



### บรรณาธิการ

ธีรวิวัฒน์ คุหะเปรมะ

### ผู้ช่วยบรรณาธิการ

จรัญญา งามขำ

ศุภีพร แสงกระจ่าง

เพ็ญศรี แซ่หลี่

สุนันทา จริยาเลิศศักดิ์

วิโรจน์ เหล่าสุนทรศิริ

อรพินท์ ก้องตระกูลชน

### คณะบรรณาธิการ

กนกพร ใจสถาพร

ฉันทนา หมอกเจริญพงศ์

ธิดา ปัญจพันธ์พงศ์

วีรวิวัฒน์ อิมสำราญ

วสันต์ ลีนะสมิต

สมจินต์ จินดาวิจักษณ์

สุพล มโนรมณ์

อนงค์ เทพสุวรรณ

อนันต์ กรลักษ์ณ์

อรชร เอี่ยมอารีรัตน์

กิติ จินดาวิจักษณ์

ชนินทร์ อภิภาณีชัย

ปัญญรัตน์ ลาภวงศ์วัฒนา

วิจิต อาภรณ์วิรัตน์

วรรณเพ็ญ เบ็ญจชัย

สมชาย ธนะสิทธิชัย

สุเมธ รินสุรวงศ์

อมรรัตน์ วิจิตรลีลา

อารยะ อุดุลยพันธ์

กวิญ ลีละวัฒน์

दनัย ทิวาเวช

เพชรินทร์ ศรีวัฒนกุล

วุฒิ สุเมธโชติเมธา

สมจิตร ประภากร

สายพิน ตั้งศรีชาติ

สุวัฒน์ จริยาเลิศศักดิ์

อักริยา สมรรคบุตร

อารีย์ ประสิทธิ์พิทยงค์

### ผู้จัดการ

อาคม ชัยวีระวัฒน์

### ผู้ช่วยผู้จัดการ

พรณา จันทร์วีระกุล

เสาวคนธ์ ศุกรโยธิน

มลินี สนธิไชย

อุมานาฏ อุณอนันต์

วารีพร ศักดิ์สมบุญ



วารสารโรคมะเร็ง  
THAI CANCER JOURNAL



ISSN 0125-2038

The National Cancer Institute Foundation

---

### Editor-in-Chief

Thiravud Khuhaprema

### Assistant Editors

Jarunya Ngamkham

Pensri Saelee

Wirote Lausoontornsiri

Suleeporn Sangrajrang

Sunanta Chariyalertsak

Orapin Kongtragulchone

### Editorial Board

Kanokporn Jaisathaporn

Kiti Chindavijak

Kawin Leelawat

Chantana Morkchareonpong

Chanin Apiwanich

Danai Tiwawech

Thida Panchaphanpong

Punyarat Lapvongwatana

Petcharin Srivatanakul

Weerawut Imsamran

Vichit Arpornwirat

Wutthi Sumetchotimaytha

Vasant Linasmita

Wanpen Benjachai

Somjit Prapakorn

Somjin Chindavijak

Somchai Thanasitthichai

Saipin Tangkarat

Suphon Manoromana

Sumate Rinsurongkawong

Suwat Chariyalertsak

Anong Tepsuwan

Amornrat Vijitleela

Akariya Samakhaputra

Anant Karalak

Araya Adulbhan

Aree Prasitthipayong

Orachorn Aimarreerat

### Managing Editor

Arkorn Chaiwerawattana

### Assistant Managers

Pornnapa Jantaraweragul

Malinee Sontichai

Wareeporn Saksomboon

Saowakon Sukarayodhin

Aumanad Aunanana

---

**KOSIT PRESS COMPANY LIMITED**

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



**วารสารโรคมะเร็ง**  
THAI CANCER JOURNAL



- วัตถุประสงค์** เพื่อเผยแพร่ความรู้ทางวิชาการ ผลงานวิจัยเกี่ยวกับโรคมะเร็ง
- 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](http://www.nci.go.th), [www.kmnci.com/km/](http://www.kmnci.com/km/),  
<http://thailand.digitaljournals.org/index.php/TCJ>
- กำหนดการตีพิมพ์** กำหนดออกทุก 3 เดือน ปีละ 4 ฉบับ
- การส่งต้นฉบับ** บรรณาธิการวารสารโรคมะเร็ง  
สถาบันมะเร็งแห่งชาติ 268/1 ถนนพระราม 6 เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400  
โทร. 0-2354-7025 ต่อ 2205  
โทรสาร 0-2644-9097  
E - mail : [nci\\_journal@hotmail.com](mailto:nci_journal@hotmail.com)
- การบอกรับเป็นสมาชิก**
- ห้องสมุดและหน่วยงานราชการแจ้งความจำนงได้ที่สำนักงานวารสารโรคมะเร็งโดยไม่เสียค่าใช้จ่าย
  - หน่วยงานเอกชน อัตราค่าสมาชิก 200 บาท ต่อปี (4 ฉบับ) รวมค่าจัดส่งและโอนเงินผ่านบัญชีออมทรัพย์ ธนาคารไทยพาณิชย์ จำกัด (มหาชน) สาขารามาริบัติ เลขที่บัญชี 026-2-27518-2  
ชื่อบัญชี มูลนิธิสถาบันมะเร็งแห่งชาติ



## สารบัญ Content

ปีที่ 32 ฉบับที่ 3

กรกฎาคม-กันยายน 2555

|   | หน้า |
|---|------|
| บทบรรณาธิการ  | 103  |
| <b>นิพนธ์ต้นฉบับ (Original Articles)</b>  |      |
| การแพ้ยา Oxaliplatin: กรณีศึกษาจากโรงพยาบาลมหาราชนครศรีธรรมราช<br>สุรียน อู่ยตระกูล, สุเพ็ญพร อักษรวงศ์   | 104  |
| การเปรียบเทียบผลการตรวจและวิเคราะห์สายพันธุ์ของไวรัสฮิวแมนแพพพิวโลมา<br>ในเซลล์ปากมดลูกที่ผิดปกติด้วยวิธี Enzyme-Immuno Assay และวิธี Reverse Line<br>Blot Hybridization<br>จรัญญา งามขำ, กฤติกา บุญมาก, เทียนแสง พันธุ์ศรี | 111  |
| ความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายของ hOGG1 (C1245G) กับความเสี่ยง<br>ต่อการเกิดมะเร็งปากมดลูกในสตรีทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือของไทย<br>ศุภกร ไชศิริมงคล, วรณภา อธิตะ, ศีตกานต์ นัดพบสุข, ดนัย ทิวาเวช                           | 123  |
| <b>บทพินิจวิชาการ (Review Articles)</b>   |      |
| ความหลากหลายของมะเร็งเต้านมชนิด Triple Negative<br>สมชาย ณะสิทธิชัย   | 130  |
| คำแนะนำการส่งต้นฉบับ  | 137  |
| หนังสือแจ้งความจำนงลงโฆษณาในวารสารฯ   | 139  |
| ใบสมัครสมาชิก/ใบต่ออายุสมาชิกวารสารฯ  | 140  |

## บทบรรณาธิการ

### แร่ใยหิน (Asbestos) กับการเกิดโรคมะเร็ง

แร่ใยหินที่มีชื่อว่า chrysotile จัดอยู่ในกลุ่มของเซอร์เพนไทน์ (serpentine) ซึ่งเป็นกลุ่มที่ยังคงมีการนำมาใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ ในหลายประเทศ ในขณะที่แร่ใยหินในกลุ่มแอมฟิโบล (amphibole) ถูกสั่งห้ามนำมาใช้แล้ว แร่ใยหินมีลักษณะที่ทนทานต่อแรงดึงได้สูง มีความเหนียว และทนความร้อนได้ดี จึงมีการนำมาใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์ที่ต้องการความแข็งแรง เช่น กระเบื้องกันความร้อน กระเบื้องผนังหลังคา ฉนวนกันความร้อน เป็นต้น แม้จะมีคุณสมบัติที่มีประโยชน์หลายประการ แต่ก็เป็นที่ทราบกันมานานแล้วว่าแร่ใยหินเป็นสาเหตุให้เกิดโรค เช่น แอสเบสโตสิส (asbestosis) มะเร็งปอด และเมโสเทลิโอมา (mesothelioma) ในปัจจุบันหลายประเทศมีการควบคุมหรือหลีกเลี่ยงไม่ใช้แร่ใยหิน เช่น ประเทศที่พัฒนาแล้วบางประเทศได้พยายามลดและห้ามนำเข้าแร่ใยหิน สำหรับประเทศไทยยังคงมีการนำเข้าแร่ใยหินชนิด chrysotile เพื่อนำมาใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ

องค์การวิจัยมะเร็งนานาชาติ (IARC)<sup>1</sup> ได้ระบุว่าแร่ใยหินทุกชนิดถูกจัดเป็นสารก่อมะเร็งกลุ่ม 1 ซึ่งหมายถึง กลุ่มที่มีหลักฐานแน่ชัดว่าสามารถทำให้เกิดมะเร็งในคนได้ อันตรายของแร่ใยหินต่อสุขภาพ

ส่วนใหญ่เกิดจากการแพร่กระจายของฝุ่นแร่ใยหินในบริเวณโรงงาน บริเวณที่พ่นพริกที่มีการซ่อมแซมสถานที่ปฏิบัติงาน โดยเข้าสู่ร่างกายทั้งทางการหายใจหรือการกลืนกินเข้าไปจากการปนเปื้อนในอาหาร หากหายใจเอาฝุ่นแร่ใยหินเข้าไปในร่างกายเป็นเวลานานๆ และปริมาณมากๆ จะมีอาการไอ มีเสมหะปนเลือด เหนื่อยง่าย หายใจไม่สะดวก เจ็บหน้าอกเวลาหายใจ เล็บเขียว ซึ่งเป็นอาการหลักของโรคเยื่อหุ้มปอดอักเสบ โดยทำยที่สุดเมื่อสะสมในร่างกายเป็นเวลานานอาจก่อให้เกิดโรคมะเร็ง ซึ่งปัจจุบันมีรายงานการวิจัยที่ยืนยันการใช้แร่ใยหินชนิด chrysotile ว่าสามารถก่อให้เกิดโรคมะเร็งได้ ซึ่งอาจใช้เวลา 10-40 ปี<sup>2</sup>

#### เอกสารอ้างอิง

1. องค์การวิจัยมะเร็งนานาชาติ (International Agency for Research on Cancer, IARC). สืบค้นจาก <http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/ClassificationsGroupOrder.pdf>. วันที่เข้าไปสืบค้น 27 กันยายน 2555.
2. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Toxicological Profile for Asbestos. September 2001. Available at: <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp61.pdf>. Accessed September 27, 2012.

# การแพ้ยา Oxaliplatin: กรณีศึกษาจากโรงพยาบาลมหาราช นครศรีธรรมราช

สุรียน อู่ยตระกูล<sup>1</sup>  
สุเพ็ญพร อักษรวงศ์<sup>2</sup>

**บทคัดย่อ** การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาความถี่และลักษณะของการแพ้ยา Oxaliplatin รวมทั้งวิเคราะห์แนวทางการจัดการผู้ป่วยที่แพ้ยา Oxaliplatin โดยทำการศึกษาเชิงพรรณนาแบบเก็บข้อมูลไปข้างหน้าจากผู้ป่วยที่ได้รับยาเคมีบำบัดในหอผู้ป่วยของโรงพยาบาลมหาราชนครศรีธรรมราช ระหว่างเดือน มกราคม พ.ศ. 2553 ถึงเดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2555 การศึกษานี้เป็นการเก็บข้อมูลผู้ป่วยที่ใช้ยาเคมีบำบัดสูตรที่มี Oxaliplatin เป็นองค์ประกอบ และบันทึกลงในแบบฟอร์ม Drug Therapy Monitoring Record เมื่อพบผู้ป่วยที่สงสัยว่าแพ้ยา เกสซกรจะเข้าไปประเมินการแพ้ยาโดยใช้เกณฑ์จาก Common Toxicity Criteria for Adverse Events V.4.0 พร้อมกับวิเคราะห์แนวทางการจัดการผู้ป่วยแพ้ยาที่เกิดขึ้น ผลจากการเก็บข้อมูลผู้ป่วยที่ได้รับยา Oxaliplatin เพื่อรักษาโรคมะเร็งทั้งหมดจำนวน 48 ราย พบว่าเป็นผู้ป่วยเพศชายและหญิงในสัดส่วนใกล้เคียงกัน ผู้ป่วยร้อยละ 85.4 ไม่มีประวัติการแพ้มาก่อน และร้อยละ 68.8 ได้รับยาเคมีบำบัดเป็นครั้งแรก จากการติดตามพบผู้ป่วยที่ได้รับการประเมินแล้วว่าแพ้ยา Oxaliplatin จริงจำนวน 4 ราย (ร้อยละ 8.3) มีระดับความรุนแรงที่ระดับ 1-3 อาการแพ้พบได้ตั้งแต่ 30 นาที ถึง 19 ชั่วโมงหลังได้รับยา และมักจะเกิดในรอบการให้ยาที่ 5 ผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าแพ้ยา Oxaliplatin จะได้รับยา Chlorpheniramine 10 mg ชนิดฉีดและเพิ่มยาก่อนให้เคมีบำบัด (premedication) มากขึ้น โดยแพทย์เพิ่มขนาด Dexamethasone เพิ่มยา Chlorpheniramine และอาจเพิ่มยา Ranitidine ในผู้ป่วยบางราย พร้อมกับเพิ่มระยะเวลาการให้ยาเป็น 6 ชั่วโมง สรุปได้ว่าผู้ป่วยที่ใช้ยา Oxaliplatin ส่วนใหญ่มักเกิดอาการแพ้ในรอบการให้ยาค้างๆ ซึ่งการที่ผู้ป่วยเกิดอาการแพ้หลังจากได้รับยาไปแล้วหลายครั้ง อาจทำให้บุคลากรทางการแพทย์ไม่ได้เฝ้าระวังการแพ้ยา และบางครั้งเมื่อแพทย์ผู้ทำการรักษาพบผู้ป่วยเกิดการแพ้ยา Oxaliplatin ในระดับที่ไม่รุนแรง อาจทำให้แพทย์หยุดการให้ยา Oxaliplatin ทันที ซึ่งทำให้ผู้ป่วยเสียโอกาสในการรักษาเนื่องจากสูตรยาที่ใช้ในการรักษามะเร็งลำไส้ใหญ่มีไม่มากนัก ผลจากการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าการให้ยา Oxaliplatin เข้าโดยเพิ่ม premedication และเพิ่มระยะเวลาของการให้ยา ทำให้ผู้ป่วยสามารถให้ยา Oxaliplatin ในครั้งต่อไปได้อย่างไม่เกิดปัญหา อย่างไรก็ตาม แนวทางการจัดการเมื่อผู้ป่วยแพ้ยา Oxaliplatin ควรได้รับการพัฒนาให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น อันจะช่วยทำให้ผู้ป่วยแพ้ยา Oxaliplatin สามารถให้ยาต่อได้จนครบรอบของการรักษา (วารสารโรคมะเร็ง 2555;32:104-110.)

คำสำคัญ: Oxaliplatin การแพ้ยา เคมีบำบัด ผู้ป่วยมะเร็ง

<sup>1</sup>สำนักวิชาเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์, <sup>2</sup>กลุ่มงานเภสัชกรรม โรงพยาบาลมหาราชนครศรีธรรมราช

## Oxaliplatin Hypersensitivity Reaction: Case Analysis from Maharaj Nakhon Si Thammarat Hospital

by **Suriyon Uitrakul<sup>1</sup>, Supenporn Aksornwong<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*School of Pharmacy, Walailak University,*

<sup>2</sup>*Department of Pharmacy, Maharaj Nakhon Si Thammarat Hospital*

**Abstract** This study aimed to identify the frequency and characteristics of hypersensitivity to Oxaliplatin, including analysis of the management of hypersensitivity. The data were prospectively collected from the patients treated with the Oxaliplatin-based regimen using the Drug Therapy Monitoring Record at Maharaj Nakhon Si Thammarat Hospital. Then, the level of hypersensitivity was assessed according to the Common Toxicity Criteria for Adverse Events V.4.0 from January 2010 to May 2012. In this study, it was found from 48 patients whom used Oxaliplatin in their regimen that 85.4% had no history of allergy, and 68.8% received chemotherapy for the first time. There were 4 patients, approximately 8.3% of all, got an allergy to Oxaliplatin at level 1-3. The onset of hypersensitivity ranged from 0.5 to 19.2 hours after administration and the median of hypersensitivity event was found in the cycle 5. Patients with hypersensitivity were treated with 10 mg intravenous Chlorpheniramine and received more premedication, including higher dose of Dexamethasone, adding of intravenous Chlorpheniramine and Ranitidine, and more duration of injection up to 6 hours in the next cycle of chemotherapy. In conclusion, because the allergy was found in the later cycle of chemotherapy, some health professionals might ignore the monitoring of allergy. Some physicians changed the therapeutic regimen to the non-Oxaliplatin based regimen even the allergy was not too severe. This management caused patients a loss of opportunity to use Oxaliplatin. The results of this study showed that the allergic patients can continue the same regimen by adding premedication and prolonging the duration of administration. Nevertheless, the more effective management should be developed in the future research to help Oxaliplatin-allergic patients to receive a full course of treatment. (*Thai Cancer J 2012;32:104-110.*)

**Keywords:** Oxaliplatin, hypersensitivity, allergy, chemotherapy, cancer patient

## บทนำ

ยาเคมีบำบัดที่ชื่อว่า Oxaliplatin เป็นอนุพันธ์ของ divalent oxalate salt-platinum compound มีกลไกการออกฤทธิ์โดยสร้างพันธะ covalent กับ purine DNA base ส่งผลขัดขวางการทำงานตามปกติของ DNA และทำให้เซลล์ตายในที่สุด<sup>1</sup> Oxaliplatin ได้รับการรับรองจากองค์การอาหารและยา ประเทศสหรัฐอเมริกา ให้ใช้เป็นยาทางเลือกแรกและยาทางเลือกรองเพื่อรักษามะเร็งลำไส้ใหญ่ระยะแพร่กระจายร่วมกับยา Fluorouracil และ Leucovorin<sup>2</sup> นอกจากนั้น

ยังถูกใช้ในการรักษามะเร็งอีกหลายชนิด เช่น มะเร็งทางเดินอาหาร มะเร็งกระเพาะอาหาร มะเร็งส่วนศีรษะและลำคอ มะเร็งตับอ่อน เป็นต้น

การแพ้ยา Oxaliplatin เป็นอาการไม่พึงประสงค์อย่างหนึ่งที่ได้จากการใช้ยา กลไกการเกิดอาการแพ้ยายังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด แต่มีการศึกษาพบว่าอุบัติการณ์ของการแพ้ยา Oxaliplatin สูงถึงร้อยละ 11.7 และในจำนวนนี้มีผู้ป่วยที่เกิดอาการแพ้รุนแรงในระดัับ 3/4 ถึงร้อยละ 1.6<sup>3</sup> นอกจากนั้น

พบว่าผู้ป่วยเพศหญิง ผู้ป่วยที่มีอายุน้อย ผู้ป่วยที่มีประวัติแพ้ยาอื่น ๆ มาก่อน ผู้ป่วยที่มีระดับ neutrophil สูง และผู้ป่วยที่มีระดับของ monocyte ต่ำ ล้วนมีโอกาสเกิดการแพ้ Oxaliplatin ได้มากกว่าผู้ป่วยในกลุ่มอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญ ( $P = 0.037, 0.02, 0.004, 0.043$  และ  $0.007$  ตามลำดับ)<sup>3,4</sup>

แม้ว่าการศึกษาจำนวนมากจะระบุว่าความถี่ของการเกิดอาการแพ้ยา Oxaliplatin มีค่อนข้างสูง และอาจพบอาการแพ้ที่รุนแรงได้ อย่างไรก็ตามในประเทศไทยยังมีรายงานการเกิดอาการแพ้ยา Oxaliplatin ไม่มากนัก ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อหาความถี่และลักษณะของอาการแพ้ยา Oxaliplatin รวมทั้งวิเคราะห์แนวทางการจัดการกับผู้ป่วยไทยที่แพ้ยาดังกล่าว

## วัสดุและวิธีการ

ผู้วิจัยเก็บข้อมูลจากการติดตามดูแลผู้ป่วยในหอผู้ป่วยโรงพยาบาลมหาราชานครศรีธรรมราชที่ได้รับยาเคมีบำบัด ระหว่างเดือนมกราคม พ.ศ. 2553 ถึงเดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2555 โดยเมื่อมีผู้ป่วยที่ใช้ยาเคมีบำบัดสูตรที่มี Oxaliplatin เป็นองค์ประกอบเภสัชกรจะเข้าไปดูแลผู้ป่วยตามกระบวนการบริหารทางเภสัชกรรม และเก็บข้อมูลของผู้ป่วยบันทึกลงในแบบฟอร์ม Drug Therapy Monitoring Record เมื่อพบผู้ป่วยที่สงสัยว่าจะแพ้ยาเภสัชกรจะเข้าไปประเมินการแพ้ยาโดยใช้เกณฑ์จาก Common Toxicity Criteria for Adverse Events (CTCAE) V.4.0<sup>5</sup> พร้อมกับวิเคราะห์แนวทางการจัดการผู้ป่วยที่แพ้ยา

## กลุ่มตัวอย่าง

ผู้ป่วยทุกรายที่ได้รับยาเคมีบำบัดสูตรที่มี Oxaliplatin ซึ่งเข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลมหาราชานครศรีธรรมราช ระหว่างเดือนมกราคม พ.ศ. 2553 ถึงเดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2555

## การวิเคราะห์ทางสถิติ

การศึกษานี้ใช้สถิติพื้นฐานในการวิเคราะห์ข้อมูลเชิงปริมาณ โดยรายงานผลเป็นความถี่ ร้อยละ หรือค่าเฉลี่ย

## ผลการศึกษา

จากการเก็บข้อมูลผู้ป่วยที่ได้รับยา Oxaliplatin เพื่อรักษาโรคมะเร็งในการศึกษานี้ พบว่ามีผู้ป่วยจำนวน 48 ราย เป็นเพศชายและหญิงในสัดส่วนที่ใกล้เคียงกัน (25:23) ผู้ป่วยส่วนใหญ่ (ร้อยละ 85.4) ไม่มีประวัติการแพ้ยามาก่อน และผู้ป่วยร้อยละ 68.8 ได้รับยาเคมีบำบัดเป็นครั้งแรก ดังแสดงในตารางที่ 1 ซึ่งจากผู้ป่วยทั้งหมดมีผู้ป่วยที่ได้รับการประเมินแล้วว่าแพ้ยา Oxaliplatin จริง จำนวน 4 ราย

เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลของผู้ป่วยที่แพ้ยา Oxaliplatin จำนวน 4 ราย (ตารางที่ 2) พบว่าผู้ป่วยได้รับยาป้องกันอาการแพ้คือ Dexamethasone 10 mg เหมือนกัน แต่เกิดอาการแพ้ในรอบการให้ยาที่ต่างกัน อีกทั้งไม่มีความสัมพันธ์กับขนาดยาสะสมที่ผู้ป่วยได้รับการแพ้ยาที่เกิดขึ้นมักเป็นอาการคันร่วมกับมีผื่นแดงตามตัวและแขนขา ผู้ป่วยทุกรายจะได้รับการรักษาเหมือนกันคือได้ยา Chlorpheniramine ฉีด บางรายอาจได้รับร่วมกับยาแก้แพ้ชนิดอื่น มีผู้ป่วย 3 รายที่สามารถรับยาต่อได้จนครบรอบการรักษาแม้จะเกิดอาการแพ้ยา

ตารางที่ 1 ข้อมูลทั่วไปของผู้ป่วย

| ข้อมูลพื้นฐาน                                   | ผู้ป่วยทั้งหมด          |        | ผู้ป่วยที่เกิดการแพ้ยา  |        |
|---|-------------------------|--------|-------------------------|--------|
|   | จำนวน                   | ร้อยละ | จำนวน                   | ร้อยละ |
| <b>อายุ</b>                                     | เฉลี่ย 60 ปี (38-83 ปี) |        | เฉลี่ย 44 ปี (31-54 ปี) |        |
| <b>เพศ</b>                                      |                         |        |                         |        |
| ชาย   | 25                      | 52.1   | 1                       | 25     |
| หญิง  | 23                      | 47.9   | 3                       | 75     |
| <b>ประวัติการแพ้</b>                            |                         |        |                         |        |
| ไม่มี   | 41                      | 85.4   | 3                       | 75     |
| มี  | 7                       | 14.6   | 1                       | 25     |
| <b>การวินิจฉัย</b>                              |                         |        |                         |        |
| มะเร็งลำไส้ใหญ่ (colon cancer)                  | 30                      | 62.5   | 1                       | 25     |
| มะเร็งไส้ตรง (rectal cancer)                    | 15                      | 31.2   | 3                       | 75     |
| มะเร็งหลอดอาหาร (esophageal cancer)             | 2                       | 4.2    | 0                       | 0      |
| มะเร็งกระเพาะอาหาร (stomach cancer)             | 1                       | 2.1    | 0                       | 0      |
| <b>สูตรยาเคมีบำบัดที่ได้รับแล้วเกิดอาการแพ้</b> |                         |        |                         |        |
| FOLFOX4   | 34                      | 70.8   | 3                       | 75     |
| FOLFOX4 high dose                               | 8                       | 16.6   | 0                       | 0      |
| FOLFOX4 with Bevacizumab                        | 1                       | 2.1    | 0                       | 0      |
| XELOX   | 4                       | 8.4    | 1                       | 25     |
| XELOX with Bevacizumab                          | 1                       | 2.1    | 0                       | 0      |
| <b>ประวัติการได้รับยาเคมีบำบัด</b>              |                         |        |                         |        |
| ได้รับยาเคมีบำบัดครั้งแรก                       | 33                      | 68.8   | 4                       | 100    |
| ได้รับยาเคมีบำบัดครั้งที่สองขึ้นไป              | 15                      | 31.2   | 0                       | 0      |

เมื่อนำกรณีศึกษาผู้ป่วยที่แพ้ยา Oxaliplatin มาจำแนกตามลักษณะการแพ้ยาที่เกิดขึ้น พบว่าผู้ป่วยที่เกิดอาการแพ้ยามีระดับความรุนแรงที่ระดับ 1-3 โดย 3 รายพบอาการแพ้ในระดับ 1/2 อาการแพ้มักเกิดในช่วง 30-40 นาทีหลังให้ยา Oxaliplatin และมักจะเกิดในรอบการให้ยาที่ 5 อย่างไรก็ตาม พบผู้ป่วย 1 รายที่เกิดอาการแพ้ยาหลังได้รับยาไปแล้วถึง 19

ชั่วโมง และรอบการให้ยาที่เกิดอาการแพ้สามารถพบได้ตั้งแต่รอบที่ 2 จนถึงรอบที่ 8 ผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าแพ้ยา Oxaliplatin จะได้รับยา Chlorpheniramine 10 mg ฉีด และเพิ่มยาก่อนให้เคมีบำบัดมากขึ้น โดยแพทย์มักจะเพิ่มขนาดของ Dexamethasone เพิ่มยา Chlorpheniramine และอาจเพิ่มยา Ranitidine ให้ในผู้ป่วยบางราย (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 2 ข้อมูลผู้ป่วยที่แพ้ยา Oxaliplatin จำนวน 4 ราย

| ผู้ป่วย | สูตรยา            | Premedication  | Cycle ที่เกิดการแพ้ | Oxali-platin ในแต่ละครั้ง (mg) | Oxali-platin สะสม (mg) | HSR grade | อาการไม่พึงประสงค์ที่พบ    | ระยะเวลาที่เริ่มเกิดอาการแพ้หลังจากให้ยา (นาที) | การรักษาอาการไม่พึงประสงค์ที่เกิดขึ้น  | การให้ยาซ้ำ |
|---------|-------------------|--|---------------------|--------------------------------|------------------------|-----------|----------------------------|---|--|-------------|
| 1       | XELOX             | Dexamethasone 10 mg IV<br>Odansetron 8 mg IV             | 8                   | 130                            | 910                    | 3         | Erythema, itching          | 30  | Chlorpheniramine 20 mg IV<br>Dexamethasone 10 mg IV<br>Omeprazole 40 mg IV<br>Oxygen canular 3 LPM | ไม่มี       |
| 2       | High dose FOLFOX4 | Dexamethasone 10 mg IV<br>Metoclopramide 10 mg IV q 6 hr | 2                   | 117.3                          | 234.6                  | 1         | Erythema, itching          | 30  | Chlorpheniramine injection<br>Hydroxyzine 10 mg<br>1 tab BID pc                                    | มี          |
| 3       | FOLFOX4           | Dexamethasone 10 mg IV<br>Odansetron 4 mg IV             | 6                   | 138.5                          | 1940                   | 2         | Erythema, itching, dyspnea | 576   | Chlorpheniramine injection<br>Hydroxyzine 10 mg<br>1 tab BID pc                                    | มี          |
| 4       | FOLFOX4           | Ondansetron 4 mg IV                                      | 4                   | 152                            | 608                    | 1         | Erythema, itching          | 1152  | Chlorpheniramine 4 mg<br>1 tab BID pc  | มี          |

HSR = hypersensitivity reaction, IV = intravenous, LPM = litre per minute, BID = twice a day, pc = after meal

ตารางที่ 3 สรุปลักษณะและการจัดการกับอาการแพ้ยา Oxaliplatin ของผู้ป่วยจำนวน 4 ราย

| ลักษณะ   | จำนวน                |
|--|----------------------|
| <b>ความรุนแรงของอาการแพ้</b>                   |                      |
| ระดับ 1/2                                      | 3 ราย                |
| ระดับ 3/4                                      | 1 ราย                |
| <b>ระยะเวลาตั้งแต่เริ่มให้ยาจนเกิดอาการแพ้</b> |                      |
| มัธยฐาน (ช่วงกว้าง)                            | 9 ชั่วโมง (0.5-19.2) |
| <b>รอบยาเคมีบำบัด (cycle) ที่เกิดอาการแพ้</b>  |                      |
| มัธยฐาน (ช่วงกว้าง)                            | 5 (2-8)              |
| <b>การให้ยาก่อนเคมีบำบัด (Premedication)</b>   |                      |
| Dexamethasone 10 mg IV                         | 4 ราย                |
| <b>การจัดการเมื่อผู้ป่วยแพ้ยา</b>              |                      |
| ให้ยา Chlorpheniramine 10 mg IV                | 4 ราย                |
| <b>การจัดการเพื่อป้องกันการแพ้ซ้ำ</b>          |                      |
| เพิ่มขนาดยา Dexamethasone เป็น 20 mg IV        | 4 ราย                |
| เพิ่มยา Chlorpheniramine 10 mg IV              | 3 ราย                |
| เพิ่มยา Ranitidine 50 mg IV                    | 2 ราย                |
| ขยายระยะเวลาให้ยาเป็น 6 ชั่วโมง                | 1 ราย                |
| เปลี่ยนสูตรยา                                  | 1 ราย                |

## วิจารณ์และสรุป

ผู้ป่วยที่ใช้ยา Oxaliplatin มีโอกาสเกิดอาการแพ้ยาได้ โดยส่วนใหญ่มักเกิดใน cycle ที่ 7 แต่อาจเกิดได้ตั้งแต่ cycle ที่ 1-11<sup>3</sup> ซึ่งใกล้เคียงกับกรณีศึกษาที่พบว่าค่ามัธยฐานของผู้ป่วยที่เกิดอาการแพ้เกิดใน cycle ที่ 5 การที่ผู้ป่วยเกิดอาการแพ้ใน cycle หลังจากให้ยาไปค่อนข้างนาน อีกทั้งระยะเวลาการเกิดอาจเกิดขึ้นได้ตั้งแต่เป็นนาทีจนถึงเป็นวัน<sup>6</sup> ดังกรณีศึกษาที่พบว่าผู้ป่วยที่เกิดอาการแพ้หลังได้รับยาไปถึง 19.2 ชั่วโมง ลักษณะเช่นนี้อาจทำให้บุคลากรทางการแพทย์ไม่ได้ให้ความสำคัญกับการแพ้ยา Oxaliplatin เท่าที่ควร ผู้ป่วยที่เกิดอาการแพ้ส่วนใหญ่เป็นผู้ป่วยที่ใช้ยาในสูตร FOLFOX-4 ซึ่งประกอบไปด้วยยา Oxaliplatin, Carboplatin และ Fluorouracil สอดคล้องกับผลการศึกษาที่พบอัตราการแพ้ยา Oxaliplatin จากสูตร FOLFOX4 มากกว่า FOLFOX-3 และ Irinotecan+Oxaliplatin (ร้อยละ 18.1, 8.8 และ 6.6 ตามลำดับ)<sup>7</sup>

เมื่อเกิดการแพ้ยาขึ้น เกสัชกรมีหน้าที่เข้าไปประเมินการแพ้ยา จัดการแก้ไขภาวะแพ้ยา รวมทั้งป้องกันไม่ให้เกิดการแพ้ยาซ้ำ มีผู้เสนอแนวทางการให้ยาก่อนเคมีบำบัดเพื่อป้องกันการแพ้ยาซ้ำหลายรูปแบบ ตัวอย่างเช่นการให้ corticosteroid ในขนาดสูงร่วมกับ antihistamine ก่อนให้ยาเคมีบำบัด<sup>7</sup> หรือการใช้ Dexamethasone 20 mg ร่วมกับ Cimetidine 300 mg, Diphenhydramine 25 mg และ Acetaminophen 650 mg ก่อนให้ยาเคมีบำบัด และขยายเวลาการให้ยาจาก 2 ชั่วโมงเป็น 6 ชั่วโมง<sup>8</sup> ซึ่งจากกรณีศึกษาครั้งนี้ พบว่าผู้ป่วยบางรายได้รับการป้องกันการ

แพ้ยาซ้ำตามแนวทางนี้ อย่างไรก็ตามการศึกษาที่ผ่านมาพบว่ามีผู้ป่วยประมาณหนึ่งในสาม (ร้อยละ 36.7) ที่เกิดอาการแพ้ยาซ้ำแม้ว่าผู้ป่วยจะได้รับยาป้องกันอย่างดีแล้วก็ตาม<sup>9</sup>

การขจัดภูมิไว (desensitization) ต่อยา Oxaliplatin เป็นแนวทางหนึ่งที่สามารถกระทำได้เมื่อผู้ป่วยแพ้ยาแต่จำเป็นต้องได้รับยาต่อเนื่อง<sup>10</sup> แต่การทำ desensitization ในโรงพยาบาลยังไม่เป็นที่แพร่หลายเนื่องจากความซับซ้อนของขั้นตอนการเตรียมสารละลายและแพทย์มีทางเลือกอื่นที่เหมาะสมมากกว่าการทำ desensitization จากการศึกษาของโรงพยาบาลมหาราชนครศรีธรรมราช แพทย์เลือกที่จะให้ยาซ้ำโดยไม่ทำ desensitization แต่ใช้วิธีการจัดการรูปแบบอื่น เช่น การให้ยาป้องกันอาการแพ้ก่อนให้ยาเคมีบำบัด หรือการยี่ดระยะเวลาการให้ยาเคมีบำบัดออกไป ซึ่งผลปรากฏว่าผู้ป่วยทั้งหมดที่ได้รับยาซ้ำสามารถใช้ยา Oxaliplatin ต่อไปได้จนครบการรักษา

## ข้อเสนอแนะ

การศึกษานี้เป็นกรณีศึกษาผู้ป่วย ซึ่งยังมีผู้ป่วยจำนวนน้อยเกินกว่าจะหาอุบัติการณ์ของการแพ้ยา Oxaliplatin ในโรงพยาบาลได้ อย่างไรก็ตามจำนวนผู้ป่วยแพ้ยา Oxaliplatin ที่เกิดขึ้นเป็นสิ่งที่ไม่ควรถูกมองข้าม โดยอาจทำการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อหาอุบัติการณ์การเกิดที่แท้จริงของโรงพยาบาลรวมทั้งแนวทางการจัดการที่มีประสิทธิภาพมากขึ้นเมื่อผู้ป่วยเกิดอาการแพ้ยา และแนวทางการป้องกันการแพ้ยา Oxaliplatin ซ้ำที่มีประสิทธิภาพในโรงพยาบาลต่อไป

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ฝ่ายเภสัชกรรม และหอผู้ป่วย  
ศัลยกรรมหญิง 2 โรงพยาบาลมหาราชนครศรีธรรมราช  
ที่อำนวยความสะดวกในการเก็บข้อมูลและมอบข้อเสนอ  
แนะอันเป็นประโยชน์

### เอกสารอ้างอิง

1. Reed E, Chabner BA. Platinum Analogues. In: Chabner BA, Longo DL, editors. Cancer Chemotherapy and Biotherapy: Principles and Practice. 5<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2011. p. 310-2.
2. Rothenberg ML, Oza AM, Bigelow RH, Berlin JD, Marshall JL, Ramanathan R, et al. Superiority of oxaliplatin and fluorouracil - leucovorin compared with either therapy alone in patients with progressive colorectal cancer after irinotecan - fluorouracil - leucovorin: interim results of a phase 3 trial. *J Clin Oncol* 2003;21:2059-69.
3. Kim BH, Bradley T, Tai J, Budman DR. Hypersensitivity to oxaliplatin: an investigation of incidence and risk factors, and literature review. *Oncology* 2009;76: 231-8.
4. Seki K, Senzaki K, Tsuduki Y, Iroji T, Fujii M, Yamauchi H, et al. Risk factors for oxaliplatin - induced hyper-

sensitivity reactions in Japanese patients with advanced colorectal cancer. *Int J Med Sci* 2011; 8:210-5.

5. National Cancer Institute, National Institutes of Health. Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE), Version 4.0. U.S. Department of Health and Human Services; 2010. p. 26.
6. Bonosky K, Miller R. Hypersensitivity reactions to oxaliplatin: what nurses need to know. *Clin J Oncol Nurs* 2005;9:325-30.
7. Brandi G, Pantaleo MA, Galli C, Falcone A, Antonuzzo A, Mordenti P, et al. Hypersensitivity reactions related to oxaliplatin (OHP). *Br J Cancer* 2003; 89:477-81.
8. Dold F, Hoey, D Carberry, M Musket A, Friedberg V, Mitchell E, et al. Hypersensitivity in patients with metastatic colorectal carcinoma undergoing chemotherapy with oxaliplatin. *Proc Am Soc Clin Oncol* 21:2002 (abstr 1478)
9. Suenaga M, Mizunuma N, Shinozaki E, Matsusaka S, Chin K, Muto T, et al. Management of allergic reactions to oxaliplatin in colorectal cancer patients. *J Support Oncol* 2008;6:373-8.
10. Syrigou EI, Karapanagiotou EM, Alamara CV, Boura PG, Saif MW, Syriqos KN. Hypersensitivity reactions to oxaliplatin: a retrospective study and the development of a desensitization protocol. *Clin Colorectal Cancer* 2009;8:106-9.

# การเปรียบเทียบผลการตรวจและวิเคราะห์สายพันธุ์ ของไวรัสฮิวแมนแพพพิวโลมาในเซลล์ปากมดลูกที่ผิด ปรกติด้วยวิธี Enzyme-Immunoassay และวิธี Reverse Line Blot Hybridization

จรัญญา งามขำ  
กฤติกา บุญมาก  
เทียนแสง พันธุ์ศรี

**บทคัดย่อ** ไวรัสฮิวแมนแพพพิวโลมาเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดความผิดปกติของเซลล์หรือเกิดเซลล์มะเร็งปากมดลูก การติดเชื้อของไวรัสในกลุ่มที่มีความเสี่ยงสูงเป็นระยะเวลานานมักมีความเกี่ยวข้องกับกระบวนการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคมะเร็ง ในการศึกษาครั้งนี้คณะผู้วิจัยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเปรียบเทียบผลการตรวจหาความชุกและสายพันธุ์ของไวรัสฮิวแมนแพพพิวโลมาในเซลล์ปากมดลูกที่มีความผิดปกติของหญิงไทยจำนวน 122 รายที่มารับการตรวจจักษุวินิจฉัย และรักษา ณ สถาบันมะเร็งแห่งชาติ ด้วยวิธี enzyme-immunoassay (EIA) และ reverse line blot hybridization (RLB) จากผลการศึกษพบว่ากลุ่มตัวอย่าง มีอายุเฉลี่ยประมาณ 48 ปี (SD=11.85) โดยสามารถตรวจพบไวรัสจำนวน 86/122 ราย (ร้อยละ 70.5) และ 90/122 ราย (ร้อยละ 73.8) ด้วยวิธีการทดสอบแบบ EIA และ RLB ตามลำดับ สายพันธุ์ที่พบมากใน 3 ลำดับแรกคือ HPV-16 (ร้อยละ 45.6) HPV-18 (ร้อยละ 21.1) และ HPV-58 (ร้อยละ 8.8) นอกจากนี้ยังพบว่าการทดสอบทั้งสองวิธีสามารถตรวจพบการติดเชื้อเดี่ยวและการติดเชื้อร่วมของไวรัสในหลาย สายพันธุ์ ( $\geq 2$  สายพันธุ์) และผลการตรวจวิเคราะห์มีค่าที่ใกล้เคียงกันมากสามารถยอมรับได้ในระดับสูง ( $K=0.88$ ) จากผลการวิจัยสรุปได้ว่า การตรวจหาและจำแนกสายพันธุ์ของไวรัสฮิวแมนแพพพิวโลมา โดยเฉพาะสายพันธุ์ที่มีความรุนแรงและสัมพันธ์กับการเกิดโรคมะเร็งสามารถช่วยในการคัดกรองหญิงไทยที่มีความเสี่ยงสูงต่อการเกิดความผิดปกติของเซลล์ปากมดลูก ซึ่งจะนำไปสู่การป้องกันและลดอุบัติการณ์การเกิดมะเร็งปากมดลูกในประเทศไทยต่อไป (วารสารโรคมะเร็ง 2555;32:111-122.)

คำสำคัญ: ไวรัสฮิวแมนแพพพิวโลมา สายพันธุ์ มะเร็งปากมดลูก หญิงไทย

## Comparison of Human Papillomavirus Detection and Genotyping in Abnormal Cervical Lesions using Enzyme-Immunoassay and Reverse Line Blot Hybridization

by **Jarunya Ngamkham, Krittika Boonmark, Thainsang Phansri**

*Field study research section, Research Division, National Cancer Institute, Bangkok 10400, Thailand*

**Abstract** Human papillomavirus (HPV) is the major cause of neoplasia lesion and invasive cervical cancer. The persistent infection with high risk HPV genotype is related with carcinogenesis. The purpose of this study was to investigate the frequency and genotypes of HPV and, then, compare the results of HPV detection by the methods of enzyme-immunoassay (EIA) and reverse line blot hybridization (RLB) to analyze abnormal cervical tissues. The samples were collected from 122 Thai women who were screened for cervical cancer at the National Cancer Institute, Thailand. Our results showed that the mean age of the patients was 48 years (SD=11.85). The HPV DNA positive specimens were found to be 86/122 (70.5%) and 90/122 (73.8%) by EIA and RLB, respectively. The three most common HPV types in squamous cell carcinoma (SCC) included HPV-16 (45.6%), HPV-18 (21.1%) and HPV-58 (8.8%). In addition, both methods can be used to detect in either single or multiple type infection ( $\geq 2$  types). The typing procedures used in this study had an excellent agreement ( $K=0.88$ ). In conclusion, the HPV DNA detection as well as type-distribution assay, especially the oncogenic HPV type detection which played an important role in carcinogenesis, may be contributed to the cancer screening of the high risk group who illustrated more abnormal cervical cells among Thai women. Thus, it could lead to the prevention and the decreasing incidence of cervical cancer in Thailand. (*Thai Cancer J 2012;32:111-122.*)

**Keywords:** human papillomavirus, genotype, cervical cancer, Thai women

## บทนำ

การติดเชื้อไวรัสฮิวแมนแพพพิลโลมา (Human papillomavirus; HPV) เป็นสาเหตุสำคัญที่ก่อให้เกิดมะเร็งปากมดลูก<sup>1</sup> โดยพบว่า HPV มีความสัมพันธ์กับการเกิด pre-malignant และ malignant lesions<sup>2</sup> จากการศึกษาทางระบาดวิทยาพบว่าประมาณร้อยละ 90 ของสตรีที่มีความผิดปกติของเซลล์ปากมดลูกมีการติดเชื้อของ HPV ร่วมด้วย และมักพบการติดเชื้อบริเวณ cutaneous หรือ epithelial surface<sup>3,4</sup> หากมีการติดเชื้อเป็นระยะเวลานานอาจส่งผลให้เซลล์ปรกติมีการเปลี่ยนแปลงจนกลายเป็นเซลล์มะเร็ง<sup>5,6</sup> ซึ่งระยะเวลาในการพัฒนาจากเซลล์ปรกติจนกลายเป็นเซลล์มะเร็งจะใช้เวลาประมาณ 10-15 ปี<sup>7</sup> ถ้าพบการติดเชื้อในระยะแรกๆ สามารถดำเนินการวางแผนควบคุม

ป้องกัน และเฝ้าติดตามเพื่อป้องกันมิให้กลายเป็นเซลล์มะเร็งได้ซึ่งจะช่วยลดอุบัติการณ์การเกิดมะเร็งที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อ HPV โดยเฉพาะมะเร็งที่เกี่ยวข้องกับอวัยวะสืบพันธุ์ (genital tract) เช่นมะเร็งปากมดลูก เป็นต้น ผู้ติดเชื้อบางรายสามารถฟื้นฟูและซ่อมแซมสภาพเซลล์ หรือมีภูมิคุ้มกันที่ดีก็สามารถป้องกันและต้านการเกิดการกลายพันธุ์ของเซลล์ได้ อย่างไรก็ตามโอกาสในการติดเชื้อซ้ำก็สามารถเกิดขึ้นได้และอาจเป็นคนละสายพันธุ์จากการติดเชื้อในครั้งแรก<sup>2,8</sup>

ในปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์สามารถจำแนกสายพันธุ์ของ HPV จากความแตกต่างของลำดับเบสในสายพันธุ์กรรมของไวรัสบริเวณ L1 region ซึ่งเป็นโปรตีนหลักในส่วนของ capsid ที่มีหน้าที่ในการห่อหุ้มไวรัส

ชนิดนี้โดยสามารถจำแนกได้มากกว่า 100 สายพันธุ์ แต่มีเพียงประมาณ 30-40 สายพันธุ์เท่านั้นที่มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อเนื่องจากการมีเพศสัมพันธ์ และแบ่งเป็น 2 กลุ่มหลักๆ ตามความรุนแรงของการติดเชื้อหรือการก่อเกิดโรค คือ กลุ่มเสี่ยงสูง (high risk group) และกลุ่มเสี่ยงต่ำ (low risk group)<sup>9</sup> สำหรับสายพันธุ์ที่จัดอยู่ในกลุ่มเสี่ยงสูง ประกอบด้วย HPV-16, -18, -31, -33, -35, -39, -45, -51, -52, -56, -58, -59, -68, -73 และ -82 ซึ่งสายพันธุ์ที่ 16 และ 18 จะมีคุณสมบัติเป็น oncogenic type สูงกว่าสายพันธุ์อื่นๆ จากการศึกษาทางระบาดวิทยาพบว่า ร้อยละ 70 ของผู้ที่ติดเชื้อ HPV มีการติดเชื้อของ HPV-16 และ -18 และร้อยละ 20 เป็นการติดเชื้อ HPV-31, -33, -35, -45, -52 และ -58<sup>6,8-10</sup> อย่างไรก็ตาม ความชุกหรืออุบัติการณ์การติดเชื้อ HPV ในแต่ละสายพันธุ์ของแต่ละพื้นที่อาจมีความเหมือนหรือแตกต่างกัน ทั้งนี้มีผลมาจากพฤติกรรม การดำรงชีพ การมีเพศสัมพันธ์หรือสุขอนามัยของประชากร ฯลฯ ตลอดจนการดำเนินการวางแผนการคัดกรองมะเร็งในระยะเริ่มแรก การให้ความรู้และการจัดการทางด้านสาธารณสุขในพื้นที่นั้นๆ<sup>2,11,12</sup>

สำหรับการตรวจหาเชื้อ HPV โดยวิธีการเพาะเชื้อยังไม่สามารถทำได้ในระดับหลอดทดลองในห้องปฏิบัติการ ดังนั้นการตรวจหาและจำแนกสายพันธุ์จาก HPV DNA จึงเป็นวิธีการหนึ่งที่น่ามาใช้เพื่อศึกษาถึงความชุกหรืออุบัติการณ์ของการติดเชื้อ HPV ในตัวอย่างที่ต้องการนำมาทดสอบ ซึ่งในปัจจุบันมีการพัฒนาวิธีการทดสอบที่หลากหลายทั้งที่เป็นการทดสอบในห้องปฏิบัติการหรือการนำผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปมาใช้ทดสอบ โดยหลักการพื้นฐานของวิธีการตรวจ

หา HPV สามารถแบ่งเป็น direct probe assay ซึ่งวิธีที่นับว่าเป็นการทดสอบแบบมาตรฐานที่อาศัยหลักการนี้ได้แก่ southern blot hybridization สำหรับหลักการที่สองได้แก่ signal amplification assay วิธีการทดสอบที่อาศัยหลักการนี้มักมีการพัฒนาเพื่อการค้าเนื่องจากให้ผลการทดสอบค่อนข้างรวดเร็ว แต่ยังสามารถตรวจจำแนกสายพันธุ์ของไวรัสได้น้อย ได้แก่ Hybrid capture II เป็นต้น ส่วนหลักการที่สามและสี่คือ target amplification assay และ target amplification couple with hybridization-based assay ตามลำดับ ซึ่งวิธีการทดสอบในแต่ละกลุ่มจะมีวิธีการทดสอบที่แตกต่างแยกย่อยอีกหลายวิธี โดยแต่ละวิธีก็จะมีข้อดีและข้อจำกัดที่แตกต่างกันไป ทั้งในด้านของปริมาณตัวอย่างที่นำมาทดสอบระยะเวลา ความไวหรือความจำเพาะของการทดสอบ รวมทั้งต้นทุนที่ต้องใช้ในการทดสอบ ทั้งนี้วิธีที่เหมาะสมสำหรับการตรวจสอบในแต่ละครั้งขึ้นอยู่กับตัวอย่างที่ต้องการศึกษาความไว (sensitivity) ความจำเพาะของวิธีการทดสอบ (specificity) และวัตถุประสงค์ของผู้ศึกษา<sup>7</sup> สำหรับการศึกษานี้ คณะผู้วิจัยได้ตรวจหาและจำแนกสายพันธุ์ของ HPV ในเซลล์ปากมดลูกที่มีความผิดปกติจากผู้ป่วยที่เข้ารับการตรวจวินิจฉัยหรือรักษา ณ สถาบันมะเร็งแห่งชาติ มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบผลการตรวจจากการทดสอบด้วย 2 วิธีที่มีการพัฒนาขึ้นจากนักวิทยาศาสตร์และห้องปฏิบัติการทางด้านการตรวจหาและวิเคราะห์สายพันธุ์ของ HPV โดยอาศัยหลักการพื้นฐานในการทดสอบแบบ target amplification coupled with hybridization methods ที่มีความจำเพาะต่อการตรวจหาและจำแนกสายพันธุ์ของ HPV ค่อนข้างสูงและ

เป็นที่ยอมรับอย่างกว้างขวางในห้องปฏิบัติการ คือวิธี enzyme-immuno assay (EIA) และวิธี reverse line blot hybridization (RLB)

## วัสดุและวิธีการ

### กลุ่มตัวอย่าง

ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษานี้เป็นการเก็บเซลล์ปากมดลูกที่มีความผิดปกติจากสตรีที่เข้ารับการตรวจวินิจฉัยหรือรักษา ณ สถาบันมะเร็งแห่งชาติ จำนวน 122 ราย ในช่วงปี 2546-2547 และมีรายงานยืนยันผลการตรวจทางเซลล์วิทยา/พยาธิวิทยา จากกลุ่มงานพยาธิวิทยา โดยตัวอย่างที่เก็บจากกลุ่มงานมะเร็งนรีเวชเป็นการเก็บเซลล์จากบริเวณ transformation zone ด้วย cytobrush และดึงเซลล์จาก cytobrush โดยการแช่ใน phosphate buffer saline (PBS) ที่บรรจุในหลอดที่ปราศจากเชื้อ จากนั้นนำมาปั่นด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง ขนาด 3000xg นาน 10 นาที ดูดส่วนที่เป็นสารละลายทิ้ง เติม 10 mM Tris-HCl pH 7.4 จำนวน 1 มิลลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปเก็บที่ -20°C เพื่อรอตรวจในขั้นตอนต่อไป การศึกษานี้คณะผู้วิจัยได้รับการอนุมัติจากคณะกรรมการวิจัยเลขที่ 205/2554 และคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน สถาบันมะเร็งแห่งชาติ (EC 205/2554) ให้สามารถดำเนินการวิจัย

### การสกัด DNA จากเซลล์ปากมดลูก

การสกัด DNA จากตัวอย่างที่ต้องการทดสอบใช้ชุดสกัดสำเร็จรูปตามขั้นตอนที่แนบมากับชุดน้ำยา QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN, Germany) จากนั้นนำ DNA ที่สกัดได้มาทดสอบคุณภาพด้วยการเพิ่ม

จำนวนสารพันธุกรรมด้วยวิธี polymerase chain reaction (PCR) โดยใช้ beta-globin gene เป็นตัวตรวจสอบ ซึ่งมีลำดับเบสของ primers ดังนี้ BGPCO3; ACA CAA CTG TGT TCA CTA GC และ BGPCO5; GAA ACC CAA AG TCT TCT CT<sup>13</sup> ส่วนผสมจำนวน 50 µl ของ PCR solution ประกอบด้วย DNA ที่สกัดได้จำนวน 10 µl ผสมกับ 10x PCR buffer, 25 mM MgCl<sub>2</sub>, 2 mM dNTPs, 20 pmole ของ primer แต่ละเส้น Taq polymerase enzyme (QIAGEN, Germany) และน้ำกลั่นโดยทำปฏิกิริยาในเครื่อง PCR (Applied Biosystems, USA) ตามขั้นตอนคือ บ่มที่อุณหภูมิ 95°C 4 นาที ตามด้วย 4 รอบของอุณหภูมิ 94°C 1 นาที 58°C 2 นาที 72°C 1.30 นาที และ 72°C 4 นาทีเป็นขั้นตอนสุดท้าย ตรวจสอบประสิทธิภาพของปฏิกิริยาด้วยเครื่องแยกสารพันธุกรรมด้วยกระแสไฟฟ้า (electrophoresis) บน 2% agarose gel ที่ผสมน้ำยา Gel Star® Nuclis Acid Gel Stain (Lonza, USA) เพื่อย้อม DNA สำหรับตัวอย่างที่ให้ผลลบจะนำมาใช้ในการตรวจหา HPV DNA และวิเคราะห์สายพันธุ์ในขั้นตอนต่อไป

### วิธีการตรวจหา HPV DNA และจำแนกสายพันธุ์

#### วิธี Enzyme-immunoassay (EIA)

การตรวจหา HPV DNA และจำแนกสายพันธุ์ด้วยวิธีนี้เป็น การตรวจสอบตามการทดสอบของ Jacob MV และคณะ<sup>13</sup> เริ่มด้วยการนำ DNA จำนวน 10 µl ไปเพิ่มปริมาณด้วยเครื่อง PCR โดยใช้ GP5+/6+ primers ซึ่งเป็น specific primers สำหรับเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมของ HPV ในส่วนผสมของสาร

ต่างๆดังนี้ 10x PCR buffer, 25 mM MgCl<sub>2</sub>, 2 mM dNTPs, 20 pmole ของ primer แต่ละเส้น, Taq polymerase enzyme (QIAGEN, Germany) และ น้ำกลั่น ตามขั้นตอนคือ 94°ซ 4 นาที ตามด้วย 4 รอบของ อุณหภูมิ 94°ซ 1 นาที 38°ซ 2 นาที 72°ซ 1.30 นาที และ 72°ซ 4 นาทีเป็นขั้นตอนสุดท้าย นำผลผลิตที่ได้ มา hybridize กับ oligoprobe cocktail ของ high risk group (HPV-16, -18, -31, -33, -35, -39, -45, -51, -52, -56, -58, -59, -66 และ -68) และ low risk group (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 StreptaWell plate (Roche, Germany) ที่เคลือบด้วย biotin เพื่อคัดกรองกลุ่มของสายพันธุ์ ของ HPV ที่ตรวจพบ ก่อนนำมาทดสอบอีกครั้งด้วย specific probe ที่มีความจำเพาะของแต่ละสายพันธุ์ ในแต่ละกลุ่ม<sup>13</sup> วิเคราะห์ผลด้วย microplate reader (Biotek, USA) ที่ความยาวคลื่น 405 และ 620 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ทดสอบกับน้ำกลั่นแทน การทดสอบด้วย HPV DNA

### วิธี Reverse-line blot hybridization (RLB)

คณะผู้วิจัยทดสอบตามขั้นตอนของวิธีการ ทดสอบที่พัฒนาและตรวจสอบโดยทีมปฏิบัติการของ องค์การอนามัยโลก<sup>8</sup> โดยนำ DNA ของตัวอย่างที่ต้องการทดสอบมาเพิ่มจำนวนสารพันธุกรรมของไวรัส ด้วย PGMY 09/11 cocktail primers ซึ่งเป็น specific primers ที่จำเพาะต่อการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม ของ L1 region บริเวณ capsid ของไวรัสและใช้ HLA primer เป็น internal control

การตรวจหา HPV DNA โดยวิธีนี้เริ่มด้วย การเติม DNA จำนวน 5 µl ในส่วนผสมของ 10x PCR buffer, 25 mM MgCl<sub>2</sub>, 2 mM dNTPs, PGMY 09 cocktail primers<sup>8</sup>, PGMY 11 cocktail primers<sup>8</sup>, HLA primers<sup>8</sup>, Taq polymerase enzyme (QIAGEN, Germany) และน้ำกลั่น และบ่มสารในเครื่อง PCR ตามโปรแกรมที่ตั้งคือ 95°ซ 9 นาที ตามด้วย 45 รอบของ อุณหภูมิ 95°ซ 30 วินาที, 55°ซ 1.30 นาที, 72°ซ 2 นาที และ 72°ซ 5 นาทีเป็นขั้นตอนสุดท้าย แล้วตรวจสอบตัวอย่างที่มี HPV DNA โดยการนำ PCR product ที่ได้มาแยกสารพันธุกรรมด้วยเครื่องแยก สารพันธุกรรมด้วยกระแสไฟฟ้า (electrophoresis) บน 2% agarose gel ที่ผสมน้ำยา Gel Star<sup>®</sup> Nuclis Acid Gel Stain (Lonza, USA) และดูผลภายใต้แสง UV ด้วยเครื่อง densitometer (SYNGENE, UK) ซึ่งสาร พันธุกรรมของ HPV จะมีขนาดของลำดับเบสประมาณ 450 bp แล้วนำ PCR product ที่ให้ผลบวกจำนวน 5 µl ผสมกับน้ำกลั่น 110 µl บ่มที่ 95°ซ เป็นเวลา 5 นาที นำมาวางบนน้ำแข็ง ก่อนเติม 8xSSPE, 0.4% SDS จำนวน 110 µl ผสมให้เข้ากัน นำตัวอย่างที่เตรียม ไปจำแนกสายพันธุ์โดยเติมแต่ละตัวอย่างในหลุมบน miniblotted (Hoefer, USA) ที่บรรจุ nitrocellulose membrane ที่มี HPV probe ของแต่ละสายพันธุ์ (HPV -6, -11, -16, -18, -26, -31, -33, -34, -35, -39, -40, -42, -43, -44, -45, -51, -52, -53, -54, -55, -56, -57b, -58, -59a, -59b, -66, -68, -69, -70, -82, -83, -84 และ -73) ตามขั้นตอนวิธีการทดสอบของทีมปฏิบัติการของ องค์การอนามัยโลก<sup>8</sup> สามารถอ่านผลของ HPV ที่ ปะกาบบน nitrocellulose membrane ด้วยการใส่

ECL (Amersham, UK) และ exposure บนแผ่นฟิล์มแบบ hyperfilm (Amersham, UK) บ่มที่ห้องมืดเป็นเวลา 1-24 ชั่วโมง จากนั้นนำฟิล์มที่บ่มแล้วมาล้างด้วยน้ำยาล้างฟิล์ม (Kodak, USA) เปรียบเทียบผลของจุด (blot) ที่เกิดขึ้นบนแผ่นฟิล์มกับตารางมาตรฐานเพื่อวิเคราะห์สายพันธุ์ของ HPV ที่มีความจำเพาะกับ probe ของแต่ละสายพันธุ์ในแต่ละตัวอย่างที่นำมาทดสอบ

### การวิเคราะห์ทางสถิติ

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติในการศึกษานี้ ใช้การวิเคราะห์สถิติในเชิงพรรณนา โดยคำนวณค่าความถี่ (frequency) ร้อยละ (percentage) ของผลการตรวจ และคำนวณค่าเฉลี่ย (mean) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation) ของช่วงอายุของกลุ่มตัวอย่าง

ในการประเมินความสอดคล้องและการยอมรับผลการทดสอบระหว่างวิธีการตรวจหา HPV DNA ด้วยวิธี EIA และ RLB โดยการวิเคราะห์หาค่า kappa ( $\kappa$ ) ซึ่งสามารถแบ่งระดับการยอมรับเป็น 3 ระดับคือ ค่าอยู่ระหว่าง 0.0-0.4 หมายถึง สามารถยอมรับหรือเห็นด้วยในความเหมือนของผลการทดสอบทั้งสองวิธีน้อยมาก ค่าอยู่ระหว่าง 0.4-0.8 หมายถึงยอมรับหรือเห็นด้วยในระดับปานกลาง และค่าอยู่ระหว่าง 0.8-1.0 หมายถึงยอมรับหรือเห็นด้วยกับผลการทดสอบทั้งสองวิธีอย่างมาก

### ผลการศึกษา

กลุ่มตัวอย่างของเซลล์ปากมดลูกที่มีความผิดปกติที่ใช้ในการศึกษาทั้งหมด 122 ราย มีช่วง

อายุระหว่าง 19-81 ปี อายุเฉลี่ยประมาณ 49 ปี (SD  $\pm 11.85$ ) ช่วงอายุที่พบความผิดปกติทางเซลล์มากที่สุดคือ ช่วงอายุ 41-50 ปี โดยพบร้อยละ 35.2 รองลงมาคือช่วงอายุ 51-60 ปี และ 31-40 ปี พบ ร้อยละ 23.8 และ 20.5 ตามลำดับ และจากผลการวินิจฉัยทางเซลล์วิทยา ซึ่งแบ่งระดับความผิดปกติของเซลล์ตามการอ้างอิงตามระบบการรายงานเซลล์วิทยาของ Bethesda system 2001<sup>14</sup> พบว่า ร้อยละ 50.8 (62/122) เป็นเซลล์มะเร็ง รองลงมาเป็นเซลล์ที่มีความผิดปกติในระดับก่อนที่เซลล์จะพัฒนาหรือกลายเป็นเซลล์มะเร็งคือ high grade squamous intraepithelial lesion (HSIL) พบร้อยละ 23.8 (29/122) และ low grade squamous intraepithelial lesion (LSIL) พบร้อยละ 9.8 (12/122) และจากการตรวจหา HPV DNA ในเซลล์ปากมดลูกที่มีความผิดปกติจำนวน 122 ราย พบว่าการตรวจด้วยวิธี EIA พบ HPV DNA จำนวน 86 ราย คิดเป็นร้อยละ 70.5 ในขณะที่การตรวจด้วยวิธี RLB สามารถตรวจพบการติดเชื้อจำนวน 90 ราย คิดเป็นร้อยละ 73.8 โดยทั้งสองวิธีสามารถตรวจพบการติดเชื้อในเซลล์ที่มีความผิดปกติที่เป็นเซลล์มะเร็งมากที่สุด โดยให้ผลเท่ากันคือ ตรวจพบ 57 รายจากตัวอย่างทั้งหมด 122 ราย (ร้อยละ 46.7) ดังแสดงในตารางที่ 1

จากผลการเปรียบเทียบการตรวจหา HPV DNA ด้วยวิธี EIA และ RLB พบว่าให้ผลการตรวจวิเคราะห์ที่ใกล้เคียงกันมาก โดยมีค่า  $\kappa=0.88$  (สามารถยอมรับได้ในระดับสูง) ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 1 แสดงผลการตรวจหา HPV DNA ในเซลล์ปากมดลูกที่ผิดปกติด้วยวิธี Enzyme-immuno assay และ Reverse line blot hybridization (N=122 ราย)

| ลักษณะทางเซลล์วิทยา* | กลุ่มตัวอย่าง<br>จำนวน<br>(ร้อยละ) | EIA                            |                             | RLB                            |                             |
|----------------------|------------------------------------|--------------------------------|-----------------------------|--------------------------------|-----------------------------|
|                      |                                    | ไม่พบ HPV<br>จำนวน<br>(ร้อยละ) | พบ HPV<br>จำนวน<br>(ร้อยละ) | ไม่พบ HPV<br>จำนวน<br>(ร้อยละ) | พบ HPV<br>จำนวน<br>(ร้อยละ) |
| NILM                 | 6 (4.9)                            | 5 (4.1)                        | 1 (0.8)                     | 5 (4.1)                        | 1 (0.8)                     |
| AGC                  | 2 (1.6)                            | 2 (1.6)                        | 0 (0)                       | 2 (1.6)                        | 0 (0)                       |
| ASC-H                | 2 (1.6)                            | 1 (0.8)                        | 1 (0.8)                     | 1 (0.8)                        | 1 (0.8)                     |
| ASC-US               | 9 (7.4)                            | 5 (4.1)                        | 4 (3.3)                     | 6 (4.9)                        | 3 (2.5)                     |
| LSIL                 | 12 (9.8)                           | 7 (5.7)                        | 5 (4.1)                     | 6 (4.9)                        | 6 (4.9)                     |
| HSIL                 | 29 (23.8)                          | 11 (9.0)                       | 18 (14.8)                   | 7 (5.7)                        | 22 (18.0)                   |
| SCC                  | 62 (50.8)                          | 5 (4.1)                        | 57 (46.7)                   | 5 (4.1)                        | 57 (46.7)                   |
| Total                | 122 (100)                          | 36 (29.5)                      | 86 (70.5)                   | 32 (26.2)                      | 90 (73.8)                   |

\*The 2001 Bethesda Systems<sup>14</sup> NILM=Negative for intraepithelial lesion or malignancy (inflammation, Trichomonas spp/Candida spp infection, etc.), AGC=Atypical glandular cells, ASC-H=Atypical squamous cells cannot exclude HSIL, ASC-US=Atypical squamous cells of undetermined significance, LSIL=Low grade squamous intraepithelial lesion, HSIL=High grade squamous intraepithelial lesion, SCC=Squamous cell carcinoma.

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบผลการตรวจหา HPV DNA ในเซลล์ปากมดลูกที่มีความผิดปกติ ด้วยวิธี EIA และวิธี RLB

| วิธีการตรวจ | จำนวนตัวอย่าง | ผลการตรวจหา HPV DNA* |       | Kappa (κ) |
|-------------|---------------|----------------------|-------|-----------|
|             |               | พบ                   | ไม่พบ |           |
| EIA         | 122           | 86                   | 36    | 0.88      |
| RLB         | 122           | 90                   | 32    |           |

\* ผลการตรวจ HPV DNA จากตัวอย่างรายเดียวกัน

เมื่อนำตัวอย่างที่ให้ผลการตรวจ HPV DNA เป็นบวกมาจำแนกสายพันธุ์ของไวรัส เพื่อศึกษาความถี่ของแต่ละสายพันธุ์ที่อาจมีผลหรือสัมพันธ์กับลักษณะความผิดปกติของเซลล์ปากมดลูก โดยใช้ probe ที่มีความจำเพาะของแต่ละสายพันธุ์มาใช้ในการจำแนก ตามตารางที่ 3 พบว่าสายพันธุ์ที่ตรวจพบ

มากที่สุดคือ HPV-16 และพบมากในเซลล์ที่เป็นเซลล์มะเร็ง (SCC) โดยตรวจพบจำนวนเท่ากันจากการทดสอบทั้งสองวิธีคือ พบ 26 รายจากจำนวนตัวอย่างของเซลล์มะเร็งทั้งหมด 57 ราย คิดเป็นร้อยละ 45.6 นอกจากนี้ยังสามารถตรวจพบ HPV-16 ในเซลล์ที่มีความผิดปกติแบบ HSIL (4 ราย) และ ASC-H (1 ราย)

สำหรับสายพันธุ์ที่พบบ่อยมากในลำดับรองลงมาคือ HPV-18 และ HPV-58 ตามลำดับ อย่างไรก็ตามยังสามารถตรวจพบสายพันธุ์อื่นๆบ้างเช่น HPV-31, HPV-33, HPV-42, HPV-58 เป็นต้น ซึ่งจำนวนที่พบมีความแตกต่างกันเล็กน้อยในทั้งสองวิธี ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความไวและความจำเพาะของ probe ที่นำมาตรวจสอบ

ซึ่งในการจำแนกสายพันธุ์ของ HPV สามารถพบการติดเชื้อทั้งแบบติดเชื้อเดี่ยว (single type infection) และติดเชื้อร่วมกันหลายสายพันธุ์ (multiple types infection) ตั้งแต่ 2 ชนิดขึ้นไปได้ในการตรวจวิเคราะห์ทั้งสองวิธี เช่น 16/33, 16/39, 16/58, 33/58, 52/66, 56/66, 16/59/66, 33/35/45, 35/45/69, 52/66/CP8304 เป็นต้น

ตารางที่ 3 การจำแนกสายพันธุ์ของ HPV ในตัวอย่างเซลล์ปากมดลูกที่มีความผิดปกติในระดับต่างๆที่มีผลการตรวจพบ HPV DNA ด้วยวิธี EIA และ RLB

| สายพันธุ์ของ HPV (n=จำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบ HPV) (ร้อยละ) | EIA        |             |            |              |             |           |            | RLB        |             |            |              |             |           |            |
|--|------------|-------------|------------|--------------|-------------|-----------|------------|------------|-------------|------------|--------------|-------------|-----------|------------|
|  | SCC (n=57) | HSIL (n=18) | LSIL (n=5) | ASC-US (n=4) | ASC-H (n=1) | AGC (n=0) | NILM (n=1) | SCC (n=57) | HSIL (n=22) | LSIL (n=6) | ASC-US (n=3) | ASC-H (n=1) | AGC (n=0) | NILM (n=1) |
| Single type infection                                    | -          | -           | -          | -            | -           | -         | -          | -          | -           | -          | -            | -           | -         | -          |
| HPV 6  | -          | -           | -          | 1(25.0)      | -           | -         | -          | -          | -           | -          | 1(33.3)      | -           | -         | -          |
| HPV 16   | 26(45.6)   | 4(22.2)     | -          | -            | 1(100.0)    | -         | -          | 26(45.6)   | 4(18.2)     | -          | -            | 1(100.0)    | -         | -          |
| HPV 18   | 12(21.1)   | 3(16.7)     | -          | -            | -           | -         | -          | 12(21.1)   | 3(13.6)     | -          | -            | -           | -         | -          |
| HPV 26   | 1(1.8)     | -           | -          | -            | -           | -         | -          | 1(1.8)     | -           | -          | -            | -           | -         | -          |
| HPV 31   | 1(1.8)     | 1(5.6)      | 1(20.0)    | -            | -           | -         | -          | 1(1.8)     | 1(4.5)      | 1(16.7)    | -            | -           | -         | -          |
| HPV 33   | 1(1.8)     | -           | -          | -            | -           | -         | -          | 2(3.5)     | -           | -          | -            | -           | -         | -          |
| HPV 42   | -          | 1(5.6)      | -          | -            | -           | -         | -          | -          | 1(4.5)      | -          | -            | -           | -         | -          |
| HPV 45   | 2(3.5)     | -           | -          | -            | -           | -         | -          | 2(3.5)     | -           | -          | -            | -           | -         | -          |
| HPV 51   | 1(1.8)     | -           | 1(20.0)    | -            | -           | -         | -          | 1(1.8)     | -           | 1(16.7)    | -            | -           | -         | -          |
| HPV 52   | 2(3.5)     | 5(27.8)     | 1(20.0)    | -            | -           | -         | -          | 2(3.5)     | 9(40.9)     | 2(33.3)    | -            | -           | -         | -          |
| HPV 56   | 2(3.5)     | -           | -          | -            | -           | -         | -          | 2(3.5)     | -           | -          | -            | -           | -         | -          |
| HPV 58   | 5(8.8)     | 3(16.7)     | -          | -            | -           | -         | -          | 5(8.8)     | 3(13.6)     | -          | -            | -           | -         | -          |
| HPV 59   | 1(1.8)     | -           | -          | -            | -           | -         | -          | 1(1.8)     | -           | -          | -            | -           | -         | -          |
| HPV 66   | -          | -           | 1(20.0)    | -            | -           | -         | -          | -          | -           | -          | -            | -           | -         | -          |
| HPV 70   | -          | -           | 1(20.0)    | -            | -           | -         | -          | -          | -           | 1(16.7)    | -            | -           | -         | -          |
| HPV CP8304   | -          | -           | -          | 1(25.0)      | -           | -         | -          | -          | -           | -          | -            | -           | -         | -          |
| Multiple types (>2 types) infection                      | 3(5.3)     | 1(5.6)      | -          | 2(50.0)      | -           | -         | 1(100.0)   | 2(3.5)     | -           | -          | -            | -           | -         | 1(100.0)   |

## วิจารณ์และสรุป

มะเร็งปากมดลูกเป็นโรคมะเร็งที่พบบมากที่สุดเป็นอันดับสองของโรคมะเร็งในสตรีไทยและมีแนวโน้มการเกิดผู้ป่วยรายใหม่เพิ่มมากขึ้นในทุกๆปี<sup>15,16</sup> สาเหตุหลักของการเกิดโรคคือการติดเชื้อไวรัสฮิวแมนแพพพิลโลมา หรือ HPV โดยเฉพาะการติดเชื้อในกลุ่มเสี่ยงสูง (high risk group)<sup>8</sup> เป็นระยะเวลาอันยาวนานจนเซลล์ปกติเกิดการเปลี่ยนแปลงกลายเป็นเซลล์มะเร็ง นอกจากนี้อาจมีปัจจัยอื่น ๆ ร่วมด้วย เช่น การสูบบุหรี่ การกำเนิดเป็นระยะเวลาอันยาวนาน พฤติกรรมทางเพศสัมพันธ์ การสูบบุหรี่ หรือการมีประวัติติดเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ เช่น herpes simplex virus type 2 เป็นต้น<sup>17</sup> เนื่องจากในปัจจุบันยังไม่สามารถเพาะเลี้ยงไวรัสชนิดนี้ในระดับห้องปฏิบัติการได้ ดังนั้นการตรวจหาการติดเชื้อของ HPV จึงมักใช้การตรวจหา HPV DNA จากตัวอย่างเป็นหลัก ซึ่งอาจดำเนินการร่วมกับตรวจวินิจฉัยทางพยาธิวิทยาหรือเซลล์วิทยา และการจำแนกสายพันธุ์สามารถทำให้ทราบความรุนแรงของสายพันธุ์ที่มีการติดเชื้อ เพื่อช่วยในการวางแผนติดตามการเกิดโรคหรือดำเนินการรักษาอย่างมีประสิทธิภาพ

จากการตรวจหา HPV DNA ในตัวอย่างเซลล์ปากมดลูกที่มีความผิดปกติของสตรีไทยที่เข้ารับการตรวจวินิจฉัยหรือรักษา ณ สถาบันมะเร็งแห่งชาติ จำนวน 122 รายด้วยวิธี enzyme-immuno assay (EIA) และ reverse line blot hybridization (RLB) โดยใช้ GP5+ /6+ และ PGMY09/11 เป็น primer ตามลำดับ ซึ่งทั้งสองวิธีได้รับการยอมรับอย่างแพร่หลายและให้ผลการทดสอบที่จำเพาะต่อการตรวจหา HPV<sup>8,13,18</sup> การศึกษานี้พบว่าเมื่อใช้วิธี EIA และ RLB

สามารถตรวจหา HPV DNA ร้อยละ 70.5 (86/122) และร้อยละ 73.8 (90/122) ตามลำดับ จำนวนที่ตรวจพบ HPV DNA โดยทั้งสองวิธีมีความแตกต่างกันเล็กน้อย เนื่องจากความไวและความจำเพาะของการตรวจหาเชื้อไวรัสดังกล่าว และจากการศึกษาจำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบการติดเชื้อโดยแบ่งตามกลุ่มของเซลล์ที่ผิดปกติ พบว่ากลุ่มของเซลล์มะเร็ง (SCC) พบการติดเชื้อมากที่สุดคือ 57/62 ราย คิดเป็นร้อยละ 91.9 ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานทางระบาดวิทยาที่มักพบการติดเชื้อสัมพันธ์กับการเกิดมะเร็งมากกว่าร้อยละ 90<sup>3-4,6</sup> ในขณะที่พบการติดเชื้อในเซลล์ที่มีความผิดปกติแบบ HSIL และ LSIL รองลงมาตามลำดับสำหรับเซลล์ที่มีความผิดปกติเพียงเล็กน้อย (ASC-US หรือ NILM) พบการติดเชื้อหรือตรวจพบ HPV DNA ค่อนข้างต่ำ โดยทั่วไปเซลล์เหล่านี้สามารถฟื้นฟูสภาพเข้าสู่สภาวะปกติได้ และจากผลการศึกษาี้แสดงให้เห็นว่า การติดเชื้อ HPV สามารถติดได้ในทุกระยะตั้งแต่เซลล์เริ่มการอักเสบ (inflammation) ในระยะ NILM จนกระทั่งกลายเป็นเซลล์มะเร็ง (SCC) แต่อย่างไรก็ตามในการพัฒนาหรือกลายพันธุ์จากเซลล์ปกติจนกลายเป็นเซลล์มะเร็งนั้นขึ้นอยู่กับลักษณะหรือระยะเวลาของการติดเชื้อซึ่งโดยทั่วไปอาจต้องใช้เวลานานถึง 10-15 ปี<sup>7,8</sup> นอกจากนี้สายพันธุ์ของไวรัสที่ตรวจพบก็มีความสำคัญอย่างยิ่ง หากพบการติดเชื้อในกลุ่มไวรัสที่มีความเสี่ยงสูง โดยเฉพาะสายพันธุ์ที่ 16 หรือ 18 อาจต้องเฝ้าระวังอย่างใกล้ชิดเนื่องจากเป็นสายพันธุ์ที่พบความสัมพันธ์กับการเกิดมะเร็งถึงร้อยละ 50-70<sup>6,8-10</sup>

จากการจำแนกสายพันธุ์ของ HPV ในตัวอย่างที่ตรวจพบการติดเชื้อหรือตรวจพบ HPV DNA

ด้วยวิธีการทดสอบทั้งสองวิธีคือ EIA และ RLB โดยใช้ probe ที่มีความจำเพาะในแต่ละสายพันธุ์ พบว่าสายพันธุ์ที่พบมากที่สุดในการตรวจคือ HPV-16 และพบมากในเซลล์มะเร็งคิดเป็นร้อยละ 45.6 (26/57) รองลงมาคือ HPV-18 และ HPV-58 ตามลำดับ นอกจากนี้ยังตรวจพบสายพันธุ์อื่นๆ เช่น HPV-31, -33, -45, -52 เป็นต้น ซึ่งการตรวจพบ HPV ในเซลล์มะเร็งจะพบสายพันธุ์ค่อนข้างหลากหลายมากที่สุดและส่วนใหญ่จะเป็นสายพันธุ์ที่อยู่ในกลุ่มเสี่ยงสูง นอกจากนี้ยังสามารถตรวจพบสายพันธุ์ที่อยู่ในกลุ่มเสี่ยงต่ำบ้าง เช่น HPV-6, -70 หรือ CP-8304 ที่มักพบในเซลล์ที่มีความผิดปกติไม่มากนัก ซึ่งผลการศึกษานี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Siriaunkgul S และคณะ<sup>19</sup> ที่ศึกษา HPV ในเซลล์มะเร็งปากมดลูก (invasive cervical cancer) ของสตรีไทยทางภาคเหนือ โดยตรวจพบการติดเชื้อ HPV-16 มากที่สุด รองลงมาจะเป็น HPV-18, -52 และ -58 และรายงานของ Suthipintawong C และคณะ<sup>20</sup> ที่ศึกษาความชุกและการติดเชื้อ HPV ของตัวอย่างมะเร็งปากมดลูกที่เก็บรักษาใน paraffin-embedded block จำนวน 410 ตัวอย่าง โดยสายพันธุ์ที่พบมากที่สุดคือ HPV-16 (ร้อยละ 83.2) รองลงมาคือ HPV-18, -58 และ -52 ตามลำดับ และเป็นที่น่าสังเกตว่าในการศึกษาจำนวนมากมักพบการติดเชื้อ HPV ทั้งที่มีการติดเชื้อแบบเดี่ยวเพียงหนึ่งสายพันธุ์ (single type infection) และการติดเชื้อร่วมของหลายๆสายพันธุ์ (multiple types infection) แต่ก็พบไม่มากนักและมักมี HPV-16 หรือสายพันธุ์อื่นๆที่อยู่ในกลุ่มของเสี่ยงสูงร่วมด้วย<sup>18,19</sup>

ในการศึกษานี้คณะผู้วิจัยได้ตรวจหา HPV DNA ด้วยวิธี EIA และ RLB และเปรียบเทียบผลที่

ได้จากทั้งสองวิธี พบว่าให้ผลการตรวจวิเคราะห์ที่ใกล้เคียงกันมาก ( $k=0.88$ ) สามารถยอมรับได้ในระดับสูง และให้ผลการทดสอบที่มีความจำเพาะต่อสายพันธุ์ของ HPV ค่อนข้างสูง ซึ่งผลการตรวจที่ได้จากทั้งสองวิธีมีความแตกต่างกันเล็กน้อยอาจเนื่องมาจากความไวและความจำเพาะของ probe ที่ใช้ในแต่ละวิธี รวมทั้งจำนวนเบสของ primers ที่แตกต่างกัน คือ สายลำดับเบสที่เพิ่มจำนวนด้วย GP5+/6+ primers ในวิธี EIA มีความยาวประมาณ 150 เบส<sup>13</sup> ในขณะที่สายลำดับเบสที่เพิ่มจำนวนด้วย PGMY09/11 primers ในวิธี RLB มีความยาวประมาณ 450 เบส<sup>8</sup> ซึ่งอาจส่งผลให้การเพิ่มจำนวนของสายพันธุ์กรรมของไวรัสแตกต่างกัน นอกจากนี้ปริมาณหรือข้อจำกัดในการจับกันระหว่างสายพันธุ์กรรมหรือ probe ของแต่ละสายพันธุ์ในแต่ละวิธีก็อาจจะแตกต่างกันด้วย เช่น ความสามารถในการตรวจจับของ probe ในวิธี EIA สามารถตรวจหา HPV ตั้งแต่ 20-200 copies เป็นต้นไป<sup>13</sup> ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความแรงของแต่ละสายพันธุ์ แต่อย่างไรก็ตามการตรวจหา HPV ด้วยวิธีทั้งสองนี้ได้ผลค่อนข้างแม่นยำ สามารถตรวจสอบได้ว่าเป็นการติดเชื้อแบบสายพันธุ์เดี่ยวหรือมีการติดเชื้อร่วมในหลายๆสายพันธุ์และสามารถดำเนินการทดสอบได้หลายตัวอย่างในเวลาเดียวกัน<sup>8,13</sup>

จากผลการศึกษาี้สรุปได้ว่า ในการตรวจหา HPV DNA สามารถใช้เป็นทางเลือกหนึ่งในการศึกษาติดตามการเกิดมะเร็งปากมดลูกในสตรีไทย ร่วมกับการตรวจทางพยาธิวิทยาหรือเซลล์วิทยา ทั้งนี้การเลือกใช้วิธีสำหรับทดสอบขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ ความเหมาะสมและลักษณะของตัวอย่างที่นำมาศึกษาหรือทดสอบ ซึ่งการทดสอบด้วยวิธี EIA จะใช้

ระยะเวลาในการทดสอบค่อนข้างนานและต้นทุนที่สูงกว่าวิธี RLB ในขณะที่ข้อดีของ RLB คือ ขั้นตอนในการทดสอบจะค่อนข้างยุ่งยากกว่าวิธี EIA แต่สามารถตรวจหาและวิเคราะห์สายพันธุ์ของไวรัสได้ในจำนวนตัวอย่างที่มากกว่าวิธี EIA เมื่อทดสอบในคราวเดียวกัน อย่างไรก็ตามในแต่ละวิธีจะมีข้อเด่นคือมีความจำเพาะต่อการตรวจหาและจำแนกสายพันธุ์ของไวรัส ซึ่งความแรงของ specific probe ของทั้งสองวิธีจะแตกต่างกันในบางสายพันธุ์ หรือพบบางสายพันธุ์ในกลุ่มของไวรัสที่มีความเสี่ยงต่ำที่ไม่สามารถตรวจด้วยวิธี RLB เช่น สายพันธุ์ที่ 71 หรือ 72 แต่สามารถตรวจด้วยวิธี EIA เป็นต้น จากผลการทดสอบทั้งสองวิธีสามารถนำผลการตรวจยืนยันผลซึ่งกันและกันได้ เพื่อประเมินความแม่นยำและความถูกต้อง นอกจากนี้การจำแนกสายพันธุ์ของ HPV ยังสามารถบ่งบอกความรุนแรงของเซลล์ที่อาจจะเกิดขึ้นเนื่องจากการติดเชื้อไวรัสชนิดนี้ เพื่อใช้เป็นแนวทางในการเฝ้าติดตามและวางแผนการรักษาที่มีประสิทธิภาพต่อไป

## กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ ดร. สุนันทา จริยาเลิศศักดิ์ หัวหน้ากลุ่มงานวิจัย ที่ตรวจต้นฉบับและให้คำแนะนำ/แก้ไขในการเขียนบทความนี้ ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ของกลุ่มงานวิจัยทุกท่าน ที่ให้การช่วยเหลือในด้านต่างๆ และคุณพล กองแก้ว งานเซลล์วิทยา กลุ่มงานพยาธิ สถาบันมะเร็งแห่งชาติ ที่ให้ความรู้และคำแนะนำทางด้านเซลล์วิทยา

## เอกสารอ้างอิง

1. Bosch FX, Lorincz A, Munoz N, Meijer CJ, Shah KV. The causal relation between human papilloma virus and cervical cancer. *J Clin Pathol* 2002;55:244-65.

2. International Agency for Research on Cancer Monograph on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Human; Human papillomavirus. Lyon, France: IARC 1995;64:35-222.
3. zur Hausen H. Papillomavirus and cancer: from basic studies to clinical application. *Nat Rev Cancer* 2002;2:342-50.
4. Gillison ML, Shah KV. Chapter 9: Role of mucosal human papillomavirus in nongenital cancer. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2003;31:57-65.
5. Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol* 1999;189:12-9.
6. Ramet J, van Esso D, Meszner Z. Position paper - HPV and the primary prevention of cancer; improving vaccine uptake by paediatricians. *Eur J Pediatr* 2011;170:309-21.
7. Bharti AC, Shukla S, Mahata S, Hedau S, Das BC. Human papillomavirus and control of cervical cancer in India. *Expert Rev Obstet Gynecol* 2010; 5:329-46.
8. World Health Organization. Human papillomavirus Laboratory Manual. 1<sup>st</sup> ed. HPV Laboratory Network WHO: Switzerland; 2010. p. 1-6.
9. Smith JS, Lindsay L, Hoots B, Keys J, Franceschi S, Winter R, et al. Human papillomavirus type distribution in invasive cervical cancer and high-grade cervical lesions: a meta-analysis update. *Int J Cancer* 2007;121:621-32.
10. Eklund C, Zhou T, Dillner J. Global proficiency study of human papillomavirus genotyping. *J Clin Microbiol* 2010;48:4147-55.
11. Muñoz N, Bosch FX, de Sanjosé S, Herrero R, Castellsagué X, Shah KV, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med* 2003;348:518-27.
12. Clifford GM, Gallus S, Herrero R, Muñoz N, Snijders PJ, Vaccarella S, et al. Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: a pooled analysis. *Lancet* 2005;366:991-8.
13. Jacob MV, van den Brule AJ, Snijder PJ, Helmerhorst TJ, Meijer CJ, Walboomers JM. A non-radioactive

- PCR enzyme-immunoassay enables a rapid identification of HPV 16 and 18 in cervical scrapes after GP5+/6+ PCR. *J Med Virol* 1996;49:223-9.
14. Solomon D, Davey D, Kurman R, Moriarty A, O'Connor D, Prey M, et al. The 2001 Bethesda System: terminology for reporting results of cervical cytology. *JAMA* 2002;287:2114-9.
  15. Parkin DM, Bray F, Ferley J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2005;55:74-108.
  16. Khuhaprema T, Srivatanakul P, Attasara P, Sriplung H, Wiangnon S, Sumitsawan Y, editors. *Cancer in Thailand Vol V, 2001-2003*. Bangkok; 2010.
  17. Monsonego J, Bosch FX, Coursaget P, Cox JT, Franco E, Frazer I, et al. Cervical cancer control, priorities and new directions. *Int J Cancer* 2004;108:329-33.
  18. van den Brule AJ, Pol R, Fransen-Daalmeijer N, Schouls LM, Meijer CJ, Snijder JF. GP5+/6+ PCR followed by Reverse Line Blot Analysis Enables Rapid and High-Throughput Identification of Human Papillomavirus Genotypings. *J Clin Microbiol* 2002;40:779-87.
  19. Siriaunkgul S, Suwiwal S, Settakorn J, Khunamornpong S, Tungsinmunkong K, Boonthum A, et al. HPV genotyping in cervical cancer in Northern Thailand Adapting the linear array HPV assays for use on paraffin-embedded tissue. *Gynecol Oncol* 2008; 108:555-60.
  20. Suthipintawong C, Siriaunkgul S, Tungsinmunkong K, Pientong C, Ekalaksananan T, Karalak A, et al. Human Papilloma Virus Prevalence, Genotype Distribution, and Pattern of Infection in Thai women. *Asian Pacific. J Cancer Prev* 2011;12:853-6.

# ความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายของ hOGG1 (C1245G) กับความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งปากมดลูกในสตรีทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือของไทย

ศุภกร โมศิริมงคล<sup>1</sup>  
วรรณภา อธิตะ<sup>1</sup>  
คีตกานต์ นัตพบสุข<sup>1</sup>  
दनัย ทิวาเวช<sup>2\*</sup>

**บทคัดย่อ** ความหลากหลายทางพันธุกรรมเป็นสาเหตุหนึ่งของการเกิดมะเร็งปากมดลูก เมื่อดีเอ็นเอถูกทำลายจะทำให้ปริมาณ 8-oxodeoxyguanine (8-oxodG) ภายในเซลล์เพิ่มขึ้น เซลล์จะผลิตเอนไซม์ human 8-oxoguanine glycosidase1 (hOGG1) เพื่อกำจัด 8-oxodG ที่เกิดขึ้น และพบว่า hOGG1 (C1245G) มีความหลากหลายโดยที่เบสไซโทซีน (C) เปลี่ยนเป็นเบสกวัวนีน (G) ทำให้เกิด genotypes เป็น 3 ชนิดคือ CC genotype (homozygous wild-type), GG genotype (homozygous mutant-type) และ CG genotype (heterozygous) นอกจากนี้ยังพบว่าผลิตภัณฑ์ของยีน hOGG1 มีความสัมพันธ์กับการเกิดมะเร็งปากมดลูกด้วย ดังนั้นการศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายของ hOGG1 (C1245G) กับความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งปากมดลูกของสตรีไทยในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยการคัดเลือกอาสาสมัครจากกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งปากมดลูกและกลุ่มควบคุม กลุ่มละ 182 ราย เก็บตัวอย่างเม็ดเลือดขาวเพื่อนำไปสกัดดีเอ็นเอและตรวจหาความหลากหลายของ hOGG1 (C1245G) ด้วยวิธี real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) ผลการศึกษาพบว่าความถี่ของ CC, GG และ CG genotypes ในกลุ่มควบคุมมีค่าเท่ากับ 39, 51 และ 92 รายตามลำดับ ส่วนในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งปากมดลูกมีค่าเท่ากับ 46, 66 และ 70 รายตามลำดับ แต่ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายของ hOGG1 (C1245G) กับความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งปากมดลูก (เปรียบเทียบความถี่ของ CC กับ GG และ CG genotypes ได้ค่า crude OR=1.10, 95% CI=0.60-2.00 และ crude OR=0.65, 95%CI=0.37-1.13 และได้ค่า adjusted OR=1.05, 95%CI=0.59-1.87 และ adjusted OR=0.65, 95%CI=0.38-1.12 ตามลำดับ) ผลจากการศึกษานี้สรุปได้ว่าความหลากหลายของ hOGG1 (C1245G) ไม่มีความสัมพันธ์กับความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งปากมดลูกในสตรีไทยทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (วารสารโรคมะเร็ง 2555;32:123-129.)

คำสำคัญ: hOGG1 ความหลากหลายทางพันธุกรรม มะเร็งปากมดลูก ปัจจัยเสี่ยงทางพันธุกรรม สตรีไทยในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

<sup>1</sup>ภาควิชา สรีรวิทยา คณะแพทยศาสตร์มหาวิทยาลัยขอนแก่น <sup>2</sup>งานชีววิทยามะเร็ง กลุ่มงานวิจัย สถาบันมะเร็งแห่งชาติ กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข  
\*Correspondence

## Association between hOGG1 (C1245G) Polymorphism and the Risk of Cervical Cancer among Northeast Thais

by **Supagorn Kosirimongcol<sup>1</sup>, Wannapa Settheetham-Ishida<sup>1</sup>, Sitakan Natphopsuk<sup>1</sup>, Danai Tiwawech<sup>2,\*</sup>**

<sup>1</sup>Department of Physiology, Faculty of Medicine, Khon-Kaen University.

<sup>2</sup>Biology Section, Research Division, National Cancer Institute, Department of Medical Services, Ministry of Public Health, Thailand.

\*Correspondence

**Abstract** Genetic background is one of the most important risk factors of cervical cancer. It has been reported that the damage of DNA structure results in increasing 8-oxodeoxyguanine (8-oxodG) production within the cell and, in response to this growing production, the cell activates human 8-oxoguanine glycosidase1 (hOGG1) enzyme to repair the 8-oxodG on the damaged DNA. In human, a nucleotide at the position 1245 on the exon 7 of hOGG1 shows a genetic polymorphism by the substitution of cytosine base (C) for guanine base (G) that yields 3 genotypes; CC genotype (homozygous wild-type), GG genotype (homozygous mutant-type) and CG genotype (heterozygous). In addition, it has been found that hOGG1 protein is associated with cervical cancer development. Thus, we hypothesize that hOGG1 polymorphism may be associated with the risk of cervical cancer. Therefore, the objective of this study was to investigate the association between hOGG1 polymorphism and cervical cancer risk among Thai women in the northeast region. The 364 study subjects, sorted by age groups, were divided into two groups--normal controls and cervical cancer patients. The peripheral white blood cell samples were collected for genomic DNA extraction and analyzed for the hOGG1 polymorphism by using real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) method. It was found that individual frequencies of CC, GG and CG genotypes were 39, 51 and 92 for the control groups and 46, 66 and 70 for the cancer patients, respectively. The genotype distribution of hOGG1 polymorphism in both control and cervical cancer groups did not show a significant difference in the risk of cervical cancer (compared frequencies of CC with GG and CG genotypes; crude OR=1.10, 95%CI=0.60-2.00 and crude OR=0.65, 95%CI=0.37-1.13; adjusted OR=1.05, 95%CI=0.59-1.87 and adjusted OR=0.65, 95%CI=0.38-1.12, respectively). Based on these findings, the results of this study suggest that hOGG1 polymorphism is not associated with cervical cancer risk among Thai women in the northeast region. (*Thai Cancer J* 2012;32:123-129.)

**Keywords:** hOGG1, gene polymorphism, cervical cancer, genetic risk factor, northeast Thais

## บทนำ

มะเร็งปากมดลูกเป็นโรคมะเร็งที่พบมากในสตรีไทย โดยพบอัตราการเกิดประมาณร้อยละ 18 ของสตรีไทยที่เป็นโรคมะเร็ง<sup>1</sup> และพบอัตราการตายเพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง<sup>2</sup> ปัจจัยที่ส่งผลให้เกิดมะเร็งปากมดลูกที่สำคัญ ได้แก่ การติดเชื้อ HPV พฤติกรรมการสูบบุหรี่ การใช้ยาคุมกำเนิด มลภาวะจากสิ่งแวดล้อม และปัจจัยด้านกรรมพันธุ์<sup>3-5</sup>

การเปลี่ยนแปลงเบสภายในโครงสร้างของดีเอ็นเอพบมากในตำแหน่งคาร์บอนที่ 8 ของเบสกวีนีน (C-8 position of guanine, G) เมื่อเกิดออกซิเดชันเบสกวีนีนจะถูกเปลี่ยนเป็น 8-oxodeoxyguanine (8-oxodG) ซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งของการเกิดโรคมะเร็ง<sup>6</sup> base excision repair เป็นกระบวนการกำจัดและซ่อมแซมเบสที่เสียหายแบบจำเพาะ เช่น เอนไซม์ human 8-oxoguanine glycosidase1 (hOGG1) มี

บทบาทในการกำจัดเบส 8-oxodG โดยเอนไซม์ดังกล่าวถูกควบคุมด้วยยีน hOGG1 บนโครโมโซมคู่ที่ 3 ตรงตำแหน่ง 3p26.2 ซึ่งเป็นตำแหน่งที่มีความเสี่ยงต่อการเปลี่ยนแปลงสภาพของเบสใดเบสหนึ่งบนอัลลีลของยีนนั้น (loss of heterozygosity, LOH) ในปี ค.ศ. 2003 Sakumi K และคณะ ได้ทำการ knock-out ยีน OGG1 ในหนูพบว่าหนูที่ถูก knock-out ยีนนี้มีปริมาณ 8-oxodG เพิ่มขึ้น 5 เท่าเมื่อเทียบกับหนูปกติ การกลายพันธุ์ของ hOGG1 ส่งผลให้กระบวนการซ่อมแซมดีเอ็นเอผิดปกติไป ซึ่งทำให้ปริมาณของดีเอ็นเอที่เสียหายเพิ่มมากขึ้น<sup>7</sup> Xie Y และคณะได้ knock-out ยีน OGG1 ในหนูที่ถูกกระตุ้นให้เกิดมะเร็งปอด พบว่าหนูเหล่านั้นมีความเสี่ยงในการเกิดมะเร็งปอดสูงกว่าหนูปกติ<sup>8</sup> เช่นเดียวกับการทดลองของ Mei W และคณะพบว่าเซลล์มะเร็งปอดของมนุษย์ที่ลดการทำงานของ hOGG1 ลงจะมีการเพิ่มปริมาณของ 8-oxodG และเพิ่มการทำลายดีเอ็นเอ<sup>9</sup>

Single nucleotide polymorphism (SNP) เป็นกระบวนการเกิดความหลากหลายของเบสเพียง 1 นิวคลีโอไทด์ ในโครงสร้างของ DNA เช่น ยีน hOGG1 ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ 1245 ของ exon 7 ในมนุษย์มีการเปลี่ยนแปลงเบสไซโทซีน (C) กลายเป็นเบสกวanine (G) ทำให้เกิดความหลากหลายของยีนซึ่งแบ่ง genotype เป็น 3 ชนิด ได้แก่ CC genotype (homozygous wild-type), GG genotype (homozygous mutant-type) และ CG genotype (heterozygous)<sup>10</sup> ความหลากหลายของ hOGG1 ในผู้ป่วยที่มี CG genotype อาจส่งผลต่อการเจริญของมะเร็งไตโดยการเพิ่มการทำลายโครงสร้างของดีเอ็นเอด้วยกระบวนการออกซิเดชัน<sup>11-13</sup> แต่การทดลองของ Sugimura H และ

คณะ<sup>14</sup> และ Li Z และคณะ<sup>15</sup> ไม่พบความสัมพันธ์ของ hOGG1 polymorphism กับการเกิดมะเร็งปอด Poplawski T และคณะ พบว่า hOGG1 polymorphism ไม่มีความสัมพันธ์กับการเป็นมะเร็งกระเพาะอาหาร<sup>16</sup> Choi JY และคณะ พบว่า hOGG1 polymorphism ไม่มีความสัมพันธ์กับความเสี่ยงในการเกิดมะเร็งเต้านม<sup>17</sup> อย่างไรก็ตามในการศึกษาของ Guo-Qing P และคณะ เกี่ยวกับการแสดงออกของยีน hOGG1 กับการเกิดมะเร็งปากมดลูก จากการตรวจชิ้นเนื้อปากมดลูก พบว่ามีการแสดงออกของโปรตีน hOGG1 ในกลุ่มผู้ป่วยที่เป็นมะเร็งปากมดลูกสูงกว่ากลุ่มปกติอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งโปรตีน hOGG1 นี้อาจมีความสัมพันธ์กับการพัฒนาของมะเร็งปากมดลูกในระยะเริ่มแรก<sup>6</sup> ซึ่งเป็นไปได้ว่าความหลากหลายของ hOGG1 น่าจะมีความสัมพันธ์เกี่ยวกับการเกิดมะเร็งปากมดลูก นอกจากนี้ยังไม่มีรายงานเกี่ยวกับเรื่องดังกล่าวในสตรีไทย ดังนั้นในการวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายของ hOGG1 (C1245G) กับความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งปากมดลูกในสตรีทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือของไทย

## วัตถุประสงค์และวิธีการ

### กลุ่มตัวอย่าง

การวิจัยครั้งนี้เป็นการวิจัยแบบ case-control study โดยคัดเลือกกลุ่มตัวอย่างจากอาสาสมัครสตรีที่มารับการตรวจรักษา ณ โรงพยาบาลศูนย์ขอนแก่น และโรงพยาบาลศรีนครินทร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น สองกลุ่มคือ กลุ่มผู้ป่วยมะเร็งปากมดลูกชนิด squamous cell carcinoma (SCCA) 182 ราย และ

กลุ่มควบคุมเป็นอาสาสมัครที่มีสุขภาพดีจำนวน 182 ราย ผู้เข้าร่วมโครงวิจัยทั้งสองกลุ่มมีอายุใกล้เคียงกัน (ต่างกันไม่เกิน 5 ปี, aged-match) ในการคำนวณขนาดของประชากรตัวอย่างใช้โปรแกรม EpiCalc 2000 version 1.02 อาสาสมัครทุกรายได้ลงชื่อยินยอม ในแบบฟอร์มยินยอมให้ทำการศึกษาและได้รับ คำชี้แจงเกี่ยวกับวัตถุประสงค์และขั้นตอนการศึกษ การวิจัยนี้ได้ผ่านการรับรองด้านจริยธรรม ของ มหาวิทยาลัยขอนแก่น เลขที่ HE 450333

### การสกัดดีเอ็นเอ

การสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างเม็ดเลือดขาว ใช้ GF-1 Blood DNA Extraction Kit (Vivantis, USA) วัดหาความเข้มข้นของดีเอ็นเอโดยใช้เครื่อง spectrophotometer ดีเอ็นเอที่ใช้มีความเข้มข้นประมาณ 40 ng/ $\mu$ l

### การตรวจหาความหลากหลายของยีน hOGG1 (C1245G)

การตรวจใช้เทคนิค real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) โดยเริ่มจากการเตรียม PCR reaction mixture 50  $\mu$ l ซึ่งประกอบด้วย double distilled water 8  $\mu$ l, TaqMan Universal Master Mix 25  $\mu$ l, primer 5'-CTGTCAGTCTCACCAG-3' (Forward) 5  $\mu$ l, และ 5'TGAATTCGGAAGGTGC TTGGGGAAT-3' (Reverse) 5  $\mu$ l<sup>18</sup>, TaqMan probe (2.5  $\mu$ M) 2  $\mu$ l, DNA samples 5  $\mu$ l เพื่อเพิ่มจำนวนของ hOGG1 exon7 จากนั้นทำการเพิ่มจำนวน DNA ด้วย เครื่อง StepOnePlus™ Real-time PCR (Applied Biosystems, USA) ตามโปรแกรมดังนี้ 95°ซ นาน 30

วินาที 61°ซ 30 วินาที และ 72°ซ นาน 30 วินาที เป็นจำนวน 45 รอบ และตามด้วย 72°ซ นาน 4 นาที PCR product ที่ได้จะถูกวิเคราะห์ผ่านเครื่อง StepOnePlus™ Real-time PCR และวิเคราะห์ความหลากหลายของยีน hOGG1 ได้เป็น 3 ชนิด คือ CC genotype ซึ่งจำเพาะกับ TaqMan probe ชนิด C (wild-type) 2 ตำแหน่ง, GG genotype ซึ่งจำเพาะกับ TaqMan probe ชนิด G (mutant-type) 2 ตำแหน่ง และ CG genotype ซึ่งจำเพาะกับ TaqMan probe ชนิด C (wild-type) และชนิด G (mutant-type) อย่าง ละตำแหน่ง โดยดูจากกราฟการเรืองแสงที่เกิดจาก TaqMan probe แต่ละชนิด

### การวิเคราะห์ทางสถิติ

ผู้วิจัยวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายของ hOGG1 (C1245G) กับความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งปากมดลูกในสตรีทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือของไทย ด้วยการคำนวณหาค่า odds ratio (OR) และค่า 95% confidence interval (CI) โดยใช้วิธี logistic regression จากโปรแกรม STATA และกำหนดให้ข้อมูลมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อ  $P < 0.05$

### ผลการศึกษา

จากผลการตรวจหาความหลากหลายของ hOGG1 (C1245G) พบว่าในกลุ่มควบคุม (control) จำนวน 182 รายตรวจพบความถี่ของผู้ที่มี CC, GG และ CG genotypes เท่ากับ 39, 51 และ 92 ราย ตามลำดับ (ร้อยละ 21.43, 28.02 และ 50.55 ตามลำดับ) ส่วนในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งปากมดลูก (case)

จำนวน 182 ราย พบความถี่ของผู้ที่มี CC, GG และ CG genotypes เท่ากับ 46, 66 และ 70 ราย ตามลำดับ (ร้อยละ 25.27, 36.26 และ 38.46 ตามลำดับ) นอกจากนี้ ยังพบว่าความหลากหลายของ hOGG1 ไม่มีความสัมพันธ์กับความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งปากมดลูก โดยพบว่าเมื่อเปรียบเทียบความถี่ของ CC genotype กับความถี่ของ GG genotype ระหว่างกลุ่มควบคุมกับกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งปากมดลูกได้ค่า crude OR=1.10, 95%CI=0.60-2.00 และ P=0.75 และ เมื่อเปรียบเทียบความถี่ของ CC genotype กับความถี่ของ CG genotype ระหว่างกลุ่มควบคุมกับกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งปาก

มดลูกได้ค่า crude OR=0.65, 95%CI=0.37-1.13 และ P=0.10 ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

เมื่อปรับข้อมูลเพื่อเอาปัจจัยแฝงออก ซึ่งได้แก่ อายุ พฤติกรรมการสูบบุหรี่ของอาสาสมัครและคู่นอน และการรับประทานยาคุมกำเนิดของกลุ่มตัวอย่าง พบว่าความหลากหลายของ hOGG1 (C1245G) ไม่มีความสัมพันธ์กับความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งปากมดลูกเช่นกัน เมื่อเทียบ GG genotype กับ CC genotype ได้ค่า adjusted OR=1.05, 95%CI=0.59-1.87, P=0.86 และเปรียบเทียบ CG genotype กับ CC genotype ได้ค่า adjusted OR=0.65, 95%CI=0.38-1.12, P=0.12 ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายของ hOGG1 กับความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งปากมดลูก

| hOGG1 genotype | Control n (%) | Case n (%) | Crude OR (95%CI) | P    | Adjusted OR <sup>a</sup> (95%CI) | P    |
|----------------|---------------|------------|------------------|------|----------------------------------|------|
| CC             | 39 (21.43)    | 46 (25.27) | 1                |      | 1                                |      |
| GG             | 51 (28.02)    | 66 (36.26) | 1.10 (0.60-2.00) | 0.75 | 1.05 (0.59-1.87)                 | 0.86 |
| CG             | 92 (50.55)    | 70 (38.46) | 0.65 (0.37-1.13) | 0.10 | 0.65 (0.38-1.12)                 | 0.12 |

<sup>a</sup> Adjusted by age, smoke habit of partner, smoke habit of volunteers and oral contraceptive pills OR=odds ratio, CI=confidence interval

### วิจารณ์และสรุป

โดยทั่วไปการเปลี่ยนแปลงภายในโครงสร้างของ DNA นับได้ว่าเป็นสาเหตุสำคัญอย่างหนึ่งของการเกิดโรคมะเร็ง ตำแหน่งที่พบว่ามี การเปลี่ยนแปลงมากที่สุดคือ G เมื่อมีกระบวนการออกซิเดชันเกิดขึ้น G จะถูกเปลี่ยนกลายเป็น 8-oxodG เมื่อเกิด 8-oxodG บน DNA มากขึ้น เซลล์จะทำการซ่อมแซม DNA ที่เสียหายนี้โดยการกระตุ้นให้ hOGG1 ผลิตโปรตีน

hOGG1 ออกมาเพื่อทำการซ่อมแซม DNA ดังกล่าว หากบน hOGG1 เกิดการกลายพันธุ์ขึ้นจะทำให้กระบวนการซ่อมแซม DNA ที่เสียหาย ของ hOGG1 ไม่มีประสิทธิภาพซึ่งจะมีผลทำให้เซลล์เกิดมะเร็งได้ง่ายขึ้น

ในการศึกษาก่อนหน้านี้เกี่ยวกับการแสดงออกของ hOGG1 ในตัวอย่างเนื้อเยื่อปากมดลูกของผู้ป่วยที่เป็นมะเร็งปากมดลูก พบว่าเนื้อเยื่อที่เป็นมะเร็ง

ปากมดลูกมีปริมาณของ 8-oxodG สูงมาก และยังพบการแสดงออกของ hOGG1 สูงกว่าเนื้อเยื่อของคนปกติอย่างมีนัยสำคัญ<sup>6</sup> จึงทำให้เชื่อว่าความหลากหลายของ hOGG1 น่าจะมีความสัมพันธ์กับความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งปากมดลูกด้วยเช่นกัน ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงได้ทำการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายของ hOGG1 (C1245G) กับความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งปากมดลูกในสตรีทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือของไทย โดยการใช้วิธี RT-PCR ในการตรวจหาความหลากหลายของ hOGG1 (C1245G) จากดีเอ็นเอที่สกัดได้จากเม็ดเลือดขาวของอาสาสมัครกลุ่มคนปกติและกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งปากมดลูกอย่างไรก็ตามผลจากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าความหลากหลายของ hOGG1 (C1245G) ไม่มีความสัมพันธ์กับความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งปากมดลูกแต่อย่างใด ไม่ว่าจะ เป็น GG genotype (crude OR=1.10, 95% CI=0.60-2.00, P=0.75) หรือ CG genotype (crude OR=0.65, 95%CI=0.37-1.13, P=0.10) เมื่อเทียบกับ CC genotype และเมื่อ adjust ข้อมูลเกี่ยวกับอายุ พฤติกรรมการสูบบุหรี่ของอาสาสมัครและคู่นอน และการรับประทานยาคุมกำเนิดของกลุ่มตัวอย่าง ก็ยังไม่พบความสัมพันธ์กับความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งปากมดลูกเช่นกัน ทั้งใน GG genotype (adjusted OR=1.05, 95%CI=0.59-1.87, P=0.86) หรือ CG genotype (adjusted OR=0.65, 95%CI=0.38-1.12, P=0.12) ซึ่งผลการศึกษานี้สอดคล้องกับการศึกษาอื่นที่พบว่าความหลากหลายของ hOGG1 ไม่มีความสัมพันธ์กับความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งเต้านมของสตรีในเอเชีย<sup>17</sup> และไม่พบความสัมพันธ์กับความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งปอด และมะเร็งกระเพาะอาหาร

ด้วย<sup>14-16</sup> สำหรับสาเหตุของการที่ความหลากหลายของ hOGG1 ไม่มีความสัมพันธ์กับความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งปากมดลูกนั้นยังไม่ทราบแน่ชัด แต่คาดว่าอาจเกิดขึ้นเนื่องจาก GG และ GC genotype ของยีน hOGG1 ที่มีการเปลี่ยนแปลงนั้นมีผลกระทบต่อการลดการซ่อมแซม 8-oxodG ในดีเอ็นเอของเซลล์บุปากมดลูกในระดับที่ต่ำมาก หรืออาจมีการกระตุ้นเอนไซม์ชนิดอื่นๆ เช่น human MTH homolog 1<sup>19</sup> หรือ human MutY homolog<sup>20</sup> ที่มีส่วนป้องกันการเกิดการเปลี่ยนแปลงของยีนที่ได้รับอิทธิพลจาก 8-oxodG ให้ทำงานมากขึ้น เมื่อเอนไซม์ hOGG1 มีการทำงานลดลง ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงสรุปได้ว่าความหลากหลายของ hOGG1 ไม่มีความสัมพันธ์กับความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งปากมดลูกในสตรีทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับเงินทุนสนับสนุนจากบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น เงินทุนอุดหนุนการวิจัย และทุนพัฒนาขีดความสามารถในการทำวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ขอขอบคุณ กลุ่มงานวิจัย สถาบันมะเร็งแห่งชาติที่ให้การสนับสนุนอุปกรณ์ และสถานที่ในการปฏิบัติงานวิจัย และขอขอบคุณโรงพยาบาลศูนย์ขอนแก่น โรงพยาบาลศรีนครินทร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น ที่ให้ความร่วมมือในการศึกษาครั้งนี้

## เอกสารอ้างอิง

1. Khuhaprema T, Srivatanakul P, Attasara P, Sriplung H, Wiangnon S, Sumitsawan Y. Cancer in Thailand, Vol. V, 2001-2003, Bangkok; Thailand; 2010.

2. กระทรวงสาธารณสุข. สถิติสาธารณสุข. สำนักนโยบายและยุทธศาสตร์ กระทรวงสาธารณสุข. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก; 2552.
3. Cooper GM, Hausman RE. *The Cell: A Molecular Approach*. 4<sup>th</sup> ed. USA: Sinauer Associates; 2007.
4. Lodish H, Berk A, Kaiser CA, Krieger M, Scott MP, Bretscher A, et al. *Molecular Cell Biology*. 6<sup>th</sup> ed. USA: Freeman and Company; 2008.
5. Al-Nafussi A. Histopathological Challenges in Assessing Invasion in Squamous, Glandular Neoplasia of the Cervix. *Current Diagnostic Pathology* 2006; 12:364-93.
6. Guo-Qing P, Yuan Y, Cai-Gao Z, Hongling Y, Gonghua H, Yan T. Correction: A study of association between expression of hOGG1, VDAC1, HK-2 and cervical carcinoma. *J Exp Clin Cancer Res* 2011; 30:53.
7. Sakumi K, Tominaga Y, Furuichi M, Xu P, Tsuzuki T, Nakabeppu Y. OGG1 Knockout-associated lung tumorigenesis and its suppression by Mth1 gene disruption. *Cancer Res* 2003;63:902-5.
8. Xie Y, Yang H, Lindahl T, Cunanan C, McIlhatton M, Okamoto K, et al. Deficiencies in mouse Myh and OGG1 result in tumor predisposition and G to T mutations in codon 12 of the K-ras oncogene in lung tumors. *Cancer Res* 2004;64:3096-102.
9. Mei W, Zunzhen Z, Wangjun C. Suppression of a DNA base excision repair gene, hOGG1, increases bleomycin sensitivity of human lung cancer cell line. *Toxicol Appl Pharmacol* 2008;228:395-402.
10. Boiteux S, Radicella JP. Base excision repair of 8-hydroxyguanine protects DNA from endogenous oxidative stress. *Biochimie* 1999;81:59-67.
11. Audebert M, Chevillard S, Levalois C, Gyapay G, Vieillefond A, Klijannienko J, et al. Alterations of the DNA repair gene OGG1 in human clear cell carcinomas of the kidney. *Cancer Res* 2000;60:4740-4.
12. Tang DC, Huang TP, Wei YH, Liu TY, Chen HW, Chen TW, et al. 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine of leukocyte DNA as a marker of oxidative stress in chronic hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2000;36:934-44.
13. Habib SL, Danial E, Nath S, Schneider J, Jenkinson CP, Duggirala R, et al. Genetic polymorphisms in OGG1 and their association with angiomyolipoma, a benign kidney tumor in patients with tuberous sclerosis. *Cancer Biol Ther* 2008;7:23-7.
14. Li Z, Guan W, Li M, Zhong Z, Qian CY, Yang XQ, et al. Genetic polymorphism of DNA base excision repair genes (APE1, OGG1 and XRCC1) and their correlation with risk of lung cancer in a Chinese population. *Arch Med Res* 2011;42:226-34.
15. Sugimura H, Kohno T, Wakai K, Nagura K, Genka K, Igarashi H, et al. hOGG1 Ser326Cys polymorphism and lung cancer susceptibility. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1999;8:669-74.
16. Poplawski T, Arabski M, Kozirowska D, Blasinska-Morawiec M, Morawiec Z, Morawiec A, et al. DNA damage and repair in gastric cancer -- a correlation with the hOGG1 and RAD51 genes polymorphisms. *Mutat Res* 2006;601:83-91.
17. Choi JY, Hamajima N, Tajima K, Yoo KY, Yoon KS, Park SK, et al. hOGG1 Ser326Cys polymorphism and breast cancer risk among Asian women. *Breast Cancer Res Treat* 2003;79:59-62.
18. Wikman H, Risch A, Klimek F, Schmezer P, Spiegelhalder B, Dienemann H, et al. hOGG1 polymorphism and loss of heterozygosity (LOH): significance for lung cancer susceptibility in a caucasian population. *Int J Cancer* 2000;88:932-7.
19. Furuichi M, Yoshida MC, Oda H, Tajiri T, Nakabeppu Y, Tsuzuki T. Genomic Structure and Chromosome Location of the Human MutT Homologue Gene MTH1 Encoding 8-oxo-dGTPase for Prevention of A:T to C:G Transversion. *Genomics* 1994;24:485-90.
20. Slupska MM, Baikalov C, Luther WM, Chiang JH, Wei YF, Miller JH. Cloning and Sequencing a Human Homolog (hMYH) of the Escherichia coli MutY Gene Whose Function is required for the Repair of Oxidative DNA Damage. *J Bacteriol* 1996;178: 3885-92.

## ความหลากหลายของมะเร็งเต้านมชนิด Triple Negative

### สมชาย ณะสิทธิ์ชัย

มะเร็งเต้านมเป็นโรคมะเร็งในเพศหญิงที่พบมากที่สุดหลายประเทศ ปี 2008 องค์การวิจัยมะเร็งนานาชาติ (IARC) ได้ประมาณการว่า แต่ละปีจะมีผู้ป่วยมะเร็งเต้านมรายใหม่ ประมาณ 1.5 ล้านรายและมีอัตราการเสียชีวิต 550,000 รายทั่วโลก<sup>1</sup> แม้ว่ากว่าครึ่งหนึ่งของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมจะเกิดในประเทศอุตสาหกรรม แต่ขณะเดียวกันทั้งอุบัติการณ์และอัตราการเสียชีวิตในประเทศกำลังพัฒนามีอัตราสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง<sup>2,3</sup> โดยที่อุบัติการณ์ตามช่วงอายุระหว่างปี 2000-2003 อยู่ในช่วง 16-30 ราย ต่อ 100,000 ประชากร<sup>2-4</sup> จากข้อมูลโครงสร้างปิระมิดประชากรในประเทศเหล่านี้เป็นกลุ่มประชากรที่มีอายุน้อย และช่วงอายุที่มีอัตราการเกิดมะเร็งเต้านมสูงสุดอยู่ที่ช่วง 50 ปี ทำให้พบว่าผู้ป่วยมะเร็งเต้านมส่วนใหญ่ทั้งในประเทศไทยและกลุ่มประเทศในเอเชียจะเกิดในช่วงก่อนวัยหมดประจำเดือน

มะเร็งเต้านมชนิด triple negative breast cancer (TNBC) เป็นมะเร็งที่มีผลการตรวจตัวรับ

ฮอร์โมนเอสโตรเจน (ER) และ โปรเจสเตอโรน (PgR) และผลผลิตของยีน HER2 เป็นลบทั้งสามชนิดโดยการตรวจด้วยวิธี immunohistochemistry หรือการตรวจหา ยีน HER2 ด้วยวิธี in situ hybridization<sup>5</sup> ดังนั้นอุบัติการณ์ของการวินิจฉัยมะเร็งเต้านมชนิดดังกล่าว จึงมีการเปลี่ยนแปลงตามแต่ละช่วงเวลาจากการพัฒนาวิธีการตรวจและนิยามของผลการตรวจซึ่งโดยทั่วไปจะพบสัดส่วนมะเร็งกลุ่มนี้ประมาณร้อยละ 10-24 ของมะเร็งเต้านมชนิด invasive<sup>6-9</sup> สำหรับในผู้ป่วยไทยจากการศึกษาที่สถาบันมะเร็งแห่งชาติพบ TNBC ประมาณร้อยละ 21

ผู้ป่วย TNBC เป็นกลุ่มมะเร็งที่มีความสำคัญทางคลินิก เนื่องจากมะเร็งเต้านมกลุ่มนี้มีการแสดงออกของพฤติกรรมที่แตกต่างกันอย่างมาก ทำให้การพยากรณ์โรคยาก TNBC ส่วนมากมักจะเป็นมะเร็งชนิด high grade แต่ก็พบกรณีที่มีมะเร็งกลุ่มดังกล่าวเป็นพวก low grade ด้วย<sup>6,10-14</sup> และส่วนใหญ่เป็นชนิด ductal อาจพบเซลล์พวกอื่น เช่น metaplastic,

medullary และ adenoid cystic ซึ่งพบได้น้อยแต่มีการพยากรณ์โรคที่ดีกว่า TNBC ทั่วไป<sup>5,11,15</sup> จากการศึกษาในระดับโมเลกุลพบว่า TNBC รวร้อยละ 70 จัดอยู่ในกลุ่ม basal-like (BLBC) ที่เหลือจะเป็นกลุ่มอื่นซึ่งชีววิทยา<sup>16</sup>มีความแตกต่างทางชีววิทยา<sup>16</sup>

นอกเหนือจากการที่ไม่พบการแสดงออกของ ER, PgR และ HER2 แล้ว ยังพบการแสดงออกทางพยาธิวิทยาชนิดอื่นอีกด้วย เช่นมักจะพบการแสดงออกของ basal cytokeratins (โดยเฉพาะ cytokeratin 9,18 และ 21) รวมทั้ง epidermal growth factor receptor (EGFR หรือ HER1)<sup>6,11-14,17-19</sup> ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้การพยากรณ์โรคที่ไม่ดี<sup>6,20-22</sup> เมื่อเปรียบเทียบกับมะเร็งเต้านมชนิดอื่น TNBC มักมีการแสดงออกของ myoepithelial markers เช่น caveolins (CAV 1 และ 2)<sup>12</sup> c-kit<sup>14,19</sup> และ P-cadherin<sup>11</sup> แต่มักไม่พบการแสดงออกของ epithelial marker ชนิด E-cadherin<sup>11</sup> นอกจากนี้ยังพบว่า TNBC มีความสัมพันธ์กับยีนที่เกี่ยวข้องกับการแบ่งตัว เช่น Ki67 และ TOP2A<sup>6</sup> รวมทั้งระดับ cyclin E ที่สูง และ cyclin D1 ในระดับต่ำ<sup>23,24</sup> TNBC รวร้อยละ 50 มี aberrant p53 ซึ่งสามารถตรวจพบโดยวิธี immunostaining<sup>11,14</sup> หรือ mutational analysis<sup>17</sup> และ/หรือ การแสดงออก ของ p53 homolog p63<sup>6,25</sup> ซึ่งการแสดงออกเหล่านี้มักจะสัมพันธ์กับการพยากรณ์โรคที่ไม่ดี<sup>6,23,24</sup> สำหรับข้อมูลที่ได้จากสถาบันมะเร็งแห่งชาติพบ p53 ผิดปกติ ใน TNBC ร้อยละ 51.5

มะเร็งเต้านมในกลุ่ม BLBC อาจพบกระบวนการ transdifferentiation ที่เรียกว่า epithelial-to-mesenchymal transition (EMT)<sup>26</sup> ซึ่งโดยปกติ

กระบวนการเหล่านี้จะพบได้ในช่วงที่เป็น embryo จึงทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในการแสดงออกของ protein หลายชนิด ไม่ว่าจะเป็นรูปแบบการปรับตัวเพิ่มขึ้น (upregulation) ของ vimentin ซึ่งเป็น mesenchymal marker<sup>27,28</sup> EMT พบได้บ่อยในกลุ่ม BLBC<sup>29,26</sup> และเป็นปรากฏการณ์เดียวกับที่พบการแสดงลักษณะ myoepithelial features จาก epithelial cell ในมะเร็งเต้านมที่เป็น luminal origin ซึ่งมักจะมีการพยากรณ์โรคที่ไม่ดี<sup>30,31</sup>

ในกลุ่ม TNBC ที่เป็น claudin-low ซึ่งพบประมาณร้อยละ 5-10 ของมะเร็งเต้านม<sup>32</sup> พบว่ามีการแสดงออกที่เพิ่มขึ้นอย่างมากของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับ cell-cell junction ซึ่งเป็นคุณลักษณะเฉพาะของ stem cell และ EMT ร่วมกับการเพิ่มขึ้นในการแสดงออก (upregulation) ของ mesenchymal marker<sup>33,34</sup> นอกจากนี้ยังพบว่าในมะเร็งเต้านมที่มีการแสดงออกของ vimentin อาจพัฒนามาจากเซลล์ต้นกำเนิด (progenitor /stem cell) ซึ่งมีศักยภาพที่จะเปลี่ยนเป็นเซลล์ชนิด luminal หรือ myoepithelium ได้<sup>35-37</sup> โดยพบการแสดงออกของ luminal ร่วมกับ basal cytokeratins จำนวนมากใน BLBC<sup>29,38</sup> แม้ว่า BLBC ส่วนมากจะมีลักษณะเนื้อเยื่อทางจุลพยาธิวิทยาเป็นชนิด ductal แต่ก็พบชนิดอื่นได้ เช่น metaplastic (sarcomatoid)<sup>21,36,39</sup> และพวก inflammatory breast cancer<sup>40,41</sup> โดยกลุ่มที่เป็น inflammatory breast cancer จะมีรูปแบบการแสดงออกของยีนที่เป็นลักษณะเฉพาะคล้ายกันทุก subtype และมักจะมีการพยากรณ์โรคที่ไม่ดี

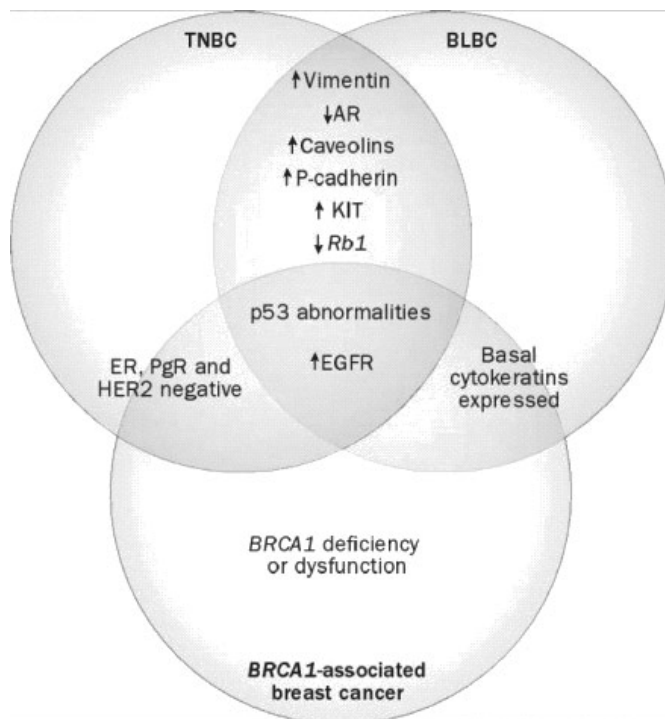
ในมะเร็งเต้านมชนิด metaplastic เป็นกลุ่มที่พบได้ไม่บ่อย แต่มีความเป็นลักษณะเฉพาะทาง

พันธุกรรมและทางพยาธิวิทยา เมื่อเปรียบเทียบกับ BLBC กลุ่มอื่น และยังมีมีการกลายพันธุ์ของยีนใน PI3K pathway เป็นผลให้เกิดความไม่เสถียรของโครงสร้าง ยีน เกิดการแสดงออกของตัวบ่งชี้ของ stem cell และ EMT<sup>34</sup> มะเร็งเต้านมในกลุ่ม metaplastic ส่วนมากร้อยละ 67-95 จัดอยู่ในกลุ่ม BLBC<sup>21,38</sup> ลักษณะการแสดงออกในรูปแบบของ metaplastic ของมะเร็งชนิด ductal มีความสัมพันธ์กับ BLBC subtype และการศึกษาช่วงที่ผ่านมาพบว่ามะเร็งในกลุ่ม metaplastic มักจะเป็นพวก TNBC ที่มีการแสดงออก (overexpression) ของ EGFR และมีความแตกต่างกันของยีน copy-number alterations รวมไปถึงมักจะมี aberrations ของ PI3K pathway เมื่อเปรียบเทียบกับ BLBC ชนิดอื่น<sup>34,37</sup> บางส่วนในมะเร็งกลุ่ม metaplastic อาจมีรูปแบบที่แตกต่างกับ BLBC แต่จะมีความคล้ายคลึงกับพวก claudin-low subtype รวมไปถึงการที่มีลักษณะการแสดงออกของ EMT เช่น จากการที่มี downregulation ของ adhesive molecule ระหว่างเซลล์ รวมไปถึงการแสดงลักษณะบ่งชี้ (marker) ของ stem cell<sup>34</sup>

จากการตรวจการแสดงออกของรูปแบบยีน (gene-expression profiling)<sup>14</sup> และผลที่ได้จาก comparative genomic hybridization<sup>42</sup> พบว่ามะเร็งกลุ่ม BLBC มีความหลากหลายทางพันธุกรรม นอกจากนั้นยังมีรายงานพบ DNA copy number ในกลุ่ม BLBCs มากกว่ากลุ่มที่ไม่ใช่ BLBCs (non-BLBCs)<sup>43</sup> แต่ก็มีการศึกษาที่พบตรงข้าม<sup>44</sup> อย่างไรก็ตาม

โดยทั่วไปว่า BLBC จะมีการเบี่ยงเบน (aberrant) ของ copy-number มากกว่าในกลุ่ม non-BLBC ซึ่งบ่งชี้ถึงความไม่เสถียรของสารพันธุกรรม<sup>45-48</sup> และอาจจะเป็นไปได้ว่าการที่มีความไม่เสถียรนี้เป็นสาเหตุให้เกิดความหลากหลายของมะเร็งชนิด BLBC

จากรายงานที่ผ่านมาพบว่ามักมีผู้จัดกลุ่ม TNBC และ BLBC แทนที่กัน ซึ่งโดยความเป็นจริงแล้ว มะเร็งเต้านมกลุ่ม TNBC เป็นกลุ่มที่ตรวจไม่พบ marker 3 ชนิดคือ ER, PgR และ HER2 ตามที่ได้กล่าวไว้แล้ว ในตอนต้นเท่านั้น แต่ในกลุ่ม BLBC จะต้องมีการตรวจที่มากขึ้นโดยการวัดการแสดงออกของ mRNA ประมาณ 500 ชนิด<sup>48</sup> ซึ่งพบว่าราวร้อยละ 10-35 ของ TNBC ไม่ได้เป็น basal-like (BLBC) เมื่อพิจารณาจากโครงสร้างการแสดงออกของยีน<sup>12,48</sup> และราวร้อยละ 40-80 ของ TNBC มีการแสดงออกในระดับของโปรตีนที่เป็นตัวบ่งชี้ (marker) ชนิดเดียวกับที่พบใน BLBC<sup>11,13,14,17-19</sup> นอกจากนี้ ใน BLBC ที่ไม่เป็น TNBC ยังตรวจพบการแสดงออกของ ER, PgR หรือ HER2 ได้สูงสุดถึงร้อยละ 45<sup>12,48-50</sup> จากผลการตรวจรูปแบบการแสดงออกของยีนด้วยวิธี prediction analysis of microarray (PAM) ในผู้ป่วย TNBC 142 ราย พบว่าร้อยละ 70 ของ TNBC เป็น BLBC และในกลุ่มที่เป็น non-BLBC ที่เหลือมีความแตกต่างอีกหลากหลายชนิด<sup>16</sup> ดังนั้นจากผลการศึกษาดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า TNBC และ BLBC ไม่ใช่กลุ่มเดียวกัน แต่มีการทับซ้อนกันมากกว่า<sup>5,48,49,51</sup> และการใช้คำแทนที่กันจะทำให้เกิดความคลาดเคลื่อนในการจัดกลุ่มแม้ว่าจะเป็นส่วนน้อยก็ตาม (ดังรูปที่ 1)



รูปที่ 1 ลักษณะร่วมกันระหว่าง TNBC และ BLBC<sup>51</sup>

**สรุป** มะเร็งเต้านมชนิด triple negative (TNBC) จะมีการตรวจ ER, PgR (immunohistochemistry) และ HER2 (immunohistochemistry หรือ in-situ hybridization) เป็นลบซึ่งต่างจากมะเร็งเต้านมชนิด basal-like (BLBC) ที่อาจมีการตรวจ marker ดังกล่าวเป็นบวกได้ อย่างไรก็ตามมากกว่าครึ่งหนึ่งของ TNBC มีการตรวจ marker หลายชนิดที่ให้ผลเหมือนกับ BLBC จึงทำให้มีการใช้ชื่อมะเร็งทั้งสองชนิดแทนที่กัน ทั้งๆที่ไม่ใช่กลุ่มเดียวกันเพียง แต่มีลักษณะทางพยาธิคลินิกที่ทับซ้อนกัน ดังนั้นในการรักษา มะเร็งเต้านมชนิด TNBC จึงควรจะต้องมีการศึกษาและทำการบ่งชี้ลักษณะเฉพาะของมะเร็งในผู้ป่วยแต่ละราย เพื่อเลือกการรักษาให้เหมาะสมมากที่สุด

**เอกสารอ้างอิง**

1. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. GLOBOCAN 2008 v1.2, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 10 [Internet]. International Agency for Research on Cancer, Lyon. 2010. Available at: <http://globocan.iarc.fr>. Accessed July 12, 2012.
2. Bray F, Jemal A, Grey N, Ferlay J, Forman D. Global cancer transitions according to the Human Development Index (2008-2030): a population-based study. *Lancet Oncol* 2012;13:790-801.
3. 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.
4. Porter PL. Global trends in breast cancer incidence and mortality. *Salud Publica Mex* 2009;51:s141-6.
5. Reis-Filho JS, Tutt AN. Triple negative tumours: a critical review. *Histopathology* 2008;52:108-8.
6. Viale G, Rotmensz N, Maisonneuve P, Bottiglieri L, Montagna E, Luini A, et al. Invasive ductal carcinoma

- noma of the breast with the "triple-negative" phenotype: prognostic implications of EGFR immunoreactivity. *Breast Cancer Res Treat* 2009;116:317-28.
7. Bauer KR, Brown M, Cress RD, Parise CA, Caggiano V. Descriptive analysis of estrogen receptor (ER)-negative, progesterone receptor (PR)-negative, and HER2-negative invasive breast cancer, the so-called triple-negative phenotype: a population-based study from the California Cancer Registry. *Cancer* 2007;109:1721-8.
  8. Morris GJ, Naidu S, Topham AK, Guiles F, Xu Y, McCue P, et al. Differences in breast carcinoma characteristics in newly diagnosed African-American and Caucasian patients: a single-institution compilation compared with the National Cancer Institute's Surveillance, Epidemiology, and End Results database. *Cancer* 2007;110:876-84.
  9. Kyndi M, Sørensen FB, Knudsen H, Overgaard M, Nielsen HM, Overgaard J, et al. Estrogen receptor, progesterone receptor, HER-2, and response to postmastectomy radiotherapy in high-risk breast cancer: the Danish Breast Cancer Cooperative Group. *J Clin Oncol* 2008;26:1419-26.
  10. Dent R, Trudeau M, Pritchard KI, Hanna WM, Kahn HK, Sawka CA, et al. Triple-negative breast cancer: clinical features and patterns of recurrence. *Clin Cancer Res* 2007;13:4429-34.
  11. Rakha EA, El-Sayed ME, Green AR, Lee AH, Robertson JF, Ellis IO, et al. Prognostic markers in triple-negative breast cancer. *Cancer* 2007;109:25-32.
  12. Tan DS, Marchio C, Jones RL, Savage K, Smith IE, Dowsett M, et al. Triple negative breast cancer: molecular profiling and prognostic impact in adjuvant anthracycline-treated patients. *Breast Cancer Res Treat* 2008;111:27-44.
  13. Cheang MC, Voduc D, Bajdik C, Leung S, McKinney S, Chia SK, et al. Basal-like breast cancer defined by five biomarkers has superior prognostic value than triple-negative phenotype. *Clin Cancer Res* 2008;14:1368-76.
  14. Kreike B, van Kouwenhove M, Horlings H, Weigelt B, Peterse H, Bartelink H, et al. Gene expression profiling and histopathological characterization of triple-negative/basal-like breast carcinomas. *Breast Cancer Res* 2007;9:R65.
  15. Weigelt B, Horlings HM, Kreike B, Hayes MM, Hauptmann M, Wessels LF, et al. Refinement of breast cancer classification by molecular characterization of histological special types. *J Pathol* 2008;216:141-50.
  16. Carey L, O'Shaughnessy J, O'Shaughnessy J, Hoadley K, Khambata-Ford S, Horak C, et al. Potential predictive markers of benefit from cetuximab in metastatic breast cancer: an analysis of two randomized phase 2 trials. *Cancer Res* 2009;69:a2014.
  17. Carey LA, Perou CM, Livasy CA, Dressler LG, Cowan D, Conway K, et al. Race, breast cancer subtypes, and survival in the Carolina Breast Cancer Study. *JAMA* 2006;295:2492-502.
  18. Sasa M, Bando Y, Takahashi M, Hirose T, Nagao T. Screening for basal marker expression is necessary for decision of therapeutic strategy for triple-negative breast cancer. *J Surg Oncol* 2008;97:30-4.
  19. Dabbs DJ, Chivukula M, Carter G, Bhargava R. Basal phenotype of ductal carcinoma in situ: recognition and immunohistologic profile. *Mod Pathol* 2006;19:1506-11.
  20. van de Rijn M, Perou CM, Tibshirani R, Haas P, Kallioniemi O, Kononen J, et al. Expression of cytokeratins 17 and 5 identifies a group of breast carcinomas with poor clinical outcome. *Am J Pathol* 2002;161:1991-6.
  21. Shin BK, Lee Y, Lee JB, Kim HK, Lee JB, Cho SJ, et al. Breast carcinomas expressing basal markers have poor clinical outcome regardless of estrogen receptor status. *Oncol Rep* 2008;19:617-25.
  22. Tsutsui S, Ohno S, Murakami S, Hachitanda Y, Oda S. Prognostic value of epidermal growth factor receptor (EGFR) and its relationship to the estrogen receptor status in 1029 patients with breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2002;71:67-75.
  23. Boström P, Söderström M, Palokangas T, Vahlberg T, Collan Y, Carpen O, et al. Analysis of cyclins A, B1, D1 and E in breast cancer in relation to tumour grade and other prognostic factors. *BMC Res Notes* 2009;2:140.
  24. Voduc D, Nielsen TO, Cheang MC, Foulkes WD. The combination of high cyclin E and Skp2 expression in breast cancer is associated with a poor prognosis and the basal phenotype. *Hum Pathol* 2008;39:1431-7.

25. Westfall MD, Pietsenpol JA. p63: Molecular complexity in development and cancer. *Carcinogenesis* 2004; 25:857-64.
26. Sarrió D, Rodríguez-Pinilla SM, Hardisson D, Cano A, Moreno-Bueno G, Palacios J. Epithelial-mesenchymal transition in breast cancer relates to the basal-like phenotype. *Cancer Res* 2008;68:989-97.
27. Vincent-Salomon A, Thiery JP. Host microenvironment in breast cancer development: epithelial-mesenchymal transition in breast cancer development. *Breast Cancer Res* 2003;5:101-6.
28. Petersen OW, Lind Nielsen H, Gudjonsson T, Villadsen R, Rønnov-Jessen L, Bissell MJ. The plasticity of human breast carcinoma cells is more than epithelial to mesenchymal conversion. *Breast Cancer Res* 2001;3:213-7.
29. Livasy CA, Karaca G, Nanda R, Tretiakova MS, Olopade OI, Moore DT, et al. Phenotypic evaluation of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Mod Pathol* 2006;19:264-71.
30. Jones C, Mackay A, Grigoriadis A, Cossu A, Reis-Filho JS, Fulford L, et al. Expression profiling of purified normal human luminal and myoepithelial breast cells: identification of novel prognostic markers for breast cancer. *Cancer Res* 2004;64:3037-45.
31. Gordon LA, Mulligan KT, Maxwell-Jones H, Adams M, Walker RA, Jones JL. Breast cell invasive potential relates to the myoepithelial phenotype. *Int J Cancer* 2003;106:8-16.
32. Herschkowitz JI, Simin K, Weigman VJ, Mikaelian I, Usary J, Hu Z et al. Identification of conserved gene expression features between murine mammary carcinoma models and human breast tumors. *Genome Biol* 2007;8:R76.
33. Creighton CJ, Li X, Landis M, Dixon JM, Neumeister VM, Sjolund A, et al. Residual breast cancers after conventional therapy display mesenchymal as well as tumor-initiating features. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009;106:13820-5.
34. Hennessy BT, Gonzalez-Angulo AM, Stemke-Hale K, Gilcrease MZ, Krishnamurthy S, Lee JS, et al. Characterization of a naturally occurring breast cancer subset enriched in epithelial-to-mesenchymal transition and stem cell characteristics. *Cancer Res* 2009;69:4116-24.
35. Deugnier MA, Faraldo MM, Janji B, Rousselle P, Thiery JP, Glukhova MA. EGF controls the in vivo developmental potential of a mammary epithelial cell line possessing progenitor properties. *J Cell Biol* 2002;159:453-63.
36. Korsching E, Packeisen J, Liedtke C, Hungermann D, Wülfing P, van Diest PJ, et al. The origin of vimentin expression in invasive breast cancer: epithelial-mesenchymal transition, myoepithelial histogenesis or histogenesis from progenitor cells with bilinear differentiation potential? *J Pathol* 2005;206:451-7.
37. Korsching E, Packeisen J, Agelopoulos K, Eisenacher M, Voss R, Isola J, et al. Cytogenetic alterations and cytokeratin expression patterns in breast cancer: integrating a new model of breast differentiation into cytogenetic pathways of breast carcinogenesis. *Lab Invest* 2002;82:1525-33.
38. Jacquemier J, Padovani L, Rabayrol L, Lakhani SR, Penault-Llorca F, Denoux Y, et al. Typical medullary breast carcinomas have a basal/myoepithelial phenotype. *J Pathol* 2005;207:260-8.
39. Van Laere SJ, Van den Eynden GG, Van der Auwera I, Vandenberghe M, van Dam P, Van Marck EA, et al. Identification of cell-of-origin breast tumor subtypes in inflammatory breast cancer by gene expression profiling. *Breast Cancer Res Treat* 2006;95:243-55.
40. Bertucci F, Finetti P, Rougemont J, Charafe-Jauffret E, Cervera N, Tarpin C, et al. Gene expression profiling identifies molecular subtypes of inflammatory breast cancer. *Cancer Res* 2005;65:2170-8.
41. Adélaïde J, Finetti P, Bekhouche I, Repellini L, Geneix J, Sircoulomb F, et al. Integrated profiling of basal and luminal breast cancers. *Cancer Res* 2007;67:11565-75.
42. Abd El-Rehim DM, Pinder SE, Paish CE, Bell J, Blamey RW, Robertson JF, et al. Expression of luminal and basal cytokeratins in human breast carcinoma. *J Pathol* 2004;203:661-71.
43. Herschkowitz JI, He X, Fan C, Perou CM. The functional loss of the retinoblastoma tumour suppressor is a common event in basal-like and luminal B breast carcinomas. *Breast Cancer Res* 2008;10:R75.
44. Chin K, DeVries S, Fridlyand J, Spellman PT, Roydasgupta R, Kuo WL, et al. Genomic and transcriptional aberrations linked to breast cancer pathophysiology. *Cancer Cell* 2006;10:529-41.

45. Melchor L, Honrado E, Garcia MJ, Alvarez S, Palacios J, Osorio, A et al. Distinct genomic aberration patterns are found in familial breast cancer associated with different immunohistochemical subtypes. *Oncogene* 2008;27:3165-75.
46. Chin SF, Teschendorff AE, Marioni JC, Wang Y, Barbosa-Morais NL, Thorne NP, et al. High-resolution aCGH and expression profiling identifies a novel genomic subtype of ER negative breast cancer. *Genome Biol* 2007;8:R215.
47. Rakha EA, Ellis IO. Triple-negative/basal-like breast cancer: review. *Pathology* 2009;41:40-7.
48. Rakha EA, Tan DS, Foulkes WD, Ellis IO, Tutt A, Nielsen TO, et al. Are triple negative tumours and basal-like breast cancer synonymous? *Breast Cancer Res* 2007;9:404.
49. Rakha EA, Elsheikh SE, Aleskandarany MA, Habashi HO, Green AR, Powe DG, et al. Triple-negative breast cancer: distinguishing between basal and nonbasal subtypes. *Clin Cancer Res* 2009;15:2302-10.
50. Rouzier R, Perou CM, Symmans WF, Ibrahim N, Cristofanilli M, Anderson K, et al. Breast cancer molecular subtypes respond differently to preoperative chemotherapy. *Clin Cancer Res* 2005;11:5678-85.
51. Carey L, Winer E, Viale G, Cameron D, Gianni L. Triple-negative breast cancer: disease entity or title of convenience? *Nat Rev Clin Oncol* 2010;7:683-92.

## คำแนะนำการส่งต้นฉบับ

วารสารโรคมะเร็งยินดีรับบทความทางวิชาการหรือเรื่องราวที่น่าสนใจเกี่ยวกับโรคมะเร็งเพื่อพิจารณาตีพิมพ์ในวารสารนี้ สำหรับบทความที่ตีพิมพ์ในวารสารนี้ถือว่าเป็นลิขสิทธิ์ของวารสารโรคมะเร็ง และเป็นผลงานวิชาการหรือวิจัยของคณะผู้เขียนไม่ใช่ความคิดเห็นของบรรณาธิการหรือผู้จัดทำขอให้ผู้นิพนธ์ส่งต้นฉบับที่จัดเตรียมถูกต้องตามคำแนะนำในเอกสารนี้มายังบรรณาธิการวารสารโรคมะเร็ง กลุ่มงานสนับสนุนวิชาการ สถาบันมะเร็งแห่งชาติ ถนนพระรามที่ 6 เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400 หรือทาง E-mail: nci\_journal@hotmail.com

### ประเภทของบทความ

#### นิพนธ์ต้นฉบับ (Original Articles)

ควรเขียนลำดับเป็นข้อๆ ได้แก่ บทคัดย่อ (ทั้งภาษาอังกฤษและภาษาไทย) บทนำสั้นๆ (เหตุผลที่ทำการศึกษานี้ รวมทั้งวัตถุประสงค์) วัสดุและวิธีการ ผลการศึกษา วิจารณ์ 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

1. บทความที่ส่งมาเพื่อตีพิมพ์ต้องส่งต้นฉบับ 2 ชุด (พร้อมไฟล์) และต้องไม่เคยตีพิมพ์หรือกำลังส่งตีพิมพ์ที่ใด

2. บทความที่พิมพ์รับทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ ถ้าเป็นภาษาไทยควรหลีกเลี่ยงคำภาษาอังกฤษ ยกเว้นในกรณีจำเป็นเท่านั้น พยายามไม่ใช้คำย่อ นอกจากคำที่ยอมรับกันโดยทั่วไป

3. บทคัดย่อ ให้ย่อทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษไม่ว่าเนื้อเรื่องจะเป็นภาษาไทยหรือภาษาอังกฤษ และมีคำสำคัญ (Key words) ด้วย

4. ชื่อเรื่องและชื่อผู้เขียน ต้องมีทั้งภาษาไทย และภาษาอังกฤษ พร้อมด้วยสถาบันที่ทำงาน (ทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ) และระบุผู้เขียนที่สามารถติดต่อได้ (corresponding author)

5. ต้นฉบับต้องพิมพ์อย่างชัดเจนมีระยะห่างระหว่างบรรทัด 2 ช่อง พิมพ์หน้าเดียวในกระดาษ A4 โดยพิมพ์ห่างจากขอบทุกด้าน 1 นิ้ว โดยตลอด และ ใส่เลขหน้าทางมุมขวาบน

6. ภาพประกอบ ถ้าเป็นภาพใช้ภาพขาวดำ ขนาดโปสเตอร์ ผิวน้ำเรียบเป็นมัน หรือพิมพ์จากคอมพิวเตอร์โดยใช้เครื่องพิมพ์เลเซอร์ ใหญ่กว่าขนาดที่จะตีพิมพ์เพื่อให้ได้ภาพชัดเจน กำกับหมายเลขภาพ ชื่อผู้เขียนไว้ด้านหลังภาพทุกภาพ พิมพ์คำบรรยายภาพเป็นลำดับแยกไว้ในกระดาษอีกแผ่น

7. ตาราง พิมพ์แยกต่างหากโดยมีหัวข้อ (title) และเชิงอรรถ (foot note) พร้อมทั้งอธิบายตัวย่อในตารางตลอดจนบอกนัยสำคัญทางสถิติอย่างครบถ้วน

8. เอกสารอ้างอิง ใช้ระบบแวนคูเวอร์ ซึ่งเป็นระบบที่ใช้กันอยู่ในวารสารทางการแพทย์ชั้นนำในขณะนี้ ให้กำกับการอ้างอิงด้วยหมายเลขและเรียงลำดับการอ้างหมายเลขที่กำกับในรายชื่อเอกสารอ้างอิงจะต้องตรงกับหมายเลขในเนื้อเรื่องด้วย

## 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; ปีที่หน้าแรก-หน้าสุดท้าย.

วารสารภาษาไทย ให้เขียนแบบเดียวกับภาษาอังกฤษ เว้นแต่ชื่อผู้เขียนใช้ชื่อเต็มโดยใส่ชื่อตัวก่อนแล้วตามด้วยนามสกุลและใช้ปี พ.ศ.

#### ตัวอย่าง

1. Chariyalertsak 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, พงษ์กิตติฐิคุภกร, 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 ประธานที่เป็นผู้นิพนธ์ 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. 6<sup>th</sup> 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 10<sup>th</sup> 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.....ผู้ลงโฆษณา

(.....)

### หมายเหตุ

ถ้าลงโฆษณาทั้งปี (4 ฉบับ) จะลดค่าโฆษณาให้ 10 %

ส่งอาร์ตเวิร์ค / ข้อความโฆษณาทาง E-mail : nci\_journal@hotmail.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 31 ฉบับที่ 1-4 (พ.ศ. 2554) รวม 4 ฉบับ เป็นเงิน 200 บาท

ปีที่ 32 ฉบับที่ 1-4 (พ.ศ. 2555) 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