# บทที่ 4

# อภิปรายผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

## อภิปรายผลการทดลอง

โรคมะเร็งสความัสเซลล์ช่องปากเป็นโรคที่มีความรุนแรง ทำให้ผู้ป่วยทุกข์ทรมานและเสียชีวิต การรักษาที่ผ่านมาโดยการผ่าตัด เคมีบำบัดและการฉายรังสี ผู้ป่วยที่แพทย์สามารถรักษาได้จะสูญเสียการทำงานของอวัยวะภายในช่องปากและใบหน้า รวมถึงความสวยงามเนื่องจากต้องตัดอวัยวะข้างเคียงออก นอกจากนี้ยังมีความเสี่ยงที่จะกลับเป็นมะเร็งอีกครั้ง ดังนั้นการศึกษาทางอณูชีววิทยาของโรค ได้แก่การศึกษาหาส่วนประกอบของเซลล์ การศึกษาสารเคมีหรือโมเลกุลที่เซลล์มะเร็งสร้างหรือเหนี่ยวนำให้เซลล์ข้างเคียงสร้าง เพื่อใช้เป็นประโยชน์ในการรักษาผู้ป่วยเนื่องจากใช้เป็นเป้าหมายในการค้นหายาหรือวิธีรักษาอย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

ในงานวิจัยที่ผ่านมามีการศึกษาคุณสมบัติต่างๆ ของโรคมะเร็งสความัสเซลล์ช่องปากจำนวนมาก แต่มีงานวิจัยที่ศึกษาในด้านการแสดงออกของเฮพพาแรนเนสค่อนข้างน้อย แม้ว่าเฮพพาแรนเนสเป็นเอนไซม์ที่มีการสร้างจากเซลล์มะเร็ง สามารถทำลายสายเฮพพาแรนซัลเฟตซึ่งเป็นส่วนประกอบของโมเลกุลเฮพพาแรนซัลเฟตโปรติโอกลัยแคนที่มีอยู่ทั่วไปที่ผิวเซลล์ สารนอกเซลล์ และเบสเมนท์เมมเบรน สายของเฮพพาแรนซัลเฟตเชื่อมกับชีวโมเลกุลหลายชนิด ดังนั้นเฮพพาแรนซัลเฟตโปรติโอกลัยแคนจึงเกี่ยวข้องกับขบวนการต่างๆ ของร่างกาย เช่น การงอกของหลอดเลือด การเปลี่ยนแปลงไปแสดงลักษณะเฉพาะของเซลล์ อันตรกิริยาระหว่างเซลล์กับเซลล์ และเซลล์กับสารนอกเซลล์ เฮพพาแรนซัลเฟตโปรติโอกลัยแคนเชื่อมกับสารอื่นๆในเบสเมนท์เมมเบรนทำหน้าที่เป็นโครงสร้างและแนวกั้นระหว่างชั้นของเซลล์เยื่อบุผิวและเซลล์หรืออวัยวะอื่นๆ ดังนั้นจึงทำหน้าที่ป้องกันการรุกรานของมะเร็ง การทำลายสายเฮพพาแรนซัลเฟตจึงก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในขบวนการที่กล่าวมาและส่งเสริมให้มีการแพร่กระจายของมะเร็ง (Vlodavsky และ Friedmann, 2001) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งศึกษาคุณสมบัติทางอณูชีววิทยาของเซลล์มะเร็งและเซลล์ปกติจากผู้ป่วยคนเดียวกัน ในการศึกษาและเปรียบเทียบการแสดงออกของฮพพาแรนเนสในระดับอาร์เอ็นเอ

การศึกษาเนื้อเยื่อปกติและเนื้อเยื่อมะเร็งจากผู้ป่วยคนเดียวกันสามารถตัดปัญหาในกรณีความแตกต่างของผู้ป่วยแต่ละคน เช่น อายุ เพศ การสูบบุหรี่ ดื่มสุรา เคี้ยวหมากพลู พฤติกรรมการดำรงชีวิตหรือสิ่งแวดล้อม เป็นต้น

การแยกเนื้อเยื่อปกติและมะเร็งออกจากก้อนเนื้อผู้ป่วยที่ได้รับการผ่าตัด ต้องกระทำโดยเร็วที่สุดเพื่อมิให้อาร์เอ็นเอรวมในเนื้อเยื่อถูกทำลาย ซึ่งจะส่งผลต่อการสร้างซีดีเอ็นเอ การตรวจสอบ

คุณภาพอาร์เอ็นเอรวมโดยวัดปริมาณด้วยวิธีสเปคโตรโฟโตเมทรีย์ด้วยการดูดกลืนแสงหลายๆค่า จะทำให้ทราบปริมาณและความบริสุทธิ์ของสารละลายอาร์เอ็นเอรวม เนื่องจากกรดนิวคลีอิกจะดูดกลืนแสงได้ดีที่ความยาวคลื่น 260 นาโนเมตร ฟีนอลดูดกลืนแสงได้ดีที่ 230 นาโนเมตร ฟีนอลในน้ำดูดกลืนแสงได้ดีที่ 270 นาโนเมตร โปรตีนดูดกลืนแสงได้ดีที่ 280 นาโนเมตร และสารอินทรีย์อื่นๆ ดูดกลืนแสงได้ตั้งแต่ 330 นาโนเมตรเป็นต้นไป ในทางปฏิบัติจะนิยมทดสอบปริมาณและความบริสุทธิ์ของสารละลายอาร์เอ็นเอรวมด้วยการวัดอัตราส่วนการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 260 นาโนเมตร ต่อ 280 นาโนเมตร ($OD_{260}$ : $OD_{280}$) ถ้าอัตราส่วนนี้มีค่าเท่ากับ 1.8 จะมีปริมาณกรดนิวคลีอิกร้อยละ 50 และโปรตีนร้อยละ 50 ดังนั้นถ้าอัตราส่วนดังกล่าวมีค่ามากกว่าหรือเท่ากับ 1.8 แสดงว่ามีปริมาณกรดนิวคลีอิกมากกว่าหรือเท่ากับโปรตีน (Sambrook และ Russell, 2001)

เนื้อเยื่อที่นำมาศึกษาแบ่งเป็นเนื้อเยื่อปกติและเนื้อเยื่อมะเร็งมีปริมาณอาร์เอ็นเอรวมตั้งแต่ 0.49-8.64 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร อัตราส่วนการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 260 : 280 = 1.52-2.08 ปริมาณและอัตราส่วนดังกล่าวขึ้นอยู่กับขนาดของเนื้อเยื่อ และระยะเวลาตั้งแต่ก้อนเนื้อถูกตัดออกจากผู้ป่วยจนกระทั่งถูกแบ่งออกมาแล้วแช่ในไนโตรเจนเหลว ในทางทฤษฎีกำหนดให้แยกเนื้อเยื่อทันทีเมื่อก้อนเนื้อถูกตัดออกจากตัวผู้ป่วย (Sambrook และ Russell, 2001) แต่ในทางปฏิบัติการแยกเนื้อเยื่อในผู้ป่วยแต่ละคนจะใช้เวลาไม่เท่ากัน ระยะเวลาที่นานขึ้นจะทำให้อาร์เอ็นเอถูกทำลายโดยเอนไซม์อาร์เอ็นเอส อาร์เอ็นเอที่ได้จากเนื้อเยื่อของผู้ป่วยแต่ละคนจึงมีคุณภาพและปริมาณที่แตกต่างกัน

การดูดกลืนแสงของสารละลายอาร์เอ็นเอรวมขึ้นอยู่กับโครงสร้างวงแหวนอะโรมาติกของเบสในกรดนิวคลีอิก ซึ่งจะทำให้ทราบปริมาณและความบริสุทธิ์ของสารละลายอาร์เอ็นเอ แต่ไม่สามารถบอกถึงความสมบูรณ์ของสายอาร์เอ็นเอที่ได้ การทดสอบแยกอาร์เอ็นเอออกตามขนาดด้วยกระแสไฟฟ้าบนวุ้นอะกาโรสที่มีฟอร์มาลดีไฮด์ จึงเป็นวิธีใช้ตรวจสอบความสมบูรณ์ของสายอาร์เอ็นเอ อาร์เอ็นเอที่มีคุณภาพดีจะมีความเข้มของแถบอาร์เอ็นเอไรโบโซม 28S เป็น 2 เท่าของ 18S และอาร์เอ็นเอนำรหัสจะมีลักษณะเป็นปื้นขาว (Sambrook และ Russell, 2001; Chomczyski และ Sacchi, 1987)

อาร์เอ็นเอที่สกัดได้จากเนื้อเยื่อจะถูกทำลายด้วยอาร์เอ็นเอสซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีความคงทนไม่สามารถทำลายด้วยความร้อน เช่น การอบฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำ สามารถทำงานได้ในช่วงของความเป็นกรดด่างกว้าง นอกจากนี้การทำงานของเอนไซม์นี้ไม่ต้องอาศัยปัจจัยร่วมใดๆ (Sambrook และ Russell, 2001) ในงานวิจัยนี้จึงเตรียมวัสดุ อุปกรณ์ให้ปราศจากอาร์เอ็นเอสโดยล้างด้วยไดเอธิลไพโรคาร์บอนเนต และเตรียมสารละลายด้วยน้ำที่มีการยับยั้งการทำงานของอาร์เอ็นเอสแล้วโดยใช้ไดเอธิลไพโรคาร์บอนเนต ซึ่งจะมีผลต่ออาร์เอ็นเอสที่มาจากแหล่งภายนอก แต่เนื่องจากภายในเซลล์ก็มีเอนไซม์ดังกล่าว ดังนั้นการแยกอาร์เอ็นเอรวมด้วยกระแสไฟฟ้าบนวุ้นอะกาโรสที่มีฟอร์มาลดีไฮด์ จึงพบว่าอาร์เอ็นเอรวมบางส่วนถูกทำลายก่อนที่จะนำมาแยกด้วยวิธีดังกล่าว ด้วยอาร์เอ็นเอสทำให้เห็นแถบอาร์เอ็นเอไรโบโซม 28S และ 18S ไม่ชัดเจน

การสร้างซีดีเอ็นเอเป็นการเปลี่ยนอาร์เอ็นเอนำรหัสให้อยู่ในรูปดีเอ็นเอสายเดี่ยว เนื่องจากปลาย 3' ของอาร์เอ็นเอนำรหัสในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตชั้นสูงประกอบด้วยอะดีโนซีนจำนวนมาก (poly A tail) เมื่อจับกับไพรเมอร์ที่สร้างจากไธมิดีน (oligo dT primer) และเอนไซม์รีเวอร์สทรานสคริปเตส สามารถสร้างซีดีเอ็นเอที่มีเบสคู่สมกับอาร์เอ็นเอแม่แบบ ดังนั้นซีดีเอ็นเอจึงมีลำดับเบสเหมือนสายดีเอ็นเอในเซลล์ (antisense) (Albert และคณะ, 2002; Sambrook และ Russell, 2001) ในงานวิจัยนี้เปลี่ยนอาร์เอ็นเอนำรหัสเป็นซีดีเอ็นเอเพื่อใช้เป็นแม่แบบสำหรับสร้างดีเอ็นเอในสองขั้นตอน (two steps) ซึ่งเป็นวิธีที่มีความแปรปรวนน้อยกว่าการสร้างดีเอ็นเอในขั้นตอนเดียว (single step) เนื่องจากการสร้างดีเอ็นเอเป็นปฏิกิริยาที่มีความไว ดังนั้นถ้ามีความผิดพลาดในขั้นตอนการสร้างซีดีเอ็นเอ จึงมีผลต่อการสร้างดีเอ็นเอด้วย (Pfaff, 2001)

ในงานวิจัยนี้ศึกษาการแสดงออกของเฮพพาแรนเนสในเนื้อเยื่อปกติและมะเร็งของผู้ป่วยคนเดียวกันด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรส และเปรียบเทียบการแสดงออกของเฮพพาแรนเนสจากเนื่อเยื่อทั้งสองชนิดด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรสชนิดบอกปริมาณ โดยมีการแสดงออกของยีน GAPDH เป็นยีนอ้างอิงปริมาณซึ่งได้พิสูจน์ด้วยยีนเบตากลอบินว่า GAPDH เป็นยีนที่มีการแสดงออกเท่ากันในเนื้อเยื่อทั้งสองชนิด

การทดสอบการแสดงออกของเฮพพาแรนเนสด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรส แสดงผลในลักษณะความเข้มของแถบดีเอ็นเอเฮพพาแรนเนสที่สร้างจากเนื้อเยื่อมะเร็งและเนื้อเยื่อปกติซึ่งวิเคราะห์ด้วยเครื่องเดนซิโตมิเตอร์ การสร้างดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาดังกล่าวเป็นแบบกึ่งปริมาณ (semi-quantitative) กล่าวคือ ปริมาณดีเอ็นเอที่สร้างจากแม่แบบจะเพิ่มขึ้นทุกรอบของปฏิกิริยา คำนวณดีเอ็นเอผลผลิตได้จากสมการ $2^{n-2}$ โดย n คือ จำนวนรอบ เมื่อปฏิกิริยาดำเนินไปได้ระยะหนึ่งดีเอ็นเอเป้าหมายมากขึ้น ขณะที่ไพรเมอร์ลดจำนวนลงและเอนไซม์ไม่เพียงพอต่อการจับกับดีเอ็นเอที่สร้างขึ้นใหม่ทั้งหมด ทำให้ผลผลิตของดีเอ็นเอเป้าหมายลดลง อัตราการเพิ่มจึงไม่เป็นแบบทวีคูณเหมือนช่วงแรกและในที่สุดจะไม่มีการเพิ่มดีเอ็นเออีก เรียกว่าปฏิกิริยาเข้าสู่ระยะคงที่ การวัดปริมาณดีเอ็นเอผลผลิตจึงเป็นการวัดเมื่อสิ้นสุดปฏิกิริยา (Dale และ Schantz, 2002; Sambrook และ Russell, 2001) ถ้าปริมาณแม่แบบซีดีเอ็นเอตั้งต้นต่างกัน ปริมาณดีเอ็นเอผลผลิตเมื่อปฏิกิริยาเข้าสู่ระยะคงที่จะไม่ต่างกัน ถ้าหยุดปฏิกิริยาการสร้างดีเอ็นเอก่อนเข้าระยะคงที่ จำนวนดีเอ็นเอผลผลิตที่สร้างจากแม่แบบจำนวนต่างกันก็จะเพิ่มปริมาณได้ไม่เท่ากัน จึงสามารถบอกความแตกต่างการแสดงออกของเฮพพาแรนเนสจากเนื้อเยื่อทั้งสองได้ และในการวิจัยนี้ใช้ไพรเมอร์ชนิดที่ 1 ที่ออกแบบโดย Ikuta และคณะ (2001) ซึ่งใช้ทดสอบการแสดงออกของเฮพพาแรนเนสในมะเร็งช่องปากเช่นเดียวกัน คณะผู้วิจัยดังกล่าวได้กำหนดจำนวนรอบของปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรสเป็น 33 รอบ และจากการทดลองจำนวนรอบสูงสุดที่ปฏิกิริยายังไม่เข้าสู่ระยะคงที่คือ 30 รอบ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงใช้จำนวนรอบในการสร้างดีเอ็นเอเฮพพาแรนเนส 30 รอบ เนื่องจากไม่ต้องการให้ปฏิกิริยาการสร้างดีเอ็นเอเข้าสู่ระยะคงที่ และได้

ทดสอบแล้วว่าจำนวนรอบที่ต่ำกว่านี้ไม่สามารถทดสอบการแสดงออกของเฮพพาแรนเนสจากเนื้อเยื่อของผู้ป่วยบางรายซึ่งมีปริมาณดีเอ็นเอน้อยมาก ในกรณีผู้ป่วยรายที่ 22 ซึ่งใช้ไพรเมอร์ชนิดที่ 2 ออกแบบด้วยโปรแกรมไพรเมอร์ 3 (Whitehead for biomedical research Institute, 1998) สร้างดีเอ็นเอจำนวน 30 รอบ และพบว่าจำนวนรอบดังกล่าวสามารถสร้างดีเอ็นเอเฮพพาแรนเนสในขณะที่ปฏิกิริยายังไม่เข้าสู่ระยะคงที่ เนื่องจากแถบดีเอ็นเอเฮพพาแรนเนสของเนื้อเยื่อทั้งสองชนิดมีความเข้มแตกต่างกันจากการทดลองหลายครั้ง จึงสามารถวิเคราะห์ความแตกต่างของดีเอ็นเอเฮพพาแรนเนสของเนื้อเยื่อทั้งสองชนิดของผู้ป่วยรายดังกล่าวได้

ผลการวิจัยการแสดงออกของเฮพพาแรนเนสในเนื้อเยื่อปกติและเนื้อเยื่อมะเร็งจากผู้ป่วยจำนวน 18 รายด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรส วิเคราะห์ผลด้วยการทดสอบความเข้มของแถบดีเอ็นเอเฮพพาแรนเนสจากเนื้อเยื่อทั้งสองชนิด พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Paired T test, $p>0.05$) ผู้ป่วย 9 ราย มีการแสดงออกของเฮพพาแรนเนสในเนื้อเยื่อมะเร็งมากกว่าปกติ (T:N>1.05) ผู้ป่วย 1 ราย แสดงออกเฉพาะในเนื้อเยื่อมะเร็งและตรวจไม่พบในเนื้อเยื่อปกติ (ตารางที่ 6 ก) เนื่องจากผู้ป่วยรายนี้มีการแสดงออกของ GAPDH ในเนื้อเยื่อทั้งสองชนิด แสดงว่าอาร์เอ็นเอรวมและซีดีเอ็นเอมีคุณภาพดี ดังนั้นการที่เนื้อเยื่อปกติของผู้ป่วยรายนี้ตรวจไม่พบการแสดงออกของเฮพพาแรนเนสจึงอาจจะเกิดจากมีการแสดงออกน้อยมาก อย่างไรก็ตามได้พบการแสดงออกของเฮพพาแรนเนสเมื่อตรวจสอบด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรสชนิดบอกปริมาณซึ่งมีความไวกว่าปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรส ผู้ป่วย 2 ราย มีการแสดงออกเท่ากันในเนื้อเยื่อทั้งสองชนิดซึ่งมีค่า T:Nอยู่ระหว่าง 0.96 และ 1.04 ผู้ป่วย 6 ราย มีการแสดงออกในเนื้อเยื่อปกติมากกว่ามะเร็ง (N:T>1.05) (ตารางที่ 6 ข) จากผลการทดสอบดังกล่าวจึงสรุปได้ว่าการแสดงออกเฮพพาแรนเนสไม่มีความแตกต่างในเนื้อเยื่อมะเร็งแลเนื้อเยื่อปกติ ต่างจากการศึกษาของ Ikuta และคณะ (2001) พบการแสดงออกของเฮพพาแรนเนสจากเนื้อเยื่อมะเร็งในช่องปากและในเซลล์ไลน์ที่พัฒนาจากเซลล์มะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์ของผู้ป่วย แต่ไม่พบการแสดงออกของเฮพพาแรนเนสในเนื้อเยื่อปกติบริเวณเหงือกและกระพุ้งแก้มจากอาสาสมัครสุขภาพดี ส่วนในงานวิจัยนี้พบการแสดงออกของเฮพพาแรนเนสในเนื้อเยื่อปกติที่มาจากเนื้อเยื่อปกติข้างเคียงเนื้อเยื่อมะเร็ง (paired normal tissue) จึงมีความเป็นไปได้ว่าเนื้อเยื่อปกติดังกล่าวประกอบด้วยเซลล์ที่กำลังมีความผิดปกติในระดับยีน แสดงว่ามีการสร้างอาร์เอ็นเอสะสมจำนวนมากแต่ยังไม่มีการเปลี่ยนแปลงระดับเนื้อเยื่อ (Pitot, 2002) ถ้าพิจารณาเนื้อเยื่อปกติรอบๆ เนื้อเยื่อมะเร็งที่ถูกรุกรานด้วยเซลล์มะเร็งหรือกำลังเปลี่ยนแปลงเป็นเซลล์มะเร็ง เซลล์ในเนื้อเยื่อปกติเหล่านั้นจึงถูกเหนี่ยวนำให้สร้างยีนของเฮพพาแรนเนสจำนวนมาก ทำให้พบการแสดงออกของเฮพพาแรนเนสจำนวนมากในเนื้อเยื่อดังกล่าว

ผลการศึกษาในงานวิจัยนี้แตกต่างจากการทดสอบการแสดงออกเฮพพาแรนเนสในมะเร็งกระเพาะอาหาร (gastric adrenocarcinoma) ซึ่งเป็นมะเร็งประเภทคาร์ซิโนมาของระบบทางเดินอาหาร

เช่นเดียวกับมะเร็งสความัสเซลล์ช่องปากที่กำลังศึกษาในงานวิจัยนี้ ด้วยปฏิกิริยารีเวอร์สทรานสคริปชันและปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรสพบการแสดงออกของเฮพพาแรนเนสในเนื้อเยื่อมะเร็งกระเพาะอาหารสูงกว่าเนื้อเยื่อข้างเคียงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) แต่ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างการแสดงออกของเฮพพาแรนเนสกับขนาดของมะเร็ง ระยะของมะเร็ง และการแพร่กระจายสู่ตับ (Endo และคณะ, 2001)

ในงานวิจัยนี้ผลการวิเคราะห์อัตราส่วนความเข้มของแถบดีเอ็นเอเฮพพาแรนเนสจากเนื้อเยื่อมะเร็งต่อเนื้อเยื่อปกติด้วยเครื่องเดนซิโตมิเตอร์ (T:N) พบว่าผู้ป่วย 10 ราย มีค่า T:N มากกว่า 1 ผู้ป่วย 2 ราย มีค่า T:N ใกล้เคียง 1 และผู้ป่วย 6 ราย มีค่า T:N ต่ำกว่า 1 ผลการศึกษาดังกล่าวคล้ายคลึงกับการศึกษาการแสดงออกของเฮพพาแรนเนสในมะเร็งทางเดินอาหารของ Inoue และคณะ (2001) ซึ่งใช้วิธีติดฉลากรังสีในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรสพบว่าในผู้ป่วยมะเร็งหลอดอาหาร (esophagus cancer) 38 ราย มีอัตราส่วน T:N มากกว่า 1 จำนวน 7 ราย T:N ใกล้เคียง 1 จำนวน 10 ราย และ T:N ต่ำกว่า 1 จำนวน 21 ราย ในผู้ป่วยมะเร็งกระเพาะอาหาร 71 ราย อัตราส่วน T:N มากกว่า 1 จำนวน 42 ราย ใกล้เคียง 1 จำนวน 22 ราย และต่ำกว่า 1 จำนวน 7 ราย ในผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่ (colorectal adenocarcinoma) 35 ราย อัตราส่วน T:N มากกว่า 1 จำนวน 3 ราย ใกล้เคียง 1 จำนวน 16 ราย และต่ำกว่า 1 จำนวน 16 ราย เมื่อเปรียบเทียบการแสดงออกของเฮพพาแรนเนสด้วยอัตราส่วน T:N ในระดับมากกว่า 1 กับการแสดงออกของเฮพพาแรนเนสในอัตราส่วน T:N ระดับใกล้เคียงและต่ำกว่า 1 พบว่าในมะเร็งกระเพาะอาหารเท่านั้นที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ คณะผู้วิจัยดังกล่าวพบว่าการแสดงออกของเฮพพาแรนเนสกับระยะของมะเร็งไม่มีความสัมพันธ์กัน

ผลการศึกษาในงานวิจัยนี้แตกต่างจากการศึกษาการแสดงออกของเฮพพาแรนเนสในมะเร็งลำไส้ใหญ่ของ Friedmann และคณะ (2000) ซึ่งพบการแสดงออกเฮพพาแรนเนสทั้งในระดับอาร์เอ็นเอและพบโปรตีนในเนื้อเยื่อมะเร็งโดยเฉพาะที่ผิวเซลล์และในไซโตพลาสซึมของเซลล์มะเร็งแต่ไม่พบในเซลล์ปกติรอบเนื้อเยื่อมะเร็งที่ยังมิได้มีการรุกราน ส่วนในมะเร็งลำไส้ใหญ่ที่มีการรุกรานสู่ระบบน้ำเหลือง ปอด และตับ พบการแสดงออกของอาร์เอ็นเอนำรหัสเฮพพาแรนเนสและโปรตีนในเซลล์มะเร็งและเซลล์ไฟโบรบลาสต์ที่อยู่รอบๆ (stromal fibroblasts) Friedmann และคณะ ได้ศึกษาการแสดงออกของเฮพพแรนเนสในลำไส้ใหญ่โดยวิธี *อินซิตู* ไฮบริไดเซชันในการหาปริมาณอาร์เอ็นเอซึ่งเป็นวิธีที่ทดสอบสารพันธุกรรมบนเนื้อเยื่อตัวอย่างโดยไม่ต้องสกัดอาร์เอ็นเอจึงเป็นการลดขั้นตอนการสกัดจึงลดความแปรปรวนที่เกิดจากขั้นตอนดังกล่าวออกไปได้ และศึกษาโปรตีนโดยวิธีย้อมสีอิมมูโนฮีสโตเคมี

จากการศึกษามะเร็งในระบบทางเดินอาหารที่กล่าวข้างต้น พบว่าการแสดงออกของเฮพพาแรนเนสในเนื้อเยื่อปกติและมะเร็งมีความแตกต่างในอวัยวะแต่ละชนิด Bame (2001) กล่าวถึง

กลไกการเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของเฮพพาแรนเนสในอวัยวะต่างๆ และในเนื้อเยื่อมะเร็งจะประกอบด้วยอันตรกิริยาระหว่างเฮพพาแรนเนส และเอนไซม์ย่อยโปรตีนในสารนอกเซลล์อื่นๆ โกรธแฟคเตอร์ ไซโตไคน์ และการแสดงออกของยีนมะเร็ง เนื่องจากส่วนประกอบต่างๆ เหล่านี้มีความแตกต่างในอวัยวะต่างๆ ดังนั้นการควบคุมการแสดงออกเฮพพาแรนเนสจึงต่างกันด้วย

การทดสอบเปรียบเทียบปริมาณการแสดงออกของเฮพพาแรนเนสในเนื้อเยื่อปกติและมะเร็งของผู้ป่วยคนเดียวกันด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรสชนิดบอกปริมาณ จากการศึกษาของ Bernard และ Wittwer (2002) และ Pfaffl (2001) ได้นำปฏิกิริยานี้มาทดสอบและคำนวณปริมาณการแสดงออกของยีนเป้าหมายในโรคมะเร็งเปรียบเทียบการแสดงออกของยีนอ้างอิง เพื่อประโยชน์ในการวินิจฉัย การตรวจวิเคราะห์ผู้ป่วย และงานวิจัยมะเร็ง นอกจากนี้ได้นำเสนอรูปแบบทางคณิตศาสตร์ แสดงด้วยอัตราส่วนความสัมพันธ์การแสดงออกของยีนเป้าหมายเปรียบเทียบกับการแสดงออกของยีนอ้างอิง (relative expression ratio) คำนวณจากสมการ (1) ซึ่งเป็นผลจากจำนวนรอบของดีเอ็นเอเป้าหมายที่ได้จากสัญญาณฟลูออเรสเซนส์ที่สูงกว่าค่าพื้นฐาน (cp) และประสิทธิภาพของปฏิกิริยา (E) จากสมการ (2)

$$\text{อัตราส่วนความสัมพันธ์การแสดงออกเฮพพาแรนเนส} = \frac{(E_{\text{เฮพพาแรนเนส}})^{\Delta cp_{\text{เฮพพาแรนเนส}(\text{เนื้อเยื่อปกติ-เนื้อเยื่อมะเร็ง})}}}{(E_{GAPDH})^{\Delta cp_{GAPDH}(\text{เนื้อเยื่อปกติ-เนื้อเยื่อมะเร็ง})}} \quad \text{....(1)}$$

$$E = 10^{[-1/slope]} \quad \text{..... (2)}$$

คณะผู้วิจัยทั้ง 2 กลุ่มกล่าวว่าประสิทธิภาพของยีนเป้าหมายและยีนอ้างอิง ในปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรสชนิดบอกปริมาณในสภาวะการทดลองที่เหมาะสมที่สุดมีค่าเท่ากับ 2 และค่า cp ยีนอ้างอิง (GAPDH) จากเนื้อเยื่อทั้งสองชนิดมีค่าเท่ากันหรือใกล้เคียงกัน

$$E_{\text{เฮพพาแรนเนส}} = E_{GAPDH} = 2$$

$$\text{อัตราส่วนความสัมพันธ์การแสดงออก} = 2^{-(\Delta cp_{\text{เฮพพาแรนเนส}} - \Delta cp_{GAPDH})} \quad \text{.....(3)}$$

สมการทางคณิตศาสตร์ดังกล่าวแสดงความสัมพันธ์การแสดงออกเฮพพาแรนเนสเปรียบเทียบกับการแสดงออกของ GAPDH ในเนื้อเยื่อปกติและมะเร็ง ในงานวิจัยนี้กำหนดเงื่อนไขการทดลองเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพ (E) ของปฏิกิริยาโดยเริ่มต้นปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรสชนิดบอกปริมาณด้วยวิธีฮอทสตาร์ท (hot start) ซึ่งเป็นการใช้อุณหภูมิสูงในการเริ่มต้นปฏิกิริยาเพื่อได้ดีเอ็นเอผลผลิตที่จำเพาะมากขึ้น และเชื่อมต่อไพรเมอร์ด้วยวิธีทัชดาวน์ (touch down) ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงระดับอุณหภูมิในการเชื่อมต่อไพรเมอร์เริ่มจากอุณหภูมิสูงกว่า $T_m$ ไม่เกิน $5^{\circ}C$ จนกระทั่งอุณหภูมิต่ำกว่า $T_m$ ไม่เกิน $5^{\circ}C$ เป็นการเพิ่มความไว (sensitivity) ในการเชื่อมต่อไพรเมอร์ สำหรับการคำนวณค่า cp ของ

ปฏิกิริยาจากวิธีอนุพันธ์อันดับสองมากที่สุดซึ่งค่า cp จะมีความถูกต้องเนื่องจากโปรแกรมของเครื่องวิเคราะห์จะตัดสิ่งรบกวนปฏิกิริยา ทำให้ผลการทดลองมีความแม่นยำสูง (high reproducibility) พบว่าค่า cp ที่ได้จากปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรสชนิดบอกปริมาณมีความแม่นยำสูง โดยจะมีความผิดพลาดต่ำกว่าร้อยละ 2.5 (Pfaffl, 2001)

ผลการวิจัยการเปรียบเทียบแสดงออกของเฮพพาแรนเนสในเนื้อเยื่อปกติและเนื้อเยื่อมะเร็งจากผู้ป่วยจำนวน 16 ราย (ไม่มีผลการทดลองของผู้ป่วยรายที่ 16 และ 19) ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรสชนิดบอกปริมาณ พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Paired T test, $P>0.05$) ผู้ป่วยจำนวน 9 รายมีการแสดงออกของเฮพพาแรนเนสในเนื้อเยื่อมะเร็งสูงกว่าเนื้อเยื่อปกติโดยมีอัตราส่วนความสัมพันธ์การแสดงออกตั้งแต่ 2.7132 ถึง $1.85X10^7$ เท่า ผู้ป่วยจำนวน 7 รายมีการแสดงออกของเฮพพาแรนเนสในเนื้อเยื่อปกติสูงกว่าเนื้อเยื่อมะเร็งมีค่าอัตราส่วนความสัมพันธ์การแสดงออกตั้งแต่ 0.0001 ถึง 0.66434 เท่า จากผลดังกล่าวจึงสรุปได้ว่าการแสดงออกเฮพพาแรนเนสไม่มีความแตกต่างในเนื้อเยื่อมะเร็งและเนื้อเยื่อปกติจากผู้ป่วยคนเดียวกัน

จากผลการทดสอบการแสดงออกของเฮพพาแรนเนสในผู้ป่วยมะเร็งสความัสเซลล์ช่องปากจำนวน 18 ราย ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรสและปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรสชนิดบอกปริมาณ ผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของเฮพพาแรนเนสในเนื้อเยื่อมะเร็งสูงกว่าเนื้อเยื่อปกติจำนวน 10 ราย และต่ำกว่าเนื้อเยื่อปกติ 8 ราย ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกันทั้ง 2 วิธี แต่ไม่สามารถเปรียบเทียบค่าตัวเลขที่ได้จากความเข้มดีเอ็นเอเฮพพาแรนเนส และค่า cp ของเฮพพาแรนเนสเนื่องจากเป็นวิธีทดลองที่แตกต่างกัน (ผู้ป่วยรายที่ 16 และ 19 ไม่มีผลทดสอบจากปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรสชนิดบอกปริมาณ) ยกเว้นในผู้ป่วยรายที่ 4 และ 6 ผลการแสดงออกของเนื้อเยื่อทั้งสองชนิดใกล้เคียงกันในปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรส แต่ผลการแสดงออกในเนื้อเยื่อมะเร็งต่ำกว่าเนื้อเยื่อปกติเมื่อทดสอบด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรสชนิดบอกปริมาณ จึงจัดอยู่ในกลุ่มที่มีการแสดงออกในเนื้อเยื่อมะเร็งต่ำกว่าเนื้อเยื่อปกติ ผู้ป่วยทั้ง 2 กลุ่มมีลักษณะของโรคได้แก่ระยะของมะเร็ง ระดับการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อ TNM ที่คล้ายคลึงกัน ไม่สามารถแยกลักษณะโดยเฉพาะของแต่ละกลุ่มได้อย่างชัดเจน ส่วนลักษณะอื่นๆกล่าวคือ กลุ่มผู้ป่วยมะเร็งสความัสเซลล์ช่องปากที่มีการแสดงออกของเฮพพาแรนเนสในเนื้อเยื่อมะเร็งมากกว่าเนื้อเยื่อปกติจำนวน 10 ราย แบ่งเป็นผู้ป่วยชาย 8 ราย หญิง 2 ราย อายุเฉลี่ย 56.8 ปี กลุ่มผู้ป่วยมะเร็งสความัสเซลล์ช่องปากที่มีการแสดงออกของเฮพพาแรนเนสในเนื้อเยื่อปกติมากกว่าเนื้อเยื่อมะเร็งจำนวน 8 ราย แบ่งเป็นผู้ป่วยชาย 5 ราย หญิง 3 ราย อายุเฉลี่ย 61ปี การแสดงออกของเฮพพาแรนเนสจากเนื้อเยื่อทั้งสองชนิดของกลุ่มผู้ป่วยทั้ง 2 กลุ่ม ไม่มีความสัมพันธ์กับพฤติกรรมการสูบบุหรี่ และดื่มสุราของผู้ป่วย ($p>0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 8 และผู้ป่วยส่วนใหญ่มีจุดกำเนิดของมะเร็งอยู่ที่ลิ้น (12 ราย)

**ข้อเสนอแนะ**

การทดสอบการแสดงออกของเฮพพาแรนเนสในเนื้อเยื่อปกติและเนื้อเยื่อมะเร็งจากผู้ป่วยคนเดียวกันด้วยการสกัดอาร์เอ็นเอจากเนื้อเยื่อทั้งสองชนิด แล้วนำมาสร้างซีดีเอ็นเอด้วยไพรเมอร์ชนิดโอลิโกดีที จากนั้นจึงสร้างดีเอ็นเอเฮพพาแรนเนสด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรสและปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรสชนิดบอกปริมาณ ถ้าสายของอาร์เอ็นเอที่สกัดได้ไม่สมบูรณ์จะทำให้สายซีดีเอ็นเอผลผลิตสั้น ดังนั้นในการสร้างดีเอ็นเอเฮพพาแรนเนสจากแม่แบบซีดีเอ็นเอ ถ้าออกแบบไพรเมอร์ให้อยู่ใกล้บริเวณปลาย 5' ของซีดีเอ็นเอจะทำให้ไพรเมอร์ไม่สามารถจับซีดีเอ็นเอเป้าหมายได้จึงไม่สามารถสร้างดีเอ็นเอเฮพพาแรนเนสจากแม่แบบซีดีเอ็นเอดังกล่าวได้ การหลีกเลี่ยงปัญหานี้กระทำโดยสร้างซีดีเอ็นเอด้วยไพรเมอร์ชนิดสุ่มซึ่งสามารถสร้างซีดีเอ็นเอจากทุกส่วนของสายอาร์เอ็นเอได้ หรือมิฉะนั้นต้องออกแบบไพรเมอร์เฮพพาแรนเนสให้อยู่ใกล้บริเวณปลาย 3' ของซีดีเอ็นเอ จึงสามารถสร้างดีเอ็นเอผลผลิตเฮพพาแรนเนสจากซีดีเอ็นเอที่ไม่สมบูรณ์ได้ ไพรเมอร์ที่ออกแบบในปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรสชนิดบอกปริมาณควรให้ดีเอ็นเอผลผลิตที่มีจำนวนคู่เบสประมาณ 150-250 คู่เบส ถ้าไพรเมอร์ที่ให้ดีเอ็นเอผลผลิตที่ยาวกว่านี้จะทำให้ประสิทธิภาพของปฏิกิริยาลดลงเนื่องจากการแยกสายดีเอ็นเอผลผลิตเพื่อให้ไพรเมอร์เข้าจับในรอบถัดไปของปฏิกิริยาจะเกิดไม่สมบูรณ์ เนื่องจากในงานวิจัยนี้ไพรเมอร์ชนิดที่ 1 ที่ใช้สร้างดีเอ็นเอเฮพพาแรนเนสในปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรสให้ดีเอ็นเอผลผลิต 648 คู่เบส จึงไม่เหมาะสมที่จะใช้สร้างดีเอ็นเอในปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรสชนิดบอกปริมาณ ดังนั้นจึงออกแบบไพรเมอร์ชนิดที่ 2 ซึ่งให้ดีเอ็นเอผลผลิต 216 คู่เบสเพื่อใช้ในปฏิกิริยาดังกล่าว

ในงานวิจัยนี้สร้างดีเอ็นเอเฮพพาแรนเนสจากปฏิกิริยารีเวอร์สทรานสคริปชัน ปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรสและปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรสชนิดบอกปริมาณจากเนื้อเยื่อปกติและมะเร็ง จึงต้องสกัดอาร์เอ็นเอจากเนื้อเยื่อดังกล่าว เพื่อใช้เป็นแม่แบบสร้างซีดีเอ็นเอและสร้างดีเอ็นเอเฮพพาแรนเนสจากซีดีเอ็นเอตามลำดับ นอกจากวิธีดังกล่าวแล้วสามารถใช้วิธี *อินซิตู* ไฮบริไดเซชัน ซึ่งเป็นวิธีที่มีความไวมีความแม่นยำแต่มีค่าใช่จ่ายสูง เพื่อใช้ในการศึกษาการแสดงออกของเฮพพาแรนเนสในเนื้อเยื่อทั้งสองชนิด เป็นการตรวจสอบอาร์เอ็นเอนำรหัสเฮพพาแรนเนสบนเนื้อเยื่อโดยใช้ตัวติดตาม (probe) ซึ่งติดฉลากและมีลำดับเบสคู่สมกับอาร์เอ็นเอนำรหัสที่ต้องการศึกษา จึงสามารถใช้ตรวจสอบการแสดงออกของเฮพพาแรนเนสในเนื้อเยื่อปกติและมะเร็งได้เช่นเดียวกับงานวิจัยนี้ และสามารถใช้วิธีดังกล่าวยืนยันผลการศึกษาในงานวิจัยนี้ได้

การศึกษาโครโมโซมที่พบว่ามีความผิดปกติในมะเร็งสความัสเซลล์ช่องปาก ได้แก่ โครโมโซม 4q ซึ่งมียีนเฮพพาแรนเนส (Nagpal และ Das, 2003; Vlodavsky และคณะ, 1999) การศึกษายีน *H-ras* ซึ่งเป็นยีนที่พบว่ามีความผิดปกติในมะเร็งสความัสเซลล์ช่องปาก (Nagpal และ Das, 2003) เนื่องจากเมื่อนำยีนมะเร็ง *H-ras* เข้าไปในเซลล์ไลน์ไฟโบรบลาสต์ของหนูพบว่ามีการแสดงออกของเฮพพาแรนเนสในระดับสูงและทำให้เซลล์มีศักยภาพการแพร่กระจายสูง (Schwarz และคณะ, 1990) จึงมี

ความเป็นไปได้ว่ายีนมะเร็ง *H-ras* เกี่ยวข้องกับการแสดงออกของเฮพพาแรนเนสในมะเร็งสความัสเซลล์ช่องปาก ดังนั้นถ้ามีความผิดปกติเกิดขึ้นกับโครโมโซมหรือยีนดังกล่าว ก็จะส่งผลถึงการแสดงออกที่ผิดปกติของเฮพพาแรนเนสด้วยการตรวจความผิดปกติของยีนหรือโครโมโซมในโรคมะเร็งสความัสเซลล์ช่องปากตามที่กล่าวมาข้างต้นจะเป็นข้อมูลที่สำคัญที่จะนำไปสู่การศึกษาวิจัย เพื่อพัฒนาการตรวจวินิจฉัยและการรักษาโรคมะเร็ง แต่เนื่องจากการเกิดและการพัฒนาของโรคมะเร็งเป็นขบวนการที่ซับซ้อนในระดับโมเลกุลที่มีการเปลี่ยนแปลงการทำงานของยีนหลายๆ ยีนพร้อมกัน การศึกษาการทำงานของยีนใดยีนหนึ่งจึงไม่เพียงพอ แนวทางการศึกษามะเร็งในปัจจุบันอาศัยความรู้พื้นฐานของจีโนมมนุษย์ ได้แก่ การตรวจโครโมโซมเพื่อหาส่วนของโครโมโซมที่สูญเสียเฮทเทอร์โรไซโกท การตรวจหาการเพิ่มหรือขาดของโครโมโซมโดยเทคนิคคอมพาเรทีฟจีโนมไฮบริไดเซชัน (comparative genome hybridization) และที่กล่าวถึงกันมากคือการตรวจแบบไมโครอะเรย์ (microarray) ซึ่งสามารถตรวจดีเอ็นเอ อาร์เอ็นเอ จำนวนหลายชนิดในระดับเซลล์ในเวลาเดียวกัน ซึ่งจะเป็นประโยชน์อย่างมากในการเปรียบเทียบการแสดงออกของยีนในเนื้อเยื่อแต่ละชนิดเช่นเนื้อเยื่อปกติและเนื้อเยื่อมะเร็ง การศึกษาด้วยวิธีดังกล่าวจะทำให้ได้ข้อมูลพื้นฐานในการทำงานของยีนที่สัมพันธ์กันเป็นร่างแหโดยเฉพาะอย่างยิ่งในเซลล์มะเร็ง (สุรางค์ นุชประยูร และคณะ, 2546)

กลไกการรุกรานและแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งผ่านทะลุสารนอกเซลล์และเบสเมนท์เมมเบรน จำเป็นต้องทำลายองค์ประกอบของสารนอกเซลล์และเบสเมนท์เมมเบรน ซึ่งประกอบด้วยชีวโมเลกุลหลายๆ ชนิดด้วยเอนไซม์ที่จำเพาะกับสารชีวโมเลกุลดังกล่าว ร่วมกับการเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งเพื่อผลักดันให้มีการเคลื่อนที่ ดังนั้นนอกจากเฮพพาแรนเนสยังมีเอนไซม์อีกหลายชนิดที่ทำงานร่วมกันทำให้เกิดการแพร่กระจายของมะเร็งอย่างสมบูรณ์ ได้แก่ เซรีนโปรติเนส แมทริกซ์เมทัลโลโปรติเนส เป็นต้น (Liotta และคณะ, 1991) การวิเคราะห์การแสดงออกของอาร์เอ็นเอนำรหัสของเอนไซม์ดังกล่าวควบคู่ไปกับเฮพพาแรนเนสเป็นสิ่งที่น่าสนใจอย่างยิ่ง

ในงานวิจัยมะเร็งนอกจากการศึกษาในระดับการแสดงออกของสารพันธุกรรมแล้ว การวิเคราะห์โปรตีนก็เป็นสิ่งสำคัญ เนื่องจากการแปรข้อมูลจากรหัสพันธุกรรมในอาร์เอ็นเอมาเป็นโปรตีนส่วนใหญ่จะเป็นโปรตีนที่ยังไม่สามารถทำงานได้ โปรตีนส่วนใหญ่ต้องมีการการดัดแปลงโมเลกุลจึงสามารถทำงานได้ Vlodavsky และคณะ (1999) กล่าวถึงโมเลกุลของเฮพพาแรนเนสถูกสร้างในรูปพรี-โพรเอนไซม์ โปรตีนเฮพพาแรนเนสที่สามารถทำงานได้จะถูกย่อยบางส่วนออก และโปรตีนเฮพพาแรนเนสที่สมบูรณ์จะอยู่ในลักษณะ 2 ส่วนที่ต่างกันต่อด้วยพันธะที่ไม่ใช่โควาเลนท์ การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวจะต้องมีกลไกควบคุมในระดับโปรตีน ดังนั้นการตรวจสอบโปรตีนเฮพพาแรนเนสและกิจกรรมจำเพาะจากเนื้อเยื่อมะเร็งเปรียบเทียบกับเนื้อเยื่อปกติ จะใช้ยืนยันผลการศึกษาการแสดงออกของอาร์เอ็นเอนำรหัสได้อย่างสมบูรณ์ขึ้น

การเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อปกติและมะเร็งเพื่อนำมาศึกษาการแสดงออกของยีนที่สนใจนั้น จำเป็นที่จะต้องเก็บเนื้อเยื่อจากจำนวนผู้ป่วยที่มากพอ เนื่องจากต้องใช้สถิติเพื่อการวิเคราะห์และตัดสินใจว่ายีนที่สนใจนั้นมีการแสดงออกต่างจากปกติจริงหรือไม่ ในการศึกษานี้เก็บเนื้อเยื่อจากผู้ป่วยจำนวน 18 ราย ซึ่งเป็นจำนวนค่อนข้างน้อยเนื่องมีเวลาที่จำกัด ดังนั้นการศึกษาด้วยจำนวนตัวอย่างที่มากกว่านี้อาจจะเปลี่ยนแปลงผลสรุปในทางสถิติ และจะมีผลในการศึกษาการแสดงออกของเฮพพาแรนเนสในมะเร็งสความัสเซลล์ช่องปากต่อไปในอนาคต

การติดตามศึกษาผู้ป่วยที่มีการแสดงออกเฮพพาแรนเนสจากเนื้อเยื่อมะเร็งในระดับสูง และผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของเฮพพาแรนเนสจากเนื้อเยื่อมะเร็งในระดับต่ำ โดยเปรียบเทียบระยะและระดับของมะเร็งเหมือนกันจะทำให้ทราบถึงข้อมูลอีกหลายๆอย่าง เช่น การอยู่รอดหลังผ่าตัด ระยะเวลาปลอดโรคมะเร็ง และความรุนแรงในการกลับมาเป็นมะเร็งอีกครั้ง ซึ่งข้อมูลเหล่านี้จะเป็นประโยชน์ในการรักษาโรคมะเร็งสความัสเซลล์ช่องปากต่อไป

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย