



บรรณาธิการ

ธีระวุฒิ คุหะเปรมะ

ผู้ช่วยบรรณาธิการ

เจริญญา งามขำ

สุนันทา จริญญาเลิศศักดิ์

เพ็ญศรี แซ่หลี่

อรพินท์ ก่องตระกูลชน

ศุสิทธิ์ แสงกระจ่าง

คณะบรรณาธิการ

กิตติศักดิ์ เทพสุวรรณ

ถวิล กลิ่นวิมล

ประเสริฐ เลิศสงวนสินชัย

วนิดา ไชควาณิชย์พงษ์

วีระวุฒิ อิ่มสำราญ

วสันต์ ถิ่นะสมิต

สมชาย ธนะสิทธิ์ชัย

สุวัฒน์ จริญญาเลิศศักดิ์

อารีย์ ประสิทธิ์พิพงค์

กวิญ ลีละวัฒน์

ธนเดช สินธุเสก

ปัญญรัตน์ ลาภวงศ์วัฒนา

วัชรพงศ์ พุทธิสวัสดิ์

วิจิต อาภรณ์วิรัตน์

สมเกียรติ ลลิตวงศา

สุดสวาท เลหาวิณีจ

อนงค์ เทพสุวรรณ

อรรชร เอี่ยมอารีรัตน์

दनัย ทิวาเวช

ธนู ลอบันดิศ

เพชรินทร์ ศรีวัฒนกุล

วิสิทธิ์ สุภครพงษ์กุล

วุฒิ สุเมธโชติเมธา

สมจินต์ จินดาวิจักษณ์

สุพล มโนรมณ์

อนันต์ กรลักษณ์

อรรณสิทธิ์ ศรีสุบัติ

ผู้จัดการ

อาคม ชัยวีระวัฒน์

ผู้ช่วยผู้จัดการ

พรนภา จันทรวีระกุล

เสาวคนธ์ ศุกรโยธิน

มลินี สนธิไชย

ปาริชาติ ศรีสมัย

วารินทร์ ศักดิ์สมบุญ



วารสารโรคมะเร็ง
THAI CANCER JOURNAL



ISSN 0125-2038

The National Cancer Institute Foundation

Editor-in-Chief

Thiravud Khuaprema

Assistant Editors

Jarunya Ngamkham

Pensri Saelee

Suleeporn Sangrajrang

Sunanta Chariyalertsak

Orapin Kongtragulchone

Editorial Board

Kitisak Thepsuwan

Kawin Leelawat

Danai Tiwawech

Tawin Klinvimol

Tanadej Sinthusake

Dhanoo Lawbundis

Prasert Lertsanguansinchai

Punyarat Lapvongwatana

Petcharin Srivatanakul

Vanida Chokvanichpong

Vajarabhongsa Bhuddisawasdi

Wisit Supakarapongkul

Weerawut Imsamran

Vichit Arpornwirat

Wutthi Sumetchotimaytha

Vasant Linasmita

Somkiat Lalitwongsa

Somjin Chindavijak

Somchai Thanasitthichai

Sudsawat Laohavinij

Suphon Manoromana

Suwat Chariyalertsak

Anong Tepsuwan

Anant Karalak

Aree Prasitthipayong

Orachorn Aimarreerat

Attasit Srisubat

Managing Editor

Arkom Chaiwerawattana

Assistant Managers

Pornnapa Jantaraweragul

Malinee Sontichai

Wareeporn Saksomboon

Saowakon Sukarayodhin

Parichat Srisamai

KOSIT PRESS COMPANY LIMITED

373 Charansanitwong Rd., Bang-ow, Bangplad, Bangkok 10700 Tel. 0-2424-8715, 0-2433-3011



- วัตถุประสงค์** เพื่อเผยแพร่ความรู้ทางวิชาการ ผลงานวิจัยเกี่ยวกับโรคมะเร็ง และอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง
- สำนักงาน** สำนักงานวารสารโรคมะเร็ง กลุ่มงานสนับสนุนวิชาการ สถาบันมะเร็งแห่งชาติ
268/1 ถนนพระราม 6 เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400
โทร. 0-2354-7025 ต่อ 2206
โทรสาร 0-2644-9097
- เว็บไซต์เผยแพร่** www.nci.go.th, www.kmnci.com/km/,
<http://thailand.digitaljournals.org/index.php/TCJ>
- กำหนดการตีพิมพ์** กำหนดออกทุก 3 เดือน ปีละ 4 ฉบับ (มกราคม-มีนาคม,
เมษายน-มิถุนายน, กรกฎาคม-กันยายน, ตุลาคม-ธันวาคม)
- การส่งต้นฉบับ** บรรณาธิการวารสารโรคมะเร็ง
สถาบันมะเร็งแห่งชาติ 268/1 ถนนพระราม 6 เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400
โทร. 0-2354-7025 ต่อ 2206
โทรสาร 0-2644-9097
E - mail : thaicancerj@gmail.com
- การบอกรับเป็นสมาชิก**
- ห่วงสมุดและหน่วยงานราชการแจ้งความจำนงได้ที่สำนักงานวารสารโรคมะเร็งโดยไม่เสียค่าใช้จ่าย
 - หน่วยงานเอกชน อัตราค่าสมาชิก 200 บาท ต่อปี (4 ฉบับ) รวมค่าจัดส่งและโอนเงินผ่านบัญชีออมทรัพย์ ธนาคารไทยพาณิชย์ จำกัด (มหาชน) สาขารามาริบดี เลขที่บัญชี 026-2-27518-2
ชื่อบัญชี มูลนิธิสถาบันมะเร็งแห่งชาติ



สาขานฤ Content

ปีที่ 33 ฉบับที่ 2

เมษายน-มิถุนายน 2556

	หน้า
บทบรรณาธิการ	39
นิพนธ์ต้นฉบับ (Original Articles)	
การศึกษาผลของโปรแกรมการดูแลช่องปากด้วยตนเองร่วมกับการอมกลั้วปากด้วย น้ำมันมะพร้าว ต่ออาการเยื่อช่องปากอักเสบในผู้ป่วยมะเร็งที่ได้รับการยาเคมีบำบัด: การศึกษานำร่อง <i>เอมอร สุวรรณพิวัฒน์, วงจันทร์ เพชรพิเชฐเชียร, โชมพัทธ์ มณีวัต</i>	41
การตรวจหาเชื้อไวรัสฮิวแมนแพพพิโลมากับปัจจัยทางพยาธิคลินิกในผู้ป่วย มะเร็งช่องปากและของคอ <i>กฤติกา บุญมาก, จริญญา งามขำ, เทียนแสง พันธุ์ศรี, เอกภพ แสงอริยวิเศษ, สุคนธ์ สุขวิรัช, สมจินต์ จินดาวิจักษณ์</i>	53
เซลล์ต้นกำเนิดจากน้ำคร่ำยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งตับในหลอดทดลอง <i>ทัศนีย์ เพิ่มไทย, ศุภรัตน์ วิจิตรเวียงรัตน์, ศศิประภา ทองบพิตร, อธิเศก เรืองประชา</i>	62
บทพินิจวิชาการ (Review Articles)	
Hyperthermia for Cancer Treatment: Review of Basic Principles and Applications <i>Orapin Kongtragulchone, Arkom Chaiwerawattana, Somchai Thanasitthichai, Somsiri Udompaisarn</i>	70
คำแนะนำการส่งต้นฉบับ	79
หนังสือแจ้งความจำนงลงโฆษณาในวารสารฯ	81
ใบสมัครสมาชิก/ใบต่ออายุสมาชิกวารสารฯ	82

บทบรรณาธิการ

ยีนร้ายที่ทำให้เสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งเต้านมและรังไข่

เมื่อเดือนพฤษภาคมที่ผ่านมา มีข่าวครึกโครมที่ทำให้ผู้หญิงทั่วโลกตกตะลึงกับการตัดสินใจตัดเต้านมออกทั้งสองข้างของ แองเจลินา โจลี ดาราสาวชื่อดังแห่งวงการฮอลลีวูด ในวัยเพียง 37 ปี เพื่อลดความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งเต้านมอันเป็นผลมาจากการที่เธอมียีนผิดปกติที่เรียกว่า BRCA1 ซึ่งได้รับการถ่ายทอดมาจากมารดา เนื่องจากมารดาของโจลีเสียชีวิตจากมะเร็งรังไข่ด้วยวัยเพียง 56 ปี หลังจากต่อสู้กับโรคมะเร็งนาน 10 ปี

ยีน BRCA1 และ BRCA2 ปกติเป็นยีนต้านมะเร็ง (tumour suppressors) ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการซ่อมแซมดีเอ็นเอที่เสื่อมสภาพ¹⁻⁴ จากการศึกษาพบว่าการกลายพันธุ์ (germline mutation) ที่เกิดขึ้นในยีนทั้งสองชนิดดังกล่าวมีความสัมพันธ์กับการเกิดมะเร็งเต้านม/รังไข่ เมื่อยีนใดในยีนสองชนิดนี้กลายพันธุ์จะทำให้บุคคลนั้นมีโอกาสเกิดมะเร็งเต้านมได้สูงถึงร้อยละ 40-87 หรือมีโอกาสเกิดมะเร็งรังไข่ร้อยละ 16-60 ภายในอายุ 70 ปี⁵⁻⁷

เนื่องจากยีน BRCA1 และ BRCA2 มีขนาดใหญ่ประมาณ 70 kb⁸ และพบการกลายพันธุ์ของยีนดังกล่าวตรงตำแหน่งต่างๆ ทั่วไปตลอด

ตามความยาวของยีนโดยความถี่ที่พบแตกต่างกันตามเชื้อชาติ⁹⁻¹¹ การตรวจหาการกลายพันธุ์ของยีนทั้งสองชนิดนี้จึงมีค่าใช้จ่ายสูงอีกทั้งข้อมูลจากอเมริกาและยุโรปพบเพียงร้อยละ 5-10 ของสตรีที่เป็นมะเร็งเต้านมทั้งหมด แต่จะพบได้สูงในคนที่มีประวัติคนในครอบครัวโดยเฉพาะญาติสายตรงเป็นมะเร็งเต้านมหรือรังไข่ โดยพบได้สูงถึงร้อยละ 45¹² สำหรับในประเทศไทยมีรายงานน้อยมากที่ศึกษาเกี่ยวกับเรื่องนี้ ซึ่งพบการกลายพันธุ์ของยีน BRCA1/2 เพียงร้อยละ 4.6 ของสตรีที่มีประวัติคนในครอบครัวเป็นมะเร็งเต้านม¹³ อย่างไรก็ตามความถี่ดังกล่าวเป็นข้อมูลที่ได้จากการศึกษาใน 12 ครอบครัวเท่านั้น¹⁴ ดังนั้นการปรึกษาแพทย์เฉพาะทางจึงเป็นสิ่งจำเป็นก่อนที่จะตัดสินใจตรวจหาการกลายพันธุ์ของยีน BRCA1 และ BRCA2 เพื่อให้ได้ข้อมูลที่ถูกต้องและเป็นประโยชน์สูงสุดกับตนเอง

เอกสารอ้างอิง

1. Wooster R, Bignell G, Lancaster J, Swift S, Seal S, Mangion J, Collins N, et al. Identification of the breast cancer susceptibility gene BRCA2. Nature 1995; 378:789-92.

2. Tavtigian SV, Simard J, Rommens J, Couch F, Shattuck-Eidens D, Neuhausen S, et al. The complete BRCA2 gene and mutation in chromosome 13q-linked kindreds. *Nature* 1996;12:333-7.
3. Scully R, Livingston DM. In search of the tumour-suppressor functions of BRCA1 and BRCA2. *Nature* 2000;408:429-32.
4. Zheng L, Li S, Boyer TG, Lee WH. Lessons learned from BRCA1 and BRCA2. *Oncogene* 2000;19:6159-75.
5. Ford D, Easton DF, Bishop DT, Narod SA, Goldgar DE. Risks of cancer in BRCA1-mutation carriers. Breast Cancer Linkage Consortium. *Lancet* 1994;343:692-5.
6. Hopper JL, Southley MC, Dite GS, Jolley DJ, Giles GG, McCredie MR, et al. Population-based estimate of the average age-specific cumulative risk of breast cancer for a defined set of protein-truncating mutations in BRCA1 and BRCA2. Australian Breast Cancer Family Study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1999;8:741-7.
7. Struwing JP, Hartage P. The risk of cancer. *N Engl J Med* 1997;336:1401-8.
8. Hall JM, Lee MK, Newman B, Morrow JE, Anderson LA, Huey B, et al. Linkage of early-onset familial breast cancer to chromosome 17q21. *Science* 1990;250:1684-9.
9. Neuhausen SL, Mazoyer S, Friedman L, Stratton M, Offit K, Caligo A, et al. Haplotype and phenotype analysis of six recurrent BRCA1 mutations in 61 families: results of an international study. *Am J Hum Genet* 1996;58:271-80.
10. Gayther SA, Mangion J, Russell P, Seal S, Barfoot R, Ponder BA, et al. Variation of risks of breast and ovarian cancer associated with different germline mutations of the BRCA2 gene. *Nat Genet* 1997;15:103-5.
11. Liede A, Narod SA. Hereditary breast and ovarian cancer in Asia: genetic epidemiology of BRCA1 and BRCA2. *Hum Mutat* 2002;20:413-24.
12. Weber B. Genetic testing for breast cancer. *Sci Med* 1996;3:12-21.
13. Ahmad J, Le Calvez-Kelm F, Daud S, Voegelé C, Vallee M, Ahmad A, et al. Detection of BRCA1/2 mutations in breast cancer patients from Thailand and Pakistan. *Clin Genet* 2012;82:594-8.
14. Patmasiriwat P, Bhothisuwan K, SiniInikova OM, Chopin S, Methakijvaroon S, Badzioch M, et al. Analysis of breast cancer susceptibility genes BRCA1 and BRCA2 in Thai familial and isolated early-onset breast and ovarian cancer. *Hum Mutat* 2002;20:230.

บรรณาธิการ

การศึกษาผลของโปรแกรมการดูแลช่องปากด้วยตนเองร่วมกับการอมกลีวปากด้วยน้ำมันมะพร้าวต่ออาการเยื่อช่องปากอักเสบในผู้ป่วยมะเร็งที่ได้รับยาเคมีบำบัด: การศึกษานำร่อง

เอมอร สุวรรณพิวัฒน์¹

วงจันทร์ เพชรพิเชษฐเขียร²

โชมพัทธ์ มณีวัต²

บทคัดย่อ การศึกษานำร่องนี้เป็นการวิจัยกึ่งทดลอง วัดผลก่อนและหลังการศึกษา มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของโปรแกรมการดูแลช่องปากด้วยตนเองร่วมกับการอมกลีวปากด้วยน้ำมันมะพร้าวต่ออาการเยื่อช่องปากอักเสบในผู้ป่วยมะเร็งที่ได้รับยาเคมีบำบัด กลุ่มตัวอย่างคือผู้ป่วยมะเร็งที่มารับการรักษาด้วยยาเคมีบำบัดที่ศูนย์ให้ยาเคมีบำบัด โรงพยาบาลมหาวิทยาลัยแห่งหนึ่ง จำนวน 20 ราย การเลือกกลุ่มตัวอย่างมีเกณฑ์ที่กำหนดคือผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาด้วยสูตรยาเคมีบำบัดที่มียา 5-FU แบ่งกลุ่มตัวอย่างออกเป็นสองกลุ่มๆละ 10 รายคือกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุม กลุ่มทดลองได้รับการให้ความรู้และการฝึกปฏิบัติเกี่ยวกับการดูแลช่องปากด้วยตนเองร่วมกับการใช้น้ำมันมะพร้าวอมกลีวปากทุกวันในช่วงเช้า โดยเริ่มตั้งแต่วันแรกที่รับยาเคมีบำบัดต่อเนื่องไปจนครบ 4 วัน การอมกลีวปากด้วยน้ำมันพืชจะใช้ประมาณ 15 ซีซี เทใส่ในปาก และเคลื่อนน้ำมันให้ทั่วช่องปาก โดยใช้การดึงดูดและดันน้ำมันที่มีอยู่ในช่องปากให้เคลื่อนที่ใช้เวลาประมาณ 15 นาที และบ้วนน้ำมันทิ้งไป ส่วนกลุ่มควบคุมได้รับการพยาบาลตามปกติจากพยาบาลประจำกรรกลุ่มตัวอย่างได้รับการประเมินสภาพช่องปากก่อนได้รับยาเคมีบำบัด (วันที่ 1) และขณะได้รับยาเคมีบำบัด (วันที่ 2, 3 และ 4) ทุกวัน วันละ 1 ครั้ง เก็บรวบรวมข้อมูลโดยใช้แบบประเมินอาการเยื่อช่องปากอักเสบที่พัฒนามาจาก new scoring system ของชินิสและคณะ ผลการศึกษาพบว่าหลังจากผู้ป่วยได้รับยาเคมีบำบัด กลุ่มทดลองมีระดับความรุนแรงของอาการเยื่อช่องปากอักเสบต่ำกว่ากลุ่มควบคุม และไม่พบผลข้างเคียงใดๆจากการใช้น้ำมันมะพร้าวอมกลีวปาก ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า การอมกลีวปากด้วยน้ำมันมะพร้าวมีแนวโน้มที่ช่วยป้องกันและบรรเทาอาการเยื่อช่องปากอักเสบที่เกิดจากยาเคมีบำบัดได้อย่างมีประสิทธิภาพ (วารสารโรคมะเร็ง 2556;33:41-52.)

คำสำคัญ: ภาวะเยื่อช่องปากอักเสบ, การดูแลช่องปาก, มะเร็ง, ยาเคมีบำบัด, การอมกลีวปากด้วยน้ำมันพืช, น้ำมันมะพร้าว

¹ หอผู้ป่วยที่ใช้เครื่องช่วยหายใจ โรงพยาบาลสงขลานครินทร์

² คณะพยาบาลศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

The Potential Effect of the Oral Self-care Program Combining Coconut Oil Pulling on Mucositis of Patients with Cancer undergoing Chemotherapy: A Pilot Study

by Am-on Suwanpiwat¹, Wongchan Petpichetchian², Khomapak Maneewat²

¹Respiratory Care Unit, Songklanagarind Hospital, ²Faculty of Nursing Prince of Songkla University, Thailand.

Abstract This pilot study utilizing a two-group pre-test and post-test design aimed to examine the potential effect of the oral self-care program combining coconut oil pulling on mucositis of patients with cancer undergoing chemotherapy. The participants consisted of 20 cancer patients undergoing chemotherapy at the Oncology Center of a university hospital. The subjects receiving a 5-FU regimen for treating cancer were sequentially assigned to either a control group or an experimental group, 10 cases in each group. Subjects in the experimental group were educated about oral self-care and were coached to use coconut oil pulling daily in the morning the day after starting chemotherapy and continued for four days. Oil pulling or oil swishing is a procedure, in which the patients rinsed their mouth with approximately 10-15 ml. of ordinary sip, suck and pull the oil for 15 minutes, and then spited it out. The control group received usual care. The patients were examined daily to determine if they had chemotherapy-induced oral mucositis. Oral mucositis was assessed using the new scoring system of Sonis et al. All participants were subjected to an oral examination. The dental and medical history and the general health information were recorded. Our findings demonstrated that the median mucositis score of the experimental group was significantly lower than that of the control group. No adverse effect related to the use of coconut oil pulling was reported. In this pilot study, patients receiving coconut oil pulling significantly reduced the incidence and the severity of mucositis induced by chemotherapy. Coconut oil pulling appears to promote wound healing by affecting the intraoral perfusion. (*Thai Cancer J 2013;33:41-52.*)

Keywords: oral mucositis, oral care, cancer, chemotherapy, oil pulling, coconut oil

บทนำ

โรคมะเร็งเป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญของประชากรเกือบทุกประเทศ เนื่องจากเป็นโรคที่มีอัตราการตายสูงและคุกคามต่อชีวิตของผู้ป่วย จากสถิติผู้ป่วยมะเร็งรายใหม่มีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้น โดยเฉพาะในประเทศที่กำลังพัฒนา ซึ่งคาดการณ์ว่าจะมีจำนวนทั่วโลกเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 56 ในปี ค.ศ. 2008 เป็นมากกว่าร้อยละ 60 ในปี ค.ศ. 2030¹ โรคมะเร็งทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงแก่ผู้ป่วยทั้งทางด้านร่างกาย จิตใจและสังคม มีการกระจายของโรคไปยังอวัยวะและระบบต่าง ๆ ของร่างกาย จึงยากต่อการรักษาให้หายขาดได้โดยการรักษาเพียงวิธีเดียว จึงจำเป็นต้อง

ต้องใช้หลายวิธีร่วมกัน จากข้อมูลของสถาบันมะเร็งแห่งชาติ ปี 2553² พบว่าผู้ป่วยมะเร็งรายใหม่ได้รับการรักษาด้วยการผ่าตัด ร้อยละ 34.5 ยาเคมีบำบัด ร้อยละ 31.6 และรังสีรักษา ร้อยละ 17.7 จะเห็นได้ว่าแพทย์มีการพิจารณาเลือกให้การรักษาผู้ป่วยด้วยยาเคมีบำบัดมากเป็นอันดับ 2 รองจากการผ่าตัด ซึ่งยาเคมีบำบัดเป็นหนึ่งในวิธีการรักษาโรคมะเร็งที่มีประสิทธิภาพ แต่ในขณะเดียวกันก็มีผลข้างเคียงสูง เพราะยาเคมีบำบัดจะไปขัดขวางการแบ่งตัวของทั้งเซลล์มะเร็งและเซลล์ปกติ จึงทำให้เซลล์ปกติถูกทำลายด้วยเช่นกัน โดยเฉพาะเซลล์ที่มีการแบ่งตัวเร็ว

เช่น ไช้กระดุก เซลล์เยื่อบุทางเดินอาหาร รากผม มักได้รับผลกระทบจากยาเคมีบำบัดมากที่สุด^{3,4}

ยาเคมีบำบัดส่งผลต่อเยื่อต่างๆ ในระบบทางเดินอาหาร โดยเฉพาะการเกิดเยื่อช่องปากอักเสบได้ถึงร้อยละ 40⁵ อาการเยื่อช่องปากอักเสบก่อให้เกิดปัญหาในช่องปาก ความไม่สุขสบาย ความทุกข์ทรมาน และนับเป็นสถานการณ์ที่คุกคามต่อชีวิต ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องมีการจัดการกับอาการที่เหมาะสมเพื่อลดผลกระทบที่อาจจะเกิดขึ้น จากการทบทวนวรรณกรรมทางการแพทย์เกี่ยวกับอาการเยื่อช่องปากอักเสบในผู้ป่วยมะเร็งที่ได้รับยาเคมีบำบัด พบว่าผู้ป่วยมีความต้องการที่จะจัดการกับอาการเยื่อช่องปากอักเสบให้เพียงพอ เพื่อลดผลกระทบและภาวะแทรกซ้อนที่ตามมา และผลการศึกษาก็พบว่ามียุทธวิธีต่างๆ ที่สามารถบรรเทาอาการเยื่อช่องปากอักเสบได้ เพียงแต่มีข้อจำกัดในการใช้หรือเหมาะสมกับสถานการณ์ใดสถานการณ์หนึ่ง และยังพบผู้ป่วยที่ไม่สามารถควบคุมอาการเยื่อช่องปากอักเสบหลังได้รับยาเคมีบำบัดได้ ผู้วิจัยจึงสนใจวิธีจัดการที่เน้นให้ผู้ป่วยมีส่วนร่วมในการดูแลตนเอง การคงไว้ซึ่งพฤติกรรมดูแลตนเองที่ถูกต้อง และสามารถจัดการกับอาการได้เฉพาะเจาะจงกับอาการที่เกิดขึ้น

The PRO-SELF Program เป็นโปรแกรมที่พัฒนามาจากทฤษฎีการดูแลตนเองของโอเร็ม (Orem) เน้นการให้ข้อมูล การฝึกทักษะปฏิบัติ การส่งเสริมและสนับสนุน ทำให้ผู้ป่วยมีความสามารถในการดูแลตนเองและจัดการกับอาการข้างเคียง⁶ ซึ่งมีผู้นำโปรแกรมนี้ไปศึกษาวิจัยในผู้ป่วยกลุ่มโรคเรื้อรังอื่นๆ ผลการวิจัยพบว่าโปรแกรมห่วงการมีประสิทธิภาพ

ในการจัดการกับอาการได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งเนตรสุวิณี⁷ ได้ปรับ The PRO-SELF Mouth Aware Program ของลาร์สันและคณะ⁸ ให้เหมาะกับคนไทย โดยจัดทำเป็นโปรแกรมส่งเสริมการดูแลช่องปากด้วยตนเองเพื่อลดอาการเยื่อช่องปากอักเสบในผู้ป่วยมะเร็งที่ได้รับยาเคมีบำบัดแบบผู้ป่วยนอก ผลการวิจัยไม่อาจสรุปได้ว่าการเกิดอาการเยื่อช่องปากอักเสบเกิดขึ้นเมื่อไร (onset) ระยะเวลาในการเกิดอาการเยื่อช่องปากอักเสบนานเท่าไร (duration) และลักษณะในช่องปากของกลุ่มทดลองแตกต่างจากกลุ่มควบคุมหรือไม่ แต่พบว่าสามารถลดระดับความรุนแรงอาการเยื่อช่องปากอักเสบภายหลังได้รับยาเคมีบำบัดได้ ผู้วิจัยเห็นว่าควรมีการขยายขอบเขตการศึกษาของเนตรสุวิณี⁷ ไปยังผู้ป่วยมะเร็งที่ได้รับยาเคมีบำบัดในบริบทอื่น โดยผู้วิจัยออกแบบโปรแกรมการดูแลช่องปากด้วยตนเอง ภายใต้ความเชื่อว่า พยาบาลจะสามารถพัฒนาความสามารถของผู้ป่วย ให้สามารถดูแลตนเองได้ด้วยตัวเอง

โปรแกรมการดูแลช่องปากด้วยตนเอง (The Oral Self - care Program) ประกอบด้วย การสร้างสัมพันธภาพ การให้ความรู้โดยใช้สื่อนำเสนอเรื่องการดูแลตนเองและช่องปากในผู้ป่วยที่ได้รับยาเคมีบำบัด ร่วมกับการชี้แนะวิธีการต่างๆ ในการดูแลตนเองและช่องปาก การฝึกทักษะปฏิบัติโดยเฉพาะการตรวจช่องปากด้วยตนเอง ส่วนการส่งเสริมสนับสนุนผู้วิจัยจัดทำคู่มือที่มีเนื้อหาสอดคล้องกับสื่อนำเสนอให้กับผู้ป่วย เพื่อให้ทบทวนความรู้ และการสร้างแรงจูงใจ โดยให้ผู้ป่วยจดบันทึกการเปลี่ยนแปลงภายในช่องปากหลังได้รับยาเคมีบำบัด ทำให้ผู้ป่วยเห็นการเปลี่ยนแปลงที่เกิดภายใต้การดูแลของตนเองใน

แต่ละช่วงเวลา เกิดการเรียนรู้และทำหายที่จะแก้ไข ปัญหาหรือปรับพฤติกรรมกรรมการดูแลตนเองให้ถูกต้อง เหมาะสมภายใต้ความเชื่อว่าผู้ป่วยจะสามารถพัฒนา ความสามารถในการดูแลตนเอง เพื่อป้องกันและ บรรเทาความรุนแรงของอาการเยื่อช่องปากอักเสบ หลังได้รับยาเคมีบำบัดได้ นอกจากนี้ยังมีการศึกษาใน ต่างประเทศที่พบว่า การอมกลั้วปากด้วยน้ำมันพืช สามารถช่วยขจัดคราบจุลินทรีย์ (plaque) และเชื้อ แบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคในช่องปากได้^{9,10} การอมกลั้วปากด้วยน้ำมันพืช (oil pulling) เป็นการ บำบัดทางเลือกรักษาด้วยวิธีทางธรรมชาติ (naturopathy) โดยการอมและเคลื่อนน้ำมันไปทั่วช่องปากประมาณ 15-20 นาที แล้วบ้วนทิ้งไป น้ำมันจะดึงแบคทีเรียที่ก่อ ให้เกิดโรคหรือสร้างสารพิษออกไปจากช่องปาก จากรายงานการศึกษากการอมกลั้วปากด้วยน้ำมันพืช เช่น น้ำมันจากเมล็ดทานตะวัน (sunflower oil)¹¹ โดย ใช้ น้ำมันประมาณ 10-15 มิลลิลิตร อมกลั้วให้ทั่ว ช่องปากประมาณ 8-10 นาที ปฏิบัติเป็นประจำทุกวัน ก่อนการแปรงฟันในตอนเช้า เป็นเวลา 45 วัน ผลการวิจัยพบว่า คราบจุลินทรีย์ภายในช่องปากลดลง ลดอาการเหงือกอักเสบได้ หรือการศึกษาในห้อง ทดลองที่ทดสอบประสิทธิภาพของการอมกลั้วปาก ด้วยน้ำมันพืชต่อจุลินทรีย์ในช่องปากบนไบโอฟิล์ม (biofilm models)¹² ได้แก่ น้ำมันมะพร้าว น้ำมัน ข้าวโพด น้ำมันปาล์ม น้ำมันจมูกข้าว น้ำมันงา น้ำมัน จากเมล็ดทานตะวัน และน้ำมันถั่วเหลือง ผลการวิจัย พบว่า น้ำมันงาออกฤทธิ์ต้านเชื้อสเตรปโตคอคคัส มิว-แทนส์ น้ำมันจากเมล็ดทานตะวัน ออกฤทธิ์ต้านเชื้อ แคนดิดาแอลบิแคน และน้ำมันมะพร้าว ออกฤทธิ์ ต้านเชื้อแคนดิดาแอลบิแคน และเชื้อสเตรปโตคอคคัส

มิว-แทนส์ ผลการศึกษาดังกล่าวอาจเป็นหลักฐาน ทางวิทยาศาสตร์ที่แสดงให้เห็นว่า การอมกลั้วปาก ด้วยน้ำมันพืชอาจนำมาเป็นยาสามัญประจำบ้านที่ใช้ ในการดูแลสุขภาพและป้องกันฟันผุได้ โดยเฉพาะ อย่างยิ่งในประเทศกำลังพัฒนา ซึ่งประเทศไทยมี แหล่งมะพร้าวที่สามารถตอบสนองของความต้องการ ของคนในประเทศและต่างประเทศได้ ที่สำคัญยังมี กระบวนการผลิตน้ำมันมะพร้าวให้บริสุทธิ์และ คงคุณสมบัติที่ดีไว้อย่างสมบูรณ์¹³

น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ (virgin coconut oil) มีรายงานการนำมาศึกษาในห้องทดลองและสัตว์ทดลอง พบว่ามีฤทธิ์ต้านการอักเสบ ลดปวด และลดไข้¹⁴ ช่วย ลดระยะเวลาในการหายของแผลให้เร็วขึ้น¹⁵ สามารถ ใช้ทดแทนยาปฏิชีวนะในการรักษาสิว¹⁶ นอกจากนี้ยังมีอีกหลายรายงานการวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับคุณสมบัติ ของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ในการดูแลสุขภาพทั้งใน ผู้ที่มีสุขภาพดีและผู้ป่วย เช่น ช่วยเพิ่มระดับไขมันที่ช่วย ลดอัตราการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด¹⁷ ช่วยเสริม ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย¹⁸ ช่วยรักษาปัญหาผิว หนัง ซึ่งเกี่ยวข้องกับความบกพร่องของหน้าที่ในการ ป้องกันผิวหนัง¹⁹ ซึ่งจากการศึกษาและทบทวน วรรณกรรม ผู้วิจัยจึงเลือกใช้น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ อมกลั้วปากในการศึกษานี้ เพราะมีกรดไขมัน ลอริกที่มีสารโมโนลอริกที่สามารถต้านจุลินทรีย์ซึ่งเป็น สาเหตุที่ทำให้เกิดปัญหาในช่องปาก โดยมีผลต่อ หน้าที่การทำงานของเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เกิดการ เปลี่ยนแปลงในการเรียงตัวหรือสลายตัวของเซลล์ จุลินทรีย์จึงอ่อนแอลงและตายในที่สุด²⁰⁻²² มีปริมาณ วิตามินอีบริสุทธิ์สูงที่จะช่วยต่อต้านอนุมูลอิสระ ส่งเสริมการหายของแผลในช่องปาก²³ และยังช่วย

ป้องกันการเกิดภาวะเยื่อช่องปากอักเสบจากการรักษาด้วยยาเคมีบำบัด^{24,25} ด้วยเหตุผลดังกล่าวจึงส่งผลให้การอมกลั้วปากด้วยน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น ขณะนี้ยังไม่มีรายงานการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการอมกลั้วปากด้วยน้ำมันมะพร้าวที่เฉพาะเจาะจงในผู้ป่วยที่ได้รับยาเคมีบำบัด แต่จากการทบทวนวรรณกรรม พบว่าการอุปโภคและบริโภค น้ำมันมะพร้าวมีส่วนช่วยในการดูแลสุขภาพให้ดีขึ้น ผู้วิจัยจึงสนใจนำโปรแกรมการดูแลช่องปากด้วยตนเองร่วมกับการอมกลั้วปากด้วยน้ำมันมะพร้าวมาใช้กับผู้ป่วยมะเร็งที่ได้รับยาเคมีบำบัด ซึ่งจะช่วยสนับสนุนให้ผู้ป่วยมีความสามารถในการจัดการกับอาการเพื่อป้องกันและบรรเทาอาการเยื่อช่องปากอักเสบด้วยตนเอง ทั้งขณะอยู่ในโรงพยาบาลและกลับไปพักฟื้นที่บ้านได้อย่างมีประสิทธิภาพ รวมทั้งเป็นการเพิ่มทางเลือกของวิธีจัดการอาการเยื่อช่องปากอักเสบอีกวิธีหนึ่ง

การอมกลั้วปากด้วยน้ำมันมะพร้าวอาจจะช่วยป้องกันและลดความรุนแรงของอาการเยื่อช่องปากอักเสบได้อย่างมีประสิทธิภาพและปลอดภัย เนื่องจากการอมกลั้วปากเป็นการบำบัดภายนอก ร่างกายร่วมกับคุณสมบัติที่ดีของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ที่กล่าวมาแล้วข้างต้น ที่สำคัญผู้วิจัยได้เลือกใช้ผลิตภัณฑ์ที่จัดเป็นยาเตรียมจากสมุนไพร (herbal preparations) ผ่านการสกัดและทำให้บริสุทธิ์ด้วยวิธีที่ถูกต้องตรงตามมาตรฐาน GMP (Good Manufacturing Practice) ตามคำแนะนำขององค์การอนามัยโลกในเรื่องการใช้บริการการแพทย์ทางเลือกอย่างเหมาะสม หาซื้อได้ง่ายในประเทศ เมื่อนำมาใช้ร่วมกับโปรแกรมการดูแลช่องปากด้วยตนเองจึงถือว่าเป็น

ทางเลือกให้ผู้ป่วยดูแลตนเองได้ดีมากขึ้น ซึ่งนอกจากจะช่วยให้ผู้ป่วยสามารถดูแลตนเองตามคำแนะนำได้อย่างถูกต้องและสม่ำเสมอแล้ว ยังจะช่วยควบคุมอาการแทรกซ้อนในช่องปากไม่ให้รุนแรงขึ้นได้อีกด้วย การศึกษานี้ผู้วิจัยมีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาผลของโปรแกรมการดูแลช่องปากด้วยตนเองร่วมกับการอมกลั้วปากด้วยน้ำมันมะพร้าวต่ออาการเยื่อช่องปากอักเสบในผู้ป่วยมะเร็งที่ได้รับยาเคมีบำบัด โดยการเปรียบเทียบระดับความรุนแรงของอาการเยื่อช่องปากอักเสบหลังได้รับยาเคมีบำบัดระหว่างกลุ่มที่ได้รับโปรแกรมการดูแลช่องปากด้วยตนเองร่วมกับการอมกลั้วปากด้วยน้ำมันมะพร้าว และกลุ่มที่ได้รับการพยาบาลตามปกติ เพื่อให้เห็นแนวโน้มของการทดลอง และนำผลการศึกษามาพัฒนาแนวทางการทำวิจัยที่สมบูรณ์ต่อไป

วัสดุและวิธีการ

กลุ่มตัวอย่าง

การศึกษานี้เป็นการวิจัยกึ่งทดลองแบบสองกลุ่ม คือ กลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุม โดยมีกรเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของเยื่อช่องปาก และวัดระดับอาการเยื่อช่องปากอักเสบก่อนและหลังการทดลอง (pretest-posttest, non-equivalent control group design) เก็บข้อมูลที่หอผู้ป่วยในแผนกศัลยกรรม และศูนย์ให้ยาเคมีบำบัด ณ โรงพยาบาลมหาวิทยาลัยแห่งหนึ่งในภาคใต้ ระหว่างเดือนกันยายนถึงเดือนตุลาคม พ.ศ. 2555 ผู้วิจัยคัดเลือกกลุ่มตัวอย่างแบบเจาะจง (purposive sampling) โดยมีคุณสมบัติเป็นผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคมะเร็งและได้รับการรักษาด้วยยาเคมีบำบัดกลุ่ม

fluoropyrimidine คือ 5-FU จำนวน 20 ราย โดยไม่จำกัดสภาพช่องปาก หรือจำนวนรอบการได้รับยาเคมีบำบัด

เครื่องมือที่ใช้ในการศึกษา

การศึกษานี้ใช้เครื่องมือในการเก็บข้อมูลและทดลอง ได้แก่

1. เครื่องมือในการเก็บรวบรวมข้อมูล มี 2 ส่วน คือ แบบบันทึกข้อมูลส่วนบุคคล และแบบประเมินอาการเยื่อช่องปากอักเสบพัฒนามาจาก new scoring system ของไซนิสและคณะ²⁶ ซึ่งผู้สร้างเครื่องมือดัดแปลงมาจาก WHO index และ National Cancer Institute system เพื่อใช้สังเกตอาการเยื่อช่องปากอักเสบ เนตรสุวีณ⁷ ได้นำมาแปลและดัดแปลงแบบประเมินอาการเยื่อช่องปากอักเสบมาใช้กับคนไทย โดยประเมินขนาดของแผล จำนวนแผลในช่องปาก และความรุนแรงของอาการรวมแดง แล้วนำมาคำนวณเป็นค่าดัชนีความรุนแรงของอาการเยื่อช่องปากอักเสบ ซึ่งคำนวณจาก 9 ตำแหน่งในช่องปากโดยใช้สูตรค่าคะแนน 0-5 (0 คือ ไม่มีอาการ ถึง 5 คือมีอาการเยื่อช่องปากอักเสบมากที่สุด) มีคุณภาพด้านความตรงและความเที่ยงดี ในการศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยตรวจสอบความเที่ยงกับผู้ช่วยวิจัย (inter-rater) โดยสร้างเครื่องมือช่วยประเมินสภาพช่องปากผู้ป่วยที่ใช้ในการรายงานตำแหน่งของแผลที่เกิดขึ้นโดยอ้างอิงตามเข็มนาฬิกา ผู้วิจัยนำแบบประเมินอาการเยื่อช่องปากอักเสบและเครื่องมือช่วยประเมินสภาพช่องปากไปทดลองใช้กับผู้ป่วยมะเร็งที่อยู่ระหว่างรับยาเคมีบำบัด จำนวน 10 ราย พบว่าสอดคล้องถูกต้องทุกราย

2. เครื่องมือในการทดลองเป็นโปรแกรมการดูแลช่องปากด้วยตนเองที่ผู้วิจัยปรับมาจาก The PRO-SELF Mouth Aware Program ของลาร์สันและคณะ⁸ ประกอบด้วย การสร้างสัมพันธภาพ การให้ความรู้โดยใช้สื่อนำเสนอ เรื่องการดูแลตนเองและช่องปากในผู้ป่วยที่ได้รับยาเคมีบำบัด ซึ่งมีเนื้อหาแบ่งเป็น 3 ตอน คือ ตอนที่ 1 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับยาเคมีบำบัด ตอนที่ 2 การปฏิบัติตนเพื่อลดอาการข้างเคียงขณะได้รับยาเคมีบำบัด และตอนที่ 3 การปฏิบัติตนเพื่อป้องกันและบรรเทาอาการเยื่อช่องปากอักเสบ จากการได้รับยาเคมีบำบัดรวมกับการชี้แนะวิธีการต่างๆในการดูแลตนเอง การฝึกทักษะปฏิบัติโดยเฉพาะการตรวจช่องปากด้วยตนเองส่วนการส่งเสริมสนับสนุน ผู้วิจัยจัดทำคู่มือที่มีเนื้อหาสอดคล้องกับสื่อนำเสนอเพื่อใช้ทบทวนความรู้และการสร้างแรงจูงใจโดยให้ผู้ป่วยจดบันทึกการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นภายในช่องปาก ทำให้ผู้ป่วยเห็นการเปลี่ยนแปลงที่เกิดภายใต้การดูแลของตนเองในแต่ละช่วงเวลา เกิดการเรียนรู้และท้าทายที่จะแก้ไขปัญหาหรือปรับพฤติกรรมกรดูแลตนเองให้ถูกต้องเหมาะสม ระยะเวลาในการดำเนินการตั้งแต่ผู้ป่วยมารับการให้ยาเคมีบำบัดในวันแรก ประมาณ 30-45 นาที และวิธีการอมกลั้วปากด้วยน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ โดยกำหนดให้ผู้ป่วยกลุ่มทดลองซึ่งได้รับการสอนตามแผนการใช้โปรแกรมการดูแลช่องปากด้วยตนเองร่วมกับการอมกลั้วปากด้วยน้ำมันมะพร้าววันละ 1 ครั้งในตอนเช้าเมื่อตื่นนอน ช่วงท้องว่างก่อนรับประทานอาหาร ให้ใช้น้ำมันประมาณ 15 มิลลิลิตร เทใส่ปากแล้วกลั้วปากโดยให้น้ำมันเคลื่อนที่ไปมาอยู่ในปากเบาๆ การใส่น้ำมันเข้าปากใช้วิธีค่อยๆ จิบเข้าปาก

ดูด และดึงน้ำมันให้ผ่านฟันไปมาให้ทั่วใช้เวลา 10-15 นาที จะรู้สึกว่าน้ำมันนั้นเบาบางลง ไม่เหนียว ลักษณะคล้ายน้ำ สีขาว แต่ถ้าน้ำมันมะพร้าวยังใสอยู่เหมือนเดิม แสดงว่าใส่น้ำมันมากไปหรือยังใช้เวลาไม่นานพอ ขั้นตอนไปให้บ้วนน้ำมันที่อมอยู่ที่ช่องปากและแปรงฟันเป็นขั้นตอนสุดท้าย ในระหว่างวันให้ใช้ไม้พันสำลี (cotton bud) จุ่มน้ำมันมะพร้าวแล้วนำมาทาริมฝีปากให้ทั่ว นวดเบาๆ เพื่อให้มันซึมและเคลือบไปทั่วริมฝีปาก (สามารถทำได้โดยไม่จำกัด จำนวนครั้ง) โดยเริ่มใช้วันแรกทีรอให้ยาเคมีบำบัดต่อเนื่องไปจนครบ 4 วัน ผู้วิจัยได้จัดทำสื่อนำเสนอเรื่องการอมกลั้วปากด้วยน้ำมันมะพร้าวและแผนพับให้กับกลุ่มทดลองทุกราย ส่วนกลุ่มควบคุมจะได้รับ การพยาบาลจากพยาบาลประจำศูนย์ให้ยาเคมีบำบัด พยาบาลให้ยาเคมีบำบัด (oncological nurse) และ/หรือพยาบาลประจำการหอผู้ป่วย

การพิทักษ์สิทธิกลุ่มตัวอย่าง

การวิจัยครั้งนี้ได้รับการอนุมัติจากคณะกรรมการวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ และทำหนังสือขออนุญาตทำวิจัยและเก็บข้อมูลจากผู้อำนวยการโรงพยาบาลมหาวิทยาลัยที่ทำการศึกษา โดยได้ผ่านการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในคน รหัส EC 56-059-19-6-3 จากคณะกรรมการอนุกรรมการจริยธรรมด้านวิจัยเกี่ยวกับบริบาลผู้ป่วย สิ่งส่งตรวจและสังคมศาสตร์ของคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ผู้วิจัยดำเนินการตามแผนการเก็บข้อมูลและแผนการทดลอง โดยการคำนึงถึงการพิทักษ์สิทธิกลุ่มตัวอย่างในด้านการเคารพ เอกสิทธิ์ (ปราศจากการบังคับและสามารถถอนตัว

จากการวิจัยได้ตลอดเวลา) และการรักษาความลับอย่างเคร่งครัด โดยให้กลุ่มตัวอย่างลงนามเข้าร่วมการศึกษา ภายหลังได้รับข้อมูลต่าง ๆ อย่างครบถ้วน (informed consent)

การเก็บรวบรวมข้อมูล

ผู้วิจัยรวบรวมรายชื่อผู้ป่วยมะเร็งที่ได้ รับการรักษาด้วยยาเคมีบำบัดแล้วแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่ให้การพยาบาลตามปกติ (กลุ่มควบคุม) จำนวน 10 ราย และกลุ่มที่ให้โปรแกรมการดูแลช่องปากด้วยตนเองร่วมกับการอมกลั้วปากด้วยน้ำมันมะพร้าว (กลุ่มทดลอง) จำนวน 10 ราย ผู้วิจัยได้ขอความร่วมมือในการเก็บข้อมูลพร้อมทั้งชี้แจงวัตถุประสงค์ของการวิจัยอธิบายขั้นตอนการเก็บข้อมูลกับกลุ่มตัวอย่างและเก็บข้อมูลทั่วไป ข้อมูลทางคลินิกของกลุ่มตัวอย่างลงในแบบบันทึกข้อมูลส่วนบุคคล สำหรับกลุ่มทดลองได้รับการสอนตามแผนการใช้โปรแกรมการดูแลช่องปากด้วยตนเองร่วมกับการใช้น้ำมันมะพร้าวอมกลั้วปากโดยจะได้รับน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์สำหรับใช้อมกลั้วปาก จำนวน 75 มิลลิลิตร/ 1 ราย ใช้ครั้งละ 15 มิลลิลิตร ทำการอมกลั้วปากในช่วงเช้าก่อนแปรงฟันเป็นเวลา 10-15 นาที วันละ 1 ครั้ง ในระหว่างวันให้ใช้ ไม้พันสำลี (cotton bud) จุ่มน้ำมันมะพร้าวแล้วนำมาทาริมฝีปากให้ทั่ว นวดเบาๆ เพื่อให้มันซึมและเคลือบไปทั่วริมฝีปาก (สามารถทำได้โดยไม่จำกัดจำนวนครั้ง) โดยเริ่มใช้ตั้งแต่วันแรกทีรอให้ยาเคมีบำบัดต่อเนื่องไปจนครบ 4 วัน ส่วนกลุ่มควบคุมจะได้รับการพยาบาลจากพยาบาลประจำศูนย์ให้ยาเคมีบำบัดพยาบาลให้ยาเคมีบำบัด (oncological nurse) และ/หรือพยาบาล

ประจำการห่อผู้ป่วย ผู้ป่วยทุกรายได้รับการประเมินสภาพช่องปากในวันแรกคือก่อนเริ่มให้ยาเคมีบำบัด และในวันที่ 2, 3 และ 4 หลังได้รับ ยาเคมีบำบัด วันละ 1 ครั้ง ช่วงเวลาก่อนรับประทานอาหารกลางวัน โดยใช้แบบประเมินอาการเยื่อช่องปากอักเสบของ ไชนิสและคณะ²⁶ ในมิติของอาการบวมแดงและการเกิดแผลประกอบด้วยการประเมินขนาดของแผล และการประเมินความรุนแรงของอาการบวมแดงในช่องปาก 9 ตำแหน่ง คือบริเวณริมฝีปากด้านบน ริมฝีปากด้านล่าง กระพุ้งแก้มข้างซ้าย กระพุ้งแก้มข้างขวา ด้านบน ด้านล่าง และขอบลิ้น ขอบลิ้นข้างซ้าย และลิ้นข้างขวา พื้นปาก เพดานอ่อน และเพดานแข็ง

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ผู้วิจัยวิเคราะห์ข้อมูลที่ได้โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป ตัวแปรต่อเนื่องที่กระจายตัวไม่ปกติ (continuous variables abnormal distribution) แสดงค่า median, percentile range (inter quartile range; IQR) และวิเคราะห์เปรียบเทียบค่าคะแนนมัธยฐานระดับความรุนแรงของอาการเยื่อช่องปากอักเสบหลังได้รับยาเคมีบำบัด ระหว่างกลุ่มที่ได้รับโปรแกรมการดูแลช่องปากด้วยตนเองร่วมกับการอมกัลวีปากด้วยน้ำมันมะพร้าวกับกลุ่มที่ได้รับการพยาบาลตามปกติ โดยใช้สถิติ Mann-Whitney U test การศึกษานี้กำหนดระดับความมีนัยสำคัญที่ 0.05

ผลการศึกษา

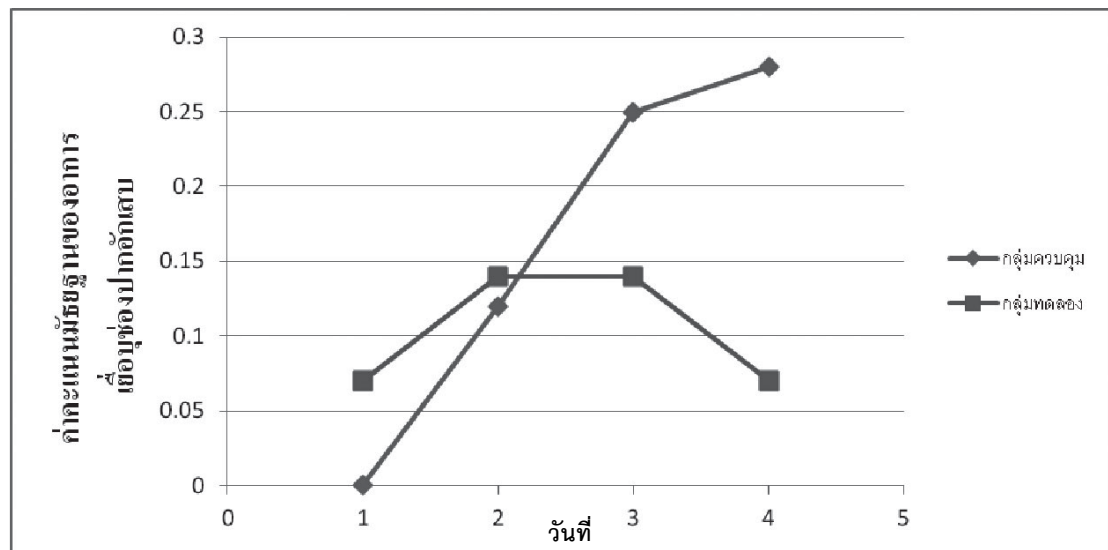
จากการศึกษานี้พบว่ากลุ่มตัวอย่างมีจำนวนเพศหญิงมากกว่าเพศชายค่ามัธยฐานอายุ 57 ปี

ส่วนมากมีสถานภาพสมรสคู่ และไม่ได้เรียนหนังสือ กลุ่มตัวอย่างมีตำแหน่งของโรคบริเวณลำไส้ใหญ่และทวารหนักมากที่สุด และมีระยะความรุนแรงของโรคระดับ 4 (มีการกระจายไปยังอวัยวะอื่น) ซึ่งกลุ่มผู้ป่วย 2 ใน 3 เป็นผู้ป่วยรายใหม่ ส่วนใหญ่มีปัญหาในช่องปากก่อนได้รับการรักษาด้วยยาเคมีบำบัด โดยพบอย่างน้อย 1 อาการ ที่พบมากที่สุดคือปัญหาฟันผุ

ผลการศึกษพบว่ากลุ่มควบคุมมีค่าคะแนนมัธยฐานระดับความรุนแรงของอาการเยื่อช่องปากอักเสบเพิ่มขึ้นในวันที่ 2, 3 และ 4 (median = 0.12, 0.25 และ 0.28 ตามลำดับ) แสดงให้เห็นว่ามีการเปลี่ยนแปลงของเยื่อช่องปากที่เกิดจากยาเคมีบำบัดเพิ่มขึ้นในระหว่างทดลองทุกวัน ส่วนกลุ่มทดลองมีค่าคะแนนมัธยฐานระดับความรุนแรงของอาการเยื่อช่องปากอักเสบเพิ่มขึ้นในวันที่ 2 คงที่ในวันที่ 3 และลดลงในวันที่ 4 (median = 0.07, 0.014, 0.14 และ 0.07 ตามลำดับ) (ตารางที่ 1 และรูปที่ 1) และจากการเปรียบเทียบระดับความรุนแรงของอาการเยื่อช่องปากอักเสบระหว่างสองกลุ่มพบว่าในวันแรกก่อนให้ยาเคมีบำบัด กลุ่มทดลองมีระดับความรุนแรงของอาการเยื่อช่องปากอักเสบสูงกว่ากลุ่มควบคุม ($P=0.045$) เนื่องจากกลุ่มทดลอง 5 ราย ยังคงมีแผลเยื่อช่องปากอักเสบที่เกิดจากการรับยาเคมีบำบัดในรอบที่ผ่านมา และ/หรือมีอาการบวมแดง ส่วนกลุ่มควบคุมมี 1 ราย ที่มีอาการบวมแดงบริเวณริมฝีปากล่าง ไม่มีแผลเยื่อช่องปากอักเสบ และเมื่อสิ้นสุดการทดลองในวันที่ 4 พบว่า กลุ่มทดลองมีระดับความรุนแรงของอาการเยื่อช่องปากอักเสบต่ำกว่ากลุ่มควบคุม ($P=0.019$)

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบค่าคะแนนมัธยฐานระดับความรุนแรงของอาการเยื่อช่องปากอักเสบระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองในวันที่ 1, 2, 3 และ 4

วันที่	กลุ่มควบคุม			กลุ่มทดลอง			P
	median	IQR	Min-Max	median	IQR	Min-Max	
1	0.00	0.00	0.00-0.28	0.07	0.88	0.00-1.20	0.05
2	0.12	0.15	0.00-0.28	0.14	0.77	0.00-1.20	0.48
3	0.25	0.45	0.00-0.88	0.14	0.45	0.00-0.79	0.25
4	0.28	0.56	0.00-2.04	0.07	0.24	0.00-0.42	0.02



รูปที่ 1 การเปลี่ยนแปลงระดับความรุนแรงของอาการเยื่อช่องปากอักเสบหลังได้รับยาเคมีบำบัด

วิจารณ์และสรุป

ผู้ป่วยมะเร็งที่รับประทานยาเคมีบำบัดหลังได้รับโปรแกรมการดูแลช่องปากด้วยตนเองร่วมกับการอมกลีวปากด้วยน้ำมันมะพร้าว มีระดับความรุนแรงของอาการเยื่อช่องปากอักเสบต่ำกว่ากลุ่มที่ได้รับการพยาบาลตามปกติ โดยอาการบวมแดงของแผลลดลงภายใน 24 ชั่วโมงหลังได้รับยาเคมีบำบัดสอดคล้องกับการศึกษาของ Intahphuak S และคณะ¹⁴ ที่พบว่าน้ำมันมะพร้าวมีฤทธิ์ลดบวมของไขว้ในหนูขาวในนาที่ที่ 15 และ 30 ภายหลังจากเหนี่ยวนำ

ให้เกิดการบวมที่ไขว้ ซึ่งอาจเกิดจากฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์และ/หรือการหลั่งสารสื่อกลางการอักเสบ โดยเฉพาะพลอสตาแกรนดิน (prostaglandins) ดังนั้นการอมกลีวปากด้วยน้ำมันมะพร้าวอาจมีแนวโน้มที่จะลดความรุนแรงของอาการเยื่อช่องปากอักเสบที่เกิดจากการได้รับยาเคมีบำบัดอธิบายได้ว่าอาการเยื่อช่องปากอักเสบที่พบในกลุ่มตัวอย่างที่เข้าร่วมการศึกษาเป็นไปตามกลไกพยาธิสภาพที่เป็นผลจากยาเคมีบำบัด โดยกลุ่มควบคุมมีความรุนแรงของอาการเยื่อช่องปากอักเสบเพิ่มขึ้นทุกวัน

แต่กลุ่มทดลองกลับมีความรุนแรงของอาการเยื่อหูช่องปากอักเสบลดลงในระหว่างการได้รับยาเคมีบำบัด การเปลี่ยนแปลงและความแตกต่างนี้พบว่าการทดสอบความแตกต่างระหว่างกลุ่ม ผู้วิจัยทำการทดสอบในเบื้องต้นพบว่ากลุ่มตัวอย่างมีความแตกต่างกันในตัวแปรที่ศึกษา ก่อนเริ่มการทดลอง โดยกลุ่มทดลองมีค่าคะแนนมัธยฐานของอาการเยื่อหูช่องปากอักเสบสูงกว่ากลุ่มควบคุมเล็กน้อย คือมีอาการเยื่อหูช่องปากอักเสบบ่อยก่อน และเมื่อกลุ่มทดลองได้รับโปรแกรมการดูแลช่องปากด้วยตนเอง ร่วมกับการอมกัวปากด้วยน้ำมันมะพร้าว ทำให้เห็นการเปลี่ยนแปลงของเยื่อหูช่องปาก และการเกิดเยื่อหูช่องปากอักเสบซึ่งเป็นไปตามสมมติฐานได้อย่างชัดเจน

โปรแกรมการดูแลช่องปากด้วยตนเองร่วมกับการอมกัวปากด้วยน้ำมันมะพร้าว ผู้วิจัยได้ปรับโปรแกรมที่ประยุกต์ทฤษฎีทางการพยาบาลของโอเร็ม เป็นทางออกที่เหมาะสมกับผู้ป่วยมะเร็งที่ได้รับยาเคมีบำบัด เนื่องจากทฤษฎีระบบการพยาบาลของโอเร็มครอบคลุมการพัฒนาศักยภาพผู้ป่วย เพื่อให้สามารถจัดการกับอาการในสภาวะที่ผู้ป่วยมีความสามารถจัดการกับอาการที่เกิดขึ้นได้ด้วยตนเองทั้งขณะอยู่โรงพยาบาลและที่บ้านซึ่งโปรแกรมการดูแลช่องปากด้วยตนเองเป็นการให้ความรู้ที่เหมาะสม ชัดเจนและสอดคล้องกับความต้องการของผู้ป่วย จึงช่วยให้ผู้ป่วยมีข้อมูลที่สามารถจะพัฒนาตนเองให้ดูแลสุขภาพช่องปากด้วยตนเองได้ การฝึกทักษะปฏิบัติช่วยให้ผู้ป่วยสามารถปฏิบัติกิจกรรมการดูแลตนเองภายใต้คำแนะนำของพยาบาลอย่างเหมาะสม ส่วนการส่งเสริมสนับสนุนและสร้างแรงจูงใจช่วยให้

ผู้ป่วยคงความพยายามในการดูแลตนเองได้อย่างต่อเนื่อง ผู้ป่วยมีกำลังใจในการต่อสู้กับโรคและการรักษาและช่วยเพิ่มแรงจูงใจในการดูแลตนเองและปรับพฤติกรรม อันจะส่งผลลดการเกิดอาการเยื่อหูช่องปากอักเสบได้ ดังนั้นโปรแกรมดูแลตนเองจึงเป็นกิจกรรมที่กระทำให้เกิดการเรียนรู้เกี่ยวกับสุขภาพการเจ็บป่วยทำให้บุคคลมีการเปลี่ยนแปลงในด้านความรู้ ความเข้าใจ วิถีคิด ความเชื่อและทัศนคติ นำไปสู่การพัฒนาทักษะที่จำเป็นเพื่อความสามารถในการดูแลตนเองและมีแรงจูงใจจากการปฏิบัติการดูแลตนเองที่มีประสิทธิภาพ ผู้ป่วยเกิดการเรียนรู้ถึงประสบการณ์การเกิดอาการประเมินความรุนแรงที่เกิดขึ้นและสามารถจัดการกับอาการด้วยตนเองอย่างเหมาะสม

การอมกัวปากด้วยน้ำมันมะพร้าวเป็นการผสมผสานกลวิธีจัดการกับอาการโดยใช้ธรรมชาติบำบัดเข้ามาจัดการกับปัญหาสุขภาพ ส่งผลให้การจัดการกับอาการเยื่อหูช่องปากอักเสบมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น ช่วยเพิ่มผลลัพธ์ทางสุขภาพและคุณภาพชีวิตของผู้ป่วยมะเร็งได้อีกทางเลือกหนึ่ง เพราะด้วยคุณสมบัติที่สำคัญของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ที่มีสารออกฤทธิ์ทำลายจุลินทรีย์ที่อยู่ในช่องปาก โดยสารโมโนลอรินมีผลต่อหน้าที่การทำงานของเยื่อหุ้มเซลล์เกิดการเปลี่ยนแปลงในการเรียงตัวหรือสลายตัวของเซลล์ จึงทำให้จุลินทรีย์อ่อนแอลงและตายในที่สุด และมีปริมาณวิตามินอีบริสุทธิ์สูงที่ช่วยส่งเสริมการหายของเนื้อเยื่อ มีการศึกษาพบว่าวิตามินอีมีผลในการลดอุบัติการณ์การเกิดภาวะเยื่อหูช่องปากอักเสบได้²³⁻²⁵ สอดคล้องกับผลการศึกษาคั้งนี้ พบว่ากลุ่มทดลองมีระดับความรุนแรงของอาการเยื่อหูช่องปากอักเสบ

ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมสามารถอธิบายได้ว่าน้ำมันมะพร้าวมีส่วนช่วยให้อาการบวมแดงของแผลลดลงภายใน 24 ชั่วโมงหลังได้รับยาเคมีบำบัด¹⁴ และอาจช่วยส่งเสริมการหายของบาดแผล เพราะจากการศึกษาในห้องทดลองของ Nevin and Rajamohan¹⁵ ที่นำน้ำมันมะพร้าวมาทาบริเวณแผลที่ผิวหนังในหนูทดลอง พบว่าน้ำมันมะพร้าวช่วยลดระยะเวลาในการหายของแผลให้เร็วขึ้น โดยมี pepsin soluble collagen เพิ่มขึ้น แสดงว่ามีการสานต่อของเส้นใยคอลลาเจน และมีการทำงานของ glycohydrolase สูงขึ้น มีอัตราการผลิตเซลล์คอลลาเจน (turnover of collagen) ที่สูงขึ้น มีการเพิ่มจำนวนของไฟโบรบลาสต์ (fibroblast proliferation) การสร้างเส้นเลือดใหม่ (revascularization) มีฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์และ/หรือการหลั่งสารพอสตาแกรนดิน (prostaglandins) ทำให้อาการบวมแดงของแผลลดลง

โดยสรุปโปรแกรมการดูแลช่องปากด้วยตนเองร่วมกับการอมกลั้วปากด้วยน้ำมันมะพร้าวมีแนวโน้มทำให้ผู้ป่วยมะเร็งที่ได้รับยาเคมีบำบัดมีการเปลี่ยนแปลงเยื่อช่องปากและการเกิดอาการเยื่อช่องปากอักเสบหลังได้รับยาเคมีบำบัดต่ำกว่าปกติ คือ มีการบวมแดงของแผลลดลง และอาจมีส่วนช่วยส่งเสริมการหายของแผล ที่สำคัญไม่พบผลข้างเคียงใดๆจากการใช้น้ำมันมะพร้าว ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าการที่ผู้ป่วยมีความสามารถในการดูแลตนเองและช่องปากอย่างถูกต้องร่วมกับการอมกลั้วปากด้วยน้ำมันมะพร้าวอาจมีแนวโน้มที่จะช่วยป้องกันหรือบรรเทาอาการเยื่อช่องปากอักเสบที่เกิดจากยาเคมีบำบัดได้ จึงควรนำโปรแกรมห้ไปศึกษากลุ่มตัวอย่างที่มากขึ้น และออกแบบการวิจัยให้เหมาะสมต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษานี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษารายวิชาวิทยานิพนธ์ ตามหลักสูตรปริญญาพยาบาลศาสตรมหาบัณฑิต สาขาการพยาบาลผู้ใหญ่ คณะพยาบาลศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ผู้วิจัยขอขอบคุณ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ให้ทุนสนับสนุนบางส่วน

เอกสารอ้างอิง

1. Jemal A, Center MM, DeSantis C, Ward EM. Global patterns of cancer incidence and mortality rates and trends. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2010;19:1893-907.
2. Attasara P, Buasom R. Hospital-Based Cancer Registry 2012. National Cancer Institute, Thailand; 2010.
3. ชวนพิศ นรเดชาพันธ์. เคมีบำบัด: หลักการพยาบาล. คณะพยาบาลศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดลกรุงเทพมหานคร ; 2547.
4. สายพิณ เกษมกิจวัฒนา. หลักการพยาบาลผู้ใหญ่และผู้สูง อายุโรคมะเร็งที่ได้รับยาเคมีบำบัด. ใน ศรีนวล สติวิทยานันท์ (บรรณาธิการ), เอกสารการสอนชุดวิชาการพยาบาลผู้ใหญ่และผู้สูงอายุ หน่วยที่ 11-15. พิมพ์ครั้งที่ 2 โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาราช: กรุงเทพมหานคร; 2546, หน้า 30-46.
5. Roopashri G, Jayanthi K. Radiotherapy and chemotherapy induced oral mucositis prevention and current therapeutic modalities. *IJDA* 2010; 2:174-9.
6. Dodd MJ, Miaskowski C. The PRO-SELF Program: A self-care intervention program for patients receiving cancer treatment. *Semin Oncol Nurs* 2000; 16:300-7.
7. เนตรสุวิณี เจริญจิตสวัสดิ์. ผลของโปรแกรมส่งเสริมการดูแลช่องปากด้วยตนเองต่ออาการเยื่อช่องปากอักเสบในผู้ป่วยโรคมะเร็งที่ได้รับเคมีบำบัดแบบผู้ป่วยนอก. วิทยานิพนธ์พยาบาลศาสตรมหาบัณฑิต สาขาการพยาบาลผู้ใหญ่ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร; 2547.
8. Larson PJ, Miaskowski C, MacPhail L, Dodd MJ, Greenspan D, Dibble SL, et al. The PRO-SELF Mouth Aware program: an effective approach for reducing

- chemotherapy-induced mucositis. *Cancer Nurs* 1998;21:263-8.
9. Asokan S. Oil pulling therapy. *Indian J Dent Res* 2008; 19:169.
 10. Hebbar A, Keluskar V, Shetti A. Oil pulling unraveling the path to mystic cure. *J Int Oral Health* 2010; 2:11-4.
 11. Amith HV, Ankola A, Nagesh L. Effect of oil pulling on plaque and gingivitis. *J Oral Health Comm Dent* 2007; 1:12-8.
 12. Thaweboon S, Nakaparksin J, Thaweboon B. Effect of oil pulling on oral microorganisms in biofilm models. *Asia J Public Health* 2011; 2:62-6.
 13. คมสัน หุดะแพทย์. น้ำมันมะพร้าว. *เกษตรกรรมธรรมชาติ* 2545;4:15-17.
 14. Intahphuak S, Khonsung P, Panthong A. Anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activities of virgin coconut oil. *Pharm Biol* 2010;48:151-7.
 15. Nevin KG, Rajamohan T. Effect of topical application of virgin coconut oil on skin components and antioxidant status during dermal wound healing in young rats. *Skin Pharmacol Physiol* 2010; 23:290-7.
 16. Nakatsuji T, Kao MC, Fang JY, Zouboulis CC, Zhang L, Gallo RL, et al. Antimicrobial property of lauric acid against *Propionibacterium acnes*: its therapeutic potential for inflammatory acne vulgaris. *J Invest Dermatol* 2009;129:2480-8.
 17. Assuncao ML, Ferreira HS, dos-Santos AF, Cabral CR Jr, Florencio TM. Effects of dietary coconut oil on the biochemical and anthropometric profiles of women presenting abdominal obesity. *Lipids* 2009; 44:593-601.
 18. Witcher KJ, Novick RP, Schlievert PM. Modulation of immune cell proliferation by glycerol monolaurate. *Clin Diagn Lab Immunol* 1996; 3:10-3.
 19. Agero AL, Verallo-Rowell VM. A randomized double-blind controlled trial comparing extra virgin coconut oil with mineral oil as a moisturizer for mild to moderate xerosis. *Dermatitis* 2004;15:109-16.
 20. Bergsson G, Arnfinnsson J, Steingrimsdottir O, Thormar H. In vitro killing of *Candida Albicans* by fatty acids and monoglycerides. *Antimicrobial Agents Chemother* 2001;45:3209-12.
 21. Batovska DI, Todorova IT, Tsvetkova IV, Najdenski HM. Antibacterial study of the medium chain fatty acids and their 1-monoglycerides: Individual effects and synergistic relationships. *Pol J Microbiol* 2009; 58:43-7.
 22. Bergsson G, Arnfinnsson J, Steingrimsdottir O, Thormar H. Killing of Gram-positive cocci by fatty acids and monoglycerides. *AOMIS* 2001;109: 670-8.
 23. El-Housseiny AA, Saleh AM, El-Masry AA, Allam AA. The effectiveness of vitamin "E" in the treatment of oral mucositis in children receiving chemotherapy. *J Clin Pediatr Dent* 2007;31:167-70.
 24. Wadleigh, RG, Redman RS, Graham ML, Krasnow SH, Anderson A, Cohen MH. Vitamin E in the treatment of chemotherapy-induced mucositis. *Am J Med* 1992;92:481-4.
 25. Lopez I, Goudou C, Ribrag V, Sauvage C, Hazebroucq G, Dreyfus F. Treatment of mucositis with vitamin E during administration of neutropenic anti-neoplastic agents. *Ann Med Interne (Paris)* 1994;145:405-8.
 26. Sonis ST, Eilers JP, Epstein JB, LeVeque FG, Liggett WH, Mulagha MT, et al. Validation of a new scoring system for the assessment of clinical trial research of oral mucositis induced by radiation or chemotherapy. *Cancer* 1999;85:2103-13.

การตรวจหาเชื้อไวรัสฮิวแมนแพปพิโลมากับปัจจัยทางพยาธิ คลินิกในผู้ป่วยมะเร็งช่องปากและช่องคอ

กฤติกา บุญมาก¹

จรัญญา งามขำ¹

เทียนแสง พันธุ์ศรี¹

เอกภพ แสงอริยวนิช²

สุคนธ์ สุขวิรัช¹

สมจินต์ จินดาวิจักษณ์²

บทคัดย่อ มะเร็งช่องปากและช่องคอเป็นโรคมะเร็งที่มักพบในเพศชายมากกว่าเพศหญิง และมักมีสาเหตุจากการสูบบุหรี่และการดื่มแอลกอฮอล์ นอกจากนี้ยังพบว่า การติดเชื้อไวรัสฮิวแมนแพปพิโลมา (Human Papillomavirus หรือ HPV) เป็นระยะเวลาอันยาวนานมีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคมะเร็งบริเวณดังกล่าวเช่นกัน ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงเล็งเห็นความสำคัญในการหาความสัมพันธ์และสายพันธุ์ของการติดเชื้อ HPV โดยการตรวจจากดีเอ็นเอของตัวเชื้อที่สกัดจากชิ้นเนื้อมะเร็งฝักรากาฟิฟีน และศึกษาความสัมพันธ์กับปัจจัยทางพยาธิคลินิกของผู้ป่วยมะเร็งช่องปากและช่องคอที่เข้ารับการรักษาใน รพ. ศ. กว. สถาบันมะเร็งแห่งชาติ ระหว่างปีพ.ศ. 2541-2547 จำนวน 151 ราย ด้วยวิธี polymerase chain reaction-enzyme immuno assay (PCR-EIA) โดยใช้ GP5+/bio-GP6+primers และใช้ β -globin gene สำหรับตรวจสอบคุณภาพดีเอ็นเอที่ใช้ในการวิเคราะห์ จากผลการศึกษาพบว่าสามารถตรวจพบ HPV DNA จำนวน 24/151 ราย (ร้อยละ 15.9) สายพันธุ์ที่พบมากที่สุด คือ HPV-16 จำนวน 11/24 ราย (ร้อยละ 45.8) ตามด้วย HPV-66 (2/24 ราย, ร้อยละ 8.3), HPV-81 (2/24 ราย, ร้อยละ 8.3) และ HPV-35 (1/24 ราย, ร้อยละ 4.2) ตามลำดับ และพบการติดเชื้อรวมอย่างน้อย 2 สายพันธุ์ขึ้นไป จำนวน 5/24 ราย (ร้อยละ 20.8) นอกจากนี้ยังพบ 3/24 ราย (ร้อยละ 12.5) มีการติดเชื้อของสายพันธุ์ที่มีความเสี่ยงสูงแต่ไม่สามารถจำแนกสายพันธุ์ด้วยวิธีการทดสอบดังกล่าว นอกจากนี้ยังพบว่า การติดเชื้อ HPV ส่วนใหญ่พบในผู้ป่วยมะเร็งกระพุ้งแก้มและมักไม่พบตรงตำแหน่ง ริมฝีปาก ฟันปาก เพดานแข็ง และ retromolar trigone ($P=0.017$) ผลที่ได้จากการศึกษานี้จะเป็นประโยชน์ต่อการนำไปศึกษาต่อ ยอดทางด้านระบาดวิทยา ซึ่งมีความสำคัญอย่างมากในการป้องกันและควบคุมการเกิดโรคมะเร็งช่องปากและช่องคอในประชากรไทยต่อไป (วารสารโรคมะเร็ง 2556;33:53-61.)

คำสำคัญ: มะเร็งช่องปากและช่องคอ ไวรัสฮิวแมนแพปพิโลมา ชิ้นเนื้อฝักรากาฟิฟีน

¹ งานวิจัยภาคสนาม กลุ่มงานวิจัย ² กลุ่มงานโสต ศอ นาสิก สถาบันมะเร็งแห่งชาติ กระทรวงสาธารณสุข กรุงเทพฯ

Detection of Human Papillomavirus in Oral Cavity and Oropharynx Cancer and Its Correlation with Clinicopathologic Variables

by Krittika Boonmark¹, Jarunya Ngamkham¹, Thainsang Phansri¹, Ekapob Sangariyanich², Sukhon Sukvirach¹, Somjin Chindavijak²

¹Research Division, ²Otolaryngology, National Cancer Institute, Ministry of Public Health, Bangkok.

Abstract The oral cavity and oropharynx cancers occur in men more frequently than women and are mainly caused by tobacco usage and alcohol consumption. Human papillomavirus (HPV) has also been associated with oral cavity and oropharynx cancers, although its role in oral carcinogenesis remains poorly defined. The purpose of this study was to investigate the prevalence with genotypes of HPV and correlate it with clinicopathologic variables in 151 paraffin-embedded tissue samples of oral cavity and oropharynx cancer obtained from the patients who were diagnosed at the National Cancer Institute between 1998 and 2004. All DNA samples were tested for the housekeeping gene (β -globin) to verify the presence of amplifiable DNA. HPV presence was evaluated by PCR-EIA using GP5+/bio-6+ primers. HPV DNA was detected in 24/151 (15.9%) out of the specimens. In the HPV-positive tumor, HPV-16 dominated were 11/24 (45.8%) of cases, followed by 2/24 (8.3%) samples were HPV-66, 2/24 (8.3%) samples for HPV-81, HPV-35 in 1/24 (4.2%) sample. Five (20.8%) of 24 samples were multiple HPV infected. Remaining 3/24 (12.5%) samples were HR-HPV positive which could not be identified specific types by such an assay. Moreover, HPV infection was mainly detected in cancer of buccal mucosa but not in cancers of lip, floor of mouth, hard palate, and retromolar trigone ($P=0.017$). Further studies on epidemiology of HPV in oral cavity and oropharynx cancer in population is necessary for cancer prevention and control. (*Thai Cancer J 2013;33:53-61.*)

Keywords: oral cavity cancer, oropharynx cancer, human papillomavirus (HPV), paraffin-embedded tissue

บทนำ

โรคมะเร็งเป็นโรคเรื้อรังที่เป็นปัญหาสำคัญทางสาธารณสุขของประเทศต่างๆทั่วโลก นอกจากจะเป็นโรคที่มีความรุนแรงและเป็นโรคเรื้อรังซึ่งต้องใช้เวลาในการรักษานาน ยังทำให้มีการสูญเสียทางเศรษฐกิจและสังคมของชาติ อีกทั้งยังสูญเสียศักยภาพของชีวิตสูงด้วย จากสถิติโรคมะเร็งในประเทศไทยพบว่า ตั้งแต่ปีพ.ศ. 2541-2543 โรคมะเร็งช่องปากและช่องคอในเพศชายพบเป็นอันดับ 4 และมีอัตราการเกิดลดลงอย่างต่อเนื่อง จาก 5.2 เป็น 4.5 ต่อหนึ่งแสนประชากร ในช่วงปีพ.ศ. 2544-2546 แต่ช่วงปีพ.ศ. 2547-2549 กลับมีอัตราเพิ่มขึ้นเป็น 4.8

ต่อหนึ่งแสนประชากร สำหรับในเพศหญิงพบเป็นอันดับ 7 ในปีพ.ศ. 2541-2543 และมีอัตราการเกิดลดลงอย่างต่อเนื่อง จาก 4.8 เป็น 3.6 ต่อหนึ่งแสนประชากร ในปีพ.ศ. 2547-2549¹⁻³ ปัจจุบันแนวโน้มที่คนไทยจะมีโอกาสเป็นโรคมะเร็งมีสูงขึ้น จากการมีพฤติกรรมสุขภาพที่ไม่เหมาะสม และสิ่งแวดล้อมที่มีความเสี่ยง ซึ่งเมื่อป่วยด้วยโรคมะเร็งแล้วผู้ป่วยจะทุกข์ทรมานทั้งร่างกายและจิตใจ รวมทั้งสิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายในการรักษาอย่างมาก และหากพบในระยะลุกลาม โอกาสที่จะรักษาให้หายขาดเป็นไปได้ยาก ดังนั้นการป้องกันและตรวจค้นหามะเร็งในระยะ

เริ่มแรกจึงเป็นสิ่งสำคัญที่สุด เพราะนอกจากจะทำให้สามารถรักษาให้หายได้ทันเวลาแล้ว ยังช่วยเพิ่มอัตราการอยู่รอดให้กับผู้ป่วย และลดอัตราการเป็นมะเร็งระยะลุกลามอีกด้วย

ในปี พ.ศ. 2551 มีผู้ป่วยรายใหม่ที่เป็นโรคมะเร็งช่องปากมากกว่า 260,000 รายทั่วโลก โดยพบในเพศชายมากกว่าเพศหญิง⁴ สำหรับโรคมะเร็งชนิดนี้ในประเทศไทยยังเป็นปัญหาทางการแพทย์อยู่ในปัจจุบัน แม้เซลล์มะเร็งที่เกิดบริเวณนี้ส่วนใหญ่จะโตไม่เร็วนัก แต่ก็มักตรวจพบในระยะเริ่มแรกค่อนข้างน้อย เนื่องจากผู้ป่วยส่วนใหญ่มักมาพบแพทย์เมื่อก่อนขนาดใหญ่ หรือมีอาการมากแล้ว ซึ่งเป็นระยะที่ 3 และ 4 (advanced stage) ทำให้การรักษายากขึ้นสาเหตุของการเกิดมะเร็งชนิดนี้ ได้แก่ การสูบบุหรี่ การดื่มแอลกอฮอล์ การขาดสารอาหารและมีสุขภาพในช่องปากไม่ดี⁴ นอกจากนี้ยังพบว่ามีการติดเชื้ออื่น ๆ อีกหลายชนิด เช่น การรับประทานอาหารพวกปลาเค็ม การสูดดมควันไฟจากการปรุงอาหาร และการติดเชื้อจากไวรัสชนิดต่างๆ เช่น human papilloma virus โดยเฉพาะ HPV type 16 และ 18 , herpes simplex virus type 1 ซึ่งพบได้ในผู้ป่วยมะเร็งบริเวณศีรษะและลำคอชนิดอื่นด้วย^{5,6}

ในปัจจุบันอุบัติการณ์ของโรคมะเร็งช่องปากและช่องคอที่เกิดจากการติดเชื้อ HPV เพิ่มขึ้น⁵ ซึ่งการติดเชื้อ HPV สามารถพบได้ในหลายประเทศทั่วโลก โดยมีการติดเชื้อที่ผิวหนังและ mucosa ทำให้เกิดเนื้องอกทั้งชนิด benign และ malignant tumors เมื่อเกิดการติดเชื้อแล้วไวรัสนี้จะแทรกเข้าไปใน host โดยเข้าไปกระตุ้นการแสดงออกของยีนทั้งนี้ความรุนแรงของโรคที่เกิดจากการติดเชื้อ HPV

ขึ้นอยู่กับปัจจัยสามประการดังนี้คือ cell permeability, ชนิดของไวรัส และภูมิคุ้มกันของแต่ละคน นอกจากนี้ยังสามารถตรวจพบการติดเชื้อ HPV แฝงอยู่ใน normal oral mucosa ซึ่งพบว่ามีความสัมพันธ์กับการเกิดมะเร็งช่องปากและช่องคอ^{7,8} ดังนั้นการศึกษาจึงมีวัตถุประสงค์เพื่อหาความชุกและสายพันธุ์ของการติดเชื้อ HPV และหาความสัมพันธ์กับปัจจัยทางพยาธิคลินิกในมะเร็งช่องปากและช่องคอ ได้แก่ เพศ อายุ ตำแหน่งมะเร็งปฐมภูมิ ระยะโรค และจุดพยาธิวิทยา เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นทางระบาดวิทยาของ HPV ซึ่งมีความสำคัญในการป้องกันและควบคุมการเกิดมะเร็งช่องปากและช่องคอต่อไปในอนาคต

วัสดุและวิธีการ

กลุ่มตัวอย่าง

การศึกษานี้เป็นการศึกษาหาความชุกและสายพันธุ์ของเชื้อไวรัสฮิวแมนแพพพิโลมาในชิ้นเนื้อมะเร็งฝัังพาราฟินของผู้ป่วยมะเร็งช่องปากและช่องคอ ซึ่งมะเร็งช่องปาก ได้แก่ ริมฝีปาก (lip) (ยกเว้น external lip), กระพุ้งแก้ม (buccal mucosa), alveolar ridge, retromolar trigone, พื้นปาก (floor of mouth) และ เพดานแข็ง (hard palate) ส่วนมะเร็งช่องคอ ได้แก่ ทอนซิล (tonsil), เพดานอ่อน (soft palate), โคนของลิ้น (base of tongue) และ posterior pharyngeal wall กลุ่มตัวอย่างทั้งหมดเป็นผู้ป่วยที่เข้ารับบริการตรวจรักษาที่สถาบันมะเร็งแห่งชาติ ซึ่งมีผลการตรวจวินิจฉัยทางพยาธิวิทยายืนยันแล้วตั้งแต่ปีพ.ศ. 2541-2547 จำนวน 151 ตัวอย่าง การศึกษานี้ได้รับการอนุมัติจากคณะกรรมการวิจัย เลขที่ 022/2550 และคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคนสถาบันมะเร็งแห่งชาติ เลขที่ 015/2550 ให้สามารถดำเนินการวิจัย

การเตรียมตัวอย่างเพื่อทดสอบ

ผู้วิจัยได้รวบรวมชิ้นเนื้อที่ฝังพาราฟฟินของผู้ป่วยมะเร็งช่องปากและช่องคอจากกลุ่มงานพยาธิวิทยา สถาบันมะเร็งแห่งชาติ แล้วนำชิ้นเนื้อที่ต้องการทดสอบมาตัดให้มีขนาดหนา 10 ไมโครเมตร จำนวน 3-5 แผ่น ใส่ในหลอดที่เติม xylene 1.2 มิลลิลิตร เพื่อละลายพาราฟฟินที่ฝังชิ้นเนื้อมะเร็ง ผสมให้เข้ากัน และทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 30 นาที นำมาปั่นด้วยเครื่องปั่นแรงเหวี่ยงหนีศูนย์กลาง (Heraeus Sepatech, Germany) ด้วยแรงหมุน 13,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 15 นาที ทิ้ง supernate และ resuspend เนื้อเยื่อที่กั้นหลอดด้วยแอลกอฮอล์ (absolute ethanol) 1.2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันปิดฝาให้แน่นแล้วนำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าประมาณ 15 วินาที และปั่นด้วยแรงหมุน 13,000 รอบ/นาที ทิ้ง supernate นำตัวอย่างไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C ประมาณ 10 นาที จนแอลกอฮอล์ระเหยออกหมด

การสกัดดีเอ็นเอ

หลังจากการดึงพาราฟฟินออกจากชิ้นเนื้อแล้วนำตัวอย่างมาเติม Cell Lysis Solution (Geneaid, Taiwan) จำนวน 400 ไมโครลิตร และใช้แท่งแก้วบดชิ้นเนื้อให้ละเอียดมากที่สุดแล้วจึงเติม Proteinase K (QIAGEN, Germany) ผสมให้เข้ากันและบ่มที่อุณหภูมิ 55 °C ประมาณ 16-24 ชั่วโมงหรือจนกว่าชิ้นเนื้อจะดูย่อยจนหมด และเติม Rnase A (QIAGEN, Germany) หลังจากที่ย่อยชิ้นเนื้อจนหมดเพื่อป้องกันการปนเปื้อนจาก RNA จากนั้นนำมาเติม protein precipitate solution (Promega, USA) และแอลกอฮอล์ ขั้นตอนสุดท้ายเติมสารละลายบัฟเฟอร์ 1xTE (10mM Tris-HCl, 1mM EDTA) เพื่อละลายดีเอ็นเอ

การทดสอบคุณภาพของดีเอ็นเอ

ดีเอ็นเอที่ได้จะต้องได้รับการทดสอบคุณภาพก่อน โดยการทำปฏิกิริยาลูกโซ่ (polymerase chain reaction; PCR) ด้วยการใส่ β -globin gene-specific primers (BGPCO₃ และ BGPCO₅)⁹ ในส่วนผสมรวม 25 μ l ประกอบด้วย DNA (20 ng/ μ l) ของตัวอย่างศึกษา, 2mM dNTPs, 10xPCR buffer with MgCl₂, 20 pmole ของ BGPCO₃ primer, 20 pmole ของ BGPCO₅ primer และ 0.5 U Taq DNA polymerase (5U/ μ l, Roche) และน้ำกลั่น โดยมีขั้นตอนของ PCR ดังนี้คือ 94°C 5 นาที ตามด้วย 40 รอบของ PCR ซึ่งในแต่ละรอบประกอบด้วยขั้นตอน denaturation ที่อุณหภูมิ 94 °C เป็นเวลา 60 วินาที annealing ที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 60 วินาที และ elongation ที่อุณหภูมิ 72 °C เป็นเวลา 60 วินาที หลังจากนั้นตามด้วย 72°C 5 นาที และ 4°C เป็นขั้นตอนสุดท้ายในเครื่อง PCR (Applied Biosystems, USA) จากนั้นนำผลผลิต PCR ที่ได้ไปวิ่งผ่านกระแสไฟฟ้า (electrophoresis) ซึ่งผลผลิต PCR ของตัวอย่างที่ให้ผลบวกเท่านั้นนำไปวิเคราะห์ต่อในการตรวจหา HPV DNA ต่อไป

การตรวจหา HPV DNA และจำแนกสายพันธุ์

การตรวจหา HPV DNA ในการศึกษานี้ใช้วิธีตรวจสอบตามวิธีของ Jacob MV และคณะ⁹ เริ่มด้วยการนำดีเอ็นเอจากตัวอย่าง 10 μ l ไปเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วยเครื่อง PCR โดยใช้ GP5+/bio-GP6+primers ซึ่งเป็น primer ที่มีความจำเพาะกับ HPV ส่วนประกอบของการทำปฏิกิริยา PCR มีดังนี้ 10xbuffer with MgCl₂, 2mM dNTPs, 20 pmole ของ GP5+ และ bio-GP6+ primer, Taq DNA Polymerase (Roche,

Germany) และน้ำกลั่น หลังจากนั้นนำเข้า เครื่อง PCR ตามขั้นตอนดังนี้คือ 94°ซ 4 นาที ตามด้วย 40 รอบของ denaturation 94°ซ 1 นาที, annealing 38°ซ 2 นาที, elongation 72°ซ 1.30 นาที แล้วต่อด้วย 72°ซ 4 นาที และ 4°ซ เป็นขั้นตอนสุดท้าย นำผลผลิต PCR มา hybridize กับ oligoprobe cocktails 2 กลุ่ม คือ HPV ในกลุ่มเสี่ยงสูง (HPV-16, -18, -31, -33, -35, -39, -45, -51, -52, -56, -58, -59, -66, และ -68) และ HPV ในกลุ่มเสี่ยงต่ำ (HPV-6, -11, -26, -34, -40, -42, -43, -44, -53, -54, -55, -57, -61, -70, -71, -72, -73, -81, -82, -83, -84 และ -89) ใน Streptavidin-coated microtiter plates (Roche, Germany) หลังจากนั้นนำ ผลผลิตที่ให้ผลบวกกับ cocktail probe มาหาความจำเพาะของแต่ละสายพันธุ์ในแต่ละกลุ่ม โดยการ hybridize กับ specific HPV oligonucleotide probe ชนิดต่างๆ วิเคราะห์ผลด้วย microplate reader (Biotek, USA) ที่ความยาวคลื่น 405 และ 620 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ใส่น้ำกลั่น แทน HPV DNA

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ในการศึกษานี้ผู้วิจัยวิเคราะห์ข้อมูลจาก ผลการตรวจ HPV โดยใช้สถิติพรรณนา (descriptive statistics) แสดงความถี่ ค่าเฉลี่ย ร้อยละ และสัดส่วน เพื่ออธิบายลักษณะของตัวอย่างที่ศึกษา และใช้ สถิติวิเคราะห์ (analytical statistics) โดย chi-square test หรือ Fisher's exact test เพื่อประเมินความสัมพันธ์ ระหว่างปัจจัยทางพยาธิคลินิก ได้แก่ เพศ อายุ

ตำแหน่งมะเร็งปฐมภูมิ ระยะโรค และจุลพยาธิวิทยา กับผลการตรวจ HPV DNA ของผู้ป่วยมะเร็งช่องปากและช่องคอ และกำหนดให้มีนัยสำคัญทางสถิติด้วยค่า $P < 0.05$

ผลการศึกษา

ตัวอย่างที่นำมาศึกษาจำนวน 151 ราย เป็นเพศชาย 73 ราย (ร้อยละ 48.3) และเพศหญิง 78 ราย (ร้อยละ 51.7) ผู้ป่วยส่วนใหญ่ (ร้อยละ 58.9) มีอายุมากกว่า 60 ปี ตำแหน่งของมะเร็งที่พบมากที่สุด คือ ลิ้น พบร้อยละ 31.1 และพบในช่องคอ ร้อยละ 19.9 ระยะเวลาความรุนแรงของโรคพบมากในระยะที่ 4 ร้อยละ 28.5 ส่วนผลทางจุลพยาธิวิทยา พบร้อยละ 56.3 เป็น well differentiated ร้อยละ 25.2 เป็น moderately differentiated และร้อยละ 7.9 เป็น poorly differentiated (ตารางที่ 1)

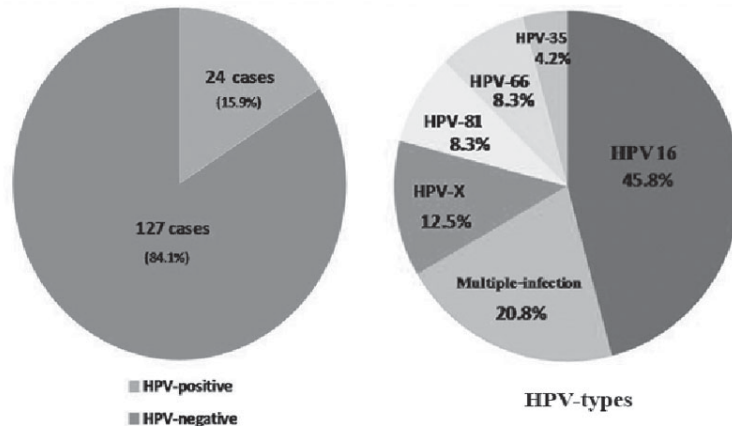
จากการตรวจหา HPV DNA สามารถตรวจพบ HPV DNA จำนวน 24 ราย (ร้อยละ 15.9) จากจำนวนตัวอย่าง 151 ราย ตัวอย่างที่ตรวจพบ HPV DNA ส่วนใหญ่เป็นสายพันธุ์ที่อยู่ในกลุ่มเสี่ยงสูง สายพันธุ์ของ HPV DNA ที่ตรวจพบมีดังนี้คือ HPV-16 พบจำนวน 11 ราย (ร้อยละ 45.8) HPV-35 พบ 1 ราย (ร้อยละ 4.2) HPV-66 และ HPV-81 พบสายพันธุ์ละ 2 ราย (ร้อยละ 8.3) ในการศึกษานี้ยังพบการติดเชื้อ HPV อย่างน้อย 2 สายพันธุ์ในรายเดียวกัน จำนวน 5 ราย (ร้อยละ 20.8) โดยพบว่าส่วนใหญ่มี HPV-16 ร่วมด้วย และนอกจากนี้ยังมีอีก 3 ราย (ร้อยละ 12.5) ที่พบอยู่ในกลุ่มเสี่ยงสูงแต่ไม่ทราบสายพันธุ์ที่แน่ชัด (HPV-X) ดังรูปที่ 1

จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างการติดเชื้อ HPV กับตำแหน่งมะเร็งปฐมภูมิของมะเร็งช่องปากและช่องคอ พบว่าการติดเชื้อ HPV ส่วนใหญ่พบในผู้ป่วยมะเร็งกระพุ้งแก้ม และมักไม่พบ

ในตำแหน่งอื่นของมะเร็งช่องปาก ได้แก่ ริมฝีปาก พื้นปากเพดานแข็ง และ retromolar trigone ($P=0.017$) นอกจากนี้ยังพบว่าการติดเชื้อ HPV ไม่มีความสัมพันธ์กับเพศ อายุ ระยะของโรค และผลทางจุลพยาธิวิทยา (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 แสดงจำนวน ร้อยละ ของการติดเชื้อ HPV กับลักษณะทางพยาธิคลินิกของผู้ป่วยมะเร็งช่องปากและช่องคอ

ลักษณะของผู้ป่วย	ผู้ป่วย จำนวน (ร้อยละ)	HPV-positive จำนวน (ร้อยละ)	HPV-negative จำนวน (ร้อยละ)	P
จำนวน (ราย)	151 (100.0)	24 (15.9)	127 (84.1)	
เพศ				0.109
ชาย	73 (48.3)	8 (11.0)	65 (89.0)	
หญิง	78 (51.7)	16 (20.5)	62 (79.5)	
กลุ่มอายุ (ปี)				0.332
≤60	62 (41.1)	12 (19.4)	50 (80.6)	
> 60	89 (58.9)	12 (13.5)	77 (86.5)	
มะเร็งปฐมภูมิ				0.017
ลิ้น	47 (31.1)	8 (17.0)	5 (16.7)	
กระพุ้งแก้ม	24 (15.9)	7 (29.2)	17 (70.8)	
เหงือก	23 (15.2)	4 (17.4)	19 (82.6)	
ตำแหน่งอื่นในช่องปาก	27 (17.9)	0 (0.0)	27 (100.0)	
ช่องคอ	30 (19.9)	5 (16.7)	25 (83.3)	
ระยะโรค				0.873
ระยะที่ 1	17 (11.3)	2 (11.8)	15 (88.2)	
ระยะที่ 2	21(13.9)	3 (14.3)	18 (85.7)	
ระยะที่ 3	19 (12.6)	2 (10.5)	17 (89.5)	
ระยะที่ 4	43 (28.5)	7 (16.3)	36 (83.7)	
ไม่ระบุ	51 (33.8)	10 (19.6)	41 (80.4)	
จุลพยาธิวิทยา				0.069
Well differentiated	85 (56.3)	14 (16.5)	71 (83.5)	
Moderately differentiated	38 (25.2)	9 (23.7)	29 (76.3)	
Poorly differentiated	12 (7.9)	0 (0.0)	12 (100.0)	
อื่นๆ	16 (10.6)	1 (6.3)	15 (93.8)	



รูปที่ 1 แสดงความชุกและสายพันธุ์ของการติดเชื้อ HPV ที่ตรวจพบในมะเร็งช่องปากและช่องคอ

วิจารณ์และสรุป

การศึกษานี้เป็นการศึกษาเบื้องต้นในประเทศไทย ข้อมูลการศึกษาเกี่ยวกับเรื่องนี้ยังมีน้อยจากรายงานที่ผ่านมาพบว่าการติดเชื้อ HPV มีความแตกต่างกันตั้งแต่ร้อยละ 0-100¹⁰⁻¹⁵ โดยส่วนใหญ่เป็นการศึกษาในต่างประเทศ สำหรับในประเทศไทยพบเพียงรายงานเดียวเท่านั้น¹⁵ ซึ่งรายงานการตรวจพบ HPV ในมะเร็งช่องปากเพียง 1 ราย (ร้อยละ 1.54) จากตัวอย่างตรวจ 65 ราย แต่การศึกษานี้สามารถตรวจพบการติดเชื้อไวรัส HPV ในมะเร็งช่องปากและช่องคอทั้งหมดจำนวน 24 ราย (ร้อยละ 15.9) และสายพันธุ์ที่ตรวจพบมากที่สุดคือ สายพันธุ์ HPV-16 ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาอื่น¹³ แต่มีบางรายงานที่ตรวจพบสายพันธุ์ HPV-18 มากที่สุด¹⁶⁻¹⁸ ซึ่งต่างจากที่พบในการศึกษานี้ สายพันธุ์อื่นที่ตรวจพบในการศึกษานี้ ได้แก่ HPV-66 และ HPV-81 พบจำนวน 2 รายเท่ากัน (ร้อยละ 8.3) และพบ HPV-35 ในตัวอย่างตรวจ 1 ราย (ร้อยละ 4.2) สอดคล้องกับการศึกษาของ Attner P และคณะ¹⁹ ที่ตรวจพบสายพันธุ์ HPV-35 เช่นเดียวกัน

โดยพบจำนวน 2 ราย จากตัวอย่างที่มีผลบวกของการติดเชื้อ HPV จำนวน 61 ราย ในการศึกษานี้ยังตรวจพบการติดเชื้อ HPV ที่มีการติดเชื้อร่วมอย่างน้อย 2 สายพันธุ์ จำนวน 5 ราย (ร้อยละ 20.8) ซึ่งส่วนใหญ่มักติดเชื้อไวรัสสายพันธุ์ HPV-16 และ HPV-33 ร่วมด้วย จึงจัดรวมอยู่ในกลุ่ม multiple infection การศึกษาของ Attner P และคณะ¹⁹ สามารถตรวจพบ HPV-33 เช่นกันแต่พบเป็นการติดเชื้อสายพันธุ์เดียว นอกจากนี้การศึกษานี้ยังตรวจพบ HPV ที่อยู่ในกลุ่มเสี่ยงสูงแต่ไม่ทราบสายพันธุ์แน่ชัด จำนวน 3 ราย (ร้อยละ 12.5) และไม่ได้ทำการตรวจหาลำดับนิวคลีโอไทด์ว่าเป็นสายพันธุ์ชนิดใดที่นอกเหนือจาก specific HPV oligonucleotide probe ที่มีอยู่ในห้องปฏิบัติการ ซึ่งอาจจะเป็นสายพันธุ์ใหม่

จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างการติดเชื้อ HPV กับตำแหน่งมะเร็งปฐมภูมิพบว่ามะเร็งช่องปากตรงตำแหน่งกระพุ้งแก้มตรวจพบการติดเชื้อ HPV มากที่สุด (ร้อยละ 29.2) ซึ่งขัดแย้งกับการศึกษาอื่นที่ตรวจพบการติดเชื้อ HPV ในมะเร็งช่องคอมาก

กว่าโดยเฉพาะในตำแหน่งทอนซิลและโคนของลิ้น^{19,20} และมีบางรายงานที่ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างการติดเชื้อ HPV กับการเกิดโรคมะเร็งบริเวณช่องปาก^{13,21}

นอกจากนั้นคณะผู้วิจัยได้เปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างการติดเชื้อ HPV กับปัจจัยทางพยาธิคลินิกอื่นๆ ได้แก่ เพศ อายุ ระยะโรค และผลทางจุลพยาธิวิทยา พบว่าการติดเชื้อ HPV ไม่มีความสัมพันธ์กับปัจจัยดังกล่าว Soares RC¹⁶ และ Sugiyama M²² พบว่าการติดเชื้อ HPV ไม่มีความสัมพันธ์กับเพศและอายุ แต่ในการศึกษาของ Zhang ZY และคณะ²³ พบการติดเชื้อ HPV โดยเฉพาะ HPV16/18 ในเพศชายมากกว่าเพศหญิง และยังมีรายงานพบการติดเชื้อ HPV สัมพันธ์กับปัจจัยเพศชาย มะเร็งระยะเริ่มแรก และการมีความผิดปกติแบบ poorly differentiated²⁴

จากผลการศึกษานี้สรุปว่าความชุกของการติดเชื้อไวรัส HPV ที่ตรวจพบคิดเป็นร้อยละ 15.9 สายพันธุ์ที่ตรวจพบมากที่สุดคือสายพันธุ์ HPV-16 นอกจากนั้นยังพบว่าการติดเชื้อ HPV ส่วนใหญ่พบในผู้ป่วยมะเร็งกระพุ้งแก้มและมักไม่พบตรงตำแหน่งริมฝีปาก ฟันปาก เพดานแข็ง และ retromolar trigone ผลที่ได้จากการศึกษานี้จะเป็นประโยชน์ต่อการนำไปศึกษาต่อยอดทางด้านระบาดวิทยา ซึ่งมีความสำคัญอย่างมากในการป้องกันและควบคุมการเกิดโรคมะเร็งช่องปากและของคอในประชากรไทยต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณเจ้าหน้าที่งานพยาธิวิทยาในการให้คำปรึกษาด้านผลทางพยาธิวิทยา และตัดชิ้นเนื้อมะเร็งฝังพาราฟฟิน ขอขอบคุณ คุณวิชัย

บุริสา ที่ช่วยให้คำแนะนำในการสกัดดีเอ็นเอ ขอขอบคุณคุณเทพฤทธิ์ ศรีงชัย ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการค้นทะเบียนประวัติผู้ป่วย

เอกสารอ้างอิง

1. Kuhuaprema T, Srivatanakul P, Sriplung H, Wiangnon S, Sumitsawan Y, Attasara P. Cancer in Thailand, Vol.IV, 1998-2000, Bangkok, Thailand, 2007.
2. Kuhuaprema T, Srivatanakul P, Attasara P, Sriplung H, Wiangnon S, Sumitsawan Y. Cancer in Thailand, Vol.V, 2001-2003, Bangkok, Thailand, 2010.
3. Kuhuaprema T, Attasara P, Sriplung H, Wiangnon S, Sumitsawan Y, Sangrajang S. Cancer in Thailand, Vol.VI, 2004-2006, Bangkok, Thailand, 2012.
4. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. Int J Cancer 2010;127:2893-917.
5. Watts SL, Brewer EE, Fry TL. Human papillomavirus DNA types in squamous cell carcinoma of the head and neck. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1991; 71:701-7.
6. Shillitoe EJ, Greenspan D, Greenspan JS, Silverman S Jr. Antibody to early and late antigens of herpes simplex virus I in patients with oral cancer. Cancer 1984;54:266-73.
7. Sugiyama M, Bhawal UK, Dohmen T, Ono S, Miyauchi M, Ishikawa T. Detection of human papillomavirus-16 and HPV-18 DNA in normal, dysplastic, and malignant oral epithelium. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2003;95:594-600.
8. Miller CS, White DK. Human papillomavirus expression in oral mucosa, premalignant conditions, and squamous cell carcinoma: a retrospective review of the literature. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 1996; 82:57-68.
9. Jacobs MV, van den Brule AJC, Snijders PJ, Helmerhorst TJM, Meijer CJ, Walboomers JM. A non-radioactive PCR enzyme-immunoassay enables a rapid identification of HPV16 and 18 in cervical scrapes after GP5+/6+ PCR. J Med Virol 1996;49:223-9.

10. Ritchie JM, Smith EM, Summersgill KF, Hoffman HT, Wang D, Klussmann JP, et al. Human papillomavirus infection as a prognostic factor in carcinomas of the oral cavity and oropharynx. *Int J Cancer* 2003;104:336-44.
11. Brenman JA, Boyle JO, Koch WM, Goodman SN, Hruban RH, Eby YJ, et al. Association between cigarette smoking and mutation of the p53 gene in head and neck squamous cell carcinoma. *N Engl J Med* 1995;332:712-7.
12. Begum S, Gillison ML, Nicol TL, Westra WH. Detection of human papillomavirus-16 in fine-needle aspirates to determine tumor origin in patients with metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck. *Clin Cancer Res* 2007;13:1186-91.
13. Simonato LE, Garcia JF, Sundefeld ML, Mattar NJ, Veronese LA, Miyahara GI. Detection of HPV in mouth floor squamous cell carcinoma and its correlation with clinicopathologic variables, risk factors and survival. *J Oral Pathol Med* 2008;37:593-8.
14. Dayyani F, Etzel CJ, Liu M, Ho CH, Lippman SM, Tsao AS. Meta-analysis of the impact of human papillomavirus (HPV) on cancer risk and overall survival in head and neck squamous cell carcinomas (HNSCC). *Head Neck Oncol* 2010;2:15.
15. Khovidhunkit SO, Buajeeb W, Sanguansin S, Poomsawat S, Weerapradist W. Detection of human papillomavirus in oral squamous cell carcinoma, leukoplakia and lichen planus in Thai patients. *Asian Pac J Cancer Prev* 2008;9:771-5.
16. Soares RC, Oliveira MC, Souza LB, Costa AL, Medeiros SR, Pinto LP. Human papillomavirus in oral squamous cells carcinoma in a population of 75 Brazilian patients. *Am J Otolaryngol* 2007;28:397-400.
17. Shima K, Kobayashi I, Saito I, Kiyoshima T, Matsuo K, Ozeki S, et al. Incidence of human papillomavirus 16 and 18 infection and p53 mutation in patients with oral squamous cell carcinoma in Japan. *Br J Oral Maxillofac Surg* 2000; 38:445-50.
18. Giovannelli L, Campisi G, Lama A, Giambalvo O, Osborn J, Margiotta V, et al. Human papillomavirus DNA in oral mucosal lesions. *J Infect Dis* 2002; 185:833-6.
19. Attner P, Du J, Nasman A, Hammarstedt L, Ramqvist T, Lindholm J, et al. The role of human papillomavirus in the increased incidence of base of tongue cancer. *Int J Cancer* 2010;126:2879-84.
20. Smith EM, Ritchie JM, Summersgill KF, Klussmann JP, Lee JH, Wang D, et al. Age sexual behavior and human papillomavirus infection in oral cavity and oropharynx cancers. *Int J Cancer* 2004;108: 766-72.
21. Huang SF, Li HF, Liao CT, Wang HM, Chen IH, Chang JT, et al. Association of HPV infections with second primary tumors in early-staged oral cavity cancer. *Oral Dis* 2012;18:809-15.
22. Sugiyama M, Bhawal UK, Kawamura M, Ishioka Y, Shigeishi H, Higashikawa K, et al. Human papillomavirus-16 in oral squamous cell carcinoma: clinical correlates and 5-year survival. *Br J Oral Maxillofac Surg* 2007;45:116-22.
23. Zhang ZY, Sdek P, Cao J, Chen WT. Human papillomavirus type 16 and 18 DNA in oral squamous cell carcinoma and normal mucosa. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2004;33:71-4.
24. Lingen MW, Xiao W, Schmitt A, Jiang B, Pickard R, Kreinbrink P, et al. Low etiologic fraction for high-risk human papillomavirus in oral cavity squamous cell carcinomas. *Oral Oncol* 2013;49:1-8.

เซลล์ต้นกำเนิดจากน้ำคร่ำยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งตับ ในหลอดทดลอง

ทัศนีย์ เพิ่มไทย
ศุภรัตน์ วิจิตรเวียงรัตน์
ศศิประภา ทองบพิตร
อริศเก เรื่องประชา

บทคัดย่อ มะเร็งตับเป็นโรคมะเร็งที่พบบ่อย และเป็นปัญหาทางสาธารณสุขที่สำคัญของประเทศไทย ปัจจุบันมีการศึกษาจำนวนมากพบว่าเซลล์ต้นกำเนิดชนิดมีเซนไคม์ (mesenchymal stem cell, MSC) สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งในสัตว์ทดลองได้ ด้วยเหตุนี้จึงเชื่อว่าเซลล์ต้นกำเนิดจากน้ำคร่ำ (Human amniotic fluid stem cell, hAFSC) ซึ่งเป็น MSC ชนิดหนึ่งน่าจะมีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งได้เช่นกัน การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาคุณสมบัติของ hAFSC ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งตับ (HepG2 cell line) เมื่อนำไปเลี้ยงร่วมกันในหลอดทดลองนาน 24 ชั่วโมง การศึกษาแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนที่ 1 เป็นการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของเซลล์ HepG2 ที่เลี้ยงร่วมกับ hAFSC ในอัตราส่วน 1:1 (HepG2 3000 เซลล์ : hAFSC 3000 เซลล์) และ 1:3 (HepG2 3000 เซลล์ : hAFSC 9000 เซลล์) สำหรับส่วนที่ 2 เป็นการศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณของเซลล์ HepG2 ที่เลี้ยงร่วมกับ hAFSC ในอัตราส่วน 1:1 และ 1:3 เช่นกัน ผลของการศึกษาพบว่าการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของเซลล์ HepG2 โดยเซลล์มะเร็งที่เลี้ยงร่วมกับ hAFSC ไม่สร้างโคโลนีเป็นก้อนกลมเหมือนกับเซลล์มะเร็งในกุ่มควบคุมที่มีเซลล์ HepG2 เพียงชนิดเดียว แต่มีลักษณะกระจายตัวเป็นเนื้อเยื่อชั้นเดียว (monolayer) และพบว่าการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของเซลล์ HepG2 นี้ มีมากขึ้นตามจำนวนของเซลล์ hAFSC ที่เพิ่มขึ้นด้วย นอกจากนี้เมื่อตรวจสอบปริมาณของเซลล์มะเร็ง HepG2 หลังการเพาะเลี้ยงร่วมกับ hAFSC พบว่าเซลล์มะเร็งมีปริมาณลดลง และการลดลงนี้จะมากขึ้นเมื่อจำนวนเซลล์ hAFSC เพิ่มขึ้นอีกด้วย ผลจากการศึกษาเบื้องต้นนี้แสดงให้เห็นว่า hAFSC สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งตับชนิด HepG2 ในหลอดทดลองได้ (วารสารโรคมะเร็ง 2556;33:62-69.)
คำสำคัญ: เซลล์ต้นกำเนิดจากน้ำคร่ำ, เซลล์ต้นกำเนิดชนิดมีเซนไคม์, เซลล์มะเร็งตับ

Human Amniotic Fluid Stem Cell Inhibits Liver Cancer Cell Growth in in vitroby **Tatsanee Phermtha, Suparat Wichitwiengrat, Sasiprapa Tongbopit, Athisek Reaugpracha***Stem Cell Research and Development Unit, Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine, Siriraj Hospital, Mahidol University, Bangkok.*

Abstract Liver cancer is a common malignant disease and is a very important public health problem in Thailand. Recently, several researchers have reported that mesenchymal stem cells (MSC) can inhibit cancer cell growth in experimental animals. Hence, human amniotic fluid stem cell (hAFSC), a kind of MSC, may show a property to inhibit cancer cell growth too. The objective of this study was to investigate the effects of hAFSC on liver cancer cell line (HepG2) when these two cells were co-cultured for 24 hours. This study was divided into 2 parts. The first part aimed to study the morphological appearances of HepG2 cell co-cultured with hAFSC at ratios 1:1 (HepG2 3000 cells : hAFSC 3000 cells) and 1:3 (HepG2 3000 cells : hAFSC 9000 cells), while the second part focused on the changes in HepG2 cell number after co-culturing with hAFSC at ratios 1:1 and 1:3. The results showed that morphological appearances of HepG2 cell were changed after co-culturing with hAFSC by losing its round shape colony forming ability as compared to the controls (HepG2 cell alone). The forming colony of HepG2 cell in the co-culturing group dispersed and laid in monolayer pattern. In addition, morphological appearances of HepG2 cell were increased as the increasing number of hAFSC. Moreover, the HepG2 cell number after co-culturing with hAFSC was decreased when the hAFSC cell number was increased. The results of our preliminary study suggest that hAFSC has the ability to inhibit liver cancer cell growth. (*Thai Cancer J 2013;33:62-69.*)

Keywords: amniotic fluid stem cell, mesenchymal stem cell, liver cancer cell

บทนำ

มะเร็งตับเป็นโรคมะเร็งที่พบมากเป็นอันดับหนึ่งในประชากรไทย ในระหว่างปี ค.ศ. 2004-2006 พบว่ามีคนไทยป่วยด้วยโรคมะเร็งตับประมาณ 61.0 รายต่อประชากรแสนคน โดยมีผู้ชายและผู้หญิงไทยที่ป่วยด้วยโรคมะเร็งตับนี้เท่ากับ 48.2 และ 18.2 รายต่อประชากรแสนคน (ชาย 39,884 ราย และหญิง 19,239 ราย) ตามลำดับ¹ โดยทั่วไปมะเร็งตับที่พบมี 2 ชนิดคือ มะเร็งของเซลล์ตับ (hepatocellular carcinoma) และมะเร็งของเซลล์น้ำดี (cholangiocarcinoma) ปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดโรคนี้นี้ได้แก่ การได้รับสารก่อมะเร็งที่ปนเปื้อนในอาหาร (เช่น อะฟลาท็อกซินบี1 และไนโตรซามีน) การดื่มสุรา การสูบบุหรี่

การติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีหรือซี และการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ เป็นต้น² ในปัจจุบันการรักษา มะเร็งตับยังได้ผลไม่ดี เนื่องจากผู้ป่วยส่วนใหญ่มาพบแพทย์เมื่อมีอาการของโรคอยู่ในระยะสุดท้ายซึ่งเป็นปัญหาทางสาธารณสุขที่สำคัญของประเทศไทย การรักษามะเร็งตับนั้นตามปกติแล้วมี 3 วิธีคือการผ่าตัด การใช้รังสีรักษา และการใช้ยาเคมีบำบัด อย่างไรก็ตามการศึกษาวิจัยเพื่อค้นหาวิธีการใหม่ๆ มาใช้รักษามะเร็งตับยังคงมีการพัฒนาไปอย่างรวดเร็ว และต่อเนื่องตลอดเวลา สำหรับการใส่เทคโนโลยีเซลล์ต้นกำเนิดของมนุษย์ในการรักษาโรคมะเร็งชนิดต่างๆ รวมทั้งมะเร็งตับนับว่าเป็นวิวัฒนาการใหม่ทางการ

แพทย์ที่มีความเป็นไปได้สูงและน่าสนใจเป็นอย่างมาก

เซลล์ต้นกำเนิดที่ได้จากร่างกายมนุษย์ส่วนใหญ่เป็นเซลล์ต้นกำเนิดชนิดมีเซนไคม์ (mesenchymal stem cell, MSC) ซึ่งพบได้ในอวัยวะหลายแห่งของร่างกาย เช่น ไขมัน รก สายสะดือ ผิวน้ำนม ตับ ไต MSC เหล่านี้มีคุณสมบัติสองประการคือสามารถเปลี่ยนแปลงเป็นเซลล์ร่างกายชนิดอื่นๆ เช่น กระดูก กระดูกอ่อน กล้ามเนื้อ และสามารถเพิ่มจำนวนได้ดีภายในหลอดทดลอง³⁻⁶ ด้วยเหตุนี้จึงทำให้ MSC เป็นความหวังในการนำมาใช้ปลูกถ่ายเพื่อรักษาโรคที่เกิดจากการเสื่อมสภาพของอวัยวะต่างๆ ในอนาคต

จากการศึกษาต่อมาพบว่า MSC มีคุณสมบัติสามารถเคลื่อนที่ไปยังจุดที่มีการบาดเจ็บ บริเวณที่เซลล์มีการถูกทำลาย และบริเวณที่มีการอักเสบและไม่นานมานี้มีรายงานว่า MSC ยังสามารถเคลื่อนที่ไปยังบริเวณที่มีเซลล์ผิดปกติจำพวกเซลล์มะเร็งได้ด้วย ทำให้นักวิทยาศาสตร์มีความคิดจะใช้ MSC นี้เป็นตัวพาสารต่างๆ ที่ใช้สำหรับการทำลายเซลล์มะเร็ง เช่น อินเตอร์เฟอรอน (interferon) และสารยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง เป็นต้น ไปยังตำแหน่งที่มีเซลล์มะเร็งอยู่⁷⁻⁹ และนอกจากการเป็นตัวพาสารไปยังตำแหน่งก้อนมะเร็งแล้ว ยังมีการวิจัยที่ยืนยันว่าตัว MSC เองสามารถเคลื่อนที่เข้าร่วมกับก้อนเนื้องอกและยับยั้งการเจริญของก้อนเนื้องอกด้วย โดยพบว่าเมื่อใช้เซลล์ MSC ฉีดเข้าไปในก้อนมะเร็งในสัตว์ทดลองแล้ว มีผลทำให้ก้อนมะเร็งฝ่อลงอย่างชัดเจนและไม่มีการกระจายไปยังอวัยวะต่างๆ (metastasis)¹⁰⁻¹² และยังมีรายงานพบว่าเมื่อฉีด MSC เข้ากระแสเลือดของหนูทดลองที่เป็นมะเร็งเต้านม (breast carcinoma) ซึ่ง

มีการกระจายของเซลล์มะเร็งไปที่ปอด MSC มีการเคลื่อนที่ไปยังบริเวณปอด และช่วยลดขนาดของก้อนมะเร็งที่เต้านมด้วย¹³

นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า MSC สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ในระดับต่ำ เนื่องจากไม่มีการแสดงออกของโปรตีนที่ช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกัน ทำให้สามารถนำ MSC ไปใช้กับผู้ป่วยอื่นได้ปลอดภัย¹⁴⁻¹⁷ และ MSC ยังสามารถหลั่งสารจำพวก transforming growth factor- β (TGF- β), hepatocyte growth factor (HGF), indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) และ prostaglandin E2 (PGE2) ซึ่งเป็นสารก่อกวนการทำงานของ T-cell ด้วย¹⁸⁻²⁰ อีกทั้งยังผลิตสารไนตริกออกไซด์ (nitric oxide) ที่ช่วยกีดกันการเพิ่มจำนวนของ T-cell²¹ ดังนั้นจึงมีการศึกษาวิจัยที่จะนำ MSC ไปใช้ในการรักษาโรคมะเร็งกันมากขึ้น

เซลล์ต้นกำเนิดจากน้ำคร่ำ (hAFSC) เป็น MSC ชนิดหนึ่งที่ได้มาจากตัวอ่อนระยะพีตัสในขณะที่ยังมีอายุครรภ์อยู่ระหว่าง 16-20 สัปดาห์ เนื่องจากเซลล์ต้นกำเนิดชนิดนี้มีความเยาว์วัยมากทำให้มีศักยภาพในการแบ่งตัวได้ดีกว่า MSC ชนิดอื่น และมีคุณสมบัติการเคลื่อนตัวได้ไวมาก²² ในขณะเพาะเลี้ยง hAFSC นั้นพบว่าเซลล์มีการเคลื่อนที่ไปในทุกทิศทาง โดยจะเคลื่อนเข้าร่วมตัวและหลุดออกจากเซลล์รอบๆ อยู่ตลอดเวลา ด้วยเหตุนี้จึงเป็นข้อได้เปรียบหากใช้เซลล์มีเซนไคม์จากแหล่งนี้ให้เคลื่อนที่เข้าสู่กลุ่มเซลล์มะเร็งเพื่อใช้ในการทดสอบปฏิกิริยาของเซลล์ต้นกำเนิดกับเซลล์มะเร็ง อย่างไรก็ตามยังไม่มีข้อมูลเกี่ยวกับคุณสมบัติของ hAFSC ในการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งของมนุษย์มาก่อน ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะตรวจสอบศักยภาพ

ของ hAFSC ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งที่มีกำเนิดมาจากเซลล์ต้นกำเนิดของมนุษย์

วัสดุและวิธีการ

การเพาะเลี้ยง hAFSC

คณะผู้วิจัยเลือกใช้ hAFSC ซึ่งแยกได้ในห้องปฏิบัติการของหน่วยวิจัยและพัฒนาเซลล์ต้นกำเนิดเพื่อการรักษาทางการแพทย์ ภาควิชาสูติศาสตร์-นรีเวชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล โดยได้นำสายพันธุ์ hAFSC มาเพาะเลี้ยง ในน้ำยาเพาะเลี้ยง AFS medium ที่มีส่วนประกอบเป็น α -MEM (Gibco, Invitrogen, CA) และ 15% Fetal bovine serum ชนิด Embryonic stem cell grade (ES-FBS; Sigma, MO) และ 20 % Chang medium (Irvine Scientific, CA) และ 1% L-glutamine (Sigma, USA) และ 1% Penicillin-streptomycin (Sigma, USA) ในตู้บ่มเพาะที่มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 5% ที่อุณหภูมิ 37°C โดยระหว่างการเพาะเลี้ยงมีการเปลี่ยนถ่ายน้ำยาเพาะเลี้ยงทุก 3 วัน และการ subculture จะทำเมื่อ hAFSC มีปริมาณเท่ากับร้อยละ 80 ของพื้นที่ภาชนะเพาะเลี้ยงเพื่อเพิ่มจำนวนให้ได้ปริมาณเพียงพอสำหรับการทดลอง

การเพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็งร่วมกับ hAFSC

การทดลองเริ่มจากการนำเซลล์มะเร็งสายพันธุ์ HepG2 มาเพาะเลี้ยงและเตรียมเซลล์ให้ได้จำนวน 3000 เซลล์ต่อน้ำยาเพาะเลี้ยง 10% α -MEM ในปริมาตร 100 ไมโครลิตร แล้วจึงนำเซลล์ในปริมาตร 100 ไมโครลิตรใส่ลงในหลุมทดลองแต่ละหลุมโดยใช้ภาดทดลองชนิด 96 หลุม ในการทดลองนี้แบ่งเซลล์ออกเป็น 4 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 เพาะเลี้ยง

hAFSC ชนิดเดียวจำนวน 3000 เซลล์ (กลุ่มควบคุม) กลุ่มที่ 2 เพาะเลี้ยง HepG2 ชนิดเดียวจำนวน 3000 เซลล์ (กลุ่มควบคุม) กลุ่มที่ 3 เพาะเลี้ยง HepG2 จำนวน 3000 เซลล์ ร่วมกับ hAFSC จำนวน 3000 เซลล์ (อัตรา ส่วน 1:1) และกลุ่มที่ 4 เพาะเลี้ยง HepG2 จำนวน 3000 เซลล์ ร่วมกับ hAFSC จำนวน 9000 เซลล์ (อัตรา ส่วน 1:3) การเพาะเลี้ยงใช้เวลา 24 ชั่วโมง และทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของเซลล์ HepG2

การศึกษาลักษณะและรูปร่างที่มีการเปลี่ยนแปลงไปของเซลล์ HepG2 ในหลอดทดลองหลังการเพาะเลี้ยงนาน 24 ชั่วโมง ใช้กล้องจุลทรรศน์ชนิดหัวกลับ ที่กำลังขยายของเลนส์ 200 เท่า และถ่ายภาพเก็บไว้เพื่อทำการวิเคราะห์ต่อไป

การตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงปริมาณของเซลล์ HepG2

หลังการเพาะเลี้ยงเซลล์ HepG2 ร่วมกับ hAFSC นาน 24 ชั่วโมง มีการตรวจสอบจำนวนเซลล์โดยใช้เทคนิค MTT assay ด้วยการเติมสาร 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) ลงไปให้เซลล์ที่ยังมีชีวิต เมื่อเซลล์ได้รับสาร MTT เป็นเวลานาน 4 ชั่วโมงแล้วใส่ สาร isopropanol เพื่อกระตุ้นปฏิกิริยาการเกิดสี และวัดความเข้มของสีด้วยเครื่องอ่าน microplate reader ที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร ซึ่งความเข้มของสีที่เกิดขึ้นหรือค่า optical density (OD) จะแปรผันตรงกับปริมาณเซลล์ โดยรวมที่มีอยู่ในหลุมทดลองที่เพาะเลี้ยงเซลล์นั้น

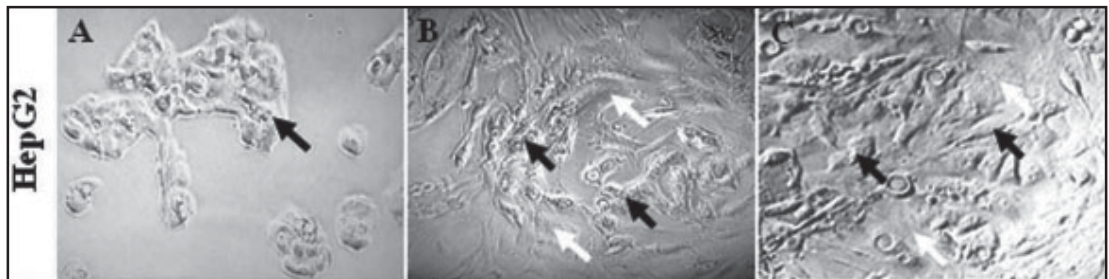
ผลการศึกษา

การศึกษาลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของเซลล์มะเร็ง HepG2 ภายหลังจากเพาะเลี้ยงร่วมกับ hAFSC ซึ่งได้ทดลองใน 2 อัตราส่วน คือ เซลล์มะเร็งต่อเซลล์ต้นกำเนิด เป็น 1:1 และ 1:3 นั้นพบว่า ที่อัตราส่วน 1:1 เซลล์มะเร็งส่วนใหญ่หลุดออกจากโคโลนี่ที่เป็นก้อนกลม แยกออกเป็นเซลล์เดี่ยวและปะปนอยู่กับเซลล์ต้นกำเนิด และเซลล์ที่ยังอยู่ร่วมกันเป็นลักษณะก้อนกลมนั้นมีจำนวนน้อยลงเมื่อเทียบกับเซลล์มะเร็งในกลุ่มควบคุมที่เพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็งชนิดเดียว ส่วนในกลุ่มที่เพาะเลี้ยงเซลล์ HepG2 ร่วมกับ hAFSC ในอัตราส่วน 1:3 นั้นสังเกตเห็นว่าลักษณะของเซลล์มะเร็งมีการเปลี่ยนแปลงมากขึ้น และเซลล์มะเร็งที่มีลักษณะเป็นก้อนกลมนั้นมีจำนวนน้อยกว่าที่พบในอัตราส่วน 1:1 (รูปที่ 1)

จากการศึกษาทางห้องปฏิบัติการภายใต้กล้องจุลทรรศน์ถึงลักษณะการเปลี่ยนแปลงของเซลล์มะเร็งในช่วงเวลานาน 24 ชั่วโมงทั้งในอัตราส่วนเซลล์

HepG2 ร่วมกับ hAFSC ที่ 1:1 และ 1:3 ผลที่ได้ชี้ชัดว่าการกระจายตัวที่พบในเซลล์มะเร็ง HepG2 มีความสัมพันธ์โดยตรงกับการเข้าสัมผัสของ hAFSC กับเซลล์มะเร็ง โดยพบว่าการที่ hAFSC เคลื่อนที่เข้ารวมตัวกับกลุ่มเซลล์มะเร็งโดยตรงจะส่งผลให้เซลล์มะเร็งบริเวณนั้นมีการเจริญเติบโตช้าลง และเซลล์มะเร็งที่อยู่ในลักษณะเป็นกลุ่มก้อน โคโลนี่จะแยกออกจากกันและลงเกาะบนพื้นภาชนะเพาะเลี้ยงในลักษณะเรียงตัวชั้นเดียวแบบ monolayer และไม่สร้างเป็นโคโลนี่ของเซลล์มะเร็งอีก แต่ทั้งนี้พบว่าเซลล์มะเร็งในบริเวณที่ไม่ได้สัมผัสกับ hAFSC โดยตรงจะมีการรวมเป็นกลุ่มในลักษณะคล้ายเซลล์มะเร็งในกลุ่มควบคุม

หลังการเพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็ง HepG2 ร่วมกับ hAFSC ในหลุมทดลอง ในอัตราส่วน 1:1 และ 1:3 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เซลล์ในหลุมทดลองถูกนำไปทำปฏิกิริยากับสาร MTT เพื่อวัดปริมาณเซลล์ที่ยังมีชีวิตอยู่ และเปรียบเทียบกับปริมาณเซลล์ในหลุมควบคุมที่มีเซลล์มะเร็ง HepG2 และ hAFSC เพียงชนิด

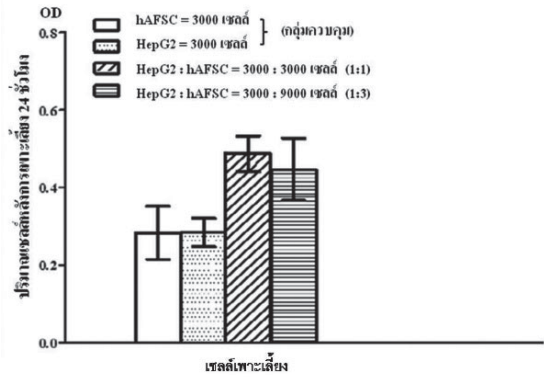


รูปที่ 1 แสดงลักษณะทางกายภาพของเซลล์มะเร็งตับ HepG2 ภายหลังจากเพาะเลี้ยงร่วมกับ hAFSC ภาพ A แสดงภาพเซลล์มะเร็งในหลุมควบคุมที่มีลักษณะเซลล์กลมและอยู่เป็นกลุ่มก้อนขนาดใหญ่ ภาพ B แสดงภาพเซลล์มะเร็งที่มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพโดยมีลักษณะเซลล์แบนลง และกลุ่มก้อนเซลล์มีขนาดเล็กลง (ลูกศรสีดำ) ภายหลังจากเพาะเลี้ยงร่วมกับ hAFSC (ลูกศรสีขาว) ที่อัตราส่วน 1:1 ส่วนภาพ C แสดงภาพเซลล์มะเร็งที่มีลักษณะแบน มีการเรียงตัวเป็นชั้นเดียว (monolayer) และการเกาะเป็นกลุ่มก้อนหายไป (ลูกศรสีดำ) หลังเพาะเลี้ยงร่วมกับ hAFSC (ลูกศรสีขาว) ในอัตราส่วน 1:3 ทั้งภาพ A, B และ C เป็นภาพการเปลี่ยนแปลงที่ 24 ชั่วโมง (กำลังขยาย 200 เท่า)

เดี่ยวรวมกัน ผลการตรวจสอบความเข้มของสีที่เกิดจากปฏิกิริยา MTT พบว่าหลุมทดลองที่มีปริมาณเซลล์มะเร็ง HepG2 ร่วมกับ hAFSC ในอัตราส่วน 1:1 และ 1:3 นั้น มีปริมาณเซลล์โดยรวมน้อยลง (ค่า OD = 0.50 และ 0.45 ตามลำดับ) กว่าหลุมควบคุมที่มีเพียงเซลล์มะเร็ง HepG2 หรือ hAFSC ชนิดเดี่ยวรวมกัน (ค่า OD รวม = 0.60) นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณเซลล์โดยรวมในหลุมทดลองที่มีเซลล์มะเร็ง HepG2 ร่วมกับ hAFSC ในอัตราส่วน 1:3 ซึ่งมีจำนวนเซลล์ hAFSC ตั้งต้นมากกว่าหลุมทดลองที่มีอัตราส่วน 1:1 ถึง 6000 เซลล์ แต่กลับวัดปริมาณเซลล์โดยรวมได้น้อยกว่า ดังแสดงในรูปที่ 2 แสดงให้เห็นว่าเซลล์ชนิดใดชนิดหนึ่งในหลุมทดลองส่งผลยับยั้งการเจริญเติบโตหรือการเพิ่มจำนวนของเซลล์ที่เพาะเลี้ยงอยู่ร่วมกัน เมื่อนำผลที่ได้นี้ไปพิจารณาพร้อมกับผลการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพซึ่งพบว่าเมื่อมีเซลล์ต้นกำเนิดจำนวนมากขึ้นจะส่งผลให้โคโลนีของเซลล์มะเร็งที่เพาะเลี้ยงร่วมด้วยมีจำนวนลดลง สรุปได้ว่าการเพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็ง HepG2 ร่วมกับ hAFSC ในอัตราส่วน 1:1 และ 1:3 นั้น hAFSC สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตหรือการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งชนิด HepG2 ได้ และการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งจะมากขึ้นเมื่อจำนวนของ hAFSC เพิ่มมากขึ้นด้วย

วิจารณ์และสรุป

MSC เป็นอีกความหวังหนึ่งที่จะนำมาใช้ในการรักษาโรคที่เกิดจากภาวะทุพพลภาพ และมีการศึกษาจำนวนมากแสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ในการใช้ MSC เพื่อเป็นอีกทางเลือกหนึ่งสำหรับใช้



รูปที่ 2 กราฟแสดงปริมาณของเซลล์มะเร็งตับ HepG2 หลังเพาะเลี้ยงร่วมกับ hAFSC

รักษาโรคมะเร็ง ในการศึกษานี้ได้ทดลองเพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็งตับร่วมกับ hAFSC ซึ่งเป็น MSC ชนิดหนึ่ง เพื่อดูลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ และจำนวนของเซลล์ ให้ทราบถึงความเป็นไปได้ในการนำไปใช้ประโยชน์ด้านการรักษาโรคมะเร็งในอนาคต ซึ่งผลการทดลองได้แสดงให้เห็นว่า hAFSC มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตและการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งตับในหลอดทดลองได้

ในระหว่างการเพาะเลี้ยงร่วมกันของเซลล์ทั้ง 2 ชนิด พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็งตับร่วมกับ hAFSC แล้ว พบการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของเซลล์มะเร็งตับในลักษณะต่างกัน โดยในหลุมที่เพาะเลี้ยงร่วมกันนั้น hAFSC จะเคลื่อนที่เข้าปะปนในกลุ่มเซลล์มะเร็งทำให้เซลล์มะเร็งสูญเสียคุณลักษณะการรวมกลุ่มและการสร้างโคโลนีตามปกติได้ และส่งผลต่อการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็ง แต่เซลล์มะเร็งจะไม่ถูกทำลายไปทั้งหมดในทันที ทั้งนี้อาจเนื่องจาก hAFSC ไม่มีคุณสมบัติที่จะเข้าทำลายเซลล์มะเร็งได้โดยตรง แต่อาจจะปล่อยสารคัดหลั่งบางอย่างเข้าไปทำลายเซลล์มะเร็งก็ได้ซึ่งต้องใช้เวลาานพอสมควร

การทดลองนี้ คณะผู้วิจัยได้ทำการศึกษาโดยใช้เซลล์มะเร็งตับ HepG2 cell line (ชนิด hepatocellular carcinoma) เนื่องจากเป็นมะเร็งที่มีลักษณะทางรูปร่างโคโลนีที่มีลักษณะเป็นก้อนกลมและสามารถมองเห็นเซลล์ทุกเซลล์ได้ชัดและเมื่อนำมาเพาะเลี้ยงร่วมกับ hAFSC พบว่า hAFSC เข้าร่วมกับเซลล์ HepG2 ได้ดี ทำให้เซลล์ HepG2 ส่วนใหญ่แยกออกจากกันได้เกือบหมดในชั่วโมงที่ 8 หลังการเพาะเลี้ยงร่วมกับ hAFSC การที่ hAFSC เข้าไปมีผลสลายโคโลนีของเซลล์มะเร็งตับนี้สอดคล้องกับผลงานวิจัยของ Nakamura และคณะ²³ ที่รายงานว่า การฉีดเซลล์ต้นกำเนิดเข้าสู่ก้อนเนื้ออกในสัตว์ทดลองจะทำให้ก้อนเนื้ออกมีขนาดลดลงได้ ทั้งนี้สามารถอธิบายโดยผลการทดลองของ Zhu และคณะ²⁴ ที่พบว่า การที่ MSC สามารถมีผลต่อเซลล์มะเร็งได้นั้นเป็นสาเหตุมาจากการที่ MSC สามารถผลิตและหลั่งสารยับยั้งการทำงานภายในกลไก Wnt pathway นั้นเอง

สรุปเซลล์ต้นกำเนิดจากน้ำคร่ำสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งตับชนิด HepG2 cell line ในหลอดทดลองได้ อย่างไรก็ตาม การศึกษานี้ทำการตรวจสอบเฉพาะการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพและปริมาณของเซลล์มะเร็งตับที่เกิดจากอิทธิพลของ hAFSC เท่านั้น ดังนั้นเพื่อความเข้าใจและเป็นการสร้างองค์ความรู้ที่ชัดเจนยิ่งขึ้น สำหรับการค้นคว้าหาแนวทางการรักษาโรคมะเร็งด้วยเซลล์ต้นกำเนิดต่อไปในอนาคต คณะผู้วิจัยเสนอแนะว่าควรทำการศึกษาเพิ่มเติมถึงผลที่เกิดจากสารคัดหลั่งของ hAFSC ต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพและปริมาณของเซลล์มะเร็งตับ รวมทั้งศึกษาเกี่ยวกับ

กลไกการเปลี่ยนแปลงในระดับโมเลกุลภายในเซลล์มะเร็งตับหลังจากเพาะเลี้ยงร่วมกับ hAFSC ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ ดร. ดนัย ทิวาเวช หัวหน้างานชีววิทยามะเร็ง กลุ่มงานวิจัย สถาบันมะเร็งแห่งชาติ สำหรับคำแนะนำ และข้อเสนอแนะทางวิชาการต่างๆ ที่ทำให้การศึกษาในครั้งนี้ประสบความสำเร็จเป็นอย่างดี

เอกสารอ้างอิง

1. Kuhuaprema T, Attasala P, Sriplung H, Wiangnon S, Sumitsawan Y, Sangrajrang S, editors. Cancer in Thailand. Vol. VI, 2004-2006, Bangkok; 2012.
2. Chuanga SC, Vecchia CL, Boffetta P. Liver cancer: Descriptive epidemiology and risk factors other than HBV and HCV infection. Cancer Letters 2009; 286: 9-14.
3. Phermthai T, Odglun Y, Chuenwattana P, Julavijitphong S, Titapant V, Vantanasiri C. Successful Derivation and Characteristics of Xeno-Free Mesenchymal Stem Cell Lines from Human Amniotic Fluid Generated Under Allogenic Cord Blood Serum Supplementation. TERM 2011;8:216-23.
4. Roobrouck VD, Clavel C, Jacobs SA, Ulloa-Montoya F, Crippa S, Sohni A, et al. Differentiation potential of human postnatal mesenchymal stem cells, mesoangioblasts, and multipotent adult progenitor cells reflected in their transcriptome and partially influenced by the culture conditions. Stem Cells 2011; 29:871-82.
5. De Coppi P, Bartsch G, Jr., Siddiqui MM, Xu T, Santos CC, Perin L, et al. Isolation of amniotic stem cell lines with potential for therapy. Nat Biotechnol 2007; 25:100-6.
6. Kim J, Lee Y, Kim H, Hwang KJ, Kwon HC, Kim SK, et al. Human amniotic fluid-derived stem cells have characteristics of multipotent stem cells. Cell Prolif 2007;40:75-90.

7. Shah K. Mesenchymal stem cells engineered for cancer therapy. *Adv Drug Deliv Rev* 2012;64:739-48.
8. Fritz V, Jorgensen C. Mesenchymal stem cells: an emerging tool for cancer targeting and therapy. *Curr Stem Cell Res Ther* 2008;3:32-42.
9. Prockop DJ. Repair of tissues by adult stem/progenitor cells (MSCs): controversies, myths, and changing paradigms. *Mol Ther* 2009;17:939-46.
10. Lee HJ, Doo SW, Kim DH, Cha YJ, Kim JH, Song YS, et al. Cytosine deaminase-expressing human neural stem cells inhibit tumor growth in prostate cancer-bearing mice. *Cancer Lett* 2013;335:58-65.
11. Khakoo AY, Pati S, Anderson SA, Reid W, Elshal MF, Rovira, II, et al. Human mesenchymal stem cells exert potent antitumorigenic effects in a model of Kaposi's sarcoma. *J Exp Med* 2006;203:1235-47.
12. Ganta C, Chiyo D, Ayuzawa R, Rachakatla R, Pyle M, Andrews G, et al. Rat umbilical cord stem cells completely abolish rat mammary carcinomas with no evidence of metastasis or recurrence 100 days post-tumor cell inoculation. *Cancer Res* 2009;69:1815-20.
13. Ayuzawa R, Doi C, Rachakatla RS, Pyle MM, Maurya DK, Troyer D, et al. Naive human umbilical cord matrix derived stem cells significantly attenuate growth of human breast cancer cells in vitro and in vivo. *Cancer Lett* 2009;280:31-7.
14. Ozawa K, Sato K, Oh I, Ozaki K, Uchibori R, Obara Y, et al. Cell and gene therapy using mesenchymal stem cells (MSCs). *J Autoimmun* 2008;30:121-7.
15. Le Blanc K, Rasmusson I, Sundberg B, Gotherstrom C, Hassan M, Uzunel M, et al. Treatment of severe acute graft-versus-host disease with third party haploidentical mesenchymal stem cells. *Lancet* 2004;363:1439-41.
16. Ringden O, Uzunel M, Rasmusson I, Remberger M, Sundberg B, Lonnie H, et al. Mesenchymal stem cells for treatment of therapy-resistant graft-versus-host disease. *Transplantation* 2006;81:1390-7.
17. Horwitz EM, Prockop DJ, Fitzpatrick LA, Koo WW, Gordon PL, Neel M, et al. Transplantability and therapeutic effects of bone marrow-derived mesenchymal cells in children with osteogenesis imperfecta. *Nat Med* 1999;5:309-13.
18. Di Nicola M, Carlo-Stella C, Magni M, Milanese M, Longoni PD, Matteucci P, et al. Human bone marrow stromal cells suppress T-lymphocyte proliferation induced by cellular or nonspecific mitogenic stimuli. *Blood* 2002;99:3838-43.
19. Meisel R, Zibert A, Laryea M, Gobel U, Daubener W, Dilloo D. Human bone marrow stromal cells inhibit allogeneic T-cell responses by indoleamine 2,3-dioxygenase-mediated tryptophan degradation. *Blood* 2004;103:4619-21.
20. Aggarwal S, Pittenger MF. Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses. *Blood* 2005;105:1815-22.
21. Sato K, Ozaki K, Oh I, Meguro A, Hatanaka K, Nagai T, et al. Nitric oxide plays a critical role in suppression of T-cell proliferation by mesenchymal stem cells. *Blood* 2007;109:228-34.
22. Phermthai T, Odglun Y, Julavijitphong S, Titapant V, Chuenwattana P, Vantanasiri C, et al. A novel method to derive amniotic fluid stem cells for therapeutic purposes. *BMC Cell Biol* 2010;11:79.
23. Nakamura K, Ito Y, Kawano Y, Kurozumi K, Kobune M, Tsuda H, et al. Antitumor effect of genetically engineered mesenchymal stem cells in a rat glioma model. *Gene Ther* 2004;11:1155-64.
24. Zhu Y, Sun Z, Han Q, Liao L, Wang J, Bian C, et al. Human mesenchymal stem cells inhibit cancer cell proliferation by secreting DKK-1. *Leukemia* 2009;23:925-33.



Hyperthermia for Cancer Treatment: Review of Basic Principles and Applications

Orapin Kongtragulchone¹

Arkorn Chaiwerawattana¹

Somchai Thanasitthichai¹

Somsiri Udompaisarn²

Abstract Hyperthermia is a method of cancer treatment that involves applying heat to a tumor site. When combined with traditional treatments, for example, chemotherapy and radiotherapy, hyperthermia has potentials to accelerate synergic reactions resulting in better responses to drugs and anticancer agents. The major hyperthermia methods include local, regional, and whole body. The appropriate use of hyperthermia treatment depends on sizes, histological, types, and stages of tumor. This review is aimed to provide fundamental principles and applications of hyperthermia as a promising alternative treatment which can be integrated to conventional cancer treatments. (*Thai Cancer J 2013;33:70-77.*)

Keywords: hyperthermia, alternative cancer treatment, synergic, microenvironment

¹Academic Support Division, National Cancer Institute

²Department of Biochemistry, Faculty of Science, Mahidol University, Bangkok 10400

การบำบัดมะเร็งด้วยความร้อนเฉพาะที่: หลักการพื้นฐานและการประยุกต์ใช้ทางการแพทย์

โดย อรพินท์ กองตระกูลชน¹, อาคม ชัยวีระวัฒน์¹, สมชาย ธนะสิทธิ์ชัย¹, สมศิริ อุดมไพศาล²

¹กลุ่มงานสนับสนุนวิชาการ สถาบันมะเร็งแห่งชาติ, ²ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพฯ 10400

บทคัดย่อ

การบำบัดโรคมะเร็งด้วยความร้อนเฉพาะที่เป็นแนวทางใหม่ในการรักษาโรคมะเร็งโดยอาศัยหลักการใช้ความร้อนเข้าทำปฏิกิริยากับก้อนมะเร็งควบคู่ไปกับการให้ยาเคมีบำบัดและรังสีรักษา ทั้งนี้ความร้อนจะทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาเสริมฤทธิ์ของยาต้านมะเร็งให้ทำงานได้เต็มประสิทธิภาพยิ่งขึ้นสำหรับวิธีการให้ความร้อนที่ใช้โดยทั่วไปได้แก่ ความร้อนแบบจำเพาะที่บริเวณข้างเคียงและทั่วร่างกาย ทั้งนี้การเลือกใช้วิธีบำบัดจะขึ้นอยู่กับขนาดก้อนผลทางจุลพยาธิวิทยาและระยะของโรคมะเร็ง บทที่นี้วิชาการนี้มีจุดมุ่งหมายที่จะให้ความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับหลักการเบื้องต้น และการประยุกต์ใช้การบำบัดโรคมะเร็งด้วยความร้อนเฉพาะที่ด้วยหวังว่าจะเป็นอีกหนึ่งทางเลือกแก่ผู้ป่วยมะเร็งที่นอกเหนือไปจากการรักษาด้วยวิธีทั่วไป (วารสารโรคมะเร็ง 2556;33:70-77.)

คำสำคัญ: การบำบัดโรคมะเร็งด้วยความร้อนเฉพาะที่ การรักษาโรคมะเร็งทางเลือก การเสริมฤทธิ์ยาสิ่งแวดล้อมจุลภาค

Introduction

Hyperthermia refers to a treatment in which tumor sites are exposed to raising temperature ranging from 40-44°C for an adequate period of time, normally an hour per treatment¹⁻³. Hyperthermia can be administrated on tumor regions as a single method but it is more frequently used in combinations with other treatments, for example, chemotherapy and radiotherapy, to enhance effectiveness and cytotoxicity against cancer cells^{2,4-6}. The basic principle of hyperthermia emphasizes on tumor cell's vulnerability to cellular damages caused by heat due to their distinguished characteristics in oxygen deprivation (hypoxia) and low pH level⁷⁻⁹. At higher temperatures, cells react differently to chemical signals and drugs from the normal conditions

observed at 37°C. Moreover, an increasing temperature alters physiological mechanisms of increasing blood flow and metabolic rates¹⁰. In the past three decades, hyperthermia has been used in preclinical and clinical studies for tumors of breast^{11,12}, head and neck¹³, brain¹⁴, cervix¹⁵⁻¹⁷, rectum¹⁶, esophagus¹⁸⁻¹⁹, and bladder^{16,20}.

Biological and Physiological Responses to Hyperthermia

Solid tumors require blood vessels for growth and the vasculature of tumor which randomly expands in an extremely unorganized pattern. The disordered blood vessels can lead to regional hypoxia and low pH, in which, under such microenvironmental factors, cells are more sensitive to heat exposure than normal conditions²¹⁻²².

Hypoxia often occurs in proliferative tumors and hypoxia within tumor is highly associated with tumor progression as well as metastasis²³⁻²⁴. Under low oxygen level, hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1) activates transcription of several genes leading to HIF-1 α overexpression which plays a crucial role to promote angiogenesis and irregular glucose metabolism²⁵. Hypoxia tumor cells respond negatively to radiotherapy due to ionizing radiation insensitivity and, consequently, it results in poor prognosis in some patients²⁶. However, hypothermia overcomes this problem by inducing tumor reoxygenation at temperatures lower than 43°C²⁷. Furthermore, the networks of unorganized vessels as well as disordered cell

alignments of primary malignant become the inevitable targets for hyperthermia treatment because the heat flows are trapped in tumors causing heat-induced cell death²⁸ (Figure 1). Protein denaturation from the thermal effect results in permanent irreversible damages in cells and tissues observed both in vitro and in vivo²⁹. Healthy tissues usually withstand at 44°C for an approximate one hour without any biological damage, although nervous tissues seem to be more sensitive to hyperthermia³⁰. In term of thermodynamics, drugs whose rate-limiting step is strictly committed to chemicals, especially, when enzyme's involvement seems relatively insignificant, appear to be more efficient at higher temperatures⁶.

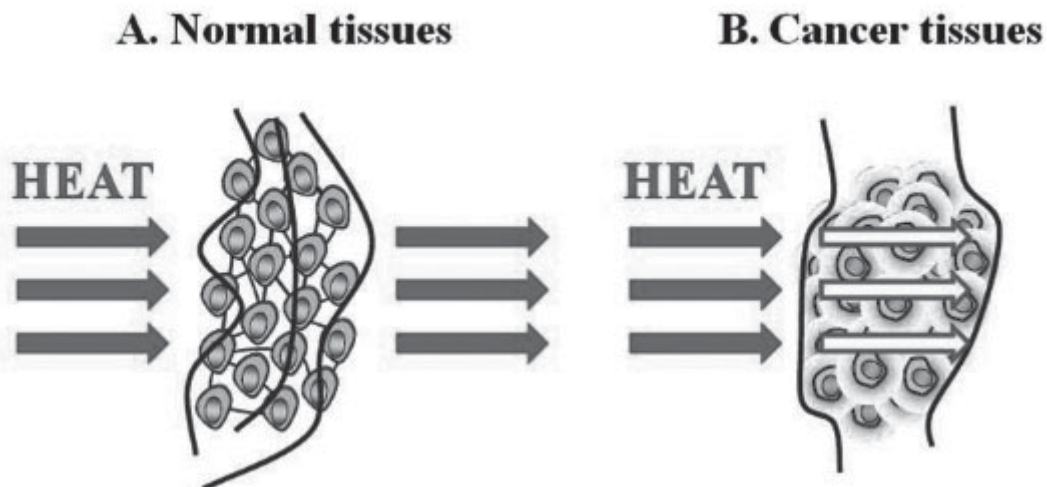


Figure 1: In normal tissues (A), blood vessels dilate when heated. On the other hand, heat is trapped in unorganized vessels and disordered cell alignments of cancer tissues (B) causing direct damages to malignant cells. The reaction also induces synergic effects when radiotherapy or chemotherapy is applied.

Table 1 Hyperthermia methods and clinical applications³¹

Hyperthermia method	Type of tumor	Site of tumor
Local hyperthermia	Superficial	Head and neck, breast, rectum, esophagus, malignant gliomas, soft tissue sarcomas
	Intracavitary	
	Intraluminal	
	Intracranial	
Regional hyperthermia	Deep seated	Cervix, rectum, bladder, prostate, soft tissue sarcomas, ovary, mesothelioma, peritoneal carcinomatosis
	Locally advanced	
Whole-body hyperthermia	Disseminated	Malignant melanoma, ovary, recurrent soft tissue sarcomas
	Metastatic	

Hyperthermia Cancer Treatment

The three approaches of hyperthermia for recent clinical studies include local, regional, and whole body hyperthermia. The main sources for heat energy are generated from microwaves, radiofrequency, ultrasound, hot water perfusion, and nanoparticles. The appropriate methods and energy sources depend on sizes, types, and stages of tumor³¹ as shown in Table 1.

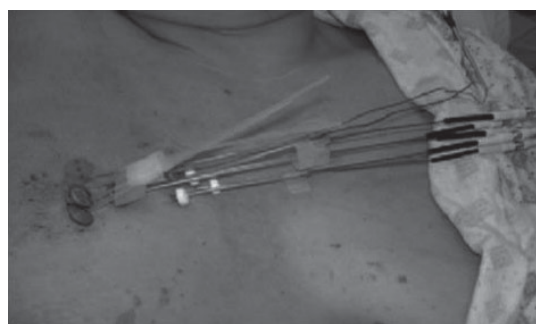


Figure 2 Interstitial hyperthermia in a treatment of right breast cancer in which five hyperthermia applicators and two thermometers are inserted³¹.

Local Hyperthermia

In local hyperthermia, heat is applied to a small tumor or surface of superficial tumor. The treatment is usually performed in a case of primary malignant tumor with no metastasis. Local hyperthermia can be used to treat small tumors with a penetration depth of 1-3 cm and a diameter of 5-6 cm⁵. Occasionally, hyperthermia applicators may be implanted to a tumor site when anesthesia is required³¹ (Figure 2).

Regional Hyperthermia

Regional hyperthermia refers to applying heat to larger parts of the body, especially in deeply seated tumors. It is suitable for treating advanced tumors situated in the major and minor pelvis, abdomen, or thighs³¹.

Whole Body Hyperthermia

Whole body hyperthermia is used in metastatic cancer treatment. Several techniques can be applied to achieve the required temperatures including thermal chamber, heated water blanket, water perfusion, and extracorporeal perfusion^{32,33}.

Combination of Hyperthermia with Other Cancer Treatments

Hyperthermia and Chemotherapy

Hyperthermia can enhance the effect of chemotherapy by its ability to induce the reversal of drug resistance yet the mechanisms are not fully understood. When combined with hyperthermia, anticancer agents such as cisplatin³⁴, melphalan³⁵, nitrosoureas³⁶, and doxorubicin³⁷ shows lower drug resistance, although it is not always observed in the obvious target. However, there are some classes of drugs for which there has been no demonstrated synergistic interaction with hyperthermia including etoposide and vinca alkaloids³⁸. Recently, it has been reported hyperthermia can induce a short-term effect through a synergistic dynamic with paclitaxel---a mitotic inhibitor for the treatment of lung, ovarian, breast, and head and neck cancers---in which paclitaxel-induced cell cycle arrest in the G2/M phase is enhanced by heat energy³⁹.

Hyperthermia and Radiotherapy

Hyperthermia's abilities to affect cells in S phase, inhibit sub-lethal damage repair, and improve oxygenation play a critical role to maximize synergic effects during radiotherapy^{11,40}. Hyperthermia also increases blood flow leading to higher oxygenation of the tissue, which results in higher radio-sensitivity²⁷. Preclinical studies suggest that hyperthermic radiosensitization depends on temperature achieved during the treatment, duration of heating, time interval between heat and radiation, and treatment sequence⁴¹. When the single radiation doses of 2-4 Gy are applied, a synergistic effect from hyperthermia is shown in thermotolerant cells. However, the extent of hyperemia effect depends on cell types and degrees of tolerance¹¹. In a randomized trial of 358 patients with rectal, cervical, or bladder cancer who underwent radiotherapy in the presence (n=182) and absence (n=176) of hyperthermia, it has been found that cervical cancer demonstrates the best response rate with 83% for radiotherapy plus hyperthermia and 57 % for radiotherapy only¹⁶ (Figure 3).

Hyperthermia and Nanotechnology

Magnetic nanoparticles have gained more attention in the recent cancer research because their heat generating potentials can

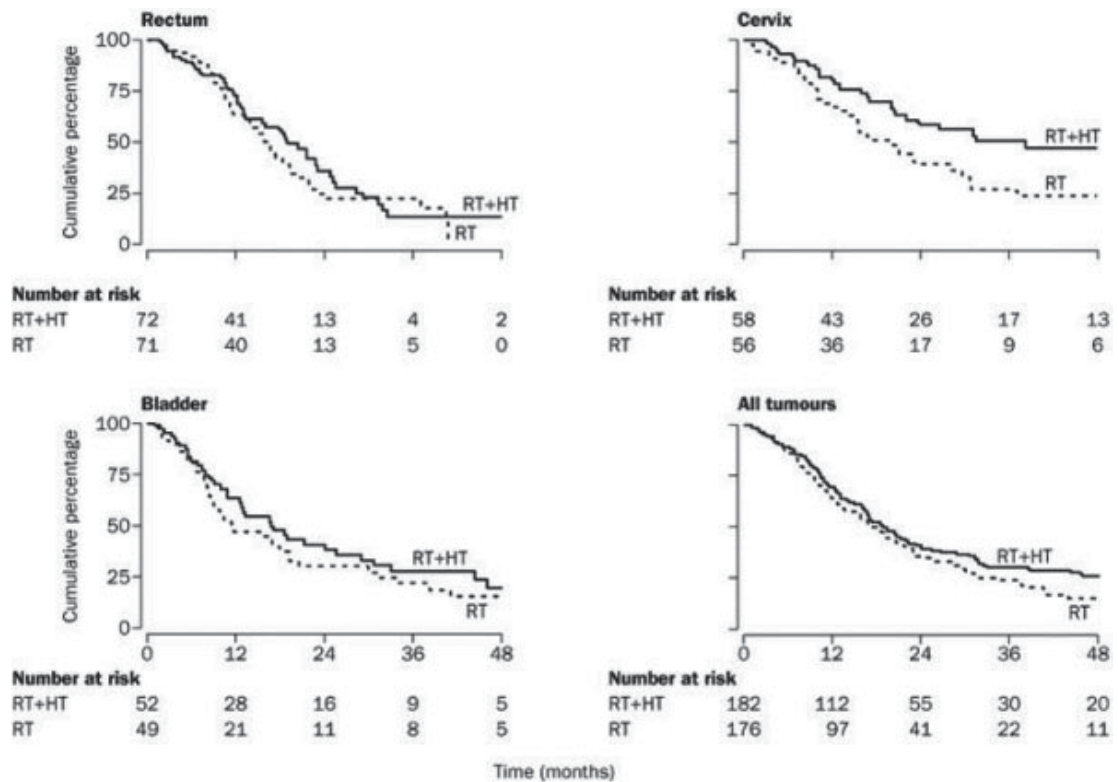


Figure 3 Overall survival by tumor site of patients who received radiotherapy in the presence and absence of hyperthermia¹⁶.

provide the opportunity of direct tumor targeting through blood circulation⁴². Hyperthermia can be applied to augment nanoparticle delivery by increasing tumor blood flow and tumor microvascular pore size⁴³. In local hyperthermia, the current method of delivering magnetic nanoparticles depend on direct injection of milligram amounts of magnetic nanoparticles into the tumor site^{44,45}. Among other novel techniques, two approaches in biomedical applications of magnetic nanoparticles have drawn considerable attention including magnetic nanoparticle hyperthermia for cancer therapy in localized tumors⁴⁶ and super paramagnetic iron oxide (SPIO) contrast agents in MRI⁴⁷ (Figure 4).

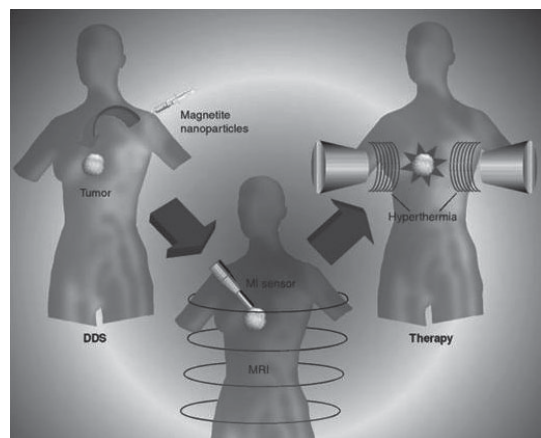


Figure 4 Applications of magnetic nanoparticles and hyperthermia⁴⁸.

Conclusion

While a number of studies demonstrate reduction of tumor sites by hyperthermia¹¹⁻²⁰, others show no significant result^{2,5}. The mixed

results are likely caused by a lack of experimental standardization and method validation. To solve this problem, more clinical studies are needed to provide a platform for new development. Nonetheless, hyperthermia should be available as an alternative and/or complementary treatment to the conventional ones. In addition, advantages in nanotechnology prove to be beneficial to the future of hyperthermia as they offer an opportunity to create multifunctionality with potential to diagnose and treat a number of cancers.

เอกสารอ้างอิง

1. Wessalowski R, Schneider DT, Mills O, Hannen M, Calaminus G, Engelbrecht V, et al. An approach for cure: PEI-chemotherapy and regional deep hyperthermia in children and adolescents with unresectable malignant tumors. *Klin Padiatr* 2003;215:303-9.
2. Falk MH, Issels RD. Hyperthermia in oncology. *Int J Hyperthermia* 2001;17:1-18.
3. Kapp DS, Cox RS. Thermal treatment parameters are most predictive of outcome in patients with single tumor nodules per treatment field in recurrent adenocarcinoma of the breast. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1995;33:887-99.
4. van der Heijden AG, Verhaegh G, Jansen CF, Schalken JA, Witjes JA. Effect of hyperthermia on the cytotoxicity of 4 chemotherapeutic agents currently used for the treatment of transitional cell carcinoma of the bladder: an in vitro study. *J Urol* 2005;173:1375-80.
5. Wust P, Hildebrandt B, Sreenivasa G, Rau B, Gellermann J, Riess H, et al. Hyperthermia in combined treatment of cancer. *Lancet Oncol* 2002;3:487-97.
6. Kapp DS, Hahn GM, Carlson RW. Chapter 35: Principles of Hyperthermia. In Robert C Bast, Jr, Donald W Kufe, Raphael E Pollock, Ralph R Weichselbaum, James F Holland, Emil Frei, editors. *Holland-Frei Cancer Medicine*. 5th ed. Hamilton (ON), Publisher: B.C. BC Decker; 2000.
7. Zaffaroni N, Fiorentini G, De Giorgi U. Hyperthermia and hypoxia: new developments in anticancer chemotherapy. *Eur J Surg Oncol* 2001;27:340-2.
8. Chu GL, Wang ZH, Hyun WC, Pershadsingh HA, Fulwyler MJ, Dewey WC. The role of intracellular pH and its variance in low pH sensitization of killing by hyperthermia. *Radiat Res* 1990;122:288-93.
9. Vexler AM, Litinskaya LL. Changes in intracellular pH induced by hyperthermia and hypoxia. *Int J Hyperthermia* 1986;2:75-81.
10. Roemer RB. Engineering aspects of hyperthermia therapy. *Annu Rev Biomed Eng* 1999;1:347-76.
11. Zagar TM, Oleson JR, Vujaskovic Z, Dewhirst MW, Craciunescu OI, Blackwell KL, et al. Hyperthermia for locally advanced breast cancer. *Int J Hyperthermia* 2010;26:618-24.
12. van der Zee J, van der Holt B, Rietveld PJ, Helle PA, Wijnmaalen AJ, van Putten WL, et al. Reirradiation combined with hyperthermia in recurrent breast cancer results in a worthwhile local palliation. *Br J Cancer* 1999;79:483-90.
13. Huilgol NG, Gupta S, Dixit R. Chemoradiation with hyperthermia in the treatment of head and neck cancer. *Int J Hyperthermia* 2010;26:21-5.
14. Welsh DM. Hyperthermia treatment of malignant brain tumors. *Crit Care Nurs Clin North Am* 1995;7:115-23.
15. van der Zee J, van Rhoon GC. Cervical cancer: radiotherapy and hyperthermia. *Int J Hyperthermia* 2006;22:229-34.
16. van der Zee J, Gonzalez D, van Rhoon GC, van Dijk JD, van Putten WL, Hart AA. Comparison of radiotherapy alone with radiotherapy plus hyperthermia in locally advanced pelvic tumours: a prospective, randomised, multicentre trial. *Lancet* 2000;355:1119-25.
17. Datta N, Bose AK, Kapoor HK. Thermoradiotherapy in the management of carcinoma cervix (stage IIIB): A controlled clinical study. *Indian Med Gazette* 1987;121:68-71.
18. Hulshof MC, van Haaren PM, van Lanschot JJ, Richel DJ, Fockens P, Oldenburg S, et al. Preoperative chemoradiation combined with regional hyperthermia for patients with resectable esophageal cancer. *Int J Hyperthermia* 2009;25:79-85.

19. Kitamura K, Kuwano H, Watanabe M, Nozoe T, Yasuda M, Sumiyoshi K, et al. Prospective randomized study of hyperthermia combined with chemoradiotherapy for esophageal carcinoma. *J Surg Oncol* 1995;60:55-8.
20. Colombo R, Da Pozzo LF, Salonia A, Rigatti P, Leib Z, Baniel J, et al. Multicentric study comparing intravesical chemotherapy alone and with local microwave hyperthermia for prophylaxis of recurrence of superficial transitional cell carcinoma. *J Clin Oncol* 2003;21:4270-6.
21. Sun X, Li XF, Russell J, Xing L, Urano M, Li GC, et al. Changes in tumor hypoxia induced by mild temperature hyperthermia as assessed by dual-tracer immunohistochemistry. *Radiother Oncol* 2008;88:269-76.
22. Reinhold HS, Endrich B. Tumour microcirculation as a target for hyperthermia. *Int J Hyperthermia* 1986;2:111-37.
23. Brown JM, Wilson WR. Exploiting tumour hypoxia in cancer treatment. *Nat Rev Cancer* 2004;4:437-47.
24. Brizel DM, Scully SP, Harrelson JM, Layfield LJ, Bean JM, Prosnitz LR, et al. Tumor oxygenation predicts for the likelihood of distant metastases in human soft tissue sarcoma. *Cancer Res* 1996;56:941-3.
25. Semenza GL. Targeting HIF-1 for cancer therapy. *Nat Rev Cancer* 2003;3:721-32.
26. Moeller BJ, Richardson RA, Dewhirst MW. Hypoxia and radiotherapy: opportunities for improved outcomes in cancer treatment. *Cancer Metastasis Rev* 2007;26:241-8.
27. Song CW, Park H, Griffin RJ. Improvement of tumor oxygenation by mild hyperthermia. *Radiat Res* 2001;155:515-28.
28. Szasz O. The oncotherm story in personal view (history of modulated electro-hyperthermia). *Oncothermia J* 2011;4:31-61.
29. Goldstein LS, Dewhirst MW, Repacholi M, Kheifets L. Summary, conclusions and recommendations: adverse temperature levels in the human body. *Int J Hyperthermia* 2003;19:373-84.
30. Fajardo LF. Pathological effects of hyperthermia in normal tissues. *Cancer Res* 1984;44:4826s-35s.
31. Chichel A, Skowronek J, Kubaszewska M, Kanikowski M. Hyperthermia-description of a method and a review of clinical applications. *Rep Pract Oncol Radiother* 2007;12:267-75.
32. Vertree RA, Leeth A, Girouard M, Roach JD, Zwischenberger JB. Whole-body hyperthermia: a review of theory, design and application. *Perfusion* 2002;17:279-90.
33. Milligan AJ. Whole-body hyperthermia induction techniques. *Cancer Res* 1984;44:4869s-72s.
34. Hettinga JV, Konings AW, Kampinga HH. Reduction of cellular cisplatin resistance by hyperthermia-a review. *Int J Hyperthermia* 1997;13:439-57.
35. Laskowitz DT, Elion GB, Dewhirst MW, Griffith OW, Savina PM, Blum MR, et al. Hyperthermia-induced enhancement of melphalan activity against a melphalan-resistant human rhabdomyosarcoma xenograft. *Radiat Res* 1992;129:218-23.
36. Da Silva VF, Feeley M, Raaphorst GP. Hyperthermic potentiation of BCNU toxicity in BCNU-resistant human glioma cells. *J Neurooncol* 1991;11:37-41.
37. Averill DA, Su C. Sensitization to the cytotoxicity of adriamycin by verapamil and heat in multidrug-resistant Chinese hamster ovary cells. *Radiat Res* 1999;151:694-702.
38. Dahl O. Interaction of heat and drugs in vitro and in vivo. In: Seegenschmiedt M, Fessenden P, Vernon C, editors. *Thermoradiotherapy and thermochemotherapy*. Vol. 1. Berlin: Springer Verlag; 1995. p.103-55.
39. Michalakis J, Georgatos SD, de Bree E, Polioudaki H, Romanos J, Georgoulas V, et al. Short-term exposure of cancer cells to micromolar doses of paclitaxel, with or without hyperthermia, induces long-term inhibition of cell proliferation and cell death in vitro. *Ann Surg Oncol* 2007;14:1220-8.
40. Dewhirst MW. Concepts of oxygen transport at the microcirculatory level. *Semin Radiat Oncol* 1998;8:143-50.
41. Dewhirst MW, Viglianti BL, Lora-Michiels M, Hanson M, Hoopes PJ. Basic principles of thermal dosimetry and thermal thresholds for tissue damage from hyperthermia. *Int J Hyperthermia* 2003;19:267-94.
42. Moroz P, Jones SK, Gray BN. Magnetically mediated hyperthermia: current status and future directions. *Int J Hyperthermia* 2002;18:267-84.
43. Kong G, Braun RD, Dewhirst MW. Hyperthermia enables tumor-specific nanoparticle delivery: effect of particle size. *Cancer Res* 2001;60:4440-5.
44. Kawai N, Futakuchi M, Yoshida T, Ito A, Sato S, Naiki T, et al. Effect of heat therapy using magnetic

- nanoparticles conjugated with cationic liposomes on prostate tumor in bone. *Prostate* 2008;68:784-92.
45. Jordan A, Scholz R, Maier-Hauff K, van Landeghem FK, Waldoefner N, Teichgraeber U, et al. The effect of thermotherapy using magnetic nanoparticles on rat malignant glioma. *J Neurooncol* 2006;78:7-14.
 46. Hergt R, Dutz S, Muller R, Zeisberger M. Magnetic particle hyperthermia: nanoparticle magnetism and materials development for cancer therapy. *J Phys Condens Mat* 2006;18:2919-34.
 47. Mornet S, Vasseur S, Grasset F, Duguet E. Magnetic nanoparticle design for medical diagnosis and therapy. *J Mater Chem* 2004;14:2161-75.
 48. Barakat NS. Magnetically modulated nanosystems: a unique drug-delivery platform. *Nanomedicine (Lond)* 2009;4:799-812.

คำแนะนำการส่งต้นฉบับ

วารสารโรคมะเร็งยินดีรับบทความทางวิชาการหรือเรื่องราวที่น่าสนใจเกี่ยวกับโรคมะเร็ง เพื่อพิจารณาตีพิมพ์ในวารสารนี้ สำหรับบทความที่ตีพิมพ์ในวารสารนี้ถือว่าเป็นลิขสิทธิ์ของวารสารโรคมะเร็ง และเป็นผลงานวิชาการหรือวิจัยของคณะผู้เขียนไม่ใช่ความคิดเห็นของบรรณาธิการหรือผู้จัดทำ ขอให้ผู้นิพนธ์ส่งต้นฉบับที่จัดเตรียมถูกต้องตามคำแนะนำในเอกสารนี้มายังบรรณาธิการวารสารโรคมะเร็ง กลุ่มงานสนับสนุนวิชาการ สถาบันมะเร็งแห่งชาติ ถนนพระรามที่ 6 เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400 หรือทาง E-mail: thaicancerj@gmail.com

ประเภทของบทความ

นิพนธ์ต้นฉบับ (Original Articles)

ควรเขียนลำดับเป็นข้อๆ ได้แก่ บทคัดย่อ (ทั้งภาษาอังกฤษและภาษาไทย) บทนำสั้นๆ (เหตุผลที่ทำการศึกษานี้ รวมทั้งวัตถุประสงค์) วัสดุและวิธีการ ผลการศึกษา วิจาร์ณ สรุป กิตติกรรมประกาศ และเอกสารอ้างอิง

รายงานผู้ป่วย (Case Report)

ควรประกอบด้วยบทคัดย่อ (ทั้งภาษาอังกฤษ และภาษาไทย) บทนำ รายงานผู้ป่วย บทวิจารณ์ ข้อคิดเห็น สรุป และเอกสารอ้างอิง

บทความทางวิชาการหรือบทพินิจวิชาการ (Review Articles)

ควรเป็นบทความที่ให้ความรู้ รวบรวมสิ่งตรวจพบใหม่ หรือเรื่องที่น่าสนใจที่ผู้อ่านนำไปประยุกต์ได้ ประกอบด้วย บทนำ ความรู้เกี่ยวกับเรื่องที่เขียน และเอกสารอ้างอิง

การเตรียมต้นฉบับ

- บทความที่ส่งมาเพื่อตีพิมพ์ต้องส่งต้นฉบับ 2 ชุด (พร้อมไฟล์) และต้องไม่เคยตีพิมพ์หรือกำลังส่งตีพิมพ์ที่ใด
- บทความที่พิมพ์รับทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ ถ้าเป็นภาษาไทยควรหลีกเลี่ยงคำภาษาอังกฤษ ยกเว้นในกรณีจำเป็นเท่านั้น พยายามไม่ใช่คำย่อ นอกจากคำที่ยอมรับกันโดยทั่วไป
- บทคัดย่อ ให้ย่อทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษไม่ว่าเนื้อเรื่องจะเป็นภาษาไทยหรือภาษาอังกฤษ และมีคำสำคัญ (Key words) ด้วย
- ชื่อเรื่องและชื่อผู้เขียน ต้องมีทั้งภาษาไทย และภาษาอังกฤษ พร้อมด้วยสถาบันที่ทำงาน (ทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ) และระบุผู้เขียนที่สามารถติดต่อได้ (corresponding author)
- ต้นฉบับต้องพิมพ์อย่างชัดเจนมีระยะห่างระหว่างบรรทัด 2 ช่อง พิมพ์หน้าเดียวในกระดาษ A4 โดยพิมพ์ห่างจากขอบทุกด้าน 1 นิ้ว โดยตลอด และ ใส่เลขหน้าทางมุมขวาบน
- ภาพประกอบ ถ้าเป็นภาพใช้ภาพขาวดำ ขนาดโปสการ์ด ผิวหน้าเรียบเป็นมัน หรือพิมพ์จากคอมพิวเตอร์โดยใช้เครื่องพิมพ์เลเซอร์ ใหญ่กว่าขนาดที่จะตีพิมพ์เพื่อให้ได้ภาพชัดเจน กำกับหมายเลขภาพ ชื่อผู้เขียนไว้ด้านหลังภาพทุกภาพ พิมพ์คำบรรยายภาพเป็นลำดับแยกไว้ในกระดาษอีกแผ่น
- ตาราง พิมพ์แยกต่างหากโดยมีหัวข้อ (title) และเชิงอรรถ (foot note) พร้อมทั้งอธิบายตัวย่อในตารางตลอดจนบอกนัยสำคัญทางสถิติอย่างครบถ้วน

8. เอกสารอ้างอิง ใช้ระบบแวนคูเวอร์ ซึ่งเป็นระบบที่ใช้กันอยู่ในวารสารทางการแพทย์ชั้นนำในขณะนี้ ให้กำกับการอ้างด้วยหมายเลขและเรียงลำดับการอ้างหมายเลขที่กำกับในรายชื่อเอกสารอ้างอิง จะต้องตรงกับหมายเลขในเนื้อเรื่องด้วย

การเขียนเอกสารอ้างอิง

8.1 จากวารสาร

วารสารภาษาอังกฤษ ประกอบด้วยชื่อผู้แต่ง (ถ้ามีผู้แต่งไม่เกิน 6 คน ให้ใส่ชื่อทุกคน แต่ถ้ามี 7 คนขึ้นไป ให้ใส่เพียง 6 ชื่อแรก แล้วเติม et al.) ชื่อเต็มของบทความ ชื่อย่อวารสาร (ใช้ตาม Index Medicus) ปีที่พิมพ์; ปีที่:หน้าแรก-หน้าสุดท้าย.

วารสารภาษาไทย ให้เขียนแบบเดียวกับภาษาอังกฤษ เว้นแต่ชื่อผู้เขียนใช้ชื่อเต็มโดยใส่ชื่อตัวก่อนแล้วตามด้วยนามสกุลและใช้ปี พ.ศ.

ตัวอย่าง

1. Charialertsak S, Sirikulchayanonta V, Mayer D, Kopp-Schneider A, Fuerstenberger G, Marks F, et al. Aberrant cyclooxygenase isozyme expression in human intrahepatic cholangio carcinoma. Gut 2001;48:80-6.

2. สุนันทา จริยาเลิศศักดิ์, พงษ์กิตติ วิศุภกร, สุวัฒน์ จริยาเลิศศักดิ์. Proliferating Cell Nuclear Antigen ในผู้ป่วยมะเร็งเต้านม: บทบาทในการพยากรณ์โรค.วารสารโรคมะเร็ง 2542;25:1-6.

8.2 จากหนังสือและโมโนกราฟอย่างอื่น

8.2.1 ผู้นิพนธ์เป็นบุคคล ตัวอย่างเช่น

Getzen TE. Health economics: fundamental of funds. New York: John Wiley & Sons; 1997.

8.2.2 บรรณาธิการ ผู้รวบรวม ประพันธ์ที่เป็นผู้นิพนธ์ ตัวอย่างเช่น

Millares M, editor. Applied drug information: strategies for information management. Vancouver, WA: Applied Therapeutics, Inc.; 1998.

8.2.3 บทหนึ่งในหนังสือหรือตำรา ตัวอย่างเช่น

Porter RJ, Meldrum BS. Antiepileptic drugs. In: Katzung BG, editor. Basic and clinical pharmacology. 6th ed. Norwalk, CN:Appleton and Lange; 1995. p. 361-80.

8.2.4 หนังสือที่เป็นชุด (series) ตัวอย่างเช่น Bennett GL, Horuk R. Iodination of chemokines for use in receptor binding analysis. In:Horuk R, editor. Chemokine receptors. New York: Academic Press; 1997. p. 134-48. (Methods in enzymology; vol 288).

หมายเหตุ : Chemokine receptors = ชื่อหนังสือ
Methods in enzymology = ชื่อหัวข้อเรื่อง
ของ series

8.2.5 หนังสือ proceeding ของการประชุม ตัวอย่างเช่น

Kimura J, Shibasaki H, editors. Recent advances in clinical neurophysiology. Proceedings of the 10th International Congress of EMG and Clinical Neurophysiology; 1995 Oct 15-19; Kyoto, Japan. Amsterdam: Elsevier; 1996.

8.2.6 เอกสารหรือแหล่งข้อมูลอื่น

เรื่องจาก หนังสือพิมพ์ ตัวอย่างเช่น

Lee G. Hospitalizations tied to ozone pollution : study estimates 50,000 admissions annually. The Washington Post 1996 Jun 21; Sect. A: 3 (col.5).

เรื่องจากวารสารใน Internet ตัวอย่างเช่น

Laporte RE, Marler E, Akazawa S, Sauer F. The death of biomedical journals. BMJ [serial online]. 1995;310:1387-90. Available from: <http://www.bmj.com/bmj/archive/6991ed2.htm>. Accessed September 26, 1996.

เรื่องจาก web site ตัวอย่างเช่น

Health on the net foundation. Health on the net foundation code of conduct (HONcode) for medical and health web sites. Available at : <http://www.hon.ch/conduct.html>. Accessed June 30, 1998.

หนังสือแจ้งความจำนงลงโฆษณา ในวารสารโรคมะเร็ง

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

เรียน ผู้จัดการวารสารมะเร็ง

ข้าพเจ้า.....ตำแหน่ง.....

ในนามของ.....เลขที่.....ถนน.....

ตำบล/แขวง.....อำเภอ/เขต.....จังหวัด.....

รหัสไปรษณีย์.....โทรศัพท์.....โทรสาร.....

มีความประสงค์ลงโฆษณาในวารสารโรคมะเร็ง

- | | | | |
|--------------------------|-----------|-------------------------|------------|
| <input type="checkbox"/> | ฉบับที่ 1 | เดือน มกราคม - มีนาคม | ปีที่..... |
| <input type="checkbox"/> | ฉบับที่ 2 | เดือน เมษายน - มิถุนายน | ปีที่..... |
| <input type="checkbox"/> | ฉบับที่ 3 | เดือน กรกฎาคม - กันยายน | ปีที่..... |
| <input type="checkbox"/> | ฉบับที่ 4 | เดือน ตุลาคม - ธันวาคม | ปีที่..... |

รวม.....ฉบับ

โดยลงโฆษณาในลักษณะ

- | | | |
|--------------------------|-------------------------------------|----------------------------------------|
| <input type="checkbox"/> | พิมพ์เนื้อใน 1/2 หน้า | อัตรา 5,000 บาท ต่อ ฉบับ (1,000 เล่ม) |
| <input type="checkbox"/> | พิมพ์เนื้อในเต็มหน้า | อัตรา 10,000 บาท ต่อ ฉบับ (1,000 เล่ม) |
| <input type="checkbox"/> | พิมพ์ปกหลังด้านใน 1/2 หน้า | อัตรา 10,000 บาท ต่อ ฉบับ (1,000 เล่ม) |
| <input type="checkbox"/> | พิมพ์ปกหลังด้านในเต็มหน้า | อัตรา 20,000 บาท ต่อ ฉบับ (1,000 เล่ม) |
| <input type="checkbox"/> | พิมพ์ปกหลังด้านนอกเต็มหน้า | อัตรา 35,000 บาท ต่อ ฉบับ (1,000 เล่ม) |
| <input type="checkbox"/> | ใบแทรก | อัตรา 6,000 บาท ต่อ ฉบับ (1,000 เล่ม) |
| <input type="checkbox"/> | พิมพ์สี จ่ายค่าเพลทและค่าพิมพ์เพิ่ม | 10,000 บาท |

รวมเป็นเงินทั้งสิ้นจำนวน.....บาท

ตัวอักษร (.....) บาท

ลงนาม.....ผู้สั่งโฆษณา

(.....)

หมายเหตุ

ถ้าลงโฆษณาทั้งปี (4 ฉบับ) จะลดค่าโฆษณาให้ 10 %

ส่งอาร์ตเวิร์ค / ข้อความโฆษณาทาง E-mail : thaicancerj@gmail.com

การชำระค่าโฆษณา ให้เขียนเช็คสั่งจ่ายในนาม "มูลนิธิสถาบันมะเร็งแห่งชาติ"



วารสารโรคมะเร็ง

กองบรรณาธิการวารสารโรคมะเร็ง

สถาบันมะเร็งแห่งชาติ 268/1 ถนนพระราม6 เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400

ใบสมัครสมาชิก/ใบต่ออายุสมาชิก

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

เรียน ผู้จัดการวารสารโรคมะเร็ง

ข้าพเจ้า.....

ในนาม ส่วนราชการ/ บริษัท/ ส่วนตัว.....

ที่อยู่เลขที่.....ตรอก/ซอย.....แขวง.....

เขต.....จังหวัด.....รหัสไปรษณีย์.....

โทรศัพท์.....โทรสาร.....

E-mail.....

มีความประสงค์สมัครสมาชิกในวารสารโรคมะเร็ง

ปีที่ 32 ฉบับที่ 1-4 (พ.ศ. 2555) รวม 4 ฉบับ เป็นเงิน 200 บาท

ปีที่ 33 ฉบับที่ 1-4 (พ.ศ. 2556) รวม 4 ฉบับ เป็นเงิน 200 บาท

พร้อมกันนี้ได้จัดส่งเงินจำนวน.....บาท (.....) ตัวอักษร

โดยโอนเงินผ่านบัญชีออมทรัพย์ ธนาคารไทยพาณิชย์ จำกัด (มหาชน) สาขารามาริบัติ

เลขที่บัญชี 026-2-27518-2 ชื่อบัญชี มูลนิธิสถาบันมะเร็งแห่งชาติ

ขอแสดงความนับถือ

ลงนาม.....

(.....)

หมายเหตุ: โปรดส่งสำเนาการโอนเงินผ่านธนาคารพร้อมใบสมัครสมาชิกมายังโทรสาร 02-644-9097

หรือส่งเอกสารทางไปรษณีย์โดยนำส่ง กองบรรณาธิการวารสารโรคมะเร็ง กลุ่มงานสนับสนุนวิชาการ

สถาบันมะเร็งแห่งชาติ 268/1 ถนนพระราม 6

เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400