

การติดตามหาความผิดปกติของเซลล์ปากมดลูกที่จะพัฒนาไปเป็นมะเร็งปากมดลูกในสตรี
 ที่ให้ผลบวกจาก HPV E6/E7 mRNA test ในจังหวัดเชียงใหม่โดยใช้วิธี pap smear
 The Monitoring on Potentially Pre – cancerous Changes Prevalence in Positive
 HPV E6/E7 mRNA Subjects in Chiang Mai Province Using Pap Smear Method

เจียรนัย	ขันติพงศ์*	Jiaranai	Khantipongse*
สุรเชษฐ์	อรุณทอง*	Surachet	Arunotong*
นิลวรรณ	เชตะชา*	Nilawan	Chetacha*
นิรุชร์	เลิศประเสริฐสุข**	Niruch	Lertprasertsuk**
กิตติพงศ์	เกิดฤทธิ์***	Kittipong	Keardrit***

*สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 10 The Office of Disease Prevention and Control 10, Chiang Mmai

**คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Faculty of medicine Chiang mMai University

***สำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง Bureau of Vector Borne Diseases Department of Disease Control Ministry of Public Health

บทคัดย่อ

มะเร็งปากมดลูกมีอุบัติการณ์ตรวจพบมากที่สุดในประเทศไทย การตรวจคัดกรองที่ประยุกต์ใช้ ใช้การวัด
 การแสดงออกของยีน E6 และ E7 ของเชื้อ Human papilloma viruses (HPV E6/E7 mRNA test) สามารถ
 บ่งชี้ถึงความเสี่ยงโรคมะเร็งก่อนที่เซลล์พัฒนาไปเป็นเซลล์มะเร็ง (pre-cancerous) ผลการวิจัยระยะที่ 1 ได้ศึกษา
 ความสัมพันธ์ของ HPV E6/E7 mRNA test กับ วิธี Pap smear ในหญิงอาชีพขายบริการ จังหวัดเชียงใหม่
 จำนวน 100 ราย พบว่าให้ผล pap smear ผิดปกติทั้งสิ้น 5 ราย และให้ผล HPV E6/E7 mRNA สูงเกินค่าปกติ
 33 ราย ซึ่งไม่พบความสัมพันธ์ทางสถิติระหว่างการตรวจทั้งสองวิธี

วัตถุประสงค์ เพื่อติดตามความผิดปกติของเซลล์ที่จะพัฒนาไปเป็นเซลล์มะเร็งปากมดลูกในสตรีที่ให้ผลบวก
 จาก HPV E6/E7 mRNA test ในการศึกษาปี พ.ศ. 2555 ด้วยวิธี pap smear เพื่อประเมินความเสี่ยงของเซลล์
 ที่จะพัฒนาไปเป็นมะเร็งปากมดลูกในสตรีที่มี HPV E6/E7 mRNA สูงกว่าปกติ

วิธีการศึกษา เก็บตัวอย่างเซลล์ขูดปากมดลูกในชุดเก็บรักษาเซลล์ชนิดของเหลว ณ งานสาธิตบริการกามโรค
 สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 10 เชียงใหม่ นำส่งตรวจด้วยวิธี pap smear ที่ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะ
 แพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ใช้สถิติ Chi – square ในการทดสอบสมมุติฐาน ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ
 การแสดงออกของ HPV E6/E7 mRNA ในเซลล์ตัวอย่างขูดปากมดลูกกับวิธี pap smear

ผลการศึกษา ตัวอย่างเซลล์ส่งตรวจในกลุ่มตัวอย่างทั้ง 2 กลุ่มให้ผลทดสอบหาความผิดปกติของเซลล์ที่จะ
 พัฒนาเป็นมะเร็งได้เป็นปกติเหมือนกันทุกราย

สรุป วิจัย การนำเสนอแนะ การแสดงออกของ E6/E7 mRNA สัมพันธ์กับความผิดปกติของเซลล์ แต่ระยะ
 เวลาในการพัฒนาทำให้เซลล์เปลี่ยนแปลงไปเป็นระยะก่อนมะเร็ง (HSIL) และมะเร็ง ใช้เวลาแตกต่างกันตั้งแต่
 2-10 ปี ซึ่งยังไม่สามารถอธิบายกลไกได้ การติดตามกลุ่มเสี่ยงด้วย Pap smear ในการศึกษาครั้งนี้ใช้เวลาเพียง
 1 ปี จึงควรมีการติดตามอาสาสมัครกลุ่มเสี่ยงต่อไป

คำสำคัญ : Pap smear HPV E6/E7 mRNA test เซลล์ขูดปากมดลูก มะเร็งปากมดลูก

Abstract

Cervical cancer is a significant public health problem among married women which requires a sensitive screening method. Human papilloma viruses E6/E7 mRNA (HPV E6//E7 mRNA) is proposed as a potential marker to indicate potentially pre-cancerous changes before pathological alteration. In 2012, we compare HPV E6//E7 mRNA prevalence in 100 sex workers to conventional pap smear positive prevalence. We found 5 subjects with positive pap smear and 33 subjects with positive HPV E6/E7 mRNA. We did not found any statistic relation between these methods. However, HPV E6/E7 mRNA possibly an early detection of pre-cancerous changes before it is detected by using pap smear method.

Objective: We monitored the prevalence of pre-cancerous changes using pap smear among 33 subjects who showed HPV E6/E7 mRNA positive in 2012 survey compared to those in 33 subjects with negative HPV E6/E7 mRNA.

Method: Liquid based cervical cytology specimens were collected at The Office of Diseases and Prevention Control 10 Chiang Mai. The pap smear was processed at Department of Pathology, Faculty of Medicine, Chiang Mai University at month 6 and month 12. Chi-square was use to compare the prevalence of pap smear positive between HPV E6/E7 mRNA positive and negative groups.

Result and Conclusion: We did not find any pap smear positive subjects in both positive and negative HPV E6/E7 mRNA groups. The relation between HPV E6/E7 result and pap smear result could not observed in this study. The follow up period in this study to observe changing of the tissue among HPV E6/E7 mRNA subjects take 1 year but the changing of the tissue from normal to be cancer tissue take the different time during 2 to 10 years. Therefore, we suggest to extend the follow up period for determination of a cervical cancer prevalence among HPV E6/E7 mRNA positive subjects.

Keywords : Pap Smear, HPV E6/E7 mRNA Test, Cervical Cells, Cervix Cancer

บทนำ

มะเร็งปากมดลูกเป็นปัญหาสำคัญทางสาธารณสุขของประเทศไทย เป็นมะเร็งที่พบมากที่สุดของสตรีโดยมีอุบัติการณ์ปรับมาตรฐานตามอายุ (age standardized rate) 19.8 ต่อประชากร 100,000 คนต่อปี The International Agency for Research on Cancer (IARC) รายงานว่าประเทศไทยมีผู้ป่วยมะเร็งปากมดลูกใหม่ปีละ 6,243 รายและเสียชีวิต 2,620 ราย อุตบัติการณ์ของมะเร็งปากมดลูกทั่วโลก พบสูงถึงเกือบ 500,000 รายต่อปี และมีผู้ป่วยเสียชีวิตมากกว่า 270,000 รายต่อปี

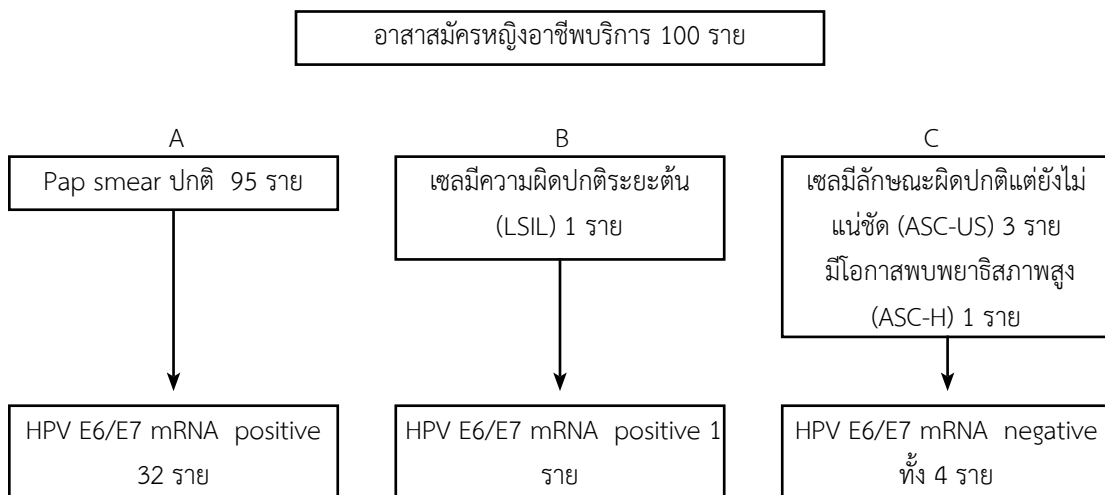
พบว่าการติดเชื้อ oncogenic Human papillomaviruses (HPV) เป็นสาเหตุเริ่มต้นที่สำคัญที่สุด เซลล์ติดเชื้อค่อย ๆ เปลี่ยนแปลงกลายเป็นเซลล์มะเร็ง โดยมีปัจจัยร่วมที่เหมาะสม เช่นปัจจัยภายในโฮสต์เองและสภาพแวดล้อม ซึ่งเป็นระยะเวลานาน อาจถึง 10 ปี ผู้ป่วยที่ได้รับการตรวจยืนยันว่าเป็น cervical cancer (SIL หรือ CIN) พบว่า เกิดจากการติดเชื้อ HPV 99% อุตบัติการณ์ของการติดเชื้อ HPV เกิดจากการมีเพศสัมพันธ์ พบสูงที่สุดในเพศหญิงวัยเจริญพันธุ์ (นุวัฒน์ บาริศรี 2554) โดยเชื้อเข้าไปทางรอยแตกเล็ก ๆ ของ

เซลล์ผิวหนังหรือ mucosa เชื้อ High risk strains HPV สามารถ integrate viral DNA เข้าไปใน host genome หลังจากนั้น viral genes (โปรตีน E6, E7) จะ over-expressed โปรตีน E6 และ E7 จะทำให้ HPV เป็นสาเหตุของการเกิด cancer โดยไปยับยั้ง activity ของ key tumor suppressors

ผลจากการดำเนินโครงการเรื่อง “การศึกษาความสัมพันธ์ของ การตรวจพบ HPV E6/E7 mRNA ในเซลล์

ชุดปากมดลูก กับ พยาธิสภาพที่สัมพันธ์กับมะเร็งปากมดลูกของเซลล์ชุดปากมดลูก (Pap smear) ในหญิงอาชีพขายบริการ ในเขตเมืองจังหวัดเชียงใหม่” (เจียรนัย ชันติพงศ์ 2556) กลุ่มประชากรที่ศึกษาได้แก่หญิงอาชีพบริการในจังหวัดเชียงใหม่ โดยทำการศึกษาทั้งหมด 100 ราย ผลการดำเนินการวิจัยระยะที่ 1 ดังแสดงในแผนภูมิที่ 1 (เจียรนัย ชันติพงศ์ 2556)

แผนภูมิที่ 1

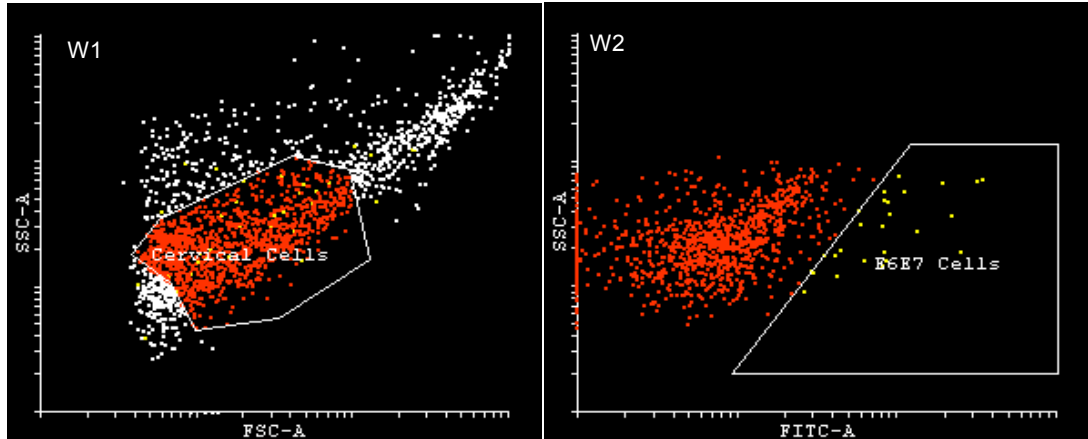


จากแผนภูมิที่ 1 พบว่าในอาสาสมัคร 100 รายมีผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการดังนี้ Box A ผล pap smear ปกติ 95 รายพบ HPV E6/E7 mRNA positive 32 ราย และ Box B ผล pap smear เป็น LSIL 1 รายและ HPV E6/E7 mRNA positive Box C ผล pap smear เป็น Atypical squamous cells of undetermined significance (ASC-US) จำนวน 3 ราย Atypical squamous cells cannot exclude HSIL (ASC-H) จำนวน 1 ราย ไม่พบ HPV E6/E7 mRNA ที่ผิดปกติ

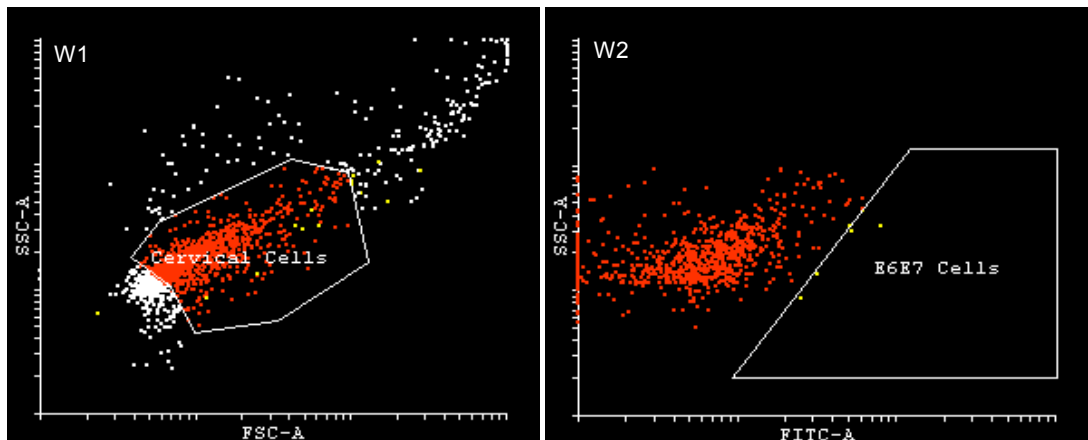
จากจำนวนอาสาสมัคร 100 ราย ให้ผล pap smear ผิดปกติทั้งสิ้น 5 ราย ให้ผล HPV E6/E7 mRNA

positive 33 ราย ดังนั้นในการวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ ในติดตามอาสาสมัครที่ให้ผลการตรวจเซลล์ชุดปากมดลูก ผิดปกติจาก HPV E6/E7 mRNA test ครั้งก่อน (เจียรนัย ชันติพงศ์ 2556) จำนวน 33 ราย และเพิ่มอาสาสมัครที่ให้ผล HPV E6/E7 mRNA negative 33 ราย จากครั้งก่อนเป็นกลุ่ม control เพื่อประเมินความผิดปกติของเซลล์ที่จะพัฒนาไปเป็นมะเร็งปากมดลูกในสตรีที่ ให้ผลบวกจาก HPV E6/E7 mRNA test ด้วย pap smear เพิ่มเติมจากระบบปกติ ซึ่งมีการตรวจ pap smear ปีละ 1 ครั้งเป็น 6 เดือนครั้ง (ปีละ 2 ครั้ง)

ผลการตรวจหา HPV E6/E7 mRNA จากดำเนินการวิจัยระยะที่ 1 (เจียรนัย ขันติพงศ์ 2556)



รูปที่ 1 ผลการตรวจหา HPV E6/E7 mRNA ด้วยเครื่อง flow cytometer ที่ให้ผล positive (E6E7 Cells % of vis = 2.6%)



รูปที่ 2 ผลการตรวจหา HPV E6/E7 mRNA ด้วยเครื่อง flow cytometer ที่ให้ผล negative (E6E7 Cells % of vis = 0.7%)

เพื่อติดตามความผิดปกติของเซลล์ที่จะพัฒนาไปเป็น มะเร็งปากมดลูกในสตรีที่ให้ผลบวกจาก HPV E6/E7 mRNA test ด้วย pap smear และเป็นทางเลือกในการ ใช้ HPV E6/E7 mRNA test เป็นวิธีตรวจคัดกรองมะเร็ง ปากมดลูก เพื่อประโยชน์สูงสุดของการพัฒนา ประสิทธิภาพการตรวจทางห้องปฏิบัติการ ดังนั้นในการ ศึกษาครั้งนี้จึงมีขั้นตอนดำเนินการดังนี้

การติดตามอาสาสมัครเป็นกลุ่มที่จะถูกศึกษา การ พัฒนาของการเกิดโรคมะเร็งปากมดลูก จึงมีความจำเป็น ต้องหากกลุ่มที่ให้ผลลบ ในจำนวนที่มีขนาดเท่ากันหรือไม่

แตกต่างกันมาก ในการวิจัยครั้งนี้จึงมี 2 กลุ่มคือ คือ กลุ่ม ที่มีผล HPV E6/E7 mRNA สูงกว่าค่าปกติ ทุกราย จำนวน 33 ราย และอาสาสมัครกลุ่มควบคุม ที่มีผล HPV E6/E7 mRNA อยู่ในช่วงปกติ 33 ราย โดยอาสาสมัคร ทั้งสองกลุ่ม จะได้รับการติดตามความผิดปกติของเซลล์ ชูดปากมดลูกด้วย pap smear ทุก 6 เดือน (2 ครั้ง) เป็น เวลา 1 ปี หากพบความผิดปกติของเซลล์ชูดปากมดลูกของ อาสาสมัครที่มีการพัฒนาเป็นเซลล์มะเร็ง จึงจะได้รับการ ตัดขึ้นเนื้อไปตรวจด้วยวิธีย้อมพิเศษและหากเห็นลักษณะ ของปากมดลูกที่ผิดปกติและแพทย์สูตินรีเวชมีความเห็น

ว่าจำเป็นต้องตัดชิ้นเนื้อจึงจะมีการตัดชิ้นเนื้อเฉพาะราย
นั้น ๆ (แนวทางการตรวจวินิจฉัยและรักษาโรคมะเร็งปาก
มดลูกของประเทศไทย 2550)

วัสดุและวิธีการ

1. กลุ่มตัวอย่างที่จะศึกษา

กลุ่มตัวอย่างที่ต้องการเป็นหญิงอาชีพบริการที่มี
ผลการตรวจหา HPV E6/E7 mRNA สูงเกินค่าปกติ
จำนวน 33 ราย และ อยู่ในช่วงปกติ จำนวน 33 รายใช้
ตัวอย่างสิ่งส่งตรวจเป็น Liquid based cervical
cytology specimens ซึ่งอยู่ภายใต้การควบคุมดูแลของ
แพทย์ผู้เชี่ยวชาญเฉพาะทาง ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะ
แพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ส่วนการทำ
colposcope เฉพาะกรณีที่พบว่าผล pap smear ผิด
ปกติและหากเห็นลักษณะของปากมดลูกที่ผิดปกติและ
แพทย์สูตินรีเวชมีความเห็นว่าจำเป็นต้องตัดชิ้นเนื้อจึงจะ
มีการทำเฉพาะรายนั้น ๆ ตาม “แนวทางการตรวจวินิจฉัย
และรักษาโรคมะเร็งปากมดลูกของประเทศไทย 2550”
จะส่งอาสาสมัครไปทำที่ ภาควิชาสูติศาสตร์ นรีเวชวิทยา
คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ภายใต้การ
ควบคุมดูแลของแพทย์เฉพาะทาง

การคำนวณขนาดตัวอย่าง

ในการศึกษาระยะที่หนึ่งพบมีจำนวน อาสาสมัคร
ที่ให้ผล HPV E6/E7 mRNA positive 33 ราย เพื่อเปรียบ
เทียบประสิทธิภาพในการใช้เทคนิค flow cytometry
ในการวินิจฉัย เลือกการศึกษาแบบ Cohort study โดย
คัดเลือกอาสาสมัครที่มีผล HPV E6/E7 positive จำนวน
28 ราย โดยคำนวณจาก สูตรคำนวณขนาดตัวอย่างแบบ
Sample Size for a Test of Differences in
Proportions; Fekel JF, et al. (2007) หน้า202

โดยมีผลการศึกษาที่ผ่านมาถึงอัตราการพบ
มะเร็งปากมดลูกในอาสาสมัครที่พบ HPV positive ของ
Sorbye et.al. 2010 พบว่าในอาสาสมัครที่มี HPV
positive มีอัตราการพบมะเร็งปากมดลูก 57.7% ในขณะที่
อาสาสมัครที่ HPV negative มีอัตราการพบมะเร็งปาก
มดลูก 7.8% การสำรวจเพื่อให้ได้จำนวนตัวอย่างที่มี
ความแตกต่างของสัดส่วนการเป็นมะเร็งปากมดลูก

ระหว่างกลุ่ม HPV positive กับ HPV negative ที่ความ
เชื่อมั่น 95% Confidence และ beta error เท่ากับ
20%

$$N = \frac{(Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2 * 2 * \bar{p}(1 - \bar{p})}{(\bar{d})^2};$$

$$Z_{\alpha} = 1.96, Z_{\beta} = 0.84$$

$$p \text{ (HPV positive) } = 0.577$$

$$p \text{ (HPV negative) } = 0.078$$

$$\bar{p} = \frac{0.577 + 0.078}{2} = 0.328$$

$$d = 0.577 - 0.078 = 0.499$$

$$N = \frac{(1.96 + 0.84)^2 * 2 * (0.328)(0.672)}{(0.499)^2} = \frac{7.84(2)(0.220)}{0.249}$$

$$N = 13.854 \approx 14 \times 2 = 28$$

เลือกกลุ่มตัวอย่างเป็นสองเท่าของจำนวนที่คำนวณ
ได้ เพื่อให้ครอบคลุมความคาดเคลื่อนที่เกิดจากการสุ่ม
ดังนั้น เลือกอาสาสมัครที่มีผล HPV E6/E7 positive
จำนวน >28 ราย และเลือกกลุ่มควบคุม ที่มีผล HPV E6/
E7 negative จำนวนมากกว่า 28 ราย

การติดตามอาสาสมัครเป็นกลุ่มที่จะถูกศึกษา
progression of the disease จึงมีความจำเป็นต้องหา
กลุ่ม negative control ในจำนวนที่มีขนาดเท่ากันหรือไม่
แตกต่างกันมาก เนื่องจากงานวิจัยนี้อาจมีอาสาสมัคร
ที่ไม่สามารถติดตามได้สูงถึง 20% (สถิติจากงานสถิติ
บริการกรมโรค) จึงรับตัวอย่างเพิ่ม 20% จากกลุ่มละ 28
รายเป็นกลุ่มละ 33 ราย ในการวิจัยครั้งนี้จึงมี 2 กลุ่มคือ
คือ กลุ่มที่มีผล HPV E6/E7 mRNA positive ทุกราย
จำนวน 33 ราย และอาสาสมัครกลุ่ม control ที่มีผล
HPV E6/E7 mRNA negative 33 ราย

2. การเก็บตัวอย่างเซลล์ปากมดลูก

ใช้ตัวอย่างสิ่งส่งตรวจที่เป็น Liquid based
cervical cytology specimens ThinPrep จำนวน 500
ul ในการตรวจวิเคราะห์ ขั้นตอนการเก็บตัวอย่างมีดังนี้

- นัดให้อาสาสมัครมาตรวจหลังจากเก็บตัวอย่างในงานวิจัยปี 2555 ไป 6 เดือนเป็นครั้งที่ 1 และนัดอาสาสมัครมาครั้งที่ 2 หลังจากครั้งที่ 1 อีก 6 เดือน เตรียมตัวล่วงหน้าเช่น

- o ไม่ควรมีเพศสัมพันธ์ก่อนวันที่มาตรวจ
- o ไม่ควรทำความสะอาดภายในช่องคลอดก่อนตรวจ 2-4 ชั่วโมง
- o ไม่ใช้ยาเหน็บช่องคลอดก่อนตรวจ 24 ชั่วโมง
- o ไม่เป็นประจำเดือน
- เก็บตัวอย่างเซลล์ขูดปากมดลูกโดยพยาบาลวิชาชีพประจำศูนย์กามโรคที่มีประสบการณ์ได้รับการฝึกอบรมมาแล้ว เก็บตัวอย่างไว้ในตู้เย็นและส่งตัวอย่างไปตรวจทางห้องปฏิบัติการ

เก็บข้อมูลประวัติกลุ่มตัวอย่าง

- ข้อมูลทั่วไป
- ข้อมูลประวัติ/การตรวจร่างกาย
- อ่านผลการตรวจ pap smear โดยแพทย์เฉพาะทาง
- o วิธีการแจ้งผลการตรวจให้อาสาสมัคร กระทำโดยเจ้าหน้าที่ในศูนย์กามโรคฯ ที่ซึ่งมีประสบการณ์และมีสัมพันธภาพที่ดีกับผู้ป่วย

3. ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย การควบคุมการวิจัย การเก็บรวบรวมข้อมูล และการวิเคราะห์ ข้อมูล

รายละเอียดขั้นตอนการดำเนินงานของโครงการฯ ให้กับเจ้าหน้าที่ที่เกี่ยวข้องได้แก่

- ติดตามอาสาสมัครในการวิจัยครั้งนี้มี 2 กลุ่มคือกลุ่มที่มีผล HPV E6/E7 mRNA positive ทุกราย

จำนวน 33 ราย และอาสาสมัครกลุ่ม control ที่มีผล HPV E6/E7 mRNA negative 33 ราย โดยอาสาสมัครทั้งสองกลุ่ม จะได้รับการติดตามความผิดปกติของเซลล์ขูดปากมดลูกด้วย pap smear ทุก 6 เดือน (2 ครั้ง) เป็นเวลา 1 ปี หากพบความผิดปกติของเซลล์ขูดปากมดลูกของอาสาสมัครที่มีการพัฒนาเป็นเซลล์มะเร็ง จึงจะได้รับการตัดชิ้น

- เนื้อไปตรวจ และหากเห็นลักษณะของปากมดลูกที่ผิดปกติและแพทย์สูติเวชมีความเห็นว่าจำเป็นต้องตัดชิ้นเนื้อจึงจะมีการทำเฉพาะรายนั้น ๆ

- (แนวทางการตรวจวินิจฉัยและรักษาโรคมะเร็งปากมดลูกของประเทศไทย 2550)

วิธีการตรวจหา HPV E6/E7 mRNA ด้วยวิธี Flow cytometry

ใช้ตัวอย่างเซลล์ขูดปากมดลูก ที่เก็บโดย Liquid based cervical cytology specimens (ThinPrep) จำนวน 500 ul เติม reagent ตามขั้นตอนที่กำหนดตามวิธีของ HPV HRDNA detection by Hybrid Capture II (Digene, Gaithersburg, MD) and HPV E6, E7 mRNA quantification in cells using HPV OncoTect (Inviviron Diagnostics, Oak Brook IL) ตามขั้นตอนดังนี้

- เตรียมน้ำยาและสิ่งส่งตรวจให้พร้อมโดยการปั่นแยกเซลล์ขูดปากมดลูก
- Cell Fixation และ Permeabilization
- Pre – hybridization washes
- Hybridization
- Post – hybridization washes
- นำเข้าเครื่อง flow cytometer วิเคราะห์ สรุบบันทึกลง

ผลการศึกษา

ตารางที่ 1 ผลการติดตามหาเซลล์ปากมดลูกที่ผิดปกติ หรือการเกิดเซลล์มะเร็ง (pap smear) ในกลุ่มอาสาสมัครที่เป็นกลุ่มเสี่ยง (HPV E6/E7 สูง) และกลุ่มควบคุม (HPV E6/E7 ปกติ)

	อาสาสมัครกลุ่มเสี่ยงที่มีค่า HPV E6/E7 mRNA สูงกว่าปกติ 33 ราย	อาสาสมัครกลุ่มควบคุมที่มีค่า HPV E6/E7 mRNA ปกติ 33 ราย
ผล pap smear ปกติ	33 ราย	33 ราย
ผล pap smear ผิดปกติ	-	-

จากการติดตามอาสาสมัครกลุ่มเสี่ยงจำนวน 33 ราย เป็นเวลา 1 ปี พบว่าสามารถติดตามได้ครบทั้ง 33 ราย โดยผลการติดตามการพัฒนาไปเป็นมะเร็งปากมดลูกของเซลล์ปากมดลูก ในอาสาสมัครที่เป็นกลุ่มเสี่ยงคือหญิงอาชีพบริการกลุ่มที่ให้ผลบวจาก HPV E6/E7 mRNA test จำนวน 33 รายเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ให้ผลลบหรือกลุ่มควบคุม จำนวน 33 ราย ให้ผล Pap smear ปกติทุกรายทั้ง 2 กลุ่ม ถึงแม้จะมีรายงานการศึกษามากมายที่พบว่าการแสดงออกของ E6/E7 mRNA สัมพันธ์กับความผิดปกติของเซลล์ โดยพบว่ามี การแสดงออกน้อยมากในระดับเซลล์ผิดปกติระยะแรกและพบในทุกรายที่เป็นมะเร็งที่การสอดแทรก DNA ของ เชื้อ HPV เข้าไปในเซลล์โฮสต์ (viral genome integration) แสดงถึงความสัมพันธ์ของการเกิด viral genome integration และมีการแสดงออกของ E6/E7 mRNA ในปัจจุบันจึงพยายามตรวจหาการแสดงออกของ E6/E7 mRNA เพื่อใช้บ่งบอกถึงภาวะการติดเชื้อ HPV ที่จะเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ผิดปกติในระยะรุนแรง

แต่อย่างไรก็ตามในรายงานการศึกษาติดตามผู้ที่ติดเชื้อ HPV พบว่าระยะเวลาในการพัฒนาทำให้เกิดเซลล์เปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ผิดปกติก่อนจะกลายเป็นมะเร็ง (HSIL) และ มะเร็ง จะใช้เวลาแตกต่างกัน โดยพบได้ตั้งแต่ 2-10 ปี (Mortensen 2011) ซึ่งเป็นปัญหาที่พบและยังไม่มีกลไกใดที่จะอธิบายได้

ดังนั้นวิธีการตรวจทั้งสองวิธีคือ HPV E6/E7 mRNA test เป็นวิธีที่มีความไวสูงมาก สามารถตรวจพบความผิดปกติในช่วง early state คือตั้งแต่มี viral genome integration ซึ่งกว่าจะรอให้พบหรือเกิดการ

พัฒนาเป็นเซลล์ที่มีความผิดปกติหรือมะเร็งจนสามารถตรวจได้ด้วยวิธี Pap smear ซึ่งนำมาใช้เป็นวิธีที่ติดตามผลโดยจะพบความผิดปกติได้ต้องรอเป็นเวลานาน ตามที่กล่าวคือ 2- 10 ปี จึงเกิดความผิดปกติของเซลล์ให้ตรวจพบได้

การใช้วิธี Pap smear ติดตามผลจึงต้องติดตามเป็นระยะเวลานานอย่างน้อย 5 ปีขึ้นไปจึงสามารถสรุปผลได้ชัดเจนกว่านี้ (Mortensen 2011)

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

โรคมะเร็งปากมดลูกเป็นสาเหตุของการตายที่พบได้มากที่สุดของโรคมะเร็งในผู้หญิงในประเทศที่กำลังพัฒนา (แจ่มใส เพียรทอง 2552) และเป็นโรคที่สามารถรักษาให้หายได้หากตรวจพบตั้งแต่ระยะแรก Human papillomavirus (HPV) เป็นเชื้อสาเหตุของการเกิดโรคมะเร็งปากมดลูก โดยตรวจพบ HPV ในเซลล์ปากมดลูกได้สูงถึงร้อยละ 99.7 ของผู้ป่วยมะเร็งปากมดลูก (Hamid 2009) การติดเชื้อ HPV ไม่ได้ทำให้เกิดมะเร็งปากมดลูกเสมอไป และตรวจพบ HPV ได้ทั้งในผู้ที่ไม่มีเยื่อปากมดลูกปกติและผิดปกติ ปัญหาที่สำคัญของการติดเชื้อนี้คือยังไม่มี marker ชนิดใดที่ใช้บ่งบอกว่าผู้ที่ติดเชื้อ HPV จะมีการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ติดเชื้อและกลายเป็นเซลล์มะเร็งเมื่อใด

การศึกษาวิจัยที่ผ่านมาพบว่าผู้หญิงในกลุ่มที่มีอายุสูง (> 35 ปี) และมีการติดเชื้อยืดยาวจากเชื้อก่อมะเร็ง HPV ชนิดความเสี่ยงสูง หรือ high risk (HR) HPV ที่มีผลการตรวจคัดกรองเซลล์ปากมดลูกเป็นความผิดปกติระยะเริ่มแรกของการเป็นมะเร็งปากมดลูก (mild

dysplasia) เป็นกลุ่มเสี่ยงเพราะถ้ามีภาวะส่งเสริมร่วมกันจากโปรตีนยีนมะเร็งของไวรัส (oncoproteins) ทำให้เซลล์ติดเชื้อเกิดมีโครโมโซมด้อยเสถียรภาพ และมีปัจจัยของโฮสต์ส่งเสริม เมื่อมีการสอดแทรก DNA ของเชื้อไวรัสเข้าไปในเซลล์โฮสต์ (viral genome integration) มีผลการศึกษาพบว่า การเกิด integration โดย viral genome เป็นจุดเริ่มต้นที่ทำให้เซลล์เกิดการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องและเซลล์กลายเป็นมะเร็งได้ขึ้นกับปัจจัยส่งเสริมจากทั้งไวรัสและโฮสต์

ในการศึกษาครั้งนี้จึงได้ติดตามกลุ่มอาสาสมัครที่เป็นกลุ่มเสี่ยงคือมีการแสดงออกของ HPV E6/E7 mRNA โดยการติดตามหาความผิดปกติของเซลล์ชุดปากมดลูกที่มี HPV E6/E7 mRNA positive ดังกล่าว ด้วยวิธี pap smear ผลที่ได้คือยังไม่พบความผิดปกติของเซลล์ถึงขั้นที่

จะพัฒนาไปเป็นเซลล์มะเร็งในระยะเวลา 1 ปี

การแสดงออกของ HPV E6/E7 mRNA (ยีน E6 และ E7 ของเชื้อ human papillomaviruses) เป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดการกลายรูป และการมีชีวิตยืนยาวของเซลล์ติดเชื้อ การศึกษาถึงการแสดงออกของยีนจึงน่าจะเป็นสิ่งที่ช่วยในการพยากรณ์การพัฒนาของมะเร็งได้ แต่ปรากฏว่าถึงแม้ ยีน E6 และ E7 มีการแสดงออกอย่างสม่ำเสมอในเซลล์มะเร็งเหล่านั้น การนำวิธีการตรวจหาการแสดงออกของยีน E6 และ E7 ของเชื้อ HPV มาประยุกต์ใช้ในการทำนายการพัฒนาของระยะมะเร็งนั้นยังเป็นการเร็วเกินไปในขณะนี้ และควรรอให้มีการศึกษาในลักษณะของการศึกษาติดตามระยะยาวในกลุ่มตัวอย่างที่มากพอและต่อเนื่องก่อน

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ สำนักจัดการความรู้ กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุขที่ได้จัดสรรงบประมาณให้การศึกษาครั้งนี้ได้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- นุวัฒน์ บาริสรี และคณะ. การศึกษาการแสดงออกของ E6/E7 mRNA ของเชื้อไวรัส HPV ที่เป็นสาเหตุของการเกิดมะเร็งปากทวารหนักในกลุ่มชายที่มีเพศสัมพันธ์กับชายที่ติดเชื้อและไม่ติดเชื้อเอชไอวี. การสัมมนาระดับชาติเรื่องโรคเอดส์ครั้งที่ 13, 2544:29-31.
- เจียรนัย ชันติพงศ์. ความสัมพันธ์ของ HPV E6/E7 mRNA ในเซลล์ชุดปากมดลูกกับพยาธิสภาพที่สัมพันธ์กับมะเร็งปากมดลูกในหญิงอาชีพขายบริการในเขตเมืองจังหวัดเชียงใหม่. วารสารควบคุมโรค, 2556:101-109
- Arbyn M, Kyrgiou M, Simoons C, Raifu AO, Koliopaulos G, et al. (2008) Perinatal mortality and other severe adverse pregnancy outcomes associated with treatment of cervical intraepithelial neoplasia: meta analysis. BMJ 337: a 1284.
- Arbyn M. Simoons C, Goffin F, Nochr B, Bruinsma F Treatment of cervical cancer precursors: influence of age, completeness of excision and cone depth on therapeutic failure, and on adverse obstetric outcomes. BJOG 118, 2011:1274-5.
- Fiedler M. et al. High level HPV-16 E7 oncoprotein expression correlates with reduced pRb-levels in cervical biopsies. The FASEB Journal July, 2004: . (Vol. 18): 1120-22.
- Hamid NA, Brown C, Gaston K. The regulation of cell proliferation by the papillomavirus early proteins. Cell Mol Life Sci, 2009; 66(10):1700-17.

- Irwin D. and Patterson B. Quantitative analysis of HPV E6/E7 mRNA expression in cells using flow cytometry (HPV NCOTECT) improves positive predictive value for lesions. Abstract from the clinical cytometry society 22nd annual meeting. Cytometry Part B (Clinical Cytometry), 2007 (72B):482-494
- Jabbar S, Strati K, Shin MK, Pitot HC, Lambert PF. Human papillomavirus type 16 E6 and E7 oncoproteins act synergistically to cause head and neck cancer in mice. Virology, 2010.
- Kyrgiou M, Koliopoulos G, Martin-Hirsch P, Arbyn M, Prendiville W. et al. Obstetric outcomes after conservative treatment for intraepithelial or early invasive cervical lesion: systematic review and meta-analysis. Lancet 2006 (367): 489-498.
- Miralles, R., Editorial in ginecología y obstetricia clinica, 2008.
- Möckel J, Clad A, Endres A-S and Schneider V. HPV E6/E7 mRNA transcripts as predictors of high-grade epithelial cervix dysplasia. Diagnostic Pathology, 2007.
- Moody CA, Laimins LA. Human papillomavirus oncoproteins: pathways to transformation. Nat Rev Cancer, 2010 (8):550-60.
- Rodriguez AC., Et al. Prospective study of type-specific carcinogenic HPV infections over 7 years in Guanacaste, Costa Rica. Proceedings of the 24th International Papillomavirus Conference and Clinical Workshop. Beijing, China 2007. Abstracts book. Abstract 7B-02.
- S Dockter, J, et al. Clinical performance of the APTIMA® HPV Assay for the detection of high-risk HPV and high grade cervical lesions J. Clin Virol, 2009 (45 Suppl) 1: 555-61
- Svinung Wergeland SØrbye, Marc Arbyn, Silje Fismen, Tore Jarl Gutteberg, Elin SynnØve Mortensen. HPV E6/E7 mRNA Testing Is More Specific than Cytology in Post-Colposcopy Follow-Up of Women with Negative Cervical Biopsy. PLoS ONE, 2011 (Volume 6) Issue 10 e26022.
- Van Oortmarssen GJ, Habbema JD Epidemiological evidence for age-dependent regression of pre-invasive cervical cancer. Br J Cancer, 1991 (64): 559-565.
- Xavier Castellsagué. Natural history and epidemiology of HPV infection and cervical cancer. Gynecologic Oncology, 2008: S4-S7.
- Yugawa T, and Kiyono T., Molecular mechanisms of cervical carcinogenesis by high-risk human papillomaviruses: novel functions of E6 and E7 oncoproteins. Rev Med Virol, 2009; 19(2): 97-113.