

การตรวจทางเซลล์วิทยาในช่องปาก: พื้นฐานสู่การนำไปใช้ทางคลินิก

ชัชพันธุ์ อุดมพัฒนาร

สาขาวิชาพยาธิวิทยาช่องปาก ภาควิชาศัลยศาสตร์และเวชศาสตร์ช่องปาก
คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

Received: May 13, 2020

Revised: June 16, 2020

Accepted: August 20, 2020

บทคัดย่อ

มะเร็งช่องปากและมะเร็งคอหอยหลังช่องปากถือเป็นมะเร็งที่พบได้บ่อยเป็นอันดับที่ 6 ของมะเร็งในทั่วโลก โดยมะเร็งช่องปากที่พบส่วนใหญ่จะเป็นชนิดสควamousเซลล์ คาร์ซิโนมาซึ่งพบประมาณร้อยละ 95 ของรอยโรคมะเร็งช่องปากทั้งหมด มะเร็งช่องปากที่ได้รับการวินิจฉัยในระยะสุดท้ายส่งผลกระทบต่อคุณภาพชีวิตของผู้ป่วยเป็นอย่างมาก เพราะมีความเกี่ยวข้องกับการใช้ชีวิตประจำวันของผู้ป่วย มะเร็งสควamousเซลล์ คาร์ซิโนมาในช่องปากอาจพัฒนามาจากรอยโรคซึ่งแสดงความผิดปกติเสี่ยงมะเร็งช่องปาก เช่น รอยโรคแผ่นคราบขาวหรือแดง เป็นต้น การตรวจวินิจฉัยรอยโรคมะเร็งหรือรอยโรคซึ่งแสดงความผิดปกติเสี่ยงมะเร็งช่องปากได้ตั้งแต่ในระยะแรกๆ จึงมีความสำคัญที่จะช่วยลดอัตราการตายของผู้ป่วยและสามารถเพิ่มคุณภาพชีวิตของผู้ป่วยได้ ปัจจุบันการตรวจทางเซลล์วิทยาในช่องปากถือเป็นหนึ่งในวิธีการตรวจเสริมทางคลินิกที่มีประสิทธิภาพ ด้วยมีข้อดีของวิธีดังกล่าวหลายประการ เช่น เป็นหัตถการที่ไม่สร้างความเจ็บปวดแก่ผู้ป่วย สามารถทำได้ง่าย โดยบุคลากรทางการแพทย์ทั่วไป ราคาไม่แพง และมีประสิทธิภาพในการวินิจฉัยแยกโรคได้สูง อย่างไรก็ตามพบว่าในประเทศไทยยังมีการศึกษาและการนำวิธีการตรวจเสริมชนิดเซลล์วิทยาในช่องปากมาใช้ในทางคลินิกน้อยมาก ดังนั้น บทความนี้ได้รวบรวมข้อมูลของการตรวจทางเซลล์วิทยาในช่องปากตั้งแต่ประวัติความเป็นมา เทคนิคพื้นฐาน แนวทางในการวินิจฉัย ประสิทธิภาพของวิธีการตรวจทางเซลล์วิทยาในช่องปาก และแนวทางการวิจัยในอนาคต เพื่อให้บุคลากรทางสาธารณสุขของไทยได้มีความเข้าใจเกี่ยวกับวิธีการตรวจเสริมชนิดนี้เพิ่มมากขึ้น และสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในทางคลินิกต่อไปได้ในอนาคต

คำสำคัญ: ช่องปาก การตรวจทางเซลล์วิทยา สควamousเซลล์ คาร์ซิโนมา รอยโรคซึ่งเสี่ยงต่อมะเร็งช่องปาก

ผู้สนับสนุนประสานงาน:

ชัชพันธุ์ อุดมพัฒนาร

สาขาวิชาพยาธิวิทยาช่องปาก

ภาควิชาศัลยศาสตร์และเวชศาสตร์ช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์

มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

114 ถนนสุขุมวิท ซอยสุขุมวิท 23

แขวงคลองเตยเหนือ เขตวัฒนา

กรุงเทพ 10110

อีเมล: chatchaphanudom@yahoo.com

Oral exfoliative cytology: Basic to clinical application

Chatchaphan Udompatanakorn

Division of Oral Pathology, Department of Oral Surgery and Oral Medicine,
Faculty of Dentistry, Srinakharinwirot University

Abstract

Oral and oropharyngeal cancer, grouped together, are the sixth most common cancer in the world. Oral squamous cell carcinoma (OSCC) accounts for more than 95% of all oral cancers. OSCCs diagnosed at a late stage often results in a diminished quality of life and impaired function. OSCC could be preceded by oral potentially malignant disorders (OPMDs), for example, leukoplakia and erythroplakia. Thus, an early diagnosis of OSCC and OPMD is an effective strategy to reduce mortality and morbidity rates and improve the quality of life of the patients. At present, oral exfoliative cytology is an effectively adjuvant diagnostic techniques, which is a minimally invasive method to collect cells from the suspected oral mucosa, a relatively simple and inexpensive technique, and provide high accuracy results in the diagnostic steps. However, in Thailand, using the oral exfoliative cytology technique has been limited. This review article describes historical development, basic techniques, diagnostic guidelines, efficacy, and the future direction of oral exfoliative cytology. The aim of this article is to clarify basic knowledge and the clinical application of oral exfoliative cytology to Thai health care personnel.

Keywords: oral cavity, exfoliative cytology, squamous cell carcinoma, oral potentially malignant disorders

Corresponding Author:

Chatchaphan Udompatanakorn

Division of Oral Pathology,
Department of Oral Surgery and Oral Medicine, Faculty of Dentistry,
Srinakharinwirot University
114 Sukhumvit Road, Sukhumvit 23,
Wattana, Bangkok, 10110 Thailand
E-mail: chatchaphanudom@yahoo.com

บทนำ

มะเร็งศีรษะและลำคอเป็นหนึ่งในโรคมะเร็งที่พบได้บ่อยทั่วโลก โดยหมายรวมถึงมะเร็งในอวัยวะต่างๆ ในช่องทางร่วมที่มีทั้งอาหารและอากาศผ่าน (upper aerodigestive tract) อันได้แก่ มะเร็งโพรงจมูกและหลังโพรงจมูก มะเร็งช่องปาก มะเร็งกล่องเสียง มะเร็งคอหอยหลังช่องปากและมะเร็งคอหอยส่วนล่าง^{1,2} สำหรับมะเร็งช่องปากนั้น จากรายงานขององค์การอนามัยโลก พบอุบัติการณ์ของมะเร็งช่องปากและมะเร็งคอหอยหลังช่องปากรวมกันเป็นอันดับที่หกของมะเร็งทั่วโลก³ และจากรายงานสถานการณ์ของโรคมะเร็งในประเทศไทย โดยสถาบันมะเร็งแห่งชาติ ใน พ.ศ. 2561 พบว่ามะเร็งช่องปากเป็นมะเร็งที่พบได้บ่อยเป็นอันดับที่ 5 ในเพศชาย และเป็นอันดับที่ 7 ในเพศหญิง⁴ โดยมีอัตราการอุบัติการณ์เฉลี่ยของโรคต่อปีปรับตามอายุต่อประชากร 100,000 คนอยู่ที่ 4.6 และ 3.2 คนในเพศชายและหญิงตามลำดับ⁵ โดยมะเร็งช่องปากที่พบส่วนใหญ่จะเป็นชนิดสความัสเซลล์ คาร์ซิโนมา (squamous cell carcinoma) ซึ่งพบประมาณร้อยละ 95 ของรอยโรคมะเร็งช่องปากทั้งหมด²⁻⁵

สความัสเซลล์ คาร์ซิโนมาในช่องปากอาจเปลี่ยนแปลงมาจากรอยโรคซึ่งแสดงความผิดปกติเสี่ยงมะเร็งช่องปาก (oral potentially malignant disorder) ซึ่งอาจเป็นรอยโรคแผ่นคราบขาว (leukoplakia) หรือแดง (erythroplakia)⁶ รอยโรคเหล่านี้อาจเปลี่ยนแปลงไปเป็นรอยโรคก่อนมะเร็ง (epithelial dysplasia) ได้หลายระดับ ทั้งระดับมีความผิดปกติของเยื่อผิวไม่รุนแรง (mild dysplasia) ปานกลาง (moderate dysplasia) หรือรุนแรง (severe dysplasia) ก่อนจะกลายเป็นมะเร็งชนิดสความัสเซลล์ คาร์ซิโนมาต่อไป^{3,6} โดยรอยโรคแผ่นคราบขาวนั้นมียอัตราการเปลี่ยนแปลงไปเป็นมะเร็งสความัสเซลล์ คาร์ซิโนมาในช่องปากอยู่ที่ร้อยละ 1 ถึง 2 แต่เมื่อเปลี่ยนเป็นรอยโรคก่อนมะเร็งแล้ว

จะมีอัตราการเปลี่ยนแปลงไปเป็นมะเร็งสความัสเซลล์ คาร์ซิโนมาในช่องปากถึงร้อยละ 12³ สิ่งสำคัญที่จะทำให้การรักษาประสบผลสำเร็จและเพิ่มอัตราการรอดชีพ 5 ปี (five-year survival rate) คือ การตรวจพบรอยโรคตั้งแต่ยังไม่เปลี่ยนเป็นมะเร็งหรือพบรอยโรคก่อนมะเร็ง (early diagnosis) ก่อนที่รอยโรคงกล่าวว่าจะพัฒนาลูกกลามกลายเป็นมะเร็งชนิดสความัสเซลล์ คาร์ซิโนมา และแพร่กระจายเข้าสู่ระบบน้ำเหลืองต่อไป⁷

ในปัจจุบันวิธีการมาตรฐานสำหรับการตรวจวินิจฉัยรอยโรคในช่องปากที่สงสัยว่าเป็นมะเร็งหรือรอยโรคก่อนมะเร็ง คือ การตัดชิ้นเนื้อต้องสงสัยนั้นเพื่อส่งตรวจทางจุลพยาธิวิทยา (biopsy)^{7,8} อย่างไรก็ตาม การตัดชิ้นเนื้อเพื่อส่งตรวจทางจุลพยาธิวิทยามีข้อจำกัดในบางประการ เช่น สุขภาพของผู้ป่วยไม่เหมาะสม (กรณีผู้ป่วยมีปัญหาจากภาวะเลือดออกผิดปกติ หรือมีภาวะความดันโลหิตสูงที่ควบคุมไม่ได้) ผู้ป่วยที่มีความกลัวในการตัดชิ้นเนื้อ เป็นต้น นอกจากนั้นวิธีการตัดชิ้นเนื้อนี้ยังเป็นหัตถการที่ส่งผลให้ผู้ป่วยได้รับความเจ็บปวด (invasive technique) และผู้ที่จะทำหัตถการตัดชิ้นเนื้อแก่คนไข้จำเป็นต้องได้รับการฝึกฝนจนมีความชำนาญ^{7,8} จากข้อจำกัดดังกล่าว คณะผู้วิจัยต่างๆ จึงได้พยายามศึกษาและพัฒนาวิธีการตรวจเสริมทางคลินิก (adjuvant diagnostic technique) เพื่อช่วยให้การตรวจวินิจฉัยรอยโรคที่น่าสงสัยในช่องปากมีประสิทธิภาพมากขึ้น ด้วยวิธีการที่ไม่ซับซ้อน และมีราคาไม่แพง มีวิธีการตรวจเสริมหลากหลายวิธีในการช่วยตรวจคัดกรองหารอยโรคก่อนมะเร็งหรือมะเร็งช่องปาก เช่น วิธีการย้อมสีในเนื้อเยื่อที่มีชีวิต (vital staining technique) ด้วยทูลูอิดินบลู (toluidine blue staining) ด้วยสารไอโอดีน (Lugol's Iodine) หรือด้วยเมทิลีนบลู (methylene blue staining) การใช้แสงฟลูออเรสเซนซ์ในตัว (autofluorescence) ด้วยเครื่องเวลสโคป (Velscope®) และวิธีการตรวจทางเซลล์วิทยา (oral exfoliative cytology)

technique) ด้วยการใช้แปรง หรือเป็นที่รู้จักกันในชื่อ brush biopsy^{8,9}

รากฐานของการตรวจทางเซลล์วิทยาใน รอยโรคที่น่าสงสัยในช่องปากมาจากการใช้วิธีการ ตรวจทางเซลล์วิทยาเพื่อคัดกรองรอยโรคก่อนเป็น มะเร็งปากมดลูกและมะเร็งปากมดลูกซึ่งถูกค้นพบโดย Papanicolaou นายแพทย์ชาวกรีซ ใน ค.ศ. 1943 และเป็นที่รู้จักกันในชื่อ Papanicolaou test หรือ Pap smear¹⁰ จากนั้นวิธีการตรวจทางเซลล์วิทยา ในการคัดกรองมะเร็งปากมดลูกและมะเร็งช่องปาก ได้ถูกพัฒนาควบคู่กันมาอย่างต่อเนื่องตลอดกว่า 70 ปี ที่ผ่านมามาจนถึงปัจจุบัน ทั้งในแง่อุปกรณ์การเก็บเซลล์ และเทคนิควิธีในการเตรียมเซลล์เพื่ออ่านผลทางเซลล์ วิทยา¹⁰⁻¹² อันจะได้นำกล่าวต่อไปในรายละเอียดด้านล่าง จากรายงานวิจัยของต่างประเทศระบุว่า ในปัจจุบัน วิธีการตรวจทางเซลล์วิทยาในช่องปากด้วยการใช้ แปรงนั้น ได้รับการยอมรับว่าเป็นหนึ่งในวิธีการตรวจ เสริมที่มีประสิทธิภาพโดยมีค่าความไว (sensitivity) และค่าความจำเพาะ (specificity) ที่ค่อนข้างสูง โดย อยู่ในช่วง 75-97% และ 76-100% ตามลำดับ แล้วแต่เทคนิคและวิธีการศึกษา และยังเป็นวิธีที่ง่าย ไม่รุกรานและสร้างความเจ็บปวดแก่ผู้ป่วย และสามารถแยกรอยโรคที่ไม่มีความผิดปกติ รอยโรคก่อน มะเร็ง และรอยโรคมะเร็งช่องปากชนิดสควamous เซลล์ คาร์ซิโนมาออกจากกันได้อย่างมีประสิทธิภาพใน กระบวนการตรวจคัดกรองเพื่อหามะเร็งระยะเริ่มต้น ทางศีรษะและลำคอ^{10,13} แต่อย่างไรก็ตามจากการ สืบค้นรายงานการศึกษาด้านการตรวจทางเซลล์วิทยา ในช่องปากของแพทย์และทันตแพทย์ในประเทศไทย จากฐานข้อมูล Thai Journals Online (ThaiJO) พบว่าในประเทศไทยยังมีการศึกษาและการนำวิธีการ ตรวจเสริมชนิดเซลล์วิทยาในช่องปากมาใช้ในทาง คลินิกน้อยมาก^{14,15} โดยเฉพาะอย่างยิ่งการศึกษา เกี่ยวกับความแม่นยำและความน่าเชื่อถือของวิธีการ ตรวจทางเซลล์วิทยาในช่องปาก เพื่อคัดกรองรอยโรค

ก่อนมะเร็ง และสควamous เซลล์ คาร์ซิโนมาในช่องปาก พบเพียงการศึกษาเดียวเท่านั้น¹⁴ ดังนั้น วัตถุประสงค์หลักของบทความปริทัศน์นี้คือ เพื่อรวบรวมข้อมูล ที่สำคัญเกี่ยวกับวิธีการตรวจเสริมชนิดเซลล์วิทยา ในช่องปาก ตั้งแต่ประวัติและวิวัฒนาการของวิธีการ ตรวจทางเซลล์วิทยาในช่องปาก เทคนิคพื้นฐานในการ ตรวจทางเซลล์วิทยาในช่องปาก แนวทางในการ วินิจฉัยโรค (diagnostic guideline) ทางเซลล์วิทยา ในช่องปาก การเปรียบเทียบคุณภาพของสิ่งเกลี่ยป้าย (smear) ค่าความไวและค่าความจำเพาะระหว่าง เทคนิคต่างๆ ในการตรวจทางเซลล์วิทยาในช่องปาก และทิศทางในอนาคตเกี่ยวกับงานวิจัยด้านเซลล์วิทยา ในช่องปาก เพื่อให้แพทย์ ทันตแพทย์ และบุคลากร ทางสาธารณสุขของไทยได้มีความเข้าใจเกี่ยวกับวิธีการ ตรวจเสริมชนิดนี้เพิ่มมากขึ้น และสามารถนำมา ประยุกต์ใช้ในทางคลินิกต่อไปในอนาคต

ประวัติและวิวัฒนาการของวิธีการตรวจทางเซลล์ วิทยาในช่องปาก

เทคนิคการตรวจทางเซลล์วิทยาได้เริ่ม พัฒนาขึ้นโดย Dr. George Nicholas Papanicolaou ใน ค.ศ. 1943 ซึ่งเทคนิคดังกล่าวได้ถูกนำมาใช้ในการ ตรวจคัดกรองหามะเร็งปากมดลูก และเป็นที่รู้จักกัน ในชื่อ Papanicolaou test หรือ Pap smear นอกจากนั้นยังได้บัญญัติระบบการวินิจฉัยแบบกลุ่ม ตัวเลขที่เรียกว่า Papanicolaou classification^{16,17} ซึ่งจะได้กล่าวถึงรายละเอียดต่อไปในหัวข้อแนวทาง ในการวินิจฉัยรอยโรค (diagnostic guideline) ทาง เซลล์วิทยาในช่องปาก หลังจากนั้นใน ค.ศ. 1951 Dr. Montgomery และ Haam ได้เริ่มตรวจสอบ ประสิทธิภาพของการตรวจทางเซลล์วิทยาในช่องปาก โดยศึกษาเปรียบเทียบระหว่างบริเวณรอยโรคมะเร็ง ในช่องปากและบริเวณเนื้อเยื่อช่องปากที่ปกติในผู้ป่วย คนเดียวกัน ซึ่งแม้จะพบผลทางเซลล์วิทยาที่แตกต่างกัน แต่คุณภาพและปริมาณของสิ่งเกลี่ยป้ายที่ได้ยังไม่ได้

เท่าที่ควร¹⁸ จากนั้นในช่วง ค.ศ. 1952 ถึง 1964 มีนักวิจัยหลายท่านได้พยายามทำการวิจัยเกี่ยวกับการเพิ่มคุณภาพและปริมาณของสิ่งเกลี่ยป้ายในหลากหลายวิธี เช่น การปรับเปลี่ยนสีย้อม (staining dyes)¹⁹ การพัฒนาแผ่นสไลด์แก้วสำหรับตรวจสอบสิ่งเกลี่ยป้าย²⁰ การทดสอบวิธีเซลล์วิทยาในช่องปากของสัตว์ทดลองที่ถูกกระตุ้นให้เป็นมะเร็งในช่องปาก^{21,22} และการศึกษาเปรียบเทียบอุปกรณ์ต่างๆ ที่ใช้เก็บสิ่งเกลี่ยป้ายในช่องปาก ระหว่างการใช้ไม้กดลิ้น (wooden tongue depressor) ใบพายแบบแบนทำจากโลหะ (metal spatula) ไม้พันสำลี (cotton-tipped applicator) และเครื่องมือขูดเนื้อปลายแหลม (sharp curette) อย่างไรก็ตาม ประสิทธิภาพของอุปกรณ์เหล่านี้ยังมีข้อจำกัดอยู่หลายประการ เช่น อุปกรณ์เหล่านี้อาจสร้างความเจ็บปวดแก่ผู้ป่วยเมื่อทำการเก็บตัวอย่างบนรอยโรคที่มีการอักเสบรุนแรง ความไม่ยืดหยุ่นของอุปกรณ์บางอย่าง ทำให้ไม่สะดวกในการเก็บสิ่งเกลี่ยป้ายในรอยโรคที่อยู่ลึกเข้าไปในช่องปาก และปัญหาที่สำคัญคือสิ่งเกลี่ยป้ายที่ถูกจัดเก็บบนอุปกรณ์เหล่านี้ มีคุณภาพและปริมาณไม่แน่นอน โดยเฉพาะอย่างยิ่งสิ่งเกลี่ยป้ายที่ได้มาจากการเก็บโดยไม้กดลิ้นและใบพายแบบแบนทำจากโลหะ เมื่อนำมาตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ เพื่อตรวจสอบลักษณะทางเซลล์วิทยาแล้วนั้น พบว่าเซลล์ในชั้นต่างๆ มากระจุกตัวรวมกัน ไม่กระจายตัวออก ทำให้ยากต่อการวินิจฉัย นอกจากนี้อาจยังเห็นลักษณะของนิวเคลียสและไซโตพลาสซึมของเซลล์ที่ผิดเพี้ยนไปในส่วนของสิ่งเกลี่ยป้ายที่ได้มาจากการเก็บโดยไม้พันสำลีนั้น พบว่าได้ปริมาณของเซลล์เยื่อผิวในช่องปากที่เก็บได้น้อยเกินไป ซึ่งน่าจะมาจากเซลล์เยื่อผิวช่องปากที่เก็บได้นั้นไม่ถูกส่งผ่านมายังแผ่นสไลด์แก้วได้เท่าที่ควร^{13,23,24}

ต่อมาในช่วงประมาณ ค.ศ. 1986 ถึง 1990 มีนักวิจัยบางกลุ่มได้คิดค้นแปรงสำหรับการตรวจทาง

เซลล์วิทยา (cytobrush) สำหรับการตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูกขึ้น และพบว่าการใช้แปรงสำหรับการตรวจทางเซลล์วิทยาในการเก็บตัวอย่างเซลล์เยื่อปากมดลูกที่นำส่งสัย เมื่อนำสิ่งเกลี่ยป้ายมาตรวจสอบทางกล้องจุลทรรศน์แล้ว พบว่าคุณภาพและปริมาณของเซลล์เยื่อปากมดลูกที่เก็บได้นั้นดีขึ้นกว่าการเก็บด้วยอุปกรณ์ใบพายแบนทำจากไม้ (wooden spatula) นอกจากนั้นการกระจายตัวของเซลล์เยื่อปากมดลูกบนสไลด์แก้ว และการพบเซลล์ที่อยู่ในชั้นลึกลงไป (deeper mucosal layers) ก็ดีขึ้นกว่าการเก็บด้วยอุปกรณ์ใบพายแบนทำจากไม้ เช่นกัน ทำให้สามารถเห็นเซลล์ปากมดลูกที่มีความผิดปกติระยะแรกๆ ได้ชัดเจนขึ้นโดยไม่ต้องใช้อุปกรณ์ที่รุกรานเนื้อเยื่อ^{25,26} หลังจากนั้นจึงได้เริ่มมีนักวิจัยกลุ่มต่างๆ ศึกษาถึงประสิทธิภาพของการใช้แปรงสำหรับการตรวจทางเซลล์วิทยาในการเก็บตัวอย่างเยื่อผิวในช่องปาก โดยทั้งคณะผู้วิจัยของ Dr. Ogden (ค.ศ. 1992) และ Dr. Jones (ค.ศ. 1994) ก็ได้พบว่า การใช้แปรงสำหรับการตรวจทางเซลล์วิทยาในการเก็บตัวอย่างเยื่อผิวในช่องปากนั้นมีข้อดีเหนือกว่าการใช้อุปกรณ์ไม้กดลิ้นในแง่ของปริมาณของเซลล์ที่เก็บได้ และการกระจายตัวของเซลล์บนแผ่นสไลด์แก้ว ทั้งยังเป็นอุปกรณ์ที่สะดวก ใช้งานง่ายและสร้างความเจ็บปวดต่อคนใช้น้อยเมื่อทำการเก็บตัวอย่างเซลล์เยื่อผิวในช่องปาก^{27,28} จึงอาจกล่าวได้ว่าการพัฒนาแปรงสำหรับการตรวจทางเซลล์วิทยาเพื่อนำมาตรวจทางเซลล์วิทยาในช่องปากนั้นทำให้ศาสตร์การวินิจฉัยด้วยเซลล์วิทยาในช่องปากได้รับความสนใจมากขึ้นจากแพทย์และทันตแพทย์ และได้นำไปสู่งานวิจัยทางด้านเซลล์วิทยาในช่องปากอีกหลากหลายด้าน¹¹ เช่น ใน ค.ศ. 1999 มีการพัฒนาระบบตรวจวิเคราะห์ทางเซลล์วิทยาในช่องปากด้วยผลิตภัณฑ์สำเร็จรูป OralCDx Brush TestTM โดย OralCDx Laboratories จากประเทศสหรัฐอเมริกา ซึ่งทางผู้ผลิตได้ออกแบบ

แปรงให้มีขนาดเล็ก เพื่อให้สามารถเข้าถึงบริเวณต่างๆ ในช่องปากได้สะดวก โดยทันตแพทย์จะทำการตรวจ รอยโรคที่น่าสงสัยในช่องปากโดยใช้แปรง OralCDx Brush ถูที่บริเวณรอยโรคแล้วป้ายเซลล์ที่เก็บได้ลงบน แผ่นสไลด์แก้ว แล้วจึงส่งกลับบริษัทเพื่อตรวจสอบ ลักษณะทางเซลล์วิทยาด้วยระบบคอมพิวเตอร์ ซึ่งจาก ผลการศึกษาพบว่าให้ค่าความไวและค่าความจำเพาะ ได้สูงถึงร้อยละ 92-100 และร้อยละ 93-94 ตามลำดับ นอกจากนี้การตรวจโดยใช้แปรง OralCDx Brush ยังแสดงหลักฐานเชิงประจักษ์ว่าสามารถเก็บตัวอย่างของ เซลล์เยื่อบุผิวในช่องปากได้ทุกชั้น รวมถึงชั้นเยื่อฐาน (basal layer) อีกด้วย^{10,11,29,30} หรือมีการพัฒนาวิธีการ เก็บเซลล์ใหม่ที่เรียกว่าวิธีการตรวจทางเซลล์วิทยา อิงของเหลว (liquid-based cytology) โดยใช้แปรง สำหรับการตรวจทางเซลล์วิทยาป้ายเก็บเซลล์ในบริเวณ ที่น่าสงสัยเช่นเดียวกับการวิธีดั้งเดิม (conventional cytological technique) แต่เมื่อป้ายแล้วจะเก็บเซลล์ ลงในหลอดที่มีสารสำหรับเก็บรักษาเซลล์ (preservative fluid) ก่อน แล้วนำไปผ่านกระบวนการเพื่อไม่ให้เซลล์ ซ้อนทับกัน^{13,14} ซึ่งจากการศึกษาของ Hayama และคณะใน ค.ศ. 2005 พบว่าระบบการเก็บเซลล์ ด้วยวิธีการตรวจทางเซลล์วิทยาอิงของเหลว มีข้อดี ที่เหนือกว่าวิธีดั้งเดิม คือ ทำให้การกระจายตัวของเซลล์ ที่เก็บได้ดีขึ้น ไม่จับตัวเป็นกลุ่มหนา และลดสิ่งปนเปื้อน ในองค์ประกอบของเลือด เช่น เซลล์อักเสบ ที่พื้นหลัง เมื่อตรวจสอบลักษณะทางเซลล์วิทยาในสไลด์แก้ว^{13,31} และจากการศึกษาของ Navone และคณะใน ค.ศ. 2007 พบว่าการใช้แปรงสำหรับการตรวจทาง เซลล์วิทยาร่วมกับการเก็บเซลล์ด้วยวิธีการตรวจทาง เซลล์วิทยาอิงของเหลว ในการตรวจคัดกรองมะเร็ง และรอยโรคก่อนมะเร็งในช่องปาก ให้ค่าความไว และค่าความจำเพาะได้สูงถึงร้อยละ 95 และ 99 ตามลำดับ³² วิธีจัดเก็บเซลล์ด้วยวิธีการตรวจทาง เซลล์วิทยาอิงของเหลว มีทั้งรูปแบบทำโดยเครื่องจักร

อัตโนมัติทั้งหมด (automated liquid-based cytology) เช่น ระบบ Thin Prep (Cytoc Corporation, Boxborough, MA) แต่เนื่องจากระบบอัตโนมัติ ดังกล่าวมีราคาค่อนข้างสูง จึงมีผู้ทำการวิจัยถึงวิธี ที่ใช้คนเข้ามาช่วยแทนเครื่องจักรอัตโนมัติ (manual liquid-based cytology)^{13,33,34} ซึ่งจะได้กล่าว ในรายละเอียดต่อไป

เทคนิคพื้นฐานในการตรวจทางเซลล์วิทยาในช่องปาก

เทคนิคพื้นฐานในการตรวจทางเซลล์วิทยา ในช่องปาก มี 2 เทคนิคหลักๆ เช่นเดียวกับการตรวจ ทางเซลล์วิทยาเพื่อคัดกรองมะเร็งปากมดลูก ได้แก่ วิธีตรวจทางเซลล์วิทยาดั้งเดิม และวิธีตรวจทาง เซลล์วิทยาอิงของเหลว¹³ มีขั้นตอนที่ต่างกัันดังนี้

1. วิธีตรวจทางเซลล์วิทยาดั้งเดิม

1.1 ขั้นตอนการเก็บเซลล์เพื่อส่งตรวจ

1.1.1 ให้ผู้ป่วยแปรงฟันและ บ้วนปากด้วยน้ำสะอาดก่อนเริ่มเก็บเซลล์

1.1.2 แพทย์ ทันตแพทย์หรือ เจ้าหน้าที่สาธารณสุขทำการเก็บเซลล์โดยใช้แปรง สำหรับตรวจทางเซลล์วิทยา ซึ่งมีหลากหลายผู้ผลิต ในท้องตลาด โดยใช้แปรงสำหรับตรวจทางเซลล์วิทยา ถูไปทางเดียวกันของรอยโรคที่สงสัยว่ามีพยาธิสภาพ จำนวน 10 รอบ ด้วยแรงปานกลาง

1.1.3 นำสิ่งส่งตรวจที่ได้มาป้ายลง บนสไลด์แก้วในทิศทางเดียว

2. วิธีการย้อม Papanicolaou staining

2.1 นำสไลด์แก้วที่มี Smear ที่ได้ในข้อ 1.1.3 มาทำการ fixed ด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ร้อยละ 95 เป็นเวลา 15-20 นาที

2.2 นำสไลด์ไปผ่านน้ำประปาสะอาดเป็น เวลา 3 นาที

2.3 นำสไลด์มาแช่ในสี Harris's hematoxylin หรือ Mayer's hematoxylin เป็นเวลา 1-3 นาที เป็นการย้อมเพื่อแสดงลักษณะรายละเอียดของนิวเคลียส ซึ่งจะติดสีน้ำเงินเข้ม

2.4 นำสไลด์ไปผ่านน้ำประปาสะอาดเป็นเวลา 3 นาที

2.5 นำสไลด์มาจุ่มในเอทิลแอลกอฮอล์ร้อยละ 95 ประมาณ 10 ครั้ง เพื่อขจัดน้ำออก

2.6 นำสไลด์มาแช่ในสี Orange G6 (OG-6) เป็นเวลา 1 นาที 30 วินาที เพื่อย้อมไซโตพลาสซึม โดยเซลล์เยื่อบุช่องปากที่มีเคราตินในปริมาณสูง (high keratin cells) จะติดสีส้ม

2.7 นำสไลด์มาจุ่มในเอทิลแอลกอฮอล์ร้อยละ 95 ประมาณ 10 ครั้ง

2.8 นำสไลด์มาแช่ในสี Eosin Azure 65 (EA-65) หรือ Eosin Azure 50 (EA-50) เป็นเวลา 3 นาที 30 วินาที โดยสีชนิดนี้จะย้อมไซโตพลาสซึมเป็น 2 สี คือ สีเขียวอมฟ้า (cyanophilic) จะติดในเซลล์เยื่อบุผิวช่องปากในชั้นเนื้อฐานและเซลล์ในชั้นกลาง (parabasal and intermediate cells) และสีชมพู (eosinophilic) จะติดในเซลล์เยื่อบุผิวช่องปากชั้นผิว (superficial cells)

2.9 นำสไลด์มาจุ่มในเอทิลแอลกอฮอล์ร้อยละ 95 ประมาณ 10 ครั้งในโถที่ 1 และโถที่ 2

2.10 นำสไลด์มาแช่ในเอทิลแอลกอฮอล์ร้อยละ 99-100 ประมาณ 1 นาที

2.11 นำสไลด์มาแช่ในโซลินในโถที่ 1 และโถที่ 2 โถละ 2 นาที

2.12 ปิดทับสิ่งเคลือบป้ายที่ได้ด้วยแผ่นแก้วบาง (cover slip) และนำไปอ่านผลทางเซลล์วิทยา

3. วิธีตรวจทางเซลล์วิทยาของเหลว ในที่นี้ จะกล่าวถึงวิธีที่เตรียมด้วยมือ เรียกว่า Manual liquid-based cytology^{14,34,36}

3.1 ขั้นตอนการเก็บเซลล์เพื่อส่งตรวจ

3.1.1 วิธีการใช้แปรงสำหรับตรวจทางเซลล์วิทยาทำเช่นเดียวกับวิธีดั้งเดิม หลังจากใช้แปรงสำหรับตรวจทางเซลล์วิทยาบริเวณรอยโรคแล้ว ให้แช่แปรงหรือถอดหัวแปรงมาใส่ไว้ในขวดที่มีสารสำหรับเก็บรักษาเซลล์ ซึ่งมีหลายผู้ผลิตในท้องตลาด

3.1.2 นำขวดที่เก็บเซลล์ในข้อ 2.1.1 มาวางบนแท่นเขย่าเป็นเวลา 20 วินาที เพื่อให้เซลล์หลุดออกจากหัวแปรง และเทลงในหลอดทดลอง

3.1.3 นำหลอดทดลองใส่ลงในเครื่องปั่นตกตะกอน (centrifugation) แล้วปั่นด้วยค่า 3,000 rpm ประมาณ 10 นาที จะพบเห็นเซลล์ที่ได้ตกตะกอนอยู่ที่ก้นหลอดทดลอง ให้เทน้ำในหลอดทดลองทิ้ง เหลือไว้เฉพาะเซลล์ที่ติดอยู่ก้นหลอดทดลอง

3.1.4 เติมน้ำละลาย cellular base solution ประมาณ 200 ไมโครลิตรลงในหลอดทดลอง สารละลายดังกล่าวจะเข้าไปเคลือบเซลล์ ทำให้เซลล์มีการจัดเรียงตัวห่างกัน เพื่อป้องกันการซ้อนทับของเซลล์ เมื่อทำการตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์

3.1.6 นำหลอดทดลองมาวางบนแท่นเขย่า แล้วทำการเก็บสารละลายที่มีเซลล์เยื่อบุผิวที่ต้องการตรวจสอบประมาณ 50 ไมโครลิตร แล้วหยดลงบนสไลด์แก้ว

3.1.7 นำแผ่นสไลด์แก้วย้อม Papanicolaou staining เช่นเดียวกับวิธีดั้งเดิม

3.1.8 ปิดทับสิ่งเคลือบป้ายที่ได้ด้วยแผ่นแก้วบางและนำไปอ่านผลทางเซลล์วิทยา

แนวทางในการวินิจฉัยโรคทางเซลล์วิทยาในช่องปาก (diagnostic guideline for oral cytology)

ในปัจจุบันยังไม่มีข้อกำหนดกลางที่เป็นสากลสำหรับแนวทางในการวินิจฉัยโรคทางเซลล์วิทยา

ในช่องปาก³⁶ ดังนั้น ในแต่ละประเทศจึงยังใช้แนวทางที่แตกต่างกันไป ดังที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้นว่า รากฐานของการตรวจทางเซลล์วิทยาในช่องปากนั้นมาจากการตรวจทางเซลล์วิทยาเพื่อคัดกรองรอยโรคก่อนเป็นมะเร็งปากมดลูกและมะเร็งปากมดลูกซึ่งถูกค้นพบโดย Dr. Papanicolaou ดังนั้น การวินิจฉัยโรคทางเซลล์วิทยาในช่องปากในช่วงแรกนั้น จึงได้ใช้ระบบ Papanicolaou system^{10,16,17} ซึ่งได้แบ่งรอยโรคออกเป็น 5 ประเภท (Class I ถึง Class V) เรียงจากปกติไปสู่ภาวะมะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์คาร์ซิโนมา ต่อมาเมื่อนักวิจัยบางกลุ่มได้ใช้ระบบการวินิจฉัยแบบใหม่เพื่อลดความยุ่งยากและความผิดพลาดในการวินิจฉัยลง โดยจำแนกเป็นตัวอย่างสิ่งเกลี่ยป้ายที่ได้ไม่เพียงพอต่อการวินิจฉัย (unsatisfactory sample) และสิ่งเกลี่ยป้ายที่ได้สามารถนำมาใช้ในการวินิจฉัยโรคได้ (satisfactory sample) โดยในสิ่งเกลี่ยป้ายที่สามารถนำมาใช้ในการวินิจฉัยโรคได้นี้ จะแบ่งเกณฑ์การวินิจฉัยออกเป็น ไม่พบความผิดปกติ (negative) สงสัยหรือสับสนเสี่ยงว่าจะผิดปกติ (suspicious) และพบความผิดปกติชัดเจนว่าเป็นมะเร็ง (positive for malignancy)³⁷ ซึ่งระบบการวินิจฉัยนี้ยังมีการนำมาใช้จนถึงปัจจุบันในบางประเทศ หลังจากนั้นใน ค.ศ. 2001 ระบบการรายงานผลตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูกโดยใช้เซลล์วิทยาได้ถูกพัฒนาอย่างสูงสุดจากคณะกรรมการและผู้เข้าร่วมประชุมจากองค์กรวิชาชีพที่เกี่ยวข้องทั่วโลก เรียกว่า ระบบเบเทสดา ค.ศ. 2001 (The 2001 Bethesda System)³⁸ โดยถือว่าระบบดังกล่าวเป็นระบบกลางที่ใช้เป็นแบบแผนเดียวกันทั่วโลกในการวินิจฉัยทางเซลล์วิทยาของการตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูก หลังจากนั้นจึงเริ่มมีผู้วิจัยนำเอาระบบเบเทสดา ค.ศ. 2001 มาปรับเปลี่ยนและประยุกต์ให้สามารถใช้ในการตรวจคัดกรองมะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์ คาร์ซิโนมาได้โดยจำแนกเป็นตัวอย่างสิ่งเกลี่ยป้ายที่ได้ไม่เพียงพอ

ต่อการวินิจฉัย (inadequate for evaluation) และสิ่งเกลี่ยป้ายที่ได้สามารถนำมาใช้ในการวินิจฉัยโรคได้ (adequate for evaluation) โดยในสิ่งเกลี่ยป้ายที่สามารถนำมาใช้ในการวินิจฉัยโรคได้นี้ จะแบ่งเกณฑ์การวินิจฉัยออกเป็น ไม่พบความผิดปกติ (normal) รอยโรคอักเสบ (reactive lesion) มีความผิดปกติของเยื่อช่องปากชั้นเริ่มต้น (low grade squamous intraepithelial lesion หรือ LSIL) สงสัยว่าจะมีความผิดปกติของเยื่อช่องปากอย่างรุนแรง (atypical-Probably high grade) มีความผิดปกติของเยื่อช่องปากอย่างรุนแรง (high grade squamous intraepithelial lesion หรือ HSIL) และ เป็นมะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์ คาร์ซิโนมา (invasive squamous cell carcinoma)³⁹ ระบบการวินิจฉัยแบบนี้ยังมีการใช้ในบางประเทศและบางการศึกษาวิจัย ล่าสุดใน ค.ศ. 2015 สมาคมการตรวจวินิจฉัยทางเซลล์วิทยาทางคลินิกในประเทศญี่ปุ่น (Japanese Society of Clinical Cytology) ได้มีการประชุมและออกแนวทางการวินิจฉัยทางเซลล์วิทยาในช่องปากเพื่อใช้ในประเทศญี่ปุ่น โดยการนำเอาระบบเบเทสดา ค.ศ. 2001 มาประยุกต์เช่นกัน และได้แบ่งเกณฑ์การวินิจฉัยเป็น 6 เกณฑ์หลัก ได้แก่ ไม่พบความผิดปกติ (negative for intraepithelial lesion and malignancy หรือ NILM) มีความผิดปกติของเยื่อช่องปากชั้นเริ่มต้น (low grade squamous intraepithelial lesion หรือ LSIL) มีความผิดปกติของเยื่อช่องปากอย่างรุนแรง (high grade squamous intraepithelial lesion หรือ HSIL) เป็นมะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์ คาร์ซิโนมา (squamous cell carcinoma) เป็นมะเร็งชนิดอื่นๆ (other malignancy) และ ไม่สามารถระบุได้ว่าเป็นเนื้องอกหรือไม่ (indefinite for neoplasia or non-neoplasia)^{40,41} ซึ่งเป็นแนวทางการวินิจฉัยทางเซลล์วิทยาในช่องปากล่าสุดเท่าที่มีการเผยแพร่ออกมา และ

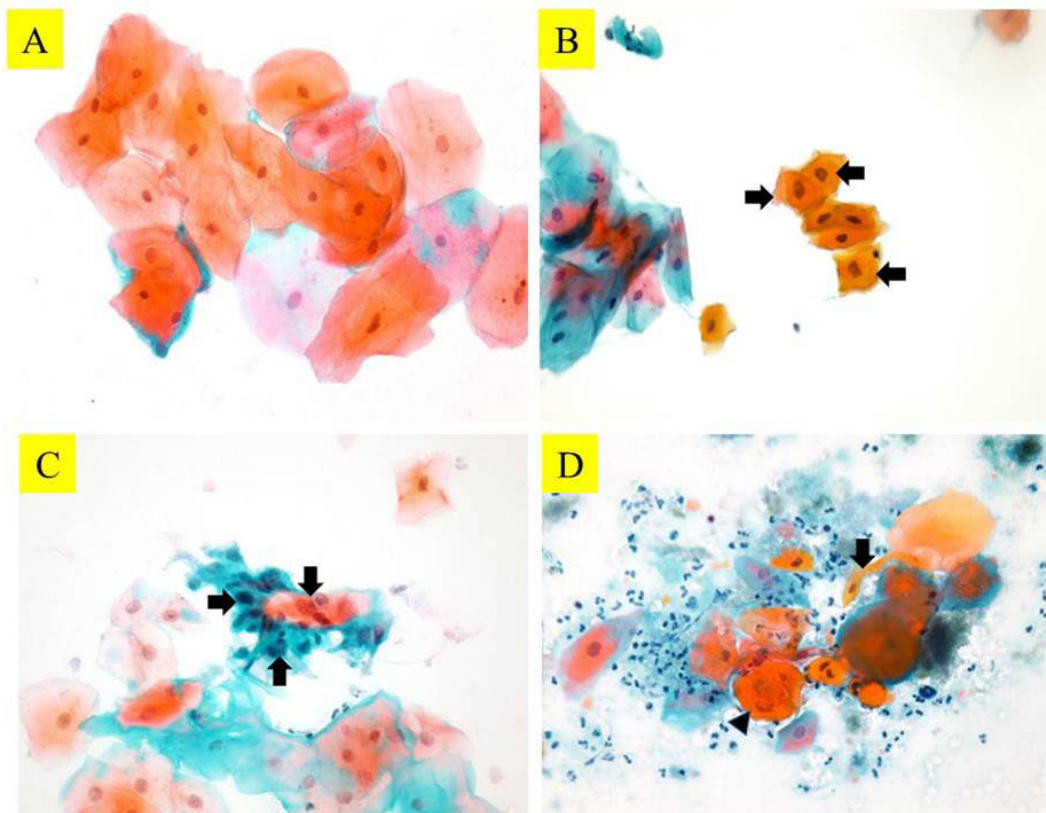
ได้เริ่มมีการใช้แนวทางนี้ในงานวิจัยทางเซลล์วิทยาในช่องปากในปัจจุบัน การเปรียบเทียบแนวทางการตรวจวินิจฉัยทางเซลล์วิทยาช่องปากที่ได้กล่าวมาข้างต้นได้ถูกสรุปไว้ในตารางที่ 1 และตัวอย่างภาพ

การตรวจวินิจฉัยทางเซลล์วิทยาในช่องปาก โดยใช้เกณฑ์ของ Japanese Society of Clinical Cytology ค.ศ. 2015 ในการวินิจฉัยได้แสดงไว้ในรูปที่ 1 (เทคนิคดั้งเดิม)

ตารางที่ 1 การเปรียบเทียบแนวทางการตรวจวินิจฉัยทางเซลล์วิทยาในช่องปากจากคณะผู้วิจัยต่างๆ

Histopathological diagnosis	Papanicolaou system ^{10,16,17}	Feldman PS, et al.1983 ³⁷	Afrohgeh A, et al. 2012 ³⁹	Japanese Society of Clinical Cytology, 2015 ⁴⁰
Inadequate	Inadequate	Inadequate	Inadequate	Inadequate
Adequate				
Normal, Inflammation, Hyperkeratosis	Class I, Class II	Negative	Normal, reactive lesion	NILM
Mild to moderate epithelial dysplasia	Class III	Suspicious	LSIL	LSIL
Severe dysplasia, Carcinoma in situ	Class IV	Suspicious	Atypical-probably high grade, HSIL	HSIL
Oral squamous cell carcinoma	Class V	Positive	Oral squamous cell carcinoma	Oral squamous cell carcinoma

NILM, Negative for intraepithelial lesion and malignancy; LSIL, Low grade squamous intraepithelial lesion; HSIL, High grade squamous intraepithelial lesion



รูปที่ 1 ตัวอย่างภาพการตรวจทางเซลล์วิทยาในช่องปากด้วยวิธีดั้งเดิม (conventional cytology) และอ่านผลโดยใช้เกณฑ์การวินิจฉัยของ Japanese Society of Clinical Cytology ค.ศ. 2015 (original magnification X400) (เซลล์ที่ติดสีเขียวอมฟ้า คือ เซลล์เยื่อบุผิวช่องปากในชั้นเนื้อฐานและเซลล์ในชั้นกลาง ส่วนเซลล์ที่ติดสีแดง ชมพู หรือส้ม คือ เซลล์เยื่อบุผิวช่องปากชั้นผิว)

(A) ผลการวินิจฉัยเป็นไม่พบความผิดปกติ (negative for intraepithelial lesion and malignancy) (NILM)
 (B) ผลการวินิจฉัยเป็นความผิดปกติเยื่อบุผิวช่องปากขั้นเริ่มต้น (low grade squamous intraepithelial lesion) (LSIL) จะสังเกตว่าขนาดของนิวเคลียสใหญ่ขึ้นกว่าเซลล์ปกติในภาพ A ทำให้เซลล์มีอัตราส่วนของนิวเคลียสต่อไซโตพลาสซึมมากขึ้น (ลูกศร) (C) และ (D) ผลการวินิจฉัยเป็น Oral squamous cell carcinoma จะสังเกตว่าเซลล์มีอัตราส่วนของนิวเคลียสต่อไซโตพลาสซึมมากขึ้นอย่างมาก นิวเคลียสติดสีเข้มชัดจนแสดงถึงโครมาตินในนิวเคลียสที่มีอยู่อย่างหนาแน่น (ลูกศรภาพ C) ในภาพ D ลูกศรแสดงเซลล์เยื่อบุผิวชั้นผิวที่มีเคราตินปริมาณสูง มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์ไป โดยเปลี่ยนจากรูปร่างกลมหรือเหลี่ยมเป็นเซลล์รูปร่างกระสวยที่มีไซโตพลาสซึมยืดยาวผิดปกติ (spindled keratotic cells with long cytoplasmic projections) ซึ่งเป็นลักษณะที่พบได้ในภาพทางเซลล์วิทยาของ Oral squamous cell carcinoma ส่วนหัวลูกศรแสดงเคราตินเพิร์ล (Keratin pearl) ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของสความัสเซลล์ คาร์ซิโนมาชนิด well differentiated โดยรวมภาพจากการตรวจทางเซลล์วิทยาในช่องปากด้วยวิธีดั้งเดิมจะมีการซ้อนทับกันของเซลล์บ้าง

แหล่งที่มา : ได้รับความอนุเคราะห์รูปภาพจาก Associate professor dr. Naomi Yada, Kyushu Dental University, Japan

การเปรียบเทียบคุณภาพของ Smear ค่าความไว และค่าความจำเพาะระหว่างการตรวจทางเซลล์วิทยาในช่องปากด้วยวิธีดั้งเดิม (conventional cytology) และวิธีอิงของเหลว (liquid-based cytology)

คณะผู้วิจัยหลายคณะได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบคุณภาพของสิ่งเกลี่ยป้ายระหว่างวิธีการตรวจทางเซลล์วิทยาในช่องปากด้วยวิธีดั้งเดิมและวิธีอิงของเหลว โดยทุกการศึกษาพบว่าวิธีอิงของเหลวนั้นจะได้คุณภาพของสิ่งเกลี่ยป้ายที่ดีกว่าวิธีดั้งเดิมทั้งในแง่ของปริมาณเซลล์เยื่อช่องปากที่เก็บได้ (yield of cells) การกระจายตัวของเซลล์ในสไลด์แก้ว (cellular distribution) การซ้อนทับของเซลล์ที่น้อยลง (less cellular overlapping) การพบเห็นลักษณะของเซลล์ที่ผิดเพี้ยนไปลดลง (less cellular disformation) พบเห็นเศษเซลล์และโคโลนีของแบคทีเรียในสไลด์แก้วลดลง (less debris and microbial colony) และสิ่งปนเปื้อนในองค์ประกอบของเลือด เช่น เซลล์อีโอซิโนฟิลที่พื้นหลังลดลง (more clear background)⁴²⁻⁴⁷ ในแง่ของค่าความไวและค่าความจำเพาะของวิธีดั้งเดิมมีค่าอยู่ในช่วง 79-97% และ 95-99%^{32,48} ส่วนค่าความไวและค่าความจำเพาะของวิธีอิงของเหลวมีค่าอยู่ในช่วง 88-96% และ 76-100% ตามลำดับ^{32,49-51} ซึ่งค่าความไวและค่าความจำเพาะที่แปรผันไปในแต่ละการศึกษานั้น มีสาเหตุมาจากทั้งจำนวนและวิธีการคัดเลือกกลุ่มตัวอย่างที่จะทำการตรวจทางเซลล์วิทยาในช่องปากแตกต่างกัน ตลอดจนเกณฑ์และแนวทางในการตรวจวินิจฉัยทางเซลล์วิทยาในช่องปากที่แตกต่างกันไปในแต่ละการศึกษา ซึ่งยากต่อการนำมาเปรียบเทียบกัน อย่างไรก็ตาม จากการศึกษาของ Remmerbach และคณะใน ค.ศ. 2017 ซึ่งได้ทำการเปรียบเทียบค่าความไวและค่าความจำเพาะของทั้ง 2 วิธีในการศึกษาเดียวกันพบว่าค่าความไวของวิธีอิงของเหลว สูงกว่าวิธีดั้งเดิมเล็กน้อย (97.5% และ 96.3% ตามลำดับ)

ในขณะที่ค่าความจำเพาะของวิธีอิงของเหลวต่ำกว่าวิธีดั้งเดิม (68.8% และ 90.6% ตามลำดับ)⁵² ส่วนการศึกษาของ Navone และคณะในปี ค.ศ. 2007 พบว่าค่าความไวของวิธีอิงของเหลวสูงกว่าวิธีดั้งเดิมเช่นกัน (95.1% และ 85.7% ตามลำดับ) ในขณะที่ค่าความจำเพาะของวิธีอิงของเหลวสูงกว่าวิธีดั้งเดิมเล็กน้อย (99% และ 95.9% ตามลำดับ)³² ส่วนการศึกษาของ Osaka และคณะในปี 2019 พบว่าค่าความถูกต้องในการวินิจฉัยมะเร็งสควาโมสเซลล์ คาร์ซิโนมาในช่องปากในวิธีอิงของเหลว มีค่าสูงกว่าวิธีดั้งเดิม (79.3% และ 54.8% ตามลำดับ)⁵³ จะเห็นได้ว่าค่าความไวและค่าความจำเพาะของทั้ง 2 วิธีในแต่ละการศึกษานั้นยังมีความแตกต่างกันเล็กน้อยแล้วแต่การศึกษา ดังนั้น การศึกษาถึงค่าความไวและค่าความจำเพาะ ทั้งวิธีดั้งเดิมและวิธีอิงของเหลวของการตรวจทางเซลล์วิทยาในช่องปากจึงยังควรที่จะมีการศึกษาเพิ่มเติมให้มากขึ้น ทั้งในแง่การเพิ่มกลุ่มตัวอย่างและการพิจารณาถึงเกณฑ์และแนวทางในการตรวจวินิจฉัยทางเซลล์วิทยาในช่องปากที่เหมาะสม

ทิศทางในอนาคตเกี่ยวกับงานวิจัยด้านเซลล์วิทยาในช่องปาก

ในปัจจุบันการศึกษาทางด้านเซลล์วิทยาในช่องปากได้พัฒนาไปอย่างมาก โดยเริ่มมีการตรวจในระดับโมเลกุลในการศึกษาต่างๆ เช่น การทำ DNA-image cytometry⁵⁴ จากการเก็บเซลล์ด้วยวิธีดั้งเดิมหรือวิธีอิงของเหลวซึ่งเป็นการศึกษาถึงระดับพลีอยดี (ploidy status) ของ DNA เพื่อที่จะตรวจสอบความผิดปกติของโรคในเบื้องต้น เช่น ในรอยโรคก่อนมะเร็งในช่องปาก เป็นต้น การศึกษาทางอิมมูโนพาทวิทยา (immunocytochemistry) ในช่องปากโดยใช้เซลล์ที่เก็บเซลล์ด้วยวิธีดั้งเดิมหรือวิธีอิงของเหลว⁵⁵ เพื่อตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของรูปแบบการแสดงออกและระดับโปรตีนบางชนิด เช่น โปรตีน E-cadherin ซึ่งเป็นโปรตีนที่ทำหน้าที่ยึดเกาะระหว่างเซลล์เยื่อบุผิว

โปรตีน CD44 โปรตีน Podoplanin เป็นต้น การใช้ปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (PCR) เพื่อตรวจหาเชื้อไวรัสชนิด Human papilloma virus⁵⁶ โดยใช้เซลล์ที่เก็บได้จากการตรวจทางเซลล์วิทยา และการศึกษาในระดับโมเลกุลประเภทอื่นๆ อีกมากมาย โดยใช้พื้นฐานของการทำตรวจทางเซลล์วิทยาด้วยวิธีดั้งเดิมหรือวิธีอิงของเหลวด้วยการใช้แปรงสำหรับการตรวจทางเซลล์วิทยา เพื่อเฝ้าระวังรอยโรคก่อนมะเร็งและมะเร็งในช่องปากชนิดสความัสเซลล์ คาร์ซิโนมา^{14,55}

สรุปผล

โดยสรุปการตรวจวินิจฉัยทางเซลล์วิทยาด้วยวิธีดั้งเดิมและวิธีอิงของเหลวจัดเป็นหนึ่งในวิธีการตรวจเสริมทางคลินิกที่มีประสิทธิภาพในการคัดกรองรอยโรคก่อนมะเร็ง และมะเร็งช่องปากชนิดสความัสเซลล์ คาร์ซิโนมา ด้วยข้อดีต่างๆ เช่น เป็นวิธีที่ทำได้ง่าย โดยแพทย์หรือเจ้าหน้าที่สาธารณสุข ไม่รุกรานเนื้อเยื่อของผู้ป่วย ราคาไม่แพง โดยมีค่าความไวและค่าความจำเพาะอยู่ในระดับที่ดี อย่างไรก็ตาม การศึกษาเกี่ยวกับค่าความไวและค่าความจำเพาะของวิธีการตรวจทางเซลล์วิทยาในช่องปากของทั้งสองวิธียังควรที่จะมีการศึกษาเพิ่มเติม ตลอดจนศึกษาถึงหลักเกณฑ์ในการวินิจฉัยรอยโรคด้วยการตรวจทางเซลล์วิทยาในช่องปากที่เหมาะสมที่จะนำมาใช้ในประเทศไทยต่อไป อย่างไรก็ตาม แม้ว่าวิธีการตรวจทางเซลล์วิทยาจะมีข้อดีต่างๆ มากมาย วิธีการตรวจดังกล่าวยังมีข้อจำกัดบางประการที่ทำให้วิธีดังกล่าวไม่ได้แพร่หลายเท่าที่ควร เช่น ข้อจำกัดในเรื่องการแปลผลที่ค่อนข้างยากและอาจสับสนในบางเคสเมื่อเซลล์มีการซ้อนทับกัน ซึ่งอาจต้องใช้ผู้เชี่ยวชาญในการอ่านผลทางเซลล์วิทยาในการวิเคราะห์ผล เป็นต้น^{13,41}

กิตติกรรมประกาศ

ผู้เขียนขอขอบคุณ Associate Professor Dr. Naomi Yada, Kyushu Dental University,

Japan ที่ได้อนุเคราะห์ภาพการตรวจทางเซลล์วิทยาแบบดั้งเดิมเพื่อนำมาประกอบการอธิบายในบทความนี้ และขอขอบคุณ รศ.ทพ.ดร.สรสสันท์ รังสิยานนท์ ภาควิชาศัลยศาสตร์และเวชศาสตร์ช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ สำหรับการให้คำแนะนำในการเขียนบทความ

เอกสารอ้างอิง

1. Rettig EM, D'Souza G. Epidemiology of head and neck cancer. Surg Oncol Clin N AM 2015;24:379-96.
2. Tangjaturonrasme N, Vatanasapt P, Bychkov A. Epidemiology of head and neck cancer in Thailand. Asia-Pac J Clin Oncol 2018;14:16-22.
3. El-Naggar AK, Chan JKC, Grandis JR, et al, editors. WHO classification of head and neck tumours. 4th ed. Lyon: IARC; 2017.
4. Hospital-based cancer registry 2018 [internet]. Bangkok (Thailand): New Thammada press Co., Ltd.; 2018. The most common top 10 cancer of male and female; [cited 2020 Apr 6]; p. 2-4. Available from: http://www.nci.go.th/th/File_download/Nci%20Cancer%20Registry/Hospital%20Based_2018.pdf.
5. Imsamran W, Chaiwerawattana A, Wiangnon S, et al. Cancer in Thailand Vol. VIII, 2010-2012. Bangkok: New Thammada press Co., Ltd.; 2015.
6. Sangkaew P, Ittichaicharoen J, Iamaroon A, et al. Oral potentially malignant disorders: clinical manifestations and malignant transformation. CM Dent J 2019; 40:23-42. (in Thai)

7. Worasuttayangkurn W, Khovidhunkit SP, Rungsiyanont S. Comparative study on the effectiveness of Velscope and Toluidine blue for oral premalignant lesion screening. *SWU Dent J* 2018;11: 24-42. (in Thai)
8. Chitturi RT, Rathinam E, Santo R, et al. The role of exfoliative cytology and molecular biology in oral potentially malignant disorders. *J Health Res Rev* 2017;4:43-6.
9. Rungsiyanont S, Khovidhunkit SP, Talungchit S, et al. A comparative study of the effectiveness of clinical adjunctive techniques on the diagnosis of potentially malignant disorders and oral cancers. *SWU Dent J* 2015;8:49-67. (in Thai)
10. Mehrotra R, Hullmann M, Smeets R, et al. Oral cytology revisited. *J Oral Pathol Med* 2009;38:161-6.
11. Mehrotra R. The role of cytology in oral lesions: a review of recent improvements. *Diagn Cytopathol* 2012;40:73-83.
12. Shingleton HM, Patrick RL, Johnston WW, et al. The current status of the Papanicolaou smear. *CA Cancer J Clin* 1995;45:305-20.
13. Varma K, Hille J, Afrogheh A, et al. Oral cytology techniques In: Mehrotra R, editor. *Oral cytology a concise guide*. 1st ed. USA: Springer; 2013. p. 11-26.
14. Roongpuvapaht B, Bhongmakapat T, Pongtippan A. Sensitivity and specificity of liquid-based preparation brush cytology in cancer of oral cavity and oropharynx [master's thesis]. [Bangkok]: Mahidol University; 2009.
15. Jantabenjapat J. Accuracy of fine needle aspiration cytology in diagnosis of salivary gland mass. *Region 4-5 Medical Journal* 2017;36:277-90.
16. Papanicolaou GN, Traut HF. Diagnosis of uterine cancer by the vaginal smear. *Yale J Biol Med* 1943;15:924.
17. Papanicolaou GN. A survey of the actualities and potentialities of exfoliative cytology in cancer diagnosis. *Ann Intern Med* 1949;31:661-74.
18. Montgomery PW, Haam von E. A study of the exfoliative cytology in patients with carcinoma of the oral mucosa. *J Dent Res* 1951;30:308-13.
19. Cawson RA. The cytological diagnosis of oral cancer. *Br Dent J* 1960;19:294-8.
20. King OH. Intraoral exfoliative cytology technics. *Acta Cytol* 1963;7:327-9.
21. Salley JJ. Experimental carcinogenesis in the cheek pouch of the Syrian hamster. *J Dent Res* 1954;33:253-62.
22. Stahl SS. Exfoliative cytology in an experimentally induced carcinoma of the hamster cheek pouch. *Acta Cytol* 1963;7:262-7.

23. Staats OJ, Goldsby JW. Graphic comparison of intraoral exfoliative cytology technics. *Acta Cytol* 1963;7:107-10.
24. Sandler HC. The cytologic diagnosis of tumors of the oral cavity. *Acta Cytol* 1964;8:114-20.
25. Murata PJ, Johnson RA, McNicoll KE. Controlled evaluation of implementing the cytobrush technique to improve Papanicolaou smear quality. *Obstet Gynecol* 1990;75:690-5.
26. Boon ME, Alons-van Kordelaar JJ, Rietveld-Scheffers PE. Consequences of the introduction of combined spatula and cytobrush sampling for cervical cytology-improvements in smear quality and detection rates. *Acta Cytol* 1986;30:264-70.
27. Ogden GR, Cowpe JG, Green M. Cytobrush and wooden spatula for oral exfoliative cytology. A comparison. *Acta Cytol* 1992;36:706-10.
28. Jone AC, Pink FE, Sandow PL, et al. The cytobrush plus cell collector in oral cytology. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1994;77:95-9.
29. Sciubba JJ. Improving detection of precancerous and cancerous oral lesions. Computer-assisted analysis of the oral brush biopsy. US Collaborative OralCDx Study Group. *J Am Dent Assoc* 1999;130:1445-57.
30. Scheifele C, Schmidt-Westhausen AM, Dietrich T, et al. The sensitivity and specificity of the OralCDx technique. *Oral Oncol* 2004;40:824-8.
31. Hayama FH, Motta ACF, de Padua AGS, et al. Liquid-based preparations versus conventional cytology: specimen adequacy and diagnosis agreement in oral lesions. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2005;10:115-22.
32. Navone R, Burlo P, Pich A, et al. The impact of liquid-based oral cytology on diagnosis of oral squamous dysplasia and carcinoma. *Cytopathology* 2007;18:356-60.
33. Maksem JA, Finnemore M, Belsheim BL, et al. Manual method for liquid-based cytology: A demonstration using 1,000 gynecological cytologies collected directly to vial and prepared by a smear-slide technique. *Diagn Cytopathol* 2001;25: 334-8.
34. Shukla S, Einstein A, Shukla A, et al. Comparison of specimen adequacy and smear quality in oral smears prepared by manual liquid-based cytology and conventional methods. *J Oral Maxillofac Pathol* 2015;19:315-8.
35. Berkan TK, Reeder JE, Lopez PA Jr, et al. A protocol for Papanicolaou staining of cytologic specimens following flow analysis. *Cytometry* 1986;7:101-3.

36. Kondo Y, Oya K, Sakai M, et al. Accuracy of liquid-based cytology (LBC) in the oral mucosa according to novel diagnostic guideline in Japan: Classification of cytology for oral mucosal disease (JSCC, 2015). *Oral Sci Int* 2020;17(1):1-7.
37. Feldman PS, Kaplan MJ, Johns ME, et al. Fine-needle aspiration in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Arch Otolaryngol* 1983;109:735-42.
38. Solomon D, Davey D, Kurman R, et al. The 2001 Bethesda System: terminology for reporting results of cervical cytology. *JAMA* 2002;287:2114-9.
39. Afrogheh A, Wright CA, Sellars SL, et al. An evaluation of the Shandon PapSpin liquid based oral test utilizing a novel cytologic scoring system. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 2012;113: 799-807.
40. Naito Z. Japanese Society of Clinical Cytology (JSCC) Atlas and guidelines for cytopathological diagnosis. 1st ed. Kanehara Shuppan Co. Ltd, Tokyo; 2015.
41. Afrogheh A, Hille J, Mehrotra R. The development of a novel oral cytologic grading system In: Mehrotra R, editor. *Oral cytology a concise guide*. 1st ed. USA: Springer; 2013. p.73-90.
42. Olms C, Hix N, Neumann H, et al. Clinical comparison of liquid-based and conventional cytology of oral brush biopsies: a randomized controlled trial. *Head Face Med* 2018;14:9.
43. Shukla S, Einstein A, Shukla A, et al. Comparison of specimen adequacy and smear quality in oral smears prepared by manual liquid-based cytology and conventional methods. *J Oral Maxillofac Pathol* 2015;19:315-8.
44. Hegde V, Nambiar S, Yadav N. Efficacy of centrifuged liquid-based cytology over conventional cytology: A comparative study. *J Cancer Res Ther* 2017;13:951-5.
45. Selva Ganesh S, Sabarinath B, Sivapathasundharam B. Comparison of conventional smear cytology and manual liquid-based cytology based on smears from normal oral exfoliated cells. *J histotechnol* 2017;3:79-86.
46. Banerjee A, Kamath WV. Evaluation and comparison of conventional brush-based and centrifugation liquid-based cytopathology. *Clin Cancer Investig J* 2018;7:104-9.
47. Dwivedi N, Agarwal A, Raj V, et al. Comparison of centrifuged liquid based cytology method with conventional brush cytology in oral lesions. *Eur J Gen Dent* 2012;1:192-6.
48. Dhingra V, Mehrotra R. Historical development of oral cytology In: Mehrotra R, editor. *Oral cytology a concise guide*. 1st ed. USA: Springer; 2013. p.5-10.
49. Delavarian Z, Mohtasham N, Mosannen-Mozafari P, et al. Evaluation of the diagnostic value of a Modified Liquid-Based Cytology using OralCDx Brush in early detection of oral potentially malignant lesions and oral cancer. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2010;15:e671-6.

50. Alsarraf A, Kujan O, Farah CS. Liquid-based oral brush cytology in the diagnosis of oral leukoplakia using a modified Bethesda Cytology system. *J Oral Pathol Med* 2018;47:887-94.
51. Deuerling L, Gaida K, Neumann H, et al. Evaluation of the accuracy of liquid-based oral brush cytology in screening for oral squamous cell carcinoma. *Cancers* 2019;11:1183.
52. Remmerbach TW, Pomjanski N, Bauer U, et al. Liquid-based versus conventional cytology of oral brush biopsies: a split-sample pilot study. *Clin Oral Investig* 2017;21:2493-8.
53. Osaka R, Hayashi K, Onda T, et al. Evaluation of liquid based cytology for tongue squamous cell carcinoma: comparison with conventional cytology. *Bull Tokyo Dent Coll* 2019;60:29-37.
54. Chitturi RT, Nirmal RM, Sunil PM, et al. Evaluation of ploidy status using DNA-image cytometry of exfoliated mucosal cells in oral lichen planus. *J Cytol* 2014;31:131-5.
55. Yang WCV, Chung HR, Wu JY. et al. Potential biomarkers for the cytologic diagnosis of oral squamous cell carcinoma. *J Dent Sci* 2010;5:60-9.
56. Furrer VE, Benitez MB, Furnes M, et al. Biopsy vs. superficial scraping: detection of human papillomavirus 6, 11, 16, and 18 in potentially malignant and malignant oral lesions. *J Oral Pathol Med* 2006;35: 338-44.