

247511

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ



รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

“การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันในระบบสืบพันธุ์ของผู้หญิงที่ได้รับการรักษาด้วย cryosurgery”

“Local immune response in genital tract of women with cryosurgery treatment”

คณะผู้วิจัย

ผศ.พญ. พิไลวรรณ กลีบแก้ว คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
รศ.พญ. ทิพา เอกถักษณานันท์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
รศ.นพ.บัณฑิต ชุมวรฐายี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

โครงการนี้เป็นหนึ่งโครงการย่อยของชุดโครงการ “บทบาทของการติดเชื้อ human papillomavirus ต่อ
การเกิดมะเร็งปากมดลูก และการหาแนวทางการรักษาเบื้องต้น”

ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัย ประเภทอุดหนุนทั่วไป ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2553

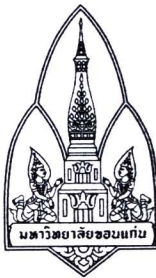
มหาวิทยาลัยขอนแก่น

๒๐๐๒๕๒/๕๐

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ



247511



รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

“การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันในระบบสืบพันธุ์ของผู้หญิงที่ได้รับการรักษาด้วย cryosurgery”

“Local immune response in genital tract of women with cryosurgery treatment”

คณะผู้วิจัย

ผศ.พญ. พิไลวรรณ กลีบแก้ว คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
รศ.พญ. ทิพย์ เอกลักษณ์นันท์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
รศ.นพ.บัณฑิต ชุมวรฐายี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น



โครงการนี้เป็นหนึ่ง โครงการย่อยของชุดโครงการ “บทบาทของการติดเชื้อ human papillomavirus ต่อ
การเกิดมะเร็งปากมดลูก และการหาแนวทางการรักษาเบื้องต้น”

ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัย ประเภทอุดหนุนทั่วไป ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2553

มหาวิทยาลัยขอนแก่น

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนโครงการวิจัยประเภทอุดหนุนทั่วไป ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2552 และ พ.ศ. 2553 จากมหาวิทยาลัยขอนแก่น คณะผู้วิจัยขอขอบคุณมหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ให้การสนับสนุนทำให้การทำวิจัยสำเร็จได้ตามวัตถุประสงค์

ผศ.ไพไลวรรณ กลีบแก้ว
(หัวหน้าโครงการวิจัย)

มะเร็งปากมดลูกเป็นมะเร็งที่พบได้บ่อยเป็นอันดับสองในผู้หญิงทั่วโลก กลไกการเกิดมะเร็งปากมดลูกเป็นกระบวนการที่มีหลายขั้นตอนและสัมพันธ์กับการติดเชื้อ human papillomavirus (HPV) ปัจจัยที่สำคัญของการติดเชื้อ HPV และการเกิดมะเร็งปากมดลูกพบว่าสัมพันธ์กับการติดเชื้อแบบยึดเชื้อ (persistent)

ภูมิคุ้มกันในระบบสืบพันธุ์ผู้หญิงมีบทบาทสำคัญในการกำจัดการติดเชื้อ HPV โดยเฉพาะ cytokines ชนิดต่าง ๆ ซึ่งทำหน้าที่ควบคุมระบบ immune response ที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อ โดยจำแนกออกเป็น 2 กลุ่ม คือ Th1-type cytokine เช่น IFN- γ และ TNF- α ซึ่งมีบทบาทในการชักนำให้เกิด cell-mediated immunity และกลุ่มที่สอง คือ Th2-type cytokine เช่น IL-6 และ IL-10 ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการชักนำให้เกิด humoral immunity และยังทำหน้าที่เป็น immunoinhibitory ต่อการตอบสนองแบบ cell-mediated อีกด้วย

ในกรณีของการติดเชื้อ HPV ที่เยื่อปากมดลูก การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันเฉพาะที่ ยังไม่เพียงพอที่จะกำจัดเชื้อให้ออกจากร่างกายได้หมด แสดงให้เห็นว่า HPV มีกลไกหลบหลีกการถูกกำจัดโดยระบบภูมิคุ้มกัน ทำให้เกิดการติดเชื้อแบบ persistent infection และพัฒนาไปเป็น LSIL หรือ HSIL ได้

ปัจจุบันยังไม่มีแนวทางการรักษาผู้ที่มีภาวะติดเชื้อ HPV ในระยะเริ่มแรกที่ชัดเจน การรักษาด้วย cryosurgery เป็นทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจในการรักษาผู้ป่วยที่เป็น mild dysplasia โดยอาศัยความเย็นในการทำลายเนื้อเยื่อที่เกิดการติดเชื้อที่ปากมดลูก ซึ่งนอกจากวิธีนี้จะทำให้ lesion หายไปแล้วยังน่าจะมีผลกระทบต่อระบบภูมิคุ้มกันด้วย ดังนั้นการศึกษานี้จึงทำการตรวจหาระดับของ cytokines ต่อภาวะการติดเชื้อ HPV และความสัมพันธ์ของการแสดงออกของจีน IFN- γ TNF- α และ IL-10 ในระบบสืบพันธุ์ของผู้หญิงที่มีการติดเชื้อ HPV ในระยะก่อนและหลังจากการรักษาเบื้องต้นด้วยวิธี cryosurgery เพื่อเป็นแนวทางในการรักษาเซลล์ผิดปกติที่เกิดจากการติดเชื้อ HPV ในระยะเริ่มแรก ได้

การศึกษาวิจัยมีวัตถุประสงค์เพื่อ 1) เพื่อตรวจหาระดับของ cytokines IFN- γ , IL-10 และ TNF- α ในระบบสืบพันธุ์ผู้หญิงที่มีเซลล์ปากมดลูกผิดปกติชนิด LSIL 2) เพื่อหาความสัมพันธ์ของการตอบสนองของร่างกายในระบบสืบพันธุ์ผู้หญิงที่มีเซลล์ปากมดลูกผิดปกติชนิด LSIL ต่อการติดเชื้อ HPV 3) เพื่อหาความสัมพันธ์ของการแสดงออกของจีน IFN- γ , IL-10 และ TNF- α ในระบบสืบพันธุ์ผู้หญิงที่มีเซลล์ปากมดลูกผิดปกติชนิด LSIL ที่มีการติดเชื้อ HPV ในระยะก่อนและหลังจากการรักษาเบื้องต้นด้วยวิธี cryosurgery

ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษานี้ คือ cervicovaginal lavage (CVL) และชิ้นเนื้อปากมดลูกของผู้หญิงที่มีเซลล์ปากมดลูกผิดปกติในระยะแรก (LSIL) ซึ่งได้รับการตรวจภายใน และเก็บชิ้นเนื้อภายใต้การตรวจโดย colposcopy โดย oncologist และ scraped cervical cells จะถูกตรวจว่ามี HPV genotype ชนิดใด กลุ่มตัวอย่างที่ติดเชื้อ HPV นี้ถูกแบ่ง เป็นสองกลุ่มคือ กลุ่ม cases ซึ่งให้การรักษาโดย cryosurgery และกลุ่ม

control ซึ่งไม่ได้รับการรักษา หลังจากได้รับการรักษา 6 เดือน CVL และ scraped cervical cells ถูกเก็บจากกลุ่มตัวอย่างทั้งสองกลุ่ม เพื่อตรวจหาระดับ cytokines และ HPV genotype ตามลำดับ

ผลการศึกษาเป็นกลุ่มตัวอย่างผู้หญิงที่มีเซลล์ปากมดลูกผิดปกติระยะ LSIL จำนวน 100 ราย ซึ่งตรวจพบ HPV DNA positive ใน cervical cell จำนวน 60 ราย กลุ่มตัวอย่าง HPV DNA positive นี้ถูกแบ่งออกเป็นสองกลุ่มคือ กลุ่มที่ได้รับการรักษาด้วย cryosurgery จำนวน 29 ราย และกลุ่ม Observe ที่ไม่ได้รับการรักษาจำนวน 31 ราย

จากการศึกษาพบว่าการติดเชื้อ HPV 3 แบบคือ single, double และ multiple infections โดยพบมีการติดเชื้อ HPV16 มากที่สุด นอกจากนี้การติดเชื้อแบบ double และ multiple infections มักพบติดเชื้อร่วมกับ HPV16 ด้วย

การตรวจหาระดับ IFN- γ , IL-10 และ TNF- α โดยวิธี ELISA ใน CVL เมื่อวิเคราะห์ค่า median level ของ IFN- γ , IL-10 และ TNF- α พบว่ากลุ่ม HPV DNA negative มีระดับ IFN- γ และ TNF- α สูงกว่ากลุ่ม HPV DNA negative อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่ค่า median level ของ IL-10 ในกลุ่ม HPV DNA positive สูงกว่ากลุ่ม HPV DNA negative อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ผลการตรวจวิเคราะห์ระดับ cytokine หลังการรักษาพบว่า กลุ่ม cryosurgery และกลุ่ม observe มีระดับ IFN- γ และ TNF- α เพิ่มขึ้น ขณะที่ระดับ IL-10 ลดลง แต่ระดับ cytokine ที่เพิ่มขึ้นและลดลงระหว่างสองกลุ่มนี้ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

สำหรับการตรวจวัดการแสดงออกของจีน IFN- γ , TNF- α และ IL-10 mRNA พบว่าผู้หญิงที่มีเซลล์ปากมดลูกผิดปกติแบบ LSIL จำนวน 100 ราย มีการแสดงออกของ IFN- γ , TNF- α และ IL-10 mRNA 93%, 97% and 93% ซึ่งเมื่อเทียบกับคนทั่วไปมีการแสดงออกของจีนประมาณ 50-60% นอกจากนี้เมื่อวิเคราะห์ค่า median level พบว่า IFN- γ , TNF- α และ IL-10 ในกลุ่ม HPV DNA negative และกลุ่ม HPV DNA positive ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้เมื่อวิเคราะห์ระหว่างกลุ่มที่ได้รับการรักษา (cryosurgery group) และกลุ่มที่ไม่ได้รับการรักษา (observes group) พบว่า ระดับ IFN- γ และ TNF- α mRNA ของทั้งสองกลุ่มมีการแสดงออกเพิ่มมากขึ้น ในขณะที่ระดับของ IL-10 ของทั้งสองกลุ่มมีการแสดงออกลดลง นอกจากนี้ระดับ IFN- γ mRNA ที่แสดงออกเพิ่มมากขึ้นนั้น พบว่าในกลุ่มที่ได้รับการรักษา (cryosurgery group) มีแสดงออกของ IFN- γ mRNA เพิ่มขึ้นมากกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับการรักษา (observe group) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลการทดลองโดยวิธี real time PCR และ ELISA ให้ผลแตกต่างกันในบางกรณีอาจเกิดจาก ตัวอย่างที่ใช้ในการตรวจและการวิเคราะห์ที่แตกต่างกัน

อย่างไรก็ตามเมื่อวิเคราะห์อัตราการตรวจพบ HPV DNA หลังการรักษาเป็นเวลา 6 เดือน พบว่ากลุ่มตัวอย่างมีการกำจัดเชื้อ HPV ได้มากกว่าร้อยละ 80 นอกจากนี้พบว่ากลุ่มที่ได้รับการรักษาด้วย cryosurgery มีอัตรา HPV clearance มากกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับการรักษา (observe) แสดงให้เห็นว่าการเกิด

minor trauma มีความสำคัญในการกระตุ้นให้เกิดการสร้าง inflammatory cytokine ต่อการติดเชื้อ HPV นอกจากนี้ยังมีบทบาทสำคัญในการกำจัดเชื้อ HPV DNA อีกด้วย

จากการศึกษาสรุปได้ว่า การทำให้เกิด minor trauma บริเวณ cervix เช่น การทำ Pap smear การทำ cryosurgery สามารถกระตุ้นให้มีการสร้าง inflammatory cytokine ในบริเวณ cervix ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการทำลายเซลล์ที่ติดเชื้อ HPV ทำให้ผู้หญิงที่มีเซลล์ปากมดลูกที่มีความผิดปกติแบบ LSIL สามารถกำจัด การติดเชื้อ HPV ได้ โดยการทำให้ cryosurgery จะมีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อดีกว่าการทำ Pap smear

ดังนั้นการวิจัยนี้จึงสนับสนุนว่าการเข้ารับการตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูกเป็นประจำทุกปี สามารถช่วยลดการเกิดมะเร็งปากมดลูกได้ ทั้งจากการที่สามารถตรวจพบความผิดปกติของเซลล์ปากมดลูก แล้วให้การรักษาก่อนที่จะเป็นมะเร็ง และจากการที่ทำให้มีการกระตุ้นการสร้าง inflammatory cytokine ใน บริเวณ cervix ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการทำลายเซลล์ที่ติดเชื้อ HPV

นอกจากนี้การรักษาเซลล์ปากมดลูกที่มีความผิดปกติแบบ LSIL ที่เกิดจากการติดเชื้อ HPV ด้วยวิธี cryosurgery น่าจะเป็นแนวทางหนึ่งสำหรับการรักษาเซลล์ผิดปกติที่เกิดจากการติดเชื้อ HPV เพื่อป้องกันการเกิดมะเร็งปากมดลูก

สารบัญ

	หน้า
ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย	1
วัตถุประสงค์	2
การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง	3
วิธีดำเนินการวิจัย	6
ผลการวิจัย	11
อภิปรายผล/วิจารณ์	23
สรุปผลการวิจัย/ข้อเสนอแนะ	24
บรรณานุกรม	25