41, 43)



6. เมื่อเซลล์มะเร็งเดินทางมาถึงอวัยวะเป้าหมาย เซลล์มะเร็งก็จะเกาะติดที่ผนังหลอดเลือด เพื่อเตรียมออกจากหลอดเลือด

7. การเคลื่อนที่ออกจากหลอดเลือดไปยังอวัยวะเป้าหมายของเซลล์มะเร็ง จะมีกลไก เช่นเดียวกับการออกจากหลอดเลือดของเซลล์เม็ดเลือดขาว (15) ซึ่งกระบวนการนี้ใช้การทำงานร่วมกันของโมเลกุลยึดติดหลายชนิด เช่น ซีแอสทิน (selectins) โดยเซลล์มะเร็งจะเพิ่มการแสดงออกของ Sialyl Lewis x และ Sialyl Lewis a ซึ่งเป็นไลแกนด์ที่เมื่อจับกับซีแอสทินที่อยู่บนหลอดเลือดแล้ว ทำให้เซลล์มะเร็งสามารถยึดติดกับผนังหลอดเลือดได้ และยังเป็นโมเลกุลหลักที่เกี่ยวข้องในการควบคุมการเคลื่อนตัวของออกจากหลอดเลือดของเซลล์เม็ดเลือดขาว เกร็ดเลือดอีกด้วย (15, 44) จากนั้น เซลล์มะเร็งหลังพวกวาสคูลาร์ เอ็นโดทีเลียล โกรทแฟกเตอร์-เอ ซึ่งจะเหนี่ยวนำการทำงานของ Src-family kinase ที่อยู่ในเซลล์ผนังหลอดเลือด ทำให้  $\beta$ -catenin หลุดจากบริเวณเชื่อมต่อระหว่างเซลล์ (cell-cell junction) ส่งผลรบกวนการยึดระหว่างเซลล์เยื่อบุผนังหลอดเลือด นอกจากนี้ เซลล์มะเร็งยังทำให้เกิดการแสดงออกของยีน เช่น Twist, VEGF-A และ ITGB1 ซึ่งทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของผนังเส้นเลือด ด้วยกลไกที่กล่าวมาทั้งหมดส่งผลให้เซลล์มะเร็งออกจากหลอดเลือดเพื่อไปยังอวัยวะเป้าหมายนั่นเอง (15, 16)

8. เมื่อเซลล์มะเร็งเข้ามายังอวัยวะเป้าหมายได้แล้วก็จะเกิดการเจริญเติบโตและเข้าสู่วงจรเดิมต่อไป



### ภาพที่ 3

แสดงเหตุการณ์สำคัญที่เกี่ยวข้องกับการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง เริ่มจากกระบวนการที่เซลล์มะเร็งเหนี่ยวนำการสร้างหลอดเลือด (ก) จากนั้นเซลล์มะเร็งจะเริ่มสร้างสิ่งแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและเริ่มมีการลดความแน่นหนาของการยึดกันของระหว่างเซลล์ (ข) แล้วเริ่มลุกลามผ่านเนื้อเยื่อฐานเข้าสู่หลอดเลือด (ค) เพื่อเดินทางไปตามหลอดเลือด (ง) จากนั้นจึงค่อยๆ เคลื่อนที่ออกจากหลอดเลือดเพื่อไปยังอวัยวะเป้าหมาย (จ) (16)

#### ตอนที่ 4 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับซีดี 146

ซีดี 146 ถูกค้นพบในปี ค.ศ. 1987 โดย Lehmann และคณะ (45) ซีดี 146 เป็น transmembrane glycoprotein มีน้ำหนักโมเลกุล 113 กิโลดัลตัน มียีนที่ควบคุมการแสดงออกอยู่บน long arm ของโครโมโซมคู่ที่ 11 ประกอบด้วย 16 exons มีความยาวประมาณ 14 กิโลเบส โดยส่วนที่อยู่นอกเซลล์ของซีดี 146 จะมีโครงสร้างเป็น V-V-C2-C2-C2 ซึ่งเป็นโครงสร้างที่คล้ายกับอิมมูโนโกลบูลิน (immunoglobulin) ประกอบด้วยกรดอะมิโน 43-70 หน่วย โดยซีดี 146 แต่ละหน่วยเชื่อมกันด้วย disulfide crosslink (9, 10, 46) ส่วนโครงสร้างที่อยู่ในไซโตพลาสซึมจะเป็นส่วนที่เกี่ยวข้องกับการส่งสัญญาณเข้าสู่เซลล์ ดังภาพที่ 4 (ก) เนื่องจากส่วนโครงสร้างที่อยู่ในไซโตพลาสซึมจะเป็นตำแหน่งที่จัดจำ protein kinase (9) โดยซีดี 146 จัดเป็นโมเลกุลยึดติดที่อยู่ในกลุ่มของ Ig superfamily ซึ่งเป็นกลุ่มของโมเลกุลยึดติดที่ไม่จำเป็นต้องใช้แคลเซียมในการกระตุ้นการทำงาน (46) โดยซีดี 146 มี 2 isoforms คือ MCAM-l (long form) สามารถพบได้ในสิ่งมีชีวิตทุกชนิดรวมทั้งมนุษย์และ MCAM-s (short form) ที่พบได้เฉพาะในหนู สุนัขและสัตว์ปีก โดยโครงสร้าง 2 ชนิดนี้มีโครงสร้างที่อยู่นอกเซลล์และส่วนที่แทรกระหว่างผนังเซลล์เหมือนกัน แต่แตกต่างกันตรงส่วนโครงสร้างที่อยู่ในไซโตพลาสซึม โดย MCAM-l จะมีตำแหน่งในเกิดฟอสโฟริเลชันของโปรตีนไคเนสซี (protein kinase C phosphorylation) อยู่ 2 ตำแหน่ง แต่ MCAM-s ที่พบในสัตว์ปีกจะมีตำแหน่งในการเกิดฟอสโฟริเลชันของโปรตีนไคเนสซีเพียงตำแหน่งเดียว เป็นต้น (9, 47)

ซีดี 146 สามารถจับกับไลแกนด์ได้ 2 แบบ คือ

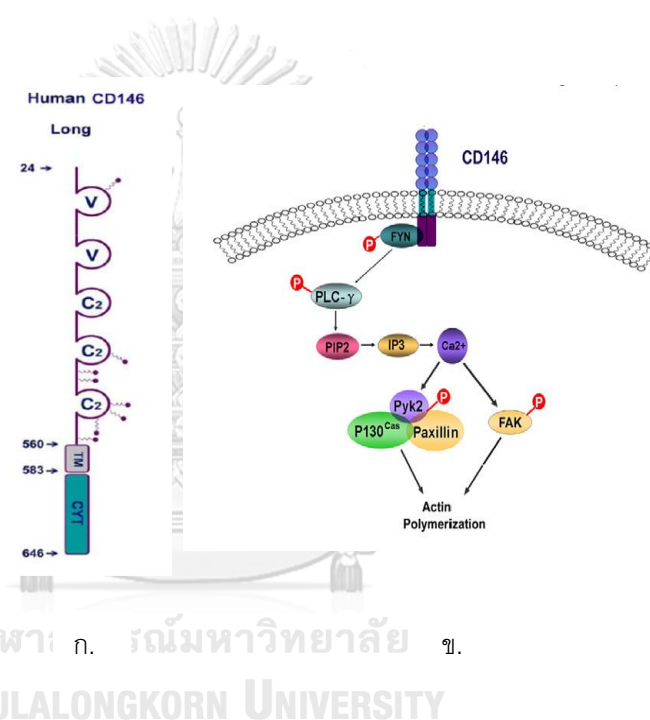
1. แบบโฮโมไทป์ (homotypic ligand-receptor interaction) เป็นการจับกันเองระหว่างโมเลกุลของซีดี 146 เชื่อกันว่ามีความเกี่ยวข้องกับการยึดติดระหว่างเซลล์ เช่น การโตเมอไรเซชันของซีดี 146 (dimerization) (48)

2. แบบเฮเทอโรไทป์ (heterotypic ligand-receptor) เป็นการจับกับไลแกนด์ชนิดอื่นที่ไม่ใช่ซีดี 146 มีการทำงานที่แตกต่างกันออกไป เช่น ลามินินชนิด 411 (laminins-411) (49) กาเลคตินชนิด 1 (Galectin-1) (50) วินท์ 5 (Wnt5) (51)

สำหรับหน้าที่ของซีดี 146 นั้นมีหลากหลาย เช่น มีบทบาทในการยึดติดของเซลล์กับเซลล์อื่นและการยึดติดของเซลล์กับแมทริกซ์นอกเซลล์ มีบทบาทในการกระตุ้นกระบวนการฟอสโฟริเลชันของโปรตีนต่างๆที่อยู่ในไซโตพลาสซึม (46, 48) โดยโครงสร้างที่อยู่ในไซโตพลาสซึมของซีดี 146 เมื่อถูกกระตุ้นจะเกิดการโตเมอไรเซชันและกระตุ้นกระบวนการฟอสโฟริเลชันของโปรตีนไคเนส โดย Fyn ซึ่งเป็นโปรตีนในกลุ่มของ Src-family tyrosine kinase จะส่งผ่าน Pi ลงมากระตุ้นการหลั่ง  $Ca^{2+}$  ภายในเซลล์ให้มีจำนวนเพิ่มขึ้นอย่างมาก ทำให้เกิดการเหนี่ยวนำโปรตีนพวก P130, Pyk2, Paxillin

ให้เข้ามารวมตัวกัน พร้อมทั้งกระตุ้น FAK (focal adhesion kinase) ทำให้เกิดการโพลีเมอไรเซชันของโปรตีนแอกติน (actin) เชื่อมต่อกันเป็นสายโพลีเมอร์เกิดเป็นโครงสร้างของผนังเส้นเลือด (46) โดยกลไกดังกล่าวแสดงในภาพที่ 4 (ข)

ซีดี 146 ยังมีผลต่อการเกิดอันตรกิริยาระหว่างเซลล์ (intercellular interaction) มีผลต่อการควบคุมการเคลื่อนที่ของเซลล์ในช่วงที่มีการฝังตัวของตัวอ่อน (52) และยังเกี่ยวข้องกับวิถีการส่งสัญญาณหลายวิถี (signal transduction pathway) รวมทั้งยังถูกใช้เป็นตัวบ่งชี้ของเซลล์สร้างเส้นเลือด (endothelial progenitor cell) และเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ (mesenchymal stem cell) อีกด้วย (10, 12, 46)



ภาพที่ 4 แสดงโครงสร้างและบทบาทของซีดี 146 ในเซลล์เยื่อบุหลอดเลือด  
(ก) โครงสร้างของซีดี 146 ซึ่งเป็น V-V-C2-C2-C2 ในส่วนนอกเซลล์  
(ข) บทบาทของซีดี 146 ในเซลล์เยื่อบุหลอดเลือด (46)

#### - บริเวณของเนื้อเยื่อปกติที่มีการแสดงออกของซีดี 146

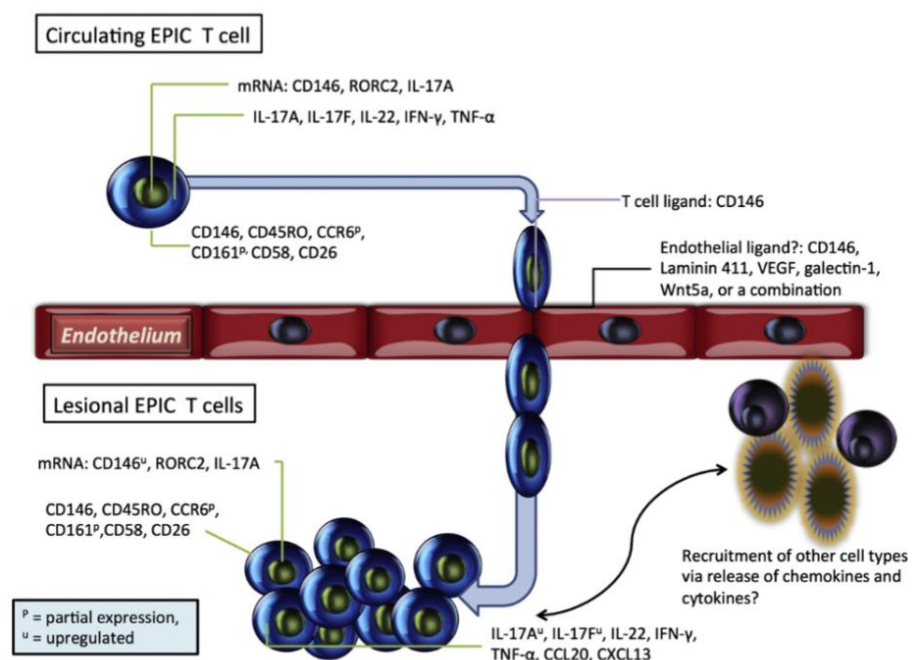
เนื้อเยื่อปกติในมนุษย์ที่พบการแสดงออกของ ซีดี 146 คือ ผนังหลอดเลือด (endothelium) กล้ามเนื้อเรียบ (smooth muscle) ซีรีเบลลัมส่วนนอก (cerebellar cortex) บริเวณที่มีการฝังตัวของโทรโฟพลาสต์ในระยะกลาง (intermediate trophoblast) ปลายกั่มรากผมส่วนนอก (external root sheath of hair follicles) เยื่อบุผิวและไมโออีพิทีเลียมของท่อน้ำนม (mammary ductal, lobular epithelium and myoepithelium) บริเวณ subcapsular epithelium of thymus เซลล์

ประสาท (schwann cells) เซลล์ปมประสาท (ganglion cell) เซลล์ไมโอไฟโบรบลาสต์ (myofibroblast) เซลล์ฟอลลิคูลาร์ เดนไดรติก (follicular dendritic reticulum) เบซิลเซลล์ของเยื่อหลอดลม (basal cell of bronchial epithelium) เซลล์ไฟโบรบลาสต์ไขกระดูก (fibroblast in bone marrow) (10, 53) สำหรับการแสดงออกของซีดี 146 ในผิวหนังปกติ พบว่าจะมีการแสดงออกที่บริเวณเส้นเลือด ต่อมเหงื่อ ต่อมไขมัน ปลายกระดูกส่วนนอกซึ่งอยู่ในชั้นหนังแท้ (dermis) ไม่พบการแสดงออกบนเคอราติโนไซต์ในชั้นหนังกำพร้า (epidermis) (13, 54) แต่อย่างไรก็ตามพบว่ามีการแสดงออกของซีดี 146 บนเคอราติโนไซต์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเซลล์ในรอบหลัง (higher passages) และพบการแสดงออกบนเคอราติโนไซต์เนื้อชั้นเบซิลเซลล์ของผิวหนังปกติที่ปกคลุมก้อนมะเร็ง (54) จากการทบทวนวรรณกรรมของคณะผู้วิจัยยังไม่พบรายงานการศึกษาเกี่ยวกับการแสดงออกของซีดี 146 ในเยื่อเมือกช่องปากปกติ

#### - ตัวอย่างบทบาทและกลไกของซีดี 146 ที่เกี่ยวข้องกับโรคที่มีการอักเสบ (inflammatory disease)

ในปี 2015 Mehta และคณะ (55) ได้ทำการศึกษาบทบาทของทีเซลล์ที่มีการแสดงออกของซีดี 146 ในตัวอย่างเลือดและชิ้นเนื้อจากผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงิน ซึ่งเป็นโรคที่มีความเกี่ยวข้องกับการเกิดการอักเสบของหลอดเลือด (56) ในการศึกษาดังกล่าวพบว่าการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญของซีดี 146<sup>+</sup> ทีเซลล์ในเลือดจากผู้ป่วยและยังพบการแสดงออกของซีดี 146<sup>+</sup> ทีเซลล์ในชิ้นเนื้อที่ได้จากรอยโรคเช่นกัน ดังนั้นจึงอาจเป็นไปได้ที่ ซีดี 146<sup>+</sup> ทีเซลล์จะมีการเคลื่อนที่ออกจากหลอดเลือดมายังบริเวณรอยโรค ซึ่งซีดี 146<sup>+</sup> ทีเซลล์เป็นเซลล์ที่มีความสามารถในการยึดติด (adhesion) การเคลื่อนที่ (migration) รวมถึงมีความเกี่ยวข้องในการก่อปฏิกิริยาการอักเสบและยังสามารถจับกับผนังหลอดเลือดได้ดีอีกด้วย (57) โดยพบว่าซีดี 146<sup>+</sup> ทีเซลล์มีความสามารถในการสร้างอินเตอร์ลิวคิน-17 (55, 58-60) โดยในปีเดียวกัน Dagur และ McCoy (61) ได้ให้คำจำกัดความของ EPIC ทีเซลล์ (Endothelial-binding, ProInflammatory, with Cytokine secretion) ว่าเป็นทีเซลล์ที่มีความสามารถในการจับกับผนังหลอดเลือดและสร้างซัยโตไคน์ เช่น อินเตอร์ลิวคิน-17 ได้มากขึ้น โดยไม่จำเป็นต้องถูกเหนี่ยวนำจากซัยโตไคน์อื่นๆ ดังนั้นจึงอาจมีบทบาทในการก่อโรค นอกจากนี้ EPIC ทีเซลล์ยังมีความสามารถในการออกจากหลอดเลือดเพิ่มขึ้น จึงอาจเป็นเซลล์กลุ่มแรกๆที่เคลื่อนที่มายังบริเวณรอยโรค ภาพที่ 5 แสดงให้เห็นว่าซีดี 146<sup>+</sup> ทีเซลล์ที่อยู่ในหลอดเลือดจะเคลื่อนตัวเข้ามาสู่บริเวณรอยโรค และสร้างซัยโตไคน์ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบเช่น อินเตอร์ลิวคิน-1บีตา อินเตอร์ลิวคิน-6 ทูเมอร์เน็กโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟา รวมทั้งเพิ่มการสร้างอินเตอร์ลิวคิน-17 ด้วย ส่งผลให้ระดับซัยโตไคน์บริเวณรอยโรคเพิ่มขึ้น จึงอาจเหนี่ยวนำให้เกิดการรวมตัวกันของเซลล์ต่างๆให้เข้ามายังบริเวณรอย

โรคมมากขึ้น (61) นอกจากนี้ยังมีรายงานการพบการแสดงออกของซีดี 146 ในน้ำหล่อเลี้ยงข้อในผู้ป่วยโรคข้ออักเสบรูมาตอยด์ (62) และในการศึกษาของ Weninger และคณะในปี ค.ศ. 2000 (13) พบการแสดงออกของซีดี 146 ในเคอราติโนไซต์ของผู้ป่วยที่เป็นโรคผิวหนังอักเสบ เช่น สะเก็ดเงิน และไลเคน แพลนัส ดังที่กล่าวไว้ข้างต้น ตารางที่ 4 แสดงรายงานการพบการแสดงออกของซีดี 146 และบทบาทในการก่อโรคที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ ดังนั้นจึงอาจเป็นไปได้ว่า ซีดี 146 อาจมีบทบาทมีความเกี่ยวข้องกับการเกิดโรค หรืออาจเป็นตัวบ่งชี้ว่าการอักเสบที่บริเวณรอยโรคได้



CHULALONGKORN UNIVERSITY

**ภาพที่ 5** แสดง EPIC ทีเซลล์ โดยทีเซลล์ที่อยู่ในกระแสเลือดจะมีการแสดงออกของซีดี 146 เมื่อได้จับกับไลแกนด์ที่อยู่บนผนังหลอดเลือดทำให้เกิดเคลื่อนที่ออกจากหลอดเลือดเพื่อไปยังบริเวณที่มีการอักเสบ จากนั้นทีเซลล์ที่มีการแสดงออกของซีดี 146 ในบริเวณรอยโรคจะมีการหลั่งไซโตไคน์และก่อการอักเสบที่บริเวณรอยโรคนั้นต่อไป (61)

**ตารางที่ 4** ความสัมพันธ์และบทบาทของซีดี 146 ในโรคที่มีความเกี่ยวข้องกับการอักเสบ (inflammatory disease)

ตัวอย่างโรค	บทบาทในการส่งเสริมการเกิดโรคของซีดี 146
1. โรคสะเก็ดเงิน (Psoriasis)	- ทีเซลล์ที่มีการแสดงออกของซีดี 146 มีความสามารถในการหลั่งไซโตไคน์ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ เช่น อินเตอร์ลิวคิน-17 (interleukin-17; IL-17) ทำให้เกิดการอักเสบที่บริเวณรอยโรค (55)
2. โรคปลอกประสาทเสื่อมแข็ง (Multiple sclerosis)	- ซีดี 146 มีการแสดงออกเพิ่มมากขึ้นในน้ำหล่อเลี้ยงสมองและไขสันหลังของผู้ป่วยโรคปลอกประสาทเสื่อมแข็ง นอกจากนี้ยังพบว่าซีดี 146 ช่วยส่งเสริมการเคลื่อนที่ของเม็ดเลือดขาว (63)
3. โรคปอดอุดกั้นเรื้อรัง (Chronic obstructive pulmonary disease)	- ซีดี 146 มีการแสดงออกเพิ่มมากขึ้นในเซลล์เยื่อหุ้มนอกของเซลล์เยื่อหุ้มนอกของผู้ป่วยโรคปอดอุดกั้นเรื้อรัง (64) นอกจากนี้ยังพบว่าการเพิ่มการแสดงออกของซีดี 146 ในเซลล์เยื่อหุ้มนอกที่ถูกกระตุ้นด้วยสาร Polyl:C และไรโนไวรัสจะทำให้เซลล์เยื่อหุ้มนอกมีการสร้างอินเตอร์ลิวคิน-8 มากขึ้น (65)

**- บทบาทของซีดี 146 ที่เกี่ยวข้องกับโรคมะเร็ง**

จากการทบทวนวรรณกรรมของคณะผู้วิจัยพบว่า มีหลายการศึกษาที่เสนอแนวคิดเกี่ยวกับบทบาทของซีดี 146 ในโรคมะเร็งชนิดต่างๆ แต่เนื่องจากการศึกษาส่วนใหญ่ยังเป็นการศึกษาเบื้องต้น ดังนั้นการศึกษาเพิ่มเติมในอนาคตถึงบทบาทที่แน่นอนของซีดี 146 ต่อโรคมะเร็งชนิดต่างๆจึงมีความจำเป็น แต่อย่างไรก็ตามในหลายการศึกษาแสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ของซีดี 146 ที่อาจมีบทบาททั้งส่งเสริมและยับยั้งการเกิดโรคมะเร็งชนิดต่างๆ โดยตัวอย่างความสัมพันธ์และบทบาทของซีดี 146 กับมะเร็งชนิดต่างๆแสดงดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ตัวอย่างความสัมพันธ์และบทบาทของซีดี 146 กับโรคมะเร็งชนิดต่างๆ

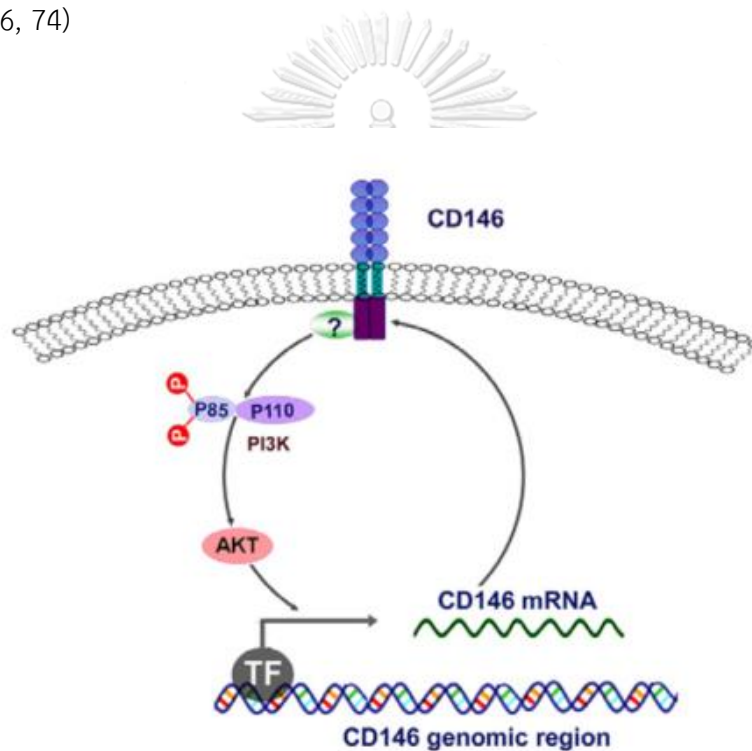
โรคมะเร็ง	ผลการศึกษาและบทบาทของซีดี 146 ต่อโรคมะเร็งชนิดต่างๆ
1. มีวโคอีพิเดอมอยด์ คาร์ซิโนมา (Mucoepidermoid carcinoma)	- ซีดี 146 มีการแสดงออกลดลงในเนื้อเยื่อของมีวโคอีพิเดอมอยด์ คาร์ซิโนมาที่มีการเกิดโรคซ้ำ (local recurrence) และที่มีการแพร่กระจาย (metastasis) (17)
2. เมลาโนมา (Melanoma)	- ซีดี 146 มีการแสดงออกเพิ่มขึ้นในเนื้อเยื่อของเมลาโนมาที่มีการแพร่กระจายไปยังอวัยวะอื่นๆ (distant metastases) (66) - ซีดี 146 ส่งเสริมการเคลื่อนที่ของเซลล์เมลาโนมา (melanoma cell line) ผ่านการกระตุ้นโปรตีน RhoA ซึ่งส่งผลให้เกิดกระบวนการฟอสโฟริเลชันของกลุ่มของโปรตีน Ezrin-radixin-Moesin (67)
3. มะเร็งกระเพาะ อาหาร (Gastric cancer)	- ซีดี 146 มีการแสดงออกเพิ่มขึ้นสัมพันธ์กับการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งกระเพาะอาหารไปยังต่อมน้ำเหลือง (lymph node involvement) และมีการแสดงออกเพิ่มขึ้นในขณะที่ยีน-แคดฮีรีนมีการแสดงออกลดลง (68)
4. มะเร็งเต้านม (Breast cancer)	- ซีดี 146 มีบทบาททั้งส่งเสริมและยับยั้งการเจริญเติบโตของมะเร็งเต้านม - พบว่าเซลล์มะเร็งเต้านมในหนูทดลองที่มีการเหนี่ยวนำการแสดงออกของซีดี 146 มีขนาดก้อนมะเร็งเล็กกว่า และมีการเกาะกลุ่มของเซลล์มะเร็งเต้านมมากกว่าเมื่อเทียบกับกลุ่มหนูทดลองที่ไม่มีการเหนี่ยวนำการแสดงออกของซีดี 146 (69) - พบการแสดงออกของ Mesenchymal marker มากขึ้น แต่พบการแสดงออกลดลงของ Epithelial marker ในเซลล์มะเร็งเต้านมที่มีการแสดงออกของซีดี 146 เพิ่มขึ้น (70) - การแสดงออกของซีดี 146 ในเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านมสัมพันธ์กับมะเร็งเต้านมในระยะท้ายและการพยากรณ์โรคที่ไม่ดี (70)



<p>5. มะเร็งเยื่อบุเซลล์ สความัสหลอด อาหาร (Esophageal squamous cell carcinoma)</p>	<p>- ซีดี 146 มีการแสดงออกเพิ่มขึ้นในเนื้อเยื่อของเซลล์มะเร็งเยื่อบุหลอด อาหารสัมพันธ์กับเซลล์มะเร็งเยื่อบุหลอดอาหารที่มีการแพร่กระจายไปยัง ต่อม้ำเหลืองและมะเร็งเยื่อบุหลอดอาหารในระยะท้าย (71)</p>
<p>6. มะเร็งตับ (Hepatocellular cancer)</p>	<p>- ซีดี 146 มีการแสดงออกเพิ่มขึ้นทั้งในเซลล์และในเนื้อเยื่อของมะเร็งตับ นอกจากนี้ยังพบว่าในเซลล์มะเร็งตับที่มีการเหนี่ยวนำการแสดงออกของ ซีดี 146 จะเพิ่มความสามารถในการเคลื่อนที่ของเซลล์มากขึ้น ในขณะที่ เซลล์มะเร็งตับที่ถูกยับยั้งการแสดงออกของซีดี 146 จะมีความสามารถในการ เคลื่อนที่ลดลง (72)</p>
<p>7. มะเร็งลำไส้ใหญ่ และไส้ตรง (Colorectal cancer)</p>	<p>- การแสดงออกที่ลดลงของซีดี 146 ส่งผลในการเพิ่มความสามารถในการ เป็นเซลล์ต้นกำเนิดของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรง โดยกลไกการเกิด โรคได้แสดงไว้ในหัวข้อถัดไป (73)</p>
<p>8. มะเร็งเยื่อบุผิว เซลล์สความัส ผิวหนัง (Skin squamous cell carcinoma)</p>	<p>- พบทั้งมีและไม่มีการแสดงออกซีดี 146 ในเนื้อเยื่อของมะเร็งเยื่อบุผิวเซลล์ สความัสที่ผิวหนัง (13)</p>

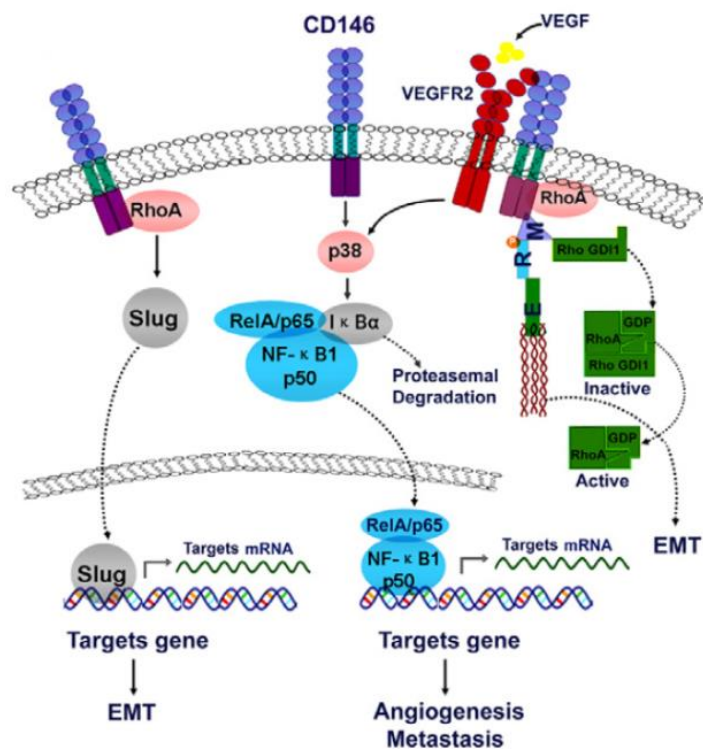
- ตัวอย่างกลไกการส่งเสริมการเกิดมะเร็งในเมลาโนมา (melanoma)

ซีดี 146 มีบทบาทเกี่ยวข้องกับวิถีการส่งสัญญาณ PI3K/AKT ซึ่งการกระตุ้นวิถีนี้จะทำให้เกิดการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งและยับยั้งการตายแบบ apoptosis ส่งผลให้เซลล์มะเร็งรอดตายได้มากขึ้น ในขณะที่เดียวกันการกระตุ้นวิถีการส่งสัญญาณ PI3K/AKT ก็ส่งเสริมให้มีการแสดงออกเพิ่มขึ้นของซีดี 146 ซึ่งลักษณะดังกล่าวเป็นการส่งเสริมการกระตุ้นซึ่งกันและกัน (positive feedback) ดังแสดงในภาพที่ 6 แต่อย่างไรก็ตามยังไม่มีกลไกที่แน่ชัดในการอธิบายการกระตุ้นดังกล่าว (46, 74)



ภาพที่ 6 แสดงการกระตุ้นวิถีการส่งสัญญาณ PI3K/AKT (46)

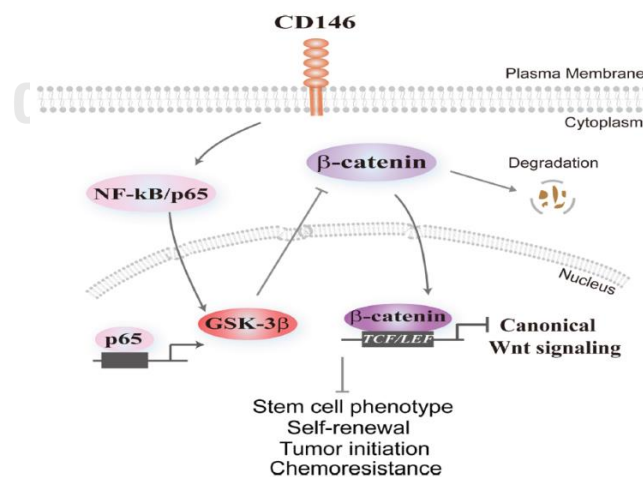
นอกจากซีดี 146 จะมีบทบาทในการเพิ่มจำนวนและส่งเสริมการรอดตายของเซลล์มะเร็งแล้ว ยังเกี่ยวข้องกับการลดความแน่นหนาของการยึดกันระหว่างเซลล์ทำให้เซลล์เหี่ยวย่นสูญเสียการยึดติดระหว่างเซลล์ จึงสามารถขยับเคลื่อนที่ได้มากขึ้น (epithelial-mesenchymal transition; EMT) เนื่องจากการยึดระหว่างเซลล์หลวมมากขึ้น การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวเป็นอีกหนึ่งขั้นตอนสำคัญในการลุกลามของเซลล์มะเร็งลงสู่เนื้อเยื่อเกี่ยวพันด้านล่างดังที่ได้กล่าวไว้ข้างต้น โดยพบว่าการเพิ่มการแสดงออกของซีดี 146 จะส่งเสริมการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวผ่านทาง การเพิ่มการกระตุ้น (up-regulation) transcriptional factor Slug ซึ่งเป็นตัวควบคุมปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเกิด EMT ร่วมกับการที่ซีดี 146 เป็นตัวกระตุ้นผ่านวิธีการส่งสัญญาณ VEGFR/NF- $\kappa$ B และ VEGFR-2 ซึ่งเป็น co-receptor และเมื่อจับกับ VEGF ligand แล้วทำให้เกิดการส่งเสริมการเกิด EMT รวมทั้งส่งเสริมการแพร่กระจายและการสร้างเส้นเลือดมาเลี้ยงเซลล์มะเร็ง ดังแสดงในภาพที่ 7 (46, 74-76)



ภาพที่ 7 แสดงการกระตุ้นวิธีการส่งสัญญาณ VEGFR/NF- $\kappa$ B (46)

- ตัวอย่างกลไกการยับยั้งการเกิดมะเร็งในลำไส้ใหญ่และไส้ตรง (colorectal cancer; CRC)

ในปี ค.ศ. 2015 Liu และคณะ (73) ได้ทำการศึกษาบทบาทของซีดี 146 ในมะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรง โดยทำการแยกเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรง (CRC cell) จากผู้ป่วย จากนั้นทำการยับยั้งการแสดงออกของซีดี 146 ใน CRC cell แล้วนำไปปลูกถ่ายในหนูทดลอง พบว่าหนูทดลองกลุ่มที่ได้รับการปลูกถ่าย CRC cell ที่มีการยับยั้งการแสดงออกของซีดี 146 จะเกิดเป็นมะเร็งได้เร็วกว่ากลุ่มที่ได้รับการปลูกถ่าย CRC cell ที่ไม่มีการยับยั้งการแสดงออกของซีดี 146 อย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ยังตรวจพบยีนที่เกี่ยวข้องกับการเป็นเซลล์ต้นกำเนิด (stem cell) ในหลายวิถี เช่น วิถี Wnt, Notch และ Hedgehog ตรวจพบการแสดงออกในระดับยีนและโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับวิถี Wnt เช่น Axin-2, Msi-1, Cyclin D1 ใน CRC cell ที่มีการยับยั้งการแสดงออกของซีดี 146 ทั้งนี้ยังพบว่าการลดลงของกระบวนการฟอสโฟรีเลชันของ  $\beta$ -catenin ทำให้  $\beta$ -catenin มีระดับเพิ่มมากขึ้นและพบการสะสมในไซโทพลาซึมของ CRC cell ที่มีการยับยั้งการแสดงออกของซีดี 146 ยิ่งไปกว่านั้นทางผู้วิจัยยังได้ตรวจสอบการแสดงออกของโปรตีนตัวอื่นๆที่เกี่ยวข้องกับการวิถีการส่งสัญญาณอีกหลายตัว และได้สรุปว่าซีดี 146 อาจเป็นตัวยับยั้งการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรง ซึ่งกลไกการยับยั้งการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่และไส้ตรงอาจเกี่ยวข้องกับวิถีการส่งสัญญาณ canonical Wnt (ภาพที่ 8) เพราะการยับยั้งการแสดงออกของซีดี 146 ทำให้  $\beta$ -catenin ไม่ถูกย่อยสลายและเข้ากระตุ้นวิถีการส่งสัญญาณดังกล่าว ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลง CRC cell ให้มีลักษณะคล้ายเซลล์ต้นกำเนิด คือ เพิ่มความสามารถในการเกิดการแบ่งตัว ส่งเสริมการเกิดมะเร็ง รวมไปถึงการดื้อยาเคมีบำบัดอีกด้วย (73)



ภาพที่ 8 แสดงการยับยั้งการกระตุ้นวิถีการส่งสัญญาณ canonical Wnt โดยซีดี 146 (73)

### บทที่ 3

#### ระเบียบวิธีวิจัย

#### วิธีดำเนินการวิจัย

##### การออกแบบวิจัย

การวิจัยนี้จะทำการเก็บข้อมูลจากผู้ป่วยในคลินิก ร่วมกับการวิเคราะห์ผลขึ้นเนื้อที่ได้จากผู้ป่วย โดยนำข้อมูลในช่วงเวลาหนึ่งมาวิเคราะห์ผล จึงจัดเป็นงานวิจัยแบบ observational research ประเภท cross-sectional study

##### ประชากรที่ศึกษา

ประชากรตัวอย่างในการศึกษาเป็นกลุ่มผู้ป่วยโรคฟันผุ แพลนัสช่องปาก กลุ่มผู้ป่วยอีพีทีเลียล ดิสเพลเซียช่องปาก และกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งเยื่อเมือกช่องปากที่มารับการรักษาที่คลินิกบัณฑิตศึกษา ภาควิชาเวชศาสตร์ช่องปาก คลินิกศัลยศาสตร์ ภาควิชาศัลยศาสตร์ รวมไปถึงขึ้นเนื้อที่ได้จากผู้ป่วยซึ่งถูกเก็บไว้ที่ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย มีกลุ่มควบคุมเป็นเนื้อเยื่อปกติค่อนข้างได้จากอาสาสมัครที่มาทำการผ่าฟันคุดที่ไม่มีการอักเสบหรือติดเชื้อซึ่งมารับการรักษาที่คลินิกศัลยศาสตร์ คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

##### การคำนวณขนาดของกลุ่มตัวอย่าง

จากการทบทวนวรรณกรรมของคณะผู้วิจัย พบว่ายังไม่มีการศึกษาใดที่ศึกษาการแสดงออกของซีดี 146 ในรอยโรคที่พบในช่องปาก ได้แก่ โรคโรคฟันผุ แพลนัส และอีพีทีเลียล ดิสเพลเซีย ส่วนการศึกษาที่ทำในมะเร็งเยื่อเมือกช่องปากเป็นการศึกษาเพิ่มเติมที่ไม่มีกลุ่มเปรียบเทียบจึงไม่สามารถนำมาใช้เป็นการศึกษาอ้างอิงในการคำนวณขนาดของกลุ่มตัวอย่างได้ สำหรับการศึกษากว่า 100 ปีที่แล้วที่สุดกับการศึกษาในครั้งนี้เป็นการศึกษาของ Li และคณะในปี ค.ศ. 2014 (71) ซึ่งทำการศึกษาการแสดงออกของซีดี 146 ในมะเร็งเยื่อเมือกช่องปากที่หลอดเลือดเปรียบเทียบ กับกลุ่มปกติ อ้างอิงจากการศึกษานี้จะได้ค่า  $p_1 = 0.4603$  และ  $p_2 = 0$  เมื่อกำหนดค่า  $Z$  ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และ type II error กำหนดที่ร้อยละ 10 โดยใช้สูตรคำนวณขนาดตัวอย่างใน

การเปรียบเทียบค่าสัดส่วนของประชากรในแต่ละกลุ่มตัวอย่างที่เป็นอิสระต่อกันซึ่งเหมาะสำหรับงานวิจัยแบบ cross-sectional คือ

$$n_{case} = \left[ \frac{z_{1-\frac{\alpha}{2}} \sqrt{\bar{p}\bar{q}(1+\frac{1}{r})} + z_{1-\beta} \sqrt{p_1 q_1 + \frac{p_2 q_2}{r}}}{\Delta} \right]^2$$

$$p_1 = P(exposure|case), q_1 = 1 - p_1$$

$$p_2 = P(exposure|control), q_2 = 1 - p_2$$

$$\bar{p} = \frac{p_1 + p_2 r}{1+r}, \bar{q} = 1 - \bar{p}, r = \frac{n_{control}}{n_{case}}$$

$$p_1 = \frac{p_2 OR}{1 + p_2 (OR - 1)}$$

โดยให้  $p_1$  = สัดส่วนของผู้ที่มีปัจจัยเสี่ยง (+ ซีดี 146) ในประชากรที่มีโรคมะเร็งเยื่อหุ้มสมอง  
เซลล์สควอมัสที่หลอดอาหาร

$p_2$  = สัดส่วนของผู้ที่มีปัจจัยเสี่ยง (+ ซีดี 146) ในประชากรที่ไม่มีโรค

เมื่อแทนค่าดังกล่าวลงใน *n4studies* จะได้

$$P_1(exposure|case) = 0.460 \quad P_2(exposure|control) = 0.000$$

$$\text{Ratio (case:control)} = 1.00$$

$$\text{Alpha} = 0.05, Z(0.975) = 1.959964$$

$$\text{Beta} = 0.10, Z(0.900) = 1.281552$$

$$\text{Sample size: Cases} = 16, \text{Controls} = 16$$

อ้างอิงการคำนวณจากแอปพลิเคชัน *n4studies* version 1.4.1

เมื่อคำนวณขนาดประชากรตัวอย่างอ้างอิงจากการศึกษาดังกล่าว จะได้จำนวนกลุ่มประชากรตัวอย่างกลุ่มละ 16 คน แต่อย่างไรก็ตามเนื่องจากทางคณะผู้วิจัยไม่พบการศึกษาที่เหมาะสมในการใช้อ้างอิงเพื่อคำนวณขนาดของกลุ่มประชากรตัวอย่าง ประกอบกับขั้นตอนในการตัดสินใจเพื่อส่งตรวจวินิจฉัยทางจุลพยาธิวิทยาเป็นขั้นตอนในการรักษาตามปกติอยู่แล้ว เพียงแค่นำชิ้นเนื้อที่ได้มาทำการศึกษาเพิ่มเติมเท่านั้น ทางคณะผู้วิจัยจึงกำหนดขนาดกลุ่มตัวอย่างที่ใกล้เคียงกับการศึกษาก่อนหน้าดังนี้

1.กลุ่มผู้ป่วยโลเคน แพลนัสช่องปาก	20 ราย
2.กลุ่มผู้ป่วยอีพิทีเลียล ดิสเพลเซียช่องปาก	20 ราย
3.กลุ่มผู้ป่วยมะเร็งเยื่อบุผิวเซลล์สควอมัสช่องปาก	20 ราย
4.กลุ่มควบคุมเนื้อเยื่อปกติจากการผ่าฟันคุดที่ไม่มีการอักเสบในช่องปาก	20 ราย
รวมจำนวนอาสาสมัครเข้าร่วมโครงการทั้งหมด	80 ราย

### ข้อมูลทั่วไปของกลุ่มการศึกษา

ผู้เข้าร่วมในการศึกษานี้มีจำนวนทั้งสิ้น 80 ราย แบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม กลุ่มละ 20 ราย คือ กลุ่มควบคุมซึ่งเป็นอาสาสมัครสุขภาพดี (NOM group) เป็นเพศชาย 4 ราย เพศหญิง 16 ราย มีอายุเฉลี่ย คือ  $24.10 \pm 5.26$  (17-40) ปี กลุ่มผู้ป่วยโลเคน แพลนัสช่องปาก (OLP group) โดยเลือกเฉพาะผู้ป่วยกลุ่มโลเคน แพลนัสชนิดฝ่อลีบจำนวน 10 ราย และชนิดแผลถลอกจำนวน 10 ราย แบ่งเป็นเพศชาย 7 ราย เพศหญิง 13 ราย มีอายุเฉลี่ย คือ  $47.20 \pm 10.85$  (32-72) ปี และมีระยะเวลาเฉลี่ยของการเกิดโรค คือ  $14.12 \pm 26.65$  (0.14-120) เดือน กลุ่มผู้ป่วยอีพิทีเลียล ดิสเพลเซียช่องปาก (OED group) เลือกเฉพาะอีพิทีเลียล ดิสเพลเซียระดับปานกลางจำนวน 13 ราย และระดับรุนแรงจำนวน 7 ราย แบ่งเป็นเพศชาย 11 ราย เพศหญิง 9 ราย มีอายุเฉลี่ย คือ  $56.80 \pm 13.35$  (28-75) ปี และมีระยะเวลาเฉลี่ยของการเกิดโรค คือ  $12.40 \pm 17.21$  (0.25-72) เดือน กลุ่มผู้ป่วยมะเร็งเยื่อบุผิวเซลล์สควอมัสช่องปาก (OSCC group) ประกอบด้วยผู้ป่วยมะเร็งเยื่อบุผิวเซลล์สควอมัสช่องปากระดับที่เซลล์มะเร็งยังมีความคล้ายคลึงกับเซลล์ต้นกำเนิด (well-differentiated) จำนวน 10 ราย และระดับที่เซลล์มะเร็งเริ่มมีลักษณะแตกต่างจากเซลล์ต้นกำเนิด (moderately-differentiated) จำนวน 10 ราย แบ่งเป็นเพศชาย 11 ราย เพศหญิง 9 ราย มีอายุเฉลี่ย คือ  $63.10 \pm 11.88$  (45-87) ปี และมีระยะเวลาเฉลี่ยของการเกิดโรค คือ  $18.40 \pm 52.79$  (1-240) เดือน สำหรับผู้ป่วยในกลุ่มโลเคน แพลนัสช่องปาก อีพิทีเลียล ดิสเพลเซียช่องปาก และมะเร็งเยื่อบุผิวเซลล์สควอมัสช่องปาก สามารถพบตำแหน่งรอยโรคได้หลายตำแหน่งในผู้ป่วยคนเดียวกันหรือเป็นรอยโรคตำแหน่งเดียวแต่มีขนาดใหญ่จนครอบคลุมหลายบริเวณ โดยตำแหน่งที่พบ ได้แก่ กระพุ้งแก้ม (buccal mucosa) รอยต่อระหว่างเหงือกและกระพุ้งแก้ม (mucobuccal fold) เหงือก (gingiva) เพดานปาก (palate) ริมฝีปากล่าง (lower lip) ลิ้น (tongue) พื้นปาก (floor of the mouth) เยื่อเมือกเข้าฟัน (alveolar mucosa) และบริเวณหลังฟันกรามซี่สุดท้าย (retromolar area) ข้อมูลทั่วไปของผู้ป่วยแต่ละกลุ่มได้แสดงไว้ในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 แสดงข้อมูลทั่วไปของแต่ละกลุ่มการศึกษา

รายละเอียดของกลุ่มการศึกษา	NOM	OLP	OED	OSCC
1. เพศ (คน)				
ชาย	4	7	11	11
หญิง	16	13	9	9
2. อายุ (ปี)				
ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบน มาตรฐาน	24.10±5.26 (17-40)	47.20±10.85 (32-72)	56.80±13.35 (28-75)	63.10±11.88 (45-87)
ช่วงอายุ				
3. ระยะเวลาของการเกิดโรค (เดือน)				
ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบน มาตรฐาน	-	14.12±26.65 (0.14-120)	12.40±17.21 (0.25-72)	18.40±52.79 (1-240)
ช่วงระยะเวลา				
4. ชนิดของรอยโรค (Type/ Histopathological grading)	-	Atrophic 10 Ulcerative 10	Moderate 13 Severe 7	Well-diff 10 Mod-diff 10
5. บริเวณที่ตัดชิ้นเนื้อตัวอย่าง				
กระพุ้งแก้ม	-	16	8	1
รอยต่อระหว่างเหงือกและ กระพุ้งแก้ม		2	-	-
เหงือก	-	1	-	5
เพดานปาก	-	1	3	3
ริมฝีปากล่าง	-	-	1	-
ลิ้น	-	-	7	8
พื้นปาก	-	-	-	2
เยื่อเมือกเข้าฟัน	20	-	-	1
บริเวณหลังฟันกรามซี่สุดท้าย	-	-	1	-

หมายเหตุ Well-diff = Well differentiated OSCC, Mod-diff = Moderately differentiated OSCC



## เกณฑ์การคัดเลือกผู้เข้าร่วมโครงการ (Inclusion criteria)

ผู้เข้าร่วมโครงการทุกคนจะต้องมีเชื้อชาติไทยและต้องยินยอมเข้ารับการศึกษาด้วยความสมัครใจ โดยการศึกษาจะมีเกณฑ์ในการคัดเลือกผู้เข้าร่วมโครงการในแต่ละกลุ่มย่อยดังนี้

### - กลุ่มควบคุม

1. อาสาสมัครที่มีฟันคุดและต้องการผ่าฟันคุด โดยที่เนื้อเยื่อหรือเหงือกบริเวณใกล้เคียงฟันคุดต้องไม่มีการอักเสบหรือมีการติดเชื้อ
2. ไม่มีโรคประจำตัว
3. ไม่มีประวัติการใช้ยาใดๆภายใน 3 เดือนที่ผ่านมานับจากวันที่เข้าร่วมการศึกษา

### - กลุ่มไลเคน แพลนัสช่องปาก

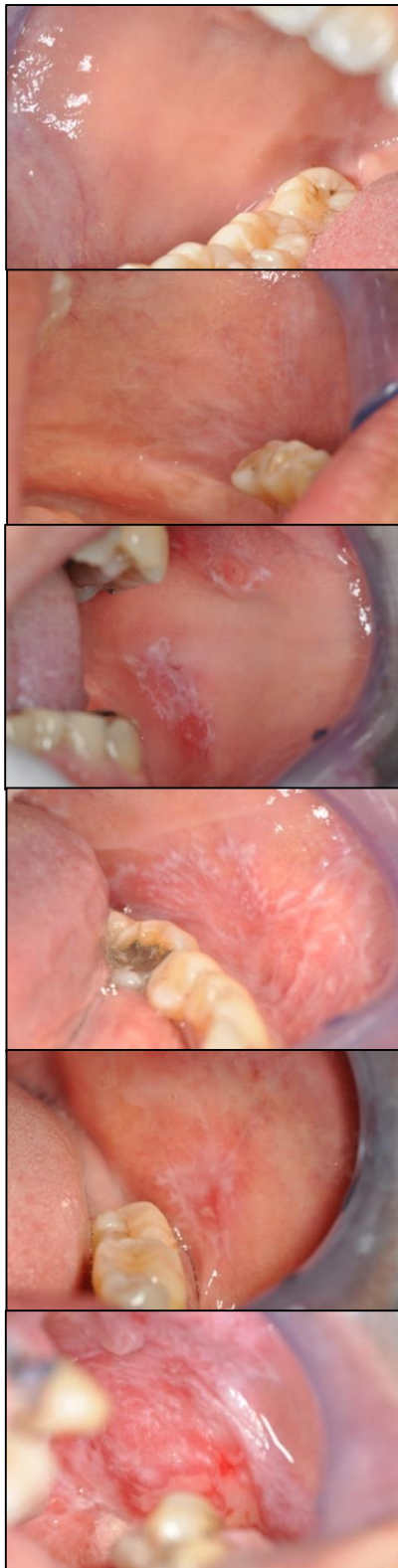
1. ผู้ป่วยไลเคน แพลนัสช่องปากต้องมีรอยโรคทั้งลักษณะทางคลินิกและผลการตรวจลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาที่ให้การวินิจฉัยว่าเป็นไลเคน แพลนัสช่องปากตามเกณฑ์วินิจฉัยที่ดัดแปลงจาก van der Meij และ van der Waal ในปี ค.ศ. 2003 (27)
2. ระดับคะแนนความเจ็บปวดของรอยโรคในช่องปากตาม Visual analogue score มากกว่าหรือเท่ากับ 5 (VAS  $\geq$  5)
3. คะแนนลักษณะทางคลินิกของรอยโรคต้องเป็นไลเคน แพลนัสช่องปากชนิดฝ่อลีบ (atrophic) และ/หรือแผลถลอก (ulcerative/erosive) ตามเกณฑ์ Thongprasom et al. criteria score มากกว่าหรือเท่ากับ 3 (77) ขึ้นไป
4. ผู้ป่วยไลเคน แพลนัสช่องปากอาจมีหรือไม่มีรอยโรคเกิดที่ผิวหนังร่วมด้วยก็ได้
5. ผู้ป่วยไลเคน แพลนัสช่องปากจะต้องไม่ได้รับประทานยาหรือใช้ยาทาเฉพาะที่เพื่อรักษา รอยโรคในช่องปากก่อนเข้าร่วมการศึกษาน้อย 3 เดือน (78)

### - กลุ่มอีพิทีเลียล ดิสเพลเซียช่องปาก

1. ผู้ป่วยต้องได้รับการยืนยันด้วยผลการตรวจชิ้นเนื้อที่มีลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาที่ให้การวินิจฉัยเป็นอีพิทีเลียล ดิสเพลเซียในระดับปานกลางหรือระดับรุนแรง (4)

### - กลุ่มมะเร็งเยื่อบุผิวเซลล์สควอมีสช่องปาก

1. ผู้ป่วยต้องได้รับการยืนยันด้วยผลการตรวจชิ้นเนื้อที่มีลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาที่ให้การวินิจฉัยเป็นมะเร็งเยื่อบุผิวเซลล์สควอมีสช่องปาก (4)

**คะแนน 0**

ลักษณะเนื้อเยื่อผิวปกติ

ไม่มีรอยโรค

**คะแนน 1**

รอยโรคเป็นลายเส้นขาวจางๆ

เช็ดถูไม่ออก ไม่มีรอยแดงหรือแผล

**คะแนน 2**

รอยโรคเป็นลายเส้นสีขาว เช็ดถูไม่ออก

ร่วมกับรอยแดงขนาด < 1 ตร.ซม.

**คะแนน 3**

รอยโรคเป็นลายเส้นสีขาว เช็ดถูไม่ออก

ร่วมกับรอยแดงขนาด > 1 ตร.ซม.

**คะแนน 4**

รอยโรคเป็นลายเส้นสีขาว เช็ดถูไม่ออก

ร่วมกับแผลถลอกแดงขนาด < 1 ตร.ซม.

**คะแนน 5**

รอยโรคเป็นลายเส้นสีขาว เช็ดถูไม่ออก

ร่วมกับแผลถลอกแดงขนาด > 1 ตร.ซม.

ภาพที่ 9 แสดงเกณฑ์การให้คะแนนลักษณะทางคลินิกแบ่งตาม Thongprasom et al. criteria (77)

อนุเคราะห์ภาพโดย ศ.ทญ.กอบกาญจน์ ทองประสม และ ทพญ.ณัฐชาภรณ์ สงวนสิน

### เกณฑ์การคัดผู้ป่วยออกจากโครงการ (Exclusion criteria)

1. ผู้ป่วยที่มีโรคติดต่อ
2. ผู้ป่วยที่ตั้งครรภ์
3. ผู้ป่วยกลุ่มมะเร็งเยื่อหุ้มสมองไขสันหลังช่องปากที่มีประวัติโรคมะเร็งอื่นร่วมด้วย
4. ผู้ป่วยโรคเอดส์ แผลในช่องปากที่มีวัสดุอุดทางทันตกรรม เช่น อะมัลกัม ครอบฟันโลหะ ที่สัมผัสกับรอยโรค

เกณฑ์ในการคัดเลือกผู้ป่วยโรคเอดส์ แผลในช่องปากและเกณฑ์การคัดผู้ป่วยออกจากโครงการ  
ปรับปรุงจากการศึกษาของ Prucktrakul และคณะในปี 2014 (78)



## วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

### วัสดุอุปกรณ์

1. เครื่องมือตรวจฟัน
2. เข็มฉีดยา (dental needle 27 gauge; Terumo, Thailand)
3. ยาชา (2% mepivacaine hydrochloride with 1:100,000 epinephrine, Scandonest, Thailand)
4. อุปกรณ์ตัดชิ้นเนื้อด้วยใบมีดเบอร์ 15 (blade no.15) หรืออุปกรณ์ตัดชิ้นเนื้อชนิดเจาะเบอร์ 4 หรือเบอร์ 6 (tissue punch biopsy no.4, no.6, Stiefel, Diethelm & Co. Ltd)
5. ฝ้ายก๊อช
6. กรรไกรตัดไหม
7. เข็มเย็บแผล No.18 (3/8 circle-cutting edge 18 mm. spring eye; Mani Inc., Japan)
8. เส้นไหมสำหรับเย็บแผล (non-resorbable black silk 3/0, Peasalls limited, England)
9. เครื่องตัดชิ้นเนื้อ (Leica microtome RM2245, Illinois, USA)
10. ตู้อบลมร้อน (Memmert hot air oven ULM 500, Schwabach, Germany )
11. เครื่องย้อมสไลด์อัตโนมัติ (Leica microsystem bond max system, Illinois, USA)
12. อุปกรณ์เบ็ดเตล็ด เช่น ไมโครปิเปต เทปติดฉลาก ฝ้ายก๊อช สไลด์แก้วและกระจกปิดสไลด์ (coverslip) เป็นต้น
13. กล้องจุลทรรศน์ที่ใช้แสงธรรมดา (Olympus U-CMAD3, Tokyo, Japan)
14. กล้องถ่ายรูปดิจิทัล (Canon DS126311, Tokyo, Japan)

## น้ำยาและสารเคมี

### 1. น้ำยาและสารเคมีทั่วไป

- 10% Formalin
- Deionized water
- Hematoxylin
- Glycergel
- Serial alcohol dilution (75% alcohol, 95% alcohol, 100% alcohol)

### 2. น้ำยาและสารเคมีในการตรวจทางอิมมูโนฮิสโตเคมี

- Dewax solution (Bond dewax solution, Newcastle, UK)
- EDTA based-buffer, pH9 (Bond epitope retrieval solution 2, Leica microsystems, Newcastle, UK)
- Bond polymer refine detection (Leica microsystem, Newcastle, UK)
- 3% Hydrogen peroxide
- Post 1<sup>o</sup>IgG linker reagent (Rabbit anti mouse IgG in 10% (v/v) animal serum in tris-buffered saline/0.09% ProClin™ 950)
- Poly-HRP-IgG reagent (Anti-rabbit containing 10% (v/v) animal serum in tris-buffered saline/0.09% ProClin™ 950)
- Wash buffer (Bond wash solution, Leica microsystems, Newcastle, UK)
- Primary antibody (CD146 mouse monoclonal antibody, clone N1238, Novocastra, UK)
- Isotype matched antibody (mouse IgG1-Isotype control ab91353, Abcam, Massachusetts, USA)
- Substrate chromogen 3,3-Diaminobenzidine tetrahydrochloride hydrate (DAB; Leica microsystems, Newcastle, UK)

## วิธีการศึกษา

### การเก็บตัวอย่างชิ้นเนื้อ

ทำการเก็บตัวอย่างชิ้นเนื้อจากอาสาสมัครสุขภาพดี โดยการใช้ใบมีดเบอร์ 15 ส่วนกลุ่มผู้ป่วยที่มีรอยโรคไลเคน แพลนัสช่องปาก อีพิทีเลียล ดิสเพลเซียช่องปาก และมะเร็งเยื่อบุผิวเซลล์สควอมีสช่องปาก จะเก็บตัวอย่างโดยการฉีดยาชาเฉพาะที่ในบริเวณข้างเคียงรอยโรคที่ต้องการเก็บชิ้นเนื้อ จากนั้นใช้ใบมีดเบอร์ 15 หรือใบมีดแบบเจาะเบอร์ 4 หรือเบอร์ 6 ในการตัดชิ้นเนื้อ ห้ามเลือดด้วยผ้าก๊อชหรือโดยการเย็บแผล จากนั้นนำชิ้นเนื้อตัวอย่างแช่ใน 10% Formalin แล้วนำส่งภาควิชาทันตพยาธิวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

### การตรวจด้วยวิธีการทางอิมมูโนฮิสโตเคมี

1. นำชิ้นเนื้อตัวอย่างที่ถูกฝังในแท่นซีฟิ่งมาตัดให้มีขนาดหน้า 5  $\mu\text{m}$  ด้วยเครื่องตัดชิ้นเนื้อ (microtome; Leica microtome RM2245, Illinois, USA) แช่ชิ้นเนื้อในน้ำที่มีอุณหภูมิ 43°C จากนั้นซ้อนชิ้นเนื้อวางบนสไลด์แก้ว ซับแห้งด้วยกระดาษทิชชู
2. นำสไลด์เข้าตู้อบลมร้อน (hot air oven; Memmert hot air oven ULM 500, Schwabach, Germany) ที่อุณหภูมิ 60°C นาน 1 ชั่วโมง เพื่อยึดชิ้นเนื้อเข้ากับสไลด์แก้ว
3. นำสไลด์ที่ยึดชิ้นเนื้อเสร็จแล้วเข้าเครื่องย้อมสไลด์อัตโนมัติ (autoimmunohistochemistry stainer; Leica microsystem bond max system, Illinois, USA) ซึ่งเครื่องย้อมจะทำการย้อมสไลด์ตามขั้นตอนดังนี้
  - 3.1. ทำการสกัดพาราฟินโดยแช่สไลด์ใน dewax solution (Bond dewax solution, Newcastle, UK) และล้างด้วย wash buffer (Bond wash solution, Leica microsystems, Newcastle, UK) ซึ่งเป็น Tris buffer saline อีก 3 ครั้ง
  - 3.2. ทำการเผยแพร่ตำแหน่งการจดจำแอนติเจนบนสายโปรตีนโดยแช่สไลด์ใน bond epitope retrieval solution 2 (Bond epitope retrieval solution 2, Leica microsystems, Newcastle, UK) ซึ่งเป็น EDTA based-buffer, pH9 ที่ 100°C นาน 30 นาที ปล่อยให้เย็นลงที่อุณหภูมิห้องนาน 12 นาที จากนั้นล้างด้วย wash buffer
  - 3.3. ทำการย้อมอิมมูโนฮิสโตเคมีโดยใช้ bond polymer refine detection kit (Bond polymer refine detection, Leica microsystem, Newcastle, UK) ซึ่งชุดน้ำยาประกอบด้วย

- Primary antibody ที่ความเข้มข้น 1:100 (CD146 mouse monoclonal Antibody clone N1238, Novocastra, UK) โดย incubate สไลด์ที่อุณหภูมิห้อง นาน 45 นาที จากนั้นล้างออกด้วย wash buffer 3 ครั้ง
- Peroxidase block (3% hydrogen peroxide) เพื่อเป็นการป้องกันการจับตัวแบบไม่จำเพาะต่อ endogenous peroxidase ที่มีในเนื้อเยื่อ โดยทำการแช่สไลด์ นาน 5 นาที จากนั้นล้างด้วย wash buffer
- Post 1<sup>o</sup>IgG linker reagent (Rabbit anti mouse IgG in 10% (v/v) animal serum in tris-buffered saline/0.09% ProClin™ 950) เพื่อช่วยในการจับกันระหว่าง Primary antibody และ Poly-HRP-IgG reagent โดยทำการ incubate สไลด์นาน 8 นาที และล้างออกด้วย wash buffer 3 ครั้ง
- Poly-HRP-IgG reagent (Anti-rabbit containing 10% (v/v) animal serum in tris-buffered saline/0.09% ProClin™ 950) โดยทำการ incubate สไลด์ นาน 8 นาที และล้างออกด้วย wash buffer 3 ครั้ง จากนั้นล้างด้วยน้ำปราศจากไอออน (deionized water) อีก 1 ครั้ง
- Substrate chromogen 3,3-Diaminobenzidine tetrahydrochloride Hydrate (Leica microsystems, Newcastle, UK) หรือ DAB โดยย้อมสีนาน 4 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำปราศจากไอออน 3 ครั้ง เพื่อให้แสดงสีน้ำตาลตรงตำแหน่งที่ primary antibody ทำปฏิกิริยากับ antigen

3.4. ทำการ counterstain ด้วย hematoxylin นาน 5 นาที ล้างสีออกด้วยน้ำปราศจากไอออน

4. แช่สไลด์ในแอลกอฮอล์ที่มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้นตามลำดับ (75% alcohol, 95% alcohol, 100% alcohol) และแช่ต่อด้วย xylene เพื่อทำการดึงน้ำออกจากเซลล์ โดยแช่สไลด์นาน 2 นาที อย่างเป็น 2 รอบ
5. ปิดสไลด์ด้วยกระจกปิดสไลด์ โดยใช้ glycegel ในการยึดสไลด์เข้ากับกระจกปิดสไลด์

การศึกษานี้ใช้ชิ้นเนื้อเมลาโนมาเป็นกลุ่มควบคุมผลบวก ส่วนกลุ่มควบคุมผลลบใช้ชิ้นเนื้อจากแต่ละกลุ่มตัวอย่างภายใต้ขั้นตอนการย้อมชิ้นเนื้อที่เหมือนกัน ซึ่งกลุ่มควบคุมผลลบจะไม่ใส่ primary antibody แต่จะเติม Isotype matched antibody (mouse IgG<sub>1</sub>-Isotype control ab91353 Abcam, Massachusetts, USA) ที่ความเข้มข้นเท่ากัน คือ 1:100 ลงไปแทน

## การวิเคราะห์ข้อมูล

เกณฑ์การพิจารณาการติดสีของซีดี 146 ปรับปรุงจากการศึกษาของ Safadi และคณะในปี ค.ศ. 2010 (79) โดยในการศึกษานี้จะนำขึ้นเนื่องจากกลุ่มตัวอย่างไปตรวจการแสดงออกของซีดี 146 ด้วยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมี ที่ห้องปฏิบัติการของภาควิชาทันตพยาธิวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย สถาบันพยาธิวิทยา กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข และหน่วยปฏิบัติการวิจัยรอยโรคในช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย สำหรับการประเมินการติดสีของเซลล์ จะทำการเลือกตำแหน่งที่เป็นตัวแทนของทั้งชิ้นเนื้อ (representative area) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่ใช้แสงธรรมดา ทำการถ่ายรูปดิจิทัลบริเวณที่เลือกจากกล้องจุลทรรศน์ โดยบริเวณดังกล่าวต้องสอดคล้องกับผลการวินิจฉัยทางพยาธิวิทยา จากนั้นส่งให้พยาธิแพทย์ช่องปาก ตรวจสอบความถูกต้องของบริเวณที่เลือกมาเป็นตัวแทนของชิ้นเนื้ออีกครั้ง ก่อนเริ่มการประเมินระดับความเข้มของการติดสีและการนับจำนวนของเคอราติโนไซต์

## การประเมินการติดสีของเคอราติโนไซต์

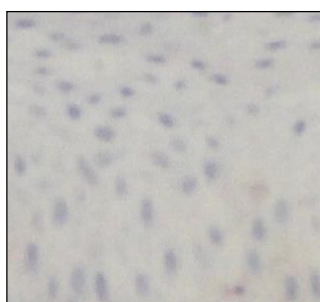
### การประเมินระดับความเข้มของการติดสี

ใช้การประเมินผ่านกล้องจุลทรรศน์ที่ใช้แสงธรรมดา (Olympus U-CMAD3, Tokyo, Japan) ที่กำลังขยาย 40X แบ่งผลการประเมินความเข้มของการติดสีออกเป็น 4 ระดับ คือ ไม่พบการติดสี (ระดับ 0) ติดสีจาง (ระดับ 1) ติดสีปานกลาง (ระดับ 2) และติดสีเข้ม (ระดับ 3) ดังแสดงไว้ในภาพที่ 10 โดยซีดี 146 จะมีการติดสีที่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ และให้ถือว่าระดับความเข้มของการติดสีบริเวณหลอดเลือดในชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันและชั้นเนื้อเมลาโนมา ซึ่งเป็นกลุ่มควบคุมผลบวกให้ผลการติดสีเข้มระดับ 3 สำหรับการประเมินระดับความเข้มของการติดสีจะพิจารณาภาพรวมของทั้งชิ้นเนื้อ โดยแบ่งเซลล์ทั้งหมดออกเป็น 100 ส่วนและพิจารณาระดับความเข้มของการติดสีดังนี้

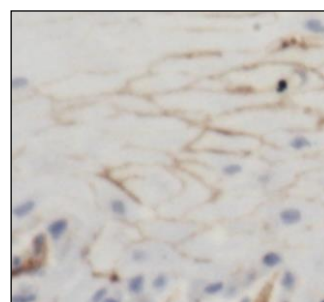
1. หากพบเซลล์ที่มีการติดสีให้ถือว่าชิ้นเนื้อดังกล่าวมีการติดสี และให้ผลระดับความเข้มของการติดสีตามระดับความเข้มของเซลล์ที่มีการติดสี เช่น มีเคอราติโนไซต์ 90 ส่วนไม่ติดสี แต่มี 10 ส่วนที่ติดสีระดับ 1 ชิ้นเนื้อดังกล่าวจะให้ผลเป็นการติดสีระดับ 1 (ติดสีจาง)
2. ให้ผลตามระดับความเข้มของการติดสีตามระดับความเข้มของเซลล์ที่มีจำนวนการติดสีมากที่สุด เช่น มีเคอราติโนไซต์ 25 ส่วนไม่ติดสี มี 50 ส่วนติดสีระดับ 1 และ 25 ส่วนติดสีระดับ 2 ชิ้นเนื้อดังกล่าวจะให้ผลการติดสีระดับ 1 (ติดสีจาง)



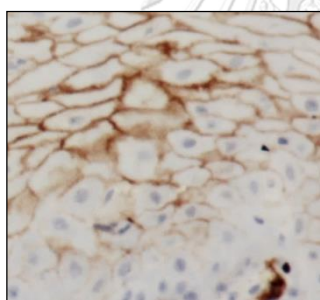
3. ในกรณีที่มีจำนวนเซลล์ที่มีการติดสีในระดับความเข้มที่แตกต่างกันเป็นจำนวนเท่าๆกัน จะให้ผลระดับความเข้มของการติดสีตามระดับความเข้มของเซลล์ที่มีการติดสีในระดับที่เข้มกว่า เช่น มีเคอราตินไซต์ 50 ส่วนไม่ติดสี มี 25 ส่วนติดสีระดับ 1 และ 25 ส่วนติดสีระดับ 2 ขึ้นเนื่อดังกล่าวจะให้ผลการติดสีระดับ 2 (ติดสีปานกลาง)



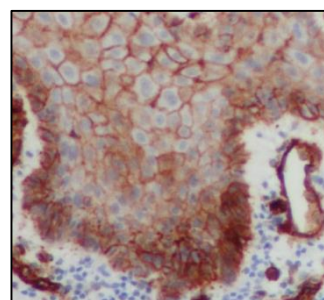
ระดับ 0 ไม่พบการติดสี



ระดับ 1 ติดสีจาง



ระดับ 2 ติดสีปานกลาง



ระดับ 3 ติดสีเข้ม

ภาพที่ 10 แสดงระดับคะแนนเกณฑ์การติดสีที่ใช้ในการศึกษา  
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
 CHULALONGKORN UNIVERSITY

ภาพที่ 10 แสดงระดับคะแนนเกณฑ์การติดสีที่ใช้ในการศึกษา

### การนับจำนวนเซลล์

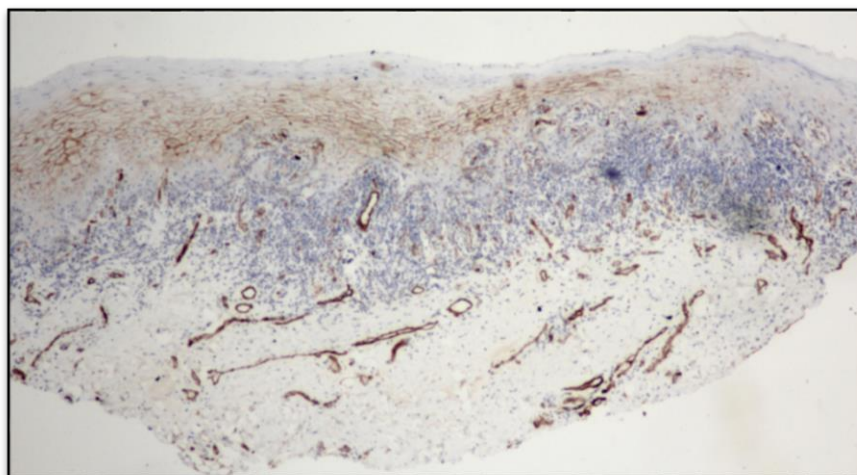
พิจารณาเลือกบริเวณที่เป็นตัวแทนของชิ้นเนื้อจาก 3 บริเวณที่แตกต่างกันภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่ใช้แสงธรรมดา (Olympus U-CMAD3, Tokyo, Japan) ที่กำลังขยาย 100X จากนั้นถ่ายภาพจากกล้องจุลทรรศน์ด้วยกล้องถ่ายภาพดิจิทัล (Canon DS126311, Tokyo, Japan) และทำการนับจำนวนเซลล์ด้วยโปรแกรม Adobe Photoshop โดยแบ่งรูปภาพออกเป็น 8 ส่วนเท่าๆกัน และนับจำนวนเคอราติโนไซต์ที่ให้ผลบวกและเคอราติโนไซต์ทั้งหมดทีละส่วน เมื่อครบทั้ง 8 ส่วนจึงนำจำนวนเซลล์มารวมกัน คิดเป็นร้อยละของเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อเซลล์ทั้งหมดของบริเวณนั้น จากนั้นคำนวณค่าเฉลี่ยรวมร้อยละของเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อเซลล์ทั้งหมดจากทั้ง 3 บริเวณที่เลือก จะได้เป็นจำนวนร้อยละของเซลล์ที่ติดสีที่ใช้เป็นตัวแทนในแต่ละชิ้นเนื้อ โดยผู้ประเมินจะทำการตรวจสอบความเที่ยง โดยสุ่มนับซ้ำ 1 บริเวณต่อทุกการนับ 5 บริเวณ ใช้การจับลูกปิงปองซึ่งเป็นการสุ่มแบบมีความน่าจะเป็นเท่ากัน และหลังจากทำการนับเซลล์เสร็จแล้วจะมีการสุ่มตรวจความถูกต้องของการนับเซลล์โดยพยาธิช่องปาก

*หมายเหตุ* เซลล์ที่มีการติดสีทุกเซลล์ไม่ว่าระดับความเข้มใดก็ตามจะถือว่าให้ผลบวก เนื่องจากอาจเกิดความคลาดเคลื่อนของขั้นตอนในห้องปฏิบัติการ แต่อย่างไรก็ตามทางคณะผู้วิจัยใช้เครื่องย้อมสไลด์อัตโนมัติเพื่อลดความคลาดเคลื่อนดังกล่าวและเพื่อให้เงื่อนไขของการย้อมในแต่ละครั้งเหมือนกัน

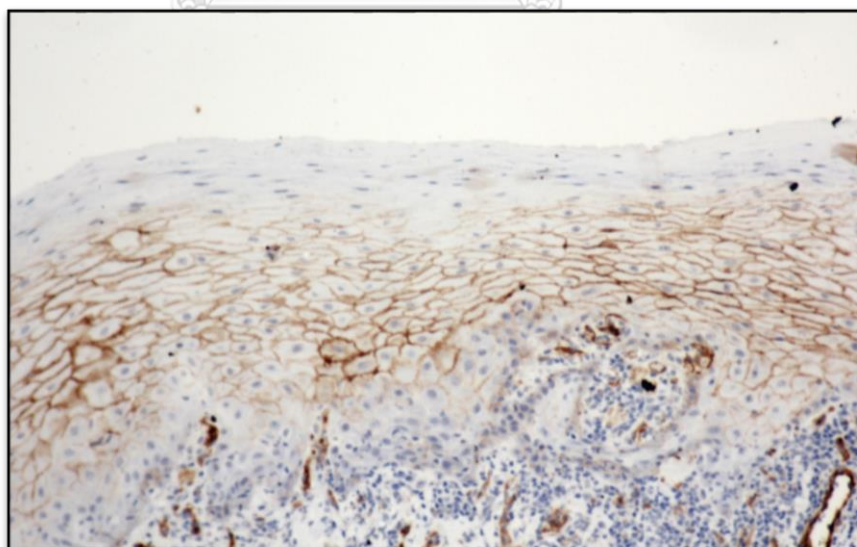
สรุปลำดับขั้นตอนการพิจารณาความเข้มและการนับเคอราติโนไซต์ที่มีการแสดงออกของซีดี 146



ที่กำลังขยาย 40X ใช้พิจารณาภาพรวมของการติดสีของชิ้นเนื้อ

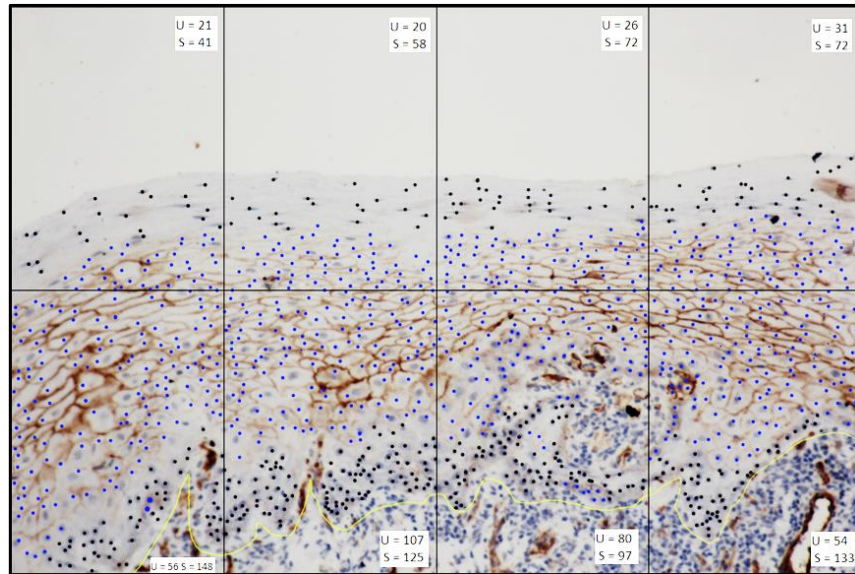


ที่กำลังขยาย 100X ใช้พิจารณาเลือกตำแหน่งที่เป็นตัวแทน  
ของชิ้นเนื้อมา 3 ตำแหน่ง จากนั้นถ่ายรูป

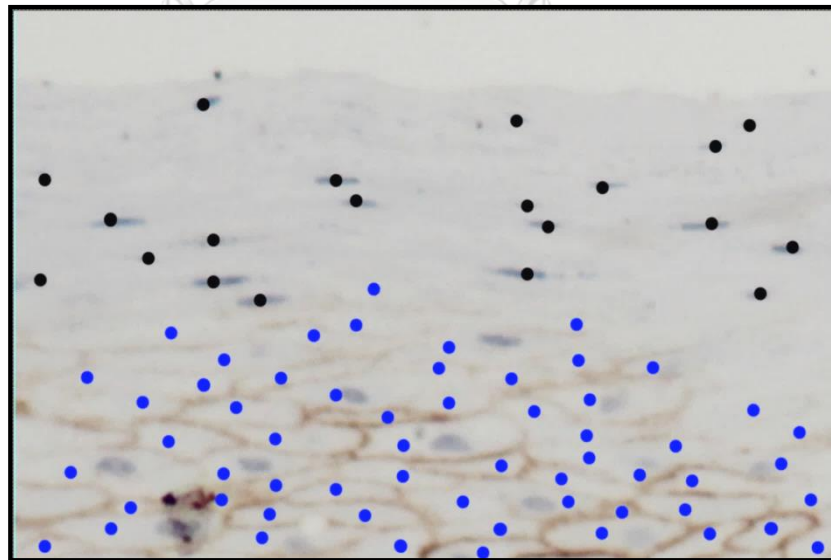




นับจำนวนเคอราติโนไซต์ด้วยโปรแกรม Adobe photoshop  
โดยตีเส้นแบ่งรูปออกเป็น 8 ส่วน



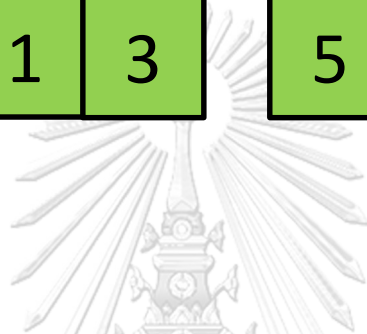
นับจำนวนเซลล์ที่ติดสีทุกระดับความเข้ม





ทำการสุ่มนับเซลล์ซ้ำ โดยใช้การจับลูกบิงโปงเพื่อเลือก  
ตำแหน่งนับเซลล์ซ้ำทุก 5 บริเวณ ต่อ 1 ครั้ง

1	3	5	2	4	1	3	5
2	4	1	3	5	2	4	1



ใน 1 ช่องจะนับจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของซีดี 146 ต่อ  
จำนวนเซลล์ทั้งหมด จากนั้นนำผลการนับจำนวนมารวมกันทั้ง 8  
ส่วนแล้วคิดเป็นร้อยละ ซึ่งเป็นตัวแทนของ 1 ตำแหน่ง จาก 3  
ตำแหน่งที่เลือกใน 1 สไลด์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
CHULALONGKORN UNIVERSITY



ทำเช่นเดียวกันทั้ง 3 ตำแหน่งที่เลือกไว้ข้างต้น จากนั้นนำค่าร้อยละจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของ  
ซีดี 146 ต่อจำนวนเซลล์ทั้งหมดมาหาค่าเฉลี่ย จะได้ร้อยละจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของซีดี 146  
ต่อจำนวนเซลล์ทั้งหมดที่เป็นตัวแทนของชิ้นเนื้อนั้นๆ หลังจากทำการนับจำนวนเซลล์ด้วยโปรแกรม  
Adobe Photoshop ผลการตรวจนับทั้งหมดจะถูกสุ่มตรวจโดยพยาธิแพทย์ช่องปาก

ภาพที่ 11 แสดงลำดับขั้นตอนการนับจำนวนเคอราติโนไซต์ด้วยโปรแกรม Adobe Photoshop

### สถิติที่ใช้ในการวิจัย

- ใช้โปรแกรม SPSS 17.0 (IBM Corporation, NY) โดยคำนวณจากสถิติ One-way ANOVA เพื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละของจำนวนเคอราติโนไซต์ที่มีการแสดงออกของซีดี 146 ในชั้นเนื้อจากกลุ่มควบคุมซึ่งเป็นอาสาสมัครสุขภาพดี กลุ่มผู้ป่วยกลุ่มไลเคน แพลนัสช่องปาก กลุ่มผู้ป่วยอีพิทีเลียล ดิสเพลเซียช่องปาก และกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งเยื่อเมือกเซลล์สควอมัสช่องปาก และใช้ Chi-square test ในการเปรียบเทียบสัดส่วนระดับความเข้มในการติดสีของเคอราติโนไซต์ระหว่างกลุ่มการศึกษาดังกล่าว โดยกำหนดระดับความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95 ( $p\text{-value} < 0.05$ )
- ใช้โปรแกรม SPSS 17.0 (IBM Corporation, NY) เพื่อประเมินความเชื่อมั่นของการศึกษา โดยการคำนวณค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ภายในชั้น (intraclass correlation coefficient; ICC) ที่ได้จากการเปรียบเทียบจำนวนเคอราติโนไซต์ที่มีการแสดงออกของซีดี 146 จากการนับในรอบแรกเทียบกับรอบที่มีการสุ่มนับซ้ำในทุกกลุ่มการศึกษา



## บทที่ 4 ผลการศึกษา

**การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละของจำนวนเคอราติโนไซต์ที่มีการแสดงออกของซีดี 146  
ในชั้นเนื้อจากกลุ่มควบคุม กลุ่มไลเคน แพลนัสช่องปาก กลุ่มอีพิทีเลียล ดิสเพลเซียช่องปาก และ  
กลุ่มมะเร็งเยื่อบุผิวเซลล์สควอมัสช่องปาก**

พบว่าค่าเฉลี่ยร้อยละของจำนวนเคอราติโนไซต์ที่มีการแสดงออกของซีดี 146 ในชั้นเนื้อจากกลุ่มควบคุมเท่ากับ  $19.04 \pm 15.32$  (0-45.34) ค่าเฉลี่ยร้อยละของจำนวนเคอราติโนไซต์ที่มีการแสดงออกของซีดี 146 ในชั้นเนื้อจากกลุ่มผู้ป่วยไลเคน แพลนัสเท่ากับ  $59.40 \pm 24.48$  (15.23-94.25) โดยไลเคน แพลนัสชนิดฝ่อลีบมีระดับการแสดงออกอยู่ที่  $52.94 \pm 22.83$  (25.86-89.50) และไลเคน แพลนัสชนิดแผลถลอกมีระดับการแสดงออกอยู่ที่  $65.86 \pm 25.52$  (15.23-94.25) ค่าเฉลี่ยร้อยละของจำนวนเคอราติโนไซต์ที่มีการแสดงออกของซีดี 146 ในชั้นเนื้อจากกลุ่มอีพิทีเลียล ดิสเพลเซียช่องปากเท่ากับ  $60.04 \pm 28.87$  (5.88-98.67) โดยในอีพิทีเลียล ดิสเพลเซียระดับปานกลางมีระดับการแสดงออกอยู่ที่  $68.96 \pm 25.53$  (18.26-98.67) และอีพิทีเลียล ดิสเพลเซียระดับรุนแรงมีระดับการแสดงออกอยู่ที่  $43.47 \pm 29.05$  (5.88-87.08) ค่าเฉลี่ยร้อยละของจำนวนเคอราติโนไซต์ที่มีการแสดงออกของซีดี 146 ในชั้นเนื้อจากกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งเยื่อบุผิวเซลล์สควอมัสช่องปากเท่ากับ  $22.13 \pm 21.03$  (0-69.40) โดยมะเร็งเยื่อบุผิวเซลล์สควอมัสระดับที่เซลล์มะเร็งยังมีความคล้ายคลึงกับเซลล์ต้นกำเนิด (well-differentiated) มีการแสดงออกอยู่ที่  $24.90 \pm 23.74$  (0-69.40) มะเร็งเยื่อบุผิวเซลล์สควอมัสระดับที่เซลล์มะเร็งเริ่มมีลักษณะแตกต่างจากเซลล์ต้นกำเนิด (moderately-differentiated) มีการแสดงออกอยู่ที่  $19.36 \pm 18.79$  (0-53.66) จากการทดสอบการกระจายตัวค่าเฉลี่ยร้อยละของจำนวนเคอราติโนไซต์ที่มีการแสดงออกของซีดี 146 ในชั้นเนื้อของกลุ่มการศึกษาต่างๆ พบว่ามีการแจกแจงข้อมูลเป็นปกติ จึงพิจารณาใช้สถิติ One-way ANOVA และ Independent T ทดสอบความแตกต่างของการแสดงออกของซีดี 146 ในชั้นเนื้อระหว่างกลุ่มการศึกษา โดยพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่าเฉลี่ยร้อยละของจำนวนเคอราติโนไซต์ที่มีการแสดงออกของซีดี 146 ในชั้นเนื้อระหว่างกลุ่มควบคุมกับกลุ่มผู้ป่วยไลเคน แพลนัสช่องปาก ( $P < 0.001$ ) กลุ่มควบคุมกับกลุ่มผู้ป่วยอีพิทีเลียล ดิสเพลเซียช่องปาก ( $P < 0.001$ ) กลุ่มผู้ป่วยไลเคน แพลนัสช่องปากกับกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งเยื่อบุผิวเซลล์สควอมัสช่องปาก ( $P < 0.001$ ) และกลุ่มผู้ป่วยอีพิทีเลียล ดิสเพลเซียช่องปากกับกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งเยื่อบุผิวเซลล์สควอมัสช่องปาก ( $P < 0.001$ ) แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่าเฉลี่ยร้อยละของจำนวนเคอราติโนไซต์ที่มีการแสดงออกของซีดี 146 ในชั้นเนื้อ

เนื้อระหว่างกลุ่มควบคุมกับกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งเยื่อหุ้มเซลล์สควอมัสช่องปาก กลุ่มผู้ป่วยไลเคน แพลนัส ช่องปากกับกลุ่มผู้ป่วยอีพิทีเลียล ดิสเพลเซียช่องปาก กลุ่มย่อยอีพิทีเลียล ดิสเพลเซียระดับปานกลาง และระดับรุนแรง กลุ่มย่อยมะเร็งเยื่อหุ้มเซลล์สควอมัสระดับ well-differentiated และระดับ moderately-differentiated โดยข้อมูลได้แสดงไว้ในตารางที่ 7





**ตารางที่ 7** แสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละของจำนวนเคอราติโนไซต์ที่มีการแสดงออกของซีดี 146 ในชั้นเนื้อเยื่อระหว่างกลุ่มที่ทำการศึกษา

กลุ่มการศึกษา		P-value	ค่าเฉลี่ยร้อยละของจำนวนเคอราติโนไซต์ที่มีการแสดงออกของซีดี 146 ในชั้นเนื้อเยื่อช่องปาก (range)
NOM			19.04±15.32 (0-45.34)
	OLP	< 0.001	
	OED	< 0.001	
	OSCC	0.996	
OLP			59.40±24.48 (15.23-94.25)
			Atrophic OLP 52.94±22.83 (25.86-89.50)
			Erosive OLP 65.86±25.52 (15.23-94.25)
	OED	1.000	
	OSCC	< 0.001	
OED			60.04±28.87 (5.88-98.67)
		0.057	Moderate OED 68.96±25.53 (18.26-98.67)
			Severe OED 43.47±29.05 (5.88-87.08)
	OSCC	< 0.001	
OSCC			22.13±21.03 (0-69.40)
		0.570	Well-differentiated 24.90±23.74 (0-69.40)
			Mod-differentiated 19.36±18.79 (0-53.66)

**การเปรียบเทียบสัดส่วนความเข้มในการติดสีของเคอราตินโซติโนชั้นเนื้อของกลุ่มควบคุม  
กลุ่มไลเคน แพลนัสช่องปาก กลุ่มอีพิทีเลียล ดิสเพลเซียช่องปาก และกลุ่มมะเร็งเยื่อบุผิวเซลล์  
สควอมัสช่องปาก**

เมื่อเปรียบเทียบสัดส่วนระดับความเข้มในการติดสีของเคอราตินโซติโนในแต่ละกลุ่มการศึกษา โดยใช้สถิติ Chi-square พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของสัดส่วนระดับความเข้มในการติดสีของเคอราตินโซติโนชั้นเนื้อระหว่างกลุ่มควบคุมกับกลุ่มผู้ป่วยไลเคน แพลนัสช่องปาก ( $P < 0.05$ ) กลุ่มควบคุมกับกลุ่มผู้ป่วยอีพิทีเลียล ดิสเพลเซียช่องปาก ( $P < 0.05$ ) กลุ่มผู้ป่วยไลเคน แพลนัสช่องปากกับกลุ่มผู้ป่วยอีพิทีเลียล ดิสเพลเซียช่องปาก ( $P < 0.05$ ) กลุ่มผู้ป่วยไลเคน แพลนัสช่องปากกับกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งเยื่อบุผิวเซลล์สควอมัสช่องปาก ( $P < 0.05$ ) กลุ่มผู้ป่วยอีพิทีเลียล ดิสเพลเซียช่องปากกับกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งเยื่อบุผิวเซลล์สควอมัสช่องปาก ( $P < 0.05$ ) แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของสัดส่วนระดับความเข้มในการติดสีระหว่างกลุ่มควบคุมกับกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งเยื่อบุผิวเซลล์สควอมัส ข้อมูลได้แสดงไว้ในตารางที่ 8



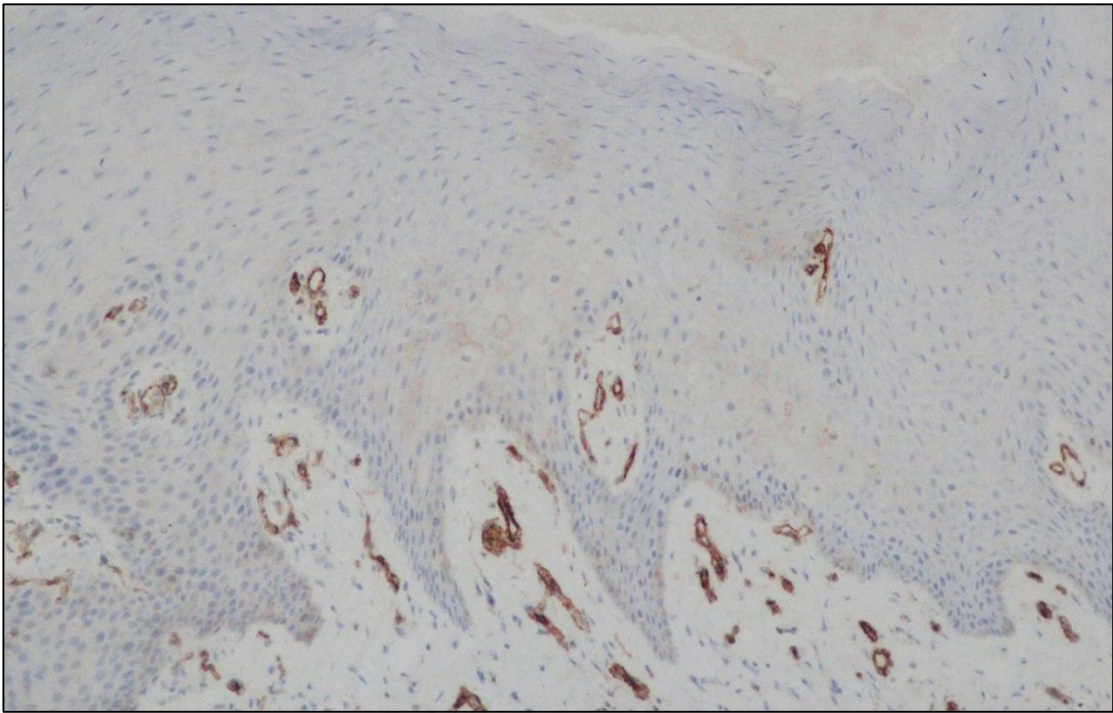
**ตารางที่ 8** แสดงการเปรียบเทียบระดับความเข้มและสัดส่วนในการติดสีของเคอราติโนไซต์ใน  
ชั้นเนื้อระหว่างกลุ่มที่ทำการศึกษา

กลุ่มการศึกษา		P-value	ระดับความเข้มของการติดสี (%)			
			ไม่ติดสี	จาง	ปานกลาง	เข้ม
NOM	OLP	0.025	2 (10%)	10 (50%)	8 (40%)	0
	OED	0.001				
	OSCC	0.332				
OLP Atrophic Erosive			0	4 (20%)	12 (60%)	4 (20%)
			0	2	6	2
			0	2	6	2
	OED	0.025				
	OSCC	0.024				
OED Moderate Severe			0	5 (25%)	4 (20%)	11 (55%)
			0	2	3	8
			0	3	1	3
	OSCC	0.009				
OSCC Well-diff Mod-diff			4 (20%)	9 (45%)	5 (25%)	2 (10%)
			2	4	2	2
			2	5	3	0

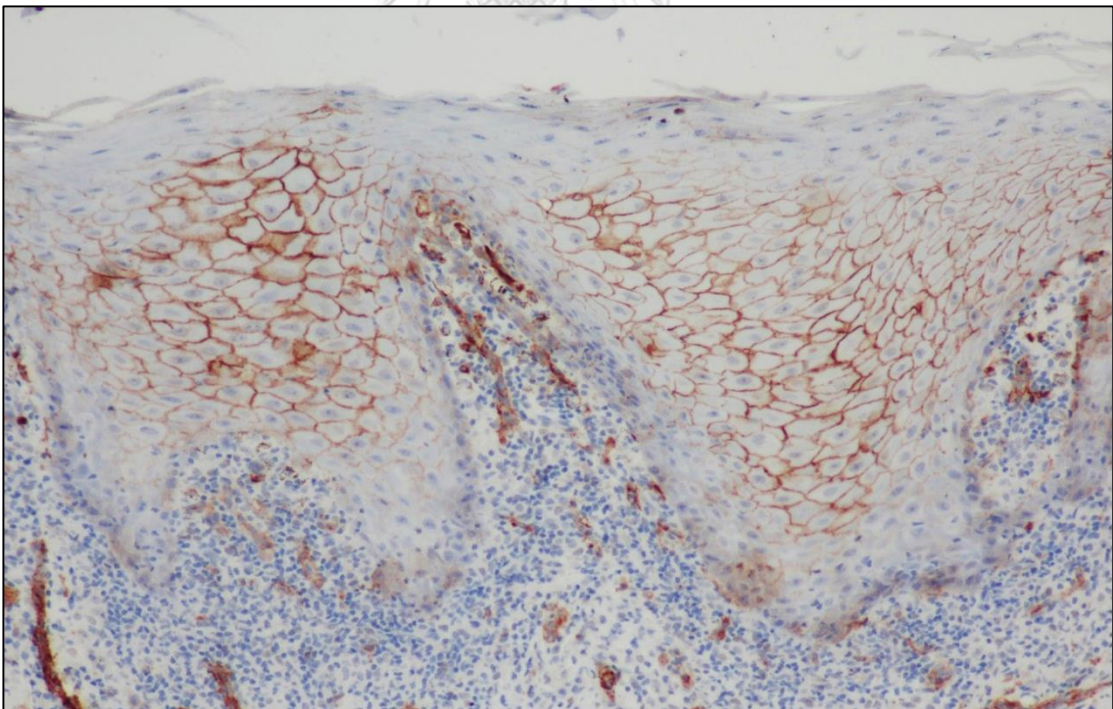
หมายเหตุ Well-diff = Well differentiated OSCC, Mod-diff = Moderately differentiated OSCC

สำหรับตำแหน่งที่มีการแสดงออกของซีดี 146 ในเคอราติโนไซต์ของชั้นเนื้อที่ได้จากกลุ่มควบคุม แสดงในภาพที่ 12 โดยพบการแสดงออกบริเวณชั้นเบซัลเซลล์จนถึงชั้นสไปนัสเซลล์ (basal-to-spinous cell layer) เคอราติโนไซต์ส่วนใหญ่ติดสีจาง (ร้อยละ 50) และมีค่าเฉลี่ยร้อยละของจำนวนเคอราติโนไซต์ที่มีการแสดงออกของซีดี 146 เท่ากับ  $19.04 \pm 15.32$  (0-45.34) พบขึ้นเนื่องจากอาสาสมัครปกติ 2 ราย (ร้อยละ 10) ที่ไม่มีการแสดงออกของซีดี 146 การแสดงออกของซีดี 146 ในเคอราติโนไซต์ของชั้นเนื้อที่ได้จากกลุ่มผู้ป่วยโรคเริม แผลนัสช่องปาก แสดงในภาพที่ 13 โดยพบการแสดงออกส่วนใหญ่อยู่เหนือชั้นเบซัลเซลล์จนถึงชั้นสไปนัสเซลล์ (suprabasal-to-spinous cell layer) เคอราติโนไซต์ส่วนใหญ่ติดสีระดับปานกลาง (ร้อยละ 60) ค่าเฉลี่ยร้อยละของจำนวนเคอราติโนไซต์ที่มีการแสดงออกของซีดี 146 คือ  $59.40 \pm 24.48$  (15.23-94.25) ส่วนเบซัลเคอราติโนไซต์ที่ถูกทำลายจะพบการติดสีจางหรือไม่พบการติดสี การแสดงออกของซีดี 146 ในเคอราติโนไซต์ของชั้นเนื้อที่ได้จากกลุ่มผู้ป่วยอีพีทีเลียล ดิสเพลเซียช่องปาก แสดงในภาพที่ 14 มีการแสดงออกตั้งแต่ชั้นเบซัลเซลล์จนถึงชั้นแกรนูลาร์เซลล์ (basal-to-granular cell layer) เคอราติโนไซต์ส่วนใหญ่ติดสีระดับเข้ม (ร้อยละ 55) ค่าเฉลี่ยร้อยละของจำนวนเคอราติโนไซต์ที่มีการแสดงออกของซีดี 146 คือ  $60.04 \pm 28.87$  (5.88-98.67) การแสดงออกของซีดี 146 ในเคอราติโนไซต์ของชั้นเนื้อที่ได้จากกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งเยื่อบุผิวเซลล์สควมัสช่องปาก เคอราติโนไซต์ส่วนใหญ่ติดสีจาง (ร้อยละ 45) มีค่าเฉลี่ยร้อยละของจำนวนเคอราติโนไซต์ที่มีการแสดงออกของซีดี 146 คือ  $22.13 \pm 21.03$  (0-69.40) ขึ้นเนื้อจากผู้ป่วย 4 ราย (ร้อยละ 20) ไม่มีการแสดงออกของซีดี 146 แต่อย่างไรก็ตามทั้งรูปแบบและบริเวณที่มีการแสดงออกของซีดี 146 ในชั้นเนื้อจากกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งเยื่อบุผิวเซลล์สควมัสช่องปากนั้นมีลักษณะหลากหลาย พบได้ตั้งแต่ไม่มีการแสดงออกดังแสดงในภาพที่ 15 (ก) แสดงออกเป็นปื้น (patchy) แสดงในภาพที่ 15 (ข) จนถึงการแสดงออกในเซลล์ที่ขอบของก้อนมะเร็งแสดงในภาพที่ 15 (ค) โดยค่าเฉลี่ยร้อยละของจำนวนเคอราติโนไซต์ที่มีการแสดงออกของซีดี 146 ในชั้นเนื้อของกลุ่มการศึกษาต่างๆ แสดงไว้แล้วในตารางที่ 7 สัดส่วนระดับความเข้มในการติดสีของเคอราติโนไซต์ระหว่างกลุ่มการศึกษาแสดงไว้แล้วในตารางที่ 8 และรูปที่ 16 แสดงจำนวนผู้ป่วยที่มีระดับความเข้มและสัดส่วนในการติดสีของเคอราติโนไซต์ในแต่ละกลุ่มการศึกษา สำหรับการแสดงออกของซีดี 146 ในชั้นเนื้อที่เป็นกลุ่มควบคุมผลบวกและกลุ่มควบคุมผลลบแสดงไว้ในภาพที่ 17 และ 18 ตามลำดับ

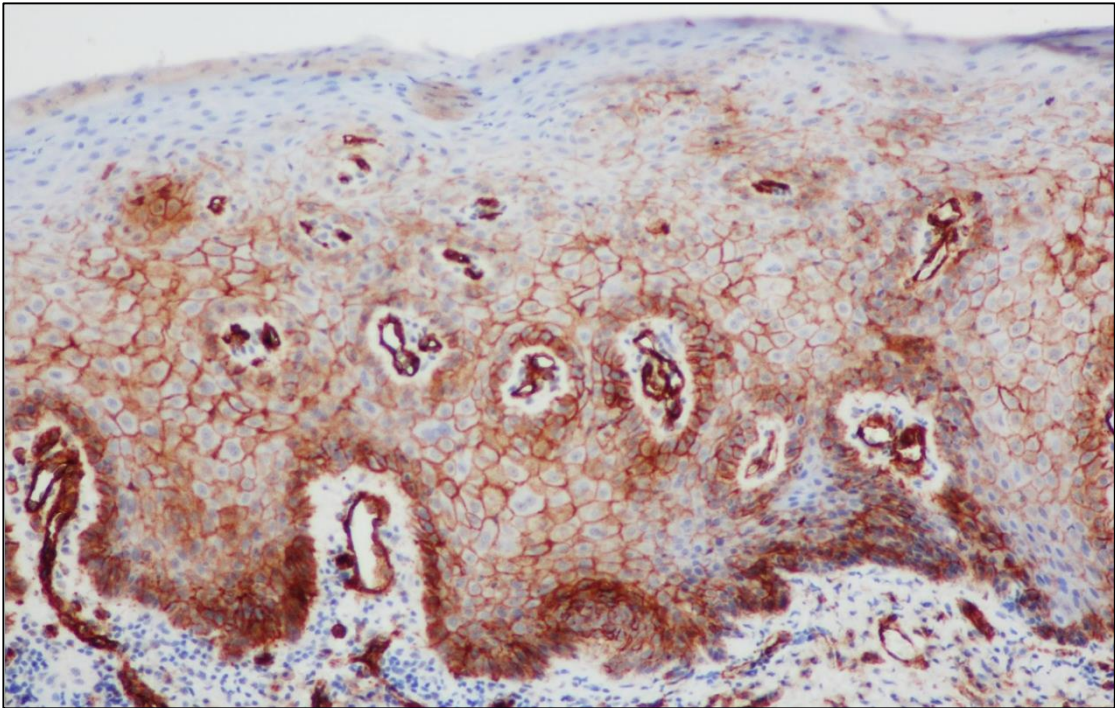
ในการประเมินผลการศึกษาคั้งนี้มีการสุ่มนับจำนวนเคอราติโนไซต์ที่มีการแสดงออกของซีดี 146 ขึ้นในทุกกลุ่มการศึกษา โดยผลการตรวจสอบความเชื่อมั่นโดยการค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ภายในชั้นได้ค่าเท่ากับ 0.997



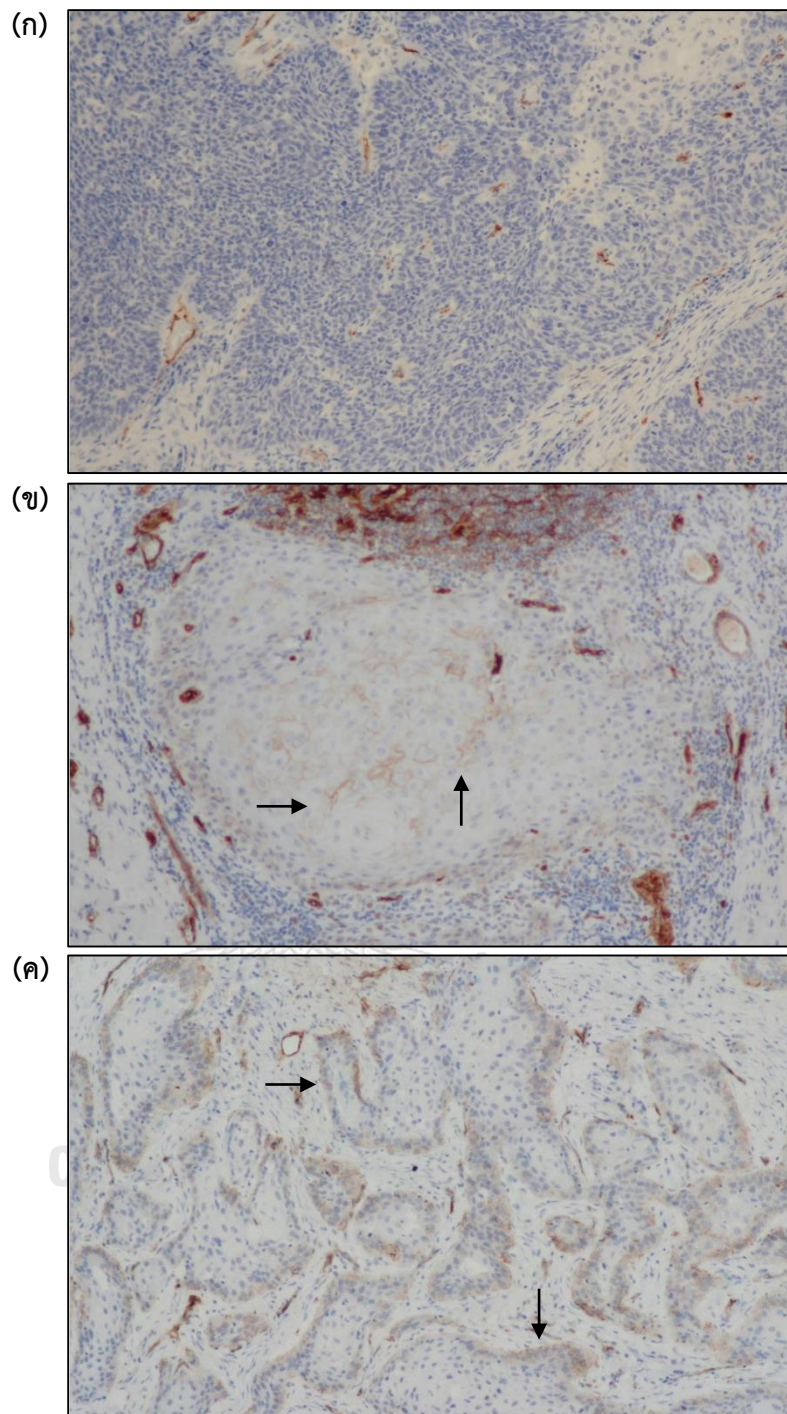
**ภาพที่ 12** การแสดงออกของซีดี 146 ในคอราติโนไซต์ของชั้นเนื้อจากกลุ่มควบคุมซึ่งเป็นอาสาสมัครสุขภาพดี มีการติดสีระดับจาง (กำลังขยาย 100X)



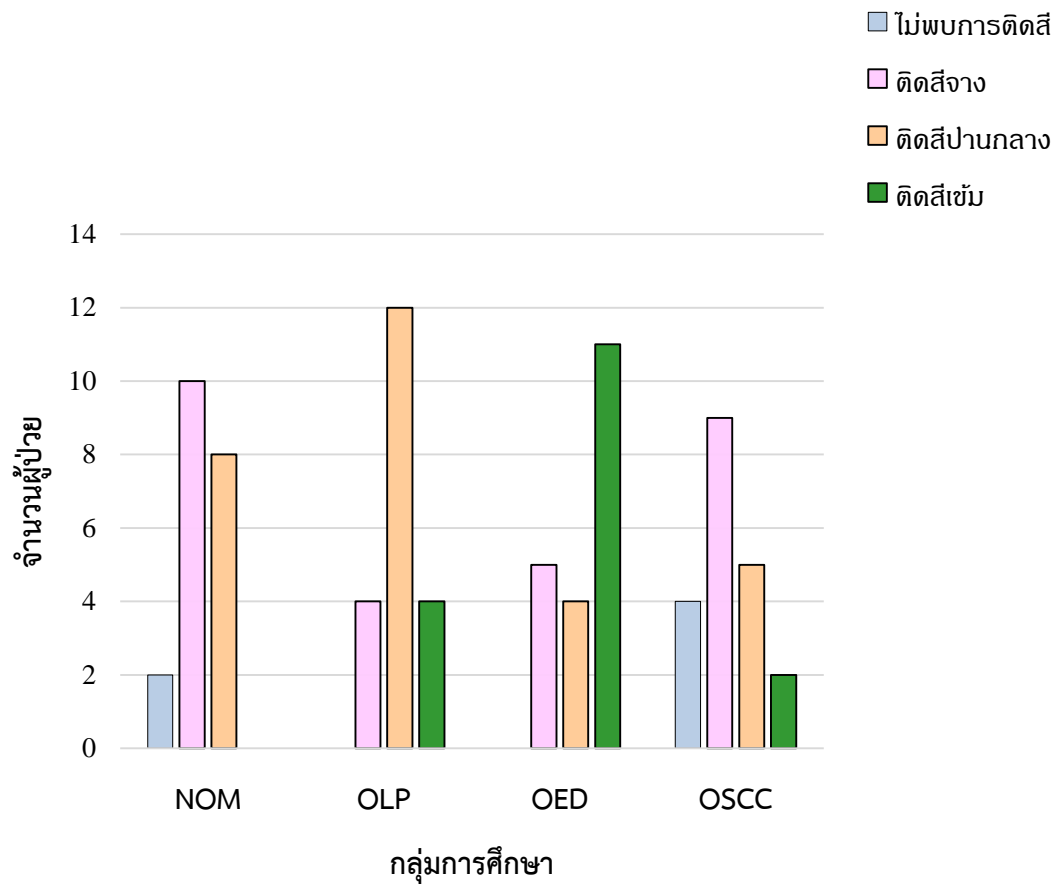
**ภาพที่ 13** การแสดงออกของซีดี 146 ในคอราติโนไซต์ของชั้นเนื้อที่ได้จากกลุ่มผู้ป่วยโรคลาเคน แพลนัสช่องปาก มีการติดสีระดับปานกลาง (กำลังขยาย 100X)



ภาพที่ 14 การแสดงออกของซีดี 146 ในเคอราติโนไซต์ของชั้นเนื้อที่ได้จากกลุ่มผู้ป่วย อีพิทีเลียล ดิสเพลเซียช่องปาก มีการติดสีระดับเข้ม (กำลังขยาย 100X)

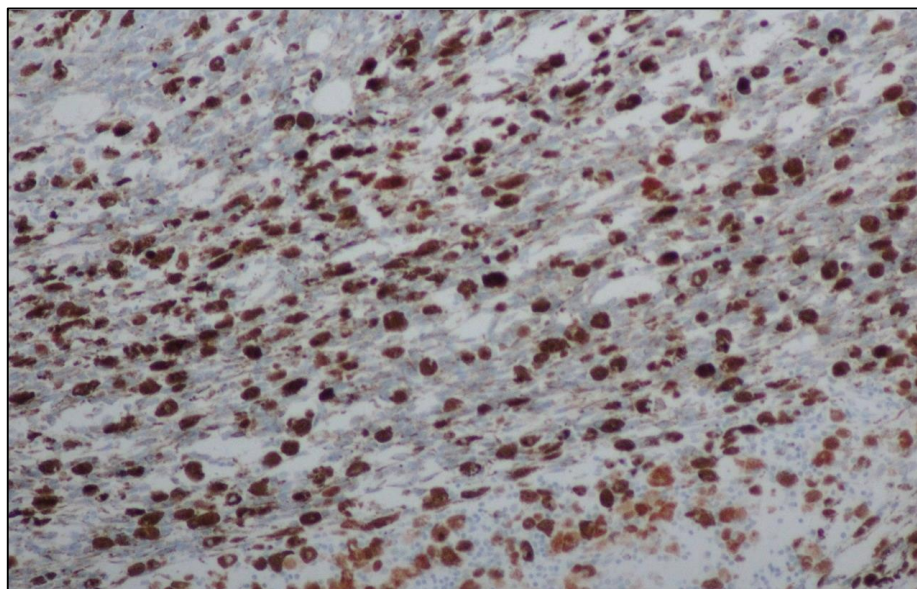


ภาพที่ 15 การแสดงออกของซีตี 146 ในเคอราติโนไซต์ของชั้นเนื้อที่ได้จากกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งเยื่อหุ้มเซลล์สควอมนัสช่องปาก (ก) ไม่มีการแสดงออกของซีตี 146 (ข) มีการแสดงออกเป็นปื้น (patchy) (ค) มีการแสดงออกในเซลล์ที่ขอบของก้อนมะเร็ง โดยชั้นเนื้อส่วนใหญ่ติดสีระดับจาง ลูกศร (↑) แสดงบริเวณที่มีการแสดงออกของซีตี 146 ในชั้นเนื้อ โดยถ่ายที่ กำลังขยาย 100X ภาพ 15 (ก) และ (ค) ถ่ายจาก Moderately-differentiated OSCC ภาพ 15 (ข) ถ่ายจาก Well-differentiated OSCC

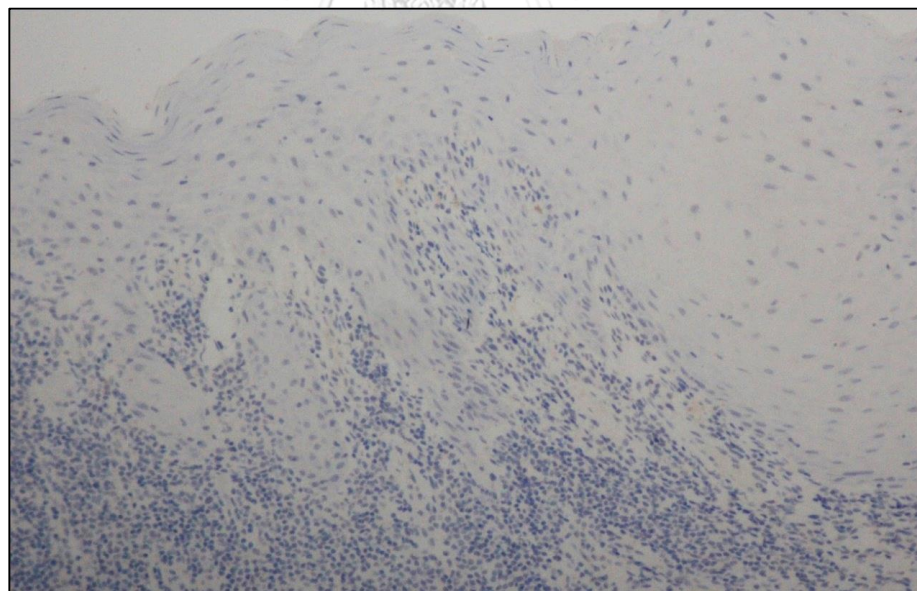


ภาพที่ 16 แผนภูมิแท่งแสดงจำนวนผู้ป่วยที่มีระดับความเข้มและสัดส่วนในการติดสีของเคอราติโนไซต์ในแต่ละกลุ่มการศึกษา





ภาพที่ 17 การแสดงออกของซีดี 146 ในชิ้นเนื้อของเมลาโนมาซึ่งเป็นกลุ่มควบคุมผลบวก (กำลังขยาย 100X)



ภาพที่ 18 แสดงชิ้นเนื้อของผู้ป่วยโรคเนื้องอกปากซึ่งที่ใช้เป็นชิ้นเนื้อควบคุมผลลบ (negative control) โดยใช้ Isotype matched antibody แทนซีดี 146 แอนติบอดี (กำลังขยาย 100X)

## บทที่ 5

### อภิปรายผลและสรุปผลวิจัย

#### อภิปรายผลการศึกษา

การศึกษาเรื่องการแสดงออกของซีดี 146 ในรอยโรคไลเคน แพลนัสและมะเร็งช่องปากในผู้ป่วยไทยครั้งนี้ ได้ทำการศึกษาด้วยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมีโดยใช้ชิ้นเนื้อจาก 4 กลุ่มการศึกษา พบว่าการแสดงออกของซีดี 146 ในเคอราติโนไซต์ของชิ้นเนื้อจากกลุ่มผู้ป่วยไลเคน แพลนัสช่องปากและกลุ่มผู้ป่วยอีพิทีเลียล ดิสเพลเซียช่องปากสูงกว่ากลุ่มควบคุม และการแสดงออกจะลดต่ำลงในเนื้อเยื่อช่องปากที่ได้จากกลุ่มมะเร็งเยื่อบุผิวเซลล์สควมัสช่องปาก โดยในการศึกษานี้ได้ใช้ชิ้นเนื้อปกติจากผู้ป่วยสุขภาพดีเป็นกลุ่มควบคุม จากการทบทวนวรรณกรรม พบว่ามีหลายการศึกษาที่รายงานว่า ไม่มีการแสดงออกของซีดี 146 ในเนื้อเยื่อปกติ เช่น การศึกษาของ Li และคณะในปี ค.ศ. 2014 ที่ไม่พบการแสดงออกในเยื่อหลอดอาหารปกติ (71) เช่นเดียวกับการศึกษาของ Weninger และคณะในปี ค.ศ. 2000 ที่ไม่พบการแสดงออกในเคอราติโนไซต์ของผิวหนังปกติเช่นกัน (13) แต่อย่างไรก็ตามจากการทบทวนวรรณกรรมของ Shih ในปี ค.ศ. 1997 พบว่ามีแสดงออกในเยื่อบุผิวที่นํ้านมของคนปกติในทุกตัวอย่างชิ้นเนื้อ (69) จากข้อมูลดังกล่าวไว้ข้างต้นแสดงให้เห็นว่า ซีดี 146 ไม่มีการแสดงออกหรือมีการแสดงออกที่ค่อนข้างจำกัดและแตกต่างกันไปในแต่ละชนิดเนื้อเยื่อปกติ (9, 10, 46) สำหรับการศึกษาครั้งนี้พบการแสดงออกในระดับต่ำและมีการติดสีในระดับจางของเคอราติโนไซต์ในชิ้นเนื้อของกลุ่มควบคุม โดยมีการแสดงออกในบริเวณชั้นเบซัลเซลล์จนถึงชั้นสไปนัสเซลล์ ซึ่งการแสดงออกดังกล่าวอาจเกี่ยวข้องกับกระบวนการการเพิ่มจำนวนของเซลล์ (proliferation) และการพัฒนาไปเป็นเซลล์จำเพาะ (differentiation) เพื่อการรักษาโครงสร้างปกติของชั้นเยื่อบุผิว (46, 80)

สำหรับชิ้นเนื้อจากกลุ่มผู้ป่วยโรคไลเคน แพลนัสช่องปาก มีรูปแบบการแสดงออกของซีดี 146 ในเคอราติโนไซต์ที่น่าสนใจ คือ การแสดงออกส่วนใหญ่จะอยู่เหนือชั้นเบซัลเซลล์ไปจนถึงชั้นสไปนัสเซลล์เคอราติโนไซต์ส่วนใหญ่มีการติดสีในระดับปานกลาง ส่วนเบซัลเคอราติโนไซต์จะพบการติดสีจางหรือไม่พบการติดสี ซึ่งอาจเกิดจากเบซัลเคอราติโนไซต์ของโรคไลเคน แพลนัสนั้นได้เกิดการเสื่อมสลาย จากการถูกทำลายโดยกระบวนการอักเสบของโรค (26) ทำให้สูญเสียการยึดติดระหว่างเซลล์ แต่เมื่อเปรียบเทียบจำนวนเคอราติโนไซต์ที่มีการแสดงออกของซีดี 146 พบว่าเพิ่มสูงขึ้นอย่างมี

นัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ผลการศึกษาที่ได้สอดคล้องกับการศึกษาของ Weninger และคณะในปี ค.ศ. 2000 ซึ่งพบการแสดงออกในเคอราติโนไซต์ของทุกชิ้นเนื้อที่ได้จากผิวหนังของผู้ป่วยโรคไลเคน แพลนัส (13) จากข้อมูลดังกล่าวจึงเป็นไปได้ว่าซีดี 146 อาจมีความเกี่ยวข้องข้องกับการเกิดพยาธิสภาพของโรคไลเคน แพลนัสในช่องปาก

เป็นที่ทราบกันว่าโรคไลเคน แพลนัสช่องปากมักพบได้ในผู้ป่วยช่วงวัยกลางคนและวัยสูงอายุ (1, 26) ถึงแม้ปัจจุบันกลไกของการเกิดโรคนั้นยังไม่ทราบแน่ชัด (19) แต่เชื่อกันว่ามีการตอบสนองที่ผิดปกติของระบบภูมิคุ้มกันชนิดที่มีเซลล์เป็นสื่อต่อแอนติเจนต่างๆ เช่น ยา ไวรัส สารที่เป็นส่วนประกอบในวัสดุอุดฟัน หรือแม้แต่อาจเกิดขึ้นได้เอง ภาวะการอักเสบที่ตอบสนองต่อการกระตุ้นดังกล่าวมีลักษณะเรื้อรัง (1, 26) โดยในเนื้อเยื่อของรอยโรคไลเคน แพลนัสจะพบการแสดงออกที่ผิดปกติของไซโตไคน์ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบหลายชนิด เช่น อินเตอร์ลิวคิน-1, อินเตอร์ลิวคิน-2, อินเตอร์ลิวคิน-8, อินเตอร์เฟียร์รอน-แกมมา และทูเมอร์เน็กโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟา เป็นต้น (81) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาที่พบว่ารอยโรคไลเคน แพลนัสตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาทาเฉพาะที่ในกลุ่มสเตียรอยด์ ทั้งยังพบว่าการรักษาด้วยยาฟลูโอซิโนโลน อะเซโทไทด์สามารถลดการแสดงออกของทูเมอร์เน็กโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟาได้อย่างมีนัยสำคัญ (77, 82) จะเห็นได้ว่าโรคไลเคน แพลนัสมีความเกี่ยวข้องกับการอักเสบเป็นอย่างมาก สำหรับผลการศึกษาในครั้งนี้พบว่ามีการแสดงออกมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญของซีดี 146 ในเคอราติโนไซต์ของชิ้นเนื้อจากผู้ป่วยกลุ่มโรคไลเคน แพลนัสช่องปาก โดยตัวอย่างการศึกษาอื่นที่เกี่ยวข้องกับการแสดงออกของซีดี 146 ในโรคที่สัมพันธ์กับกระบวนการอักเสบจะเป็นการศึกษาของ Schulz และคณะในปี ค.ศ. 2003 ซึ่งทำการศึกษาในรอยโรคทางเดินหายใจพบว่า ซีดี 146 มีการแสดงออกเพิ่มมากขึ้นในเซลล์เยื่อหุ้มหลอดลม (primary bronchial epithelial cell) ของผู้ป่วยโรคปอดอุดกั้นเรื้อรัง (chronic obstructive pulmonary disease; COPD) (64) โดยโรคปอดอุดกั้นเรื้อรังจัดเป็นโรคที่มีพยาธิสภาพเกี่ยวข้องกับการทำลายเนื้อเยื่อของปอด จากการตอบสนองของกระบวนการอักเสบที่ผิดปกติ โดยหนึ่งในสาเหตุการเกิดเป็นซ้ำมักจะเกี่ยวข้องกับการอักเสบที่เพิ่มสูงขึ้นเพื่อตอบสนองต่อภาวะติดเชื้อแบคทีเรียหรือเชื้อไวรัส (83-85) ถัดมาในปี ค.ศ. 2014 Berman และคณะได้ศึกษาบทบาทของซีดี 146 ที่ส่งผลต่อเซลล์เยื่อหุ้มทางเดินหายใจของมนุษย์ พบว่าเซลล์ที่มีการแสดงออกของซีดี 146 จะมีการผลิตอินเตอร์ลิวคิน-8 มากขึ้นเมื่อเทียบกับเซลล์ที่ไม่มีการแสดงออกภายใต้สภาวะกระตุ้นด้วยสาร PolyI:C (polyinosinic:polycytidylic acid; PolyI:C) ซึ่งเป็นสารที่จะกระตุ้นภูมิคุ้มกันให้มีการตอบสนองเลียนแบบการตอบสนองเมื่อมีการติดเชื้อไวรัส นอกจากนี้ยังพบว่าเซลล์ที่มีการแสดงออกของซีดี 146 จะมีแนวโน้มในการผลิตอินเตอร์ลิวคิน-8 มากขึ้นเมื่อเทียบกับเซลล์ที่ไม่มีการแสดงออกของซีดี 146 ภายใต้สภาวะการติดเชื้อไรโนไวรัส (Human Rhinovirus) (65) ทั้งนี้เชื้อไรโนไวรัสจัดเป็นอีกสาเหตุหลักที่กระตุ้นการเป็นซ้ำของโรคปอดอุดกั้นเรื้อรัง (85) จากข้อมูลที่กล่าวมาอาจเป็นไปได้ว่า ซีดี 146

น่าจะมึบพบาพในการส่งเสริมกระบวนการอักเสบที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อไวรัส (85) นอกจากนี้ทาง Weninger และคณะได้เสนอว่า ซีดี 146 อาจมีบทบาทในการส่งเสริมกระบวนการอักเสบในรอยโรคดังกล่าวได้คล้ายกับบทบาทของ ICAM-1 (intracellular adhesion molecule 1) ซึ่งเป็นโมเลกุลยึดติดกลุ่มเดียวกับซีดี 146 โดยทำหน้าที่จับกับตัวรับสัญญาณบนทีเซลล์ แล้วดึงดูดให้ทีเซลล์เข้ามายังบริเวณที่มีพยาธิสภาพมากขึ้น (13) ในขณะที่ Dagur และ McCoy ได้รายงานว่ทีเซลล์ที่มีการแสดงออกของซีดี 146 หรือ EPIC T cell เป็นทีเซลล์ที่อาจมีความเกี่ยวข้องในการส่งเสริมกระบวนการอักเสบดังที่ได้กล่าวไว้ในช่วงต้น (61) สำหรับการศึกษาคั้งนี้พบการแสดงออกของซีดี 146 เพียงเล็กน้อยบนทีเซลล์ที่อยู่ในชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันของชั้นเนื้อจากผู้ป่วยกลุ่มไลเคน แพลนัสช่องปาก แต่เนื่องจากการศึกษาคั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการแสดงออกของซีดี 146 บนเคอราติโนไซต์เป็นหลัก ดังนั้นบริเวณของรอยโรคที่ทำการเลือกมาเพื่อเก็บข้อมูลนั้นจึงไม่ได้เน้นตรงส่วนที่เป็นทีเซลล์มากนัก เพราะฉะนั้นการศึกษาคั้งนี้แสดงออกของ CD146 บนทีเซลล์ของโรคไลเคน แพลนัสช่องปากก็เป็นอีกหนึ่งประเด็นที่น่าทำการศึกษาในอนาคต

สำหรับการแสดงออกของซีดี 146 ในเคอราติโนไซต์ของชั้นเนื้อจากผู้ป่วยกลุ่มอีพิทีเลียล ดิสเพลเซียช่องปากพบว่าการแสดงออกเพิ่มมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยในการศึกษานี้ได้คัดเลือกเฉพาะผู้ป่วยที่มีอีพิทีเลียล ดิสเพลเซียระดับปานกลางและระดับรุนแรงเท่านั้น เพราะ อีพิทีเลียล ดิสเพลเซียที่มีระดับความรุนแรงสูงขึ้นไปจะยิ่งมีความเสี่ยงในการพัฒนาไปเป็นมะเร็งเยื่อเมือกเซลล์สควอมัสมากขึ้น ส่วนอีพิทีเลียล ดิสเพลเซียระดับน้อยนั้นสามารถพบได้ในภาวะที่มีการตอบสนองต่อการกระตุ้นได้หลายอย่าง เช่น การระคายเคือง หรือการติดเชื้อ นอกจากนี้อีพิทีเลียล ดิสเพลเซียระดับน้อยยังเห็นความผิดปกติของเซลล์ได้ไม่ชัดเจน (86) ทางคณะผู้วิจัยจึงไม่นำเข้ามารวมในการศึกษา สำหรับชั้นเนื้อจากไลเคน แพลนัสช่องปากทางคณะผู้วิจัยได้คัดเลือกเฉพาะไลเคน แพลนัสชนิดผื่นสีและชนิดแผลถลอก ซึ่งเป็นชนิดที่มักเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงไปเป็นมะเร็งช่องปาก (7) ทั้งนี้ยังเป็นชนิดที่มักทำให้ผู้ป่วยมีอาการแสบร้อนหรือเจ็บปวดได้ (1, 22) ถึงแม้ว่าผลการศึกษาคั้งนี้จะไม่พบความแตกต่างของการแสดงออกของซีดี 146 ในเคอราติโนไซต์ของชั้นเนื้อระหว่างกลุ่มผู้ป่วยไลเคน แพลนัสช่องปากกับกลุ่มอีพิทีเลียล ดิสเพลเซียช่องปาก แต่การแสดงออกของซีดี 146 ในเคอราติโนไซต์ของชั้นเนื้อจากผู้ป่วยทั้ง 2 กลุ่มนี้เพิ่มมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม แสดงถึงความเป็นไปได้ว่าซีดี 146 อาจเป็นตัวบ่งชี้ความแตกต่างระหว่างรอยโรคไลเคน แพลนัสช่องปากและอีพิทีเลียล ดิสเพลเซียช่องปากกับเยื่อเมือกช่องปากปกติ

ถึงแม้ว่าในปัจจุบันยังไม่มีวิธีการตรวจและไม่มีตัวบ่งชี้ที่แน่นอนในการระบุรอยโรคที่มีแนวโน้มเกิดมะเร็ง (87, 88) ทั้งนี้อาจเป็นเพราะยังขาดการศึกษาที่มีการติดตามการเกิดโรคมะเร็งในระยะยาวของผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของตัวบ่งชี้ต่างๆ (88) ยิ่งไปกว่านั้นโรคมะเร็งไม่มีลักษณะจำเพาะลักษณะใดลักษณะหนึ่ง เนื่องด้วยมีกระบวนการเกิดโรคที่ซับซ้อน ภายในเนื้อเยื่อมะเร็งเองมี

ความแตกต่างกัน ไม่มีความคงที่ (89) จึงเป็นการยากที่จะพัฒนาตัวบ่งชี้ที่จำเพาะต่อมะเร็งได้ แต่ถึงกระนั้นก็ยังมีความจำเป็นในการค้นหาตัวบ่งชี้ในการเปลี่ยนแปลงไปเป็นมะเร็งของรอยโรค เพื่อประโยชน์ในการคัดกรองโรคซึ่งจะช่วยลดอัตราการเสียชีวิตจากโรคมะเร็ง (88, 89)

ในปี ค.ศ. 2009 Mehanna และคณะได้ทำการศึกษาอัตราการเปลี่ยนแปลงเป็นมะเร็งของ อีพิทีเลียล ดิสเพลเซียช่องปาก โดยมีผู้ป่วยรวม 992 คน พบว่าอัตราการเปลี่ยนแปลงเป็นมะเร็งของ อีพิทีเลียล ดิสเพลเซียมีประมาณร้อยละ 12.1 โดยอีพิทีเลียล ดิสเพลเซียที่มีระดับความรุนแรงสูงจะมีอัตราการเปลี่ยนแปลงได้มาก (90) ผลการศึกษาในครั้งนี้พบว่าการแสดงออกของซีดี 146 มีแนวโน้มลดลงในอีพิทีเลียล ดิสเพลเซียช่องปากที่มีระดับความรุนแรงเพิ่มขึ้น ยิ่งไปกว่านั้นการศึกษาในครั้งนี้ยังพบว่า ซีดี 146 ที่มีการแสดงออกของในเคอราติโนไซต์ของชิ้นเนื้อที่ได้จากกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งเยื่อบุผิวเซลล์สควมัสช่องปากมีการแสดงออกลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับการแสดงออกในกลุ่มผู้ป่วย อีพิทีเลียล ดิสเพลเซียช่องปาก โดยร้อยละ 20 ของชิ้นเนื้อจากกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งเยื่อบุผิวเซลล์สควมัสช่องปากไม่มีการแสดงออกของซีดี 146 สอดคล้องกับการศึกษาของ Pires และคณะในปี ค.ศ. 2003 ที่ทำการศึกษากการแสดงออกของซีดี 146 ในชิ้นเนื้อจากช่องปากของกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งเยื่อบุผิวเซลล์สควมัสช่องปากชาวบราซิลจำนวน 10 คน (17) แต่อาจเป็นเพราะความแตกต่างทางด้านเชื้อชาติซึ่งส่งผลต่อลักษณะทางพันธุกรรมที่แตกต่างกัน (89) จึงทำให้มีความแตกต่างกันของผลการศึกษาบางส่วน ซึ่งในการศึกษาของผู้วิจัยพบว่าร้อยละ 45 ของชิ้นเนื้อมะเร็งเยื่อบุผิวเซลล์สควมัสช่องปากที่ได้จากผู้ป่วยกลุ่มนี้มีการติดสีในระดับจาง โดยในการศึกษานี้ได้คัดเลือกเฉพาะผู้ป่วยชาวไทยเท่านั้น ยิ่งไปกว่านั้นยังมีความแตกต่างของวิธีการศึกษา โดยปัจจัยดังกล่าวก็จะส่งผลต่อการประเมินการแสดงออกของซีดี 146 ด้วย เช่น ความแตกต่างเรื่องของความหนาในการตัดชิ้นเนื้อ (91) ชนิดของแอนติบอดี (92) และการเผยแพร่ตำแหน่งการจดจำแอนติเจนบนสายโปรตีน (93) เป็นต้น

การแสดงออกที่ลดลงของซีดี 146 ยังสามารถพบได้ในมะเร็งชนิดอื่นๆ เช่น มะเร็งลำไส้ใหญ่ และใส่ตรงที่พบว่าการยับยั้งการแสดงออกของซีดี 146 ทำให้เกิดการกระตุ้นวิถี Wnt/ $\beta$  ซึ่งส่งเสริมให้เกิดมะเร็ง (73) และในมะเร็งเต้านมที่พบว่าซีดี 146 มีการแสดงออกที่ลดลงในชิ้นเนื้อของผู้ป่วยมะเร็งเต้านม เมื่อเทียบชิ้นเนื้อจากเนื้อเยื่อปกติ ซึ่งทางผู้วิจัยยังได้ทำการศึกษาเพิ่มเติมโดยทำการนำเหนียวนาการแสดงออกของซีดี 146 ในเซลล์มะเร็งเต้านมแล้วนำไปฉีดเข้าในหนูทดลองตัวเมีย ซึ่งเป็นหนูที่มีความบกพร่องของระบบภูมิคุ้มกัน (severe combined immunodeficiency mice; SCID mice) หลังจาก 8 สัปดาห์พบว่าขนาดก้อนมะเร็งของหนูทดลองที่มีการเหนียวนาการแสดงออกของซีดี 146 จะมีขนาดเล็กกว่าก้อนมะเร็งของหนูทดลองที่ไม่มีการเหนียวนาการแสดงออกของซีดี 146 และเมื่อศึกษาทางจุลพยาธิวิทยาพบว่าเซลล์มะเร็งของหนูทดลองที่มีการเหนียวนาการแสดงออกของซีดี 146 มีการเกาะกลุ่มกันมากขึ้น ลักษณะดังกล่าวจะช่วยลดการแทรกซึมของเซลล์มะเร็งไปยัง

เนื้อเยื่อส่วนอื่นๆ (69) จากการศึกษาดังกล่าวจึงอาจเป็นไปได้ว่าการสูญเสียการแสดงออกของซีดี 146 ที่พบในการศึกษาครั้งนี้อาจเกี่ยวข้องกับการลดความสามารถในการยึดติดกันระหว่างเซลล์ซึ่งจะส่งเสริมการลุกลามของเซลล์มะเร็ง ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของซีดี 146 อาจเป็นตัวบ่งบอกความรุนแรงของมะเร็งเยื่อบุผิวเซลล์สควอมัสช่องปาก ผู้วิจัยได้ศึกษาการแสดงออกของซีดี 146 ในมะเร็งเยื่อบุผิวเซลล์สควอมัสที่มีระดับความรุนแรงทางจุลพยาธิวิทยาต่างกัน คือ ระดับที่เซลล์มะเร็งยังมีความคล้ายคลึงกับเซลล์ต้นกำเนิดจำนวน 10 คนและระดับที่เซลล์มะเร็งเริ่มมีลักษณะแตกต่างจากเซลล์ต้นกำเนิดจำนวน 10 คน โดยผลการศึกษาไม่พบความแตกต่างกันของการแสดงออกของซีดี 146 ในเคอราติโนไซต์ของชั้นเนื้อเยื่อระหว่างกลุ่มดังกล่าว เช่นเดียวกับการศึกษาก่อนหน้าที่ไม่พบความแตกต่างของการแสดงออกของซีดี 146 ในชั้นเนื้อเยื่อเยื่อบุผิวเซลล์สควอมัสช่องปากที่มีระดับความรุนแรงทางจุลพยาธิวิทยาแตกต่างกันทั้ง 3 ระดับ เนื่องจากชั้นเนื้อเยื่อทั้งหมดไม่มีการแสดงออกของซีดี 146 แต่อย่างไรก็ตามการศึกษาดังกล่าวมีข้อจำกัดที่ผู้ใช้ทำการศึกษาคอนข้างน้อย โดยมีชั้นเนื้อเยื่อจากระดับที่เซลล์มะเร็งยังมีความคล้ายคลึงกับเซลล์ต้นกำเนิดจำนวน 3 ชั้น จากระดับที่เซลล์มะเร็งเริ่มมีลักษณะแตกต่างจากเซลล์ต้นกำเนิดจำนวน 3 ชั้นและจากระดับที่เซลล์มะเร็งที่มีลักษณะแตกต่างจากเซลล์ต้นกำเนิดจำนวน 4 ชั้น (17) สำหรับการศึกษาของผู้วิจัยในครั้งนี้มีข้อจำกัดคือไม่สามารถหาชิ้นเนื้อของผู้ป่วยที่มีระดับเซลล์มะเร็งที่มีลักษณะแตกต่างจากเซลล์ต้นกำเนิด (poorly-differentiated) ได้ เนื่องจากมีจำนวนผู้ป่วยน้อยและชิ้นเนื้อที่ได้อยู่ในสภาพที่ไม่เหมาะสมในการศึกษา

ทางผู้วิจัยยังพบว่ารูปแบบการแสดงออกของซีดี 146 ในเคอราติโนไซต์ของชั้นเนื้อเยื่อจากผู้ป่วยมะเร็งเยื่อบุผิวเซลล์สควอมัสนั้นมีความหลากหลาย โดยพบการแสดงออกทั้งเป็นปื้นหรือมีการแสดงออกในเซลล์ที่อยู่ขอบของก้อนมะเร็ง ไปจนกระทั่งไม่พบการแสดงออก นอกจากนี้ค่าเฉลี่ยการแสดงออกของซีดี 146 ในเคอราติโนไซต์ของผู้ป่วยในกลุ่มมะเร็งเยื่อบุผิวเซลล์สควอมัสมีความแตกต่างกันในชั้นเนื้อเยื่อจากผู้ป่วยแต่ละคน (ช่วงร้อยละ 0-69.40) ซึ่งอาจอธิบายได้จากภายในก้อนมะเร็งเดียวกันก็จะมีเซลล์มะเร็งที่มีลักษณะหลากหลาย (clonal diversity) (89) ยิ่งไปกว่านั้นยังมีการค้นพบจีน (gene) กลายพันธุ์ที่เกี่ยวข้องกับโรคมะเร็งเยื่อบุผิวเซลล์สควอมัสตั้งแต่ได้ 1-20 จีน (94) ดังนั้นจึงอาจเป็นไปได้ที่ความแตกต่างดังกล่าวอาจส่งผลในการตรวจสอบด้วยวิธีทางอิมมูโนฮิสโตเคมี (69) ยิ่งไปกว่านั้นความแตกต่างของวิธีการศึกษา เช่น ความหนาในการตัดชิ้นเนื้อ (91) การเลือกใช้นิยต์ของแอนติบอดี (92) ก็อาจส่งผลต่อการตรวจพบการแสดงออกของซีดี 146 ได้เช่นกัน

จากผลการศึกษาทั้งหมดแสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ คือ ในระหว่างกระบวนการเกิดมะเร็ง เคอราติโนไซต์จะมีการสะสมความผิดปกติทางพันธุกรรม โดยซีดี 146 อาจจะทำหน้าที่ยับยั้งการเกิดมะเร็งโดยส่งเสริมการยึดติดกันระหว่างเซลล์มะเร็งเพื่อจำกัดการแพร่กระจาย ไม่ให้ลูกกลมลงสู่ชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ดังจะเห็นได้ว่า ซีดี 146 มีการแสดงออกเพิ่มขึ้นอย่างในรอยโรคอีพิทีเลียล ดิสเพลเซียช่องปาก แต่เมื่อมีโรคมีการดำเนินต่อไปเป็นมะเร็งเยื่อเมือกเซลล์สควอมีสช่องปาก ซีดี 146 จะมีการแสดงออกลดลงอย่างมีนัยสำคัญ เซลล์มะเร็งเริ่มสูญเสียการยึดติดระหว่างเซลล์ ทำให้ยังส่งเสริมการลุกลามมากขึ้น



## สรุปผลการวิจัย

การวิจัยนี้ได้ศึกษาการแสดงออกของซีดี 146 ในเคอราติโนไซต์ของกลุ่มโรคไลเคน แพลนัสช่องปาก อีพิทีเลียล ดิสเพลเซียช่องปาก และมะเร็งเยื่อบุผิวเซลล์สควอมัสช่องปาก โดยผลการศึกษาด้วยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมีพบว่า ซีดี 146 มีการแสดงออกเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในเคอราติโนไซต์ของผู้ป่วยกลุ่มโรคไลเคน แพลนัสช่องปาก เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งเป็นเนื้อเยื่อที่ได้จากผู้ป่วยสุขภาพดี ดังนั้นจึงเป็นที่ได้ว่า ซีดี 146 อาจมีบทบาทต่อการเกิดโรค นอกจากนี้ยังพบการแสดงออกที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญในเคอราติโนไซต์ของผู้ป่วยกลุ่มมะเร็งเยื่อบุผิวเซลล์สควอมัสช่องปาก เมื่อเทียบกับกลุ่มผู้ป่วยอีพิทีเลียล ดิสเพลเซียช่องปาก โดยแนวโน้มดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าการแสดงออกที่ลดลงของซีดี 146 อาจเป็นตัวบ่งชี้ถึงการเปลี่ยนแปลงไปเป็นมะเร็งของรอยโรคได้

## ข้อเสนอแนะ

เนื่องจากยังไม่เคยมีการศึกษาถึงบทบาทของซีดี 146 ที่ส่งผลต่อการกระบวนการอักเสบในรอยโรคไลเคน แพลนัสในช่องปากมาก่อน ดังนั้นควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในอนาคต ไม่ว่าจะเป็นบทบาทของซีดี 146 ที่ส่งผลต่อที่เซลล์หรือต่อเคอราติโนไซต์ในรอยโรคไลเคน แพลนัส ที่ทำให้เซลล์ที่มีการแสดงออกเหล่านี้มีความแตกต่างในการกระตุ้นกระบวนการอักเสบ สำหรับบทบาทของซีดี 146 ที่ส่งผลต่อรอยโรคที่มีความผิดปกติของเซลล์ไม่ว่าจะเป็นอีพิทีเลียล ดิสเพลเซียช่องปากหรือมะเร็งเยื่อบุผิวเซลล์สควอมัสช่องปาก ควรต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมเช่นกัน เพราะผลที่ได้อาจนำไปสู่การค้นพบตัวบ่งชี้ที่สามารถใช้ในการระบุเปลี่ยนแปลงเป็นมะเร็งของรอยโรคหรืออาจเป็นการจุดเริ่มต้นของการพิจารณานำเอาซีดี 146 มาใช้ในการรักษาผู้ป่วยได้ จากข้อจำกัดในศึกษาครั้งนี้ ทางผู้วิจัยขอเสนอแนะให้การศึกษาที่จะเกิดขึ้นในอนาคตมีกลุ่มการทดลองขนาดใหญ่ขึ้น โดยเฉพาะในกลุ่มย่อยต่างๆของรอยโรค เพราะจะทำให้เห็นแนวโน้มความแตกต่างได้ชัดเจนมากขึ้น นอกจากนี้ควรต้องมีการศึกษาที่ทำในหลายประเทศ (multicenter) เพราะปัจจัยเรื่องความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างเชื้อชาติหรือแม้แต่สภาวะแวดล้อมที่แตกต่างกันก็ย่อมส่งผลกระทบต่อการศึกษาโรคมะเร็ง ควรทำการศึกษาการแสดงออกในหลายๆจีน (multigene) เพราะในการเกิดโรคอาจมีเงินตัวที่เกี่ยวข้องและที่สำคัญอย่างยิ่งคือควรมีการศึกษาที่มีการติดตามผลเป็นระยะยาว เพราะจะเป็นการยืนยันถึงความสามารถในการเป็นตัวบ่งชี้การเปลี่ยนแปลงเป็นมะเร็งของซีดี 146 ได้



## รายการอ้างอิง

1. Thongprasom K, Carrozzo M, Furness S, Lodi G. Interventions for treating oral lichen planus. Cochrane Database Syst Rev 2011: Cd001168.
2. Warnakulasuriya S, Johnson NW, van der Waal I. Nomenclature and classification of potentially malignant disorders of the oral mucosa. J Oral Pathol Med 2007; 36: 575-80.
3. Edwards PC, Kelsch R. Oral lichen planus: clinical presentation and management. J Can Dent Assoc 2002; 68: 494-9.
4. Neville BW, Damm DD, Allen CM, Chi AC. Oral and maxillofacial pathology. 4<sup>th</sup> ed. St. Louis, Missouri: Elsevier; 2016. 361-2.
5. Rikardsen OG, Bjerkli IH, Uhlin-Hansen L, Hadler-Olsen E, Steigen SE. Clinicopathological characteristics of oral squamous cell carcinoma in Northern Norway: a retrospective study. BMC Oral Health 2014; 14: 103.
6. สถาบันมะเร็งแห่งชาติ. ทะเบียนมะเร็งระดับโรงพยาบาล พ.ศ.2557. กรุงเทพฯ: บริษัทพรทรัพย์การพิมพ์ จำกัด; 2559.
7. Fitzpatrick SG, Hirsch SA, Gordon SC. The malignant transformation of oral lichen planus and oral lichenoid lesions: a systematic review. J Am Dent Assoc 2014; 145: 45-56.
8. Albelda SM. Role of integrins and other cell adhesion molecules in tumor progression and metastasis. Lab Invest 1993; 68: 4-17.
9. Ouhtit A, Gaur RL, Abd Elmageed ZY, Fernando A, Thouta R, Trappey AK, et al. Towards understanding the mode of action of the multifaceted cell adhesion receptor CD146. Biochim Biophys Acta 2009; 1795: 130-6.
10. Shih IM. The role of CD146 (Mel-CAM) in biology and pathology. J Pathol 1999; 189: 4-11.
11. Lehmann JM, Riethmuller G, Johnson JP. MUC18, a marker of tumor progression in human melanoma, shows sequence similarity to the neural cell adhesion molecules of the immunoglobulin superfamily. Proc Natl Acad Sci U S A 1989; 86: 9891-5.

12. Bardin N, Moal V, Anfosso F, Daniel L, Brunet P, Sampol J, et al. Soluble CD146, a novel endothelial marker, is increased in physiopathological settings linked to endothelial junctional alteration. *Thromb Haemost* 2003; 90: 915-20.
13. Weninger W, Rendl M, Mildner M, Mayer C, Ban J, Geusau A, et al. Keratinocytes express the CD146 (Muc18/S-endo) antigen in tissue culture and during inflammatory skin diseases. *J Invest Dermatol* 2000; 115: 219-24.
14. Mehlen P, Puisieux A. Metastasis: a question of life or death. *Nat Rev Cancer* 2006; 6: 449-58.
15. Farahani E, Patra HK, Jangamreddy JR, Rashedi I, Kawalec M, Rao Pariti RK, et al. Cell adhesion molecules and their relation to (cancer) cell stemness. *Carcinogenesis* 2014; 35: 747-59.
16. Brooks SA, Lomax-Browne HJ, Carter TM, Kinch CE, Hall DM. Molecular interactions in cancer cell metastasis. *Acta Histochem* 2010; 112: 3-25.
17. Pires FR, Shih le M, da Cruz Perez DE, de Almeida OP, Kowalski LP. Mel-CAM (CD146) expression in parotid mucoepidermoid carcinoma. *Oral Oncol* 2003; 39: 277-81.
18. Gorouhi F, Davari P, Fazel N. Cutaneous and mucosal lichen planus: a comprehensive review of clinical subtypes, risk factors, diagnosis, and prognosis. *TheScientificWorldJournal* 2014; 2014: 742826.
19. Cheng YS, Gould A, Kurago Z, Fantasia J, Muller S. Diagnosis of oral lichen planus: a position paper of the American Academy of Oral and Maxillofacial Pathology. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 2016; 122: 332-54.
20. Crincoli V, Di Bisceglie MB, Scivetti M, Lucchese A, Tecco S, Festa F. Oral lichen planus: update on etiopathogenesis, diagnosis and treatment. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 2011; 33: 11-20.
21. วิไลรัตน์ สฤกษ์ชัยกุล, กอบกาญจน์ ทองประสม. ไลเคน แพลนัส (Lichen planus). ใน: กอบกาญจน์ ทองประสม, บรรณาธิการ. เวชศาสตร์ช่องปากขั้นสูง. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย; 2553. หน้า 85-114.
22. Thongprasom K, Youngnak-Piboonratanakit P, Pongsirwet S, Laothumthut T, Kanjanabud P, Rutchakitprakarn L. A multicenter study of oral lichen planus in Thai patients. *J Investig Clin Dent* 2010; 1: 29-36.

23. McCartan BE, Healy CM. The reported prevalence of oral lichen planus: a review and critique. *J Oral Pathol Med* 2008; 37: 447-53.
24. Carrozzo M. How common is oral lichen planus? *Evidence-based dentistry* 2008; 9: 112-3.
25. Wilson E. On lichen planus. *J Cutan Med Dis Skin* 1869; 3: 117-32.
26. Lodi G, Scully C, Carrozzo M, Griffiths 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* 2005; 100: 40-51.
27. van der Meij EH, van der Waal I. Lack of clinicopathologic correlation in the diagnosis of oral lichen planus based on the presently available diagnostic criteria and suggestions for modifications. *J Oral Pathol Med* 2003; 32: 507-12.
28. Al-Hashimi I, Schifter M, Lockhart PB, Wray D, Brennan M, Migliorati CA, et al. Oral lichen planus and oral lichenoid lesions: diagnostic and therapeutic considerations. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007; 103 Suppl: S25.e1-12.
29. Khudhur AS, Di Zenzo G, Carrozzo M. Oral lichenoid tissue reactions: diagnosis and classification. *Expert Rev Mol Diagn* 2014; 14: 169-84.
30. Schlosser BJ. Lichen planus and lichenoid reactions of the oral mucosa. *Dermatol Ther* 2010; 23: 251-67.
31. Muller S. Oral manifestations of dermatologic disease: a focus on lichenoid lesions. *Head Neck Pathol* 2011; 5: 36-40.
32. Sugerman PB, Savage NW, Walsh LJ, Zhao ZZ, Zhou XJ, Khan A, et al. The pathogenesis of oral lichen planus. *Crit Rev Oral Biol Med* 2002; 13: 350-65.
33. Shield KD, Ferlay J, Jemal A, Sankaranarayanan R, Chaturvedi AK, Bray F, et al. The global incidence of lip, oral cavity, and pharyngeal cancers by subsite in 2012. *CA Cancer J Clin* 2017; 67: 51-64.
34. Chi AC, Day TA, Neville BW. Oral cavity and oropharyngeal squamous cell carcinoma—an update. *CA Cancer J Clin* 2015; 65: 401-21.
35. Speight PM. Update on oral epithelial dysplasia and progression to cancer. *Head Neck Pathol* 2007; 1: 61-6.

36. Gale N, Poljak M, Zidar N. Update from the 4th Edition of the World Health Organization Classification of Head and Neck Tumours: What is New in the 2017 WHO Blue Book for Tumours of the Hypopharynx, Larynx, Trachea and Parapharyngeal Space. *Head Neck Pathol* 2017; 11: 23-32.
37. Weis SM, Cheresh DA.  $\alpha$ V integrins in angiogenesis and cancer. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2011; 1: a006478.
38. Yonemura S. Cadherin-actin interactions at adherens junctions. *Curr Opin Cell Biol* 2011; 23: 515-22.
39. Nagy JA, Chang SH, Dvorak AM, Dvorak HF. Why are tumour blood vessels abnormal and why is it important to know? *Br J Cancer* 2009; 100: 865-9.
40. Stoletov K, Kato H, Zardoujian E, Kelber J, Yang J, Shattil S, et al. Visualizing extravasation dynamics of metastatic tumor cells. *J Cell Sci* 2010; 123: 2332-41.
41. Fidler IJ. The pathogenesis of cancer metastasis: the 'seed and soil' hypothesis revisited. *Nat Rev Cancer* 2003; 3: 453-8.
42. Ewing J. *Neoplastic diseases: a treatise on tumors*. 2<sup>nd</sup> ed. Philadelphia and London: WB Saunders; 1922. 77-88.
43. Paget S. The distribution of secondary growths in cancer of the breast. 1889. *Cancer Metastasis Rev* 1989; 8: 98-101.
44. Witz IP. The selectin-selectin ligand axis in tumor progression. *Cancer Metastasis Rev* 2008; 27: 19-30.
45. Lehmann JM, Holzmann B, Breitbart EW, Schmiegelow P, Riethmuller G, Johnson JP. Discrimination between benign and malignant cells of melanocytic lineage by two novel antigens, a glycoprotein with a molecular weight of 113,000 and a protein with a molecular weight of 76,000. *Cancer Res* 1987; 47: 841-5.
46. Wang Z, Yan X. CD146, a multi-functional molecule beyond adhesion. *Cancer Lett* 2013; 330: 150-62.
47. Taira E, Kohama K, Tsukamoto Y, Okumura S, Miki N. Characterization of Gicerin/MUC18/CD146 in the rat nervous system. *J Cell Physiol* 2004; 198: 377-87.
48. Bardin N, Anfosso F, Masse JM, Cramer E, Sabatier F, Le Bivic A, et al. Identification of CD146 as a component of the endothelial junction involved in the control of cell-cell cohesion. *Blood* 2001; 98: 3677-84.

49. Ishikawa T, Wondimu Z, Oikawa Y, Ingerpuu S, Virtanen I, Patarroyo M. Monoclonal antibodies to human laminin alpha4 chain globular domain inhibit tumor cell adhesion and migration on laminins 411 and 421, and binding of alpha6beta1 integrin and MCAM to alpha4-laminins. *Matrix Biol* 2014; 36: 5-14.
50. Jouve N, Despoix N, Espeli M, Gauthier L, Cypowyj S, Fallague K, et al. The involvement of CD146 and its novel ligand Galectin-1 in apoptotic regulation of endothelial cells. *J Biol Chem* 2013; 288: 2571-9.
51. Ye Z, Zhang C, Tu T, Sun M, Liu D, Lu D, et al. Wnt5a uses CD146 as a receptor to regulate cell motility and convergent extension. *Nat Commun* 2013; 4: 2803.
52. Liu Q, Zhang B, Zhao X, Zhang Y, Liu Y, Yan X. Blockade of adhesion molecule CD146 causes pregnancy failure in mice. *J Cell Physiol* 2008; 215: 621-6.
53. Shih IM, Nesbit M, Herlyn M, Kurman RJ. A new Mel-CAM (CD146)-specific monoclonal antibody, MN-4, on paraffin-embedded tissue. *Mod Pathol* 1998; 11: 1098-106.
54. Schon M, Kahne T, Gollnick H, Schon MP. Expression of gp130 in tumors and inflammatory disorders of the skin: formal proof of its identity as CD146 (MUC18, Mel-CAM). *J Invest Dermatol* 2005; 125: 353-63.
55. Mehta NN, Dagur PK, Rose SM, Naik HB, Stansky E, Doveikis J, et al. IL-17A production in human psoriatic blood and lesions by CD146+ T cells. *J Invest Dermatol* 2015; 135: 311-4.
56. Mehta NN, Yu Y, Saboury B, Foroughi N, Krishnamoorthy P, Raper A, et al. Systemic and vascular inflammation in patients with moderate to severe psoriasis as measured by [18F]-fluorodeoxyglucose positron emission tomography-computed tomography (FDG-PET/CT): a pilot study. *Arch Dermatol* 2011; 147: 1031-9.
57. Elshal MF, Khan SS, Raghavachari N, Takahashi Y, Barb J, Bailey JJ, et al. A unique population of effector memory lymphocytes identified by CD146 having a distinct immunophenotypic and genomic profile. *BMC Immunol* 2007; 8: 29.

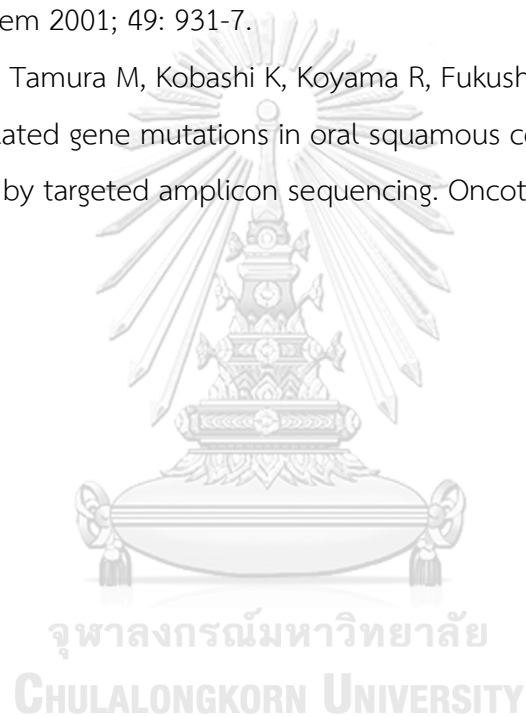
58. Larochelle C, Cayrol R, Kebir H, Alvarez JI, Lecuyer MA, Ifergan I, et al. Melanoma cell adhesion molecule identifies encephalitogenic T lymphocytes and promotes their recruitment to the central nervous system. *Brain* 2012; 135: 2906-24.
59. Dagur PK, Biancotto A, Wei L, Sen HN, Yao M, Strober W, et al. MCAM-expressing CD4(+) T cells in peripheral blood secrete IL-17A and are significantly elevated in inflammatory autoimmune diseases. *J Autoimmun* 2011; 37: 319-27.
60. Dagur PK, Tatlici G, Gourley M, Samsel L, Raghavachari N, Liu P, et al. CD146+ T lymphocytes are increased in both the peripheral circulation and in the synovial effusions of patients with various musculoskeletal diseases and display pro-inflammatory gene profiles. *Cytometry B Clin Cytom* 2010; 78: 88-95.
61. Dagur PK, McCoy JP, Jr. Endothelial-binding, proinflammatory T cells identified by MCAM (CD146) expression: Characterization and role in human autoimmune diseases. *Autoimmunity reviews* 2015; 14: 415-22.
62. Neidhart M, Wehrli R, Bruhlmann P, Michel BA, Gay RE, Gay S. Synovial fluid CD146 (MUC18), a marker for synovial membrane angiogenesis in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1999; 42: 622-30.
63. Duan H, Luo Y, Hao H, Feng L, Zhang Y, Lu D, et al. Soluble CD146 in cerebrospinal fluid of active multiple sclerosis. *Neuroscience* 2013; 235: 16-26.
64. Schulz C, Petrig V, Wolf K, Kratzel K, Kohler M, Becker B, et al. Upregulation of MCAM in primary bronchial epithelial cells from patients with COPD. *Eur Respir J* 2003; 22: 450-6.
65. Berman R, Huang C, Jiang D, Finigan JH, Wu Q, Chu HW. MUC18 Differentially Regulates Pro-Inflammatory and Anti-Viral Responses in Human Airway Epithelial Cells. *J Clin Cell Immunol* 2014; 5: e0163927.
66. Denton KJ, Stretch JR, Gatter KC, Harris AL. A study of adhesion molecules as markers of progression in malignant melanoma. *J Pathol* 1992; 167: 187-91.
67. Luo Y, Zheng C, Zhang J, Lu D, Zhuang J, Xing S, et al. Recognition of CD146 as an ERM-binding protein offers novel mechanisms for melanoma cell migration. *Oncogene* 2012; 31: 306-21.

68. Liu WF, Ji SR, Sun JJ, Zhang Y, Liu ZY, Liang AB, et al. CD146 expression correlates with epithelial-mesenchymal transition markers and a poor prognosis in gastric cancer. *Int J Mol Sci* 2012; 13: 6399-406.
69. Shih LM, Hsu MY, Palazzo JP, Herlyn M. The cell-cell adhesion receptor Mel-CAM acts as a tumor suppressor in breast carcinoma. *Am J Pathol* 1997; 151: 745-51.
70. Zeng Q, Li W, Lu D, Wu Z, Duan H, Luo Y, et al. CD146, an epithelial-mesenchymal transition inducer, is associated with triple-negative breast cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012; 109: 1127-32.
71. Li Y, Yu JM, Zhan XM, Liu LL, Jin N, Zhang YX. Correlation of CD146 expression and clinicopathological characteristics in esophageal squamous cell carcinoma. *Oncol Lett* 2014; 8: 859-63.
72. Jiang G, Zhang L, Zhu Q, Bai D, Zhang C, Wang X. CD146 promotes metastasis and predicts poor prognosis of hepatocellular carcinoma. *J Exp Clin Cancer Res* 2016; 35: 38.
73. Liu D, Du L, Chen D, Ye Z, Duan H, Tu T, et al. Reduced CD146 expression promotes tumorigenesis and cancer stemness in colorectal cancer through activating Wnt/beta-catenin signaling. *Oncotarget* 2016; 7: 40704-18.
74. Zhuang J, Jiang T, Lu D, Luo Y, Zheng C, Feng J, et al. NADPH oxidase 4 mediates reactive oxygen species induction of CD146 dimerization in VEGF signal transduction. *Free Radic Biol Med* 2010; 49: 227-36.
75. Li G, Kalabis J, Xu X, Meier F, Oka M, Bogenrieder T, et al. Reciprocal regulation of MelCAM and AKT in human melanoma. *Oncogene* 2003; 22: 6891-9.
76. Jiang T, Zhuang J, Duan H, Luo Y, Zeng Q, Fan K, et al. CD146 is a coreceptor for VEGFR-2 in tumor angiogenesis. *Blood* 2012; 120: 2330-9.
77. 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.
78. Prucktrakul C, Youngnak-Piboonratanakit P, Kanjanabuch P, Prueksrisakul T, Thongprasom K. Oral lichenoid lesions and serum antinuclear antibodies in Thai patients. *J Oral Pathol Med* 2015; 44: 468-74.

79. Safadi RA, Al Jaber SZ, Hammad HM, Hamasha AA. Oral lichen planus shows higher expressions of tumor suppressor gene products of p53 and p21 compared to oral mucositis. An immunohistochemical study. *Arch Oral Biol* 2010; 55: 454-61.
80. Wai Wong C, Dye DE, Coombe DR. The Role of Immunoglobulin Superfamily Cell Adhesion Molecules in Cancer Metastasis. *Int J Cell Biol* 2012; 2012: 340296.
81. Lu R, Zhang J, Sun W, Du G, Zhou G. Inflammation-related cytokines in oral lichen planus: an overview. *J Oral Pathol Med* 2015; 44: 1-14.
82. Thongprasom K, Dhanuthai K, Sarideechaigul W, Chaiyarit P, Chaimusig M. Expression of TNF-alpha in oral lichen planus treated with fluocinolone acetonide 0.1%. *J Oral Pathol Med* 2006; 35: 161-6.
83. MacNee W. Pathology, pathogenesis, and pathophysiology. *BMJ* 2006; 332: 1202-4.
84. Wu Q, Case SR, Minor MN, Jiang D, Martin RJ, Bowler RP, et al. A novel function of MUC18: amplification of lung inflammation during bacterial infection. *Am J Pathol* 2013; 182: 819-27.
85. Berman R, Jiang D, Wu Q, Stevenson CR, Schaefer NR, Chu HW. MUC18 Regulates Lung Rhinovirus Infection and Inflammation. *PLoS One* 2016; 11: e0163927.
86. Voltaggio L, Cimino-Mathews A, Bishop JA, Argani P, Cuda JD, Epstein JI, et al. Current concepts in the diagnosis and pathobiology of intraepithelial neoplasia: A review by organ system. *CA Cancer J Clin* 2016; 66: 408-36.
87. Lingen MW, Abt E, Agrawal N, Chaturvedi AK, Cohen E, D'Souza G, et al. Evidence-based clinical practice guideline for the evaluation of potentially malignant disorders in the oral cavity: A report of the American Dental Association. *J Am Dent Assoc* 2017; 148: 712-27.
88. El-Sakka H, Kujan O, Farah CS. Assessing miRNAs profile expression as a risk stratification biomarker in oral potentially malignant disorders: A systematic review. *Oral Oncol* 2018; 77: 57-82.
89. Santosh AB, Jones T, Harvey J. A review on oral cancer biomarkers: Understanding the past and learning from the present. *J Cancer Res Ther* 2016; 12: 486-92.



90. Mehanna HM, Rattay T, Smith J, McConkey CC. Treatment and follow-up of oral dysplasia - a systematic review and meta-analysis. *Head Neck* 2009; 31: 1600-9.
91. McCampbell AS, Raghunathan V, Tom-Moy M, Workman RK, Haven R, Ben-Dor A, et al. Tissue Thickness Effects on Immunohistochemical Staining Intensity of Markers of Cancer. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2017: Epub ahead of print.
92. Saper CB. A guide to the perplexed on the specificity of antibodies. *J Histochem Cytochem* 2009; 57: 1-5.
93. Shi SR, Cote RJ, Taylor CR. Antigen retrieval techniques: current perspectives. *J Histochem Cytochem* 2001; 49: 931-7.
94. Nakagaki T, Tamura M, Kobashi K, Koyama R, Fukushima H, Ohashi T, et al. Profiling cancer-related gene mutations in oral squamous cell carcinoma from Japanese patients by targeted amplicon sequencing. *Oncotarget* 2017; 8: 59113-22.



## ภาคผนวก

### เอกสารประกอบจริยธรรมการวิจัย

#### เอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับอาสาสมัครที่เข้าร่วมในการวิจัย (Patient/Participant Information Sheet)

1. โครงการเรื่อง การแสดงออกของซีดี 146 ในรอยโรคไลเคน แพลนัสและมะเร็งช่องปากในผู้ป่วยไทย
2. ชื่อผู้วิจัยหลัก ศ.ทญ.กอบกาญจน์ ทองประสม  
สถาบันที่สังกัด ภาควิชาเวชศาสตร์ช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
แหล่งทุนวิจัย - ทุนวิจัยคณาจารย์กรณีพิเศษ 250,000 บาท  
- ทุน 90 ปี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
3. วัตถุประสงค์ของโครงการ
  1. เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของการแสดงออกของ CD146 กับรอยโรคไลเคน แพลนัส ในช่องปากในผู้ป่วยคนไทย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
  2. เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของการแสดงออกของ CD146 กับรอยโรคกลุ่มที่มีความผิดปกติของเซลล์บางส่วนในชั้นเยื่อผิวหรือดิสเพลเซีย และมะเร็งเยื่อผิวเซลล์สควอเมัส
4. สถานที่ดำเนินการวิจัย
  - คลินิกบัณฑิตศึกษา ภาควิชาเวชศาสตร์ช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
  - ภาควิชาทันตพยาธิวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
  - คลินิกศัลยศาสตร์ คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## 5. วิธีการที่เกี่ยวข้องกับการวิจัย

การศึกษานี้ต้องการเปรียบเทียบการแสดงออกของ CD146 ในรอยโรคภายในช่องปากของผู้ป่วยไลเคน แพลนัส (lichen planus), รอยโรคกลุ่มที่มีความผิดปกติของเซลล์บางส่วนในชั้นเยื่อบุผิวหรือดิสเพลเซีย (moderate to severe epithelial dysplasia) และมะเร็งเยื่อบุผิวเซลล์สควอมาส (squamous cell carcinoma) ซึ่งมารับการรักษาที่คลินิกบัณฑิตศึกษา ภาควิชาเวชศาสตร์ช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เปรียบเทียบกับการแสดงออกในกลุ่มคนปกติ (ผู้ป่วยสุขภาพดีที่ต้องการผ่าฟันคุด) ซึ่งมารับการรักษาที่คลินิกศัลยศาสตร์ โดยผู้วิจัยจะทำการซักประวัติผู้ป่วย ตรวจสอบลักษณะรอยโรคต่างๆในช่องปาก และตัดชิ้นเนื้อบริเวณรอยโรคส่งไปยืนยันการวินิจฉัยทางจุลพยาธิวิทยา โดยชิ้นเนื้อที่ได้จะนำส่งตรวจการแสดงออกของ CD146 ด้วยวิธีการทางอิมมูโนฮิสโตเคมีเพิ่มเติมที่สถาบันพยาธิวิทยา กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ซึ่งข้อมูลทุกอย่างของผู้ป่วยจะถูกเก็บเป็นความลับ

## 6. เหตุผลที่เชิญเข้าร่วมเป็นอาสาสมัครในโครงการ

เนื่องจากท่านเป็นผู้ป่วยกลุ่มโรคไลเคน แพลนัส กลุ่มที่มีความผิดปกติของเซลล์บางส่วนในชั้นเยื่อบุผิวหรือดิสเพลเซีย และกลุ่มมะเร็งเยื่อบุผิวเซลล์สควอมาส ซึ่งมารับการรักษาที่คลินิกบัณฑิตศึกษา ภาควิชาเวชศาสตร์ช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย หรือเป็นผู้ป่วยที่มีสุขภาพดีและต้องการผ่าฟันคุดซึ่งมารับการรักษาที่คลินิกศัลยศาสตร์ ภาควิชาศัลยศาสตร์ คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## 7. ความรับผิดชอบของอาสาสมัคร และระยะเวลาที่อาสาสมัครจะอยู่ในโครงการ

ขอให้ท่านปฏิบัติตามที่ผู้วิจัยแนะนำดังนี้ ในระหว่างที่อยู่ในโครงการ

1. ปฏิบัติตามที่ทันตแพทย์แนะนำอย่างเคร่งครัด
2. มาติดตามผลทุกครั้ง หากไม่สามารถมาได้ให้แจ้งเลื่อนนัดล่วงหน้าอย่างน้อย 1 สัปดาห์

## 8. ประโยชน์ของการวิจัยที่อาสาสมัครและ/หรือผู้อื่นที่อาจได้รับ

สำหรับอาสาสมัครกลุ่มโรคไลเคน แพลนัส กลุ่มที่มีความผิดปกติของเซลล์บางส่วนในชั้นเยื่อบุผิวหรือดิสเพลเซีย และกลุ่มมะเร็งเยื่อบุผิวเซลล์สควอมาส จะได้รับการตรวจวินิจฉัยโดยการตัดชิ้นเนื้อส่งตรวจทางจุลพยาธิวิทยา โดยไม่เสียค่าใช้จ่าย ซึ่งการตัดชิ้นเนื้อส่งตรวจนั้นเป็นการตรวจวินิจฉัยตามขั้นตอนการรักษาปกติ และท่านได้รับข้อมูลที่เป็นประโยชน์ในการรักษาและการเฝ้าระวังรอยโรค

ที่เกี่ยวข้องกับตัวท่าน โดยเฉพาะโรคมะเร็งและโรคที่มีแนวโน้มเกิดมะเร็ง เช่น โรคไลเคน แพลนัส และโรคการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ในชั้นเยื่อบุผิว สำหรับอาสาสมัครกลุ่มควบคุมจะได้รับการตรวจวินิจฉัย โดยการตัดชิ้นเนื้อส่งตรวจทางจุลพยาธิวิทยา โดยไม่เสียค่าใช้จ่ายเช่นกัน ซึ่งหากพบความผิดปกติของผลชิ้นเนื้อ ทางคณะผู้วิจัยจะดำเนินการแจ้งผลให้อาสาสมัครทราบ นอกจากนี้ผลการวิจัยที่ได้จะเป็นองค์ความรู้ใหม่และเป็นประโยชน์ต่อผู้ป่วยรายอื่นๆในการดูแลรักษาต่อไป

#### 9. ความเสี่ยงหรือความไม่สะดวกที่อาจเกิดขึ้นแก่อาสาสมัคร และในบางกรณีแก่ทารกในครรภ์ หรือทารกที่ติ่มนมมารดา

ในกรณีของอาสาสมัครกลุ่มโรคไลเคน แพลนัส กลุ่มที่มีความผิดปกติของเซลล์บางส่วนในชั้นเยื่อบุผิวหรือดิสเพลเซีย และกลุ่มมะเร็งเยื่อบุผิวเซลล์สควอมีส การตัดชิ้นเนื้อส่งตรวจทางจุลพยาธิวิทยานั้นเป็นไปเพื่อการวินิจฉัยโรคและเป็นส่วนหนึ่งของขั้นตอนการรักษาตามปกติ เพียงแต่โครงการวิจัยนี้จะนำตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ได้มาทำการตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธีการทางอิมมูโนฮิสโตเคมีเพิ่มเติมเท่านั้น

สำหรับความเสี่ยงจากการตัดชิ้นเนื้อ มีได้ดังนี้

- รอยแผลเป็น : ซึ่งอาจเกิดขึ้นหรือไม่ก็ได้ แผลเป็นที่อาจเกิดขึ้นมีขนาดเล็กประมาณ 4 มม. นอกจากนี้สีของแผลเป็น มีลักษณะสีขาวจางค่อนข้างกลมกลืนกับสีภายในของเนื้อเยื่อช่องปาก อาจพบรอยนูนเพียงเล็กน้อยประกอบกับอยู่ภายในช่องปาก จึงทำให้เห็นไม่ชัด

- เจ็บแผลหลังจากผ่าตัด : ง่ายยาพาราเซตามอลบรรเทาอาการปวด

- เลือดออกบริเวณแผล : ทันตแพทย์จะทำการเย็บแผลเพื่อห้ามเลือด

ในกรณีของอาสาสมัครที่มีสุขภาพดีและต้องการผ่าตัด

จะทำการตัดชิ้นเนื้อขนาดประมาณ  $4 \times 5$  มม.<sup>2</sup> โดยชิ้นเนื้อที่ตัดจะมีขนาดเล็กมากและอยู่ติดกับบริเวณที่จำเป็นจะต้องมีการทำหัตถการเพื่อผ่าตัดฟันคุดอยู่แล้ว สำหรับความเสี่ยงที่เกี่ยวข้องกับการตัดชิ้นเนื้อหลังผ่าตัด คือ เลือดออกบริเวณแผล ซึ่งจะมีการเย็บปิดแผลตามขั้นตอนการรักษาของการผ่าตัดฟันคุดตามปกติ

#### 10. ค่าใช้จ่ายที่อาสาสมัครจะต้องจ่าย หรืออาจจะต้องจ่าย

- ผู้วิจัยรับผิดชอบค่าใช้จ่ายในการตัดชิ้นเนื้อเพื่อส่งตรวจทางจุลพยาธิวิทยาและค่าใช้จ่ายการย้อมชิ้นเนื้อด้วยวิธีทางอิมมูโนฮิสโตเคมี

- อาสาสมัครรับผิดชอบค่าใช้จ่ายอื่นตามการรักษาปกติ

11. การชดเชยใดๆ และการรักษาที่จะจัดให้แก่อาสาสมัครในกรณีที่ได้รับอันตรายซึ่งเกี่ยวข้องกับ การวิจัย

ผู้วิจัยและผู้สนับสนุนการวิจัยจะเป็นผู้รับผิดชอบในการดำเนินการให้ท่านได้รับการรักษา อย่างถูกต้องเหมาะสมต่อไป

12. การจ่ายค่าเดินทาง ค่าเสียเวลา แก่อาสาสมัครที่เข้าร่วมในการวิจัย

ค่าตอบแทนแก่อาสาสมัครที่มีสุขภาพดีและกลุ่มผู้ป่วยรายละ 500 บาท

13. เหตุการณ์ที่อาจเกิดขึ้น หรือเหตุผลซึ่งผู้วิจัยจะต้องยกเลิกการเข้าร่วมในโครงการวิจัยของ อาสาสมัคร

มีการตรวจพบภายหลังว่าคุณสมบัติของอาสาสมัครไม่ตรงตามเงื่อนไขของงานวิจัยที่กำหนด ไว้ หรือไม่มาติดตามการรักษาเกิน 3 ครั้ง

14. มีการเก็บชิ้นตัวอย่างที่ได้มาจากอาสาสมัครเอาไว้ใช้ในโครงการวิจัยในอนาคตหรือไม่ เก็บจำนวน เท่าไหร่ อย่างไร และที่ไหน

ชิ้นเนื้อทั้งหมดจะถูกจัดเก็บภายในพาราฟินบล็อก ที่ภาควิชาทันตพยาธิวิทยา โดยชิ้นเนื้อที่ ถูกจัดเก็บไว้อาจจะนำมาใช้ในการศึกษาเพิ่มเติมต่อไปในอนาคต โดยวิธีการทางเทคนิคขั้นสูง

15. การกำกับดูแลและควบคุมการดำเนินโครงการ

ผู้กำกับดูแลการวิจัย ผู้ตรวจสอบ คณะกรรมการพิจารณาจริยธรรม และคณะกรรมการที่ เกี่ยวข้อง สามารถเข้าไปตรวจสอบการดำเนินโครงการ รวมทั้ง ตรวจสอบบันทึกข้อมูลของอาสาสมัคร เพื่อเป็นการยืนยันถึงขั้นตอนในการวิจัยทางคลินิกและข้อมูลอื่นๆ โดยไม่ล่วงละเมิดเอกสิทธิ์ในการ ปิดบังข้อมูลของอาสาสมัคร ตามกรอบที่กฎหมายและกฎระเบียบได้อนุญาตไว้ นอกจากนี้ โดยการลง นามให้ความยินยอม อาสาสมัครหรือ ผู้แทนตามกฎหมายจะมีสิทธิตรวจสอบและมีสิทธิที่จะได้รับ ข้อมูลด้วยเช่นกัน

## 16. จริยธรรมการวิจัย

การดำเนินการโครงการวิจัยนี้ ผู้วิจัยคำนึงถึงหลักจริยธรรมการวิจัย ดังนี้

1. หลักความเคารพในบุคคล (Respect for person) โดยการให้ข้อมูลจนอาสาสมัครเข้าใจ เป็นอย่างดีและตัดสินใจอย่างอิสระในการให้ความยินยอมเข้าร่วมในการวิจัย รวมทั้งการเก็บรักษา ความลับของอาสาสมัคร
2. หลักการให้ประโยชน์ไม่ก่อให้เกิดอันตราย (Beneficence/Non-Maleficence) ซึ่งได้ระบุ ในข้อ 8 และ 9 ว่าจะมีประโยชน์หรือความเสี่ยงกับอาสาสมัครหรือไม่
3. หลักความยุติธรรม (Justice) คือ มีเกณฑ์คัดเข้าและคัดออกชัดเจน มีการกระจายความ เสี่ยงและผลประโยชน์ อย่างเท่าเทียมกัน โดยวิธีสุ่มเข้ากลุ่มศึกษา

17. ข้อมูลที่อาจนำไปสู่การเปิดเผยตัวของอาสาสมัครจะได้รับการปกปิด ยกเว้นว่าได้รับคำยินยอมไว้ โดยกฎระเบียบและกฎหมายที่เกี่ยวข้องเท่านั้น จึงจะเปิดเผยข้อมูลแก่สาธารณชนได้ ในกรณีที่ ผลการวิจัยได้รับการตีพิมพ์ ชื่อและที่อยู่ของอาสาสมัครจะต้องได้รับการปกปิดอยู่เสมอ และ อาสาสมัครหรือผู้แทนตามกฎหมายจะได้รับแจ้งโดยทันท่วงที ในกรณีที่มีข้อมูลใหม่ซึ่งอาจใช้ ประกอบการตัดสินใจของอาสาสมัครว่าจะยังคงเข้าร่วมในโครงการวิจัยต่อไปได้หรือไม่

18. หากท่านมีข้อสงสัยต้องการสอบถามเกี่ยวกับสิทธิของท่านหรือผู้วิจัยไม่ปฏิบัติตามที่เขียนไว้ใน เอกสารข้อมูลคำ

อธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในการวิจัย ท่านสามารถติดต่อหรือร้องเรียนได้ที่

ฝ่ายวิจัย คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตึกสมเด็จย่า 93 ชั้น 10 หรือที่หมายเลขโทรศัพท์ 02-218-8866 ในเวลาทำการ

19 หากท่านต้องการยกเลิกการเข้าร่วมเป็นอาสาสมัครในโครงการนี้ ให้ท่านกรอกและส่งเอกสารขอยกเลิกมาที่

ศ.ทญ.กอบกาญจน์ ทองประสม

ภาควิชาเวชศาสตร์ช่องปาก

คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย

เบอร์โทรศัพท์ 02-218-8936

20. อาสาสมัครสามารถติดต่อผู้วิจัยได้ **ตลอด 24 ชั่วโมง** ที่:

ผู้วิจัยหลัก

ศ.ทญ.กอบกาญจน์ ทองประสม

ภาควิชาเวชศาสตร์ช่องปาก

คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย

เบอร์โทรศัพท์ 02-218-8936

( ศ.ทญ.กอบกาญจน์ ทองประสม )

ผู้วิจัยหลัก

วันที่...../...../.....

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

CHULALONGKORN UNIVERSITY

## เอกสารยินยอมเข้าร่วมการวิจัย (Consent Form)

การวิจัยเรื่อง การแสดงออกของซีดี 146 ในรอยโรคไลเคน แพลนัสและมะเร็งช่องปากในผู้ป่วยไทย  
 ข้าพเจ้า (นาย/ นาง/ นางสาว/ เด็กชาย/ เด็กหญิง).....

อยู่บ้านเลขที่.....ถนน.....ตำบล/แขวง.....

อำเภอ/เขต.....จังหวัด.....รหัสไปรษณีย์.....

ก่อนที่จะลงนามในใบยินยอมให้ทำการวิจัยนี้

1. ข้าพเจ้าได้รับทราบรายละเอียดข้อมูลคำอธิบายสำหรับอาสาสมัครที่เข้าร่วมในการวิจัย รวมทั้งได้รับการอธิบายจากผู้วิจัยถึงวัตถุประสงค์ของการวิจัย วิธีการทำวิจัย อันตรายหรืออาการที่อาจเกิดขึ้นจากการทำวิจัยหรือจากยาที่ใช้รวมทั้งประโยชน์ที่จะเกิดขึ้นจากการวิจัย อย่างละเอียดและมีความเข้าใจดีแล้ว
2. ผู้วิจัยรับรองว่าจะตอบคำถามต่างๆ ที่ข้าพเจ้าสงสัยด้วยความเต็มใจไม่ปิดบังซ่อนเร้นจนข้าพเจ้าพอใจ
3. ผู้วิจัยรับรองว่าจะเก็บข้อมูลเฉพาะเกี่ยวกับตัวข้าพเจ้าเป็นความลับและจะเปิดเผยได้เฉพาะในรูปที่เป็นสรุปผลการวิจัย การเปิดเผยข้อมูลเกี่ยวกับตัวข้าพเจ้าต่อหน่วยงานต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกระทำได้เฉพาะกรณีจำเป็นด้วยเหตุผลทางวิชาการเท่านั้น และผู้วิจัยรับรองว่าหากเกิดอันตรายใดๆ จากการวิจัยดังกล่าว ข้าพเจ้าจะได้รับการรักษาพยาบาลโดยไม่คิดมูลค่า
4. ข้าพเจ้ามีสิทธิที่จะบอกเลิกการเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้เมื่อใดก็ได้และการบอกเลิกการเข้าร่วมการวิจัยนี้จะไม่ส่งผลต่อการรักษาโรคที่ข้าพเจ้าจะพึงได้รับต่อไป

ข้าพเจ้าจึงสมัครใจเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้ตามที่ระบุในเอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับอาสาสมัครและได้ลงนามในใบยินยอมนี้ด้วยความเต็มใจ และได้รับสำเนาเอกสารใบยินยอมที่ข้าพเจ้าลงนามและลงวันที่ และเอกสารยกเลิกการเข้าร่วมวิจัย อย่างละ 1 ฉบับ เป็นที่เรียบร้อยแล้ว ในกรณีที่อาสาสมัครยังไม่บรรลุนิติภาวะจะต้องได้รับการยินยอมจากผู้ปกครองด้วย



ลงนาม..... (อาสาสมัคร) (.....) วันที่...../...../.....	ลงนาม..... (ผู้ปกครอง) (.....) วันที่...../...../.....
ลงนาม..... (ผู้วิจัยหลัก) (ศ.ทญ.กอบกาญจน์ ทองประสม) วันที่...../...../.....	ลงนาม..... (พยาน) (.....) วันที่...../...../.....

ข้าพเจ้าไม่สามารถอ่านหนังสือได้ แต่ผู้วิจัยได้อ่านข้อความในใบยินยอมนี้ให้แก่ข้าพเจ้าฟังจนเข้าใจดีแล้ว ข้าพเจ้าจึงลงนาม หรือประทับลายนิ้วหัวแม่มือขวาของข้าพเจ้าในใบยินยอมนี้ด้วยความเต็มใจ

ลงนาม..... (อาสาสมัคร) (.....) วันที่...../...../.....	ลงนาม..... (ผู้ปกครอง) (.....) วันที่...../...../.....
ลงนาม..... (ผู้วิจัยหลัก) (ศ.ทญ.กอบกาญจน์ ทองประสม) วันที่...../...../.....	ลงนาม.....(พยาน) (.....) วันที่...../...../.....

## ผลการพิจารณาจริยธรรมการวิจัย



No. 012/2016

### Study Protocol and Consent Form Approval Certificate of Exemption

The Human Research Ethics Committee of the Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand has approved the following study to be carried out according to the protocol and patient/participant information sheet dated and/or amended as follows in compliance with the ICH/GCP with exemption

**Study Title** : CD146 expression in oral lichen planus and oral cancer in Thai patients  
**Study Code** : HREC-DCU 2017 - 006  
**Study Center** : Chulalongkorn University  
**Principle Investigator** : Miss Sarinthon Pariyawathee  
**Protocol Date** : February 7, 2017  
**Date of Approval** : March 3, 2017  
**Date of Expiration** : March 2, 2019

(Associate Professor Dr. Veera Lertchirakarn)  
**Chairman of Ethics Committee**

(Assistant Professor Dr. Kanokporn Bhalang)  
**Associate Dean for Research**

\*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 (upon requested). This Study Protocol Approval Form will be forwarded to the Principal Investigator.

Approval is granted subject to the following conditions: (see back of the approval)

## ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การทดสอบการกระจายตัวของค่าเฉลี่ยร้อยละของจำนวนเคอราติโนไซต์ที่มีการแสดงออกของ  
ชนิด 146 ในเนื้อเยื่อช่องปากระหว่างกลุ่มการศึกษา

### Tests of Normality

Diagnosis	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Percent_ Normal	.163	20	.171	.919	20	.095
positve_ OLP	.145	20	.200*	.943	20	.273
cell OED	.142	20	.200*	.930	20	.154
SCC	.172	20	.123	.897	20	.036

\*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction



### One – way ANOVA test

การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละของจำนวนเคอราติโนไซต์ที่มีการแสดงออกของซีดี 146 ในเนื้อเยื่อช่องปากระหว่างกลุ่มการศึกษา

#### Test of Homogeneity of Variances

Percent\_positve\_cell

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.651	3	76	.016

#### ANOVA

Percent\_positve\_cell

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	30726.838	3	10242.279	19.417	.000
Within Groups	40088.639	76	527.482		
Total	70815.477	79			

#### Robust Tests of Equality of Means

Percent\_positve\_cell

	Statistic <sup>a</sup>	df1	df2	Sig.
Welch	20.218	3	41.093	.000

a. Asymptotically F distributed.

### Multiple Comparisons

Dependent Variable: Percent\_positve\_cell

Tamhane

(I) Diagnosis	(J) Diagnosis	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Normal	OLP	-40.35900*	6.45780	.000	-58.4690	-22.2490
	OED	-40.99450*	7.30828	.000	-61.6292	-20.3598
	SCC	-3.08800	5.81759	.996	-19.3158	13.1398
OLP	Normal	40.35900*	6.45780	.000	22.2490	58.4690
	OED	-.63550	8.46476	1.000	-24.1606	22.8896
	SCC	37.27100*	7.21703	.000	17.2179	57.3241
OED	Normal	40.99450*	7.30828	.000	20.3598	61.6292
	OLP	.63550	8.46476	1.000	-22.8896	24.1606
	SCC	37.90650*	7.98707	.000	15.6271	60.1859
SCC	Normal	3.08800	5.81759	.996	-13.1398	19.3158
	OLP	-37.27100*	7.21703	.000	-57.3241	-17.2179
	OED	-37.90650*	7.98707	.000	-60.1859	-15.6271

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

## Independent T-test

การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละของจำนวนเคอราติโนไซต์ที่มีการแสดงออกของซีดี 146 ในเนื้อเยื่อช่องปากระหว่างอีพิทีเลียล ดิสเพลเซียในระดับปานกลางและระดับรุนแรง

### Tests of Normality

Epithelial_ dysplasia	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk	
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df
Percent_ Mod positive_ dysplasia cells	.202	13	.150	.902	13
Severe dysplasia	.144	7	.200*	.974	7

		Shapiro-Wilk <sup>a</sup>
Epithelial_dysplasia		Sig.
Percent_positive_cells	Mod dysplasia	.144
	Severe dysplasia	.925

## Independent T-test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means
		F	Sig.	t
Percent_positive_cells	Equal variances assumed	.087	.772	2.032
	Equal variances not assumed			1.951

		t-test for Equality of Means		
		df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference
Percent_positive_cells	Equal variances assumed	18	.057	25.48681
	Equal variances not assumed	11.072	.077	25.48681

CHULALONGKORN UNIVERSITY

## Percent\_positive\_cells

Epithelial_dysplasia	Mean	N	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Mod dysplasia	68.9554	13	25.52910	18.26	98.67
Severe dysplasia	43.4686	7	29.04586	5.88	87.08
Total	60.0350	20	28.87211	5.88	98.67

## Independent T-test

การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละของจำนวนเคอราติโนไซต์ที่มีการแสดงออกของซีดี 146 ในเนื้อเยื่อช่องปากระหว่างมะเร็งเยื่อเมือกเซลล์สควอมีตในระดับ Well-differentiated และ Moderately-differentiated

## Tests of Normality

Grading	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk	
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df
Percent_ Well-differentiate	.161	10	.200*	.910	10
positive_ Mod-differentiate	.203	10	.200*	.870	10
cells					

Grading	Shapiro-Wilk <sup>a</sup>
	Sig.
Percent_positive_ Well-differentiate	.280
cells Mod-differentiate	.100



## Independent T-test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means
		F	Sig.	t
Percent_ positive_ cells	Equal variances assumed	.764	.394	.579
	Equal variances not assumed			.579

		t-test for Equality of Means		
		df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference
Percent_ positive_ cells	Equal variances assumed	18	.570	5.54300
	Equal variances not assumed	17.097	.570	5.54300

		t-test for Equality of Means		
		Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
			Lower	Upper
Percent_ positive_ cells	Equal variances assumed	9.57394	-14.57111	25.65711
	Equal variances not assumed	9.57394	-14.64752	25.73352

Group Statistics

OSCC	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Percent_ Well-differentiate	10	24.9000	23.74065	7.50745
positive_ Mod-differentiate cells	10	19.3570	18.78792	5.94126



## Chi-square test

เปรียบเทียบสัดส่วนระดับความเข้มในการติดสีของเคอราติโนไซต์ระหว่างกลุ่ม NOM และ OLP

	Value	df	Asymptotic Significance (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	9.371 <sup>a</sup>	3	.025	.014	
Likelihood Ratio	11.780	3	.008	.011	
Fisher's Exact Test	8.614			.014	
Linear-by-Linear Association	9.057 <sup>b</sup>	1	.003	.003	.002
N of Valid Cases	40				

	Point Probability
Pearson Chi-Square	
Likelihood Ratio	
Fisher's Exact Test	
Linear-by-Linear Association	.001
N of Valid Cases	

- a. 4 cells (50.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 1.00.  
 b. The standardized statistic is 3.009.

เปรียบเทียบสัดส่วนระดับความเข้มในการติดสีของเคอราติโนไซต์ระหว่างกลุ่ม NOM และ OED

	Value	df	Asymptotic Significance (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	16.000 <sup>a</sup>	3	.001	.000	
Likelihood Ratio	21.080	3	.000	.000	
Fisher's Exact Test	16.925			.000	
Linear-by-Linear Association	12.037 <sup>b</sup>	1	.001	.001	.000
N of Valid Cases	40				

	Point Probability
Pearson Chi-Square	
Likelihood Ratio	
Fisher's Exact Test	
Linear-by-Linear Association	.000
N of Valid Cases	

a. 2 cells (25.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 1.00.

b. The standardized statistic is 3.469.

เปรียบเทียบสัดส่วนระดับความเข้มในการติดสีของเคอราติโนไซต์ระหว่างกลุ่ม NOM และ OSCC

	Value	df	Asymptotic Significance (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	3.412 <sup>a</sup>	3	.332	.364	
Likelihood Ratio	4.203	3	.240	.343	
Fisher's Exact Test	3.035			.431	
Linear-by-Linear Association	.041 <sup>b</sup>	1	.840	1.000	.500
N of Valid Cases	40				

	Point Probability
Pearson Chi-Square	
Likelihood Ratio	
Fisher's Exact Test	
Linear-by-Linear Association	.155
N of Valid Cases	

a. 4 cells (50.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 1.00.

b. The standardized statistic is -.202.

เปรียบเทียบสัดส่วนระดับความเข้มในการติดสีของเคอราติโนไซต์ระหว่างกลุ่ม OLP และ OED

	Value	df	Asymptotic Significance (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	7.378 <sup>a</sup>	2	.025	.028	
Likelihood Ratio	7.694	2	.021	.038	
Fisher's Exact Test	7.283			.028	
Linear-by-Linear Association	1.519 <sup>b</sup>	1	.218	.305	.152
N of Valid Cases	40				

	Point Probability
Pearson Chi-Square	
Likelihood Ratio	
Fisher's Exact Test	
Linear-by-Linear Association	.078
N of Valid Cases	

a. 2 cells (33.3%) have expected count less than 5.

The minimum expected count is 4.50.

b. The standardized statistic is 1.233.

เปรียบเทียบสัดส่วนระดับความเข้มในการติดสีของเคอราติโนไซต์ระหว่างกลุ่ม OLP และ OSCC

	Value	df	Asymptotic Significance (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	9.472 <sup>a</sup>	3	.024	.019	
Likelihood Ratio	11.168	3	.011	.021	
Fisher's Exact Test	9.035			.024	
Linear-by-Linear Association	7.468 <sup>b</sup>	1	.006	.009	.004
N of Valid Cases	40				

	Point Probability
Pearson Chi-Square	
Likelihood Ratio	
Fisher's Exact Test	
Linear-by-Linear Association	.003
N of Valid Cases	

a. 4 cells (50.0%) have expected count less than

5. The minimum expected count is 2.00.

b. The standardized statistic is -2.733.

เปรียบเทียบสัดส่วนระดับความเข้มในการติดสีของเคอราติโนไซต์ระหว่างกลุ่ม OED และ OSCC

	Value	df	Asymptotic Significance (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	11.485 <sup>a</sup>	3	.009	.007	
Likelihood Ratio	13.675	3	.003	.005	
Fisher's Exact Test	11.256			.007	
Linear-by-Linear Association	10.494 <sup>b</sup>	1	.001	.001	.001
N of Valid Cases	40				

	Point Probability
Pearson Chi-Square	
Likelihood Ratio	
Fisher's Exact Test	
Linear-by-Linear Association	.001
N of Valid Cases	

- a. 4 cells (50.0%) have expected count less than  
5. The minimum expected count is 2.00.
- b. The standardized statistic is -3.239.



สัดส่วนระดับความเข้มในการติดสีของเคอราติโนไซต์ระหว่างกลุ่มการศึกษา

			Stain_intensity			
			unstain	mild	moderate	strong
Diagnosis Normal	Count		2	10	8	0
	Expected Count		1.5	7.0	7.3	4.3
	% within Diagnosis		10.0%	50.0%	40.0%	0.0%
	% within Stain_intensity		33.3%	35.7%	27.6%	0.0%
	% of Total		2.5%	12.5%	10.0%	0.0%
OLP	Count		0	4	12	4
	Expected Count		1.5	7.0	7.3	4.3
	% within Diagnosis		0.0%	20.0%	60.0%	20.0%
	% within Stain_intensity		0.0%	14.3%	41.4%	23.5%
	% of Total		0.0%	5.0%	15.0%	5.0%
ED	Count		0	5	4	11
	Expected Count		1.5	7.0	7.3	4.3
	% within Diagnosis		0.0%	25.0%	20.0%	55.0%
	% within Stain_intensity		0.0%	17.9%	13.8%	64.7%
	% of Total		0.0%	6.3%	5.0%	13.8%
SCC	Count		4	9	5	2
	Expected Count		1.5	7.0	7.3	4.3
	% within Diagnosis		20.0%	45.0%	25.0%	10.0%
	% within Stain_intensity		66.7%	32.1%	17.2%	11.8%
	% of Total		5.0%	11.3%	6.3%	2.5%
Total	Count		6	28	29	17
	Expected Count		6.0	28.0	29.0	17.0
	% within Diagnosis		7.5%	35.0%	36.3%	21.3%
	% within Stain_intensity		100.0%	100.0%	100.0%	100.0%
	% of Total		7.5%	35.0%	36.3%	21.3%

### Intraclass Correlation Coefficient

	Intraclass Correlation <sup>b</sup>	95% Confidence Interval		F Test with True Value		
		Lower Bound	Upper Bound	Value	df1	df2
Single Measures	.994 <sup>a</sup>	.992	.995	312.898	453	453
Average Measures	.997 <sup>c</sup>	.996	.997	312.898	453	453

### Intraclass Correlation Coefficient

	F Test with True Value 0 <sup>b</sup>
	Sig
Single Measures	.000
Average Measures	.000

Two-way mixed effects model where people effects are random and measures effects are fixed.

- The estimator is the same, whether the interaction effect is present or not.
- Type C intraclass correlation coefficients using a consistency definition. The between-measure variance is excluded from the denominator variance.
- This estimate is computed assuming the interaction effect is absent, because it is not estimable otherwise.

### ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวสรินธร ปริยะวาที เกิดเมื่อวันที่ 27 ตุลาคม พ.ศ. 2530 ที่จังหวัดสงขลา สำเร็จการศึกษาปริญญาตรีทันตแพทยศาสตรบัณฑิต จากมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ในปีการศึกษา 2557 และได้รับการบรรจุในตำแหน่งทันตแพทย์ปฏิบัติการ ในสังกัดกระทรวงสาธารณสุข ปัจจุบันดำรงตำแหน่งทันตแพทย์ปฏิบัติการ โรงพยาบาลปะนาเระ จังหวัดปัตตานี และในปีการศึกษา 2559 ได้รับการอนุมัติให้ลาศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเวชศาสตร์ช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

