



บทความปริทัศน์

ผลงานอาจารย์

ไวรัสเ็ปส์ไต้น์-บาร์ กับกาการเกิดโรคในกลุ่มโรคที-เซลล์

วิญญู มิตรานันท์¹

Epstein-Barr virus-associated peripheral T-cell proliferative disease

Mitarnun W.

Department of Pathology, Faculty of Medicine,

Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla, 90110, Thailand

E-mail: miwinyou@medicine.psu.ac.th

Songkla Med J 2006;24(4):347-368

Abstract:

Peripheral T-cell proliferative disease is a group of systemic diseases that exhibit considerable heterogeneity in clinical findings, morphologic pattern, immunology, and prognosis. The morphology of neoplastic T-cells varies from mature small lymphocytes to malignant lymphoid cells. Latent Epstein-Barr virus (EBV) infection of the peripheral T-cells is found in majority of cases. Inflammatory cytokines (such as tumor necrosis factor- α), which are secreted from EBV-infected T-cell and/or activated macrophages, are related to hemophagocytosis, severity of disease and outcome of patients.

Key words: *Peripheral T-cell proliferative disease, Epstein-Barr virus, tumor necrosis factor- α , hemophagocytosis*

¹พ.บ., American Board of Pathology; clinical and anatomical, อ.ว. (พยาธิวิทยาคลินิก) ศาสตราจารย์ ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา 90110
รับต้นฉบับวันที่ 21 ธันวาคม 2548 รับลงตีพิมพ์วันที่ 5 มิถุนายน 2549

บทคัดย่อ:

Peripheral T-cell proliferative disease (PTPD) เป็นกลุ่มโรคที่มีการเพิ่มจำนวนของลิมโฟไซต์ชนิด peripheral T-cell (monoclonal proliferation) อย่างมากในร่างกาย โรคกลุ่มนี้เป็น systemic disease ที่มีความหลากหลายทั้งอาการทางคลินิก การดำเนินโรค การพยากรณ์โรค และการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยา, peripheral T-cell ที่เพิ่มขึ้นอาจมีรูปร่างลักษณะเป็นลิมโฟไซต์ปกติไปจนกระทั่งเป็นลิมโฟไซต์ที่เป็นเซลล์มะเร็งชัดเจน การเกิดโรคมีความสัมพันธ์กับการติดเชื้อ Epstein-Barr virus (EBV) ไปยัง peripheral T-cell, การติดเชื้อเข้าใจว่าเป็นแบบ latent infection และต่อมาจะมีการพัฒนาไปสู่ lytic cycle ซึ่งเป็นผลทำให้มีการเพิ่มจำนวนไวรัสชนิดนี้อย่างมากในกระแสเลือด ความรุนแรงของโรคขึ้นอยู่กับสาร inflammatory cytokine ที่หลั่งมาจาก EBV-infected T-cell, สารเหล่านี้ได้แก่ tumor necrosis factor (TNF)- α ทำหน้าที่กระตุ้น macrophage ให้เกิดกระบวนการ hemophagocytosis ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญประการหนึ่งที่ทำให้ผู้ป่วยเสียชีวิต

คำสำคัญ: Peripheral T-cell proliferative disease, Epstein-Barr virus, Tumor necrosis factor- α , hemophagocytosis

บทนำ

ความก้าวหน้าทางวิทยาศาสตร์สุขภาพโดยเฉพาะผลของการศึกษาในระดับโมเลกุล ทำให้แพทย์และนักวิทยาศาสตร์มีความเข้าใจโรคต่าง ๆ มากขึ้น ความรู้ที่ได้รับนำไปสู่การป้องกันโรคและการรักษาโรคอย่างมีประสิทธิภาพ โรคบางอย่างยังเป็นปัญหาด้านสาธารณสุขและขาดความสนใจที่จะมีการศึกษาวิจัยอย่างจริงจัง ทั้งนี้เนื่องจากกลุ่มโรคดังกล่าวไม่ได้เป็นปัญหาของประเทศทางซีกโลกตะวันตก ไข้เรื้อรังที่ไม่ทราบสาเหตุก็เป็นโจทย์ข้อหนึ่งที่ท้าทายวงการแพทย์ของประเทศไทย ไข้เรื้อรังอาจเกิดจากโรคติดเชื้อ โรคที่เกิดจากความผิดปกติของระบบภูมิคุ้มกัน หรือโรคมะเร็ง บทความนี้จะชี้ให้ผู้อ่านเห็นว่า ไข้เรื้อรังอาจเกิดจากโรคทั้งสามดังกล่าวข้างต้นรวมกัน บทความแบ่งเป็น 3 ตอนคือ Epstein-Barr virus (โรคติดเชื้อ), T-cell, NK-cell, NK/T-cell (เซลล์ของระบบภูมิคุ้มกัน) และ Peripheral T-cell proliferative disease (โรคมะเร็ง), ผู้เขียนได้แสดงตัวอย่างผู้ป่วยรายหนึ่งหลังจากที่ท่านอ่านบทความนี้แล้ว ท่านก็จะทราบและเข้าใจอย่างลึกซึ้งเกี่ยวกับโรคของผู้ป่วยรายนี้

ตัวอย่างผู้ป่วย: ผู้ป่วยชายไทยมุสลิม อาชีพนักศึกษา อายุ 23 ปี อยู่ที่อำเภอท่าแพ จังหวัดสตูล ก่อนหน้านี้ผู้ป่วยมีสุขภาพสมบูรณ์ ไม่มีโรคประจำตัว และไม่เคยได้รับยาใด ๆ 2 เดือนก่อนมาโรงพยาบาลมีไข้สูงแบบไข้ขึ้นลงทุกวัน วัดอุณหภูมิร่างกายได้มากกว่า 40 องศาเซลเซียส ภายใน 2 เดือนผู้ป่วยมีน้ำหนักลดลงประมาณ 5 กิโลกรัม ผู้ป่วยไปพบแพทย์ที่โรงพยาบาลท้องถิ่น ได้รับยาลดไข้และยาปฏิชีวนะ ผู้ป่วยยังคงมีไข้อยู่ ต่อมาได้รับยา naproxyn ไซโคลดลทันทันที การตรวจร่างกายพบว่าไข้ 40 องศาเซลเซียส ต่อมาน้ำเหลืองบริเวณลำคอ 2 ข้างมีขนาดลำได้ประมาณ 1 เซนติเมตร จำนวนหลายต่อม ไม่พบผื่นหรือรอยโรค

ที่ผิวหนัง ตับมีขนาดโตลำได้ 6 เซนติเมตรต่ำกว่าชายโครงขวา และม้ามลำได้ 8 เซนติเมตรต่ำกว่าชายโครงซ้าย

ผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการมีดังนี้ hemoglobin = 8 g/dl, white blood cell count = 1,500 per mm³, with 4% atypical lymphocyte, 32% lymphocyte, 6% monocyte, 52% neutrophil, platelet count = 74,000 per mm³, malaria = negative, activated partial thromboplastin time = 34.5 sec (control = 27.6 sec), prothrombin time = 17 sec (control = 12.5 sec), total serum protein = 6.0 g/dl, albumin = 3.4 g/dl, total bilirubin = 2.7 mg/dl, direct bilirubin = 1.52 mg/dl, aspartate aminotransferase = 56 IU, alanine aminotransferase = 49 IU, alkaline phosphatase = 1,267 IU (reference = 30-120 IU), lactate dehydrogenase = 1,491 IU (reference = 230-460 IU)

ผลการตรวจทาง serology ของ HIV, HBC, HCV, HTLV-1, dengue virus, leptospirosis, melliodosis, scrub and murine typhus และ antinuclear antibody ให้ผลลบหรืออยู่ในเกณฑ์ปกติ ผลการตรวจทาง serology ของ Epstein-Barr virus infection พบว่า VCA-IgG = 1:80, EA-IgG = 1:40, anti-EBNA = negative

การเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียในเลือดและปัสสาวะให้ผลลบ, EBV viral load ในพลาสมา พบ EBV = 373,700 copies/ml (control = 0-2,000 copies/ml), ผลการตรวจทางพยาธิวิทยาของต่อมน้ำเหลืองจากบริเวณลำคอพบว่าเป็น reactive lymphoid hyperplasia with sinus histiocytosis และไม่พบ hemophagocytosis, ผลการตรวจไขกระดูก 2 ครั้งพบว่ามี 70% cellularity with erythroid hyperplasia, ไม่พบ hemophagocytosis, ร้อยละ

10 ของเซลล์ในไขกระดูกเป็น T-cell และพบ B-cell น้อยกว่าร้อยละ 1, การตรวจทางโมเลกุลพบ genome ของ EBV ทั้งใน T-cell และ B-cell ที่ไหลเวียนในกระแสเลือด ผู้ป่วยยังมีไข้สูงขึ้นลงตลอดเวลา มีตัวเหลืองตาเหลืองมากขึ้น มี prolonged coagulogram ที่รุนแรงขึ้น มีเลือดออกในทางเดินอาหาร มีอาการซีด และเสียชีวิต 2 เดือนต่อมา

Epstein-Barr Virus

Epstein-Barr virus (EBV) หรือที่เรียกว่า human herpesvirus 4 (HHV4) อยู่ใน subfamily "gammaherpesviruses" และใน genus "Lymphocryptovirus", ไวรัสชนิดนี้ประกอบด้วย DNA เป็นเส้นพันกัน 2 สาย (linear double stranded DNA) พันรอบแกนโปรตีน และหุ้มด้วยกลุ่มโปรตีนรูปก้อน nucleocapsid, รอบนอกห่อหุ้มโดย envelope ที่มี gp spike จำนวนมาก spike เหล่านี้คือ glycoprotein gp350/220 ที่ใช้จับกับ CD21 (CR2 ซึ่งเป็น complement C3d receptor) ที่อยู่บนผิวน้ำของเซลล์ของ host cell, ไวรัสนี้มีขนาดประมาณ 180-200 นาโนเมตร

Genome ของ EBV มีขนาดประมาณ 172 kb ส่วนปลายมี terminal repeat (TR) ขนาด 0.5 kb และภายในสาย DNA มี internal repeat (IR) ขนาดประมาณ 3 kb, IR มีอยู่ 4 บริเวณคือ IR-1, IR-2, IR-3 และ IR-4, EBV มียีนที่สามารถสร้างโปรตีนได้มากกว่า 100 ชนิด ในปัจจุบันเพียงร้อยละ 50-60 ของโปรตีนเหล่านี้ที่นักวิทยาศาสตร์ทราบหน้าที่การทำงาน

EBV แบ่งเป็น 2 strain ใหญ่ ๆ คือ type A (type 1) และ type B (type 2)¹⁻² การแบ่งนี้ขึ้นกับ sequence polymorphism ของยีนที่สร้างโปรตีน EBNA2 (Epstein-Barr virus nuclear antigen 2), EBNA3, EBNA4 และ EBNA6 โดยพบว่า type A มีความรุนแรงในการก่อโรคมะเร็งมากกว่า type B นอกจากนี้ยังมีการแบ่งเป็น substrain ของ EBV ตาม polymorphism ของยีนที่สร้างโปรตีน EBNA1, LMP1 และ Zebra, ในคนปกติหรือผู้ป่วยที่มีความบกพร่องของระบบภูมิคุ้มกันอาจพบการติดเชื้อ EBV หลาย strain หรือหลาย substrain

เมื่อเกิดการติดเชื้อครั้งแรกไปยัง B-cell จะเกิดกระบวนการ "Primary infection" B-cell ที่ติดเชื้อจะถูกกระตุ้นให้กลายเป็น B-cell blast, มีการเพิ่มทั้งจำนวนของ B-cell blast และจำนวนไวรัสที่อยู่ในนิวเคลียสของเซลล์ มีการสร้างโปรตีนของไวรัสชนิดต่าง ๆ ออกมามากมาย โปรตีนเหล่านี้จะกระตุ้นให้ CD3⁺ CD8⁺ cytotoxic T lymphocyte (CTL) มาทำลาย B-cell blast จนเกือบหมดสิ้น, B-cell blast บางตัวพยายามหนีการถูกทำลายโดยจะ

พัฒนาตัวเองไปเป็น centroblast, centrocyte และพัฒนาไปเป็น resting memory B-cell และเข้าสู่กระแสเลือด, resting memory B-cell ที่มี EBV อยู่ในนิวเคลียสในรูปของ episome (closed circular DNA) จะหยุดการสร้างโปรตีนของไวรัสเกือบทุกชนิด จึงทำให้หลุดรอดจากการทำลายโดย CTL ได้ resting memory B-cell ที่มี EBV อยู่ในนิวเคลียสจะมีชีวิตอยู่เป็นเวลานานหรือตลอดชีวิต ระยะของการติดเชื้อนี้เรียกว่า "Latency"

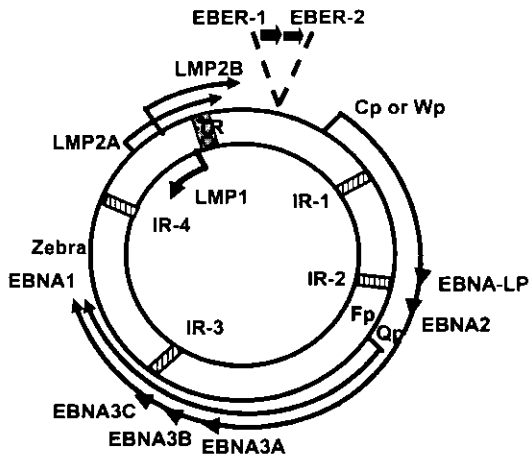
เมื่อมีการกระตุ้น resting memory B-cell ที่มี EBV ในนิวเคลียสด้วยสาเหตุใดก็ตาม resting memory B-cell จะพัฒนาไปเป็น plasma cell และมีการสร้างโปรตีนของไวรัสเกือบทุกชนิดออกมาเป็นจำนวนมาก มีการสร้างตัวไวรัส EBV ในรูปแบบของ linear double stranded DNA ออกมาจำนวนมากด้วย ระยะการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของไวรัสนี้เรียกว่าระยะวงจร "Lytic" รายละเอียดของหัวข้อเหล่านี้จะได้บรรยายในตอนต่อไป

โรคที่เกิดจากการติดเชื้อ EBV ส่วนใหญ่โดยเฉพาะอย่างยิ่งมะเร็งที่มีความสัมพันธ์กับการติดเชื้อ EBV จะอยู่ในระยะ latency โดยมี EBV อยู่ในนิวเคลียสของเซลล์มะเร็ง ส่วนใหญ่อยู่ในรูปของ episome ที่เกิดจากการเชื่อมต่อกันของ terminal repeat, มะเร็งน้อยชนิดพบมีการเชื่อมต่อกับ genome ของ EBV กับ genome ของ host cell ที่เรียกว่า "integrated form" การเพิ่มจำนวนของ EBV จะขึ้นกับการแบ่งเซลล์ของ host cell ซึ่งต้องอาศัย DNA polymerase จาก host cell ด้วย ตัวอย่างเช่น ใน Raji cell หนึ่งเซลล์มี EBV อยู่ 50 copies เมื่อ Raji cell แบ่งตัวเป็น 4 เซลล์แต่ละเซลล์ของ Raji cell ยังมี EBV อยู่ 50 copies เช่นเดิม การเพิ่มจำนวนไวรัสโดยกระบวนการ lytic แทบไม่เกิดขึ้นเลยในมะเร็งที่มีความสัมพันธ์กับการติดเชื้อ EBV ด้วยเหตุผลนี้มะเร็งที่มีความสัมพันธ์กับการติดเชื้อ EBV จะมี EBV ชนิดเดียวกันในทุกเซลล์มะเร็ง ในระยะ latency นี้มียีนของ EBV ประมาณ 10 ชนิดที่สามารถทำงานและสร้างโปรตีนได้ เรียกว่า "latent gene product" ระยะ latency แบ่งออกเป็น 3 ชนิด คือ latency I, latency II และ latency III ตามชนิดของการสร้าง latent gene product

Latent gene product ได้แก่ EBERs, EBNA1, EBNA2, EBNA3, EBNA4, EBNA5, EBNA6, LMP1, LMP2A, LMP2B และ BARF1, รูปที่ 1 แสดง episomal form ของ EBV และการสร้าง latent gene product จาก promoter (p) ในตำแหน่งต่าง ๆ

EBV-encode RNAs (EBERs): ประกอบด้วย EBER1 และ EBER2, เป็น RNA ที่มีคุณสมบัติคล้ายคลึงกับ tRNA, EBERs พบอยู่ในนิวเคลียสของเซลล์ที่ติดเชื้อโดยมีจำนวนอยู่

ระหว่าง 10^5 – 10^7 copies ต่อเซลล์หนึ่งเซลล์ เนื่องจากมีจำนวนมากในเซลล์ที่ติดเชื้อ จึงเป็นที่นิยมนำมาใช้ในการตรวจหา EBV genome โดยวิธี *in situ* hybridization (ISH), จากการศึกษาค้นคว้า EBERs ไม่สามารถสร้างโปรตีนได้ EBERs มีบทบาทในการก่อกำเนิด โดยจะไปยับยั้งการเกิด apoptosis ของเซลล์ที่ติดเชื้อไวรัส, EBERs พบในทุกชนิดของ latency แต่ไม่พบในระยะวงจร lytic และ primary infection



รูปที่ 1 แสดง EBV genome ของไวรัสที่เป็น episomal form, IR = internal repeat, TR = terminal repeat, -p = promoter region

EBV nuclear antigen 1 (EBNA1): เป็นโปรตีนที่สร้างจาก promoter 4 ตำแหน่งคือ Cp, Wp, Qp และ Fp (รูปที่ 1) ในระยะแรกของ primary infection จะสร้างมาจากตำแหน่ง Wp และต่อมาเมื่อเกิด B-cell transformation จะย้ายมาสร้างที่ตำแหน่ง Cp, ใน latency I สร้างมาจากตำแหน่ง promoter Qp, latency II จาก Cp/Wp และ Qp, สำหรับ latency III จาก promoter Cp/Wp,³ ส่วนในระยะวงจร lytic การสร้าง EBNA1 เริ่มที่ promoter Fp, EBNA1 เป็นโปรตีนที่มี Gly-Ala repeat มากจึงทำให้ CTL (CD8⁺ T-cell) ไม่สามารถเข้าไปทำลายเซลล์ที่มีโปรตีนชนิดนี้เกิด tolerance ในกระบวนการ cellular immunity, เซลล์ที่สร้างเฉพาะ EBNA1 (เช่น resting memory B-cell ที่มี EBV และอยู่ในระยะแบ่งเซลล์) สามารถอยู่รอดจากการถูกทำลายโดย CTL ได้ แต่การทำงานของกระบวนการ humoral immunity ยังเป็นไปตามปกติ EBNA1 เป็นโปรตีนที่พบในเกือบทุกระยะของการติดเชื้อ EBV โดยมันจะทำหน้าที่รักษาสภาพ genome ของ EBV ในขณะที่มีการแบ่งตัวของ host cell, เนื่องจาก EBNA1 มี immunogenicity ต่ำ มันจึงอยู่ใน host cell ได้อย่างสบาย

EBNA2: เป็นโปรตีนของไวรัสที่มีจุดเริ่มต้นสร้างจาก promoter Wp และ Cp ใน primary infection, EBNA2 เป็นโปรตีนของ EBV ตัวแรกที่ถูกสร้างขึ้นหลังจากไวรัสเข้าสู่นิวเคลียสของ B-cell, EBNA2 จะกระตุ้นให้มีการสร้าง EBNA5 (EBNA-LP) ตามมา ทำให้ B-cell เข้าสู่ระยะ G0-G1 transition และทำให้ B-cell พัฒนาไปเป็น B-cell blast นอกจากนี้ EBNA2 ยังกระตุ้นการสร้างโปรตีน LMP1

EBNA3 (EBNA3A), EBNA4 (EBNA3B), EBNA6 (EBNA3C): โปรตีนทั้ง 3 ชนิดนี้ มีจุดเริ่มต้นสร้างที่ promoter Wp และ Cp เช่นเดียวกับ EBNA2, โปรตีนกลุ่มนี้มีหน้าที่ในการควบคุมการสร้างโปรตีนของทั้ง host cell และ EBV ได้แก่ กระตุ้นการสร้าง CD21 บนผนังเซลล์ของ B-cell และกระตุ้นการสร้างโปรตีน LMP ของไวรัส เป็นต้น

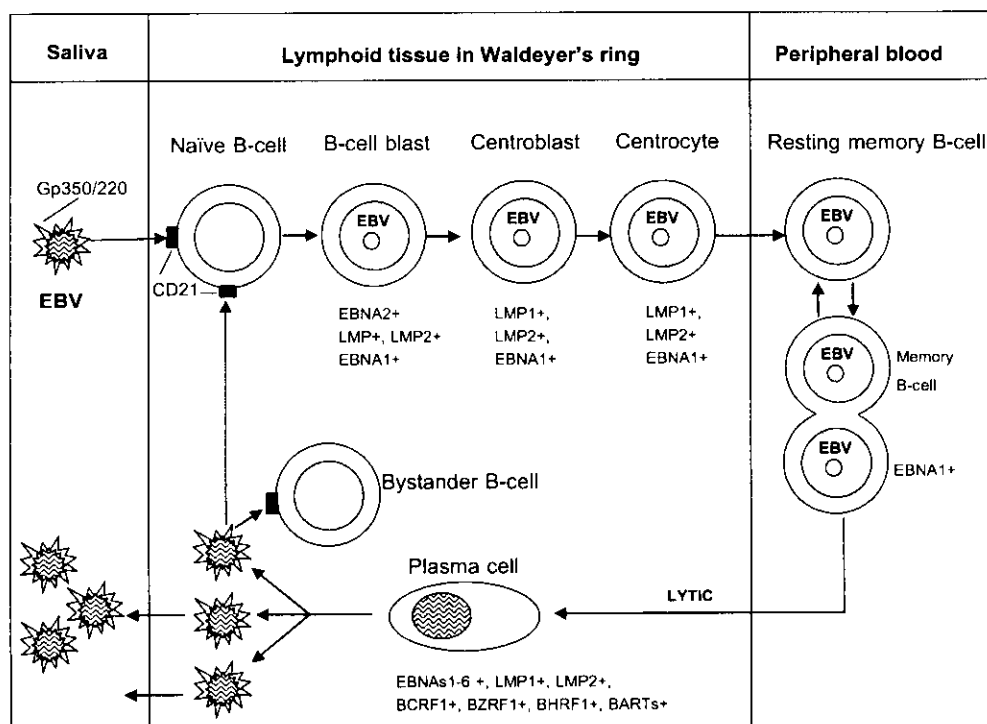
EBNA5 (EBNA-LP): เป็นโปรตีนของ EBV ที่ทำหน้าที่กระตุ้นการเพิ่มจำนวนของ B-cell และทำให้ B-cell เปลี่ยนไปเป็น B-cell blast

Latent membrane protein 1 (LMP1): เป็นโปรตีนที่มีความสัมพันธ์กับการเกิดมะเร็งในคน (carcinogen)⁴ โดยจะทำการยับยั้งกระบวนการ apoptosis ของ B-cell, กระตุ้นการหลั่ง IL-10 ซึ่งจะทำให้มีการเพิ่มจำนวนของ B-cell นอกจากนี้ยังทำหน้าที่คล้ายกับ tumor necrosis factor (TNF) receptor ในเซลล์คนและเป็นผลทำให้มีการเพิ่มจำนวน lymphocyte, LMP1 เป็นโปรตีนที่ไม่สามารถกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของ host แต่สามารถยับยั้งระบบภูมิคุ้มกันของ host ได้ มีรายงานจำนวนมากยืนยันว่า 30 bp deletion variant ของ LMP1 เป็นโปรตีนที่มีความสามารถก่อมะเร็งสูงกว่า LMP1 ชนิด wild type โดยเฉพาะมะเร็งต่อมน้ำเหลือง มะเร็งกระเพาะอาหาร และมะเร็งในโพรงหลังจมูก⁵⁻⁶

LMP2A, LMP2B: โปรตีนทั้ง 2 ตัวนี้จะสร้างได้ต่อเมื่อมีการ fusion ของ DNA ในบริเวณ terminal repeat (TR) ได้เป็น episome, ถ้าไวรัสอยู่ในรูป linear double stranded DNA หรือ integrated form จะไม่สามารถสร้างโปรตีน 2 ชนิดนี้ได้ เพราะการสร้าง mRNA ต้องผ่านบริเวณ TR, LMP2A เป็นโปรตีนที่ทำหน้าที่ป้องกันการกระตุ้นใดๆ ต่อ B-cell ที่ติดเชื้อ EBV ทำให้ B-cell ไม่สามารถเข้าสู่ระยะ lytic ได้ นอกจากนี้ยังทำหน้าที่ในการเพิ่มจำนวน B-cell, ส่วนโปรตีน LMP2B ทำหน้าที่ควบคุมสมดุลในการทำงานของ LMP2A

BARTs: เป็นโปรตีนที่พบในทุกชนิดของ EBV latency ทำหน้าที่กระตุ้นและเพิ่มการสร้างโปรตีน LMP1

ในการเปลี่ยนแปลงจากระยะ latency ไปสู่ระยะ lytic จะมีการสร้างโปรตีนอีก 3 กลุ่ม คือ immediate early gene product, early gene product และ late gene product



รูปที่ 2 แสดงการติดเชื้อ EBV ไปยัง B-cell แบบ primary infection, เข้าสู่ latency และการเกิด lytic cycle (ดัดแปลงมาจาก Middeldorp JM¹ และ Thorley-Lawson DA²)

⊗ = linear double stranded DNA, ○ = episomal form

Immediate early gene product ได้แก่ BZLF1 (Zebra), BRLF1, BRRF1 และ BILF4 โปรตีนเหล่านี้จะถูกสร้างขึ้นต่อเมื่อมีการเปลี่ยนจากระยะ latency เข้าสู่วงจร lytic

Early gene product ได้แก่ โปรตีน BHRF1 ทำหน้าที่คล้าย Bcl-2 คือยับยั้งกระบวนการ apoptosis และทำให้ epithelial cell แบ่งตัวเพิ่มจำนวน

Late gene product เป็นโปรตีนที่เกี่ยวกับโครงสร้างของไวรัส ได้แก่ viral capsid antigen-p18 (VCA-p18), VCA-p40 และ Gp 125 โปรตีนเหล่านี้สามารถกระตุ้น humoral immunity ได้อย่างมาก ทำให้ร่างกายสามารถสร้างแอนติบอดีได้ในปริมาณมาก มีการสร้าง spike protein Gp350/220 ที่ใช้จับกับ CD21 ของ host cell และยังมีการสร้างโปรตีน BCRF1 ที่มีคุณลักษณะและหน้าที่การทำงานคล้าย IL-10 ของมนุษย์

การติดเชื้อ EBV เข้าสู่เซลล์คนแบ่งออกเป็น 2 ระยะคือ primary infection และ latency

Primary infection, growth transformation of B-cell: ประชากรโลกส่วนใหญ่เคยติดเชื้อ EBV มาก่อนแล้ว จากการตรวจทาง serology พบว่าร้อยละ 97 ของคนไทยในภาคใต้เคยติดเชื้อนี้

มาก่อน⁷ การติดเชื้อในเด็กมักไม่มีการ แต่การติดเชื้อในคนหนุ่มสาวหรือผู้ใหญ่จะมีการรุนแรงและเกิดโรคที่เรียกว่า infectious mononucleosis, ผู้ป่วยที่มีความผิดปกติแต่กำเนิดโดยมีความบกพร่องในการสร้าง B-cell (x-linked agammaglobulinemia) ปริมาณ B-cell มีจำนวนน้อยมากจึงไม่สามารถติดเชื้อ EBV ได้ ผู้ป่วยโรค x-linked lymphoproliferative disease ที่มีความผิดปกติของการทำงานของ CTL เมื่อมีการติดเชื้อ EBV จะทำให้โรครุนแรงมากและเสียชีวิตได้ (fatal infectious mononucleosis)

ในการติดเชื้อครั้งแรก เมื่อไวรัสที่มีลักษณะเป็น linear double stranded DNA เข้าสู่ร่างกายทางช่องปาก การติดเชื้อจะเริ่มที่ naïve B-cell ในกลุ่มเซลล์น้ำเหลือง (lymphoid tissue) ของ Waldeyer's ring (รูปที่ 2), ไวรัสใช้ gp350/220 บน envelope ไปจับกับ CD21 บนผนังเซลล์ของ naïve B-cell, ไวรัสจึงเข้าสู่นิวเคลียสของเซลล์และเปลี่ยนรูปร่างเป็น episome, EBV จะสร้างโปรตีน EBNA2 เป็นตัวแรกและกระตุ้นการสร้าง EBNA5 ตามมา โปรตีนทั้ง 2 ตัว จะเปลี่ยน naïve B-cell ไปเป็น B-cell blast ที่มีการสร้างโปรตีน EBNA2, EBNA1, LMP1, LMP2 โปรตีน

ที่สร้างขึ้นมามี immunogenicity สูง จึงกระตุ้นให้ specific CTL ในกระแสเลือดมาทำลายเซลล์เหล่านี้ B-cell blast ที่รอดจากการทำลายจะมีการแบ่งตัว เพิ่มจำนวนและพัฒนาไปเป็น centroblast และ centrocyte ตามลำดับ เซลล์ 2 ชนิดหลังนี้มีโปรตีน EBNA1, LMP1 และ LMP2 ซึ่งยังจะถูกทำลายต่อไปโดย specific CTL, centrocyte บางเซลล์จะพัฒนาไปเป็น resting memory B-cell ที่มีไวรัสอยู่ในนิวเคลียส และออกจากกลุ่มเซลล์น้ำเหลืองเข้าสู่กระแสเลือด, resting memory B-cell ไม่มีโปรตีนของไวรัสชนิดใดปรากฏในเซลล์ (อาจพบว่ามี EBNA1, LMP2 ในปริมาณที่น้อยมาก) จึงไม่ถูกทำลายโดย CTL, เซลล์ที่มี EBV ในนิวเคลียสเหล่านี้จะอยู่ในกระแสเลือดเป็นเวลานานหรือตลอดชีวิต, resting memory B-cell ที่มี EBV ในนิวเคลียสของคนที่เคยติดเชื้อมาก่อนมีจำนวนไม่มาก พบประมาณ 1:10,000 ถึง 1:100,000 ของ memory B-cell ทั้งหมด แต่ในผู้ป่วยที่มีความบกพร่องของระบบภูมิคุ้มกัน อาจพบสูงเป็น 50 เท่าของคนปกติ

Latency: resting memory B-cell ที่มี EBV ในนิวเคลียส จะอยู่อย่างสงบและแบ่งตัวอย่างช้าๆ เมื่อมีการแบ่งตัวของ resting memory B-cell จาก 1 เซลล์เป็น 2 เซลล์ EBV ก็จะเพิ่มจำนวนตามสัดส่วนการแบ่งตัวของเซลล์ EBV สร้างโปรตีน EBNA1 เพียงชนิดเดียวในการเพิ่มจำนวนและอาศัยกระบวนการของ host cell ในการเพิ่มจำนวนของทั้ง host cell และ EBV, EBNA1 ไม่สามารถกระตุ้นระบบ cellular immunity, CTL จึงไม่สามารถทำลาย resting memory B-cell ที่ขยายจำนวนเหล่านี้ได้

EBV-infected resting memory B-cell ที่ไหลเวียนในกระแสเลือด ถ้าถูกกระตุ้นโดยสาเหตุบางประการ ก็จะมีการเคลื่อนย้ายจากกระแสเลือดไปยังกลุ่มเซลล์น้ำเหลืองเช่นที่ Waldeyer's ring และกลายเป็น plasma cell, plasma cell ที่ติดเชื้อ EBV ก็จะเข้าสู่วงจร lytic ทำให้มีการสร้างและปล่อย EBV ออกมาจำนวนมาก EBV ที่ถูกปล่อยออกมาซึ่งอยู่ในรูป linear double stranded DNA จะถูกขับออกมาพร้อมกับน้ำลายและสามารถติดเชื้อไปยังเซลล์อื่นหรือบุคคลอื่นได้ กระบวนการนี้จะเกิดขึ้นในกลุ่มเซลล์น้ำเหลืองเท่านั้น ในระยะวงจร lytic นี้ ไวรัสสามารถสร้างโปรตีนได้เกือบทุกชนิด

โดยสรุป โปรตีนที่ EBV สร้างขึ้นมามีผลต่อ host cell ทำให้เนื้อเยื่อของ host กลายเป็นมะเร็งโดยกระบวนการสำคัญ 4 ประการคือ¹ (1) ยับยั้งกระบวนการ apoptosis ของเซลล์ (2) เกิด genetic instability (3) กระตุ้นการแบ่งตัวของเซลล์ และ (4) ยับยั้งการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันเฉพาะที่ (local immune response)

โปรตีนที่ยับยั้งกระบวนการ apoptosis ของเซลล์ ได้แก่ BHRF1 ซึ่งทำหน้าที่คล้ายกับ Bcl-2 และโปรตีน LMP1 ทำหน้าที่

กระตุ้นการสร้าง Bcl-2 และ A20, โปรตีนทุกชนิดที่สร้างมาจาก EBV จะทำให้เกิด genetic instability ของ host cell โดยเฉพาะอย่างยิ่งคือโปรตีน EBNA1, โปรตีนที่กระตุ้นการแบ่งตัวของเซลล์ ได้แก่ EBNA2, EBNA5 ทำให้เกิด G0-G1 transition และยับยั้งการทำงานของโปรตีน p53 และ pRb ที่มาจาก host, โปรตีนของไวรัสที่ทำหน้าที่ยับยั้งการสร้างระบบภูมิคุ้มกัน ได้แก่ BCRF1 โดยจะทำหน้าที่คล้ายกับ IL-10 นอกจากนี้ยังพบว่าโปรตีน LMP1 ยังทำหน้าที่กระตุ้นการสร้าง IL-10 จาก host cell ด้วย

Epstein-Barr virus เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรค infectious mononucleosis และ fatal infectious mononucleosis^{8,9} มะเร็งที่มีความสัมพันธ์กับการติดเชื้อ EBV ได้แก่ nasopharyngeal carcinoma, gastric carcinoma, smooth muscle tumor ในผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันต่ำ, thymic carcinoma, Hodgkin's lymphoma, Burkitt's lymphoma, diffuse large B-cell lymphoma, posttransplant lymphoproliferative disorder, lymphoepithelioma ในอวัยวะต่างๆ, มะเร็งเต้านมในผู้ป่วยบางราย, hepatocellular carcinoma, peripheral T-cell lymphoma และ peripheral T-cell proliferative disease,^{1-2,7,10-18} โรค autoimmune บางชนิด พบว่ามีการสัมพันธ์กับการติดเชื้อ EBV ซึ่งได้แก่ rheumatoid arthritis, multiple sclerosis และ systemic lupus erythematosus²⁻¹⁹

ดังได้บรรยายในตอนต้นแล้วว่า มะเร็งที่มีความสัมพันธ์กับการติดเชื้อ EBV จะอยู่ในระยะ latency โดย EBV ที่อยู่ในนิวเคลียสของเซลล์มะเร็งส่วนใหญ่อยู่ในรูป episome และมีน้อยรายเป็น integrated form, การเพิ่มขึ้นของ EBV จะขึ้นอยู่กับการแบ่งเซลล์ของเซลล์มะเร็ง, EBV ไม่สามารถเพิ่มจำนวนโดยผ่านวงจร lytic ได้ (ข้อมูลนี้อาจไม่ถูกต้องโดยเฉพาะในกลุ่มโรค peripheral T-cell proliferative disease ซึ่งจะได้บรรยายในตอนท้ายของบทความนี้), EBV ที่อยู่ในเซลล์มะเร็งจะเป็น clone เดียวกันทั้งหมด การทำ clonality study ของ EBV โดยใช้ตำแหน่ง TR ช่วยยืนยัน monoclonality ของ EBV และแสดงว่า EBV เป็นสาเหตุของการเกิดโรคมะเร็ง ไม่ใช่การติดเชื้อฉวยโอกาสหลังจากการเกิดมะเร็งแล้ว ระยะ latency แบ่งออกเป็น 3 ชนิดคือ latency I, II และ III ตามชนิดของโปรตีนที่ EBV สร้างขึ้นมา ตารางที่ 1 แสดงชนิด latency, การสร้าง protein ของ EBV ชนิดต่างๆ กับความสัมพันธ์ของการเกิดโรคมะเร็ง

ทฤษฎีการเกิดชนิดของ EBV latency แสดงในรูปแบบที่ 3 ถ้ามีการ block ในตำแหน่ง "A" memory B-cell ที่กำลังแบ่งตัว ไม่สามารถกลับมาเป็น resting memory B-cell ได้ ทำให้ memory B-cell ที่สร้าง EBNA1 เพิ่มจำนวนและกลายเป็นมะเร็งชนิด latency I ดังที่พบใน Burkitt's lymphoma, ถ้าเกิดการ block ในตำแหน่ง "B" centrocyte ไม่สามารถพัฒนาไปเป็น resting

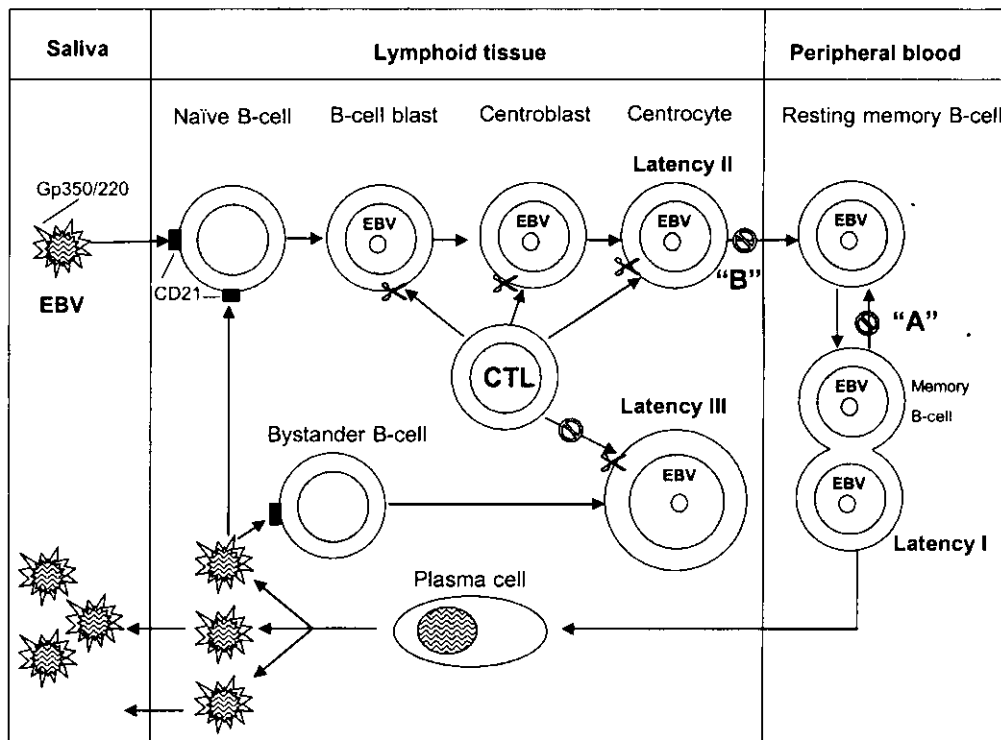
memory B-cell จึงทำให้เกิด EBV latency II ซึ่งมีการสร้างโปรตีน EBNA1, LMP1, LMP2A, LMP2B ตัวอย่างโรคได้แก่ Hodgkin's lymphoma, T-cell และ B-cell non-Hodgkin's lymphoma

สำหรับ latency III นั้นเชื่อว่าเกิดจากความผิดปกติในการทำงานของ CTL โดยเมื่อเกิดการติดเชื้อ EBV โดยบังเอิญไปยัง B-cell ที่อยู่ใกล้เคียง (bystander B-cell) ทำให้ B-cell

พัฒนาไปเป็น B-cell blast, CTL ไม่สามารถทำลาย B-cell blast ได้ จึงทำให้กลายเป็นเซลล์มะเร็ง, latency III นี้จึงพบ latent protein เกือบทุกชนิดได้แก่ EBNA1-6, LMP1, LMP2A, LMP2B, ตัวอย่างโรคได้แก่ posttransplant lymphoproliferative disorder

ตารางที่ 1 ชนิดของ EBV latency กับการสร้าง latent gene product และความสัมพันธ์กับโรคต่าง ๆ

Latency type	Latent gene product	Disease
I	EBERs, EBNA1, BARTs	Burkitt's lymphoma
II	EBERs, EBNA1, BARTs LMP1, LMP2A, LMP2B	Hodgkin's lymphoma; non-Hodgkin's lymphoma, T-cell and B-cell; Nasopharyngeal carcinoma
III	EBERs, EBNA1, BARTs LMP1, LMP2A, LMP2B EBNA2-6	Infectious mononucleosis; Posttransplant lymphoproliferative disorder; AIDS-related lymphoma
Others	EBERs, EBNA1, BARTs BARF1, EBNA1, BARTs	Gastric carcinoma Hepatocellular carcinoma



รูปที่ 3 แสดงทฤษฎีการเกิดชนิดต่าง ๆ ของ latency
✂ = Cellular immunity of CTL

EBV สามารถผ่านเข้าสู่ B-cell โดยผ่านทาง CD21 receptor ของ B-cell, ส่วนทางเข้าสู่เซลล์ของ EBV ใน epithelial cell และ T-cell ยังไม่ทราบแน่ชัด มีทฤษฎีมากมายเกี่ยวกับการเข้าสู่เซลล์ของ EBV ไปยัง epithelial cell, สำหรับ immature T-cell พบ CD21 บนผนังเซลล์ ส่วน mature T-cell พบ CD21 น้อยมาก ซึ่งมีปริมาณเพียง 10% ของ mature B-cell,²⁰ จากการศึกษาของผู้เขียนไม่พบ CD21 บนผนังเซลล์ของ neoplastic T-cell โดยวิธี immunohistochemistry¹⁸ การศึกษาเกี่ยวกับ EBV receptor บนผนังเซลล์ของ T-cell กำลังดำเนินการอยู่

การตรวจทางห้องปฏิบัติการ

Electron microscopy: การตรวจหาตัวไวรัส EBV จากตัวอย่างชิ้นเนื้อทำได้ยากและแทบไม่พบเลย ยกเว้นโรค oral hairy leukoplakia (OHL) ที่พบในผู้ป่วยโรคเอดส์จะพบ mature virion ของ EBV จำนวนมากในรอยโรค²¹

Serodiagnosis: เป็นการตรวจหาแอนติบอดีต่อ viral capsid antigen (VCA), early antigen-diffuse component (EA/D), early antigen-restricted component (EA/R), และ EBNA1-6

Anti-VCA; การตรวจหาแอนติบอดี ชนิดนี้ใช้แอนติเจนจาก cell line P3HR-1 หรือ B95-8 โดยตรวจหาแอนติบอดี VCA-IgM, VCA-IgG, และ VCA-IgA, VCA-IgM จะปรากฏอยู่ประมาณ 4 สัปดาห์หลังจากการติดเชื้อครั้งแรกแล้วจะหมดไป ส่วน VCA-IgG จะเป็น life-long antibody ซึ่งพบถึงร้อยละ 97 ของประชากรไทย โดยมีไตเตอร์สูงสุดที่ 1:160,⁷ VCA-IgG ไตเตอร์ที่สูงพบในผู้ป่วย nasopharyngeal carcinoma (NPC), และ peripheral T-cell and NK-cell proliferative disease,⁷ ส่วน VCA-IgA ไม่พบในประชากรทั่วไป แต่พบไตเตอร์ที่สูงในผู้ป่วย NPC และ Burkitt's lymphoma

Anti-EA; การตรวจหาแอนติบอดีชนิดนี้ใช้แอนติเจนจาก Raji cell โดยแอนติบอดี EA-IgG พบในประชากรไทยเพียงร้อยละ 10 และมีไตเตอร์สูงสุดที่ 1:20,⁷ anti-EA/D พบอยู่ประมาณ 6 เดือนหลังการติดเชื้อครั้งแรกแล้วจะหมดไป ส่วน anti-EA/R จะพบอยู่จนถึง 2 ปี ผู้ป่วย NPC พบว่ามี EA/D-IgG และ EA/D-IgA ไตเตอร์สูง ส่วนผู้ป่วย Burkitt's lymphoma ก็พบว่ามี EA/R-IgG ในไตเตอร์ที่สูงด้วย

Anti-EBNA; เป็นแอนติบอดีต่อ EBNA1-6 การตรวจหาแอนติบอดีนี้ใช้แอนติเจนจาก Raji cell, anti-EBNA จะเริ่มตรวจพบในเดือนที่ 2-3 หลังการติดเชื้อครั้งแรก มีไตเตอร์สูงสุด

ประมาณเดือนที่ 6 และจะเป็น life long antibody, ในประชากรไทย พบแอนติบอดีชนิดนี้ร้อยละ 83 และมีไตเตอร์สูงสุดที่ 1:80,⁷ anti-EBNA พบว่ามีไตเตอร์สูงในผู้ป่วย NPC ส่วนผู้ป่วย peripheral T-cell and NK-cell proliferative disease พบว่ามีไตเตอร์ใกล้เคียงกับประชากรทั่วไป

Immunohistochemistry study: เป็นการศึกษาหาโปรตีนของไวรัสที่อยู่ในเซลล์หรือเนื้อเยื่อโดยวิธี immunohistochemistry เพื่อให้ทราบถึงระยะต่างๆในการติดเชื้อ แอนติบอดีที่มีจำเพาะในท้องตลาดได้แก่แอนติบอดีต่อ EBNA1, EBNA2, LMP1, VCA, Zebra, และ EA/D

EBV genome detection: เป็นการตรวจหาว่ามีสารพันธุกรรม DNA ของ EBV ในตัวอย่างส่งตรวจโดยวิธี polymerase chain reaction (PCR), ห้องปฏิบัติการของผู้เขียนได้เลือกตำแหน่งที่จะตรวจ 2 ตำแหน่งคือ internal repeat-1 region (IR-1)²² และ LMP1 gene region,²³ สำหรับ IR-1 ใช้คู่ primers ตำแหน่ง E1:3(1087-1106), E2:3 (1196-1215) ได้ PCR product ขนาด 129 bp, LMP1 gene ได้ PCR product ขนาด 233 bp ในชนิด wild type และ 203 bp ในชนิด 30 bp deletion variant

EBV RNA study by in situ hybridization (ISH): เป็นการตรวจหา EBERs (EBER1 และ EBER2) ในนิวเคลียสของเซลล์โดยวิธี ISH²⁴ ดังที่ได้บรรยายในตอนต้นแล้วว่า EBERs พบในนิวเคลียสของเซลล์ในทุกชนิดของ latency จึงมีประโยชน์ในการตรวจหา EBV genome ในเนื้อเยื่อ และเซลล์มะเร็ง

Qualitative analysis of EBV genome in plasma: เป็นการศึกษาหา EBV genome ในน้ำเลือดว่ามีสารพันธุกรรม (genome) ของไวรัสชนิดนี้หรือไม่ สารพันธุกรรมที่พบเป็น complete mature virion (ไม่สามารถถูกย่อยโดย DNase I) หรือเป็น DNA ที่ถูกย่อยได้โดย DNase I,²⁵ การตรวจใช้วิธี PCR โดยใช้คู่ primers ตำแหน่ง IR-1 region, การตรวจโดยวิธีนี้สามารถบอกว่ามีสารพันธุกรรมของ EBV ในน้ำเลือดหรือไม่ และอยู่ในสภาพใด

Quantitative analysis of EBV in plasma by real time PCR method: เป็นการหาจำนวน copies ของ EBV ที่อยู่ในน้ำเลือดโดยวิธี real time PCR, ใช้ตำแหน่ง IR-1 region ของ EBV ในการตรวจหา และใช้ copies ของ EBV ที่อยู่ใน Raji cell เป็นตัวเปรียบเทียบ (Raji cell เป็น diploid cell line ที่มี 50 EBV genomes/cell),²⁶⁻²⁷ จากการศึกษาเบื้องต้นของคณะผู้เขียนพบว่าในคนปกติพบ EBV จำนวน 0-2,000 copies ต่อมิลลิลิตร แต่ในผู้ป่วย peripheral T-cell and NK-cell proliferative disease พบสูงถึง 10 ล้าน copies ต่อมิลลิลิตร

EBV เป็นสาเหตุโดยตรง หรือมีความสัมพันธ์สูงกับการเกิดโรคนานาชาติ โรคบางอย่างมีความสัมพันธ์กับการติดเชื้อ EBV ที่ไม่ชัดเจน ซึ่งต้องทำการศึกษาต่อไป บทความนี้จะบรรยายเฉพาะโรคที่ EBV เป็นสาเหตุโดยตรง หรือมีความสัมพันธ์สูงกับการเกิดโรคเท่านั้น

Infectious mononucleosis (IM): เป็นโรคที่เกิดจากการติดเชื้อ EBV แบบ primary infection ในเด็กโตหรือคนหนุ่มสาว เชื้อไวรัสที่อยู่ในน้ำลายจะติดเชื้อไปยังกลุ่มเซลล์น้ำเหลือง (lymphoid tissue) ที่อยู่รอบช่องปาก (Waldeyer's ring) ทำให้กลุ่ม B-cell ที่ถูกติดเชื้อมีการเพิ่มจำนวน (polyclonal B-cell expansion) และพัฒนาไปเป็น B-cell blast, โปรตีนของไวรัสที่ปรากฏในเซลล์ที่ติดเชื้อมีหลายชนิดคล้ายกับที่พบใน EBV latency III ซึ่งจะกระตุ้น CTL ในกระแสเลือดกลายเป็น activated CTL และมีการเพิ่มจำนวนของ activated CTL ด้วย, activated CTL เหล่านี้ก็คือ atypical lymphocyte ซึ่งพบในกระแสเลือดของผู้ป่วย IM, activated CTL จะไปทำลาย EBV-infected B-cell blast จนเกือบหมดสิ้น บางส่วนของ EBV-infected B-cell blast จะพัฒนาไปเป็น resting memory B-cell และเข้าสู่กระแสเลือด และบางส่วนจะพัฒนาไปเป็น plasma cell และเข้าสู่วงจร lytic ซึ่งมีการสร้างตัวไวรัส EBV ออกมามากมายและถูกขับออกมาพร้อมกับน้ำลาย จากการศึกษาของผู้เขียนพบว่าในระยะแรกของโรคพบสารพันธุกรรมของ EBV ใน peripheral blood B-cell และ T-cell (ไม่ได้ตีพิมพ์), เมื่อหายเป็นปกติแล้วพบว่าครึ่งหนึ่งของผู้ป่วยยังมีสารพันธุกรรมของ EBV ใน peripheral blood B-cell แต่ไม่พบใน T-cell เลย⁷ มีรายงานว่าประชากรที่เคยเป็น IM จะมีโอกาสเป็น Hodgkin's lymphoma เป็น 3 เท่าของประชากรที่ไม่เคยเป็น แต่ที่น่าประหลาดใจคือเป็น Hodgkin's lymphoma ชนิดที่ไม่มีความสัมพันธ์กับการติดเชื้อ EBV²⁸

Fatal infectious mononucleosis: หรือที่เรียกว่า x-linked lymphoproliferative syndrome^{1, 29} เป็นโรคทางพันธุกรรมที่มีความผิดปกติของยีนในตำแหน่ง q25 ของโครโมโซม X, ยีนนี้ควบคุมการสร้างโปรตีน signaling lymphocyte activating molecule (SLAM)-associated protein (SAP), เมื่อเกิด mutation ของยีนนี้ จะทำให้การทำงานของ T-cell และ B-cell มีมากผิดปกติ โดยทั่วไปผู้ป่วยที่มีความผิดปกติของยีนนี้จะไม่มีอาการ เมื่อเกิดการติดเชื้อ EBV แบบ primary infection โดยเฉพาะในเพศชายจะเกิดมีอาการรุนแรง, macrophage ถูกกระตุ้นให้กินและทำลายเซลล์เม็ดเลือด เกิดกลุ่มอาการที่เรียกว่า virus-associated hemophagocytic syndrome (VAHS), ผู้ป่วยส่วนใหญ่จะเสียชีวิต การรักษาโดยวิธีปลูกถ่ายไขกระดูกหรือ

โดยวิธี adoptive immunotherapy โดยใช้ CTL อาจทำให้ผู้ป่วยรอดได้ ผู้ป่วยที่มีชีวิตรอดเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งต่อมน้ำเหลืองตามมา

Chronic active Epstein-Barr virus infection (CAEBV): โรคนี้ส่วนใหญ่พบในเด็กโดยเฉพาะเด็กทางซีกโลกตะวันออก³⁰ และมีบางรายงานเป็นผู้ใหญ่ทางซีกโลกตะวันตก³¹ ผู้ป่วยมีอาการของการกลับเป็นซ้ำของ IM จำนวนหลายครั้ง (recurrent primary infection), มีแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสโดยเฉพาะ VCA-IgG และ EA-IgG ในโตเตอร์ที่สูงมาก อาการและสิ่งตรวจพบคือมีไข้เรื้อรัง ตับม้ามและต่อมน้ำเหลืองโต มีผื่นและเจ็บคอ บางรายตรวจพบว่ามี VAHS ร่วมด้วย ผู้ป่วยเกือบทั้งหมดเสียชีวิตภายใน 3 ปี มีรายงานว่าอาจอยู่ได้ถึง 8 ปี ผู้ป่วย CAEBV บางรายมีการพัฒนาไปเป็นโรคมะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิด peripheral T-cell lymphoma และ NK cell leukemia/lymphoma

Nasopharyngeal carcinoma (NPC): มะเร็งของ nasopharynx แบ่งเป็น 3 ชนิด คือ keratinizing squamous cell carcinoma, non-keratinizing squamous cell carcinoma และ undifferentiated carcinoma, มะเร็งกลุ่มนี้พบบ่อยในประชากรชายชาวเอเชีย โดยเฉพาะคนจีน ประชากรในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้และชาวเอสกิโม, NPC มีความสัมพันธ์กับการติดเชื้อ EBV และเชื่อว่า EBV เป็นสาเหตุของการเกิดมะเร็งกลุ่มนี้³² เกือบทุกรายของชนิด non-keratinizing squamous cell carcinoma และ undifferentiated carcinoma พบความสัมพันธ์กับการติดเชื้อ EBV, ทางเข้าของ EBVสู่ epithelial cell ยังไม่ทราบแน่ชัด จากประสบการณ์ของผู้เขียนไม่เคยพบ EBV-associated NPC กับ EBV-associated T-cell หรือ B-cell lymphoma ในผู้ป่วยคนเดียวกัน

Malignant lymphoma: จากการศึกษา malignant lymphoma ที่พบในต่อมน้ำเหลืองจากภาคใต้ของประเทศไทย ของผู้เขียนพบว่า มากกว่าครึ่งหนึ่งของมะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิด Hodgkin's lymphoma (HL) และ non-Hodgkin's lymphoma, T-cell (NHL-T) มีความสัมพันธ์กับการติดเชื้อ EBV, ความสัมพันธ์นี้พบน้อยในมะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิด non-Hodgkin's lymphoma, B-cell (NHL-B) ดังมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

Hodgkin's lymphoma³³ ความสัมพันธ์ของ HL กับ การติดเชื้อ EBV พบถึงร้อยละ 64 โดยพบว่า HL ชนิด mixed cellularity มีความสัมพันธ์สูงสุดถึงร้อยละ 95, จากการศึกษาพบว่า มี EBV genome ในนิวเคลียสของ Reed-Sternberg's cell ร้อยละ 60 และมี EBV genome ในนิวเคลียสของ background lymphocyte ถึงร้อยละ 61, รายงานนี้แสดงถึงการพบ EBV genome ทั้งใน

Reed-Sternberg's cell และ background lymphocyte ซึ่งต่างไปจากรายงานที่มาจากทางซีกโลกตะวันตกที่พบเฉพาะใน Reed-Sternberg's cell เท่านั้น

Non-Hodgkin's lymphoma, T-cell (NHL-T) ชนิดที่พบในต่อมน้ำเหลือง³³ พบ EBV genome ในเซลล์มะเร็งถึงร้อยละ 51 และทุกชนิดของ NHL-T มีอัตราการพบใกล้เคียงกันที่น่าสนใจคือการพบ EBV genome ถึง 100% ใน NHL-T ที่พบในโพรงจมูกและ nasopharynx ไม่ว่าจะเป็นชนิด NK/T-cell lymphoma หรือ peripheral T-cell lymphoma ชนิดอื่น ๆ³⁴ สำหรับความสัมพันธ์ของการติดเชื้อ EBV กับการเกิดโรคในกลุ่มโรค peripheral T-cell proliferative disease จะได้รายงานในส่วนท้ายของบทความนี้

Non-Hodgkin's lymphoma, B-cell (NHL-B) ชนิดที่พบในต่อมน้ำเหลือง³³ พบ EBV genome ในเซลล์มะเร็งของ NHL-B เพียงร้อยละ 13 โดยพบในชนิด diffuse large B-cell lymphoma (ร้อยละ 14.7) และ Burkitt's lymphoma (ร้อยละ 40) เท่านั้น, NHL-B ชนิดที่ไม่พบบ่อยและมีความสัมพันธ์กับการติดเชื้อ EBV ซึ่งมีรายงานในต่างประเทศและจากประเทศไทย ได้แก่ EBV-positive pyothorax-associated lymphoma (PAL)³⁵ posttransplant lymphoproliferative disorders,¹⁶ และ AIDS related lymphoma ซึ่งส่วนใหญ่เป็นชนิด Burkitt's lymphoma และ diffuse large B-cell lymphoma³⁶

Burkitt's lymphoma เป็น B-cell lymphoma ที่พบในผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันปกติและผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่อง ส่วนใหญ่พบในเด็กที่มีอายุน้อยกว่า 15 ปี ชายพบบ่อยกว่าหญิง 5-6 เท่า ในแหล่งที่มีการระบาดของ Burkitt's lymphoma เช่น อัฟริกา พบว่าร้อยละ 95 มีความสัมพันธ์กับการติดเชื้อ EBV, ในส่วนอื่นของโลกที่ไม่มีการระบาดพบความสัมพันธ์นี้เพียงร้อยละ 10-20, ร้อยละ 85 ของ Burkitt's lymphoma มีความผิดปกติทางโครงสร้างของโครโมโซมแบบ translocation t(8;14)(q24;q32) และร้อยละ 5-10 พบความผิดปกติแบบ t(2;8)(p12;q24) และ t(8;22)(q24;q21) ความผิดปกติเหล่านี้จะทำให้เกิด overexpression ของ c-myc oncogene, มีผู้ตั้งสมมุติฐานว่า EBNA1 กระตุ้นการทำงานของ RAG-1, RAG-2 ซึ่งจะทำให้เกิด translocation ดังกล่าวข้างต้น

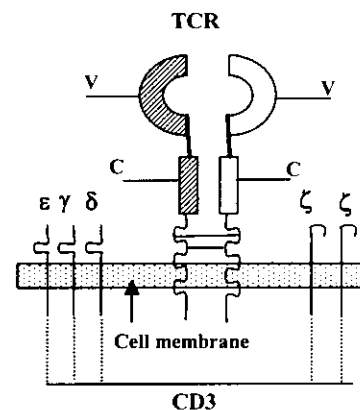
T-cell, NK-cell, NK/T-cell

T-cell: แบ่งออกเป็น helper T-cell (CD3⁺, CD4⁺), suppressor T-cell (CD3⁺, CD8⁺), และ cytotoxic T-cell (CD3⁺, CD8⁺), เซลล์กลุ่มนี้ทำหน้าที่เกี่ยวกับ cellular immunity และทำงานร่วมกับ B-cell ในการสร้าง humoral immunity

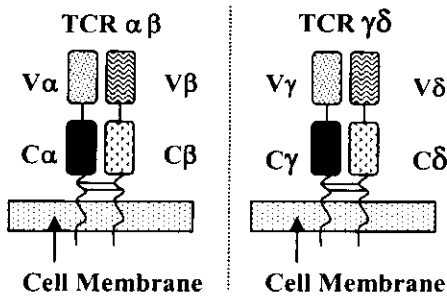
โมเลกุลที่พบอยู่บนผนังเซลล์ของ T-cell ได้แก่ CD1 (thymocyte differentiation marker), CD2 (sheep erythrocyte receptor), CD3 (โมเลกุลชนิดนี้ประกอบด้วยโปรตีน 5 สายคือ γ , δ , ϵ , ζ , η หรือ γ , δ , ϵ , ζ , η ซึ่งจะอยู่ร่วมกับ T-cell receptor), CD4 (helper T-cell marker), CD5 (T-cell marker), CD6 (FcR ของ T-cell), CD7 (T-cell marker), CD8 (suppressor and cytotoxic T-cell marker), CD25 (IL-2 receptor) และ CD45RO, สำหรับ CD21 ซึ่งเป็น EBV receptor พบได้ใน immature T-cell ส่วน mature T-cell พบได้ในปริมาณน้อยมาก²⁰ โดยทั่วไป โมเลกุลที่ใช้เป็นเครื่องหมายแสดงตัวของ T-cell คือ CD2, CD3, CD5, CD45RO

T-cell เกือบทุกชนิดมี T-cell receptor (TCR) อยู่บนผนังเซลล์โดยจะอยู่ร่วมกับ CD3 เป็น TCR:CD3 complex (รูปที่ 4), TCR ประกอบด้วย α chain และ β chain ยึดติดกันด้วย disulphide bond เป็น TCR $\alpha\beta$, อีกชนิดหนึ่งของ TCR ซึ่งประกอบด้วย γ chain และ δ chain ยึดติดกันเรียกว่า TCR $\gamma\delta$

รูปที่ 5 แสดงส่วนประกอบของ TCR $\alpha\beta$ และ TCR $\gamma\delta$ โดยแต่ละ chain ประกอบด้วย ส่วน constant part และส่วน variable part, constant part ของแต่ละ chain มี 1-2 แบบ โดยแต่ละแบบมีลักษณะโครงสร้างโมเลกุลคงที่ ส่วน variable part ของแต่ละ chain หลังจากเกิด gene rearrangement แล้วจะมีลักษณะโครงสร้างของโมเลกุลในแต่ละเซลล์ไม่เหมือนกัน, T-cell แต่ละเซลล์จะมีส่วน variable part ไม่เหมือนกันเลย, T-cell ใช้ส่วน variable part ของ TCR ในการจับกับแอนติเจนที่จำเพาะในกระบวนการสร้างระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย³⁷



รูปที่ 4 แสดง TCR ซึ่งประกอบด้วยส่วน variable part (V) และส่วน constant part (C) โดยมี CD3 รวมอยู่ด้วย รวมกันกลายเป็น TCR:CD3 complex



รูปที่ 5 แสดงส่วนประกอบของ TCR $\alpha\beta$ และ TCR $\gamma\delta$

V = variable part, C = constant part

Variable part ของ β chain และ δ chain สร้างมาจากยีน 3 กลุ่มคือ V (variable), D (diversity), และ J (joining), ส่วน α chain และ γ chain สร้างมาจากยีนเพียงสองกลุ่มคือ กลุ่ม V และกลุ่ม J, ตารางที่ 2 แสดง germline gene (ก่อนที่จะมี gene rearrangement) ของยีน TCR α , β , γ , δ , ยีนของ α chain และ δ chain อยู่ในตำแหน่งเดียวกันบนโครโมโซมคู่ที่ 14 ส่วนยีนของ β chain และ γ chain อยู่ต่างตำแหน่งกันบนโครโมโซมคู่ที่ 7, V, D, และ J แสดงจำนวนของยีนก่อนที่จะมี gene rearrangement ในส่วนของ variable part, C แสดงจำนวนของยีนในส่วน constant part

ตารางที่ 2 แสดง germline gene ของ T-cell Receptor

TCR gene	Chromosome	V	D	J	C
α	14q 11-12	70	0	61	1
δ	14q 11-12	8	3	4	1
β	7q 32-35	67	2	13	2
γ	7p 15	14	0	5	2

V = variable, D = diversity, J = joining, C = constant

กระบวนการ gene rearrangement ของยีนที่สร้างอิมมูโนโกลบูลิน ได้รายงานครั้งแรกในปี พ.ศ. 2526 โดย Susumu Tonegawa³⁸ ซึ่งทำให้ท่านได้รับรางวัลโนเบลสาขาแพทยศาสตร์ในปี พ.ศ.2530, ต่อมาเมื่อมีการพบกระบวนการ gene rearrangement ของ TCR gene ทำให้ได้ T-cell ที่มี TCR หลายหลาย มีจำนวนกว่าหลายสิบล้านชนิดในร่างกายคน, TCR แต่ละชนิดจะมีความจำเพาะในการจับกับแอนติเจนเพียงชนิดเดียว

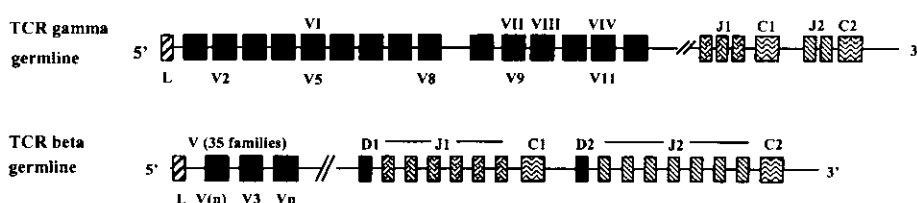
T-cell ที่มี TCR ชนิด TCR $\alpha\beta$ จะมี gene rearrangement ที่ต่อมธัยมัส โดยจะเริ่มมีการ rearrangement ของยีนที่ควบคุมการสร้าง β chain ก่อนเมื่อทารกในครรภ์มีอายุได้ประมาณ 15 สัปดาห์³⁹ ส่วน T-cell ที่มี TCR ชนิด TCR $\gamma\delta$ จะมี gene rearrangement ใน sinusoid ของตับของทารกในครรภ์เช่นกัน

รูปที่ 6 แสดง germline gene ของ γ chain gene และ β chain gene ก่อนเกิดกระบวนการ gene rearrangement, รูปที่ 7 แสดงตัวอย่าง gene rearrangement ของ beta chain gene จนได้ mRNA ที่สามารถสร้าง β chain ที่จำเพาะ

รูปที่ 8 แสดงพัฒนาการของ T-cell ในต่อมธัยมัสจาก pre T-cell ไปเป็น mature T-cell (peripheral T-cell) ที่ไหลเวียนในกระแสเลือด ส่วนการกำเนิดของ natural killer (NK)-cell และ NK/T-cell ยังไม่ทราบแน่ชัด คิดว่าคงพัฒนามาจาก pre T-cell และ/หรือ stage II thymocyte

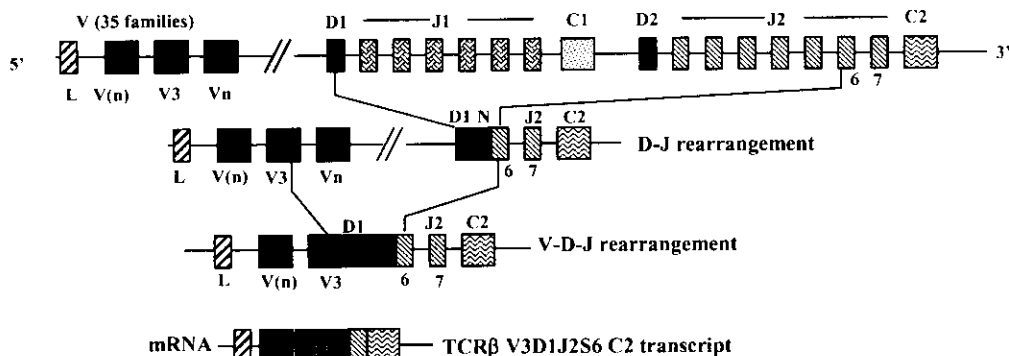
ปริมาณ T-cell ที่พบในที่ต่างๆมีดังนี้คือ ร้อยละ 60-70 ในกระแสเลือด, ร้อยละ 90 ในต่อมธัยมัส, ร้อยละ 50-60 ในม้าม, และร้อยละ 80 ในต่อมน้ำเหลืองโดยเฉพาะบริเวณ cortex ของ lymphoid follicle, ร้อยละ 95 ของ T-cell ที่พบในที่ต่างๆ เป็น T-cell ที่มี TCR $\alpha\beta$, ส่วน T-cell ที่มี TCR $\gamma\delta$ พบในเยื่อผนังลำไส้และเยื่อบุทางเดินหายใจ

Clonality study of T-cell: T-cell ชนิดที่มี TCR $\alpha\beta$ อยู่บนผนังเซลล์ นอกจากมี rearrangement ของ α chain gene และ β chain gene แล้ว ยังพบว่าการ rearrange ของ γ chain gene ด้วย ในทำนองเดียวกัน T-cell ชนิดที่มี TCR $\gamma\delta$ อยู่บนผนังเซลล์ก็พบว่าการ rearrange ของ β chain gene ด้วย⁴⁰

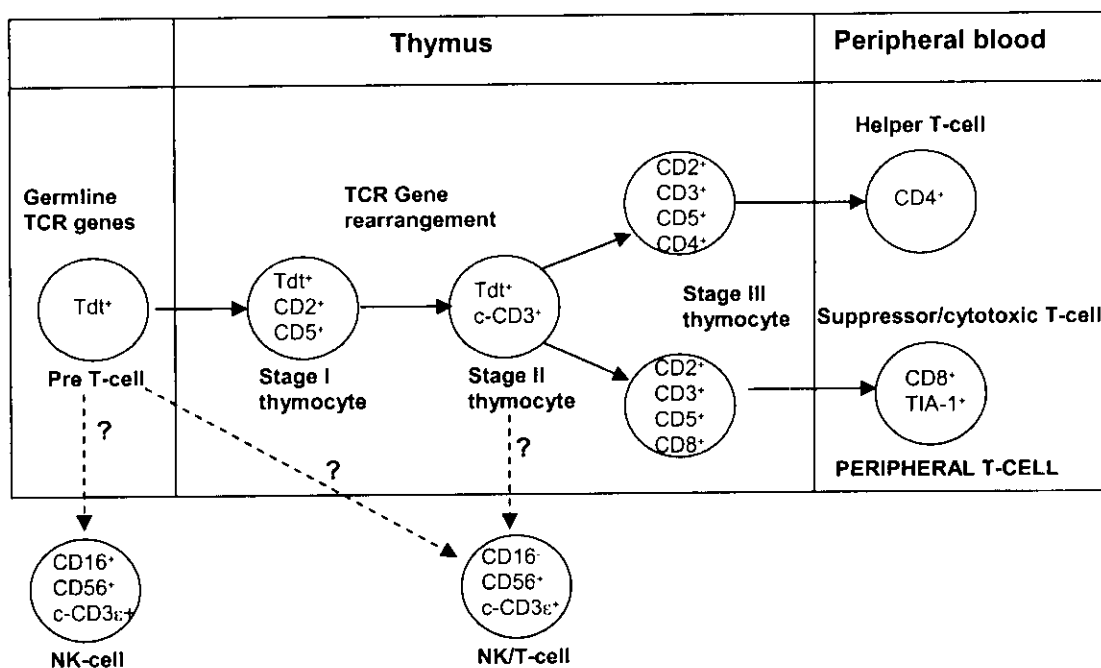


รูปที่ 6 แสดงกลุ่มยีนซึ่งเป็น germline gene ของ TCR γ และ TCR β

(L = leading, V = variable, D = diversity, J = joining, C = constant)



รูปที่ 7 แสดง gene rearrangement ของ TCRβ จนได้ mRNA ที่จำเพาะ
(L = leading, V = variable, D = diversity, J = joining, C = constant)



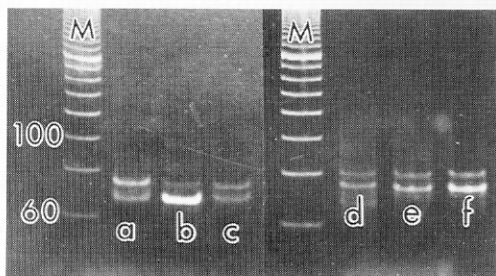
รูปที่ 8 แสดงพัฒนาการของ T-cell, NK-cell และ NK/T-cell

การศึกษาในระดับโมเลกุลของ TCR โดยวิธี polymerase chain reaction (PCR) สามารถบอกได้ว่า ตัวอย่างชิ้นเนื้อที่มียีน T-cell ที่นำมาศึกษา มีการ rearrange ของ TCR gene แล้วหรือยัง ถ้ามีการ rearrange แล้วยังสามารถบอกได้ว่ากลุ่ม T-cell นั้นมาจากหลาย clone (polyclonal proliferation) หรือเจริญมาจาก clone เดียว (monoclonal proliferation), neoplastic T-cell เป็น monoclonal proliferation ส่วน reactive T-cell และ T-cell ในต่อมน้ำเหลืองเป็น polyclonal proliferation

TCR gene ที่นิยมนำมาศึกษาหา clonality และ TCR gene rearrangement คือ β chain gene และ γ chain gene, ส่วน α

chain gene และ δ chain gene มีความยุ่งยากในลักษณะโครงสร้าง จึงไม่เหมาะสำหรับนำมาทำการศึกษา การศึกษานี้มีการออกแบบคู่ primer หรือกลุ่ม primer ที่เหมาะสม สามารถตรวจหา PCR product ได้ง่าย ห่องปฏิบัติการใช้ primer 3 คู่ จาก β chain gene ซึ่งได้แก่ D2+J2.3, D2+J2.6, และ D2+J2.7 โดย PCR product ที่ได้จะอยู่ในช่วง 55-100 bp,⁴¹ สำหรับการตรวจหา γ chain gene ใช้กลุ่ม primer VI+VIII/IV+J1/2 (PCR product = 70-95 bp), และ VII+J1/2 (PCR product = 150-180 bp)⁴² การแปลผล (รูปที่ 9) ถ้าไม่พบ PCR product เลยในทุกคู่ของ primer แสดงว่ายังไม่มี TCR gene rearrangement เป็น

germline gene ของ TCR, ถ้าพบเป็นแบบ smear ในช่วงของ PCR product ที่ระบุไว้ แสดงว่าเป็น polyclonal proliferation, แต่ถ้าพบเป็น 1 หรือ 2 band ที่คมชัดในช่วงของ PCR product ที่ระบุไว้ แสดงว่าเป็น monoclonal proliferation และ band ที่เกิดขึ้นนี้เรียกว่า monoclonal band, monoclonal T-cell ที่อยู่ปนกับ background T-cell ถ้ามีปริมาณ monoclonal T-cell มากกว่า ร้อยละ 5 ขึ้นไป ก็จะสามารถตรวจพบ monoclonal band ได้; PCR product ของ monoclonal band สามารถนำไปทำ DNA sequencing และนำไปเทียบกับ GenBank เพื่อยืนยันว่าเป็น product ของ TCR gene จริง ผู้เขียนเคยทำการศึกษาและพบ identity อยู่ระหว่างร้อยละ 97-100¹⁸



รูปที่ 9 แสดง monoclonal band ใน lane "a" ถึง lane "f" ของ TCR γ โดยใช้ primer V γ I+V γ III/IV + J γ 1/2, (M คือ 20 bp ladder marker)

NK-cell: แหล่งกำเนิด NK-cell ยังไม่ทราบแน่ชัด เข้าใจว่าพัฒนามาจาก pre T-cell (รูปที่ 8) เซลล์ชนิดนี้พบประมาณร้อยละ 5 ของ lymphocyte ที่ไหลเวียนในกระแสเลือด, NK-cell มีความใกล้เคียงกับ lymphocyte มาก แต่ไม่มี TCR และ surface immunoglobulin อยู่บนผนังเซลล์ และพบว่าไม่มีการ rearrange ของ TCR gene, เซลล์ชนิดนี้ไม่พบว่ามีโมเลกุล CD3 อยู่บนผนังเซลล์ แต่มี ϵ chain ของ CD3 ในไซโตพลาสซึม, NK-cell มีขนาดใหญ่กว่า T-cell และ B-cell, มี azurophilic granule ขนาดใหญ่จำนวนมากอยู่ในไซโตพลาสซึมจึงเรียกเซลล์นี้ว่า large granular lymphocyte (large granular lymphocyte; LGL, ที่ไหลเวียนในกระแสเลือดประกอบด้วยเซลล์สองประเภทคือ NK-cell และ CTL ซึ่งส่วนใหญ่เป็นประเภท NK-cell, CTL-LGL มี CD3/TCR complex บนผนังเซลล์ ส่วน NK-cell-LGL ไม่มี), บนผนังเซลล์ของ NK-cell มีโมเลกุล CD2, CD8, CD16, และ CD56, เครื่องหมายที่ใช้บอกว่าเป็น NK-cell คือ CD16 และ CD56

NK/T-cell: แหล่งกำเนิดของ NK/T-cell ยังไม่ทราบแน่ชัดเช่นกัน เข้าใจว่าพัฒนามาจาก pre T-cell หรือ stage II thymocyte (รูปที่ 8), เซลล์ประเภทนี้มีลักษณะบางอย่างคล้าย NK-cell และมีลักษณะบางอย่างคล้าย T-cell, phenotype ของ NK/T-cell คือ CD2⁺, cytoplasmic CD3 ϵ ⁺, surface CD3⁻, CD56⁺, granzyme B⁺, T-cell intracellular antigen1⁺, CD16⁻, CD4⁻, CD8⁻, TCR β ⁻, TCR δ ⁻, CD45R⁺, เซลล์ประเภทนี้มักพบ EBV genome ในนิวเคลียสเสมอ ตำราต่างประเทศระบุว่า NK/T-cell ไม่มีการ rearrange ของ TCR gene (มีแต่ TCR germline gene)⁴³ แต่จากการศึกษาของผู้เขียนพบว่า 2 ใน 3 ของเนื้องอก NK/T-cell lymphoma มี TCR γ gene rearrangement และเป็น monoclonal band ด้วย³⁴

Peripheral T-cell Proliferative Disease

ในระยะเวลา 20 ปีที่ผ่านมา อัตราการเกิดโรค non Hodgkin's lymphoma (NHL) ในจังหวัดสงขลาเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน โดยมี age-standardized rate (ASR) ต่อประชากรแสนคนต่อปีของทั้งเพศหญิงและชายเพิ่มจาก 1.1 เป็น 4.5 โดยมีสัดส่วนเพศชาย : เพศหญิง = 1.6:1 และพบว่า NHL ชนิด B-cell (NHL-B) พบบ่อยกว่า NHL ชนิด T-cell (NHL-T) ประมาณ 3 เท่า³³ ข้อมูลทางระบาดวิทยาของ NHL ในจังหวัดสงขลาใกล้เคียงกับรายงานจากภาคกลางของประเทศ⁴⁴

NHL-B ส่วนใหญ่พบในต่อมน้ำเหลือง ส่วน NHL-T มักพบอยู่นอกต่อมน้ำเหลือง (extranodal site) โดยทั่วไป NHL-T มีความรุนแรงมากกว่า NHL-B, ดังที่ได้บรรยายก่อนหน้านี้แล้วว่า NHL-T มีความสัมพันธ์กับการติดเชื้อ EBV มากกว่า NHL-B ทั้งๆที่การเข้าสู่เซลล์ของ EBV ไปยัง B-cell ง่ายกว่าไปยัง T-cell, จากประสบการณ์ของผู้เขียนพบว่า มวลของเนื้องอก NHL-T มีน้อยกว่า NHL-B มาก และส่วนใหญ่ไม่เป็นสาเหตุของการตายสาเหตุของการตายในผู้ป่วย NHL-T เชื่อว่ามาจากการหลั่ง inflammatory cytokine ซึ่งจะทำให้เกิดการแปรปรวนในระบบเลือดและอวัยวะสำคัญต่างๆ ดังจะได้บรรยายในตอนต่อไป

ในระยะเวลา 40 ปีที่ผ่านมา ได้มีการแบ่งชนิดของ NHL มากมายหลายแบบ มีความวุ่นวายและยุ่งยากมาก ทั้งนี้เนื่องจากแพทย์ทางโลหิตวิทยาและพยาธิแพทย์ยังขาดความรู้ในแนวลึกของโรคกลุ่มนี้ ในปี พ.ศ.2544 องค์การอนามัยโลกได้จัดการประชุมและแบ่งชนิดมะเร็งโรคเลือดรวมทั้งชนิดของ NHL⁴⁵ การจัดแบ่งชนิดของ NHL-B ก่อนข้างลงตัว ส่วนการจัดแบ่งชนิดของ NHL-T

ยังคงสับสนอยู่ ผู้เขียนคาดว่าคงมีการทบทวนการแบ่งชนิดของ NHL-T อีกเร็วๆ นี้ การศึกษากลุ่มโรค T-cell รวมทั้ง NHL-T ชนิดต่างๆ ต้องศึกษาจากผู้ป่วยแบบองค์รวม ต้องทราบทั้งประวัติ อาการและสิ่งตรวจพบจากผู้ป่วย ผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ การติดตามโรค แล้วจึงค่อยนำมารวมกับผลการตรวจทางจุลพยาธิวิทยา

องค์การอนามัยโลกได้แบ่งชนิดของ peripheral T-cell (mature T-cell) และ NK-cell neoplasm ออกเป็น 5 กลุ่ม จำนวนรวมกัน 16 ชนิด ได้แก่⁴⁵

กลุ่มที่ 1: กลุ่ม leukemia ได้แก่:-

- : T-cell prolymphocytic leukemia
- : T-cell large granular lymphocytic leukemia
- : Aggressive NK-cell leukemia
- : Adult T-cell leukemia/lymphoma (HTLV-I related)

กลุ่มที่ 2: กลุ่มที่มีรอยโรคเฉพาะที่ผิวหนัง หรือเกิดที่ผิวหนังเป็นแห่งแรก ได้แก่:-

- : Mycosis fungoides
- : Sezary syndrome
- : Primary cutaneous anaplastic large cell lymphoma
- : Lymphomatoid papulosis

กลุ่มที่ 3: กลุ่มที่พบรอยโรคในต่อมน้ำเหลืองเป็นแห่งแรก หรือเป็นส่วนใหญ่ ได้แก่:-

- : Angioimmunoblastic T-cell lymphoma
- : Peripheral T-cell lymphoma, unspecified
- : Anaplastic large cell lymphoma

กลุ่มที่ 4: กลุ่มที่มีรอยโรคนอกต่อมน้ำเหลืองเป็นแห่งแรก หรือเป็นส่วนใหญ่ ได้แก่ :-

- : Extranodal NK/T-cell lymphoma, nasal type
- : Enteropathy-type T-cell lymphoma
- : Hepatosplenic T-cell lymphoma
- : Subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma

กลุ่มที่ 5: กลุ่มที่ยังไม่ทราบแหล่งกำเนิดเซลล์มะเร็งที่ชัดเจน ได้แก่ :-

- : Blastic NK-cell lymphoma

โรคของ T-cell, NK-cell, NK/T-cell จำนวน 16 ชนิด ดังกล่าวข้างต้น เป็นโรคที่มีลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาที่เป็นเซลล์มะเร็งชัดเจน หรือได้มีการพิสูจน์แล้วว่าเป็นโรคที่พัฒนามาจาก clone เดียว ซึ่งตามความเป็นจริงแล้ว ยังมีผู้ป่วยอีกจำนวนหนึ่ง

ที่ไม่สามารถจัดเข้ากลุ่มโรสดังกล่าวข้างต้นได้ นอกจากนี้ยังพบว่าผู้ป่วยบางรายมีอาการ สิ่งตรวจพบและผลการตรวจทางจุลพยาธิวิทยาเข้าได้กับโรค T-cell หลายชนิดในผู้ป่วยคนเดียวกัน ผู้เขียนจึงได้บัญญัติศัพท์โรค T-cell ขึ้นมาอีก 1 กลุ่มที่เรียกว่า "Peripheral T-cell Proliferative Disease" ดังจะได้บรรยายในรายละเอียดต่อไป

Peripheral T-cell Proliferative Disease (PTPD) เป็นกลุ่มโรคที่มีการเพิ่มจำนวนของ peripheral (mature, post-thymic) T-cell หรือ NK/T-cell ในร่างกาย ซึ่งเกิดจากการติดเชื้อ EBV ไปยัง T-cell หรือเกิดจาก T-cell ที่ถูกกระตุ้นจากสาเหตุอื่น, peripheral T-cell คือ T-cell ที่ผ่านกระบวนการ rearrange ของยีน TCR ที่ต่อมธัยมัสแล้ว โรคกลุ่มนี้พบบ่อยในทวีปเอเชีย พบน้อยในประเทศทางซีกโลกตะวันตก กลุ่มโรค PTPD มีความหลากหลายมากทั้งอาการทางคลินิก การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยา การดำเนินโรค และการพยากรณ์โรค ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของ T-cell ที่พบมีตั้งแต่เป็นลิมโฟไซต์ที่มีลักษณะรูปร่างปกติ ไปจนกระทั่งเป็นลิมโฟไซต์ที่มีลักษณะเป็นเซลล์มะเร็งชัดเจน ผู้เขียนและคณะ (พ.ศ.2540)¹⁷ จึงได้ตั้งชื่อกลุ่มโรคนี้ว่า "Peripheral T-cell Proliferative Disease"

ประวัติความเป็นมา

Scott และ Robb-Smith (พ.ศ.2482)⁴⁶ ได้รายงานผู้ป่วยที่มีไข้ มีตับม้ามโต มี hemophagocytosis โดย histiocyte และเสียชีวิตอย่างรวดเร็ว จึงได้ตั้งชื่อโรคนี้ว่า Histiocytic Medullary Reticulosis (HMR) โดยเข้าใจว่าเป็นโรคของ histiocyte, 51 ปีต่อมา Robb-Smith ได้ยอมรับว่าโรคที่ท่านได้รายงานไป น่าจะเป็นโรคของ T-cell,⁴⁷ ในปี พ.ศ.2509 Henry Rappaport⁴⁸ ได้เรียกโรคนี้ว่า Malignant Histiocytosis (MH) โดยเข้าใจว่าเป็นโรคของ histiocyte เช่นกัน ประมาณ 30 ปีต่อมา⁴⁹ บรรดาลูกศิษย์ของท่านยังรุ่นที่จะใช้คำเดิมทั้งๆ ที่ทราบแน่ชัดแล้วว่าเป็นโรคของ T-cell ปัจจุบันชื่อโรคทั้ง 2 นี้ (HMR และ MH) ไม่ควรนำมาใช้อีกต่อไป ในปี พ.ศ. 2533 ผู้เขียนและคณะ⁵⁰ ได้รายงานอาการทางคลินิกและผลการตรวจทางพยาธิวิทยาของตับในผู้ป่วย 2 ราย ที่มีอาการดังกล่าวข้างต้น และได้เรียกชื่อโรคว่า "Intrahepato-cel-lular Erythrocyte Inclusions with Hepatic Sinusoidal Infiltrates and Splenomegaly" จากการศึกษาย้อนหลัง พบว่าผู้ป่วยในรายงานนี้เป็นโรคในกลุ่มโรค PTPD นั่นเอง

ชื่อโรคต่างๆ ในอดีตที่น่าจะเป็นกลุ่มโรค PTPD ได้แก่ tropical splenomegaly syndrome,⁵¹ non-tropical idiopathic splenomegaly (Dacie's syndrome),⁵² polymorphic reticulosis

หรือ lethal midline granuloma (angiocentric immunoproliferative lesion),⁵³ และ angioimmunoblastic lymphadenopathy with dysproteinemia⁵⁴ เป็นต้น

ระบาดวิทยาของกลุ่มโรค PTPD

กลุ่มโรค PTPD พบในเพศชายบ่อยกว่าเพศหญิงในอัตรา 1-4:1,^{7, 17-18} อายุที่พบมีตั้งแต่น้อยกว่า 1 ขวบ จนถึงมากกว่า 80 ปี ร้อยละ 15 พบในเด็กที่มีอายุน้อยกว่า 15 ปี⁷ ถึงแม้การศึกษาจะทำได้ในภาคใต้ แต่ผู้ป่วยที่พบมีถิ่นกำเนิดมาจากทุกภาคของประเทศ กลุ่มโรคนี้พบได้ตลอดทั้งปี อัตราการพบโรคนี้ในแต่ละเดือนมีค่าใกล้เคียงกัน อุบัติการณ์และความชุกของโรคยังไม่มีการศึกษา โรงพยาบาลสงขลานครินทร์ หาดใหญ่ ซึ่งเป็นโรงพยาบาลขนาด 800 เตียง พบผู้ป่วยกลุ่มโรคนี้ประมาณปีละ 40 ราย ซึ่งรวมทั้งผู้ป่วยที่ได้รับการส่งต่อเพื่อการวินิจฉัยโรคและรักษาจากสถานพยาบาลใกล้เคียง ผู้ป่วยมักได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคต่างๆ ได้แก่ ไข้เรื้อรังไม่ทราบสาเหตุ แพ้ยา การติดเชื้อในกระแสเลือด, ulcerative colitis, และการอุดตันทางเดินในระบบท่อน้ำดี เป็นต้น

อาการและสิ่งตรวจพบ

อาการที่สำคัญคือ ไข้ น้ำหนักลด อ่อนเพลีย เบื่ออาหาร ชีต มีจ้ำเลือด มีเลือดออกในทางเดินอาหาร มีตัวเหลืองตาเหลือง มีรอยโรคที่ผิวหนัง และมีอาการหอบ^{7, 17-18}

ไข้: มากกว่าร้อยละ 95 ของผู้ป่วยมีไข้ ไข้สูงเป็นพักๆ (ไข้ขึ้นลงคล้ายฟันเลื่อย) บางรายมีไข้สูงลอย อุณหภูมิของร่างกายอาจสูงถึง 42 องศาเซลเซียส บางรายมีไข้ต่ำๆ ผู้ป่วยมักมาพบแพทย์หลังจากมีไข้มาแล้วประมาณ 2-3 สัปดาห์ เป็นไข้เรื้อรังที่ไม่ทราบสาเหตุและไม่ตอบสนองต่อยาลดไข้ธรรมดาและยาปฏิชีวนะเมื่อให้ยากลุ่มสเตียรอยด์หรือ NSAID โดยเฉพาะยา naproxen แก่ผู้ป่วย ไข้จะลดลงทันที การตรวจหาสาเหตุจากการเพาะเลี้ยงเชื้อและการตรวจทาง serology มักให้ผลลบ ข้อควรระวังคือผู้ป่วยบางรายอาจมีโรคติดเชื้ออื่นร่วมด้วยหรือติดเชื้อฉวยโอกาส ได้แก่ tuberculosis, histoplasmosis, aspergillosis, salmonellosis และ typhus เป็นต้น

น้ำหนักลดลงพบประมาณร้อยละ 40 ของผู้ป่วย โดยจะมีน้ำหนักลดลงอย่างรวดเร็ว ส่วนมากลดลงมากกว่า 5 กิโลกรัมภายในหนึ่งเดือน น้ำหนักลดมักเกิดขึ้นพร้อมกับการมีไข้ ส่วนหนึ่งของน้ำหนักลดเกิดจากการเบื่ออาหาร

ร้อยละ 80 ของผู้ป่วยพบว่าชีต ร้อยละ 50 มีต่อมน้ำเหลืองโตแต่มีขนาดโตไม่มาก ประมาณ 1-2 เซนติเมตร พบได้ในบริเวณลำคอ รักแร้ ขาหนีบ และในช่องท้อง ร้อยละ 75 พบว่ามีตับโต ผู้ป่วยบางรายมีตับโตมาก ร้อยละ 50 พบว่ามีม้ามโต บางรายม้ามมีน้ำหนักมากกว่า 2 กิโลกรัม ในระยะแรกของโรคมักไม่พบว่ามีตัวเหลือง แต่ในระยะท้ายของโรคพบตัวเหลืองตาเหลืองถึงร้อยละ 50 ของผู้ป่วย

รอยโรคที่ผิวหนังพบประมาณร้อยละ 25 ของผู้ป่วย ชนิดของรอยโรคพบได้ทุกรูปแบบ ได้แก่ maculopapular rash, exfoliative dermatitis, patch, plaque, papule, nodule, nodule with necrotic center, panniculitis, thrombophlebitic pattern, ulcer และ large necrotic ulcer

รอยโรคที่ส่วนกลางของใบหน้าพบประมาณร้อยละ 10 ของผู้ป่วย อาจพบเป็นก้อนในโพรงจมูก เป็นแผลเรื้อรังในจมูกและเพดานปาก บางครั้งพบเพดานปากทะลุ รอยโรคอาจพบได้ในอวัยวะอื่น ได้แก่ ทางเดินอาหาร สมอ ต่อมมดลูก เป็นต้น

การตรวจทางห้องปฏิบัติการ

การตรวจเลือดพบว่าร้อยละ 80 ของผู้ป่วยมีฮีโมโกลบินต่ำกว่า 10 กรัมต่อเดซิลิตร ร้อยละ 40 มีเม็ดโลหิตขาวต่ำกว่า 5,000 เซลล์ต่อลูกบาศก์มิลลิเมตร และร้อยละ 45 มีเกร็ดเลือดต่ำกว่า 100,000 ต่อลูกบาศก์มิลลิเมตร, pancytopenia พบประมาณ 1 ใน 3 ของผู้ป่วย¹⁸ ร้อยละ 70 ของผู้ป่วยพบ atypical lymphocyte ซึ่งมีตั้งแต่ ร้อยละ 1 จนถึงร้อยละ 40 ของเม็ดโลหิตขาวทั้งหมด, atypical lymphocyte ที่พบแตกต่างไปจากที่พบในโรค infectious mononucleosis และโรคติดเชื้อไวรัสอื่นๆ คือเป็นลิมโฟไซต์ที่มีขนาดใหญ่ ชัยโตพลาสซึมมีมากและติดสีน้ำเงินเข้ม อาจพบแกรนูโลในชัยโตพลาสซึมบ้าง นิวเคลียสมีรูปร่างหยักพับ และบางครั้งอาจพบนิวคลีโอไลต์ด้วย, atypical lymphocyte เหล่านี้จะเป็น activated CTL หรือ EBV-infected T-cell

ผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการที่สำคัญคือ การเพิ่มขึ้นของเอนไซม์ alkaline phosphatase (ALP) และเอนไซม์ lactate dehydrogenase (LDH) ในกระแสเลือด ผู้ป่วยเกือบทุกรายมีการเพิ่มขึ้นของเอนไซม์ ALP การเพิ่มขึ้นมีตั้งแต่เพิ่มเล็กน้อยไปจนถึงมากกว่า 10 เท่าของคนปกติ ระดับของเอนไซม์ ALP อาจมีการขึ้นลงเป็นช่วงๆ การตรวจครั้งแรกอาจพบว่ามียาระดับปกติ แต่การตรวจครั้งต่อมาอาจพบว่าสูง หรือเป็นไปในทางตรงข้ามก็ได้ การเพิ่มขึ้นของเอนไซม์ LDH พบประมาณร้อยละ 80 ของผู้ป่วย

การเพิ่มขึ้นมีตั้งแต่เพิ่มเล็กน้อยไปจนถึงมากกว่า 20 เท่าของ คนปกติ ครึ่งหนึ่งของผู้ป่วยมี jaundice โดยอาจพบระดับ total bilirubin สูงกว่า 20 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร โดยส่วนใหญ่มี direct bilirubin สูงกว่า indirect bilirubin, ระดับเอนไซม์ transaminase ในระยะแรกของโรคมักอยู่ในเกณฑ์ปกติ ในระยะสุดท้ายของโรค พบว่ามีการเพิ่มขึ้นถึงร้อยละ 80 ของผู้ป่วย การตรวจทาง serology ต่อโรคติดเชื้อซึ่งได้แก่ human retrovirus HTLV-1, leptospirosis, dengue virus infection, typhus ชนิดต่าง ๆ, melioidosis, cytomegalovirus infection และ salmonellosis ให้ผลลบ ทั้งนี้ยกเว้นบางรายที่มีการติดเชื้ออื่นร่วมด้วย ความผิดปกติ ในการแข็งตัวของเลือดพบได้ร้อยละ 75 ของผู้ป่วยโดยเฉพาะใน ระยะท้ายของโรค¹⁸ และเป็นสาเหตุการตายที่สำคัญอันหนึ่งของ ผู้ป่วย PTPD

การดำเนินโรคและการพยากรณ์โรค

ร้อยละ 75 ของผู้ป่วยเสียชีวิตโดยมีระยะเวลาของโรค นับตั้งแต่ปรากฏอาการครั้งแรกจนถึงเสียชีวิตเป็นเวลาตั้งแต่อย่างน้อย 1 เดือน จนถึง 35 เดือน (เฉลี่ย 3.8 เดือน),⁷ ในกลุ่มผู้เสียชีวิต พบว่า ประมาณ 2 ใน 3 จะตายภายใน 1 เดือนหลังปรากฏอาการ ครั้งแรก ร้อยละ 5 ของผู้ป่วย PTPD โรคหายไปได้เอง จากการตรวจศพพบว่า ผู้ป่วยที่เสียชีวิตบางรายมีโรคอื่นร่วมด้วย ได้แก่ วัณโรค, histoplasmosis, systemic aspergillosis, bacterial septicemia, adult respiratory distress syndrome, virus associated hemophagocytic syndrome (VAHS) และ usual type of interstitial pneumonia, จากการตรวจศพพบรอยโรคของ PTPD ในหลายอวัยวะ ได้แก่ ตับ ม้าม ไชกระดูก ต่อม้ำเหลือง ทางเดินอาหาร ผิวหนัง ปอด สมอง และไต การตรวจศพก็ไม่พบ ผู้ตายรายใดมีการอุดตันของทางเดินท่อน้ำดี การให้ยาเคมีบำบัด โดยสูตรยาปกติ ไม่ได้ช่วยการพยากรณ์โรคของผู้ป่วย⁷

สาเหตุการตาย: ผู้ป่วย PTPD มักเสียชีวิตอย่างทันทีทันใด บางรายแพทย์ไม่ได้คาดไว้มาก่อนว่าจะเสียชีวิต จากประสบการณ์ของผู้เขียนพบว่ามวลของเซลล์มะเร็ง (tumor mass) ไม่มีผลโดยตรง ทำให้เสียชีวิต เพราะผู้ป่วย PTPD มักมีมวลของเซลล์มะเร็งไม่มาก แต่เสียชีวิตจาก inflammatory cytokine ที่หลั่งมาจากเซลล์มะเร็ง หรือจาก activated macrophage, สาเหตุการตายที่พบบ่อยคือ sepsis, hemorrhage, metabolic acidosis, adult respiratory distress syndrome, superimposed infection, hepatic failure และ renal failure

กลุ่มโรค PTPD มักได้รับการวินิจฉัยจากแพทย์ด้วยความยากลำบาก ผู้ป่วยมักถูกส่งต่อไปยังแพทย์โรคติดเชื้อ เพื่อหาสาเหตุ ซึ่งส่วนใหญ่ก็ไม่บังเกิดผล ประสบการณ์กว่า 20 ปี ของผู้เขียนขอสรุปว่า ถ้าผู้ป่วยมีอาการและสิ่งตรวจพบครบ 4 อย่างคือ:

1. Prolonged fever
2. Pancytopenia
3. Increase in serum ALP
4. Increase in serum LDH

ผู้ป่วยรายนั้นเป็นโรคในกลุ่มโรค PTPD แน่จน ถึงแม้จะมีการติดเชื้อโรคอื่นร่วมด้วย ผู้ป่วยดังกล่าวต้องถูกส่งต่อไปยังแพทย์ทางโลหิตวิทยาเพื่อทำการตรวจหาโรคและรักษาต่อไป จากการศึกษาของผู้เขียนในผู้ป่วยกลุ่มโรค PTPD ที่มีอาการและสิ่งส่งตรวจครบ 4 อย่างดังกล่าวข้างต้นจำนวน 36 ราย พบว่า 2 ใน 3 ของผู้ป่วยเสียชีวิตภายใน 1 เดือนหลังการพบแพทย์ครั้งแรก 1 รายโรคหายไปได้เอง และที่เหลือเสียชีวิตภายใน 9 เดือน (ยังไม่ได้ตีพิมพ์) จึงเห็นได้ว่าถ้าผู้ป่วยมีอาการและสิ่งส่งตรวจครบ 4 อย่าง จะมีความมั่นใจมากในการวินิจฉัยว่าเป็นโรคในกลุ่มโรค PTPD และมีการพยากรณ์โรคที่ไม่ดี

พยาธิวิทยาของกลุ่มโรค PTPD

PTPD เป็นกลุ่มโรคที่มีการเพิ่มขึ้นของ T-cell และหรือ NK/T-cell ในอวัยวะต่าง ๆ ทั่วร่างกาย กลุ่มเซลล์ที่เพิ่มขึ้นมาจาก clone เดียว (monoclonal proliferation), ผู้ป่วยบางรายพบเป็น multiple monoclonal proliferation¹⁸ คือ พบรอยโรคมากกว่าหนึ่งแห่ง แต่ละแห่งก็เป็น monoclonal ที่มาจากต่าง clone กัน บางรายพบ NHL-B ร่วมด้วย¹⁷ เมื่ออาการเริ่มแรกปรากฏ แพทย์อาจตรวจไม่พบรอยโรคใดๆ ในร่างกาย ต่อมาอาจตรวจพบ รอยโรคที่ผิวหนัง ต่อม้ำเหลืองหรือรอยโรคนอกต่อม้ำเหลืองของ mature T-cell and NK-cell neoplasms ตาม WHO classification⁴⁵ ซึ่งได้แก่ mycosis fungoides, Sezary syndrome, subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma, angioimmunoblastic T-cell lymphoma (AILT), peripheral T-cell lymphoma, unspecified (PTCLu), anaplastic large cell lymphoma (ALCL), และ extranodal NK/T-cell lymphoma, nasal type เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบว่าผู้ป่วยบางรายมีโรคดังกล่าวข้างต้นมากกว่า 1 ชนิด และผู้ป่วยบางรายไม่พบรอยโรคใดๆ เลย นอกจากพยาธิสภาพในตับและไขกระดูก ซึ่งจะได้บรรยายต่อไป

พยาธิวิทยาของตับ: การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยาที่ตับ พบในผู้ป่วยเกือบทุกราย พบการแทรกกระจายของกลุ่ม T-cell

เข้าไปใน hepatic sinusoid และ portal tract, T-cell ที่แทรกกระจายเหล่านี้เป็น monoclonal T-cell ที่มีลักษณะรูปร่างเหมือนลิมโฟไซต์ปกติไปจนกระทั่งเป็นลิมโฟไซต์ที่เป็นเซลล์มะเร็ง ผู้เขียนและคณะ¹⁷⁻¹⁸ ได้แบ่งลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของตับเป็น 4 กลุ่ม คือ กลุ่ม A, B, C และ D, กลุ่ม A และกลุ่ม B พบ T-cell ที่มีลักษณะรูปร่างเหมือนลิมโฟไซต์ปกติ แต่เฉพาะกลุ่ม B เท่านั้นที่พบการเน่าสลายของกลุ่มเซลล์ตับเป็นบริเวณกว้าง, T-cell ในกลุ่ม C มีลักษณะ atypia และ T-cell ในกลุ่ม D มีลักษณะเป็นเซลล์มะเร็งชัดเจน, T-cell ที่แทรกกระจายเหล่านี้ส่วนใหญ่เป็น cytotoxic T lymphocyte โดยมีคุณสมบัติดังนี้คือ CD3⁺, CD4⁻, CD8⁺, CD56⁺, GrB⁺ และ TIA-1⁺

การติดตามผู้ป่วยเป็นเวลา 5 ปีพบว่า กลุ่ม B, C และ D มีการพยากรณ์โรคไม่ดี เกือบทุกรายเสียชีวิตในเวลาอันสั้น (median survival time = 1 เดือน) ส่วนกลุ่ม A มีการพยากรณ์โรคดีกว่ากลุ่มอื่นโดยมี median survival time = 35 เดือน¹⁸ จากการศึกษาความสัมพันธ์กับการติดเชื้อ EBV พบว่า ประมาณร้อยละ 40 ของผู้ป่วยพบสารพันธุกรรมของ EBV (EBER) ในนิวเคลียสของ T-cell ที่แทรกกระจายอยู่ในตับ

การศึกษาโดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนพบว่า T-cell ยึดติดกับเซลล์บุผนังหลอดเลือดของ hepatic sinusoid, ผนังของเซลล์ตับ (hepatocyte) ด้าน Disse space โป่งพองและฉีกขาด ผนังด้านนี้ของเซลล์ตับตามปกติมีเอ็นไซม์ ALP ยึดเกาะอยู่เป็นจำนวนมาก การเปลี่ยนแปลงนี้ทำให้มีเอ็นไซม์ ALP ในกระแสเลือดเพิ่มขึ้นอย่างมาก นอกจากนี้ ยังมีการรั่วไหลของไซโตพลาสซึมของเซลล์ตับเข้าสู่กระแสเลือด เซลล์ตับจึงฝ่อลีบและตายในที่สุด การเปลี่ยนแปลงนี้เข้าใจว่าเป็นผลจากการหลั่ง inflammatory cytokine จาก T-cell ที่แทรกกระจายอยู่ในตับ

พยาธิวิทยาในไขกระดูก: การตรวจ bone marrow smear และ bone marrow biopsy ต้องอาศัยความชำนาญ และประสบการณ์ พยาธิสภาพในไขกระดูกพบถึงร้อยละ 85 ของผู้ป่วยกลุ่มโรค PTPD¹⁶ เกณฑ์ในการวินิจฉัยคือ พบ T-cell มากกว่าร้อยละ 10 ของเซลล์ในไขกระดูกโดยไม่พบ B-cell หรือพบจำนวนเพียงเล็กน้อย, T-cell ที่พบมักกระจายอยู่ทั่วไป หรือรวมกันเป็นกลุ่ม บางรายอาจพบ NK/T-cell (cCD3ε⁺, CD56⁺) ในไขกระดูก และให้ผลบวกต่อการตรวจ EBER โดยวิธี ISH, ประมาณ 1 ใน 3 ของผู้ป่วยพบ hemophagocytosis โดย activated macrophage

พยาธิวิทยาของต่อมน้ำเหลือง: รอยโรคในต่อมน้ำเหลืองที่พบ นอกจากเป็นชนิด AILT, PTCLu และ ALCL แล้ว ยังอาจพบรอยโรคอื่นได้แก่ sinus histiocytosis with active

hemophagocytosis, sinus Langerhans cell histiocytosis, sinus NK/T-cell infiltration with active hemophagocytosis, follicular lymphoma และ diffuse large B-cell lymphoma (ยังไม่ได้ตีพิมพ์)

ผู้ป่วยกลุ่มโรค PTPD อาจพบรอยโรคของ T-cell neoplasm ในอวัยวะอื่นได้แก่ ผิวหนัง ทางเดินอาหาร⁵⁵ ไพรูมูกปอด และสมอง¹⁸ เป็นต้น

ความสัมพันธ์ระหว่าง PTPD กับ EBV

การศึกษาแบบ case-control ของผู้เขียนและคณะ⁷ พบความสัมพันธ์ของการเกิดโรค PTPD กับการติดเชื้อ EBV ใน T-cell, ร้อยละ 97 ของคนไทยที่มีสุขภาพสมบูรณ์เคยติดเชื้อ EBV มาก่อน ครึ่งหนึ่งของคนปกติเหล่านี้พบสารพันธุกรรมของ EBV ใน peripheral B-cell และไม่พบสารพันธุกรรมของ EBV ใน peripheral T-cell ของคนปกติเลยแม้แต่รายเดียว

ผู้ป่วยกลุ่มโรค PTPD ที่นำมาศึกษาพบว่า ร้อยละ 88 พบสารพันธุกรรมของ EBV ใน peripheral B-cell และร้อยละ 65 พบสารพันธุกรรมของ EBV ใน peripheral T-cell, ผู้ป่วยทุกรายที่พบสารพันธุกรรมของ EBV ใน T-cell ต้องพบสารพันธุกรรมของ EBV ใน B-cell ด้วยเสมอ, EBV ที่พบใน peripheral T-cell พบทั้งชนิด CD4⁺ T-cell, CD8⁺ T-cell หรือพบร่วมกันของ T-cell ทั้ง 2 ชนิด ในผู้ป่วยรายเดียวกัน ผลของการศึกษานี้ชี้ว่า B-cell ที่ติดเชื้อ EBV สามารถถ่ายทอดการติดเชื้อ EBV ไปยัง T-cell ได้หลายชนิด โดยจะมีเพียง clone เดียวหรือ 2-3 clone ของ T-cell ที่จะพัฒนาไปเป็นเซลล์มะเร็ง อัตราการพบ EBV ชนิด 30 bp deletion variant ของ LMP1 gene ในผู้ป่วยมีสูงกว่าในคนปกติ ซึ่งแสดงถึงความรุนแรงที่มีมากกว่า wild type, ในคนปกติ และในผู้ป่วยอาจพบ dual infection ของทั้ง wild type และ 30 bp deletion variant ของ LMP1 gene

การตรวจทาง serology ของผู้ป่วยพบแอนติบอดีต่อ EBV ชนิด IgM เพียงไม่กี่ราย และพบมีไตเตอร์ไม่สูง แอนติบอดีชนิด VCA-IgG โดยเฉลี่ยมีไตเตอร์สูงกว่าคนปกติ บางรายมีไตเตอร์เท่าคนปกติ และบางรายมีไตเตอร์สูงมากคล้ายกับที่พบในผู้ป่วย CAEBV, แอนติบอดีชนิด EA-IgG พบมีไตเตอร์เฉลี่ยสูงกว่าคนปกติ แต่ anti-EBNA มีค่าไตเตอร์เท่ากับกลุ่มคนปกติ จากข้อมูลดังกล่าวแสดงว่าการติดเชื้อ EBV เข้าสู่ T-cell เป็นแบบ latent infection หรือเป็นแบบ recurrent chronic infection

การศึกษาของผู้ร่วมคณะวิจัยของผู้เขียนเกี่ยวกับ EBV viral load⁵⁶ พบจำนวนของ EBV ในพลาสมาเพิ่มขึ้นอย่างมากในผู้ป่วย

บางรายสูงถึง 10 ล้าน copies/ml (คนปกติพบไม่เกิน 2,000 copies/ml), จำนวนไวรัสที่เพิ่มขึ้นอย่างมากในกระแสเลือด ไม่น่าจะเกิดจาก EBV latency แต่อาจเกิดจาก EBV lytic cycle ของ EBV-infected T-cell และ B-cell โดยขาดการควบคุมอย่างเหมาะสมจาก CTL ทำให้มีการสร้างไวรัสจำนวนมากและถูกขับเข้าสู่กระแสเลือด ไวรัสที่พบในพลาสมาของผู้ป่วยนี้เป็นทั้งไวรัสชนิด complete mature virion และไวรัสชนิด incomplete virion ที่สามารถถูกย่อยโดยเอนไซม์ DNase I,²⁵ ผู้ป่วยที่มี EBV ใน peripheral T-cell จะมีจำนวนไวรัสในพลาสมาสูงกว่าผู้ป่วยที่ไม่มี EBV ใน peripheral T-cell, อัตราการตายและความรุนแรงของโรคก็แปรผันตามจำนวนไวรัสที่พบในพลาสมา⁵⁶

วิธีการติดเชื้อ EBV จาก B-cell สู่ T-cell ยังไม่ทราบ สมมุติฐานของผู้เขียนคือเมื่อ resting memory B-cell ที่มี EBV อยู่ในนิวเคลียสซึ่งอยู่ในระยะ latency ถูกกระตุ้นโดยปัจจัยภายนอกบางประการ จึงพัฒนาตัวเองเป็น plasma cell และเข้าสู่วงจร lytic ในกลุ่มเซลล์น้ำเหลือง, มีการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของเซลล์และมีการสร้าง mature virion ของ EBV ออกมาจำนวนมาก และ EBV บางส่วนถูกขับเข้าสู่กระแสเลือด เนื่องจากมีไวรัสจำนวนมากในกระแสเลือดร่วมกับมีความผิดปกติในการทำงานของ CTL ทำให้ทั้ง B-cell และ T-cell ชนิดต่างๆ สามารถติดเชื้อ EBV ได้ ถึงแม้ peripheral T-cell ในกระแสเลือดจะมีปริมาณของ CD21 (EBV-receptor molecule) ไม่มากก็ตาม, T-cell ที่ติดเชื้อ บางเซลล์หรือ 2-3 เซลล์เกิดความไม่เสถียรของสารพันธุกรรมในนิวเคลียส จึงพัฒนาไปเป็นเซลล์มะเร็ง และมีการเพิ่มจำนวนมากขึ้นเป็น clonal proliferation หนึ่ง clone หรือมากกว่าหนึ่ง clone, เซลล์มะเร็งเหล่านี้เคลื่อนย้ายไปยังอวัยวะที่หลัง chemokine ที่จำเพาะ (homing site) ทำให้พบรอยโรคในอวัยวะต่างๆ ที่อาจเป็น single monoclonal หรือ multiple monoclonal, ส่วน B-cell ที่ติดเชื้อ EBV จะพัฒนาไปเป็น B-cell blast และกลายเป็น NHL-B ได้เนื่องจากความบกพร่องในการทำงานของ CTL

ผู้ป่วยกลุ่มโรค PTPD บางรายพบ EBV จำนวนมากในพลาสมาแต่ไม่พบสารพันธุกรรมของ EBV ในเซลล์มะเร็ง ผู้เขียนตั้งสมมุติฐานว่าคงเกิดเนื่องจากการสูญเสียสารพันธุกรรมของ EBV ใน T-cell ขณะที่มีการพัฒนาการไปสู่เซลล์มะเร็ง ส่วนผู้ป่วย PTPD บางราย (ประมาณ 1 ใน 3) ที่ไม่พบ EBV ในเซลล์มะเร็ง และ peripheral T-cell และไม่พบการเพิ่มขึ้นของจำนวน EBV ในพลาสมา เข้าใจว่าการเกิดโรคน่าจะมาจากสาเหตุอื่น

สาเหตุการตายอย่างฉับพลันในผู้ป่วยกลุ่มโรค PTPD เชื่อว่าเกิดจากการหลั่ง inflammatory cytokine ออกมาอย่างมาก จาก neoplastic T-cell และ/หรือ activated macrophage,

สารเหล่านี้ได้แก่ tumor necrosis factor (TNF)- α , interferon (IFN)- γ และ interleukin (IL)-1 α เป็นต้น, Mori และคณะ⁵⁸ ซึ่งร่วมอยู่ในกลุ่มวิจัยของผู้เขียนรายงานว่าระดับ TNF- α ในพลาสมาของผู้ป่วยกลุ่มโรค PTPD มีค่าสูงกว่าคนปกติ (ค่าเฉลี่ย 130 pg/ml และ 25 pg/ml ตามลำดับ) ผู้ป่วยบางรายมีค่ามากกว่า 1,000 pg/ml, การเพิ่มขึ้นของระดับ TNF- α มีความสัมพันธ์กับความรุนแรงของโรค ผู้ป่วยที่เสียชีวิตอย่างฉับพลันมีระดับ TNF- α สูงกว่าผู้ป่วยที่ยังมีชีวิตอยู่หรือผู้ป่วยที่โรคหายเองอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ยังพบความสัมพันธ์แบบแปรผกผันตามระหว่างระดับ TNF- α กับการติดเชื้อ EBV ใน peripheral T-cell

TNF- α เป็น cytokine ที่สร้างมาจาก immune cell และ non-immune cell ที่ถูกกระตุ้น ได้แก่ monocyte, macrophage, B-cell, T-cell และ NK-cell เป็นต้น TNF- α มีฤทธิ์ในการทำลายเซลล์มะเร็ง กระตุ้นและยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์ ทำให้เกิด apoptosis และ necrosis ของเซลล์ และที่สำคัญคือกระตุ้น macrophage ให้มี hemophagocytosis เกิด hemophagocytic syndrome ซึ่งเป็นสาเหตุการตายที่สำคัญประการหนึ่ง

จากการทดลองในห้องปฏิบัติการพบว่า T-cell line ที่ถูกทำให้ติดเชื้อ EBV จะหลั่ง TNF- α และ IFN- γ ออกมาจำนวนมาก cytokine ทั้ง 2 ชนิดนี้จะกระตุ้น macrophage ให้เกิด hemophagocytosis และหลั่ง TNF- α และ IFN- γ จากเซลล์ของ macrophage ที่ถูกกระตุ้นออกมาอีกมากมาย กระบวนการ hemophagocytosis จะถูกยับยั้งถึงร้อยละ 70 ถ้าเติม anti-TNF- α , ร้อยละ 30 เมื่อเติม anti-IFN- γ และยับยั้งได้ 100% ถ้าเติมแอนติบอดีทั้ง 2 ชนิด⁵⁸ จากข้อมูลดังกล่าวทำให้มองเห็นแนวทางการรักษาโรคเบื้องต้นเพื่อยืดชีวิตผู้ป่วยก่อนการให้เคมีบำบัด โดยยับยั้งการหลั่งหรือการทำงานของ TNF- α โดยใช้ anti-TNF- α หรือสารเคมีที่ยับยั้งการหลั่งและการทำงานของ TNF- α หรือ RNA interference (RNAi) ที่จะไปทำลาย mRNA ที่สร้างโปรตีน TNF- α และ IFN- γ เป็นต้น

สรุป

Peripheral T-cell proliferative disease (PTPD) เป็นกลุ่มโรคที่มีการเพิ่มจำนวนของ peripheral T-cell และหรือ NK/T-cell ในหลายอวัยวะทั่วร่างกาย กลุ่มเซลล์ที่เพิ่มขึ้นพัฒนามาจาก clone เดียวกัน (monoclonal proliferation) หรือมาจากหลาย clone โดยแต่ละ clone ก็มี monoclonal proliferation (multiple monoclonal proliferation) การเกิดโรคเชื่อว่าเกิดจากการติดเชื้อ EBV สู่ T-cell และหรือ NK/T-cell

กลุ่มโรค PTPD มีความหลากหลายทั้งอาการทางคลินิก และการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยา มี spectrum ของรอยโรค การดำเนินโรคและการพยากรณ์โรคที่กว้างมาก การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยาพบการเพิ่มขึ้นของลิมโฟไซต์ (T-cell หรือ NK/T-cell) ที่มีลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาเหมือนลิมโฟไซต์ปกติ ไปจนกระทั่งเป็นลิมโฟไซต์ที่มีลักษณะของเซลล์มะเร็งชัดเจน จากลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาดังกล่าว จึงทำให้ผู้ป่วยบางราย ไม่สามารถจัดแบ่งชนิดของ malignant lymphoma ตามการแบ่งขององค์การอนามัยโลกได้⁴⁵ ลิมโฟไซต์ที่เพิ่มขึ้นเป็น monoclonal หรือ multiple monoclonal จึงจัดเป็นเซลล์มะเร็ง มีคุณสมบัติเป็นเซลล์อมตะที่มีการแบ่งตัวสูงแต่มีอายุสั้น ผู้เขียนจึงเรียกกระบวนการนี้ว่า "genetically immortalization" ด้วยเหตุผลนี้จึง ทำให้มีการพบเซลล์มะเร็งไม่มากนัก อวัยวะที่มีรอยโรคจึงมีขนาดไม่ใหญ่มาก ผู้ป่วยบางรายอาจไม่พบรอยโรคในที่ใด ๆ เลย ยกเว้นในไขกระดูก และหรือใน sinusoid ของตับเท่านั้น

Neoplastic T-cell, NK/T-cell หลังสาร cytokine โดยเฉพาะ TNF- α ออกมาจำนวนมาก ซึ่งจะกระตุ้นให้มีการเพิ่มจำนวนของ activated macrophage ระยะต่อมาทั้ง neoplastic cell และ activated macrophage จะหลั่ง TNF- α มากขึ้นอีก จึงทำให้ผู้ป่วยมีไข้แบบไข้เรื้อรัง, pancytopenia (จากกระบวนการ hemophagocytosis โดย activated macrophage), sepsis และเสียชีวิต นอกจากนี้ยังพบการทำลายผนังเซลล์ของเซลล์ตับ (hepatocyte) ในบริเวณ Disse space ทำให้มีการหลั่ง ALP เข้าสู่กระแสเลือด และทำให้เซลล์ตับตาย การตายของเซลล์ตับ เซลล์เม็ดเลือด และเซลล์ในอวัยวะอื่นๆ ทำให้มีการเพิ่มขึ้นของ LDH ในกระแสเลือด จากข้อมูลข้างต้นผู้เขียนจึงสรุปว่า ถ้าผู้ป่วยมีอาการและสิ่งตรวจพบครบ 4 อย่างคือ ไข้เรื้อรังโดยไม่ทราบสาเหตุ, pancytopenia, มีการเพิ่มขึ้นของ ALP และ LDH ในกระแสเลือด ผู้ป่วยรายดังกล่าวเป็นโรคในกลุ่มโรค PTPD ข้อสรุปนี้เปิดให้มีการโต้แย้งได้ ถ้าแพทย์ท่านใดพบผู้ป่วยดังกล่าวและได้พิสูจน์แล้วว่าไม่ใช่โรคในกลุ่มโรค PTPD กรุณาแจ้งข้อมูลโต้แย้งมายังผู้เขียนด้วย อนึ่งผู้ป่วยตัวอย่างใน "บทนำ" ที่มีอาการและสิ่งตรวจพบครบ 4 อย่าง จึงเป็นโรคในกลุ่มโรค PTPD แน่แน่นอน ซึ่งสามารถยืนยันได้จากการตรวจพบ EBV ใน peripheral blood T-cell, และมี EBV viral load สูงมาก

กิตติกรรมประกาศ

ผลงานวิจัยเกี่ยวกับกลุ่มโรค PTPD ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ได้รับการสนับสนุนทุน

บางส่วนจาก คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, JSPS, และ Ministry of Education, Science, Culture and Sport, ประเทศญี่ปุ่น

เอกสารอ้างอิง

1. Middeldorp JM, Brink AATP, van den Brule AJC, Meijer CJLM. Pathogenic roles for Epstein-Barr virus (EBV) gene products in EBV-associated proliferative disorders. Clin Rev Oncol/Hematol 2003;45:1-36.
2. Thorley-Lawson DA, Gross A. Persistence of Epstein-Barr virus and the origins of associated lymphomas. N Engl J Med 2004;350:1328-37.
3. Zetterberg H, Stenglein M, Jasson A, Ricksten A, Rymo L. Relative levels of EBNA1 gene transcripts from C/W, F and Q promoters in Epstein-Barr virus-transformed lymphoid cell in latent and lytic stages of infection. J Gen Virol 1999;80:457-65.
4. Wang D, Liebowitz D, Kieff E. An EBV membrane protein expressed in immortalized lymphocytes transforms established rodent cell. Cell 1985;43:831-40.
5. Kingma DW, Weiss WB, Jaffe ES, Kumar S, Frekko K, Raffeld M. Epstein-Barr virus latent membrane protein-1 oncogene deletions: correlation with malignancy in Epstein-Barr virus-associated lymphoproliferative disorders and malignant lymphomas. Blood 1996;88:242-51.
6. Cheung ST, Lo KW, Leung SF, Chan WY, Choi PH, Johnson PJ, et al. Prevalence of LMP-1 deletion variant of Epstein-Barr virus in nasopharyngeal carcinoma and gastric tumors in Hong Kong. Int J Cancer 1996;66:711-2.
7. Mitarnun W, Suwivat S, Pradutkanchana J, Saechan V, Ishida T, Takao S, et al. Epstein-Barr virus-associated peripheral T-cell and NK-cell proliferative disease/lymphoma: a clinicopathologic, serologic and molecular analysis. Am J Hematol 2002;70:31-8.
8. Straus SE, Cohen JI, Tosato G, Meier J. Epstein-Barr virus infection: biology, pathogenesis and management. Ann Int Med 1993;118:45-58.

9. Okano M, Gross TG. Epstein-Barr virus-associated hemophagocytic syndrome and fatal infectious mononucleosis. *Am J Hematol* 1996;53:111-5.
10. Niedobitek G. Epstein-Barr virus infection in the pathogenesis of nasopharyngeal carcinoma. *J Clin Pathol: Mol Pathol* 2000;53:248-54.
11. Takada K. Epstein-Barr virus and gastric carcinoma. *J Clin Pathol: Mol Pathol* 2000;53:255-61.
12. McClain KL, Leach CT, Jensen HB, Joshi VV, Pollock BH, Parmley RT, et al. Association of Epstein-Barr virus with leiomyosarcoma in young people with AIDS. *N Engl J Med* 1995;332:12-8.
13. Leyvraz H, Henle W, Chahinian AP, Perlmann C, Klein G, Gordon RE, et al. Association of Epstein-Barr virus with thymic carcinoma. *N Engl J Med* 1985;312:1296-9.
14. Flavell KJ, Murray PG. Hodgkin's disease and the Epstein-Barr virus. *J Clin Pathol: Mol Pathol* 2000;53:262-9.
15. Zur Hausen H, Schulte-Holthausen H, Klein G, Henle W, Henle G, Clifford P, et al. EBV DNA in biopsies in Burkitt tumors and anaplastic carcinoma of the nasopharynx. *Nature* 1970;228:1056-8.
16. Craig FE, Gully ML, Banks PM. Posttransplantation lymphoproliferative disorders. *Am J Clin Pathol* 1993;99:265-71.
17. Mitarnun W, Kietthubthaw S, Suwiat S. Hepatic peripheral T-cell lymphoma: a spectrum of liver pathology and clinical correlation. *J Med Assoc Thai* 1997;80:219-32.
18. Mitarnun W, Saechan V, Suwiat S, Pradutkanchana J, Takao S, Ishida T. Hepatic cytotoxic T-cell infiltrates in patients with peripheral T-cell proliferative disease/lymphomas: clinicopathologic and molecular analysis. *Pathol Inter* 2004;54:819-29.
19. Mitarnun W, Saechan V, Pradutkanchana J, Suwiat S, Takao S, Ishida T. Epstein-Barr virus-associated non-Hodgkin's lymphoma of B-cell origin, Hodgkin's disease, acute leukemia, and systemic lupus erythematosus: a serologic and molecular analysis. *J Med Assoc Thai* 2002;85:552-9.
20. Fisher R, Delibrias C, Kazatchkine MD. Expression of CR2 (the CD3dg/EBV receptor, CD21) on normal human peripheral blood T lymphocytes. *J Immunol* 1991;146:865-9.
21. Greenspan JS, Greenspan D, Lennette ET, Abrams DI, Conant MA, Peterson V, et al. Replication of Epstein-Barr virus within the epithelial cell of oral "hairy" leukoplakia, an AIDS-associated lesion. *N Engl J Med* 1985;313:1564-71.
22. Uhara H, Sato Y, Mukai K, Akao I, Matsuno Y, Furuya S, et al. Detection of Epstein-Barr virus DNA in Reed-Sternberg cells of Hodgkin's disease using the polymerase chain reaction and *in situ* hybridization. *Jpn J Cancer Res* 1990;81:272-8.
23. Leung SY, Yuen ST, Chung LP, Chan ASY, Wong MP. Prevalence of mutations and 30-bp deletion in the C-terminal region of Epstein-Barr virus latent membrane protein-1 oncogene in reactive lymphoid tissue and non-nasopharyngeal EBV-associated carcinomas in Hong Kong Chinese. *Int J Cancer* 1997;72:225-30.
24. Kieff E, Leibowitz D. Epstein-Barr virus and its replication. In: Field BN, editor. *Virology*. 2nd ed. New York: Raven Press; 1990:1889-920.
25. Takao S, Mitarnun W, Saechan V, Pradutkanchana J, Ishida T. Detection of genome of cell-free Epstein-Barr virus in the plasma of patients with peripheral T-cell proliferative disease/lymphoma, (In press, 2006).
26. Heid CA, Stevens J, Livak KJ, William PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res* 1996;6:986-94.
27. Adams A. Replication of the latent Epstein-Barr virus genomes in Raji cells. *J Virol* 1987;61:1743-6.
28. Glaser SL, Lin RJ, Stewart SL, Ambinder RF, Jarrett RF, Brousset P, et al. Epstein-Barr virus associated Hodgkin's disease: epidemiologic characteristic in international data. *Int J Cancer* 1997;70:375-82.
29. Okano M, Gross TG. Epstein-Barr virus associated hemophagocytic syndrome and fatal infectious mononucleosis. *Am J Hematol* 1996;53:111-5.
30. Nakagawa A, Ito M, Saga S. Fatal cytotoxic T-cell proliferation in chronic active Epstein-Barr virus infection in childhood. *Am J Clin Pathol* 2002;117:283-90.

31. Hauptmann S, Meru N, Schewe C, Jung A, Hiepe F, Burmester G, et al. Fatal atypical T-cell proliferation associated with Epstein-Barr virus infection. *Br J Hematol* 2001;112:377-80.
32. Chan JKC, Bray F, McCarron P, Foo W, Lee AWM, Yip T, et al. Nasopharyngeal carcinoma. In: Barnes L, Everson JW, Reichart P, Sidransky D, eds. WHO Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Head and Neck Tumours. IARC Press: Lyon 2005:81-97.
33. Mitarnun W, Pradutkanchana J, Ishida T. Epstein-Barr virus-associated nodal malignant lymphoma in Thailand. *Asian Pacific J Cancer Prev* 2004;5:268-72.
34. Mitarnun W, Suwiwat S, Pradutkanchana J. Epstein-Barr virus-associated non-Hodgkin's lymphoma of the sinonasal tract and nasopharynx in Thailand. *Asian Pacific J Cancer Prev* 2006;6: (In press).
35. Daibata M, Taguchi T, Nemoto Y, Saito T, Machida, Imai S, et al. Epstein-Barr virus (EBV)-positive pyothorax-associated lymphoma (PAL): chromosomal integration of EBV in a novel CD2-positive PALB-cell line. *Br J Hematol* 2002;117:546-57.
36. Knowles DM. Immunodeficiency-associated lymphoproliferative disorders. *Mod Pathol* 1999;12:200-17.
37. วิญญู มิตรานันท์. Immunopathology. ใน: วิญญู มิตรานันท์, บรรณาธิการ. พยาธิวิทยาภายในภาคพื้นฐาน. เรียบเรียงครั้งที่ 2. โอ เอส พริ้นติ้งเฮาส์: กรุงเทพฯ: 2540:101-6.
38. Tonegawa S. Somatic generation of antibody diversity. *Nature* 1983;302:575-81.
39. Bonati A, Zanelli P, Savi M, Neri TM. TCR- β chain gene rearrangement and expression in human T-cell development and in leukemia. *Leukemia* 1994;8:918-23.
40. Wong KF, Chan JKC, Matutes E, McCarthy K, NgCS, Chan CH, et al. Hepatosplenic $\gamma \delta$ T-cell lymphoma. A distinctive aggressive lymphoma type. *Am J Surg Pathol* 1995;19:718-26.
41. McCarthy KP, Sloane JP, Kabarowski JHS, Mattutes E, Wiedmann LM. The rapid detection of clonal T-cell proliferations in patients with lymphoid disorders. *Am J Pathol* 1991;138:821-8.
42. McCarthy KP, Sloane JP, Kabarowski JHS, Mattutes E, Wiedmann LM. A simplified method detection clonal rearrangements of the T-cell receptor-chain gene. *Diagn Mol Pathol* 1992;1:173-9.
43. Chan JKC, Jaffe ES, Ralfkiaer. Extranodal NK/T-cell lymphoma, nasal type, In: Jaffe ES, Harris NE, Stein H, Vardiman JW, eds. Lymphoid Tissues. Lyon, France: IARC Press, 2001:204-7.
44. Sukpanichnant S, Sonakul D, Piankijagum A, Wanachiwanawin W, Veerakul G, Mahasandana C, et al. Malignant lymphoma in Thailand: change in the frequency of malignant lymphoma determined from a histologic and immunophenotypic analysis of 425 cases at Siriraj Hospital. *Cancer* 1998;83:1197-204.
45. Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW, eds. World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon, France: IARC Press; 2001; 10-1.
46. Scott RB, Robb-Smith AH. Histiocytic medullary reticulosis. *Lancet* 1939;2:194-8.
47. Robb-Smith AH. Before our time. Half a century of histiocytic medullary reticulosis. A T-cell teaser? *Histopathol* 1990;17:279-83.
48. Rappaport H. Tumor of the hemiatopoietic system, in, Atlas of tumor pathology, series 3, fascicle 8. Washington DC: AFIP; 1966:91-206.
49. Warnke RA, Weiss LM, Chan JKC, Cleary ML, Dorfman RF. "So-Called" Malignant Histiocytosis, in, Atlas of tumor pathology, third series, fascicle 14. Tumor of the lymph node and spleen. Washington DC: AFIP; 1995; 371-5.
50. Mitarnun W, Kietthubthaw S, Suwiwat S. Intrahepato-cellular erythrocyte inclusion with sinusoidal infiltrates and splenomegaly. *Arch Pathol Lab Med* 1990;114: 148-54.
51. Bhattacharya DN, Harries JR, Emerson PA. Tropical splenomegaly syndrome (T.S.S) in a European. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1983;77:221-2.

52. Dacie JV, Brain MC, Harrison CV, Lewis SM, Worledge SM. Non-tropical idiopathic splenomegaly (primary hypersplenism): a review of ten cases and their relationship to malignant lymphoma. *Br J Haematol* 1969;17:317-33.
53. Eichel BS, Harrison EG, Jr., Devine KD, Scanlon PW, Brown HA. Primary lymphoma of the nose including relationship to lethal midline granuloma. *Am J Surg* 1966;112:597-605.
54. Frizzera G, Kaneko Y, Sakurai M. Angioimmunoblastic lymphadenopathy and related disorder: a retrospective look in search of definition. *Leukemia* 1989;3:1-5.
55. Mitarnun W, Saechan V, Pradutkanchana J, Suwivat S, Takao S, Ishida T. Epstein-Barr virus-associated peripheral T-cell lymphoma with gastrointestinal tract involvement. *J Med Assoc Thai* 2003;86:816-28.
56. Takao S, Mitarnun W, Saechan V, Pradutkanchana J, Ishida T. Quantitative analysis of the EBV genome in the plasma of patients with peripheral T-cell proliferative disease/lymphoma, (In press 2006).
57. Mori A, Takao S, Pradutkanchana J, Kietthubthew S, Mitarnun W, Ishida T. High tumor necrosis factor- α levels in patients with Epstein-Barr virus-associated peripheral T-cell proliferative disease/lymphoma. *Leukemia Res* 2003;27:493-8.
58. Lay JD, Tsao CJ, Chen JY, Kadin ME, Su JJ. Upregulation of TNF- α gene by Epstein-Barr virus and activation of macrophages in Epstein-Barr virus-infected T cells in the pathogenesis of hemophagocytic syndrome. *J Clin Invest* 1997;100:1969-79.