

2. การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง (Review literature)

การติดเชื้อ human papillomavirus (HPV) เป็นปัจจัยที่สำคัญของการเกิดมะเร็งปากมดลูก ซึ่งเป็นสาเหตุลำดับที่สองของการตายของผู้หญิงทั่วโลก และมักจะพบได้มากในประเทศที่กำลังพัฒนา HPV เป็นเชื้อไวรัสที่มีมากกว่า 100 types ซึ่งแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ cutaneous group ซึ่งมีการติดเชื้อ และทำให้เกิดโรคบริเวณผิวหนัง เช่น หูด และ mucosal group ซึ่งมีการติดเชื้อ และทำให้เกิดโรคบริเวณเยื่อเมือก เช่น การติดเชื้อในระบบสืบพันธุ์ของทั้งผู้หญิงและผู้ชาย ไวรัสในกลุ่ม mucosal group ซึ่งมีประมาณ 40 types ยังแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มตามความสามารถในการทำให้เกิดโรคมะเร็งคือ low-risk type (LR-HPV) ได้แก่ types 6, 11, 42, 43, และ 44 และ high-risk type (HR-HPV) ได้แก่ types 16, 18, 31, 33, 34, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 และ 70 (Dunne and Markowitz, 2006) พบว่า มากกว่า 90% ของมะเร็งปากมดลูก สัมพันธ์กับการติดเชื้อด้วย HPV type 16 และ 18 ซึ่งเป็นเชื้อ HPV ในกลุ่ม HR-HPV type เป็นส่วนใหญ่ (Sankaranarayanan, 2006) แต่อย่างไรก็ตามในคนที่ติดเชื้อส่วนใหญ่ก็สามารถกำจัดเชื้อออกจาก cervical mucosa ได้ โดยเชื่อว่าเป็นผลมาจากการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย เช่น จากการศึกษานักมวยที่เข้ารับการปลูกถ่ายไต ซึ่งได้รับ immunosuppressive therapy พบว่าสามารถเกิด cervical intraepithelial neoplasia (CIN) lesions ได้บ่อยกว่าคนปกติ (Tjiong *et al.*, 1999)

การติดเชื้อ HPV สามารถชักนำให้เกิด systemic และ local humoral immune response โดยดูได้จากการตรวจพบ IgG และ IgA antibodies (Abs) ต่อ HPV antigen ยกตัวอย่างเช่น ในผู้หญิงส่วนใหญ่ที่ติดเชื้อที่ปากมดลูกด้วยเชื้อ HPV-16 พบว่ามีการสร้าง systemic IgG Ab เพื่อตอบสนองต่อ major capsid protein ของ HPV-16 ซึ่งสามารถตรวจวัดได้โดย ELISA โดยใช้ virus-like particle เป็นแอนติเจน (Stanley, 2001) แต่เชื่อว่าการตอบสนองของโฮสต์ต่อการเกิด malignant tumour เป็นหน้าที่หลักของ cell-mediated immune response ซึ่งถูกควบคุมโดย cytokines ชนิดต่างๆ จากการศึกษารูปแบบของการสร้าง cytokine T-helper (Th) cells จะถูกจัดจำแนกออกเป็น 2 กลุ่ม คือ Th1 และ Th2

Th1 cell จะผลิต type 1 cytokines ได้แก่ IL-2, IL-12, IL-15 และ IFN- γ เซลล์ในกลุ่มนี้จะส่งเสริม cell-mediated immunity และยังจำเป็นในการตอบสนองต่อ intracellular pathogens (เช่น ไวรัส) และ tumor cell อีกด้วย ส่วน กลุ่มที่สองคือ Th2 ทำหน้าที่ผลิต IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 และ IL-13 (type 2 cytokines) และสร้าง immunity ต่อ extracellular pathogens และ allergic response นอกจากนี้การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันยังถูกควบคุมได้โดย cytokine ที่สร้างจาก non-T cells อีกด้วย (Sharma *et al.*, 2007)

ด้วยเหตุนี้จึงมีผู้ศึกษาหน้าที่ของ cytokine ชนิดต่างๆ ดังนี้ จากการศึกษาระบบ Type 1 cytokines มีฤทธิ์ antitumor affect เช่น IL-2 เป็น potent activator ของ cellular immunity ซึ่งมี antitumor และ antimetastasis activity ต่อ tumor และ up-regulate การสร้าง IFN นอกจากนี้ IL-12, IL-2 และ IFN- γ

กระตุ้น cytotoxic lymphocyte (CTL)-mediated และ กระตุ้น cytolytic function ผ่านทาง natural killer (NK) cell ที่เกี่ยวข้องกับ antitumor defense mechanism อีกด้วย และยังพบว่า IFN- γ สามารถเพิ่มการนำเสนอของ antigenic peptide ต่อ Th1 lymphocyte และยับยั้งการเจริญของ cervical cell line ได้โดยตรง (Woodworth *et al.*, 1992) ในทางตรงกันข้าม type 2 cytokine โดยเฉพาะ IL-10 มีบทบาทในการ down-modulate ภูมิคุ้มกันที่ตอบสนองต่อ tumor โดยกีดการสร้าง IFN- γ และ IL-12 ได้โดยตรง ดังนั้นจึงเป็นการป้องกันการกระตุ้น CTLs และ NK cells หรือ ลดการแสดงออกของ major histocompatibility complex (MHC) บนผิวของ tumor cell (Sharma *et al.*, 2007)

ดังนั้น การตรวจวัดปริมาณของ cytokines จึงถูกนำมาใช้อย่างกว้างขวาง ในการตรวจหา cellular immunologic potency ในผู้ป่วยที่เป็นมะเร็ง เพื่อดูความสัมพันธ์ของการแสดงออกของ cytokine และการกำจัดเชื้อออกจากร่างกาย เช่น 1997 Clerici และคณะ ได้ทำการศึกษา การสร้าง cytokine จาก peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) ในผู้หญิงที่มีการติดเชื้อ HPV แบบ localized และ แบบ spread HPV infection พบว่า การสร้าง IL-2 จาก PBMCs ในการตอบสนองต่อการถูกกระตุ้นด้วย soluble antigen มีปริมาณลดลงในกลุ่มที่เป็น extensive disease เมื่อเทียบกับ กลุ่มที่เป็น localized disease ในทางตรงกันข้ามพบว่า การสร้าง IL-4 และ IL-10 กลับสูงขึ้นเมื่อในกลุ่มที่เป็น extensive disease เมื่อถูกกระตุ้นด้วย mitogen เทียบกับ กลุ่มที่เป็น localized disease จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า การสร้าง cytokine ซึ่งเป็นตัวกระตุ้น protective cell-mediated immunity มีความบกพร่องในผู้หญิงที่มีการติดเชื้อ HPV (Clerici *et al.*, 1997) ต่อมาในปี 2007 Sharma และคณะ ได้ทำการศึกษาความสัมพันธ์ของการแสดงออกของ cytokine กับ stage ของการเกิดโรค ในตัวอย่างที่เป็น PBMC culture supernatant ด้วยวิธี enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) พบว่า ระดับของ IL-2 ลดลงอย่างมีนัยสำคัญในผู้ป่วยที่เป็น high-grade CIN และผู้ป่วยที่เป็นมะเร็ง ในขณะที่ระดับของ IFN- γ ลดลงเฉพาะในผู้ป่วยที่เป็น advanced cancer cervix ส่วนระดับของ IL-4 และ IL-10 จะเพิ่มขึ้นในผู้ป่วยทุกคนที่เป็นมะเร็งปากมดลูกและ ผู้ป่วยที่อยู่ในระยะ CIN III เมื่อเทียบกับผู้ป่วยที่อยู่ใน CIN grade ระยะแรกและคนปกติ (Sharma *et al.*, 2007) นอกจากนี้ยังมีการตรวจหาระดับการแสดงออกของ mRNA ของ cytokine ชนิดต่างๆ เพื่อดูความสัมพันธ์กับการพัฒนาไปเป็น cancer จาก cervical specimen ที่เป็น formalin-fixed paraffin-embedded tissue โดยวิธี Quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) พบว่า ระดับ mRNA ของ IFN- γ ในผู้ป่วยที่เป็น CIN ต่ำกว่าในคนปกติ ส่วนระดับ mRNA ของ IL-10 ใน ผู้ป่วยที่เป็น CIN สูงกว่าในคนปกติอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ยังทำการแยกตรวจระดับของ mRNA ใน epithelial และ sub-epithelial ของตัวอย่างอีกด้วย พบว่า ระดับ mRNA ของ epithelial IFN- γ มีการลดลงในทุกระยะของ CIN เมื่อเทียบกับ normal ส่วนระดับ mRNA ของ sub-epithelial IFN- γ ใน CIN 1, CIN 2 และ CIN 3 ก็ลดลงด้วย เมื่อเทียบกับ normal และพบว่าระดับ mRNA ของ sub-epithelial IFN- γ ใน CIN 2 และ CIN 3 ก็น้อยกว่าใน CIN 1

ด้วย จากผลการทดลองจึงสรุปได้ว่า การที่ระดับของ epithelial และ sub-epithelial IFN- γ ลดลง รวมทั้งการสร้าง sub-epithelial IL-10 ที่เพิ่มขึ้น น่าจะมีบทบาทในการพัฒนาไปเป็น cervical cancer ได้ (El-Sherif *et al.*, 2001)

อย่างไรก็ตาม การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายเพียงอย่างเดียวยังไม่เพียงพอในการกำจัดเชื้อให้ออกจากร่างกายและทำให้เกิดการหายไปของโรคได้ (spontaneous regression) เนื่องจาก HPV เป็นเชื้อไวรัสที่มีความสามารถในการหลบหลีกระบบภูมิคุ้มกันของโฮสต์ได้ จึงทำให้เกิดการติดเชื้อแบบ persistence infection และสามารถพัฒนาไปเป็นมะเร็งได้ (Kanodia *et al.*, 2007) ปัจจุบันจึงมีการใช้วิธีต่างๆ ในการรักษาผู้ป่วยที่มีเซลล์ปากมดลูกผิดปกติในระยะแรก (LSIL) โดยที่การรักษาเบื้องต้นด้วย cryosurgery ก็เป็นอีกวิธีหนึ่งที่ใช้กันอย่างกว้างขวาง เช่นในการศึกษาการใช้ cryosurgery ในการรักษาผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อแบบ chronic persistent HPV infection 31 คน พบว่า ผู้ป่วย 15 คน (48.8%) สามารถกำจัดเชื้อได้ภายใน 3 เดือนหลังจากการรักษา และ ผู้ป่วย 26 คน (83.9%) กำจัดเชื้อได้หลังจากการรักษา 12 เดือน (Elfgren *et al.*, 2002) และจากการศึกษาของ Passmore และคณะ ในการดูผลการตอบสนองของ local mucosal inflammatory response จากบาดแผลที่เกิดจากการทำ pap smear พบว่า ระดับของ inflammatory cytokines IL-12, TNF- α และ IL-10 เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในผู้หญิงที่ได้รับการทำ Pap smear (Passmore *et al.*, 2007)

จากข้อมูลข้างต้นทำให้สันนิษฐานได้ว่า การรักษาเบื้องต้นด้วยวิธี cryosurgery ในผู้หญิงที่มีเซลล์ปากมดลูกผิดปกติ น่าจะมีบทบาทในการกระตุ้นการตอบสนองต่อการติดเชื้อ HPV ของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายได้