



ความแม่นยำของตัวบ่งชี้ทางชีวภาพในน้ำลายในการตรวจหารอยโรค มะเร็งช่องปาก: การวิเคราะห์หกอภิमान

กชกร หิรัญญากร น.บ, ศศิธร ทวีเดช น.บ., จ.ก.

สถาบันทันตกรรม กรมการแพทย์ ตำบลตลาดขวัญ อำเภอเมือง จังหวัดนนทบุรี 11000

Abstract: The Accuracy of Salivary Biomarkers for Detection of Oral Cancer: A Meta-Analysis

Kodchakorn Hirunyakorn, D.D.S.

Sasithorn Thaweedej, D.D.S., Dip. Thai Board of General Dentistry

Institute of Dentistry, Department of Medical Services, Talad Khwan, Mueang,
Nonthaburi, 11000

(E-mail: dent_st@hotmail.com)

(Received: April 24, 2020; Revised: August 31, 2020; Accepted: September 24, 2020)

Background: There are various studies about salivary biomarkers in oral cancer detection. Breakthrough technologies have lead to an increased discovering salivary biomarkers, which change the conclusion of accuracy in oral cancer detection. Many studies support that saliva biomarkers have a potential of being an essential tools as diagnosis, prognosis and maintenance program for oral cancer. However, sufficient evidence is still lacking.

Objective: This meta-analysis has an objective to gather the results about an accuracy of the use of saliva as a detection tool of oral cancer to determine the accuracy and determine which biomarker is the most likely to use in oral cancer detection. **Method:** The electronic databases were searched on January 2009 to 2019. We searched Pubmed, The *Cochrane Database of Systematic Reviews*, Google Scholar and manual search. **Result:** We included 14 articles which considered saliva as a diagnostic accuracy studies are included. Statistical analysis established sensitivity and specificity with 95% confident interval of the accuracy test of the use of saliva as an oral cancer detection tools were included in this meta-analysis. These 14 articles can be divided into 30 studies, which were meta analyzed by using Hierachical model. Meta analyzed data found that the use of saliva as an oral cancer detection tools has sensitivity of 0.72 (95% CI = 0.61, 0.81), specificity of 0.78 (95% CI = 0.61, 0.81), but data is lack of homogeneity and the confident interval is wide. **Conclusion:** There is no sufficient evidence to support the accuracy of salivary biomarker for the early diagnosis of oral cancer. Subgroup analysis should be tested to summarize the cause of the lack of homogeneity. Overall analysis showed that protein biomarkers have higher sensitivity and specificity compared to other saliva biomarkers group. However, further clinical study with higher amount sample size and lack of bias should be studied to find out the most accurate saliva biomarker group in terms of sensitivity and specificity which can benefit in development of oral cancer detection tool.

Keywords: Salivary biomarker, Oral cancer, Meta-analysis

บทคัดย่อ

ภูมิหลัง: การศึกษาเรื่องตัวบ่งชี้ทางชีวภาพในน้ำลายในการตรวจหามะเร็งช่องปากปัจจุบันมีการศึกษากันอย่างแพร่หลาย จากความก้าวหน้าทางเทคโนโลยีทำให้มีการค้นพบตัวบ่งชี้ทางชีวภาพในน้ำลายเพิ่มขึ้น อาจทำให้ข้อสรุปเรื่องความแม่นยำในการตรวจหารอยโรคช่องปากมีการเปลี่ยนแปลงไปจากในอดีต มีผล

การศึกษาจำนวนมากที่สนับสนุนการตรวจหาตัวบ่งชี้ทางชีวภาพในน้ำลายว่าน่าจะเป็นเครื่องมือที่สำคัญในการวินิจฉัยโรค การพยากรณ์โรค หรือการตรวจติดตามการรักษาโรคมะเร็งช่องปากได้ แต่ยังคงขาดหลักฐานการรวบรวมผลการศึกษาที่ชัดเจน **วัตถุประสงค์:** การวิเคราะห์หกอภิमानเพื่อรวบรวมผลการศึกษาเรื่องความแม่นยำของตัวบ่งชี้ทางชีวภาพในน้ำลายในการตรวจหารอยโรคช่องปาก

เพื่อตอบคำถามว่าตัวบ่งชี้ทางชีวภาพในน้ำลายในปัจจุบันมีความแม่นยำเพียงไร และตัวบ่งชี้ใดที่มีแนวโน้มที่จะนำไปพัฒนาในการตรวจวินิจฉัยมะเร็งช่องปากในอนาคตได้ **วิธีการ:** สืบค้นข้อมูลอย่างเป็นระบบจาก PubMed, The Cochrane Database of Systematic Reviews, Google Scholar และ handsearch **ผล:** มีบทความที่ได้รับการยอมรับ 14 บทความในรูปแบบการศึกษาที่เป็น diagnostic accuracy studies ทั้ง 14 บทความนี้แบ่งเป็นการศึกษาทยอยตามชนิดของตัวบ่งชี้ทางชีวภาพได้ 30 การศึกษาวิเคราะห์ห่อหุ้มกันโดยใช้ค่าความไว และความจำเพาะที่ช่วงความเชื่อมั่น 95% พบว่าการใช้ตัวบ่งชี้ทางชีวภาพในน้ำลายในการตรวจหา มะเร็งช่องปากในภาพรวมหลายกลุ่มมีค่าความไวเท่ากับ 0.72 (95% CI = 0.61, 0.81) และความจำเพาะเท่ากับ 0.78 (95% CI = 0.73, 0.83) แต่ผลของข้อมูลขาดความเป็นเนื้อเดียวกัน และมีช่วงความเชื่อมั่นที่ค่อนข้างกว้าง **สรุป:** ยังไม่สามารถสรุปได้ถึงถึงความแม่นยำที่แท้จริงของตัวบ่งชี้ทางชีวภาพในน้ำลายในการตรวจหาโรคมะเร็งช่องปากได้ ควรทำการวิเคราะห์กลุ่มย่อยถึงสาเหตุของความไม่เป็นเนื้อเดียวกัน และจากการวิเคราะห์ภาพรวมดูเหมือนว่าตัวบ่งชี้ทางชีวภาพกลุ่มโปรตีนจะให้ค่าความไว และความจำเพาะสูงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มอื่น อย่างไรก็ตามยังต้องมีการศึกษาทางคลินิกที่มีการออกแบบให้มีจำนวนตัวอย่างที่มากขึ้นและไม่มีอคติ เพื่อที่จะสามารถตอบคำถามได้ว่าตัวบ่งชี้ทางชีวภาพในน้ำลายตัวใดมีความแม่นยำเพียงพอและมีแนวโน้มที่จะนำไปพัฒนาในการตรวจวินิจฉัยมะเร็งช่องปากในอนาคต

คำสำคัญ: ตัวบ่งชี้ทางชีวภาพในน้ำลาย มะเร็งช่องปาก การวิเคราะห์ห่อหุ้มกัน

บทนำ

มะเร็งช่องปากเป็นปัญหาสุขภาพที่สำคัญ โดยพบมากเป็นลำดับที่ 18 จาก 36 ของมะเร็งทั้งหมดที่พบทั่วโลก ส่งผลกระทบอย่างมากทั้งทางด้านคุณภาพชีวิตและเศรษฐกิจ ในปี พ.ศ. 2561 ทั่วโลกมีจำนวนผู้ป่วยมะเร็งช่องปากรายใหม่ 354,864 ราย และมีจำนวนผู้เสียชีวิตถึง 177,384 ราย คิดเป็นร้อยละ 2.0 และ 1.9 ของผู้ป่วยมะเร็งทั้งหมดตามลำดับ¹ โดยอัตราการรอดชีวิต 5 ปีขึ้นกับระยะของมะเร็งที่พบ ในผู้ป่วยที่เริ่มรักษาตั้งแต่ระยะ carcinoma in situ พบอัตราการรอดชีวิต 5 ปีร้อยละ 100 มะเร็งช่องปากระยะที่ 1 พบว่ามีอัตราการรอดชีวิต 5 ปีสูงมากกว่าร้อยละ 90 ขณะที่ผู้ป่วยมะเร็งช่องปากระยะที่ 4 อัตราการรอดชีวิตเหลือเพียงร้อยละ 0-10² จากรายงานขององค์การอนามัยโลก รวมทั้งทะเบียนมะเร็งระดับโรงพยาบาลในประเทศไทยปี พ.ศ. 2560 พบว่าร้อยละ 50 ของผู้ป่วยที่เป็นมะเร็งช่องปากเริ่มรักษาที่ระยะที่ 3 หรือ 4 ไปแล้ว³ ทำให้โอกาสการเสียชีวิตจากโรคมะเร็งช่องปากค่อนข้างสูง โดยสาเหตุหลักที่ทำให้อัตราการรอดชีวิตจากมะเร็งช่องปากอยู่ในระดับต่ำนั้นเกิดจากการวินิจฉัยที่ล่าช้า รอยโรคส่วนมากถูกตรวจพบในระยะที่มีการลุกลามไปมากแล้ว จึงทำให้การรักษาไม่ประสบ

ผลสำเร็จ⁴

มะเร็งช่องปากระยะแรกมักถูกตรวจพบได้ยาก เนื่องจากมักมีลักษณะไม่ร้ายแรง (benign) หรืออาจไม่มีอาการ วิธีการตรวจวินิจฉัยมาตรฐานที่ปฏิบัติกันอยู่ในปัจจุบันต้องอาศัยบุคลากรที่เชี่ยวชาญในการตรวจรอยโรคที่น่าสงสัยจากการสังเกต การดูหรือการคลำ แล้วจึงตัดตัวอย่างชิ้นเนื้อเยื่อออกตรวจ (biopsy) ทางจุลชีววิทยาเพื่อยืนยันการวินิจฉัย ซึ่งการตัดเนื้อเยื่อออกตรวจเป็นวิธีที่รุกรานผู้ป่วย (invasive) มีค่าใช้จ่ายสูงและต้องใช้บุคลากรที่เชี่ยวชาญ จึงได้มีผู้พยายามแก้ไขปัญหาเหล่านี้โดยการคิดค้นวิธีที่สามารถคัดกรองหรือตรวจวินิจฉัยมะเร็งช่องปากได้ตั้งแต่ระยะแรกโดยไม่รุกรานผู้ป่วย (non-invasive) ให้ผลตรวจที่แม่นยำ รวดเร็ว และเชื่อถือได้ โดยมีวัตถุประสงค์ในการช่วยให้ผู้ตรวจที่ยังไม่มีความชำนาญสามารถใช้ในการตรวจหาโรคมะเร็งได้ง่าย เช่น การย้อมสีเนื้อเยื่อที่มีชีวิต (vital tissue staining) การใช้เครื่องมือเสริมการมองเห็น (visualization adjunct) การเก็บเนื้อเยื่อตัวอย่างจากเยื่อผิวด้วยการใช้แปรง (brush biopsy) และการตรวจหาตัวบ่งชี้ทางชีวภาพในตัวอย่างน้ำลาย (salivary biomarker)

การศึกษาตัวบ่งชี้ทางชีวภาพในน้ำลายในการตรวจหาโรคมะเร็งช่องปากเริ่มจากมีรายงานการศึกษาขนาดเล็กในปี 2000 ที่ประเทศไต้หวันโดย Liao⁵ ตรวจพบการกลายพันธุ์ของยีน P53 ใน DNA จากน้ำลายของผู้ป่วย 5 ใน 8 รายของผู้ป่วยมะเร็งช่องปาก คิดเป็นร้อยละ 62.5 ต่อมาในปี 2001 มีรายงานของ El-Naggar⁶ ถึงความแตกต่างกันของสารพันธุกรรมที่ตรวจพบในน้ำลายของคนปกติ และผู้ป่วยมะเร็งช่องปาก นับเป็นจุดเริ่มต้นในการเริ่มศึกษาหาข้อมูลถึงความสัมพันธ์ของสารชีวภาพในน้ำลายกับการเกิดมะเร็งช่องปาก

ปัจจุบันมีการศึกษาพัฒนาและค้นหาตัวบ่งชี้ทางชีวภาพในน้ำลายมากขึ้น เพื่อช่วยในการตรวจวินิจฉัยผู้ป่วยมะเร็งช่องปากได้ตั้งแต่ระยะแรก ข้อดีของการใช้น้ำลายในการตรวจหาโรค⁷ ได้แก่ มีองค์ประกอบเป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพหลายชนิด เก็บตัวอย่างได้ง่าย เป็นวิธีการที่ไม่ต้องผ่าตัด โอกาสในการแพร่เชื้อหรือติดโรคต่ำ เก็บรักษาได้ง่าย ไม่มีการตกตะกอนหรือจับตัวกัน ตัวบ่งชี้ทางชีวภาพในน้ำลายจำแนกได้หลายชนิดตามลักษณะชีวโมเลกุล (biomolecule) ระยะของโรค (disease state) หรือข้อบ่งชี้จำเพาะอื่นๆ ในปี 2010 Mishra⁸ จำแนกตัวบ่งชี้ทางชีวภาพในน้ำลายตามลักษณะชีวโมเลกุล แบ่งออกเป็น 4 ชนิด คือ 1) DNA biomarkers, 2) mRNA และ miRNA biomarkers, 3) Protein biomarkers และ 4) Glyco (carbohydrate) biomarkers

การศึกษาเรื่องตัวบ่งชี้ทางชีวภาพในน้ำลายในการตรวจหา มะเร็งช่องปากปัจจุบันมีการศึกษากันอย่างแพร่หลาย จากความก้าวหน้าทางเทคโนโลยีทำให้มีการค้นพบตัวบ่งชี้ทางชีวภาพในน้ำลายเพิ่มขึ้น อาจทำให้ข้อสรุปเรื่องความแม่นยำในตรวจหาโรคมะเร็งช่องปากมีการเปลี่ยนแปลงไปจากในอดีต มีผลการศึกษาจำนวนมากที่สนับสนุนการตรวจหาตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ

ในน้ำลายว่าน่าจะเป็นเครื่องมือที่สำคัญในการวินิจฉัยโรค การพยากรณ์โรค หรือการตรวจติดตามการรักษาโรคมะเร็งช่องปากได้ แต่ยังคงขาดหลักฐานการรวบรวมผลการศึกษาคัดค้านที่ชัดเจน ดังนั้นการวิเคราะห์ห่อภิรมานในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อรวบรวมผลการศึกษารื่องความแม่นยำของตัวบ่งชี้ทางชีวภาพในน้ำลายในการตรวจหาโรคมะเร็งช่องปาก เพื่อตอบคำถามว่าตัวบ่งชี้ทางชีวภาพในน้ำลายในปัจจุบันมีความแม่นยำเพียงไรในการตรวจหาโรคมะเร็งช่องปาก และตัวบ่งชี้ทางชีวภาพใดที่มีแนวโน้มที่จะนำไปพัฒนาในการตรวจวินิจฉัยมะเร็งช่องปากในอนาคตได้

วัตถุประสงค์และวิธีการ

การศึกษานี้ประกอบด้วย 5 ขั้นตอน ได้แก่

1. รวบรวมข้อมูล

เก็บรวบรวมบทความจากฐานข้อมูล PubMed ด้วยวิธีการสืบค้นอย่างเป็นระบบ ใช้กลยุทธ์การสืบค้นข้อมูล (Search strategies) โดยใช้ PICO ในการสืบค้น นำผลมารวมกับการสืบค้นจากฐานข้อมูล *The Cochrane Database of Systematic Reviews* : CDSR และ google scholar ร่วมกับการค้นหาด้วยมือจากห้องสมุดของสถาบันทันตกรรม ตั้งแต่ ปี ค.ศ. 2009 จนถึงปี ค.ศ. 2019 และเกณฑ์ในการคัดเลือกรายงานวิจัยเข้าการศึกษา (inclusion criteria) คือ รายงานวิจัยในมนุษย์เป็นภาษาอังกฤษและภาษาไทยที่เป็นการคัดกรอง หรือการวินิจฉัย (screening and diagnostic test) ประเภท case control studies, cross-sectional studies and analytical studies, cohort studies, randomized controlled trial, systematic review และ meta-analysis มีการระบุลักษณะของผู้เข้าร่วมการศึกษาชัดเจน เช่น healthy population, high risk population, suspicious or non-suspicious oral lesion, oral cancer เป็นต้น และมีรายงานผลการศึกษารื่องความแม่นยำของตัวบ่งชี้ทางชีวภาพในน้ำลาย, ความไว (sensitivity) ความจำเพาะ (specificity) area under curve (AUC) หรือ receiver operating characteristic (ROC)

เกณฑ์ในการคัดเลือกรายงานวิจัยออกจากการศึกษา (exclusion criteria) คือ รายงานวิจัยที่ไม่สามารถหาเอกสารฉบับเต็มได้, รายงานวิจัยที่ทำการทดลองเทียมในห้องทดลอง (in vitro) และทดลองในสัตว์ทดลอง (animal) รายงานวิจัยที่กลุ่มทดลองเป็นมะเร็งตำแหน่งอื่นนอกช่องปาก (extraoral site) เช่น มะเร็งคอหอย มะเร็งหลอดอาหาร มะเร็งกล่องเสียง เป็นต้น รวมทั้งมะเร็งต่อน้ำลาย, รายงานวิจัยที่ข้อมูลไม่ชัดเจน ได้แก่ ไม่ระบุลักษณะกลุ่มตัวอย่างที่ชัดเจน, ไม่มีรายงานผลการศึกษาคัดค้านที่แน่ชัด

2. ทบทวนบทความ

ผู้ทบทวน (reviewer) ซึ่งเป็นทันตแพทย์ 2 คน อ่านบทความอย่างเป็นอิสระต่อกัน ตั้งแต่ขั้นตอนคัดเลือกชื่อเรื่องและเฉพาะบทความที่ผ่านเกณฑ์ในการคัดเลือกรายงานวิจัยเข้าและออกที่กำหนด

สำเนาฉบับเต็มของบทความจะถูกนำมาประเมินตามขั้นตอนการพิจารณาวิจารณ์ (critical appraisal) ซึ่งประกอบด้วยทบทวนบทความ การดึงข้อมูลจากบทความและการประเมินคุณภาพของบทความต่อไป โดยการคัดเลือกเป็นอิสระต่อกัน หากความคิดเห็นที่ขัดแย้งระหว่างผู้ทบทวน 2 คน จะถูกแก้ไขได้โดยการอภิปรายและตกลงกันเป็นเอกฉันท์

3. ดึงข้อมูลจากบทความ

นำค่าความไว ความจำเพาะ receiver operating characteristic curve หรือ Area under the curve ของตัวบ่งชี้ทางชีวภาพในน้ำลายแต่ละชนิดรวมทั้งจำนวนกลุ่มตัวอย่างจากบทความ มาคำนวณหาค่า ผลบวกจริง (true positive) ผลลบจริง (true negative) ผลบวกเท็จ (false positive) และผลลบเท็จ (false negative) เพื่อนำมาใช้ในการวิเคราะห์ห่อภิรมาน โดยกลุ่มที่ศึกษาคือ กลุ่มผู้ป่วยมะเร็งช่องปาก ส่วนกลุ่มควบคุมคือ ผู้ที่ไม่มีรอยโรคที่สงสัยหรือมะเร็งช่องปาก

4. ประเมินคุณภาพของบทความ

การประเมินคุณภาพของบทความที่ได้รับการยอมรับโดยผู้ทบทวนทั้งสองคนอย่างเป็นอิสระต่อกัน จากนั้นผู้วิจัยประเมินคุณภาพของงานวิจัยตามแนวทางของ Cochrane Systematic Reviews of Diagnostic Test Accuracy โดยใช้เครื่องมือ Quality Assessment of Diagnostic Accuracy Studies -2 (QUADAS-2) การยอมรับคุณภาพบทความใช้ฉันทามติผู้ทบทวนทั้งสองคน และแสดงผลการประเมินออกตารางวิจัยเป็นตารางและกราฟ

5. วิเคราะห์โดยใช้สถิติ

การแสดงผลการวิเคราะห์ห่อภิรมานถูกนำมาคำนวณ pooled differential sensitivity, specificity and ROC เนื่องจากรูปแบบการศึกษาที่เป็น diagnostic accuracy studies แต่ละการศึกษามีช่วง threshold หรือ cut off point ของเครื่องมือแตกต่างกัน ทำให้ผลรวมการศึกษาที่ได้มักไม่มีความเป็นเนื้อเดียวกัน (heterogeneity) การวิเคราะห์ห่อภิรมานจึงนำเสนอด้วย Hierarchical model โดยแบ่งออกเป็น HSROC model แสดงผลรวมของ ROC และ Bivariate model แสดงผลรวมของความไว และความจำเพาะ นอกจากนี้ยังนำเสนอผลการรวมข้อมูล (pooled estimate) ในรูปกราฟ forest plot ทดสอบอคติจากการตีพิมพ์โดย Song's test และ Deek's test นำเสนอผลด้วย funnel plot การวิเคราะห์นี้ใช้โปรแกรม STATA 11.2

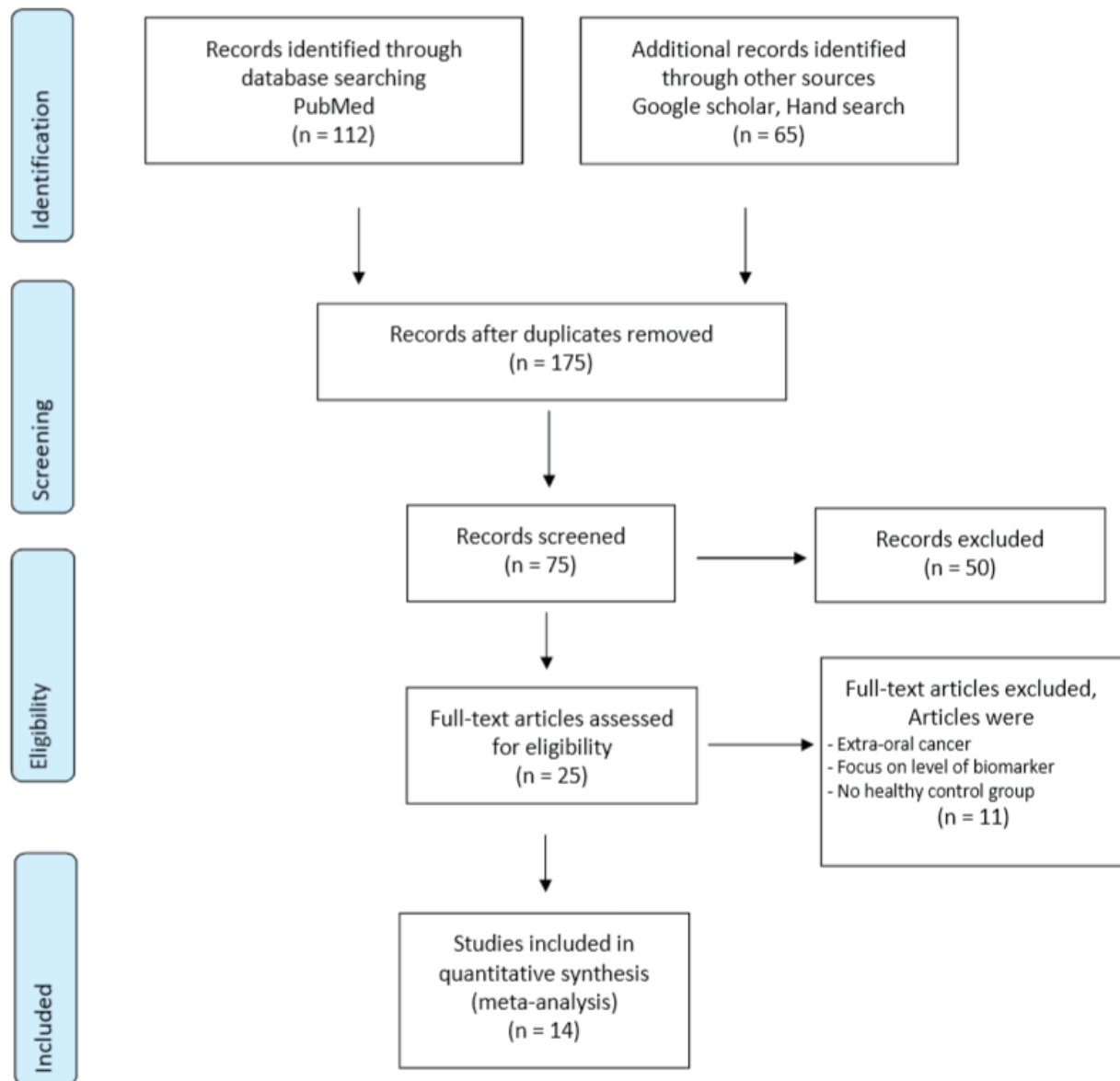
ผล

การสืบค้นข้อมูลอย่างเป็นระบบได้รับการยอมรับจากผู้ทบทวนเป็นเอกฉันท์จำนวน 14 บทความ (รูปที่ 1) โดยบทความที่ถูกคัดเข้ามานั้นมีขนาดตัวอย่างมากที่สุด คือ 395 คน และน้อยที่สุดคือ 18 คน ศึกษาตัวบ่งชี้ทางชีวภาพในน้ำลาย 26 ชนิดจาก 30 การทดลอง

การทำวิเคราะห์ห่อภิรมานภาพรวมของตัวบ่งชี้ทางชีวภาพใน

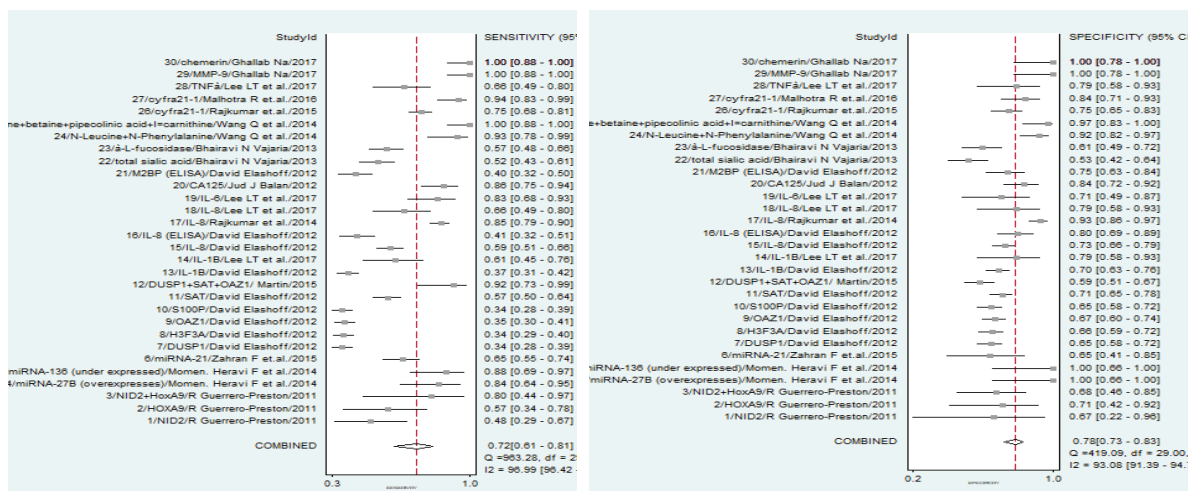
น้ำลายทุกกลุ่มใช้ค่าความไว และความจำเพาะที่ช่วงความเชื่อมั่น 95% พบว่าการใช้ตัวบ่งชี้ทางชีวภาพในน้ำลายในการตรวจหามะเร็งช่องปากมีค่าความไวเท่ากับ 0.72 (95% CI = 0.61, 0.81) และมีค่าความจำเพาะเท่ากับ 0.78 (95% CI = 0.73, 0.83) จาก forest plot แสดงให้เห็นว่า MMP-9 และ chemerin มีค่าความไว และความ

จำเพาะสูงที่สุด (รูปที่ 2) เมื่อนำมาคำนวณหาค่าพารามิเตอร์ในการประเมินความแม่นยำของเครื่องมือพบว่า มีค่า positive likelihood ratio เท่ากับ 3.3 (95% CI = 2.3, 4.8) negative likelihood ratio เท่ากับ 0.36 (95% CI = 0.23, 0.54) และ diagnostic odds ratio เท่ากับ 9 (95% CI = 4, 20)



รูปที่ 1 ขั้นตอนวิธีการทบทวนอย่างเป็นระบบใน Prisma flow template

Study id	Author	Sample size		Type	Biomarker
		OSCC	Healthy		
1	Guerrero-Preston ¹¹	16	19	DNA	NID2
2	Guerrero-Preston ¹¹	16	19	DNA	HOXA9
3	Guerrero-Preston ¹¹	16	19	DNA	NID2+HoxA9
4	Momen ¹³	9	9	miRNA	miRNA-27B (overexpresses)
5	Momen ¹³	9	9	miRNA	miRNA-136 (under expressed)
6	Zahran ¹²	40	20	miRNA	miRNA-21
7	David Elashoff ¹⁴	169	226	mRNA	DUSP1
8	David Elashoff ¹⁴	169	226	mRNA	H3F3A
9	David Elashoff ¹⁴	169	226	mRNA	OAZ1
10	David Elashoff ¹⁴	169	226	mRNA	S100P
11	David Elashoff ¹⁴	169	226	mRNA	SAT
12	Martin ¹⁵	24	144	mRNA	DUSP1+SAT+OAZ1
13	David Elashoff ¹⁴	169	226	mRNA or protein	IL-1B
14	Lee ¹⁶	41	24	mRNA or protein	IL-1B
15	David Elashoff ¹⁴	169	226	mRNA or protein	IL-8
16	David Elashoff ¹⁴	67	124	mRNA or protein	IL-8 (ELISA)
17	Rajkumar ¹⁷	100	100	mRNA or protein	IL-8
18	Lee ¹⁶	41	24	mRNA or protein	IL-8
19	Lee ¹⁶	41	24	mRNA or protein	IL-6
20	Balan ¹⁸	60	60	protein	CA125
21	David Elashoff ¹⁴	67	124	protein	M2BP (ELISA)
22	Vajaria ¹⁹	100	100	protein	total sialic acid
23	Vajaria ¹⁹	100	100	protein	α -L-fucosidase
24	Wang ²⁰	30	60	protein	N-Leucine+N-Phenylalanine
25	Wang ²¹	30	30	protein	choline+betaine+pipecolic acid+L-carnithine
26	Rajkumar ¹⁷	100	100	protein	cyfra21-1
27	Malhotra ²²	50	50	protein	cyfra21-1
28	Lee ¹⁶	41	24	protein	TNF α
29	Ghallab ²³	15	15	protein	MMP-9
30	Ghallab ²³	15	15	protein	chemerin

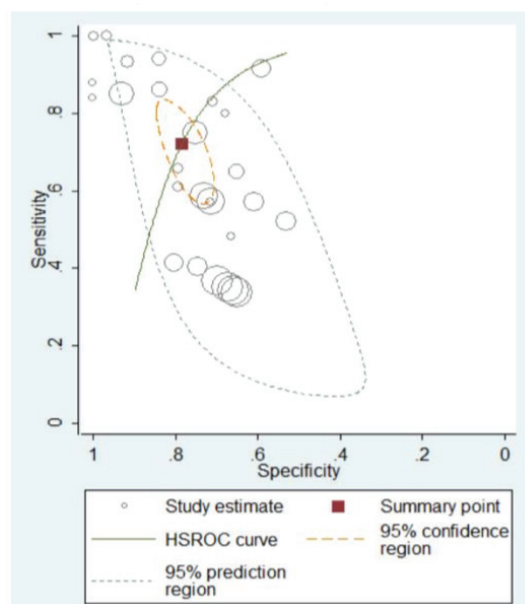


รูปที่ 2 ผลการศึกษาที่เข้าเกณฑ์ และ forest plot จากค่า sensitivity และ specificity

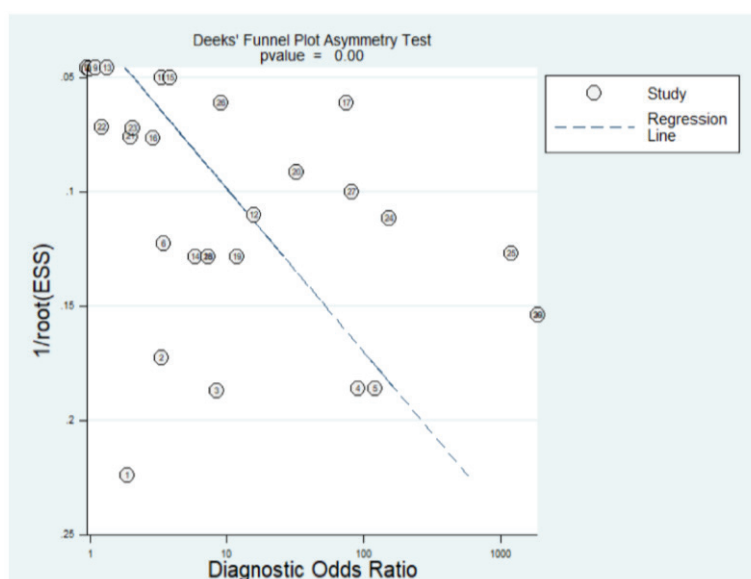
จาก HSROC model พบค่าเฉลี่ยของ Diagnostic odd ratios (DOR) เท่ากับ 2.44 ความแปรปรวนเท่ากับ 3.67 ค่าเฉลี่ย threshold เท่ากับ -0.52 ความแปรปรวน เท่ากับ 0.08 และผลการคำนวณหา pooled differential sensitivity, specificity and ROC (รูปที่ 3)

การวิเคราะห์อคติจากการตีพิมพ์โดย Song's test และ Deek's test ในรูปที่ 4 พบว่าค่า P เท่ากับ 0.00 แสดงว่าพบอคติจากการตีพิมพ์และจากการมีจำนวนน้อย การใช้ funnel plot พบว่าการใช้ตัวบ่งชี้ทางชีวภาพในน้ำลายในการตรวจหารอยโรคมะเร็งช่องปาก พบว่าการกระจายของจุดบนกราฟไม่สมมาตร แสดงการมีอคติจากการตีพิมพ์

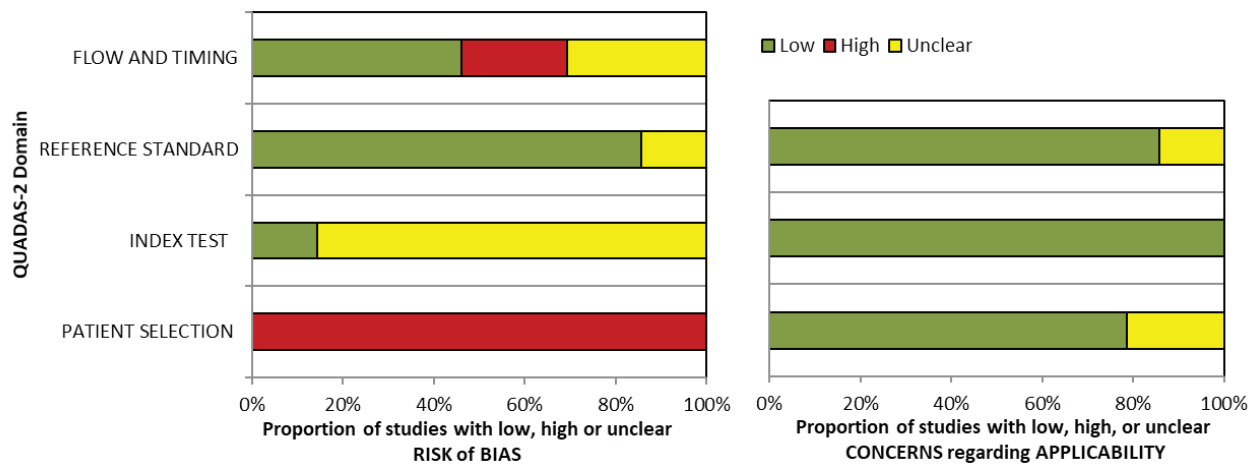
สรุปองค์งานวิจัยของแต่ละการศึกษาจากการประเมินอคติงานวิจัยทั้ง 14 การศึกษา พบว่าทั้ง 14 การศึกษามีอคติสูงในเรื่องของการเลือกผู้ป่วย (patient selection) เนื่องจากไม่มีการสุ่มเลือกผู้เข้าร่วมการศึกษา การทดสอบดัชนีมาตรฐาน (index test) ส่วนมากยังไม่ชัดเจน อคติในด้านการทดสอบมาตรฐาน (reference standard) พบว่าส่วนใหญ่อยู่ในระดับต่ำ อคติด้านการไหลผ่านผู้ป่วยและระยะเวลา (flow and timing) ส่วนใหญ่อยู่ในระดับต่ำและไม่ชัดเจน ส่วนการประเมินอคติในด้านอื่นๆ พบว่ามากกว่าร้อยละ 80 ของการศึกษาที่ถูกคัดเข้ามีอคติอยู่ในระดับต่ำ การประเมินอคติการวิจัย (รูปที่ 5)



รูปที่ 3 ผล Meta-analysis โดยใช้ Hierarchical model



รูปที่ 4 ผล Song's test และ Deek's test และ funnel plot



รูปที่ 5 การประเมินอคติงานวิจัย

วิจารณ์

การศึกษาวิเคราะห์หือภิมานของ The Cochrane Database of Systematic Reviews โดย Macey⁹ ในปี 2015 เรื่องความแม่นยำของเครื่องมือที่ช่วยในการวินิจฉัยรอยโรคก่อนมะเร็งและมะเร็งช่องปากในผู้ป่วยที่มีรอยโรคปรากฏทางคลินิก พบว่าในการตรวจวินิจฉัยรอยโรคมะเร็งช่องปากในปัจจุบัน ยังไม่มีวิธีการใดที่สามารถทดแทนการตัดเนื้อเยื่อออกตรวจทางจุลชีววิทยาได้ จึงได้มีการศึกษาพัฒนาการใช้ตัวบ่งชี้ทางชีวภาพในน้ำลาย เพื่อช่วยในการตรวจวินิจฉัยผู้ป่วยมะเร็งช่องปากได้ตั้งแต่ระยะแรก เนื่องจากเป็นวิธีที่ทำได้ง่าย ไม่เป็นการบุกรุกผู้ป่วย และไม่ต้องอาศัยผู้เชี่ยวชาญในขั้นตอนการวินิจฉัย

การวางแผนทำการวิเคราะห์หือภิมานครั้งนี้พบว่ามีความหลากหลายของข้อมูลทั้งในเรื่องของชนิดตัวบ่งชี้ทางชีวภาพในน้ำลาย กลุ่มตัวอย่างที่เข้ารับการศึกษ การวัดผลการศึกษาที่มีความแตกต่างกัน รวมทั้งความไม่ชัดเจนประเมินอคติงานวิจัย การวิเคราะห์ข้อมูลจากการคำนวณข้อมูลทั้ง 14 ชุด ผลการวิเคราะห์พบว่า ตัวบ่งชี้ทางชีวภาพในน้ำลายมีความไว 0.72 (95% CI = 0.61-0.81, p-value = 0) ความจำเพาะ 0.78 (95% CI = 0.73-0.83, p-value = 0) แต่ข้อมูลขาดความเป็นเนื้อเดียวกัน และช่วงความเชื่อมั่นกว้าง แม้จะแสดงค่า p-value มีนัยสำคัญ แต่ก็ทำให้ความมั่นใจในผลที่ได้มีน้อยลง การที่ข้อมูลขาดความเป็นเนื้อเดียวกันนั้นเนื่องจากการเป็นการศึกษาประเภทการคัดกรองหรือการวินิจฉัย เกิดจากการกำหนด threshold level หรือ cut-off level ที่แตกต่างกันของแต่ละการศึกษา โดยความแตกต่างที่เกิดขึ้นนั้นสามารถกำจัดด้วยการใช้สถิติวิเคราะห์หือภิมานแบบ Hierarchical model แต่ในส่วนของความไม่เป็นเนื้อเดียวกันที่มีอยู่ อาจมีสาเหตุจากปัจจัยอื่น เช่น การมีขนาดกลุ่มตัวอย่างที่แตกต่างกัน วิธีการเก็บตัวอย่างน้ำลาย ชนิดของตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ รวมทั้งการมีอคติจากการตีพิมพ์ และการมีจำนวนน้อย (small study effect) จากการวิเคราะห์อคติจากการตีพิมพ์ Song's test และ Deek's test พบว่าค่า p-value

<0.1 แสดงถึงการมีอคติจากการตีพิมพ์ และการมีจำนวนการศึกษาน้อย สอดคล้องกับ funnel plot ซึ่งแสดงการกระจายที่ไม่สมมาตร ซึ่งแสดงผลมีอคติจากการตีพิมพ์ อาจเกิดจากการมีงานวิจัยที่ใช้วิเคราะห์เพียง 14 บทความ ยังถือว่าเป็นจำนวนน้อยซึ่งทำให้ไม่มีกำลัง (power) เพียงพอในการทดสอบทางสถิติ และต้องแปลผลอย่างระมัดระวังเนื่องจากอาจขึ้นในทางที่ผิดได้

เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ด้วย forest plot และ SROC จะเห็นว่าตัวบ่งชี้ทางชีวภาพในน้ำลายที่มีค่า ความไวและความจำเพาะค่อนข้างสูงนั้นจะอยู่ในกลุ่มของโปรตีน ได้แก่ โปรตีน chemerin, MMP-9, cyfra-21, N-Leucine + N-Phenylalanine และ choline + betaine + pipecolinic acid + l-carnithine สอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ในปี 2008 ของ Hu¹⁰ ที่พบว่าค่า receiver operating characteristic (ROC) value ค่าความไว และค่าความจำเพาะของตัวบ่งชี้ทางชีวภาพกลุ่มโปรตีนในการตรวจมะเร็งช่องปากเป็นร้อยละ 93, 90, และ 83 ตามลำดับ

อีกกลุ่มที่ให้ค่าความไว และความจำเพาะค่อนข้างสูงเช่นกันคือกลุ่ม miRNA จากการศึกษาของ Guerrero-Preston¹¹ คือมีค่าความไวเท่ากับ 0.84-0.88 และค่าความจำเพาะเท่ากับ 1 แต่อย่างไรก็ตามผลการศึกษานี้มาจากการศึกษาเดี่ยวซึ่งมีกลุ่มตัวอย่างค่อนข้างน้อย และผลการศึกษายังขัดแย้งกับการศึกษาของ Zahran ในปี 2015¹² ที่ศึกษา miRNA อีกชนิดหนึ่ง

เมื่อวิเคราะห์ภาพรวมดูเหมือนการกระจายของค่าความไวและความจำเพาะจะค่อนข้างเกาะกลุ่มกันในกลุ่มโปรตีนบางชนิด และ กลุ่ม miRNA แต่ในกลุ่มของ mRNA และ DNA ยังค่อนข้างกระจายกันอยู่มาก การกระจายของข้อมูลดังกล่าวอาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ผลการศึกษาดูความเป็นเนื้อเดียวกัน ในความเห็นของผู้วิจัย ความแตกต่างของข้อมูลน่าจะเกิดจากประเภทของตัวบ่งชี้ทางชีวภาพตามโครงสร้างชีวโมเลกุลที่แตกต่างกัน ดังนั้นจากผลการวิเคราะห์หือภิมานผู้วิจัยเห็นว่าควรทำการทดสอบกลุ่มย่อย (sub-group analysis) ด้วยการแยกกลุ่มตัวบ่งชี้ทางชีวภาพตาม

ประเภทของโครงสร้างชีวโมเลกุล

เมื่อพิจารณาจากค่าความไว และความจำเพาะที่ใกล้เคียงกับวิธีมาตรฐาน พบว่าตัวบ่งชี้ทางชีวภาพกลุ่มโปรตีนจะให้ค่าความไว และความจำเพาะสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มอื่น การวิเคราะห์กลุ่มย่อยด้วยการแยกชนิดของโปรตีน อาจบอกได้ว่าโปรตีนตัวใดมีความแม่นยำเพียงพอ และมีแนวโน้มที่จะใช้เป็นตัวชี้วัดทางชีวภาพในน้ำลายในการตรวจวินิจฉัยมะเร็งช่องปากได้

การวิเคราะห์หัตถ์ภิมานในครั้งนี้ไม่สามารถตอบประเด็นว่าความไม่แน่นอนของทั้ง 14 การศึกษานี้เกิดจากสาเหตุใด ร่วมกับการศึกษาที่มี ยังมีการรวมกลุ่มของประชากรที่น้อยเกินไป ผลจากการวิเคราะห์หัตถ์ภิมานนี้อาจนำไปเป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาต่อไป รวมทั้งต้องมียานวิจัยที่มีคุณภาพสูง มีการออกแบบให้มีจำนวนตัวอย่างที่มากขึ้น และไม่มียอคติ เพื่อใช้ประกอบการสรุปว่าตัวบ่งชี้ทางชีวภาพในน้ำลายตัวใดมีความแม่นยำเพียงพอ และมีแนวโน้มที่จะนำไปพัฒนาในการตรวจวินิจฉัยมะเร็งช่องปากได้ในอนาคต

สรุป

จากการรวบรวมข้อมูลเพื่อทำวิเคราะห์หัตถ์ภิมาน พบว่าการใช้ตัวบ่งชี้ทางชีวภาพในน้ำลายในการตรวจหาและวินิจฉัยมะเร็งช่องปากในภาพ

รวมหลายกลุ่มมีค่าความไวเท่ากับ 0.72 (95% CI = 0.61-0.81, p-value = 0) ค่าความจำเพาะเท่ากับ 0.78 (95% CI = 0.73-0.83, p-value = 0) แต่ข้อมูลขาดความแน่นอนเดียวกัน และช่วงความเชื่อมั่นกว้าง ยังไม่สามารถสรุปได้ถึงความแม่นยำที่แท้จริงของตัวบ่งชี้ทางชีวภาพในน้ำลายในการตรวจหาและวินิจฉัยมะเร็งช่องปากได้ ควรทำการวิเคราะห์กลุ่มย่อย (subgroup analysis) ถึงสาเหตุของความไม่แน่นอนเดียวกันต่อไป และจากการวิเคราะห์ภาพรวมดูเหมือนว่าตัวบ่งชี้ทางชีวภาพกลุ่มโปรตีนจะให้ค่าความไว และความจำเพาะสูงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มอื่น อย่างไรก็ตามยังต้องมีการศึกษาทางคลินิกที่มีการออกแบบให้มีจำนวนตัวอย่างที่มากขึ้นและไม่มียอคติ เพื่อที่จะสามารถตอบคำถามได้ว่าตัวชี้วัดทางชีวภาพในน้ำลายตัวใดมีความแม่นยำเพียงพอและมีแนวโน้มที่จะนำไปพัฒนาในการตรวจวินิจฉัยมะเร็งช่องปากในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ อ.พญ.ทพญ.กรรณิกา ชูเกียรติมน สำหรับคำแนะนำ แก่ไขข้อบกพร่องต่างๆ รวมถึงชี้แนะให้คำปรึกษางานวิจัย ตลอดจนการวิเคราะห์ผลทางสถิติ ขอขอบคุณสถาบันทันตกรรม กรมการแพทย์ ที่ให้การสนับสนุนในการดำเนินการวิจัย ทำให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

References

1. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* 2018; 68: 394-424.
2. Sankaranarayanan R, Ramadas K, Amarasinghe H, Subramanian S, Johnson N. Oral Cancer: Prevention, Early Detection, and Treatment. In: Gelband H, Jha P, Sankaranarayanan R, Horton S, editors. *Cancer: Disease Control Priorities, Third Edition (Volume 3)*. Washington (DC) 2015.
3. Hospital-Based Cancer Registry 2016. Bangkok: Information Technology Division, National Cancer institute; 2018.
4. Allison P, Locker D, Feine JS. The role of diagnostic delays in the prognosis of oral cancer: a review of the literature. *Oral Oncol* 1998;34:161-70.
5. Liao PH, Chang YC, Huang MF, Tai KW, Chou MY. Mutation of p53 gene codon 63 in saliva as a molecular marker for oral squamous cell carcinomas. *Oral Oncol* 2000;36:272-6.
6. El-Naggar AK, Mao L, Staerke G, Coombes MM, Tucker SL, Luna MA, et al. Genetic heterogeneity in saliva from patients with oral squamous carcinomas: implications in molecular diagnosis and screening. *J Mol Diagn* 2001;3:164-70.
7. Yoshizawa JM, Schafer CA, Schafer JJ, Farrell JJ, Paster BJ, Wong DT. Salivary biomarkers: toward future clinical and diagnostic utilities. *Clin Microbiol Rev* 2013;26:781-91.
8. Mishra A, Verma M. Cancer biomarkers: are we ready for the prime time? *Cancers* 2010;2:190-208.
9. Macey R, Walsh T, Brocklehurst P, Kerr AR, Liu JL, Lingen MW, et al. Diagnostic tests for oral cancer and potentially malignant disorders in patients presenting with clinically evident lesions. *Cochrane Database Sys Rev* 2015;CD010276.
10. Hu S, Arellano M, Boonthueung P, Wang J, Zhou H, Jiang J, et al. Salivary proteomics for oral cancer biomarker discovery. *Clin Cancer Res* 2008;14:6246-52.
11. Guerrero-Preston R, Soudry E, Acero J, Orera M, Moreno-Lopez L, Macia-Colon G, et al. NID2 and HOXA9 promoter hypermethylation as biomarkers for prevention and early detection in oral cavity squamous cell carcinoma tissues and saliva. *Cancer Prev Res* 2011;4:1061-72.
12. Zahran F, Ghalwash D, Shaker O, Al-Johani K, Scully C. Salivary microRNAs in oral cancer. *Oral Dis* 2015;21:739-47.
13. Momen-Heravi F, Trachtenberg AJ, Kuo WP, Cheng YS. Genomewide Study of Salivary MicroRNAs for Detection of Oral Cancer. *J Dent Res* 2014;93(7 Suppl):86S-93.

14. Elashoff D, Zhou H, Reiss J, Wang J, Xiao H, Henson B, et al. Prevalidation of salivary biomarkers for oral cancer detection. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2012;21:664-72.
15. Martin JL, Gottehrer N, Zalesin H, Hoff PT, Shaw M, Clarkson JH, et al. Evaluation of Salivary Transcriptome Markers for the Early Detection of Oral Squamous Cell Cancer in a Prospective Blinded Trial. *Compend Contin Educ Dent* 2015;36:365-73.
16. Lee LT, Wong YK, Hsiao HY, Wang YW, Chan MY, Chang KW. Evaluation of saliva and plasma cytokine biomarkers in patients with oral squamous cell carcinoma. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2018;47:699-707.
17. Rajkumar K, Nandhini G, Ramya R, Rajashree P, Kumar AR, Anandan SN. Validation of the diagnostic utility of salivary interleukin 8 in the differentiation of potentially malignant oral lesions and oral squamous cell carcinoma in a region with high endemicity. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 2014;118:309-19.
18. Balan JJ, Rao RS, Premalatha BR, Patil S. Analysis of tumor marker CA 125 in saliva of normal and oral squamous cell carcinoma patients: a comparative study. *J Contemp Dent Pract* 2012;13:671-5.
19. Vajaria BN, Patel KR, Begum R, Shah FD, Patel JB, Shukla SN, et al. Evaluation of serum and salivary total sialic acid and alpha-L-fucosidase in patients with oral precancerous conditions and oral cancer. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 2013;115:764-71.
20. Wang Q, Gao P, Cheng F, Wang X, Duan Y. Measurement of salivary metabolite biomarkers for early monitoring of oral cancer with ultra performance liquid chromatography-mass spectrometry. *Talanta* 2014;119:299-305.
21. Wang Q, Gao P, Wang X, Duan Y. Investigation and identification of potential biomarkers in human saliva for the early diagnosis of oral squamous cell carcinoma. *Clin Chim Acta* 2014;427:79-85.
22. Malhotra R, Urs AB, Chakravarti A, Kumar S, Gupta VK, Mahajan B. Correlation of Cyfra 21-1 levels in saliva and serum with CK19 mRNA expression in oral squamous cell carcinoma. *Tumour Biology* 2016;37:9263-71.
23. Ghallab NA, Shaker OG. Serum and salivary levels of chemerin and MMP-9 in oral squamous cell carcinoma and oral premalignant lesions. *Clin Oral Investig* 2017;21:937-47.