

Thesis Title	Prognostic Value of Cyclooxygenase-2 (COX-2) Protein Expression in Thai Patients with Stomach Cancer and Colorectal Cancer	
Author	Mr. Seksan Sangkhasard	
Degree	Master of Science (Medical Technology)	
Thesis Advisory Committee	Dr. Ratchada Cressey	Chairperson
	Assoc.Prof. Dr. Nirush Lertprasertsuk	Member

ABSTRACT

Several epidemiological studies suggested that the regular use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) such as aspirin reduced the risk of gastrointestinal tract cancers. It is known that NSAIDs exert their effect by the inhibition of cyclooxygenase (COX) enzyme; which make this group of enzyme becomes a focus of studies in cancer research. Two isoforms, COX-1 and COX-2 have been identified and these isoforms are under investigation for their involvements in tumorigenesis. Although, overexpression of COX-2 in human cancers has been repeatedly reported, none of them was performed in Thai population. To understand the role of COX enzyme in the development and progression of stomach and colorectal cancers and to know the incidence of COX-2 overexpression in Thai cancer patients, this study investigated the expression level of COX-1 and COX-2 proteins using Western blot analysis in tumor tissues and adjacent normal tissues obtained from 20 and 44 Thai patients with stomach cancer and colorectal cancer, respectively.

Compared with paired normal tissues, COX-2 were overexpressed in 13 of 44 colorectal tumor tissues (29.5%) and in 1 of 20 stomach tumor tissues (5%). Overall, COX-2 levels in colorectal tumor specimens were significantly correlated with histological differentiation, in particular in the tumors with poor differentiation (71.4%). In addition, overexpression of COX-2

was found more frequently in colorectal tumors with lymphatic invasion, regional lymph node metastasis and larger size, although it was not statistically significant. Overexpression of COX-2 in stomach tumors, however, was not correlated with any of the pathological features, which may be due to the fact that only 1 out of 20 gastric tumors possessed an elevated level of COX-2. In contrast to alteration found in COX-2 expression, the level of COX-1 expression was quite varied in tumor tissues. Forty-eight percent of colorectal tumors and 80% of gastric tumors exhibited a decreased level of COX-1 in comparison to normal tissues. Interestingly, COX-1 was also found to be overexpressed in 23% of colorectal tumors indicating the possibility that COX-2 and COX-1 may both play important roles in promoting tumorigenesis. However, there was no significant relationship between the alterations of COX-1 protein levels and the pathological features of tumors was observed in both cancers.

The results obtained from this study indicate that COX-2 may play a role in the development and/or progression of stomach and colorectal cancer and its overexpression is associated with tumor differentiation. Although, COX-2 protein expression was not significantly correlated with the conventional prognostic indicators such as the TNM staging, it remains to be elucidated whether overexpression of COX-2 will provide an additional prognostic value about patient survival.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	ความสำคัญในการพยากรณ์โรคของระดับการแสดงออกโปรตีน Cyclooxygenase-2 (COX-2) ในคนไทยที่ป่วยเป็นมะเร็งกระเพาะอาหารและมะเร็งลำไส้ใหญ่	
ผู้เขียน	นายเสกสรร สังกะสาตร	
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคนิคการแพทย์)	
คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ดร.รัชดา เกรสซี่	ประธานกรรมการ
	รศ.ดร.นิรันธร เลิศประเสริฐสุข	กรรมการ

บทคัดย่อ

จากงานวิจัยในเชิงระบาดวิทยาได้แสดงให้เห็นว่าการใช้ยาต้านการอักเสบ (NSAIDs) เช่น แอสไพรินเป็นประจำ สามารถลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็งในระบบทางเดินอาหารได้ เนื่องจากเป็นที่ทราบดีแล้วว่ายาดังกล่าวสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ cyclooxygenase (COX) นี่จึงเป็นจุดเริ่มต้นของการศึกษาวิจัยอย่างจริงจังเกี่ยวกับบทบาทของเอนไซม์ในกลุ่มนี้ต่อกระบวนการเกิดโรคมะเร็ง เอนไซม์นี้มีอยู่สองรูปแบบ อันได้แก่ COX-1 และ COX-2 ซึ่งบทบาทของแต่ละรูปแบบในการเกิดมะเร็งนั้นกำลังอยู่ในระหว่างการศึกษาอย่างแพร่หลาย ถึงแม้จะเคยมีรายงานก่อนหน้านี้แล้วว่าโปรตีน COX-2 มีระดับเพิ่มขึ้นในเนื้อเยื่อมะเร็งของมนุษย์ แต่ยังไม่เคยมีการศึกษาถึงระดับการแสดงออกของ COX ในประชากรไทยมาก่อน

งานวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาบทบาทของเอนไซม์ COX ที่มีต่อกระบวนการเกิดและการพัฒนาของโรคมะเร็งกระเพาะอาหารและมะเร็งลำไส้ใหญ่ และเพื่อทราบถึงอุบัติการณ์ของ COX-2 overexpression ในคนไทยที่ป่วยเป็นโรคมะเร็ง โดยทำการตรวจวัดระดับการแสดงออกโปรตีน ของ COX-1 และ COX-2 ในเนื้อเยื่อมะเร็งเปรียบเทียบกับเนื้อเยื่อปกติของผู้ป่วยแต่ละราย โดยวิธี Western blot ซึ่งตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ได้มาจากคนไทยที่ป่วยเป็นมะเร็งกระเพาะอาหารจำนวน 20 ราย และจากมะเร็งลำไส้ใหญ่จำนวน 44 ราย

เมื่อเปรียบเทียบผลที่ได้ระหว่างเนื้อเยื่อมะเร็งและเนื้อเยื่อปกติของผู้ป่วยแต่ละราย พบว่า มีอยู่ 13 ราย จากทั้งหมด 44 ราย (29.5%) ของเนื้อเยื่อมะเร็งลำไส้ใหญ่และ 1 ราย จากทั้งหมด 20 ราย (5%) ของเนื้อเยื่อมะเร็งกระเพาะอาหาร ที่มีระดับการแสดงออกของโปรตีน COX-2 เพิ่มขึ้น พบว่า

ระดับของโปรตีน COX-2 ที่เพิ่มขึ้นในมะเร็งลำไส้ใหญ่ มีความสัมพันธ์กับระดับการเปลี่ยนแปลงทางเซลล์วิทยาของชิ้นเนื้อมะเร็งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยพบว่าในเนื้อเยื่อมะเร็งที่เซลล์แทบจะไม่มีการพัฒนา (poorly differentiated cancer) (71.4%) จะมีความถี่ของการมีระดับ COX-2 ที่เพิ่มขึ้นมากกว่าในเนื้อเยื่อมะเร็งที่เซลล์มีการพัฒนารูปแบบได้ดีกว่า (well or moderately differentiated cancer) (21.6%) นอกจากนี้ยังพบว่าระดับโปรตีน COX-2 ที่สูงขึ้นนั้นพบได้บ่อยในมะเร็งลำไส้ใหญ่ที่มีการลุกลามไปยังหลอดน้ำเหลือง มีการแพร่กระจายไปยังต่อมน้ำเหลือง และมีขนาดใหญ่อีกด้วย ถึงแม้ว่าจะไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตามพบว่าระดับโปรตีน COX-2 ที่เพิ่มขึ้นในมะเร็งกระเพาะอาหาร นั้นไม่มีความสัมพันธ์กับลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิกของมะเร็งแต่อย่างใด ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากมีเพียง 1 รายเท่านั้นที่พบระดับการแสดงออกโปรตีน COX-2 ที่เพิ่มขึ้น จากทั้งหมด 20 ราย ในทางตรงกันข้ามพบว่าโปรตีน COX-1 ในเนื้อเยื่อมะเร็ง มีการเปลี่ยนแปลงของการแสดงออกได้หลายแบบ โดยพบว่าร้อยละ 48 ของเนื้อเยื่อมะเร็งลำไส้ใหญ่ และ ร้อยละ 80 ของเนื้อเยื่อมะเร็งกระเพาะอาหาร จะมีระดับการแสดงออกโปรตีน COX-1 ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อเยื่อปกติ จุดที่น่าสนใจก็คือ ร้อยละ 23 ของมะเร็งลำไส้ใหญ่ มีระดับการแสดงออกโปรตีน COX-1 เพิ่มขึ้น ซึ่งชี้ให้เห็นความเป็นได้ว่าทั้ง COX-1 และ COX-2 อาจจะเป็นส่วนสำคัญที่ช่วยในการเกิดมะเร็ง แต่อย่างไรก็ตามไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างระดับการแสดงออกโปรตีน COX-1 กับลักษณะต่างทางพยาธิวิทยาคลินิกของมะเร็งทั้งสองชนิดเลย

จากผลการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่า COX-2 อาจจะมีบทบาทเกี่ยวข้องกับการเกิด และ/หรือ การพัฒนาของมะเร็งกระเพาะอาหารและมะเร็งลำไส้ใหญ่ และระดับการแสดงของโปรตีน COX-2 ที่เพิ่มขึ้นยังมีความสัมพันธ์กับระดับการเปลี่ยนแปลงทางเซลล์วิทยาของชิ้นเนื้อที่มะเร็งลำไส้ใหญ่ ถึงแม้ว่าระดับการแสดงออกโปรตีน COX-2 จะไม่มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กับตัวบ่งชี้เดิมที่นิยมใช้กันอยู่เช่น TNM staging นำที่จะต้องมีการศึกษากันต่อไปว่าระดับการแสดงออกโปรตีน COX-2 ที่สูงขึ้นนี้ สามารถใช้พยากรณ์อัตราการรอดชีวิตของผู้ป่วยได้ดีมากน้อยและแตกต่างจากระบบเก่าอย่างไร