



การแสดงออกของคาเทปซินแอลในรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปาก
THE EXPRESSION OF CATHEPSIN-L IN ORAL LICHEN PLANUS



อธิป กิจขจรเกียรติ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

2563

การแสดงผลของคาเทปซินแอลในรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปาก



อธิป กิจจจรเกียรติ

ปริญญาโทนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการช่องปากและแม็กซิลโลเฟเชียล
คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
ปีการศึกษา 2563
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

THE EXPRESSION OF CATHEPSIN-L IN ORAL LICHEN PLANUS



ATHIP KITKHAJORNKIAT

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of MASTER OF SCIENCE
(Oral and Maxillofacial Sciences)

Faculty of Dentistry, Srinakharinwirot University

2020

Copyright of Srinakharinwirot University

ปริญญานิพนธ์

เรื่อง

การแสดงออกของคาเทปซินแอลในรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปาก

ของ

อธิป กิจขจรเกียรติ

ได้รับอนุมัติจากบัณฑิตวิทยาลัยให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการช่องปากและแม็กซิลโลเฟเชียล
ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

.....
(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ฉัตรชัย เอกปัญญาสกุล)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

.....
คณะกรรมการสอบปากเปล่าปริญญานิพนธ์

..... ที่ปรึกษาหลัก

..... ประธาน

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ทพญ.ภัทราญุ แต่บวรพกุล) (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ทพญ.พวงวรรณ
ลาภธนทรัพย์กุล)

..... ที่ปรึกษาร่วม

..... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร. ทพ.สรสัณห์ รั้งสิยานนท์) (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ทพญ.อรุณวรรณ
หล้าอุบล)

ชื่อเรื่อง	การแสดงผลของคาเทชินแอลในรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปาก
ผู้วิจัย	อธิป กิจจรเกียรติ
ปริญญา	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต
ปีการศึกษา	2563
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ทพญ. ภัทราญ แต่บรรพกุล
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	รองศาสตราจารย์ ดร. ทพ. สรสิทธิ์ รังสิยานนท์

ไลเคนแพลนัสในช่องปากเป็นโรคที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบแบบเรื้อรังของเยื่อเมือก พยาธิกำเนิดของโรคนี้ เชื่อว่าเกี่ยวข้องกับความผิดปกติของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายชนิดที่เซลล์เป็นสื่อ ปัจจุบันยังเป็นที่ถกเถียงกันว่ารอยโรคไลเคนแพลนัสจัดเป็นรอยโรคก่อนมะเร็งหรือไม่ คาเทชินแอลเป็นเอนไซม์โปรตีเอส ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มของซิสเตอีนคาเทชิน เนื่องจากมีรายงานว่าพบการแสดงออกของคาเทชินแอลในโรคมะเร็ง ซึ่งพบว่าคาเทชินแอลอาจนำมาใช้เป็นตัวบ่งชี้ในการวินิจฉัยและการพยากรณ์ของโรคมะเร็ง ในมนุษย์ได้ วัตถุประสงค์ในการศึกษานี้เพื่อศึกษาการแสดงออกของคาเทชินแอลในรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปาก โดยมีกลุ่มตัวอย่าง 4 กลุ่มได้แก่ รอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปาก รอยโรคอีพิทีเลียลิสเพลเซีย รอยโรคมะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมา และเนื้อเยื่อปกติ จำนวนกลุ่มละ 10 ตัวอย่าง โดยวิธีทางอิมมูโนฮิสโตเคมี และวัดผลโดยการนับจำนวนเซลล์รวมถึงระดับความเข้มของการติดสีย้อมของคาเทชินแอล วิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้ One way ANOVA test และ Chi square ผลการทดลองพบว่ามีการแสดงออกของคาเทชินแอลในรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากร้อยละ 100 รอยโรคอีพิทีเลียลิสเพลเซียร้อยละ 90 รอยโรคมะเร็งในช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมาร้อยละ 100 และเนื้อเยื่อปกติร้อยละ 50 โดยค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกในรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากมีค่าสูงกว่าในรอยโรคอีพิทีเลียลิสเพลเซียและเนื้อเยื่อปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และไม่แตกต่างเมื่อเปรียบเทียบกับรอยโรคมะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมา ($p = 0.301$) ความเข้มของการติดสีในรอยโรคไลเคนแพลนัสมีความเข้มมากกว่ารอยโรคอีพิทีเลียลิสเพลเซียและเนื้อเยื่อปกติ ($p < 0.05$) แต่ไม่มีความแตกต่างกับรอยโรคมะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมา ($p = 0.809$) อย่างไรก็ตามรูปแบบการแสดงออกของคาเทชินแอลในรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากมีความหนาแน่นที่บริเวณชั้นเยื่อฐาน รอยโรคมะเร็งในช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมาพบการแสดงออกหนาแน่นในบริเวณเยื่อเมือกและเคอราตินฟิล ในขณะที่รอยโรคอีพิทีเลียลิสเพลเซียและเนื้อเยื่อปกติจะพบกระจายทั่วไปในชั้นเยื่อเมือกและชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน จากการศึกษาสรุปได้ว่า พบการแสดงออกของคาเทชินแอลในรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปาก และมีความแตกต่างกันของรูปแบบการแสดงออก จำนวนเซลล์ที่ติดสีรวมทั้งความเข้มของการแสดงออกของคาเทชินแอลในแต่ละกลุ่มตัวอย่าง ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าคาเทชินแอลมีบทบาทเกี่ยวข้องกับการกำเนิดของโรคของไลเคนแพลนัสในช่องปาก โดยมีผลต่อการตายของเซลล์เยื่อเมือกและการทำลายของชั้นเยื่อฐานในรอยโรค

คำสำคัญ : ไลเคนแพลนัสในช่องปาก, คาเทชินแอล, การเปลี่ยนแปลงเป็นมะเร็ง, อิมมูโนฮิสโตเคมี

Title	THE EXPRESSION OF CATHEPSIN-L IN ORAL LICHEN PLANUS
Author	ATHIP KITKHAJORNKIAT
Degree	MASTER OF SCIENCE
Academic Year	2020
Thesis Advisor	Assistant Professor Patrayu Taebunpakul , Ph.D.
Co Advisor	Associate Professor Sorasun Rungsiyanonte , Ph.D.

Oral lichen planus (OLP) is a chronic inflammatory disease that affects the mucous membrane of the oral cavity. Also, T-cell mediated autoimmunity is believed to play a role in the pathogenesis of OLP. The controversy of the malignant transformation of OLP still persists. Cathepsin L (Cat-L), a cysteine cathepsin protease, expresses in cancer. It may prove useful as a diagnostic and prognostic marker of human malignancy. Therefore, the aim was to investigate the expression of Cat-L in OLP. The samples were divided into 4 groups including 10 specimens each of OLP, oral squamous cell carcinoma (OSCC), epithelial dysplasia and normal gingiva. The immunohistochemistry technique was used in this study. The evaluation was performed based on number of staining cells and intensity. The data were analyzed with the One-way ANOVA and Chi-square test. The results showed 100%, 90%, 100% and 50% of the Cat- L expression in OLP, epithelial dysplasia, OSCC and normal gingiva, respectively. The average number of staining cells in OLP was significantly higher than in epithelial dysplasia and normal gingiva ($p < 0.05$). In addition, there was no difference in the number of staining cells between OLP and OSCC ($p = 0.301$). Cell intensity in OLP was significantly higher than in epithelial dysplasia and normal gingiva ($p < 0.05$). There was no difference in cell intensity between OLP and OSCC ($p = 0.809$). The pattern of Cat-L expression in OLP was mainly found near the basement membrane zone. While in OSCC, the Cat-L expression was high in epithelium layer and keratin pearl. In epithelial dysplasia and normal gingiva, Cat-L expressions were presented in scattered pattern in both the epithelium and the connective tissue layer. In conclusion, Cat-L was expressed in OLP. The pattern, number of staining cells and intensity of Cat-L expression among groups were different. These results suggest that Cat-L may be involved in pathogenesis of OLP possible through cell apoptosis induction and basement membrane degradation.

Keyword : Oral Lichen Planus, Cathepsin-L, Malignant transformation, Immunohistochemistry

กิตติกรรมประกาศ

ผู้ทำปริญญาานิพนธ์ขอขอบพระคุณผู้ให้ความอนุเคราะห์ทุกท่านที่ช่วยให้ปริญญาานิพนธ์ฉบับนี้จะสำเร็จลุล่วงด้วยดีอันมีรายนามดังต่อไปนี้ ผศ.ดร.ทพญ. ภัทราญ แต่บรรพกุล อาจารย์ที่ปรึกษาปริญญาานิพนธ์หลักที่ให้การช่วยเหลือในด้านการแนะนำการทำปริญญาานิพนธ์ การตั้งคำถามปริญญาานิพนธ์ รวมถึงหลักการคิดอย่างมีระบบในการทำปริญญาานิพนธ์ และความช่วยเหลือด้านอื่นๆ เช่น สอนการย้อมสีทางอิมมูโนฮิสโตเคมี การหาประวัติชิ้นเนื้อ การวางแผนในการทำเล่มปริญญาานิพนธ์และตรวจทานให้ในทุกขั้นตอน อีกทั้งยังคอยให้การสนับสนุนผู้ทำปริญญาานิพนธ์แม้ว่าจะมีข้อผิดพลาดหลายครั้ง รศ.ดร.สรสัณฑ์ รังสิยานนท์ อาจารย์ที่ปรึกษาปริญญาานิพนธ์ร่วม ซึ่งให้ความช่วยเหลือ อำนวยความสะดวกในงานเอกสารต่างๆ และ แนะนำการอ่านชิ้นเนื้อให้ผู้ทำปริญญาานิพนธ์มาโดยตลอด รวมถึงแนะนำการวิเคราะห์ข้อมูลให้แก่ผู้ทำปริญญาานิพนธ์ นางสาวอุตมาพร บุญทรง (พีพร) ผู้ช่วยเหลือในด้านการตัดชิ้นเนื้อคอยแนะนำและสอนขั้นตอนการทำ อิมมูโนฮิสโตเคมี การทำสไลด์ชิ้นเนื้อ และยังอำนวยความสะดวกในการสืบค้นข้อมูลจากใบส่งตรวจชิ้นเนื้อ และสุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณครอบครัวและบุคคลที่เกี่ยวข้องกับปริญญาานิพนธ์เล่มนี้ที่คอยสนับสนุนและเป็นกำลังใจในการเรียนและการเขียนปริญญาานิพนธ์จนสำเร็จลุล่วงได้เป็นอย่างดี

อธิป กิจขจรเกียรติ

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ	ช
สารบัญรูปภาพ	ญ
สารบัญตาราง.....	ฎ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
ภูมิหลัง	1
คำถามงานวิจัย.....	3
ความมุ่งหมายของงานวิจัย.....	3
ความสำคัญของงานวิจัย.....	3
ขอบเขตงานวิจัย	3
ประชากรที่ใช้ในงานวิจัย.....	4
การแบ่งกลุ่มประชากรที่ใช้ในงานวิจัย.....	4
การคัดเลือกกลุ่มประชากรที่ใช้ในการศึกษา.....	4
ชั้นเนื้อกลุ่มที่นำมาศึกษา.....	4
กลุ่มควบคุม.....	5
ตัวแปรที่ศึกษา	5
กรอบแนวคิดงานวิจัย.....	6
สมมุติฐานในการวิจัย.....	6
บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรม.....	7

ไลเคนแพลนัสในช่องปาก (Oral Lichen planus).....	7
กลไกการเกิดโรค	8
ลักษณะทางคลินิก	8
ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของไลเคนแพลนัสในช่องปาก	10
การวินิจฉัยไลเคนแพลนัสในช่องปาก.....	10
การรักษาไลเคนแพลนัสในช่องปาก	13
การเปลี่ยนแปลงของรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากไปเป็นมะเร็ง.....	13
คาเทปซิน (Cathepsin).....	17
คาเทปซินกับมะเร็ง	17
คาเทปซินกับรอยโรคไลเคนแพลนัส.....	18
บทที่ 3 ระเบียบวิธีการวิจัย.....	20
การกำหนดกลุ่มประชากร.....	20
ประชากรที่ใช้ในการศึกษา.....	20
ชิ้นเนื้อกลุ่มที่นำมาศึกษา	21
กลุ่มควบคุม	21
วิธีดำเนินการวิจัย.....	22
วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้	22
ขั้นตอนการย้อมด้วยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมี.....	23
การแปลผล.....	26
การวิเคราะห์ข้อมูล.....	27
บทที่ 4 ผลการดำเนินงานวิจัย.....	28
ข้อมูลทั่วไปกลุ่มประชากร.....	28
การแสดงผลของคาเทปซินแอล.....	31

การแสดงผลของคาเทชินแอลในรอยโรคไตเคเนแพลนัส	32
การแสดงผลของคาเทชินแอลในรอยโรคอีพิทีเลียลดิสเพลเซีย	35
การแสดงผลของคาเทชินแอลในรอยโรคมะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมา	36
การแสดงผลของคาเทชินแอลในเนื้อเยื่อปกติ	37
การแสดงผลของคาเทชินแอลในไต (human kidney).....	38
จำนวนเซลล์ที่มีการแสดงผลของคาเทชินแอล	38
การเปรียบเทียบร้อยละของจำนวนเซลล์ที่พบการแสดงผลของคาเทชินแอลในแต่ละกลุ่ม ประชากร	40
การแสดงผลของคาเทชินแอลที่ชั้นเยื่อบุผิว.....	40
การแสดงผลของคาเทชินแอลในเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน	41
การแสดงผลของคาเทชินแอลทั้งในชั้นเยื่อบุผิวและเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน	42
ความเข้มของการแสดงผลของคาเทชินแอล	43
การให้คะแนนแปลผลการแสดงผลของคาเทชินแอลจากการย้อมทางอิมมูโนฮิสโตเคมี	45
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ	47
สรุปผลการวิจัย.....	47
อภิปรายผลการวิจัย	48
บรรณานุกรม	54
ภาคผนวก.....	58
การปรับมาตรฐานภายในผู้ตรวจ (intracalibration)	59
ประวัติผู้เขียน.....	68

สารบัญรูปภาพ

ภาพประกอบ 1 การแสดงออกของคาเทปซินแอลในเซลล์เยื่อบุผิว	32
ภาพประกอบ 2 การแสดงออกของคาเทปซินแอลในเซลล์อักเสบบริเวณชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน	33
ภาพประกอบ 3 การแสดงออกของคาเทปซินแอลในรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปาก	33
ภาพประกอบ 4 ลักษณะการแสดงออกของคาเทปซินแอลที่บริเวณชั้นเยื่อฐาน	34
ภาพประกอบ 5 การแสดงออกของคาเทปซินแอลในรอยโรคอีพิทีเลียลดีสเพลเซีย	35
ภาพประกอบ 6 การแสดงออกของคาเทปซินแอลในรอยโรคมะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์ คาร์ซิโนมา	36
ภาพประกอบ 7 การแสดงออกของคาเทปซินแอลในเนื้อเยื่อปกติ	37
ภาพประกอบ 8 เนื้อเยื่อปกติที่ไม่มีการแสดงออกของคาเทปซินแอล	37
ภาพประกอบ 9 การแสดงออกของคาเทปซินแอลในชั้นเนื้อไต	38
ภาพประกอบ 10 ร้อยละของเซลล์ที่มีการแสดงออกของคาเทปซินแอล ในชั้นเยื่อบุผิว	40
ภาพประกอบ 11 ร้อยละของเซลล์ที่มีการแสดงออกของคาเทปซินแอล ในชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ...	41
ภาพประกอบ 12 ร้อยละของจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของคาเทปซินแอล ในชั้นเยื่อบุผิวและ เนื้อเยื่อเกี่ยวพัน	42
ภาพประกอบ 13 การแสดงออกของคาเทปซินแอลในรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปาก ระดับ 3.	44
ภาพประกอบ 14 การแสดงออกของคาเทปซินแอลในรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปาก ระดับ 2.	44
ภาพประกอบ 15 การแสดงออกของคาเทปซินแอลในรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปาก ระดับ 1	45

สารบัญตาราง

ตาราง 1	เกณฑ์การวินิจฉัยไคเคนแพลนส์ในช่องปากขององค์การอนามัยโลกปี 1978.....	11
ตาราง 2	เกณฑ์การวินิจฉัยไคเคนแพลนส์ในช่องปาก ปรับปรุงจากเกณฑ์ขององค์การอนามัยโลกปี 2003	12
ตาราง 3	เกณฑ์การให้คะแนน IRS	27
ตาราง 4	แสดงข้อมูลทั่วไปของกลุ่มประชากรที่ศึกษา	29
ตาราง 5	แสดงตำแหน่งที่ตัดชิ้นเนื้อในแต่ละกลุ่มประชากรที่ศึกษา	30
ตาราง 6	การแสดงผลบวกของคาเทชินแอลในกลุ่มประชากร	31
ตาราง 7	ร้อยละของจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของคาเทชินแอลในแต่ละกลุ่มประชากร	39
ตาราง 8	ความเข้มของการแสดงออกของคาเทชินแอลในแต่ละกลุ่มประชากร.....	43
ตาราง 9	ผลคะแนน IRS ในแต่ละกลุ่มประชากร.....	46

บทที่ 1

บทนำ

ภูมิหลัง

ไลเคนแพลนัสในช่องปากเป็นรอยโรคที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบแบบเรื้อรังของเยื่อบุผิว (epithelium) และมีความสัมพันธ์กับระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย โดยสามารถพบไลเคนแพลนัสในช่องปากประมาณร้อยละ 0.2-5 ของประชากรทั้งหมด⁽¹⁾ และพบในเพศหญิงมากกว่าเพศชาย 2-3 เท่า⁽²⁾ ช่วงอายุที่สามารถพบรอยโรคอยู่ระหว่าง 30-80 ปี^(1,3,4) อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าสามารถพบไลเคนแพลนัสในช่องปากในเด็กได้เช่นกัน⁽⁵⁾

รอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากมักพบได้ที่กระพุ้งแก้ม ลิ้น เหงือกและพื้นช่องปากตามลำดับ⁽⁶⁾ ซึ่งรอยโรคสามารถแบ่งได้เป็น 3 ชนิดตามลักษณะทางคลินิกได้แก่ รอยโรคสีขาว (reticular) รอยโรคสีแดง (atrophic หรือ erythematous) และรอยโรคแผลถลอก (erosive) ในผู้ป่วยที่มีรอยโรคสีขาวมักตรวจพบได้โดยบังเอิญเนื่องจากไม่ค่อยมีอาการใดๆ อย่างไรก็ตามในผู้ป่วยที่มีอาการเช่น อ้าปากได้น้อย แสบร้อนในปาก ไม่สบายในช่องปาก มักพบเป็นรอยโรคสีขาวปนแดง ซึ่งอาจพบมีการหลุดลอกของเนื้อเยื่อร่วมด้วย⁽³⁾

ปัจจัยที่มีอิทธิพลที่อาจทำให้เกิดไลเคนแพลนัสในช่องปากได้แก่ การตอบสนองต่อสิ่งแปลกปลอมที่เข้ามาทางร่างกายไม่ว่าจะเป็นวัสดุอุดฟันหรือจะเป็นยาที่รับประทานเข้าไป ความเครียด การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน รวมไปถึงจุลชีพก่อโรคต่างๆเช่น ไวรัสตับอักเสบบี เป็นต้น^(3,7,8)

ในปัจจุบันมีรายงานว่ารอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากสามารถเปลี่ยนแปลงไปเป็นมะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมาได้ (oral squamous cell carcinoma) โดยจากการศึกษาพบว่ารอยโรคที่มีการเปลี่ยนแปลงเป็นมะเร็งช่องปากมักเป็นรอยโรคชนิดแผลถลอกและเกิดที่บริเวณลิ้นและกระพุ้งแก้ม ซึ่งการเปลี่ยนแปลงไปเป็นมะเร็งของไลเคนแพลนัสในช่องปากอยู่ที่ประมาณร้อยละ 1⁽⁹⁾ เช่นการศึกษาของ Bombeccari และคณะในปี ค.ศ. 2011⁽¹⁰⁾ ได้ศึกษาผู้ป่วยจำนวน 327 รายที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นไลเคนแพลนัสทั้งทางคลินิกและทางพยาธิวิทยา โดยการศึกษานี้ได้คัดผู้มีปัจจัยเสี่ยงออกจากการศึกษา เช่น การดื่มแอลกอฮอล์ การสูบบุหรี่ รวมถึงการเป็นโรคมะเร็งที่ตำแหน่งอื่นในร่างกาย ผลการศึกษาพบว่าผู้ป่วยจำนวน 8 ราย คิดเป็นร้อยละ 2.4 มีการเปลี่ยนแปลงของรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากไปเป็นมะเร็ง ซึ่งในการศึกษาคั้งนี้มีระยะเวลาการเฝ้าติดตามรอยโรคที่ 81 ± 11.9 เดือน⁽¹⁰⁾ อย่างไรก็ตามรอยโรคไล

เคนแพลนัสในช่องปากยังคงเป็นที่ถกเถียงกันว่าจัดอยู่ในกลุ่มของรอยโรคก่อนมะเร็งหรือไม่ เนื่องจากมีทั้งการศึกษาที่พบและไม่พบการเปลี่ยนแปลงไปเป็นมะเร็งของไลเคนแพลนัสในช่องปาก โดยการศึกษาของ van der Meij และคณะ ในปี ค.ศ. 2000⁽¹¹⁾ ได้ศึกษาผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปาก 67 ราย และรอยโรคไลเคนอยด์ 125 ราย โดยมีระยะเวลาติดตามผลเฉลี่ย 55 เดือน พบว่าผู้ป่วย 4 รายจากกลุ่มที่เป็นรอยโรคไลเคนอยด์มีการเปลี่ยนแปลงของรอยโรคไปเป็นมะเร็งช่องปาก และไม่พบการเปลี่ยนแปลงของรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากไปเป็นมะเร็ง⁽¹¹⁾ แม้ว่าจะมีหลายการศึกษาพบว่ารอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากสามารถมีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นมะเร็งได้^(2,4,10,12) อย่างไรก็ตามยังไม่สามารถสรุปได้ว่ารอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากนั้นเป็นรอยโรคก่อนมะเร็ง เนื่องจากมีปัจจัยอื่นๆที่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงไปเป็นมะเร็งได้เช่น การสูบบุหรี่ การดื่มแอลกอฮอล์ และการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี (HCV) เป็นต้น⁽¹²⁾ ดังนั้นการเฝ้าระวังหรือการติดตามผลการรักษาผู้ป่วยในกรณีนี้ที่ผู้ป่วยได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นรอยโรคไลเคนแพลนัสเป็นสิ่งจำเป็น เนื่องจากในปัจจุบันยังไม่มีตัวชี้วัดใดทางการแพทย์ที่สามารถระบุแน่นอนได้ว่ารอยโรคไลเคนแพลนัสในผู้ป่วยรายใดจะมีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นมะเร็งได้

คาเทปซิน เป็นเอนไซม์ที่อยู่ในไลโซโซม สามารถพบได้ทั่วไปในทุกอวัยวะ หน้าที่หลักของคาเทปซินคือการย่อยสลายโปรตีน อีกทั้งยังมีหน้าที่เกี่ยวข้องกับกลไกอื่นๆได้แก่ การตายของเซลล์, กระบวนการอักเสบ และการนำเสนอนแอนติเจน เป็นต้น โดยคาเทปซินแบ่งออกเป็นสามกลุ่มตามกรดอะมิโนที่อยู่ในโมเลกุลซึ่งได้แก่ ซิสเตอีน (cysteine) ซีรีน (serine) และ แอสปาทิก (aspartic) โดยกลุ่มของซิสเตอีนคาเทปซินนั้นพบว่ามี ความเกี่ยวข้องกับมะเร็ง จากการศึกษาพบว่าคาเทปซินแอสมี การแสดงออกที่มากขึ้นในเนื้อเยื่อของมะเร็ง และการแสดงออกที่มากขึ้นนี้มีความสัมพันธ์กับการลุกลามและการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งอีกด้วย⁽¹³⁾ การศึกษาของ Nakashima คณะ ในปี ค.ศ. 2012⁽¹⁴⁾ พบการแสดงออกของคาเทปซินแอสในชั้นเนื้อเยื่อช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมา มากกว่าในเนื้อเยื่อปกติและระดับการแสดงออกของคาเทปซินแอสในชั้นเนื้อเยื่อมีความสัมพันธ์กับระดับความรุนแรงของรอยโรค⁽¹⁴⁾ รวมถึงมีการศึกษาคาเทปซินแอสในรอยโรคอีพิทีเลียลดีสเพลเซียซึ่งจัดเป็นรอยโรคก่อนมะเร็งพบว่าในรอยโรคที่มีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นมะเร็งมีการแสดงออกของคาเทปซินแอสที่มากกว่ารอยโรคที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นมะเร็ง⁽¹⁵⁾

การศึกษาการแสดงออกของคาเทปซินแอสกับรอยโรคไลเคนแพลนัสมีเพียงการศึกษาที่ผิวหนังก่อนหน้านี้ โดยพบการแสดงออกของคาเทปซินแอสในรอยโรคไลเคนแพลนัสที่ผิวหนังก่อนหน้านี้

ในเนื้อเยื่อปากติดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ⁽¹⁶⁾ และยังไม่พบรายงานการศึกษาการแสดงผลของคาเทชินแอลในรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากมาก่อน แต่มีความน่าสนใจเนื่องจากพบมีความจำเพาะและเชื่อมโยงของการแสดงผลของคาเทชินแอลกับความรุนแรงและการเกิดเป็นมะเร็งของเซลล์ ดังนั้นจึงนำมาสู่การศึกษาถึงการแสดงผลของคาเทชินแอล ในรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากซึ่งเป็นที่ถกเถียงกันว่ารอยโรคชนิดนี้จัดอยู่ในกลุ่มของรอยโรคก่อนมะเร็งหรือไม่ ด้วยการนำเทคนิคทางอิมมูโนฮิสโตเคมี โดยศึกษาการแสดงผลของคาเทชินแอล ด้วยการนับจำนวนเซลล์และวัดความเข้มของเซลล์ที่ติดสีย้อมของแอนติบอดีต่อคาเทชินแอล รวมถึงบันทึกรูปแบบการแสดงผลของคาเทชินแอลมาเปรียบเทียบกันระหว่างชิ้นเนื้อของรอยโรคทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ รอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปาก รอยโรคอิพิทีเลียลดีสเพลเซีย และมะเร็งช่องปากชนิดสควamousเซลล์คาร์ซิโนมา โดยมีชิ้นเนื้อเห็งือกปกติที่ไม่มีการอักเสบเป็นกลุ่มควบคุมเพื่อนำมาวิเคราะห์ และสรุปผลการศึกษาต่อไป

คำถามงานวิจัย

การแสดงผลของคาเทชินแอลในรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปาก มีความคล้ายหรือแตกต่างกับรอยโรคอิพิทีเลียลดีสเพลเซีย และ มะเร็งช่องปากชนิดสควamousเซลล์คาร์ซิโนมาหรือไม่

ความมุ่งหมายของงานวิจัย

เพื่อศึกษาการแสดงผลของคาเทชินแอลในรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปาก เปรียบเทียบกับรอยโรคอิพิทีเลียลดีสเพลเซียและมะเร็งช่องปากชนิดสควamousเซลล์คาร์ซิโนมา

ความสำคัญของงานวิจัย

ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้สามารถนำมาใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้น ซึ่งอาจนำมาสู่ความเข้าใจบทบาทของคาเทชินแอลในรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปาก รวมถึงอาจนำไปประยุกต์ใช้ในการพัฒนาการรักษาโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากในอนาคต

ขอบเขตงานวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยในห้องปฏิบัติการเพื่อศึกษาการแสดงผลของคาเทชินแอลในรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปาก รอยโรคอิพิทีเลียลดีสเพลเซียและมะเร็งช่องปากชนิดสควamousเซลล์คาร์ซิโนมาเปรียบเทียบกับเนื้อเห็งือกปกติ โดยวิธีทางอิมมูโนฮิสโตเคมี

ประชากรที่ใช้ในงานวิจัย

ชิ้นเนื้อของผู้ป่วยที่ถูกส่งเข้ามารับการวินิจฉัยด้วยลักษณะทางจุลพยาธิวิทยา ณ คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

การแบ่งกลุ่มประชากรที่ใช้ในงานวิจัย

แบ่งกลุ่มประชากรที่นำมาศึกษาในครั้งนี้ออกเป็น 4 กลุ่มได้แก่

1. ชิ้นเนื้อรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปาก จำนวน 10 ตัวอย่าง
2. ชิ้นเนื้อรอยโรคอีพิทีเลียลติสเพลเซีย จำนวน 10 ตัวอย่าง
3. ชิ้นเนื้อมะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมา จำนวน 10 ตัวอย่าง
4. ชิ้นเนื้อเหงือกปกติและไม่มีอาการอักเสบ จำนวน 10 ตัวอย่าง

การคัดเลือกกลุ่มประชากรที่ใช้ในการศึกษา

แบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ ชิ้นเนื้อไลเคนแพลนัสในช่องปาก, ชิ้นเนื้ออีพิทีเลียลติสเพลเซีย, ชิ้นเนื้อมะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมา และเนื้อเหงือกปกติ ซึ่งเป็นกลุ่มควบคุม สำหรับชิ้นเนื้อไลเคนแพลนัสในช่องปาก ชิ้นเนื้ออีพิทีเลียลติสเพลเซีย และชิ้นเนื้อมะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมา เป็นชิ้นเนื้อในพาราฟินบล็อกที่อยู่ในคลังของแผนกทันตพยาธิวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ โดยเป็นชิ้นเนื้อระหว่างปี พ.ศ. 2553-2561 และชิ้นเนื้อเหงือกปกติ เป็นชิ้นเนื้อที่ได้มาจากผู้ป่วยที่มารับการผ่าตัดฟันกรามซี่ที่สามคุณ ณ คลินิกศัลยศาสตร์ช่องปาก โรงพยาบาลทันตกรรม คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ โดยชิ้นเนื้อที่ได้เป็นเนื้อเยื่อเหงือกที่ติดมากับฟันเท่านั้น

ชิ้นเนื้อกลุ่มที่นำมาศึกษา

เกณฑ์คัดเข้า

ชิ้นเนื้อที่ได้รับการวินิจฉัยด้วยลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาว่าเป็นโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากอีพิทีเลียลติสเพลเซีย มะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมา

เกณฑ์การคัดออก

ชิ้นเนื้อที่มีขนาดเล็กและมีลักษณะจุลพยาธิวิทยาที่ไม่ครบถ้วนตามลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาที่สามารถให้การวินิจฉัยโรคได้ด้วยลักษณะทางจุลพยาธิวิทยา

กลุ่มควบคุม

เกณฑ์คัดเข้า

เป็นชิ้นเนื้อเหงือกที่เก็บจากผู้ป่วยอายุ 20-60 ปี ที่มารับการผ่าตัดฟันกรามซี่ที่สามคุด ณ คลินิกศัลยศาสตร์ช่องปาก โรงพยาบาลทันตกรรม คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

เกณฑ์การคัดออก

เนื้อเยื่อเหงือกบริเวณที่ผ่าตัดฟันกรามซี่ที่สามคุด มีการอักเสบ, ติดเชื้อหรือมีประวัติการอักเสบของเหงือกบริเวณนั้นมาก่อน

ตัวแปรที่ศึกษา

1. ตัวแปรอิสระ

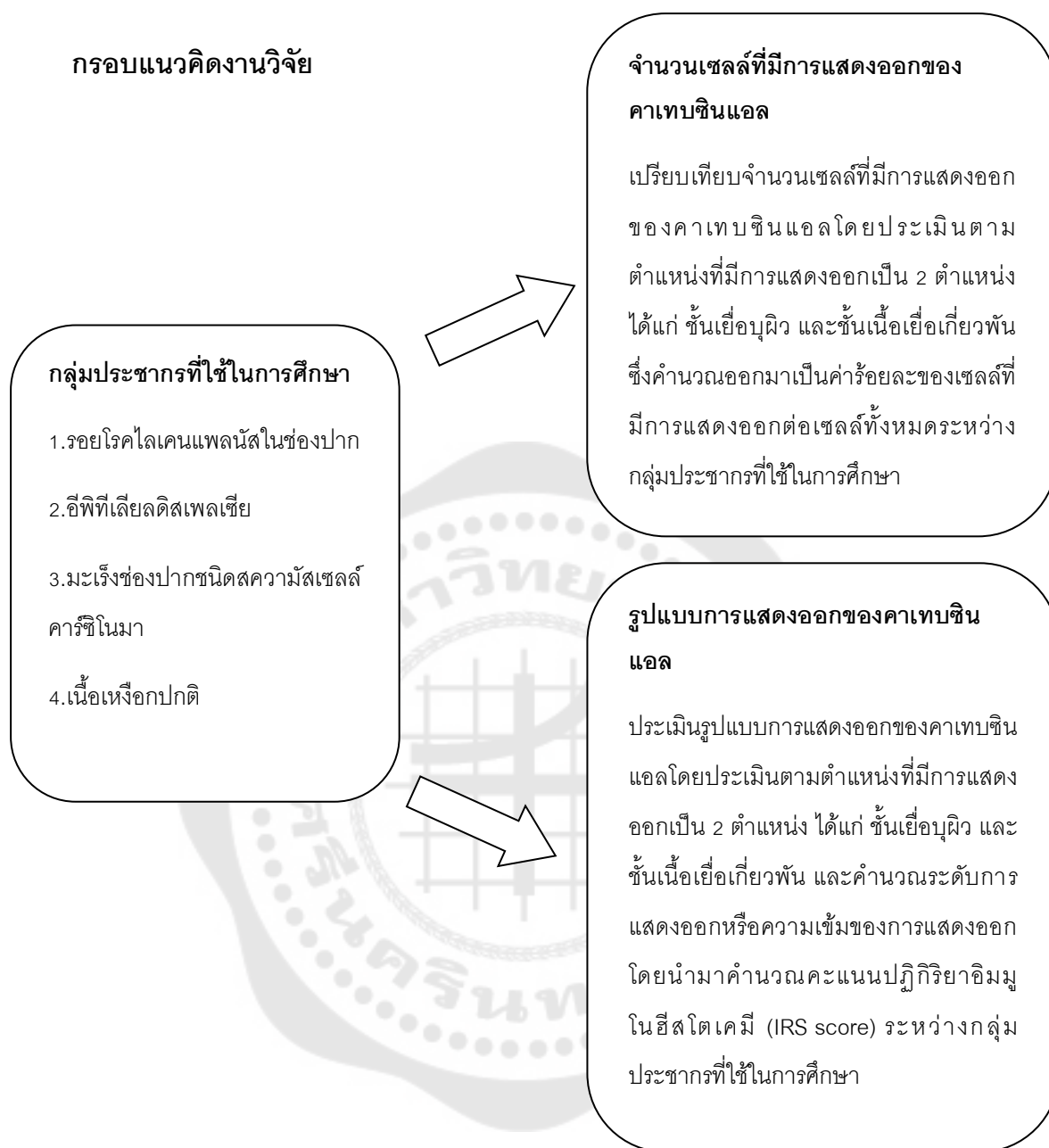
- 1.1 ชิ้นเนื้อรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปาก จำนวน 10 ตัวอย่าง
- 1.2 ชิ้นเนื้อรอยโรคอีพิทีเลียลดีสเพลเซีย จำนวน 10 ตัวอย่าง
- 1.3 ชิ้นเนื้อมะเร็งช่องปากชนิดสควamousเซลล์คาร์ซิโนมา จำนวน 10 ตัวอย่าง
- 1.4 ชิ้นเนื้อเหงือกที่ไม่มีการอักเสบ จำนวน 10 ตัวอย่าง

2. ตัวแปรตาม

การแสดงออกของเอนไซม์ คาเทปซินแอลในชิ้นเนื้อแต่ละชนิดโดยวัดผลจาก 2 ลักษณะ คือ

- 2.1 จำนวนของเซลล์ที่มีการแสดงออกของคาเทปซินแอล ซึ่งแปลผลเป็นบวก
- 2.2 ระดับความเข้มของการมีการแสดงออกของการติดสีย้อมคาเทปซินแอล ซึ่งแปลผลเป็นระดับความเข้ม 4 ระดับ ได้แก่ 0 = ไม่มีการแสดงออก , 1 = มีการแสดงออกน้อย, 2 = มีการแสดงออกปานกลาง, 3 = มีการแสดงออกสูง⁽³³⁾

กรอบแนวคิดงานวิจัย



สมมุติฐานในการวิจัย

H0 : รอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากมีการแสดงออกของคาเทปซินแอลไม่แตกต่างกับรอยโรคอีพีทีเลียลดิสเพลเซีย และมะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมา

H1 : รอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากมีการแสดงออกของคาเทปซินแอลแตกต่างกับรอยโรคอีพีทีเลียลดิสเพลเซีย และมะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมา

บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรม

ในการวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยได้ศึกษาเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องและได้นำเสนอตามหัวข้อต่อไปนี้

1. ไลเคนแพลนัสในช่องปาก (Oral Lichen planus)
2. การเปลี่ยนแปลงของรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากไปเป็นมะเร็ง (Malignant transformation)
3. คาเทปซิน (Cathepsin)

ไลเคนแพลนัสในช่องปาก (Oral Lichen planus)

ไลเคนแพลนัสในช่องปากเป็นรอยโรคที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบของเยื่อบุผิวแบบเรื้อรัง มีความเกี่ยวข้องกับความผิดปกติของภูมิคุ้มกันชนิดทีเซลล์เป็นสื่อ (T cell-mediated pathogenesis) นอกจากนี้ในช่องปากแล้วยังสามารถพบได้ในบริเวณอื่น ได้แก่ ผิวหนัง อวัยวะสืบพันธุ์ หนังสีรษะ และเล็บ⁽⁸⁾ โดยพบได้ 1-4% ของประชากร พบในเพศหญิงมากกว่าเพศชาย ประมาณ 2-3 เท่า^(7,12) โดยพบมากในช่วงอายุ 30-80 ปี อย่างไรก็ตามรอยโรคชนิดนี้ มีรายงานว่าพบในเด็กได้เช่นกัน⁽⁵⁾ รอยโรคสามารถพบได้หลายตำแหน่งในช่องปากซึ่งพบได้บ่อยที่สุดบริเวณ กระพุ้งแก้ม นอกจากนี้ยังสามารถพบรอยโรคในบริเวณอื่นได้แก่ เหงือก ลิ้นและริมฝีปาก⁽⁷⁾ สาเหตุการเกิดโรคยังไม่ทราบแน่ชัดแต่มีการศึกษาถึงปัจจัยที่อาจส่งผลให้เกิดไลเคนแพลนัสในช่องปากได้แก่

- 1) ปัจจัยเฉพาะที่และปัจจัยทางระบบซึ่งชักนำให้เกิดปฏิกิริยาการแพ้ (local and systemic inducer of cell-mediated hypersensitivity) คือมีการตอบสนองต่อสิ่งแปลกปลอมต่างๆ เช่น วัสดุอุดฟันหรืออาจเป็นผลจากการได้รับยาทางระบบในผู้ป่วยบางราย⁽³⁾
- 2) ความเครียด และความวิตกกังวล (stress and anxiety) พบว่ามีความสัมพันธ์ของช่วงเวลาผู้ป่วยมีความเครียดกับการเกิดไลเคนแพลนัสในช่องปาก⁽¹⁷⁾
- 3) การตอบสนองของภูมิคุ้มกันต่อแอนติเจนของเยื่อบุผิว โดยมีทีเซลล์เป็นสื่อ (T-cell) โดยเกิดการตายแบบอะพอพโทซิส (apoptosis) ของเซลล์เยื่อบุผิวในช่องปาก⁽¹⁸⁾
- 4) จุลชีพ พบว่ามีความสัมพันธ์กับการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี แต่กลไกของการเกิดโรคนั้นยังไม่ทราบแน่ชัด⁽¹⁹⁾

กลไกการเกิดโรค

กลไกการเกิดโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากยังไม่ทราบแน่ชัด แต่จากหลักฐานต่างๆ เชื่อว่ามีความเกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายชนิดเซลล์เป็นสื่อ (cell-mediated immunity) กระบวนการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวเชื่อว่าถูกกระตุ้นโดยแอนติเจน ซึ่งส่งผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเคอราติโนไซต์บริเวณชั้นเยื่อฐานของเยื่อช่องปาก โดยมีความเกี่ยวข้องกับไซโททอกซิก ซีดี-8 ทีลิมโฟไซต์ (cytotoxic CD8⁺ T-lymphocytes) ชักนำไปเกิดการตายแบบอะพอพโทซิสของเซลล์เคอราติโนไซต์ ผ่านปฏิกิริยาทางภูมิคุ้มกัน (immunoreaction) ที่ถูกกระตุ้นโดยแอนติเจน 1 ชนิดหรือมากกว่าโดยเกี่ยวข้องกับ major histocompatibility complex (MHC) class I บนเคอราติโนไซต์ของชั้นเยื่อฐาน ซีดี-8 ทีเซลล์ที่ถูกกระตุ้น (activated CD8⁺ T-cell) จะมีการหลั่ง TNF- α ซึ่งสามารถจับกับตัวรับสัญญาณ TNF- α (TNF-alpha receptor) บนเคอราติโนไซต์ ส่งผลให้เกิดการตายของเคอราติโนไซต์ผ่านวิถีแคสเปส (caspase cascade pathway) เฮลเปอร์ซีดี-4 ทีเซลล์ลิมโฟไซต์ (helper CD4⁺ T-lymphocyte) ซึ่งถูกกระตุ้นโดย MHC class II ร่วมกับเซลล์แลงเกอร์ฮาน (langerhans cell) และเคอราติโนไซต์ (keratinocyte) จะไปส่งเสริมการทำงานของซีดี-8 ทีลิมโฟไซต์ ผ่านทางการหลั่งไซโตไคน์หลายชนิด เช่น อินเตอร์ลิวคิน-2, อินเตอร์ลิวคิน-12 และอินเตอร์เฟียร์รอนแกมมา

แมสเซลล์ (mast cell) และ แอนติเจนพรีเซนติง แลงเกอร์ฮานเซลล์ (antigen-presenting langerhans cell) มีความเกี่ยวข้องกับการตอบสนองเฉพาะที่ (local response) โดยโคเมสจะถูกหลั่งจากดีกรานูเลชันของแมสเซลล์ (degranulation of mast cell) และทำหน้าที่เป็น เมทริกซ์เมทัลโลโปรตีนเอส (matrix metalloproteinase, MMP) ซึ่งสามารถสลายเมทริกซ์นอกเซลล์ (extracellular matrix) ของชั้นเยื่อฐาน และส่งผลให้เกิดการเคลื่อนที่ของลิมโฟไซต์จากชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันไปยังชั้นเยื่อฐาน⁽⁷⁾

ลักษณะทางคลินิก

ไลเคนแพลนัสในช่องปากเป็นรอยโรคในกลุ่มที่มีการอักเสบเรื้อรังของเยื่อผิว (epithelium) โดยลักษณะทางคลินิกสามารถพบรอยโรคเกิดขึ้นได้ทั้งในช่องปากและผิวหนังของผู้ป่วยโดย ลักษณะที่พบในช่องปากสามารถพบได้หลายตำแหน่งโดยมักพบที่บริเวณกระพุ้งแก้มมากที่สุด ส่วนตำแหน่งอื่นๆ พบรองลงมาได้แก่ ลิ้น เหงือก ริมฝีปากบนและล่าง และบริเวณพื้นช่องปาก โดยลักษณะของรอยโรคที่พบ อาจพบแบบ 2 ข้างสมมาตรกัน (bilateral), ตำแหน่งเดียว (unilateral) หรือหลายตำแหน่งร่วมกัน (multiple)

อาการของผู้ป่วยที่เป็นไลเคนแพลนัสในช่องปากที่มาพบทันตแพทย์อาจมีได้ตั้งแต่ตรวจพบโดยบังเอิญและไม่มีอาการใดๆ จนถึงมีอาการรู้สึกไม่ค่อยสบายในช่องปาก ในบางครั้งอาจอ้าปากได้น้อยลง มีอาการปวดแสบปวดร้อน รู้สึกขรุขระในช่องปาก ส่งผลให้คุณภาพชีวิตของผู้ป่วยลดลง⁽¹⁾ มักจะพบรอยโรคบริเวณกระพุ้งแก้มโดยมีลักษณะเป็นร่างแหสีขาว หรืออาจพบรอยแดงร่วมด้วยในผู้ป่วยที่มีอาการแสบ

ไลเคนแพลนัสในช่องปากสามารถแบ่งตามลักษณะทางคลินิก เป็น 3 ชนิดได้แก่ รอยโรคสีขาว (reticular, plaque) รอยโรคสีแดง (erythematous, atrophic) และรอยโรคชนิดแผลถลอก (erosive, bullous)^(3,7)

1. รอยโรคสีขาว สามารถพบได้ 2 ลักษณะได้แก่

1.1 ไลเคนแพลนัสแบบร่างแห (reticular lichen planus) เป็นชนิดที่พบบ่อยที่สุดโดยไม่มีอาการทางคลินิก มักพบบริเวณกระพุ้งแก้มของผู้ป่วย รวมไปถึงบริเวณลิ้นและเหงือก ลักษณะรอยโรคจะเป็นเส้นสีขาวบนพื้นสีแดง (Wickham striae on an erythematous background)

1.2 ไลเคนแพลนัสแบบเป็นปื้นหนา (plaque-like lichen planus) เป็นลักษณะรอยโรคสีขาว ที่มีลักษณะนูนหรือเรียบไปกับเนื้อเยื่อ ลักษณะคล้ายกับรอยโรคลิวดโคเพลเคีย (leukoplakia) ส่วนมากไลเคนแพลนัสชนิดนี้จะพบได้มากในบริเวณลิ้น

2. รอยโรคสีแดง (erythematous, atrophic)

ไลเคนแพลนัสชนิดนี้จะแสดงลักษณะรอยโรคสีแดง ร่วมกับมีการฝ่อลีบของเนื้อเยื่อในช่องปากทำให้เห็นเป็นรอยแดง

3. รอยโรคแผลถลอก พบได้ 2 ลักษณะได้แก่

3.1 ไลเคนแพลนัสแบบตุ่มน้ำ (bullous form) เป็นชนิดที่พบน้อยที่สุด ลักษณะทางคลินิกปรากฏเป็นตุ่มน้ำซึ่งจะมีการพัฒนาไปเป็นไลเคนแพลนัสชนิดแผลถลอกได้

3.2 ไลเคนแพลนัสชนิดแผลถลอก (erosive lichen planus) เป็นชนิดที่มีการฝ่อลีบของเนื้อเยื่อ และมักสัมพันธ์กับบริเวณที่มีแผล ปรากฏลักษณะเป็นรอยสีแดง อาจพบร่างแหสีขาวร่วมด้วยได้ โดยถ้าพบบริเวณเหงือกจะมีลักษณะคล้ายคลึงกับรอยโรคเหงือกอักเสบแบบหลุดลอก (desquamative gingivitis) ผู้ป่วยที่มีลักษณะของไลเคนแพลนัสประเภทนี้จะมีอาการแสบร้อนช่องปากเนื่องจากมีแผล ทำให้การพูด การกิน และการกลืนมีความยากลำบาก

ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของไลเคนแพลนัสในช่องปาก

1. มีการหนาตัวของชั้นเคอราติน (hyperparakeratosis) หรือ (hyperorthokeratosis) และมีการยื่นลงไปในพื้นที่ของเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue) เป็นลักษณะฟันเลื่อย (saw-toothed rete pegs) โดยจะพบได้ในรอยโรคที่ผิวหนังมากกว่าในช่องปาก

2. มีการทำลายของชั้นเบซิลเซลล์ (basal cell) และมีการแทนที่ด้วยอีโอซิโนฟิล โดยจะเห็นเป็นแถบในชั้นเบซิลเซลล์ (eosinophilic band)

3. พบการสะสมตัวของลิมโฟไซต์ในลักษณะเป็นแถวอยู่ในชั้นของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันด้านบนในส่วนที่ติดกับชั้นเยื่อฐาน

นอกจากสามลักษณะข้างต้นที่กล่าวมา ยังมีลักษณะสำคัญอีกชนิดหนึ่งซึ่งพบได้ในรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากคือ civatte bodies (colloid bodies) ซึ่งเป็นโครงสร้างที่มีลักษณะกลมและมีการติดสี H&E คล้ายกับ eosinophilic mass ขนาดประมาณ 10-25 ไมครอนและอาจพบร่วมกับเซลล์อักเสบได้ด้วยในชั้นของเบซิลเซลล์⁽⁷⁾

การวินิจฉัยไลเคนแพลนัสในช่องปาก

โดยส่วนมาก ผู้ป่วยที่เป็นไลเคนแพลนัสในช่องปากมักต้องได้รับการตัดชิ้นเนื้อเพื่อการวินิจฉัยด้วยลักษณะทางจุลพยาธิวิทยา โดยวินิจฉัยแยกโรคออกมาจากกลุ่มที่ใกล้เคียงกันซึ่งได้แก่ มิวคัสเมมเบรนเพมฟิกอยด์ (mucous membrane pemphigoid), เพมฟิกัส วัลการิส (pemphigus vulgaris) หรือมะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมา ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีเกณฑ์เพื่อการวินิจฉัยแยกโรคสำหรับไลเคนแพลนัสโดยองค์การอนามัยโลกได้กำหนดเกณฑ์ในการวินิจฉัยรอยโรคไลเคนแพลนัส ในปี 1978 ดังตาราง 1

ตาราง 1 เกณฑ์การวินิจฉัยไลเคนแพลนัสในช่องปากขององค์การอนามัยโลกปี 1978

เกณฑ์การวินิจฉัยไลเคนแพลนัสในช่องปากขององค์การอนามัยโลกปี 1978⁽³⁾

เกณฑ์ทางคลินิก

- 1) พบรอยโรคสีขาวลักษณะนูน (papule), เป็นร่างแห (reticular), หรือเป็นปื้น (plaque) สีขาว
- 2) พบรอยเส้นสีเทา หรือขาว มีลักษณะเป็นร่างแห (reticular pattern)
- 3) มีการฟ่อลีบของรอยโรค ซึ่งอาจพบร่วมกับการมีแผลถลอก (erosion) หรือไม่ก็ได้

เกณฑ์ทางพยาธิวิทยา

- 1) มีการหนาตัวของชั้นเคอราติน (orthokeratinized หรือ parakeratinized)
 - 2) พบ civatte bodies ในชั้นเบซัลเซลล์, ชั้นเนื้อเยื่อบุผิว และ ชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน
 - 3) พบการสะสมของลิมโฟไซต์เป็นแถบในชั้นของเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน
 - 4) พบการทำลายในชั้นเบซัลเซลล์
-

ในปี 2003 ได้มีการปรับปรุงเกณฑ์การวินิจฉัยไลเคนแพลนัสในช่องปากขึ้นใหม่โดยสรุปว่าการจะวินิจฉัยผู้ป่วยว่าเป็นไลเคนแพลนัสนั้นจะต้องมีลักษณะที่เข้าเกณฑ์ครบทั้งลักษณะทางคลินิกและลักษณะทางจุลพยาธิวิทยา ซึ่งถ้ามีรอยโรคที่เข้าเกณฑ์เพียงข้อใดข้อหนึ่งไม่ครบทุกข้อตามลักษณะที่กำหนดจะจัดรอยโรคนั้นๆ เป็นเพียงรอยโรคที่เข้ากันได้กับไลเคนแพลนัสในช่องปากเท่านั้น ไม่สามารถจัดเป็นการวินิจฉัยสุดท้ายได้ (final diagnosis) ดังตารางที่ 2

ตาราง 2 เกณฑ์การวินิจฉัยไลเคนแพลนัสในช่องปาก ปรับปรุงจากเกณฑ์ขององค์การอนามัยโลกปี 2003

เกณฑ์การวินิจฉัยไลเคนแพลนัสในช่องปาก ปรับปรุงจากเกณฑ์ขององค์การอนามัยโลกปี 2003⁽²⁰⁾

เกณฑ์ทางคลินิก

- 1) พบทั้งสองด้านหรือมีลักษณะของรอยโรคที่มีความสมมาตรกัน
- 2) มีลักษณะร่างแหเป็นเส้นสีเทาหรือสีขาว (reticular pattern)
- 3) ลักษณะแผลถลอก, ฝ่อลีบ, ตุ่มน้ำ และปื้นขาว จัดเป็นชนิดย่อยในรอยโรคที่มีลักษณะร่างแห
- 4) การวินิจฉัยจำเป็นต้องเข้าเกณฑ์ทั้ง 3 ข้อและหากขาดข้อใดข้อหนึ่งจะจัดเป็นรอยโรคที่เข้ากันได้กับไลเคนแพลนัสในช่องปากเท่านั้น

เกณฑ์ทางพยาธิวิทยา

- 1) พบลักษณะแถบที่มีการสะสมของลิมโฟไซต์ที่มีขอบเขตชัดเจนบริเวณผิวของชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน
 - 2) มีการทำลายของชั้นเบซิลเซลล์
 - 3) ไม่พบการเปลี่ยนแปลงที่ผิดปกติของชั้นเยื่อเมือก (absence of epithelial dysplasia)
 - 4) การวินิจฉัยจำเป็นต้องเข้าเกณฑ์ทั้ง 3 ข้อและหากขาดข้อใดข้อหนึ่งจะจัดเป็นรอยโรคที่เข้ากันได้กับไลเคนแพลนัสในช่องปากเท่านั้น
-

การรักษาไลเคนแพลนัสในช่องปาก

การรักษาผู้ป่วยไลเคนแพลนัสในช่องปากมักรักษาตามอาการ เพื่อลดความเจ็บปวด โดยหวังผลให้มีการหายของแผล หรือรอยแดงที่เกิดขึ้นในช่องปาก ซึ่งกลุ่มยาที่ใช้ในการรักษานั้น ได้แก่ยาในกลุ่มสเตียรอยด์ ซึ่งยากกลุ่มนี้จะช่วยในการกดภูมิคุ้มกันไว้ให้มีการทำงานที่ลดลง แบ่งเป็นสองชนิดได้แก่ แบบใช้เฉพาะที่และแบบรับประทาน

ในผู้ป่วยที่มีรอยโรคเฉพาะตำแหน่งสามารถเข้าชนิดทาเฉพาะที่ ทาในบริเวณที่มีรอยโรควันละ 3-4 ครั้งโดยใช้ทาหลังอาหาร แต่ถ้าหากมีรอยโรคเกิดหลายตำแหน่งอาจใช้ในรูปแบบน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของสเตียรอยด์บ้วนปากวันละ 2 ครั้ง ในกรณีให้การรักษาด้วยยา สเตียรอยด์แบบเฉพาะที่แล้วไม่ได้ผล อาจพิจารณาจ่ายยาเป็นชนิดรับประทาน โดยจะให้รับประทานยาในระยะสั้นๆ⁽¹⁸⁾ โดยการให้ยาในรูปแบบเฉพาะที่สามารถใช้ไตรแอมซิโนโลนอะเซตโตไนด์ (triamcinolone acetonide) ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร หรือ เดกซาเมทาโซน (dexamethasone) ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยจะแนะนำให้บ้วนปากหลังมื้ออาหารครั้งละ 5 มิลลิลิตร หลังจากนั้นห้ามรับประทานอาหารเป็นเวลา 1 ชั่วโมง การให้ยาในรูปแบบรับประทานใช้ เพรดนิโซโลน (prednisolone) โดยขนาดยาที่ให้ จะมีสองกลุ่มด้วยกันกลุ่มแรกในผู้ป่วยที่มีความรุนแรงของโรคในระดับปานกลางถึงรุนแรงจะให้ยาอยู่ในช่วง 10-20 มิลลิกรัมต่อวัน แต่ในกรณีที่ผู้ป่วยมีระดับความรุนแรงอยู่ในระดับรุนแรงมากจะปรับขนาดยาตามน้ำหนักตัว โดยใช้ขนาดยา 0.5 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน (mg/kg daily) โดยการให้ยาจะเห็นผลได้ชัดเจนภายในสองสัปดาห์⁽²¹⁾

การเปลี่ยนแปลงของรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากไปเป็นมะเร็ง

ในปัจจุบันมีรายงานถึงการเปลี่ยนแปลงของรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากไปเป็นมะเร็งซึ่งสามารถพบได้ประมาณร้อยละ 1⁽⁹⁾ โดยอัตราการเปลี่ยนแปลงสูงสุดอยู่ที่ร้อยละ 6.5 และน้อยสุดอยู่ที่ร้อยละ 0.4⁽²²⁾ ในจำนวนนี้เป็นเพศหญิงมากกว่าเพศชายประมาณ 2-3 เท่า⁽²⁾ ในปัจจุบันไลเคนแพลนัสในช่องปากถูกจัดอยู่ในกลุ่มของรอยโรคที่มีความเสี่ยงต่อการเปลี่ยนแปลงไปเป็นมะเร็ง (potentially malignant lesion) อย่างไรก็ตามยังเป็นที่ถกเถียงกันว่าไลเคนแพลนัสในช่องปากนั้นจัดเป็นรอยโรคก่อนมะเร็งหรือไม่ (pre-malignant lesion) เนื่องจากลักษณะทางคลินิกของไลเคนแพลนัสในช่องปากมีความคล้ายคลึงกับรอยโรคอื่นๆ ยกตัวอย่างเช่น เยื่อในช่องปากอักเสบ (mucositis), อีพิทีเลียลดิสเพลเซีย (epithelial dysplasia), ปฏิกริยาไลเคนอยด์ (lichenoid reaction) ดังนั้นจึงทำให้การสรุปเป็นได้ยาก หากมีการวินิจฉัยแยกโรคที่ไม่ถูกต้อง โดยมีความจำเป็นที่จะต้องให้การวินิจฉัยให้แน่นอนว่ารอยโรคที่พบเป็นไลเคนแพลนัสใน

ช่องปากที่แท้จริง โดยในปี 1978 องค์การอนามัยโลก (WHO) ได้จัดทำเกณฑ์ที่ใช้ในการวินิจฉัยแยกโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากขึ้น และได้มีการปรับปรุงเกณฑ์ขึ้นอีกครั้งในปี 2003 โดย van der Meij และคณะ⁽²⁰⁾ เพื่อช่วยในการวินิจฉัยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปาก

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงไปเป็นมะเร็งของไลเคนแพลนัสในช่องปากทางคลินิก มีผลการศึกษาทั้งที่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงไปเป็นมะเร็ง รวมถึงมีการศึกษาที่ยังไม่สามารถให้ข้อสรุปอย่างแน่ชัดว่ามีการเปลี่ยนแปลงของรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากไปเป็นมะเร็งได้ โดยการศึกษานี้ของ Krutchkoff และคณะ ในปี ค.ศ. 1978⁽³¹⁾ ได้ศึกษาโดยการทบทวนปริทัศน์วรรณกรรม พบรายงานการเปลี่ยนแปลงไปเป็นมะเร็งในผู้ป่วยรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากที่มีรายงานไว้จำนวน 223 ราย แต่พบว่าผู้ป่วยเพียง 15 รายที่มีหลักฐานชี้ชัดถึงการเปลี่ยนแปลงไปเป็นมะเร็งจากรอยโรคไลเคนแพลนัสที่ผู้ป่วยมี นอกนั้นพบหลักฐานที่อ่อนและไม่น่าเชื่อถือนัก ตัวอย่างเช่น มีผู้ป่วย 8 รายให้ประวัติเคยได้รับสารก่อมะเร็งมาก่อน ในขณะที่ผู้ป่วยอีก 7 รายมีข้อมูลไม่เพียงพอที่จะสรุปว่าผู้ป่วยเคยได้รับสารก่อมะเร็งมาก่อน เป็นต้น ดังนั้นรายงานวิจัยฉบับนี้จึงยังไม่สามารถสรุปได้ชัดเจนถึงการเปลี่ยนแปลงของไลเคนแพลนัสในช่องปากไปเป็นมะเร็ง เนื่องจากไม่สามารถตัดปัจจัยภายนอกที่เกี่ยวกับการได้รับสารก่อมะเร็งออกไปได้⁽²³⁾

van der Meij และคณะ ในปี ค.ศ. 2007⁽¹¹⁾ ได้ศึกษาแบบไปข้างหน้า (prospective) ในรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปาก และรอยโรคไลเคนอยด์ในผู้ป่วย 192 ราย โดยในจำนวนนั้นเป็นไลเคนแพลนัสในช่องปาก 67 ราย และรอยโรคไลเคนอยด์ 125 ราย โดยใช้เกณฑ์วินิจฉัยของ van der Meij ปี 2003⁽²⁰⁾ พบมีการเปลี่ยนแปลงของรอยโรคไปเป็นมะเร็งในผู้ป่วย 4 ราย (2.1%) ซึ่งเป็นเพศหญิง 2 รายและเพศชาย 2 ราย โดยทั้ง 4 รายเป็นผู้ป่วยที่เป็นรอยโรคไลเคนอยด์ทั้งหมด และในการศึกษานี้ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากไปเป็นมะเร็ง⁽¹¹⁾

แต่อย่างไรก็ตามมีการศึกษาที่พบการเปลี่ยนแปลงของรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากไปเป็นมะเร็ง ได้แก่ การศึกษาของ Monoarz และคณะ ในปี ค.ศ. 1993⁽⁴⁾ พบว่าผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นไลเคนแพลนัสในช่องปาก จำนวน 280 ราย มีผู้ป่วยจำนวน 8 รายที่มีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นมะเร็ง โดยเป็นเพศหญิงจำนวน 6 ราย และเพศชายจำนวน 2 ราย มีช่วงอายุอยู่ที่ 34-76 ปี ตำแหน่งที่พบการเปลี่ยนแปลงมากที่สุดได้แก่ บริเวณลิ้นจำนวน 5 ราย บริเวณเหงือกของขากรรไกรบน 2 ราย และกระพุ้งแก้ม 1 ราย ซึ่งผู้ป่วยส่วนใหญ่ที่มีการเปลี่ยนแปลงของรอยโรคไปเป็นมะเร็งมักเป็นรอยโรคไลเคนแพลนัสชนิดแผลถลอก⁽⁴⁾

Bombeckari และคณะ ในปี ค.ศ. 2011⁽¹⁰⁾ ได้ศึกษาผู้ป่วยจำนวน 327 รายที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นไลเคนแพลนัสในช่องปากตามเกณฑ์ของ van der Meij ในปี ค.ศ. 2003⁽²⁰⁾ ซึ่งได้คัด

ผู้ที่มีปัจจัยเสี่ยงออกจากการศึกษา เช่น การดื่มแอลกอฮอล์ การสูบบุหรี่ รวมถึงการเป็นโรคมะเร็งที่ตำแหน่งอื่นในร่างกาย โดยผลการศึกษาพบว่าผู้ป่วยจำนวน 8 ราย คิดเป็นร้อยละ 2.4 มีการเปลี่ยนแปลงของรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากไปเป็นมะเร็ง แบ่งเป็นเพศหญิงจำนวน 5 ราย และเพศชายจำนวน 3 ราย โดยมีระยะเวลาติดตามผลเฉลี่ยที่ 81 เดือน มีผู้ป่วย 5 รายจาก 8 รายที่มีรอยโรคไลเคนแพลนัสชนิดแผลถลอก ซึ่งการศึกษานี้สรุปว่าไลเคนแพลนัสในช่องปากชนิดแผลถลอกอาจมีความเสี่ยงที่จะมีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นมะเร็งได้มากกว่าไลเคนแพลนัสในช่องปากชนิดอื่น⁽¹⁰⁾

การศึกษาของ Shen และคณะ ในปี ค.ศ. 2011⁽²⁾ ได้ทำการติดตามผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นไลเคนแพลนัสในช่องปากจำนวน 518 รายโดยใช้เกณฑ์ของ WHO ปี 1978 พบว่ามีผู้ป่วยจำนวน 5 รายจาก 518 ราย มีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นมะเร็งซึ่งเป็นเพศหญิงทั้ง 5 ราย โดยมีระยะเวลาติดตามผลเฉลี่ยอยู่ที่ 70.4 เดือน และยังพบว่าผู้ป่วย 4 จาก 5 รายมีรอยโรคไลเคนแพลนัสชนิดที่มีรอยแดงร่วมด้วย⁽²⁾

การศึกษาของ Tovar และคณะ ในปี ค.ศ. 2013⁽⁶⁾ ได้รวบรวมประวัติของผู้ป่วยที่เป็นไลเคนแพลนัสในช่องปากจำนวน 889 ราย รวมถึงประวัติทางการแพทย์ทั้งหมด เช่น โรคทางระบบประวัตินการสูบบุหรี่ และการดื่มแอลกอฮอล์ ตำแหน่งของการเกิดไลเคนแพลนัสในช่องปาก อาการสำคัญ เป็นต้น พบว่าผู้ป่วย 6 รายมีการเปลี่ยนแปลงของไลเคนแพลนัสในช่องปากไปเป็นมะเร็ง โดยเป็นเพศหญิง 4 รายและเพศชาย 2 ราย ซึ่งผู้ป่วย 5 จาก 6 ราย มีประวัติเป็นไลเคนแพลนัสชนิดแผลถลอก และอีก 1 รายเป็นไลเคนแพลนัสแบบว่างแห จากการศึกษานี้สรุปว่าการเกิดการอักเสบแบบเรื้อรังของรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากอาจส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงไปเป็นมะเร็งของรอยโรคได้⁽⁶⁾

นอกจากการศึกษาทางคลินิกในการติดตามรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากว่ามีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นมะเร็งหรือไม่ ยังมีการศึกษาเกี่ยวกับการหาตัวบ่งชี้ในระดับโมเลกุลที่เกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงไปเป็นมะเร็ง เช่น p53 และ เมทริกซ์เมทัลโลโปรตีนเนส เป็นต้น โดยใช้วิธีทางอิมมูโนฮิสโตเคมี ซึ่งพบมีการเปลี่ยนแปลงของระดับโปรตีนดังกล่าว โดยการศึกษาของ Valente และคณะ ในปี ค.ศ. 2001⁽²⁴⁾ ได้ศึกษาการแสดงออกของโปรตีน p53 ในผู้ป่วยที่มีรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปาก จำนวน 28 ราย โดยมีการติดตามรอยโรคสูงสุด 96 เดือน หลังจากติดตามผลสามารถแบ่งผู้ป่วยได้ 3 กลุ่ม ได้แก่ ผู้ป่วยที่มีรอยโรคไลเคนแพลนัสแต่ไม่มีการพัฒนาไปเป็นมะเร็งช่องปากและไม่มีการเปลี่ยนแปลงแบบดิสเพลเซีย (dysplastic change) จำนวน 15 ราย กลุ่มที่ 2 ผู้ป่วยที่มีรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากร่วมกับการมีมะเร็งช่องปากชนิดสควamous cell carcinoma

มา จำนวน 7 ราย, กลุ่มที่ 3 ผู้ป่วยที่มีรอยโรคมะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมาซึ่งเคยได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นไลเคนแพลนัสในช่องปาก จำนวน 6 ราย และกลุ่มที่ 4 คือกลุ่มเนื้อเยื่อปกติ จำนวน 7 ราย จากการศึกษาพบว่าในกลุ่มที่ 2 และ 3 มีการแสดงออกของโปรตีน p53 มากกว่าในกลุ่มที่ 1 และ 4 อย่างมีนัยสำคัญ แต่ไม่มีความแตกต่างระหว่างกลุ่มที่ 1 และกลุ่มที่ 4 จากการศึกษานี้อาจสรุปได้ว่าการแสดงออกของ p53 สามารถนำมาใช้เป็นเครื่องมือในการติดตามรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากที่มีความเสี่ยงต่อการเปลี่ยนแปลงไปเป็นมะเร็งได้⁽²⁴⁾

นอกจากนั้นการศึกษาของ Chen และคณะ ในปี ค.ศ. 2008⁽²⁵⁾ ได้ศึกษาการแสดงออกของ MMPs, TIMP-2 และ TGF- β 1 ในรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากด้วยวิธีทางอิมมูโนฮิสโตเคมี โดยแบ่งกลุ่มประชากรออกเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่ 1 คือกลุ่มผู้ป่วยไลเคนแพลนัสในช่องปากจำนวน 27 ราย ซึ่งในจำนวนนี้เป็นกลุ่มที่ไม่พบการฝ่อลีบของเนื้อเยื่อ (non atrophic) 15 ราย และพบการฝ่อลีบของเนื้อเยื่อด้วย (atrophic) 12 ราย, กลุ่มที่ 2 คือกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมาที่มีการเปลี่ยนแปลงมาจากรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปาก จำนวน 15 ราย และกลุ่มที่ 3 คือกลุ่มเนื้อเยื่อปกติ 11 ราย ผลการศึกษาพบว่ารอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากที่ไม่มีการฝ่อลีบของเนื้อเยื่อ ร่วมด้วยมีการแสดงออกของ MMP-2, MMP-9, TIMP-2 และ TGF- β 1 ร้อยละ 60, 60, 53.33 และ 86.67 ตามลำดับ, กลุ่มไลเคนแพลนัสในช่องปากที่พบการฝ่อลีบของเนื้อเยื่อ มีการแสดงออกของ MMP-2, MMP-9, TIMP-2 และ TGF- β 1 ร้อยละ 91.67, 91.67, 91.67 และ 66.67 ตามลำดับ และกลุ่มมะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมา พบการแสดงออกของ MMP-2, MMP-9, TIMP-2 และ TGF- β 1 ร้อยละ 93.33, 93.33, 66.67 และ 86.67 ตามลำดับ จากการศึกษาพบว่ามีการแสดงออกของโปรตีน MMP-2, MMP-9, TIMP-2, และ TGF- β 1 ในกลุ่มของ ไลเคนแพลนัสในช่องปากที่พบการฝ่อลีบของเนื้อเยื่อ และกลุ่มของมะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมาสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มของเนื้อเยื่อปกติและไลเคนแพลนัสในช่องปากชนิดไม่พบการฝ่อลีบของเนื้อเยื่อ ซึ่งในการศึกษานี้สรุปได้ว่าความไม่สมดุลระหว่าง MMPs และ TIMP-2 อาจมีบทบาทต่อการเกิดมะเร็งในรอยโรคไลเคนแพลนัส โดยเฉพาะ MMP-9 อาจใช้เป็นตัวบ่งชี้ความน่าจะเป็นในการเปลี่ยนแปลงของรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากไปเป็นมะเร็งได้⁽²⁵⁾

คาเทปซิน (Cathepsin)

คาเทปซิน เป็นเอนไซม์ซึ่งอยู่ในไลโซโซมโดยพบได้ทั่วไปในเซลล์ของมนุษย์และสามารถทำงานได้ดีในสภาพแวดล้อมที่เป็นกรดอ่อนๆ โดยบทบาทหลักของคาเทปซินคือการเป็นเอนไซม์ที่ย่อยสลายโปรตีน (protease) ทั้งในเซลล์และนอกเซลล์ และควบคุมสมดุลในหลายระบบของร่างกายไม่ว่าจะเป็นการอักเสบ, การเปลี่ยนแปลงของฮอร์โมน, การซ่อมแซมเนื้อเยื่อ, การละลายตัวของกระดูก, การเพิ่มจำนวนและการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ รวมไปถึงการเจริญเติบโต และการลุกลามของเซลล์เนื้องอก⁽²⁶⁾

คาเทปซินสามารถแบ่งได้ 3 ชนิดตามกลุ่มอะมิโนที่จับอยู่ ได้แก่ซิสเตอีน, เซอรีน และแอสปาติกคาเทปซินแอลถูกจัดอยู่ในกลุ่มของซิสเตอีนคาเทปซิน ซึ่งซิสเตอีนคาเทปซินสามารถพบได้ในร่างกายมนุษย์และมีทั้งหมด 11 ชนิดด้วยกันได้แก่ B, C, F, H, K, L, O, S, V, X, และ W ในกลุ่มของคาเทปซิน B, C, F, H, L, O, V, และ X พบได้ในเซลล์ทั่วไปโดยเกี่ยวข้องกับกระบวนการย่อยสลายโปรตีนและ protein turnover ในทางกลับกัน คาเทปซิน K, W, และ S จะพบในเนื้อเยื่อเฉพาะเช่น คาเทปซิน K พบใน ออสติโอคลาส (osteoclast) และเกี่ยวข้องกับการละลายของกระดูก, คาเทปซิน W พบในซีดี-8 ลิมโฟไซต์ และเนเชอรัลคิลเลอร์เซลล์ (NK cells)⁽²⁷⁾

คาเทปซินกับมะเร็ง

ความสัมพันธ์ของซิสเตอีนคาเทปซินกับการเกิดมะเร็งนั้นถูกพบครั้งแรกในหนู โดยมีบทบาทสำคัญต่อการดำเนินโรคและการลุกลามของเนื้องอก ซึ่งคาดว่ากลไกที่ทำให้เกิดการลุกลามของเนื้องอกหรือเซลล์มะเร็งคือ ความสามารถในการย่อยสลายเมทริกซ์นอกเซลล์ (extracellular matrix) และเยื่อพื้นฐาน จึงทำให้เซลล์มะเร็งมีโอกาสที่จะลุกลามไปยังอวัยวะอื่นๆได้เพิ่มมากขึ้น⁽²⁶⁾ การแสดงออกของคาเทปซินแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันไปตามชนิดของเนื้องอกที่เกิดขึ้น รวมถึงการแสดงออกของคาเทปซินที่มากขึ้นยังสามารถบ่งบอกถึงความรุนแรงที่มากขึ้นในผู้ป่วยมะเร็ง ดังนั้นจึงมีการใช้คาเทปซินเป็นตัวชี้วัดของการพยากรณ์โรคในผู้ป่วย การศึกษาของ Nakashima และคณะ ในปี ค.ศ. 2012⁽¹⁴⁾ ได้ศึกษาการแสดงออกของคาเทปซินแอลด้วยวิธีทางอิมมูโนฮิสโตเคมี ในรอยโรคมะเร็งช่องปากชนิดสควamous เซลล์คาร์ซิโนมาเปรียบเทียบกับเนื้อเยื่อปกติ พบว่ามีการแสดงออกของคาเทปซินแอลในมะเร็งช่องปากชนิดสควamous เซลล์คาร์ซิโนมาที่เซลล์เยื่อบุผิวเพิ่มมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อเยื่อปกติ และยังพบว่าระยะของมะเร็งที่มีความรุนแรงมาก (Stage III-IV) จะมีการแสดงออกของคาเทปซินแอลที่มากกว่าระยะที่มีความรุนแรงน้อย (Stage I-II)⁽¹⁴⁾

นอกจากรายงานถึงความสัมพันธ์ของคาเทปซินแอลกับโรคมะเร็งแล้ว ยังมีการศึกษาถึงความสัมพันธ์ของคาเทปซินดี คาเทปซินบีกับโรคมะเร็ง โดยพบว่าคาเทปซินดีสามารถแสดงออกในรอยโรคก่อนมะเร็งและมะเร็งได้เช่นกัน ในการศึกษาของ Yogesh และคณะ ในปี ค.ศ. 2011⁽²⁸⁾ ได้ศึกษาการแสดงออกของคาเทปซินดีและอีแคทฮีรีน (E-cadherin) ในรอยโรคอีพิทีเลียลดีสเพลเซียจำนวน 22 ราย มะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมาจำนวน 8 ราย และเนื้อเยื่อปกติจำนวน 10 ราย พบว่ามีการแสดงออกของคาเทปซินดีในรอยโรคอีพิทีเลียลดีสเพลเซียและมะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมาร้อยละ 100 แต่ในเนื้อเยื่อปกติพบการแสดงออกเพียงร้อยละ 20 โดยรูปแบบการแสดงออกของคาเทปซินดีในรอยโรคอีพิทีเลียลดีสเพลเซีย จะพบในชั้นบนของชั้นเยื่อบุผิวและมีความเข้มข้นระดับปานกลาง ส่วนในเซลล์อักเสบและแมคโครฟาจพบมีความเข้มของการติดสีมาก ในรอยโรคมะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมา พบการติดสีเข้มในเซลล์มะเร็งและเคอราตินเพิล (keratin pearl) ในทางกลับกันพบว่าการแสดงออกของอีแคทฮีรีนในรอยโรคอีพิทีเลียลดีสเพลเซียมีการหายไปบางส่วน โดยระดับความรุนแรงของรอยโรคที่เพิ่มมากขึ้นจะพบการแสดงออกของอีแคทฮีรีนที่น้อยลง และในรอยโรคมะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมาพบว่าการแสดงออกของอีแคทฮีรีนที่ลดลง จึงเป็นไปได้ว่าคาเทปซินดีอาจมีผลต่อกลไกการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เยื่อบุผิวไปเป็นมะเร็งได้ โดยเชื่อว่าหากมีการแสดงออกของอีแคทฮีรีนที่ลดลงแต่มีการเพิ่มขึ้นของคาเทปซินดี รอยโรคก่อนมะเร็งนั้นมีความเสี่ยงที่จะมีการลุกลามหรือเปลี่ยนแปลงไปเป็นรอยโรคมะเร็งได้⁽²⁸⁾ นอกจากนี้การศึกษาของ Hirano และคณะ ในปี ค.ศ. 1993⁽²⁹⁾ ได้ศึกษาการแสดงออกของคาเทปซินบีในเลือดและปัสสาวะของผู้ป่วยมะเร็งจำนวน 14 ราย โดย 7 รายเป็นผู้ป่วยมะเร็งที่ไม่พบการแพร่กระจาย (metastasis) และอีก 7 รายเป็นผู้ป่วยที่มีการแพร่กระจายของมะเร็ง โดยเปรียบเทียบกับคนปกติ พบว่าการแสดงออกของคาเทปซินบีในเลือดและปัสสาวะของผู้ป่วยมะเร็งมีค่าสูงกว่าในคนปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และผู้ป่วยที่มีการแพร่กระจายของมะเร็งแล้วจะมีระดับของคาเทปซินบีในเลือดและปัสสาวะสูงกว่าในผู้ป่วยมะเร็งที่ยังไม่พบการแพร่กระจาย⁽²⁹⁾

คาเทปซินกับรอยโรคไลเคนแพลานัส

มีการศึกษาที่พบการแสดงออกของคาเทปซินในรอยโรคไลเคนแพลานัส โดยพบการศึกษาเกี่ยวกับการแสดงออกของคาเทปซินเค และคาเทปซินบี ในรอยโรคไลเคนแพลานัสในช่องปาก อย่างไรก็ตามการศึกษาถึงการแสดงออกของคาเทปซินแอลพบเพียงการศึกษาในรอยโรคไลเคนแพลานัสที่ผิวหนังเท่านั้น โดย Satelur และคณะ ในปี ค.ศ. 2017⁽³⁰⁾ ได้ศึกษาการแสดงออกของ

คาเทปซินบีด้วยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมีในรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปาก จำนวน 50 ตัวอย่าง เปรียบเทียบกับชิ้นเนื้อเห็งือกปกติและมะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมา กลุ่มละ 10 ตัวอย่าง ผลการศึกษาพบว่ารอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากมีความเข้มของการติดสีย้อมของคาเทปซินบีมากกว่าเนื้อเห็งือกปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่พบความแตกต่างกับกลุ่มมะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมา และพบการแสดงออกของคาเทปซินบีในไซโตพลาสซึมของเซลล์ในชั้นเยื่อฐานในรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปาก จึงเป็นไปได้ว่าคาเทปซินบีอาจมีบทบาทในกลไกการเกิดโรคไลเคนแพลนัสในช่องปาก⁽³⁰⁾

การศึกษาของ Siponen และคณะ ในปี ค.ศ. 2016⁽³¹⁾ ได้ศึกษาการแสดงออกของคาเทปซินเคในรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปาก จำนวน 25 ราย เปรียบเทียบกับเนื้อเยื่อปกติจำนวน 14 ราย พบว่ามีการแสดงออกของคาเทปซินเคในรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากมากกว่าเนื้อเยื่อปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งในด้านของจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกและความเข้มของการติดสีโดยพบการแสดงออกของคาเทปซินเคในไซโตพลาสซึมของแมคโครฟาจ (macrophages) , ไฟโบรบลาสต์ (fibroblast), เมลาโนไซต์ (melanocytes) และเอนโดทีเลียลเซลล์ (endothelial cells) แต่ในเนื้อเยื่อปกติสามารถพบการแสดงออกของคาเทปซินเคในเซลล์ไฟโบรบลาสต์ได้ โดยมีความเข้มอยู่ในระดับน้อย และเมื่อรักษาไลเคนแพลนัสในช่องปากแก่ผู้ป่วยโดยใช้ยาทาโคโรลิมุส (tacrolimus) พบว่ามีการแสดงออกของคาเทปซินเคในบริเวณเยื่อบุผิวลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับก่อนให้การรักษา จากการศึกษาี้สรุปได้ว่าคาเทปซินเค อาจมีบทบาทในการดำเนินไปของโรคไลเคนแพลนัสในช่องปาก⁽³¹⁾

Ibrahim และคณะ ในปี ค.ศ. 2015⁽¹⁶⁾ ได้ศึกษาการแสดงออกของคาเทปซินแอลในรอยโรคไลเคนแพลนัสที่ผิวหนัง โดยแบ่งกลุ่มศึกษา เป็นผู้ป่วยผื่นภูมิแพ้ผิวหนัง (atopic dermatitis) 15 ราย, ไลเคนแพลนัสที่ผิวหนัง 15 ราย และผิวหนังปกติจำนวน 10 ราย พบว่ามีการแสดงออกของคาเทปซินแอลเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในกลุ่มรอยโรคไลเคนแพลนัสที่ผิวหนัง และโรคผื่นภูมิแพ้ผิวหนัง เมื่อเปรียบเทียบกับผิวหนังปกติ โดยพบการแสดงออกของคาเทปซินแอลบริเวณที่ติดกันของเยื่อผิวและเนื้อเยื่อเกี่ยวพันเป็นส่วนใหญ่ จากการศึกษาี้สรุปว่าคาเทปซินแอลอาจมีบทบาทในการดำเนินไปของโรคไลเคนแพลนัสที่ผิวหนัง และโรคผื่นภูมิแพ้ผิวหนัง⁽¹⁶⁾ อย่างไรก็ตามจากการทบทวนวรรณกรรมที่ผ่านมายังไม่พบการศึกษาวิจัย ที่ศึกษาถึงการแสดงออกของคาเทปซินแอลในรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปาก ผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะศึกษาในประเด็นนี้

บทที่ 3 ระเบียบวิธีการวิจัย

การกำหนดกลุ่มประชากร

การคำนวณกลุ่มตัวอย่างประชากรโดยใช้สูตรคำนวณจาก Cochran, 1977⁽³²⁾ โดยอ้างอิงตัวเลขที่ใช้แทนสูตรจากร้อยละของการเกิดโรคไลเคนแพลนัสในช่องปาก⁽¹⁾

$$n = \frac{Z^2 P(1-P)}{p^2} \text{ แทนค่า } \frac{(1.96)^2(0.005)(1-0.005)}{0.05^2} = 7.64$$

โดยตัวแปรที่มีค่าดังนี้

n = กลุ่มประชากรที่ใช้ในการศึกษา

Z = 1.96

P = ร้อยละของการเกิดโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากมีค่า เท่ากับ 0.005⁽¹⁾

D = ค่าความคลาดเคลื่อน มีค่า 0.05

ดังนั้นกลุ่มตัวอย่างที่นำมาศึกษาในครั้งนี้แบ่งเป็น 4 กลุ่มได้แก่

1. ขึ้นเนื้อไลเคนแพลนัสในช่องปาก จำนวน 10 ตัวอย่าง
2. ขึ้นเนื้อรอยโรคอีพิทีเลียลติสเพลเซีย จำนวน 10 ตัวอย่าง
3. ขึ้นเนื้อมะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมา จำนวน 10 ตัวอย่าง
4. ขึ้นเนื้อหึงอกปกติ สำหรับเป็นกลุ่มควบคุม จำนวน 10 ตัวอย่าง

ประชากรที่ใช้ในการศึกษา

แบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ ขึ้นเนื้อไลเคนแพลนัสในช่องปาก ขึ้นเนื้ออีพิทีเลียลติสเพลเซีย ขึ้นเนื้อมะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมา และเนื้อหึงอกปกติซึ่งเป็นกลุ่มควบคุม โดยขึ้นเนื้อไลเคนแพลนัสในช่องปาก ขึ้นเนื้ออีพิทีเลียลติสเพลเซียและขึ้นเนื้อมะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมา เป็นขึ้นเนื้อในพาราฟินบล็อก ที่อยู่ในคลังของแผนกทันตพยาธิวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ โดยเป็นขึ้นเนื้อระหว่างปี พ.ศ. 2553-2561 และขึ้นเนื้อหึงอกปกติ เป็นขึ้นเนื้อที่ได้มาจากผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาฟันที่สามัคคี ณ คลินิกศัลยศาสตร์ช่องปาก โรงพยาบาลทันตกรรม คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ โดยขึ้นเนื้อที่ได้เป็นเนื้อหึงอกที่ติดมากับฟันเท่านั้น ซึ่งได้ผ่านการ

รับรองจากคณะกรรมการจริยธรรมสำหรับพิจารณาโครงงานวิจัยที่ทำในมนุษย์ จากมหาวิทยาลัยศรีนครินทร วิโรฒ เลขที่รับรอง SWUEC/E-085/2562

ชิ้นเนื้อกลุ่มที่นำมาศึกษา

เกณฑ์คัดเข้า

1. ชิ้นเนื้อผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยโดยลักษณะทางคลินิกว่าเป็นรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากร่วมกับผลชิ้นเนื้อทางจุลพยาธิวิทยาที่ได้รับการวินิจฉัยว่า oral lichen planus or consistent with oral lichen planus
2. ชิ้นเนื้อที่ได้รับการวินิจฉัยทางจุลพยาธิวิทยาว่าเป็นรอยโรคอีพิทีเลียลติสเพลเซีย
3. ชิ้นเนื้อที่ได้รับการวินิจฉัยทางจุลพยาธิวิทยาว่าเป็นมะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมา

เกณฑ์การคัดออก

ชิ้นเนื้อที่มีขนาดเล็กและมีลักษณะจุลพยาธิวิทยาที่ไม่ครบถ้วนตามลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาที่สามารถให้การวินิจฉัยโรคได้ด้วยลักษณะทางจุลพยาธิวิทยา

กลุ่มควบคุม

เกณฑ์คัดเข้า

เป็นชิ้นเนื้อเหงือกที่เก็บจากผู้ป่วยอายุ 20-60 ปี ที่มารับการผ่าตัดฟันกรามซี่ที่สามคู่ ณ คลินิกศัลยศาสตร์ช่องปาก โรงพยาบาลทันตกรรม คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

เกณฑ์การคัดออก

เนื้อเหงือกบริเวณที่ผ่าตัดฟันกรามซี่ที่สามคู่ มีการอักเสบหรือติดเชื้อหรือมีประวัติการอักเสบของเหงือกบริเวณนั้นมาก่อน

วิธีดำเนินการวิจัย

การศึกษาจะเป็นการนำชิ้นเนื้อที่ถูกเก็บในบลิอคพาราฟินมาย้อมด้วยวิธีทางอิมมูโนฮิสโตเคมีเพื่อประเมินการแสดงออกและรูปแบบการแสดงออกของคาเทปซินแอลและนำมาวิเคราะห์ผล โดยมีขั้นตอนดังนี้

1. ชิ้นเนื้อรอยโรคในคลัง โดยเป็นชิ้นเนื้อตั้งแต่ปี พ.ศ. 2553-2561 โดยจะใช้ชิ้นเนื้อรอยโรคที่อยู่ในบลิอคพาราฟิน รวมถึงข้อมูลผู้ป่วยประกอบการส่งชิ้นเนื้อจากทันตแพทย์ผู้ส่งตรวจ ซึ่งผู้วิจัยจะได้มาจากใบส่งตรวจทางทันตพยาธิวิทยาเท่านั้น ซึ่งเลือกใช้ชิ้นเนื้อที่ถูกวินิจฉัยด้วยลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาว่าเป็นรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปาก, อีพิทีเลียติสเพลเซีย, มะเร็งช่องปากชนิดสควamousเซลล์คาร์ซิโนมา

2. กลุ่มควบคุม จะใช้เนื้อเยื่อเหงือกปกติโดยเป็นเนื้อเยื่อเหงือกที่ไม่พบการอักเสบจากผู้ป่วยที่เข้ารับการผ่าตัดฟันกรามซี่ที่สามคุด ที่มาเพื่อรับการรักษาที่คลินิกศัลยศาสตร์ช่องปากโรงพยาบาลทันตกรรม คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ซึ่งเป็นชิ้นเหงือกที่ติดออกมากับฟันเท่านั้น โดยจะเก็บชิ้นเนื้อเหงือกที่ได้ออกมาแล้วในน้ำยาฟอร์มาลินความเข้มข้นร้อยละ 10

3. นำชิ้นเหงือกที่ได้รับมาผ่านขั้นตอนเตรียมชิ้นเนื้อทางทันตพยาธิวิทยาเพื่อเตรียมบลิอคชิ้นเนื้อ สำหรับใช้ในการย้อมด้วยวิธีทางอิมมูโนฮิสโตเคมี

4. ย้อมชิ้นเนื้อที่จำแนกตามประชากรกลุ่มต่างๆ เพื่อประเมินการแสดงออกของคาเทปซินแอลด้วยวิธีทางอิมมูโนฮิสโตเคมี โดยมีชิ้นเนื้อไต (human kidney) จากคลังชิ้นเนื้อ ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เป็นกลุ่มควบคุมบวกและกลุ่มควบคุมลบ คือชิ้นเนื้อที่ย้อมโดยไม่มีการใส่แอนติบอดีปฐมภูมิ

5. แปลผลการศึกษาและวิเคราะห์ข้อมูล

วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้

วัสดุอุปกรณ์

กระจกสไลด์ชนิดเคลือบผิว (DAKO, Glostrup, Denmark)

กระจกปิดสไลด์ (Manzel Graser, Germany)

แท่นวางสไลด์ชนิดควบคุมความชื้น (Porlab, Nanjing, China)

ปากกาวงขอบชิ้นเนื้อ (DAKO, Glostrup, Denmark)

เครื่องอบสไลด์ (Shandon, Michigan, United States)

ไมโครเวฟ (Sharp, Tokyo, Japan)

กล้องจุลทรรศน์ชนิดใช้แสง (Motic, Barcelona, Spain)
 โดย์อิมสไลด์แบบแนวนอน (Deschem, Jiangsu, China)
 ขวดขนาด 1,000 มิลลิลิตร และ 500 มิลลิลิตร (Duran, Germany)

สารเคมี

ฟอร์มาลินความเข้มข้นร้อยละ 10 (Bio-Optica, Milano, Italy)
 แอปไซลูทแอลกอฮอล์ (Merck, Darmstadt, Germany)
 เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 (Merck, Darmstadt, Germany)
 ไฮลีน (Pharmco-Aaper, Shelbyville, United States)
 ชุดย้อม Envision (DAKO, Glostrup, Denmark)
 Bovine serum albumin (Catalog No. A9418, Sigma aldrich, Singapore)
 ไตรโซเดียมซิติเตรต (Product No.058335, LOBA CHEME, Maharashtra, India)
 ทวิน 20 (Product No. P9416, Sigma aldrich, Singapore)
 คาเทปซินแอลแอนติบอดี ชนิด โมโนโคลนอลแอนติบอดี (cathepsin-L
 monoclonal antibody, Product No. SC-32320, Santa Cruz Biotechnology, Texas,
 United States)
 สีย้อมฮีมาทอกไซลีน (Leica, Mount Waverley VIC, Australia)

ขั้นตอนการย้อมด้วยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมี

1. การเตรียมสไลด์

1.1 ตัดชิ้นเนื้อที่อยู่ในพาราฟิน (formalin-fixed, paraffin-embedded section) ให้มีความหนา 4 ไมครอน บนสไลด์ชนิดเคลือบผิว (glass slide coated) หลังจากนั้นนำสไลด์ไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 ชั่วโมง

1.2 เมื่ออบสไลด์แล้วจึงนำไปเข้าขั้นตอนการล้างพาราฟิน (deparaffined) และการเติมน้ำ (rehydrated) โดยนำไปแช่ในไฮลีน 3 โถ โถละ 3 นาที จากนั้นนำมาจุ่มในเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 3 โถ โถละ 10 ครั้ง แล้วจึงนำมาแช่น้ำประปาโดยเปิดให้น้ำไหลผ่าน 2-3 นาที

2. การคืนสภาพแอนติเจน (Antigen Retrieval)

2.1 เตรียมซิเตรตบัฟเฟอร์ (citrate buffer) pH 6.0 ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ โดยใช้ไตรโซเดียมซิเตรต 2.94 กรัมในน้ำกลั่น 1 ลิตร และใส่ทวิน 20 จำนวน 500 ไมโครลิตร

2.2 หลังจากนั้นนำซิเตรตบัฟเฟอร์ในขั้นตอน 2.1 ที่เตรียมไว้ไปให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟ 700 วัตต์ จนเดือด

2.3 นำสไลด์ที่เตรียมไว้เรียงในแร็คสำหรับสไลด์ แล้วแช่ในซิเตรตบัฟเฟอร์ที่ทำให้ร้อนไว้แล้วในขั้นตอน 2.1 จากนั้นนำไปให้ความร้อนอีกครั้งด้วยไมโครเวฟ ที่ระดับ 700 วัตต์ เป็นเวลา 10 นาที โดยให้ระดับบัฟเฟอร์ในโถท่วมสไลด์ตลอดเวลา

2.4 เมื่อครบกำหนดระยะเวลา นำโถออกมาพักที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 นาที (cool down) และแช่น้ำประปาโดยเปิดให้น้ำไหลผ่านเป็นเวลา 5 นาที

3. การยับยั้งปฏิกิริยาของเอนไซม์ภายใน (block endogenous peroxidase activity)

3.1 ชั้บสไลด์ให้หมด นำสไลด์มาเรียงใส่แท่นวางควบคุมความชื้น ซึ่งมีน้ำหล่ออยู่ใต้แท่น จากนั้นหยด peroxidase blocking (DAKO S2023) แล้วปิดฝาทิ้งไว้ 5 นาที

3.2 นำสไลด์มาชั้บ peroxidase blocking ออกแล้วนำมาแช่น้ำประปาโดยเปิดให้น้ำไหลผ่านเป็นเวลา 5 นาที

3.3 ผสม wash buffer (DAKO S3006) กับน้ำกลั่นด้วยอัตราส่วน 1:19 โดยใช้ wash buffer 50 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำกลั่น 950 มิลลิลิตร

3.4 ล้างสไลด์ด้วย wash buffer (DAKO S3006) โดยจุ่มขึ้นลง 10 ครั้งแล้วเททิ้ง, เติม wash buffer ลงไปใหม่ แช่ทิ้งไว้ 5 นาที และเก็บ wash buffer ที่ใช้แล้วไว้เพื่อใช้ในขั้นตอนต่อไป

4. การยับยั้งการจับแบบไม่จำเพาะ (block nonspecific background)

4.1 ชั้บ wash buffer จากสไลด์ให้หมด และเช็ดตามขอบรอบชิ้นเนื้อออกให้หมด ใช้ปากกา (DAKO S2002) วงรอบรอบชิ้นเนื้อและเรียงสไลด์ใส่ chamber โดยระวังอย่าให้สไลด์แห้ง หลังจากนั้นหยด protein block (DAKO x0909) ลงบนชิ้นเนื้อพอให้ท่วม ปิดฝา chamber ทิ้งไว้เป็นเวลา 10 นาที

5. การใส่แอนติบอดี (antibody application)

5.1 ซับ protein block จากสไลด์ให้หมด ซับน้ำตรงขอบที่วางปากกา เรียงสไลด์ใส่ใน chamber โดยระวังอย่าให้สไลด์แห้ง จากนั้นหยดคาเทปซินแอลแอนติบอดี ที่ผสมใน 5% BSA in T-BST ด้วยอัตราส่วน 1:500 ปริมาตร 100-200 ไมโครลิตรลงบนสไลด์ ปิดฝา chamber นำไปเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

5.2 หลังจากทิ้งไว้ 24 ชั่วโมงจึงซับแอนติบอดีปฐมภูมิออก และเรียงสไลด์ใส่แร็คสำหรับใส่สไลด์ ล้างด้วย wash buffer ที่เก็บไว้ในขั้นตอน 3.4 จุ่มขึ้นลง 10 ครั้งแล้วจึงเท wash buffer ทิ้ง

5.3 ล้างสไลด์โดยการแช่ใน wash buffer อีก 2 ครั้ง ครั้งละ 3 นาที โดยเก็บ wash buffer ครั้งสุดท้ายไว้ จากนั้นซับ wash buffer ออกจากสไลด์ให้หมด ซับน้ำตรงขอบที่วางปากกาแล้วเรียงสไลด์ใส่ใน chamber โดยระวังอย่าให้สไลด์แห้งก่อนหยด Envision (SM802)

5.4 หยด envision ให้พอท่วมสไลด์ และทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 30 นาที ล้างด้วย wash buffer ที่เก็บไว้จากขั้นตอนที่ 5.3 จุ่มขึ้นลง 10 ครั้งแล้วเท wash buffer ทิ้ง ล้างสไลด์โดยการแช่ใน wash buffer อีก 2 ครั้ง ครั้งละ 3 นาที

6. การย้อมสี (color development)

6.1 เตรียม DAB โดย หยด substrate buffer (DAKO K3468) ลงใน microtube ขนาด 1 มิลลิลิตร และหยด chromogen 1 หยด ปิดฝาผสมให้เข้ากัน

6.2 ซับสไลด์โดยซับน้ำตรงขอบที่วางปากกา เรียงสไลด์ใส่ใน chamber จากนั้นใช้ปิเปตพลาสติก หยด DAB (DAKO K3468) โดยระวังอย่าให้เกิดฟองอากาศบนสไลด์ ปิดฝา chamber ทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที

6.3 เรียงสไลด์ใส่แร็คสำหรับใส่สไลด์ นำมาแช่น้ำประปาโดยเปิดให้น้ำไหลผ่าน 5 นาทีเพื่อหยุดปฏิกิริยา

6.4 ย้อมสี counterstain ด้วยการนำมาจุ่มในฮีมาท็อกไซลิน (hematoxylin) 2-3 ครั้ง แล้วนำมาแช่น้ำประปาโดยเปิดให้น้ำไหลผ่าน 5 นาที

6.5 หลังจากแช่น้ำประปาแล้วจึงเข้าสู่กระบวนการไล่น้ำออก (dehydrated) โดยจุ่มในเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 2 โถ โถละ 10 ครั้ง และจุ่มในเอบไซลูทแอลกอฮอล์

ฮอล 2 โถ โถละ 10 ครั้ง สูดทำยนำมาจุ่มในไซลีน 2 โถ โถละ 10 ครั้ง ซับให้หมาดแล้วนำสไลด์มและปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ (cover slips) เพื่อรอนำไปแปลผลการศึกษาต่อไป

การแปลผล

การแปลผลแบ่งเป็นสองส่วนได้แก่ การแปลผลเชิงปริมาณและการแปลผลเชิงคุณภาพ โดยมีรายละเอียด ดังนี้

การแปลผลเชิงปริมาณ โดย นำชิ้นเนื้อที่ผ่านการย้อมด้วยวิธีทางอิมมูโนฮิสโตเคมีเรียบร้อยแล้ว มาศึกษาลักษณะการแสดงออกของคาเทปซินแอล โดยการถ่ายภาพผ่านกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงที่กำลังขยาย 400 เท่า โดยถ่ายในบริเวณเยื่อบุผิวและเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน บริเวณละ 8 ภาพที่ไม่ซ้ำตำแหน่งกัน และนับจำนวนเซลล์เฉพาะเซลล์ที่มีนิวเคลียส โดยใช้โปรแกรม ImageJ Fiji หลังจากนั้นคำนวณร้อยละของการแสดงออกโดยค่าที่ได้จะเป็นจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกต่อจำนวนเซลล์ทั้งหมด โดยเกณฑ์การแปลผลขึ้นเนื้อเป็นบวก (positive specimens) จะต้องมีร้อยละการแสดงออกตั้งแต่ร้อยละ 5 ขึ้นไป หากต่ำกว่าร้อยละ 5 จะให้การแปลผลเป็นลบ

การแปลผลเชิงคุณภาพ โดยประเมินจากความเข้มของเซลล์ที่มีการแสดงออกของคาเทปซินแอล โดยสามารถแบ่งได้เป็น 4 ระดับได้แก่ 0 = ไม่มีการแสดงออก , 1 = มีระดับการแสดงออกน้อย, 2 = มีระดับการแสดงออกปานกลาง, 3 = มีระดับการแสดงออกสูง⁽³³⁾

ทั้งนี้ โดยการเก็บข้อมูลจากผู้วิจัยหลักเพียงคนเดียว และได้ประเมินค่ามาตรฐานการวัดผลก่อนการเก็บข้อมูลจริง จากนั้นจึงนำผลการศึกษาที่ได้ทั้งในเชิงปริมาณและคุณภาพ มาเข้าสมการ

เพื่อหาระดับการแสดงออกของชิ้นเนื้อในภาพรวม โดยใช้เกณฑ์การแปลผลด้วยคะแนนปฏิบัติการทางอิมมูโนฮิสโตเคมี (The immunoreactive score : IRS)⁽³³⁾

ตาราง 3 เกณฑ์การให้คะแนน IRS

ร้อยละของเซลล์ที่มีการแสดงออก	ระดับความเข้ม	คะแนน IRS คะแนน IRS = ร้อยละของเซลล์ที่มีการแสดงออก x ระดับความเข้ม
0 = เซลล์ไม่มีการแสดงออก	0 = ไม่มีการแสดงออก	0-1 = ผลเป็นลบ
1 = เซลล์มีการแสดงออกน้อยกว่าร้อยละ 10	1 = แสดงออกระดับน้อย	2-3 = ผลเป็นบวกระดับน้อย
2 = เซลล์มีการแสดงออกร้อยละ 10-50	2 = แสดงออกระดับปานกลาง	4-8 = ผลเป็นบวกระดับปานกลาง
3 = เซลล์มีการแสดงออกร้อยละ 51-80	3 = แสดงออกระดับสูง	9-12 = ผลเป็นบวกระดับมาก
4 = เซลล์มีการแสดงออกมากกว่าร้อยละ 80		

การวิเคราะห์ข้อมูล

ในการศึกษานี้มีข้อมูล 2 ส่วน ได้แก่ 1. ข้อมูลเชิงปริมาณเป็นค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของคาเทชินแอลเมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนเซลล์ทั้งหมด โดยใช้สถิติ One-Way ANOVA ในการหาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของการแสดงออกในแต่ละกลุ่มตัวอย่างที่จำแนก และ 2. ข้อมูลเชิงคุณภาพ ได้แก่ รูปแบบของการแสดงออกของคาเทชินแอล, ความเข้มของการติดสีย้อมคาเทชินแอล, ผลคะแนน IRS โดยรูปแบบของการแสดงออกของคาเทชินแอลจะใช้การวิเคราะห์ข้อมูลโดยสถิติเชิงพรรณนา (descriptive statistic) และความแตกต่างของความเข้มของการติดสีย้อมคาเทชินแอล จะวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้สถิติ Chi-Square โดยใช้โปรแกรม SPSS version 26.0 (Statistical Package for Social Science; SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA) และกำหนดระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p < 0.05$)

บทที่ 4 ผลการดำเนินงานวิจัย

ข้อมูลทั่วไปกลุ่มประชากร

การศึกษาคั้งนี้ทดสอบในชั้นเนื้อจากประชากรจำนวน 40 ราย เป็นเพศชาย 19 ราย คิดเป็นร้อยละ 47.5 และเพศหญิง 21 ราย คิดเป็นร้อยละ 52.5 มีช่วงอายุอยู่ที่ 20-82 ปี โดยมีอายุเฉลี่ย 50.65 ± 19.57 ปี แบ่งออกเป็น 4 กลุ่มได้แก่ กลุ่มรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากจำนวน 10 ราย กลุ่มรอยโรคอีพิทีเลียลติสเพลเซียจำนวน 10 ราย กลุ่มรอยโรคมะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมาจำนวน 10 ราย และเนื้อเยื่อปกติจำนวน 10 ราย (ตารางที่ 4) ตำแหน่งที่ทำการตัดชิ้นเนื้อ แบ่งได้ทั้งหมด 6 ตำแหน่ง ได้แก่ เยื่อ مخاطช่องปาก 11 ราย (ร้อยละ 27.5), เหงือก 13 ราย (ร้อยละ 32.5), ฟันปาก 3 ราย (ร้อยละ 7.5), ลิ้น 10 ราย (ร้อยละ 25.0), ริมฝีปาก 1 ราย (ร้อยละ 2.5), เพดานปาก 2 ราย (ร้อยละ 5.0) (ตารางที่ 5)

กลุ่มรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากแบ่งเป็นเพศชาย 2 รายและเพศหญิง 8 รายคิดเป็นร้อยละ 20.0 และ 80.0 ตามลำดับ มีอายุตั้งแต่ 33-80 ปี (อายุเฉลี่ย 56.50 ± 13.58 ปี) ผู้ป่วยทั้งหมดมาด้วยอาการสำคัญทางคลินิกคือมีรอยแผลถลอกร่วมกับอาการแสบร้อนในช่องปาก ตั้งแต่ 3 สัปดาห์ - 16 เดือน (ค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 13.15 ± 14.96 เดือน) ผู้ป่วยทั้ง 10 ราย มีรอยโรคที่บริเวณเยื่อ مخاطช่องปากและมีผู้ป่วย 3 ราย พบรอยโรคที่ลิ้นและเหงือกร่วมด้วย

กลุ่มรอยโรคอีพิทีเลียลติสเพลเซีย จำนวน 10 ราย แบ่งระดับความรุนแรงของรอยโรคเป็น 2 ระดับได้แก่ ระดับที่ 1 คือ อีพิทีเลียลติสเพลเซียระดับเล็กน้อยถึงปานกลาง แบ่งเป็นเพศชาย 3 รายคิดเป็นร้อยละ 30 และเพศหญิง 4 ราย คิดเป็นร้อยละ 40 (อายุเฉลี่ย 65.25 ± 11.05 ปี) ตำแหน่งที่พบรอยโรค ได้แก่ บริเวณลิ้น 4 ราย เพดานปาก 2 ราย และ เหงือกด้านแก้ม 1 ราย โดยผู้ป่วยมีอาการมานานตั้งแต่ 1 - 24 เดือน (ค่าเฉลี่ย 9.71 ± 10.46 เดือน) ระดับที่ 2 คือ อีพิทีเลียลติสเพลเซียระดับปานกลางถึงรุนแรง แบ่งเป็นเพศหญิง 3 ราย คิดเป็นร้อยละ 30 (อายุเฉลี่ย 56.33 ± 21.96 ปี) ตำแหน่งที่เกิดรอยโรคอยู่บริเวณลิ้น 2 รายและเยื่อ مخاطช่องปาก 1 ราย ผู้ป่วยมีอาการมานานตั้งแต่ 12 เดือน - 24 เดือน (ค่าเฉลี่ย 20.0 ± 6.93 เดือน)

กลุ่มมะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมา จำนวน 10 ราย แบ่งเป็นเพศชาย 8 รายและเพศหญิง 2 ราย คิดเป็นร้อยละ 80.0 และ 20.0 ตามลำดับ มีอายุตั้งแต่ 29-82 ปี (อายุเฉลี่ย 58.40 ± 16.71 ปี) โดยแบ่งความรุนแรงเป็นสองระดับได้แก่ เวลล์ติฟเฟอเรนติเอเตด สความัสเซลล์คาร์ซิโนมา (well - differentiated squamous cell carcinoma) จำนวน 7 ราย มีช่วงอายุ

ตั้งแต่ 29-82 ปี (อายุเฉลี่ย 55.36 ± 18.49 ปี) และระดับที่ 2 ได้แก่ โมเดอเรตดิฟเฟอเรนติเอเตด สความัสเซลล์คาร์ซิโนมา (moderate – differentiated squamous cell carcinoma) จำนวน 3 ราย มีช่วงอายุตั้งแต่ 61-76 ปี (อายุเฉลี่ย 67.33 ± 7.76 ปี) ตำแหน่งที่พบรอยโรคมะเร็งช่องปาก ชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมาได้มากที่สุด คือบริเวณลิ้นซึ่งพบในผู้ป่วย 4 ราย และพบในบริเวณ ฟันปาก 3 ราย เหงือก 2 ราย และ ริมฝีปาก 1 ราย

กลุ่มเนื้อเยื่ออักเสบ จำนวน 10 ราย เป็นเพศชาย 5 รายและเพศหญิง 5 ราย มีอายุ ตั้งแต่ 20-43 ปี (อายุเฉลี่ย 25.90 ± 8.06 ปี)

ตาราง 4 แสดงข้อมูลทั่วไปของกลุ่มประชากรที่ศึกษา

ตัวอย่างชิ้นเนื้อ	เพศ	จำนวน (คน) (ร้อยละ)	อายุเฉลี่ย (ปี) (ต่ำสุด – สูงสุด)
ไลเคนแพลันัสในช่องปาก	ชาย	2 (20.0)	56.5 ± 13.58 (33-80)
	หญิง	8 (80.0)	
รอยโรคอีพิทีเลียลดีสเพลเซีย	ชาย	4 (40.0)	61.8 ± 14.45 (31-82)
	หญิง	6 (60.0)	
ระดับปานกลาง	ชาย	4 (57.1)	65.25 ± 11.05 (45-82)
	หญิง	3 (4.29)	
ระดับรุนแรง	ชาย	0 (0)	56.33 ± 21.96 (31-70)
	หญิง	3 (100)	
มะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมา	ชาย	8 (80.0)	58.40 ± 16.71 (29-82)
	หญิง	2 (20.0)	
เวลลดิฟเฟอเรนติเอเตด สความัสเซลล์คาร์ซิโนมา	ชาย	5 (71.43)	55.36 ± 18.49 (29-82)
	หญิง	2 (28.77)	
โมเดอเรตดิฟเฟอเรนติเอเตด สความัสเซลล์คาร์ซิโนมา	ชาย	3 (100)	67.33 ± 7.76 (61-76)
	หญิง	0 (0)	
เนื้อเยื่ออักเสบ	ชาย	5 (50.0)	25.90 ± 8.06 (20-43)
	หญิง	5 (50.0)	

ตาราง 5 แสดงตำแหน่งที่ตัดสินเนื้อในแต่ละกลุ่มประชากรที่ศึกษา

รอยโรค	กลุ่มประชากร					รวม
	เยอบู่ขำแก้ม	เหียงอก	พืงปาก	ดิน	พวดานปาก	
ไคเคนแพดสั้นในเซองปาก	10	0	0	0	0	10
อีพิทีเดียลติสเพลเซีย	1	1	0	6	2	10
มะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์	0	2	3	4	1	10
คาร์ซิโนมา						
เนื้อเหียงอกปกติ	0	10	0	0	0	10

การแสดงผลของคาเทปซินแอล

จากการศึกษาการแสดงผลของคาเทปซินแอลในกลุ่มประชากรทั้ง 4 กลุ่ม พบว่าในกลุ่มไลเคนแพลนัสในช่องปากมีการแสดงผลของคาเทปซินแอลจำนวน 10 ราย คิดเป็นร้อยละ 100 กลุ่มอีพิทีเลียลดีสเพลเซียพบการแสดงผลของคาเทปซินแอล 9 รายคิดเป็นร้อยละ 90 และกลุ่มรอยโรคมะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมาพบการแสดงผลออกทั้ง 10 ราย คิดเป็นร้อยละ 100 และในกลุ่มขึ้นเนื้อเหงือกปกติมีการแสดงผลของคาเทปซินแอล 5 ราย คิดเป็นร้อยละ 50 ดังตารางที่ 6

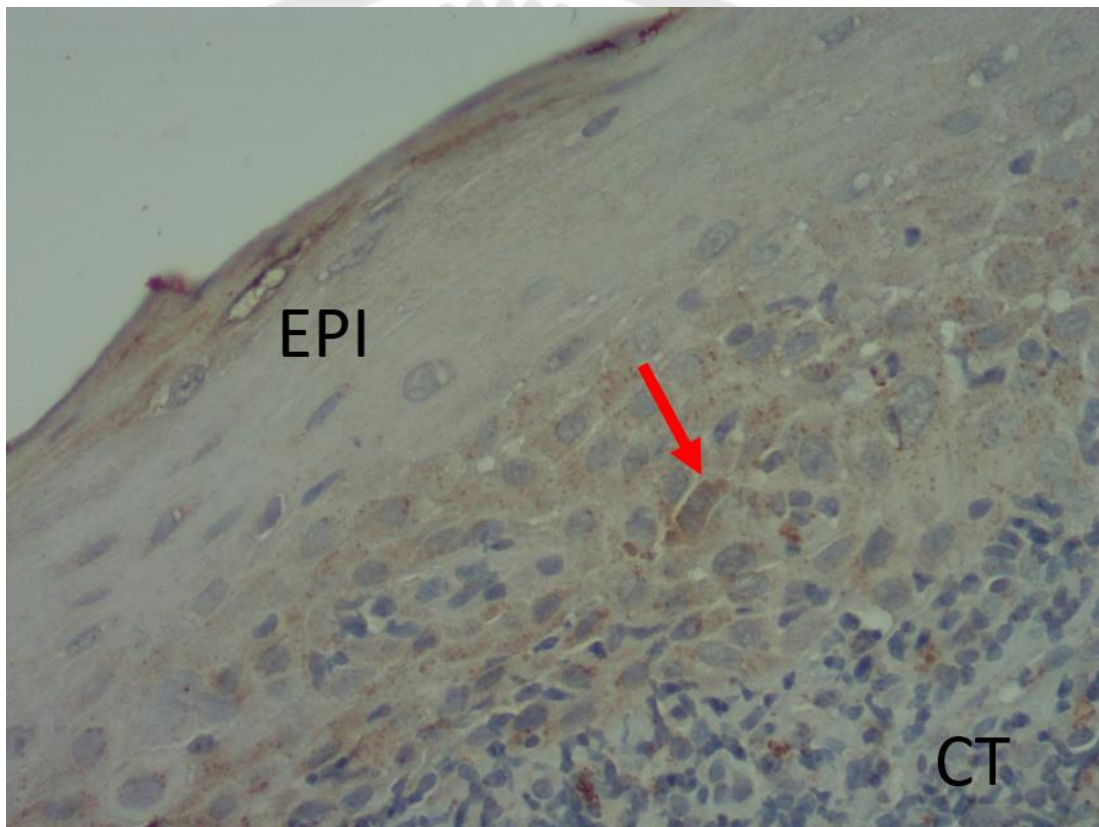
ตาราง 6 การแสดงผลบวกของคาเทปซินแอลในกลุ่มประชากร

กลุ่มประชากร	จำนวน (N)	ผลการยอมรับเป็น	
		บวก	ลบ
ไลเคนแพลนัสในช่องปาก	10	10	0
รอยโรคอีพิทีเลียลดีสเพลเซีย	10	7	3
รอยโรคมะเร็งช่องปากชนิด สความัสเซลล์คาร์ซิโนมา	10	10	0
เนื้อเหงือกปกติ	10	5	5
รวม	40	34	6

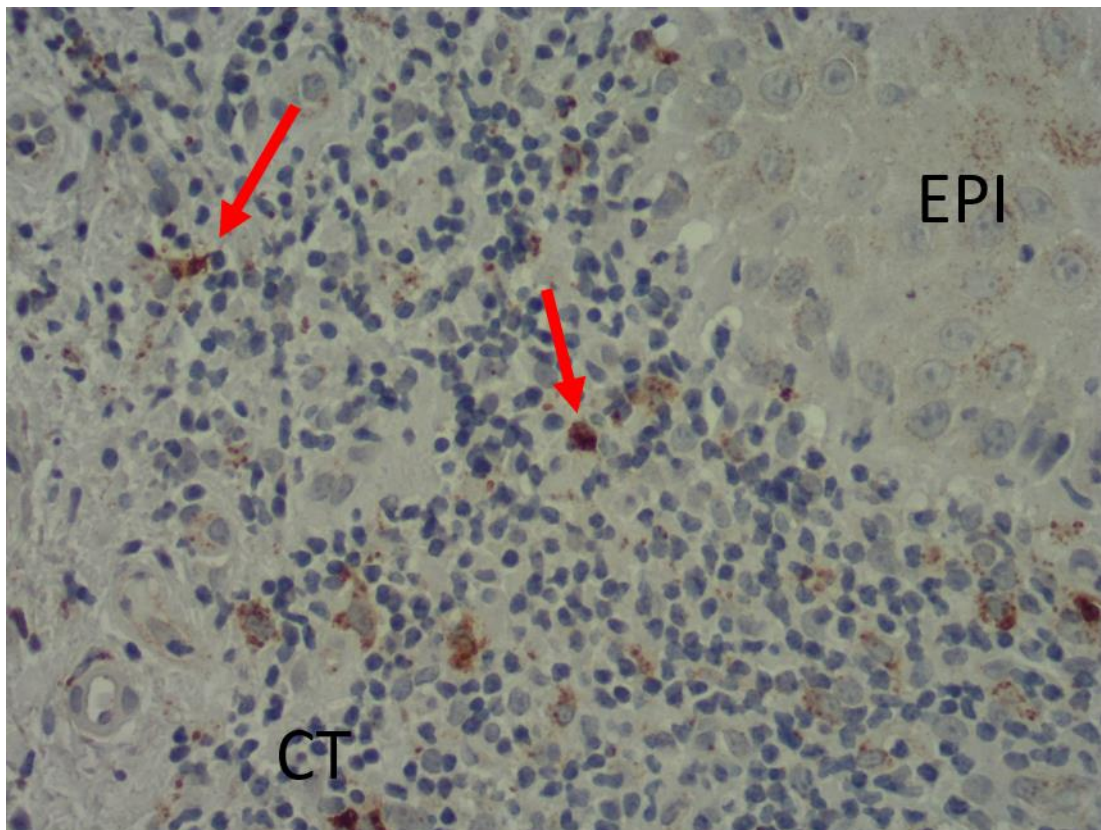
การแสดงผลของคาเทชินแอลในรอยโรคไลเคนแพลนัส

พบการแสดงผลของคาเทชินแอลในชั้นเนื้อทุกชั้น ทั้งในชั้นเยื่อผิวหนังและชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน โดยในชั้นเยื่อผิวหนังมีการแสดงผลออกในเซลล์เยื่อผิวหนัง โดยสามารถพบการแสดงผลออกได้ในไซโทพลาสซึมของเซลล์ ลักษณะเป็นจุดเล็กๆ เรียกว่า small granule สำหรับในชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน พบการแสดงผลของคาเทชินแอลในเซลล์อักเสบ โดยพบการในไซโทพลาสซึมได้ชัดเจนกว่าในเซลล์เยื่อผิวหนัง ดังภาพประกอบ 1 และ 2

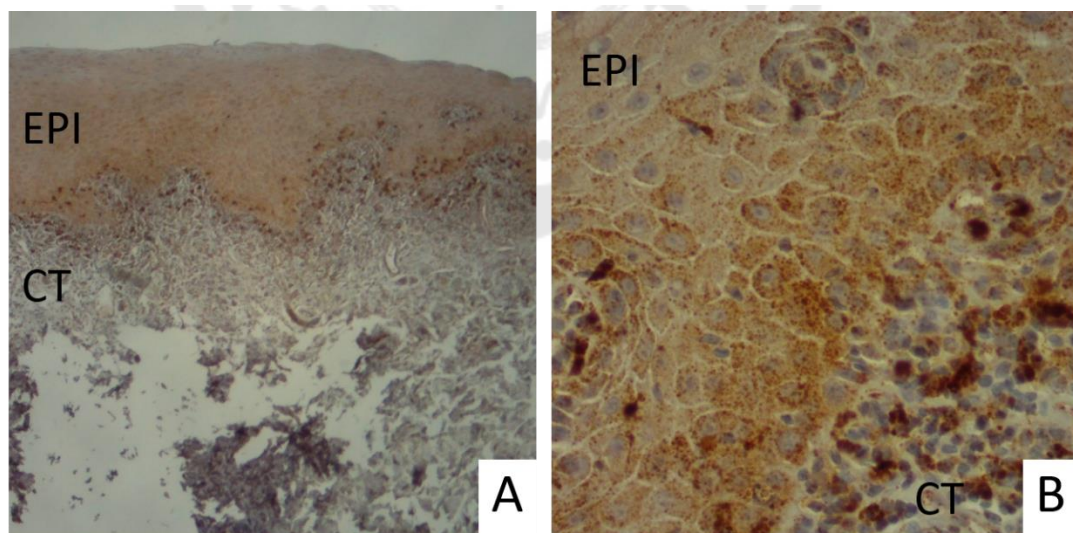
ในการศึกษาครั้งนี้ พบ 9 ราย ที่มีการกระจุกตัวของเซลล์ที่มีการแสดงผลของคาเทชินแอลอยู่ในบริเวณใกล้กับชั้นเยื่อฐาน (basement membrane) โดยมีการแสดงผลออกทั้งในชั้นเยื่อผิวหนังและเนื้อเยื่อเกี่ยวพันบริเวณแถบของลิมโฟไซต์ (lymphocytic band) ดังภาพประกอบ 3 และ 4



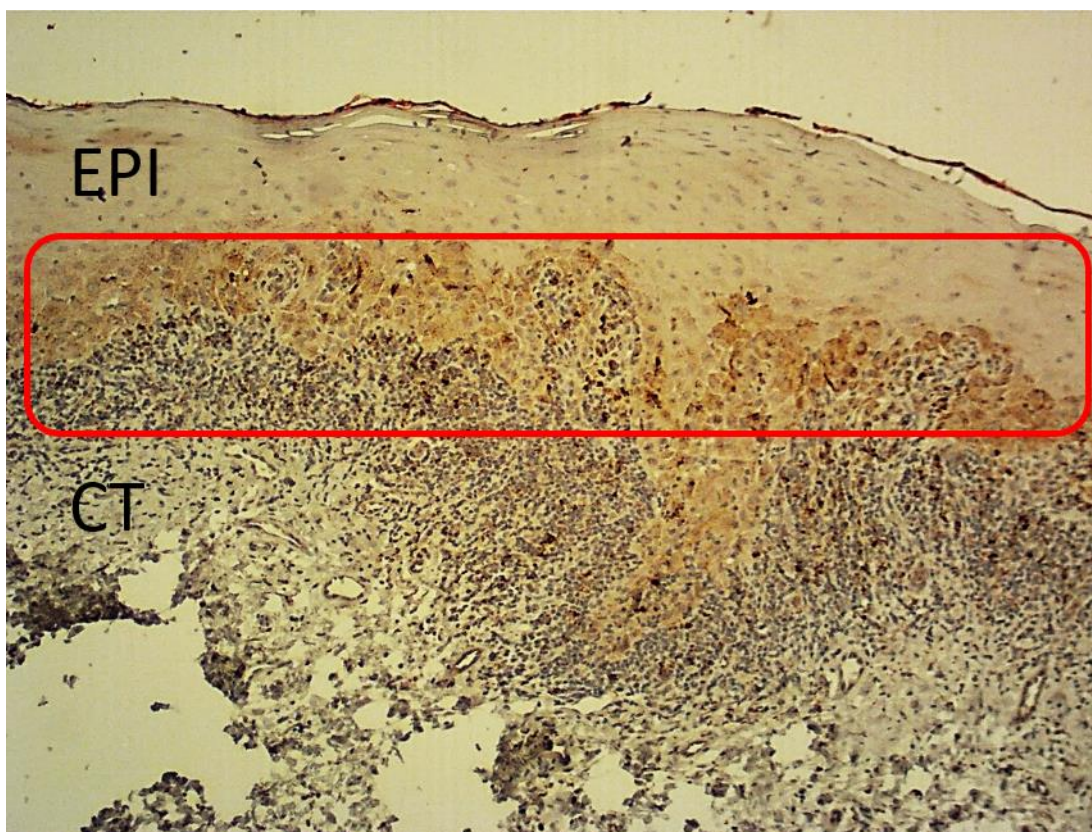
ภาพประกอบ 1 การแสดงผลของคาเทชินแอลในเซลล์เยื่อผิวหนัง (ลูกศรสีแดง) พบการแสดงผลออกได้ในไซโทพลาสซึมที่มีลักษณะ small granule กระจายอยู่ทั่วไปในไซโทพลาสซึมของเซลล์ (ล้อมด้วยคาเทชินแอลแอนติบอดีและฮีมาท็อกไซลีนกำลังขยาย 400 เท่า, EPI = Epithelium, CT = Connective tissue)



ภาพประกอบ 2 การแสดงออกของคาเทปซินแอลในเซลล์อักเสบบริเวณชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (ลูกศรสีแดง) (ย้อมด้วยคาเทปซินแอลแอนติบอดีและฮีมาทอกซาลีนกำลังขยาย 400 เท่า, EPI = Epithelium, CT = Connective tissue)



ภาพประกอบ 3 การแสดงออกของคาเทปซินแอลในชั้นเยื่อผิวและเนื้อเยื่อเกี่ยวพันของรอยโรคไลเคนแพลนัส มีระดับการแสดงออกสูง จัดอยู่ในระดับ 3 (ย้อมด้วยคาเทปซินแอลแอนติบอดีและฮีมาทอกซาลีน(3A) กำลังขยาย 100 เท่า และ(3B) กำลังขยาย 400 เท่า, EPI = Epithelium, CT = Connective tissue)

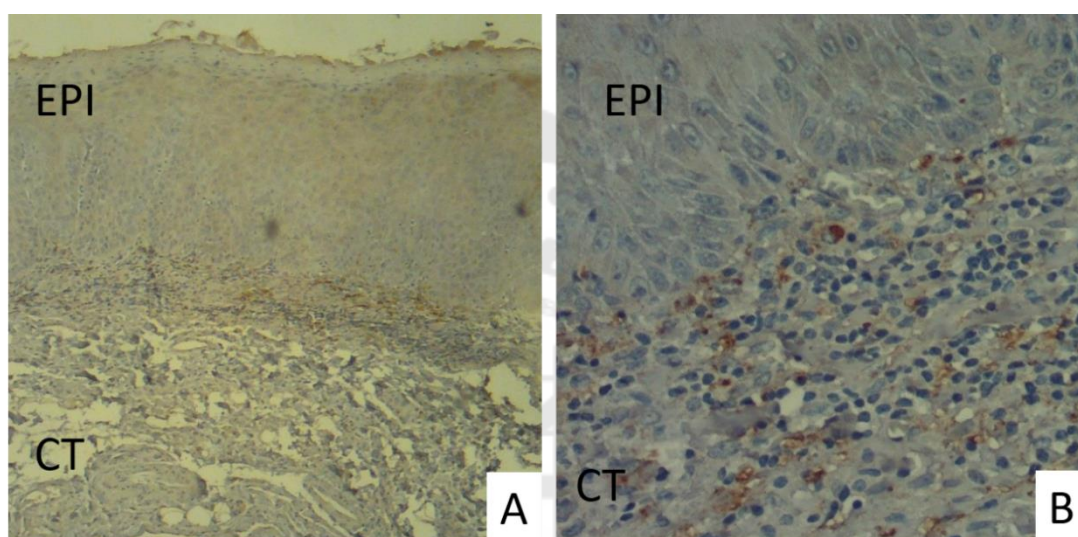


ภาพประกอบ 4 ลักษณะการแสดงออกของคาเทชินแอลที่พบกระจุกตัวอยู่ในบริเวณใกล้กับชั้นของเยื่อฐาน (กรอบสีแดง) (ย้อมด้วยคาเทชินแอลแอนติบอดีและฮีมาทอกไซลีน กำลังขยาย 100 เท่า, EPI = Epithelium, CT = Connective tissue)



การแสดงผลของคาเทชินแอลในรอยโรคอีพิทีเลียลติสเพลเซีย

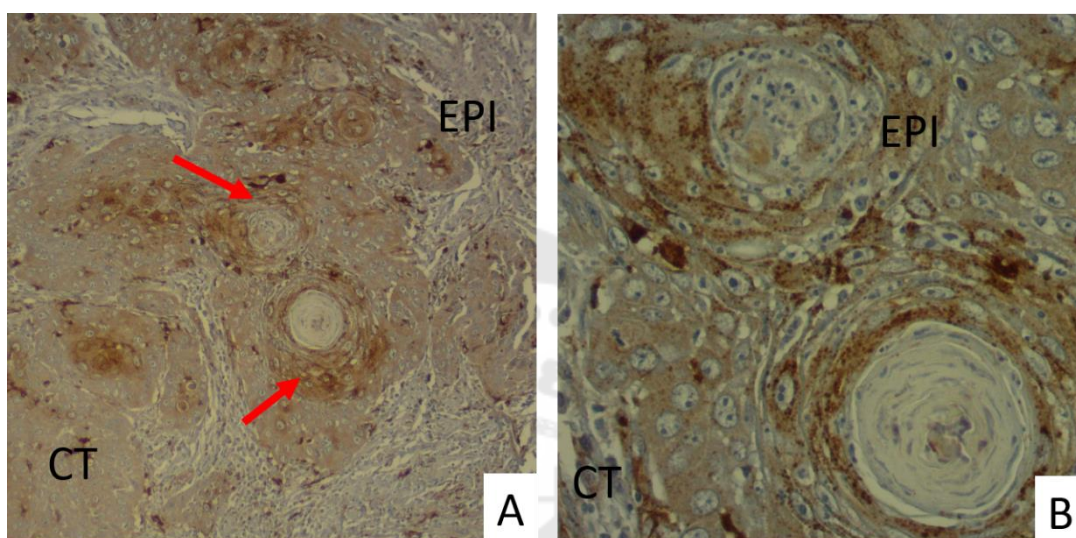
ในรอยโรคอีพิทีเลียลติสเพลเซีย จะพบการแสดงผลออกกระจายได้ทั่วไปในชั้นเยื่อบุผิวและชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน แต่ในชั้นเยื่อบุผิวมีการแสดงผลออกน้อยกว่าในชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน การแสดงผลของคาเทชินแอลในเซลล์เยื่อบุผิว จะพบในไซโทพลาสซึม ที่มีลักษณะ small granule โดยในชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันพบการแสดงผลออกของคาเทชินแอลที่ค่อนข้างเข้มในเซลล์อักเสบ



ภาพประกอบ 5 การแสดงผลของคาเทชินแอลในชั้นเยื่อบุผิวและเนื้อเยื่อเกี่ยวพันในรอยโรคอีพิทีเลียลติสเพลเซีย มีระดับการแสดงผลออกปานกลาง จัดอยู่ในระดับ 2 (ย้อมด้วยคาเทชินแอลแอนติบอดีและฮีมาทอกซาลีน(5A)กำลังขยาย 100 เท่า และ(5B) กำลังขยาย 400 เท่า, EPI = Epithelium, CT = Connective tissue)

การแสดงออกของคาเทปซินแอลในรอยโรคมะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมา

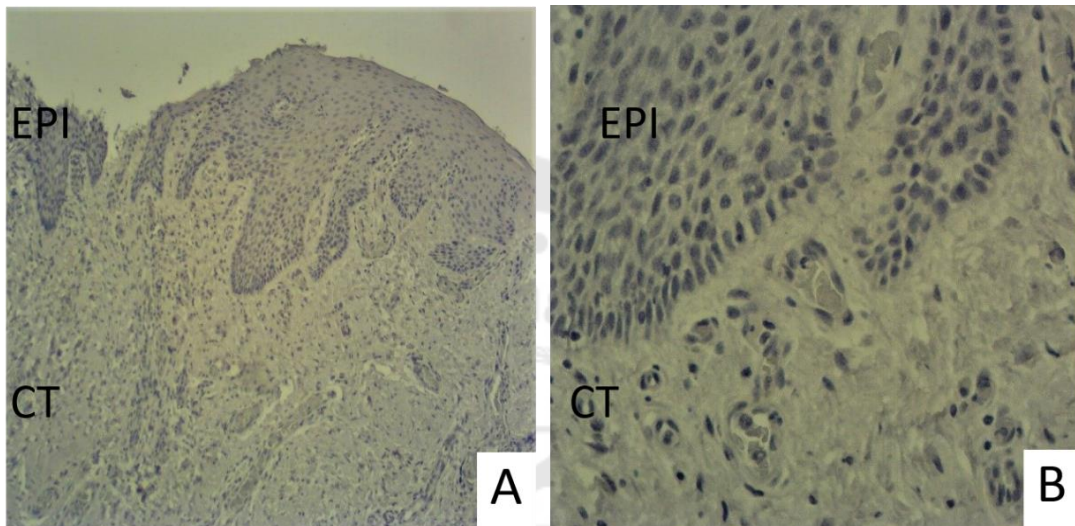
พบการแสดงออกของคาเทปซินแอลได้ทั้งในชั้นเยื่อบุผิวและในชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน โดยพบการแสดงออกของคาเทปซินแอลในชั้นเยื่อบุผิวได้มากกว่า และมีการแสดงออกที่เข้มในบริเวณเคอราตินฟิลที่ม้วนตัวลงเข้าไปอยู่ในชั้นของเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ดังภาพประกอบ 6



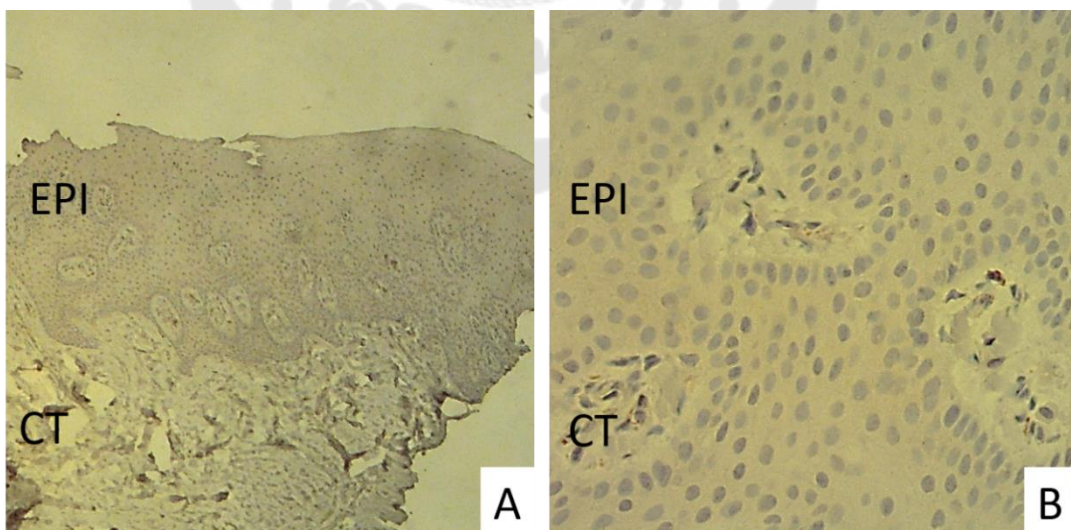
ภาพประกอบ 6 การแสดงออกของคาเทปซินแอลในรอยโรคมะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมา พบมีการแสดงออกเข้มในบริเวณเคอราตินฟิล (ลูกศรสีแดง) มีระดับการแสดงออกสูงจัดอยู่ในระดับ 3 (ย้อมด้วยคาเทปซินแอลแอนติบอดีและฮีมาทอกซาลีน(6A) กำลังขยาย 100 เท่า และ(6B) กำลังขยาย 400 เท่า, EPI = Epithelium, CT = Connective tissue)

การแสดงออกของคาเทปซินแอลในเนื้อเยื่อปกติ

พบมีการแสดงออกของคาเทปซินแอลที่น้อยมากจนถึงไม่มีการแสดงออกโดยพบการแสดงออกกระจายได้ทั่วไปในชั้นเยื่อเมือกและชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน โดยชั้นเยื่อเมือกสามารถพบได้น้อยกว่าในชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันและมีระดับความเข้มที่น้อย จัดอยู่ในระดับ 1 ดังภาพประกอบ 7 และ 8



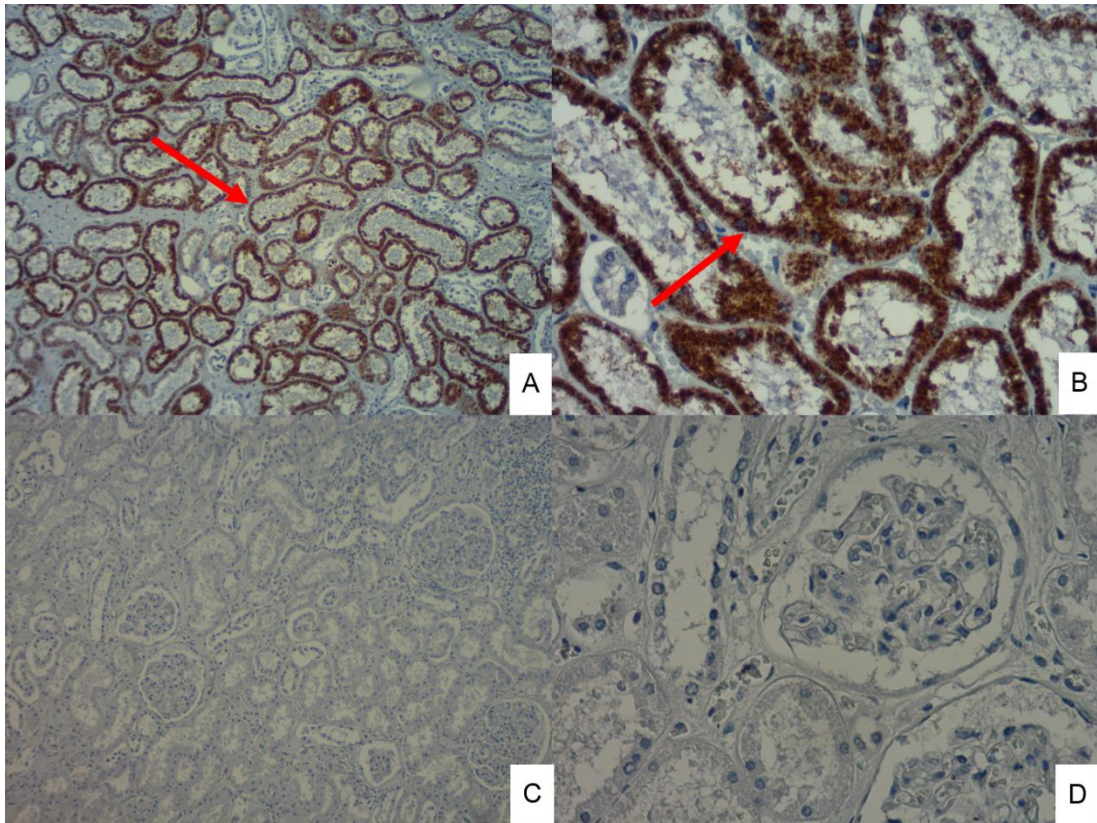
ภาพประกอบ 7 เนื้อเยื่อปกติที่ไม่มีการแสดงออกของคาเทปซินแอล (ย้อมด้วยคาเทปซินแอลแอนติบอดีและฮีมาทอกซาลีน(7A)กำลังขยาย 100 เท่า และ(7B) กำลังขยาย 400 เท่า, EPI = Epithelium, CT = Connective tissue)



ภาพประกอบ 8 การแสดงออกของคาเทปซินแอลในเนื้อเยื่อปกติที่ชั้นเยื่อเมือกและเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน มีระดับการแสดงออกน้อยจัดอยู่ในระดับที่ 1 (ย้อมด้วยคาเทปซินแอลแอนติบอดีและฮีมาทอกซาลีน(8A) กำลังขยาย 100 เท่า และ(8B) กำลังขยาย 400 เท่า, EPI = Epithelium, CT = Connective)

การแสดงผลของคาเทปซินแอลในไต (human kidney)

การแสดงผลของคาเทปซินแอลนั้นสามารถพบการแสดงผลได้ในไตของมนุษย์ซึ่งใช้เป็นตัวควบคุมผลบวก (positive control) โดยจะสามารถพบการแสดงผลของคาเทปซินแอลได้ในบริเวณเซลล์ที่อยู่ในส่วนของ distal tubule ดังภาพประกอบ 9 โดยการแสดงผลจะสามารถพบเป็นสีน้ำตาลเข้มในไซโทพลาสซึมของเซลล์



ภาพประกอบ 9 การแสดงผลของคาเทปซินแอลในชั้นเนื้อไต ที่บริเวณท่อไตที่กำลังขยาย 100 เท่า (9A) และ 400 เท่า (9B) , ชั้นเนื้อไตที่ย้อมโดยไม่ใส่คาเทปซินแอลแอนติบอดี กำลังขยาย 100 เท่า (9C) และ 400 เท่า (9D) (ย้อมด้วยคาเทปซินแอลแอนติบอดีและฮีมาทอกซิดีน)

จำนวนเซลล์ที่มีการแสดงผลของคาเทปซินแอล

เมื่อนับจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงผลของคาเทปซินแอลเปรียบเทียบกับจำนวนเซลล์ที่ไม่มีการแสดงผลของคาเทปซินแอลโดยคิดเป็นร้อยละ พบว่าจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงผลของคาเทปซินแอลในกลุ่มรอยโรคไตเคนแพลนัสในช่องปาก ในชั้นเนื้อเยื่อบุผิว คิดเป็นร้อยละ 32.87 ± 17.15 ชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันร้อยละ 22.93 ± 18.08 และพบการแสดงผลของคาเทปซินแอลเฉลี่ย

ร้อยละ 27.90 ± 13.74 ในกลุ่มนี้พบจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกในชั้นเนื้อเยื่อบุผิวมากกว่าในชั้นของเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน

กลุ่มรอยโรคอีพิทีเลียลติสเพลเซียพบจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของคาเทปซินแอลในชั้นเยื่อบุผิวคิดเป็นร้อยละ 6.49 ± 9.64 ในชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันร้อยละ 11.98 ± 8.62 และเมื่อรวมทั้งสองชั้นมีจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของคาเทปซินแอลเฉลี่ยร้อยละ 9.24 ± 7.00 โดยพบมีจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกในชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันมากกว่าในชั้นเยื่อบุผิว

กลุ่มรอยโรคมะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมา พบจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของคาเทปซินแอลในชั้นเนื้อเยื่อบุผิว คิดเป็นร้อยละ 28.68 ± 23.67 ในชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันร้อยละ 17.30 ± 7.34 เมื่อรวมทั้งสองบริเวณมีจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของคาเทปซินแอลต่อเซลล์ที่ไม่มีการแสดงออกคาเทปซินแอลเฉลี่ยร้อยละ 22.99 ± 13.67 โดยพบการแสดงออกในชั้นเนื้อเยื่อบุผิวมากกว่าในชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน

กลุ่มเนื้อเยื่อปกติพบมีการแสดงออกคาเทปซินแอลที่เยื่อบุผิว คิดเป็นร้อยละ 4.86 ± 5.39 ชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันพบมีการแสดงออกของคาเทปซินแอล คิดเป็นร้อยละ 1.58 ± 1.94 โดยเฉลี่ยทั้งสองบริเวณพบมีการแสดงออกคาเทปซินแอล ร้อยละ 3.22 ± 3.47 ดังแสดงในตารางที่ 7

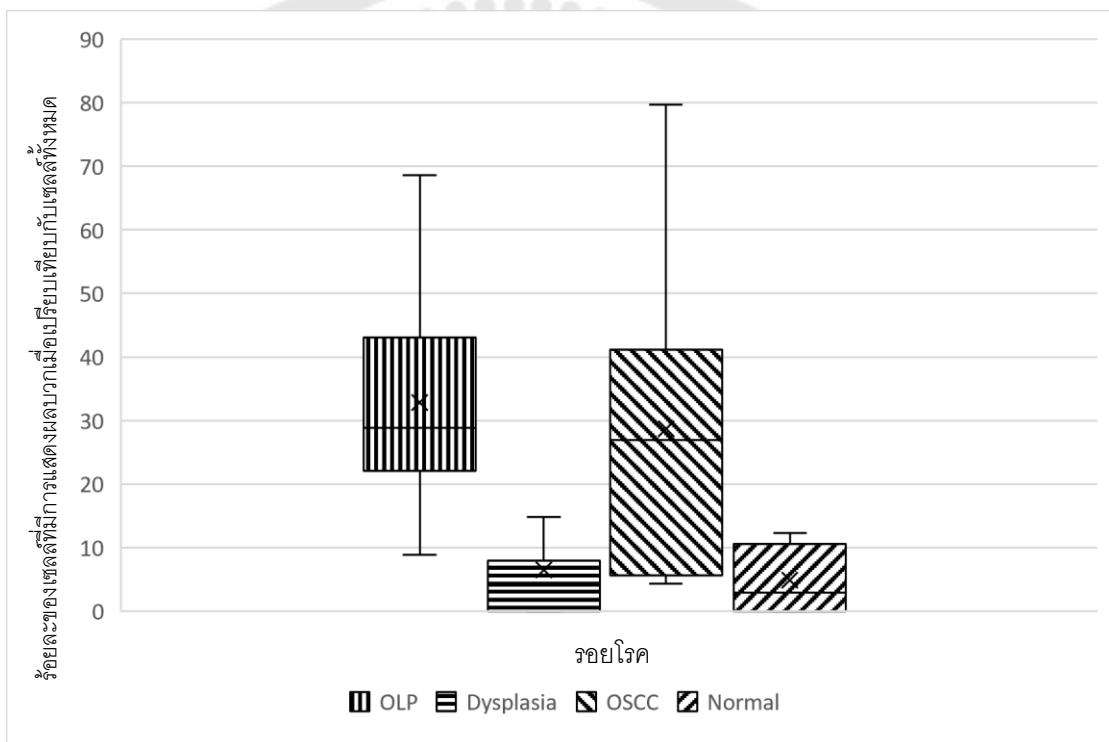
ตาราง 7 ร้อยละของจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของคาเทปซินแอลในแต่ละกลุ่มประชากร

ชนิดของชั้นเนื้อ	การแสดงออกที่บริเวณชั้นเยื่อบุผิว (ร้อยละ)	การแสดงออกที่บริเวณเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (ร้อยละ)	การแสดงออกทั้งสองบริเวณ (ร้อยละ)
ไลเคนแพลนัสในช่องปาก	32.87 ± 17.15	22.93 ± 18.08	27.90 ± 13.74
อีพิทีเลียลติสเพลเซีย	6.49 ± 9.64	11.98 ± 8.62	9.24 ± 7.00
มะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์	28.68 ± 23.67	17.30 ± 7.34	22.99 ± 13.67
คาร์ซิโนมา			
เนื้อเยื่อปกติ	4.86 ± 5.39	1.58 ± 1.94	3.22 ± 3.47

การเปรียบเทียบร้อยละของจำนวนเซลล์ที่พบการแสดงออกของคาเทปซินแอลในแต่ละกลุ่มประชากร

การแสดงออกของคาเทปซินแอลที่ชั้นเยื่อบุผิว

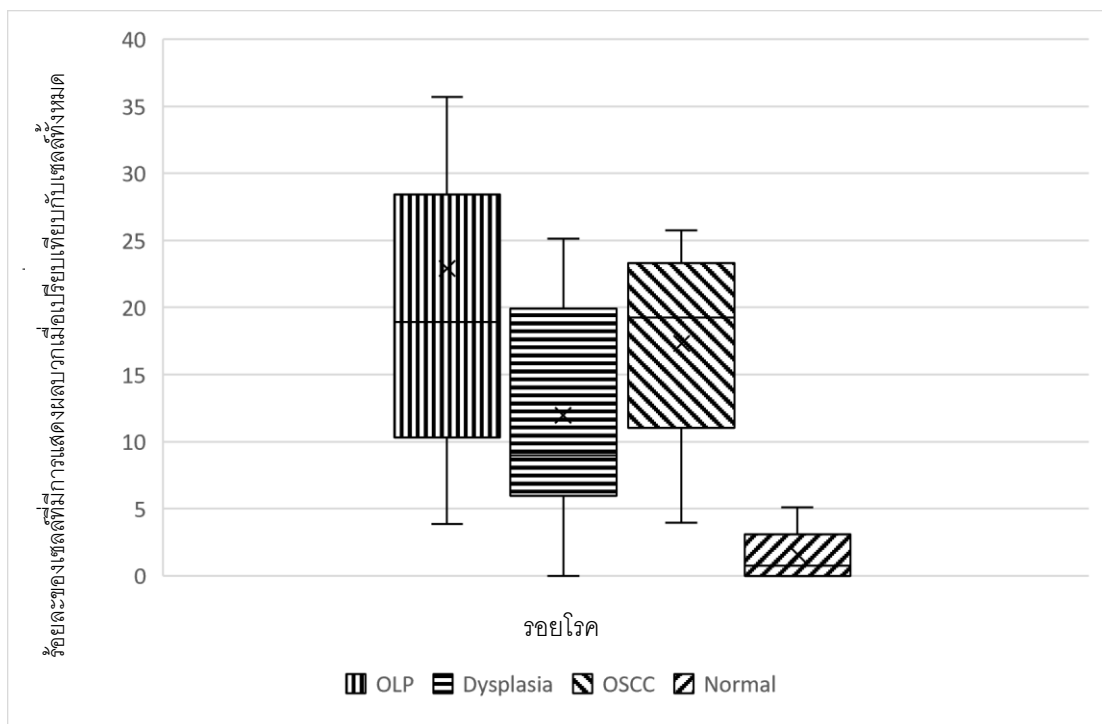
จากผลการศึกษาพบว่าจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกในชั้นเยื่อบุผิวของรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากมีจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกมากที่สุดอยู่ที่ ร้อยละ 32.87 ± 17.15 รองลงมาคือ มะเร็งช่องปากชนิดสควamous เซลล์คาร์ซิโนมา ร้อยละ 28.68 ± 23.67 ลำดับที่ 3 คือ อีพิทีเลียลดีสเพลเซีย มีการแสดงออกร้อยละ 6.49 ± 9.64 และในกลุ่มควบคุมคือ เนื้อเยื่อปกติ มีการแสดงออกเพียงร้อยละ 4.86 ± 5.39 ดังภาพประกอบ 10



ภาพประกอบ 10 ร้อยละของเซลล์ที่มีการแสดงออกของคาเทปซินแอล ในชั้นเยื่อบุผิว

การแสดงออกของคาเทชินแอลในเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน

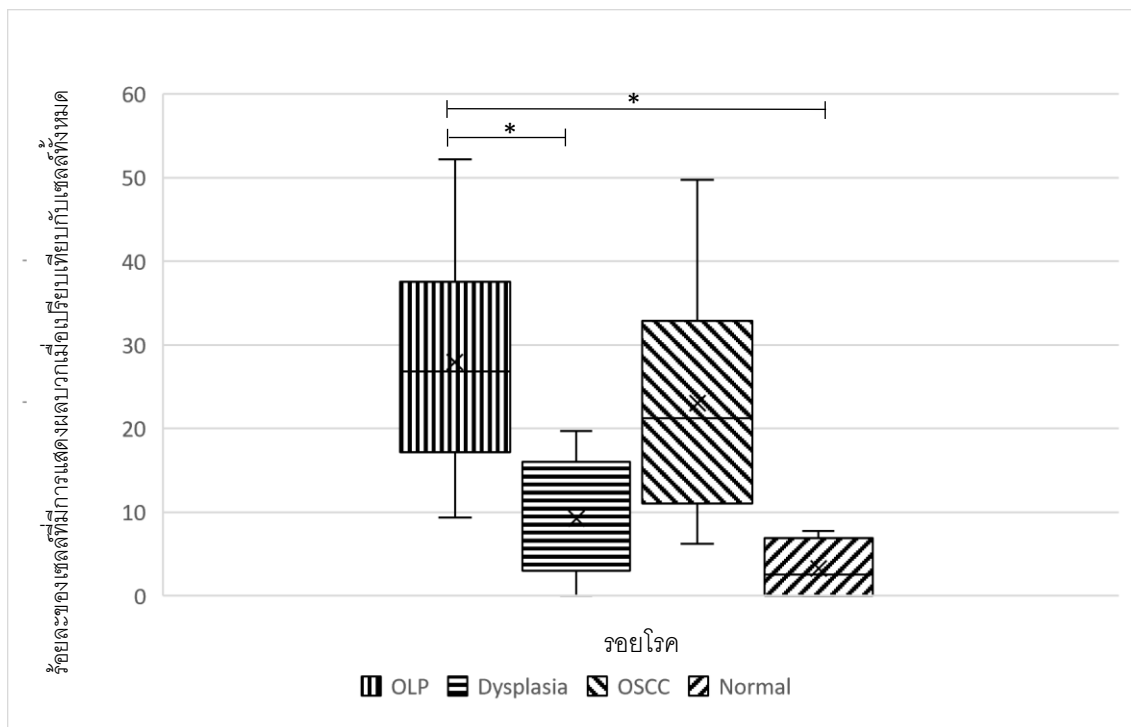
ในชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันพบจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของคาเทชินแอลในรอยโรค ไคเคนแพลนัสในช่องปากมากที่สุด ร้อยละ 22.93 ± 18.08 รองลงมาคือ มะเร็งช่องปากชนิด สความัสเซลล์คาร์ซิโนมา 17.30 ± 7.34 ลำดับต่อมาคือ อีพิทีเลียลดิสเพลเซีย 11.98 ± 8.62 และ พบได้น้อยที่สุดในเนื้อเยื่อปกติ คิดเป็นร้อยละ 1.58 ± 1.94 ดังภาพประกอบ 11



ภาพประกอบ 11 ร้อยละของเซลล์ที่มีการแสดงออกของคาเทชินแอล ในชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน

การแสดงผลของคาเทปแอลทั้งในชั้นเยื่อบุผิวและเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน

การแสดงผลของคาเทปซินแอล เมื่อนับจำนวนเซลล์ที่แสดงออกทั้งในชั้นเยื่อบุผิวและชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันพบว่า มีจำนวนเซลล์ที่มีการติดสีย้อมคาเทปซินแอลมากที่สุดในรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปาก คิดเป็นร้อยละ 27.90 ± 13.74 รองลงมาได้แก่มะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมา คิดเป็นร้อยละ 22.99 ± 13.67 อีพิทีเลียลดิสเพลเซีย คิดเป็นร้อยละ 9.24 ± 7.00 และเนื้อเยื่อปกติ คิดเป็นร้อยละ 3.22 ± 3.47 ตามลำดับ ดังภาพประกอบ 12



ภาพประกอบ 12 ร้อยละของจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของคาเทปซินแอล ในชั้นเยื่อบุผิวและเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (* มีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$)

เมื่อนำค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของคาเทปซินแอลมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า กลุ่มรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากมีค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของคาเทปซินแอล มากกว่ากลุ่มอีพิทีเลียลดิสเพลเซียและเนื้อเยื่อปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แต่ไม่พบความแตกต่างของจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของคาเทปซินแอลเมื่อเปรียบเทียบกับรอยโรคมะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมา ($p = 0.301$)

ความเข้มของการแสดงออกของคาเทชินแอล

การจำแนกความเข้มของการแสดงออกของคาเทชินแอลสามารถแบ่งได้ 4 กลุ่มซึ่งได้แก่ 0 = ไม่มีการแสดงออก, 1 = ระดับการแสดงออกน้อย, 2 = ระดับการแสดงออกปานกลาง, 3 = ระดับการแสดงออกสูง, ดังแสดงตามภาพประกอบ 13 - 15

จากผลการศึกษา พบว่ากลุ่มรอยโรคเคนแพลนัสในช่องปากมีความเข้มของการแสดงออกของคาเทชินแอล 10 ราย โดยมีความเข้มในระดับมาก 3 ราย ระดับปานกลาง 6 ราย และระดับน้อย 1 ราย

กลุ่มอีพิทีเลียลดีสเพลเซีย มีความเข้มของการแสดงออกของคาเทชินแอล 9 ราย โดยมีการแสดงออกระดับปานกลาง 3 ราย ระดับน้อย 6 ราย และไม่มีการแสดงออก 1 ราย

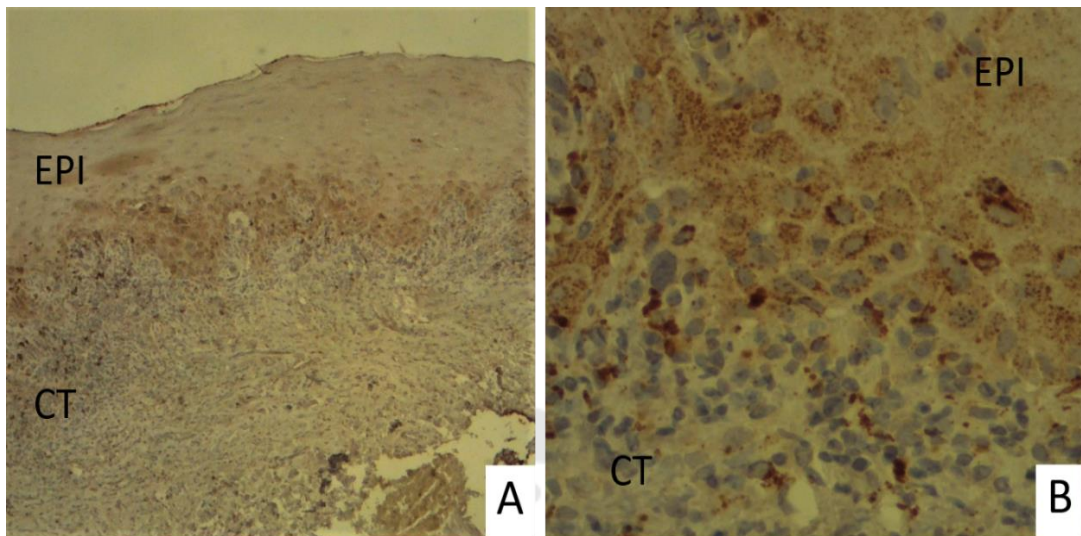
กลุ่มมะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมา มีความเข้มของการแสดงออกของคาเทชินแอล 10 ราย โดยมีความเข้มของการแสดงออกระดับมาก 3 ราย ระดับปานกลาง 5 ราย และระดับน้อย 2 ราย

และในกลุ่มเนื้อเยื่อปกติ มีความเข้มของการแสดงออกของคาเทชินแอล 5 ราย โดยมีความเข้มของการแสดงออกในระดับน้อย 5 ราย และไม่มีการแสดงออก 0 ราย

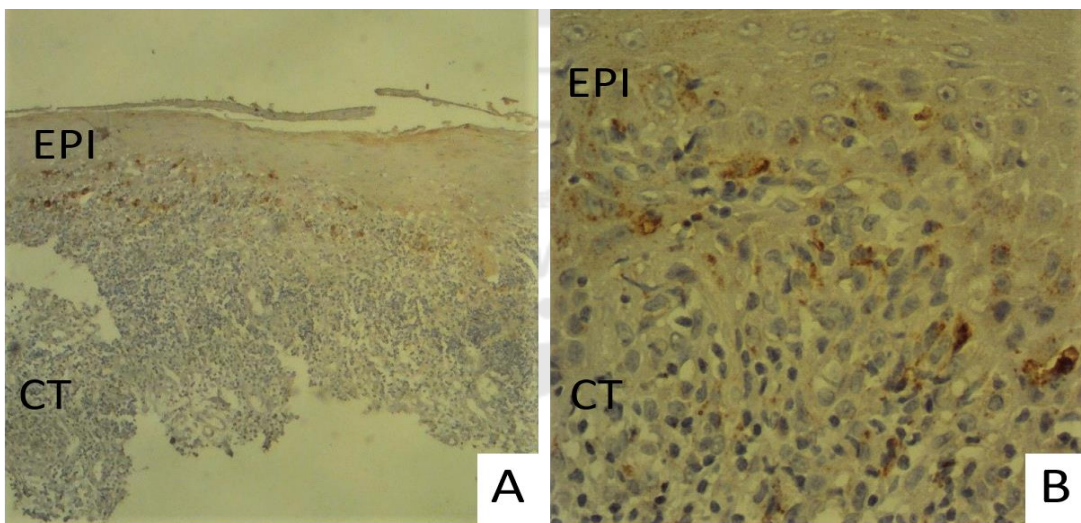
ตาราง 8 ความเข้มของการแสดงออกของคาเทชินแอลในแต่ละกลุ่มประชากร

กลุ่มประชากร	ระดับความเข้มของการมีการแสดงออก (จำนวนราย)			
	ระดับ 0	ระดับ 1	ระดับ 2	ระดับ 3
ไลเคนแพลนัสในช่องปาก	0	1	6	3
อีพิทีเลียลดีสเพลเซีย	1	6	3	0
มะเร็งชนิดสความัสเซลล์	0	2	5	3
เนื้อเยื่อปกติ	5	5	0	0

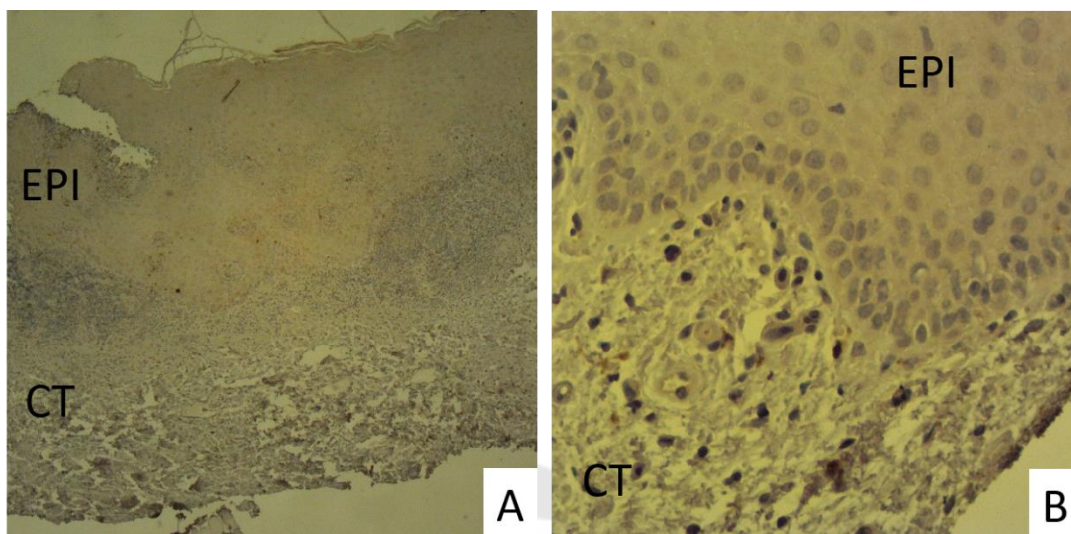
จากผลการศึกษา เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้สถิติ Chi-Square พบว่าความเข้มของการแสดงออกของคาเทชินแอลในรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปาก มีระดับสูงกว่ารอยโรคอีพิทีเลียลดีสเพลเซียและเนื้อเยื่อปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แต่ไม่พบความแตกต่างของระดับความเข้มของการแสดงออกของคาเทชินแอลเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มมะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมา ($p = 0.809$)



ภาพประกอบ 13 การแสดงออกของคาเทปซินแอลในรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปาก ระดับ 3 (แสดงออกสูง) (ย้อมด้วยคาเทปซินแอลแอนติบอดีและฮีมาทอกซาลีน(13A)กำลังขยาย 100 เท่า และ(13B) กำลังขยาย 400 เท่า, EPI = Epithelium, CT = Connective tissue), CT = Connective tissue)



ภาพประกอบ 14 การแสดงออกของคาเทปซินแอลในรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปาก ระดับ 2 (แสดงออกปานกลาง) (ย้อมด้วยคาเทปซินแอลแอนติบอดีและฮีมาทอกซาลีน (14A)กำลังขยาย 100 เท่า และ(14B) กำลังขยาย 400 เท่า, EPI = Epithelium, CT = Connective tissue)



ภาพประกอบ 15 การแสดงออกของคาเทชินแอลในรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปาก ระดับ 1 (แสดงออกน้อย) (ย้อมด้วยคาเทชินแอลแอนติบอดีและฮีมาท็อกไซลีน (15A) กำลังขยาย 100 เท่า และ (15B) กำลังขยาย 400 เท่า, EPI = Epithelium, CT = Connective tissue)

การให้คะแนนผลการแสดงออกของคาเทชินแอลจากการย้อมทางอิมมูโนฮิสโตเคมี

การให้คะแนนทางอิมมูโนฮิสโตเคมีด้วย IRS โดยนำค่าเฉลี่ยของการแสดงออกของคาเทชินแอลมาแปลงเป็นคะแนนในระดับ 1 ถึง 4 หลังจากนั้นนำค่าที่ได้มาคูณกับค่าความเข้มของการแสดงออก (intensity) ค่าที่คำนวณได้จะสามารถแปลผลได้ 4 ระดับ (ตารางที่ 8)

จากผลการศึกษาพบว่า ในรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากมีคะแนน IRS แปลผลได้เป็นลบใน 1 ตัวอย่างจาก 10 ตัวอย่างและแปลผลได้เป็นการแสดงออกในระดับปานกลาง 9 ตัวอย่าง กลุ่มอีพีทีเลียลิสเพลเซียแปลผลได้เป็นลบ 7 ตัวอย่างและแปลผลได้เป็นการแสดงออกระดับน้อย 3 ตัวอย่าง กลุ่มมะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมาพบว่าแปลผลเป็นลบ 2 ตัวอย่างและแปลผลเป็นการแสดงออกระดับปานกลาง 8 ตัวอย่าง และในกลุ่มเนื้อเยื่อปกติแปลผลได้เป็นลบ ทั้ง 10 ตัวอย่าง ดังตารางที่ 9

ตาราง 9 ผลคะแนน IRS ในแต่ละกลุ่มประชากร

กลุ่มประชากร	ผลคะแนน IRS			
	0-1	2-3	4-8	9-12
ไลเคนแพลนัสในช่องปาก	1	0	9	0
อีพิทีเลียลดีสเพลเซีย	6	1	3	0
มะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมา	2	0	8	0
เนื้อเยื่อปกติ	10	0	0	0

จากผลคะแนน IRS เมื่อนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่ารอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากมีคะแนน IRS สูงกว่าในกลุ่มรอยโรคอีพิทีเลียลดีสเพลเซียและเนื้อเยื่อปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในขณะที่ คะแนน IRS ระหว่างรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากกับกลุ่มรอยโรคมะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมา ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.531$)

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

ในการวิจัยเรื่องการแสดงออกของคาเทปซินแอลในรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปาก ผู้วิจัยได้ทำการเปรียบเทียบการแสดงออกของคาเทปซินแอลในรอยโรคไลเคนแพลนัส รอยโรคอีพิทีเลียลติสเพลเซีย รอยโรคมะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมา และเนื้อเยื่อปกติ ด้วยวิธีทางอิมมูโนฮิสโตเคมี หลังจากได้ผลการดำเนินงานแล้ว สามารถสรุปผลการดำเนินงานโดยแบ่งหัวข้อในการสรุปผลได้ดังต่อไปนี้

- 1 สรุปผลการวิจัย
- 2 อภิปรายผลการวิจัย
- 3 ข้อเสนอแนะ

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษากลุ่มตัวอย่างพบว่า สามารถพบการแสดงออกของคาเทปซินแอลในกลุ่มตัวอย่างทั้ง 4 กลุ่ม โดยพบการแสดงออกในรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปาก ร้อยละ 100 มะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมา ร้อยละ 100 รอยโรคอีพิทีเลียลติสเพลเซีย ร้อยละ 90 และในเนื้อเยื่อปกติร้อยละ 50 โดยในแต่ละกลุ่มจะมีรูปแบบการแสดงออก, จำนวนของเซลล์ที่มีการแสดงออก, ความเข้มของการแสดงออก, และคะแนน IRS ดังนี้

1. ลักษณะการแสดงออกในแต่ละรอยโรค พบว่า ไลเคนแพลนัสในช่องปาก มีการติดสีของเซลล์จำนวนมากบริเวณใกล้กับชั้นเยื่อฐานและจะพบน้อยลงเมื่อห่างจากชั้นเยื่อฐานออกไป รอยโรคมะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมา มีการแสดงออกมากในเซลล์เยื่อบุผิว เซลล์มะเร็งบริเวณเคอราตินฟิลที่ม้วนตัวลงไปในพื้นที่ของเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน และเซลล์อักเสบในชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ลักษณะการแสดงออกในรอยโรคอีพิทีเลียลติสเพลเซียพบการติดสีได้ในเซลล์เยื่อบุผิว และเซลล์อักเสบบริเวณชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน แต่จะพบในลักษณะกระจายทั่วไปทั้งบริเวณ ไม่มีการรวมอยู่ที่บริเวณใดๆ ชัดเจน ในส่วนของเนื้อเยื่อปกติพบมีการแสดงออกในเซลล์เยื่อบุผิว และเซลล์ปกติที่อยู่ในชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน เซลล์ที่แสดงออกมีจำนวนและความเข้มที่น้อยมาก โดยสามารถพบได้กระจายอยู่ในทั้งสองชั้น

2. จำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของคาเทปซินแอลในกลุ่มรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากมีจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกของคาเทปซินแอลมากกว่ากลุ่มรอยโรคอีพิทีเลียลติสเพลเซีย

และเนื้อเยื่อปกติ แต่พบว่าไม่มีความแตกต่างเมื่อเปรียบเทียบกับรอยโรคมะเร็งช่องปากชนิด
สความัสเซลล์คาร์ซิโนมา

3. ความเข้มของการติดสีพบว่า รอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากมีความเข้มของการ
แสดงออกของคาเทปซินแอลมากกว่ารอยโรคอีพิทีเลียลดีสเพลเซียและเนื้อเยื่อปกติ แต่ไม่มี
ความแตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบกับ รอยโรคมะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมา

4. คะแนน IRS ในรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากมีคะแนนสูงกว่ากลุ่มรอยโรคอีพิที
เลียลดีสเพลเซียและเนื้อเยื่อปกติแต่ไม่พบความแตกต่างของคะแนนเมื่อเปรียบเทียบกับรอย
โรคมะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมา

จากการศึกษาสรุปได้ว่า สามารถพบการแสดงออกของคาเทปซินแอลได้ในรอยโรค
ไลเคนแพลนัสในช่องปาก โดยลักษณะการแสดงออกดังกล่าวมีความแตกต่างกันในด้านรูปแบบ
จำนวนเซลล์และความเข้มของการแสดงออกของคาเทปซินแอลเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มรอยโรค
อื่นที่นำมาศึกษา อย่างไรก็ตามจากการวิจัยที่ผ่านมาพบว่าคาเทปซินแอลมีบทบาทและหน้าที่
หลากหลาย จึงเป็นไปได้ว่าการแสดงออกของคาเทปซินแอลที่ต่างกันในกลุ่มตัวอย่างที่ศึกษาครั้งนี้
อาจมีบทบาทและมีหน้าที่แตกต่างกันในแต่ละรอยโรค โดยการศึกษาพบว่ามีการแสดงออกของ
คาเทปซินแอลมากในบริเวณชั้นเยื่อฐานของรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปาก จึงเป็นไปได้ว่า
คาเทปซินแอลอาจมีบทบาทที่เกี่ยวข้องกับกลไกของการเกิดรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากได้

อภิปรายผลการวิจัย

ไลเคนแพลนัสในช่องปากมีรายงานถึงอุบัติการณ์การเปลี่ยนแปลงของรอยโรคไปเป็น
มะเร็งได้ร้อยละ 1 โดยเฉลี่ย⁽⁹⁾ โดยในปัจจุบันมีการศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงของรอยโรคไลเคน
แพลนัสในช่องปากไปเป็นมะเร็ง ซึ่งมีทั้งการศึกษาที่พบและไม่พบการเปลี่ยนแปลงไปเป็นมะเร็ง
ของรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากด้วยการติดตามผลทางคลินิก อย่างไรก็ตามยังเป็นที่ถกเถียง
กันว่ารอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากนั้นจัดเป็นรอยโรคก่อนมะเร็งได้หรือไม่ คาเทปซินแอลเป็น
โปรตีนเอนไซม์ จัดอยู่ในกลุ่มของซิสเตอีนคาเทปซิน โดยมีหน้าที่และบทบาทหลายอย่าง เช่น
การย่อยสลายแมทริกซ์นอกเซลล์ การตายของเซลล์แบบอะพอพโทซิส กระบวนการอักเสบ รวมไปถึง
ถึงการทำหน้าที่เป็นเซลล์นำเสนอแอนติเจน (antigen presenting cell)⁽²⁶⁾ นอกจากนี้พบว่ามี
การแสดงออกของคาเทปซินแอลในโรคมะเร็งได้ไม่ว่าจะเป็น มะเร็งเต้านม⁽³⁴⁾ มะเร็งลำไส้ใหญ่⁽¹³⁾
มะเร็งปากมดลูก⁽³⁵⁾ มะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมา⁽¹⁴⁾ โดยจากการศึกษาข้างต้น
พบว่าความสัมพันธ์ของคาเทปซินแอลกับมะเร็งนั้นเกี่ยวข้องกับกระบวนการตายของเซลล์ การดำเนิน
ไปของโรค ระดับความรุนแรงของโรค รวมถึงการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง ทั้งนี้ยังมีรายงานถึง

ความเป็นไปได้ในการใช้คาเทปซินแอลเป็นเป้าหมายในการรักษาโรคมะเร็งอีกด้วย^(36,37) นอกจากนี้ยังสามารถพบการแสดงออกของคาเทปซินแอลในกลุ่มรอยโรคก่อนมะเร็งได้เช่นกัน โดยพบว่าการแสดงออกของคาเทปซินแอลนั้นมีความสัมพันธ์กับระดับความรุนแรงของรอยโรคอีพิทีเลียลดีสเพลเซีย⁽¹⁵⁾ อย่างไรก็ตามจากการทบทวนวรรณกรรมพบว่าหน้าที่ของคาเทปซินแอลนั้นมีความหลากหลาย รวมทั้งมีบทบาทในรอยโรคมะเร็งและรอยโรคก่อนมะเร็ง ซึ่งจากการทบทวนวรรณกรรมยังไม่พบการศึกษาการแสดงออกของคาเทปซินแอลในรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปาก แต่มีเพียงการศึกษาการแสดงออกของคาเทปซินแอลในไลเคนแพลนัสที่ผิวหนังเท่านั้น ผู้วิจัยจึงได้ทำการศึกษาเพื่อดูการแสดงออกของคาเทปซินแอลในรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปาก และเปรียบเทียบรูปแบบการแสดงออกกับรอยโรคมะเร็งชนิดสควamousเซลล์คาร์ซิโนมาซึ่งเป็นตัวแทนของกลุ่มรอยโรคมะเร็ง รอยโรคอีพิทีเลียลดีสเพลเซียซึ่งเป็นตัวแทนของกลุ่มรอยโรคก่อนมะเร็ง และเนื้อเยื่อปกติเป็นตัวแทนของกลุ่มที่ไม่เป็นรอยโรค โดยการศึกษานี้จะดูรูปแบบการแสดงออก จำนวนของเซลล์ที่มีการแสดงออก ความเข้มของการแสดงออกและคะแนน IRS

จากการศึกษาพบว่าในรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากมีการแสดงออกของคาเทปซินแอลในผู้ป่วยทุกราย พบการแสดงออกได้ที่เซลล์เยื่อเมือกในบริเวณไซโทพลาสซึม ซึ่งพบลักษณะการแสดงออกเป็นแบบ small granule โดยจะเป็นจุดเล็กๆกระจายทั่วไซโทพลาสซึม เนื่องจากแอนติบอดีนี้เป็นไซโทพลาสซึมโปรตีน และยังพบการแสดงออกของโปรตีนดังกล่าวในชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน โดยพบการแสดงออกในเซลล์อักเสบเรื้อรังที่ใกล้กับชั้นเยื่อฐาน จากการศึกษายังพบว่าการแสดงออกของคาเทปซินแอลในรอยโรคไลเคนแพลนัสมีระดับสูงกว่าเนื้อเยื่อปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Ibrahim และคณะในปี ค.ศ. 2015⁽¹⁶⁾ ที่ศึกษาการแสดงออกของคาเทปซินแอลในรอยโรคไลเคนแพลนัสที่ผิวหนัง โดยลักษณะที่พบการแสดงออกที่เซลล์เยื่อเมือก ที่ติดกับชั้นเยื่อฐาน รวมถึงเซลล์อักเสบที่อยู่ติดกับบริเวณชั้นเยื่อฐานเช่นกัน ในการศึกษาของ Ibrahim และคณะ พบว่าการแสดงออกของคาเทปซินแอลในรอยโรคไลเคนแพลนัสที่ผิวหนังมีระดับการแสดงออกสูงกว่าในผิวหนังปกติ โดยเชื่อว่าเป็นคาเทปซินแอลนั้นมีผลต่อกระบวนการเกิดโรคของไลเคนแพลนัส⁽¹⁶⁾ ซึ่งการเกิดรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากนั้นมีสมมุติฐานว่าเกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันชนิดเซลล์เป็นสื่อ โดยเฮลป์เปอร์ทีเซลล์ ซึ่งถูกกระตุ้นโดย MHC class II ร่วมกับเซลล์แลงเกอร์ฮานและเคอราติโนไซต์ จะไปส่งเสริมการทำงานของ ซีดี-8 ทีลิมโฟไซต์ ผ่านทางการหลั่งไซโตไคน์หลายชนิด เช่น อินเตอร์ลิวคิน-2, อินเตอร์ลิวคิน-12 และอินเตอร์เฟียร์รอนแกมมา ชักนำให้เกิดการตายแบบอะพอพโทซิสของเซลล์เคอราติโนไซต์⁽⁷⁾ อย่างไรก็ตามในการศึกษาของ Nakagawa และคณะ ในปี ค.ศ. 1998⁽³⁸⁾ ได้ศึกษา ไทโมไซต์

(thymocyte) และ สปลีโนไซต์ (splenocyte) จากหนูที่ไม่มีคาเทปซินแอล (*ctsl^{-/-}* mice) พบว่ามีจำนวน ซีดี-4 ทีลิมโฟไซต์ลดลง ร้อยละ 60-80 ที่บริเวณต่อมไทมัสและบริเวณใกล้เคียง ซึ่ง ซีดี-4 ทีลิมโฟไซต์นั้นมีหน้าที่เป็น co-receptor ใน MHC class II จึงเป็นไปได้ว่าการขาดคาเทปซินแอล อาจส่งผลให้ การทำหน้าที่ของการนำเสนอเซลล์ลดลง⁽³⁸⁾ นอกจากนี้คาเทปซินยังสามารถส่งผลโดยตรงให้เกิดการตายของเซลล์แบบอะพอพโทซิส โดยการหลังเข้าไปในไซโทซอล (cytosol) ของเซลล์และชักนำให้เกิดการสลายของโปรตีนเป้าหมายได้แก่ แคลสเปส 8, Bid และทำให้สัญญาณของการเกิดอะพอพโทซิสถูกกระตุ้นและชักนำให้เกิดการตายของเซลล์ในที่สุด⁽³⁹⁾

ในมะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมา พบว่าการแสดงออกของคาเทปซินแอลในบริเวณชั้นเยื่อบุผิว ในไซโทพลาสซึมของเซลล์มะเร็ง เคอราตินเฟลิด และเซลล์อักเสบที่กระจายในชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Nakashima และคณะ ในปี ค.ศ. 2012⁽¹⁴⁾ ซึ่งทำการศึกษาการแสดงออกของคาเทปซินแอลในรอยโรคมะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมาเช่นกัน โดยพบว่าการแสดงออกของคาเทปซินแอลที่เพิ่มมากขึ้นนั้นมีผลต่อความรุนแรงของรอยโรคและการลุกลามของรอยโรคมะเร็ง ทั้งนี้ความรุนแรงของรอยโรคมะเร็งนั้นวัดที่การลุกลามของเซลล์มะเร็งโดยเซลล์มะเร็งนั้นจะมีการหลั่งโปรตีนเอสออกมาเพื่อย่อยสลายแมทริกซ์ภายนอกทำให้เกิดการลุกลามของโรค⁽⁴⁰⁾ ดังนั้นจึงทำให้พบการแสดงออกของคาเทปซินแอลที่ บริเวณเคอราตินเฟลิด อย่างไรก็ตามการศึกษาของ Lankelma และคณะในปี ค.ศ. 2010⁽³⁷⁾ พบว่าคาเทปซินแอลมีบทบาทต่อการดำเนินของโรคมะเร็งโดยมี 3 ประเด็นที่น่าเกี่ยวข้องได้แก่ 1. การตายแบบอะพอพโทซิสของเซลล์ 2. การเพิ่มการสร้างของหลอดเลือด (angiogenesis) 3. การลุกลามและแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง โดยมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของอีแคพซิวริน ซึ่งมีหน้าที่เกี่ยวกับการยึดเกาะของเซลล์ ทำให้การยึดเกาะระหว่างเซลล์ลดลง จึงส่งผลให้เกิดการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งได้มากขึ้น⁽³⁷⁾ ซึ่งจากการศึกษาที่อ้างมา คาเทปซินแอลนั้นอาจมีผลในแง่ของการดำเนินไปของโรคซึ่งเอื้อให้เกิดการอยู่รอดของเซลล์มะเร็งได้ รวมไปถึงการลุกลามและแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง

การแสดงออกของคาเทปซินแอลในรอยโรคอีพิทีเลียลดิสเพลเซียพบว่าการแสดงออกในไซโทพลาสซึมของเซลล์เยื่อบุผิวที่ผิดปกติ และเซลล์อักเสบในชั้นของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันซึ่งการแสดงออกนี้มีความคล้ายคลึงกับการศึกษาของ Macabeo-Ong และคณะ ในปี ค.ศ. 2003⁽¹⁵⁾ ซึ่งพบการแสดงออกของคาเทปซินแอลในไซโทพลาสซึมของเซลล์เยื่อบุผิวที่ผิดปกติเช่นกัน โดย

พบว่า การแสดงออกของคาเทปซินแอลที่มากขึ้นมีความสัมพันธ์กับระดับความรุนแรงของโรคที่เพิ่มขึ้นด้วย และมีสมมุติฐานว่าจะสามารถพบการแสดงออกของคาเทปซินแอลได้ในรอยโรคก่อนมะเร็งที่ใกล้จะมีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นมะเร็งได้ นอกจากนี้ยังพบรายงานการศึกษาของคาเทปซินชนิดอื่นๆ ที่พบการแสดงออกในรอยโรคอีพิทีเลียลติสเพลเซียซึ่งได้แก่ คาเทปซินเอส (cathepsin S) คาเทปซินดี (cathepsin D) โดยการศึกษาของ Yu. W และคณะในปี ค.ศ. 2010⁽⁴¹⁾ ได้พบว่า คาเทปซินเอส (cathepsin S) มีระดับสูงขึ้นในกลุ่มทดลองที่มีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นมะเร็งของรอยโรคติสเพลเซีย โดยเชื่อว่าเกี่ยวข้องกับการตายของเซลล์แบบอะพอพโทซิสและการสร้างหลอดเลือดใหม่ และในการศึกษาของ Yogesh ในปี ค.ศ. 2011⁽²⁸⁾ ได้ศึกษาการแสดงออกของคาเทปซินดีซึ่งเป็นสมาชิกหนึ่งของแอสพาติกคาเทปซิน ในรอยโรคอีพิทีเลียลติสเพลเซียพบว่ามีการแสดงออกที่มากขึ้นและมีระดับของอีแคทฮิรินที่ลดลง ส่งผลให้เกิดการสูญเสียการยึดติดของเซลล์โดยอาจใช้เป็นตัวบอกระดับความรุนแรงของรอยโรคได้ โดยจะเห็นได้ว่าคาเทปซินแต่ละชนิดที่กล่าวมาไม่ว่าจะเป็นคาเทปซินแอล คาเทปซินเอส และคาเทปซินดี ล้วนมีความสัมพันธ์กับความรุนแรงของรอยโรคอีพิทีเลียลติสเพลเซีย และมีความแตกต่างกันในด้านกลไกที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงของโรค แต่อย่างไรก็ตามจากการศึกษาครั้งนี้ ผู้วิจัยไม่ได้คัดกลุ่มตัวอย่างเพื่อศึกษาถึงกลไกของคาเทปซินแอลต่อระดับความรุนแรงของรอยโรค และตัวอย่างรอยโรคกลุ่มอีพิทีเลียลติสเพลเซียที่นำมาศึกษาในครั้งนี้ ส่วนใหญ่มีระดับความรุนแรงอยู่ที่ระดับน้อยถึงปานกลาง ทำให้ผลที่ได้จากการแสดงออกของคาเทปซินแอลในรอยโรคนี้จึงอาจไม่สามารถสรุปได้ว่าการแสดงออกของคาเทปซินแอลมีผลต่อความรุนแรงของรอยโรคอีพิทีเลียลติสเพลเซียหรือไม่

สำหรับกลุ่มเนื้อเยื่อปกติ สามารถพบการแสดงออกคาเทปซินแอลได้เช่นกัน โดยพบการแสดงออกได้ในเซลล์เยื่อบุผิว และเซลล์ไฟโบรบลาสต์ในชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Ibrahim และคณะ ในปี ค.ศ. 2015⁽¹⁶⁾ ที่พบมีการแสดงออกของคาเทปซินแอลในผิวหนังปกติ แต่มีในปริมาณที่น้อย โดยคาดว่าการทำงานของคาเทปซินแอลนั้นมีความเกี่ยวข้องในกระบวนการ ความคุมสมดุลของการผลัดผิว การตายของเซลล์ การผกผันของโปรตีน (protein turnover) รวมไปถึงการสร้างใหม่ของชั้นแมทริกซ์ (matrix remodeling)

จากการศึกษาของ Nakashima และคณะ ในปี ค.ศ. 2012⁽¹⁴⁾ และ การศึกษาของ Macabeo-ong ในปี ค.ศ. 2003⁽¹⁵⁾ ที่ศึกษาการแสดงออกของคาเทปซินแอลในรอยโรคมะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมาและรอยโรคอีพิทีเลียลติสเพลเซีย ทั้งสองการศึกษานี้ได้สรุปถึง

ความสัมพันธ์ของระดับการแสดงออกของคาเทปซินแอลและความรุนแรงของรอยโรค อย่างไรก็ตามในการศึกษานี้ยังไม่สามารถสรุปได้ว่าคาเทปซินแอลนั้นมีผลต่อระดับความรุนแรงของรอยโรคในแต่ละกลุ่มหรือไม่ เนื่องจากในกลุ่มรอยโรคไลเคนแพลนัสคัดเพียงกลุ่มประชากรที่เป็นรอยโรคชนิดแผลถลอกเท่านั้น ในกลุ่มรอยโรคอีพิทีเลียลดีสเพลเซียและมะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมา มีจำนวนชิ้นเนื้อที่จัดอยู่ในระดับความรุนแรงน้อยถึงปานกลางเป็นส่วนใหญ่จึงทำให้ผลการทดลองยังไม่สามารถตอบได้ว่าการแสดงออกของคาเทปซินแอลนั้นมีความสัมพันธ์กับระดับความรุนแรงหรือไม่

นอกจากคาเทปซินแอลแล้ว ยังพบการศึกษาที่ใช้เทคนิคการย้อมทางอิมมูโนฮิสโตเคมีโดยใช้คาเทปซินชนิดอื่นที่อยู่ในกลุ่มซิสเตอีนคาเทปซิน ได้แก่ การศึกษาของ Satelur และคณะ ในปี ค.ศ. 2017⁽³⁰⁾ ที่ และ Siponen และคณะในปี ค.ศ. 2016⁽³¹⁾ ที่ศึกษาการแสดงออกของคาเทปซินบีและคาเทปซินเคในรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากตามลำดับ พบว่าลักษณะการติดสีที่ เซลล์ในทั้งสองการศึกษามีลักษณะคล้ายคลึงกับในการศึกษาคั้งนี้ โดยพบการแสดงออกที่เซลล์เยื่อเมิวในไซโทพลาสซึม ลักษณะเป็น small granule มีการแสดงในเซลล์อักเสบที่ได้ต่อชั้นเยื่อเมิวในรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปาก และการศึกษาทั้งสองสรุปว่าการแสดงออกของคาเทปซินนั้นอาจเกี่ยวข้องกับการเกิดโรคไลเคนแพลนัสในช่องปาก

การแปลผลในการศึกษาคั้งนี้ได้ใช้การวัดผลโดยใช้คะแนน IRS ซึ่งเกณฑ์นี้ใช้ตัวแปรสองชนิดมาคำนวณได้แก่ค่าความเข้มและร้อยละการติดสีของเซลล์ ดังตารางที่ 3 โดยในบางการศึกษาใช้เพียงการให้คะแนนความเข้มเพียงเท่านั้น^(16,30) แต่ในบางการศึกษาใช้การวิเคราะห์โดยนำค่าเฉลี่ยมาแปลผล⁽³¹⁾ ดังนั้นในการศึกษานี้จึงได้ยกตัวแปรทั้งสองมาวิเคราะห์ร่วมกันเพื่อความแม่นยำในการแปลผลที่มากขึ้น เนื่องจากการวัดเพียงความเข้ม หรือจำนวนเซลล์ที่แสดงออกเพียงอย่างเดียวอาจไม่บ่งบอกถึงการแสดงออกที่แท้จริงในการแปลผล เช่นในบางชิ้นเนื้อที่ศึกษาที่มีการแสดงออกของจำนวนเซลล์ที่มาก แต่ความเข้มของการแสดงออกอยู่ในระดับน้อย ซึ่งในการศึกษานี้พบว่าเมื่อคำนวณคะแนน IRS และแปลผล ผลที่ได้มีความสอดคล้องกับจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออกและความเข้มของการแสดงออกของคาเทปซินแอล แต่ข้อจำกัดของการใช้ คะแนน IRS คือไม่สามารถใช้ในการวัดการแสดงออกที่อยู่ภายนอกเซลล์ได้ และยังไม่มียาที่ดีที่สุดในการวัดการแสดงออกทางอิมมูโนฮิสโตเคมี⁽³³⁾

อย่างไรก็ตามจากการศึกษานี้พบว่าการแสดงออกของคาเทปซินแอลมีความแตกต่างกันในแต่ละกลุ่มรอยโรคทั้งด้านของจำนวนเซลล์ที่มีการแสดงออก ความเข้มของการแสดงออก รวมถึงตำแหน่งที่มีการแสดงออกของแต่ละรอยโรค ทั้งนี้เนื่องจากคาเทปซินแอลนั้นมีบทบาทและหน้าที่หลายอย่าง ดังนั้นการแสดงออกในแต่ละกลุ่มรอยโรคที่มีความแตกต่างกัน อาจเป็นเพราะมีการทำหน้าที่แตกต่างกันในแต่ละรอยโรค จากการศึกษาจึงสรุปได้ว่า คาเทปซินแอลในรอยโรคไลเคนแพลนัสมีการแสดงออกที่แตกต่างกับรอยโรคมะเร็งช่องปากชนิดสควamous เซลล์ คาร์ซิโนมา และรอยโรคอีพิทีเลียลดีสเพลเซีย โดยเชื่อว่าการแสดงออกของคาเทปซินแอลมีบทบาทที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคไลเคนแพลนัสในช่องปาก อย่างไรก็ตามยังไม่อาจสรุปได้ว่าสามารถใช้การแสดงออกของคาเทปซินแอลในการเป็นตัวบ่งชี้ เกิดการเปลี่ยนแปลงไปเป็นมะเร็งของรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปากได้ เนื่องจากมีข้อจำกัดในเรื่องจำนวนของชิ้นเนื้อที่ใช้ในการศึกษาและข้อมูลของชิ้นเนื้อรวมถึงประวัติที่เกี่ยวข้องทางคลินิกของผู้ป่วยบางอย่างไม่สามารถสืบค้นได้ เนื่องจากเป็นการค้นข้อมูลประวัติย้อนหลังจากใบส่งตรวจชิ้นเนื้อ

บรรณานุกรม

1. Cheng YS, Gould A, Kurago Z, Fantasia J, Muller S. Diagnosis of oral lichen planus: a position paper of the American Academy of Oral and Maxillofacial Pathology. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2016;122(3):332-54.
2. Shen Z-Y, Liu W, Feng J-Q, Zhou H-W, Zhou Z-T. Squamous cell carcinoma development in previously diagnosed oral lichen planus: de novo or transformation? *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2011;112(5):592-6.
3. Au J, Patel D, Campbell JH. Oral lichen planus. *Oral maxillofac Surg Clin North Am*. 2013;25(1):93-100.
4. Monoarz V, Ulmansky M, Lustmann J. Lichen Planus: Exploring its Malignant Potential. *J Am Dent Assoc*. 1993;124(3):102-8.
5. Patel S, Yeoman CM, Murphy R. Oral lichen planus in childhood: a report of three cases. *Int J Paediatr Dent*. 2005;15(2):118-22.
6. Tovu S, Parlatescu I, Gheorghe C, Tovu M, Costache M, Sardella A. Oral lichen planus: a retrospective study of 633 patients from Bucharest, Romania. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2013;18(2):e201-6.
7. Shirasuna K. Oral lichen planus: Malignant potential and diagnosis. *Oral Sci Int*. 2014;11(1):1-7.
8. Parashar P. Oral Lichen Planus. *Otolaryngol Clin North Am*. 2011;44(1):89-107.
9. Fitzpatrick SG, Hirsch SA, Gordon SC. The malignant transformation of oral lichen planus and oral lichenoid lesions: a systematic review. *J Am Dent Assoc*. 2014;145(1):45-56.
10. Bombeccari GP, Guzzi G, Tettamanti M, Gianni AB, Baj A, Pallotti F, et al. Oral lichen planus and malignant transformation: a longitudinal cohort study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2011;112(3):328-34.
11. van der Meij EH, Mast H, van der Waal I. The possible premalignant character of oral lichen planus and oral lichenoid lesions: a prospective five-year follow-up study of 192 patients. *Oral Oncol*. 2007;43(8):742-8.

12. Aghbari SMH, Abushouk AI, Attia A, Elmaraezy A, Menshawy A, Ahmed MS, et al. Malignant transformation of oral lichen planus and oral lichenoid lesions: A meta-analysis of 20095 patient data. *Oral Oncol.* 2017;68:92-102.
13. Tamhane T, Llukumbura R, Lu S, Maelandsmo GM, Haugen MH, Brix K. Nuclear cathepsin L activity is required for cell cycle progression of colorectal carcinoma cells. *Biochimie.* 2016;122:208-18.
14. Nakashima T, Yasumatsu R, Masuda M, Clayman GL, Komune S. Prognostic value of cathepsin L and its inhibitor headpin in oral squamous cell carcinoma. *J Laryngol Otol.* 2012;126(11):1134-7.
15. Macabeo-Ong M, Shiboski CH, Silverman S, Ginzinger DG, Dekker N, Wong DT, et al. Quantitative analysis of cathepsin L mRNA and protein expression during oral cancer progression. *Oral oncol.* 2003;39(7):638-47.
16. Ibrahim ZA, El Ashmawy AA, Abd El-Naby NM, Ghoraba HM. Immunohistochemical expression of cathepsin L in atopic dermatitis and lichen planus. *Indian J Dermatol.* 2015;60(1):13-20.
17. McCartan BE. Psychological factors associated with oral lichen planus. *J Oral Pathol Med.* 1995;24(6):273-5.
18. Sugerman PB, Savage NW. Oral lichen planus: causes, diagnosis and management. *Aust Dent J.* 2002;47(4):290-7.
19. Mahboobi N, Agha-Hosseini F, Lankarani KB. Hepatitis C virus and lichen planus: the real association. *Hepat Mon.* 2010;10(3):161-4.
20. van der Meij EH, van der Waal I. Lack of clinicopathologic correlation in the diagnosis of oral lichen planus based on the presently available diagnostic criteria and suggestions for modifications. *J Oral Pathol Med.* 2003;32(9):507-12.
21. Edwards PC, Kelsch R. Oral lichen planus: clinical presentation and management. *J Can Dent Assoc.* 2002;68(8):494-9.
22. Lanfranchi-Tizeira HE, Aguas SC, Sano SM. Malignant transformation of atypical oral lichen planus: a review of 32 cases. *Med Oral.* 2003;8(1):2-9.
23. Krutchkoff DJ, Eisenberg E. Lichenoid dysplasia: A distinct histopathologic entity.

Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1985;60(3):308-15.

24. Valente G, Pagano M, Carrozzo M, Carbone M, Bobba V, Palestro G, et al. Sequential immunohistochemical p53 expression in biopsies of oral lichen planus undergoing malignant evolution. *J Oral Pathol Med*. 2001;30(3):135-40.
25. Chen Y, Zhang W, Geng N, Tian K, Windsor LJ. MMPs, TIMP-2, and TGF-beta1 in the cancerization of oral lichen planus. *Head Neck*. 2008;30(9):1237-45.
26. Olson OC, Joyce JA. Cysteine cathepsin proteases: regulators of cancer progression and therapeutic response. *Nat Rev Cancer*. 2015;15(12):712-29.
27. Turk V, Stoka V, Vasiljeva O, Renko M, Sun T, Turk B, et al. Cysteine cathepsins: From structure, function and regulation to new frontiers. *Biochim et Biophys Acta*. 2012;1824(1):68-88.
28. Yogesh T, Narayan T, Shreedhar B, Shashidara R, Leekymohanty. The expression of E-cadherin and cathepsin-D in normal oral mucosa, oral epithelial dysplasia and oral squamous cell carcinoma: A comparative analysis between immunohistochemistry and routine histopathology. *J Oral Maxillofac Pathol*. 2011;15(3):288-94.
29. Hirano T, Manabe T, Takeuchi S. Serum cathepsin B levels and urinary excretion of cathepsin B in the cancer patients with remote metastasis. *Cancer lett*. 1993;70(1-2):41-4.
30. Satelur KP, Bopaiah S, Bavle RM, Ramachandra P. Role of Cathepsin B as a Marker of Malignant Transformation in Oral Lichen Planus: An Immunohistochemical Study. *J Clin Diagn Res*. 2017;11(8):zc29-zc32.
31. Siponen M, Bitu CC, Al-Samadi A, Nieminen P, Salo T. Cathepsin K expression is increased in oral lichen planus. *J Oral Pathol Med*. 2016;45(10):758-65.
32. Cochran, W.G. *Sampling Technique*. Third Edition. New York: John Wiley and Son Inc; 1977.
33. Remmele W, Stegner HE. Recommendation for uniform definition of an immunoreactive score (IRS) for immunohistochemical estrogen receptor detection (ER-ICA) in breast cancer tissue. *Pathologe*. 1987;8(3):138-40.
34. Thomssen C, Schmitt M, Goretzki L, Oppelt P, Pache L, Dettmar P, et al.

Prognostic value of the cysteine proteases cathepsins B and cathepsin L in human breast cancer. *Clin Cancer Res.* 1995;1(7):741-6.

35. Hsu K-F, Wu C-L, Huang S-C, Wu C-M, Hsiao J-R, Yo Y-T, et al. Cathepsin L mediates resveratrol-induced autophagy and apoptotic cell death in cervical cancer cells. *Autophagy.* 2009;5(4):451-60.

36. Sudhan DR, Siemann DW. Cathepsin L targeting in cancer treatment. *Pharmacol Ther.* 2015;155:105-16.

37. Lankelma JM, Voorend DM, Barwari T, Koetsveld J, Van der Spek AH, De Porto APNA, et al. Cathepsin L, target in cancer treatment? *Life Sci.* 2010;86(7):225-33.

38. Nakagawa T, Roth W, Wong P, Nelson A, Farr A, Deussing J, et al. Cathepsin L: Critical Role in I κ B Degradation and CD4 T Cell Selection in the Thymus. *Science.* 1998;280(5362):450-3.

39. Conus S, Simon HU. Cathepsins and their involvement in immune responses. *Swiss Med Wkly.* 2010;140:w:13042.

40. Kawasaki G, Kato Y, Mizuno A. Cathepsin expression in oral squamous cell carcinoma: Relationship with clinicopathologic factors. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2002;93(4):446-54.

41. Yu W, Liu J, Shi MA, Wang J, Xiang M, Kitamoto S, et al. Cystatin C deficiency promotes epidermal dysplasia in K14-HPV16 transgenic mice. *PLoS One.* 2010;5(11):e13973.



การปรับมาตรฐานภายในผู้ตรวจ (intracalibration)

ในการศึกษานี้ผู้วิจัยได้ทำการนับจำนวนเซลล์เพียงผู้เดียว ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการสอบเทียบหรือการปรับมาตรฐานภายในผู้ตรวจ โดยผู้วิจัยได้ทำการสุ่มขึ้นเนื้อที่เคยนับผ่านไปแล้วเป็นเวลาอย่างน้อย 1 สัปดาห์ และนำมานับใหม่อีกครั้ง เป็นจำนวน 10 ตัวอย่าง โดยจะทำทั้งหมดกับตัวอย่างเดิมเป็นจำนวน 3 ครั้ง และนำค่าเฉลี่ยมาเปรียบเทียบกัน โดยการคำนวณค่าความเหมือนของการตรวจซ้ำมี 2 วิธีได้แก่

ร้อยละของความเหมือน (percentage agreement) โดยมีสูตรคือ

$$\% \text{ agreement} = (\text{observe agreement}/N)*100$$

โดยที่เกณฑ์ที่ยอมรับได้คือ มากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 80

ค่าแคปปา (Cohen's Kappa)

$$K = (\text{observe agreement} - \text{expect agreement}) / (N - \text{expect agreement})$$

การแปลผลของค่าแคปปา ได้ดังนี้

<0	ไม่เหมือน
0.00-0.20	ต่ำมาก
0.21-0.40	ต่ำ
0.41-0.60	ปานกลาง
0.61-0.80	สูง
0.81-1.00	สูงมาก

จากการศึกษาผู้วิจัยได้ทำการวัดซ้ำและได้ผลการวัดซ้ำดังตาราง ก. จากนั้นจะทำการคำนวณร้อยละของความเหมือนในส่วนของร้อยละของการติดสี และใช้การคำนวณค่าแคปปาในการคำนวณความเข้มของการติดสี

ตาราง ก. ผลการวัดซ้ำเพื่อปรับมาตรฐานภายใน

เคส	ครั้งที่ 1		ครั้งที่ 2		ครั้งที่ 3	
	ร้อยละการติดสี	ความเข้มการติดสี	ร้อยละการติดสี	ความเข้มการติดสี	ร้อยละการติดสี	ความเข้มการติดสี
1	5.80	1	5.90	1	5.73	1
2	24.19	1	24.49	1	26.29	1
3	66.05	2	62.16	2	64.22	2
4	6.91	1	9.5	1	9.8	1
5	60.53	2	61.51	2	61.76	2
6	35.95	1	35.22	1	34.40	1
7	32.89	2	34.19	2	35.06	2
8	6.98	1	8.5	1	7.83	1
9	12.03	1	12.31	1	13.41	1
10	18.28	2	19.16	2	17.74	2

ตัวอย่างการคำนวณ

ข้อมูลในส่วนร้อยละการติดสี มีค่าเป็นร้อยละ ดังนั้นจึงใช้การคำนวณแบบ หาร้อยละของความเหมือน โดยค่าที่ยอมรับได้อยู่ที่ร้อยละ 80 ขึ้นไป (ใช้ค่าของตัวอย่างที่ 1 ในการแทนค่า)

จากสูตร $\% \text{ agreement} = (\text{Observe agreement} / N) \times 100$

แทนค่า $\% \text{ agreement} = (5.8/5.9) \times 100$

$\% \text{ agreement} = 98.30\%$

ข้อมูลการวัดความเข้มของการติดสี มีค่าเป็นระดับ 1-4 ดังนั้นจึงใช้การคำนวณแบบหาค่าแคปปา ดังนี้ (ใช้ค่าของกลุ่มตัวอย่างที่ 1 ในการแทนค่า)

จากสูตร $\text{Kappa} = (\text{observe agreement} - \text{expect agreement}) / (N - \text{expect agreement})$

ได้ค่า $\text{Kappa} = 1$

Count		intra02		Total
		1.00	2.00	
intracalibration	1.00	6	0	6
	2.00	0	4	4
Total		6	4	10

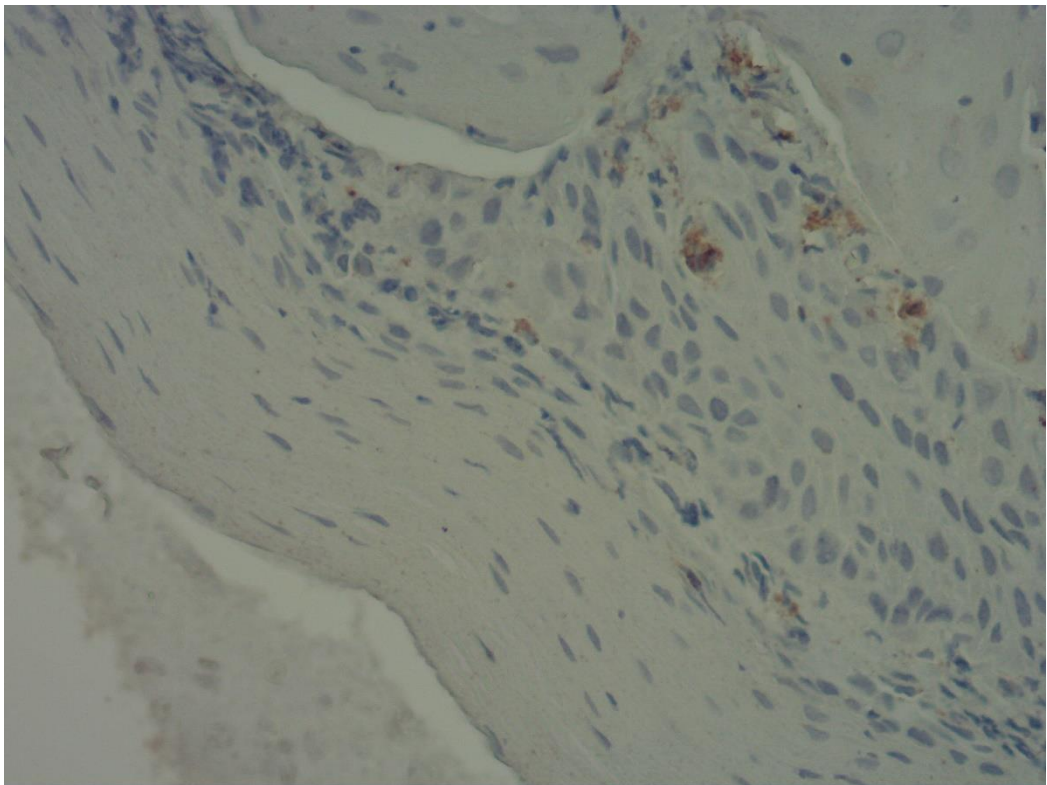
Symmetric Measures					
		Value	Asymptotic Standard Error ^a	Approximate T ^b	Approximate Significance
Measure of Agreement	Kappa	1.000	.000	3.162	.002
N of Valid Cases		10			

a. Not assuming the null hypothesis.

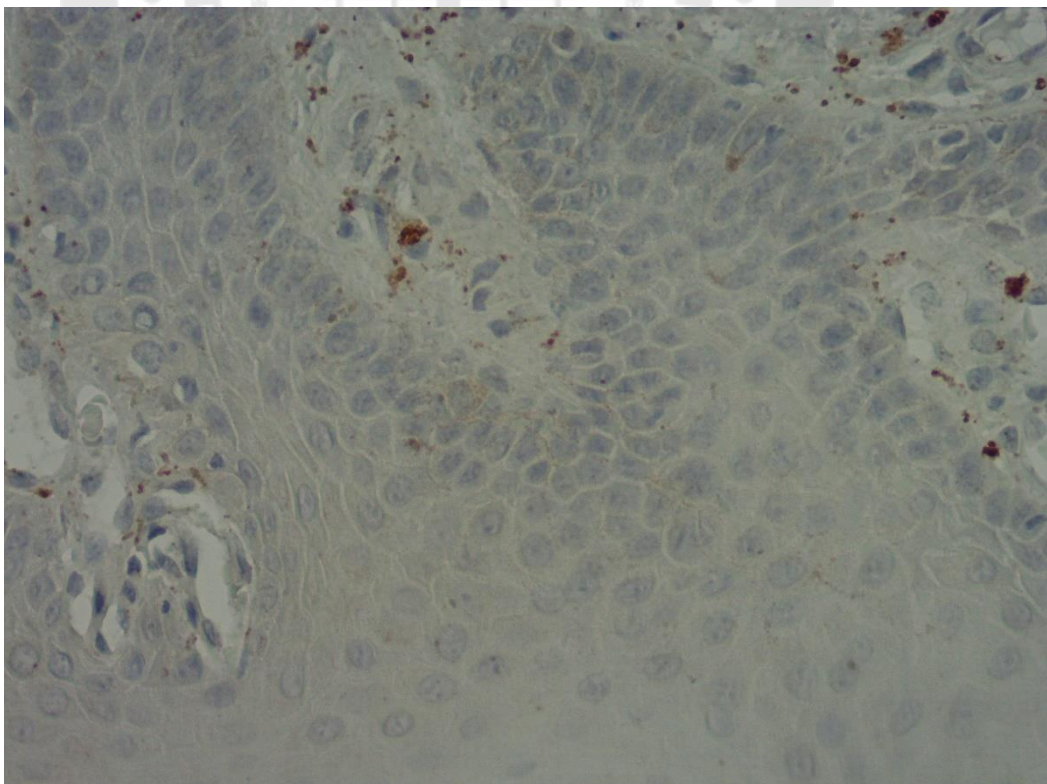
b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

ภาพประกอบ ก. ภาพแสดงผลการคำนวณค่าแคปปาจากโปรแกรม SPSS

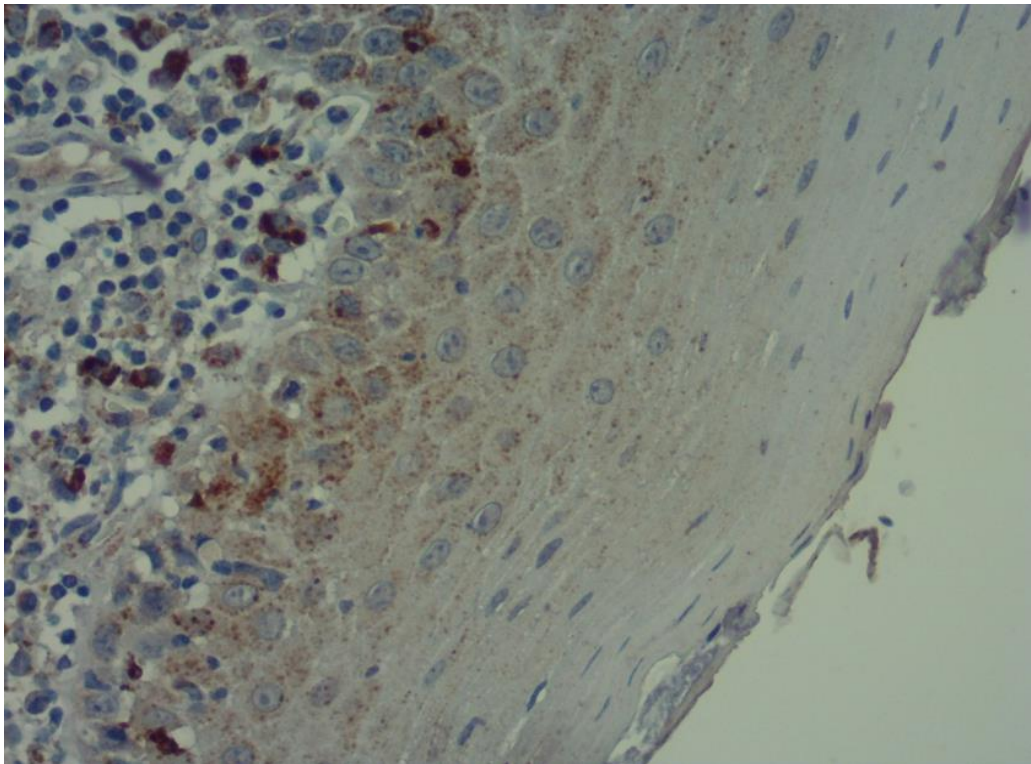
จากการคำนวณการปรับมาตรฐานภายในพบว่า ร้อยละของการติดสีในทุกตัวอย่างที่สุ่มมามีค่า % agreement มากกว่า ร้อยละ 80 ในทุกตัวอย่าง และ ค่าแคปปาของการวัดความเข้มของการติดสี มีค่าเท่ากับ 1 ในทุกตัวอย่าง



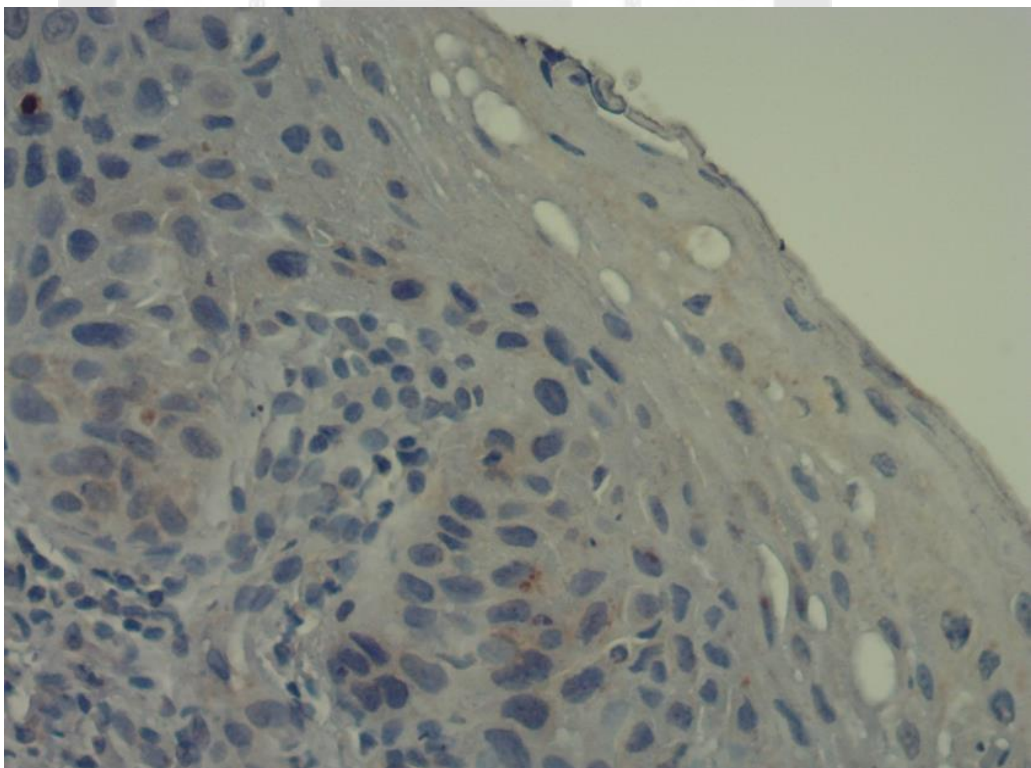
ภาพประกอบ ข. ภาพที่ใช้ในการปรับมาตรฐานภายในภาพที่ 1



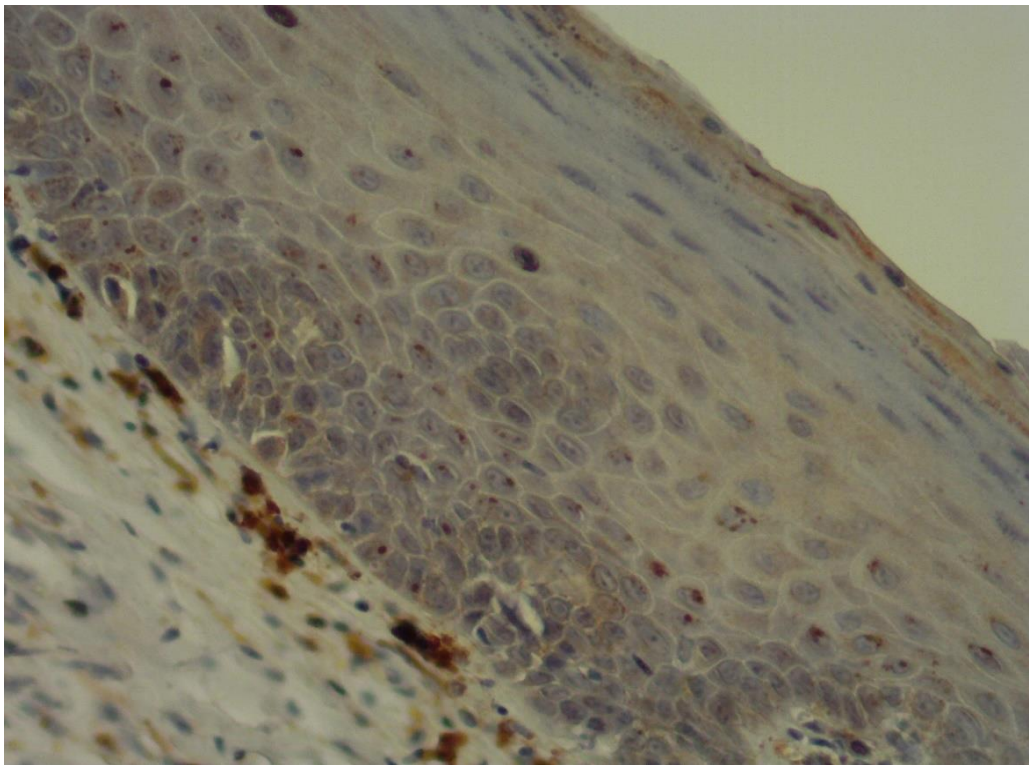
ภาพประกอบ ค. ภาพที่ใช้ในการปรับมาตรฐานภายในภาพที่ 2



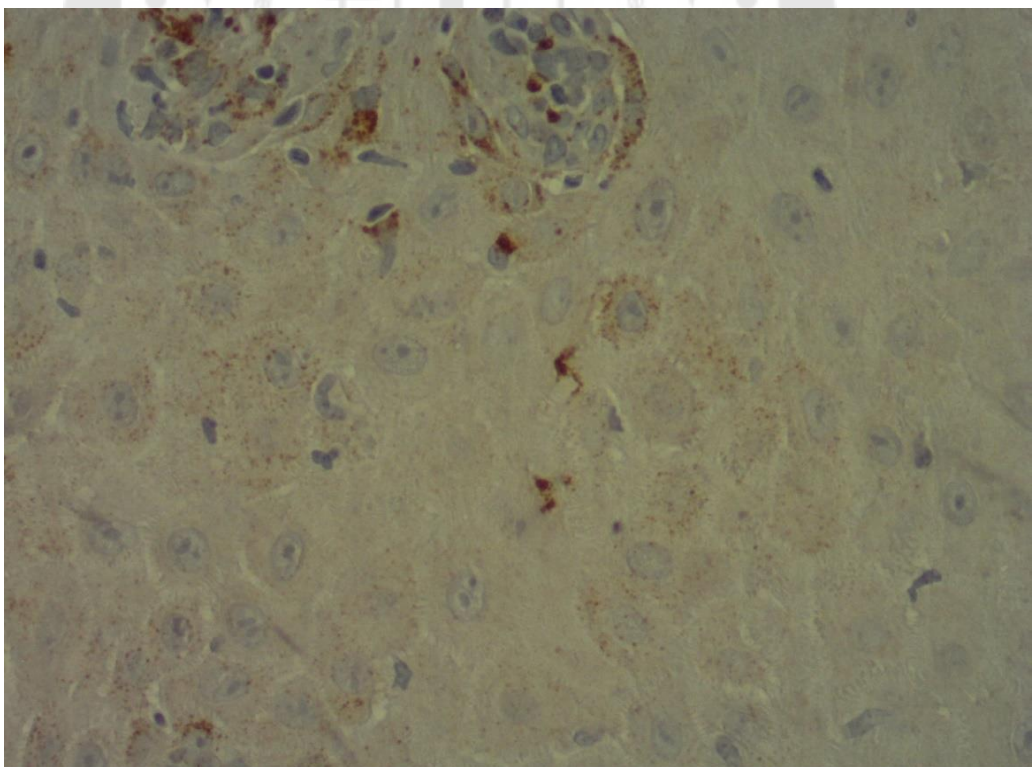
ภาพประกอบ ง. ภาพที่ใช้ในการปรับมาตรฐานภายในภาพที่ 3



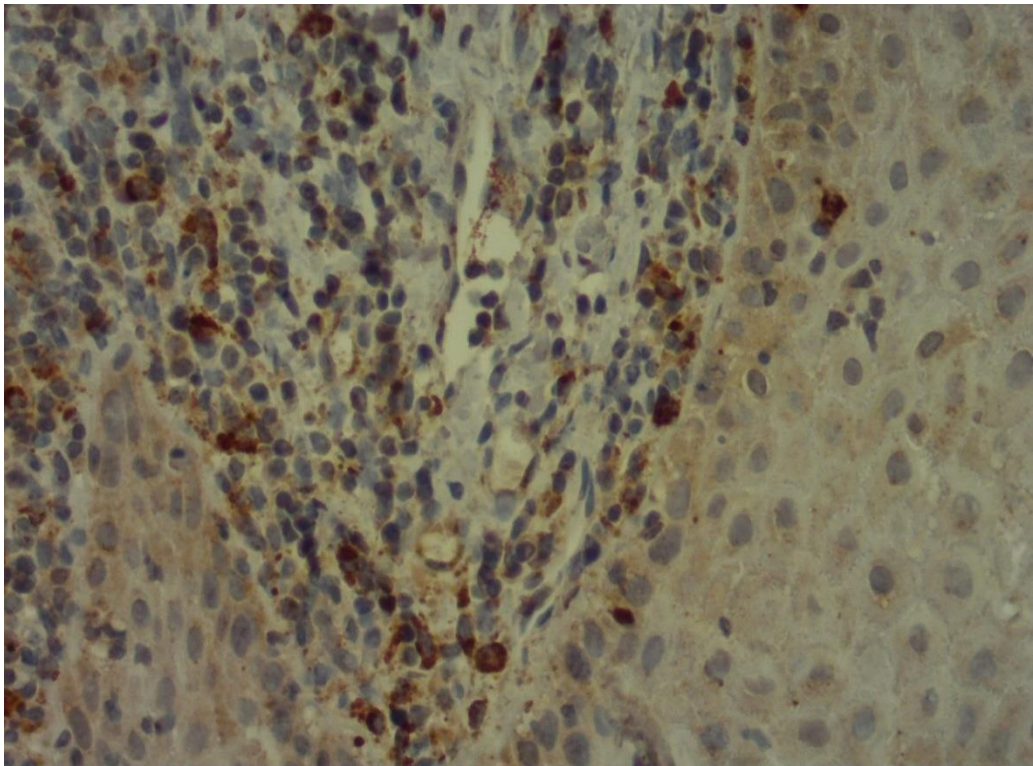
ภาพประกอบ จ. ภาพที่ใช้ในการปรับมาตรฐานภายในภาพที่ 4



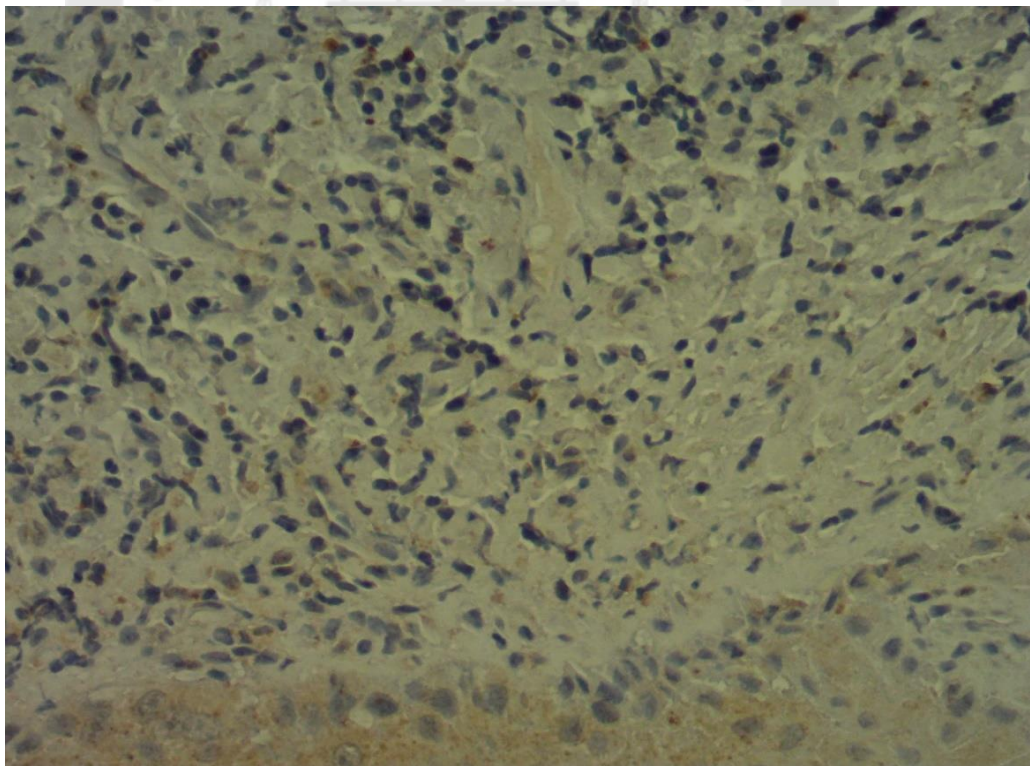
ภาพประกอบ ฉ. ภาพที่ใช้ในการปรับมาตรฐานภายในภาพที่ 5



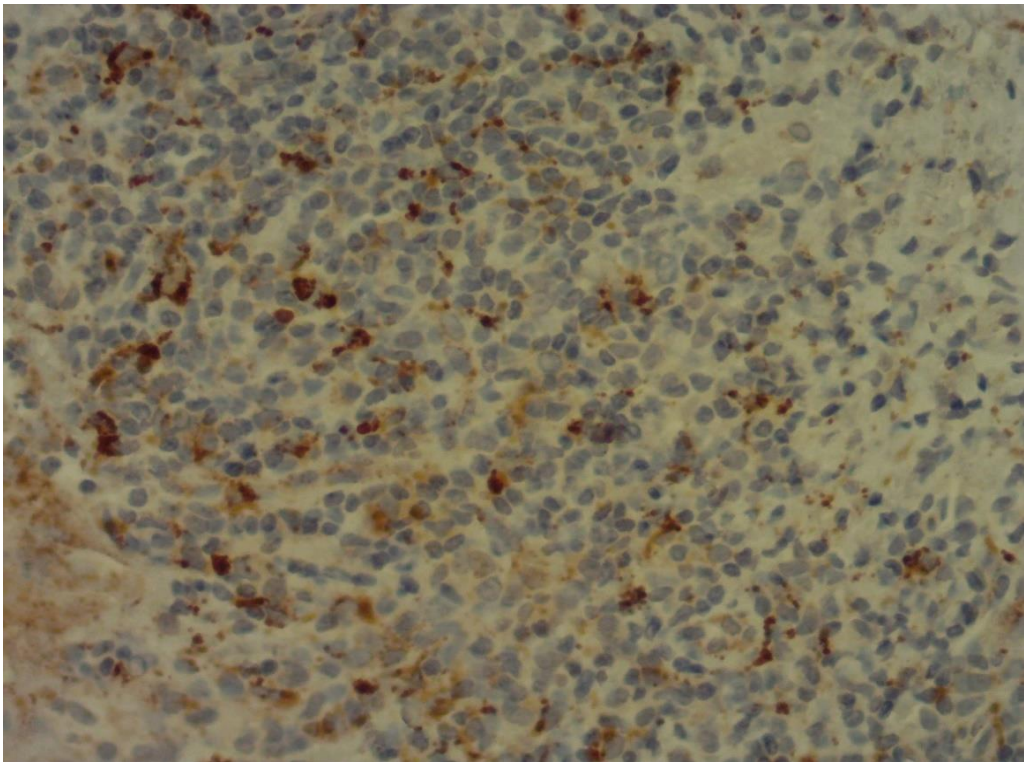
ภาพประกอบ ช. ภาพที่ใช้ในการปรับมาตรฐานภายในภาพที่ 6



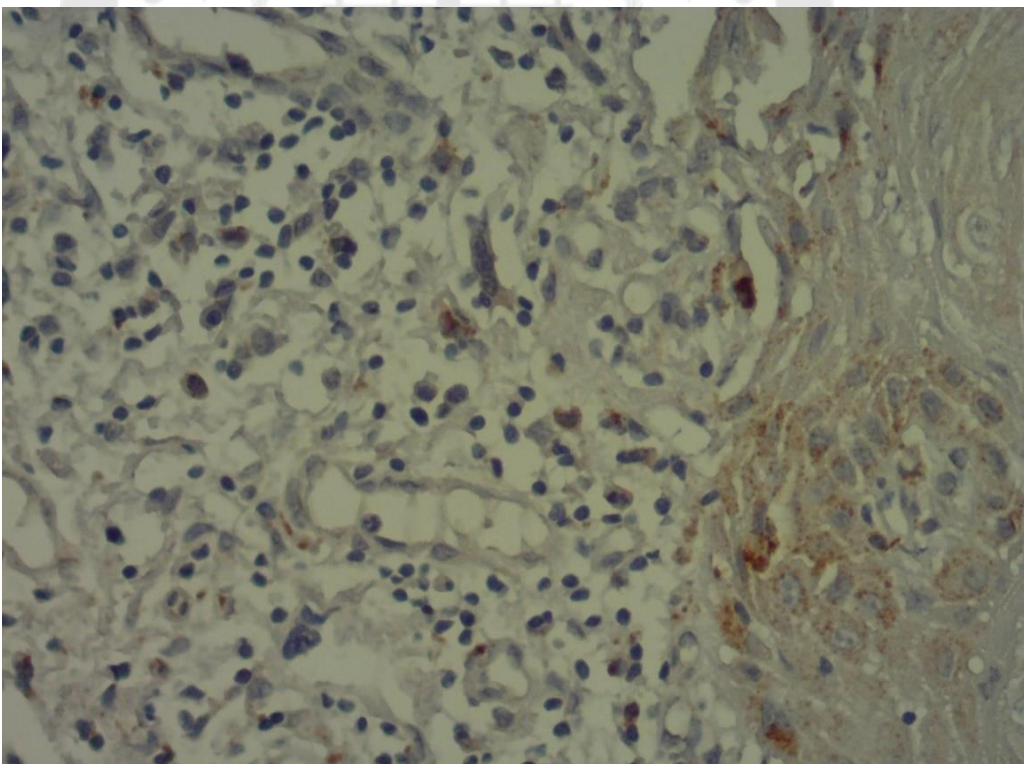
ภาพประกอบ ซ. ภาพที่ใช้ในการปรับมาตรฐานภายในภาพที่ 7



ภาพประกอบ ฉ. ภาพที่ใช้ในการปรับมาตรฐานภายในภาพที่ 8




ภาพประกอบ ญ. ภาพที่ใช้ในการปรับมาตรฐานภายในภาพที่ 9



ภาพประกอบ ฎ. ภาพที่ใช้ในการปรับมาตรฐานภายในภาพที่ 10

เอกสารรับรองพิจารณาโครงการวิจัยที่ทำในมนุษย์



ที่ อว 8722.4/ ๒๗๕

มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
สุขุมวิท 23 กรุงเทพฯ 10110

15 พ.ย. 2562

เรื่อง ขอแจ้งผลการพิจารณาโครงการวิจัยเลขที่ SWUEC-085/2562E
เรียน ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ทันตแพทย์หญิงภัทรายุ แด่บรรพกุล
สิ่งที่ส่งมาด้วย ใบรับรองโครงการวิจัย SWUEC/E-085/2562

ตามที่ท่านได้ส่งโครงการวิจัยเรื่อง การแสดงออกของคาเทชินแอลในรอยโรคไลเคนแพลนัสในช่องปาก
โครงการวิจัยเลขที่ SWUEC-085/2562E เพื่อรับการพิจารณาจากคณะกรรมการจริยธรรมสำหรับพิจารณาโครงการวิจัย
ที่ทำในมนุษย์ นั้น

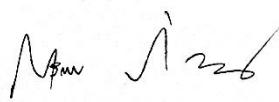
คณะกรรมการจริยธรรมสำหรับพิจารณาโครงการวิจัยที่ทำในมนุษย์ ได้พิจารณาโครงการวิจัยดังกล่าว บัดนี้
คณะกรรมการฯ ให้การรับรองโครงการวิจัยดังกล่าวแล้วเมื่อวันที่ 12 กันยายน 2562 รายละเอียดดังนี้

Certificate Number	SWUEC/E-085/2562
Date of Approval	12 กันยายน 2562 (อายุใบรับรองโครงการวิจัย 12 เดือน)
Date of Expiration	12 กันยายน 2563
Continuing Review	ทุก 12 เดือน (ครบกำหนดส่งรายงานครั้งแรก วันที่ 12 กันยายน 2563)

ในการนี้ คณะกรรมการจริยธรรมสำหรับพิจารณาโครงการวิจัยที่ทำในมนุษย์ ขอความกรุณาให้ผู้วิจัย
ส่งรายงานความก้าวหน้าของการวิจัยและต่ออายุการรับรองก่อนกำหนดวันหมดอายุ 30 วัน เพื่อให้เป็นไปตามวิธีดำเนินการ
มาตรฐาน (SOPs version 2.0) ของคณะกรรมการฯ ทั้งนี้รายละเอียดของเอกสารที่ให้การรับรองตามที่ปรากฏใน Certificate
of Approval (Certificate Number SWUEC/E-085/2562) ที่แนบมาพร้อมนี้

จึงเรียนมาเพื่อโปรดทราบและดำเนินการต่อไป

ขอแสดงความนับถือ



(แพทย์หญิงสุรพร ภัทรสุวรรณ)
ประธานคณะกรรมการจริยธรรมสำหรับพิจารณาโครงการวิจัยที่ทำในมนุษย์

สถาบันยุทธศาสตร์ทางปัญญาและวิจัย
มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
โทรศัพท์ 0-2649-5000 ต่อ 11019 และ 11087
โทรสาร 0-2259-1822

ภาพประกอบ ฎ. เอกสารรับรองจริยธรรมโครงการวิจัยที่ทำในมนุษย์ จากคณะกรรมการจริยธรรม
สำหรับพิจารณาโครงการวิจัยในมนุษย์ เลขที่ SWUEC/085/2562E

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	นายอธิป กิจขจรเกียรติ
วัน เดือน ปี เกิด	24 กรกฎาคม 2533
สถานที่เกิด	จังหวัดปราจีนบุรี
วุฒิการศึกษา	ระดับประถมศึกษา โรงเรียนอนุบาลชุมพร ระดับมัธยมศึกษา โรงเรียนศรียามัย จังหวัดชุมพร ระดับปริญญาตรี ทันตแพทยศาสตรบัณฑิต มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิ โรฒ
ที่อยู่ปัจจุบัน	260/17 หมู่ 7 ตำบลนาทุ่ง อำเภอเมือง จังหวัดชุมพร

