บทฟื้นฟูวิชาการ

การประยุกต์ใช้วิชาชีววิทยาโรคมะเร็งในการรักษาโรคมะเร็งของศีรษะและคอ

นรินทร์ วรวุฒิ*

Voravud N. Therapeutic implication of tumor biology in head and neck cancer. Chula Med J 1996 Mar; 40(3): 217-232

Cancer of head and neck is one of the most common cancers in Thailand. Although radiation treatment and/or surgery can be used effectively for early tumors,chemo-therapy for recurrent and metastatic head and neck cancer is still palliative. Given the complexity and inadequate understanding of the pathogenesis of the disease, the most efficacious treatment method for head and neck cancer especially recurrent and metastatic diseases, is not yet well defined. This article presents a review of recent biologic rationale of multimodality approach to prevent tumorgenesis, increase locoregional control, and decrease distant metastasis. The ultimate goal is to improve therapeutic ratio, quality of life and increase survival of patients with head and neck cancer.

Key words: *Therapeutic implication, Head and neck neoplasms, Tumors biology.*

Reprint request: Voravud N, Department of Medicine, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok 10300, Thailand.

Received for publication. September 15,1995.

*ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

มะเร็งของศีรษะและช่องคอเป็นมะเร็งที่พบมากในประเทศไทย จากสถิติของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ (พ.ศ. 2522-2530) พบมะเร็งกลุ่มนี้ถึงร้อยละ 16.0 ของผู้ป่วยมะเร็งทั้งหมดที่มารับการรักษา[1] ต่างจากประเทศตะวันตกซึ่งอัตราการเกิดมะเร็งกลุ่มนี้พบเพียงร้อยละ4.0[2] ถึงแม้ว่าการร่วมมือกันระหว่างรังสีแพทย์ ศัลยแพทย์ และ medical oncologists ได้ทำให้การควบคุมและรักษาโรคกลุ่มนี้ดีขึ้น อัตราการรอดชีวิตระยะยาวหลังการรักษา (long term survival) โดยเฉพาะระยะหลังของโรคไม่ได้เพิ่มขึ้นทั้งที่การใช้เคมีรักษาก่อนการผ่าตัด (neoadjuvant chemotherapy) ทำให้มีการตอบสนองต่อการรักษา (reponse rate) สูงถึงร้อยละ 70.0-90.0[3,4] สาเหตุที่อัตราการรอดชีวิตระยะยาวหลังการรักษาไม่ดีขึ้นเท่าที่ควรอาจเกิดจากสาเหตุดังนี้

1. Locoregional failure ผู้ป่วยสองในสามหลังการรักษามะเร็งปฐมภูมิ (primary tumor) มีการล้มเหลวและกลับเป็นซ้ำเฉพาะที่ของโรคอีก[4]

2. Systemic failure ผู้ป่วยอีกหนึ่งในสามมีการแพร่กระจายของโรคไปสู่ส่วนอื่น ของร่างกายหลังการรักษา หรือตั้งแต่แรกที่มาพบแพทย์[5]

3. Second primary malignancies ลักษณะพิเศษของมะเร็งของศีรษะและคอ โดยเฉพาะระยะแรก (stage I, II) คือจะเกิดมะเร็งที่ส่วนอื่นของทางเดินอาหารและหายใจได้ถึงร้อยละ 5.0-40.0[6-8] ถึงแม้ว่าผู้ป่วยดังกล่าวจะหายจากการเป็นมะเร็งครั้งแรกแล้วก็ตาม

การแก้ปัญหาดังกล่าวข้างต้นเพื่อเพิ่มอัตราการรอดชีวิตระยะยาว หลังการรักษาต้องอาศัยความรู้และความชำนาญของแพทย์ ความร่วมมือของผู้ป่วยและความรู้เกี่ยวกับวิชาชีววิทยาโรคมะเร็งความก้าวหน้าทางวิชาชีววิทยาโรคมะเร็ง ได้ช่วยให้แพทย์เข้าใจถึงพยาธิกำเนิดของมะเร็งกลุ่มนี้มากขึ้น ความรู้เหล่านี้ได้ถูกนำมาประยุกต์ใช้ในงานวิจัยทางคลินิก เพื่อปรับปรุงการป้องกันการวินิจฉัยและการรักษาโรคมะเร็งของศีรษะและคอให้ดียิ่งขึ้น

Genetic predisposition

Spitz et al.(1989)[9] ได้ศึกษาความไวของการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมต่อโครโมโซมจาก bleomycin (chromosome sensitivity to bleomycin-induced mutgenesis)ใน peripheral lymphocytes จากผู้ป่วยมะเร็งของศีรษะและคอเปรียบเทียบกับคนปกติ พบว่าผู้ที่ไม่มีความผิดปกติจะมีอัตราเสี่ยง (odd ratio) ของการเกิดมะเร็งศีรษะและคอ เป็น 1.0 ถ้าผู้ป่วยมีความไวผิดปกติของโครโมโซมต่อ bleomycin จะมีอัตราเสี่ยง 5.4 ถ้าผู้ป่วยสูบบุหรี่และมีความไวผิดปกติดังกล่าวของโครโมโซมร่วมด้วยจะมีอัตราเสี่ยงเพิ่มขึ้นเป็น 19.8 แต่ถ้าผู้ป่วยดื่มเหล้าและมีความผิดปกติของโครโมโซมอัตราเสี่ยงจะเป็น 17.1 ข้อมูลเหล่านี้ชี้บ่งว่าวิธีการตรวจดังกล่าวข้างต้นอาจใช้ในการทำนายอัตราเสี่ยงของ การเกิดโรคมะเร็งของศีรษะและคอผู้ป่วย nasopha-ryngeal carcinoma พบมากในประเทศจีนและเอเชีย-ตะวันออกเฉียงใต้ ผู้ที่มี HLA B17 และ Bw46 มีอัตราเสี่ยงของการเกิดมะเร็งนี้สูงขึ้นในขณะที่ผู้ที่มี HLA A11 จะมีอัตราเสี่ยงของโรคนี้น้อยลง[10] การตรวจหาปัจจัยเสี่ยงทางพันธุกรรมต่อการเกิดมะเร็งของศีรษะ อาจนำมาประยุกต์ใช้ในงานวิจัยทางการป้องกันมะเร็งเหล่านี้ได้

Tumor heterogeneity

ลักษณะเฉพาะอย่างหนึ่งของเซลล์มะเร็งคือหลังจากการแบ่งเซลล์จนกลายเป็นก้อนมะเร็งเซลล์มะเร็งจะมีความแตกต่างออกไปทั้ง genotypes และ phenotypes เนื่องมาจาก genetic instabilty[11] ปรากฏการณ์นี้เรียกว่า tumor heterogeneity[12] ความแตกต่างดังกล่าวมีความสำคัญต่อการรักษาผู้ป่วยมะเร็ง เนื่องจากการรักษาอาจจะได้ผลต่อเซลล์มะเร็งบางกลุ่มเท่านั้น ทำให้เซลล์มะเร็งที่รอดจากการรักษาสามารถเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนจนเกิดการเป็นซ้ำของโรคหลังการรักษาอีก

ความแตกต่างของเซลล์มะเร็งเหล่านี้พบได้ในระดับ DNA เมื่อวิเคราะห์ปริมาณ DNA ในเซลล์มะเร็งของศีรษะและคอแต่ละเซลล์ซึ่งย้อมด้วย Feul-gen stain และตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ image analysis พบว่าเซลล์มะเร็งในผู้ป่วยแต่ละรายมีความแตกต่างกันในระดับประมาณของ DNA เนื่องจาก tumor heterogeneity การตรวจ DNA ในแต่ละเซลล์ด้วยเทคนิคดังกล่าวจะให้ข้อมูลเกี่ยวกับ tumor biology ได้ดีกว่าการตรวจหาค่าเฉลี่ยของ DNA ทั้งหมดด้วย flow cytometry[13] เป็นที่ทราบแล้วว่าความผิดปกติของปริมาณ DNA (aneuploidy) บ่งถึงพยากรณ์โรคที่ไม่ดีในมะเร็งหลายชนิด เช่น มะเร็งเต้านม[14] และมะเร็งกระเพาะปัสสาวะ[15] ข้อมูลเหล่านี้ได้ถูกนำมาประยุกต์ใช้ในการเลือกวิธีการรักษาผู้ป่วยมะเร็งที่ MD Anderson Cancer Center เช่น การเลือกใช้เคมีบำบัดในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมในกลุ่มก่อนหมดประจำเดือน (premenopausal breast cancer) ที่มีปริมาณ DNA ผิดปกติ[16] เป็นต้น

Tumor heterogeneity ยังพบที่ระดับ cell cycle ของเซลล์มะเร็ง เมื่อตรวจชิ้นเนื้อมะเร็งของศีรษะและคอด้วย antibody ต่อ proliferating cell nuclear-antigen (PCNA) ซึ่งเป็น cofactor ของ DNA polymerase delta ซึ่งเซลล์ใช้ในการสร้าง DNA การตรวจพบ PCNA บ่งถึงเซลล์ที่อยู่ใน cell cycle ผู้ป่วยมะเร็งของศีรษะและคอมีความแตกต่างกันในปริมาณ PCNA เมื่อตรวจด้วยวิธีดังกล่าว[17] เคมีบำบัดที่มีใช้ในปัจจุบันนี้ส่วนมากจะออกฤทธิ์เป็น cell cycle specific โดยจะมีผลในการทำลายเซลล์ที่อยู่ใน cell cycle แต่จะไม่ได้ผลต่อเซลล์ที่ไม่แบ่งตัว (Go phase)[18] การทราบถึง cell cycle activities ในผู้ป่วยแต่ละรายอาจช่วยในการพยากรณ์โรคและการเลือกวิธีการรักษาให้เหมาะกับ cell kinetics ของผู้ป่วยนั้นๆ เช่น เมื่อตรวจพบว่าเซลล์มะเร็งส่วนใหญ่อยู่ในระยะที่แตกต่างกันของ cell cycle ก็อาจใช้เคมีบำบัดหรือวิธีการรักษาอื่นๆ ที่ออกฤทธิ์ที่ระยะนั้นๆ เช่น การใช้ bleomycin ซึ่งออกฤทธิ์ยับยั้งเซลล์ที่ G2 - S Phase แล้วรอให้เซลล์มาอยู่ในระยะ S-Phase และให้เคมีบำบัดที่ได้ผลต่อระยะนั้นๆ เช่น methotrexate เป็นต้น วิธีการเลือกใช้เคมีบำบัดดังกล่าวควรทำภายในขอบเขตของการวิจัยทางคลีนิคเพื่อที่จะได้ข้อมูลที่น่าเชื่อถือมาประยุกต์รักษาผู้ป่วยต่อไปในอนาคต

Field cancerization

Slaughter et al. (1953)[19] ได้ศึกษาพยาธิสภาพของผู้ป่วยมะเร็งของศีรษะและคอ 783 ราย พบว่าเยื่อบุผิวของทางเดินอาหารและหายใจตอนบน ซึ่งสัมผัสกับสารที่ก่อให้เกิดมะเร็ง เช่น บุหรี่และเหล้ามีการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพที่จะก่อให้เกิดมะเร็งได้หลายตำแหน่ง (multicentricity) ข้อสังเกตดังกล่าวได้รับการยืนยันจากการศึกษาในระยะต่อมาดังนี้

1. หลักฐานทางระบาดวิทยา มะเร็งชนิด squamous cell carcinoma ซึ่งพบมากกว่าร้อยละ 80.0 ของผู้ป่วยมะเร็งของศีรษะและคอมีสาเหตุมาจากการใช้บุหรี่และเหล้า[20]

2. หลักฐานทางพยาธิสภาพ เยื่อบุผิวที่ได้รับสารที่ทำให้เกิดมะเร็งดังกล่าวข้างต้น มีการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพทั้งบริเวณเยื่อบุผิวปกติ และเยื่อบุผิวที่เปลี่ยนแปลงเป็นมะเร็ง เช่น adjacent normal epithelium, hyperplasia, dysplasia, carcinoma insitu[21] เป็นต้น เยื่อบุผิวที่ดูปกติเมื่อตรวจด้วยกล้องจุลทัศน์บางครั้งจะพบการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพบางอย่างคล้ายกับที่พบใน squamous cell carcinoma เมื่อตรวจอย่างละเอียดด้วย electrone microscopy[22] ข้อมูลเหล่านี้บ่งชี้ว่าเมื่อเซลล์เยื่อบุผิวของศีรษะและคอได้รับสารที่ทำให้เป็นมะเร็ง จะเกิดการเปลี่ยนแปลงขึ้นหลายบริเวณแตกต่างกันบางแห่งเกิดเป็นมะเร็ง บางแห่งเกิดเป็น premalignant lesions เช่น oral leukoplakia, erythrodysplakia ในมะเร็งช่องปาก[23] Barrettes esophagus ในมะเร็งหลอดอาหาร[24] และ bronchial metaplasia ในมะเร็งปอด[25] เป็นต้น

3. หลักฐานทางพันธุกรรมจากการศึกษาโครโมโซมและ DNA จากเซลล์ที่ได้จากบริเวณต่างๆ

ของเยื่อบุผิวของผู้ป่วยมะเร็งของศีรษะและคอ พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงทั้งจำนวนและโครงสร้างของโครโมโซมตลอดจนมีความผิดปกติของ DNA คล้ายคลึงกับที่เกิดขึ้นในเซลล์มะเร็งเอง เซลล์บางส่วนของเยื่อบุผิวที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของลักษณะพยาธิสภาพภายในก็มีการเปลี่ยนแปลงที่ตลาดพบได้ในระดับพันธุกรรม[26] ดังนั้นผู้ที่มีความผิดปกติทางพันธุกรรมมาก่อนที่จะได้รับสารที่ทำให้เกิดมะเร็งดังที่กล่าวไว้ในตอน genetic predisposition จึงมีอัตราเสี่ยงของการเกิดมะเร็งสูงขึ้นเมื่อได้รับสารที่ทำให้เกิดมะเร็ง

การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นตลอดบริเวณเยื่อบุทางเดินอาหารและหายใจตอนต้น หลังจากได้รับสารที่ทำให้เกิดมะเร็งที่ระดับพันธุกรรม จึงพบว่าผู้ป่วยเหล่านี้มีอัตราเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งทุติยภูมิ (second primary malignancies) ที่บริเวณต่างๆ ของศีรษะและคอสูง[27] ความพยายามที่จะติดตามผู้ป่วยมะเร็งของศีรษะและคอเพื่อตรวจหามะเร็งทุติยภูมิที่อาจเกิดพร้อมกันหรือเกิดภายหลังการรักษาด้วย triple endoscopy นั้นสิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายมากและยังไม่มีข้อสรุปแน่ชัดว่าจะได้ประโยชน์ในผู้ป่วยทุกราย[28] เนื่องจากไม่สามารถเลือกผู้ป่วยที่มีอัตราเสี่ยงสูงต่อการเกิดมะเร็งทุติยภูมิ ในการตรวจติดตามด้วยวิธีดังกล่าวการใช้ genetic markers เช่น DNA aneuploidy ซึ่งบ่งถึงปริมาณความเสียหายทางพันธุกรรมที่เยื่อบุผิวของศีรษะและคอ อาจจะมีประโยชน์ในการตรวจหาผู้ป่วยที่มีอัตราเสี่ยงสูงต่อการเกิดมะเร็งทุติยภูมิซึ่งต้องการการติดตามอย่างใกล้ชิด[13]

Field cancerization ที่เกิดขึ้นในมะเร็งของศีรษะและคอทำให้บริเวณทั่วไปของเยื่อบุผิวที่ได้รับสารที่ก่อให้เกิดมะเร็งมีการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมที่จะก่อให้เกิดมะเร็งทุติยภูมิขึ้นได้อีก ดังนั้นจึงมีการพยายามที่จะป้องกันการเกิดมะเร็งทุติยภูมิของศีรษะและคอด้วยการใช้ chemoprevention Hong et al.(1990)[29] รายงานการใช้ 13 cis-retinoic acid ใน phase III prospective randomized placebo controlled trial ในผู้ป่วยมะเร็งของศีรษะและคอ 103 ราย เมื่อให้ยากินเป็นเวลา 1 ปี และติดตามผู้ป่วยเป็นเวลา 32 เดือน พบว่า ผู้ที่ได้รับยา 13 cis-retinoic acid เกิดมะเร็งทุติยภูมิร้อยละ 4.0 ในขณะที่กลุ่ม placebo เกิดมะเร็งดังกล่าวถึงร้อยละ 22.0 (P=0.05)[29] การหาปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งทุติยภูมิ และการใช้ chemo-prevention หลังการรักษามะเร็งปฐมภูมิ (primary cancer) แล้ว อาจช่วยลดอัตราการเกิดมะเร็งทุติยภูมิและเพิ่มอัตราการรอดชีวิตระยะยาวหลังการรักษาผู้ป่วยเหล่านี้

Multistage carcinogenesis

ปัจจุบันเชื่อว่ามะเร็งของศีรษะและคอโดยเฉพาะ squamous cell carcinoma มีพยาธิกำเนิดเป็นขั้นตอนจากเซลล์เยื่อบุผิวปกติ กลายเป็น premalignant lesions และเปลี่ยนเป็นมะเร็งในที่สุด ความเชื่อดังกล่าวมาจากหลักฐานดังกล่าวดังต่อไปนี้

1. Cell lines การทดลองเปลี่ยนเซลล์ปกติให้เป็นเซลล์มะเร็ง (malignant transformation) ด้วยการใส่ยีนส์มะเร็ง c-myc เข้าไปใน NIH 3T3 fibroblast cell line ไม่ประสพความสำเร็จ เซลล์ซึ่งมียีนมะเร็ง c-myc มีการเจริญเติบโตที่ปกติ โดยจะมีการแก่ตายไปของเซลล์เหมือนเซลล์ปกติ (immortalization) แต่จะไม่ทำให้เกิดมะเร็งเมื่อทดลองฉีดเซลล์ดังกล่าวเข้าไปในหนูทดลอง (nude mice) การเปลี่ยนเซลล์ดังกล่าวให้กลายเป็นเซลล์มะเร็งได้จำเป็นต้องใส่ยีนมะเร็งอีกชนิดหนึ่งชื่อ c-ras ร่วมด้วยจึงจะเปลี่ยนเซลล์ปกติให้กลายเป็นเซลล์มะเร็งจำเป็นต้องใส่ยีนมะเร็ง อีกชนิดหนึ่งชื่อ c-ras ร่วมด้วยจึงจะเปลี่ยนเซลล์ปกติให้กลายเป็นเซลล์มะเร็งได้[30] หลักฐานเหล่านี้บ่งชี้ว่าการเปลี่ยนแปลงจากเซลล์ปกติให้กลายเป็นเซลล์มะเร็งต้องอาศัยการเปลี่ยนแปลงมากกว่าหนึ่งชนิด (multistage process)

2. Animal model เมื่อใช้สารที่ทำให้เกิดมะเร็งชื่อ 7, 12 DMBA ให้สัมผัสกับเยื่อบุข้างแก้มของ hamster จะทำให้เยื่อบุข้างแก้มด้านในปากของสัตว์ทดลองเปลี่ยนแปลงหลายขั้นตอนคล้ายกับพยาธิสภาพที่พบในมะเร็งของศีรษะและคอ เริ่มจาก hyperkeratosis, hyperplasia, dysplasia และกลายเป็น squamous cell carcinoma ในที่สุด[31] การเปลี่ยน-

แปลงเหล่านี้พบร่วมกับการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรม[32]

3. Human model มะเร็งของช่องปากมีการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพหลายขั้นตอน ดังนี้ normal epithelium, hyperplasia, mild dysplasia, severe dysplasia, oral leukoplakia, erythrodysplakia, carcinoma in situ, squamous cell carcinoma, neck node metastasis, distant metastasis และ second primary cancer[21]

การเข้าใจถึงพยาธิกำเนิดในแต่ละขั้นตอนของโรคจะมีประโยชน์ ในการพัฒนาวิธีการป้องกันโรค การหาพยากรณ์โรค การรักษาและการติดตามผู้ป่วยในแต่ละระยะของโรค Lee et al. (1991)[33] พบว่าผู้ป่วยที่มี oral leukoplakia ซึ่งร้อยละ 0.5-3.0 จะเกิดมะเร็งในช่องปาก บนโครโมโซม 7 มี epidermal growth factor receptor gene ซึ่งจะจับกับ epidermal growth factor และ transforming growth factor alpha กระตุ้นให้เซลล์มีการเจริญเติบโต[34]

ความรู้เกี่ยวกับ multistage carcinogenesis ได้ถูกนำมาประยุกต์ใช้ในการรักษาผู้ป่วยมะเร็งของศีรษะและคอที่ 2 ระยะ คือที่ระยะ premalignant และระยะหลังจากหายจากการเป็นมะเร็งปฐมภูมิก่อนจะเกิดมะเร็งทุติยภูมิ ยาที่นำมาใช้ในงานวิจัยเพื่อยับยั้งการเปลี่ยนแปลงเป็นขั้นตอนของมะเร็งศีรษะและคอประกอบด้วย 13 cis-retinoic acid[35], beta-carotene[36] และ alpha-tocopherol[37] Stitch et al. (1988)[38] รายงานการใช้ cis-retinoic acid และ beta-carotene มาใช้รักษาผู้ป่วยฟิลิปปินส์ที่เป็น oral leukoplakia จากการเคี้ยวหมาก (betel nut) พบว่าการให้ยา 2 อย่างร่วมกันให้ผลตอบสนองร้อยละ 28.0 ในขณะที่ beta-carotene[39] อย่างเดียวได้ผลร้อยละ 15.0 และในกลุ่มที่ได้ placebo ดีขึ้นเพียงร้อยละ 3.0 และมีการกลับเป็นใหม่ของโรค (new lesions) ถึงร้อยละ 21.0 การใช้ 13 cis-retinoic acid ในผู้ป่วย oral leukoplakia ที่รักษาที่ MD Anderson Cancer Center สำหรับ alpha-tocopherol ได้เริ่มมีผู้นำมาใช้ทางคลีนิค แต่ยังไม่มีข้อมูลเพียงพอเกี่ยวกับผลการรักษา สำหรับกลไกการออกฤทธิ์ของ retinoids เชื่อว่าเกิดจากการจับกับ retinoic acid nuclear receptor และยับยั้งการทำหน้าที่ของยีนส์ที่ระดับ transcription[40] alpha-tocopherol ออกฤทธิ์โดยยับยั้งการเกิดสาร nitrate และ antioxidation[41,42] สาร nitrate โดยเฉพาะ nitrosodimethylamine เป็นสารที่ทำให้เกิดมะเร็งที่พบในบุหรี่

Oncogenes

ยีนมะเร็งเป็นยีนที่พบในเซลล์ปกติ เมื่อมีการทำหน้าที่ผิดปกติจะเปลี่ยนเซลล์ปกติให้เปลี่ยนเป็นเซลล์มะเร็งได้[43] ความผิดปกติของยีนส์มะเร็งในผู้ป่วยมะเร็งของศีรษะและคอที่สำคัญมีดังนี้

1. c-myc oncogene c-myc เป็นยีนส์ที่สร้างโปรตีน (c-myc oncoprotein) ที่พบใน nucleus ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมการเจริญเติบโตของเซลล์[44] ได้มีการใช้ c-myc antisense oligonucleotide ซึ่งเป็น DNA ที่สังเคราะห์ขึ้นให้มี complimentary base pairs ต่อ c-myc oncogenes ทำให้สามารถจับกับ c-myc oncogene และยับยั้ง gene transcription พบว่าการยับยั้ง c-myc gene transcription ด้วยวิธีนี้สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ squamous cell ได้แสดงว่ายีนc-myc มีหน้าที่เกี่ยวกับการเจริญเติบโตของเซลล์[45] เซลล์มะเร็งของศีรษะและคอมีการเพิ่มปริมาณของยีน c-myc และเพิ่มการสร้าง c-myc oncoprotein Field et al.(1989)[46] ศึกษาผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและช่องคอ พบว่าผู้ที่มีระดับของ c-myc oncoprotein ในเลือดสูงกว่า 0.91 P9/ug total protein จะมีพยากรณ์โรคที่เลว ความรู้เหล่านี้อาจนำใช้ในการพยากรณ์โรคและในการรักษาผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและ c-myc oncogene อาจเป็น molecular target สำหรับ gene therapy ในอนาคต

2. c-H-ras oncogene c-H-ras oncoprotein เป็น membrane-associated protein เกี่ยวข้องกับการส่งสัญญาณเข้าภายนอกเข้าไปสู่เซลล์เพื่อควบคุมการเจริญเติบโตของเซลล์ c-H-ras oncoprotein เมื่อจับกับ guanosine nucleotide triphosphate (GTP) จะกลายเป็น active form และจะถูกควบคุมการทำ

หน้าที่โดย enzyme GTPase activating protein (GAP) ซึ่งจะจับแล้วแยก GTP เปลี่ยนเป็น GDT ซึ่งเป็น inactive form[47] ความผิดปกติของยีนนี้ในมะเร็งของศีรษะและคอพบทั้งการขาดหายไปบางส่วนของยีน[48] และการเปลี่ยนแปลงของ DNA base pair แบบ point mutation ที่ตำแหน่ง codon 12, 13, 59, 61[49] เมื่อเกิดความผิดปกติในโครงสร้างของ ras oncogene ทำให้ ras ไม่อยู่ภายใต้การควบคุมตามปกติ ก่อให้เกิดการส่งสัญญานกระตุ้นการเจริญเติบโตของเซลล์อยู่ตลอดเวลา นอกจากนี้ยังพบว่า myc และ ras oncogenes ยังเกี่ยวข้องกับ การเกิด radioresistance[50] ซึ่งพออธิบายได้จากการที่ ras และ myc oncogene ร่วมกันเปลี่ยนเซลล์ปกติให้เป็นเซลล์มะเร็ง ดังที่ได้กล่าวในตอน multistage carginogenesis จึงเป็นไปได้ว่าทั้งสองอาจมีความร่วมมือในการควบคุมการเจริญเติบโตของเซลล์ร่วมด้วยรวมทั้งทำให้เกิด radioresistance นอกจากนี้ ras oncogene ยังสามารถกระตุ้นการทำงานของ DNA polymerase beta ซึ่งควบคุมการซ่อมแซมของ DNA หลังจากเซลล์ได้รับรังสีแล้ว[51] ดังนั้นเซลล์มะเร็งที่มีการซ่อมแซม DNAได้เร็วหลังจากการฉายรังสีก็จะรอดจากการทำลายด้วยรังสีรักษาได้ ผู้ป่วยมะเร็งปอดที่มี point mutation ของ ras oncogene[52] และผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและคอที่มีการเพิ่มปริมาณของ ras oncoprotein จะมีการพยากรณ์โรคที่เลว[53]

3. int-2, hst, bcl-1 oncogenes เป็นที่น่าสนใจว่าผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและคอ มีการเพิ่มจำนวนDNA บนโครโมโซม 11 (11 q 13))[54] ซึ่งเป็นตำแหน่งของ int-2[55], hst[56] และ bcl-1 oncogenes[57] รวมทั้ง glutathione s-transferase gene ที่เกี่ยวข้องกับการดื้อเคมีบำบัด[58] int-2 และ hst oncogene อยู่ใน fibroblast growth factor family สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของเซลล์หลายชนิดความสำคัญทางคลีนิคของการเพิ่มปริมาณของยีน เหล่านี้ในมะเร็งของศีรษะและคอยังไม่ทราบแน่ชัดการเพิ่มปริมาณยีนส์ int-2 และ hst ในมะเร็งทางหลอดอาหารเป็นพยากรณ์โรคที่เลว[56]

4. c-raf-1 oncogene Kasid et al. (1987)[59] รายงานการเพิ่มปริมาณของ c-raf-1 oncogene ในมะเร็งของกล่องเสียงมีความเกี่ยวข้องกับการเกิด radioresistance[59] ความเข้าใจเกี่ยวกับพยาธิกำเนิดของ radioresistance จะนำมาประยุกต์ใช้ทางคลีนิค เพื่อปรับปรุงการใช้รังสีรักษาในผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและคอให้มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

Growth factors

ความแตกต่างที่สำคัญระหว่างเซลล์มะเร็งและเซลล์ปกติของร่างกายคือ ความผิดปกติในการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งอย่างไม่หยุด ทำให้เกิดก้อนมะเร็งขึ้น ทำลายอวัยวะข้างเคียงแพร่กระจายไปสู่อวัยวะอื่นๆ และฆ่าผู้ป่วยในที่สุด การเจริญเติบโตที่ผิดปกติของเซลล์มะเร็งเกิดขึ้นจาก

1. Growth dysregulation เซลล์ปกติจะอยู่ภายใต้การควบคุมของ positive และ negative growth regulation positive growth control ที่สำคัญใน squamous cell ประกอบด้วย epidermal growth factor (EGF)[60] epidermal growth factor receptor (EGF-R)[61] และ transforming growth factor-alpha (TGF-)[62] ส่วน negative growth control ที่สำคัญในมะเร็งกลุ่มนี้คือ transforming growth factor-beta (TGF-)[63,64] มะเร็งที่มี positive growth control มากผิดปกติจะมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว การยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งอาจทำได้ที่ระดับ prereceptor เช่น การใช้ยา suramin ซึ่งออกฤทธิ์ด้วยการแยก growth factor ออกจาก receptor[65] อาจยับยั้งที่ระดับ receptor เช่น การใช้ antireceptor antibody[66] หรือยับยั้งที่ระดับ postreceptor ยับยั้งการส่งสัญญานที่กระตุ้นการเจริญเติบโตของเซลล์ signal transduction) เช่นใช้ protein kinase inhibitor[67] การใช้ยาที่ออกฤทธิ์เพิ่ม negative growth control เช่น retinoic acid ซึ่งเพิ่มระดับของ transforming growth factor-beta, ใน squamous cell[68] เป็นต้น

2. Dedifferentiation เซลล์มะเร็งมีลักษณะหลายอย่างคล้ายกับ stem cell ทำให้เชื่อว่าเซลล์มะเร็ง

มีความปกติในการยับยั้ง terminal differentiation หรือเกิด dedifferentiation กลับไปสู่ stem cell ซึ่งสามารถแบ่งตัวได้ตลอดเวลา[69] การใช้ differentiation agents เช่น retinoids ได้ถูกนำมาใช้ร่วมกับ interferon ในการรักษามะเร็งของผิวหนัง[70], ปากมดลูก[71], ศีรษะและคอ[72] หรือใช้อย่างเดียวใน acute promyelocytic leukemia[73] อย่างได้ผล

3. Immortalization เซลล์ปกติจะเจริญเติบโตถึงระยะหนึ่งแล้วจะตายไปด้วยขบวนการณ์ที่เรียกว่าprogrammed cell death (apoptosis)[74] ในเซลล์ มะเร็งจะพบความผิดปกติของขบวนการณ์นี้ ทำให้เซลล์ มะเร็งมีชีวิตอยู่ได้นานกว่าปกติ เช่น ผู้ป่วย nasopha-ryngeal carcinoma เกี่ยวข้องกับ epstein-barr virus (EB) EB virus จะกระตุ้น bcl-2 oncogene ซึ่งออกฤทธิ์ป้องกันการตายของเซลล์ (programmed cell death) สารที่กระตุ้น bcl-2 oncogene คือ late membrane protein สร้างโดย EB virus[75] ปัจจุบันพบว่าเคมีบำบัดหลายชนิดออกฤทธิ์ด้วยการทำให้เกิด programmed cell death ดังนั้นการเข้าใจถึงพยาธิกำเนิดของขบวนการณ์นี้จะช่วยในการพัฒนาการรักษามะเร็งโดยใช้ยาที่ออกฤทธิ์ที่จุดนี้ได้

Viral oncogenesis

ไวรัสที่เกี่ยวข้องกับมะเร็งของศีรษะและคอเท่าที่มีรายงานมีดังนี้

1. Epstein-Barr virus เป็นที่ทราบมานานแล้วว่า EB virus มีส่วนเกี่ยวข้องกับการเกิด nasopharyngeal carcinoma จากหลักฐานทางระบาดวิทยาคลีนิค seroepidermiology และ molecular epidermiology ซึ่งพบ viral DNA ในมะเร็ง[76] EB virus จะอยู่ในสภาพที่ไม่แบ่งตัว (latent form) ในผู้ป่วยได้เป็นเวลานานและถูกกระตุ้นให้เป็น active form ได้ด้วย phorbol ester ซึ่งเป็น tumor promotor พบในพืชและสมุนไพรหลายชนิดที่ใช้กันใน endemic area ของ nasopharyngeal carcinoma[77] ดังนั้นการหลีกเลี่ยงสารดังกล่าวอาจป้องกันการเกิด nasopharyngeal carcinoma ได้

2. Human papilloma virus ได้มีการตรวจพบ human papillomia viral DNA ในมะเร็งศีรษะและคอ[78] strain ที่ทำให้เกิดมะเร็งได้สูง (oncogenic strain) และมีการศึกษามากคือ HPV strain 16 และ 18 ไวรัสนี้จะสร้างโปรตีนที่ทำให้เกิดมะเร็ง[80] (transforming proteins) หลายชนิด ที่สำคัญคือ E6 และ E7[79] โปรตีน E6 จะจับกับ P53 protein และ E7 จะจับกับ retinoblastoma protein[81] ซึ่งในภาวะปกติจะยับยั้งเซลล์ไม่ให้เข้าสู่ cell cycle เมื่อ retinoblastoma protein ถูกจับโดย E6 และ E7 tranforming proteins จะทำให้เซลล์เข้าสู่ cell cycle และเกิดการเจริญเติบโตอย่างไม่หยุดยั้ง[82] ความรู้เกี่ยวกับ viral oncogenesis ได้ถูกนำมาใช้ในการรักษาผู้ป่วย มีการใช้ interferon ซึ่งเป็น antiviral agent และยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งได้[83] และ retinoic acid ซึ่งยับยั้งการสร้าง E6 และ E7 transforming proteins มาใช้รักษาผู้ป่วย squamous cell carcinoma ที่เกี่ยวข้องกับ human papilloma virus อย่างได้ผล[71]

Radiation biology

ปัจจุบันนี้ ได้มีการพัฒนาเทคนิคใหม่ ๆ ทางรังสีรักษาในผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและคอ โดยอาศัยความรู้จากการศึกษาวิจัยทาง tumor biology เทคนิคที่น่าสนใจพอจะสรุปได้ดังนี้

1. Concurrent chemoradiation เป็นการให้รังสีรักษาร่วมไปกับเคมีบำบัด การรักษาดังกล่าวมีผลดีหลายอย่างเช่น รังสีรักษาจะมีผลต่อเซลล์มะเร็งที่อยู่ในระยะการแบ่งโครโมโซม (G2-M phase) ส่วนเคมีบำบัดจะทำลายเซลล์มะเร็งในระยะอื่นเป็นต้นว่าระยะการสร้าง DNA (s-phase) เป็นการเสริมฤทธิ์ของการรักษา[84] นอกจากนี้เคมีบำบัดยังมีผลทำลายมะเร็งที่แพร่กระจายออกไปนอกบริเวณที่ฉายแสง (micro-metastasis) และช่วยทำลาย hypoxic tumor cells ซึ่งดื้อต่อรังสีรักษา[85]

2. Induction chemotherapy มะเร็งที่มี

ขนาดใหญ่ก็สามารถทำให้เล็กลงได้โดยการใช้เคมีบำบัดก่อนการฉายแสงรังสี ทำให้บริเวณเนื้อเยื่อปกติถูกรังสีน้อยลงเป็นการป้องกันภาวะแทรกซ้อนของรังสีต่อเนื้อเยื่อปกติ และยังอาจหลีกเลี่ยงการรักษาด้วยการผ่าตัดได้ (organ preservation) เช่น มะเร็งกล่องเสียง[86] ขนาดของก้อนมะเร็งที่เล็กลงด้วยเคมีบำบัดจะทำให้เลือดไปเลี้ยงเซลล์มะเร็งได้มากขึ้นเป็นการลดภาวะ hypoxia ที่ก่อให้เกิดการดื้อรังสีรักษาได้[87] และเคมีบำบัดยังช่วยป้องกันการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง (micrometastasis)

3. Hyperfractionation radiotherapy เป็นการเพิ่มความถี่ของการฉายแสงรังสีเพิ่มขึ้นกว่าconventional radiotherapy การใช้ความถี่ของรังสีรักษามากกว่าหนึ่งครั้งต่อวัน จะทำให้เซลล์มะเร็งที่อยู่ในระยะต่างๆ ของ cell cycle มีโอกาสเข้ามาสู่ระยะเดียวกันของ cell cycle ที่ตอบสนองต่อรังสีรักษา (cell cycle synchronization) การที่เซลล์ปกติสามารถซ่อมแซม DNAที่ถูกทำลายด้วยรังสีได้เร็วกว่าเซลล์มะเร็งทำให้การเพิ่มความถี่ของการให้รังสีรักษา โดยอาจลดปริมาณของรังสีในแต่ละครั้งจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของการทำลายเซลล์มะเร็งแต่ลดการทำลายเซลล์ปกติ (therapeutic ratio)[88]

4. Hyperthermia เป็นการเพิ่มอุณหภูมิของก้อนมะเร็งร่วมกับการฉายแสงรังสี จากการศึกษาพบว่าสภาพแวดล้อมภายในก้อนมะเร็ง (microenvironment) มีสภาพเป็นกรด[89] การเพิ่มอุณหภูมิร่วมกับภาวะที่เป็นกรด และการเปลี่ยนแปลงของ microcirculation ทำให้เซลล์มะเร็งถูกทำลายด้วยรังสีรักษาได้ง่ายขึ้น[90] กลไกลที่เซลล์มะเร็งถูกทำลายด้วยความร้อนดังกล่าวเชื่อว่าอาจเกิดจาก cell membrane damage, protein denaturation chromosome damage และการยับยั้งการปฏิกิริยาทางชีวะเคมีของเซลล์ โดยเฉพาะ calciam และ cyclic AMP disruption ทำให้การซ่อมแซม DNA การสังเคราะห์โปรตีน และการสร้างโครงสร้างของเซลล์ผิดปกติไป[91]

Immunobiology

จากการศึกษาภาวะภูมิคุ้มกันของผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและคอพบว่ามีการลดลงของ humeral และ cellular immunity สาเหตุที่ทำให้เกิดความผิดปกติดังกล่าวยังไม่ทราบแน่ชัด แต่มีหลักฐานที่แสดงว่าอาจเกี่ยวข้องกับบุหรี่[92] เหล้า[93] ภาวะโภชนาการที่ไม่ดี[94] และจากโรคมะเร็งเอง การเปลี่ยนแปลงทางภูมิคุ้มกันมีความสัมพันธ์กับมะเร็งของศีรษะและคอดังนี้

1. Humeral immunity Schantz et al. (1988)[96] พบว่าผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและคอในระยะที่เป็นมากจะมีระดับ IqA เพิ่มมากขึ้นรวมทั้งมีการลดอัตราส่วนของ helper/suppressor T-cell ปริมาณ IgA และจำนวน natural killer cells เป็นสัดส่วนกลับกับระยะการปลอดโรค (disease free survival) ปริมาณ IgA ในน้ำลายของผู้ป่วยมะเร็งของศีรษะและคอเพิ่มมากกว่าปกติ และระดับที่สูงขึ้นมีความเกี่ยวข้องกับการกลับเป็นใหม่ของโรค[97] ปริมาณ circulating immune complexes วัดด้วย C1q binding จะเป็นส่วนสัดกลับกับการตอบสนองต่อเคมีบำบัดความสัมพันธ์ดังกล่าวอธิบายได้จากการที่ปริมาณ circulating immune complexes บ่งถึงปริมาณของเซลล์มะเร็งที่มี (tumor burden) ดังนั้นผู้ป่วยที่มี imune complexes ต่ำจะมีจำนวนเซลล์มะเร็งน้อยทำให้ตอบสนองต่อเคมีบำบัดดีกว่า[98] หรืออาจเป็นเพราะ circulating immune complexes ยืนยันการตอบสนองของภูมิกันโรคมะเร็ง[99]

2. Cellular immunity ปริมาณ T-cell lymphocytes ลดลงในระยะหลังของมะเร็งศีรษะและคอ ผู้ป่วยที่มีจำนวน T8 suppressor cells ลดน้อยลงจะมีระยะปลอดโรค (disease free survival) น้อยลงด้วย[100] เมื่อวัด cellular immunity ด้วยการตรวจการตอบสนองของ peripheral lymphocytes ต่อ phytohemaglu tinin และ concanavalin พบว่าการตอบสนองลดลงเป็นสัดส่วนกันเป็นระยะ (stage) ของโรคมะเร็ง แต่ไม่เกี่ยวข้องกับอัตราเสี่ยงของการกลับเป็นซ้ำของโรค[101] ผู้ป่วยที่มีการทำงานของ natural killer

(NK) cell activity สูงขึ้นจะมีโรคที่เป็นเฉพาะที่และอัตราการปลอดโรคสูงกว่าผู้ที่มี NK cell activity ที่ต่ำกว่า[102] จะเห็นได้ว่าความรู้ทางภาวะภูมิคุ้มกันโรคของผู้ป่วยมะเร็งศีรษะ และคอสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการพยากรณ์และรักษาโรค เมื่อใช้ interferon ซึ่งออกฤทธิ์เป็น immunomodulator ได้มารักษาผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและคอ พบว่าผู้ป่วยที่มีการตอบสนองต่อการรักษาจะมีการเพิ่มขึ้นของหน้าของ NK cell ภายหลังการรักษาด้วย interferon[103] Forni et al. (1988)[104] รายงานการใช้ interleukin-2 ในการรักษาผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและคอที่เป็นมากจนผ่าตัดไม่ได้ 7 ราย พบว่าผู้ป่วย 5 ราย มีการตอบสนองต่อ IL-2 เฉพาะที่ของก้อนมะเร็ง และที่ต่อมน้ำเหลืองของผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและคอ ยังไม่มีการรายงานผลการรักษาดังกล่าว

กล่าวโดยสรุป มะเร็งของศีรษะและคอเป็นมะเร็งที่พบบ่อยในประเทศไทย ระยะต้นของโรค (stage I-II) สามารถรักษาได้ผลดีด้วยการใช้รังสีรักษาหรือการผ่าตัด ผู้ป่วยเหล่านี้มีอัตราเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งทุติยภูมิสูง ในขณะที่ผู้ป่วยระยะหลังของโรค (stage III-IV) จะมีปัญหาเกี่ยวกับการกลับเป็นซ้ำเฉพาะที่ของโรค และการแพร่กระจายของมะเร็งไปสู่ส่วนอื่นของร่างกาย การรักษาที่ได้ผลต้องสามารถควบคุมการเป็นซ้ำเฉพาะที่การแพร่กระจายของมะเร็งไปสู่ส่วนอื่นของร่างกาย และการป้องกันการเกิดมะเร็งทุติยภูมิ ความสำเร็จในการรักษาดังกล่าวจะทำให้ผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและคอมีอัตราการรอดชีวิตหลังการรักษาดีขึ้น ความรู้ทาง tumor biology เมื่อนำมาประยุกต์ใช้กับงานวิจัยทางคลีนิคจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการวินิจฉัยโรค (screening, diagnosis) การรักษา (treatment) การติดตามผู้ป่วยหลังการรักษา (follow-up monitoring) และการพยากรณ์โรค (prognosis) การรักษาผู้ป่วยกลุ่มนี้ต้องอาศัยความร่วมมือกับทางรังสีแพทย์, ศัลยแพทย์ และอายุรแพทย์ เพื่อเลือกการรักษาที่เหมาะสมกับผู้ป่วยแต่ละราย (multidisciplinary approach) ทั้งนี้การพัฒนาวิธีการรักษาผู้ป่วยเหล่านี้ต้องคำนึงถึงผลแทรกซ้อนของการรักษาที่จะมีต่อคุณภาพชีวิตของผู้ป่วย และควรทำภายในขอบเขตของการวิจัยทางคลีนิค ก่อนที่จะนำไปใช้ในผู้ป่วยทั่วไป

อ้างอิง

1. Tumor Registry Statistical Report, Chulalongkorn Hospital Bangkok:Chulalongkorn Hospital, 1981-1987.
2. Boring CC, Squires TS, Tong TT. Cancer Statistics 1991, CA 1991 Jan-Feb;41(1): 19-36
3. Million RR, Cassisi NJ, Clark JR. Cancer of the head and neck. In: DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA, eds. Cancer: Principle and Practice of Oncology.3rd ed Philadelphia: J.B. Lippincott. 1989: 488-590
4. Hong WK, Bromer R. Chemotherapy in head and neck cancer. N Eng J Med 1983 Jan 13;308(2):75-9
5. Pinto HA, Jacobs C. Chemotherapy for recurrent and metastatic head and neck cancer. Hematol Oncol Clin North Am 1991 Aug; 5(4): 667-86
6. Gluckman JL, Crissman JD, Donegan JO. Multicentric squamous cell carcinoma of the upper aerodigestive tract. Head Neck J Sci Special Head Neck 1980 Nov/Dec; 3(2):90-6
7. Snow GB, De Vries N, Van Zandwi jk N, Pinedo HM. Second primary cancers in the lung of head and neck cancer patients: a challenge. Eur J Cancer Clin Oncol 1987 Jun; 23(6):883-6
8. Shibuya H, Hisamitsu S, Shioiri S, Horiuchi S, Suzuki S. Multiple primary cancer risk in patients with squamous cell carcinoma of the oral cavity. Cancer 1987 Dec 15;

60(12):3083-6

9. Spitz MR, Fueger JJ, Beddingfield NA, Annegers JF, Hsu TC, Newell GR, Schantz SP. Chromosome sensitivity to bleomycin- induced mutagenesis, an independent risk factor for upper aerodigestive tract cancers. Cancer Res 1989 Aug 15;49(16):4629-8
10. Chan SH, Day NE, Khor TH et al. HLA markers in the development and prognosis of NPC in Chinese. In: Grundman E, Krueger GRF, Ablashi DV, eds. Cancer Campaign. Vol 5: Nasopharyngeal Carcinomas, Stuttgart, Gustav Fisher Verlag, 1981:205-211
11. Pardue ML. Dynamic instability of chromosomes and genomes. Cell 1991 Aug 9; 66(3):427-31
12. Heppner GH, Miller BE. Therapeutic implication of tumor heterogeneity. Semin Oncol 1989 Apr;16(2):91-105
13. Voravud N, Shin DM, Ro JY, Hong WK, Hittleman WN. Detection of DNA aneuploidy during multistage carcino-genesis. of head and neck tumor. (in preparation)
14. Dressler LG, Seamer LC, Owen MA, Clark GM, McGuire WL. DNA flow cytometry and prognotic factors in 1331 frozen breast cancer specimens. Cancer 1988 Feb1; 61(3): 420-7
15. Wijkstrom H, Tribukait B. Deoxyribonucleic acid flow cytometry in predicting response to radical radiotherapy of bladder cancer. J Urol 1990 Sep;144(3):646-50
16. Theriault RL, Hortobagyi GN. Decision of chemotherapy in breast cancer. (personel communication)
17. Shin DM, Voravud N, Ro JY, Lee JS, Cweren S, Hong WK, Hittelman WN. Sequential dysregulation of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) in head and neck carcinogenesis; a potential biomarker. J Natl Cancer Inst 1993;85(2):971-8
18. Chabner BA. Clinical strategies for cancer treatment: The role of drugs. In: Chabner BA, Collins JM, ed. Cancer Chemotherapy: Principles and Practice. Philadelphia, Philadelphia J.B. Lippincott 1st. ed. 1990:1-15
19. Slaughter DP, Southwick HW, Smejkal W. Field cancerization in oral stratified squamous epithelium: clinical implications of multicentric origin. Cancer 1953 Sep:6; 963-8
20. Vincent RG, Marchetta F. The relation of the use of tobacco and alcohol to cancer of the oral cavity, pharynx or larynx. Am J Surg 1963:105;501-5
21. Gardner GW. The pathology of head and neck cancer. Clin Oncol 1986 Nov;53(3): 435-55
22. Incze J, Vaughan CW Jr, Lui P, Strong MS, Kulapaditharom B. Premalignant changes in normal appearing epithelium in patients with squamous cell carcinoma of the upper aerodigestive tract. Am J Surg 1982 Oct: 144(4);401-5
23. Silverman S Jr, Gorsky M, Lozada F. Oral leukoplakia and malignant transformation: A follow up of 257 patients. Cancer 1984 Feb 1:53(3);563-8

24. Rabinovitch PS, Reid BJ, Haggitt RC, Norwood TH, Rubin CE. Progression to cancer in Barrett's esophagus in associated with genomic instability. Lab Invest 1989 Jan:60(1);65-71

25. Auerbach O, Stout AP, Hammond EC, Garfinkel L. Changes in bronchial epithelium in relation to cigarette smoking and in relation to lung cancer. N Engl J Med 1961 Aug 10:265;253-67

26. Voravud N, Shin DM, Ro JY, Hong WK, Hittleman WN. Increased polysomies of chromosome 7 and 17 during heading head and neck multistage tunmorigenesis. 1993 June 15;53:2874-83

27. Cooper JS, Pajak TF, Rubin P, Tupchong L, Brady LW, Liebel SA, Laramore GE, Marcial VA, Davis LW, Cox JD. Second malignancies in patients who have head and neck cancer: incidence, effect on survival and implications based on the RTOG experience. Int J Radiat Oncol Biol Phys 1989 Sept; 17(3):449-56

28. Parker RG, Enstrom JE. Second primary cancers of the head and neck following treatment of initial primary head and neck cancers. Int J Radiat Biol Phys 1988 Mar;14(3):561-4

29. Hong WK, Lippman SM, Itri LM, Karp DD, Lee JS, Schantz SP, Kramer AM, Lotan R, Peters LJ. Prevention of second primary tumors with isotretinoin in squamous-cell carcinoma of head and neck. N Eng J Med 1990 Sep 20;324(12):795-801

30. Land H, Parada LF, Weinberg RA. Tumerigenic conversion of primary fibroblasts requires at least two cooperating oncogenes. Nature 1983 Aug 18-24;304(5927): 596-602

31. Shin DM, Gimenez IJ, Lee JS, Nishioka K, Wargovich MJ, Thacher S, Lotan R, Slaga TJ, Hong WK. Expression of epithemal growth factor receptor, polyamine levels, ornithine decarboxylase activity, micro-nuclei, and transglulaminasenase I in a 7,12 dimethylbenz (a) anthracene - inducedter buccal pouch carcinogenesis model. Cancer Res 1990 Apr 15;50(8): 2505-10

32. Cheong N, Sohn HY, Shin DM, Hong WK, Hittleman WN. Cytogenetic changes associated with syrian hamster cheek pouch tumorigenesis induced by DMBA. Cancer Cytogenet 1989;41:251

33. Lee JS, Shin DM, Ro JY, Hong WK, Hittleman WN. Chromosomal instability, p53 expression, and retinoid response in oral premalignancy. Proc Am Soc Clin Oncol 1995 March;14;18 (Abstract No.28)

34. Gullick WJ. Inhibition of growth factor receptors. In:Carney D, Sikora K, eds. Gene and Cancer. Chichester, John Wiley & Sons,1990:264-73

35. Lippman SM, Kessler JF, Meyskens FL, Jr. Retinoids as preventive and therapeutic agents (part 1). Cancer Treat Rep 1987 Apr;71(4):391-405

36. Garewal HS, Meyskens FL, Killen D, Deeves D, iersch TA, Elletson H, Strogsberg A. Response of oral leukoplakia to beta carotene. J Clin Oncol 1990 Oct;8(10): 1715-20

37. Boone CW, Kelloff GJ, Malone WE. Identification of candidate cancer chemopreventive agents and their evaluation in animal models and human clinical trials: a review. Cancer Res 1990 Jan 1;50(1): 2-9

38. Stitch HF, Rosin MP, Hornby AP, Mathew B, Sankaranarayanan R, Nair MK. Re-mission of oral leukoplakia and micro-nuclei in tobacco/betel quid chewers treated with beta carotene and with beta carotene and with beta carotene plus vitamin A. Int J Cancer 1988 Aug 15; 42(2):195-9

39. Lippman SM. Low dose 13-cis-retinoic acid (13cRA) maintains remission in oral premalignancy: more effective than beta carotene in randomized trial. Proc Am Soc Clin Oncol 1990;9:59

40. Glass CK, Lipkin SM, Devary DV, Rosenfeld MG. Positive and negative regulation of gene transcription by a retinoic acid-thyroid hormone receptor heterodimer. Cell 1989 Nov 17;59(4):697-708

41. Cerutti PA. Proxidant states and tumor promotion. Science 1985 Jan 25;227(4685): 375-81

42. Shamberger RJ. Increase peroxidation in carcinogenesis. J Natl Cancer Inst 1972 May;48(5):1491-7

43. Bishop JM. The molecular genetics of cancer. Science 1987 Jan 16;235(4786):305-11

44. Spencer CA, Groudine M. Control of c-myc regulation in normal and neoplastic cells. Adv Cancer Res 1991;56:1-48

45. Pietenpol JA, Holt JT, Stein RW, Moses HL. Transforming growth factor betal suppression of c-myc gene transcription: role of inhibition of keratinocytes proliferation. Proc Natl Acad Sci USA 1990 May;87(10) :3758-62

46. Field JK, Spandidos DA, Stell PM, Vaughan ED, Evan GI, Moore JP. Elevated expression of the c-myc oncoprotein cor-related with poor prognosis in head and neck squamous cell carcinoma. Oncogene 1989 Dec;4(12):1463-8

47. Milburn MV, Tong L, deVos AM, Brunger A, Yamazumi Z, Nishimura S, Kim S-H. Molecular switch for signal transduction: structure differences between active and inactive forms of protoonco-gene c-ras protein Science 1990 Feb 23;247(4945):939-45

48. Sheng ZM, Barrois M, Klianeinks J, Micheau C, Richard JM, Riou G. Analysis of the c-Ha-ras -1 gene for deletion, mutation, amplification and expression in lymph nodes metastases of human head and neck carcinoma. Br J Cancer 1990 Sept; 62(3):398-404

49. Barbacid M. Ras genes. Ann Rev Biochem 1987;56:779-827

50. McKenna WG, Iliakis G, Weiss MC, Bernhard EJ, Muschel RJ. Increased G2 delay in radiation-resistant cells obtained by trans formation of primary rat embryo cell with the oncogenes H-ras and v-myc. Radiat Res 1991 Mar;125(3):283-7

51. Kedar PS, Lowy DR, Widen SG, Wilson SH. Transfected human beta-polymerase promoter contains a ras-responsive

element. Mol Cell Biol 1990 Jul;10(7): 3852-6

52. Mitsudomi T, Steinberg SM, Oie H, Mulshine JL, Phelps R, Viallet J, Pass H, Minna JD, Gazdur AF. ras gene mutation in non small cell lung cancers are associated with shortened survival irrespective of treatment level. Cancer Res 1991 Sept;51(18):4999-5002

53. Azuma M, Furumoto N, Kawamata H, Yoshida H, Yanagawa T, Yura Y, Harashi Y, Takegawa Y, Sato M. The relation of ras oncogene product p21 expression to clinicopathological status criteria and clinical outcome in squamous cell head and neck cancer. Cancer J 1987 Sept; 1(9):375-380

54. Lammie GA, Peters G. Chromosome 11q13 abnormalities in human. Cancer Cells. 1991 Nov;3(11):413-20

55. Somers KD, Cartwright SL, Schechter GL. Amplification of the int-2 gene in human head and neck squamous cell carcinomas. Oncogene 1990 Jun;5(6): 915-20

56. Kitagawa Y, Ueda M, Ando N, Shinozawa Y, Shimizu N, Abe O. Significance of int-2/hst-1 coamplification as a prognostic factor in patients with esophageal squamous carcinoma Cancer Res 1991 Mar 1;51(5):1504-8

57. Berenson JR, Yang J, Mickel RA. Frequent amplification of the bcl-1 locus in head and neck squamous cell carcinomas. Oncogene 1989 Sept;4(9): 1111-6

58. Waxman DJ. Glutathione S-transferase: role in alkylating agent resistance and possible target for modulation chemotherapy. Cancer Res 1990 Oct 15;50(20):6449-54

59. Kasid U, Pfeifer A, Weichselbaum RR , Dritschilo A, Merk GE. The raf-oncogeneis associated with the radiation resistance human laryngeal cancer. Science 1987 Aug 28;237(4818):1039-41

60. Weber RS, Pathak S, Frankenthaler R, Gallick GE, Sacks PG. Effect of epidermal growth factor (EGF) on a newly established head and neck carcinoma cell line. Otolaryngol Head Neck Surg 1988 Dec;99(6):567-73

61. Ishitoya J,Toriyama M, Kitamura K,Oguchi N, Asano K, Yamamoto T. Gene amplification ans over expression of EGF receptor in squamous cell carcinoma of the head and neck. Br J Cancer 1989 A pr;59(4):559-562

62. Fazekas - May , Suen JY, Yeh YC, Yeh HW, Milligan LB. Investigation of transforming growth factor alpha level as tumor marker in patients with advanced squamous cell carcinoma of head and neck. Head Neck 1990 Sept/Oct; 12(5): 411-6

63. Krieg P, Schnapke R, Furstenburger G, Vogt I, Marks F. TGF-betal and skin carcinogenesis: Antiproliferative effect in vitro and TGF-beta mRNA expression during epidermal hyperproliferation and multistage carcinogenesis. Mol Carcinogenesis 1991:4(2);129-37

64. Moses HL, Yang EY, Pietenpol JA. TGF-beta stimulation and in hibition of cell proliferation: new mechanistic insights. Cell 1990 Oct 19;63(2);245-7

65. Kilbourn RG, Suramin: New therapeutic concepts for old drug. Cancer Bull 1991 May-Jun:41(3);265-7

66. Mendelsohn J. The epithemal growth factor reeptors as a target for therapy with antireceptor monoclonal antibodies. Semin Cancer Biol 1990 Oct:1(5);339-44

67. Newman RA, Dogramatzis D. New cellular targets for chemotherapy. Cancer Bull 1991 May-Jun:43(3):246-52

68. Wakefield L, Kim SJ, Glick A, Winokur T, Colletta A, Sporn M. Regulation of transforming growth-beta factor subtypes by member of steroid hormone super-family. J Cell Sci Suppl 1990;13:139-148

69. Sparks RL, Seibel-Ross EI, Wier ML, Scott RE. Differentiation, transdifferentiation of BALB/c 3T3 T mesenchymal cells : potential significance in metaplasia and neoplasia. Cancer Res 1986 Oct;46(10): 5312-9

70. Lippman SM, Parkinson RP, Loretta M, Itri LM, Weber RS, Schantz SP, Ota DM, Schusterman MA, Krakoff IH, Gutterman JU, Honk WK. 13-cis-retinoic acid plus interferone-alpha: effective therapy for advanced squamous cell carcinoma of the skin. J Natl Cancer Inst 1992 Feb 19; 84(4):235-41

71. Lippman SM, Kavanagh JJ, Paredes-Espinoza M, Delgadillo-Madrueno F, Paredes-Caillas P, Hong WK, KrakoffIH. 13-cis-Retinoic acid plus interferone-alpha: Highly active systemic therapy for squamous cell carcinoma of the cervix. J Natl Cancer Inst 1992 Feb 19; 84(4): 241-245

72. Lippman SM,Kessler JF, AL-Sarraf M, Alberts DS, Von-Hoff DD, Loescher L, Meyskens PL. Treatment of advanced squamous cell carcinoma Invest. New Drugs 1988 Apr;6(1):51-56

73. Warrell RP Jr, Frankel SR, Miller WH Jr, Scheinberg DA, Itri LM, Hittelman WN, Vgas R, Tafuri A, Andreff M, Jakubowski A. Differentiation therapy of acute promyelocytic leukemia with tretinoin (all-trans-retinoic acid). N Engl J Med 1991 May 16:324(20);1385-93

74. Williams GT. Programmed cell death: apoptosis and oncogenesis. Cell 1991 Jun 28:65(7);1097-8

75. Henderson S, Rowe M, Gregory C, Croom-Carter D, Wang F, Longnecker R, Kieff E, Rickinson A. Induction of bcl-2 expression by Epstin-Barr virus latent membrane protein 1 protects infected B cell from programmed cell death. Cell 1991 Jun 28:65(7);1107-15

76. Simons MJ, Shanmugaratnam K. Biology of Ebstein-Barr virus (EBV) in relation to nasopharyngeal carcinoma. In: The Biology of Nasopharyngeal Carcinoma Geneva, UICC, 1982:26-45

77. Voravud N. Cancer in the Far East. In: Sikora K, Halnan KE,eds. Treatment of Cancer. 2nd ed. London, Chapman and Hall Medical, 1990:887-94

78. Ostrow RS, Zachow K, Weber D,et al. Presence and possible involvement of HPV DNA in premalignant and malignant tumor In: Howley PM, Broker TR, eds. Papillomaviruses: Molecular and Clinical Aspects. New York: Alan R Liss, 1985: 101-22

79. Watanabe S, Kanda T, Yoshiike K. Huma papillomavirus type 16 transformation of human embryonic fibroblasts requires expression of open reading frames E6 and E7. J Virol 1989 Feb;63(2):965-980. Scheffner M, Werness BA, Huibregtse JM, Levine AJ, Howley PM. The E6 oncoprotein encoded by human papilloma virus type 16 and 18 promotes the degradation of p 53. Cell 1990 Dec 21;63(6): 1129-36

81. Munger K, Werness BA, Dyson N, Phelps WC, Harlow E, Howley PM. Complex formation of human papilloma virus E7 protein with retinoblastoma tumor suppressor gene product. EMBO J 1989 Dec 20;8(13);4099-105

82. Pietenpol JA, Stein RW, Moran E, Yaciuk P, Schlegel R, Lyons RM, Pittelkow MR, Munger K, Howley PM, Moses HL. TGF-beta 1 inhibition of c-myc tranciption and growth in keratinocytes is abrogated by viral transforming proteins with pRB binding domains. Cell 1990 Jun 1;61(5):777-85

83. Pestka S, Langer JA, Zoon KC, Samuel CE. Interferons and their actions. Ann Rev Biochem 1987;56:727-77

84. Fu KK, Phillips TL. Biologic rationale of combined radiotherapy and chemotherapy. Hematol Clin 1991 Aug;5(4):737-51

85. Vokes EE, Awan AM, Weichselbaum RR. Radiotherapy with concomitant chemotherapy for head and neck cancer. Hematol Clin 1991 Aug;5(4):753-67

86. Dimery IW, Wendt CD, Kramer AM, Byers RM, Hong WK. The role of induction chemotherapy for organ preservation in laryngeal carcinoma. Cancer Treat Res 1990;52:209-22

87. Dische S. Hypoxia and local tumor control. Part 2. Radiother Oncol 1991;20 Suppl: 9-11

88. Toonkel LM. Advances in radiation therapy for head and neck cancer. Semin Surg Oncol 1991 Jan-Feb;7(1):38-46

89. Tannock IF, Rotin D. Acid pH in tumor and its therapeutic exploitation. Cancer Res 1989 Aug 15;49(16):4373-84

90. Reinhold HS, Endrich B. Tumor microcirculation as a target for hyperthermia. Int J Hyperthermia 1986 Apr-Jun;2(2): 111-37

91. Hill RP, Hunt JW. Hyperthermia. In: Tannock IF, Hill RP. eds. The Basic Science of Oncology. New York: Permamon Press, 1987:337-57

92. Silverman NA, Potvin C, Alexander JC Jr, Chretien PB. In vitro lymphocyte reactivity and T-cell levels in chronic cigarette smokers. Clin Exp Immunol 1975 Nov; 22(2):285-92

93. Palmer DL. Alcohol consumption and cellular immunocompetence. Laryngoscope 1978 Jan;88(1 pt 2) Supp 8:13-7

94. Law DK, Dudrick SJ, Abdou NI. Immunocompetence of patients with protein-calorie malnutrition. Ann Intern Med 1973 Oct;79(4):545-50

95. Lehane DE. Lane M. Immunocompetence of advanced cancer patients prior to chemotherapy. Oncology 1974;30(6):458-66

96. Schantz SP, Liu FJ, Taylor D, Beddingfield N, Weber RS. The relationship of circulating IgA to cellular immunity in head and neck cancers. Laryngoscope 1988 Jun;98(6 pt 1):671-8

97. Brown AM, Lally ET, Frankel A, Harwick RH, Davis LW, Rominger CJ. The association of the IgA levels of serum and whole saliva with the progression of oral cancer. Cancer 1975 Apr;35(4):1154-62

98. Schantz SP, Savage HE, Racz T, Liu FJ, Brown BW, Rossen RD, Hong WK. Immunologic determinants of head and neck cancer response to induction chemotherapy. J Clin Oncol 1989 Jul;7(7): 857-64

99. Hellstrom I, Sjogren HO, Warner GA, Hellstrom KE. Blocking of cell-mediated tumor immunity by sera from patients with growing neoplasms. Int J Cancer 1971 Mar 15;7(2):226-37

100. Wolf GT, Scmaltz S, Hudson J, Robin H, Stackhouse T, Peterson KA, Poore JA, McClatchey KD. Alterations in T-lymphocyte subpopulations in patients with head and neck cancer. Correlations with prognosis. Arch Otolaryngol Head Neck Surg 1987 Nov;113(11):1200-6

101. Wanebo HJ, Jun MY, Strong EW, Oettgen H. T-cell deficiency in patients with squamous cell carcinoma of the head and neck. Am J Surg 1975 Oct;130(4): 445-51

102. Schantz SP, Shillitoe EJ, Brown B, Campbell B. Natural killer cell activity and head and neck cancer: a clinical assesment. J Natl Cancer Inst 1986 Oct;77(4): 869-75

103. Vlock DR, Johnson JT, Myers E, Day R, Gooding WE, Whiteside T, Pelch K, Sigler B, Wagner R, Colao D. Preliminary trial of non-recombinant interferonealpha in recurrent squamous cell car cinoma of head and neck. Head Neck 1991 Jan-Feb;13(1):15-21

104. Forni G, Cavallo GP, Giovelli M, Benetton G, Jemma C, Barioglio MG, De Stafani A, Forni M, Santoni A, Modesti A. Tumor immunotherapy by local injection of interleukin-2 and non-reactive lymphocytes. Experimental and clinical results. Progr Exp Tumor Res 1988;32:187-212