



การแสดงออกของเมทิลทรานสเฟอเรสไลค์ 3 ในถุงน้ำเดนติเจอร์ส และอะมีโลบลาสโตมา
METHYLTRANSFERASE-LIKE 3 EXPRESSION IN DENTIGEROUS CYST AND
AMELOBLASTOMA

สุภิสรา พัทธามันต์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

2567

การแสดงออกของเมทิลทรานสเฟอร์เลส 3 ในถุงน้ำเดินติเจอร์ส และอะมีโลบลาสโตมา



ปริญญานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการช่องปากและแม็กซิลโลเฟเชียล
คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
ปีการศึกษา 2567
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

METHYLTRANSFERASE-LIKE 3 EXPRESSION IN DENTIGEROUS CYST AND
AMELOBLASTOMA



SUPISARA PATCHARAMAN

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of MASTER OF SCIENCE
(Master of Science Program in Oral and Maxillofacial Sciences)
Faculty of Dentistry, Srinakharinwirot University

2024

Copyright of Srinakharinwirot University

ปริญญานิพนธ์

เรื่อง

การแสดงออกของเมทิลทรานสเฟอเรสไลค์ 3 ในถุงน้ำเดินติเจอร์ส และอะมีโลบลาสโตมา

ของ

สุภิสรา พัชรามันต์

ได้รับอนุมัติจากบัณฑิตวิทยาลัยให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการช่องปากและแม็กซิลโลเฟเชียล
ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ฉัตรชัย เอกปัญญาสกุล)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบปากเปล่าปริญญานิพนธ์

..... ที่ปรึกษาหลัก ประธาน
(รองศาสตราจารย์ ดร.ภัทธยา แตบวรพกุล) (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปรมาภรณ์ กลิ่น
ฤทธิ์)

..... ที่ปรึกษาร่วม กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ชัชพันธุ์ อุดมพัฒนานกร) (รองศาสตราจารย์ ดร.อรุณวรรณ หล้าอุบล)

ชื่อเรื่อง	การแสดงออกของเมทิลทรานสเฟอเรสไลค์ 3 ในถุงน้ำเดนติเจอร์ส และอะมีโลบลาสโตมา
ผู้วิจัย	สุกิสรา พัทธามันต์
ปริญญา	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต
ปีการศึกษา	2567
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร. ภัทรายุ แต่บรรพกุล
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ชัชพันธ์ อุดมพัฒน์นกร

ถุงน้ำ และเนื้องอกที่มีสาเหตุจากเนื้อเยื่อสร้างฟันที่พบได้บ่อยได้แก่ถุงน้ำเดนติเจอร์ส และอะมีโลบลาสโตมา จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรม และกระบวนการกลายพันธุ์เหนือพันธุกรรมทั้งในระดับดีเอ็นเอ และอาร์เอ็นเอ มีความเกี่ยวข้องกับการพัฒนาไปเป็นรอยโรคทั้งสองชนิด แต่ยังไม่พบการศึกษาการแสดงออกของ METTL3 ในถุงน้ำ และเนื้องอกที่มีสาเหตุจากเนื้อเยื่อสร้างฟันมาก่อน ซึ่ง METTL3 เป็นเอนไซม์ที่ควบคุมกระบวนการเมทิลเลชันของกระบวนการดัดแปลงอาร์เอ็นเอ การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการแสดงออกของ METTL3 ในถุงน้ำเดนติเจอร์ส และอะมีโลบลาสโตมาด้วยวิธีทางอิมมูโนฮิสโตเคมี โดยใช้ชิ้นเนื้อถุงน้ำเดนติเจอร์สจำนวน 30 ตัวอย่าง ชิ้นเนื้ออะมีโลบลาสโตมาจำนวน 35 ตัวอย่าง และชิ้นเนื้อถุงหุ้มหน่อฟันจำนวน 7 ตัวอย่าง ศึกษาแบบการติดสี ร้อยละของเซลล์ที่ติดสีย้อม ความเข้มของการติดสี และคะแนนอิมมูโนรีแอคทีฟของ METTL3 วิเคราะห์ข้อมูลด้วยสถิติ One way ANOVA และ สถิติ Kruskal-Wallis test ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่า METTL3 มีการแสดงออกในถุงน้ำเดนติเจอร์ส และอะมีโลบลาสโตมา โดยพบการติดสีในนิวเคลียสของเซลล์ชั้นเยื่อบุผิวในชิ้นเนื้อทั้งสองชนิด ซึ่งมีความเข้มระดับปานกลาง และความเข้มรุนแรงในขณะที่ยังหุ้มหน่อฟันส่วนใหญ่ไม่พบการแสดงออกของ METTL3 ค่าเฉลี่ยร้อยละของเซลล์ที่ย้อมติดสี ความเข้มของการย้อมติดสี และคะแนนอิมมูโนรีแอคทีฟของการแสดงออกของ METTL3 สูงที่สุดในกลุ่มอะมีโลบลาสโตมา รองลงมาได้แก่ถุงน้ำเดนติเจอร์ส และถุงหุ้มหน่อฟัน ($p < 0.01$) อีกทั้งยังพบว่า อะมีโลบลาสโตมาชนิดหลายถุงน้ำมีค่าเฉลี่ยร้อยละของเซลล์ที่ย้อมติดสี ความเข้มของการย้อมติดสี และคะแนนอิมมูโนรีแอคทีฟสูงกว่าอะมีโลบลาสโตมาชนิดถุงน้ำเดียวที่มีลักษณะทางพยาธิวิทยาเป็นมูรัล และอะมีโลบลาสโตมาชนิดถุงน้ำเดียวที่มีลักษณะทางพยาธิวิทยาเป็นลูมินัล และอินทราลูมินัลตามลำดับ จากผลการศึกษาจึงชี้ให้เห็นว่า METTL3 อาจมีบทบาทในรอยโรคถุงน้ำ และเนื้องอกที่มีสาเหตุจากเนื้อเยื่อสร้างฟัน และอาจมีบทบาทในพฤติกรรมความรุนแรงของรอยโรคอะมีโลบลาสโตมา

คำสำคัญ : METTL3, อะมีโลบลาสโตมา, ถุงน้ำเดนติเจอร์ส, กระบวนการดัดแปลง m6A

Title	METHYLTRANSFERASE-LIKE 3 EXPRESSION IN DENTIGEROUS CYST AND AMELOBLASTOMA
Author	SUPISARA PATCHARAMAN
Degree	MASTER OF SCIENCE
Academic Year	2024
Thesis Advisor	Associate Professor Dr. Patrayu Taebunpakul
Co Advisor	Assistant Professor Chatchaphan Udompatanakorn

Odontogenic cysts and tumors, including dentigerous cyst (DC) and ameloblastoma (AM), are common odontogenic lesions. Previous studies have shown that genetic alterations and epigenetic mutations, at both the DNA and RNA levels, are associated with their development. However, no studies have examined the expression of METTL3, an enzyme that controls the methylation process in RNA modification, in odontogenic cysts and tumors. The objective of this study is to investigate the expression of METTL3 in DC and AM using immunohistochemical methods. A total of 30 DC samples, 35 AM samples, and 7 dental follicle (DF) samples were analyzed. The expression pattern, percentage of stained cells, intensity of staining, and immunoreactive scores (IRS) were evaluated using One-Way ANOVA and Kruskal-Wallis tests. The results indicated that METTL3 was expressed in DC and AM, with moderate to strong nuclear staining in epithelial cells in both groups. In the DF group, METTL3 expression was either absent or weakly positive in the nucleus of epithelial cells. The average percentage of stained cells, intensity of staining, and IRS for METTL3 were highest in the AM, followed by DC and DF ($p < 0.01$). Additionally, conventional AM showed higher METTL3 expression than the mural subtype of unicystic AM and the luminal/intraluminal subtypes of unicystic AM. These results suggest that METTL3 might play a role in odontogenic cysts and tumors, and could be related to the aggressive behavior of AM.

Keyword : METTL3, Ameloblastoma, Dentigerous cyst, m6A modification

กิตติกรรมประกาศ

ปริญญานิพนธ์นี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี โดยได้รับความเมตตากรุณาช่วยเหลือ ความเอาใจใส่ และการให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์ ตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่อง จากคณะกรรมการผู้ควบคุม ปริญญานิพนธ์ ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดร.ทพญ.ภัทราวุธ แต่บรรพกุล อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก และ ผศ.ดร.ทพ.ชัยพันธุ์ อุดมพัฒนานกร อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่ได้ให้ความรู้ในการศึกษาปริญญานิพนธ์ และช่วยเหลือชี้แนะแนวทางในการดำเนินงานในทุกขั้นตอน รวมทั้งขอขอบพระคุณคณาจารย์ ภาควิชาศัลยศาสตร์ช่องปาก และเวชศาสตร์ช่องปากทุกท่าน ที่ได้กรุณาประสิทธิ์ประสาทความรู้ต่างๆ ให้แก่ข้าพเจ้า ขอขอบพระคุณ นางสาวอุตมาพร บุญทรง ผู้ให้ความช่วยเหลือ คำแนะนำ รวมถึงอำนวยความสะดวกในขั้นตอนการศึกษาขึ้นเนื้อในห้องปฏิบัติการ และขอขอบคุณเพื่อนร่วมชั้นปี และรุ่นพี่ในภาควิชาทุกคนที่ให้ความช่วยเหลือ และเป็นกำลังใจที่ดีเสมอมา สุดท้ายนี้ ขอขอบพระคุณมารดา และครอบครัวที่คอยสนับสนุน และเป็นกำลังใจทั้งในการเรียน และการทำ ปริญญานิพนธ์มาโดยตลอด

สุกิสรา พัทธามันต์

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ	ช
สารบัญตาราง.....	ญ
สารบัญรูปภาพ	ฎ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
ภูมิหลัง	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	5
ความสำคัญของงานวิจัย	5
คำถามงานวิจัย.....	6
กรอบแนวคิดงานวิจัย.....	6
กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา	6
ตัวแปรศึกษา	6
สมมติฐาน.....	7
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	8
1. รอยโรคที่มีสาเหตุจากเนื้อเยื่อสร้างฟัน	8
1.1 ถุงน้ำเดนติเจอรัล.....	9
1.2 อะมีโลบลาสโตมา.....	10
2. พยาธิกำเนิดของถุงน้ำ และเนื้องอกที่มีสาเหตุจากเนื้อเยื่อสร้างฟัน.....	12
2.1 การกลายพันธุ์ในระดับพันธุกรรมของถุงน้ำเดนติเจอรัล และอะมีโลบลาสโตมา	12

2.2 กระบวนการเหนี่ยวนำการเกิดของน้ำดีเดนติเจอรส์และอะมีโลบลาสโตมา	14
3.การดัดแปลงอาร์เอ็นเอ และ N6-methyladenosine (m6A)	17
3.1 m6A writers หรือ m6A methyltransferases	18
3.2 m6A erasers หรือ demethylases	18
3.3 m6A readers	19
4.การดัดแปลง m6A ในอาร์เอ็นเอกับรอยโรคในช่องปาก.....	19
4.1 การดัดแปลง m6A ในอาร์เอ็นเอกับมะเร็งช่องปากของมนุษย์.....	19
4.2 การดัดแปลง m6A ในอาร์เอ็นเอกับถุงน้ำดีเดนติเจอรส์ และอะมีโลบลาสโตมา.....	21
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	23
1. การกำหนดประชากร และการสุ่มกลุ่มตัวอย่าง	23
1.1 การคำนวณกลุ่มตัวอย่าง	23
1.2 ประชากรที่ใช้ในการศึกษา	24
2. วิธีการทดลอง	24
2.1 วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย	24
2.2 สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย	24
2.3 ขั้นตอนการศึกษา.....	25
3. การเก็บรวบรวมข้อมูล	28
3.1 วิธีเก็บข้อมูล	28
3.2 การแปลผล	28
4. การวิเคราะห์ข้อมูลสถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล.....	30
บทที่ 4 ผลการดำเนินงานวิจัย	32
ข้อมูลทั่วไปของประชากรที่ศึกษา	32
การแสดงออกของ METTL3 ในชิ้นเนื้อถุงหุ้มหน่อฟัน ถุงน้ำดีเดนติเจอรส์ และ อะมีโลบลาสโตมา	34

ร้อยละการติดสี คะแนนร้อยละของการติดสี คะแนนความเข้มของการย้อมติดสี และกะแนน อิมมูโนรีแอกทีฟของการแสดงออกของ METTL3 ในชิ้นเนื้อถุงหุ้มหน่อพ้น ถุงน้ำเดนติ เจอร์ส และอะมีโลบลาสโตมา	36
ร้อยละการติดสี คะแนนร้อยละของการติดสี คะแนนความเข้มของการย้อมติดสี และกะแนน อิมมูโนรีแอกทีฟของการแสดงออกของ METTL3 ในชิ้นเนื้อ อะมีโลบลาสโตมาแต่ละชนิด	38
ความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะทางคลินิกของรอยโรค และการแสดงออกของ METTL3 ในถุงน้ำ เดนติเจอร์ส และอะมีโลบลาสโตมา	41
บทที่ 5.....	44
สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ.....	44
สรุปผลการวิจัย.....	44
อภิปรายผล	45
ข้อเสนอแนะ	49
บรรณานุกรม	50
ภาคผนวก.....	57
ประวัติผู้เขียน.....	70

สารบัญตาราง

หน้า

ตาราง 1 แสดงข้อมูลทั่วไปของประชากรศึกษา.....	32
ตาราง 2 ข้อมูลร้อยละของเซลล์ที่ย้อมติดสี คะแนนร้อยละของเซลล์ที่ย้อมติดสี ความเข้มของการย้อมติดสี และคะแนนอิมมูโนรีแอคทีฟในกลุ่มถุงหุ้มหน่อพิน ถุงน้ำเดนติเจอร์ส และ อะมีโบลาสโตมา.....	37
ตาราง 3 ข้อมูลร้อยละของเซลล์ที่ย้อมติดสี คะแนนร้อยละของเซลล์ที่ย้อมติดสี ความเข้มของการย้อมติดสี และคะแนนอิมมูโนรีแอคทีฟในกลุ่มอะมีโบลาสโตมาชนิดถุงน้ำเดี่ยว ที่มีลักษณะทางพยาธิวิทยาเป็นลูมินัล และอินทราลูมินัล อะมีโบลาสโตมาชนิดถุงน้ำเดี่ยว ที่มีลักษณะทางพยาธิวิทยาเป็นมูรัล และอะมีโบลาสโตมาชนิดหลายถุงน้ำ	39
ตาราง 4 ความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะทางคลินิกของรอยโรค และการแสดงออกของ METTL3 ในถุงน้ำเดนติเจอร์ส และอะมีโบลาสโตมา.....	41
ตาราง 5 ความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะทางคลินิกของรอยโรค และการแสดงออกของ METTL3 ในอะมีโบลาสโตมาชนิดถุงน้ำเดี่ยว และอะมีโบลาสโตมาชนิดหลายถุงน้ำ	43

สารบัญรูปภาพ

หน้า

ภาพประกอบ 1 กรอบแนวคิดในงานวิจัย	6
ภาพประกอบ 2 การคำนวณกลุ่มตัวอย่างโดยโปรแกรม G*Power	23
ภาพประกอบ 3 การแสดงออกของ METTL3 ในชิ้นเนื้อมะเร็งกระเพาะปัสสาวะ	34
ภาพประกอบ 4 การแสดงออกของ METTL3 ในชิ้นเนื้อถุงหุ้มหน่อพื้ ฤงน้ำเดนติเจอร์ส และอะมีโลบลาสโตมา	35



บทที่ 1

บทนำ

ภูมิหลัง

ฟันเกิดจากการหนาตัวขึ้นของเยื่อบุผิวซึ่งอยู่บริเวณเหนือกระดูกเบ้าฟัน (alveolar ridge) ของขากรรไกรบน และขากรรไกรล่าง เยื่อบุผิวที่หนาขึ้นจะกลายเป็นเดนทัล ลามินา (dental lamina) เข้าไปในเอ็กโตเซนไคม์ (ectomesenchyme) เยื่อบุผิวดันกำเนิดฟัน (odontogenic epithelium) จึงถูกฝังอยู่ในกระดูก ภายหลังการสร้างฟันจะเกิดการสลายของเยื่อบุผิวดันกำเนิดฟัน และองค์ประกอบสร้างฟันอื่นๆ ซึ่งอาจก่อให้เกิดเยื่อบุผิวที่ตกค้างอยู่ในขากรรไกรและพัฒนาเป็นรอยโรคได้⁽¹⁾

รอยโรคที่มีสาเหตุจากเนื้อเยื่อสร้างฟัน (odontogenic lesion) สามารถแบ่งออกได้เป็น ถุงน้ำ และเนื้องอก⁽²⁾ หนึ่งในถุงน้ำที่มีสาเหตุจากเนื้อเยื่อสร้างฟัน (odontogenic cyst) ที่พบได้มาก คือ ถุงน้ำเดนติเจอร่าส (dentigerous cyst; DC) ถุงน้ำชนิดนี้เป็นถุงน้ำที่ไม่รุนแรง ภายในถุงน้ำเต็มไปด้วยของเหลว ซึ่งพัฒนาอยู่ในกระดูกขากรรไกรล้อมรอบซี่ฟันที่ไม่ขึ้นในช่องปาก โดยฟันกรามแท้ซี่ที่สาม และฟันเขี้ยวบนแท้เป็นฟันที่มีแนวโน้มที่จะไม่ขึ้นมากที่สุด จึงมีความสัมพันธ์กับถุงน้ำเดนติเจอร่าสมากกว่าฟันซี่อื่นในช่องปาก โดยปกติแล้วผู้ป่วยจะไม่แสดงอาการเว้นแต่กรณีที่มีการอักเสบ ถุงน้ำเดนติเจอร่าสมักตรวจพบจากภาพถ่ายรังสี โดยลักษณะทางภาพรังสีที่พบจะมีลักษณะเป็นเงาดำขนาดใหญ่กว่า 3 มิลลิเมตรล้อมรอบฟันที่ไม่ขึ้นในช่องปาก ถุงน้ำเดนติเจอร่าสสามารถรักษาได้โดยการผ่าตัดควักถุงน้ำออก (enucleation) พร้อมกับการนำฟันที่ยังขึ้นไม่ได้ออกมาด้วย โดยหลังจากได้รับการรักษาแล้วมีอัตราการเป็นซ้ำต่ำ⁽³⁾ อย่างไรก็ตามมีการรายงานผู้ป่วยพบว่าถุงน้ำเดนติเจอร่าสสามารถเกิดการเปลี่ยนแปลงของเยื่อบุผิวถุงน้ำเป็นเนื้องอกอะมีโลบลาสโตมาได้⁽⁴⁻⁶⁾

สำหรับเนื้องอกที่มีสาเหตุจากเนื้อเยื่อสร้างฟัน (odontogenic tumor) ที่พบได้บ่อยคืออะมีโลบลาสโตมา อะมีโลบลาสโตมาเป็นเนื้องอกชนิดไม่ร้ายแรง (benign tumor) ของกระดูกขากรรไกรที่พบมากที่สุด⁽⁷⁾ มีเซลล์ต้นกำเนิดจากอวัยวะเคลือบฟัน (enamel organ)⁽⁸⁾ ซึ่งอะมีโลบลาสโตมาพบในกระดูกขากรรไกรล่าง มากกว่าขากรรไกรบน^(7, 9) โดยมักส่งผลให้กรามขยายใหญ่ขึ้น และทำให้ผู้ป่วยมีใบหน้าผิดปกติ⁽¹⁰⁾ แม้ว่าอะมีโลบลาสโตมาจะเป็นเนื้องอกชนิดไม่ร้ายแรง แต่ก็มีพฤติกรรมรุกรานเฉพาะที่^(11, 12) และมีอัตราการกลับเป็นซ้ำสูง ดังนั้นผู้ป่วยจำเป็นต้องได้รับการรักษาโดยการผ่าตัดรอยโรคออกทั้งหมด^(8, 13)

การจำแนกประเภทของเนื้องอกที่ศีรษะและคอของ WHO ฉบับที่ 5 เผยแพร่ในปี ค.ศ. 2022 มีการแบ่งประเภทของเนื้องอกชนิดไม่ร้ายแรงที่เกิดจากเนื้อเยื่อสร้างฟัน ที่ปรากฏลักษณะของเซลล์ที่มีรูปร่างคล้ายอะมีโลบลาสโตมา (ameloblastic-like cells) เป็น 5 ชนิด ได้แก่ อะมีโลบลาสโตมาชนิดหลายถุงน้ำ (conventional/multicystic ameloblastoma) อะมีโลบลาสโตมาชนิดถุงน้ำเดี่ยว (unicystic ameloblastoma) อะมีโลบลาสโตมาชนิดนอกขากรรไกร (peripheral/extraosseous ameloblastoma) อะมีโลบลาสโตมาชนิดแพร่กระจาย (metastasizing ameloblastoma) และอะดีโนออยด์อะมีโลบลาสโตมา (adenoid ameloblastoma)⁽¹⁴⁾ โดยรอยโรคส่วนใหญ่มักพบเป็นอะมีโลบลาสโตมาชนิดหลายถุงน้ำ โดยพบมากถึงร้อยละ 86⁽¹¹⁾ ถึงแม้ว่ารอยโรคนี้อาจมีการขยายขนาดที่ช้า แต่กลับมีการรุกรานเฉพาะที่สูง และมีความสามารถในการทำลายกระดูกที่บดได้ (cortex bone) โดยลักษณะทางภาพรังสีพบเป็นเงาดำหลายวง นอกจากนั้นยังมีอัตราการกลับเป็นซ้ำสูงหากได้รับการรักษาที่ไม่เหมาะสม^(9, 11) ชนิดที่พบบรองลงมาคือ อะมีโลบลาสโตมาชนิดถุงน้ำเดี่ยวซึ่งมีพฤติกรรมการดำเนินโรคคล้ายรอยโรคถุงน้ำเดนติเจอรัส ลักษณะทางภาพรังสีพบเป็นลักษณะเงาดำวงเดี่ยว และเป็นรอยโรคที่มีความรุนแรง และอัตราการกลับเป็นซ้ำที่ต่ำกว่าอะมีโลบลาสโตมาชนิดหลายถุงน้ำ⁽¹²⁾ วิธีการรักษาของอะมีโลบลาสโตมาขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่นชนิดของเนื้องอก และลักษณะทางคลินิก อะมีโลบลาสโตมาชนิดถุงน้ำเดี่ยวมีพฤติกรรมรุกรานต่ำ จึงมักจะได้รับ การรักษาโดยการผ่าตัดเชิงอนุรักษ์ (conventional surgery) ร่วมกับการขูด (curettage) หรือการจี้เย็น (cryosurgery) ในขณะที่อะมีโลบลาสโตมาชนิดหลายถุงน้ำมีอัตราความรุนแรงสูงกว่า และมีโอกาสกลับเป็นซ้ำสูง จึงต้องรักษาด้วยการผ่าตัดรักษาแบบเชิงรุก (aggressive surgery) ส่งผลให้เกิดการสูญเสียที่มากกว่า ซึ่งมักนำไปสู่การผิดปกติของใบหน้า การสูญเสียการทำงานของระบบบดเคี้ยว และภาวะทางจิตใจ จึงต้องมีการคัดสรรมตดแต่งเพื่อเสริมสร้างโครงสร้างของขากรรไกรและใบหน้าด้วย^(11, 12, 15)

กลไกระดับโมเลกุลในการพัฒนารอยโรคถุงน้ำเดนติเจอรัส และอะมีโลบลาสโตมา ยังไม่ทราบแน่ชัดทั้งหมด มีการศึกษาหลายการศึกษาที่พยายามระบุรูปแบบการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์โปรตีน (protein-coding genes) หรือยีนที่ไม่ได้มีการแปลรหัส (noncoding transcripts) ในรอยโรคที่เกิดจากเนื้อเยื่อสร้างฟันเพื่อทำความเข้าใจในกระบวนการเกิดโรค⁽¹⁶⁾ มีการศึกษาเกี่ยวกับการกลายพันธุ์ทางพันธุกรรม (genetic alteration) ในรอยโรคถุงน้ำเดนติเจอรัส โดยศึกษาการกลายพันธุ์ของยีน PTCH ในถุงน้ำเดนติเจอรัส ผลการศึกษาพบการสูญเสียเฮเทอโรไซโกซีตี (loss of heterozygosity) ในบริเวณยีน PTCH ของถุงน้ำเดนติเจอรัส ซึ่งบ่งชี้ถึงการทำงานที่ผิดปกติของเส้นทางการส่งสัญญาณที่เกี่ยวข้องของยีน ในขณะที่ถุงน้ำ

ปลายรากฟัน (radicular cyst) ไม่พบการแสดงออกของ PTCH หรือความผิดปกติในยีน PTCH ผลการศึกษาบ่งชี้ว่าการกลายพันธุ์ของยีน PTCH อาจมีส่วนเกี่ยวข้องกับการเกิดโรคถุงน้ำเดนติเจอร์รัล⁽¹⁷⁾

สำหรับการศึกษาเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมในการเกิดโรคอะมีโลบลาสโตมา พบว่ามีการกลายพันธุ์ในกระบวนการ mitogen-activated protein kinases/extracellular signal-regulated kinases (MAPK/ERK) โดยยีน BRAF-V600E เป็นการกลายพันธุ์ที่พบบ่อยที่สุด^(10, 15, 18, 19) และยังพบการกลายพันธุ์ของ smoothened (SMO) gene ในอะมีโลบลาสโตมาด้วยเช่นกัน โดยเป็นที่ยอมรับแล้วว่ามักจะพบการกลายพันธุ์ของยีน BRAF-V600E ในอะมีโลบลาสโตมาที่เกิดในขากรรไกรล่าง ในขณะที่การกลายพันธุ์ของ SMO gene พบในขากรรไกรบน⁽¹⁵⁾ นอกจากการกลายพันธุ์ในระดับพันธุกรรมแล้วยังพบว่าในถุงน้ำเดนติเจอร์รัล และอะมีโลบลาสโตมามีความผิดปกติของกระบวนการเหนือพันธุกรรม (epigenetic mutation) ด้วย ซึ่งพบความผิดปกติของกระบวนการเหนือพันธุกรรมทั้งในระดับดีเอ็นเอ และอาร์เอ็นเอ⁽²⁰⁻²³⁾

ความผิดปกติของกระบวนการเหนือพันธุกรรมในระดับดีเอ็นเอ ในกระบวนการจำลองดีเอ็นเอในมนุษย์จะมีเอนไซม์ที่สำคัญได้แก่ DNMT ซึ่งแบ่งออกเป็น 3 ชนิดได้แก่ DNMT1, DNMT3a และ DNMT3b มีการศึกษาเปรียบเทียบการแสดงออกของ DNMT3a และ DNMT3b ในอะมีโลบลาสโตมา และถุงน้ำที่มีสาเหตุจากเนื้อเยื่อสร้างฟันได้แก่ ถุงน้ำเดนติเจอร์รัล ถุงน้ำปลายรากฟัน และถุงน้ำไอดอนโตเจนิค เคอราโตซิสต์ ผลการศึกษพบว่า DNMT3a และ DNMT3b มีส่วนเกี่ยวข้องในกระบวนการเมทิลเลชันของอะมีโลบลาสโตมา โดย DNMT3a มีความเกี่ยวข้องกับพฤติกรรมก้าวร้าวของอะมีโลบลาสโตมา เนื่องจากพบการแสดงออก DNMT3a สูงเมื่อเปรียบเทียบกับรอยโรคถุงน้ำอื่นๆ และการแสดงออกของ DNMT3a ยังมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับรอยโรคอะมีโลบลาสโตมาที่มีการทำลายกระดูกทึบ ส่วน DNMT3b มีการแสดงออกสูงในอะมีโลบลาสโตมา แต่ไม่พบความสัมพันธ์กับลักษณะทางคลินิก ส่วนถุงน้ำเดนติเจอร์รัลพบการแสดงออกของ DNMT3a สูงกว่าถุงน้ำชนิดอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่พบการแสดงออกของ DNMT3b ในถุงน้ำเดนติเจอร์รัลต่ำกว่าเนื้อเยื่อช่องปากปกติ และผลการศึกษาพบว่า DNMT3a และ DNMT3b ไม่มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับความรุนแรงของถุงน้ำเดนติเจอร์รัล⁽²⁰⁾ ซึ่งการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่า DNMT3a และ DNMT3b อาจมีบทบาทในกระบวนการเหนือพันธุกรรมในระดับดีเอ็นเอของถุงน้ำเดนติเจอร์รัล และอะมีโลบลาสโตมา และอีกการศึกษาหนึ่งพบ DNMT1 และ DNMT3a ทั้งในนิวเคลียส และไซโตพลาสซึมในรอยโรคอะมีโลบลาสโตมา

ถุงน้ำไอดอนโตเจนิค เคอราโตซิสต์ ถุงน้ำปลายรากฟัน และเนื้องอกอะดีโนมาตอย ไอดอนโตเจนิค (Adenomatoid odontogenic tumor) ในขณะที่ตัวอย่างเยื่อช่องปากปกติพบ DNMT1 แต่ไม่พบ DNMT3a และลักษณะการแสดงออกของ DNMT1 ของตัวอย่างเยื่อช่องปากคล้ายกับรอยโรคทุกชนิด ดังนั้น DNMT1 จึงอาจจะไม่มีบทบาทในการพัฒนาของถุงน้ำ และเนื้องอกในช่องปาก⁽²²⁾ จากการศึกษาที่ผ่านมาจึงอาจจะเป็นข้อบ่งชี้ได้ว่าความผิดปกติของกระบวนการเหนือพันธุกรรมในระดับดีเอ็นเอเกิดขึ้นในถุงน้ำ และเนื้องอกที่มีสาเหตุจากเนื้อเยื่อสร้างฟัน

กระบวนการเหนือพันธุกรรม (epigenetic) ในระดับอาร์เอ็นเอ เกิดจากกระบวนการดัดแปลงอาร์เอ็นเอ (RNA modification) โดย N6-methyladenosine (m6A) เป็นกระบวนการเมทิลเลชันที่พบมากที่สุด ใน mRNA การดัดแปลง m6A มีส่วนเกี่ยวข้องในเกือบทุกขั้นตอนใน mRNA เมแทบอลิซึม (metabolism)^(24, 25) นอกจากนี้ยังส่งผลต่อการประมวลผลของ lncRNAs (long non-coding RNAs) และ circRNAs (circular RNAs) ด้วย⁽²⁶⁾ N6-methyladenosine หรือ m6A ถูกควบคุมโดยกลุ่มเอนไซม์ 3 กลุ่ม ได้แก่ m6A writers หรือ m6A methyltransferases, m6A erasers หรือ m6A demethylases และ m6A readers⁽²⁷⁾ โดย Methyltransferase-like 3 (METTL3) เป็นโปรตีนเอนไซม์ตัวหลักในกลุ่ม RNA methyltransferase ซึ่ง METTL3 มีบทบาทสำคัญในทุกขั้นตอนของวัฏจักรของอาร์เอ็นเอ ที่เกี่ยวข้องกับ m6A ได้แก่ การตัดแต่ง mRNA (pre-mRNA splicing) การส่งออกของอาร์เอ็นเอ (nuclear export) การควบคุมการถอดรหัส (translation regulation) การสลายตัวของ mRNA และการประมวลผล miRNA (microRNA)⁽²⁴⁾

ปัจจุบันมีการศึกษาพบว่าพบความผิดปกติของ METTL3 ในมะเร็งของมนุษย์ และความผิดปกติของการทำงานของ METTL3 นั้นยังเกี่ยวข้องกับการก่อมะเร็งด้วย^(24, 26, 27) โดยในเนื้องอก หรือมะเร็งบางชนิดมีรายงานว่า การเพิ่มขึ้นของการแสดงออก METTL3 เกี่ยวข้องกับการลุกลามอย่างรวดเร็ว และการพยากรณ์โรคที่ไม่ดีของเนื้องอก ในทางกลับกันมีบางการศึกษาที่พบว่าการแสดงออกที่เพิ่มขึ้นของ METTL3 เป็นตัวบ่งชี้เนื้องอกบางชนิด^(24, 28) ในส่วนของมะเร็งช่องปากชนิดสควamous cell carcinoma (Oral squamous cell carcinoma; OSCC) มีการศึกษาพบว่า METTL3 มีการแสดงออกที่มากกว่าปกติในมะเร็งช่องปากชนิดสควamous cell carcinoma เมื่อเปรียบเทียบกับรอยโรคก่อนมะเร็ง และเนื้อเยื่อช่องปากปกติ⁽²⁷⁾ รวมถึงเมื่อเปรียบเทียบการแสดงออกของ METTL3 ในระยะการแพร่กระจายของต่อมน้ำเหลือง (lymph node metastasis) พบว่ากลุ่มตัวอย่างที่มีการแพร่กระจายไปยังต่อมน้ำเหลืองพบการแสดงออกของ METTL3 ที่สูงกว่า นอกจากนี้ยังได้ทำการศึกษายับยั้ง METTL3 ในหนูทดลองโดยการฉีดเซลล์ที่ได้ยับยั้งการแสดงออกของ METTL3 (METTL3 knockdown cells) ในชั้นใต้ผิวหนัง พบว่าปริมาตร และ

น้ำหนักของเนื้องอกต่ำกว่ากลุ่มควบคุมที่ไม่ถูกยับยั้งการแสดงออกของ METTL3 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ⁽²⁵⁾

ปัจจุบันมีการศึกษาพบว่าความผิดปกติของ m6A และเอนไซม์ควบคุมมีความสัมพันธ์กับโรคถุงน้ำ และเนื้องอกที่มีสาเหตุจากเนื้อเยื่อสร้างฟัน^(21, 23, 26) ซึ่งการศึกษาของ Niu และคณะ ในปี ค.ศ. 2020 เป็นการศึกษาแรกที่ได้ศึกษาความสัมพันธ์ของ m6A กับอะมีโลบลาสโตมา โดยศึกษาความแตกต่างในการดัดแปลง m6A ระหว่างอะมีโลบลาสโตมา กับเนื้อเยื่อปกติในช่องปาก ซึ่งเผยให้เห็นบทบาทที่เป็นไปได้ว่า mRNA ที่มีกระบวนการดัดแปลง m6A มีความเกี่ยวข้องกับการพัฒนาเป็นรอยโรคอะมีโลบลาสโตมา⁽²¹⁾ นอกจากนี้ การศึกษาของ Udompatanakorn และคณะ ในปี ค.ศ. 2024 พบการแสดงออกของ ALKBH5 ซึ่งเป็นเอนไซม์ในกลุ่ม m6A eraser ในอะมีโลบลาสโตมา และถุงน้ำไอดอนโตเจนิกเคอราโตซิสต์สูงเมื่อเปรียบเทียบกับถุงน้ำเดนติเจอร์ส และถุงหุ้มหน่อฟัน ซึ่งบ่งชี้ว่ากระบวนการดัดแปลง m6A และเอนไซม์ควบคุม ALKBH5 อาจมีบทบาทในรอยโรคที่มีสาเหตุจากเนื้อเยื่อสร้างฟัน และอาจมีความสัมพันธ์กับพฤติกรรมของถุงน้ำที่มีสาเหตุจากเนื้อเยื่อสร้างฟันที่เกี่ยวข้องกับพัฒนาการได้⁽²³⁾

จากการทบทวนวรรณกรรมพบว่าการศึกษาเกี่ยวกับความผิดปกติของกระบวนการเหนี่ยวนำการเจริญในระดับอาร์เอ็นเอในถุงน้ำ และเนื้องอกที่มีสาเหตุจากเนื้อเยื่อสร้างฟันยังมีน้อย และยังไม่พบการศึกษาการแสดงออกของ METTL3 ในถุงน้ำ และเนื้องอกที่มีสาเหตุจากเนื้อเยื่อสร้างฟันมาก่อน ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะศึกษาการแสดงออกของ METTL3 ซึ่งเป็นตัวควบคุมกระบวนการเมทิลเลชันของ m6A ในถุงน้ำเดนติเจอร์ส และอะมีโลบลาสโตมาด้วยวิธีทางอิมมูโนฮิสโตเคมี เพื่อเพิ่มความเข้าใจถึงบทบาทของ METTL3 ในรอยโรคดังกล่าว ผลจากการศึกษาครั้งนี้อาจทำให้เข้าใจพยาธิกำเนิดของถุงน้ำเดนติเจอร์ส และอะมีโลบลาสโตมาได้ดียิ่งขึ้น

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อเปรียบเทียบการแสดงออกของ METTL3 ในถุงหุ้มหน่อฟัน ถุงน้ำเดนติเจอร์ส และอะมีโลบลาสโตมา

ความสำคัญของงานวิจัย

ผลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ จะทำให้ทราบการแสดงออกของ METTL3 ในถุงหุ้มหน่อฟัน ถุงน้ำเดนติเจอร์ส และอะมีโลบลาสโตมาซึ่งอาจช่วยให้เข้าใจพยาธิกำเนิดของโรค

รวมถึงอาจเห็นแนวโน้มในการพัฒนา METTL3 เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพชนิดใหม่ของรอยโรคนี้ได้
ในอนาคต

คำถามงานวิจัย

มีการแสดงออกของ METTL3 ในถุงหุ้มหน่อพิน ถุงน้ำเดนติเจอรัส และ
อะมีโลบลาสโตมา หรือไม่ และแตกต่างกันอย่างไร

กรอบแนวคิดงานวิจัย

กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา

ชั้นเนื้อกลุ่มศึกษา แบ่งเป็น 3 กลุ่ม ดังนี้

ชั้นเนื้อถุงหุ้มหน่อพิน จำนวน 7 ตัวอย่าง

ชั้นเนื้อถุงน้ำเดนติเจอรัส จำนวน 30 ตัวอย่าง

ชั้นเนื้ออะมีโลบลาสโตมา จำนวน 35 ตัวอย่าง

ตัวแปรศึกษา

ตัวแปรอิสระ

ชั้นเนื้อถุงหุ้มหน่อพิน

ชั้นเนื้อถุงน้ำเดนติเจอรัส

ชั้นเนื้ออะมีโลบลาสโตมา

ตัวแปรตาม ได้แก่ การแสดงออกของ METTL3 ในระดับโปรตีน

การแสดงออกของ METTL3 ในระดับโปรตีน

1. ถุงหุ้มหน่อพิน
2. ถุงน้ำเดนติเจอรัส
3. อะมีโลบลาสโตมา

อิมมูโนฮิสโตเคมี



ประเมินผลจาก

1. รูปแบบลักษณะการย้อมติดสี (Pattern of expression)
2. จำนวนเซลล์ที่ย้อมติดสี (Positive cell)
3. ความเข้มของการย้อมติดสี (Intensity)
4. คะแนนอิมมูโนรีแอคทีฟ (Immunoreactive score หรือ IRS)

ภาพประกอบ 1 กรอบแนวคิดในงานวิจัย

สมมติฐาน

1. รูปแบบการแสดงออกของ METTL3 ในถุงหุ้มหน่อพื้ ถุงน้ำเดนต์เจอร์ส และอะมีโลบลาสโตมา มีความแตกต่างกัน
2. จำนวนเซลล์ที่ย้อมติดสี ความเข้มของการย้อมติดสี และคะแนนอิมมูโนรีแอคทีฟของ METTL3 ในถุงหุ้มหน่อพื้ ถุงน้ำเดนต์เจอร์ส และอะมีโลบลาสโตมา มีความแตกต่างกัน



บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในการวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยได้ศึกษาเอกสาร และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง และได้นำเสนอตามหัวข้อต่อไปนี้

1. รอยโรคที่มีสาเหตุจากเนื้อเยื่อสร้างฟัน

1.1 ภาวะน้ำเดนติเจอร์ส

1.2 ภาวะมีโลบลาสโตมา

2. พยาธิกำเนิดของถุงน้ำ และเนื้องอกที่มีสาเหตุจากเนื้อเยื่อสร้างฟัน

2.1 การกลายพันธุ์ในระดับพันธุกรรมของถุงน้ำเดนติเจอร์ส และภาวะมีโลบลาสโตมา

2.2 ความผิดปกติของกระบวนการเหนี่ยวนำพันธุกรรมของถุงน้ำเดนติเจอร์ส และภาวะมีโลบลาสโตมา

3. การดัดแปลงอาร์เอ็นเอ และ N6-methyladenosine (m6A)

3.1 m6A writers หรือ m6A methyltransferases

3.2 m6A erasers หรือ demethylases

3.3 m6A readers

4. การดัดแปลง m6A ในอาร์เอ็นเอ (m6A modification in RNA) กับรอยโรคในช่องปาก

4.1 การดัดแปลง m6A ในอาร์เอ็นเอกับมะเร็งช่องปากของมนุษย์

4.2 การดัดแปลง m6A ในอาร์เอ็นเอกับถุงน้ำเดนติเจอร์ส และภาวะมีโลบลาสโตมา

1. รอยโรคที่มีสาเหตุจากเนื้อเยื่อสร้างฟัน

ถุงน้ำ และเนื้องอกที่มีสาเหตุจากเนื้อเยื่อสร้างฟันเป็นรอยโรคของขากรรไกรที่มีหลากหลายชนิด การสร้างฟันเป็นกระบวนการที่ซับซ้อนซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับเนื้อเยื่อผิว และเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ส่วนประกอบหลักของกระบวนการสร้างฟันมีสามส่วน ได้แก่ ภาวะเคลือบฟัน ปุ่มกำเนิดฟัน (dental papilla) และถุงหุ้มหน่อฟัน ภาวะเคลือบฟันเป็นโครงสร้างเยื่อผิวที่ได้มาจากเยื่อชั้นนอกของเซลล์ของตัวอ่อน (ectoderm) ในช่องปาก ปุ่มกำเนิดฟัน และถุงหุ้มหน่อฟันเป็นโครงสร้างของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่เป็นเอกโตมีเซนไคม์ (ectomesenchymal) โดยพัฒนามาจากนิวรัลเครสต์ (neural crest)^(1-3, 29) ภายหลังจากการสร้างฟัน ขึ้นบาง ๆ ของเยื่อผิวเคลือบฟัน หรือที่เรียกว่าเยื่อหุ้มรากเฮิร์ตวิก (Hertwig epithelial root sheath) จะกระตุ้นให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเซลล์โอดอนโตบลาสบริเวณรากฟัน ในเวลาต่อมาเยื่อผิวนี้จะเกิดการ

กระจัดกระจาย แต่จะเหลือกลุ่มก้อนเล็กๆของเนื้อเยื่อบุผิว (rests of Malassez) ในเอ็นยึดปริทันต์ ซึ่งมีความเชื่อว่าเนื้อเยื่อที่หลงเหลือนี้สามารถก่อให้เกิดเป็นรอยโรคที่มีสาเหตุจากเนื้อเยื่อสร้างฟันได้⁽²⁹⁾

ถุงน้ำในขากรรไกรที่มีสาเหตุจากเนื้อเยื่อสร้างฟันที่พบบ่อย ได้แก่ ถุงน้ำปลายรากฟัน ถุงน้ำเดนติเจอรัล ถุงน้ำหลงเหลือ (residual cyst) และถุงน้ำโอดอนโตเจนิกเคอราโตซิสต์ โดยมากจะพบถุงน้ำในขากรรไกรในเพศหญิงมากกว่าเพศชาย และมักพบในผู้ป่วยที่มีอายุประมาณ 40 – 60 ปี ถุงน้ำเหล่านี้มีการแสดงทางคลินิก และรังสีวิทยาที่คล้ายคลึงกัน ถึงแม้ว่าจะมีพฤติกรรม และความรุนแรงที่แตกต่างกัน⁽³⁾ ในส่วนของเนื้องอกที่มีสาเหตุจากเนื้อเยื่อสร้างฟันเกิดขึ้นในกระดูกของขากรรไกรโดยเฉพาะบริเวณส่วนที่มีฟัน ผู้ป่วยอาจมาพบทันตแพทย์ด้วยอาการบวมบริเวณขากรรไกร อาการบวมเหล่านี้ส่วนใหญ่พบอาการที่เกี่ยวข้องกับฟัน หรือการเปลี่ยนแปลงทางภาพรังสีที่เกี่ยวข้องกับฟัน เนื้องอกที่มีสาเหตุจากเนื้อเยื่อสร้างฟันมีหลายชนิด ได้แก่ เนื้องอกชนิดไม่ร้ายแรง มะเร็ง (malignant) และเนื้อเยื่อสร้างฟันที่เจริญผิดปกติทำให้มีลักษณะคล้ายเนื้องอก (tumor-like malformations)⁽³⁰⁾ โดยในการศึกษานี้ขอกล่าวละเอียดถึง ถุงน้ำ และเนื้องอกที่จะทำการศึกษาในงานวิจัยครั้งนี้ ได้แก่ ถุงน้ำเดนติเจอรัล และอะมีโลบลาสโตมา

1.1 ถุงน้ำเดนติเจอรัล

ในกระบวนการสร้างฟันที่ปกติเยื่อบุผิวสร้างฟันที่หลงเหลืออยู่จะรวมตัวกับเนื้อเยื่อบุผิวอื่นๆ และเกิดเป็นเนื้อเยื่อบุผิวร่องเหงือกของฟันที่ขึ้นในช่องปาก ซึ่งก่อนการขึ้นของฟันจะมีของเหลวที่สะสมอยู่ระหว่างชั้นเยื่อบุผิว และฟัน เกิดเป็นถุงหุ้มหน่อฟัน การรวมตัวกันของของเหลว และการเจริญที่ผิดปกติก่อให้เกิดโรคถุงน้ำเดนติเจอรัลได้ ถุงน้ำเดนติเจอรัลเป็นถุงน้ำที่มีความสัมพันธ์กับฟันที่ไม่ขึ้นในช่องปาก หรือฟันที่ขึ้นได้บางส่วน โดยเยื่อบุผิวถุงน้ำจะเชื่อมต่อกับฟันที่บริเวณรอยต่อเคลือบฟันกับเคลือบรากฟัน (cemento-enamel junction) ถุงน้ำชนิดนี้พบได้มากในกลุ่มถุงน้ำที่เกิดจากการพัฒนาการ (developmental cyst) ถุงน้ำเดนติเจอรัลมักพบร่วมกับฟันกรามแท้ซี่ที่สาม และฟันเขี้ยวแท่นที่ไม่ขึ้นมาในช่องปาก ผู้ป่วยมักไม่มีอาการ ทันตแพทย์อาจตรวจพบได้จากการที่ฟันแท้ไม่ขึ้นตามช่วงอายุ และตรวจพบจากการถ่ายภาพรังสี กรณีที่ถุงน้ำที่มีขนาดใหญ่อาจพบการอักเสบร่วมด้วย ผู้ป่วยจึงอาจมีอาการปวด และบวมได้^(3, 31)

ลักษณะทางภาพรังสีของถุงน้ำเดนติเจอรัลพบเป็นเงาโปร่งรังสีวงเดียวขอบเขตชัดเจน มีขอบสีขาวบางล้อมรอบ และเชื่อมต่อกับฟันที่บริเวณรอยต่อเคลือบฟันกับเคลือบรากฟัน ในกรณีที่ถุงน้ำเดนติเจอรัลมีการอักเสบอาจมีลักษณะทางภาพรังสีเป็นเงาโปร่งรังสีที่มีขอบเขตไม่ชัดเจน

(ill-defined borders) พบการละลายของรากฟัน หรือเกิดการเปื่อยรกรากฟันที่ข้างเคียงอันเนื่องมาจากแรงดันของถุงน้ำได้ หากถุงน้ำเดนติเจอร์มีขนาดใหญ่มากอาจพบลักษณะหลายถุงน้ำที่มีลักษณะคล้ายรอยโรคอะมีโลบลาสโตมาได้⁽³⁾

ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของถุงน้ำคือมีเยื่อผนังถุงน้ำแบบไม่มีเคอราตินที่บางประมาณ 2 - 3 ชั้น (non-keratinized stratified squamous epithelium) อาจพบการกระจายของเซลล์เมือก (mucous cell) มีเยื่อหุ้มไฟบรัส (fibrous capsule) เรียงตัวแบบหลวม ๆ และอาจพบกลุ่มของเยื่อผนังของอวัยวะที่เกี่ยวข้องกับการสร้างฟัน (odontogenic epithelial island) ด้วย ในกรณีถุงน้ำเดนติเจอร์ที่มีการอักเสบจะพบชั้นเยื่อผนังถุงน้ำหลายชั้นร่วมกับการเกิดการหนาตัวของเรเต เพค (rete peg) ได้⁽³⁾

1.2 อะมีโลบลาสโตมา

อะมีโลบลาสโตมาเป็นเนื้องอกชนิดไม่ร้ายแรงของกระดูกขากรรไกรที่พบมากที่สุด⁽⁷⁾ มีเซลล์ต้นกำเนิดมาจากเนื้อเยื่อสร้างฟัน⁽⁸⁾ อะมีโลบลาสโตมาเป็นเนื้องอกที่มีพฤติกรรมรุกรานเฉพาะที่และเติบโตอย่างช้าๆ โดยอะมีโลบลาสโตมามีต้นกำเนิดจากเนื้อเยื่อเคลือบฟันที่ยังไม่ผ่านกระบวนการเปลี่ยนแปลงของเซลล์⁽⁷⁾ เนื้องอกชนิดนี้สามารถเกิดขึ้นได้ทั้งภายในขากรรไกรล่าง และขากรรไกรบน โดยตำแหน่งที่พบบ่อยคือส่วนหลังของกระดูกขากรรไกรล่างตั้งแต่มุมขากรรไกรถึงแรมัส ผู้ป่วยมักมาด้วยอาการใบหน้าบวมโตอย่างช้าๆ ไม่มีอาการผิดปกติในระยะแรก ต่อมาอาจมีอาการปวด ฟันโยกหรือสลับฟันไม่ได้ตามปกติ บางรายอาจตรวจพบโดยบังเอิญจากการตรวจสุขภาพช่องปาก จากภาพถ่ายรังสีพบว่าอะมีโลบลาสโตมาจะมีการทำลายกระดูก ซึ่งมักพบในบริเวณที่มีฟันของขากรรไกร และอาจมีลักษณะเป็นถุงน้ำเดี่ยว หรือหลายถุงก็ได้ เนื่องจากอะมีโลบลาสโตมาเติบโตช้าขอบของรอยโรคมักจะเห็นได้อย่างชัดเจน และเป็นเส้นทึบสีขาว

การจำแนกประเภทของเนื้องอกที่ศีรษะและคอของ WHO ฉบับที่ 5 เผยแพร่ในปี ค.ศ. 2022 มีการแบ่งประเภทของเนื้องอกชนิดไม่ร้ายแรงที่เกิดจากเนื้อเยื่อสร้างฟันที่ปรากฏลักษณะของเซลล์ที่มีรูปร่างคล้ายอะมีโลบลาสโตมา เป็น 5 ชนิด ได้แก่ อะมีโลบลาสโตมาชนิดหลายถุงน้ำ อะมีโลบลาสโตมาชนิดถุงน้ำเดี่ยว อะมีโลบลาสโตมาชนิดนอกขากรรไกร อะมีโลบลาสโตมาชนิดแพร่กระจาย และอะดินอยด์อะมีโลบลาสโตมา⁽¹⁴⁾ จากการจำแนกที่กล่าวมาข้างต้นอะมีโลบลาสโตมาชนิดหลายถุงน้ำเป็นชนิดที่พบบ่อยที่สุด คิดเป็นร้อยละ 85 ของอะมีโลบลาสโตมาทั้งหมด และส่วนใหญ่เกิดขึ้นช่วงอายุ 30 - 40 ปี^(9, 32) พฤติกรรมทางชีวภาพของอะมีโลบลาสโตมาชนิดนี้มีการขยายขนาดที่ช้าแต่กลับมีการรุกรานเฉพาะที่สูง และมีความสามารถในการทำลายกระดูกที่บดได้ โดยลักษณะทางภาพรังสีพบเป็นเงาดำหลายวง นอกจากนั้นยังมีอัตราการกลับเป็นซ้ำสูงหากได้รับการ

รักษาที่ไม่เหมาะสม^(9, 11) สามารถจำแนกตามลักษณะพยาธิวิทยาออกเป็นเซลล์ฟอลลิคูลาร์ (follicular) เพล็กซ์ิฟอร์ม (plexiform) อะแคนโทมาทัส (acanthomatous) และแกรนูล่า (granular) ปัจจุบันเชื่อว่าไม่มีความสัมพันธ์ระหว่างรูปแบบทางพยาธิวิทยากับพฤติกรรม หรือการพยากรณ์โรคของเนื้องอก ดังนั้นจึงอาจพบว่าอะมีโลบลาสโตมาชนิดเดียวกันแต่มีรูปแบบทางพยาธิวิทยาที่แตกต่างกัน⁽³³⁾

อะมีโลบลาสโตมาชนิดถุงน้ำเดี่ยวเป็นกลุ่มที่พบรองลงมาเป็นลำดับที่สอง โดยมีลักษณะทางคลินิก ลักษณะทางรังสีวิทยา และจุลพยาธิวิทยาที่แตกต่างจากอะมีโลบลาสโตมาชนิดหลายถุงน้ำ อะมีโลบลาสโตมาชนิดถุงน้ำเดี่ยวสามารถพบได้ในขากรรไกรล่างส่วนหลัง และมักพบร่วมกับฟันที่ยังไม่ขึ้นคล้ายกับถุงน้ำเดนติเจอร์ส ลักษณะทางภาพรังสีพบเป็นลักษณะเงาดำวงเดี่ยว อะมีโลบลาสโตมาชนิดถุงน้ำเดี่ยวมีลักษณะทางพยาธิวิทยาแบบถุงน้ำที่ปกคลุมด้วยเยื่อผนังของอะมีโลบลาสติก⁽³³⁾ สามารถจำแนกลักษณะทางพยาธิวิทยาออกเป็น 3 ชนิด โดยจำแนกตามรูปแบบการงอกของเยื่อผนังถุงน้ำ ได้แก่ ลูมินัล (luminal) อินทราลูมินัล (intraluminal) และมูรัล (mural) อะมีโลบลาสโตมาชนิดถุงน้ำเดี่ยวที่มีลักษณะทางพยาธิวิทยาเป็นลูมินัล จะมีเยื่อผนังอะมีโลบลาสโตมาเรียงตัวแบบตั้งฉาก (palisade) นิวเคลียสมีลักษณะเป็นไฮเปอร์โครมาติกโพลารไรซ์ (hyperchromatic nuclei polarized) ส่วนอะมีโลบลาสโตมาชนิดถุงน้ำเดี่ยวที่มีลักษณะทางพยาธิวิทยาเป็นอินทราลูมินัล เยื่อผนังของอะมีโลบลาสโตมาเรียงตัวเหมือนลูมินัล แต่มีเซลล์เนื้องอกขยายเข้าไปในช่องว่างของถุงน้ำ โดยอะมีโลบลาสโตมาชนิดถุงน้ำเดี่ยวที่มีลักษณะทางพยาธิวิทยาเป็นลูมินัล และอินทราลูมินัลตอบสนองได้ดีกับการผ่าตัดแบบอนุรักษ์นิยม ในขณะที่อะมีโลบลาสโตมาชนิดถุงน้ำเดี่ยวที่มีลักษณะทางพยาธิวิทยาเป็นมูรัลมีลักษณะเฉพาะคือกลุ่มเซลล์ของเนื้องอกแทรกซึมเข้าไปภายในเนื้อเยื่อเกี่ยวพันคล้ายกับอะมีโลบลาสโตมาชนิดหลายถุงน้ำ ดังนั้นอะมีโลบลาสโตมาชนิดถุงน้ำเดี่ยวที่มีลักษณะทางพยาธิวิทยาเป็นมูรัลจึงมีพฤติกรรมความรุนแรง และมีอัตราการกลับเป็นซ้ำที่สูงกว่า จึงได้รับการรักษาในลักษณะเดียวกับอะมีโลบลาสโตมาชนิดหลายถุงน้ำ^(10, 34)

อะมีโลบลาสโตมาชนิดนอกขากรรไกร เป็นชนิดที่พบน้อยที่สุด โดยคิดเป็นเพียงร้อยละ 1 ของผู้ป่วยโรคนี้ทั้งหมด ส่วนใหญ่จะเกิดกับผู้ป่วยที่มีอายุเฉลี่ย 52 ปี และเกิดขึ้นบ่อยที่สุดในเหงือกของขากรรไกรล่างและรอยโรคมักจะไม่กลับมาเป็นซ้ำ⁽⁹⁾ อะมีโลบลาสโตมาชนิดแพร่กระจายเดิมเคยถูกจำแนกกลุ่มให้อยู่ในกลุ่มอะมีโลบลาสโตมาชนิดนอกขากรรไกร ตามเกณฑ์ของเนื้องอกที่ศีรษะและคอของ WHO ฉบับที่ 4 (ปี ค.ศ. 2017)⁽³⁴⁾ แต่ปัจจุบันได้ถูกแยกออกมาโดยอะมีโลบลาสโตมาชนิดแพร่กระจายเป็นชนิดที่พบได้ยาก แม้ว่าจะมีความเกี่ยวข้องกับเนื้องอกที่ไม่ร้ายแรง แต่ก็สามารถแพร่กระจายไปยังตำแหน่งที่ห่างไกล ทำให้การรักษาไม่สามารถคาดเดาได้

และมีอัตราการกลับเป็นซ้ำสูง⁽³⁵⁾ ซึ่งตำแหน่งที่พบได้บ่อยที่สุดคือปอด⁽³⁴⁾ และกลุ่มสุดท้ายคืออะดินอยด์อะมีโลบลาสโตมา เป็นชนิดที่จำแนกขึ้นมาใหม่ในปี ค.ศ. 2022 รอยโรคชนิดนี้เป็นเนื้องอกจากเซลล์สร้างเนื้อเยื่อบุผิวที่มีโครงสร้างแบบคริบรีฟอร์ม (cribriform) มีส่วนประกอบคล้ายอะมีโลบลาสโตมา และมีโครงสร้างคล้ายท่อ นอกจากนี้ยังแสดงลักษณะของเซลล์เดนดินอยด์ (dentinoid) เซลล์โกสต์ (ghost cells) และเซลล์ใส (clear cells)^(34, 36) รูปแบบทางจุลพยาธิวิทยาผสมรวมทั้งลักษณะเนื้องอกอะมีโลบลาสโตมาและอะดีโนมาตอยด์ และยิ่งไปกว่านั้นอะดินอยด์อะมีโลบลาสโตมายังถือเป็นชนิดที่มีคุณสมบัติทางชีวภาพที่มีความรุนแรง (biologically aggressive) มากกว่า และมีอัตราการเกิดซ้ำสูงกว่าอะมีโลบลาสโตมาชนิดหลายถุงน้ำอีกด้วย⁽³⁶⁾

2. พยาธิกำเนิดของถุงน้ำ และเนื้องอกที่มีสาเหตุจากเนื้อเยื่อสร้างฟัน

กลไกระดับโมเลกุลในการพัฒนาไปเป็นรอยโรคที่มีสาเหตุจากเนื้อเยื่อสร้างฟันยังไม่ทราบแน่ชัดทั้งหมด มีการศึกษาหลายการศึกษาที่พยายามระบุรูปแบบการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์โปรตีน หรือยีนที่ไม่ได้มีการแปลรหัสในรอยโรคที่เกิดจากเนื้อเยื่อสร้างฟันเพื่อทำความเข้าใจในกระบวนการเกิดโรค⁽¹⁶⁾ นอกจากนี้มีการศึกษาจำนวนมากได้ระบุความสัมพันธ์ระหว่างตำแหน่งทางพันธุกรรมกับการพัฒนารอยโรคที่มีสาเหตุจากเนื้อเยื่อสร้างฟัน⁽¹⁶⁾ ในการทบทวนวรรณกรรมนี้ได้สรุปข้อมูลเกี่ยวกับการกลายพันธุ์ในระดับพันธุกรรมและความผิดปกติของกระบวนการเหนือพันธุกรรมในรอยโรคถุงน้ำเดนติเจอร์ส และอะมีโลบลาสโตมาดังนี้

2.1 การกลายพันธุ์ในระดับพันธุกรรมของถุงน้ำเดนติเจอร์ส และอะมีโลบลาสโตมา

การกลายพันธุ์ในระดับพันธุกรรมรวมถึงความผิดปกติของโครโมโซม (chromosomal abnormalities) และการกลายพันธุ์ของยีน (gene mutations) ความผิดปกติของโครโมโซมมักเกิดขึ้นระหว่างการแบ่งเซลล์ อาจมีความผิดปกติที่จำนวนโครโมโซม หรือมีโครงสร้างที่ผิดปกติของโครโมโซมตั้งแต่หนึ่งตัวขึ้นไป มีการระบุความผิดปกติของโครโมโซมหลายชนิดที่มีความเกี่ยวข้องกับความผิดปกติทางพันธุกรรม และโรคต่างๆ เช่น มะเร็ง ในส่วนของการกลายพันธุ์ของยีนเป็นการเปลี่ยนแปลงอย่างถาวรในลำดับของดีเอ็นเอ สิ่งเหล่านี้สามารถเกิดขึ้นได้ในระหว่างการจำลองตัวเองของดีเอ็นเอ (DNA replication) หรือการตอบสนองต่อปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อม การกลายพันธุ์ของยีนมีหลายประเภท เช่น เบสขาดหายไป (deletion) หรือมีเบสแทรกเพิ่มเข้ามา (insertion) หรือมีเบสตัวอื่นเข้ามาแทนที่ตัวเดิม (substitution) ซึ่งการกลายพันธุ์ของยีนเหล่านี้สามารถทำให้เกิดโรคได้⁽³⁷⁾

ถุงน้ำเดนติเจอร์สเป็นถุงน้ำที่เกิดจากการเจริญที่ผิดปกติ จึงมีการศึกษาการกลายพันธุ์ในระดับพันธุกรรมเพื่ออธิบายพฤติกรรมความรุนแรง และการเจริญของโรค⁽³⁸⁾ การศึกษาการ

กลายพันธุ์ของยีน PTCH ในถุงน้ำเดนต์เจอร์รัส โดยผลการศึกษาพบการสูญเสียเฮเทอไรโกซีตีของยีน PTCH ในถุงน้ำเดนต์เจอร์รัส และยังพบการแสดงออกของ PTCH ในชั้นเยื่อบุผิวถุงน้ำเดนต์เจอร์รัส บ่งชี้ถึงเส้นทางการส่งสัญญาณ SHH-PTCH-SMO ที่ผิดปกติซึ่งมีความสำคัญต่อการพัฒนา และการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ โดยการแสดงออกของ PTCH ในถุงน้ำเดนต์เจอร์รัสมีลักษณะคล้ายกับการแสดงออกของ PTCH ในถุงน้ำไอดอนโตเจนิค เคอราโตซิสต์ ในขณะที่ไม่พบการแสดงออกของ PTCH ในถุงน้ำปลายรากฟัน ผลการศึกษาบ่งชี้ว่าการกลายพันธุ์ของยีน PTCH อาจมีบทบาทในถุงน้ำเดนต์เจอร์รัส⁽¹⁷⁾ นอกจากนี้ยังมีการศึกษาการแสดงออกของ p63 และ Ki-67 ในถุงน้ำเดนต์เจอร์รัส และอะมีโลบลาสโตมา โดยยีน p63 เป็นโฮโมโลกัสยีนกับยีน p53 ซึ่งพบการแสดงออกของยีน p63 ที่ผิวหนัง หลอดอาหาร ต่อมลูกหมาก เต้านม ต่อมไธรอยด์ เยื่อบุผิวช่องปาก และถุงหุ้มหนอพัน โดย p63 มีบทบาทเกี่ยวข้องกับการเพิ่มจำนวน และการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เยื่อบุผิว ส่วน Ki-67 เป็นตัวบ่งชี้ของการแบ่งตัว และเพิ่มจำนวนของเซลล์ที่มีหน้าที่ในการประเมินกิจกรรมการแบ่งตัวของเซลล์ และพฤติกรรมทางชีวภาพของรอยโรคต่างๆ รวมถึงถุงน้ำ และเนื้องอกที่มีสาเหตุจากเนื้อเยื่อสร้างฟัน ผลการศึกษาพบการแสดงออกของยีน p63 และ Ki-67 ที่สูงขึ้นในรอยโรคที่มีความรุนแรงมากขึ้น กล่าวคือพบการแสดงออกของยีน p63 และ Ki-67 มากที่สุดในอะมีโลบลาสโตมาชนิดหลายถุงน้ำ รองลงมาได้แก่อะมีโลบลาสโตมาชนิดถุงน้ำเดี่ยว และถุงน้ำเดนต์เจอร์รัสตามลำดับ ซึ่งอาจเป็นข้อบ่งชี้ว่าการแสดงออกของ p63 และ Ki-67 ที่มากเกินไปอาจช่วยวินิจฉัยความรุนแรงของรอยโรคที่มีสาเหตุจากเนื้อเยื่อสร้างฟันได้⁽²⁹⁾

ในปี ค.ศ. 2014 มีการศึกษาที่ทำให้เกิดจุดเปลี่ยนเกี่ยวกับสาเหตุของการเกิดรอยโรคอะมีโลบลาสโตมา เนื่องจากการศึกษาที่สำคัญเกี่ยวกับการเกิดโรคในระดับพันธุกรรมของเนื้องอกชนิดนี้ได้รับการเผยแพร่^(19, 39, 40) การศึกษาเหล่านี้รายงานการกลายพันธุ์ในเส้นทางการส่งสัญญาณ mitogen-activated protein kinase (MAPK) และ Sonic Hedgehog Signaling Pathway-SMO ในรอยโรคอะมีโลบลาสโตมา ซึ่งเป็นที่ทราบกันดีว่ากลไกการส่งสัญญาณทั้งสองกลไกนี้ทำงานในระหว่างการพัฒนาของฟัน⁽⁴¹⁾ นอกจากนี้ยังมีรายงานพบการกลายพันธุ์ของยีนที่อยู่ในเส้นทางการส่งสัญญาณของ MAPK เช่น B-Raf proto-oncogene serine/threonine kinase (BRAF)-V600E, KRAS proto-oncogene GTPase (KRAS) และ fibroblast growth factor receptors 2 (FGFR2) ทั้งในเนื้องอกชนิดไม่ร้ายแรง⁽⁴²⁾ และเนื้องอกชนิดร้ายแรง หรือมะเร็งด้วย⁽⁴³⁾

MAPK เป็นเส้นทางการส่งสัญญาณภายในเซลล์ที่ขึ้นอยู่กับการกระตุ้นไคเนสภายในเซลล์ กลไกการส่งสัญญาณมีความสัมพันธ์กับการควบคุมการทำงานของเซลล์พื้นฐาน เช่น การเพิ่มจำนวน (proliferation) การอยู่รอด (survival) การเจริญเติบโต (growth) เมแทบอลิซึม

การเคลื่อนที่ของเซลล์ (migration) การเปลี่ยนแปลงสภาพของเซลล์ (differentiation) และการปรับตัวของเซลล์ (alterations) โดยการเปลี่ยนแปลงในวิถีการส่งสัญญาณนี้อาจนำไปสู่การเจริญเติบโตของเซลล์เนื้องอก โดยเฉพาะอย่างยิ่งการกลายพันธุ์ของยีนในวิถีการส่งสัญญาณนี้ เช่น ยีน BRAF และ KRAS ซึ่งเป็นตัวสำคัญที่เกี่ยวข้องกับการก่อให้เกิดมะเร็ง⁽⁴⁴⁾ สำหรับการกลายพันธุ์ของยีน SMO มีบางการศึกษาไม่พบว่ามีอาการกลายพันธุ์ในอะมีโลบลาสโตมา⁽⁴⁵⁾ แต่ขณะเดียวกันก็มีการศึกษาที่พบว่ามีการกลายพันธุ์ของยีน SMO ได้ ประมาณร้อยละ 17⁽⁴⁰⁾ ถึงร้อยละ 39⁽³⁹⁾ ซึ่งอะมีโลบลาสโตมาที่มีการกลายพันธุ์ของ SMO พบได้ส่วนใหญ่ในไขกระดูกไขสันหลัง (ร้อยละ 57) ในขณะที่กลุ่มที่มีการกลายพันธุ์ของ BRAF ส่วนใหญ่อยู่ในไขกระดูกไขสันหลัง (ร้อยละ 75)^(39, 40, 45)

นอกจากนี้การศึกษาของ Li และคณะ ในปี ค.ศ. 2022 ได้ทำการศึกษายับยั้งการทำงานของ LncRNA HOXC-AS5 ในการควบคุมการเพิ่มจำนวน การงอก และการตายของเซลล์ ผ่านการมีปฏิสัมพันธ์กับยีนเป้าหมาย HOXC13 ในอะมีโลบลาสโตมา ซึ่งผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าการแสดงออกที่มากเกินไปของ HOXC-AS5 ทำให้การแสดงออกของ HOXC13 ลดลงร้อยละ 18.5 การเพิ่มจำนวนเซลล์อะมีโลบลาสโตมาลดลงร้อยละ 23.2 และเพิ่มอัตราการตายของเซลล์อะมีโลบลาสโตมาเป็นร้อยละ 36.59 ± 4.36 ในทางกลับกันเมื่อทำการยับยั้ง LncRNA HOXC-AS5 ระดับการแสดงออกของ HOXC13 จะเพิ่มขึ้นร้อยละ 32.6 ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า HOXC-AS5 ยับยั้ง HOXC13 ส่งผลให้การเพิ่มจำนวนของเซลล์อะมีโลบลาสโตมา และความสามารถในการงอกของเซลล์อะมีโลบลาสโตมาลดลง⁽⁴⁶⁾ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Sun และคณะ ในปี ค.ศ. 2020 ที่พบว่าความสามารถในการเพิ่มจำนวนของเซลล์อะมีโลบลาสโตมาลดลงหลังจากยับยั้งการแสดงออกของยีน HOXC13 และผลการศึกษายังพบว่ายีน HOXC13 และ HOXC13-AS มีการแสดงออกที่สูงในเนื้อเยื่ออะมีโลบลาสโตมาอีกด้วย⁽⁴⁷⁾

2.2 กระบวนการเหนี่ยวนำการเกิดเนื้องอกของถุงน้ำเดนดิเจอร์สและอะมีโลบลาสโตมา

การกลายพันธุ์ในระดับพันธุกรรมได้รับการพิจารณาแล้วว่าเป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดโรคบางชนิด เช่น เนื้องอก โดยทำให้เกิดการดัดแปลงอย่างถาวรในยีนก่อมะเร็ง (oncogenes) และยีนต้านเนื้องอก การปรับเปลี่ยนเหล่านี้ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของโปรตีนซึ่งทำให้เกิดความผิดปกติของการควบคุมวัฏจักรของเซลล์ นำไปสู่การเพิ่มจำนวนเซลล์ และการก่อตัวของเนื้องอกที่ไม่สามารถควบคุมได้ ในทำนองเดียวกันความผิดปกติของกระบวนการเหนี่ยวนำการเกิดเนื้องอกสามารถมีอิทธิพลต่อการแสดงออกของพันธุกรรม และมีบทบาทสำคัญในการเริ่มต้น และการลุกลามของโรคต่างๆ รวมถึงรอยโรคที่มีสาเหตุจากเนื้อเยื่อสร้างฟันด้วย กระบวนการเหนี่ยวนำการเกิดเนื้องอกเป็น การดัดแปลงทางพันธุกรรมที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงลำดับเบสของดีเอ็นเอ แต่อาจมีการเปลี่ยนโครงสร้างของ

ดีเอ็นเอ (DNA conformation) หรือปรับเปลี่ยนการแสดงออกทางพันธุกรรม ประเภทหลักของการเปลี่ยนแปลงเหล่านี้ได้แก่ การเติมหมู่เมทิล (methyl) ให้แก่เบสบนสายดีเอ็นเอ การปรับแต่งโปรตีนฮิสโตน (histone modification) การจัดตำแหน่งของนิวคลีโอโซม (nucleosome positioning) และการแสดงออกของอาร์เอ็นเอที่ไม่มีการแปลรหัส (non-coding RNA)^(48, 49)

การเติมหมู่เมทิลบนสายดีเอ็นเอ มักเกิดขึ้นในตำแหน่งที่ห้าของไซโทซีน (cytosine; 5mC) มีความเกี่ยวข้องกับการปิดการทำงานของยีน (gene repression) การกระตุ้นยีน การวางตำแหน่งนิวคลีโอโซม และการถอดรหัส ซึ่งกระบวนการนี้เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ DNA methyltransferases (DNMTs)⁽⁴⁸⁾ ในมนุษย์มีเอนไซม์ DNMTs ที่สำคัญแบ่งออกเป็น 3 ชนิด ได้แก่ DNMT1, DNMT3a และ DNMT3b ในขณะที่มีการจำลองของสายดีเอ็นเอ (DNA replication) DNMT1 จะทำหน้าที่รักษารูปแบบของดีเอ็นเอเมทิลเลชันให้เหมือนกับของสายดีเอ็นเอแม่แบบ ดังนั้น DNMT1 จึงเป็น maintenance methyltransferase ในขณะที่ DNMT3a และ DNMT3b จะทำหน้าที่เติมหมู่เมทิลให้กับสายดีเอ็นเอที่สูญเสียหมู่เมทิลไปในช่วงกระบวนการถ่ายแบบของสายดีเอ็นเอ ดังนั้น DNMT3a และ DNMT3b จึงจัดเป็น de-novo methyltransferase⁽⁵⁰⁾ มีการศึกษาเปรียบเทียบการแสดงออกของ DNMT3a และ DNMT3b ในถุงน้ำที่มีสาเหตุจากเนื้อเยื่อสร้างฟัน และอะมีโลบลาสโตมา โดยถุงน้ำที่มีสาเหตุจากเนื้อเยื่อสร้างฟันที่นำมาศึกษาได้แก่ ถุงน้ำเดนติเจอร์ส ถุงน้ำปลายรากฟัน และถุงน้ำโอดอนโตเจนิคเคอราโตซิสต์ ผลการศึกษาพบว่า DNMT3a และ DNMT3b มีส่วนเกี่ยวข้องในกระบวนการเมทิลเลชันของอะมีโลบลาสโตมา โดย DNMT3a มีความเกี่ยวข้องกับพฤติกรรมก้าวร้าวของอะมีโลบลาสโตมา เนื่องจากพบการแสดงออก DNMT3a สูงเมื่อเปรียบเทียบกับรอยโรคถุงน้ำอื่นๆ และการแสดงออกของ DNMT3a ยังมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับรอยโรคอะมีโลบลาสโตมาที่มีการทำลายกระดูกที่บวม ส่วน DNMT3b มีการแสดงออกสูงในอะมีโลบลาสโตมา แต่ไม่พบความสัมพันธ์กับลักษณะทางคลินิก ส่วนถุงน้ำเดนติเจอร์สพบการแสดงออกของ DNMT3a สูงกว่าถุงน้ำชนิดอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่พบการแสดงออกของ DNMT3b ในถุงน้ำเดนติเจอร์สต่ำกว่าเนื้อเยื่อช่องปากปกติ และผลการศึกษาพบว่า DNMT3a และ DNMT3b ไม่มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับความรุนแรงของถุงน้ำเดนติเจอร์ส ส่วนถุงน้ำปลายรากฟันที่มีการทำลายกระดูกที่บวม และถุงน้ำโอดอนโตเจนิคเคอราโตซิสต์ที่มีลักษณะภาพรังสีเป็นเงาดำหลายวงมีความสัมพันธ์กับการแสดงออกของ DNMT3a จากผลการศึกษาจึงชี้ให้เห็นว่า DNMT3a และ DNMT3b อาจมีบทบาทในกระบวนการเหนี่ยวนำพันธุกรรมในระดับดีเอ็นเอของถุงน้ำ และเนื้องอกที่มีสาเหตุจากเนื้อเยื่อสร้างฟัน⁽²⁰⁾

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาพบการแสดงออกของ DNA methyltransferases ได้แก่ DNMT1 และ DNMT3a ในรอยโรคถุงน้ำปลายรากฟัน ถุงน้ำไอดอนโตเจนิค เคอราโตซิสต์ เนื้อเยื่ออะดีโนมาตอย ไอดอนโทจินิก และอะมีโลบลาสโตมา ผลการศึกษาพบว่า DNMT1 มีการแสดงออกกระจายในทุกชั้นของเซลล์ของตัวอย่างทั้งหมด และมีลักษณะการแสดงออกที่ใกล้เคียงกับเนื้อเยื่อช่องปากปกติ สิ่งนี้ชี้ให้เห็นว่า DNMT1 อาจไม่เกี่ยวข้องกับการพัฒนาของถุงน้ำ และเนื้ออกที่มีสาเหตุจากเนื้อเยื่อสร้างฟัน ในขณะที่ DNMT3a มีการแสดงออกที่แตกต่างกัน โดยทุกตัวอย่างของถุงน้ำปลายรากฟัน อะมีโลบลาสโตมาส่วนใหญ่ เนื้อเยื่ออะดีโนมาตอย ไอดอนโทจินิกบางตัวอย่าง และถุงน้ำไอดอนเจนิค เคอราโตซิสต์บางตัวอย่างมีการแสดงออกของ DNMT3a ในไซโทพลาสซึม ส่วนการแสดงออกของ DNMT3a ในนิวเคลียสพบเฉพาะชั้นพาราเบซัลในตัวอย่างถุงน้ำไอดอนเจนิค เคอราโตซิสต์บางตัวอย่างเท่านั้น และไม่พบการแสดงออกของ DNMT3a ในเนื้อเยื่อช่องปากปกติ ดังนั้นการแสดงออกที่เพิ่มขึ้นของ DNMT3a ในรอยโรคเหล่านี้สนับสนุนว่ากระบวนการดีเอ็นเอเมทิลเลชันมีบทบาทที่เกี่ยวข้องกับการพัฒนาของรอยโรคที่มีสาเหตุจากเนื้อเยื่อสร้างฟัน⁽²²⁾

จากการศึกษาของ do Amaral-Silva และคณะซึ่งตีพิมพ์ในปี ค.ศ. 2021 ได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการแสดงออกของ DNMT และ H3K9ac ในรอยโรคอะมีโลบลาสโตมา และมะเร็งอะมีโลบลาสติกคาร์ซิโนมา โดยมีถุงหุ้มหน่อฟันเป็นกลุ่มควบคุม H3K9ac คือปฏิกิริยาที่มีการเติมหมู่อะซิติลบนฮิสโตน H3 ที่ไลซีน 9 ซึ่งเป็นการดัดแปลงฮิสโตนชนิดหนึ่ง ผลการศึกษาพบการแสดงออกของ H3K9ac DNMT1 และ DNMT3a บริเวณนิวเคลียสของชั้นเยื่อบุผิว และเซลล์มีเซนไคม์ในทุกกลุ่มตัวอย่าง ในขณะที่ไม่พบการแสดงออกของ DNMT3b ในถุงหุ้มหน่อฟัน แต่พบการแสดงออกที่สูงของ DNMT3b ในเซลล์อะมีโลบลาสติกในกลุ่มอะมีโลบลาสโตมา และมะเร็งอะมีโลบลาสติกคาร์ซิโนมา แต่เมื่อศึกษาความสัมพันธ์ของการแสดงออกของ DNMT กับลักษณะทางคลินิกพบว่า DNMT1 มีการแสดงออกที่สูงขึ้นในอะมีโลบลาสโตมาที่มีการกลายพันธุ์ของยีน BRAF-V600E ส่วนรอยโรคที่มีการกลับมาเป็นซ้ำพบการแสดงออกของ DNMT3b ที่เพิ่มขึ้น ซึ่งอาจบ่งชี้ว่า DNMT1 และ DNMT3b มีส่วนเกี่ยวข้องกับการกลายพันธุ์เหนือพันธุกรรมในระดับดีเอ็นเอ และอาจส่งผลต่อพฤติกรรมความรุนแรง และการกลับมาเป็นซ้ำของเนื้ออก⁽⁵¹⁾

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาการเกิดกระบวนการเมทิลเลชันของยีนต้านมะเร็ง p16 ยีนนี้เป็นตัวยับยั้งเอนไซม์ไซคลินดีเพนเดนทไคเนส (cyclin-dependent kinases) ที่ 4 และ 6 ซึ่งกระบวนการเมทิลเลชันของยีนส่งผลต่อการควบคุมของวัฏจักรของเซลล์ ยับยั้งการถอดรหัส และมีบทบาทสำคัญในระยะเริ่มต้นของมะเร็ง พบว่ามีการสูญเสียยีน p16 ซึ่งเป็นยีนต้านมะเร็งในมะเร็งของมนุษย์หลายชนิด และนอกจากนี้ยังพบการเมทิลเลชันในยีนนี้ในเนื้ออกที่เกิดจากเนื้อเยื่อสร้างฟัน

ด้วย การศึกษาของ Khojasteh และคณะ ได้ทำการศึกษาการเกิดกระบวนการเมทิลเลชั่นของยีน p16 ในรอยโรคมะเร็งอะมีโลบลาสติกคาร์ซิโนมา อะมีโลบลาสโตมา และถุงหุ้มหน่อฟันของฟันคุดล่าง ผลการศึกษาพบว่าการเมทิลเลชั่นของยีน p16 ในอะมีโลบลาสติก คาร์ซิโนมาในทุกตัวอย่าง ในขณะที่พบการเมทิลเลชั่นของยีน p16 ในอะมีโลบลาสโตมาเพียง 1 ตัวอย่าง และไม่พบการเมทิลเลชั่นในเยื่อหุ้มหน่อฟันเลย ซึ่งแสดงให้เห็นว่ากระบวนการเมทิลเลชั่นของยีน p16 อาจมีบทบาทเกี่ยวข้องกับพฤติกรรมความรุนแรง และก้าวร้าวในมะเร็งอะมีโลบลาสติกคาร์ซิโนมาในระดับโมเลกุล การศึกษานี้บ่งชี้ว่ากระบวนการเมทิลเลชั่นของยีน p16 สามารถทำหน้าที่เป็นตัวบ่งชี้การเปลี่ยนแปลงเป็นมะเร็งในรอยโรคอะมีโลบลาสโตมา และช่วยแยกความแตกต่างระหว่างมะเร็งอะมีโลบลาสติกคาร์ซิโนมา และอะมีโลบลาสโตมาได้⁽⁵²⁾ และอีกการศึกษาหนึ่งได้แก่การศึกษาของ Moreira และคณะ ได้ทำการศึกษาการเกิดเมทิลเลชั่นของยีน p16, p21, p27, p53 และ RB1 ในเนื้องอกที่มีสาเหตุจากเนื้อเยื่อสร้างฟัน ผลการศึกษาพบว่าในรอยโรคอะมีโลบลาสโตมามียีนที่เกิดเมทิลเลชั่นสูงที่สุดคือยีน p16 และ p21 เนื้องอกแคลซิไฟอิงซิสติก โอโดนอนโทจินิก มียีนที่เกิดเมทิลเลชั่นสูงที่สุดคือยีน p21 และ RB1 ส่วนเนื้องอกอะดีโนมาตอย โอโดนอนโทจินิกมีเพียงบางตัวอย่างเท่านั้นที่เกิดกระบวนการเมทิลเลชั่นที่ยีน p16 และ p21 ในขณะที่ถุงหุ้มหน่อฟันพบการเกิดกระบวนการเมทิลเลชั่นที่ยีน p16, p27 และ RB1 ซึ่งจะเห็นว่ารอยโรคทุกชนิดเกิดกระบวนการเมทิลเลชั่นที่ยีน p21 แต่ถุงหุ้มหน่อฟันพบการเกิดกระบวนการเมทิลเลชั่นที่ต่ำของยีน p21 ผลการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าการเกิดกระบวนการเมทิลเลชั่นของยีน p21 เป็นกระบวนการที่พบได้ทั่วไปในเนื้องอกที่มีสาเหตุเกิดจากเนื้อเยื่อสร้างฟันประเภทต่างๆ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเกิดการเปลี่ยนแปลงระดับเหนือพันธุกรรมในเนื้องอกเหล่านี้⁽⁵³⁾

จากการทบทวนวรรณกรรมข้างต้นจะเห็นได้ว่ากระบวนการเหนือพันธุกรรมในระดับดีเอ็นเอมีบทบาทในรอยโรคที่มีสาเหตุจากเนื้อเยื่อสร้างฟัน และนอกจากนี้การดัดแปลงอาร์เอ็นเอก็เป็นหนึ่งในกระบวนการเหนือพันธุกรรมเช่นกัน ซึ่งผู้วิจัยจะกล่าวรายละเอียดในหัวข้อถัดไป

3.การดัดแปลงอาร์เอ็นเอ และ N6-methyladenosine (m6A)

การดัดแปลงอาร์เอ็นเอเป็นการดัดแปลงทางเคมีแบบย้อนกลับได้บนสายอาร์เอ็นเอตั้งต้น (substrate RNA) โดยถูกควบคุมโดยเอนไซม์เฉพาะ มีบทบาทสำคัญในการควบคุมกระบวนการทางชีววิทยาในโรคต่างๆ เช่นการพัฒนาของมะเร็ง และโรคบางชนิด ปัจจุบันบทบาทของการดัดแปลงอาร์เอ็นเอได้รับความสนใจมากขึ้นเพื่อทำความเข้าใจเกี่ยวกับโรคของมนุษย์ การดัดแปลงอาร์เอ็นเอมีบทบาทสำคัญในกระบวนการต่างๆ ของเซลล์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการควบคุมความเสถียร และการแปลรหัส mRNA ตัวอย่างเช่น การดัดแปลงอาร์เอ็นเอบางอย่างส่งเสริมความเสถียรของ mRNA และมีผลการแปลรหัสเป็นโปรตีน ในขณะที่การดัดแปลงอื่นๆ

อาจกำหนดเป้าหมาย mRNA ทำให้เกิดการย่อยสลาย และป้องกันการแปลรหัสได้ กลไกของการดัดแปลงอาร์เอ็นเอมีหลากหลายกระบวนการ ได้แก่ m6A, m5C, m1A, m7G, Ψ, A-to-I editing และ ac4C⁽⁵⁴⁾

N6-methyladenosine (m6A) เป็นกระบวนการเมทิลเลชันที่พบมากที่สุดที่สุดใน mRNA การดัดแปลง m6A (m6A modification) มีส่วนเกี่ยวข้องในเกือบทุกขั้นตอนใน mRNA เมแทบอลิซึม^(24, 25) นอกจากนี้ยังส่งผลต่อการประมวลผลของ lncRNAs และ circRNAs ด้วย m6A ถูกควบคุมโดยกลุ่มเอนไซม์ 3 กลุ่ม ได้แก่ m6A writers หรือ m6A methyltransferases, m6A erasers หรือ m6A demethylases และ m6A readers⁽²⁷⁾

3.1 m6A writers หรือ m6A methyltransferases

m6A เกิดจากการทำงานของเมทิลทรานสเฟอเรสคอมเพล็กซ์ (methyltransferase complex) ที่ประกอบด้วยโปรตีนตัวหลักคือ METTL3 และโปรตีนตัวเสริมอื่นๆ ได้แก่ METTL14, WTAP, VIRMA, RBM15 และ ZC3H13⁽⁵⁵⁾ กลไกที่เกี่ยวข้องกับ m6A ได้แก่ การตัดแต่ง mRNA การส่งออกของอาร์เอ็นเอ การควบคุมการถอดรหัส การสลายตัวของ mRNA และการประมวลผล miRNA ซึ่ง METTL3 มีบทบาทสำคัญในทุกขั้นตอนของวัฏจักรของอาร์เอ็นเอ⁽²⁴⁾ METTL3 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาหลักในกระบวนการ m6A มีการศึกษาชี้ว่าการเมทิลเลชันโดย METTL3 มีส่วนร่วมในกระบวนการทางสรีรวิทยาต่างๆ เช่นการพัฒนาตัวอ่อน การพัฒนาสมอง การสร้างสเปิร์ม การเปลี่ยนโปรแกรมเซลล์และการรักษาสมดุลของทีเซลล์ (T-cell homeostasis)⁽⁵⁶⁾ และด้วยการทำงานร่วมกันของ m6A writers โดยเฉพาะอย่างยิ่งใน mRNA มีการศึกษาพบว่ามีคามผิดปกติของการแสดงออกของ METTL3 ในมะเร็งของมนุษย์^(24, 27) โดยในเนื้องอก หรือมะเร็งบางชนิดการเพิ่มขึ้นของ METTL3 พบว่ามีความเกี่ยวข้องกับการลุกลามของมะเร็งอย่างรวดเร็ว รวมทั้งมีการพยากรณ์โรคที่ไม่ดีของเนื้องอก ในทางกลับกันมีรายงานในบางการศึกษาพบว่า METTL3 อาจทำหน้าที่เป็นตัวยับยั้งการเจริญเติบโตของเนื้องอก และมะเร็งบางชนิด^(24, 28, 57)

3.2 m6A erasers หรือ demethylases

M6A erasers เป็นกลุ่มเอนไซม์ที่มีหน้าที่เอาหมู่เมทิลออกจาก m6A ส่งผลให้กระบวนการดัดแปลง m6A เป็นกระบวนการที่ผันกลับได้ ได้แก่ Fat mass and obesity-associated protein (FTO) และ α -ketoglutarate-dependent dioxygenase homolog 5 (ALKBH5) โดยเอนไซม์ทั้งสองตัวจัดอยู่ในกลุ่ม α -ketoglutarate-dependent dioxygenase ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการเกิดกระบวนการดีเมทิลเลชันของ m6A⁽⁵⁵⁾

3.3 m6A readers

m6A reader ทำหน้าที่จดจำและเชื่อมโยง m6A ไปยังอาร์เอ็นเอเป้าหมาย m6A reader ในกลุ่ม YTH domain family ได้แก่ YT521-B homology (YTH) ทำหน้าที่เป็นโมดูลสำหรับการจดจำ m6A YTHDF1 ทำให้เกิดการการถอดรหัส mRNA และการสังเคราะห์โปรตีน YTHDF2 ทำให้เกิดการถอดรหัส หรือการสลายอาร์เอ็นเอ โดยการคัดเลือก mRNA ที่มีการดัดแปลง m6A ทำให้เกิดการสลายตัวของ mRNA YTHDF3 ทำหน้าที่ปรับปรุงการถอดรหัสอาร์เอ็นเอ ดังนั้น กลุ่มโปรตีนเหล่านี้มีหน้าที่ควบคุมกระบวนการเมแทบอลิซึมของ m6A⁽⁵⁵⁾

4.การดัดแปลง m6A ในอาร์เอ็นเอกับโรคในช่องปาก

ปัจจุบันมีการศึกษามากมายยืนยันว่าความผิดปกติของกระบวนการเมทิลเลชั่นของ m6A มีความสัมพันธ์กับโรคร้ายแรงของมนุษย์รวมถึงเนื้องอก⁽²⁶⁾ แต่การศึกษาบทบาทของ m6A และตัวควบคุมของ m6A ต่อการเกิดโรคมะเร็งในช่องปากยังมีไม่มาก โดยข้อมูลการศึกษาส่วนมากจะมีรายงานในมะเร็งช่องปากชนิดสควamousเซลล์คาร์ซิโนมาดังนี้

4.1 การดัดแปลง m6A ในอาร์เอ็นเอกับมะเร็งช่องปากของมนุษย์

มีการศึกษาพบว่ามะเร็งช่องปากชนิดสควamousเซลล์คาร์ซิโนมา มีระดับ METTL3 ซึ่งเป็น m6A writer สูงกว่าเนื้อเยื่อปกติที่อยู่ติดกัน และระดับการแสดงออกของ METTL3 ที่สูงขึ้นมีความสัมพันธ์เชิงบวกอย่างมีนัยสำคัญกับระยะของเนื้องอกที่สูงขึ้น การแสดงออกของ METTL3 ที่สูงนี้บ่งชี้ถึงการพยากรณ์โรคที่แย่ลง ซึ่งจากผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่า METTL3 มีบทบาทสำคัญในการพัฒนา และการพยากรณ์โรคของมะเร็งช่องปากชนิดสควamousเซลล์คาร์ซิโนมา⁽²⁵⁾ การศึกษาของ Udompatanakorn และคณะ ได้ทำการศึกษาระดับการแสดงออกของ METTL3 ในรอยโรคก่อนมะเร็ง และมะเร็งช่องปากชนิดสควamousเซลล์คาร์ซิโนมา พบว่าการแสดงออกของ METTL3 ในรอยโรคดิสเพลเซียของเซลล์เยื่อบุช่องปาก และมะเร็งช่องปากชนิดสควamousเซลล์คาร์ซิโนมาสูงกว่าเยื่อบุผิวช่องปากปกติ โดยมีการแสดงออกของ METTL3 สูงที่สุดในกลุ่มมะเร็งช่องปากชนิดสควamousเซลล์คาร์ซิโนมา โดยลักษณะการติดสีของ METTL3 ในเยื่อบุผิวช่องปากปกติจะติดสีความเข้มอ่อน และพบการติดสีในชั้นของเยื่อบุผิว ในขณะที่รอยโรคดิสเพลเซียของเซลล์เยื่อบุช่องปาก และมะเร็งช่องปากชนิดสควamousเซลล์คาร์ซิโนมาพบการติดสี METTL3 ความเข้มรุนแรงในชั้นเยื่อบุผิว และตรงกลางของเนื้องอก ถึงแม้ว่าจะไม่พบความสัมพันธ์ที่มีนัยสำคัญระหว่างการแสดงออกของ METTL3 และลักษณะทางคลินิก แต่การศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่า METTL3 อาจมีบทบาทในการเกิดโรคมะเร็งช่องปากชนิดสควamousเซลล์คาร์ซิโนมา และรอยโรคก่อนมะเร็ง⁽²⁷⁾

การศึกษาของ Ai และคณะ ในปี ค.ศ. 2021 ได้ทำการศึกษาการแสดงออกของ METTL3 ในมะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมา โดยเพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมา ได้แก่ SCC-4, CAL-27, SCC-9 และ SCC-25 ผลการศึกษาพบว่ามีการแสดงออกของ METTL3 ที่เพิ่มขึ้นในเซลล์มะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมาเมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์เนื้อเยื่อช่องปากปกติ และยังพบว่าปริมาณของ m6A เพิ่มขึ้นในเซลล์มะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมาอีกด้วย นอกจากนี้ผลการศึกษาพบว่า METTL3 ส่งผลต่อการทำงานของ CD8⁺ ทีเซลล์ (T cell) และการผลิตไซโตไคน์ในเซลล์มะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมา โดยระับการกระตุ้น CD8⁺ ทีเซลล์ ในขณะที่การยับยั้งการแสดงออกของ METTL3 ส่งผลให้เกิดการกระตุ้นการทำงานของ CD8⁺ ทีเซลล์มากขึ้น ส่งผลให้ปริมาณไซโตไคน์ก่อมะเร็ง IL-10 (protumor cytokine IL-10) ลดลง และเพิ่มปริมาณของไซโตไคน์ต้านมะเร็ง IL-4 และ IFN- γ นอกจากนี้การทดลองในหนูทดลองโดยการฉีดเซลล์ SCC-9 ที่ถูกยับยั้งการแสดงออกของ METTL3 เข้าใต้ผิวหนัง ผลการทดลองพบว่าการยับยั้งการแสดงออกของ METTL3 มีผลลดการแบ่งตัวของเซลล์มะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมา และการศึกษากระบวนการขยายเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมจากดีเอ็นเอเป้าหมายโดยใช้ดีเอ็นเอต้นแบบ (qRT-PCR) ในเซลล์มะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมา ยังพบอีกว่าการแสดงออกของ METTL3 สัมพันธ์กับการพยากรณ์โรคที่แย่งของมะเร็งศีรษะ และลำคอชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมา⁽⁵⁸⁾

Liu และคณะ ในปี ค.ศ. 2020 ได้ศึกษาการแสดงออกของ m6A เมทิลทรานสเฟอเรสหลายตัวร่วมกันในการศึกษาเดี่ยว โดยวิเคราะห์ระดับการแสดงออกของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมทิลเลชันจากข้อมูล TCGA RNA sequencing (RNA-seq) ของรอยโรคมะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมาจำนวน 340 ตัวอย่าง เปรียบเทียบกับเนื้อเยื่อปกติจำนวน 32 ตัวอย่าง พบว่ามีการแสดงออกที่เพิ่มขึ้นของ METTL3 และ WTAP ในรอยโรคมะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมา ในขณะที่ METTL14 ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตามผลการศึกษาโดยวิธี qRT-PCR ของเนื้อเยื่อมะเร็งชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมาเปรียบเทียบกับเนื้อเยื่อข้างเคียง พบว่ามีการเพิ่มขึ้นของการแสดงออกของ METTL3, METTL14 และ WTAP และยังพบว่าระดับการแสดงออกของ METTL3 ที่สูงขึ้นมีความสัมพันธ์เชิงบวกอย่างมีนัยสำคัญกับระยะเนื้องอกขั้นสูง คือเนื้องอกในระยะ T3 และ T4 มีการแสดงออกของ METTL3 สูงกว่าเนื้องอกในระยะ T1 และ T2 รวมถึงเมื่อเปรียบเทียบการแสดงออกของ METTL3 ในระยะการแพร่กระจายของต่อมน้ำเหลือง พบว่ากลุ่มตัวอย่างที่มีการแพร่กระจายพบการแสดงออกของ METTL3 ที่สูงกว่า นอกจากนี้ยังได้ทำการศึกษาการยับยั้ง METTL3 ในหนูทดลองโดยการฉีดเซลล์ที่ได้ถูกยับยั้งการแสดงออกของ

METTL3 ในชั้นใต้ผิวหนัง พบว่าปริมาตร และน้ำหนักของเนื้องอกต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ⁽²⁵⁾

นอกจากนั้นจากการศึกษาของ Wu และคณะ ในปี ค.ศ. 2022 ซึ่งเป็นการศึกษาการแสดงออกของ METTL3 และ METTL14 ในรอยโรคมะเร็งช่องปากชนิดสควamous เซลล์คาร์ซิโนมา ผลการศึกษาพบการแสดงออกของ METTL3 และ METTL14 ในนิวเคลียสของเซลล์มะเร็ง ซึ่งเปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของเซลล์ที่มีการแสดงออกของ METTL3 และ METTL14 เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ในเนื้อเยื่อมะเร็งช่องปากชนิดสควamous เซลล์คาร์ซิโนมา และนอกจากนี้ยังพบว่าการแสดงออกของ METTL3 และ METTL14 มีการแสดงออกที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในระยะของมะเร็งที่สูงขึ้น อีกทั้งยังพบว่าร้อยละของเซลล์ที่มีการแสดงออกของ METTL3 และ METTL14 ที่สูงมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับอัตราการรอดชีวิตของผู้ป่วยที่ลดลง และการยับยั้งการแสดงออกของ METTL3 และ METTL14 โดยการนำส่งสารพันธุกรรม siRNA เข้าสู่เซลล์เป็นผลให้การเพิ่มจำนวนของเซลล์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ แต่ไม่มีผลอย่างมีนัยสำคัญต่อการเคลื่อนที่ของเซลล์ และการรุกรานของเซลล์⁽⁵⁷⁾

ในส่วนของการ m6A eraser เองพบว่าการแสดงออกที่ผิดปกติ คือมีการแสดงออกที่มากเกินไป หรือน้อยเกินไป มีผลต่อการดำเนินของโรคมะเร็งศีรษะ และลำคอชนิดสควamous เซลล์คาร์ซิโนมา (head and neck squamous cell carcinoma) โดยพบว่าการแสดงออกของ FTO ที่มากขึ้นมีแนวโน้มต่อการพยากรณ์โรคที่แย่ง⁽⁵⁹⁾ และในปี ค.ศ. 2022 มีการศึกษาของ Jin และคณะ ได้วิเคราะห์จากฐานข้อมูลจาก TCGA database ของโรคมะเร็งศีรษะและลำคอชนิดสควamous เซลล์คาร์ซิโนมา พบว่า ALKBH5 เป็นโปรตีนที่มีการแสดงออกเพิ่มขึ้น⁽⁶⁰⁾

จากการทบทวนวรรณกรรมชี้ให้เห็นว่า m6A และเอนไซม์ที่ควบคุมการทำงานมีบทบาทในรอยโรคมะเร็งช่องปากชนิดสควamous เซลล์คาร์ซิโนมาซึ่งเป็นมะเร็งในช่องปากที่พบมากที่สุด โดยในหัวข้อต่อไปจะกล่าวถึงรายละเอียดของบทบาทของ m6A ในถุงน้ำดีเนติเจอร์ส และอะมีโลบลาสโตมา

4.2 การดัดแปลง m6A ในอาร์เอ็นเอกับถุงน้ำดีเนติเจอร์ส และอะมีโลบลาสโตมา

การศึกษาเกี่ยวกับความผิดปกติของกระบวนการเหนือพันธุกรรมในระดับอาร์เอ็นเอของถุงน้ำดีเนติเจอร์ส และอะมีโลบลาสโตมายังมีจำนวนไม่มาก จากการทบทวนวรรณกรรมมีเพียงการศึกษาเดียวที่ทำการศึกษาระบบการเหนือพันธุกรรมในระดับอาร์เอ็นเอในถุงน้ำดีเนติเจอร์ส ได้แก่ การศึกษาของ Udompatanakorn และคณะ ในปี ค.ศ. 2024 โดยทำการศึกษาการแสดงออกของ ALKBH5 ในถุงน้ำดีเนติเจอร์ส ถุงน้ำไอคอนโตเจนิค เคอราโตซิสส์ และอะมีโลบลาสโตมา ALKBH5 เป็นเอนไซม์ในกลุ่ม m6A erasers ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการเกิดกระบวนการดีเมทิลเลชัน ของ m6A

โดยดึงหมู่เมทิลออกจากอาร์เอ็นเอเป้าหมาย ผลการศึกษาการแสดงออกของ ALKBH5 พบว่าร้อยละจำนวนเซลล์ที่ติดสีของการแสดงออกของ ALKBH5 ในอะมีโลบลาสโตมา และถุงน้ำไอดอนโตเจนิก-เคอราโตซิสต์สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับถุงหุ้มหน่อฟัน แต่ร้อยละจำนวนเซลล์ที่ติดสีของการแสดงออกของ ALKBH5 ในอะมีโลบลาสโตมา ถุงน้ำไอดอนโตเจนิก เคอราโตซิสต์ และถุงน้ำเดนติเจอร์ส ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนความเข้มของการติดสี และค่าเฉลี่ยคะแนนอิมมูโนรีแอคทีฟในอะมีโลบลาสโตมา และถุงน้ำไอดอนโตเจนิก เคอราโตซิสต์สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับถุงน้ำเดนติเจอร์ส และถุงหุ้มหน่อฟัน โดยผลจากการศึกษานี้สรุปได้ว่ากระบวนการเหนี่ยวนำการเกิดมะเร็งอาจมีบทบาทในรอยโรคที่เกิดจากเนื้อเยื่อสร้างฟัน และอาจมีความสัมพันธ์กับพฤติกรรมของถุงน้ำที่มีสาเหตุจากเนื้อเยื่อสร้างฟันที่เกี่ยวข้องกับพัฒนาการได้⁽²³⁾

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาของ Niu และคณะ ในปี ค.ศ. 2020 ซึ่งเป็นการศึกษาแรกที่ได้ศึกษาความสัมพันธ์ของ m6A กับรอยโรคอะมีโลบลาสโตมา โดยการตรวจหา m6A peak ในอะมีโลบลาสโตมา และเนื้อเยื่อช่องปากปกติโดยใช้ MeRIP-seq ที่ถูกเติมเมทิลที่ตำแหน่งแตกต่างกันภายใน mRNA, lncRNA และ circRNA ผลการศึกษพบการเติมหมู่เมทิลที่เบสไซโตซีนสูงกว่าระดับปกติ (hypermethylated m6A) และการเติมหมู่เมทิลที่เบสไซโตซีนต่ำกว่าระดับปกติ (hypomethylated m6A) โดยในอะมีโลบลาสโตมา มีการดัดแปลง m6A ที่แตกต่างกับเนื้อเยื่อช่องปากปกติ 3,673 ตำแหน่ง โดยพบการเมทิลเลทของตำแหน่ง m6A ภายในรหัสพันธุกรรม (coding genes) ของรอยโรคอะมีโลบลาสโตมาซึ่งในจำนวนนี้ 704 ตำแหน่ง (16.2%) พบมีการเมทิลเลทเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อเยื่อในช่องปากปกติ จากผลการศึกษาจึงแสดงให้เห็นว่า m6A น่าจะมีบทบาทในรอยโรคอะมีโลบลาสโตมา นอกจากนี้ในการศึกษานี้ยังพบว่ายีน *HOXC13* และ *HOXC13-AS* ในเนื้อเยื่ออะมีโลบลาสโตมา มีการเมทิลเลชันที่มากกว่าปกติเมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อเยื่อปกติที่อยู่ข้างเคียงอีกด้วย ผลการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่ากระบวนการดัดแปลง m6A น่าจะมีบทบาทในการควบคุมการแสดงออกของยีน และอาจเกี่ยวข้องกับการพัฒนาไปเป็นรอยโรคอะมีโลบลาสโตมา⁽²¹⁾

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

ในการวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยได้ดำเนินการตามขั้นตอนดังนี้

- 1.การกำหนดประชากร และการสุ่มกลุ่มตัวอย่าง
- 2.วิธีการทดลอง
- 3.การเก็บรวบรวมข้อมูล
- 4.การวิเคราะห์ข้อมูล

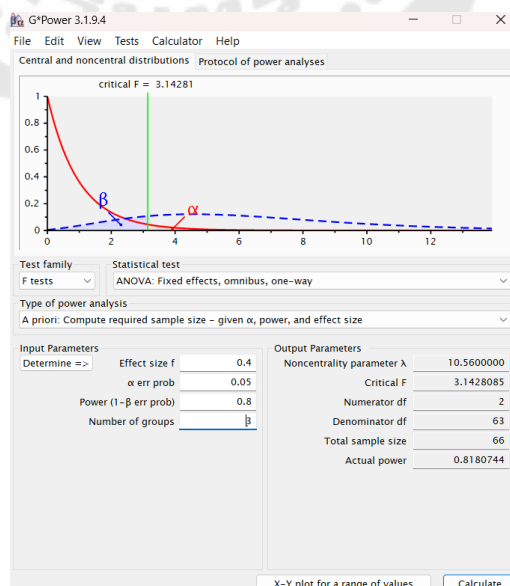
1. การกำหนดประชากร และการสุ่มกลุ่มตัวอย่าง

1.1 การคำนวณกลุ่มตัวอย่าง

การคำนวณกลุ่มตัวอย่างใช้โปรแกรม G*Power⁽⁶¹⁾ โดยเลือกวิธีการวิเคราะห์สถิติในกลุ่ม F test กำหนด Effect size เท่ากับ 0.4 หมายถึงขนาดอิทธิพลใหญ่ ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติเท่ากับ 0.05 ได้ขนาดกลุ่มตัวอย่างทั้งหมด 66 ตัวอย่าง

การศึกษานี้แบ่งประชากรออกเป็นทั้งหมด 3 กลุ่มตัวอย่าง จึงใช้ตัวอย่างอย่างน้อย 22 ตัวอย่างต่อกลุ่ม แต่เนื่องจากชั้นเนื้องูหุ้มหน่อพันธุ์มีจำนวนน้อย จึงกำหนดจำนวนประชากรดังนี้

- 1.ชั้นเนื้องูหุ้มหน่อพันธุ์ จำนวน 7 ตัวอย่าง
- 2.ชั้นเนื้องูน้ำเตาติเจอร์ส จำนวน 30 ตัวอย่าง
- 3.ชั้นเนื้ออะมีโลบลาสโตมา จำนวน 35 ตัวอย่าง



ภาพประกอบ 2 การคำนวณกลุ่มตัวอย่างโดยโปรแกรม G*Power

1.2 ประชากรที่ใช้ในการศึกษา

แบ่งออกเป็น 3 กลุ่มดังนี้

1. ชี้นเนื้อถุงหุ้มหน่อพื้น จำนวน 7 ตัวอย่าง
2. ชี้นเนื้อถุงน้ำเดนติเจอร์ส จำนวน 30 ตัวอย่าง
3. ชี้นเนื้ออะมีโลบลาสโตมา จำนวน 35 ตัวอย่าง

เกณฑ์การคัดเข้า คือ ชี้นเนื้อที่ได้รับการวินิจฉัยด้วยลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาตามเกณฑ์ของ WHO ปี ค.ศ. 2022⁽¹⁴⁾ ว่าเป็นถุงหุ้มหน่อพื้น ถุงน้ำเดนติเจอร์ส และอะมีโลบลาสโตมา โดยเป็นชี้นเนื้อในพาราฟินบล็อกที่อยู่ในคลังของแผนกพยาธิวิทยาช่องปากคณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เป็นชี้นเนื้อระหว่างปี พ.ศ. 2555 – 2565

เกณฑ์การคัดออก ได้แก่

1. ชี้นเนื้อที่ไม่สมบูรณ์ คือไม่สามารถมองเห็นชั้นเยื่อบุผิว หรือชี้นเนื้อที่มีขนาดเล็กเกินไป
2. ชี้นเนื้อถุงน้ำเดนติเจอร์สที่ได้รับการวินิจฉัยทางจุลพยาธิวิทยาว่ามีการอักเสบ

2. วิธีการทดลอง

2.1 วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย

1. สไลด์ ชนิด glass slide coated
2. แผ่นปิดสไลด์ (cover slip)
3. ช่องเก็บความชื้น (humidity chamber)
4. แท่นวางสำหรับทำอิมมูโนฮิสโตเคมี
5. ขวดขนาด 1,000 มิลลิลิตร และ 500 มิลลิลิตร
6. เครื่องอบสไลด์ (Shandong Sito Biotechnology Co.Ltd, China)
7. ไมโครเวฟ (Samsung, South korea)
8. กล้องจุลทรรศน์ชนิดใช้แสง (Olympus, Japan)
9. ปากกา (A-papPen, Bio-Optica, Italy)
10. อุปกรณ์เบ็ดเตล็ด เช่น ปิเปต เทปติดฉลาก กระดาษชำระ และอื่น ๆ

2.2 สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย

1. Absolute alcohol
2. Xylene (Pharmco-Aaper, USA)
3. Tris-ethylenediaminetetraacetic acid buffer pH 9.0

4. Chromogen,3,3I-diaminobenzidine
5. HM mounting medium (Bio-Optica, Milan, Italy)
6. antibody against METTL3 (ab195352; Abcam, United Kingdom)
7. ชุดย้อม Envision™ (DAKO Omnis, Denmark)
8. 5% Bovine serum albumin (Sigma, USA)
9. Tween 20 (Sigma, USA)
10. สีย้อม Hematoxylin (Leica Biosystems, Canada)
11. เนื้อเยื่อมะเร็งกระเพาะปัสสาวะ (Human bladder cancer) (catalog no. T2235010, Biochain Institute Inc., California, United States)

2.3 ขั้นตอนการศึกษา

1. คัดเลือกชิ้นเนื้อที่ถูกวินิจฉัยแล้วว่าเป็นถุงหุ้มหนองป็น ถุงน้ำเดนติเจอร์ส และอะมีโลบลาสโตมาจากคลังข้อมูลชิ้นเนื้อของแผนกพยาธิวิทยาช่องปาก โดยเป็นชิ้นเนื้อที่ได้จากทั้งในคณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ และชิ้นเนื้อที่ถูกส่งมาจากภายนอกคณะ ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2555 – 2565

2. ศึกษาการแสดงออกของ METTL3 ในระดับโปรตีน ด้วยวิธีทางอิมมูโนฮิสโตเคมี โดยศึกษารูปแบบการแสดงออก (expression pattern) จำนวนเซลล์ที่ย้อมติดสี (the number of positive cells) ความเข้มของการย้อมติดสี (the staining intensity) คะแนนอิมมูโนรีแอคทีฟ (immunoreactive score: IRS) ในถุงหุ้มหนองป็น ถุงน้ำเดนติเจอร์ส และอะมีโลบลาสโตมา โดยใช้เนื้อเยื่อมะเร็งกระเพาะปัสสาวะ เป็นตัวควบคุมผลบวก (positive control) และทำการย้อมสีชิ้นเนื้อโดยไม่มีการใส่ primary antibody เป็นตัวควบคุมผลลบ (negative control)

การศึกษาการแสดงออกของ METTL3 ในระดับโปรตีนด้วยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมี

1.ขั้นตอนการเตรียมสารเคมี

1.1 เตรียม Tris/EDTA buffer (Tris-ethylenediaminetetraacetic acid buffer) pH 9.0 โดยผสม Envision™ FLEXTarget Retrieval Solution, High pH (DAKO K8004) ความเข้มข้น 50X กับน้ำกลั่นด้วยอัตราส่วน 1:49 โดยเตรียมสารให้ได้ปริมาตรรวม 1,000 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

1.2 เตรียม wash buffer โดยผสม Envision™ FLEX wash buffer (DAKO S3006) ความเข้มข้น 20X กับน้ำกลั่นด้วยอัตราส่วน 1:19 โดยเตรียมสารให้ได้ปริมาตรรวม 1,000 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

1.3 เตรียม Envision™ FLEX Substrate Working Solution โดยนำ Envision™ FLEX Substrate buffer (SM803) 1 มิลลิลิตรมาผสมกับ Envision™ FLEX DAB ผสม chromogen (DM827) 1 หยด ปิดฝาผสมให้เข้ากัน

1.4 เตรียม Tris-Buffered Saline-Tween 20 (TBS-T) โดยนำ Tris 6.05 กรัม ผสมกับ NaCl 8.76 กรัม ทำละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ปรับค่า pH โดยใช้ 1 M HCl ให้ได้ pH 7.6 จะได้สารละลาย TBS จากนั้นหยด Tween20 ปริมาตร 500 ไมโครลิตรลงใน TBS 1,000 มิลลิลิตรแล้วผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำ Bovine serum albumin (BSA) 0.5 กรัมมาละลายใน TBS-T ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันจะได้เป็น BSA ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 5 ใน TBS-T

2. การเตรียมสไลด์

2.1 ตัดชิ้นเนื้อในกลุ่มรอยโรคที่ฝังอยู่ในพาราฟินให้มีความหนา 4 ไมโครเมตร บนสไลด์ superfrost plus จากนั้นนำสไลด์ไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ 6 ชั่วโมง

2.2 นำสไลด์ที่ผ่านการอบแล้วไปเข้าขั้นตอนการละลายพาราฟินออก (deparaffinization) และการเติมน้ำ (rehydrated) โดยแช่ในไซลีน (xylene) 3 ภาชนะ ภาชนะละ 3 นาที จากนั้นนำมาจุ่มในเอทานอล 95% (ethanol) 3 ภาชนะ ภาชนะละ 10 ครั้ง แล้วนำมาแช่น้ำประปา โดยเปิดให้น้ำประปาไหลผ่าน 2 - 3 นาที

3. Microwave method

3.1 นำ Tris/EDTA ที่มีค่า pH 9 โดยเตรียมปริมาตรรวม 300 มิลลิลิตร มาให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟ 700 วัตต์ จนเดือดเป็นเวลา 3 นาที

3.2 นำสไลด์ที่เตรียมไว้ใส่ใน rack แล้วแช่ใน buffer ที่ทำการให้ความร้อนไว้แล้วในขั้นตอน 3.1 จากนั้นนำไปให้ความร้อนอีกครั้งด้วยไมโครเวฟ 700 วัตต์ เป็น เวลา 10 นาที

3.3 เมื่อครบ 10 นาที นำภาชนะออกมาพักที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 นาที แล้วนำมาแช่น้ำประปา โดยเปิดให้น้ำประปาไหลผ่าน 5 นาที

4. Block endogenous peroxidase activity

4.1 นำสไลด์ที่เตรียมเสร็จจากขั้นตอนที่ 3 สะบัดน้ำให้หมด แล้วนำมาเรียงในภาชนะเก็บความชื้น (humidity chamber) โดยเติมน้ำใน chamber เล็กน้อย

4.2 หยด Peroxidase blocking (SM801) แล้วปิดฝา chamber จับเวลาทิ้งไว้ 5 นาที

4.3 เมื่อครบ 5 นาทีนำสไลด์มาสะบัดเพื่อให้ peroxidase blocking ออก แล้วเรียงใส่ rack นำมาผ่านน้ำประปานาน 5 นาที

4.4 จากนั้นนำสไลด์มาล้างด้วย wash buffer ที่เตรียมไว้ โดยจุ่มขึ้นลง 10 ครั้งแล้วเททิ้ง เติม wash buffer ลงไปใหม่แช่ทิ้งไว้ 5 นาที เก็บ wash buffer ที่ใช้แล้วไว้ ไม่ต้องทิ้ง

5. Block nonspecific background

5.1 นำสไลด์มาสะบัด wash buffer ออกจากสไลด์จนหมด และเช็ดตามขอบสไลด์ โดยรอบขึ้นเนื้อ ใช้ปากกา (A-papPen, Bio-Optica, Italy) วาดรอบขึ้นเนื้อและเรียงสไลด์ใส่ chamber โดยระวังอย่าให้สไลด์แห้ง

5.2 จากนั้นหยด protein block (5% BSA ใน TBS-T) ให้พอท่วมขึ้นเนื้อ ปิดฝา chamber ทิ้งไว้ 10 นาที

6. Antibody application

6.1 สะบัด protein block จากสไลด์ให้หมดๆ ชุบน้ำตรงขอบที่วางปากกา เรียงสไลด์ใส่ใน chamber ระวังอย่าให้สไลด์แห้ง และหยดสาร primary antibody คือ antibody against METTL3 ที่ความเข้มข้น 1: 250 ลงบนสไลด์ให้ท่วมขึ้นเนื้อ บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ข้ามคืน (เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง)

6.2 เมื่อครบเวลาให้เคาะ primary antibody ออกแล้วเรียงสไลด์ใส่ rack ล้างด้วย wash buffer ที่เตรียมไว้จากขั้นตอนที่ 4.4 จุ่มสไลด์ขึ้นลง 10 ครั้งแล้วเท wash buffer ทิ้ง จากนั้นล้างสไลด์โดยการแช่ใน wash buffer ใหม่อีก 2 ครั้ง ครั้งละ 3 นาที แล้วเก็บ wash buffer ครั้งสุดท้ายนี้ไว้

6.3 สะบัด wash buffer ออกจากสไลด์ ชุบน้ำตรงขอบที่วางปากกา เรียงสไลด์ใส่ใน chamber โดยระวังอย่าให้สไลด์แห้ง

6.4 หยด Envision™ FLEX HRP (SM802) แคพอท่วมสไลด์ และบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที

6.5 ล้างสไลด์ด้วย wash buffer ที่เก็บไว้ในขั้นตอนที่ 6.2 จุ่มขึ้นลง 10 ครั้งแล้วเท wash buffer ทิ้ง จากนั้นล้างสไลด์โดยการแช่ใน wash buffer ใหม่อีก 2 ครั้ง ครั้งละ 3 นาที แล้วเท wash buffer ทิ้งไป

7. Color development

7.1 สะบัดสไลด์ ชุบน้ำตรงขอบที่วางปากกา เรียงสไลด์ใส่ใน chamber จากนั้นใช้ปิเปตพลาสติกหยดสาร Envision™ FLEX Substrate Working Solution พอท่วมสไลด์ ปิดฝา chamber โดยระวังอย่าให้เกิดฟองอากาศบนสไลด์ จับเวลาทิ้งไว้ 5 นาที

7.2 เรียงสไลด์ใส่ rack จากนั้นเปิดให้น้ำประปาไหลผ่านอย่างน้อย 5 นาที เพื่อเป็นการหยุดปฏิกิริยา

7.3 ทำ counterstain ด้วยการนำสไลด์มาจุ่มในฮีมาทอกซิลิน (hematoxylin) 2-3 ครั้ง แล้วเปิดให้น้ำประปาไหลผ่านสไลด์เป็นเวลา 5 นาที

7.4 หลังจากผ่านน้ำประปาแล้วจึงมาทำกระบวนการไล่น้ำออก (dehydrated) โดยจุ่มในเอทานอล 95% จำนวน 2 ภาชนะ ภาชนะละ 10 ครั้ง แล้วจุ่มใน absolute ethanol จำนวน 2 ภาชนะ ภาชนะละ 10 ครั้ง จากนั้นจุ่มในไซลีน จำนวน 2 ภาชนะ ภาชนะละ 10 ครั้งเช่นกัน สะบัดสไลด์ให้หมาด จากนั้นหยดน้ำยาปิดสไลด์ (mounting medium) แล้วนำกระจกปิดสไลด์ (cover slips) มาปิดบนสไลด์

3. การเก็บรวบรวมข้อมูล

3.1 วิธีเก็บข้อมูล

บันทึกข้อมูลเกี่ยวกับเพศ อายุ ตำแหน่ง ระยะเวลาที่เป็นโรค ขนาดของรอยโรคซึ่งได้จากการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของรอยโรคจากภาพถ่ายรังสี หรือจากข้อมูลใบส่งตรวจชิ้นเนื้อ อาการเจ็บปวด และอาการบวมในทั้ง 3 กลุ่มตัวอย่าง วัดผลการแสดงออกของ METTL3 ในระดับโปรตีนด้วยการถ่ายภาพจากสไลด์ด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดใช้แสง (Olympus, Japan) โดยการนับเซลล์อย่างน้อย 500 เซลล์จากการสุ่มดู 5 ตำแหน่งของแต่ละชิ้นเนื้อ แล้วถ่ายภาพแต่ละตำแหน่งไว้จากกล้องจุลทรรศน์ชนิดใช้แสงที่เลนส์กำลังขยายขนาด 400 เท่า ซึ่งแต่ละภาพจะผ่านการนับจำนวนเซลล์โดยใช้โปรแกรม ImageJ Fiji โดยจะดูรูปแบบการติดสี นับจำนวนเซลล์ที่ติดสีเข้มและดูความเข้มของการติดสีของ METTL3 รวมทั้งคำนวณหาคะแนนอิมมูโนรีแอคทีฟ

3.2 การแปลผล

1. รูปแบบลักษณะการติดสี

แปลผลโดยการบรรยายรูปแบบการติดสีของ METTL3 ในชิ้นเนื้อกลุ่มตัวอย่างทั้ง 3 กลุ่ม

2. ร้อยละของเซลล์ที่ย้อมติดสี

แปลผลโดยการนับจำนวนเซลล์ที่ย้อมติดสี METTL3 คือ เซลล์ที่ติดสีน้ำตาลบริเวณนิวเคลียสของเซลล์เยื่อบุผิว นำมาคิดเป็นร้อยละของเซลล์ที่ย้อมติดสี แล้วนำมาเปรียบเทียบความแตกต่างของร้อยละจำนวนเซลล์ที่ติดสี METTL3 ระหว่างกลุ่มตัวอย่างทั้ง 3 กลุ่ม

3. ความเข้มของการย้อมติดสี

ประเมินจากความเข้มของเซลล์ส่วนใหญ่ แปลผลโดยการกำหนดคะแนนระดับความเข้มสีที่พบ ดังนี้

คะแนน 0 คือ ไม่ติดสี

คะแนน 1 คือ ติดสีที่ระดับความเข้มน้อย

คะแนน 2 คือ ติดสีที่ระดับความเข้มปานกลาง

คะแนน 3 คือ ติดสีที่ระดับความเข้มรุนแรง

บันทึกผล และนำคะแนนระดับความเข้มของการติดสีของ METTL3 มาเปรียบเทียบกับระหว่างกลุ่มตัวอย่างทั้ง 3 กลุ่ม

4. คะแนนอิมมูโนรีแอคทีฟ

แปลผลเป็นคะแนนอิมมูโนรีแอคทีฟ คะแนน 0 – 12 โดยคิดเป็น 2 ส่วน

4.1 ค่า A คือ ร้อยละของจำนวนเซลล์ที่ติดสี คะแนน 0 – 4

คะแนน 0 คือ ไม่มีเซลล์ที่ติดสี

คะแนน 1 คือ มีจำนวนเซลล์ติดสีน้อยกว่าร้อยละ 10

คะแนน 2 คือ มีจำนวนเซลล์ติดสีร้อยละ 10 – 50

คะแนน 3 คือ มีจำนวนเซลล์ติดสีมากกว่าร้อยละ 50 – 80

คะแนน 4 คือ มีจำนวนเซลล์ติดสีมากกว่าร้อยละ 80

4.2 ค่า B คือ ระดับความเข้มของการติดสี คะแนน 0 – 3

คะแนน 0 คือ ไม่มีการติดสี

คะแนน 1 คือ มีระดับการติดสีจาง

คะแนน 2 คือ มีระดับการติดสีปานกลาง

คะแนน 3 คือ มีระดับการติดสีเข้ม

โดยคะแนนอิมมูโนรีแอคทีฟ คำนวณมาจาก $A \times B$ และแปลผลได้ดังนี้

คะแนน 0 – 1 แปลผลเป็นลบ (negative)

คะแนน 2 – 3 แปลผลเป็นบวกน้อย (mild)

คะแนน 4 – 8 แปลผลเป็นบวกปานกลาง (moderate)

คะแนน 9 – 12 แปลผลเป็นบวกมาก (strongly positive)

การเก็บข้อมูล และแปลผลจะทำโดยผู้ทำวิจัยที่ได้รับการฝึกการอ่านผลทางจุลพยาธิวิทยาจำนวน 1 คน ซึ่งผ่านการทดสอบค่าความเชื่อมั่นระหว่างผู้วิจัยกับทันตแพทย์เฉพาะทางด้านทันตพยาธิวิทยา โดยคำนวณจากค่าสัมประสิทธิ์สหพันธ์ภายในชั้น (Intra-class correlation: ICC) กรณีเป็นข้อมูลชนิดต่อเนื่อง คือ ร้อยละของเซลล์ที่ย้อมติดสี และค่าสัมประสิทธิ์โคเฮนแคปปา (Cohen's Kappa) กรณีเป็นข้อมูลชนิดไม่ต่อเนื่อง คือ ความเข้มของการติดสี และ คะแนนอิมมูโนรีแอคทีฟ

4. การวิเคราะห์ข้อมูลสถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

แบ่งเป็น 2 ส่วน

1. วิเคราะห์เชิงคุณภาพโดยใช้สถิติเชิงพรรณนา (descriptive statistic)

1.1 อธิบายรูปแบบการย้อมติดสีของ METTL3 ในชิ้นเนื้อจากกลุ่มตัวอย่างทั้ง 3 กลุ่ม

2. วิเคราะห์เชิงปริมาณ

ใช้โปรแกรม GraphPad prism เวอร์ชัน 10 มาคำนวณ โดยใช้ระดับความเชื่อมั่นที่ $P < 0.05$

2.1 ข้อมูลทั่วไปของประชากรที่ศึกษา ใช้สถิติ Chi-square test ในการเปรียบเทียบความแตกต่างของเพศ ตำแหน่งรอยโรค ขนาดรอยโรค และอาการแสดงของรอยโรค ส่วนข้อมูลอายุของประชากร นำไปตรวจสอบหาการแจกแจงข้อมูลว่ามีการแจกแจงข้อมูลแบบปกติหรือไม่ โดยใช้ Shapiro-Wilk test หากมีการแจกแจงแบบปกตินำมาวิเคราะห์โดยใช้สถิติ One way ANOVA แต่หากมีการแจกแจงแบบไม่ปกตินำมาวิเคราะห์โดยใช้ สถิติ Kruskal-Wallis test สำหรับเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลประชากร ระหว่างกลุ่มตัวอย่างทั้ง 3 กลุ่ม และใช้สถิติ Dunn's multiple comparison test เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่าง 2 กลุ่มในกรณีที่ใช้ Kruskal-Wallis test และใช้ Tukey's multiple comparisons test ในกรณีที่ใช้ One way ANOVA

2.2 จำนวนเซลล์ที่ย้อมติด METTL3 ในเนื้อเยื่อของกลุ่มตัวอย่างทั้ง 3 กลุ่ม แสดงข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ย (mean) เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของการแสดงออกของ METTL3 ระหว่างกลุ่มตัวอย่างทั้ง 3 กลุ่ม นำข้อมูลไปตรวจสอบหาการแจกแจงข้อมูล โดยใช้ Shapiro-Wilk test ว่ามีการแจกแจงแบบปกติหรือไม่ ถ้าข้อมูลมีการแจกแจงแบบปกติ นำมาวิเคราะห์ความแตกต่างของจำนวนเซลล์ที่ย้อมติดสี METTL3 ระหว่างกลุ่มตัวอย่างทั้ง 3 กลุ่ม โดยใช้สถิติ One way ANOVA แต่หากข้อมูลมีการแจกแจงแบบไม่ปกติ นำมาวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้ Kruskal-Wallis test

ในส่วนของคะแนนร้อยละจำนวนเซลล์ที่ย้อมติดสี METTL3 ในกลุ่มตัวอย่างทั้ง 3 กลุ่ม แสดงข้อมูลเป็นร้อยละและความถี่ นำข้อมูลมาวิเคราะห์ความแตกต่างของคะแนนร้อยละจำนวนเซลล์ที่ย้อมติดสีระหว่างกลุ่มตัวอย่างทั้ง 3 กลุ่ม ลักษณะข้อมูลที่ได้เป็น มาตราอันดับ (ordinal scale) จึงใช้สถิติ Kruskal-Wallis test

2.3 ความเข้มของการย้อมติดสี METTL3 ในเนื้อเยื่อของกลุ่มตัวอย่างทั้ง 3 กลุ่ม แสดงข้อมูลเป็นร้อยละและความถี่ นำข้อมูลมาวิเคราะห์ความแตกต่างของความเข้มในการย้อมติดสี METTL3 ระหว่างกลุ่มตัวอย่างทั้ง 3 กลุ่ม ลักษณะข้อมูลที่ได้เป็นมาตราบอันดับ จึงใช้สถิติ Kruskal-Wallis test

2.4 ค่าคะแนนอิมมูโนรีแอคทีฟของ METTL3 ในเนื้อเยื่อของกลุ่มตัวอย่างทั้ง 3 กลุ่ม แสดงข้อมูลเป็นร้อยละและความถี่ นำข้อมูลมาวิเคราะห์ความแตกต่างของคะแนนอิมมูโนรีแอคทีฟของ METTL3 ระหว่างกลุ่มตัวอย่างทั้ง 3 กลุ่ม ลักษณะข้อมูลที่ได้เป็นมาตราบอันดับ จึงใช้สถิติ Kruskal-Wallis test



บทที่ 4
ผลการดำเนินงานวิจัย

ข้อมูลทั่วไปของประชากรที่ศึกษา

การศึกษาในครั้งนี้ประกอบด้วยชิ้นเนื้อทั้งหมด 72 ตัวอย่าง โดยแบ่งเป็นชิ้นเนื้อถุงหุ้มหน่อพันธุ์จำนวน 7 ตัวอย่าง ชิ้นเนื้อถุงน้ำเดนต์เจอร์สจำนวน 30 ตัวอย่าง ชิ้นเนื้ออะมีโลบลาสโตมาจำนวน 35 ตัวอย่าง จากผลการศึกษาพบว่าในทุกกลุ่มตัวอย่างพบสัดส่วนประชากรเพศชายมากกว่าเพศหญิง และพบอายุเฉลี่ยของประชากรในกลุ่มถุงน้ำเดนต์เจอร์สมากที่สุดโดยอายุเฉลี่ยเท่ากับ 39.40 ± 18.02 ปี รองลงมาได้แก่อะมีโลบลาสโตมาโดยอายุเฉลี่ยเท่ากับ 34.66 ± 15.56 ปี และถุงหุ้มหน่อพันธุ์อายุเฉลี่ยเท่ากับ 18.14 ± 3.52 ปี โดยเพศและอายุเฉลี่ยของแต่ละกลุ่มตัวอย่างพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) สำหรับตำแหน่งของรอยโรคของทั้งสามกลุ่มตัวอย่างมักพบที่ขากรรไกรล่างเป็นส่วนใหญ่ และตำแหน่งของทั้งสามกลุ่มตัวอย่างพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) รอยโรคถุงน้ำเดนต์เจอร์สส่วนใหญ่พบขนาดน้อยกว่า หรือเท่ากับ 2 เซนติเมตร ในขณะที่รอยโรคอะมีโลบลาสโตมาส่วนใหญ่มีขนาดมากกว่า 2 เซนติเมตร สำหรับอาการ และอาการแสดงที่พบในกลุ่มตัวอย่างได้แก่อาการเจ็บปวด และอาการบวม ในกลุ่มถุงน้ำเดนต์เจอร์สพบว่ากลุ่มตัวอย่างส่วนใหญ่ไม่มีอาการเจ็บปวด และบวม ส่วนกลุ่มอะมีโลบลาสโตมาพบว่ากลุ่มตัวอย่างส่วนใหญ่ไม่มีอาการเจ็บปวดเช่นกัน แต่มีอาการบวม ซึ่งขนาดของรอยโรค และอาการบวมของรอยโรคของทั้งสองกลุ่มตัวอย่างพบว่ามี ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$) ในขณะที่อาการเจ็บปวดของทั้งสองกลุ่มตัวอย่างไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 1

ตาราง 1 แสดงข้อมูลทั่วไปของประชากรศึกษา

ข้อมูล	ถุงหุ้ม หน่อพันธุ์ (n = 7)	ถุงน้ำเดนต์- เจอร์ส (n = 30)	อะมีโล- บลาสโตมา (n = 35)	p-value
เพศ (คน, ร้อยละ)				
เพศชาย	5 (71.43)	23 (76.67)	20 (57.14)	0.170 ^{abc}
เพศหญิง	2 (28.57)	7 (23.33)	15 (42.86)	

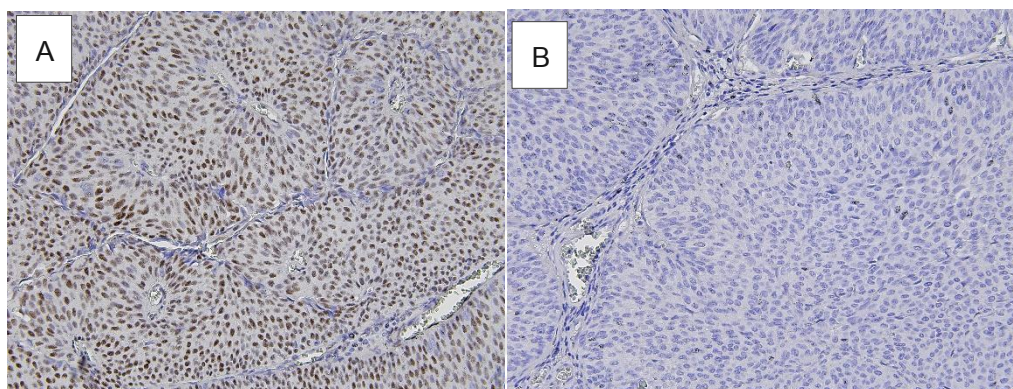
ตาราง 1 (ต่อ)

ข้อมูล	ถุงหุ้ม หน่อพันธุ์ (n = 7)	ถุงน้ำเดินติ- เจอร์ส (n = 30)	อะมีโล- บลาสโตมา (n = 35)	p-value
อายุ (ปี)				
ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	18.14 $\pm$ 3.52	39.40 $\pm$ 18.02	34.66 $\pm$ 15.56	0.168 ^{abc}
ค่าต่ำสุด - ค่าสูงสุด	13 - 23	15 - 77	12 - 68	
ตำแหน่งของรอยโรค (คน, ร้อยละ)				
ชากรรไกรบน	1 (14.29)	5 (16.67)	3 (8.57)	0.440 ^{abc}
ชากรรไกรล่าง	6 (85.71)	25 (83.33)	32 (91.43)	
ขนาดรอยโรค (คน, ร้อยละ)				
น้อยกว่า หรือเท่ากับ 2 เซนติเมตร	N/A	23 (76.67)	12 (34.29)	<0.001 ^{bc}
มากกว่า 2 เซนติเมตร	N/A	7 (23.33)	23 (65.71)	
ความเจ็บปวด (คน, ร้อยละ)				
ไม่มีอาการเจ็บปวด	N/A	19 (63.33)	27 (77.14)	0.775 ^{bc}
มีอาการเจ็บปวด	N/A	11 (36.67)	8 (22.86)	
อาการบวม (คน, ร้อยละ)				
ไม่มีอาการบวม	N/A	21 (70)	0 (0)	<0.001 ^{bc}
มีอาการบวม	N/A	9 (30)	35 (100)	

^a แทนถุงหุ้มหน่อพันธุ์, ^b แทนถุงน้ำเดินติเจอร์ส, ^c แทนอะมีโลบลาสโตมา, ^{a,b,c} แสดงผลของการทดสอบสมมติฐานทางสถิติระหว่าง 2 กลุ่มหรือมากกว่า 2 กลุ่ม โดยผลของการทดสอบสมมติฐานมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อมีค่าน้อยกว่า 0.05, N/A หมายถึงไม่เกี่ยวข้อง

การแสดงออกของ METTL3 ในชิ้นเนื้ออุ้งหุ้มหน่อพันธุ์ ถุ่นน้ำเดนติเจอร์ส และ อะมีโลบลาสโตมา

การศึกษานี้ใช้เนื้อเยื่อมะเร็งกระดูกเป็นตัวอย่างควบคุมผลบวก โดยพบการแสดงออกของ METTL3 ในเนื้อเยื่อมะเร็งกระดูกมีลักษณะการติดสีเข้ม และติดสีกระจายทั่วไปในนิวเคลียส (ภาพประกอบ 3A) และทำการย้อมเนื้อเยื่อมะเร็งกระดูกที่ไม่ใช่แอนติบอดีต่อ METTL3 เพื่อเป็นตัวอย่างควบคุมผลลบ (ภาพประกอบ 3B)

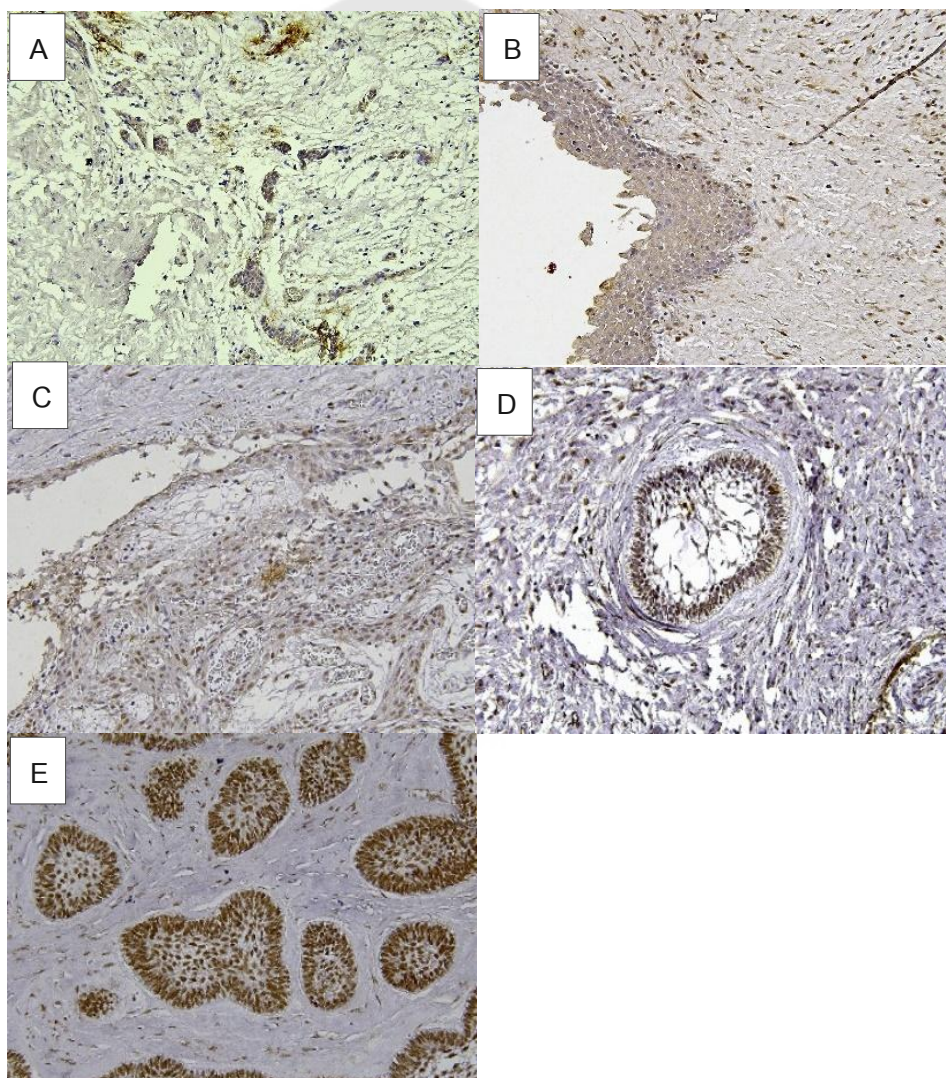


ภาพประกอบ 3 การแสดงออกของ METTL3 ในชิ้นเนื้อมะเร็งกระดูก

ภาพ A แสดงชิ้นเนื้อมะเร็งกระดูก ที่ย้อมด้วยแอนติบอดีต่อ METTL3, ภาพ B แสดงชิ้นเนื้อมะเร็งกระดูกที่ไม่ใช่แอนติบอดีต่อ METTL3 (ภาพ A,B กำลังขยาย 200 เท่า)

สำหรับผลการศึกษาในกลุ่มตัวอย่างทั้งสามกลุ่ม ชิ้นเนื้ออุ้งหุ้มหน่อพันธุ์ส่วนใหญ่ไม่พบการแสดงออกของ METTL3 ในนิวเคลียสของเซลล์ ส่วนชิ้นเนื้ออุ้งหุ้มหน่อพันธุ์ที่มีการแสดงออกของ METTL3 มีค่าเฉลี่ยร้อยละของเซลล์ที่ย้อมติดสีเพียง 9.6 ± 13.1 และมีระดับความเข้มการติดสีจาง (ภาพประกอบ 4A) ในขณะที่ชิ้นเนื้ออุ้งน้ำเดนติเจอร์ส และอะมีโลบลาสโตมามีร้อยละของเซลล์ที่ย้อมติดสี และระดับความเข้มของการติดสีสูงขึ้น อีกทั้งพบการแสดงออกของ METTL3 ในทุกตัวอย่าง โดยรูปแบบการแสดงออกของ METTL3 ในอุ้งน้ำเดนติเจอร์สส่วนมากติดสีในนิวเคลียสของชั้นเยื่อบุผิว และมีระดับการติดสีปานกลาง (ภาพประกอบ 4B) ส่วนรูปแบบการแสดงออกของ METTL3 ในอะมีโลบลาสโตมาพบการแสดงออกของ METTL3 ที่เพิ่มมากขึ้นในอะมีโลบลาสโตมาที่มีความรุนแรงมากขึ้น ดังนั้น อะมีโลบลาสโตมาชนิดอุ้งน้ำเดี่ยวที่มีลักษณะทาง

พยาธิวิทยาเป็นลุ่มนั้ด และอินทราลุ่มนั้ดพบการติดสีส่วนใหญ่บริเวณนิวเคลียสของเซลล์ในชั้นเยื่อบุผิว โดยชั้นเนื้อส่วนใหญ่มีการติดสีในระดับปานกลาง (ภาพประกอบ 4C) อะมีโลบลาสโตมาชนิดถุงน้ำเดี่ยวที่มีลักษณะทางพยาธิวิทยาเป็นมูรัลพบการติดสีส่วนใหญ่บริเวณนิวเคลียสของเซลล์ในชั้นเยื่อบุผิวเช่นกัน แต่ชั้นเนื้อส่วนใหญ่มีการติดสีในระดับความเข้มรุนแรง (ภาพประกอบ 4D) และอะมีโลบลาสโตมาชนิดหลายถุงน้ำพบว่าชั้นเนื้อส่วนใหญ่มีการติดสีในระดับความเข้มรุนแรง และติดสีบริเวณนิวเคลียสเกือบทุกเซลล์ของเซลล์เยื่อบุผิว รวมถึงติดสีในเซลล์ที่มีรูปร่างเหมือนดาวอีกด้วย (stellate reticulum-like cells) โดยการติดสีในเซลล์ที่มีรูปร่างเหมือนดาวนี้มีการติดสีในระดับความเข้มใกล้เคียงกับเซลล์เยื่อบุผิว (ภาพประกอบ 4E)



ภาพประกอบ 4 การแสดงออกของ METTL3 ในชั้นเนื้อถุงหุ้มหน่อฟัน
ถุงน้ำเดนติเจอร์รัล และอะมีโลบลาสโตมา

ภาพ A แสดงชิ้นเนื้ออุ้งหุ้มหน่อพันที่ย้อมด้วยแอนติบอดีต่อ METTL3, ภาพ B แสดงชิ้นเนื้ออุ้งน้ำเดนติเจอร์สที่ย้อมด้วยแอนติบอดีต่อ METTL3, ภาพ C D E แสดงชิ้นเนื้ออะมีโลบลาสโตมาชนิดต่างๆ ดังนี้ ภาพ C แสดงชิ้นเนื้ออะมีโลบลาสโตมาชนิดอุ้งน้ำเดี่ยวที่มีลักษณะทางพยาธิวิทยาเป็นอินทราลูมินัล ที่ย้อมด้วยแอนติบอดีต่อ METTL3 ภาพ D แสดงชิ้นเนื้ออะมีโลบลาสโตมาชนิดอุ้งน้ำเดี่ยวที่มีลักษณะทางพยาธิวิทยาเป็นมูร์ล ที่ย้อมด้วยแอนติบอดีต่อ METTL3 และภาพ E แสดงชิ้นเนื้ออะมีโลบลาสโตมาชนิดหลายอุ้งน้ำที่ย้อมด้วยแอนติบอดีต่อ METTL3 (ภาพ A,B,C,D,E กำลังขยาย 200 เท่า)

ร้อยละการติดสี คะแนนร้อยละของการติดสี คะแนนความเข้มของการย้อมติดสี และคะแนนอิมมูโนรีแอคทีฟของการแสดงออกของ METTL3 ในชิ้นเนื้ออุ้งหุ้มหน่อพันอุ้งน้ำเดนติเจอร์ส และอะมีโลบลาสโตมา

สำหรับร้อยละการติดสี กลุ่มชิ้นเนื้ออะมีโลบลาสโตมามีค่าเฉลี่ยร้อยละของเซลล์ที่ย้อมติดสีสูงที่สุด รองลงมาคือกลุ่มชิ้นเนื้ออุ้งน้ำเดนติเจอร์ส และอุ้งหุ้มหน่อพันตามลำดับ ซึ่งคะแนนร้อยละของเซลล์ที่ย้อมติดสีในกลุ่มรอยโรคทั้งสามกลุ่มมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มตัวอย่างพบว่าอะมีโลบลาสโตมา และอุ้งน้ำเดนติเจอร์สมีคะแนนร้อยละของเซลล์ที่ย้อมติดสีสูงกว่าอุ้งหุ้มหน่อพันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$ และ $p < 0.05$ ตามลำดับ) อีกทั้งอะมีโลบลาสโตมามีคะแนนร้อยละของเซลล์ที่ย้อมติดสีสูงกว่าอุ้งน้ำเดนติเจอร์สอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติด้วย ($p < 0.01$) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการแสดงออกของ METTL3 มากขึ้นในรอยโรคที่มีความรุนแรงมากขึ้นดังแสดงในตารางที่ 2

ส่วนคะแนนความเข้มของการย้อมติดสี ชิ้นเนื้ออะมีโลบลาสโตมาส่วนใหญ่มีคะแนนความเข้มของการย้อมติดสีอยู่ที่สองคะแนน และสามคะแนนตามลำดับ ซึ่งแปลผลได้ว่ามีระดับการติดสีปานกลาง และติดสีเข้ม ส่วนชิ้นเนื้ออุ้งน้ำเดนติเจอร์สส่วนใหญ่มีคะแนนความเข้มของการย้อมติดสีอยู่ที่สองคะแนน แปลผลได้ว่ามีระดับการติดสีปานกลาง ในขณะที่ชิ้นเนื้ออุ้งหุ้มหน่อพันส่วนใหญ่ไม่มีการติดสีของ METTL3 ส่วนชิ้นเนื้ออุ้งหุ้มหน่อพันที่ติดสีมีคะแนนความเข้มเท่ากับหนึ่งคะแนนเท่านั้น ซึ่งคะแนนความเข้มของการย้อมติดสีของทั้งสามกลุ่มมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) ดังแสดงในตารางที่ 2

จากผลการศึกษาคะแนนอิมมูโนรีแอคทีฟของ METTL3 ในชิ้นเนื้ออุ้งหุ้มหน่อพันอุ้งน้ำเดนติเจอร์ส และอะมีโลบลาสโตมา พบว่าอุ้งหุ้มหน่อพันส่วนมากมีคะแนนอยู่ในช่วง 0 – 1 ซึ่งแปลผลเป็นลบ ในขณะที่อุ้งน้ำเดนติเจอร์ส และอะมีโลบลาสโตมามีคะแนนส่วนมากอยู่ในช่วง 4 – 8 แปลผลได้เป็นบวกปานกลาง ซึ่งค่าเฉลี่ยคะแนนอิมมูโนรีแอคทีฟของการแสดงออกของ

METTL3 ในกลุ่มตัวอย่างทั้งสามกลุ่มมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$)
 ดังแสดงในตารางที่ 2

ตาราง 2 ข้อมูลร้อยละของเซลล์ที่ย้อมติดสี คะแนนร้อยละของเซลล์ที่ย้อมติดสี ความเข้มของการ
 ย้อมติดสี และคะแนนอิมมูโนรีแอคทีฟในกลุ่มถุงหุ้มหน่อพื้น ถุงน้ำเดนต์เจอร์รัส และ
 อะมีโลบลาสโตมา

	ถุงหุ้ม หน่อพื้น ^a (n = 7)	ถุงน้ำ เดนต์เจอร์รัส ^b (n = 30)	อะมีโล- บลาสโตมา ^c (n = 35)	p-value
การติดสีของ METTL3				
ชิ้นเนื้อที่ย้อมติดสี METTL3	3 (42.8)	30 (100)	35 (100)	N/A
ชิ้นเนื้อที่ไม่ติดสี METTL3	4 (57.2)	0 (0)	0 (0)	N/A
ค่าเฉลี่ยร้อยละของเซลล์ที่ย้อมติดสี ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	9.6 ± 13.1	44.3 ± 16.5	74.0 ± 23.5	< 0.01 ^{abc,ac,bc} < 0.05 ^{ab}
คะแนนร้อยละของเซลล์ที่ย้อมติดสี (ค่า A) (คน, ร้อยละ)				
คะแนน 0 (negative)	4 (57.2)	0 (0)	0 (0)	< 0.01 ^{abc}
คะแนน 1 (< 10%)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
คะแนน 2 (10% - 50%)	3 (42.8)	19 (63.3)	5 (14.3)	
คะแนน 3 (>50% - 80%)	0 (0)	10 (33.3)	11 (31.4)	
คะแนน 4 (>80%)5	0 (0)	1 (0.4)	19 (54.3)	
คะแนนความเข้มของการย้อมติดสี (ค่า B) (คน, ร้อยละ)				
คะแนน 0	4 (57.2)	0 (0)	0 (0)	< 0.01 ^{abc}
คะแนน 1	3 (42.8)	9 (30)	3 (8.6)	
คะแนน 2	0 (0)	18 (60)	17 (48.6)	
คะแนน 3	0 (0)	3 (10)	15 (42.8)	

ตาราง 2 (ต่อ)

	ถุงหุ้ม หน่อพันธุ์ ^a (n = 7)	ถุงน้ำ เดนติเจอร์ส ^b (n = 30)	อะมีโล- บลาสโตมา ^c (n = 35)	p-value
คะแนนอิมมูโนรีแอคทีฟ (ค่า AxB) (คน, ร้อยละ)				
0 – 1 (แปลผลเป็นลบ)	4 (57.2)	0 (0)	0 (0)	< 0.01 ^{abc}
2 – 3 (แปลผลเป็นบวกน้อย)	3 (42.8)	9 (30)	3 (8.6)	
4 – 8 (แปลผลเป็นบวกปานกลาง)	0 (0)	18 (60)	18 (51.4)	
9 – 12 (แปลผลเป็นบวกมาก)	0 (0)	3 (10)	14 (40)	

^a แทนถุงหุ้มหน่อพันธุ์, ^b แทนถุงน้ำเดนติเจอร์ส, ^c แทนอะมีโลบลาสโตมา, ^{a,b,c} แสดงผลของการทดสอบสมมติฐานทางสถิติระหว่าง 2 กลุ่มหรือมากกว่า 2 กลุ่ม โดยผลของการทดสอบสมมติฐานมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อมีค่าน้อยกว่า 0.05, N/A หมายถึงไม่เกี่ยวข้อง

ร้อยละการติดสี คะแนนร้อยละของการติดสี คะแนนความเข้มของการย้อมติดสี และคะแนนอิมมูโนรีแอคทีฟของการแสดงออกของ METTL3 ในชิ้นเนื้ออะมีโลบลาสโตมาแต่ละชนิด

เมื่อเปรียบเทียบรอยโรคอะมีโลบลาสโตมาแต่ละชนิดพบว่าชิ้นเนื้ออะมีโลบลาสโตมาชนิดหลายถุงน้ำมีค่าเฉลี่ยร้อยละของเซลล์ที่ย้อมติดสีสูงกว่าอะมีโลบลาสโตมาชนิดถุงน้ำเดียวที่มีลักษณะทางพยาธิวิทยาเป็นมูร์ล และอะมีโลบลาสโตมาชนิดถุงน้ำเดียวที่มีลักษณะทางพยาธิวิทยาเป็นลูมินัล และอินทราลูมินัล ตามลำดับ โดยค่าเฉลี่ยร้อยละของเซลล์ที่ย้อมติดสีในทั้งสามกลุ่มมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) และนอกจากนี้ยังพบว่าค่าเฉลี่ยร้อยละของเซลล์ที่ย้อมติดสีในเนื้ออะมีโลบลาสโตมาชนิดหลายถุงน้ำสูงกว่าอะมีโลบลาสโตมาชนิดถุงน้ำเดียวที่มีลักษณะทางพยาธิวิทยาเป็นลูมินัล และอินทราลูมินัลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) อีกด้วยดังแสดงในตารางที่ 3

สำหรับความเข้มของการย้อมติดสีพบว่าชิ้นเนื้ออะมีโลบลาสโตมาชนิดหลายถุงน้ำมีความเข้มในการย้อมติดสีมากที่สุด โดยชิ้นเนื้อส่วนใหญ่ในกลุ่มนี้มีความเข้มอยู่ที่สามคะแนนซึ่งแปลผลได้ว่าติดสีเข้ม เช่นเดียวกับชิ้นเนื้ออะมีโลบลาสโตมาชนิดถุงน้ำเดียวที่มีลักษณะทางพยาธิวิทยาเป็นมูร์ลที่ชิ้นเนื้อส่วนใหญ่มีคะแนนความเข้มอยู่ที่ระดับสามเช่นกัน ในขณะที่ชิ้นเนื้ออะมีโลบลาสโตมาชนิดถุงน้ำเดียวที่มีลักษณะทางพยาธิวิทยาเป็นลูมินัล และอินทราลูมินัล ชิ้นเนื้อ

ส่วนใหญ่มีคะแนนความเข้มอยู่ที่สองคะแนน แปลผลได้เป็นติดสีปานกลาง ซึ่งคะแนนร้อยละของเซลล์ที่ย้อมติดสี และคะแนนความเข้มของการย้อมติดสีในกลุ่มรอยโรคอะมีโลบลาสโตมาทั้งสามกลุ่มมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 3

เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบคะแนนอิมมูโนรีแอคทีฟของ METTL3 ในชั้นเนื้ออะมีโลบลาสโตมาแต่ละชนิด พบว่าอะมีโลบลาสโตมาชนิดถุงน้ำเดี่ยวที่มีลักษณะทางพยาธิวิทยาเป็นลูมินัล และอินทราลูมินัลมีคะแนนส่วนมากอยู่ที่ 4 – 8 แปลผลเป็นบวกปานกลาง ส่วนอะมีโลบลาสโตมาชนิดถุงน้ำเดี่ยวที่มีลักษณะทางพยาธิวิทยาเป็นมูรัล มีชั้นเนื้อร้อยละ 44.4 มีคะแนนอยู่ที่ 4 – 8 แปลผลเป็นบวกปานกลาง และร้อยละ 44.4 มีคะแนนอยู่ที่ 9 – 12 แปลผลเป็นบวกมาก ในขณะที่อะมีโลบลาสโตมาชนิดหลายถุงน้ำมีคะแนนส่วนมากอยู่ที่ 9 – 12 ซึ่งค่าเฉลี่ยคะแนนอิมมูโนรีแอคทีฟของการแสดงออกของ METTL3 ในกลุ่มตัวอย่างทั้งสามกลุ่มมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 3

ตาราง 3 ข้อมูลร้อยละของเซลล์ที่ย้อมติดสี คะแนนร้อยละของเซลล์ที่ย้อมติดสี ความเข้มของการย้อมติดสี และคะแนนอิมมูโนรีแอคทีฟในกลุ่มอะมีโลบลาสโตมาชนิดถุงน้ำเดี่ยว ที่มีลักษณะทางพยาธิวิทยาเป็นลูมินัล และอินทราลูมินัล อะมีโลบลาสโตมาชนิดถุงน้ำเดี่ยว ที่มีลักษณะทางพยาธิวิทยาเป็นมูรัล และอะมีโลบลาสโตมาชนิดหลายถุงน้ำ

	Luminal/ Intraluminal UA ^a (n = 11)	Mural UA ^b (n = 9)	Conventional AME ^c (n = 15)	p-value
การติดสีของ METTL3				
ชั้นเนื้อที่ย้อมติดสี METTL3	11 (100)	9 (100)	15 (100)	N/A
ชั้นเนื้อที่ไม่ติดสี METTL3	0 (0)	0 (0)	0 (0)	N/A
ค่าเฉลี่ยร้อยละของเซลล์ที่ย้อม ติดสี ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	57.6 ± 23.4	68.7 ± 26.0	89.1 ± 9.5	< 0.01 ^{abc,ac}

ตาราง 3 (ต่อ)

	Luminal/ Intraluminal UA ^a (n = 11)	Mural UA ^b (n = 9)	Conventional AME ^c (n = 15)	p-value
คะแนนร้อยละของเซลล์ที่ย้อม				
ติดสี (ค่า A) (คน, ร้อยละ)				
คะแนน 0 (negative)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	< 0.01 ^{abc}
คะแนน 1 (< 10%)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
คะแนน 2 (10% - 50%)	3 (27.3)	2 (22.2)	0 (0)	
คะแนน 3 (>50% - 80%)	6 (54.5)	3 (33.3)	2 (13.3)	
คะแนน 4 (>80%)	2 (18.2)	4 (44.5)	13 (86.7)	
คะแนนความเข้มของการย้อมติด				
สี (ค่า B) (คน, ร้อยละ)				
คะแนน 0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	< 0.05 ^{abc}
คะแนน 1	2 (18.2)	1 (11.1)	0 (0)	
คะแนน 2	8 (72.7)	3 (33.3)	6 (40)	
คะแนน 3	1 (9.1)	5 (55.6)	9 (60)	
คะแนนอิมมูโนรีแอคทีฟ				
(ค่า AxB) (คน, ร้อยละ)				
0 – 1 (แปลผลเป็นลบ)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	< 0.05 ^{abc}
2 – 3 (แปลผลเป็นบวกน้อย)	2 (18.2)	1 (11.2)	0 (0)	
4 – 8 (แปลผลเป็นบวกปานกลาง)	8 (72.7)	4 (44.4)	6 (40)	
9 – 12 (แปลผลเป็นบวกมาก)	1 (9.1)	4 (44.4)	9 (60)	

^a แทน Luminal/Intraluminal UA หมายถึงกลุ่มอะมีโลบลาสโตมาชนิดถุงน้ำเดี่ยวที่มีลักษณะทางพยาธิวิทยาเป็นลูมินัล และอินทราลูมินัล, ^b แทน Mural UA หมายถึงกลุ่มอะมีโลบลาสโตมาชนิดถุงน้ำเดี่ยวที่มีลักษณะทางพยาธิวิทยาเป็นมูรัล, ^c แทน Conventional AM หมายถึงกลุ่มอะมีโลบลาสโตมาชนิดหลายถุงน้ำ, ^{a,b,c} แสดงผลของการทดสอบสมมติฐานทางสถิติ

ระหว่าง 2 กลุ่มหรือมากกว่า 2 กลุ่ม โดยผลของการทดสอบสมมติฐานมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อมีค่าน้อยกว่า 0.05, N/A หมายถึงไม่เกี่ยวข้อง

ความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะทางคลินิกของรอยโรค และการแสดงออกของ METTL3 ในถุงน้ำเดนติเจอร์ส และอะมีโลบลาสโตมา

การศึกษานี้ทำการแบ่งกลุ่มคะแนนอิมมูโนรีแอคทีฟออกเป็น 2 กลุ่ม โดยกำหนดให้กลุ่มที่มีคะแนนน้อยกว่า หรือเท่ากับ 6 คะแนน เป็นกลุ่มที่มีคะแนนอิมมูโนรีแอคทีฟต่ำ และกลุ่มที่มีคะแนนมากกว่า 6 คะแนน เป็นกลุ่มที่มีคะแนนอิมมูโนรีแอคทีฟสูง จากนั้นนำมาหาความสัมพันธ์กับลักษณะทางคลินิก ได้แก่ เพศ อายุ ตำแหน่งของรอยโรค อาการบวม อาการเจ็บปวด ขนาดของรอยโรค และชนิดของรอยโรคในกลุ่มตัวอย่าง 2 กลุ่ม ได้แก่กลุ่มถุงน้ำเดนติเจอร์ส และอะมีโลบลาสโตมา ผลการศึกษาพบว่าไม่มีความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะทางคลินิก และการแสดงออกของ METTL3 ในกลุ่มถุงน้ำเดนติเจอร์ส ส่วนกลุ่มอะมีโลบลาสโตมามีเพียงชนิดของรอยโรคที่มีคะแนนอิมมูโนรีแอคทีฟแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยส่วนมากอะมีโลบลาสโตมาชนิดถุงน้ำเดียวมีคะแนนอิมมูโนรีแอคทีฟต่ำ คิดเป็นร้อยละ 37.1 ในขณะที่อะมีโลบลาสโตมาชนิดหลายถุงน้ำมีคะแนนอิมมูโนรีแอคทีฟสูง คิดเป็นร้อยละ 40 ดังแสดงในตารางที่ 4

เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะทางคลินิก ได้แก่ เพศ อายุ ตำแหน่งของรอยโรค อาการบวม อาการเจ็บปวด ขนาดของรอยโรค และลักษณะทางพยาธิวิทยากับการแสดงออกของ METTL3 ในอะมีโลบลาสโตมาชนิดถุงน้ำเดียว และอะมีโลบลาสโตมาชนิดหลายถุงน้ำพบว่าไม่มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 5

ตาราง 4 ความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะทางคลินิกของรอยโรค และการแสดงออกของ METTL3 ในถุงน้ำเดนติเจอร์ส และอะมีโลบลาสโตมา

ลักษณะทางคลินิก	การแสดงออกของ METTL 3 : คะแนนอิมมูโนรีแอคทีฟ					
	ถุงน้ำเดนติเจอร์ส (n = 30)			อะมีโลบลาสโตมา (n = 35)		
	≤ 6	> 6	P-value	≤ 6	> 6	P-value
เพศ						
เพศชาย	21 (70)	2 (6.7)	0.07	6 (17.1)	14 (40)	0.18
เพศหญิง	4 (13.3)	3 (10)		8 (22.9)	7 (20)	

ตาราง 4 (ต่อ)

ลักษณะทางคลินิก	การแสดงผลของ METTL 3 : คะแนนภูมิโนรีแอคทีฟ					
	ถุงน้ำเดนต์เจอร์รัส (n = 30)			อะมีโลบลาสโตมา (n = 35)		
	≤ 6	> 6	P-value	≤ 6	> 6	P-value
อายุ (ปี)						
น้อยกว่า หรือเท่ากับ 35	14 (46.7)	2 (6.7)	1.0	9 (25.7)	12 (34.3)	0.73
มากกว่า 35	13 (43.3)	1 (3.3)		5 (14.3)	9 (25.7)	
ตำแหน่งของรอยโรค						
ชากรรไกรบน	5 (16.7)	0 (0)	1.0	2 (5.7)	1 (2.9)	0.55
ชากรรไกรล่าง	22 (73.3)	3 (10)		12 (34.3)	20 (54.1)	
อาการบวม						
ไม่มีอาการบวม	18 (60)	3 (10)	0.53	0 (0)	0 (0)	1.0
มีอาการบวม	9 (30)	0 (0)		14 (40)	21 (60)	
ความเจ็บปวด						
ไม่มีอาการเจ็บปวด	16 (53.3)	3 (10)	0.27	10 (28.6)	17 (48.6)	0.68
มีอาการเจ็บปวด	11 (36.7)	0 (0)		4 (11.4)	4 (11.4)	
ขนาดรอยโรค (เซนติเมตร)						
น้อยกว่า หรือเท่ากับ 2	20 (66.7)	3 (10)	1.0	6 (17.1)	5 (14.3)	0.28
มากกว่า 2	7 (23.3)	0 (0)		8 (22.9)	16 (45.7)	
ชนิดของรอยโรค						
อะมีโลบลาสโตมาชนิดถุงน้ำเดี่ยว	N/A	N/A	N/A	13 (37.1)	7 (20)	< 0.05
อะมีโลบลาสโตมาชนิดหลายถุงน้ำ	N/A	N/A		1 (2.9)	14 (40)	

ผลของการทดสอบสมมติฐานมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อมีค่าน้อยกว่า 0.05, N/A หมายถึง
ไม่เกี่ยวข้อง

ตาราง 5 ความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะทางคลินิกของรอยโรค และการแสดงออกของ METTL3 ในอะมีโลบลาสโตมาชนิดถุงน้ำเดี่ยว และอะมีโลบลาสโตมาชนิดหลายถุงน้ำ

ลักษณะทางคลินิก	การแสดงออกของ METTL 3 : คะแนนอิมมูโนรีแอคทีฟ					
	อะมีโลบลาสโตมาชนิดถุงน้ำเดี่ยว (n = 20)			อะมีโลบลาสโตมาชนิด หลายถุงน้ำ (n = 15)		
	≤ 6	> 6	P- value	≤ 6	> 6	P- value
เพศ						
เพศชาย	6 (30)	5 (25)	0.37	0 (0)	9 (60)	0.40
เพศหญิง	7 (35)	2 (10)		1 (6.7)	5 (33.3)	
อายุ (ปี)						
น้อยกว่า หรือเท่ากับ 35	8 (40)	6 (30)	0.35	1 (6.7)	6 (40)	0.47
มากกว่า 35	5 (25)	1 (5)		0 (0)	8 (53.3)	
ตำแหน่งของรอยโรค						
ขากรรไกรบน	2 (10)	1 (5)	1.0	0 (0)	0 (0)	1.0
ขากรรไกรล่าง	11 (55)	6 (30)		1 (6.7)	14 (93.3)	
อาการบวม						
ไม่มีอาการบวม	13 (65)	7 (35)	1.0	1 (6.7)	14 (93.3)	1.0
มีอาการบวม	0 (0)	0 (0)		0 (0)	0 (0)	
ความเจ็บปวด						
ไม่มีอาการเจ็บปวด	4 (20)	2 (10)	1.0	0 (0)	2 (13.3)	1.0
มีอาการเจ็บปวด	9 (45)	5 (25)		1 (6.7)	12 (80)	
ขนาดรอยโรค (เซนติเมตร)						
น้อยกว่า หรือเท่ากับ 2	5 (25)	2 (10)	1.0	1 (6.7)	4 (26.6)	0.33
มากกว่า 2	8 (40)	5 (25)		0 (0)	10 (66.7)	

ผลของการทดสอบสมมติฐานมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อมีค่าน้อยกว่า 0.05, N/A หมายถึงไม่เกี่ยวข้อง

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

การศึกษากาการแสดงออกของ METTL3 ในถุงหุ้มหน่อพื้น ฤงน้ำเดนติเจอรส์ และอะมีโลบลาสโตมา ผู้วิจัยได้ทำการศึกษาการแสดงออกของ METTL3 ในระดับโปรตีนด้วยวิธีอิมมูโนฮีสโตเคมี โดยศึกษาเปรียบเทียบในถุงหุ้มหน่อพื้น ฤงน้ำเดนติเจอรส์ และอะมีโลบลาสโตมา แบ่งหัวข้อการสรุปผลดังนี้

1. สรุปผลการวิจัย
2. อภิปรายผล
3. ข้อเสนอแนะ

สรุปผลการวิจัย

การศึกษานี้พบการแสดงออกในระดับโปรตีนของ METTL3 ในถุงหุ้มหน่อพื้น ฤงน้ำเดนติเจอรส์ และอะมีโลบลาสโตมา ดังนี้

ค่าเฉลี่ยร้อยละของเซลล์ที่มีการแสดงออกของ METTL3 และคะแนนร้อยละของเซลล์ที่ย้อมติดสี METTL3 พบว่าอะมีโลบลาสโตมามีค่าเฉลี่ยของเซลล์ที่มีการแสดงออกของ METTL3 มากที่สุด รองลงมาได้แก่ฤงน้ำเดนติเจอรส์ และถุงหุ้มหน่อพื้นตามลำดับ

ความเข้มของการย้อมติดสีในอะมีโลบลาสโตมา และฤงน้ำเดนติเจอรส์ส่วนใหญ่อยู่ที่ 2 คะแนน คือระดับการติดสีปานกลาง ในขณะที่ถุงหุ้มหน่อพื้นส่วนใหญ่มีคะแนนความเข้มอยู่ที่ 0 คะแนน หรือไม่ติดสี

คะแนนอิมมูโนรีแอคทีฟของ METTL3 ของอะมีโลบลาสโตมา และฤงน้ำเดนติเจอรส์ส่วนใหญ่แปลผลคะแนนอิมมูโนรีแอคทีฟได้เป็นบวกปานกลาง ในขณะที่ถุงหุ้มหน่อพื้นแปลผลเป็นลบ

คะแนนอิมมูโนรีแอคทีฟของ METTL3 ของอะมีโลบลาสโตมาชนิดหลายฤงน้ำส่วนใหญ่แปลผลได้เป็นบวกมาก ส่วนอะมีโลบลาสโตมาชนิดฤงน้ำเดียวส่วนใหญ่แปลผลได้เป็นบวกปานกลาง

ความสัมพันธ์ระหว่างคะแนนอิมมูโนรีแอคทีฟของ METTL3 กับลักษณะทางคลินิกในกลุ่มตัวอย่างทั้งสามกลุ่ม พบว่าอะมีโลบลาสโตมาชนิดฤงน้ำเดียวมีความสัมพันธ์กับ คะแนนอิมมูโนรีแอคทีฟต่ำ ในขณะที่อะมีโลบลาสโตมาชนิดหลายฤงน้ำมีความสัมพันธ์กับคะแนนอิมมูโนรีแอคทีฟสูง

จากผลการศึกษารูปได้พบว่าพบการแสดงออกของ METTL3 ในถุงหุ้มหน่อพื้น ถุงน้ำ เคนติเจอร์ส และอะมีโลบลาสโตมา โดยพบการแสดงออกของ METTL3 มากที่สุดใน อะมีโลบลาสโตมา รองลงมาคือถุงน้ำเคนติเจอร์ส และถุงหุ้มหน่อพื้นตามลำดับ อีกทั้งยังพบการ แสดงออกของ METTL3 ในอะมีโลบลาสโตมาชนิดหลายถุงน้ำมากกว่าอะมีโลบลาสโตมาชนิดถุง น้ำเดียว จึงมีความเป็นไปได้ว่า METTL3 อาจมีบทบาทในรอยโรคถุงน้ำ และเนื้องอกที่มีสาเหตุ จากเนื้อเยื่อสร้างพื้น และอาจมีบทบาทในพฤติกรรมความรุนแรงของรอยโรคอะมีโลบลาสโตมา

อภิปรายผล

กระบวนการ m6A เป็นกระบวนการเมทิลเลชั่นที่พบมากที่สุด ใน mRNA ซึ่ง METTL3 เป็นหนึ่งในเอนไซม์หลักในการควบคุมในกระบวนการดัดแปลง m6A การศึกษานี้เป็นการศึกษา แรกที่ศึกษาเปรียบเทียบการแสดงออกของ METTL3 ในถุงหุ้มหน่อพื้น ถุงน้ำเคนติเจอร์ส และ อะมีโลบลาสโตมา โดยถุงน้ำเคนติเจอร์ส และอะมีโลบลาสโตมาเป็นรอยโรคที่มีสาเหตุจากเนื้อเยื่อ สร้างพื้น ถุงน้ำเคนติเจอร์สเป็นถุงน้ำที่ไม่รุนแรง มีการพยากรณ์ของโรคที่ดี และเป็นหนึ่งในถุงน้ำที่ พบได้มากในกลุ่มถุงน้ำที่มีสาเหตุจากเนื้อเยื่อสร้างพื้น เช่นเดียวกับอะมีโลบลาสโตมาที่เป็น เนื้องอกที่พบได้มากที่สุด และเป็นรอยโรคมีความรุนแรงที่มากกว่าถุงน้ำเคนติเจอร์ส ซึ่งผล การศึกษาพบว่ารอยโรคอะมีโลบลาสโตมาพบการแสดงออกของ METTL3 มากกว่าถุงน้ำ เคนติเจอร์ส และถุงหุ้มหน่อพื้นตามลำดับ ทั้งร้อยละของเซลล์ที่มีการติดสี ความเข้มของเซลล์ที่ ติดสี รวมถึงคะแนนอิมมูโนรีแอคทีฟอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งแสดงให้เห็นว่า METTL3 อาจมี บทบาทในรอยโรคที่มีสาเหตุจากเนื้อเยื่อสร้างพื้น

ในด้านของข้อมูลทั่วไปของประชากรที่ใช้ศึกษาผลการศึกษพบว่ารอยโรคถุงน้ำ เคนติเจอร์สพบในเพศชายมากกว่าเพศหญิง คิดเป็นอัตราส่วน 3.29:1 อายุเฉลี่ยที่พบอยู่ที่ 39 ปี และรอยโรคมักพบในบริเวณขากรรไกรล่างซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Ahmed และคณะที่พบ ถุงน้ำเคนติเจอร์สในผู้ป่วยอายุเฉลี่ย 33.2 ปี รอยโรคส่วนใหญ่พบในบริเวณขากรรไกรล่าง และพบ สัดส่วนเพศชายต่อเพศหญิงเท่ากับ 4:1⁽²⁰⁾ ส่วนรอยโรคอะมีโลบลาสโตมาในการศึกษานี้พบในเพศ ชายมากกว่าเพศหญิง คิดเป็นอัตราส่วน 1.33:1 และรอยโรคมักพบในบริเวณขากรรไกรล่าง เช่นเดียวกับถุงน้ำเคนติเจอร์ส ส่วนอายุเฉลี่ยที่พบอยู่ที่ 34.66 ปี ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับ การศึกษาของ Lu และคณะ ที่พบอะมีโลบลาสโตมาส่วนใหญ่ในผู้ป่วยอายุเฉลี่ย 31 ปี รอยโรค ร้อยละ 91 พบที่ขากรรไกรล่าง และพบรอยโรคอะมีโลบลาสโตมาในเพศชายต่อเพศหญิงใน สัดส่วนเท่ากับ 1.5:1⁽⁶²⁾ อาการและอาการแสดงของรอยโรคทั้งสองชนิดในการศึกษานี้พบว่าผู้ป่วย ส่วนใหญ่ไม่มีอาการเจ็บปวด รอยโรคถุงน้ำเคนติเจอร์สผู้ป่วยมักไม่มีอาการบวม ในขณะที่

รอยโรคอะมีโลบลาสโตมาผู้ป่วยทุกรายมีอาการบวม ซึ่งผลการศึกษาสอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมาที่พบว่าถุงน้ำเดนติเจอร์สผู้ป่วยมักมีอาการใดๆ ในขณะที่อะมีโลบลาสโตมาผู้ป่วยมักมีอาการบวม แต่ไม่เจ็บปวด^(3, 63)

มีการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่าการแสดงออกของ METTL3 ในมะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมาสูงกว่าเนื้อเยื่อปกติที่อยู่ข้างเคียง อีกทั้งการแสดงออกของ METTL3 ที่สูงขึ้นมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับระยะของมะเร็งชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมาที่สูงขึ้นอีกด้วย ได้แก่ มะเร็งชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมาที่มีขนาดของมะเร็งและระยะแพร่กระจายไปยังเนื้อเยื่อข้างเคียงที่ระยะ 3 และ 4 (T3 และ T4) มีการแสดงออกของ METTL3 สูงกว่าระยะ 1 และ 2 (T1 และ T2) อีกทั้งขึ้นเนื้อมะเร็งชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมาของผู้ป่วยที่มีการแพร่กระจายไปยังต่อมน้ำเหลืองมีการแสดงออกของ METTL3 สูงกว่าชิ้นเนื้อของผู้ป่วยที่ไม่มีการแพร่กระจายไปยังต่อมน้ำเหลือง⁽²⁵⁾ และยังพบว่าการแสดงออกของ METTL3 ในรอยโรคอะมีโลบลาสโตมาชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมามากกว่ารอยโรคก่อนเป็นมะเร็ง และเนื้อเยื่อปกติตามลำดับ⁽²⁷⁾ ซึ่งผลในการศึกษานี้พบว่าร้อยละของเซลล์ที่ย้อมติดสี และความเข้มของการติดสีในอะมีโลบลาสโตมาสูงกว่าถุงน้ำเดนติเจอร์ส และถุงหุ้มหน่อฟันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อีกทั้งยังพบค่าเฉลี่ยอิมมูโนรีแอคทีฟของอะมีโลบลาสโตมาสูงที่สุดอีกด้วย และผลการศึกษาในอะมีโลบลาสโตมาแต่ละชนิดมีผลการศึกษาที่สอดคล้องกันคือพบร้อยละของเซลล์ที่ย้อมติดสี และความเข้มของการติดสี รวมถึงคะแนนอิมมูโนรีแอคทีฟในอะมีโลบลาสโตมาชนิดหลายถุงน้ำสูงกว่าอะมีโลบลาสโตมาชนิดถุงน้ำเดียว จึงอาจเป็นไปได้ว่า METTL3 มีบทบาทต่อพฤติกรรม และความรุนแรงของรอยโรคอะมีโลบลาสโตมา รวมถึงการพยากรณ์โรคที่แย่งอีกด้วย

นอกจากนี้มีการศึกษาพบการแสดงออกของ Ki-67 ในรอยโรคถุงน้ำ และเนื้อเยื่อที่มีสาเหตุจากเนื้อเยื่อสร้างฟัน ซึ่ง Ki-67 เป็นตัวบ่งชี้การเพิ่มจำนวนของเซลล์ ผลการศึกษาพบว่าอะมีโลบลาสโตมามีระดับการแสดงออกของ Ki-67 สูงกว่าถุงน้ำที่มีสาเหตุจากเนื้อเยื่อสร้างฟัน และยังพบว่าอะมีโลบลาสโตมาชนิดหลายถุงน้ำมีการแสดงออกของ Ki-67 มากกว่าอะมีโลบลาสโตมาชนิดถุงน้ำเดียว ในขณะที่ถุงน้ำเดนติเจอร์สมีการแสดงออกของ Ki-67 ที่ต่ำกว่าถุงน้ำชนิดอื่น⁽⁶⁴⁾ การศึกษาของ Liu และคณะ ศึกษาการแสดงออกของ METTL3 และ Ki-67 ในมะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมา ผลการศึกษาพบว่าการยับยั้งการแสดงออกของ METTL3 ลดการเจริญเติบโตของมะเร็งอย่างมีนัยสำคัญ อีกทั้งยังพบว่าการแสดงออกของ Ki-67 ลดลงในกลุ่มที่ถูกยับยั้งการแสดงออกของ METTL3 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้มีการ

ยับยั้งการแสดงออกของ METTL3⁽²⁵⁾ เมื่อพิจารณาผลการศึกษาล่าสุดชี้ให้เห็นว่า METTL3 อาจส่งเสริมการเพิ่มจำนวนของเซลล์ผ่าน Ki-67 ในรอยโรคที่เกิดจากเนื้อเยื่อสร้างฟัน

จากการศึกษาก่อนหน้านี้เป็นที่ทราบกันดีว่าพบการกลายพันธุ์ของ BRAF ในอะมีโลบลาสโตมา^(10, 15, 18, 19) และอีกการศึกษาหนึ่งในปี ค.ศ. 2023 พบว่า METTL3 มีส่วนเกี่ยวข้องในวิถีการส่งสัญญาณ RAS/RAF/MEK/ERK หรือ MAPK/ERK ซึ่งวิถีการส่งสัญญาณเหล่านี้มีบทบาทสำคัญอย่างยิ่งในการแพร่กระจายของเซลล์เนื้องอกหลายชนิด เช่น มะเร็งปอด มะเร็งตับอ่อน และมะเร็งศีรษะและลำคอชนิดสควamous เซลล์คาร์ซิโนมา โดย BRAF เป็นต้นทางการส่งสัญญาณที่สำคัญของวิถีการส่งสัญญาณดังกล่าว ซึ่งผลการศึกษานี้พบว่า METTL3 ควบคุมการแปลรหัส mRNA ของยีน BRAF ส่งผลให้ระดับโปรตีน BRAF เพิ่มขึ้น อีกทั้งเมื่อทำการยับยั้งการแสดงออกของ METTL3 ส่งผลให้ระดับโปรตีน BRAF ลดลง ซึ่งส่งผลต่อการทำงานของวิถีการส่งสัญญาณที่ผิดปกติ⁽⁶⁵⁾ จึงอาจเป็นไปได้ว่า METTL3 นั้นอาจมีบทบาทในรอยโรคอะมีโลบลาสโตมาผ่านการควบคุมการแปลรหัสของยีน BRAF ที่ผิดปกติ

การศึกษาก่อนหน้านี้ของ Li และคณะ พบว่ามีความสัมพันธ์ระหว่างยีน HOXC13 และ HOXC13-AS กับรอยโรคอะมีโลบลาสโตมา โดยได้ทำการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างยีน HOXC13 กับรอยโรคอะมีโลบลาสโตมา ซึ่งโปรตีน hoxc13 ทำหน้าที่กระตุ้นการเกิดกระบวนการถอดรหัสและควบคุมการแสดงออกของยีนที่ส่งผลต่อการเกิดและการพัฒนาของมะเร็ง ผลการศึกษาพบว่าเมื่อระดับการแสดงออกของยีน HOXC13 ลดลง ส่งผลให้การเพิ่มจำนวนของเซลล์อะมีโลบลาสโตมา และความสามารถในการบุกรุกของเซลล์ลดลง⁽⁴⁶⁾ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Sun และคณะ ที่พบว่าความสามารถในการเพิ่มจำนวนเซลล์อะมีโลบลาสโตมาลดลงหลังจากยับยั้งการแสดงออกของยีน HOXC13 และผลการศึกษาพบว่ายีน HOXC13 และ HOXC13-AS มีการแสดงออกที่สูงในเนื้อเยื่ออะมีโลบลาสโตมาอีกด้วย⁽⁴⁷⁾ ซึ่งการศึกษาต่อมาของ Nui และคณะ พบว่ามีความแตกต่างของตำแหน่งที่มีการเพิ่มขึ้นของการเติมหมู่เมทิลในยีน HOXC13 และ HOXC13-AS ในเนื้อเยื่ออะมีโลบลาสโตมากับเนื้อเยื่อปกติที่อยู่ข้างเคียง อีกทั้งยังพบว่ามี 3,673 ตำแหน่งที่พบการเมทิลเลทของตำแหน่ง m6A ภายในรหัสพันธุกรรมของรอยโรคอะมีโลบลาสโตมาซึ่งในจำนวนนี้ 704 ตำแหน่ง (16.2%) พบมีการเมทิลเลทเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อเยื่อในช่องปากปกติ แสดงให้เห็นว่าน่าจะมีการดัดแปลงอาร์เอ็นเอของยีน HOXC13 และ HOXC13-AS ในรอยโรคอะมีโลบลาสโตมา⁽²¹⁾ อย่างไรก็ตามในปัจจุบันยังไม่พบมีการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง METTL3 กับยีน HOXC13 และ HOXC13-AS แต่มีรายงานการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง FTO ซึ่งเป็นเอนไซม์ในกลุ่มดีเมทิลเลสของ

กระบวนการดัดแปลง m6A ที่มีหน้าที่นำหมู่เมทิลออกจาก m6A กับ lncRNA HOXC13-AS ในรอยโรคมะเร็งปากมดลูก ซึ่งผลการศึกษาพบว่า การดัดแปลง m6A มีบทบาทในการควบคุมการแสดงออกของ HOXC13-AS โดยการลดลงของ FTO ทำให้ m6A ลดลง ส่งผลให้ HOXC13-AS มีความเสถียรส่งผลให้การแพร่กระจายของมะเร็งเพิ่มขึ้น^(66, 67) จากผลการศึกษาที่กล่าวมาจึงเป็นที่น่าสนใจว่า METTL3 อาจจะมีบทบาทต่อการทำงานของยีน HOXC13 และ HOXC13-AS ในรอยโรคอะมีโลบลาสโตมาได้เช่นกัน อย่างไรก็ตามยังต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมในประเด็นนี้ต่อไปในอนาคต

สำหรับผลการศึกษาในครั้งนี้ที่พบการแสดงออกของ METTL3 ในถุงน้ำเดนติเจอร์ที่สูงกว่าถุงหุ้มหนอพิน มีการศึกษาก่อนหน้าพบการแสดงออกของ PTCH ในชั้นเยื่อบุผิวถุงน้ำเดนติเจอร์ ซึ่งมีลักษณะคล้ายกับการแสดงออกของ PTCH ในถุงน้ำไอดอนโตเจนิก เคอราโตซิสต์ โดย PTCH มีบทบาทในการพัฒนาถุงน้ำเดนติเจอร์ผ่านการมีส่วนร่วมในเส้นทางการส่งสัญญาณ SHH-PTCH-SMO⁽¹⁷⁾ และมีการศึกษาพบว่า METTL3 ทำหน้าที่ควบคุมเสถียรภาพอาร์เอ็นเอ และการถอดรหัสของยีน PTCH ผ่านกระบวนการเมทิลเลชั่น โดยเมื่อทำการยับยั้งการแสดงออกของ METTL3 ส่งผลให้การแสดงออกในระดับโปรตีนของ PTCH เพิ่มขึ้นส่งผลให้อาร์เอ็นเอมีความเสถียรมากขึ้น ในขณะที่การแสดงออกของ METTL3 ที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้การแสดงออกในระดับโปรตีนของ PTCH ลดลง⁽⁶⁸⁾ จึงแสดงให้เห็นว่า METTL3 มีส่วนในการช่วยควบคุมการแสดงออกของ PTCH เมื่อพิจารณาผลการศึกษาข้างต้นจึงอาจเป็นไปได้ว่าการแสดงออกของ METTL3 นั้นมีบทบาทในโรคถุงน้ำเดนติเจอร์ผ่านการควบคุมยีน PTCH

การศึกษาของ Ai และคณะ ได้ทำการศึกษาการแสดงออกของ METTL3 ในมะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมา ผลการศึกษาไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างคะแนนอิมมูโนรีแอคทีฟของ METTL3 กับลักษณะทางคลินิกอื่นๆ นอกจากความสัมพันธ์กับระยะการแพร่ไปยังต่อมน้ำเหลืองของมะเร็ง โดยพบว่าการแสดงออกของ METTL3 มากขึ้นในผู้ป่วยที่มีระยะการแพร่ไปยังต่อมน้ำเหลืองที่สูงขึ้น แสดงให้เห็นว่า METTL3 มีบทบาทในพฤติกรรมของรอยโรคมะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมา⁽⁵⁸⁾ สำหรับการศึกษาในครั้งนี้พบความสัมพันธ์ระหว่างคะแนนอิมมูโนรีแอคทีฟของ METTL3 กับชนิดของรอยโรคอะมีโลบลาสโตมาเท่านั้น โดยส่วนมากอะมีโลบลาสโตมาชนิดถุงน้ำเดียวมีความสัมพันธ์กับคะแนนอิมมูโนรีแอคทีฟต่ำ ในขณะที่อะมีโลบลาสโตมาชนิดหลายถุงน้ำมีความสัมพันธ์กับคะแนนอิมมูโนรีแอคทีฟสูง จึงบ่งบอกได้ว่า METTL3 อาจมีบทบาทสำคัญต่อพฤติกรรมของรอยโรคอะมีโลบลาสโตมา

การศึกษานี้เป็นการศึกษาจากข้อมูลย้อนหลัง (retrospective study) จึงมีข้อจำกัดในเรื่องข้อมูลของชิ้นเนื้อ และประวัติที่เกี่ยวข้องทางคลินิกของผู้ป่วยบางอย่างที่ไม่สามารถสืบค้นได้ครบถ้วน เช่น ระยะเวลาในการเป็นโรคก่อนมาพบทันตแพทย์ ประวัติการกลับมาเป็นซ้ำ เป็นต้น ทำให้ไม่สามารถนำข้อมูลทางคลินิكدังกล่าวมาศึกษาความสัมพันธ์กับการแสดงออกของ METTL3 ดังนั้นในการศึกษาครั้งต่อไปหากสามารถศึกษาโดยเก็บข้อมูลไปข้างหน้าได้จะทำให้ได้ข้อมูลที่ถูกต้องมากขึ้น และอาจได้ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างคะแนนอิมมูโนรีแอคทีฟของ METTL3 กับข้อมูลทางคลินิกที่แม่นยำมากขึ้น

อย่างไรก็ตามการศึกษานี้เป็นการศึกษาแรกที่ศึกษาการแสดงออกของ METTL3 ในถุงหุ้มหน่อฟัน ถุงน้ำเดนติเจอรส์ และอะมีโลบลาสโตมา ซึ่งข้อมูลที่ได้อาจมีประโยชน์ในการเป็นข้อมูลเบื้องต้นที่แสดงให้เห็นถึงบทบาทของ METTL3 ที่อาจมีความเกี่ยวข้องกับรอยโรคถุงน้ำเดนติเจอรส์ และอะมีโลบลาสโตมาได้

ข้อเสนอแนะ

การศึกษานี้พบการแสดงออกของ METTL3 ในอะมีโลบลาสโตมาสูงกว่าถุงน้ำเดนติเจอรส์ และถุงหุ้มหน่อฟันตามลำดับ อีกทั้งยังพบการแสดงออกของ METTL3 ในอะมีโลบลาสโตมาชนิดหลายถุงน้ำสูงกว่าอะมีโลบลาสโตมาชนิดถุงน้ำเดียว ซึ่งอาจแสดงให้เห็นว่า METTL3 อาจมีบทบาทในรอยโรคที่มีสาเหตุจากเนื้อเยื่อสร้างฟัน และอาจเป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพต่อพฤติกรรม และความรุนแรงในรอยโรคอะมีโลบลาสโตมาได้ อย่างไรก็ตามเนื่องจากการศึกษานี้ทำการศึกษาการแสดงออกของ METTL3 ในถุงน้ำเดนติเจอรส์เท่านั้น จึงทำให้ไม่สามารถทราบบทบาทที่แน่ชัดของ METTL3 ในรอยโรคถุงน้ำที่มีสาเหตุจากเนื้อเยื่อสร้างฟันได้ ข้อเสนอแนะสำหรับการศึกษารั้งต่อไปอาจทำการศึกษาเพิ่มเติมในถุงน้ำที่มีสาเหตุจากเนื้อเยื่อสร้างฟันชนิดอื่นๆ เช่น ถุงน้ำไอดอนโตเจนิค เคอราโตซิสต์ เพื่อให้ทราบบทบาทที่แน่ชัดของ METTL3 ในโรคถุงน้ำที่มีสาเหตุจากเนื้อเยื่อสร้างฟันเหล่านี้

บรรณานุกรม

1. Bilodeau EA, Collins BM. Odontogenic cysts and neoplasms. Surg Pathol Clin. 2017;10(1):177-222.
2. Johnson NR, Gannon OM, Savage NW, Batstone MD. Frequency of odontogenic cysts and tumors: A systematic review. J Investig Clin Dent. 2014;5(1):9-14.
3. Rajendra Santosh AB. Odontogenic cysts. Dent Clin North Am. 2020;64(1):105-19.
4. Kondamari S, Taneeru S, Guttikonda V, Masabattula G. Ameloblastoma arising in the wall of dentigerous cyst: Report of a rare entity. J Oral Maxillofac Pathol. 2018;22(4).
5. Dr. Sabu Paul DMM, Dr. Latha Mary Cherian, Dr. Swathi Sanil, Dr. Krishnapriya S, Dr. Rasla P. Ameloblastomatous transformation of dentigerous cyst : Report of two rare case. Saudi J Pathol Microbiol. 2022.
6. Tariq S, Chalkoo AH. Ameloblastoma arising from dentigerous cyst: A case report. Sch J of Dent Sci. 2020;07(02):36-9.
7. Ghai S. Ameloblastoma: An updated narrative review of an enigmatic tumor. Cureus. 2022;14(8):e27734.
8. Siar CH, Ng KH. Epithelial-to-mesenchymal transition in ameloblastoma: Focus on morphologically evident mesenchymal phenotypic transition. Pathol. 2019;51(5):494-501.
9. Sham E, Leong J, Maher R, Schenberg M, Leung M, Mansour AK. Mandibular ameloblastoma: Clinical experience and literature review. J R Coll Surg Edinb. 2009;79(10):739-44.
10. Shi HA, Ng CWB, Kwa CT, Sim QXC. Ameloblastoma: A succinct review of the classification, genetic understanding and novel molecular targeted therapies. J R Coll Surg Edinb. 2021;19(4):238-43.
11. Masthan KM, Anitha N, Krupaa J, Manikkam S. Ameloblastoma. J Pharm Bioallied Sci. 2015;7(Suppl 1):S167-70.
12. Hendra FN, Natsir Kalla DS, Van Cann EM, de Vet HCW, Helder MN, Forouzanfar T.

Radical vs conservative treatment of intraosseous ameloblastoma: Systematic review and meta-analysis. *Oral Dis.* 2019;25(7):1683-96.

13. Zhang J, Wang Y, Fan C, Xiao X, Zhang Q, Xu T, et al. Interleukin-8/beta-catenin mediates epithelial-mesenchymal transition in ameloblastoma. *Oral Dis.* 2019;25(8):1964-71.
14. Soluk-Tekkesin M, Wright JM. The world health organization classification of odontogenic lesions: A summary of the changes of the 2022 (5th) edition. *Turk Patoloji Derg.* 2022;38(2):168-84.
15. Toprani SM. DNA damage and repair scenario in ameloblastoma. *Oral Oncol.* 2020;108:104804.
16. Ghafouri-Fard S, Atarbashi-Moghadam S, Taheri M. Genetic factors in the pathogenesis of ameloblastoma, dentigerous cyst and odontogenic keratocyst. *Gene.* 2021;771:145369.
17. Pavelić B, Levanat S, Crnić I, Kobler P, Anić I, Manojlović S, et al. Ptch gene altered in dentigerous cysts. *J Oral Pathol Med.* 2001;30(9):569-76.
18. Brunner P, Bihl M, Jundt G, Baumhoer D, Hoeller S. Braf p.V600e mutations are not unique to ameloblastoma and are shared by other odontogenic tumors with ameloblastic morphology. *Oral Oncol.* 2015;51(10):e77-8.
19. Kurppa KJ, Caton J, Morgan PR, Ristimäki A, Ruhin B, Kellokoski J, et al. High frequency of braf v600e mutations in ameloblastoma. *J Pathol.* 2014;232(5):492-8.
20. Ahmed B, Mohamed M. Immunohistochemical expression of de novo methyltransferases (dnmt3a and dnmt3b) in ameloblastoma and odontogenic cysts. *Egyp Dent J.* 2023;69(4):2761-9.
21. Niu X, Xu J, Liu J, Chen L, Qiao X, Zhong M. Landscape of n(6)-methyladenosine modification patterns in human ameloblastoma. *Front Oncol.* 2020;10:556497.
22. Gomes CC BJ, Andrade CI, Gomez RS. DNA methyltransferase expression in odontogenic cyst and tumor. *Oncol Lett.* 2010:143-6.
23. Udompatanakorn C, Sriphongphankul W, Taebunpakul P. Expression of alkbh5 in odontogenic lesions. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2025;33(1):49-57.

24. Zeng C, Huang W, Li Y, Weng H. Roles of mettl3 in cancer: Mechanisms and therapeutic targeting. *J Hematol Oncol*. 2020;13(1):117.
25. Liu L, Wu Y, Li Q, Liang J, He Q, Zhao L, et al. Mettl3 promotes tumorigenesis and metastasis through bmi1 m(6)a methylation in oral squamous cell carcinoma. *Mol Ther*. 2020;28(10):2177-90.
26. Liu J, Eckert MA, Harada BT, Liu SM, Lu Z, Yu K, et al. M(6)a mrna methylation regulates akt activity to promote the proliferation and tumorigenicity of endometrial cancer. *Nat Cell Biol*. 2018;20(9):1074-83.
27. Udompatanakorn C, Taebunpakul P. The expression of methyltransferase-like 3 in oral precancerous lesions and oral squamous cell carcinoma. *Eur J Dent*. 2022;17(2):349–56.
28. Cai Y, Feng R, Lu T, Chen X, Zhou X, Wang X. Novel insights into the m(6)a-rna methyltransferase mettl3 in cancer. *Biomark Res*. 2021;9(1):27.
29. Jaafari-Ashkavandi Z, Geramizadeh B, Ranjbar MA. P63 and ki-67 expression in dentigerous cyst and ameloblastomas. *J Dent (Shiraz)*. 2015;16(4):323-8.
30. Rajendra Santosh AB, Ogle OE. Odontogenic tumors. *Dent Clin North Am*. 2020;64(1):121-38.
31. Woo V, Chi A, Neville B. Odontogenic cysts and tumors. In: Gnepp DR, Bishop, Justin A, editor. *Gnepp's diagnostic surgical pathology of the head and neck*. 3. Oxford: Elsevier; 2021. p. 827-80.
32. Hertog D, Bloemena E, Aartman IH, van-der-Waal I. Histopathology of ameloblastoma of the jaws; some critical observations based on a 40 years single institution experience. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2012;17(1):e76-82.
33. Dias CD, Brandao TB, Soares FA, Lourenco SV. Ameloblastomas: Clinical-histopathological evaluation of 85 cases with emphasis on squamous metaplasia and keratinization aspects. *Acta Odontol Scand*. 2013;71(6):1651-5.
34. Wright JM, Vered M. Update from the 4th edition of the world health organization classification of head and neck tumours: Odontogenic and maxillofacial bone tumors. *Head Neck Pathol*. 2017;11(1):68-77.

35. Rizzitelli A, Smoll NR, Chae MP, Rozen WM, Hunter-Smith DJ. Incidence and overall survival of malignant ameloblastoma. *PLoS One*. 2015;10(2):e0117789.
36. Jayasooriya PR, Abeyasinghe W, Liyanage R, Uthpali GN, Tilakaratne WM. Diagnostic enigma of adenoid ameloblastoma: Literature review based evidence to consider it as a new sub type of ameloblastoma. *Head Neck Pathol*. 2022;16(2):344-52.
37. Custers R, Casacuberta JM, Eriksson D, Sági L, Schiemann J. Genetic alterations that do or do not occur naturally; consequences for genome edited organisms in the context of regulatory oversight. *Front Bioeng Biotechnol*. 2018;6:213.
38. Fatemeh M, Sepideh A, Sara BS, Nazanin M. P53 protein expression in dental follicle, dentigerous cyst, odontogenic keratocyst, and inflammatory subtypes of cysts: An immunohistochemical study. *Oman Med J*. 2017;32(3):227-32.
39. Sweeney RT, McClary AC, Myers BR, Biscocho J, Neahring L, Kwei KA, et al. Identification of recurrent smo and braf mutations in ameloblastomas. *Nat Genet*. 2014;46(7):722-5.
40. Brown NA, Rolland D, McHugh JB, Weigelin HC, Zhao L, Lim MS, et al. Activating fgfr2-ras-braf mutations in ameloblastoma. *Clin Cancer Res*. 2014;20(21):5517-26.
41. Kumamoto H, Ohki K, Ooya K. Expression of sonic hedgehog (shh) signaling molecules in ameloblastomas. *J Oral Pathol Med*. 2004;33(3):185-90.
42. Pereira NB, Pereira KM, Coura BP, Diniz MG, de Castro WH, Gomes CC, et al. Brafv600e mutation in the diagnosis of unicystic ameloblastoma. *J Oral Pathol Med*. 2016;45(10):780-5.
43. Davies H, Bignell GR, Cox C, Stephens P, Edkins S, Clegg S, et al. Mutations of the braf gene in human cancer. *Nature*. 2002;417(6892):949-54.
44. Guimaraes LM, Coura BP, Gomez RS, Gomes CC. The molecular pathology of odontogenic tumors: Expanding the spectrum of mapk pathway driven tumors. *Front Oral Health*. 2021;2:740788.
45. Diniz MG, Gomes CC, Guimaraes BV, Castro WH, Lacerda JC, Cardoso SV, et al. Assessment of brafv600e and smof412e mutations in epithelial odontogenic tumours. *Tumour Biol*. 2015;36(7):5649-53.

46. Li J, Zhang B, Wang B, Zhang X. Lncrna hoxc-as5 affects the proliferation, invasion and cell cycle of ameloblastoma cells by acting on the target gene hoxc13. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*. 2022;68(5):124-34.
47. Sun Y, Niu X, Wang G, Qiao X, Chen L, Zhong M. A novel lncrna enst00000512916 facilitates cell proliferation, migration and cell cycle progression in ameloblastoma. *Onco Targets Ther*. 2020;13:1519-31.
48. Santos ES, Rodrigues-Fernandes CI, Cabral JC, Fonseca FP, Leme AF. Epigenetic alterations in ameloblastomas: A literature review. *J Clin Exp Dent*. 2021;13(3):e295-302.
49. Sandoval-Basilio J, González-González R, Bologna-Molina R, Isiordia-Espinoza M, Leija-Montoya G, Alcaraz-Estrada SL, et al. Epigenetic mechanisms in odontogenic tumors: A literature review. *Archives of Oral Biology*. 2018;87:211-7.
50. Pradhan S, Esteve PO. Mammalian DNA (cytosine-5) methyltransferases and their expression. *Clin Immunol*. 2003;109(1):6-16.
51. do Amaral-Silva GK, Morais TML, Wagner VP, Martins MD, Fregnani ER, Soares FA, et al. Expression of dnmts and h3k9ac in ameloblastoma and ameloblastic carcinoma. *Front Oral Health*. 2021;2:751162.
52. Khojasteh A, Khodayari A, Rahimi F, Ghaderian MH, Jafarian M, Nayeibi A, et al. Hypermethylation of p16 tumor-suppressor gene in ameloblastic carcinoma, ameloblastoma, and dental follicles. *J Oral Maxillofac Surg*. 2013;71(1):62-5.
53. Moreira PR, Guimaraes MM, Gomes CC, Diniz MG, Brito JA, de Castro WH, et al. Methylation frequencies of cell-cycle associated genes in epithelial odontogenic tumours. *Arch Oral Biol*. 2009;54(10):893-7.
54. Qiu L, Jing Q, Li Y, Han J. Rna modification: Mechanisms and therapeutic targets. *Mol Biomed*. 2023;4(1):25.
55. Roundtree IA, Evans ME, Pan T, He C. Dynamic rna modifications in gene expression regulation. *Cell*. 2017;169(7):1187-200.
56. Liu S, Zhuo L, Wang J, Zhang Q, Li Q, Li G, et al. Mettl3 plays multiple functions in biological processes. *Am J Cancer Res*. 2020;10(6):1631-46.

57. Wu S, Makeudom A, Sun X, Li X, Xu D, Sastraruji T, et al. Overexpression of methyltransferase-like 3 and 14 in oral squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med.* 2022;51(2):134-45.
58. Ai Y, Liu S, Luo H, Wu S, Wei H, Tang Z, et al. Mettl3 intensifies the progress of oral squamous cell carcinoma via modulating the m6a amount of prmt5 and pd-l1. *J Immunol Res.* 2021:6149558.
59. Udompatanakorn C, Sriviriyakul P, Taebunpakul P. A study of rna m6a demethylases in oral epithelial dysplasia and oral squamous cell carcinoma. *J Oral Biol Cranio Res.* 2022;13(2):111-6.
60. Jin S, Li M, Chang H, Wang R, Zhang Z, Zhang J, et al. The m6a demethylase alkhh5 promotes tumor progression by inhibiting rig-i expression and interferon alpha production through the ikkepsilon/tbk1/irf3 pathway in head and neck squamous cell carcinoma. *Mol Cancer.* 2022;21(1):97.
61. Faul F, Erdfelder, E., Lang, A.-G., Buchner, A. . G*power 3: A flexible statistical power analysis program for the social, behavioral, and biomedical sciences. *Behav Res Methods.* 2007;39:175-91.
62. Lu Y, Xuan M, Takata T, Wang C, He Z, Zhou Z, et al. Odontogenic tumors. A demographic study of 759 cases in a chinese population. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1998;86(6):707-14.
63. Hatada K, Noma H, Katakura A, Yama M, Takano M, Ide Y, et al. Clinicostatistical study of ameloblastoma treatment. *Bull Tokyo Dent Coll.* 2001;42(2):87-95.
64. Jabbarzadeh M, Hamblin MR, Pournaghi-Azar F, Vakili Saatloo M, Kouhsoltani M, Vahed N. Ki-67 expression as a diagnostic biomarker in odontogenic cysts and tumors: A systematic review and meta-analysis. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospects.* 2021;15(1):66-75.
65. Li Q, Yu L, Gao A, Ren R, Zhang J, Cao L, et al. Mettl3 (methyltransferase like 3)-dependent n6-methyladenosine modification on braf mrna promotes macrophage inflammatory response and atherosclerosis in mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2023;43(5):755-73.

66. Wang T, Li W, Ye B, Zhang S, Lei X, Zhang D. Fto-stabilized lncrna hoxc13-as epigenetically upregulated fzd6 and activated wnt/ β -catenin signaling to drive cervical cancer proliferation, invasion, and emt. *Off J Balkan Union Oncol.* 2021;26(4):1279-91.
67. Sun T, Wu R, Ming L. The role of m6a rna methylation in cancer. *Biomed Pharmacother.* 2019;112:108613.
68. Zhang ZW, Teng X, Zhao F, Ma C, Zhang J, Xiao LF, et al. Mettl3 regulates m(6)a methylation of ptch1 and gli2 in sonic hedgehog signaling to promote tumor progression in shh-medulloblastoma. *Cell Rep.* 2022;41(4):111530.





การปรับมาตรฐานการประเมินผล

ในการศึกษานี้มีการปรับมาตรฐานการประเมินของทันตแพทย์ผู้ทำวิจัยก่อนการแปลผลข้อมูล โดยใช้สหสัมพันธ์ภายในชั้น (Intraclass Correlation) และค่าสัมประสิทธิ์ฟลีสแคปปา (Fleiss' kappa) เพื่อประเมินผลความน่าเชื่อถือระหว่างผู้สังเกต (Inter-rater Reliability) ที่ใช้ผู้ประเมินทั้งหมด 3 คน คือทันตแพทย์ผู้ทำวิจัย และทันตแพทย์ผู้เชี่ยวชาญด้านพยาธิวิทยาจำนวน 2 ท่าน โดยทำการนับจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของ METTL3 และพิจารณาระดับความเข้มของการติดสี METTL3 จากการสัณฐานภาพถ่ายสไลด์ขึ้นเนื้ออุ้งหุ้มหน่อฟัน ฤงน้ำเดนติเจอร์ส และอะมีโลบลาสโตมา ที่ผ่านกระบวนการย้อมด้วยวิธีฮีมาโตเอซึนจากกล้องจุลทรรศน์ชนิดใช้แสง จำนวน 4 ภาพ แล้วทำการคำนวณความน่าเชื่อถือระหว่างผู้ประเมินทั้ง 3 คน โดยวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์ภายในชั้น สำหรับค่าร้อยละของจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของ METTL3 ซึ่งมีค่าตั้งแต่ 0 ถึง 100 ส่วนความเข้มของการย้อมติดสีของ METTL3 ทำการให้คะแนนระดับความเข้มสีที่พบ ซึ่งมีคะแนนเป็น 0,1,2 และ 3 ได้ผลดังตาราง ก แล้ววิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ภายในชั้น และค่าสัมประสิทธิ์ฟลีสแคปปาด้วยโปรแกรม DATAtab จากนั้นทำการแปลผลค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ภายในชั้นและค่าสัมประสิทธิ์ฟลีสแคปปา ตามตาราง ค และ ง ตามลำดับ

นอกจากนั้นยังได้มีการประเมินผลความน่าเชื่อถือภายในผู้ประเมิน (Intra-rater Reliability) ด้วยวิธีการเดียวกัน ได้ผลดังตาราง ข แล้ววิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์แบบเพียร์สัน และค่าสัมประสิทธิ์โคเฮนแคปปาด้วยโปรแกรม DATAtab จากนั้นทำการแปลผลตามตาราง จ และ ฉ ตามลำดับ

ตาราง ก แสดงข้อมูลค่าร้อยละของจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของ METTL3 และคะแนนความเข้มของการติดสี METTL3 ของทันตแพทย์ผู้ประเมินทั้ง 3 คน

ภาพสไลด์	ค่าร้อยละของจำนวนเซลล์ที่มี			คะแนนความเข้มของการติดสี		
	การแสดงออกของ METTL3			METTL3		
	ผู้ประเมิน คนที่ 1	ผู้ประเมิน คนที่ 2	ผู้ประเมิน คนที่ 3	ผู้ประเมิน คนที่ 1	ผู้ประเมิน คนที่ 2	ผู้ประเมิน คนที่ 3
1	96.23	96.15	96.02	3	3	3
2	96.96	96.20	95.60	3	3	3
3	17.14	13.10	11.24	2	2	2
4	45.52	41.38	40.45	1	1	1

ตาราง ข แสดงข้อมูลค่าร้อยละของจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของ METTL3 และคะแนนความเข้มของการติดสี METTL3 ของทันตแพทย์ผู้ประเมินทั้ง 2 ครั้ง

ภาพสไลด์	ค่าร้อยละของจำนวนเซลล์ที่มี		คะแนนความเข้มของการติดสี	
	การแสดงออกของ METTL3		METTL3	
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2
1	96.23	97.20	3	3
2	96.96	95.42	3	3
3	17.14	12.15	2	2
4	45.52	41.36	1	1

ตาราง ค แสดงการแปลผลค่าคะแนนสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ภายใน

คะแนนสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ภายใน	ความน่าเชื่อถือของผู้ประเมิน
< 0.50	ความสอดคล้องกันในระดับต่ำ
0.50 - <0.75	ความสอดคล้องกันในระดับพอใช้
0.75 - <0.90	ความสอดคล้องกันในระดับดี
0.90 – 1.00	ความสอดคล้องกันในระดับดีมาก

ตาราง ง แสดงการแปลผลค่าสัมประสิทธิ์ฟลีส์แคปปา

ค่าสัมประสิทธิ์ฟลีส์แคปปา	แปลผล
< 0.00	ไม่มีความสอดคล้องกัน
0.00 – 0.20	มีความสอดคล้องกันในระดับต่ำ
0.21 – 0.40	มีความสอดคล้องกันในระดับพอใช้
0.41 – 0.60	มีความสอดคล้องกันในระดับปานกลาง
0.61 – 0.80	มีความสอดคล้องกันในระดับดี
0.81 – 1.00	มีความสอดคล้องกันในระดับดีมาก

เมื่อกำนวณค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ภายในของคำร้อยละของจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของ METTL3 ระหว่างผู้ทำวิจัยและผู้เชี่ยวชาญ พบว่าได้ค่าเป็น 0.98 (ภาพประกอบ ก) ซึ่งแปลผลได้ว่าความน่าเชื่อถือของผู้ประเมินมีความสอดคล้องกันในระดับดีมาก และคำนวณค่าสัมประสิทธิ์ฟลีส์แคปปาของค่าคะแนนระดับความเข้มของการย้อมติดสี METTL3 ระหว่างผู้วิจัยและผู้เชี่ยวชาญ ได้ค่าเป็น 1.00 (ภาพประกอบ ข) ซึ่งแปลผลได้ว่าความน่าเชื่อถือของผู้ประเมินมีความสอดคล้องกันในระดับดีมาก

ตาราง จ แสดงการแปลผลค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์แบบเพียร์สัน

ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์แบบเพียร์สัน	แปลผล
0.00 – 0.10	ไม่มีความสอดคล้องกัน
0.10 – 0.39	มีความสอดคล้องกันในระดับต่ำ
0.40 – 0.69	มีความสอดคล้องกันในระดับปานกลาง
0.70 – 0.89	มีความสอดคล้องกันในระดับดี
0.90 – 1.00	มีความสอดคล้องกันในระดับดีมาก

ตาราง ฉ แสดงการแปลผลค่าสัมประสิทธิ์โคเฮนแคปปา

ค่าสัมประสิทธิ์โคเฮนแคปปา	แปลผล
0.00 – 0.20	ไม่มีความสอดคล้องกัน
0.21 – 0.39	มีความสอดคล้องกันในระดับต่ำ
0.40 – 0.59	มีความสอดคล้องกันในระดับพอใช้
0.60 – 0.79	มีความสอดคล้องกันในระดับปานกลาง
0.80 – 0.90	มีความสอดคล้องกันในระดับดี
0.90 – 1.00	มีความสอดคล้องกันในระดับดีมาก

เมื่อดำเนินการคำนวณค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์แบบเพียร์สันของค่าร้อยละจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของMETTL3 ของผู้ทำวิจัย พบว่าได้ค่าเป็น 1.0 (ภาพประกอบ ค) ซึ่งแปลผลได้ว่าความน่าเชื่อถือของผู้ประเมินมีความสอดคล้องกันในระดับดีมาก และคำนวณค่าสัมประสิทธิ์โคเฮนแคปปาของค่าคะแนนระดับความเข้มของการย้อมติดสีMETTL3 ได้ค่าเป็น 1.00 (ภาพประกอบ ง) ซึ่งแปลผลได้ว่าความน่าเชื่อถือของผู้ประเมินมีความสอดคล้องกันในระดับ ดีมาก

Intra Class Correlation

Correlation coefficient in classes

[Copy](#)

Intra class correlation coefficient	Lower 95%-CI	Upper 95%-CI	F	df1	df2	p
1	0.98	1	2362.75	3	6	<.001

ภาพประกอบ ก แสดงผลการคำนวณค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ภายในของค่าร้อยละของจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของ METTL3 จากโปรแกรม DATAtab

Fleiss Kappa

Fleiss Kappa

[Copy](#) [AI Interpretation](#)

Fleiss Kappa	Standard Error	lower 95% CI	upper 95% CI	p
1	0.21	0.59	1.41	<.001

ภาพประกอบ ข แสดงผลการคำนวณค่าสัมประสิทธิ์ฟลีสแคปปาของค่าคะแนนระดับความเข้มของการย้อมติดสี METTL3 จากโปรแกรม DATAtab

Correlation

[Copy](#) [AI Interpretation](#)

	r	p
2 and 1	1	<.001

ภาพประกอบ ค แสดงผลการคำนวณค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ภายในของค่าร้อยละของจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของ METTL3 จากโปรแกรม DATAtab

Cohen's Kappa

 Copy  AI Interpretation

Cohen's Kappa	Standard Error	lower 95% CI	upper 95% CI	p
1	0	1	1	<.001

ภาพประกอบ ง แสดงผลการคำนวณค่าสัมประสิทธิ์โคเฮนแคปปาของค่าคะแนนระดับความเข้มของการย้อมติดสี METTL3 จากโปรแกรม DATAtab

ตารางแสดงผลร้อยละของเซลล์ที่มีการแสดงออก ความเข้มของการย้อมติดสี และคะแนนอิมมูโนรีแอคทีฟ ของ METTL3 ในกลุ่มถุงหุ้มหน่อพันธุ์

ถุงหุ้ม หน่อพันธุ์	ร้อยละของเซลล์ที่มี การแสดงออกของ METTL3	คะแนนร้อยละของ เซลล์ที่มีการ แสดงออกของ METTL3	ความเข้มของการ ย้อมติดสี METTL3	คะแนนอิมมูโนรี- แอคทีฟของ METTL3
1	0	0	0	0
2	0	0	0	0
3	25	2	1	2
4	12	2	1	2
5	0	0	0	0
6	30	2	1	2
7	0	0	0	0

ตารางแสดงผลร้อยละของเซลล์ที่มีการแสดงออก ความเข้มของการย้อมติดสี และคะแนน
อิมมูโนรีแอคทีฟ ของ METTL3 ในกลุ่มถุงน้ำเดนต์เจอร์รัล

ถุงน้ำ เดนต์เจอร์รัล	ร้อยละของเซลล์ ที่มีการแสดงออก ของ METTL3	คะแนนร้อยละ ของเซลล์ที่มีการ แสดงออกของ METTL3	ความเข้มของ การย้อมติดสี METTL3	คะแนนอิมมูโนรี- แอคทีฟของ METTL3
1	25	2	1	2
2	51	3	2	6
3	52	3	2	6
4	36	2	1	2
5	35	2	2	4
6	32	2	1	2
7	52	3	2	6
8	37	2	1	2
9	48	2	2	4
10	45	2	2	4
11	20	2	1	2
12	25	2	1	2
13	36	2	2	4
14	41	2	2	4
15	25	2	2	4
16	42	2	2	4
17	61	3	2	6
18	80	4	3	12
19	20	2	2	4
20	45	2	2	4
21	50	2	2	4
22	51	3	2	6

ตารางแสดงผลร้อยละของเซลล์ที่มีการแสดงออก ความเข้มของการย้อมติดสี และคะแนน
อิมมูโนรีแอคทีฟ ของ METTL3 ในกลุ่มถุงน้ำเดนต์เจอร์รัส (ต่อ)

ถุงน้ำ เดนต์เจอร์รัส	ร้อยละของเซลล์ ที่มีการแสดงออก ของ METTL3	คะแนนร้อยละ ของเซลล์ที่มีการ แสดงออกของ METTL3	ความเข้มของ การย้อมติดสี METTL3	คะแนนอิมมูโนรี- แอคทีฟของ METTL3
23	34	2	2	4
24	71	3	3	9
25	75	3	3	9
26	25	2	1	2
27	75	3	2	6
28	56	3	1	3
29	35	2	1	2
30	51	3	2	6

ตารางแสดงผลร้อยละของเซลล์ที่มีการแสดงออก ความเข้มของการย้อมติดสี และคะแนนอิมมูโนรีแอคทีฟ ของ METTL3 ในกลุ่มอะมีโลบลาสโตมา

อะมีโลบลาสโตมา	ร้อยละของ เซลล์ที่มีการ แสดงออกของ METTL3	คะแนนร้อยละ ของเซลล์ที่มีการ แสดงออกของ METTL3	ความเข้มของการ ย้อมติดสี METTL3	คะแนนอิมมู- โนรีแอคทีฟของ METTL3
1	95	4	3	12
2	83	4	2	8
3	95	4	3	12
4	75	3	2	6
5	94	4	3	12
6	90	4	3	12
7	85	4	2	8
8	94	4	2	8
9	85	4	2	8
10	15	2	1	2
11	64	3	3	9
12	65	3	2	6
13	61	3	2	6
14	71	3	2	6
15	45	2	3	6
16	96	4	3	12
17	49	2	2	4
18	72	3	2	6
19	20	2	1	2
20	95	4	2	8
21	94	4	2	8
22	10	2	1	2

ตารางแสดงผลร้อยละของเซลล์ที่มีการแสดงออก ความเข้มของการย้อมติดสี และคะแนนอิมมูโนรีแอคทีฟ ของ METTL3 ในกลุ่มอะมีโลบลาสโตมา (ต่อ)

อะมีโลบลาสโตมา	ร้อยละของ เซลล์ที่มีการ แสดงออกของ METTL3	คะแนนร้อยละ ของเซลล์ที่มีการ แสดงออกของ METTL3	ความเข้มของการ ย้อมติดสี METTL3	คะแนนอิมมู- โนรีแอคทีฟของ METTL3
23	55	3	2	6
24	85	4	3	12
25	90	4	2	8
26	91	4	3	12
27	59	3	2	6
28	60	3	2	6
29	93	4	3	12
30	82	4	3	12
31	95	4	3	12
32	95	4	3	12
33	72	3	3	9
34	84	4	3	12
35	75	3	2	6

หนังสือรับรองจริยธรรมการวิจัย

MF-04-version-2.0
วันที่ 18 ต.ค. 61



หนังสือยืนยันการยกเว้นการรับรอง
คณะกรรมการจริยธรรมสำหรับพิจารณาโครงการวิจัยที่ทำในมนุษย์
มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

(เอกสารนี้เพื่อแสดงว่าคณะกรรมการจริยธรรมสำหรับพิจารณาโครงการวิจัยที่ทำในมนุษย์ ได้พิจารณาโครงการวิจัยนี้)

ชื่อโครงการวิจัย : การแสดงออกของอาร์เอ็นเอ เมทิลทรานสเฟอเรสในรอยโรคอะไมลอยด์

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัย : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ทันตแพทย์หญิงภัทรายุ แด่บรรพกุล

หน่วยงานต้นสังกัด : คณะทันตแพทยศาสตร์

รหัสโครงการวิจัย : SWUEC-097/2566X

โครงการวิจัยนี้เป็นโครงการวิจัยที่เข้าข่ายยกเว้น (Research with Exemption from SWUEC)

วันที่ยืนยัน : 15 พฤษภาคม 2566

ยืนยันโดย : คณะกรรมการจริยธรรมสำหรับพิจารณาโครงการวิจัยที่ทำในมนุษย์
มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

คณะกรรมการจริยธรรมสำหรับพิจารณาโครงการวิจัยที่ทำในมนุษย์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ดำเนินการ
รับรองโครงการวิจัยตามแนวทางหลักจริยธรรมการวิจัยในคนที่เป็นสากล ได้แก่ Declaration of Helsinki, the
Belmont Report, CIOMS Guidelines และ the International Conference on Harmonization in Good Clinical
Practice (ICH-GCP)

ออกให้ ณ วันที่ 15 พฤษภาคม 2566

(ลงชื่อ).....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ทันตแพทย์หญิงณปภา เอี่ยมจิตรกุล)

กรรมการและเลขานุการคณะกรรมการจริยธรรม
สำหรับพิจารณาโครงการวิจัยที่ทำในมนุษย์

(ลงชื่อ).....

(แพทย์หญิงสุวิพร ภัทรสุวรรณ)

ประธานคณะกรรมการจริยธรรม
สำหรับพิจารณาโครงการวิจัยที่ทำในมนุษย์

หมายเลขรับรอง : SWUEC/X-097/2566

๒๕๖๖

ภาพประกอบ จ เอกสารรับรองจริยธรรมโครงการวิจัยที่ทำในมนุษย์ จากคณะกรรมการจริยธรรม
สำหรับพิจารณาโครงการวิจัยที่ทำในมนุษย์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ หมายเลขรับรอง
SWUEC-097/2566X



หนังสือแจ้งผลการพิจารณา

คณะกรรมการจริยธรรมสำหรับพิจารณาโครงการวิจัยที่ทำในมนุษย์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

เอกสารนี้เพื่อแสดงว่าคณะกรรมการจริยธรรมสำหรับพิจารณาโครงการวิจัยที่ทำในมนุษย์ ได้พิจารณาและตอบรับเอกสารเพิ่มเติมที่เกี่ยวข้องกับโครงการวิจัยดังนี้

ชื่อโครงการวิจัย : การแสดงออกของอาร์เอ็นเอ เมทิลทรานสเฟอเรสในรอยโรคอะไมลอยด์
 ชื่อหัวหน้าโครงการ : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ทันตแพทย์หญิงภัทราญ แด่บรรพกุล
 หน่วยงานต้นสังกัด : คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
 หมายเลขรหัสโครงการ : SWUEC-097/2566X
 เอกสารที่เสนอ : เอกสารที่ ทศว 73/66 ลงวันที่ 22 พฤศจิกายน 2566 เรื่อง ขอส่งแบบรายงานส่วนแก้ไขเพิ่มเติม
 วันที่ประชุม : 20 ธันวาคม 2566 การประชุมครั้งที่ : 12/2566
 ผลการพิจารณา : รับรอง
 วันที่รับรอง : 20 ธันวาคม 2566
 ข้อเสนอแนะ : -
 ตอบรับโดย : คณะกรรมการจริยธรรมสำหรับพิจารณาโครงการวิจัยที่ทำในมนุษย์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
 คณะกรรมการจริยธรรมสำหรับพิจารณาโครงการวิจัยที่ทำในมนุษย์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ดำเนินการให้การรับรองโครงการวิจัยตามแนวทางหลักจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ที่มีความสอดคล้องกับหลักจริยธรรมสากล ได้แก่ The Declaration of Helsinki, The Belmont report, CIOMS Guidelines และ The international Conference on Harmonization in Good Clinical Practice (ICH-GCP) ตลอดจนกฎหมาย ข้อบังคับและข้อกำหนดภายในประเทศ

(ลงชื่อ).....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ทันตแพทย์หญิงณปภา เอี่ยมจิตรกุล)

กรรมการและเลขานุการคณะกรรมการจริยธรรมสำหรับพิจารณาโครงการวิจัยที่ทำในมนุษย์

(ลงชื่อ).....

(แพทย์หญิงสุรีพร ภักธสุวรรณ)

ประธานคณะกรรมการจริยธรรมสำหรับพิจารณาโครงการวิจัยที่ทำในมนุษย์

วันที่ : 20/12/2566

๒๖๐๕

ภาพประกอบ ข เอกสารรับรองจริยธรรมโครงการวิจัยที่ทำในมนุษย์ จากคณะกรรมการจริยธรรม
 สำหรับพิจารณาโครงการวิจัยที่ทำในมนุษย์ (แบบรายงานแก้ไขเพิ่มเติม) มหาวิทยาลัย
 ศรีนครินทรวิโรฒ หมายเลขรับรอง SWUEC-097/2566X

ประวัติผู้เขียน

