

เนื้องอกในช่องจมูกวัวนม (TUMOUR MASSES IN THE NASAL PASSAGE OF DAIRY CATTLE)

II การทดลองปลูกเนื้องอกในสัตว์ทดลอง (Transplantation of Tumours in Laboratory Animal)

โดย

จำเนียร สัตยาพันธุ์ ภาควิชาสัตวบาล มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ระบิล รัตนพานิช คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตามที่ ได้มีโรคเนื้องอกในช่องจมูกวัวนม หลายราย เป็นระยะติดต่อกันมา ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2511 มาจนกระทั่งบัดนี้ มีวัวนมที่ตายไปแล้วด้วยโรคนี้ถึง 9 ตัว โดยเฉพาะวัวนมของภาควิชาสัตวบาล มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และตามรายงานที่ไม่ได้รับการยืนยันแน่นอนยังมีวัวที่ตายในลักษณะเช่นนี้ในฟาร์มอื่น ๆ อีกหลายราย นับว่าโรคนี้เป็นผลเสียหายต่อการเลี้ยงวัวนมอย่างมาก และจากวัวที่ตายแต่ละตัวก็ได้มีการศึกษากันอย่างละเอียดตลอดมา เพื่อที่จะหาสาเหตุอาการและการควบคุมป้องกัน แต่เนื่องจากยังไม่ทราบสาเหตุที่แน่ชัดลงไปว่าเกิดจากสิ่งใดมากที่สุดทำให้เกิดเนื้องอกขึ้นและเนื้องอกแต่ละตัวตามการศึกษาทางพยาธิวิทยาแล้วยังปรากฏว่าไม่ได้เป็นชนิดเดียวกันทุกตัว ดังนั้นการศึกษาเรื่องของเนื้องอกในวัวนมจะต้องทำต่อไปอีกอย่างกว้างขวาง ในทางอื่น ๆ เป็นต้นว่าการศึกษาทางไวรัสวิทยา ซึ่งมียาพบว่าเนื้องอกเกิดจากเชื้อไวรัส การศึกษาทางพยาธิวิทยาขั้นสูงขึ้น

การศึกษาปลูกเนื้องอกมีความสำคัญมากในการศึกษาเนื้องอกและมะเร็ง ในปัจจุบัน ได้มีผู้ทำการทดลองในเรื่องนี้มากมายหลายท่านเช่น Bittner (1931), Triolo (1964), Skimkin and Novinsky (1955), Shimkin (1960) และ Woodruff (1960) ผู้ที่สามารถทำการปลูก

เนื้องอกได้สำเร็จเป็นคนแรก คึก M. Novinsky (1876) โดยทำการปลูกเนื้องอกชนิด Lymphosarcoma และ Anaplastic nasal tumour ที่ได้จากสุนัข และในปี 1888 Wehr ก็สามารถทำการปลูก Lymphosarcomas (Venereal Sarcomas) ของสุนัขได้เช่นเดียวกัน.

ในปี 1889 Hanau ก็สามารถปลูก carcinoma ที่ได้จากช่องคลอดของหนู ปลูกลงในหนูได้หลายชั่ว (generation) ผลงานของ Hanau ได้ถูกนำมาศึกษาต่อโดย Jenny ในปี 1896 ในทางการทดสอบและ Histology พบว่าเนื้องอกชนิดนี้เป็นมะเร็งและ Hanau สรุปว่า Epithelial cells สามารถนำไปเพาะขยายให้เจริญเติบโตได้เช่นเดียวกับการทำ Skin grafts และเนื้องอกไม่จำเป็นจะต้องเกิดจากการติดเชื้อ (Infectious origin) ในระหว่างนี้ ได้มีผู้พบว่ามะเร็งเกิดขึ้นจากเชื้อโรคหลายชนิด Pfeiffer (1890) สามารถปลูก Melanotic sarcoma ของหนู (mice) ได้และ Eiselberg ในปีเดียวกันก็สามารถปลูก Fibrosarcoma ของหนู (rat) ได้ การปลูกเนื้องอกนี้ในระยะหลัง ๆ ส่วนมากใช้เซลล์มากกว่าการใช้เนื้องอกต้นกำเนิด (Origin primary tumor)

ในปี 1891—1894 Moreau พบว่าความสำเร็จในการทดลองปลูกเนื้องอกได้สำเร็จจะต้องมีเรื่องของพันธุกรรม (heredity) เป็นเครื่องประกอบที่สำคัญอันหนึ่งในการทดลองของเขาพบว่าการปลูกเนื้องอกชนิด Epitheliomas ลงไปในหนู (mice) 17 ชั่ว (generation) เนื้องอกที่ได้สามารถเจริญเติบโตได้รวดเร็วมากและเขาได้ทำการศึกษาถึงอายุและเพศของหนูทดลองซึ่งอาจชักนำให้เกิดการเติบโตของเนื้องอกได้ต่างกัน Firket (1892) สามารถถ่ายเนื้องอกชนิด Sarcoma ที่เกิดบนในหนู (rat) ตัวหนึ่งไปในอีกตัวหนึ่งได้ Velich (1895) ได้ทำการถ่าย Sarcoma ไปในหนู (rat) ได้ 8 Transplantation generation แต่การปลูกนี้ได้ลดน้อยลงเรื่อย ๆ และหมดไปในที่สุดเมื่อนำไปปลูกในหนูพันธุ์อื่น (Foreign strain of rat) ผลงานของเขา สรุปได้ว่าการปลูกเนื้องอกของเขาเป็นการถ่ายเชื้อโรคและไม่ใช่เป็นการปลูก

ความก้าวหน้าของการทดลองเนื้องอกในคนและสัตว์ โดยการฝังลงไป ในสัตว์ทดลอง ไม่เป็นเรื่องที่ยืนยันได้แน่นอน แต่ได้แสดงให้เห็นว่าการปลูกเนื้องอกไม่จำเป็นจะต้องเป็นสัตว์ชนิดเดียวกัน และการค้นพบสาเหตุของมะเร็งได้จากการทดลองปลูกเนื้องอกนั้น ๆ

วิธีการทดลอง (Material and Method)

ใช้ก้อนเนื้องอกที่เก็บได้จากสัตว์ที่ตายด้วยโรคเนื้องอกในช่องจมูกเก็บโดยวิธีที่สะอาดที่สุดที่จะทำได้ ใช้การปลูกลงในสัตว์ทดลองที่เตรียมไว้ การปลูกใช้ปลูกในวิธีต่าง ๆ กันและในสัตว์ทดลองชนิดต่าง ๆ กันดังนี้.

1. Tissue type ปลูกใต้ผิวหนัง (subcutaneous) โดยใช้ก้อนเนื้องอก (Tumor Masses)

ใช้เนื้องอกจากสัตว์ที่ตายเก็บโดยวิธีสะอาด (aseptic) นำมาตัดให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ ขนาด ๑ ตารางมิลลิเมตร ล้างด้วย Isotonic saline แล้วใช้เข็มเบอร์ 14 เป็น trocar ใส่ก้อนเนื้องอกที่โตเข้าไปในรูเข็มแล้วเจาะเข้าใต้ผิวหนังสัตว์ทดลองที่บริเวณหน้าท้องและใบหู ลึกประมาณ 1 เซนติเมตร แล้วคืนก้อนเนื้องอกออกจากรูเข็มแล้วดึงเข็มออกปิดผิวหนังที่เจาะด้วยคีมจับเส้นเลือด วิธีการขยายตัวของก้อนเนื้องอก ๓ วันต่อครั้ง สัตว์ทดลองที่ใช้ Rat, Mice, Hamster และหนูตะเภา โดยจัดสัตว์ทดลองอย่างละ 5 กรง ๆ ละ 5 ตัว

2. ปลูกโดยใช้เซลล์ (Cell Suspensions) เข้าใต้ผิวหนังและในช่องท้อง

ใช้ก้อนเนื้องอกที่เป็นอย่างสะอาดและรวดเร็วประมาณ 2.5 กรัมมาตัดด้วยกรรไกรให้ชิ้นเล็กแล้วนำไปล้างใน Isotonic saline แล้วนำก้อนเนื้องอกที่ตัดชิ้นเล็ก ๆ นั้นใส่ลงใน Tissue grinder ผสมด้วย Phosphate buffer saline 5 ซีซี หมุนบดเบา ๆ จนก้อนเนื้องอกละเอียด แล้วนำไปกรองด้วยเครื่องกรองที่มีขนาด 40 M—ใช้ cell suspension ที่กรองได้มานับจำนวนเซลล์โดยใช้ Hemocytometer แล้วทำการเจือจาง cell suspension ลงให้ได้ 200,000 cell milliliter ต่อจากนั้นนำ cell suspension ไปฉีดในสัตว์ทดลอง S/C และ I/P ขนาด 0.2 ซีซี. สัตว์ทดลองที่ใช้ rat, mice, hamster โดยจัดเป็น 5 กรง ๆ ละ 5 ตัว หลังจากฉีด cell suspension เข้าไปแล้วทำการฆ่าสัตว์ทดลองดูวิธีการในระยะ 7 วัน, 21 วัน และ 28 วัน

3. ปลูกในคัพเพาะในไข่ (Chick Emryo)

ใช้ก้อนเนื้องอกและ cell suspension จากที่เตรียมได้ตามวิธีที่หนึ่งและสองตามลำดับ ปลูกลงในไข่ที่ฟักแล้ว 8—9 วัน ทำการปลูกลงในเยื่อ chorioallantoic membrane (C.A.M) แล้วนำไปฟักต่อให้ครบ 18 -19 วัน ทำลายไข่ดูวิธีการที่ปลูกเนื้องอกลงไปไข่ที่ไข่ทดลองแบ่งเป็น 5 พวง พวงละ 5 ฟอง

4. **ปลูกเข้าใต้ผิวหนังโคโดยใช้ cell suspension**

ใช้ cell suspension จากการเตรียมได้ในวิธีที่สองเป็นตัวปลูกในโค ใช้โคนม สังกะสี 3 ตัว ทำการฉีด cell suspension เข้าใต้ผิวหนังบริเวณคอตัวละ 5 ซีซี. วัดขนาดของผิวหนังที่ไปงขนมาและวัดเป็นระยะ ๆ ต่อมา 7, 14, 21 และ 28 วัน

ผลการทดลอง (Result)

1. ผลการปลูกโดยวิธี Tissue type ปรากฏผลดังนี้.

Animal	Tumor No.	Result					
		1 days	3 days	6 days	9 days	12 days	15 days
Rat	A, B, C,	0.4cm.	0.4 cm.	0.4 cm.	0.1	0	0
Mice	B, C	0.3cm.	0.3 cm.	0.1	0	0	0
Hamster	C	0.4cm.	0.4 cm.	0	0	0	0
Guinea pig	C	0.4cm.	0.4 cm.	0	0	0	0

Ear transplant

Animal	Tumor No.	Result					
		1 days	3 days	6 days	9 days	12 days	15 days
Rat	B, C, D	0.4cm.	0.4	0.5	0.4	0.1	0
G-P	B	0.4cm.	0.2	0.1	0	0	0

2. ผลการปลูกโดยไข่ cell suspension

Animal Lab.	Tumor No.	Inoculation site	Result			
			6 days	14 days	21 days	28 days
Rat	A, B, C, D, E	S/C, 1/P	—	—	—	—
Mice	A, B, C, D, E	S/C, 1/P	—	—	—	—
Hamster	B, C	1/P	—	—	—	—

3. ผลการปลูกลงในคัพของไข่ (Chick embryo)

ไข่ Tumor No.C และ D ปลูกลงใน C.A.M ไข่ตายหมดใน 3 วัน ต่อมาได้ใช้ Tumor cell suspension ผสม Penicilin 1000 Unite/cc. และ Streptomycin 50 mg/cc แล้วปลูกลงใน CAM ผลปรากฏว่า Negative เช่นเดียวกัน.

4. ผลของการปลูกเข้าใต้ผิวหนังโค

Animal	Tumor No.	Result				
		1 days	7 days	17 days	21 days	28 days
Cow # 1	D	2.0cm.	3.0cm.	5.0cm.	2.0cm.	1.4cm.
Cow # 2	D	2.0cm.	2.5cm.	1.5cm.	0.cm.	—
Cow # 3	D	2.0cm.	2.5cm.	1.0cm.	0.5cm.	0

Tumor No. A = Cow # 8019 (10)

Tumor No. B = Cow # 2015 (176)

Tumor No. C = Cow # 2008 (66)

Tumor No. D = Cow # 2007 (65)

Tumor No. E = Cow # 8131 (37)

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากผลการทดลองปลูกเนื้องอกลงในสัตว์ชนิดต่าง ๆ นั้น พอจะสรุปได้ว่าการทดลองยังไม่ได้ผล แต่มีข้อสังเกตว่าการทดลองต่าง ๆ ตลอดจนถึงวิธีการและการใช้สัตว์ทดลองยังบกพร่องอีกมาก ถ้าได้มีการปรับปรุงและดำเนินการให้เป็นเรื่องเป็นราวอย่างจริงจังและปรับปรุงในทางเทคนิคและสัตว์ทดลองให้ดีขึ้นอาจจะปรากฏผลออกมาได้ในอนาคต.

เอกสารอ้างอิง

1. Harris Busch, Method of cancer Research Vol. I, 1967
 2. Shimkin, M.B. 1960. Cancer 13, 221.
 3. Shimkin, M.B. and Novinsky, M.A. 1955. Cancer 8, 653-655.
 4. Triolo V.A. 1964. Cancer Res. 24, 4-27
 5. Woodruff M.F.A. 1960 "The Transplantation of Tissue and Organs"
Thomas, Springfield, Illinois.
-

TUMOUR MASSES IN THE ANSAL PASSAGE OF DAIRY CATTLE

II. TRANSPLANTATION OF TUMOUR IN LABOLATORY ANIMALS

by

Chamnian satayapandhu and Rabil Ratanapanee*

Dept Animals Science Faculty of Agriculture

Kasetsart University Bangkok.

The tumour masses from the nasal passage of infected dairy cattle were transplantation into the laboratory animals with various methods were described by the authores The methods of transplantations were included as follows:—

1. Tissue type transplantation.— subcutaneously
2. Cell suspensions transplantation—subcutaneously and intraabdominal
3. Chick embryo transplantation—on embryo allantoic membrane
4. Cell suspension transplantation—subcutaneously

The authours reported that all four methods of transplantations were not successfully as expected. However the modifying of those methods probably will give a better result for the next investigation

*Address: Faculty of Veterinary Medical Science, Chulalongkorn University, Bangkok.