นิพนธ์ต้นฉบับ **Original Article**

ความสัมพันธ์ของ HPV E6/E7 mRNA ในเซลล์ขูดปากมดลูกกับพยาธิสภาพที่สัมพันธ์กับมะเร็งปากมดลูกในหญิงอาชีพขายบริการในเขตเมืองจังหวัดเชียงใหม่

Relationship Between the Detection of HPV E6/E7 mRNA and Cytological Features in Cervical Smears among Female Sex Workers in Chiangmai

เจียรนัย ขันติพงศ์* วท.ม. (พิษวิทยา) Jiaranai Khantipongse* M.sc. (Toxicology)

สุรเชษฐ์ อรุโณทอง* พ.บ., วทม. Surachet Arunotong* M.D., M.sc.

นิลวรรณ กิตยานุรักษ์* ส.บ. Nilawan Kittiyanurug* B.P.H.

โกวิทย์ นามบุญมี** วท.ด Kowit Nambunmee** Ph.D.

นิรัชร์ เลิศประเสริฐสุข*** พ.บ., ปกด. Niruch Lertprasertsuk*** M.D., Ph.D.

**สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 10* **The Office of Diseases and Prevention Control 10 Chiangmai*

***สาขาวิชาสาธารณสุขศาสตร์* ***Major of Public Health,*

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง School of Health Science, Mae Fah Luang University

****คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่* ****Faculty of medicine Chiangmai University*

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินความสัมพันธ์ของ HPV E6/E7 mRNA test กับพยาธิสภาพที่สัมพันธ์กับมะเร็งปากมดลูกของเซลขูดปากมดลูกในกลุ่มเป้าหมาย กลุ่มตัวอย่างคือ หญิงอาชีพบริการ จำนวน 175 ราย เก็บเซลขูดปากมดลูกโดยใช้ liquid base media นำมาตรวจหาปริมาณ HPV E6/E7 mRNA ด้วยเครื่อง flow cytometer และตรวจหาพยาธิสภาพที่สัมพันธ์กับมะเร็งปากมดลูก (pap smear) ผลการวิจัยพบว่า กลุ่มในตัวอย่าง 175 ราย ให้ผล pap smear ผิดปกติ 8 ราย (ร้อยละ 5.14) ผลจาก HPV E6/E7 mRNA test ผิดปกติ 54 ราย (ร้อยละ 30.86) โดยไม่พบความสัมพันธ์ทางสถิติระหว่างผลทดสอบด้วย E6/E7 และผล pap smear เมื่อทดสอบโดยใช้ Fisher exact test (p>0.05) ซึ่งอาจจะเกิดจากความไวของทั้ง 2 วิธีแตกต่างกันมาก ดังนั้นควรมีการประเมินประสิทธิภาพของ HPV E6/E7 mRNA test ต่อไปโดยติดตามการเกิดมะเร็งปากมดลูกในอาสาสมัคร ที่ให้ผล HPV E6/E7 mRNA test ผิดปกติ จำนวน 54 ราย ด้วย วิธี pap smear เพื่อประเมินความเสี่ยงของเซลล์ที่จะพัฒนาไปเป็นมะเร็งปากมดลูกในสตรีที่มี HPV E6/E7 mRNA สูงกว่าปกติ

Abstract

The aim of this study was to evaluate the relationship between the result of HPV E6/E7 mRNA test and Pap smear test in target group sex workers. The subjects were 175 sex workers. Cervical cells were collected using liquid base media. HPV E6/E7 mRNA level in collected cervical cell was tested using Flow cytometer and the cervical cancer cell forming was determined microscopically by pap smear. Among 175 sex workers in the atudy, tThere were 54 subjects (30.86%) with HPV E6/E7 mRNA test positive and 8 subjects (5.14%) with pap smear test positive. The relation between HPV E6/E7 and pap smear did not show in our study (Fisher exact p-value >0.05).It caused by the sensitivity difference between HPV E6/E7

test and Pap smear test. The sensitivity of HPV E6/E7 mRNA test and pap smear test should be further determined. In in order to evaluate the sensitivity of HPV E6/E7 mRNA test, the cervical cancer incidence among 54 subjects with HPV E6/E7 mRNA positive result should be followed using pap smear.

ประเด็นสำคัญ	Keywords
HPV E6/E7 mRNA test Pap smear	*HPV E6/E7 mRNA test*
มะเร็งปากมดลูก หญิงอาชีพขายบริการ	*Pap smear cervical cancer female sex workers*

บทนำ

มะเร็งปากมดลูกเป็นปัญหาสำคัญทางสาธารณสุขของประเทศไทย เป็นมะเร็งที่พบมากที่สุดของสตรี The International Agency for Research on Cancer (IARC) รายงานว่าประเทศไทยมีผู้ป่วยมะเร็งปากมดลูกใหม่ปีละ 6,243 รายและเสียชีวิต 2,620 ราย อุบัติการณ์ของมะเร็งปากมดลูกทั่วโลก พบสูงถึงเกือบ 500,000 รายต่อปี และมีผู้ป่วยเสียชีวิตมากกว่า 270,000 รายต่อปี[1] สถานการณ์มะเร็งปากมดลูกในไทย พบผู้ป่วยมะเร็งปากมดลูกรายใหม่ จำแนกตามภาค พ.ศ.2552 จำนวน 298 ราย (สถาบันมะเร็งแห่งชาติ) การติดเชื้อ oncogenic Human papillomaviruses (HPV) เป็นสาเหตุเริ่มต้นที่สำคัญที่สุด เซลล์ติดเชื้อค่อย ๆ เปลี่ยนแปลงกลายเป็นเซลล์มะเร็ง โดยมีปัจจัยร่วมที่เหมาะสม เช่นปัจจัยภายในโฮสต์เองและสภาพแวดล้อม ซึ่งเป็นระยะเวลานาน อาจถึง 10 ปี ผู้ป่วยที่ได้รับการตรวจยืนยันว่าเป็น cervical cancer (SIL หรือ CIN) พบว่า เกิดจากการติดเชื้อ HPV ร้อยละ 99 อุบัติการณ์ของการติดเชื้อ HPV เกิดจากการมีเพศสัมพันธ์ พบสูงที่สุดในเพศหญิงวัยเจริญพันธุ์[2] โดยเชื้อเข้าไปทางรอยแตกเล็ก ๆ ของเซลผิวหนังหรือ mucosa เชื้อ High risk strains HPV สามารถ integrate viral DNA เข้าไปใน host genome [2] หลังจากนั้น viral genes จะ over-expressed ทำให้ HPV เป็นสาเหตุของการเกิด cancer โดยไปยับยั้ง activity ของ key tumor suppressors[3,4]

วิธีที่ใช้ตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูกในปัจจุบันได้แก่

การตรวจเซลล์ปากมดลูกโดยวิธี เซลล์วิทยา (conventional Pap smear) มีความไวต่ำ มีผลลบลวงร้อยละ 6 ถึง 55 ทำให้ผู้ป่วยไม่ได้รับการรักษาแต่เนิ่น ๆ หรือได้รับการรักษาที่มากเกินจริงจากผลการตรวจที่ผิดพลาด ในระยะหลายปีที่ผ่านมา มีรายงานมากมายที่ประเมินประสิทธิภาพของการตรวจด้วยวิธีนี้และพบว่าความไว (sensitivity) ของ conventional Pap smear ค่อนข้างต่ำ[5]

การตรวจหา HPV DNA มีความไวสูงแต่มีความจำเพาะต่ำ และมีข้อจำกัดด้านเครื่องมือและอุปกรณ์มีราคาแพง และไม่สามารถบอกถึง cytomorphological criteria ของเซลล์ปากมดลูกที่ติดเชื้อ และ HPV สามารถพบได้ใน normal cervical epithelia[6]ข้อมูลที่มีอยู่ในปัจจุบันยังไม่เพียงพอที่จะสรุปว่าวิธีนี้ก่อให้เกิดผลดี

การตรวจหา marker ในเซลล์ที่มีความผิดปกติและจะเปลี่ยนเป็นเซลล์มะเร็งต่อไป เป็นการตรวจคัดกรอง ที่มีความจำเพาะเพียงพอสำหรับการค้นหาลักษณะ ที่ผิดปกติทางพยาธิวิทยาของเซลได้ในปัจจุบัน ตัวอย่างเช่นมีการตรวจหาโปรตีน p16 ในเนื้อเยื่อปากมดลูกที่เพิ่มขึ้น และมักพบเสมอในเนื้อเยื่อติดเชื้อ oncogenic HPV ที่มีภาวะ premalignant lesion ขณะที่ในเนื้อเยื่อปกติหรือติดเชื้อ low risk HPV จะพบการแสดงออกของโปรตีน p16 ได้น้อย[6]

การตรวจหา HPV E6, E7 mRNA เป็นการตรวจหาเชื้อ HPV ที่ก่อให้เกิดมะเร็ง (HPV oncoprotein) ซึ่งเป็น biomarker ของมะเร็ง ชนิดต่าง ๆ ที่เกิดร่วมกับ HPV infection เป็นวิธีที่มีความจำเพาะต่อการเกิดมะเร็งจาก HPV มากกว่า marker จากเซลมะเร็งทั่วไป และยังมีความไวสูงกว่าวิธีคัดกรองอื่น ๆ เพราะไม่ต้องรอ

ให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเซลล์จนกลายเป็นมะเร็ง เนื่องจากเป็นการตรวจหาเชื้อ HPV ที่ integrate เข้าไปใน host genome แล้วช่วยในการ screen HPV associated cancer สามารถตรวจ HPV ชนิดต่าง ๆ ที่ก่อให้เกิด cancers จากเซลขูดปากมดลูก และผู้ที่เป็น carriers ได้ การพบ HPV E6/E7 mRNA จากสิ่งส่งตรวจเป็นหลักฐานที่สำคัญและช่วย prognosis ความเสี่ยงในการพัฒนา ไปเป็นมะเร็งปากมดลูกแสดงว่าจะมีการเกิดมะเร็งปากมดลูกแน่นอนซึ่งจะเป็นช้าหรือเร็วหรือเป็นแล้วก็ขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย[7] ยับยั้งการทำงาน ของ p53 ซึ่งเป็น tumor suppressor gene ทำให้เซลล์ไม่ตายตามกำหนด (apoptosis) ส่วน E7 จะจับกับ retinoblastoma (Rb) genes ทำให้เซลล์ แบ่งตัวไม่หยุด[8]พบว่าโปรตีน E6/E7 เป็นยีนมะเร็งซึ่งจะมีการแสดงออกในระยะก่อนมะเร็งปากมดลูกและมะเร็งปากมดลูก ซึ่งการตรวจพบโปรตีน E6/E7 จะมีความสัมพันธ์กับระยะก่อนมะเร็งปากมดลูก และมะเร็งปากมดลูกมากกว่า การตรวจค้นหา เอชพีวี ชนิด high risk[9]

ตารางที่ 1ได้แสดงผลการศึกษาของการตรวจทั้ง 2 วิธี จะเห็นว่า HPV E6/E7 mRNA test เป็นวิธีการตรวจทางห้องปฏิบัติการที่เหมาะสมในการตรวจหา early diagnosis ของโรค และเป็นวิธีที่ ง่าย มีความไวและความจำเพาะสูง และช่วยทำนายความเสี่ยงของการพัฒนาไปสู่การเกิดมะเร็งปากมดลูก และ E6/E7 oncoproteins เป็น biomarker ของมะเร็งที่มีความไวและความจำเพาะสูงในการตรวจหามะเร็งชนิดต่าง ๆ ที่เกิดร่วมกับ HPV infection ทุกระยะ[7]

ตารางที่ 1 แสดงผลการศึกษาในต่างประเทศที่ผ่านมา

วิธีตรวจ	HR HPV DNA test	E6/E7 mRNA test
	มีค่า negative predictive values สูงมาก ร้อยละ 99 มี positive predictive value สำหรับ pre-cancerous และ cancerous lesion < ร้อยละ 50[10]	positive predictive value ของการวัดค่า HPV E6/E7 mRNA ในเซล = ร้อยละ 83 สูงกว่าการตรวจหา HPV DNA ความจำเพาะ (specificity) = ร้อยละ 96 ในตัวอย่าง 322 ราย ที่เป็น normal cytology สามารถลดการเกิด false positive HPV DNA results (r=0.61, p=0.01)[12]
	มีสตรีจำนวนมากที่ผล HR HPV DNA test เป็นบวก แต่ผล biopsy ปกติ[11,19]	HPV E6/E7 mRNA จะให้ผลบวกเฉพาะรายที่มี E6, E7 overexpression เท่านั้น ซึ่งใน life cycle ของ HPV นั้น การที่มี overexpression ของ E6/E7 mRNA ในเซลแสดงว่ามีการเกิด มะเร็งปากมดลูก[11,13]
	ผู้ติดเชื้อ HPV ชนิด High risks ร้อยละ 75 มีภูมิคุ้มกันกำจัดเชื้อได้ภายใน 1-2 ปี และมีเพียงร้อยละ 25 ที่ติดเชื้อแบบเรื้อรังและลุกลามมากขึ้น[20]	มีความจำเพาะในการบ่งชี้ถึง cellular transformation และภาวะ CIN2 ที่สูงกว่า[11, 14, 15, 16, 17, 18, 19]
		มี prognosis สูงกว่าการใช้วิธีตรวจหา HPV DNA (n=344) [21]
		ไม่มี E7 protein ใน tissue ที่มี epithelium cell ที่ปกติ ระดับของ E7 protein จะเพิ่มสูงมากในช่วง precancerous และ cancerous progression ใน cervical biopsy ที่ HPV-16 positive[22]

โดยในการวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินความสัมพันธ์ของ HPV E6/E7 mRNA test กับพยาธิสภาพที่สัมพันธ์กับมะเร็งปากมดลูกของเซลขูดปากมดลูกในหญิงอาชีพบริการ

วัสดุและวิธีการศึกษา

1. ประสานงานกับหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง

❋ ชี้แจงรายละเอียดขั้นตอนการดำเนินงานของโครงการฯ ให้กับเจ้าหน้าที่ที่เกี่ยวข้องได้แก่

- ติดต่อกับสถานบริการในเขตอำเภอเมืองจังหวัดเชียงใหม่โดยสุ่มแบบ random จากสถานบริการในเขตเมืองเชียงใหม่ทั้งหมด 86 แห่ง
- การคัดเลือกอาสาสมัคร
- การค้นประวัติเพื่อการคัดกรองอาสาสมัคร
- การเก็บข้อมูลโดยใช้แบบสัมภาษณ์
- การเก็บตัวอย่างเซลขูดปากมดลูกและการส่งต่อไปยังห้องปฏิบัติการ

2. การเก็บตัวอย่างและข้อมูล

ในงานวิจัยครั้งนี้เป็นการทำ pilot study คัดเลือกกลุ่มอาสาสมัครโดยสุ่มตามโควต้าเป็นหญิงอาชีพบริการในเขตอำเภอเมืองจังหวัดเชียงใหม่ อายุ 18 ปีขึ้นไป จำนวน 175 ราย

ใช้ตัวอย่างสิ่งส่งตรวจเป็น Liquid based cervical cytology specimens

3. พื้นที่ที่เก็บตัวอย่าง

ในสถานบริการที่สุ่มคัดเลือกแบบ random ในจังหวัดเชียงใหม่ ทำการเก็บตัวอย่างจนครบ

4. ระยะเวลาดำเนินการศึกษา

1 ปี เริ่มจาก ตุลาคม 2554 - กันยายน 2555

5. การวิเคราะห์ตัวอย่าง

5.1 การวิเคราะห์ HPV E6/E7 mRNA ด้วยเครื่อง Flow cytometry

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

❋ เตรียมน้ำยาและตัวอย่างสิ่งส่งตรวจให้พร้อมโดยการปั่นแยกเซลขูดปากมดลูก

❋ Cell Fixation และ Permeabilization

❋ Pre - hybridization washes

❋ Hybridization

❋ Post - hybridization washes

❋ นำเข้าเครื่อง flow cytometer วิเคราะห์สรุป บันทึกผล

5.2 การตรวจหาความผิดปกติทางเซลวิทยา (pap smear)

สิ่งส่งตรวจเซลขูดปากมดลูก จะถูกส่งไปตรวจ ณ ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

เก็บข้อมูลประวัติกลุ่มตัวอย่าง

❋ รายละเอียดการสร้างแบบสอบถามประกอบด้วย

❋ ข้อมูลทั่วไป

❋ ข้อมูลประวัติการตรวจรักษา

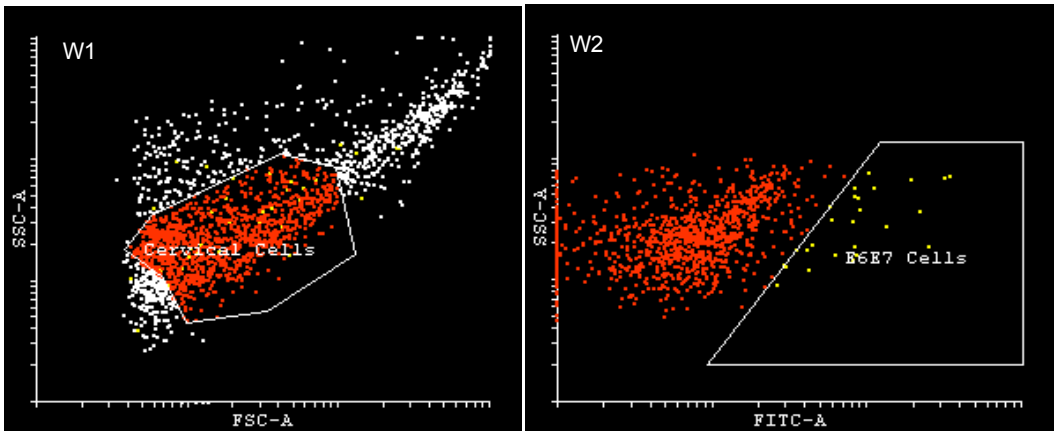
6. การคำนวณข้อมูลทางสถิติ

ในการวิจัยครั้งนี้จะเปรียบเทียบปริมาณการแสดงออกของ HPV E6/E7 mRNA ในตัวอย่างเซลขูดปากมดลูกของหญิงอาชีพบริการกับการเกิดความผิดปกติของเซลที่จะพัฒนาไปเป็นเซลมะเร็ง (pap smear) จำนวน 175 ราย รวมทั้งวิเคราะห์รายละเอียดจากแบบสอบถามประกอบเพื่อเป็นข้อมูลในการเฝ้าระวังและติดตามการเกิดมะเร็งปากมดลูก

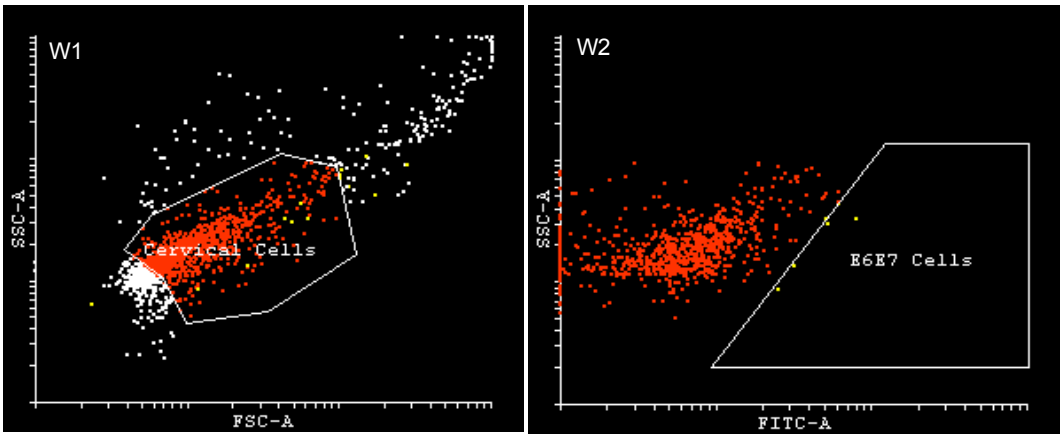
ผลการศึกษา

ผลการตรวจหา HPV E6/E7 mRNA จากดำเนินการวิจัยระยะที่ 1

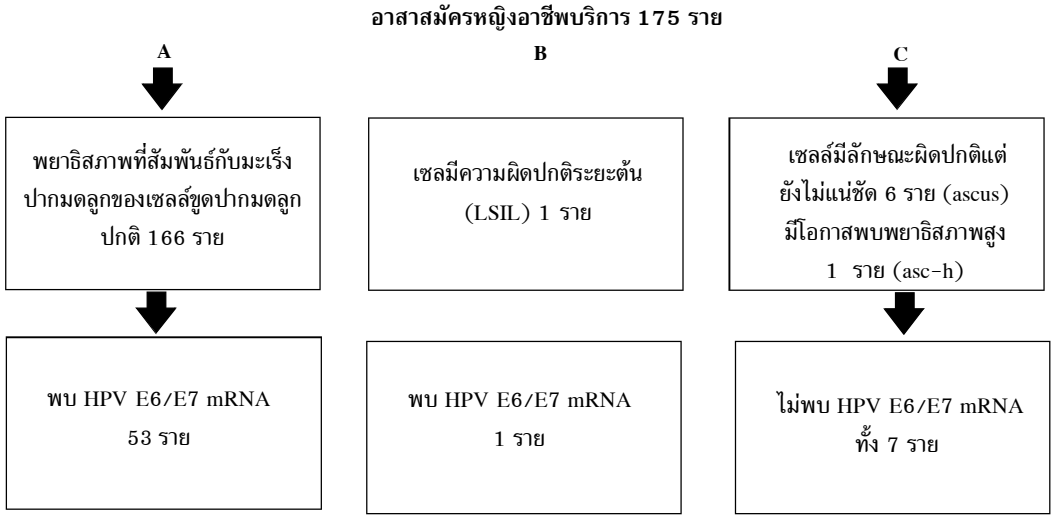
รูปที่ 1 แสดงผลการตรวจหา HPV E6/E7 mRNA ด้วยเครื่อง flowcytometer ที่ให้ผล positive (E6E7 Cells % of vis = 2.6%)



รูปที่ 2 แสดงผลการตรวจหา HPV E6/E7 mRNA ด้วยเครื่อง flowcytometer ที่ให้ผล negative (E6E7 Cells % of vis = 0.7%)



แผนภูมิที่ 1 ผลการดำเนินการวิจัยระยะที่ 1



จากแผนภูมิที่ 1พบว่าในอาสาสมัคร 175 รายมีผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการดังนี้ Box A ผล pap smear ปกติ 166 รายพบ HPV E6/E7 mRNA positive 53 ราย Box B ผล pap smear เป็น LSIL 1 รายและ HPV E6/E7 mRNA positive และ Box C ผล pap smear เป็น Atypical squamous cells of undetermined significance (ASC-US) จำนวน 6 ราย Atypical squamous cells cannot exclude HSIL (ASC-H) จำนวน 1 ราย ไม่พบ HPV E6/E7 mRNA ที่ผิดปกติ

จากจำนวนอาสาสมัคร 175 ราย ให้ผล pap smear ผิดปกติทั้งสิ้น 8 ราย (ไม่มีข้อมูล 1 ราย) ให้ผล HPV E6/E7 mRNA positive 54 ราย เมื่อเปรียบเทียบผลทั้ง 2 วิธีด้วยวิธีทางสถิติ (Fisher exact test) ไม่พบความแตกต่างซึ่งอาจจะเนื่องมาจากความไว ของทั้ง 2 วิธีที่แตกต่างกันมาก (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 แสดงการเปรียบเทียบผลการตรวจหามะเร็งปากมดลูกห้องปฏิบัติการทั้งสองวิธี

		E6/E7 n(%)		Total	ผลFisher exact test
		Negative	Positive		
ผลการตรวจทางพยาธิวิทยา n(%)	Negative	114 (94.21)	52 (98.11)	166 (95.40)	N.S.
	Positive	7 (5.79)	1 (1.89)	8 (4.60)	
ทั้งหมด		121 (69.54)	53 (30.46)	174 (100.00)	

- **ตรวจทางพยาธิวิทยา Positive = LSIL, ACUS, ASCH**
- **E6/E7 Positive=>2.5**

ตารางที่ 3 ค่าเฉลี่ยอายุและระยะเวลานับจากมีประจำเดือนครั้งสุดท้าย

	ค่าเฉลี่ย	S.D.	ค่าต่ำสุด	ค่าสูงสุด
อายุ (ปี)	31.21	7.58	18	55
ระยะเวลานับจากมีประจำเดือนครั้งสุดท้าย (วัน)	17.72	11.79	1	64

ตารางที่ 4 จำนวนอาสาสมัครจำแนกตามกลุ่ม pap smear, E6/E7 และการคุมกำเนิด

Pap smear	จำนวน	ร้อยละ
ไม่พบความผิดปกติ	166	94.86
LSIL	1	0.57
ACUS	6	3.43
ASCH	1	0.57
ไม่มีข้อมูล	1	0.57
E6/E7		
Negative	121	69.14
Positive	54	30.86
การคุมกำเนิด		
ไม่ใช้	3	1.71
Condom	81	46.29
OCP	11	6.29
Condom+OCP	64	36.57
Combine	11	6.29
IUD	2	1.14
Menopause	2	1.14
ไม่มีข้อมูล	1	0.57
ทั้งหมด	175	100.00

ไม่พบความสัมพันธ์ทางสถิติระหว่างปริมาณ E6/E7 mRNA และผล pap smear กับอายุของหญิงอาชีพบริการ การคุมกำเนิด และระยะเวลานับจากมีประจำเดือนครั้งสุดท้าย

วิจารณ์

จากผลการศึกษาครั้งนี้พบว่าในกลุ่มอาสาสมัครที่เป็นสตรีกล่มเสี่ยง (อาชีพบริการ) จำนวน 175 ราย ตรวจพบ HPV E6/E7 mRNA จากเซลขูด ปากมดลูก ร้อยละ 30.8 ซึ่งสูงกว่าผลการศึกษาของ Sorbye S.W. และคณะ (2010) ประเทศนอร์เวย์ ซึ่งพบ HPV E6/E7 mRNA จากเซลขูดมดลูกในสตรีกล่มเสี่ยง (มี minor cytology cervical lesions) ร้อยละ 18 จากอาสาสมัครจำนวน 1798 ราย

จากผลการศึกษาการพัฒนาวิธีการตรวจหา E6/E7 mRNA เพื่อใช้พยากรณ์ความเสี่ยงของการเกิดมะเร็งปากมดลูกในผู้ติดเชื้อ Human papillomavirus (ปราณี ลิ้ชนะชัย, 2539) ในกลุ่มสตรีที่มารับการตรวจรักษาที่คลินิกสูตินรีเวช โรงพยาบาลมหาราชนครเชียงใหม่ 214 ตัวอย่าง พบ E6/E7 mRNA ในเซลล์มะเร็งระยะไม่ลุกลาม ร้อยละ 15.38 และระยะลุกลาม ร้อยละ 72.92 ตรวจการแสดงออกของยีน E6 และ E7 ของเชื้อ HPV-16 และ HPV-18 พบ 18 ตัวอย่าง (N=21) ที่มีการยืนยันให้เห็นว่ายีน E6 และ E7 มีการแสดงออกอย่างสม่ำเสมอในเซลล์มะเร็ง ได้สรุปว่าการนำวิธีการตรวจหา HPV E6/E7 มาประยุกต์ใช้ในการทำนายการพัฒนาของระยะมะเร็ง นั้นควรรอให้มีการศึกษาในลักษณะของการศึกษาติดตามระยะยาวในกลุ่มตัวอย่างที่มากพอและต่อเนื่องก่อน

จิรานุวัฒน์ บาริศรีและคณะ (2552) ศึกษาการแสดงออกของ E6/E7 mRNA ของเชื้อไวรัส HPV ที่เป็นสาเหตุของการเกิดมะเร็งปากทวารหนักในกลุ่มชายที่มีเพศสัมพันธ์กับชาย (MSM) ที่ติดเชื้อและไม่ติดเชื้อเอชไอวีพบ E6/E7 mRNA positive 151ราย (ร้อยละ 61.9) ไม่พบ E6/E7 mRNA 93 ราย (ร้อยละ 38.1) โดยการแสดงออกของ E6/E7 mRNA ในเซลล์ปากทวารหนักมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ระหว่างกลุ่ม MSM ที่ติดเชื้อและไม่ติดเชื้อเอชไอวี (ร้อยละ 69.0 vs. ร้อยละ 45.1, $p < 0.05$) ซึ่งได้สรุปว่าควรมีการศึกษาถึงความสัมพันธ์ของการแสดงออกของ E6/E7 mRNA และการดำเนินโรคจนเป็น pre-cancer และ anal cancer เกิดระยะก่อนเป็นมะเร็งปากทวารหนัก และมะเร็งปากทวารหนักในกลุ่ม MSM ต่อไป เพื่อประเมินความเป็นไปได้ที่จะใช้วิธีดังกล่าวในวิธีการตรวจคัดกรอง anal HPV infection ที่เสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งปากทวารหนักในที่สุด

ผลการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าจำนวนร้อยละของการพบ HPV E6/E7 mRNA ในหญิงอาชีพบริการมีค่าสูงมากเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มอาสาสมัครอื่น ๆ แสดงให้เห็นถึง ความเสี่ยงในการติดเชื้อ HR HPV และการพัฒนาไปเป็นมะเร็งปากมดลูกที่สูงในกล่มนี้ ซึ่งควรจะมีการเฝ้าระวังและให้ความรู้ความเข้าใจในการป้องกันตนเอง จากการได้รับเชื้อต่อไปโดยเฉพาะการใช้ถุงยางอนามัยจะช่วยป้องกันการรับและแพร่เชื้อได้จากตารางที่ 4 พบว่าอาสาสมัครกลุ่มนี้มีการใช้ถุงยางอนามัยเพียงร้อยละ 82.9 เท่านั้น

อย่างไรก็ตามปัญหาของการศึกษาหา viral integration ถึงแม้พบได้ว่าภาวะดังกล่าวมีความสัมพันธ์กับภาวะความรุนแรงของโรคแต่ยังพบว่าข้อมูลที่ได้แตกต่างกันเนื่องมาจากยังไม่มี gold standard method และยังใช้วิธีการตรวจหลากหลายและข้อมูลที่ได้แตกต่างกันในเซลผิดปกติแต่ละกลุ่ม โดยเฉพาะเซลผิดปกติชนิด LSIL ซึ่งเป็นเซลที่อยู่ระหว่างการที่จะเปลี่ยงแปลง (precancerous lesion) ยังมีข้อมูลที่ศึกษาการมี viral integration น้อยมาก การศึกษา viral integration ในเซลผิดปกติในกลม LSIL นี้ น่าจะได้ข้อมูลบ่งบอกถึงจุดเริ่มต้นของเซลที่ติดเชื้อและเริ่มเกิดการเปลี่ยนแปลงได้ ซึ่งในการศึกษาวิจัยครั้งนี้พบว่า ในจำนวน อาสาสมัครทั้งสิ้น 175 ราย มีเซลผิดปกติชนิด LSIL เพียง 1 ราย

จากตารางที่ 1 ผลการศึกษาจากต่างประเทศแสดงให้เห็นว่ามีค่า positive predictive value

ของการวัดค่า HPV E6/E7 mRNA ในเซลสูงกว่าวิธีอื่น ๆ และมี specificity สูงถึง ร้อยละ 96 มี prognosis สูงกว่า HPV DNA

ดังนั้นควรจะมีการศึกษาเพิ่มเติมในการใช้วิธีตรวจหา HPV E6/E7 mRNA ในเซลขูดปากมดลูกในประเทศไทย จากผลการศึกษาครั้งนี้ควรจะมีการติดตาม ความผิดปกติของเซลที่จะพัฒนาไปเป็นมะเร็งปากมดลูกในสตรีที่ให้ผลบวกจาก HPV E6/E7 mRNA test เพื่อประเมินความเสี่ยงของเซลที่จะพัฒนาไปเป็นมะเร็งปากมดลูกในสตรีที่มี HPV E6/E7 mRNA สูงกว่าปกติต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. Ferley J, Bray F, Pisani P, Parkin DM: Cancer incidence mortality and prevalence worldwide. In:GLOBOCAN 2002, Version 2.0. IARC Cancer Base No.5. Lyon: IARC Press; 2004
2. Hamid NA, Brown C, Gaston K. The regulation of cell proliferation by the papillomavirus early proteins. Cell Mol Life Sci. 2009 May;66 (10):1700-17.
3. 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 Aug 24.
4. Moody CA, Laimins LA. Human papillomavirus oncoproteins: pathways to transformation. Nat Rev Cancer. 2010 Aug;10(8):550-60. Epub 2010 Jul 1.
5. Agency for Health Care Policy and Research. Evaluation of cervical cytology: evidence report/ technology assessment (no.5) Rockville, MD: AHCPR, January 1999. Online monograph:
6. Method for specifically detecting tumor cells and their precursors in uterine cervical smears by simultaneously measuring at least 2 different molecular markers. Copyright 2004-2011 .
7. Detection, screening and diagnosis of HPV-associated cancers. http://www.freepatentsonline .com/privacy.html. 10 March 2011.
8. พวงทอง ไกรพิบูลย์. มะเร็งวิวัฒน์. วารสารสมาคมรังสีรักษา และมะเร็งวิทยาแห่งประเทศไทย. ปีที่ 3 ฉบับ กรกฎาคม- ธันวาคม 2550. หน้า 17
9. Xavier Castellsagu?. Natural history and epidemiology of HPV infection and cervical cancer. Gynecologic Oncology 110 (2008) S4-S7.
10. Schiffman M, Kjaer SK, Chapter 2: Natural history of anogenital human papillomavirus infection and neoplasia J Natl Cancer Inst Monograph 31 2003;14-9
11. zur Hausen, H. Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. Nat Rev Cancer 2002, 2:342-50.
12. Irwin D. and Patterson B. Quantitative analysis of HPV E6/E7 mRNA expression in cells using flowcytometry (HPV ONCOTECT) improves positive predictive value for lesionson. Abstract from the clinical cytometry society 22nd annual meeting. Cytometry Part B (ClinicalCytometry) 72B:482-494 (2007)
13. Schwartz E, et al. "Structure and Transcription of the human papillomavirus sequences in cervical carcinoma cells. Nature 1985;314:111-114
14. Grundhoefer, D and B.K. Patterson 2001 Determination of liquid-based cervical cytology specimen adequacy using cellular light scater and flow cytometry. Cytometry 46: 340-344
15. Szarewski, et al, "Comparison of Predictors for High Grade Cervical Intraepithelial Neoplasia in Women with Abnormal Smears", CEBP 2008:17 (ii). Nov 2008
16. Ratnam, et al, "Clinical Correlation of APTIMA

HPV Assay in Comparison with hc2 Test in Cervical Cancer Screening" ISSTDR Poster July 2009

17. Dockter, et al,"Clinical Performance of APTIMA HPV Assay for Detection of E6/E7 mRNA from HR HPV Types in Liquid Based Cytology Specimens" ISSTDR Poster July 2009
18. 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 Jul; 45 Suppl 1: 555-61
19. Kottaridi C, et al J. Inf Dis 2009 in press
20. 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.
21. M?ckel 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.
22. Fiedler M. et al. High level HPV-16 E7 oncoprotein expression correlates with reduced pRb-levels in cervical biopsies. The FASEB Journal. Vol. 18 July 2004: 1120-22.
23. ปราณี ลี้ธนะชัย. การพัฒนาวิธีการตรวจหา mRNA ด้วยวิธีการเพิ่มปริมาณกรดนิวคลีอิกเพื่อใช้พยากรณ์ความเสี่ยงของการเกิดมะเร็งปากมดลูกในผู้ติดเชื้อ Human papillomavirus. Copyright @ 1999 National Center for Genetic Engineering and Biotechnology [BIOTEC]
24. จิรานุวัฒน์ บาริศรี และคณะ. การศึกษาการแสดงออกของ E6/E7 mRNA ของเชื้อไวรัส HPV ที่เป็นสาเหตุของการเกิด มะเร็งปากทวารหนักในกลุ่มชายที่มีเพศสัมพันธ์กับชายที่ติดเชื้อและไม่ติดเชื้อเอชไอวี. การสัมมนาระดับชาติเรื่องโรคเอดส์ ครั้งที่ 13, 29-31 มีนาคม 2554.