

อัตราการตรวจพบการแสดงออกของยีนเอสเอฟทีพีบีและยีนเคอาร์ทีพีอาร์ทีน  
โดยวิธีอิมมูโนฮิสโทเคมีสทรีในเนื้อเยื่อมะเร็งชนิดสความัส  
ของผู้ป่วยโรคมะเร็งปอด กับ มะเร็งศีรษะและคอ

นางณัฏยา ภู่วรรณ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาอายุรศาสตร์ ภาควิชาอายุรศาสตร์  
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
ปีการศึกษา 2555  
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย

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 Graduate School.

DETECTION RATE OF *SFTP*B AND *KRT14* EXPRESSION BY  
IMMUNOHISTOCHEMISTRY METHOD IN SQUAMOUS CELL CARCINOMA  
OF LUNG AND HEAD-NECK CANCER TISSUE

Mrs. Nattaya Poovorawan

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

Department of Medicine

Faculty of Medicine

Chulalongkorn University

Academic Year 2012

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์

อัตราการตรวจพบการแสดงออกของยีนเอสเอฟทีพีบี  
และยีนเคอาร์ทีไพร์ทีนโดยวิธีอิมมูโนฮิสโทเคมีสทรี  
ในเนื้อเยื่อมะเร็งชนิดสควamousของผู้ป่วยโรคมะเร็งปอด  
กับ มะเร็งศีรษะและคอ

โดย

นางณัฏฐา ภู่วรรณ

สาขาวิชา

อายุรศาสตร์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ วิโรจน์ ศรีอุฬารพงศ์

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่ง  
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

.....คณบดีคณะแพทยศาสตร์

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ ไศภณ นภาธร)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ มนต์ชัย ชาลาประวรรตน์)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ วิโรจน์ ศรีอุฬารพงศ์)

.....กรรมการ

(อาจารย์แพทย์หญิงรภัศ พิทยานนท์)

.....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(อาจารย์นายแพทย์รัช อธิวิวัฒน์)



## 5474117830: MAJOR MEDICINE

KEYWORDS : SQUAMOUS CELL CARCINOMA / LUNG CANCER / HEAD-NECK CANCER / IMMUNOHISTOCHEMISTRY / *SFTP*B / *KRT14*

NATTAYA POOVORAWAN : DETECTION RATE OF *SFTP*B AND *KRT14* EXPRESSION BY IMMUNOHISTOCHEMISTRY METHOD IN SQUAMOUS CELL CARCINOMA OF LUNG AND HEAD-NECK CANCER TISSUE. ADVISOR: ASST.PROF. VIROTE SRIURANPONG, M.D., 73pp.

**Background:** Synchronous lung squamous cell carcinoma (LSCC) and head-neck squamous cell carcinoma (HNSCC) is not uncommon. Currently there is no practical standard tool to distinguish the two primary organs.

**Objective:** To investigate the utility of detecting *surfactant protein-B (SFTP*B) and *keratin-14 (KRT14)* by immunohistochemistry (IHC) in LSCC and HNSCC tissue.

**Patients and methods:** Seventy-eight squamous cell carcinoma tumor tissues from patients who had been diagnosed single cancer either LSCC or HNSCC (37 LSCC, 41 HNSCC) during 2007-2012 in our institute were selected. Demographic, clinical and pathological data were reviewed from hospital medical records. IHC testing for *SFTP*B and *KRT14* were done in all recruited samples.

**Results:** Qualitatively, detection rate of *KRT14* expression by IHC in LSCC and HNSCC tissue were statistically difference 32/37(86.5%) VS 40/41(97.6%), respectively ( $p=0.01$ ). However, *SFTP*B expressions in both cancers were similar in LSCC and HNSCC 3/34(8.1%) VS 2/41(4.9%), respectively ( $p = 0.76$ ). With a semi-quantitative scoring system, HNSCC had a significantly higher mean percentage of *KRT14* expression  $70.2 \pm 37.3\%$  than LSCC  $41.6 \pm 38.1\%$  ( $p < 0.01$ ). Using the cut-off value of 50%, *KRT14* expression could correctly classify HNSCC 27/41(65.9%) from LSCC 11/37(29.7%) with significant difference ( $p=0.02$ ).

**Conclusion:** Our study suggests that detection of *KRT14* expression by IHC may serve as a potential biomarker to determine the primary LSCC versus lung metastatic from HNSCC.

Department :.....Medicine.....Student's Signature .....

Field of Study :.....Medicine.....Advisor's Signature.....

Academic Year :...2012.....

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณทุกท่านที่มีส่วนร่วมทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงสมความมุ่งหมาย

ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1. ผู้ช่วยศาสตราจารย์นายแพทย์วิโรจน์ ศรีอุฬารพงศ์ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการวิจัย
2. อาจารย์แพทย์หญิงชนิตา วินะยานุวัติคุณ ให้คำปรึกษาการทำวิจัย
3. อาจารย์นายแพทย์สีบพงศ์ ธนสารวิมล ให้คำปรึกษาการทำวิจัย
4. อาจารย์แพทย์หญิงนภา ปริญญานิติกุล ให้คำปรึกษาการทำวิจัย
5. คุณชวลิต แซ่ล้อ พนักงานวิจัย ช่วยประสานงานและติดตามผู้ป่วย
6. คุณศิริพรรณ โฉมไธ ช่วยประสานงานและติดตามผู้ป่วย

ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

7. รองศาสตราจารย์นายแพทย์ปฎุทธิรัฐ จันทรานุวัฒน์ ผู้ช่วยเหลือในด้านการตรวจสอบคุณภาพของชิ้นเนื้อและการแปรผลทางพยาธิวิทยา
8. รองศาสตราจารย์นายแพทย์สมบุญ คีลาวัฒน์ ผู้ช่วยเหลือในด้านการตรวจสอบคุณภาพของชิ้นเนื้อพยาธิวิทยาและการแปรผลทางพยาธิวิทยา
9. คุณปรีชา เรืองเพชรชัย เจ้าหน้าที่ชำนาญการ ระดับ 5 (เทคนิคการแพทย์) ผู้ช่วยเหลือในด้านการจัดเตรียมชิ้นเนื้อพยาธิวิทยาและจัดหาแอนติบอดี
10. คุณจุฑามาศ วงศ์ภูมิ นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ ระดับ 5 ผู้ช่วยเหลือในด้านการจัดเตรียมชิ้นเนื้อพยาธิวิทยา

และขอบคุณเจ้าหน้าที่หน่วยมะเร็งวิทยา ภาควิชาอายุรศาสตร์ เจ้าหน้าที่แผนกพยาธิวิทยา  
เจ้าหน้าที่แผนกเวชระเบียน โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ทุกท่าน

รวมทั้งบิดา, มารดา, และครอบครัว

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย .....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ .....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ซ
สารบัญแผนภูมิหรือรูปภาพ.....	ฅ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ .....	ญ
บทที่ 1 บทนำ .....	1
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง .....	7
บทที่ 3 มะเร็งปอดและมะเร็งปอดชนิดสความัส.....	15
บทที่ 4 มะเร็งศีรษะและคอ .....	35
บทที่ 5 การการแสดงออกของยีนเอสเอฟทีพีบีและยีนเคอาร์ทีพีอาร์ทีน โดยวิธีอิมมูโนฮิสโทเคมีสทรี.....	48
บทที่ 6 วิธีดำเนินการวิจัย.....	56
บทที่ 7 ผลการศึกษา .....	64
บทที่ 8 สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ .....	71
รายการอ้างอิง.....	74
ภาคผนวก.....	84
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	91

## สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 1	การแสดงผลของยีนโดยวิธีอาร์ทีพีซีอาร์ เปรียบเทียบกับวิธีอิมมูโนฮิสโทเคมีสทรี .....	9
ตารางที่ 2	แสดง American Joint Committee on Cancer (AJCC) TNM staging ของโรคมะเร็งปอดชนิด Non-small cell lung cancer .....	25
ตารางที่ 3	แสดง American Joint Committee on Cancer (AJCC) TNM staging ของโรคมะเร็งศีรษะและคอ .....	45
ตารางที่ 4	แสดงลักษณะพื้นฐานของประชากรมะเร็งสตรี .....	65
ตารางที่ 5	แสดงผลการตรวจทางพยาธิวิทยาของยีนเคอาร์ทีพีอาร์ โดยวิธีอิมมูโนฮิสโทเคมีสทรี .....	67
ตารางที่ 6	แสดงผลการตรวจทางพยาธิวิทยาของยีนเอสเอฟทีพีบี โดยวิธีอิมมูโนฮิสโทเคมีสทรี .....	68
ตารางที่ 7	แสดงค่าความสัมพันธ์ระหว่างระยะของโรคและการตรวจพบการแสดงออกของ ยีนเคอาร์ทีพีอาร์ทีนและยีนเอสเอฟทีพีบีโดยวิธีอิมมูโนฮิสโทเคมีสทรี .....	68



## สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 1	แสดงตำแหน่งของยีนเอสเอฟทีพีบี)SFTPБ.....	10
รูปที่ 2	แสดงตำแหน่งของยีนเคอาร์ทีไฟร์ทีน)KRT14 .....	13
รูปที่ 3	แสดงอัตราการรอดชีวิตที่ 5ปีตามระยะของโรคมะเร็งปอด ชนิด Non-small cell lung cancer .....	27
รูปที่ 4	แสดงสัดส่วนความผิดปกติทางพันธุกรรมของยีนในมะเร็งปอดความถี่ ที่ค้นพบในปัจจุบัน .....	33
รูปที่ 5	แสดงตำแหน่งความผิดปกติทางพันธุกรรมของยีนในมะเร็งปอดความถี่ อยู่ระหว่างการวิจัยและยารักษาที่.....	34
รูปที่ 6	แสดงอวัยวะส่วนต่างๆบริเวณศีรษะและลำคอ .....	36
รูปที่ 7	แสดงเครื่องย้อมอิมมูโนฮิสโทเคมีสอัตโนมัติ.....	54
รูปที่ 8	แสดงบล็อคพาราฟินและสไลด์ที่ย้อมด้วยแอนติบอดี.....	55
รูปที่ 9	แสดงการติดสีอิมมูโนฮิสโทเคมีสที่รีของยีนเอสเอฟทีพีบี .....	69
รูปที่ 10	แสดงการติดสีอิมมูโนฮิสโทเคมีสที่รีของยีนเคอาร์ทีไฟร์ทีน .....	70

**คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ**

LSCC	Lung squamous cell carcinoma
HNSCC	Head neck squamous cell carcinoma
KRT 14	Cytokeratin 14
SFTPБ	Surfactant, pulmonary-associated protein B
IHC	Immunohistochemistry
AJCC	American Joint Committee on Cancer
TNM	Tumor-Node-Metastasis
ECOG	Eastern Collaborative Oncology Group
PCR	Polymerase chain reaction
USG	Ultrasonography
MRI	Magnetic resonance imaging
CT	Computed tomography

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย (Background and Rationale)

ในปัจจุบันโรคมะเร็งปอดและมะเร็งศีรษะและคอ มีอุบัติการณ์ของโรคเพิ่มขึ้นในทุกปีและเป็นสาเหตุการเสียชีวิตที่สำคัญในกลุ่มโรคมะเร็งของทั้งในทั่วโลก(1)และในประเทศไทย

โดยพบว่า การสูบบุหรี่ ถือเป็นปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญของการเกิดโรคมะเร็งทั้ง 2 ชนิดนี้ และสามารถตรวจพบผู้ป่วยที่เป็นโรคมะเร็งทั้ง 2 ชนิดนี้พร้อมกันในผู้ป่วยคนเดียวกัน(synchronous primary cancer)ได้โดยเฉพาะมะเร็งชนิดสควamous โดยพบว่า ซึ่งอาจเกิดความสับสนกับระหว่างโรคมะเร็งปฐมภูมิทั้งสองอวัยวะกับการแพร่กระจายของโรคมะเร็งจากอวัยวะปฐมภูมิไปยังอวัยวะทุติยภูมิในผู้ป่วยโรคมะเร็งสควamous ของศีรษะและคอ มีรายงานอุบัติการณ์การแพร่กระจายของโรคไปยังปอด 4.5 -14% (2, 3)ขณะเดียวกันมีรายงานการเกิดมะเร็งปฐมภูมิแห่งที่สอง (Second primary cancer)ที่ปอดในผู้ป่วยกลุ่มมะเร็งศีรษะและคอปฐมภูมิได้สูงถึง 31%(4)ดังนั้นการวินิจฉัยแยกโรคมะเร็ง 2 ชนิดนี้ใน จึงมีความสำคัญทางคลินิกมาก เนื่องจาก มีผลทั้งต่อจุดมุ่งหมายในการรักษา วิธีการรักษาและการพยากรณ์ของโรคที่แตกต่างกัน

โดยทั่วไป การวินิจฉัยโรคมะเร็งปอดและมะเร็งศีรษะและคอ สามารถใช้ลักษณะทางคลินิกในการพิจารณาในการบอกตำแหน่งปฐมภูมิของเนื้องอกมะเร็งได้ เช่น ได้รับการวินิจฉัยโรคมะเร็งสควamous ของศีรษะและคอในระยะที่มีการแพร่กระจายไปที่ต่อมน้ำเหลืองและต่อมาพบว่า มีเนื้องอกมะเร็งสควamous กระจายที่ปอดหลายตำแหน่ง ในกรณีนี้รอยโรคที่ปอดอาจถูกอนุมานได้ว่าเป็นการแพร่กระจายจากเนื้องอกมะเร็งของศีรษะและคอ แต่ในบางกรณีอาจไม่สามารถแยกภาวะดังกล่าวได้อย่างแน่นอนเช่น มีโรคมะเร็งสควamous ของศีรษะและคออยู่เดิมซึ่งได้รับการรักษาและสามารถควบคุมรอยโรคที่ศีรษะและคอได้แล้ว แต่ต่อมาตรวจพบเนื้องอกมะเร็งสควamous อีก 1จุดที่ปอดเป็นต้น

การวิจัยนี้มุ่งเน้นเรื่องอภิมะเร็งชนิดสความัสในปัจจุบัน ใช้วิธีการดูตามลักษณะรูปร่างของ เซลล์ (Morphology) ซึ่งโดยทั่วไปจะมีลักษณะเซลล์รูปร่างแบน โดยหากมีลักษณะของกลุ่มเส้นใยเคอราตินซ้อนกันเป็นชั้น (Keratin pearl) ก็ยิ่งช่วยสนับสนุนการวินิจฉัยมากขึ้น แต่อย่างไรก็ตาม การวินิจฉัยเนื้องอกมะเร็งชนิดสความัสโดยการดูตามลักษณะรูปร่างของเซลล์แยกชนิด ตำแหน่งปฐมภูมิของเนื้องอกมะเร็งได้ปัจจุบันจึงมีความพยายามที่จะศึกษาการตรวจแยกชนิด ตำแหน่งปฐมภูมิของเนื้องอกมะเร็งหลายการศึกษา ผลการศึกษาส่วนใหญ่ได้ผลออกมาในรูปแบบของการแสดงออกของยีนโดยวิธีอาร์ทีพีซีอาร์ (RT-Polymerase Chain reaction) ที่แตกต่างกัน ระหว่างเนื้องอกมะเร็งสความัสของปอด กับ เนื้องอกมะเร็งสความัสของศีรษะและคอแต่เทคนิคในการตรวจยังไม่เป็นมาตรฐาน ผลการแสดงออกของยีนในการศึกษาต่างๆดังกล่าวนั้นยังไม่ไปในทิศทางเดียวกัน นอกจากนี้การตรวจโดยวิธีพีซีอาร์มีต้นทุนสูงและไม่สะดวกในทางปฏิบัติเนื่องจาก ต้องใช้ชิ้นเนื้อที่สดและยังไม่ผ่านการแช่ในน้ำยาฟอร์มาลิน (fresh specimen) และส่งตรวจเพื่อสกัด อาร์เอ็นเอทันที ซึ่งมีความเสี่ยงต่อการสลายตัวของ RNA ได้โดยง่าย การศึกษาโครงการวิจัยในครั้งนี้จึงต้องการศึกษาเพื่อหาอัตราการตรวจพบการแสดงออกของยีนเอสเอฟทีพีบี (SFTPB) ซึ่งพบการแสดงออกที่จำเพาะต่อเนื้อเยื่อปอดมากกว่าและยีนเคอราทีน 14 (KRT14) ซึ่งพบการแสดงออกที่จำเพาะต่อเนื้อเยื่อศีรษะและคอโดยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมีสทรีซึ่งเป็นวิธีที่สะดวก สามารถทำการตรวจซ้ำหรือตรวจเพิ่มเติมในภายหลังได้ง่าย และมีต้นทุนที่ต่ำกว่า เพื่อใช้เป็น ข้อมูลในการพิจารณาแยกชนิดเนื้อเยื่อมะเร็งชนิดสความัสของปอด กับศีรษะและคอต่อไป

## 1.2 คำถามของการวิจัย (Research question)

### คำถามหลัก

อัตราการตรวจพบการแสดงออกของยีนเอสเอฟทีพีบีและยีนเคอราทีน 14 เมื่อตรวจโดยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมีสทรีในเนื้อเยื่อมะเร็งชนิดสความัสของปอด กับ ศีรษะและคอ มีความแตกต่างกันหรือไม่

## คำถามรอง

การแสดงออกของยีนเอสเอฟทีพีบีและยีนเคอาร์ทีไฟร์ทีนโดยวิธีอิมมูโนฮิสโทเคมีสทรีในเนื้อเยื่อมะเร็งชนิดสความัสของปอด กับ ศีรษะและคอมีความสัมพันธ์กับระยะของโรคมะเร็งหรือไม่

### 1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย (Objective)

#### วัตถุประสงค์หลัก

เพื่อศึกษาอัตราการตรวจพบการแสดงออกของยีนเอสเอฟทีพีบีและยีนเคอาร์ทีไฟร์ทีนเมื่อตรวจโดยวิธีอิมมูโนฮิสโทเคมีสทรีในเนื้อเยื่อมะเร็งชนิดสความัสของปอด กับศีรษะและคอ

#### วัตถุประสงค์รอง

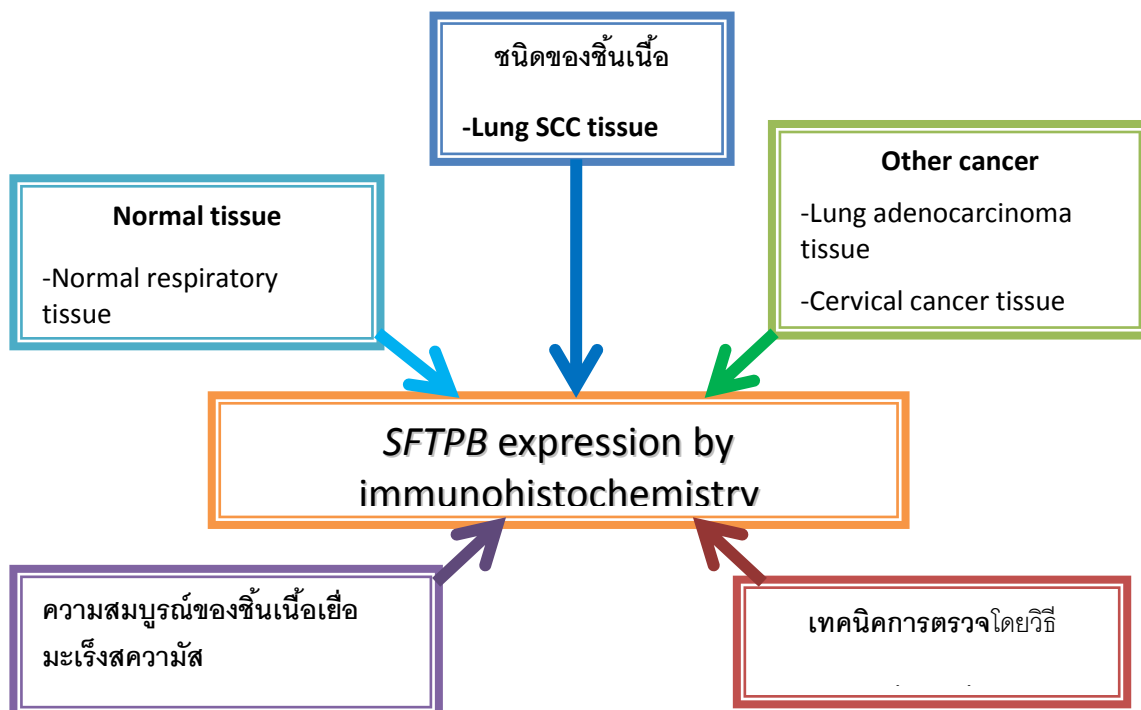
เพื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์ของการแสดงออกของยีนเอสเอฟทีพีบีและยีนเคอาร์ทีไฟร์ทีนโดยวิธีอิมมูโนฮิสโทเคมีสทรีกับระยะของโรคมะเร็งชนิดสความัสของปอด กับศีรษะและคอ

### 1.4 สมมติฐานของการวิจัย(Hypothesis)

Ho: อัตราการตรวจพบการแสดงออกของยีนเอสเอฟทีพีบีและยีนเคอาร์ทีไฟร์ทีนเมื่อตรวจโดยวิธีอิมมูโนฮิสโทเคมีสทรีไม่มีความแตกต่างระหว่างเนื้อเยื่อมะเร็งชนิดสความัสของปอด กับศีรษะและคอ

Ha: อัตราการตรวจพบการแสดงออกของยีนเอสเอฟทีพีบีและยีนเคอาร์ทีไฟร์ทีนเมื่อตรวจโดยวิธีอิมมูโนฮิสโทเคมีสทรีมีความแตกต่างระหว่างเนื้อเยื่อมะเร็งชนิดสความัสของปอด กับศีรษะและคอ

### 1.5 กรอบแนวคิดการวิจัย (Conceptual framework)



### 1.6 ข้อตกลงเบื้องต้น

- ชิ้นเนื้อมะเร็งสความัสที่นำมาตรวจในการศึกษาในครั้งนี้ เป็นชิ้นเนื้อที่ทราบตำแหน่ง ปฐมภูมิอยู่เดิมก่อนนำมาตรวจ

### 1.7 คำสำคัญ(Keyword)

- Squamous cell carcinoma
- Lung cancer
- Head neck cancer
- Gene
- *SFTPb*
- *KRT14*

## 1.8 การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติที่จะใช้ในการวิจัย (Operational definition)

- มะเร็งศีรษะและคอ (Head neck cancer) หมายถึง มะเร็งของช่องปาก(Oral cavity) โพร่งจมูกและไซนัส(Paranasal sinus) กล่องเสียง(Larynx) และผนังคอหอย(Pharynx) โดยไม่นับผนังคอหอยส่วนหลังโพร่งจมูก(Nasopharynx) เนื่องจากมีลักษณะธรรมชาติของโรคและการแบ่งระยะของโรค ที่แตกต่างจากมะเร็งศีรษะและคอชนิดอื่น
- เนื้อเยื่อมะเร็งปอดชนิดสความัสเซลล์ คือ เนื้อเยื่อพยาธิวิทยาที่ได้จากผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคมะเร็งปอดโดยใช้ลักษณะอาการทางคลินิกและไม่มีอาการหรืออาการแสดงของโรคมะเร็งศีรษะและคอร่วม
- เนื้อเยื่อมะเร็งศีรษะและคอชนิดสความัสเซลล์คือ เนื้อเยื่อพยาธิวิทยาที่ได้จากผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคมะเร็งศีรษะและคอโดยใช้ลักษณะอาการทางคลินิกและไม่มีอาการหรืออาการแสดงของโรคมะเร็งปอดร่วม(รวมทั้งผลเอกซเรย์ปอดอยู่ในเกณฑ์ปกติ)
- การแปลผลการตรวจวิธีอิมมูโนฮิสโทเคมีสที่รีในการศึกษาอ้างอิงตามข้อมูลจากการศึกษาในโครงการHuman Protein Atlas version 9.0 ดังนี้

ผลลบ หมายถึง ตรวจไม่พบการย้อมติดของแอนติบอดีเลย

ผลบวกหมายถึง ตรวจพบการย้อมติดของแอนติบอดี โดยแยกเป็น 2 ส่วนดังนี้

1.ความเข้มของการย้อมติด (Intensity) แบ่งเป็น Strong, Moderate, Weak และ negative

2.ปริมาณการย้อมติดเมื่อเทียบเป็นสัดส่วนกับเซลล์มะเร็งในชิ้นเนื้อเดียวกัน (Quantity)

แบ่งเป็น >75%, 25-75% และ <25%

## 1.9 ผลหรือประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย (Expected benefit & Application)

-ทราบถึงอัตราการตรวจพบการแสดงออกของยีนเอสเอชพีพีบีและยีนเคอาร์ทีพีอาร์ทีนเมื่อตรวจโดยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมีสทรีเพื่อใช้แยกชนิดเนื้อเยื่อมะเร็งชนิดสควamous ของปอด กับ ศีรษะและคอ

- นำมาซึ่งองค์ความรู้ใหม่เกี่ยวกับDiagnostic marker เพื่อช่วยในการวินิจฉัยแยกตำแหน่งปฐมภูมิตั้งแต่เนื้องอกมะเร็งชนิดสควamous ของปอด กับ ศีรษะและคอ

- เป็นข้อมูลที่สำคัญและอาจนำไปใช้เป็นฐานข้อมูลในการตรวจวินิจฉัยโรคมะเร็งชนิดสควamous ต่อไป เพื่อเป็นประโยชน์ในการประเมินและวางแผนการรักษาดูแลผู้ป่วยในอนาคต



## บทที่ 2

### เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 แนวคิดและทฤษฎี

เนื่องจากปัญหาในการแยกชนิดของเนื้องอกมะเร็งสความัสของปอดกับมะเร็งสความัสของศีรษะและคอข้างต้นมีผลต่อการวางแผนการรักษาและการพยากรณ์ของโรค จึงมีการศึกษาหลายการศึกษาที่พยายามหาตัววัดทางชีวภาพ(Biomarker) เพื่อแยกพยาธิสภาพของชิ้นเนื้อนั้นว่ามีต้นกำเนิดมาจากมะเร็งปฐมภูมิของอวัยวะใดระหว่าง 2 ตำแหน่งดังกล่าว ดังนี้

- Paul P และคณะ(1998)(5) ทำการศึกษาในผู้ป่วย 16 ราย ที่ได้รับการวินิจฉัยโรคมะเร็งสความัสของศีรษะและคอแต่ตรวจพบเนื้องอกมะเร็งสความัสอีก 1 ก้อนที่ปอด(Solitary lung mass)มาทำการศึกษาเพื่อแยกว่าก้อนเนื้องอกที่ปอดเป็นเนื้องอกมะเร็งปฐมภูมิของปอดเอง(Secondary primary cancer)หรือเป็นเนื้องอกมะเร็งที่กระจายมาจากมะเร็งของศีรษะและคอ โดยการเอาชิ้นเนื้อมาสกัดดีเอ็นเอและนำมาทำPCR based microsatellite analysis เทียบกับการแยกตำแหน่งปฐมภูมิของมะเร็งโดยการใช้ลักษณะทางพยาธิวิทยาและอาการทางคลินิกพบว่า หากเนื้องอกทั้ง 2 ตำแหน่ง ตรวจพบการหายไปของตำแหน่งทางพันธุกรรม(loss of loci)บนโครโมโซม 3p และ 9p เหมือนกัน จะช่วยสนับสนุนว่าเนื้องอกมะเร็งสความัสที่ปอดน่าจะมาจากมะเร็งสความัสของศีรษะและคอ
- Simon G. Talbot และคณะ(2005) (6)ทำการศึกษาเปรียบเทียบการแสดงออกของยีนจากเนื้อเยื่อมะเร็งสความัสของปอด(Primary lung squamous cell carcinoma)จากผู้ป่วย 21 ราย กับเนื้อเยื่อมะเร็งสความัสของศีรษะและคอ(Primary Head neck squamous cell carcinoma)จากผู้ป่วย 31 ราย โดยใช้เทคนิคไมโครแอสเรย์(microarray) และ อาร์ที-พีซีอาร์(RT-PCR; reverse transcriptase polymerase chain reaction) พบว่า ในกลุ่มเนื้อเยื่อมะเร็งสความัสของปอด มีการแสดงออกของยีนเอฟเคบีพีทีเทททีเอค

(FKBR38) สูงสุด ส่วนในกลุ่มเนื้อเยื่อมะเร็งสความัสของศีรษะและคอ มีการแสดงออกของยีนอีไอเอฟทูแอลฟา(EIF-2 $\alpha$ ) สูงสุดแต่อย่างไรก็ตาม ในการศึกษาี้ต้องใช้ยีนในการตรวจถึง 50 ยีนจึงจะได้ความถูกต้องในระดับสูง

- Tom W. Geurts และคณะ(2005)(7) ทำการศึกษาในผู้ป่วย 44 ราย ที่ได้รับการวินิจฉัยโรคมะเร็งสความัสของศีรษะและคออยู่ก่อน และต่อมาตรวจพบมะเร็งสความัสที่ปอดในภายหลังโดยใช้วิธีพีซีอาร์เพื่อวิเคราะห์ลักษณะของการ Loss of Heterozygosity บนโครโมโซมที่แตกต่างกันของเนื้องอก พบว่า เมื่อใช้อาการทางคลินิกแยกได้ผู้ป่วยที่มีมะเร็งปอดเป็นมะเร็งปฐมภูมิแห่งที่สอง(Second primary cancer) ได้เพียง 6 คน แต่เมื่อตรวจวิเคราะห์หุดูลักษณะการ loss of heterozygosity แล้ว น่าจะมีผู้ป่วยที่มีมะเร็งปอดเป็นมะเร็งปฐมภูมิแห่งที่สองถึง 24 ราย
- Anil Vachani และคณะ(2007)(7) ทำการศึกษาเปรียบเทียบการแสดงออกของยีนจากเนื้อเยื่อมะเร็งสความัสของปอดจากผู้ป่วย 50 ราย กับเนื้อเยื่อมะเร็งสความัสของศีรษะและคอจากผู้ป่วย 72 ราย โดยนำเนื้อเยื่อมาจาก 4 สถาบันมะเร็งในประเทศสหรัฐอเมริกา มาทำการตรวจไมโครแอรเรย์(microarray) และ อาร์ที-พีซีอาร์(RT-PCR; reverse transcriptase polymerase chain reaction) โดยมีการตรวจซ้ำเพื่อตรวจสอบความถูกต้อง(validation) ระหว่างสถาบัน พบว่า ในกลุ่มเนื้อเยื่อมะเร็งสความัสของปอด มีการแสดงออกของยีนเอสเฟทีพีบี(SFTPB: Surfactant, pulmonary-associated protein B) และยีนทีเอสพีวายไลค์ไฟท์(TSPY-like 5: TSPY-like 5) สูงสุด 2 ลำดับแรกและพบว่า ยีนเอสเฟทีพีบีมีส่วนการแสดงออกของยีนสูงสุด ส่วนในกลุ่มเนื้อเยื่อมะเร็งสความัสของศีรษะและคอ มีการแสดงออกของยีนซีเอกซ์ซีแอลเทอทีน(CXCL13: Chemokine (C-X-C motif) ligand 13) ยีนซีโอแอลซิกเฮทู(COL6A2: Collagen, type VI, a 2) และยีนเคทีอาร์โพร์ทีน(KRT14: Keratin 14) สูงสุด 3 ลำดับแรกและพบว่า ยีนเคทีอาร์โพร์ทีนมีส่วนการแสดงออกของยีนสูงสุด

จะเห็นได้ว่า การศึกษาต่าง ๆ ดังกล่าวข้างต้น ได้ผลการศึกษาลักษณะการแสดงออกของยีน(Gene expression) ที่แตกต่างกัน ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้เลือกศึกษาการแสดงออกของยีนเอสเฟทีพีบีและยีนเคอาร์ทีโพร์ทีน โดยอ้างอิงจากการศึกษาของ Anil Vachani และคณะเนื่องจากเป็นการศึกษาที่ใช้วิธีการตรวจที่ทันสมัยและเป็นมาตรฐานที่ยอมรับในปัจจุบัน มีระเบียบวิธีวิจัยที่ได้มีมาตรฐานมีขั้นตอนการทำวิจัย

อย่างมีระบบ ใช้จำนวนประชากรตัวอย่างที่มากกว่าการศึกษาอื่น มีการตรวจสอบความถูกต้อง (Validation) ของข้อมูลโดยการทำซ้ำในสถาบันอื่น

ในการศึกษานี้ ผู้วิจัยได้เลือกศึกษาการแสดงออกของยีนโดยวิธีอิมมูโนฮิสโทเคมีสทรีของยีนเอสเฟทีพีบี(SFTPB) และยีนเคทีอาร์โฟร์ทีน (KRT14) เนื่องจาก

1. มีอัตราส่วน (ratio) การแสดงออกของยีนสูงสุดในกลุ่มมะเร็งสควamous ของปอด กับ คีระชะและคอ ตามลำดับ

2. มีข้อมูลการตรวจโดยวิธีอิมมูโนฮิสโทเคมีสทรีในปัจจุบัน และพบว่ามีการติดสีในระดับแรง (strong) กว่า เมื่อเทียบกับยีนตัวอื่นๆ (ที่ใช้แยกชนิดของเนื้องอกมะเร็งสควamous ของปอดกับมะเร็งสควamous ของคีระชะและคอ)ในการศึกษาของAnil Vachani และคณะ

Gene	Gene title	Mean ratio (PCR)	IHC data(%)	
			HNSCC	LSCC
SFTPB	Surfactant, pulmonary-associated protein B	-35.3	0%	33% (strong 17%)
KRT14	Keratin 14	+62.3	100% (strong)	25% (Mod17%)
KLK10	Kallikrein 10	+5.0	75% (Weak50%)	34% (Mod 24%)
TSPYL5	TSPY-like 5	-4.6	75% (Weak50%)	25%(weak)
COL6A2	Collagen, type VI, A2	+4.0	100% (mod75%)	67%(weak50%)
GAS1	Growth arrest-specific 1	+3.1	50% (weak25%)	13%(weak)

ตารางที่ 1

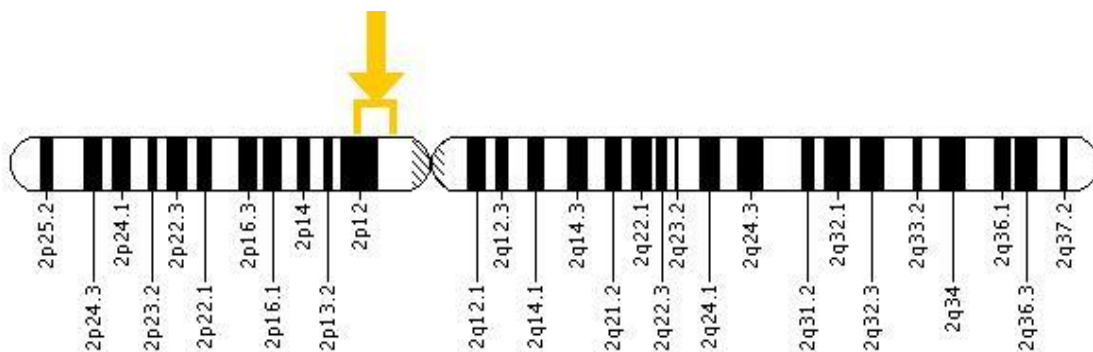
1.การแสดงออกของยีนโดยวิธีอาร์ทีพีซีอาร์ (quantitative RT-PCR) จากการศึกษาของAnil Vachani และคณะ (7) (A positive ratio = higher expression in HNSCC, A negative ratio = higher expression in LSCC)

2.การแสดงออกของยีนโดยวิธีอิมมูโนฮิสโทเคมีสทรี(immunohistochemistry)จากการศึกษาของPonten Fและคณะ, Human Protein Atlas(8)

โดยมีรายละเอียดของยีนทั้ง 2 ตัว ดังนี้

1) ยีนเอสเอฟทีพีบี (*SFTPB*-SURFACTANT, PULMONARY-ASSOCIATED PROTEIN B หรือ PSP-B; SFTB3; SFTP3; SMDP1; SP-B)

ยีนเอสเอฟทีพีบี ถูกค้นพบครั้งแรกโดยGlasserและคณะ ในปีพ.ศ.2530(9)โดยสามารถแยกcomplementary DNA cloneออกจากดีเอ็นเอของปอดของมนุษย์ เป็นยีนที่อยู่บนโครโมโซมที่ตำแหน่ง2p12-p11.2(อยู่บนแขนสั้นของโครโมโซมคู่อี 2 โดยอยู่ระหว่าง ตำแหน่งที่ 12 และ 11.2 ดังภาพที่ 1)ทำหน้าที่สร้างฟัลโมนารีเซอแฟคแทนท์โปรตีนบี(pulmonary-associated surfactant B protein : SPB)ซึ่งเป็นโปรตีนที่มีขนาด 18-kDa มีคุณสมบัติเป็นamphipathic surfactant proteinมีส่วนประกอบหลักเป็นไขมัน(phospholipids)90% และ โปรตีน 10% คล้ายกับเซอแฟคแทนท์โปรตีนอื่นๆ( SP-A, SP-C และSP-D)



รูปที่1 แสดงตำแหน่งของยีนเอสเอฟทีพีบี(*SFTPB*)บนโครโมโซมที่ตำแหน่ง 2p11.2(10)

เซอแฟคแทนท์โปรตีนบี มีความสำคัญต่อการทำงานของปอด โดยเฉพาะในระบบสมดุลของการระบบทางเดินหายใจในทารกแรกเกิด เนื่องจากเซอแฟคแทนท์โปรตีนทำหน้าที่ลดแรงตึงผิวของถุงลม จึงช่วยให้ถุงลมขยายและทำงานได้ดี

- C Seifartและคณะ(2002)(11, 12)ทำการศึกษาแบบ matched case – control study เพื่อศึกษาความผันแปรทางพันธุกรรม(polymorphism)ตำแหน่งintronที่4 บนยีน Surfactant specific protein Bในผู้ป่วยโรคมะเร็งปอดชนิดต่างๆโดยวิธีพีซีอาร์ในผู้ป่วยโรคมะเร็งปอด 117 คน (small cell lung cancer 40 คน, non small cell lung cancer 77 คน) เทียบกับ อาสาสมัครที่ไม่เป็นโรค 123 คน พบว่าในกลุ่มผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของSurfactant protein B gene แบบมีความผันแปรทางพันธุกรรม(polymorphism) บน

ตำแหน่งintronที่4 มีอัตราการตรวจพบในกลุ่มsmall cell lung cancer group 17.5% ส่วนกลุ่มnon small cell lung cancerตรวจพบ 16.9% โดยในกลุ่มnon small cell lung cancerมีความแปรผันทางพันธุกรรมชนิดนี้เป็นชนิดsquamous cell carcinomaสูงอย่างมีนัยสำคัญอย่างมีสถิติ (25.0%, P=0.016, odds ratio=3.2, 95%CI=1.24 – 8.28) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

สำหรับการศึกษาการแสดงออกของยีนเอสเอพีทีพีบีโดยวิธีอิมมูโนฮิสโทเคมีสทรีนั้นมีข้อมูลค่อนข้างน้อย เนื่องจากอัตราการย้อมติดต่ำกว่าเซอแฟคแทนท์โปรตีนอื่นๆ(เช่น SP-A มีอัตราการย้อมติดในเนื้อเยื่อมะเร็งปอดประมาณ 50%) ส่วนมากจึงเป็นการศึกษาในงานวิจัยโดยเคยมีผู้ทำการศึกษาแสดงออกของยีนเอสเอพีทีพีบีโดยวิธีอิมมูโนฮิสโทเคมีสทรีที่เกี่ยวข้องกับมะเร็งปอดไว้ดังนี้

- จากการศึกษาโครงการHuman Protein Atlas(8) ซึ่งก่อตั้งในปี พ.ศ.2548ได้ทำการรวบรวมข้อมูลการแสดงออกของยีนต่างๆโดยวิธีอิมมูโนฮิสโทเคมีสทรีทั้งในเซลล์ปกติและเซลล์มะเร็ง โดยมีข้อมูลของแอนติบอดีดีกว่า 6,000 ชนิดที่ใช้ในการตรวจโปรตีนของมนุษย์ได้ประมาณ 5,000 ชนิด พบว่า สามารถตรวจเซอแฟคแทนท์โปรตีนบีโดยวิธีอิมมูโนฮิสโทเคมีสทรีได้ โดยพบว่าแอนติบอดีของเซอแฟคแทนท์โปรตีนบีในการศึกษานี้ (Antibody CAB002440) จะติดที่บริเวณ cytoplasmic membrane ของเซลล์(ทั้งเซลล์ปกติและเซลล์มะเร็ง) โดยแบ่งระดับ

-ความเข้มของการย้อมติด (Intensity) แบ่งเป็น Strong, Moderate, Weak และ negative

-ปริมาณการย้อมติดเมื่อเทียบเป็นสัดส่วนกับเซลล์มะเร็งในชิ้นเนื้อเดียวกัน (Quantity) แบ่งเป็น>75%, 25-75% และ <25%

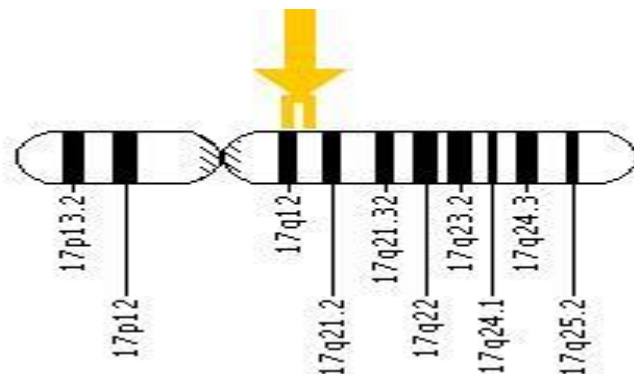
พบว่าในเนื้อเยื่อปกติตรวจพบอัตราการย้อมติดแอนติบอดีของเซอแฟคแทนท์โปรตีนบี50 %ในระดับmoderate และสัดส่วนปริมาณการย้อมติดเมื่อเทียบเป็นสัดส่วนกับเซลล์มะเร็งในชิ้นเนื้อเดียวกันอยู่ระหว่าง 25-75%

ส่วนในเนื้อเยื่อมะเร็งปอดตรวจพบอัตราการย้อมติดแอนติบอดีของเซอแฟคแทนท์โปรตีนบี33 %ในระดับStrong โดยติด>75%=17%, 25-75%=8% และ <25%=8%) ส่วนอวัยวะและเนื้อเยื่อมะเร็งอื่น ๆ นั้นตรวจไม่พบการติดของเซอแฟคแทนท์โปรตีนบี

นอกจากข้อมูลการแสดงออกของยีนเอสเอฟทีพีบีในชิ้นเนื้อมะเร็งปอดโดยวิธีพีซีอาร์และวิธีอิมมูโนฮิสโทเคมีสที่ข้างต้นแล้ว ยังมีข้อมูลการแสดงออกของยีนเอสเอฟทีพีบีที่เกี่ยวข้องกับโรคมะเร็งปอดในเลือดด้วย โดยจากการประชุมประจำปีของสมาคมมะเร็งวิทยาของประเทศสหรัฐอเมริกา(American Society of Clinical Oncology-ASCO)ในปีพ.ศ.2554 Rafael Sirera(13) และคณะได้ทำการศึกษาเพื่อตรวจหาcirculating tumor cellในเลือดของผู้ป่วยโรคมะเร็งปอดชนิดnon small cell lung cancer (โดยมีชนิดของเซลล์คือ squamous cell = 30.4%, adenocarcinomas = 50.7% และ เซลล์ชนิดอื่น ๆ อีกประมาณ18.8% )69 ราย เทียบกับเลือดจากคนปกติ 59 รายโดยวิธีพีซีอาร์ พบว่า ยีนเอสเอฟทีพีบี มีการแสดงออกสูงในผู้ป่วยโรคมะเร็งปอด(25.6 %) เปรียบเทียบกับในคนปกติ(14.6 %) นอกจากนี้ยังพบว่า ในกลุ่มผู้ป่วยโรคมะเร็งปอดที่มีระดับการแสดงออกของยีนเอสเอฟทีพีบีสูง มีการพยากรณ์ของโรคที่แยกว่า โดยมีอัตราการอยู่รอดโดยเฉลี่ย 10.8 เดือน เทียบกับกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งปอดที่มีระดับการแสดงออกของยีนเอสเอฟทีพีบีต่ำที่มีอัตราการอยู่รอดเฉลี่ย 14.6 เดือน

## 2) ยีนเคอราทีนไฟร์ทีน [KRT14, Keratin 14]

ยีนเคอราทีนไฟร์ทีนอยู่บนโครโมโซมที่ตำแหน่ง 17p12-p21 (อยู่บนแขนยาวของโครโมโซมคู่ที่ 17โดยอยู่ระหว่าง ตำแหน่งที่ 12 และ21 ดังภาพที่ 2) ทำหน้าที่ผลิตโปรตีนไซโตเคอราติน 14(cytokeratin 14)ซึ่งอยู่ที่บริเวณ basal layer ของเซลล์ชนิดสความัส(Squamous epithelium) และเซลล์ต่อมน้ำลาย(Salivary gland epithelium)มีขนาด 50-kDaทำหน้าที่เป็นส่วนประกอบของ structural framework ในเซลล์ชนิดepithelium



รูปที่2 แสดงตำแหน่งของยีนเคอราทีนไฟรีทิน(KRT14)บนโครโมโซมที่ตำแหน่ง 17p12-p11(10)

โดยมีข้อมูลทางอิมมูโนฮิสโทเคมีสทรีที่เกี่ยวข้องกับมะเร็งสความัสของปอด กับ ศีรษะและคอ ดังนี้

- P G Chu และคณะ (2001)(14)ได้ทำการศึกษาโดยการตรวจชิ้นเนื้อเยื่อมะเร็งชนิดepithelium carcinoma 435 ชิ้น(เป็นsquamous cell carcinoma จากมะเร็งปอด)ในตำแหน่งต่างๆ 74 ชิ้นด้วยวิธีอิมมูโนฮิสโทเคมีสทรี โดยใช้ CK14 antibody(cloneLL002)ซึ่งใช้เกณฑ์การประเมินการติดแอนติบอดีมากกว่า 5% ถือว่าเป็นผลบวก พบว่า ในกลุ่มเนื้อเยื่อมะเร็งสความัสมีอัตราการตรวจพบการย้อมติดของCK14 อยู่ระหว่าง 87-100% โดยในเนื้อเยื่อมะเร็งสความัสของปอดพบ 13ชิ้นเนื้อ (จาก15ชิ้น)มะเร็งศีรษะและคอพบ 27ชิ้นเนื้อ(จาก30ชิ้น)ส่วนเนื้อเยื่อมะเร็งชนิดอะดีโน(adenocarcinoma)อัตราการตรวจพบการย้อมติดของCK14ต่ำมาก (ประมาณ10%)
- FutoshiTsubokawa และคณะ (2002)(15)ทำการศึกษาในชิ้นเนื้อเยื่อมะเร็งปอดชนิดสความัสจากผู้ป่วย 45 ราย เพื่อดูความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะการแสดงออกทางอิมมูโนฮิสโทเคมีสทรีในกลุ่มชนิดย่อย(subtypes)ของcytokeratin ชนิดต่างๆ กับ ลักษณะการเรียงตัวของเซลล์พบว่า CK14 มีความสัมพันธ์กับการเรียงตัวของเซลล์แบบperipheral pattern และมีความสัมพันธ์แบบแปรผันตามกับ

ระดับKi-67 antigen ซึ่งบ่งบอกถึง proliferative activity และ metastatic potentialของมะเร็งปอดชนิดสควมัส

- Renaud Garrelและคณะ(2006)(16)ทำการศึกษาเปรียบเทียบความสัมพันธ์ของการตรวจการแสดงออกของยีนไซโตเคราติน(cytokeratins)5, 14 และ17 โดยวิธีอาร์ทีพีซีอาร์(quantitative RT-PCR) กับวิธีอิมมูโนฮิสโทรเคมีสทรี(immunohistochemistry)ในเนื้อเยื่อต่อมน้ำเหลืองที่มีการกระจายของมะเร็งสควมัสจากตำแหน่งoropharynxของศีรษะและคอ จำนวน71ชิ้นเนื้อ พบว่ามีค่าสหสัมพันธ์ค่อนข้างมาก(Pearson correlation coefficient)ของ KRT 5 = 0.89, KRT14= 0.73 และKRT17 = 0.77
  - จากการศึกษาโครงการHuman Protein Atlas(8)พบว่า สามารถตรวจเคอราทีนไฟร์ทีนโดยวิธีอิมมูโนฮิสโทรเคมีสทรีได้ โดยพบว่าแอนติบอดีของเคอราทีนไฟร์ทีนในการศึกษานี้(Antibody CAB000134) จะติดที่บริเวณ cytoplasmic membrane ของเซลล์โดยพบว่าในมะเร็งปอดตรวจพบการติดแอนติบอดีของเคอราทีนไฟร์ทีน25% (แบ่งเป็นระดับmoderate=17%, weak=8%)และสัดส่วนปริมาณการย้อมติดเมื่อเทียบเป็นสัดส่วนกับเซลล์มะเร็งในชิ้นเนื้อเดียวกันอยู่ระหว่าง 25-75%
- ส่วนในเนื้อเยื่อมะเร็งศีรษะและคอตรวจพบการติดแอนติบอดีของเคอราทีนไฟร์ทีน 100%ในระดับStrong โดยติด>75%= 100%



### บทที่ 3

## มะเร็งปอดและมะเร็งปอดชนิดสความัส(Lung squamous cell carcinoma)

### ระบาดวิทยา (Epidemiology)

มะเร็งปอด เป็นมะเร็งอันดับต้นที่เป็นสาเหตุของการเสียชีวิตของผู้ป่วยโรคมะเร็งทั้งในประเทศไทยและทั่วโลก จากการสำรวจของมะเร็งวิทยาสมาคมแห่งประเทศสหรัฐอเมริกา(American Cancer Society) ในปีพ.ศ.2555 พบว่า ในประเทศสหรัฐอเมริกามีอุบัติการณ์ของการตรวจพบผู้ป่วยรายใหม่ที่เป็นโรคมะเร็งปอดสูงเป็นอันดับสอง รองจากมะเร็งต่อมลูกหมากในเพศชายและมะเร็งเต้านมในเพศหญิง โดยมีอัตราการเกิดประมาณ ร้อยละ15 ทั้งในเพศชายและเพศหญิง พบผู้ป่วยใหม่สูงถึง220,000 คนต่อปี แต่เป็นสาเหตุการเสียชีวิตอันดับหนึ่งเมื่อเทียบกับโรคมะเร็งชนิดอื่นๆ (17)

ส่วนในประเทศกลุ่มเอเชียตะวันออกเฉียงใต้(บรูไน กัมพูชา อินโดนีเซีย ลาว มาเลเซีย พม่า สิงคโปร์ ฟิลิปปินส์ ไทย และเวียดนาม) จากการสำรวจในปี พ.ศ.2551พบว่า ในเพศชายมีอุบัติการณ์ของโรคมะเร็งปอดเป็นอันดับสอง (รองจากมะเร็งตับ)โดยคิดเป็นร้อยละ25 จากมะเร็งทั้งหมด ส่วนในเพศหญิงมีอุบัติการณ์ของโรคมะเร็งปอดสูงเป็นอันดับสอง(รองจากมะเร็งเต้านม) โดยคิดเป็นร้อยละ12 จากมะเร็งทั้งหมดในเพศหญิง(18)

ในประเทศไทย มีการเก็บรวบรวมสถิติโรคมะเร็งจากสถาบันมะเร็งแห่งชาติและโรงพยาบาลสังกัดกระทรวงสาธารณสุขที่มีแพทย์ผู้เชี่ยวชาญทางมะเร็งวิทยาและรังสีรักษาพบว่า ในปีพ.ศ.2554มีอุบัติการณ์ของการเกิดโรคมะเร็งปอดที่ได้ลงทะเบียนไว้ 206 คนต่อปี คิดเป็นร้อยละ15(19)

## ปัจจัยเสี่ยงของโรคมะเร็งปอด(Risk factors)(20)

### 1. การสูบบุหรี่

เป็นปัจจัยเสี่ยงหลักของโรคมะเร็งปอด โดยพบว่าประมาณ ร้อยละ 80 ของผู้ป่วยมีประวัติสูบบุหรี่ โดยพบว่า ในผู้ที่สูบบุหรี่ตั้งแต่ 20 มวนต่อวัน นาน 40 ปีขึ้นไปความเสี่ยงของการเกิดโรคสูงกว่าคนที่ไม่สูบบุหรี่ถึง 20 เท่าและเมื่อหยุดสูบบุหรี่ ความเสี่ยงต่อการเกิดโรคจะค่อยๆลดลงและเหลือเพียง 2 เท่า เมื่อเทียบกับคนที่ไม่เคยสูบบุหรี่เมื่อเลิกได้นานถึง 15 ปี (21, 22)

ส่วนผู้ที่ไม่สูบบุหรี่ แต่มีประวัติอาศัยร่วมกับผู้ที่สูบบุหรี่(Secondhand smoker) มีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็งปอดสูงกว่าคนทั่วไปถึงร้อยละ 20-30 เช่นเดียวกับผู้ที่ทำงานในสถานที่ที่อนุญาตให้สูบบุหรี่ในที่ทำงานพบว่ามีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็งปอดสูงกว่าปกติเช่นกัน

### 2. เรดอน(Radon)

เรดอนจัดเป็นสารกัมมันตรังสีประเภท radioactive gas ชนิดหนึ่งซึ่งเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของแร่ยูเรเนียมในดินและอากาศปะปนมาสู่คนทางน้ำหรืออากาศเนื่องจาก ก๊าซเรดอนเป็นก๊าซไม่มีสี ไม่มีกลิ่น ไม่มีรส เมื่อเข้าสู่ร่างกายจะเกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นรังสีแอลฟา ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในเนื้อเยื่อปอด เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคมะเร็งได้ นอกจากนี้ จากการสำรวจของหน่วยงานด้านสิ่งแวดล้อมในประเทศสหรัฐอเมริกา(US Environmental Protection agency) พบว่า การได้รับสารเรดอน เป็นสาเหตุหลักที่มีรายงานว่าก่อให้เกิดโรคมะเร็งปอดในผู้ป่วยที่ไม่สูบบุหรี่ในประเทศสหรัฐอเมริกา

### 3. ประวัติการได้รับรังสีเพื่อการรักษาโรค(Radiation therapy)

มีผลการศึกษาทางการแพทย์หลายการศึกษาพบว่า ผู้ป่วยที่มีประวัติเคยได้รับการฉายรังสีเพื่อรักษาโรคมะเร็งเต้านมและมะเร็งต่อมไทรอยด์ชนิด Hodgkin มีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็งสูงกว่าคนทั่วไป

## อาการและอาการแสดง

มักขึ้นกับตำแหน่งรอยโรคในปอดและการแพร่กระจายของโรคแบ่งเป็น 4 กลุ่ม ดังนี้

### 1. กลุ่มอาการที่เกิดจากพยาธิสภาพในปอดและอวัยวะใกล้เคียง ( Locoregional symptoms)

#### 1.1 อาการไอ

อาการไอ เป็นอาการหลักและพบได้ประมาณร้อยละ 70 ของผู้ป่วยโรคมะเร็งปอด โดย ร้อยละ 30 ของผู้ป่วยอาจมีอาการไอมีเลือดปนได้

#### 1.2 อาการเหนื่อย

พบได้ประมาณร้อยละ 30-40 ของผู้ป่วย โดยอาการเหนื่อย อาจเป็นได้จากหลายสาเหตุ เช่น มีน้ำปริมาณมากในช่องระหว่างเยื่อหุ้มปอดหรือเยื่อหุ้มหัวใจ การภาวะทางเดินหายใจอุดกั้นจากเนื้องอกกดทับ มีลิ่มเลือดอุดตันในระบบหลอดเลือดที่ไปเลี้ยงปอด (Pulmonary embolism) การเป็นอัมพาตของเส้นประสาทที่ไปเลี้ยงกระบังลม เป็นต้น

#### 1.3 เสียงแหบ

มักพบในกรณีที่โรคมะเร็งปอดมีการลุกลามหรือกดเบียดเส้นประสาท Recurrent laryngeal nerve โดยเฉพาะรอยโรคบริเวณใกล้ส่วนกลางของช่องอก (Mediastinum)

#### 1.4 ภาวะหลอดเลือดดำใหญ่ที่รับเลือดจากร่างกายส่วนบนถูกกดทับ (Superior vena cava syndrome)

เป็นภาวะที่เกิดจากเนื้องอกมะเร็งโตไปกดเบียดเส้นเลือดดำใหญ่ Superior vena cava จนตีบตันทำให้เลือดไหลกลับสู่หัวใจไม่ได้เกิดการคั่งของเลือดในส่วนศีรษะและส่วนบนของลำตัวทำให้มีอาการบวมบริเวณใบหน้าหนังตาและแขน 2 ข้าง การตรวจร่างกายมักพบหลอดเลือดดำที่คอโป่งนูน (neck vein engorgement) มีหลอดเลือดดำที่หน้าอกขยายจนเห็น

ได้ชัดเจน (superficial vein dilatation) ในกรณีที่มีการอุดตันอย่างรุนแรง อาจตรวจพบ เสียงแหบหายใจมีเสียงดัง (stridor) ไปจนถึงมีอาการอุดตันทางเดินหายใจส่วนบนได้

#### 1.5 Pancoast's syndrome หรือ superior pulmonary sulcus syndrome(23)

เป็นกลุ่มอาการที่มักเกิดจากเนื้องอกมะเร็งบริเวณยอดปอด(apex)มีการกดเบียดเส้นเลือดและเส้นประสาทในตำแหน่งที่จะเข้าสู่ปอด(thoracic inlet)และมักการทำลายของกระดูกบริเวณใกล้เคียงด้วย ประกอบไปด้วย

-อาการปวดบริเวณไหล่และสะบักร้าวไปถึงปลายแขน

-กลุ่มอาการHorner (หนังตาตก รูม่านตาหด ไม่มีเหงื่อออกตามปกติของใบหน้าในข้างที่มีพยาธิสภาพและมีการยุบตัวของลูกนัยน์ตา)

-กล้ามเนื้อมือและแขนลีบ

-ภาพทางรังสีพบมีการถูกทำลายของกระดูกจากเนื้องอกมะเร็งที่อยู่บริเวณปอด

## 2. กลุ่มอาการที่เกิดจากการแพร่กระจายของโรคมะเร็ง (Distant metastatic symptoms)

อวัยวะที่พบว่ามีการแพร่กระจายของโรคมะเร็งปอดได้บ่อย ได้แก่

-**ตับ** มีรายงานจากการศึกษาโดยการผ่าตัดศพ (Autopsy) ในปี 1996และ1997 (24, 25) พบว่ามากกว่าร้อยละ 50 ของผู้ป่วยโรคมะเร็งปอดที่เสียชีวิต มีการกระจายของโรคมะเร็งที่ตับ ผู้ป่วยมักไม่มีอาการในระยะแรกๆที่โรคกระจายมาที่ตับ แต่อาจมีอาการรุนแรงคล้ายภาวะตับวายในภายหลังที่โรคทำลายเนื้อตับในปริมาณมากได้

-**ต่อมหมวกไต** พบร้อยละ 40 จากการศึกษาศึกษาโดยการผ่าตัดศพ(25) การกระจายของโรคมะเร็งที่ต่อมหมวกไตผู้ป่วยมักจะไม่มีอาการ

-**กระดูก**พบได้ประมาณ ร้อยละ20 ของผู้ป่วยNon small cell lung cancer ตั้งแต่แรกที่วินิจฉัย (26) ผู้ป่วยมักมาด้วยอาการปวดกระดูก ปวดหลัง อาการปวดมักมีรูปแบบผิดปกติ ไม่เหมือนที่เคยปวดมา ปวดมากกว่าปกติ ในบางรายอาจมีอาการปวดจนต้องตื่นกลางดึก หรือปวดจนนอนไม่หลับ

-**สมอง** พบได้บ่อยโดยเฉพาะมะเร็งปอดชนิดSmall cell lung cancer มีรายงานว่าในผู้ป่วยโรคมะเร็งปอดชนิด Small cell พบการแพร่กระจายของโรคมาที่สมองตั้งแต่แรกที่วินิจฉัยถึงร้อยละ 20-30(27)

### 3. อาการข้างเคียงที่เกิดร่วมกับโรคมะเร็ง (Nonspecific constitutional symptoms)

เช่น เบื่ออาหาร น้ำหนักลด อ่อนเพลีย เกิดภาวะcancer cachexia syndrome(28)ได้

### 4. Pananeoplastic syndrome

พบประมาณร้อยละ 2 ของผู้ป่วยมะเร็งปอดเป็นอาการที่เชื่อว่าเป็นผลจากสารต่างๆที่สร้างโดยเนื้องอกมะเร็งมากกระตุ้นให้เกิดความผิดปกติในระบบต่างๆ อาทิ เช่น

-ระบบต่อมไร้ท่อ เกิดภาวะแคลเซียมในเลือดสูง ขาดสมดุลในการควบคุมเกลือโซเดียมในร่างกาย เป็นต้น

-ระบบประสาท พบในกลุ่มSmall cell carcinomaได้บ่อยกว่าNon small cell carcinoma อาทิ Lambert-Eaton myasthenic syndrome (LEMS), cerebellar ataxia, limbic encephalitis เป็นต้น

-ระบบโลหิต เกิดภาวะโลหิตจาง เม็ดเลือดขาวและเกร็ดเลือดสูง ภาวะแข็งตัวของเลือดผิดปกติ เป็นต้น

-ระบบกระดูก เกิดภาวะHypertrophic pulmonary osteoarthropathy (HPO or Bamberger-Marie disease) ประกอบไปด้วย ภาวะนิ้วโป้ง (Clubbing of fingers) และperiosteal proliferation of the tubular bones ผู้ป่วยมักมีอาการปวดบริเวณกระดูกที่มี periosteal proliferation

## ภาพถ่ายทางรังสีวินิจฉัย

### 1. Chest X ray

เป็นการตรวจที่สะดวก ทำได้ง่าย อาจช่วยในการวินิจฉัยโรค หากพบว่าเป็นก้อนใหม่ หรือ ก้อนเดิมแต่โตขึ้น อย่างไรก็ตาม การตรวจด้วย chest x-ray มีข้อจำกัดในการให้รายละเอียดของ ก้อนหรือการแพร่กระจายไปที่ต่อมน้ำเหลือง โดยปริมาณรังสีที่ใช้เพื่อให้ได้ effective radiation dose คือ 0.02 milliSievert (mSv)

### 2. Computed tomography Chest (CT scan chest)

เป็นการตรวจที่ให้รายละเอียดของก้อนเนื้ออก การลุกลามหรือกดเบียดของอวัยวะข้างเคียง การกระจายของโรคไปยังตำแหน่งต่างๆ เช่น ต่อมน้ำเหลือง ตับ ต่อมหมวกไต ถือเป็น การตรวจทางรังสีวิทยาที่สำคัญ เป็นการตรวจหลักที่ช่วยในการประเมินระยะโรค ประเมินความเหมาะสมของการรักษาโดยการผ่าตัด(Resectability)ได้แต่ปริมาณรังสีที่ใช้เพื่อให้ได้ effective radiation dose สูงมาก คือ 5-10 mSv หรือประมาณ 100 เท่าของการถ่ายภาพเอกซเรย์แบบธรรมดา(29)

### 3. Magnetic resonance imaging(MRI)

การใช้MRI เพื่อช่วยวินิจฉัยโรคมะเร็งปอดโดยการตรวจMRIของช่องปอดยังให้ รายละเอียดของตัวก้อนได้ค่อนข้างจำกัดเมื่อเทียบกับการตรวจด้วยCT scan อย่างไรก็ตาม การตรวจMRIอาจช่วยในการประเมินการกระจายของโรคไปยังตำแหน่งต่างๆ โดยเฉพาะตำแหน่งสมอง กระดูกสันหลัง ได้ดี(30)

### 4. Integrated Positron emission tomography/Computed tomography (PET/CT)

PET scan เป็นเทคนิคที่ใช้radioisotopeจับกับ FDG (18-fluoro-2-deoxyglucose) ซึ่ง เมื่อเข้าสู่ร่างกาย เนื้ออกมะเร็งที่ใช้พลังงานโดยกระบวนการของglucose metabolism เช่น NSCLC จะ uptake สารดังกล่าว และแสดงผลเป็นภาพทางรังสีเป็นภาพที่สว่างกว่าอวัยวะ

ใกล้เคียง เนื่องจาก เกิดการuptake FDG มากกว่า สามารถช่วยวินิจฉัยการแพร่กระจายของโรคไป ตำแหน่งต่างๆเป็นอย่างดี แต่มีข้อจำกัด คือ ให้รายละเอียดลักษณะทางกายวิภาค ขอบเขตของ เนื้องอกไม่ค่อยดี (25)

การผสมผสานการตรวจPET scan และ CT scan หรือ การตรวจPET/CT ทำให้ได้ผลการตรวจที่มีถูกต้อง แม่นยำมากขึ้น เนื่องจากได้มีการรวมข้อมูลทั้งทางลักษณะทางกายวิภาคและเมตาบอลิซึมของเนื้องอกมาแรงไว้ด้วยกัน โดยการตรวจPET/CT scan มีความไว ร้อยละ98 และความจำเพาะร้อยละ 89(31)

### ลักษณะทางพยาธิวิทยา

องค์การอนามัยโลก(WHO-World health organization)(32)ได้แบ่งชนิดของมะเร็งปอดตามลักษณะรูปร่างของเซลล์ (histology) ออกเป็น2 กลุ่มหลัก ดังนี้

1. Small cell carcinoma พบประมาณร้อยละ 10-15
2. Non-small cell lung cancer พบได้ประมาณ ร้อยละ 70-85 ซึ่งแบ่งเป็นกลุ่มย่อยต่างๆ

คือ

- 2.1 Adenocarcinoma พบประมาณ ร้อยละ40-50
- 2.2 Squamous cell carcinoma พบประมาณร้อยละ 25-30
- 2.3 Large cell carcinoma พบประมาณร้อยละ 5
- 2.4 ชนิดย่อยอื่นๆ เช่น Adenosquamous, sarcomatoid carcinoma เป็นต้น พบน้อยกว่าร้อยละ 5

นอกจากการแบ่งชนิดของมะเร็งปอดชนิดต่างๆ ตามลักษณะรูปร่างของเซลล์แล้วยังมีการตรวจทางอิมมูโนฮิสโทเคมีสที่ต่างๆ เพื่อช่วยแยกชนิดของ lung carcinomaได้ อาทิ

- Adenocarcinoma จะพบการแสดงออกของCK7และThyroid transcription factor-1(TTF-1) ได้ผลเป็นบวกแต่ไม่พบการแสดงออกของCK20 ซึ่งค่อนข้างจำเพาะต่อตำแหน่งปฐมภูมิที่ปอด(33)

- Squamous cell carcinoma จะพบการแสดงออกของCK5/6 และp63 แต่ไม่จำเพาะต่อตำแหน่งปฐมภูมิที่ปอด เป็นต้น(34)
- Small cell carcinoma จะพบการแสดงออกของChromogranin A Synaptophysin Neural cell adhesion molecule ได้ผลเป็นบวก

เนื่องจากSmall cell lung cancer (SCLC) มีการแบ่งระยะของโรค แนวทางการรักษา และการพยากรณ์ของโรคแตกต่างกับ Non-small cell carcinoma ในบทนี้จึงขอกล่าวถึง การแบ่งระยะของโรค และแนวทางการรักษาของมะเร็งปอดชนิด non-small cell lung cancer เป็นหลัก

### การแบ่งระยะของโรคมะเร็งปอดชนิด non-small cell lung cancer

ในปัจจุบัน การแบ่งระยะของโรคมะเร็งปอดชนิด non-small cell lung cancer ยึดตามหลักของระบบAmerican Joint Committee on Cancer (AJCC) TNM staging ฉบับที่ 7(35) ซึ่งมีหลักการ คือ

T (tumor) หมายถึง ก้อนมะเร็งปอด โดยT stage ขึ้นอยู่กับ ขนาดและการลุกลามไปสู่อวัยวะข้างเคียง

N (nodal stage) หมายถึง การกระจายของโรคไปสู่ต่อมน้ำเหลือง โดย N stage ขึ้นกับตำแหน่งของต่อมน้ำเหลืองว่ากระจายไปไกลหรือไม่

M (Metastasis) หมายถึง การประเมินระยะแพร่กระจายของตัวโรค

โดยมีรายละเอียดดังนี้

#### Primary tumor (T) stage

TX Primary tumor cannot be assessed, or tumor proven by the presence of malignant cells in sputum or bronchial washings but not visualized by imaging or bronchoscopy



**T0** No evidence of primary tumor

**Tis** Carcinoma in situ

**T1** Tumor 3 cm or less in greatest dimension, surrounded by lung or visceral pleura, without bronchoscopic evidence of invasion more proximal than the lobar bronchus

**T1a** Tumor 2 cm or less in greatest dimension

**T1b** Tumor more than 2 cm but 3 cm or less in greatest dimension

**T2** Tumor more than 3 cm but 7 cm or less or tumor with any of the following features (T2 tumors with these features are classified T2a if 5 cm or less): involves main bronchus, 2 cm or more distal to the carina; invades visceral pleura ; associated with atelectasis or obstructive pneumonitis that extends to the hilar region but does not involve the entire lung

**T2a** Tumor more than 3 cm but 5 cm or less in greatest dimension

**T2b** Tumor more than 5 cm but 7 cm or less in greatest dimension

**T3** Tumor more than 7 cm or one that directly invades any of the following: parietal pleural, chest wall (including superior sulcus tumors), diaphragm, phrenic nerve, mediastinal pleura, parietal pericardium; or tumor in the main bronchus less than 2 cm distal to the carina<sup>1</sup> but without involvement of the carina; or associated atelectasis or obstructive pneumonitis of the entire lung or separate tumor nodule(s) in the same lobe

**T4** Tumor of any size that invades any of the following: mediastinum, heart, great vessels, trachea, recurrent laryngeal nerve, esophagus, vertebral body, carina, separate tumor nodule(s) in a different ipsilateral lobe

### **Regional Lymph Nodes (N) or Nodal stage**

**NX** Regional lymph nodes cannot be assessed

**N0** No regional lymph node metastases

**N1** Metastasis in ipsilateral peribronchial and/or ipsilateral hilar lymph nodes and intrapulmonary nodes, including involvement by direct extension

**N2** Metastasis in ipsilateral mediastinal and/or subcarinal lymph node(s)

**N3** Metastasis in contralateral mediastinal, contralateral hilar, ipsilateral or contralateral scalene, or supraclavicular lymph node(s)

### **Distant Metastasis (M)**

**M0** No distant metastasis

**M1** Distant metastasis

**M1a** Separate tumor nodule(s) in a contralateral lobe, tumor with pleural nodules or malignant pleural (or pericardial) effusion<sup>2</sup>

**M1b** Distant metastasis (in extrathoracic organs)

<b>ANATOMIC STAGE/PROGNOSTIC GROUPS</b>			
Occult Carcinoma	TX	N0	M0
Stage 0	Tis	N0	M0
Stage IA	T1a	N0	M0
	T1b	N0	M0
Stage IB	T2a	N0	M0
Stage IIA	T2b	N0	M0
	T1a	N1	M0
	T1b	N1	M0
	T2a	N1	M0
Stage IIB	T2b	N1	M0
	T3	N0	M0
Stage IIIA	T1a	N2	M0
	T1b	N2	M0
	T2a	N2	M0
	T2b	N2	M0
	T3	N1	M0
	T3	N2	M0
	T4	N0	M0
	T4	N1	M0
Stage IIIB	T1a	N3	M0
	T1b	N3	M0
	T2a	N3	M0
	T2b	N3	M0
	T3	N3	M0
	T4	N2	M0
	T4	N3	M0
Stage IV	Any T	Any N	M1a
	Any T	Any N	M1b

ตารางที่ 2 American Joint Committee on Cancer (AJCC) TNM staging of non-small cell lung cancer(35)

## แนวทางการรักษาของมะเร็งปอดชนิด non-small cell lung cancer

ขึ้นกับระยะของโรค ดังนี้

### 1. มะเร็งปอดระยะที่ 1 และ 2 (Localized disease)

ในระยะนี้ มีโอกาสหายขาดได้ ขึ้นอยู่กับระยะของโรค โดยมาตรฐานของการรักษาผู้ป่วยในระยะนี้ คือ การผ่าตัดเป็นการรักษาหลัก ส่วนการให้เคมีบำบัดเสริมหลังผ่าตัดนั้น มีข้อมูลว่าควรเริ่มให้ในระยะ IB ที่ก้อนใหญ่เกิน 4 เซนติเมตรขึ้นไปจึงจะได้ประโยชน์ คือสามารถเพิ่มอัตราการรอดที่ 5 ปีได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (36)

### 2. มะเร็งปอดระยะที่ 3 (Locally advance disease)

มะเร็งปอดระยะที่ 3 มีการพยากรณ์โรคที่ไม่ดีเมื่อเทียบกับกลุ่มแรกข้างต้น เนื่องจากก้อนมะเร็งมักมีขนาดใหญ่ และมักมีการกระจายไปสู่ต่อมน้ำเหลืองซึ่งอาจทำให้ไม่สามารถผ่าตัดออกได้หมด การรักษาโรคมะเร็งในระยะนี้ยังไม่มีมาตรฐานที่ชัดเจน(37, 38)แต่ในปัจจุบันแนะนำให้ใช้การรักษาหลายวิธีร่วมกัน(Multimodality)คือ การให้ยาเคมีบำบัดร่วมกับการฉายแสงและการผ่าตัด

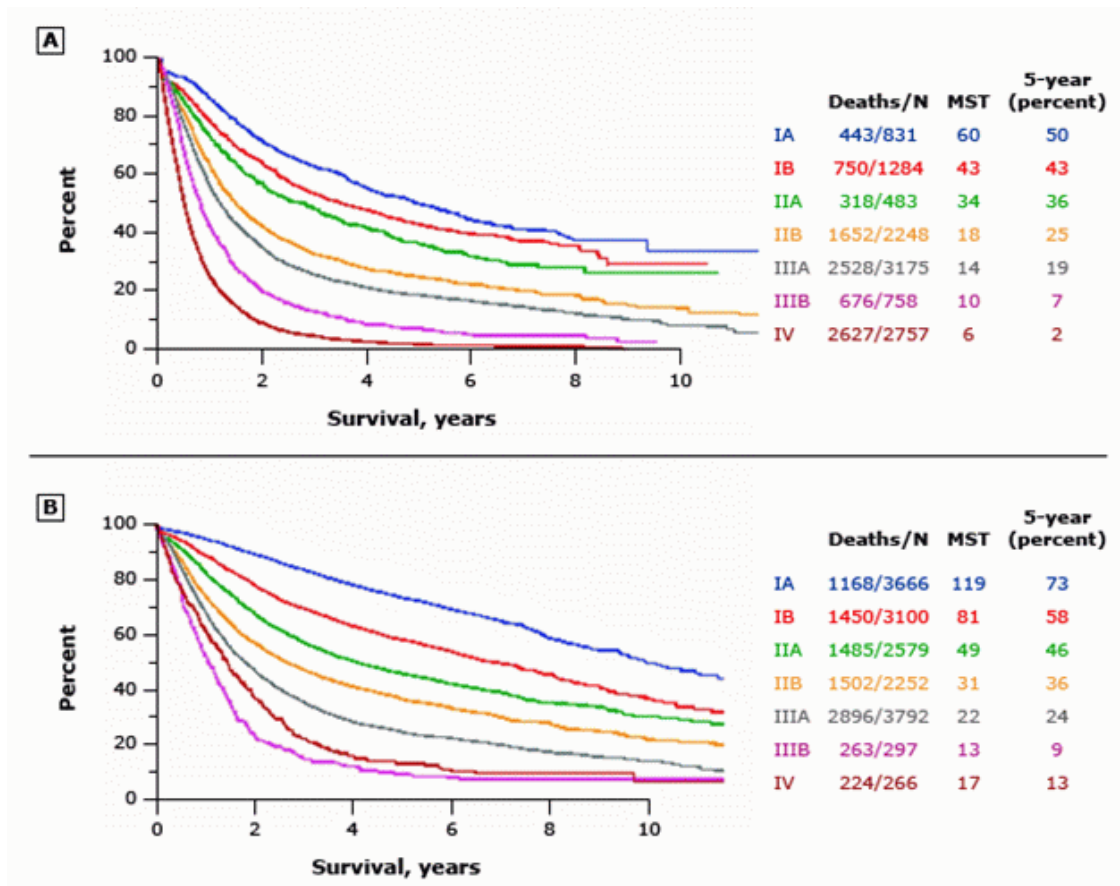
### 3. มะเร็งปอดระยะแพร่กระจาย หรือ ระยะที่ 4 (Metastasis)

จุดมุ่งหมายหลักในการรักษาโรคมะเร็งระยะแพร่กระจาย คือ การประคับประคอง (Palliation) ไม่ให้ตัวโรคลุกลามและเพิ่มอัตราการรอด การรักษาหลักในระยะนี้ คือ การรักษาด้วยยาเคมีบำบัดและยา targeted therapy การฉายแสงจะทำในกรณีที่ต้องการบรรเทาอาการเฉพาะจุด เช่น อาการปวดกระดูกในกรณีโรคแพร่กระจายไป หรือ กรณีมีโรคแพร่กระจายไปที่สมอง ส่วนการรักษาโดยการผ่าตัดนั้น โดยทั่วไปไม่แนะนำเนื่องจากไม่เพิ่มอัตราการรอดของผู้ป่วย

## ปัจจัยที่มีผลต่อการพยากรณ์ของโรคมะเร็งปอดชนิด non-small cell lung cancer

### 1. ระยะของตัวโรค (Stage of disease)

จากการศึกษาในปีพ.ศ.2552(39)พบว่า TNM stage มีความสำคัญต่อการพยากรณ์ของโรค โดยมีผลต่ออัตราการอยู่รอดที่ 5 ปี ต่างๆกัน ดังนี้



รูปที่ 3 แสดง Overall survival by TNM stage in NSCLC (35, 39)

(MST, median survival time)

(A)By clinical staging (B)By pathological staging

## 2. Performance status

สภาพความแข็งแรงของร่างกายผู้ป่วยเป็นปัจจัยที่สำคัญและมีผลต่อการพยากรณ์ของโรคอย่างมีนัยสำคัญ จากการศึกษาร่วมของ Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) trials พบว่า ผู้ป่วยที่มีภาวะ Poor performance status จะมีการพยากรณ์ของโรคที่แย่กว่าและมีอัตราการอยู่รอดที่ต่ำกว่าผู้ป่วยที่แข็งแรงอย่างมีนัยสำคัญ(40)

## 3. ลักษณะทางพยาธิวิทยา (Histopathology)

ปัจจุบันมีการหลายการศึกษาพบว่าลักษณะทางพยาธิวิทยา มีผลต่อพยากรณ์ของโรค อาทิ

- Degree of differentiation(41)(42): well differentiation มีการพยากรณ์โรคดีกว่า poorly differentiation
- Lymphatic invasion (43)(44): เป็นปัจจัยการพยากรณ์โรคที่ไม่ดี
- Subtype : ไม่มีข้อสรุปที่ชัดเจนว่า subtype Adenocarcinoma หรือ squamous cell carcinoma มีการพยากรณ์ของโรคที่แย่กว่ากัน แต่เนื่องจากในปัจจุบัน องค์ความรู้และเทคโนโลยีทางชีวโมเลกุลของ Adenocarcinoma ได้มีการพัฒนาไปมาก ทำให้มีการผลิตยาใหม่ที่ตอบสนองต่อการรักษาได้อย่างตรงเป้าหมาย จึงทำให้มีอัตราการอยู่รอดที่มากกว่า squamous cell carcinoma (45)

## 4. ลักษณะทางชีวโมเลกุลของเนื้องอกมะเร็งปอด (Molecular characterization)

มีข้อมูลที่สนับสนุนการตอบสนองต่อการรักษาของเนื้องอกมะเร็งปอดที่มีลักษณะทางชีวโมเลกุลดังต่อไปนี้

- Epidermal growth factor receptor (EGFR) mutation ในผู้ป่วยมะเร็งปอดที่มีลักษณะการกลายพันธุ์ชนิดนี้ พบว่ามีการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยา EGFR tyrosine kinase

inhibitors ดีกว่า และมีอัตราการอยู่รอดมากกว่ากลุ่มที่ไม่มีการกลายพันธุ์อย่างมีนัยสำคัญ(46)

-The EML4 (echinoderm microtubule-associated protein-like 4)–ALK (anaplastic lymphoma kinase) fusion-type tyrosine kinase ในผู้ที่พบมีการกลายพันธุ์ชนิดนี้ พบว่ามีการตอบสนองดีต่อการรักษาด้วยยา Crizotinib(47) ซึ่งเป็น inhibitor of the anaplastic lymphoma kinase

### มะเร็งปอดชนิดสความัสเซลล์(Lung squamous cell carcinoma)

มะเร็งปอดชนิดสความัสเซลล์(Lung squamous cell carcinoma)มีอุบัติการณ์ของโรคประมาณ ร้อยละ30จากมะเร็งปอดทั้งหมดโดยมีปัจจัยเสี่ยงหลัก คือ การสูบบุหรี่ ถึงแม้ว่าในปัจจุบันอุบัติการณ์ของการเกิดโรคมะเร็งปอดชนิดสความัสได้ลดลงไป เนื่องจาก ค่านิยมและทัศนคติต่อการสูบบุหรี่ได้ลดลงไปจากเดิม(48)แต่เมื่อเปรียบเทียบลักษณะการพยากรณ์โรคระหว่างมะเร็งปอดชนิดต่างๆแล้ว โรคมะเร็งปอดชนิดสความัส ยังมีการพยากรณ์ของโรคที่ไม่ค่อยดีโดยเฉพาะเมื่อเทียบกับมะเร็งปอดชนิดอะดีโน เนื่องจาก ยังขาดองค์ความรู้เกี่ยวกับตัวโรคที่จะสามารถนำไปพัฒนาการรักษาอีกมากในบั้นนี้จึงได้มีการทบทวนองค์ความรู้ของมะเร็งปอดชนิดสความัสเซลล์ไว้ ดังนี้

#### 1. ลักษณะย่อยทางพยาธิวิทยาของมะเร็งปอดชนิดสความัสเซลล์ (Histologic subtype)

มะเร็งปอดชนิดสความัสเซลล์(Lung squamous cell carcinoma) มาจากการเปลี่ยนแปลงของเยื่อบุทางเดินหายใจ (Bronchial epithelium) เกิดการเปลี่ยนแปลงแบบ metaplasia และ dysplasia จนกลายเป็นเนื้อเยื่อมะเร็งชนิดสความัส โดยมีลักษณะเด่นที่สำคัญที่ช่วยแยกออกจากมะเร็งปอดชนิดอื่นได้ คือ

- ลักษณะของเซลล์ มีkeratinization และหรือ intercellular bridge

- การตรวจทางอิมมูโนฮิสโตเคมีสทรี(Immunohistochemistry) พบการแสดงออกของยีน p63 (49)

นอกจากนี้ มะเร็งปอดชนิดสความัสชนิดทั่วไป(typical case)แล้วยังมีลักษณะลักษณะทางพยาธิวิทยาแยกย่อยอื่นๆ(Variants)อีก ดังนี้(50)

#### -Basaloid squamous cell carcinoma

มีลักษณะพยาธิสภาพแบบbasal bronchial stem cell proliferation โดยมีลักษณะbasaloid pattern เป็นลักษณะเด่นและปริมาณมาก แต่บริเวณที่เป็น squamous differentiationกลับพบน้อยลง(51)การวินิจฉัยsubtypeชนิดนี้แยกกับ squamous cell carcinomaชนิดทั่วไปค่อนข้างยากโดยเฉพาะหากได้ชิ้นเนื้อจากการตัดเพียงเล็กน้อย แต่มีความสำคัญ เนื่องจากมีการพยากรณ์โรคแยกว่าsubtypeชนิดอื่นๆ (52)

#### -Papillary squamous cell carcinoma

พยาธิสภาพมักเป็นแบบEndobronchial obstruction growth

-Small cell squamous cell carcinomaบางครั้งวินิจฉัยแยกจากBasaloid subtypeได้ยาก

#### -Clear cell squamous cell carcinoma

2. ลักษณะย่อยทางชีวโมเลกุลของมะเร็งปอดชนิดสความัสเซลล์(Molecular subtype)

แบ่งตามกลไกการเกิดพยาธิสภาพ เป็น 3กลุ่ม(53)ดังนี้

2.1 Membrane receptor alterations

2.2 Signaling pathway alterations

2.3 Transcription factor alterations



**2.1 Membrane receptor alterations** โดยตำแหน่งที่พบการเปลี่ยนแปลงได้บ่อยและแตกต่างกับเซลล์มะเร็งปอดชนิดอื่นๆ ที่สำคัญ มีดังนี้

**- Fibroblast growth factor receptor 1 (FGFR1)**

เป็น transmembrane tyrosine kinase receptor ทำหน้าที่เป็นตัวกลางควบคุมการทำงานของเซลล์ โดยกระตุ้นผ่านกลไกต่างๆ เพื่อให้เซลล์มีการเจริญเติบโต (Proliferative pathway) และสามารถอยู่รอดได้ (Survival pathway) การที่ FGFR-1 มีการเพิ่มจำนวนอย่างผิดปกติ (FGFR-1 amplification) จะทำให้เซลล์เสียการควบคุมสมดุล มีการแบ่งตัวมากและมีอายุขานผิดปกติเกิดเป็นมะเร็งชนิดสความัสได้ โดยมีหลักฐานจากการศึกษาพบว่า ในมะเร็งปอดชนิดสความัส พบ FGFR-1 amplification ถึงร้อยละ 22 แต่ในมะเร็งปอดชนิดอะดีโนแทบจะไม่พบการเปลี่ยนแปลงชนิดนี้เลย (54, 55)

**- The discoidin domain receptor 2 (DDR2)**

เป็น Tyrosine kinase receptor ที่มีตำแหน่งอยู่ด้านในของผิวเซลล์ เมื่อมี endogenous ligand มาจับ จะเกิดการกระตุ้นโดยทำงานร่วมกับ Src and Shc เพื่อกระตุ้นการแบ่งตัวและขบวนการอยู่รอดของเซลล์ต่อไป (29) จากการศึกษาในปี พ.ศ. 2552 พบว่า ในมะเร็งปอดชนิดสความัสพบการกลายพันธุ์ในตำแหน่งนี้ร้อยละ 3.8 (56)

**2.2 Signaling pathway alterations** โดยตำแหน่งที่พบการเปลี่ยนแปลงได้บ่อยและแตกต่างกับเซลล์มะเร็งปอดชนิดอื่นๆ ที่สำคัญ มีดังนี้

**- Phosphoinositide 3-kinase catalytic alpha (PI3KCA)**

ทำหน้าที่เป็นส่วนสำคัญใน survival pathway ของเซลล์มะเร็ง โดยพบอัตราการกลายพันธุ์ของตำแหน่งนี้สูงถึงร้อยละ 33.1 . ในมะเร็งปอดชนิดสความัส แต่ในมะเร็งปอดชนิดอื่นพบได้น้อยกว่า อาทิ มะเร็งปอดชนิดอะดีโน พบเพียงร้อยละ 6.2 (57, 58)

**- V-akt murine thymoma viral oncogene homolog 1 (AKT1)**

ทำหน้าที่เป็นส่วนหนึ่งของ PI3K signal transduction pathway ใน survival pathway ของเซลล์มะเร็ง โดยมีอัตราการกลายพันธุ์ที่ตำแหน่งนี้ได้ประมาณร้อยละ 1 ของมะเร็งปอดสความัส แต่ไม่พบในมะเร็งปอดชนิดอะดีโนไค (59)

#### -Loss of *PTEN* (The phosphatase and tensin homolog)

*PTEN* ทำหน้าที่สำคัญคือ tumor-suppression การเสียหายที่ของ *PTEN* (Loss of *PTEN*) ทำให้เกิดการกระตุ้นการทำงานของ PI3K-AKT pathway มากกว่าปกติทำให้เซลล์ที่แบ่งตัวผิดปกติ มีอายุนานขึ้น โดย

พบว่า ในมะเร็งปอดสความัสมีการกลายพันธุ์ของยีนในตำแหน่งนี้ร้อยละ 10 ส่วนมะเร็งปอดอะดีโนไค พบประมาณ ร้อยละ 2 (60)

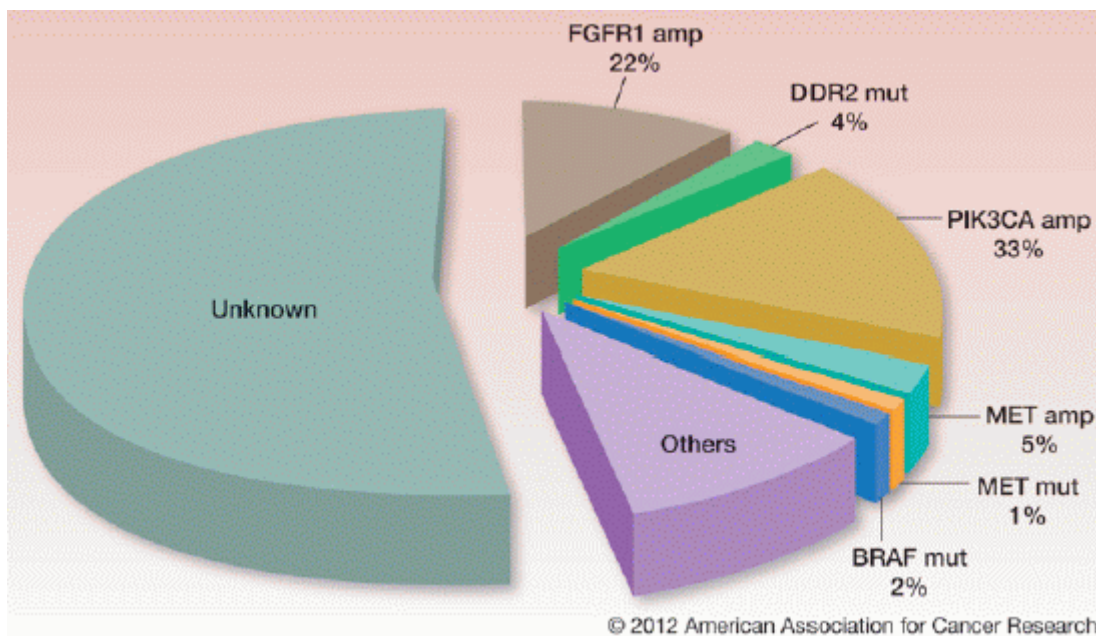
**2.3 Transcription factor alterations** โดยตำแหน่งที่พบการเปลี่ยนแปลงได้บ่อยและแตกต่างกับเซลล์มะเร็งปอดชนิดอื่นๆ ที่สำคัญ มีดังนี้

#### -The *p53*

ยีน *p53* อยู่ในตำแหน่ง p13.1 บนโครโมโซมคู่ที่ 17 มีหน้าที่สำคัญในการรักษาสมดุลของเซลล์ไม่ให้มีอายุนานผิดปกติ จาก CODMIC database พบว่า มะเร็งปอดชนิดสความัสมีการตรวจพบการกลายพันธุ์ในตำแหน่งนี้สูงถึงร้อยละ 50 (61)

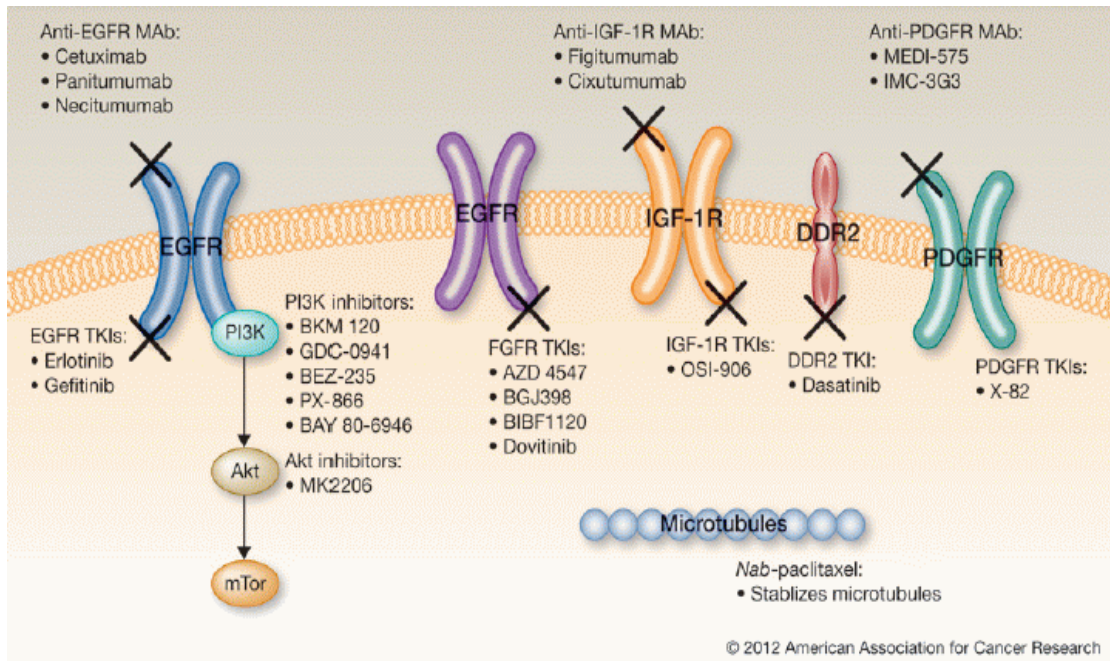
#### -Sex-determining region Y-Box 2 (*SOX2*)

ทำหน้าที่เป็น transcription factor ที่มีบทบาทสำคัญในการเกิด squamous differentiation โดยเฉพาะในปอด และมีความสำคัญต่อการรักษาสภาพการคงอยู่ของเซลล์มะเร็งปอดสความัส โดยพบว่า การที่มี amplification ของยีนนี้มีความสัมพันธ์กับมะเร็งปอดสความัสถึงร้อยละ 23 (62)



รูปที่ 4 แสดงสัดส่วนความผิดปกติทางพันธุกรรมของยีนในมะเร็งปอดสควamous ที่ค้นพบในปัจจุบัน

(53)



รูปที่ 5 แสดงตำแหน่งความผิดปกติทางพันธุกรรมของยีนในมะเร็งปอดความถี่ที่ค้นพบในปัจจุบัน และยารักษาที่อยู่ระหว่างการวิจัย(63)

## บทที่ 4

### มะเร็งศีรษะและคอชนิดสความัส(Head neck squamous cell carcinoma)

#### ระบาดวิทยา (Epidemiology)

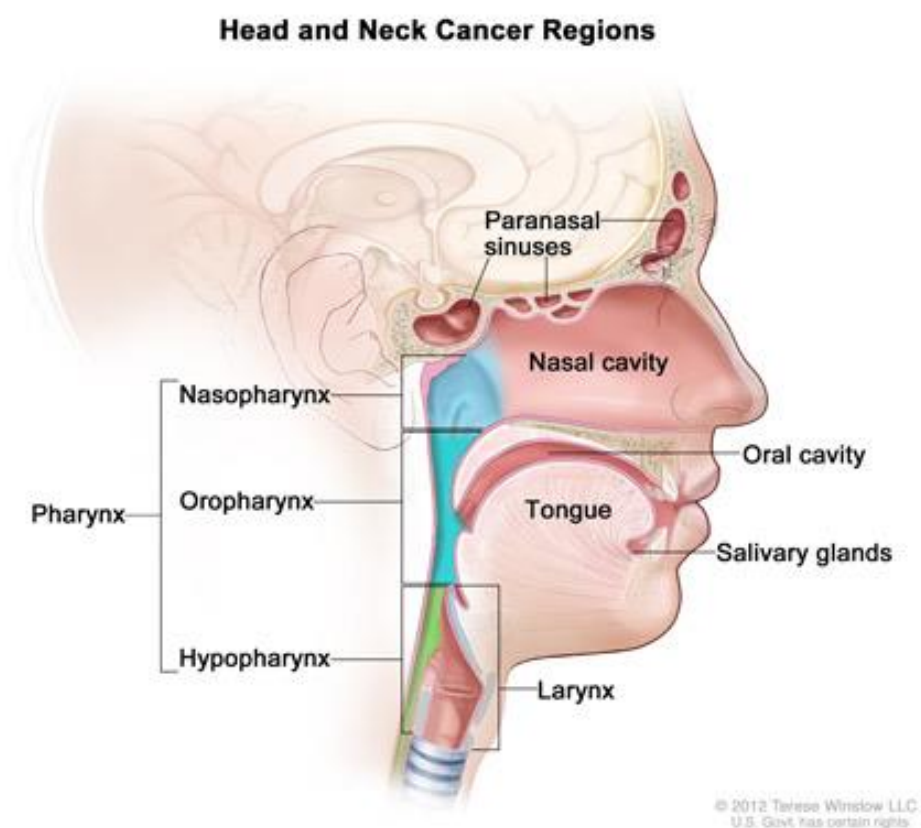
มะเร็งศีรษะและคอเป็นมะเร็งที่พบบ่อยเมื่อรวมทุกอวัยวะของมะเร็งศีรษะและคอ จะพบว่าในแต่ละปีมีผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและลำคอรายใหม่ในอัตราที่สูงเกือบในทุกประเทศ โดยพบผู้ป่วยรายใหม่ทั่วโลกประมาณ 550,000 รายต่อปี(64)โดยเฉพาะในเพศชายพบอุบัติการณ์สูงกว่าเพศหญิงประมาณ 2-4เท่า จากการสำรวจของมะเร็งวิทยาสมาคมแห่งประเทศสหรัฐอเมริกา (American Cancer Society) ในปีพ.ศ.2555 พบว่า ในประเทศสหรัฐอเมริกามีอุบัติการณ์ของการตรวจพบผู้ป่วยรายใหม่ที่เป็นโรคมะเร็งศีรษะและคอ สูงถึง 52,610 คน และเป็นมะเร็งที่มีอุบัติการณ์สูงเป็นอันดับเจ็ดในเพศชาย(17)

ในประเทศไทย องค์การอนามัยโลกระบุว่าประเทศไทยมีผู้ป่วยโรคมะเร็งศีรษะและลำคอกว่า 12,000 รายต่อปีเสียชีวิตกว่า 5,000 รายต่อปีจัดเป็นมะเร็งที่พบบ่อยเป็นอันดับ 5 ในผู้ป่วยมะเร็งชาวไทยรองลงมาจากมะเร็งตับมะเร็งปอดมะเร็งเต้านมและมะเร็งลำไส้ใหญ่(18)

นอกจากนี้ ยังพบว่าอุบัติการณ์ของมะเร็งแต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน โดยอุบัติการณ์ของมะเร็งช่องปากและลิ้นพบมากในประเทศแถบอินเดียและซหมพูทวีป ส่วนมะเร็งคอหอยส่วนหลังโพรงจมูก(Nasopharyngeal cancer)พบมากขึ้นในประเทศแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ โดยเฉพาะฮ่องกง(65)

## ลักษณะทางกายวิภาคของศีรษะและคอ (Anatomy of Head and Neck)

โรคมะเร็งศีรษะและลำคอ คือ โรคมะเร็งที่เกิดจากเยื่อเมือกภายในของอวัยวะบริเวณศีรษะและลำคอ แบ่งเป็น 5 ส่วน ได้แก่



รูปที่ 6 แสดงอวัยวะส่วนต่างๆบริเวณศีรษะและลำคอ(66)

1. **ช่องปาก (Oral cavity)** ซึ่งประกอบด้วย ริมฝีปาก กระพุ้งแก้ม เนื้อเยื่อใต้ลิ้น และรอบๆลิ้น เหงือก ลิ้น และเพดานแข็ง (lips, buccal mucosa, anterior tongue, floor of the mouth, hard palate, gingiva, and retromolar trigone)

## 2. คอหอย (Pharynx) แบ่งเป็นส่วนย่อยอีก 3 ส่วน

-คอหอยส่วนปาก (oropharynx) ซึ่งประกอบด้วย โคนลิ้น ต่อมทอนซิล เพดานอ่อนผนังคอ

คอหอยส่วนปากด้านหลัง (The tongue base, tonsillar area, the soft palate, and the posterior pharyngeal wall)

-คอหอยส่วนโพรงหลังจมูก (nasopharynx) เป็นส่วนที่อยู่ทางบนต่อคอหอยส่วนปาก

-คอหอยส่วนล่าง (hypopharynx) ประกอบด้วย pyriform sinuses, postcricoid area, and the inferior, posterior, and lateral pharyngeal walls

## 3. กล่องเสียง (The larynx) และเนื้อเยื่อรอบกล่องเสียงแบ่งเป็น 3 ส่วนคือ

- Supraglottic region
- Glottic larynx (true vocal cords and mucosa of the anterior and posterior commissures)
- Subglottic larynx ซึ่งครอบคลุมถึง inferior border of the cricoid cartilage.

## 4. โพรงจมูก และ โพรงไซนัส (The nasal cavity and the paranasal sinuses) ได้แก่ maxillary, ethmoid, sphenoid, frontal sinuses

## 5. ต่อมน้ำลายต่างๆ (Salivary glands) ได้แก่

The major salivary glands ประกอบด้วย parotid, submandibular และ sublingual gland

The minor salivary glands ซึ่งอยู่ในชั้น submucosa ของช่องปาก ระบบทางเดินอาหาร และทางเดินหายใจส่วนบน (Upper aerodigestive tract)

ในบทนี้จะขอกล่าวถึงโรคมะเร็งศีรษะและคอที่ไม่ใช่มะเร็งหลังโพรงจมูก (Nasopharyngeal cancer) เนื่องจากมีสาเหตุ ปัจจัยเสี่ยง ลักษณะการดำเนินของโรค วิธีการรักษาที่มีความแตกต่างกัน

### ปัจจัยเสี่ยงของโรคมะเร็งศีรษะและคอ

#### การสูบบุหรี่(Smoking)

การสูบบุหรี่ เพิ่มความเสี่ยงต่อการเป็นมะเร็งศีรษะและคอถึง 10-25 เท่าเมื่อเทียบกับผู้ที่ไม่สูบบุหรี่(67)

ส่วนผู้ที่ไม่สูบบุหรี่แต่มีประวัติอาศัยอยู่ใกล้ชิดกับผู้ที่สูบบุหรี่ (Secondhand smoke exposure) นั้นมีรายงานว่าเพิ่มความเสี่ยงต่อการเป็นมะเร็งศีรษะและคอมากขึ้นเช่นกัน(68)

#### แอลกอฮอล์(Alcohol)

การดื่มแอลกอฮอล์เพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็งของระบบทางเดินอาหารและทางเดินหายใจส่วนบนอย่างมีนัยสำคัญ มีการศึกษาว่าปริมาณของแอลกอฮอล์ที่ดื่มมีความสัมพันธ์ต่อความเสี่ยง กล่าวคือ ในคนที่ดื่มแอลกอฮอล์มากกว่า 50 กรัมต่อวัน จะมีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็งสูงกว่าคนที่ดื่มไม่เกิน 10 กรัมต่อวัน เป็น 5 เท่า(69)กลไกความสัมพันธ์ระหว่างแอลกอฮอล์และการเกิดมะเร็งศีรษะและคอ ยังไม่เป็นที่แน่ชัด เชื่อว่า อาจเกิดจากความผันแปรทางพันธุกรรม(genetic polymorphisms)ของเอนไซม์ alcohol dehydrogenase (ADH) และ aldehyde dehydrogenase (ALDH)(70)

#### การติดเชื้อไวรัส(Viral infection)

##### Epstein-Barr virus(EBV)

มีความสัมพันธ์กับ Nasopharyngeal และ paranasal cancer ซึ่งมีอุบัติการณ์สูงในแถบตอนใต้ของประเทศจีนส่วนกลไกความสัมพันธ์ของไวรัส EBV กับ nasopharyngeal cancer ยังไม่เป็นที่แน่ชัด (71)



### Human papillomavirus (HPV)

การติดเชื้อไวรัส HPV ที่เป็น High oncogenic strains คือ 16 และ 18 พบว่ามีความสัมพันธ์กับการเกิด oropharyngeal cancers อย่างมีนัยสำคัญ โดยเฉพาะผู้ป่วยชายที่มีอายุน้อยและไม่สูบบุหรี่ พบอุบัติการณ์ของการติดเชื้อ HPV สูงถึง ร้อยละ 60 โดยกลไกความสัมพันธ์ของการเกิดโรคมะเร็ง เชื่อว่า เกิดจาก viral oncogene ของ HPV คือ E6 และ E7 ไป inactivate tumor suppressor proteins คือ p53 และ protein retinoblastoma ทำให้ loss of cell cycle regulation และ Chromosome instability ก่อให้เกิดมะเร็งตามมา (72)

### Human immunodeficiency virus (HIV)

ในผู้ป่วยติดเชื้อเอชไอวี พบว่ามีอุบัติการณ์ของโรคมะเร็งของศีรษะและคอเพิ่มขึ้นกว่าคนทั่วไปที่ไม่ติดเชื้อ 2-3 เท่า

### การเคี้ยวหมากพลู (Betel nut chewing)

เพิ่มความเสี่ยงของการเกิดมะเร็งช่องปาก เช่นเดียวกับการสูบบุหรี่ นอกจากนี้ ยังมีรายงานว่ามีความสัมพันธ์กับมะเร็งหลอดอาหารและมะเร็งตับด้วย

### อาหาร (Diet)

อุบัติการณ์ของโรคมะเร็งศีรษะและคอพบสูงขึ้นในผู้ป่วยที่มีภาวะขาดสารอาหาร นอกจากนี้ บางการศึกษาพบว่า การทานอาหารที่มีส่วนประกอบของวิตามินเอ ผักและผลไม้มาก จะช่วยป้องกันการเกิดโรคมะเร็งได้ (Protective effect) (73)

## อาการและอาการแสดงของโรคมะเร็งศีรษะและคอ

### มะเร็งช่องปาก Oral cavity tumors

ผู้ป่วยมักมาด้วยมีแผลเรื้อรังในช่องปาก ฟันโยก มีปัญหาโรคทางปริทันต์เรื้อรัง เลือดออกง่าย เจ็บและมีปัญหาการกลืนได้ ในบางรายอาจมีน้ำหนักลดร่วม ตรวจร่างกายอาจคลำพบต่อมน้ำเหลืองที่คอโตได้.

### มะเร็งคอหอยส่วนบน(Oropharyngeal tumors)

ผู้ป่วยมักมาด้วยอาการเจ็บคอ นอนกรนเนื่องจากมีก้อนอุดกั้นทางเดินหายใจ ตรวจร่างกายอาจคลำพบต่อมน้ำเหลืองที่คอโตได้

### มะเร็งคอหอยส่วนล่าง(Hypopharyngeal tumors)

ในช่วงแรก ผู้ป่วยที่เป็นในตำแหน่งนี้มักไม่มีอาการ จึงมักมาพบแพทย์เมื่อโรคเข้าสู่ระยะลุกลามมากแล้ว อาการส่วนใหญ่ที่มาพบแพทย์คือ กลืนลำบาก กลืนเจ็บ น้ำหนักลด และ คลำได้ ก่อนที่คอเนื่องจากมีการแพร่กระจายไปที่ต่อมน้ำเหลืองแล้ว

### มะเร็งกล่องเสียงและเนื้อเยื่อข้างเคียง (Laryngeal cancer)

อาการขึ้นกับตำแหน่งของเนื้องอกมะเร็ง

-มะเร็งที่กล่องเสียง (*glottic cancers*) ในช่วงแรกมักมาด้วยอาการเสียงแหบ ต่อมาจะเริ่มมีอาการกลืนลำบาก และเจ็บเวลากลืนได้

-มะเร็งของเนื้อเยื่อเหนือกล่องเสียง (*Supraglottic cancers*) ในช่วงแรกมักไม่มีอาการ จึงมักมาพบแพทย์ในระยะท้ายของโรคด้วยอาการของทางเดินหายใจถูกอุดกั้น หรือ คลำพบก้อนที่คอ

-มะเร็งของเนื้อเยื่อใต้กล่องเสียง (*Subglottic tumors*) มักมาพบแพทย์ด้วยอาการของทางเดินหายใจถูกอุดกั้น มีอาการเห็น้อย่าง

## มะเร็งของโพรงจมูกและไซนัส(Paranasal and Sinus tumors)

ผู้ป่วยมะเร็งในตำแหน่งนี้ มักมาด้วยอาการเลือดกำเดาไหลบ่อยหรือคัดจมูกผิดปกติ หากมีอาการปวดของใบหน้าหรือศีรษะร่วมด้วยแล้วมักอยู่ในระยะท้ายของโรคที่มีการลุกลามสู่อวัยวะข้างเคียง

## การวินิจฉัยโรคมะเร็งศีรษะและคอ

### Tissue biopsy

การวินิจฉัยที่ดีที่สุดคือ การตรวจร่างกายและส่องกล้องเพื่อหาตำแหน่งตั้งต้นของมะเร็ง(Primary tumor)และตัดชิ้นเนื้อไปตรวจทางพยาธิวิทยา นอกจากนี้ยังช่วยประเมินการลุกลามของโรคมะเร็งในเบื้องต้นก่อนการตรวจด้วยภาพถ่ายทางรังสีได้ การตรวจร่างกายเพื่อประเมินรอยโรคอย่างละเอียดนั้นหากพยาธิสภาพอยู่ลึก เช่น larynx hypopharynxควรทำโดยการวางยาสลบเพื่อไม่ให้เกิดแรงต้านจากผู้ป่วย นอกจากนี้ ในผู้ป่วยที่มีอาการผิดปกติของระบบการกลืนอาหารหรือระบบทางเดินหายใจอาจพิจารณาส่องกล้องbronchoscopyและesophagoscopyร่วมด้วย เนื่องจากพบอุบัติการณ์การเกิดมะเร็งปฐมภูมิแห่งที่สองในผู้ป่วยโรคมะเร็งศีรษะและคอได้ประมาณร้อยละ 3-5 เนื่องจากผู้ป่วยกลุ่มนี้ มักเป็นผู้ที่สูบบุหรี่มากซึ่งเป็นปัจจัยเสี่ยงของการเกิดโรคมะเร็งในอวัยวะทางเดินหายใจและทางเดินอาหารส่วนบน(74)

### Fine needle aspiration (FNA)

เป็นการตรวจโดยใช้เข็มดูดเซลล์จากเนื้อเยื่อที่สงสัยมาตรวจหาเซลล์มะเร็ง นิยมใช้ตรวจเซลล์จากต่อมน้ำเหลืองบริเวณคอที่โต(ในกรณีที่ตรวจร่างกายแล้วไม่พบตำแหน่งปฐมภูมิที่ชัดเจนเป็นวิธีการที่ทำได้ง่ายสะดวก มีความไวประมาณร้อยละ 85-90 และ มีความจำเพาะประมาณร้อยละ 95-98 (75)

## ภาพถ่ายทางรังสีเพื่อช่วยการวินิจฉัย

### Computed tomography (CT scan)

ช่วยบอกตำแหน่ง ขอบเขตการลุกลามของเนื้องอกได้ดี เนื่องจากเนื้องอกมะเร็ง มักแสดงภาพทึดสีของสารทึบแสงได้ดีกว่าเนื้อเยื่อปกติ (Enhancement) ทำให้สามารถประเมินวางแผนการผ่าตัดได้ดีและมีความแม่นยำในการประเมินระยะของโรคได้ถูกต้องมากขึ้น (76) นอกจากนี้ ยังช่วยในการวินิจฉัย Pathologic lymphadenopathy โดยมักมีลักษณะ ดังนี้

- ขนาดใหญ่ตั้งแต่ 1 เซนติเมตรขึ้นไป (77)
- มีลักษณะ Central necrosis ในต่อมน้ำเหลืองที่มีขนาดใหญ่กว่า 2 เซนติเมตร (78)
- Increased or heterogeneous contrast enhancement (79)
- ลักษณะที่บ่งบอกถึง Extracapsular spread of nodal metastasis คือ irregular border of lymph node, infiltration of adjacent fat planes, loss of cleavage plane with adjacent anatomical structures (80)

### Magnetic resonance imaging (MRI)

ให้รายละเอียดความลึกและการลุกลามของมะเร็งสู่บริเวณที่เป็นเนื้อเยื่ออ่อนได้ดีกว่า CT scan นอกจากนี้ ยังสามารถช่วยประเมิน perineural spread, skull base invasion และ intracranial extension ได้ดีกว่าการทำ CT scan อย่างไรก็ตาม MRI มีข้อจำกัดในแง่มีความไวค่อนข้างต่ำ อยู่ที่ประมาณร้อยละ 60-70 (81)

### Integrated Positron emission tomography/Computed tomography (PET/CT)

การตรวจด้วยวิธี integrated PET-CT ทำให้ได้ผลการตรวจที่มีถูกต้อง แม่นยำมากขึ้น เนื่องจากได้มีการรวมข้อมูลทั้งทางลักษณะทางกายวิภาคและเมตาบอลิซึมของเนื้องอกมะเร็งไว้ด้วยกัน สามารถช่วยการวินิจฉัย regional nodal metastases, distant metastases และ second primary tumors ได้ดีกว่า CT scan และ MRI (82) โดยมีรายงานว่ามีความไวสูงถึงร้อยละ

90(83)แต่มีข้อจำกัดคือ ในกรณีที่ต่อมน้ำเหลืองขนาดเล็ก (ขนาดเล็กกว่า 5 มิลลิเมตร) ความไวของการตรวจจะลดลงเหลือเพียง ร้อยละ 25-50(84)

### ลักษณะทางพยาธิวิทยา

ร้อยละ 90-95 ของผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและคอ(ยกเว้นต่อมน้ำลายและต่อมไทรอยด์) มีพยาธิสภาพเป็นเซลล์มะเร็งชนิดสควamous ซึ่งสามารถแบ่งตามการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ (differentiation) เป็นกลุ่มต่างๆได้ ดังนี้

- Well differentiated พบในอัตราร้อยละ 75

-Moderately differentiated พบในอัตราร้อยละ 25-50

-Poorly differentiated พบในอัตราประมาณร้อยละ 25

-กลุ่มย่อยชนิดอื่นๆ ที่พบได้ไม่บ่อย ได้แก่ verrucous carcinoma, adenocarcinoma, adenoid cystic carcinoma และ mucoepidermoid carcinomas

### การแบ่งระยะของโรคมะเร็งศีรษะและคอ(Non nasopharyngeal cancer)

#### T stage

ขึ้นกับอวัยวะปฐมภูมิของมะเร็ง โดย T1-T3 ใช้นิยามเดียวกัน แต่ คำนิยามของ T4 ในแต่ละอวัยวะจะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับตำแหน่งเริ่มต้นของเนื้องอกมะเร็งว่ามีการลุกลามไปอวัยวะใกล้เคียงใดบ้าง โดยแบ่งเป็น T4a คือ มีโอกาสที่จะผ่าตัดได้ และ T4b คือ ลุกลามสู่อวัยวะสำคัญ เช่น หลอดเลือดแดงคาโรติด (Carotid artery) ซึ่งไม่สามารถรักษาโดยการผ่าตัดได้

T1 Tumor is 2 cm or less in greatest dimension.

T2 Tumor is more than 2 cm but not more than 4 cm in greatest dimension without extraparenchymal extension

**T3** Tumor is more than 4 cm in greatest dimension and /or tumor having extraparenchymal extension or vocal cord fixation in laryngeal cancer

**T4a** Tumor invades through adjacent organ

**T4b** Tumor invades the lateral pterygoid muscle, pterygoid plates, or skull base or encases the carotid artery

### N stage

**NX** Regional lymph nodes cannot be assessed

**N0** There is no regional nodes metastasis

**N1** Metastasis is in a single ipsilateral lymph node, 3 cm or less in greatest dimension

**N2** Metastasis is in a single ipsilateral lymph node, more than 3cm but not more than 6 cm in greatest dimension; or metastasis in multiple ipsilateral lymph nodes, none more than 6 cm in greatest dimension; or metastasis is in bilateral or contralateral lymph nodes, none greater than 6 cm in greatest dimension

**N2a** Metastasis is in a single ipsilateral lymph node, more than 3cm but not more than 6 cm in greatest dimension

**N2b** Metastasis is in multiple ipsilateral lymph nodes, none more than 6 cm in greatest dimension

**N2c** Metastasis is in bilateral or contralateral lymph nodes, none more than 6 cm in greatest dimension

**N3** Metastasis is in a lymph node more than 6 cm in greatest dimension

Stage 0	Tis	N0	M0
Stage I	T1	N0	M0
Stage II	T2	N0	M0
Stage III	T3	N0	M0
	T1-T3	N1	M0
Stage IVA	T4a	N0-N1	M0
	T1-T4a	N2	M0
Stage IVB	Any T	N3	M0
	T4b	Any N	M0
Stage IVC	Any T	Any N	M1

ตารางที่ 3 แสดง American Joint Committee on Cancer TNM staging ของโรคมะเร็งศีรษะและคอ (Larynx, Oropharynx, Hypopharynx, Oral Cavity, Salivary Glands, and Paranasal Sinuses)

### แนวทางการรักษาโรคมะเร็งศีรษะและคอ

แนวทางการรักษาขึ้นอยู่กับระยะและการลุกลามของโรค แบ่งแนวทางการรักษาเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่

1. **Early stage disease** ได้แก่ ระยะที่ 1, 2 และระยะที่ 3 ที่ขนาดไม่ใหญ่ (T1 or T2, N0 or N1) รักษาด้วยวิธีการผ่าตัดและ/หรือการฉายแสง ขึ้นอยู่กับตำแหน่งตั้งต้นของเนื้องอก โดยในระยะนี้ มีการพยากรณ์โรคค่อนข้างดี มีอัตราการหายขาดสูงถึง ร้อยละ 60-100

**2. Locally advance** ได้แก่ ระยะที่ 3 และ 4 ที่ยังไม่มีมีการกระจายของโรคไปไกลที่อวัยวะอื่น (No distant metastasis) การรักษาควรใช้ทีมแพทย์สหสาขาเพื่อให้การรักษาได้ผลดี ทั้งนี้จำเป็นต้องวางแผนการรักษาอย่างละเอียด แบ่งแนวทางการรักษาเป็น 2 กลุ่ม

### 2.1 Potentially resectable group

คือ ก้อนมีขนาดใหญ่หรือมีการลุกลามสู่อวัยวะข้างเคียงหรือมีการกระจายไปสู่ต่อมน้ำเหลืองจำนวนมากแต่ยังสามารถผ่าตัดได้ โดยที่การผ่าตัดไม่ทำให้เสียการทำงานหลักของอวัยวะนั้น อาจรักษาโดย

-การผ่าตัดก่อน และรับการรักษาเสริมโดยการฉายแสง หรือ การฉายแสงร่วมกับการให้ยาเคมีบำบัดหรือ

-การให้ยาเคมีบำบัดก่อนเพื่อลดขนาดของก้อน แล้วค่อยตามด้วยการผ่าตัดและฉายแสง (85)

### 2.2 Unresectable group

คือ กลุ่มผู้ป่วยที่โรคมีการลุกลามสู่อวัยวะใกล้เคียงที่สำคัญ การผ่าตัดทำได้ยาก มีโอกาสผ่าตัดเนื้องอกออกไม่หมด หรือมีความเสี่ยงบาดเจ็บต่ออวัยวะสำคัญข้างเคียง โดยมี Criterias for unresectability ดังนี้

1. Base of skull involvement
2. Fixation to the prevertebral fascia
3. Carotid involvement
4. Involvement of the pterygoid musculature

### 3. Metastatic disease

จุดมุ่งหมายหลักในการรักษาโรคมะเร็งระยะแพร่กระจาย คือ การประคับประคอง (Palliation) ไม่ให้ตัวโรคลุกลามและเพิ่มอัตราการอยู่รอด การรักษาลึกในระยนี้ คือ การรักษาด้วยยาเคมีบำบัดและยา targeted therapy การฉายแสงจะทำในกรณีที่ต้องการบรรเทาอาการ



เฉพาะจุด เช่น อาการปวดยาเคมีที่ใช้รักษาอย่างแพร่หลายคือ Platinum base combination อาทิ Platinum and fluorouracil, Platinum plus taxane ซึ่งมีการศึกษาว่าได้อัตราการตอบสนองที่ดีกว่าการใช้ยาตัวเดียว อย่างไรก็ตาม การใช้ยาสองชนิดไม่มีข้อมูลว่าเพิ่มอัตราการอยู่รอดได้เมื่อเทียบกับการใช้ยาหนึ่งชนิด (86, 87)

### การพยากรณ์โรคของมะเร็งศีรษะและคอ

โดยเฉลี่ยรวมกันทุกระยะ มีอัตราการอยู่รอดที่ 5 ปี ประมาณร้อยละ 53 เมื่อแยกตามระยะของโรค มีการพยากรณ์ ดังนี้

1. Early stage disease[ระยะที่ 1, 2 และระยะที่ 3 ที่ขนาดไม่ใหญ่ (T1 or T2, N0 or N1)]มีการพยากรณ์โรคค่อนข้างดี มีอัตราการหายขาดสูงถึง ร้อยละ 60-100
2. Locally advance disease ได้แก่ ระยะที่3 และ 4 ที่ยังไม่มีการกระจายของโรคไปไกลที่อวัยวะอื่น (No distant metastasis)มีอัตราการอยู่รอดที่ 5 ปี ประมาณร้อยละ 40 อย่างไรก็ตาม มีการศึกษาพบว่า ผู้ป่วยในระยะนี้ที่พบการติดเชื้อไวรัส HPVร่วมด้วย มีการพยากรณ์โรคที่ดีกว่า โดยมีอัตราการอยู่รอดในระยะยาวสูงถึง ร้อยละ 80 (88)
3. Metastatic disease มีการพยากรณ์ของโรคไม่ดี อัตราการอยู่รอดที่ 1 ปี เฉลี่ยอยู่ที่ร้อยละ 30 โดยมีปัจจัยที่สำคัญคือ Weight loss, Poor performance status, Prior radiation therapy, Active smoking, Significant comorbidity

## บทที่ 5

### การตรวจการแสดงออกของยีนเอสเอฟทีพีบีและยีนเคอาร์ทีโพร์ทีน โดยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมีสทรี

(Immunohistochemistry method for *SFTP*B AND *KRT14* expression)

การตรวจชิ้นเนื้อทางพยาธิวิทยาเพื่อการวินิจฉัยโรค โดยทั่วไปจะใช้การย้อมด้วยสี Hematoxylin & Eosin เพื่อดูลักษณะรูปร่างของเซลล์และส่วนประกอบในเซลล์ แต่ในบางครั้งการย้อมด้วย Hematoxylin & Eosin เพียงอย่างเดียวไม่อาจทำการวินิจฉัยความผิดปกติได้ โดยเฉพาะในโรคมะเร็งหลายชนิดซึ่งอาจมีรูปร่างและโครงสร้างของเซลล์คล้ายกัน แต่การวินิจฉัยและการรักษาต่างกัน จึงจำเป็นต้องอาศัยการตรวจด้วยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมีเพื่อตรวจหาแอนติเจนต่าง ทั้งที่อยู่บนผิวเซลล์, ภายในเซลล์ และภายในนิวเคลียส ซึ่งปัจจุบันได้มีการนำวิธีนี้มาใช้ในการวินิจฉัยโรคอย่างแพร่หลาย

วิธีนี้แบ่งเป็น 2 แบบ ได้แก่

#### 1. Direct method (89)

ทำโดยการใช้ แอนติบอดี (Antibody) ที่ conjugate กับ enzyme (horse radish peroxidase หรือ alkaline phosphatase) มาจับกับแอนติเจน แล้วทำให้เกิดสี วิธีการนี้จะมี sensitivity น้อยปัจจุบันจึงไม่นิยมใช้วิธีนี้

#### 2. Indirect method (90)

เป็นการตรวจโดยการใช้แอนติบอดี 2 ชนิด คือ

- Primary antibody ที่มีความจำเพาะต่อสิ่งที่ต้องการจะตรวจหาชิ้นๆ

- Secondary antibody จะ conjugate enzyme ไว้แล้ว วิธีการนี้ทำให้ sensitivity ดีขึ้น

### 2.1 Unlabelled antibody method(91)

เป็นการใช้ Secondary antibody เป็นตัวเชื่อมระหว่าง primary antibody กับ tertiary antibody ที่มี enzyme complex conjugate อยู่ วิธีการนี้ได้แก่ Peroxidase antiperoxidase complex (PAP), alkaline phosphatase anti-alkaline phosphatase complex (APAAP)

### 2.2 (Strept)avidin-biotin technology(92)

เป็นวิธีการที่อาศัยคุณสมบัติในการจับตัวกันของAvidinและbiotinที่จะยึดตัวกันอย่างแน่นหนาและจำเพาะเจาะจงavidinเป็นส่วนประกอบหนึ่งของโปรตีนอัลบูมิน มีโครงสร้างที่เหมาะสม ที่จะให้biotinเกาะได้ส่วนbiotinเป็นlowmolecular weight vitaminที่สามารถจะ conjugateกับantibodyและenzymeได้ง่ายจึงทำให้สามารถที่จะใช้biotin conjugateกับ secondary antibodyและสร้างavidin-biotin enzyme complexเพื่อใช้แทนPAP orAPAAP complex

การตรวจด้วยวิธีการนี้ มีข้อจำกัดคือ Avidinจะมีoligosaccharideresidueติดมาด้วยสารตัวนี้มักจะไปจับกับlecitinบนเนื้อเยื่อได้และ biotinมีในmitochondriaของทุกเซลล์ ทำให้เกิดnonspecific stainingจึงมีการใช้สารstreptavidinซึ่งได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย Streptomycesavidiniiโดยสารตัวนี้ไม่มีoligosaccharideresidueและมีคุณสมบัติในการจับกับ biotinเช่นเดียวกับavidinมาแทนการใช้avidin

### 2.3 Polymer-conjugate Technology(93)

เป็นเทคนิคที่ใช้ Polymer มาติดบน secondary antibodyทำให้หนึ่งsecondary antibody สามารถจับกับแอนไทม์ (ที่ติดChromogen) ได้มาก เห็นการติดสีได้ดีมากขึ้น เทคนิคนี้จึงช่วยเพิ่ม sensitivityลดเวลาและขั้นตอนในการทำ และเทคนิคนี้ไม่มีการใช้avidin, biotin จึงไม่ทำให้เกิด nonspecific staining จาก endogenous biotin โดยในการศึกษานี้ใช้วิธี Polymer-

conjugate Technology เนื่องจากเป็นวิธีที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายและเป็นวิธีมาตรฐานในปัจจุบัน โดยใช้ detection system ของบริษัท Ventana®

**การเตรียมตัวอย่างเพื่อศึกษาทางอิมมูโนพยาธิวิทยา (การเตรียมชิ้นเนื้อจาก Paraffin Sections)**

### 1. Fixation and Embedding

Fixation เป็นการรักษาสภาพของเซลล์และเนื้อเยื่อต่างๆ รวมทั้งรักษาสภาพของแอนติเจนที่ต้องการตรวจหาให้อยู่ในสภาพเดิม หรือหลีกเลี่ยงการทำลายต่อ antigen determinant หรือ epitope (ตำแหน่งย่อยๆ บนแอนติเจนที่สามารถทำปฏิกิริยากับแอนติบอดีที่จำเพาะ) ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับคุณสมบัติของแอนติเจนนั้นๆ บางชนิดอาจทนกับ fixative ชนิดหนึ่ง แต่อาจจะไม่ทนต่อชนิดอื่นๆ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของ fixative และระยะเวลาการ fix สภาพที่เหมาะสมก็คือชิ้นเนื้อที่บางและเวลาในการ fix ปัจจุบันยังไม่มี fixative ชนิดใดที่เหมาะสมสำหรับแอนติเจนทุกชนิด

10% Formalin หรือ 10% neutral buffer formalin เป็น fixative ซึ่งใช้กันแพร่หลาย ระยะเวลาในการ fix เนื้อเยื่อโดยสมบูรณ์จะประมาณ 18-24 ชั่วโมง แล้วนำไปผ่านขั้นตอนการเตรียมชิ้นเนื้อด้วยเครื่องอัตโนมัติโดยผ่านน้ำยาเคมีต่างๆ เช่น alcohol, acetone, xylene, paraffin และนำชิ้นเนื้อนั้นมา embed ใน paraffin ซึ่งอุณหภูมิไม่เกิน 60 องศาเซลเซียส

### 2. Sectioning of tissue

ตัด paraffin section ด้วยเครื่อง Microtome หนา 2 micron ลอยในอ่างน้ำอุณหภูมิประมาณ 43 องศาเซลเซียส ใช้สไลด์เคลือบด้วยสไลด์เคลือบประจุบวก (Supergrost plus) เพื่อป้องกันชิ้นเนื้อหลุด รอให้แห้งแล้ว นำเข้าตู้อบ อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ข้ามคืน

3. นำสไลด์เข้าเครื่องย้อมอัตโนมัติ Benchmark XT® เพื่อ

1. Deparaffinization and Rehydration คือการล้าง paraffin ที่เคลือบ section

2. Blocking Endogenous Enzymeเนื่องจากเอ็นไซม์ที่มีอยู่ใน section จะทำให้เกิดการติดสีที่

ไม่จำเพาะ ทำให้เกิดBackground stainingซึ่งเป็นผลบวกหลงได้

3. Antigen Retrieval Technique เป็นการคืนสภาพแอนติเจนหรือเพิ่มความเป็นแอนติเจนของเนื้อเยื่อต่างๆ เนื้อเยื่อซึ่ง fix ด้วย formalin ก่อนที่จะนำเนื้อเยื่อนั้นๆ มาย้อมโดยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมีสทรี เพื่อให้การย้อมติดสีดีขึ้น

4. Blocking of nonspecific reactionเพื่อลดการจับการอย่างไม่จำเพาะเกิดขึ้นได้จากปฏิกิริยา hydrophobic bonding ระหว่างImmunoglobulin กับ tissue proteins

5. Counterstainเป็นการย้อมเนื้อเยื่อที่ไม่ติดสีจากปฏิกิริยาIHC เพื่อให้เนื้อเยื่อติดสี counterstain ทำให้เห็นโครงสร้างเนื้อเยื่อชัดเจนและเปรียบเทียบกับส่วนที่ติดสีจากปฏิกิริยาIHC เพื่อให้เกิดความสะดวกในการตรวจวิเคราะห์

6. Mounting Mediaการเลือกใช้ขึ้นอยู่กับชนิดของChromogen

-Chromogenที่ละลายใน alcohol ใช้ aqueous base medium เช่น glycerol, gelatin

-Chromogenที่ไม่ละลายใน alcohol ใช้ solvent base medium เช่น permount

### Primary Antibody

มีทั้ง polyclonal และ monoclonal antibodies ความเข้มข้นของ primary antibody ที่ใช้ในงานขึ้นอยู่กับปริมาณแอนติเจนและความไวของเทคนิคการย้อมที่ใช้ ไม่สามารถกำหนดให้เป็นมาตรฐานตายตัวไปได้ว่าจะใช้ dilution เท่าใด ต้องทดสอบกับ positive control ซึ่งควรเป็น dilution สูงสุดที่ให้ผลการย้อมติดสีชัดเจน และbackground น้อยที่สุด หรือไม่มีเลย ในการศึกษานี้ใช้ Primary antibody ดังนี้

-SFTPB เป็น monoclonal antibody IgGผลิตจากหนู, Clone name SPB01, อัตราความเข้มข้นที่ใช้ในการย้อม คือ 1: 50 ผลิตโดยบริษัทLSBio

-KRT 14 เป็น Monoclonal antibody IgGผลิตจากหนู, Clone name LL002 เป็นชนิด ready-to-use set ผลิตโดยบริษัทGenetex

### Secondary Antibody (Linking Antibody)

Linking antibody ต้องมีคุณสมบัติที่จะจับกับ primary antibody และEnzyme Immuno Complexเป็นperoxidase-conjugated antibody โดยเตรียมจากสัตว์ชนิดเดียวกับที่ใช้เตรียม primary antibody

### Detection System

คือการศึกษา Antigen-antibody complexes ที่เกิดขึ้น วิธีที่ใช้ได้แก่

Soluble Enzyme Immune Complex Method :Peroxidase-antiperoxidase Complex (PAP) วิธีนี้อาจเรียกว่า unlabelled antibody method โดยใช้ Enzyme-antienzyme immune complex ที่ละลายน้ำได้ ประกอบไปด้วย Enzyme Peroxidase 3 molecules และ Antibodies ที่จำเพาะต่อ Peroxidase Enzyme 2 molecules ลำดับขั้นตอนการย้อมได้แก่ unconjugated primary antibody, secondary antibody, soluble enzyme-antienzyme complex และ substrate solution ทั้งนี้ primary antibody และ antibody ใน enzyme immune complex จะต้องเตรียมมาจากสัตว์ชนิดเดียวกัน ทำให้secondary antibody สามารถเชื่อมติดกับทั้งสองส่วน จึงมักเรียก Secondary Antibody ว่าเป็น link antibody ซึ่งจะต้องจำเพาะกับimmunoglobulins ของสัตว์ชนิดเดียวกันกับที่ใช้เตรียม primary antibody และ enzyme immune complex อีกทั้ง Secondary antibodyจะต้องใส่ลงไปปริมาณที่เกินไว้เพื่อให้ Fab sites จับกับ primary antibody และ Fab site อีกระ ก็จะไปจับกับ antibody จากenzyme immune complex

### Substrate and Chromogen

*Substrate* ที่ใช้ทำปฏิกิริยากับเอนไซม์เพื่อให้ได้สีต่างๆ *Substrate* สำหรับ peroxidase คือ hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ )

Chromogenที่นิยมใช้มีหลายชนิด เช่น

- 3, 3 Diaminobenzidinetetrahydrochloride (DAB) ให้ end product สีน้ำตาล ไม่ละลายน้ำ, alcohol และ xylene การติดสีคงทนถาวรซึ่งในการศึกษาใช้ Chromogen ชนิดนี้

- 3 Amino-9-ethyl carbazole (AEC) ให้ end product สีแดง ละลายใน alcohol และ xylene สีแดงของ AEC จะจางลงเมื่อโดนแสงสว่างหรือไว้นาน ฉะนั้นจึงต้องเก็บเป็นรูปถ่ายไว้

- Phenylenediaminedihydrochloride/pyrocatechol (Hanker Yates reagent) ให้ end product สีน้ำเงินดำ ไม่ละลายในน้ำ, alcohol หรือ xylene

- 4-Chloro-1-naphthol (CN) ให้ end product สีน้ำเงินดำ ไม่ละลายในน้ำ แต่ละลายใน alcohol



รูปที่ 7 แสดงเครื่องย้อมอิมมูโนฮิสโทเคมีสไลด์อัตโนมัติBenchmark XT®





รูปที่ 8 (บน) แสดงบล็อกพาราฟิน (ล่าง) สไลด์ก่อนย้อม (ซ้ายมือ)และหลังย้อม(ขวามือ)ด้วย แอนติบอดี

## บทที่ 6

### วิธีดำเนินการวิจัย

#### 6.1 รูปแบบการวิจัย (Research design)

การศึกษาเชิงวิเคราะห์แบบย้อนหลัง (Observational Analytic Retrospective Cohort Study)

#### 6.2 ระเบียบวิธีวิจัย (Research methodology)

##### 6.2.1 ประชากรที่ศึกษา (Population)

###### ประชากรเป้าหมาย (Target population)

- ชี้นเนื้อพยาธิชนิดสความัสที่ได้รับการวินิจฉัยโรคมะเร็งปอด
- ชี้นเนื้อพยาธิชนิดสความัสที่ได้รับการวินิจฉัยโรคมะเร็งปอดที่ศีรษะและคอ

###### เกณฑ์การคัดเลือกชี้นเนื้อเข้าศึกษา (Inclusion criteria)

- ชี้นเนื้อพยาธิชนิดสความัสที่ได้รับการวินิจฉัยโรคมะเร็งปอด
- ชี้นเนื้อพยาธิชนิดสความัสที่ได้รับการวินิจฉัยโรคมะเร็งปอดที่ศีรษะและคอ
- มีลักษณะของชี้นเนื้อที่สมบูรณ์เพียงพอต่อการตรวจย้อมเพิ่มเติมได้แก่ ชี้นเนื้อจากการผ่าตัดเล็กเพื่อตรวจวินิจฉัย (Biopsy) และชี้นเนื้อจากการผ่าตัดใหญ่ที่ได้ขนาดชี้นเนื้อ มีเส้นผ่านศูนย์กลางมากกว่า 1 เซนติเมตรขึ้นไป (อาทิ wedge resection, lobectomy, pneumonectomy เป็นต้น)

- เป็นชิ้นเนื้อพยาธิที่ได้รับการวินิจฉัยและมีชิ้นเนื้อเก็บรักษาในคณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ระหว่าง 1 มกราคม พ.ศ. 2551 ถึง 31 ธันวาคม พ.ศ. 2555

#### เกณฑ์การตัดชิ้นเนื้อออกจากการศึกษา (Exclusion criteria)

- ชิ้นเนื้อพยาธิชนิดสความัสจากมะเร็งผนังคอหอยบริเวณหลังโพรงจมูก (Nasopharyngeal cancer)
- ชิ้นเนื้อไม่สมบูรณ์ไม่เพียงพอต่อการตรวจย้อมเพิ่มเติม ได้แก่ สิ่งส่งตรวจทางการแพทย์ที่ได้จากการตรวจโดยวิธีเจาะตรวจโดยใช้เข็มเล็ก (fine needle aspiration)

#### 6.2.2 ขนาดตัวอย่าง (Sample size)

ในการศึกษานี้เป็นการตรวจชิ้นเนื้อมะเร็งที่มีลักษณะเข้าได้กับเกณฑ์การคัดเลือกชิ้นเนื้อในการศึกษา (Inclusion criteria) ระหว่าง 1 มกราคม พ.ศ. 2551 ถึง 31 ธันวาคม พ.ศ. 2555 ได้คำนวณขนาดตัวอย่างและมีรายละเอียด ดังนี้

- เมื่อคำนวณจากความชุกของการแสดงออกของยีนเอสเอฟทีพีบีเมื่อตรวจโดยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมีสทรี ในเนื้อเยื่อมะเร็งปอด มีค่าประมาณ 33 %

คำนวณหาขนาดตัวอย่างจากสูตร

$$N = [Z^2 \alpha_2 P(1-P)] / d^2$$

แทนค่า P = 0.33, 1-P = 0.67

Z = ระดับความเชื่อมั่น 95% จากตาราง Z มีค่าเท่ากับ 1.96

d = allowable error = 0.15

ดังนั้น N =  $(1.96)^2 (0.33) (0.67) / (0.15)^2 = 37.7$

จะใช้ประชากรตัวอย่าง 38 คน

- เมื่อคำนวณจากความซุกของการแสดงออกของยีนเคอาร์ทีไฟร์ทีนเมื่อตรวจโดยวิธีอิมมูนโนฮิสโทเคมีสทรี ในเนื้อเยื่อมะเร็งปอด มีค่าประมาณ 25 %

คำนวณหาขนาดตัวอย่างจากสูตร

$$N = [Z^2 \alpha_{/2} P(1-P)] / d^2$$

แทนค่า P = 0.25, 1-P = 0.75

Z = ระดับความเชื่อมั่น 95% จากตาราง Z มีค่าเท่ากับ 1.96

d = allowable error = 0.15

ดังนั้น N =  $(1.96)^2 (0.25) (0.75) / (0.15)^2 = 32$

จะใช้ประชากรตัวอย่าง 32คน

ในการศึกษานี้จึงเลือกใช้ประชากรตัวอย่างจากการคำนวณโดยใช้ ความซุกของการแสดงออกของยีนเอสเอฟทีพีบีในเนื้อเยื่อมะเร็งปอดซึ่งได้ขนาดของประชากรตัวอย่างสูงกว่า

โดยใช้ประชากรในแต่ละกลุ่มเป็นจำนวน 38 คน ต่อกลุ่ม

รวมประชากรทั้ง 2 กลุ่ม  $38 + 38 = 76$ คน

### 6.3 การสังเกตและการวัด (Observation and Measurement)

#### 1. ตัวแปรการวิจัย

- อัตราการตรวจพบการแสดงออกของยีนเอสเอฟทีพีบีและยีนเคอราทีนไฟร์ทีนโดยวิธีอิมมูโนฮิสโทเคมีสทรีคิดเป็นร้อยละ (percentage)

#### 2. เครื่องมือที่ใช้ในการวัด

- ข้อมูลจากเวชระเบียนเก็บข้อมูลของผู้ป่วยด้วยใบบันทึก (Case-Record Form)

- Immunohistochemistry โดยวิธี Indirect method ใช้แอนติบอดี 2 ชนิด คือ Primary antibody ที่มีความจำเพาะต่อสิ่งที่ต้องการจะตรวจ และมี Secondary antibody (ซึ่ง conjugate enzyme ไว้แล้ว) ที่จะไปจับกับ Primary antibody อีกที่ทำให้เห็นการติดสีและ sensitivity ดีขึ้น

การตรวจการแสดงออกของยีนเอสเอฟทีพีบีและยีนเคอราทีนไฟร์ทีนโดยวิธีอิมมูโนฮิสโทเคมีสทรีในการศึกษานี้จะมีการตรวจสอบ Positive-negative control กับชิ้นเนื้อพยาธิต่างๆก่อนนำมาใช้ตรวจในการวิจัยในครั้งนี้โดยมีอาจารย์พยาธิแพทย์ 2 ท่าน คือ รศ.นพ. สมบูรณ์ ศิววัฒน์ และ รศ.นพ. ปุณยวิชญ์ จันทรานูวัฒน์ เป็นผู้ให้คำแนะนำในการตรวจและการแปลผลโดยใช้เนื้อเยื่อเพื่อตรวจสอบ Positive control ของ Antibody แต่ละชนิดดังนี้

- SFTPB (SURFACTANT, PULMONARY-ASSOCIATED PROTEIN B) antibody : ใช้เนื้อเยื่อ Squamous pneumocyte ของชิ้นเนื้อปอดปกติเป็น Positive control เนื่องจาก จากการศึกษพบว่า SFTPB antibody สามารถตรวจพบในเนื้อเยื่อ squamous ของปอดเท่านั้น (ทั้ง normal cell และ cancer cell) โดยไม่พบในเนื้อเยื่อที่มาจากอวัยวะอื่นเลย

- KRT14 (Cytokeratin 14) antibody: ใช้เนื้อเยื่อ Squamous cell ของเซลล์ผิวหนัง เป็น positive control เนื่องจาก Cytokeratin 14 มีอัตราการตรวจพบในเนื้อเยื่อผิวหนังมากเกือบ 100% และมีระดับความเข้มของการย้อมติดในระดับสูง (Strong intensity) เมื่อเทียบกับอวัยวะอื่น

## 6.4 ขั้นตอนการดำเนินการวิจัย

หลังจากที่ได้ ชี้นเนื้อที่มีคุณสมบัติตามกลุ่มประชากรเป้าหมายที่ต้องการแล้ว ผู้วิจัยจะทำการบันทึกข้อมูลประวัติ ผลการตรวจที่สำคัญทางคลินิก ผลตรวจชิ้นเนื้อโดยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมีสทรี โดยมีรายละเอียดดังนี้

### 1) ประวัติ

-อายุ

-เพศ

-ประวัติการสูบบุหรี่ : เคยสูบ/ไม่เคยสูบ

### 2) ตำแหน่งรอยโรคปฐมภูมิ

### 3) การวินิจฉัยทางคลินิกและระยะของโรค

### 4) ข้อมูลทางรังสีวิทยา

### 5) ตำแหน่งชิ้นเนื้อและวิธีการได้มาของชิ้นเนื้อ

6) ผลการตรวจวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมีสทรี: ความเข้มของการย้อมติด (Intensity), ปริมาณการย้อมติดเมื่อเทียบเป็นสัดส่วนกับเซลล์มะเร็งในชิ้นเนื้อเดียวกัน (Quantity)

## 6.5 การรวบรวมข้อมูล (Data collection)

1.เก็บรวบรวมข้อมูลโดยสืบค้นจากรหัส ICD 10 ดังต่อไปนี้

C00-C10, C12-C14: malignant neoplasm of lip, oral cavity and pharynx

(exclude nasopharynx)

C32: malignant neoplasm of larynx

C34: malignant neoplasm of bronchus and lung

2. ทำการคัดแยกผู้ป่วยโดยเลือกเฉพาะกลุ่มที่มีเนื้องอกมะเร็งสควมัสเซลล์เท่านั้น
3. ประสานกับภาควิชาพยาธิวิทยาในการตรวจสอบชิ้นเนื้อที่เข้าเกณฑ์การคัดเลือกเข้าการศึกษาที่มีอยู่
4. รวบรวมรายชื่อและเลขที่โรงพยาบาลที่เข้ากับเกณฑ์ในการศึกษา เพื่อส่งต่อให้หน่วยพยาธิวิทยา ค้นหาสไลด์พาราฟินเพื่อตรวจโดยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมีสทรีต่อไป
5. บันทึกข้อมูลใน Case report form จากนั้นบันทึกข้อมูลลงในคอมพิวเตอร์ เพื่อทำการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรม SPSS version 18 ในขั้นตอนต่อไป

## 6.6 การวิเคราะห์ข้อมูล (Data analysis)

- Primary endpoint : อัตราการตรวจพบการแสดงออกของยีนเอสเอฟทีพีบีและยีนเคอาร์ทีพีอาร์ทีนเมื่อตรวจโดยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมีสทรีในเนื้อเยื่อมะเร็งชนิดสควมัสของปอด กับศีรษะและคอ
- การสรุปข้อมูล (Summarization of Data)
  - การวิเคราะห์ข้อมูลที่เป็น Categorical data จะทำการสรุปข้อมูลในรูปของ proportion หรือ Percentage โดยมีทดสอบทางสถิติด้วยวิธี Chi - square test
  - การวิเคราะห์ข้อมูลที่เป็น Continuous data จะทำการสรุปข้อมูลในรูปของ mean และ standard error โดยมีทดสอบทางสถิติด้วยวิธี Correlation
  - วิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS version 18

## 6.7 ปัญหาทางจริยธรรม (Ethical consideration)

- การศึกษานี้เป็นการศึกษาโดยการตรวจเพิ่มเติมจากผลชิ้นเนื้อเดิมที่ทราบการวินิจฉัยที่ชัดเจนอยู่แล้ว จึงไม่มีผลกระทบต่อ การเปลี่ยนแปลงการวินิจฉัยหรือการรักษาของผู้ป่วย
- การเก็บข้อมูลในรูปแบบบันทึกข้อมูล จะใช้รหัสผู้ป่วยแทนการใช้ชื่อและเลขที่โรงพยาบาล เพื่อเป็นการรักษาความลับทางการแพทย์ตามหลักสิทธิของผู้ป่วย

## 6.8 ข้อจำกัดในการวิจัย(Limitation)

1. เนื่องจากเป็นการศึกษาย้อนหลัง สไลด์พาราฟิน (paraffin block) ที่เก็บไว้นานอาจมีปัญหาด้านคุณภาพอาจทำให้มีอุปสรรคในการย้อมฮีมูโนฮิสโตเคมีสทรีได้
2. การศึกษานี้เป็นการศึกษาในเนื้อเยื่อมะเร็งชนิดสความัสของปอด กับคีระและคอที่มีผลชิ้นเนื้อเก็บที่ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์เท่านั้น และเนื่องจากอุบัติการณ์ของโรคมะเร็งปอดชนิดสความัสในประเทศไทยตามสถิติที่สถาบันมะเร็งแห่งชาติรวบรวมไว้ในปีพ.ศ.2552 (94)มีเพียง 4.5% (15 คน จาก 332 คน)จึงอาจมีผลต่อจำนวนชิ้นเนื้อมะเร็งปอดชนิดสความัสที่มีจำนวนน้อยกว่าชิ้นเนื้อมะเร็งคีระและคอได้

## 6.9 อุปสรรคที่อาจเกิดขึ้นระหว่างการวิจัยและมาตรการในการแก้ไข

(Obstacles and strategies to solve the problem)

**ปัญหา** เทคนิคการตรวจชิ้นเนื้อทางพยาธิวิทยาเนื่องจาก การตรวจการแสดงออกของยีนเอสเอฟทีพีบีโดยวิธีฮีมูโนฮิสโตเคมีสทรียังไม่เป็นที่แพร่หลายในประเทศไทย

**การแก้ไข-** ติดต่อดำเนินการจัดซื้อแอนติบอดีเข้ามาโดยเฉพาะโดยได้ติดต่อผ่านทางภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



### 6.10 การบริหารงานวิจัยและตารางการปฏิบัติงาน (Administration & Time schedule)

กิจกรรม	ปี 2555												ปี 2556	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2
ขั้นเตรียมการ	+	+	+	+	+	+								
ขั้นปฏิบัติงาน							+	+	+	+	+			
ขั้นวิเคราะห์ข้อมูล									+	+	+	+		
เรียบเรียงและพิมพ์ รายงาน											+	+	+	+

ระยะเวลาที่ใช้ในการทำวิจัย 1 ปี 2 เดือน

### 6.11 งบประมาณ (Budget)

1.ค่าการเตรียมชิ้นเนื้อ	ราคา	10,000 บาท
2.ค่าการแอนติบอดีและการตรวจวิธีอิมมูโนฮิสโทเคมีสทรี	ราคา	80,000 บาท
3.ค่าเอกสารและการดำเนินการในการทำวิจัย	ราคา	15,000 บาท
	รวม	105,000 บาท

## บทที่ 7

### ผลการศึกษา

#### 7.1 ลักษณะพื้นฐานของประชากรที่ศึกษา (Baseline characteristics) (ตารางที่ 4)

จากผู้ป่วยมะเร็งสความัส 78 รายเข้ารับการรักษาที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ตั้งแต่ 1 มกราคม พ.ศ.2551 ถึง 31 ธันวาคม พ.ศ.2555 แบ่งเป็น มะเร็งปอด 37 ราย มีค่ามัธยฐานที่อายุ 72 ปี (ค่าพิสัย 51-89) มะเร็งศีรษะและคอ 41 ราย มีค่ามัธยฐานที่อายุ 58 ปี (ค่าพิสัย 32-86) ประชากรส่วนใหญ่ส่วนใหญ่ของทั้งสองกลุ่มเป็นเพศชายและมีประวัติสูบบุหรี่มาก โดยมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ประมาณ  $37.9 \pm 24.5$  pack years ในผู้ป่วยมะเร็งปอดและ  $19.4 \pm 19.2$  pack years ในผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและคอ

ในกลุ่มมะเร็งปอดสความัส ประชากรส่วนใหญ่ คือ ร้อยละ 59.5 มีรอยโรคในปอดในตำแหน่งใกล้แกนกลางของช่องอก ส่วนลักษณะภายในก้อนพบว่า สัดส่วนของการเกิดโพรงในก้อน (Cavitation) อยู่ที่ร้อยละ 45.9 ใกล้เคียงกับกลุ่มที่ไม่มีโพรงในก้อน (ร้อยละ 51.4) ประชากรส่วนใหญ่ (ร้อยละ 48.6) ได้รับการวินิจฉัยในระยะที่เริ่มมีการลุกลามของโรคแล้ว (Locally advance) ขึ้นเนื้อพยาธิมะเร็งปอดสความัสส่วนใหญ่ เป็นชนิด poorly differentiated (ร้อยละ 32.4%)

ในกลุ่มมะเร็งศีรษะและคอชนิดสความัส ร้อยละ 78.1 มาจาก Base of tongue, tonsil, hypopharynx ประชากรส่วนใหญ่ (ร้อยละ 80.5) ได้รับการวินิจฉัยในระยะที่เริ่มมีการลุกลามของโรคแล้ว (Locally advance stage) เช่นกัน ขึ้นเนื้อพยาธิมะเร็งปอดสความัสส่วนใหญ่ เป็นชนิด moderately differentiated differentiated (ร้อยละ 68.3%)

	Lung SCC, N = 37	Head-Neck SCC, N = 41
<b>Median age (range)</b>	72 (51-89)	58 (32-86)
<b>Sex</b>		
Male	34 (91.9%)	35 (85.4%)
Female	3 (8.1%)	6 (14.6%)
<b>Smoking status</b>		
Never	3 (8.1%)	11 (26.8%)
Light smoker†	2 (5.4%)	2 (4.9%)
Heavy smoker	26 (70.3%)	21 (51.2%)
Unknown	6 (16.2%)	7 (17.1%)
<b>Chest imaging data*</b>		
Location : Central / Peripheral	22 (59.5%) / 14 (37.8%)	-
Cavitation / No cavitation	17 (45.9%) / 19 (51.4%)	-
<b>Primary site of cancer</b>		
Lung	37 (100%)	-
Base of tongue	-	10 (24.4%)
Tonsil	-	10 (24.4%)
Hypopharynx	-	12 (29.3%)
Other site of Head-neck	-	9 (22.0%)
<b>AJCC stage (At diagnosis)</b>		
Localized disease	9 (24.3%)	7 (17.1%)
Locally advance disease	18 (48.6%)	33 (80.5%)
Metastatic disease	10 (27.0%)	1 (2.4%)
<b>Histological grading</b>		
Well differentiated	2 (5.4%)	8 (19.5%)
Moderately differentiated	10 (27.0%)	28 (68.3%)
Poorly differentiated	12 (32.4%)	4 (9.8%)
Unknown differentiation	13 (35.1%)	1 (2.4%)

\*: All of patients in HNSCC group had normal chest imaging, 1 patient in LSCC group, could not identify exactly location and cavitation.

†: Light smoker = smoker of >100 cigarettes and ≤ 10 pack years.

ตารางที่ 4 แสดงลักษณะพื้นฐานของประชากรมะเร็งรังสีความถี่ที่ทำการศึกษา

### ผลการตรวจด้วยวิธีอิมมูโนฮิสโทเคมีสทรี (ตารางที่ 5 และ 6)

อัตราการแสดงออกของยีนเคอาร์ทีไฟร์ทีนโดยวิธีอิมมูโนฮิสโทเคมีสทรีในมะเร็งศีรษะและคอสูงถึงร้อยละ 97.6 โดยแตกต่างกับมะเร็งปอดคือ ร้อยละ 86.5 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p = 0.01$ ) ในขณะที่อัตราการแสดงออกของยีนเอสเอฟทีพีบีในมะเร็งศีรษะและคอปร้อยละ 4.9 มะเร็งปอดร้อยละ 8.1 ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $p = 0.76$ ) เมื่อประเมินคะแนนตามปริมาณการย้อมติดสีเมื่อเทียบเป็นสัดส่วนกับเซลล์มะเร็งในชิ้นเนื้อเดียวกันพบว่า มะเร็งศีรษะและคามีค่าเฉลี่ยคะแนนการติดสีที่สูงกว่ามะเร็งปอดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คือร้อยละ  $70.2 \pm 37.3$  และ  $41.6 \pm 38.1$  ตามลำดับ ( $p < 0.01$ ) เมื่อใช้เกณฑ์การติดสีที่มากกว่าร้อยละ 50 ในการแยกมะเร็งสองชนิดนี้ พบว่ามะเร็งศีรษะและคอให้ผลบวกถึงร้อยละ 65.9 มะเร็งปอดให้ผลบวกร้อยละ 29.7 ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p=0.02$ )

เมื่อเปรียบเทียบลักษณะการติดสีย้อมอิมมูโนฯของยีนเคอาร์ทีไฟร์ทีน พบว่ากลุ่มมะเร็งศีรษะและคามีการติดสีแบบสม่ำเสมอ(Homogeneity of staining) สูงกว่ากลุ่มมะเร็งความถี่ปอด แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (ร้อยละ 58.5% และร้อยละ 48.6%ตามลำดับ,  $p = 0.14$ )

อย่างไรก็ตามไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างระยะของโรคและการแสดงออกของยีนเอสเอฟทีพีบีและยีนเคอาร์ทีไฟร์ทีนโดยวิธีอิมมูโนฮิสโทเคมีสทรีดังตารางที่ 7

<i>KRT 14</i> IHC Expression	Lung SCC N = 37	Head-Neck SCC N = 41	P value
Positive stain	32 (86.5%)	40 (97.6%)	0.01
Intensity :			0.45
Weak-Moderate	2 (5.4%)	1 (2.4%)	
Strong	30 (81.1%)	39 (95.1%)	
Quantity :			0.02
0-50 %	26 (70.3%)	14 (34.1%)	
>50 %	11 (29.7%)	27 (65.9%)	
Quantity :			< 0.01
Mean ± SD	41.6 ± 38.1%	70.2 ± 37.3%	
Pattern of staining			0.14
Homogeneity	18 (48.6%)	24 (58.5%)	
Heterogeneity	19 (51.4%)	17 (41.5%)	

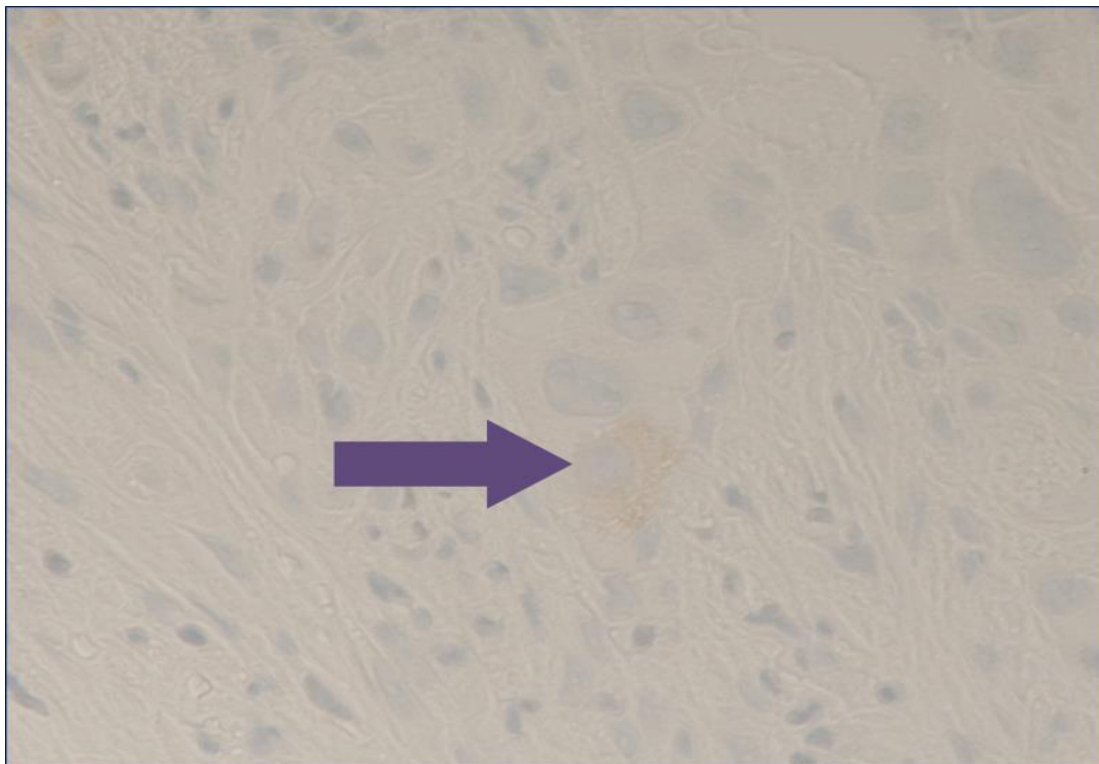
ตารางที่ 5 แสดงผลการตรวจทางพยาธิวิทยาของยีนเคอราทินไฟบรินโดยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมีสตรี้

SFTPb IHC Expression	Lung SCC N = 37	Head-Neck SCC N = 41	P value
Positive stain	3 (8.1%)	2 (4.9%)	0.76
Intensity :			
Weak-Moderate	3 (8.1%)	2 (4.9%)	0.76
Strong	0	0	
Quantity :			
0-50 %	3 (8.1%)	2 (4.9%)	0.76
>50 %	0	0	
Mean Percentage	NA	NA	

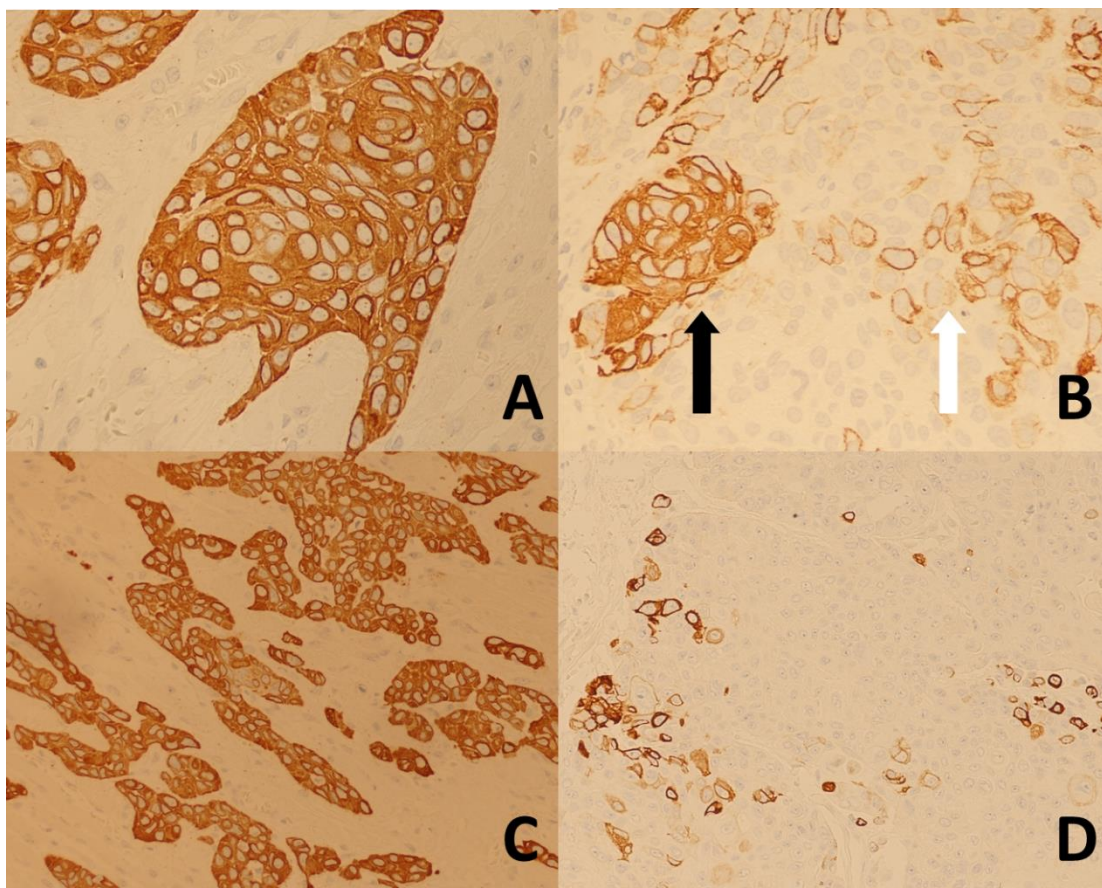
ตารางที่ 6 แสดงผลการตรวจทางพยาธิวิทยาของยีนเอสเอฟทีบีโดยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมีสทรี

AJCC stage	IHC	Pearson's correlation
LSCC	SFTPb	-0.237
	KRT 14	0.281
HNSCC	SFTPb	0.089
	KRT 14	-0.062

ตารางที่ 7 แสดงค่าความสัมพันธ์ระหว่างระยะของโรคและการตรวจพบการแสดงออกของยีนเคอาร์ทีไฟร์ทีนและยีนเอสเอฟทีบีโดยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมีสทรี



รูปที่ ๑ แสดงการติดสีอิมมูโนฮิสโทเคมีสทรีของยีนเอสเอฟทีพีบีในเซลล์มะเร็งกระดูก  
(ติดสีจางและติดในปริมาณน้อยเมื่อเทียบกับเซลล์มะเร็งในสไลด์)



รูปที่ 10 แสดงการติดสีอิมมูโนฮิสโตเคมีสทรีของยีนเคอาร์ทีไฟร์ทีนในเซลล์มะเร็งสควamous

**Intensity of staining**

(A) Strong (B) Moderate (black arrow) and weak (white arrow)

**Quantity of staining**

(C) >50%, sample from HNSCC (D) Less than 50%, sample from LSCC



## บทที่ 8

### สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

#### 8.1 สรุปผลการวิจัย

ยีนเคอาร์ทีไพร์ทีนมีอัตราการตรวจพบและค่าเฉลี่ยของปริมาณการตรวจพบการ แสดงออกของยีนโดยวิธีอิมมูโนฮิสโทเคมีสที่สูงสุดในมะเร็งศีรษะและคอชนิดสความัสเมื่อเทียบกับ มะเร็งปอดสความัสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ ยังพบว่ามีลักษณะอื่นๆที่อาจช่วย สนับสนุนการวินิจฉัยมะเร็งศีรษะและคอชนิดสความัส คือ มีระดับการติดสีแบบเข้ม(Strong) และ ความสม่ำเสมอของการติดสี (Homogeneity) ในมะเร็งศีรษะและคอมีแนวโน้มสูงกว่าในมะเร็ง ปอดสความัส เมื่อใช้เกณฑ์ค่าเฉลี่ยของปริมาณการตรวจพบการแสดงออกของยีนเคอาร์ทีไพร์ทีน ที่ร้อยละ 50 สามารถช่วยวินิจฉัยแยกโรคมะเร็งศีรษะและคอชนิดสความัสออกจากมะเร็งปอดสความัสได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่การแสดงออกของยีนเอสเอฟทีพีบีโดยวิธีอิมมูโนฮิสโทเคมีสที่รี ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างมะเร็งปอดกับมะเร็งศีรษะและคอ

#### 8.2 อภิปรายผลการวิจัย

การแยกมะเร็งศีรษะและคอชนิดสความัสที่มีการกระจายมาที่ปอดกับมะเร็งปอดปฐมภูมิแห่งที่สองชนิดสความัส เป็นปัญหาที่สำคัญทางคลินิกปัญหาหนึ่ง ส่งผลต่อแนวทางการรักษา และการพยากรณ์ของโรคอย่างมีนัยสำคัญ ในการศึกษาหนึ่งพบว่า เมื่อเลือกผู้ป่วยที่มีลักษณะอาการทางคลินิกวินิจฉัยว่า มีมะเร็งสความัสแห่งที่สองที่ปอดร่วมกับมะเร็งศีรษะและคอชนิดสความัส ไปรับการผ่าตัดและรักษาแบบมะเร็งปอดต่อ พบว่ามีอัตราการอยู่รอดที่ 5 ปี มากกว่าร้อยละ

ละ 40 (4, 95) ในขณะที่มะเร็งศีรษะและคอชนิดสความัสเซลล์ที่ 4 ซึ่งมีการแพร่กระจายไปที่ปอด มีอัตราการอยู่รอดเฉลี่ยในปีที่หนึ่งประมาณร้อยละ 30-40

อย่างไรก็ตาม ในปัจจุบันอาการทางคลินิกและการตรวจทางรังสีวิทยายังไม่มี หลักการที่แน่นอนที่สามารถใช้แยกโรคมะเร็งสความัสเซลล์ทั้งสองแห่งนี้ ที่ผ่านมาจึงได้มีการศึกษาทาง ชีวโมเลกุลต่างๆ เช่น Thyroid transcription factor 1(TTF-1), Desmocollin-3(DSC-3), The phosphatidylethanolamine-binding protein 4(PEBP-4).(96-98) เพื่อช่วยแยกโรคทั้งสอง แต่ ข้อมูลที่ได้ยังมีข้อจำกัดในแง่ของความทันสมัยของเทคนิคการตรวจ และความถูกต้อง

จากข้อมูลล่าสุดที่ทำการศึกษาในประเทศสหรัฐอเมริกาพบว่า การแสดงออกของ ยีนเคอาร์ทีไฟร์ทีนมีระดับสูงมากในมะเร็งศีรษะและคอชนิดสความัส และ ยีนเอสเอฟทีพีบี มี ระดับสูงมากในมะเร็งปอดชนิดสความัส(7)ผู้วิจัยและคณะจึงได้ทำการศึกษาการแสดงออกของยีน ทั้งสอง โดยวิธีอิมมูโนฮิสโทเคมีสทรี ซึ่งเป็นวิธีการที่สะดวกในการเตรียมชิ้นเนื้อ ราคาไม่แพง เหมาะที่จะใช้ในทางคลินิกได้

การแสดงออกของยีนเคอาร์ทีไฟร์ทีนที่ให้ผลเป็นบวกมีการติดสีแบบกระจาย ทั่วไปในCytoplasmicและพบในมะเร็งสความัสของหลายอวัยวะ แต่ยังไม่มีความชัดเจนของ การย้อมติด ที่ระดับเท่าใดจึงจะสามารถใช้แยกตำแหน่งปฐมภูมิของมะเร็งสความัสในแต่ละ อวัยวะได้(14)

ในการศึกษานี้เมื่อใช้ค่าการติดสี IHC ที่ร้อยละ 1 พบว่าตรวจพบมะเร็งศีรษะและ คอชนิดสความัส และมะเร็งปอดชนิดสความัสอยู่ในอัตราที่สูงทั้งคู่ ถึงแม้ว่า การติดสีในมะเร็ง ศีรษะและคอ จะสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ในทางปฏิบัติอาจแยกได้ยาก และเมื่อดู ค่าเฉลี่ยของการติดสี IHC ของ KRT ของมะเร็งศีรษะและคอซึ่งอยู่ที่ร้อยละ 70 เทียบกับการติดสี

ในมะเร็งปอดที่ร้อยละ 40 ซึ่งค่อนข้างแตกต่างกัน จึงทำการเปรียบเทียบโดยใช้ค่าการติดสีที่ร้อยละ 50 เป็นจุดแบ่งเพื่อวินิจฉัยแยกทั้งสองโรคออกจากกัน พบว่าสามารถวินิจฉัยมะเร็งศีรษะและคอชนิดสความัสออกจากมะเร็งปอดสความัสได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และน่าจะเหมาะสมในการนำไปปรับใช้ทางคลินิกต่อไป อย่างไรก็ตาม การแสดงออกของยีนเอสเอพทีพีบีโดยวิธีอิมมูโนฮิสโทเคมีสทรีในการศึกษานี้ติดสีในปริมาณน้อย ซึ่งอาจมีสาเหตุหลายประการ อาทิ การตรวจพบยีนในเนื้อเยื่อมะเร็งแต่ยีนนี้อาจไม่ได้ทำหน้าที่ผลิตโปรตีนที่ทำให้สามารถนำไปตรวจโดยวิธีอิมมูโนฮิสโทเคมีสทรีต่อได้ หรือ อาจเป็นจากเทคนิคทางการย้อม เช่น การใช้ detecting system ของบริษัทต่างๆ อาจติดสีไม่เหมือนกันได้

### 8.3 ข้อเสนอแนะ

1. ทำการศึกษาต่อเนื่อง โดยเพิ่มจำนวนประชากรที่ศึกษาเพื่อดูลักษณะอื่น เช่น ระดับความเข้มและความสม่ำเสมอของการติดสีอิมมูโนฮิสโทเคมีสทรี เพื่อช่วยในการวินิจฉัยแยกโรคมะเร็งปอดชนิดสความัส และ มะเร็งศีรษะและคอชนิดสความัสได้ดียิ่งขึ้น
2. ทำการศึกษาต่อแบบไปข้างหน้า (Prospective study) โดยนำชิ้นเนื้อมะเร็งสความัสที่ไม่ทราบตำแหน่งปฐมภูมิ ทำการตรวจควบคู่กับการตรวจยีนโดยวิธี PCR (Polymerase Chain Reaction) ซึ่งมีความแม่นยำสูง เพื่อตรวจสอบความถูกต้องของงานวิจัย

## รายการอ้างอิง

1. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin.* 2011 Mar-Apr;61(2):69-90.
2. Shaha AR, Hoover EL, Mitrani M, Marti JR, Krespi YP. Synchronicity, multicentricity, and metachronicity of head and neck cancer. *Head Neck Surg.* 1988 Mar-Apr;10(4):225-8.
3. Shapshay SM, Hong WK, Fried MP, Sismanis A, Vaughan CW, Strong MS. Simultaneous carcinomas of the esophagus and upper aerodigestive tract. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 1980 Jul-Aug;88(4):373-7.
4. Kuriakose MA, Loree TR, Rubenfeld A, Anderson TM, Datta RV, Hill H, et al. Simultaneously presenting head and neck and lung cancer: a diagnostic and treatment dilemma. *Laryngoscope.* 2002 Jan;112(1):120-3.
5. Leong PP, Rezai B, Koch WM, Reed A, Eisele D, Lee DJ, et al. Distinguishing second primary tumors from lung metastases in patients with head and neck squamous cell carcinoma. *J Natl Cancer Inst.* 1998 Jul 1;90(13):972-7.
6. Talbot SG, Estilo C, Maghami E, Sarkaria IS, Pham DK, P Oc, et al. Gene expression profiling allows distinction between primary and metastatic squamous cell carcinomas in the lung. *Cancer Res.* 2005 Apr 15;65(8):3063-71.
7. Vachani A, Nebozhyn M, Singhal S, Alila L, Wakeam E, Muschel R, et al. A 10-gene classifier for distinguishing head and neck squamous cell carcinoma and lung squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res.* 2007 May 15;13(10):2905-15.
8. Ponten F, Jirstrom K, Uhlen M. The Human Protein Atlas--a tool for pathology. *J Pathol.* 2008 Dec;216(4):387-93.
9. Glasser SW, Korfhagen TR, Weaver T, Pilot-Matias T, Fox JL, Whitsett JA. cDNA and deduced amino acid sequence of human pulmonary surfactant-associated proteolipid SPL(Phe). *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1987 Jun;84(12):4007-11.

10. US National Library of Medicine. Genetic home references. 2007 [updated April,2007]; Available from: [www.nlm.nih.gov](http://www.nlm.nih.gov)
11. Seifart C, Seifart U, Plagens A, Wolf M, von Wichert P. Surfactant protein B gene variations enhance susceptibility to squamous cell carcinoma of the lung in German patients. *Br J Cancer*. 2002 Jul 15;87(2):212-7.
12. Seifart C, Plagens A, Brodje D, Muller B, von Wichert P, Floros J. Surfactant protein B intron 4 variation in German patients with COPD and acute respiratory failure. *Dis Markers*. 2002;18(3):129-36.
13. Sirera R, Jantus LE, Timon A, Usó M, Berrocal A, Borrego S, et al. The surfactant protein B (SFTPB) as a surrogate of circulating tumor cells (CTC) with prognostic value in advanced-stage NSCLC. *J Clin Oncol*. 2011;29.
14. Chu PG, Lyda MH, Weiss LM. Cytokeratin 14 expression in epithelial neoplasms: a survey of 435 cases with emphasis on its value in differentiating squamous cell carcinomas from other epithelial tumours. *Histopathology*. 2001 Jul;39(1):9-16.
15. Tsubokawa F, Nishisaka T, Takeshima Y, Inai K. Heterogeneity of expression of cytokeratin subtypes in squamous cell carcinoma of the lung: with special reference to CK14 overexpression in cancer of high-proliferative and lymphogenous metastatic potential. *Pathol Int*. 2002 Apr;52(4):286-93.
16. Garrel R, Dromard M, Costes V, Barbotte E, Comte F, Gardiner Q, et al. The diagnostic accuracy of reverse transcription-PCR quantification of cytokeratin mRNA in the detection of sentinel lymph node invasion in oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma: a comparison with immunohistochemistry. *Clin Cancer Res*. 2006 Apr 15;12(8):2498-505.
17. Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin*. 2012 Jan-Feb;62(1):10-29.
18. Kimman M, Norman R, Jan S, Kingston D, Woodward M. The burden of cancer in member countries of the Association of Southeast Asian Nations (ASEAN). *Asian Pac J Cancer Prev*. 2012;13(2):411-20.

19. Attasara P, et al. Hospital-Based Cancer registry 2011 / National Cancer Institute, Department of Medical Services, Ministry of Public Health 2012:45-7.
20. American Cancer Society. Detailed Guide: Lung Cancer (Non-Small Cell). 2012 [cited 2012]; Available from:  
<http://www.cancer.org/acs/groups/cid/documents/webcontent/003115-pdf.pdf>.
21. Alberg AJ, Samet JM. Epidemiology of lung cancer. *Chest*. 2003 Jan;123(1 Suppl):21S-49S.
22. Doll R, Peto R, Boreham J, Sutherland I. Mortality in relation to smoking: 50 years' observations on male British doctors. *BMJ*. 2004 Jun 26;328(7455):1519.
23. Pancoast HK. Superior pulmonary sulcus tumor: Tumor characterized by pain, Horner's syndrome, destruction of bone and atrophy of hand muscles. *JAMA*. 1932 99:1391-6.
24. Jereczek B, Jassem J, Karnicka-Mlodkowska H, Badzio A, Mos-Antkowiak R, Szczeppek B, et al. Autopsy findings in small cell lung cancer. *Neoplasma*. 1996;43(2):133-7.
25. Stenbygaard LE, Sorensen JB, Olsen JE. Metastatic pattern at autopsy in non-resectable adenocarcinoma of the lung--a study from a cohort of 259 consecutive patients treated with chemotherapy. *Acta Oncol*. 1997;36(3):301-6.
26. Toloza EM, Harpole L, McCrory DC. Noninvasive staging of non-small cell lung cancer: a review of the current evidence. *Chest*. 2003 Jan;123(1 Suppl):137S-46S.
27. Mujoomdar A, Austin JH, Malhotra R, Powell CA, Pearson GD, Shiau MC, et al. Clinical predictors of metastatic disease to the brain from non-small cell lung carcinoma: primary tumor size, cell type, and lymph node metastases. *Radiology*. 2007 Mar;242(3):882-8.
28. Manzullo EF, Escalante CP. Research into fatigue. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2002 Jun;16(3):619-28.
29. Nickoloff EL, Lu ZF, Dutta AK, So JC. Radiation dose descriptors: BERT, COD, DAP, and other strange creatures. *Radiographics*. 2008 Sep-Oct;28(5):1439-50.

30. Silvestri GA, Gould MK, Margolis ML, Tanoue LT, McCrory D, Toloza E, et al. Noninvasive staging of non-small cell lung cancer: ACCP evidenced-based clinical practice guidelines (2nd edition). *Chest*. 2007 Sep;132(3 Suppl):178S-201S.
31. De Wever W, Vankan Y, Stroobants S, Verschakelen J. Detection of extrapulmonary lesions with integrated PET/CT in the staging of lung cancer. *Eur Respir J*. 2007 May;29(5):995-1002.
32. Travis WD, Garg K, Franklin WA, Wistuba, II, Sabloff B, Noguchi M, et al. Bronchioloalveolar carcinoma and lung adenocarcinoma: the clinical importance and research relevance of the 2004 World Health Organization pathologic criteria. *J Thorac Oncol*. 2006 Nov;1(9 Suppl):S13-9.
33. Kummar S, Fogarasi M, Canova A, Mota A, Ciesielski T. Cytokeratin 7 and 20 staining for the diagnosis of lung and colorectal adenocarcinoma. *Br J Cancer*. 2002 Jun 17;86(12):1884-7.
34. Churg A, Johnston WH, Stulbarg M. Small cell squamous and mixed small cell squamous--small cell anaplastic carcinomas of the lung. *Am J Surg Pathol*. 1980 Jun;4(3):255-63.
35. Goldstraw P, Crowley J, Chansky K, Giroux DJ, Groome PA, Rami-Porta R, et al. The IASLC Lung Cancer Staging Project: proposals for the revision of the TNM stage groupings in the forthcoming (seventh) edition of the TNM Classification of malignant tumours. *J Thorac Oncol*. 2007 Aug;2(8):706-14.
36. Winton T, Livingston R, Johnson D, Rigas J, Johnston M, Butts C, et al. Vinorelbine plus cisplatin vs. observation in resected non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2005 Jun 23;352(25):2589-97.
37. Thomas M, Rube C, Hoffknecht P, Macha HN, Freitag L, Linder A, et al. Effect of preoperative chemoradiation in addition to preoperative chemotherapy: a randomised trial in stage III non-small-cell lung cancer. *Lancet Oncol*. 2008 Jul;9(7):636-48.
38. van Meerbeeck JP. The controversial role of surgery in stage III NSCLC. *Lancet Oncol*. 2008 Jul;9(7):607-8.

39. Rami-Porta R, Crowley JJ, Goldstraw P. The revised TNM staging system for lung cancer. *Ann Thorac Cardiovasc Surg*. 2009 Feb;15(1):4-9.
40. Hoang T, Xu R, Schiller JH, Bonomi P, Johnson DH. Clinical model to predict survival in chemonaive patients with advanced non-small-cell lung cancer treated with third-generation chemotherapy regimens based on eastern cooperative oncology group data. *J Clin Oncol*. 2005 Jan 1;23(1):175-83.
41. Lipford EH, 3rd, Eggleston JC, Lillemoe KD, Sears DL, Moore GW, Baker RR. Prognostic factors in surgically resected limited-stage, nonsmall cell carcinoma of the lung. *Am J Surg Pathol*. 1984 May;8(5):357-65.
42. Takise A, Kodama T, Shimosato Y, Watanabe S, Suemasu K. Histopathologic prognostic factors in adenocarcinomas of the peripheral lung less than 2 cm in diameter. *Cancer*. 1988 May 15;61(10):2083-8.
43. Kwiatkowski DJ, Harpole DH, Jr., Godleski J, Herndon JE, 2nd, Shieh DB, Richards W, et al. Molecular pathologic substaging in 244 stage I non-small-cell lung cancer patients: clinical implications. *J Clin Oncol*. 1998 Jul;16(7):2468-77.
44. Macchiarini P, Fontanini G, Hardin MJ, Chuanchieh H, Bigini D, Vignati S, et al. Blood vessel invasion by tumor cells predicts recurrence in completely resected T1 N0 M0 non-small-cell lung cancer. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1993 Jul;106(1):80-9.
45. Postoperative T1 N0 non-small cell lung cancer. Squamous versus nonsquamous recurrences. The Lung Cancer Study Group. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1987 Sep;94(3):349-54.
46. D'Angelo SP, Janjigian YY, Ahye N, Riely GJ, Chaft JE, Sima CS, et al. Distinct clinical course of EGFR-mutant resected lung cancers: results of testing of 1118 surgical specimens and effects of adjuvant gefitinib and erlotinib. *J Thorac Oncol*. 2012 Dec;7(12):1815-22.
47. Marchetti A, Ardizzoni A, Papotti M, Crino L, Rossi G, Gridelli C, et al. Recommendations for the analysis of ALK gene rearrangements in non-small-cell lung cancer: a consensus of the Italian Association of Medical Oncology and the Italian Society of Pathology and Cytopathology. *J Thorac Oncol*. 2013 Mar;8(3):352-8.



48. Jemal A, Thun MJ, Ries LA, Howe HL, Weir HK, Center MM, et al. Annual report to the nation on the status of cancer, 1975-2005, featuring trends in lung cancer, tobacco use, and tobacco control. *J Natl Cancer Inst.* 2008 Dec 3;100(23):1672-94.
49. Wilkerson MD, Yin X, Hoadley KA, Liu Y, Hayward MC, Cabanski CR, et al. Lung squamous cell carcinoma mRNA expression subtypes are reproducible, clinically important, and correspond to normal cell types. *Clin Cancer Res.* 2010 Oct 1;16(19):4864-75.
50. Lantuejoul S, Brambilla E. [What's new in the 2004 WHO classification of the lung tumors?]. *Rev Pneumol Clin.* 2008 Aug;64(4):187-94.
51. Brambilla E, Moro D, Veale D, Brichon PY, Stoebner P, Paramelle B, et al. Basal cell (basaloid) carcinoma of the lung: a new morphologic and phenotypic entity with separate prognostic significance. *Hum Pathol.* 1992 Sep;23(9):993-1003.
52. Moro D, Brichon PY, Brambilla E, Veale D, Labat F, Brambilla C. Basaloid bronchial carcinoma. A histologic group with a poor prognosis. *Cancer.* 1994 Jun 1;73(11):2734-9.
53. Perez-Moreno P, Brambilla E, Thomas R, Soria JC. Squamous cell carcinoma of the lung: molecular subtypes and therapeutic opportunities. *Clin Cancer Res.* 2012 May 1;18(9):2443-51.
54. Dutt A, Ramos AH, Hammerman PS, Mermel C, Cho J, Sharifnia T, et al. Inhibitor-sensitive FGFR1 amplification in human non-small cell lung cancer. *PLoS One.* 2011;6(6):e20351.
55. Bass AJ, Watanabe H, Mermel CH, Yu S, Perner S, Verhaak RG, et al. SOX2 is an amplified lineage-survival oncogene in lung and esophageal squamous cell carcinomas. *Nat Genet.* 2009 Nov;41(11):1238-42.
56. Hammerman PS, Sos ML, Ramos AH, Xu C, Dutt A, Zhou W, et al. Mutations in the DDR2 kinase gene identify a novel therapeutic target in squamous cell lung cancer. *Cancer Discov.* 2011 Jun;1(1):78-89.

57. Yamamoto H, Shigematsu H, Nomura M, Lockwood WW, Sato M, Okumura N, et al. PIK3CA mutations and copy number gains in human lung cancers. *Cancer Res.* 2008 Sep 1;68(17):6913-21.
58. Kawano O, Sasaki H, Okuda K, Yukiue H, Yokoyama T, Yano M, et al. PIK3CA gene amplification in Japanese non-small cell lung cancer. *Lung Cancer.* 2007 Oct;58(1):159-60.
59. Malanga D, Scrima M, De Marco C, Fabiani F, De Rosa N, De Gisi S, et al. Activating E17K mutation in the gene encoding the protein kinase AKT1 in a subset of squamous cell carcinoma of the lung. *Cell Cycle.* 2008 Mar 1;7(5):665-9.
60. Jin G, Kim MJ, Jeon HS, Choi JE, Kim DS, Lee EB, et al. PTEN mutations and relationship to EGFR, ERBB2, KRAS, and TP53 mutations in non-small cell lung cancers. *Lung Cancer.* 2010 Sep;69(3):279-83.
61. Forbes SA, Bindal N, Bamford S, Cole C, Kok CY, Beare D, et al. COSMIC: mining complete cancer genomes in the Catalogue of Somatic Mutations in Cancer. *Nucleic Acids Res.* 2011 Jan;39(Database issue):D945-50.
62. Hussenet T, Dali S, Exinger J, Monga B, Jost B, Dembele D, et al. SOX2 is an oncogene activated by recurrent 3q26.3 amplifications in human lung squamous cell carcinomas. *PLoS One.* 2010;5(1):e8960.
63. Gold KA, Wistuba, II, Kim ES. New strategies in squamous cell carcinoma of the lung: identification of tumor drivers to personalize therapy. *Clin Cancer Res.* 2012 Jun 1;18(11):3002-7.
64. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin.* 2005 Mar-Apr;55(2):74-108.
65. Sankaranarayanan R, Masuyer E, Swaminathan R, Ferlay J, Whelan S. Head and neck cancer: a global perspective on epidemiology and prognosis. *Anticancer Res.* 1998 Nov-Dec;18(6B):4779-86.
66. National cancer institute. Head Neck cancer. 2010; Available from: [www.cancer.gov/cancertopics/factsheet/Sites-Types/head-and-neck](http://www.cancer.gov/cancertopics/factsheet/Sites-Types/head-and-neck)).

67. Spitz MR. Epidemiology and risk factors for head and neck cancer. *Semin Oncol.* 1994 Jun;21(3):281-8.
68. Tan EH, Adelstein DJ, Droughton ML, Van Kirk MA, Lavertu P. Squamous cell head and neck cancer in nonsmokers. *Am J Clin Oncol.* 1997 Apr;20(2):146-50.
69. De Stefani E, Boffetta P, Oreggia F, Fierro L, Mendilaharsu M. Hard liquor drinking is associated with higher risk of cancer of the oral cavity and pharynx than wine drinking. A case-control study in Uruguay. *Oral Oncol.* 1998 Mar;34(2):99-104.
70. Druesne-Pecollo N, Tehard B, Mallet Y, Gerber M, Norat T, Hercberg S, et al. Alcohol and genetic polymorphisms: effect on risk of alcohol-related cancer. *Lancet Oncol.* 2009 Feb;10(2):173-80.
71. Kobayashi I, Shima K, Saito I, Kiyoshima T, Matsuo K, Ozeki S, et al. Prevalence of Epstein-Barr virus in oral squamous cell carcinoma. *J Pathol.* 1999 Sep;189(1):34-9.
72. Tribius S, Hoffmann M. Human papilloma virus infection in head and neck cancer. *Dtsch Arztebl Int.* 2013 Mar;110(11):184-90.
73. Freedman ND, Park Y, Subar AF, Hollenbeck AR, Leitzmann MF, Schatzkin A, et al. Fruit and vegetable intake and head and neck cancer risk in a large United States prospective cohort study. *Int J Cancer.* 2008 May 15;122(10):2330-6.
74. Rennemo E, Zatterstrom U, Boysen M. Synchronous second primary tumors in 2,016 head and neck cancer patients: role of symptom-directed panendoscopy. *Laryngoscope.* 2011 Feb;121(2):304-9.
75. Tandon S, Shahab R, Benton JI, Ghosh SK, Sheard J, Jones TM. Fine-needle aspiration cytology in a regional head and neck cancer center: comparison with a systematic review and meta-analysis. *Head Neck.* 2008 Sep;30(9):1246-52.
76. Prehn RB, Pasic TR, Harari PM, Brown WD, Ford CN. Influence of computed tomography on pretherapeutic tumor staging in head and neck cancer patients. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 1998 Dec;119(6):628-33.
77. Anzai Y, Brunberg JA, Lufkin RB. Imaging of nodal metastases in the head and neck. *J Magn Reson Imaging.* 1997 Sep-Oct;7(5):774-83.

78. Curtin HD, Ishwaran H, Mancuso AA, Dalley RW, Caudry DJ, McNeil BJ. Comparison of CT and MR imaging in staging of neck metastases. *Radiology*. 1998 Apr;207(1):123-30.
79. Weissman JL, Akindele R. Current imaging techniques for head and neck tumors. *Oncology (Williston Park)*. 1999 May;13(5):697-709; discussion 13.
80. Don DM, Anzai Y, Lufkin RB, Fu YS, Calcaterra TC. Evaluation of cervical lymph node metastases in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Laryngoscope*. 1995 Jul;105(7 Pt 1):669-74.
81. Sakata K, Hareyama M, Tamakawa M, Oouchi A, Sido M, Nagakura H, et al. Prognostic factors of nasopharynx tumors investigated by MR imaging and the value of MR imaging in the newly published TNM staging. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 1999 Jan 15;43(2):273-8.
82. Di Martino E, Nowak B, Hassan HA, Hausmann R, Adam G, Buell U, et al. Diagnosis and staging of head and neck cancer: a comparison of modern imaging modalities (positron emission tomography, computed tomography, color-coded duplex sonography) with panendoscopic and histopathologic findings. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 2000 Dec;126(12):1457-61.
83. Adams S, Baum RP, Stuckensen T, Bitter K, Hor G. Prospective comparison of 18F-FDG PET with conventional imaging modalities (CT, MRI, US) in lymph node staging of head and neck cancer. *Eur J Nucl Med*. 1998 Sep;25(9):1255-60.
84. Stoeckli SJ, Steinert H, Pfaltz M, Schmid S. Is there a role for positron emission tomography with 18F-fluorodeoxyglucose in the initial staging of nodal negative oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Head Neck*. 2002 Apr;24(4):345-9.
85. Lorch JH, Goloubeva O, Haddad RI, Cullen K, Sarlis N, Tishler R, et al. Induction chemotherapy with cisplatin and fluorouracil alone or in combination with docetaxel in locally advanced squamous-cell cancer of the head and neck: long-term results of the TAX 324 randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2011 Feb;12(2):153-9.
86. Jacobs C, Lyman G, Velez-Garcia E, Sridhar KS, Knight W, Hochster H, et al. A phase III randomized study comparing cisplatin and fluorouracil as single agents and in

combination for advanced squamous cell carcinoma of the head and neck. *J Clin Oncol*. 1992 Feb;10(2):257-63.

87. Gibson MK, Li Y, Murphy B, Hussain MH, DeConti RC, Ensley J, et al. Randomized phase III evaluation of cisplatin plus fluorouracil versus cisplatin plus paclitaxel in advanced head and neck cancer (E1395): an intergroup trial of the Eastern Cooperative Oncology Group. *J Clin Oncol*. 2005 May 20;23(15):3562-7.

88. Ang KK, Harris J, Wheeler R, Weber R, Rosenthal DI, Nguyen-Tan PF, et al. Human papillomavirus and survival of patients with oropharyngeal cancer. *N Engl J Med*. 2010 Jul 1;363(1):24-35.

89. Sternberger LA, Hardy PH, Jr., Cuculis JJ, Meyer HG. The unlabeled antibody enzyme method of immunohistochemistry: preparation and properties of soluble antigen-antibody complex (horseradish peroxidase-antihorseradish peroxidase) and its use in identification of spirochetes. *J Histochem Cytochem*. 1970 May;18(5):315-33.

90. Mason TE, Phifer RF, Spicer SS, Swallow RA, Dreskin RB. An immunoglobulin-enzyme bridge method for localizing tissue antigens. *J Histochem Cytochem*. 1969 Sep;17(9):563-9.

91. Nakane PK. Simultaneous localization of multiple tissue antigens using the peroxidase-labeled antibody method: a study on pituitary glands of the rat. *J Histochem Cytochem*. 1968 Sep;16(9):557-60.

92. Hsu SM, Raine L, Fanger H. Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. *J Histochem Cytochem*. 1981 Apr;29(4):577-80.

93. Sabbatini E, Bisgaard K, Ascani S, Poggi S, Piccioli M, Ceccarelli C, et al. The EnVision++ system: a new immunohistochemical method for diagnostics and research. Critical comparison with the APAAP, ChemMate, CSA, LABC, and SABC techniques. *J Clin Pathol*. 1998 Jul;51(7):506-11.

94. Attasara P, Buason R. Hospital-based cancer registry 2010. National cancer institute of Thailand. 2011;26:24.

95. Douglas WG, Rigual NR, Loree TR, Wiseman SM, Al-Rawi S, Hicks WL, Jr. Current concepts in the management of a second malignancy of the lung in patients with head and neck cancer. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg.* 2003 Apr;11(2):85-8.
96. Jagirdar J. Application of immunohistochemistry to the diagnosis of primary and metastatic carcinoma to the lung. *Arch Pathol Lab Med.* 2008 Mar;132(3):384-96.
97. Monica V, Ceppi P, Righi L, Tavaglione V, Volante M, Pelosi G, et al. Desmocollin-3: a new marker of squamous differentiation in undifferentiated large-cell carcinoma of the lung. *Mod Pathol.* 2009 May;22(5):709-17.
98. Yu GP, Chen GQ, Wu S, Shen K, Ji Y. The expression of PEBP4 protein in lung squamous cell carcinoma. *Tumour Biol.* 2011 Dec;32(6):1257-63.

ภาคผนวก

แบบบันทึกการเก็บข้อมูล (Case record form) เรื่อง อัตราการตรวจพบการแสดงออก  
ของยีนเอสเอฟทีพีบีและยีนเคอาร์ทีไฟร์ทีนโดยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมีสทรีในเนื้อเยื่อ  
มะเร็งชนิดสความัสของผู้ป่วยโรคมะเร็งปอด กับ มะเร็งศีรษะและคอ

<p>แบบฟอร์มการเก็บข้อมูล(CASE RECORD FORM)</p> <p>เรื่อง การศึกษาอัตราการตรวจพบการแสดงออกของยีนเอสเอฟทีพีบีและยีนเคอาร์ทีไฟร์ทีนโดย วิธีอิมมูโนฮิสโตเคมีสทรีในเนื้อเยื่อมะเร็งชนิดสความัสของผู้ป่วยโรคมะเร็งปอดกับมะเร็งศีรษะและ คอ</p> <p>(DETECTION RATE OF <i>SFTP</i>B AND <i>KRT14</i> EXPRESSION BY IMMUNOHISTOCHEMISTRY METHOD IN SQUAMOUS CELL CARCINOMA OF LUNG AND HEAD-NECK CANCER TISSUE)</p>	
ID number .....	
GENERAL INFORMATION	
Birth day...../...../.....	Age at diagnosis ..... years
Gender	<input type="checkbox"/> 1. Male <input type="checkbox"/> 2. Female



<p>Smoking History</p>	<p><input type="checkbox"/> 1.Never</p> <p><input type="checkbox"/> 2.Current .....pack/day</p> <p>Duration.....yrs</p> <p>Quit.....yrs</p> <p>Amount.....Pack-Year</p> <p><input type="checkbox"/> 3.Unknown</p>	<p><input type="checkbox"/> Nonsmoker</p> <p><input type="checkbox"/> Lightsmoker</p> <p><input type="checkbox"/> Heavysmoker</p> <p><input type="checkbox"/> Ex-smoker</p>	
<p><b>CLINICAL DIAGNOSIS</b></p>			
<p>Primary site of cancer</p>	<p><input type="checkbox"/> 1.Lung</p> <p>T.....N.....M.....</p> <p>AJCC stage =.....</p>	<p><input type="checkbox"/> 2.Head-neck</p> <p>T.....N.....M.....</p> <p>AJCC stage =.....</p>	<p><input type="checkbox"/> Local <input type="checkbox"/> LA</p> <p><input type="checkbox"/> Metastasis</p> <p>At.....</p>
<p>Physical examination</p>	<p>Cervical LN :</p> <p><input type="checkbox"/> 1.Palpable</p> <p><input type="checkbox"/> 2.Impalpable</p>	<p>Cervical LN :</p> <p><input type="checkbox"/> 1.Palpable <input type="checkbox"/> 2.Impalpable</p> <hr/> <p>ENT Exam.....</p>	
<p>Chest-Radiologic information</p>	<p>Location of Lesion</p> <p><input type="checkbox"/> 1.Central</p>	<p><input type="checkbox"/> 1.Normal</p> <p><input type="checkbox"/> 2.Abnormal.....</p> <p>.....</p>	

	<input type="checkbox"/> 2.Peripheral <input type="checkbox"/> 3.Cannot identify Cavitation <input type="checkbox"/> 1.Yes <input type="checkbox"/> 2.No <input type="checkbox"/> 3.Unknown	.....
<b>HISTOPATHOLOGICAL DIAGNOSIS</b>		
Date of histopathological diagnosis	...../...../..... Pathological No.....	
ตำแหน่งอวัยวะของชิ้นเนื้อ	<input type="checkbox"/> 1.Lung <input type="checkbox"/> 2.Base of tongue <input type="checkbox"/> 3.Tonsil <input type="checkbox"/> 4.Hypopharynx <input type="checkbox"/> 5.Other site of Head-neck.....	
วิธีการได้มาของชิ้นเนื้อ	<input type="checkbox"/> 1.Tissue biopsy <input type="checkbox"/> 2.Surgical specimen <input type="checkbox"/> 3.Other.....	
ระยะเวลาในการเก็บชิ้นเนื้อ	<input type="checkbox"/> 1. <1 ปี <input type="checkbox"/> 2. 1-2 ปี <input type="checkbox"/> 3. 2-3 ปี <input type="checkbox"/> 4. 3-4 ปี <input type="checkbox"/> 5. >4 ปี :.....	
Histology grading of tumor cell	<input type="checkbox"/> 1.G1 well differentiated	<input type="checkbox"/> 2.G2 Moderately differentiated

	<input type="checkbox"/> 3.G3 Poorly differentiated	<input type="checkbox"/> 4.GX :cannot be assessed		
ผลการตรวจอิมมูโนฮิสโตเคมีสตรี้ มิตทรี (Imunohistochemistry report)	SFTPb		KRT14	
	<input type="checkbox"/> 1.Negative		<input type="checkbox"/> 1.Negative	
	<input type="checkbox"/> 2.Positive		<input type="checkbox"/> 2.Positive	
	Intensity	Quantity	Intensity	Quantity
	<input type="checkbox"/> Weak <input type="checkbox"/> Moderate <input type="checkbox"/> Strong	<input type="checkbox"/> <25% <input type="checkbox"/> 25-75% <input type="checkbox"/> > 75%	<input type="checkbox"/> Weak <input type="checkbox"/> Moderate <input type="checkbox"/> Strong	<input type="checkbox"/> <25% <input type="checkbox"/> 25-75% <input type="checkbox"/> > 75%
<p>TREATMENT AND OUTCOME <input type="checkbox"/> Received Rx</p> <p><input type="checkbox"/> Not received Rx <input type="checkbox"/> Unfit for Rx <input type="checkbox"/> Not required for Rx</p> <p><input type="checkbox"/> Refused Rx <input type="checkbox"/> Other.....</p> <p><input type="checkbox"/> Unknown</p>				
7. Radiation	<input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> Neo/Adj/definiteRT <input type="checkbox"/> Concurrent <input type="checkbox"/> Palliation  <input type="checkbox"/> No			
8. Chemotherapy	<input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> Adj/NeoAdjCMT <input type="checkbox"/> Concurrent <input type="checkbox"/> Palliation			

	<input type="checkbox"/> No
9. Response (RECISTv1.1)	<input type="checkbox"/> CR <input type="checkbox"/> PR <input type="checkbox"/> SD <input type="checkbox"/> PD
10. DFS/PFS  (Data cutoff at 1/11/2012)	<input type="checkbox"/> Evaluate , Duration .....Mo  <input type="checkbox"/> Not evaluate
11. OS  (Data cutoff at 1/11/2012)	<input type="checkbox"/> Evaluate , Duration .....Mo <input type="checkbox"/> Death  <input type="checkbox"/> Not evaluate <input type="checkbox"/> Alive

## ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

ชื่อ แพทย์หญิงณัฏฐา ภู่วรรณ

วัน เดือน ปีเกิด 9 กันยายน พ.ศ. 2524

สถานที่เกิด จังหวัดแพร่

### ประวัติการศึกษาและการทำงาน

2543-2549 นักศึกษาคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

2550 แพทย์ฝึกหัด โรงพยาบาลศรีนครินทร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

2551-2553 แพทย์ประจำบ้านอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

2554 อายุรแพทย์ โรงพยาบาลบางปะกอก 9

2554-ปัจจุบัน แพทย์ประจำบ้านต่อยอด สาขาวิชามะเร็งวิทยา

ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

### ปริญญาและประกาศนียบัตร

2549 แพทยศาสตรบัณฑิต มหาวิทยาลัยขอนแก่น

2552 วุฒิบัตรแสดงความรู้ความชำนาญในการประกอบวิชาชีพเวชกรรม

สาขาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น