

นิพนธ์ต้นฉบับ

การศึกษาระดับเอ็นไซม์ 5' -nucleotidase ใน คนไทยปกติและความสำคัญในโรคมะเร็ง

มาลา ชุตินะสว่างพร*
รัชนา สานติยานนท์* *

Chutinasawangporn M, Santiyanont R. Studies of 5' -nucleotidase in normal Thais and its clinical value in malignancy. Chula Med J 1985 Aug ; 29 (8) : 907-914

Measurement of serum 5' -nucleotidase (5' -NT) was done according to the method of Dixon and Purdom. The distribution curve of 5' -NT activity in 100 normal Thais of both sexes aged 20 to over 50 years was platykurtic and the reference value 0.5-5.8 U/l. No significant rise in the enzyme level was observed in the diseases studied or carcinoma except in liver carcinoma. In the primary liver cancer, per cent of elevated level of 5' -NT was 85.7 and that of alkaline phosphatase (ALP) 92.9, false positive and false negative of 5' -NT were 5.2 and 14.3% respectively which were both lower than the previously reported value of ALP. These preliminary results indicate that serum level of 5' -NT may be advantageous as a biomarker for liver cancer with greater specificity despite its slightly lower sensitivity in comparison with serum alkaline phosphatase.

* นิสิตเทคนิคการแพทย์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

** ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การตรวจหาระดับเอ็นไซม์บางชนิดในซีรัมสามารถช่วยในการวินิจฉัยโรคได้ ในการวินิจฉัยโรคตับมีการตรวจหาระดับของเอ็นไซม์หลายชนิด เช่น เอ็นไซม์อัลคาไลน์ ฟอสฟาเตส (alkaline phosphatase, ALP) พบมีระดับสูงกว่าปกติในพยาธิสภาพบางอย่างที่ตับ แต่ระดับของ ALP ในซีรัมที่สูงเกินปกตินี้มีได้จำเพาะต่อโรคตับเท่านั้น ยังพบได้ในโรคที่เกี่ยวกับกระดูกหรือแม้แต่การเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาในภาวะปกติ คือ ในเด็กหรือหญิงระหว่างตั้งครรภ์ ปัจจุบันได้มีการตรวจหาระดับเอ็นไซม์อีกชนิดหนึ่ง คือ 5' -นิวคลีโอไทเดส (5' -nucleotidase, 5' -NT) เป็นที่สงสัยกันมานานแล้วว่าระดับของ 5' -NT อาจมีประโยชน์สำหรับบ่งชี้ถึงการเกิดพยาธิสภาพที่ตับหรือมะเร็งบางชนิด การหาระดับ 5' -NT จะช่วยในการวินิจฉัยแยกโรคของเซลล์ตับออกจากโรคหรือภาวะอื่น เช่น โรคของท่อน้ำดี โรคตับที่เกี่ยวข้องกับท่อน้ำดี⁽¹⁾ นอกจากนี้ยังมีการพบระดับ 5' -NT สูงในโรคมะเร็งบางชนิดด้วย^(2,3)

เนื่องจากในประเทศไทย ยังมีได้มีรายงานการศึกษาในระดับเอ็นไซม์ 5' -NT ในโรคโดยเฉพาะมะเร็งอย่างจริงจัง การทดลองนี้จึงมุ่งศึกษาการเปลี่ยนแปลงระดับเอ็นไซม์ 5' -NT ในโรคต่าง ๆ โดยเฉพาะโรคที่เกี่ยวข้องกับตับและมะเร็ง และศึกษาเปรียบเทียบระดับของ 5' -NT กับ ALP ในโรคเกี่ยวกับตับ ตลอดจนศึกษาหาค่าปกติของระดับเอ็นไซม์ 5' -NT ในคนไทย เพื่อใช้เป็นค่าอ้างอิงในการวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการต่อไป

วัสดุและวิธีการ

1. สารเคมี Adenosine phosphate substrate, glycerophosphate substrate, acid molybdate, Fiske and SubbaRow reducer, phosphorus

standard, 5' -NT control-E และ 5' -NT control-N เป็นผลิตภัณฑ์ของบริษัท Sigma, ST. Louis, Mo. 63178, U.S.A. ส่วน alkaline phosphatase substrate, color stabilizer และ standard alkaline phosphatase เป็นผลิตภัณฑ์ของบริษัท General Diagnostics, Morris Plains, New Jersey 07950, U.S.A.

2. วัตถุประสงค์ตรวจ ตัวอย่างเลือดคนปกติได้มาจากการเก็บเลือดจากผู้ป่วยที่ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย ทั้งชายและหญิงในช่วงอายุ 20-50 ปีขึ้นไป เป็นหญิง 50 ราย ชาย 50 ราย รวม 100 ราย

ตัวอย่างเลือดผู้ป่วยโรคตับและโรคอื่น ๆ ได้มาจากผู้ป่วยที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ตัวอย่างเลือดผู้ป่วยโรคมะเร็ง ได้มาจากผู้ป่วยที่สถาบันมะเร็งแห่งชาติ รวมทั้งหมด 87 ราย

ทำการแยกซีรัมออกจากเลือดตัวอย่าง เก็บไว้ที่ -20° เซลเซียส จนกว่าจะทดสอบ (ภายใน 2 สัปดาห์)

นำซีรัมไปหาค่าเอ็นไซม์ 5' -NT โดยวิธีของ Dixon and Purdom⁽²⁾ และหาค่าเอ็นไซม์ ALP ด้วยวิธีของ Babson⁽⁴⁾

3. การควบคุมคุณภาพของการทดสอบ ใช้สารควบคุมคุณภาพของบริษัท Sigma ทั้งระดับค่าสูงและค่าปกติ โดยทำการวิเคราะห์ควบคู่ไปกับการตรวจหาค่าเอ็นไซม์ในคนปกติและผู้ป่วย เพื่อเป็นการยืนยันความถูกต้องของการทดสอบทุกครั้ง

ผลการทดสอบ

1. ค่าปกติของเอ็นไซม์ 5' -NT ในซีรัมของคนไทยปกติ จากการหาค่า 5' -NT ในซีรัมของผู้บริจาคโลหิตที่ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย จำนวน 100 ราย โดยแบ่งเป็นเพศหญิงและชายอย่างละ 50 ราย ช่วงอายุ 20-30, 31-40 และ

41 ปี ขึ้นไป ได้ค่าดังแสดงในตารางที่ 1 พบว่าไม่มีความแตกต่างของระดับเอ็นไซม์ 5' -NT ระหว่างเพศ ($p > 0.001$) สำหรับการกระจายของค่า 5' -NT มิได้เป็นโค้งปกติแต่เป็นโค้งที่มีความเบ้ (รูปที่ 1) ซึ่งพิสูจน์ได้ด้วยการทดสอบทางสถิติ⁽⁵⁾ อำนาจของความเบ้ (moment coefficient of skewness) มีค่า +0.619 แสดงว่าโค้งนี้เบ้ไปทางขวา (positive skewness) หรือมีค่าต่ำเป็นจำนวนมาก

กว่าค่าสูง และค่าขนาดของความโค้ง (moment coefficient of kurtosis) เท่ากับ -0.24 แสดงว่าโค้งการกระจายตัวของ 5' -NT มีความโค้งน้อยกว่าปกติหรือเป็นโค้งแบน (platykurtic) เมื่อปรับโค้งที่มีความเบ้นี้ให้เป็นโค้งปกติโดยการปรับให้เป็นคะแนนมาตรฐาน⁽⁵⁾ หาค่าปกติของ 5' -NT ได้ 0.5-5.8 U/1

Table 1 Serum 5' -NT in normal Thais of both sexes with different age ranges (values are expressed as mean and standard deviation)

Age range (years)	male			female		
	number	\bar{X} (U/1)	S.D	number	\bar{X} (U/1)	S.D.
20-30	16	2.61	1.93	17	2.34	1.56
31-40	17	3.04	1.47	16	2.87	1.31
over 41	17	2.73	1.09	17	2.23	1.00
Total	50	2.80	1.50	50	2.47	1.31

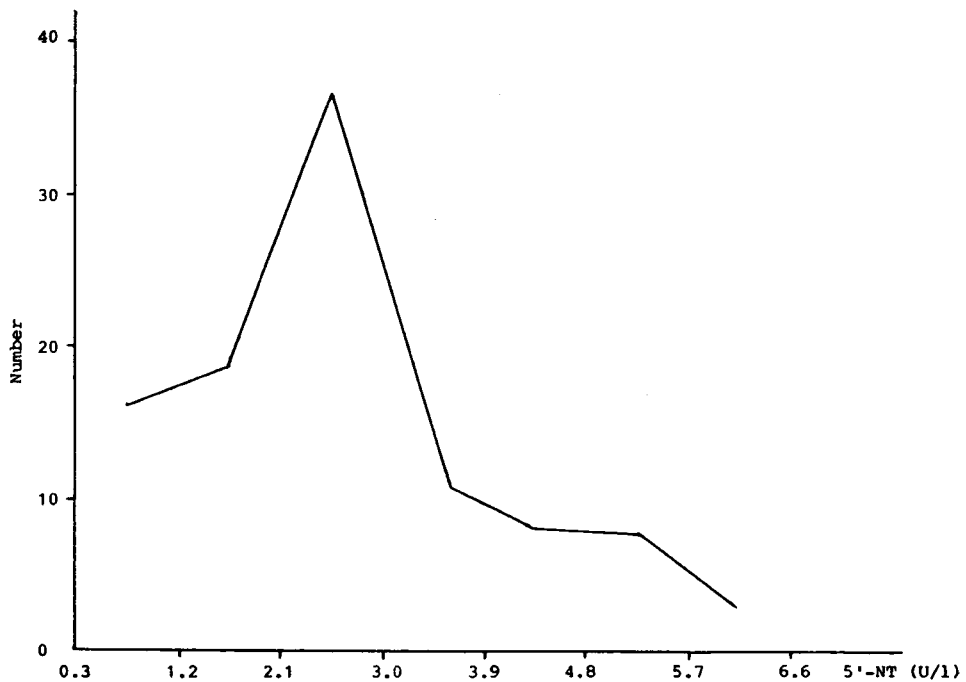


Figure 1 Distribution of serum 5' -NT of normal Thais of both sexes (n = 100) (original data)

2. ระดับเอ็นไซม์ 5' -NT เปรียบเทียบกับ ALP ในผู้ป่วยโรคตับ ผู้ป่วยโรคตับทั้งหมด 21 ราย แบ่งเป็นมะเร็งตับปฐมภูมิ 14 ราย ตับแข็ง 5 ราย ตับอักเสบจากเชื้อไวรัส 2 ราย พบว่าในมะเร็งตับปฐมภูมิมีค่า 5' -NT ขึ้นสูงกว่าปกติ 12 ราย คิดเป็น 85.7% และมีค่า ALP สูงกว่า

ปกติ 13 ราย คิดเป็น 92.9%

ค่า 5' -NT ในซีรัมขึ้นสูงกว่าปกติในตับแข็งเพียง 1 ราย ในขณะที่ ALP ขึ้นสูง 3 ราย ส่วนตับอักเสบจากเชื้อไวรัสทั้งสองรายมีค่า 5' -NT ปกติ แต่ ALP สูงกว่าปกติ 1 ราย ดังแสดงในตารางที่ 2

Table 2 Number of patients with liver diseases and breast cancer showing normal and elevated serum 5' -NT in comparison with that of serum ALP.

Diseases	Number	5' -NT				ALP			
		normal		elevated		normal		elevated	
		number	%	number	%	number	%	number	%
Primary liver cancer	14	2	14.3	12	85.7	1	7.1	13	92.9
Cirrhosis	5	4	80.0	1	20.0	2	40.0	3	60.0
Viral hepatitis	2	2	100.0	0	0	1	50.0	1	50.0
Breast cancer	12	11	91.7	1	9.3	11	91.7	1	9.3

3. ระดับเอ็นไซม์ 5' -NT ในผู้ป่วยมะเร็งชนิดอื่นๆ มะเร็งที่ศึกษามีหลายชนิด แบ่งออกได้ดังนี้

3.1 มะเร็งเต้านม 12 ราย ทราบประวัติ 11 ราย พบว่าใน 11 รายนี้มีเซลล์มะเร็งแพร่มาที่ตับ 3 ราย แต่ค่า 5' -NT ขึ้นสูงกว่าปกติเพียง 1 ราย นอกจากนี้ทุกรายมีค่า 5' -NT อยู่ในระดับปกติ การตรวจหาระดับ ALP ในซีรัมก็ได้ผลเช่นเดียวกับ 5' -NT ดังแสดงในตารางที่ 3 และ 2

3.2 มะเร็งปากมดลูก 13 ราย ทราบประวัติ 9 ราย ทุกรายไม่มีการแพร่ของมะเร็งไปที่ตับ แต่มีค่า 5' -NT สูงกว่าปกติเพียง 1 ราย ดังแสดงในตารางที่ 3

3.3 มะเร็งช่องปาก 11 ราย ทราบประวัติ 7 ราย ว่าไม่มีการแพร่ของเซลล์มะเร็ง ทุกรายมีค่า 5' -NT ในระดับปกติ

3.4 มะเร็งปอด 4 ราย ทราบประวัติ 2 ราย

ว่ามีการแพร่ของมะเร็งไปที่ตับ แต่ทั้งสองรายมีค่า 5' -NT อยู่ในระดับปกติ

3.5 อื่นๆ ได้แก่มะเร็งต่อมทอนซิล มะเร็งกระดูกชนิด osteosarcoma, semioma, มะเร็งนาโซฟาริงซ์ และมะเร็งกระเพาะอาหารอย่างละหนึ่งราย ซึ่งไม่มีการแพร่ของมะเร็งไปที่ตับ และ acute lymphocytic leukemia 3 ราย พบว่ามีระดับ 5' -NT ปกติ และยังมีผู้ป่วยมะเร็งอีก 2 ราย ที่มีการแพร่ของมะเร็งไปที่ตับ ซึ่งพบว่ามีค่าของทั้ง 5' -NT และ ALP สูงกว่าปกติ ดังแสดงในตารางที่ 3

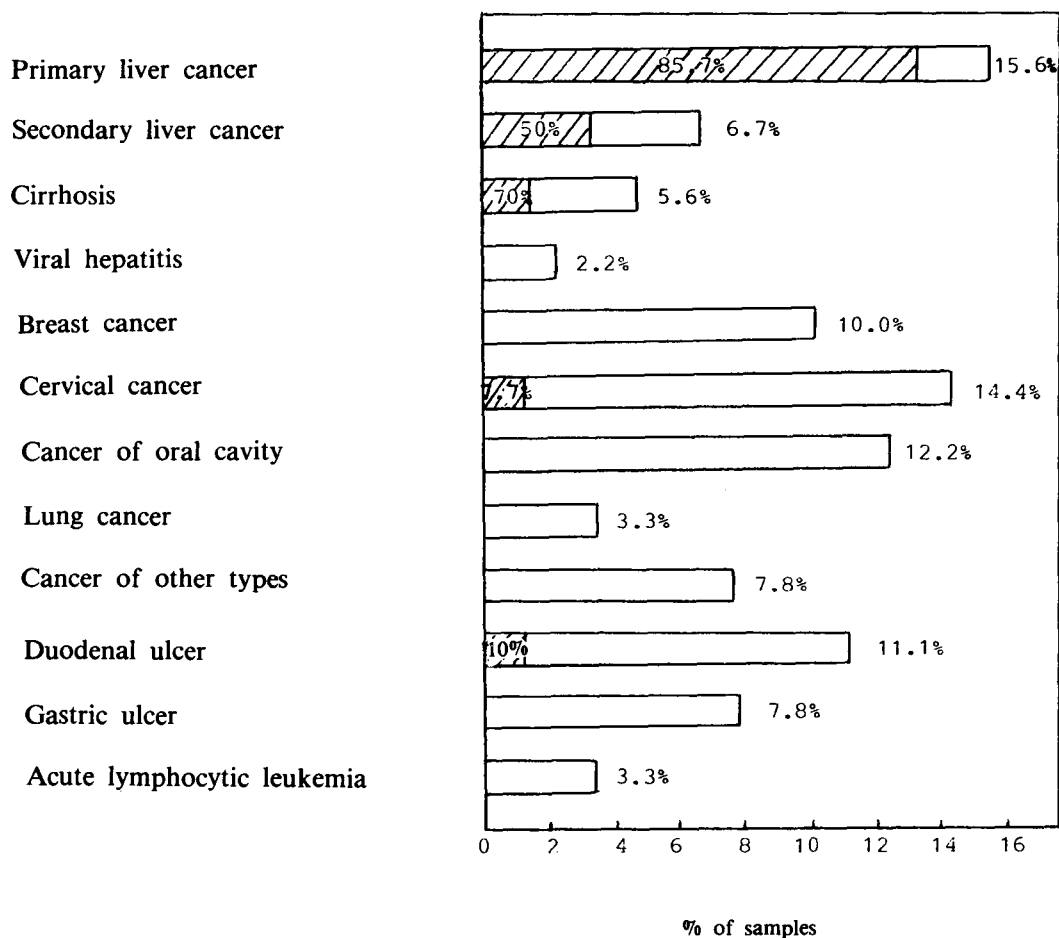
4. ระดับของ 5' -NT ในโรคอื่นๆ เมื่อศึกษาผู้ป่วยที่มีผลในลำไส้เล็กจำนวน 10 ราย พบว่ามีระดับ 5' -NT ขึ้นสูงเพียง 1 ราย ส่วนผู้ป่วยผลในกระเพาะอาหาร 7 ราย มีค่า 5' -NT ปกติทุกราย (ตารางที่ 4)

Table 3 Number of patients with different types of cancer demonstrating normal and elevated levels of serum 5' -NT. Data was categorized according to history of liver metastasis.

Cancer	Number	no metastasis				metastasis				no history			
		normal 5' -NT		elevated 5' -NT		normal 5' -NT		elevated 5' -NT		normal 5' -NT		elevated 5' -NT	
		number	%	number	%	number	%	number	%	number	%	number	%
Breast	12	8	66.7	-	-	2	16.7	1	8.3	1	8.3	-	-
Cervix	13	8	61.5	1	7.7	-	-	-	-	4	30.8	-	-
Oral cavity	11	7	63.6	-	-	-	-	-	-	4	36.4	-	-
Lung	4	1	25.0	-	-	-	25.0	-	-	2	50.0	-	-
Acute lymphocytic leukemia	3	3	100.0	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-
Miscellaneous	7	5	100.0	-	-	-	-	2	22.2	-	-	-	-

Table 4 Number of patients of duodenal ulcer and gastric ulcer with normal and abnormal level of serum 5' -NT.

Diseases	5' -NT			
	normal		abnormal	
	number	%	number	%
Duodenal ulcer	9	90	1	10
Gastric ulcer	7	100	-	-

**Figure 2** Proportional graph showing number of samples in each type of studied diseases and proportion of samples demonstrating elevated level of serum 5' -NT (▨ = elevated serum 5' -NT)

5. ประสิทธิภาพของ 5' -NT ในการวินิจฉัยโรคมะเร็งตับ รูปที่ 2 เป็นกราฟแสดงจำนวนผู้ป่วยโรคต่าง ๆ คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับผู้ป่วยทั้งหมดและจำนวนผู้ป่วยที่มีค่า 5' -NT ขึ้นสูง พบว่า 5' -NT ขึ้นสูงในมะเร็งตับปฐมภูมิ และหุติยภูมิ โดยพบได้เป็น 85.7 และ 50% ตามลำดับ

เมื่อศึกษาค่า 5' -NT ในผู้ป่วยมะเร็งที่ทราบประวัติและในโรคอื่น ๆ 71 ราย พบว่าในมะเร็งตับปฐมภูมิมียุคค่าสูงปลอม ซึ่งพบในโรคอื่น ๆ ที่มีมะเร็งตับปฐมภูมิ 5.2% และค่าต่ำปลอม 14.3% ตามลำดับ ค่า 5-NT ในซีรัมมีความสัมพันธ์อย่างสูงกับมะเร็งตับปฐมภูมิ ($p < 0.001$)

วิจารณ์

จากการหาค่าปกติของระดับเอ็นไซม์ 5' -NT ในซีรัมของคนไทย พบว่าค่าเฉลี่ยของเพศชายสูงกว่าเพศหญิงเล็กน้อย แต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในช่วงอายุ 30-40 ปี ทั้งสองเพศมีค่าเฉลี่ยของระดับเอ็นไซม์สูงกว่าในช่วงอายุอื่นเล็กน้อย และเช่นกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ค่าปกติที่ได้จากการปรับโค้งความถี่ที่มีความเบ้เป็นโค้งปกติได้อยู่ระหว่าง 0.5-5.8 U/l ค่านี้ต่ำกว่าที่มีผู้รายงานไว้ในต่างประเทศบ้าง⁽³⁾ ซึ่งอาจเนื่องมาจากเทคนิควิธีการตรวจที่แตกต่างกัน

ในการหาระดับ 5' -NT ในซีรัมของผู้ป่วยโรคต่าง ๆ พบว่า 5' -NT มีค่าสูงเกินปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในโรคมะเร็งตับปฐมภูมิ ($p < 0.001$) โดยสูงคิดเป็น 85.7% ในขณะที่ ALP ขึ้นสูง 92.9% แสดงว่า ALP มีความไวในการตรวจหามะเร็งตับมากกว่า 5' -NT เล็กน้อย แต่จากรายงานของ Kim และคณะพบว่า ALP มีค่าสูงปลอมและค่าต่ำปลอมค่อนข้างสูง คือ 33.3

และ 22.5% ตามลำดับ⁽⁶⁾ แสดงว่า ALP มีความจำเพาะต่อมะเร็งตับน้อยกว่า 5' -NT ในการศึกษานี้ได้ค่าสูงปลอมและค่าต่ำปลอมเป็น 5.2 และ 14.3% ตามลำดับ ฉะนั้นระดับของ 5' -NT ในซีรัมมีประโยชน์ในการตรวจหามะเร็งตับปฐมภูมิได้ถูกต้องกว่าการตรวจระดับ ALP

จากการตรวจหาค่า 5' -NT ในผู้ป่วยที่มีการแพร่ของเซลล์มะเร็งจากอวัยวะอื่นไปที่ตับ จำนวน 6 ราย พบว่ามีค่า 5' -NT ขึ้นสูงเกินปกติเพียง 3 ราย การที่ตรวจพบค่าสูงเกินปกติเพียง 3 ราย นั้นอาจเป็นเพราะว่าการวินิจฉัยการแพร่ของเซลล์มะเร็งไปที่ตับในผู้ป่วยเหล่านี้ใช้ liver scan ซึ่งอาจให้ผลคลาดเคลื่อนไปได้ เพราะเคยมีรายงานว่าผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยด้วย liver scan ว่าเป็นมะเร็งตับนั้น แท้ที่จริงแล้วเป็นเพียง fatty change และ bile stasis เล็กน้อยเท่านั้น⁽²⁾ ดังนั้น จึงอาจเป็นไปได้ว่าผู้ป่วย 6 รายนี้ อาจไม่ได้เป็นมะเร็งตับหุติยภูมิทั้งหมดและจำนวนตัวอย่างนี้ยังน้อยเกินไปสำหรับการแปลผล อย่างไรก็ตามมีแนวโน้มว่าระดับของ 5' -NT ในซีรัมมีประโยชน์ในการติดตามดูการแพร่ของเซลล์มะเร็งไปที่ตับได้ ส่วนจะมีความไวเพียงใดนั้นต้องทำการศึกษาต่อไป

เนื่องจาก 5' -NT มีอยู่ที่ intestinal mucosa ด้วย⁽⁷⁾ จึงได้ศึกษา 5' -NT ในผู้ป่วยที่มีแผลในลำไส้และกระเพาะอาหาร เพื่อดูว่าระดับของ 5' -NT ในซีรัมจะมีประโยชน์ในการช่วยวินิจฉัยโรคทั้งสองนี้ด้วยหรือไม่ ปรากฏว่าไม่สามารถใช้ระดับของเอ็นไซม์นี้เป็นเครื่องบ่งชี้โรคได้ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะที่ intestinal mucosa มีเอ็นไซม์นี้ปริมาณน้อย⁽⁷⁾ ถึงแม้จะมีความผิดปกติหรือมีการทำลายเซลล์เกิดขึ้นก็ไม่สามารถตรวจพบระดับเอ็นไซม์ขึ้นสูงในกระแสโลหิต

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษานี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากโครงการ
การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ประจำปี พ.ศ. 2527 ผู้วิจัยขอ
ขอบพระคุณผู้อำนวยการศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ
สภากาชาดไทย ผู้อำนวยการสถาบันมะเร็งแห่งชาติ

และหัวหน้าหน่วยโรคทางเดินอาหาร โรงพยาบาล
จุฬาลงกรณ์สำหรับตัวอย่างเลือดทั้งหมด ขอขอบ
พระคุณ รศ.พญ.สมพงษ์ จินายน ที่ได้กรุณาอ่าน
ต้นฉบับและให้คำแนะนำที่มีประโยชน์ยิ่ง และ
ขอขอบคุณคุณสมใจ ตัญศิริ สำหรับงานพิมพ์ต้น
ฉบับ

อ้างอิง

1. Dixon TF, Purdom M. Serum 5' -nucleotidase. J Clin Pathol 1954 Nov; 7 : 341-343
2. Smith K, Varon HH, Race GJ, Paulson DL, Urschel HC and Mallams JT. Serum 5' -nucleotidase in patients with tumor in the liver. Cancer 1966 Sep ; 19 (9) : 1281-1284
3. Ryan ED and Bilous G. Serum 5' -nucleotidase : automation of a manual assay and brief observations on value in patients with breast cancer. Clin Biochem 1983 ; 16 (4) : 294-253
4. Babson AL, Greeley SJ, Coleman CM, Phillips GE. Phenolphthalein monophosphate as a substrate for serum alkaline phosphatase. Clin Chem 1966; 12(8) : 482-490.
5. Zar JH, Biostatistical Analysis. Engle Wood : Prentice Hall, 1974, 54-56
6. Kim NK, Yasminah WG, Freier EF, Goldman AI and Theologides A. Value of alkaline phosphatase, 5' -nucleotidase, γ -glutamyltransferase and glutamate dehydrogenase activity measurements (single and combined) in serum in diagnosis of metastasis to the liver. Clin Chem 1977 Nov ; 23 (11) : 2034-2038
7. Reis JL. The specificity of phosphomonoesterase in human tissue. Biochem J 1951 May ; 48 : 548-551

จุฬาลงกรณ์เวชสารได้รับต้นฉบับเมื่อวันที่ 10 เดือน เมษายน พ.ศ. 2528