

การศึกษาความสัมพันธ์ร่วมกันของ CA19-9, AFP และ CEA ในการใช้วินิจฉัยมะเร็งท่อน้ำดี

ชลิตา ละกำปັນ พ.บ.*, อรรณพ กิตติวาราวุฒิ พ.บ.**

บทคัดย่อ

สารบ่งชี้มะเร็งที่ใช้บ่อยที่สุดสำหรับมะเร็งท่อน้ำดีคือ CA19-9 แต่ยังมีข้อจำกัดเนื่องจากสามารถพบได้ในโรคมะเร็งอื่น ๆ ในต่างประเทศพบว่า การตรวจค่าสารบ่งชี้มะเร็งหลายชนิดตัวร่วมกัน ช่วยในการใช้แยกและการวินิจฉัยมะเร็งท่อน้ำดีและมะเร็งตับ แต่ยังไม่เคยมีการรวบรวมข้อมูลในผู้ป่วยโรงพยาบาลชลบุรีมาก่อน วัตถุประสงค์ของศึกษาหาความสัมพันธ์ร่วมกันของ AFP, CA19-9 และ CEA ในการวินิจฉัยมะเร็งท่อน้ำดี โดยเป็นการศึกษาเชิงพรรณนาย้อนหลังและการศึกษาไปข้างหน้า โดยเก็บข้อมูลจากผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยมะเร็งท่อน้ำดีและมะเร็งตับ ที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลชลบุรี ตั้งแต่ 1 มกราคม พ.ศ. 2555 – 20 มีนาคม พ.ศ. 2562 และได้รับการยืนยันผลการวินิจฉัยด้วยผลชิ้นเนื้อพยาธิวิทยา

ผลการวิจัยพบว่าผลค่าบ่งชี้มะเร็ง CA19-9, AFP และ CEA ในการวินิจฉัยแยกโรคมะเร็งทางเดินน้ำดี และมะเร็งตับพบว่า ค่าบ่งชี้มะเร็ง CA19-9 และค่า CEA ในมะเร็งทางเดินน้ำดีสูงกว่ามะเร็งตับ แต่ค่า AFP ในมะเร็งทางเดินน้ำดีต่ำกว่าในมะเร็งตับ จากการคำนวณพื้นที่ใต้ ROC curve ในการใช้วินิจฉัยมะเร็งทางเดินน้ำดีของสารบ่งชี้มะเร็ง CA 19-9, AFP และ CEA คือ 0.93, 0.13 และ 0.72 ตามลำดับ นำมาสู่ค่าจุดตัดที่เหมาะสมของคือ 136.00 U/ml, 39.79 ng/ml และ 12.95 ng/ml ตามลำดับ หากใช้ CA 19-9 เพียงค่าใดค่าเดียวความถูกต้องในการวินิจฉัยร้อยละ 81.5% แต่เมื่อใช้ประเมินร่วมกันทั้ง 3 ชนิด คือ CA 19-9, AFP และ CEA ความถูกต้องในการวินิจฉัยมะเร็งทางเดินน้ำดีสูงสุด 87.7%

สรุปการวิจัยนี้พบว่าในผู้ป่วยที่สงสัยระหว่างมะเร็งท่อน้ำดีและมะเร็งตับ สามารถใช้สารบ่งชี้มะเร็ง 3 ชนิดร่วมกันคือ CA 19-9 มากกว่า 136.00 U/ml, AFP น้อยกว่า 39.79 ng/ml และ CEA มากกว่า 12.95 ng/ml สามารถวินิจฉัยมะเร็งท่อน้ำดีที่มีความไวร้อยละ 88.2, ความจำเพาะร้อยละ 87.1 และความถูกต้องร้อยละ 87.7

คำสำคัญ : มะเร็งท่อน้ำดี, มะเร็งตับ, สารบ่งชี้มะเร็ง, การวินิจฉัยแยกโรค, พื้นที่ใต้กราฟ ROC

The Evaluation of Joint Detection of CA19-9, AFP and CEA in Identification and Diagnosis of Cholangiocarcinoma

Chalita Lagampan M.D.*, Annop Kittiwarawut M.D.**

Abstract

Serum CA19-9 is most sensitive marker for diagnosis of cholangiocarcinoma. However it can be found varies in different types of liver cancer. In recent years, the joint detection of multiple tumor markers met the requirements of the elevating sensitivity and the high accuracy of diagnosis. There was no previous data collection at Chonburi hospital. The objective of this study is to explore the application of joint detection of serum CA19-9, AFP and CEA in identification and diagnosis of cholangiocarcinoma. This study was conducted during 1 January 2012 to 15 March 2019 at Chonburi Hospital in patients diagnosed cholangiocarcinoma and hepatocellular carcinoma (HCC) by histopathology confirmation.

* อายุรแพทย์ กลุ่มงานอายุรกรรม โรงพยาบาลชลบุรี

* Medicine Doctor Department of Internal Medicine, Chonburi Hospital

** อายุรแพทย์มะเร็งวิทยา กลุ่มงานอายุรกรรม โรงพยาบาลชลบุรี

** Medicine Oncologist Department of Internal Medicine, Chonburi Hospital

In cholangiocarcinoma patients had levels of serum CA19-9 and CEA significantly higher than in HCC patients, whereas serum AFP was significantly lower. The area under ROC curve of single detection of serum CA19-9, AFP and CEA were 0.91, 0.13 and 0.72, which led to the optimal cut-off values at 136.00 U/ml, 39.79 ng/ml and 12.95 ng/ml respectively. In case use only CA19-9 marker gives accuracy 81.5%. The diagnostic effect of combined CA19-9, AFP and CEA was the highest at 87.7%.

Conclusions: To differentiate between cholangiocarcinoma and HCC, the joint detection of serum CA 19-9, AFP and CEA can help for diagnosis. A cut-off values for cholangiocarcinoma are serum CA19-9 more than 136.00 U/ml, AFP lower than 39.79 ng/ml and CEA more than 12.95 ng/ml, which provided sensitivity 88.2%, specificity 87.1% and accuracy 87.7%

Keywords : cholangiocarcinoma, hepatocellular carcinoma, tumor markers, identification and diagnosis, ROC curve

บทนำ

มะเร็งท่อน้ำดี (Cholangiocarcinoma, CCA) เป็นมะเร็งของเซลล์เยื่อบุทางเดินน้ำดี (Cholangiocyte) พบได้ร้อยละ 10 - 15 และเป็นอันดับสองของมะเร็งตับและทางเดินน้ำดี มะเร็งท่อน้ำดีสามารถเกิดขึ้นกับท่อน้ำดีทั้งส่วนที่อยู่ภายในตับ (Intrahepatic cholangiocarcinoma, iCCA) และนอกตับ (Extrahepatic cholangiocarcinoma, eCCA)¹ โดย iCCA พบได้ประมาณ 50-60 ของมะเร็งท่อน้ำดี ซึ่งเป็นโรคที่มักถูกวินิจฉัยผิดว่าเป็นมะเร็งตับ (Hepatocellular carcinoma: HCC) เพราะอาการและอาการแสดงที่มักเป็นผลจากก้อนในตับ ซึ่งวินิจฉัยค่อนข้างยากและมีพยากรณ์โรคที่ไม่ดี การรักษาในปัจจุบันได้ผลน้อยมากเนื่องจากผู้ป่วยส่วนใหญ่มาพบแพทย์ในระยะท้าย

มะเร็งท่อน้ำดีนี้พบได้ในเพศชายมากกว่าเพศหญิง คือ 135.4 ต่อ 100,000 ในชาย และ 43.0 ต่อ 100,000 ในหญิง² ซึ่งประเทศไทยมีอุบัติการณ์ที่สูงเป็นอันดับหนึ่งในโลก มะเร็งท่อน้ำดียังคงเป็นปัญหาทางสาธารณสุขที่สำคัญของภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย สาเหตุสำคัญของมะเร็งชนิดนี้พบว่าเกี่ยวข้องกับการรับประทานปลาน้ำจืดที่มีเกล็ดแบบดิบ ๆ ซึ่งจะทำให้ได้รับตัวอ่อนของพยาธิใบไม้ตับ (*Metacercaria of Opisthorchis viverrini*) และจะเจริญเติบโตอยู่ในท่อน้ำดี นอกจากนี้ยังพบว่าการรับประทานอาหารหมักดองของประชากรทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เช่น ปลาร้า ปลาเจ่า ปลาจ่อม รวมทั้งปลาส้ม จะมีสาร N-Nitroso compound และ Nitrosamines ซึ่งจะเร่งให้เกิดมะเร็งได้เร็วขึ้น³ ส่วนใหญ่จะมาด้วยอาการไม่สบายในท้อง (Abdominal discomfort หรือ dyspepsia) ปวดใต้ชายโครงขวา ปวดหลังหรือไหล่ มีไข้ต่ำ ๆ เหนื่อยอ่อนเพลีย, เบื่ออาหาร, น้ำหนักลด คลื่นไส้หรือตับโต

การวินิจฉัยอาศัยการซักประวัติและตรวจร่างกายพบอาการและอาการแสดงดังกล่าว แต่เนื่องจากโรคนี้นี้ไม่ค่อยมีอาการ และอาการแสดงให้เห็นมากนัก จนกว่าโรคจะลุกลาม

เป็นระยะท้าย ๆ แล้ว การตรวจการทำงานของตับโดยเฉพาะอย่างยิ่ง Alkaline phosphatase มีค่าสูง หากค่าของ Alkaline phosphatase สูงหลายครั้งติดต่อกัน ให้สงสัยว่าอาจจะมีพยาธิสภาพของมะเร็งท่อน้ำดีแฝงอยู่ ค่า AFP มักจะปกติ แต่ระดับของ CA 19-9 และ CEA จะสูง อาจต้องพิจารณาตรวจอัลตราซาวด์ตับ และช่องท้องส่วนบน ซึ่งจะสามารถตรวจพบได้ค่อนข้างแม่นยำ การทำ Spiral CT หรือ MRI จะช่วยในการวินิจฉัยและช่วยในการทำแผนรักษา อย่างไรก็ตามการวินิจฉัยที่เป็น gold standard ยังคงเป็นการวินิจฉัยจากผลชิ้นเนื้อทางพยาธิวิทยา

การตรวจค่าสารบ่งชี้มะเร็งช่วยสนับสนุนการวินิจฉัยสารบ่งชี้มะเร็งที่ใช้บ่อยมากที่สุดสำหรับมะเร็งท่อน้ำดีคือ CA19-9 แต่ยังมีข้อจำกัดคือสามารถพบได้ในโรคมะเร็งอื่น ๆ เช่น มะเร็งตับ มะเร็งตับอ่อน มะเร็งกระเพาะอาหาร รวมทั้งภาวะที่ไม่ใช่มะเร็ง เช่น ท่อน้ำดีอักเสบ, ท่อน้ำดีอุดตันหรือนิ่วในทางเดินน้ำดี เป็นต้น เนื่องจากสารบ่งชี้มะเร็งเป็นสารที่ผลิตโดยเซลล์มะเร็ง หรือโดยการตอบสนองของร่างกายต่อเซลล์มะเร็งในระหว่างขั้นตอนของการผลิตของเซลล์, การแพร่กระจายของมะเร็ง และสะท้อนการดำรงอยู่และการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง มีการศึกษาเป็นจำนวนมากที่พยายามนำสารบ่งชี้มะเร็งมาใช้ช่วยในการวินิจฉัยมะเร็งต่าง ๆ⁴

Carbohydrate Antigen 19-9 (CA 19-9) เป็นไกลโคโปรตีน โมเลกุลใหญ่ ที่มีการเพิ่มขึ้นของระดับตามตัวมะเร็งที่เพิ่มขึ้น และลดลงตัวโรคที่ตอบสนองต่อการรักษา ระดับของ CA19-9 จึงมักจะ ถือว่าเป็น detecting index ของ tumor-associated antigen (TAA) กล่าวคือ มีความสามารถในการสะท้อนให้เห็นถึง สถานะของมะเร็งท่อน้ำดีและการเปลี่ยนแปลง การตอบสนองและการกลับมาเป็นซ้ำของมะเร็งในขณะรับการรักษา และการตรวจติดตาม⁵ ค่า CA19-9 มีความแตกต่างกัน ในแต่ละชนิดของผู้ป่วย

ที่มี Primary liver cancer (PLC) โดยค่าจะขึ้นสูงใน CCA แต่เกือบจะไม่สามารถตรวจพบใน HCC ซึ่งจะช่วยในการแยก ระหว่าง HCC และ CCA⁶ ในการวิเคราะห์ระดับของ CA19-9 ในผู้ป่วยที่มีภาวะอื่นที่ไม่ใช่มะเร็ง และมะเร็งท่อน้ำดี พบว่า เมื่อใช้ระดับของ CA19-9 ในเลือดมากกว่า 100 U/ml ในการ วินิจฉัยมีความไวของมะเร็งท่อน้ำดี, benign liver diseases และ ท่อน้ำดีดีตیب เป็นร้อยละ 53, 24 และ 8 ตาม ลำดับ และความเข้มข้นของ CA19-9 ในผู้ป่วยมะเร็งที่ได้รับการ ผ่าตัด tumor resection ต่ำกว่าอย่างชัดเจนเทียบกับ ผู้ป่วยที่ไม่ได้รับการผ่าตัด ดังนั้น CA19-9 อาจจะเป็น สารบ่ง ชี้มะเร็งที่มีประสิทธิภาพในการช่วยวินิจฉัยมะเร็งท่อน้ำดีและ การตรวจติดตาม monitor หลังได้รับการรักษา มิงงานวิจัยที่ แสดงให้เห็นว่าความไวของ CA19-9 ไม่ได้แสดงผลกระทบจาก อายุ เพศ หมู่เลือด ตำแหน่งของมะเร็ง ระยะของมะเร็ง⁷ ดังนั้น CA19-9 จึงเป็นสารบ่งชี้มะเร็งที่เชื่อถือได้ในการช่วยวินิจฉัย CCA การศึกษาของ Kim และคณะ⁸ แสดงให้เห็นว่า overall survival ของ ผู้ป่วย CCA นั้นสั้นมากหากหลังผ่าตัด tumor resection แล้ว ยังมี CA19-9 มากกว่า 37 U/ml⁹ ในการศึกษาของ Li และ คณะ¹⁰ พบว่าผลการช่วยวินิจฉัย ของ CA19-9 เป็น สูงสุดหนึ่งใน 4 ของ สารบ่งชี้มะเร็งในการวินิจฉัย CCA

Alpha-fetoprotein (AFP) เป็นปัจจุบันเป็นค่าบ่งชี้ในการ ช่วยวินิจฉัยเบื้องต้นที่ดีที่สุดของ Hepatocellular carcinoma (HCC) ซึ่งสามารถสะท้อนการเปลี่ยนแปลงของโรค และ ผลการรักษาของผู้ป่วย และเฉพาะเจาะจงรองจากการตรวจ สอบทางพยาธิวิทยา Taketa และคณะ⁹ จากการศึกษา Hepatopathy (โรคของตับคือ มะเร็งตับ โรคตับแข็ง และโรค ตับอักเสบเรื้อรัง) ในโรงพยาบาลประเทศไทย และพบว่าค่าที่ ดีที่สุดของ AFP คือ 200 ng/ml มีความไวและความจำเพาะ เป็นร้อยละ 70 และ 100 ตามลำดับ⁹ และในการศึกษาของ Li และคณะ¹⁰ ในเรื่องนี้ของการประยุกต์ ค่า AFP, CA19-9, CA 125 และ CEA ในการช่วยวินิจฉัยมะเร็งทางเดินท่อน้ำดี พบว่าค่า AFP มีความจำเพาะสูงในการช่วยวินิจฉัย โรคมะเร็ง ตับ (HCC) และต่ำในการช่วยวินิจฉัยโรคมะเร็งท่อน้ำดี (CCA)

Carcinoembryonic antigen (CEA) เป็นไกลโคโปรตีน ของโครงสร้างที่ซับซ้อนแยกออกมาจากเนื้อเยื่อมะเร็งลำไส้ใหญ่ โดยทั่วไป CEA มีอยู่ในระบบทางเดินอาหาร ตับ และ เนื้อเยื่อตับอ่อนในระยะเวลาที่เป็นตัวอ่อน และระดับจะ ลดลงหลังคลอด CEA จึงไม่จำเพาะเจาะจง สามารถเพิ่มขึ้นได้ ในมะเร็งหลายชนิดรวมถึง CCA การศึกษาของ Nanashima และคณะ¹¹ พบว่าระดับของ CEA ที่สูงเป็นปัจจัยสำคัญของการ พยากรณ์โรคที่แยของผู้ป่วย ดังนั้นการตรวจพบ CEA มีความสำคัญอย่างยิ่งสำหรับการประเมินผลของการพยากรณ์

โรคของผู้ป่วย iCCA Nakeeb และคณะ¹² ทำการสำรวจค่า ของ CEA ในน้ำดี ในโรคทางเดินน้ำดี และพบว่าระดับของ CEA ในน้ำดีในผู้ป่วยที่มีการตีบของทางเดินน้ำดีจากมะเร็ง มี ค่าสูงกว่าผู้ป่วยที่มีทางเดินน้ำดีตีบจากภาวะอื่นที่ไม่ใช่มะเร็ง อย่างเห็นได้ชัด และค่าค่อย ๆ เพิ่มขึ้นในระยะของมะเร็ง ที่เพิ่มขึ้นและตัวโรคที่แยลงของผู้ป่วย CCA และหลังจาก การผ่าตัดเอาเนื้องอกออก ค่า CEA ในน้ำดีลดลงอย่างมาก จน ลงมาสู่ค่าปกติ¹² มีการศึกษาพบว่า CEA มีความไวอย่างสูงต่อ การกลับเป็นซ้ำและการแพร่กระจายของมะเร็ง และเมื่อใช้ ร่วมกับสารบ่งชี้มะเร็งอื่น ๆ สามารถใช้สำหรับการตัดสินว่า เป็นภาวะ benign หรือ malignant ของโรคตับและระบบทาง เดินน้ำดี และสามารถใช้ในการประเมินระดับของความรุนแรง ของโรคหลังได้รับการผ่าตัดเนื้องอก¹³ อย่างไรก็ตาม ความไว ในการช่วยวินิจฉัยของ CEA ยังถูกแทรกแซงด้วยหลายปัจจัย ดังนั้น CEA เป็นสารบ่งชี้มะเร็งในวงกว้าง ไม่สามารถใช้เป็น ดัชนีการวินิจฉัยมะเร็งได้ แต่สามารถใช้เป็นดัชนีการช่วยเฝ้า ลังเกตติดตามตัวโรค และประเมินการหายของโรคมะเร็งหลัง การผ่าตัด และสามารถเพิ่มความไวและความจำเพาะ เมื่อใช้ ร่วมกับสารบ่งชี้มะเร็งอื่น ๆ

ในช่วงไม่กี่ปีที่ผ่านมา มีการศึกษาการประยุกต์การใช้สาร บ่งชี้มะเร็งร่วมกัน เพื่อช่วยเพิ่มอัตราการตรวจวัดที่มีความไว และ ความจำเพาะในการวินิจฉัยมะเร็งตับและมะเร็งระบบทางเดิน น้ำดี ในการศึกษาส่วนนี้ ตรวจค่า AFP, CA19-9, CA125 และ CEA สามารถเพิ่มความไว แต่ไม่เพิ่มความจำเพาะ เจาะจง และความแม่นยำของการช่วยวินิจฉัย¹⁴ โดยผลสรุป ของ Li และคณะ¹⁰ พบว่า การตรวจค่า AFP, CA19-9, CA125 และ CEA มีความสำคัญในการใช้แยกและการช่วย วินิจฉัย CCA และ HCC การตรวจร่วมกันของ 4 สารบ่งชี้ มะเร็ง สามารถเพิ่มความไวในการวินิจฉัยของ CCA ได้ ดีที่สุด¹⁴

ทางผู้จัดทำงานวิจัย ต้องการศึกษาค่าใช้สารบ่งชี้ มะเร็งร่วมกันทั้ง CA19-9, AFP และ CEA เพื่อหาค่าที่เหมาะสมในการวินิจฉัยแยกโรคมะเร็งตับและมะเร็งทางเดินน้ำดี และ เพิ่มความถูกต้องแม่นยำในการวินิจฉัยมะเร็งท่อน้ำดี

วัตถุประสงค์และวิธีดำเนินการวิจัย

คำถามการวิจัย (research question)

คำถามหลัก (primary research question)
ศึกษาความสัมพันธ์ร่วมกันของ AFP, CA19-9 และ CEA ในการช่วยวินิจฉัยมะเร็งท่อน้ำดีภายในตับ

คำถามรอง (secondary research question)

หาค่า cut-off level ของ AFP, CA19-9 และ CEA ที่มี

sensitivity และ specificity มากที่สุดในการช่วยวินิจฉัยมะเร็งท่อน้ำดีภายในตับ

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

วัตถุประสงค์หลัก : เพื่อความสัมพันธ์ร่วมกันของ AFP, CA19-9 และ CEA ในการช่วยวินิจฉัยมะเร็งท่อน้ำดีภายในตับ

วัตถุประสงค์รอง : เพื่อหาค่า cut-off level ของ AFP, CA19-9 และ CEA ที่มี sensitivity และ specificity มากที่สุดในการช่วยวินิจฉัยมะเร็งท่อน้ำดีภายในตับ

กรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย

งานวิจัยนี้ต้องการศึกษาความสัมพันธ์ร่วมกันของ AFP, CA19-9 และ CEA ในการใช้วินิจฉัยมะเร็งท่อน้ำดี เพิ่มความถูกต้องแม่นยำกว่าการเจาะสารบ่งชี้มะเร็งเพียงตัวเดียว

วิธีดำเนินงานวิจัย

แบบแผนของการวิจัย

การศึกษาเชิงพรรณนาค้นย้อนหลัง และการศึกษาไปข้างหน้า เพื่อศึกษาหาความสัมพันธ์ร่วมระหว่าง AFP, CA19-9 และ CEA ในการใช้วินิจฉัยมะเร็งท่อน้ำดี ในระบบฐานข้อมูลโรงพยาบาลชลบุรี ตั้งแต่ 1 มกราคม 2555 ถึง 15 มีนาคม 2562

งานวิจัยฉบับนี้ผ่านการอนุมัติการทำงานวิจัย จากคณะกรรมการวิจัยและจริยธรรมการวิจัยโรงพยาบาลชลบุรี รหัสวิจัย 072/59/R/h มีการทำตามกฎจริยธรรมงานวิจัยอย่างเคร่งครัด ข้อมูลผู้ป่วยทั้งหมดไม่มีการนำมาเปิดเผย และไม่มีการระบุถึงตัวผู้ป่วย

ข้อบ่งชี้ในการคัดเลือกผู้ป่วย

1) ผู้ป่วยหญิงและชาย อายุ 15 - 80 ปี ที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลชลบุรี ในช่วง 1 มกราคม 2555 ถึง 15 มีนาคม 2562

2) ผู้ป่วยที่มาตรวจและแพทย์สงสัยว่าเป็นมะเร็งตับหรือมะเร็งท่อน้ำดีภายในตับ ได้รับการตรวจวินิจฉัยด้วย CT scan หรือ MRI และ/หรือ tissue pathology และได้รับการเจาะเลือดตรวจสารบ่งชี้มะเร็งทั้ง CA19-9, AFP, CEA ก่อนให้การรักษา

3) ผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยโรคมะเร็งท่อน้ำดีทุกคน วินิจฉัยโดย tissue pathology

คุณสมบัติในการคัดประชากรออกจากการเป็นอาสาสมัครในโครงการวิจัย

1) ผู้ป่วยที่ได้รับการเจาะเลือดสารบ่งชี้มะเร็งไม่ครบทั้งสามค่า

2) ผู้ป่วยที่ยังไม่ได้รับการวินิจฉัยสุดท้าย

3) ผู้ป่วยที่ไม่เข้าเกณฑ์ข้างต้น

การกำหนดขนาดตัวอย่างที่ใช้ในงานวิจัย

การคำนวณขนาดตัวอย่างของข้อมูลเชิงพรรณนา เป็นการศึกษาเปรียบเทียบในกลุ่ม เนื่องจากการศึกษานี้ ต้องการหาความไว และความจำเพาะ ของความสัมพันธ์ร่วมกันของ AFP, CA19-9 และ CEA กำหนดหาขนาดตัวอย่างจากสูตร^{15,16}

$$n = \frac{Z_{1-\frac{\alpha}{2}}^2 p(1-p)}{d^2}$$

Proportion (p) = 0.05 สถิติจาก primary liver cancer ในประเทศไทย ปี 2542¹⁷

Error (d) = 0.08

Alpha (α) = 0.05

Z(0.975) = 1.959964

Sample size (n) = 29

ได้ขนาดตัวอย่างแต่ละฝั่งของมะเร็งตับและมะเร็งทางเดินน้ำดี ประมาณ 29 คน

การวิเคราะห์ข้อมูล

1. รวบรวมผู้ป่วยแต่ละฝั่งของมะเร็งตับและมะเร็งทางเดินน้ำดีประมาณ 30 คน ที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลชลบุรี ตั้งแต่ 1 มกราคม ปี 2555 - 15 มีนาคม 2562 ที่ได้รับการยืนยันผลการวินิจฉัยด้วยผลทางห้องปฏิบัติการ imaging study และ pathology และเข้าได้กับ inclusion criteria

2. ในส่วนของ retrospective ดึงข้อมูลจากฐานข้อมูลโรงพยาบาลชลบุรีโดยสืบค้นจาก ICD 10 code : C22.0 Liver cell carcinoma, C22.1 Intrahepatic bile duct carcinoma เป็น final diagnosis ที่ได้จากเฉพาะ medical oncologist และ surgical oncologist

3. รวบรวม HN จากผู้ป่วยที่ได้ในข้อ 2 นำมาดูประวัติย้อนหลัง จะเก็บข้อมูลเฉพาะผู้ป่วยที่ได้รับการเจาะสารบ่งชี้มะเร็งครบทั้ง CA19-9, AFP และ CEA

4. รวบรวมค่า AFP, CA19-9 และ CEA ของผู้ป่วยแต่ละราย โดยใช้เฉพาะค่าแรกที่ได้รับการเจาะก่อนได้รับการรักษา

5. ในส่วนของ prospective จะตรวจค่า AFP, CA19-9 และ CEA ในผู้ป่วยที่แพทย์ medical oncologist และ surgical oncologist วินิจฉัยว่าเป็น cholangiocarcinoma หรือ hepatocellular carcinoma

สถิติที่ใช้วิเคราะห์

1. เป็นการศึกษาเชิงพรรณนาค้นย้อนหลังและไปข้างหน้า (A descriptive, prospective and retrospective cross-sectional study)

2. คำนวณสถิติจากโปรแกรม SPSS18.0 software package มาวิเคราะห์ข้อมูล นำเสนอ non-normal measurement data โดยใช้ค่า median และ interquartile-range (IQR) และทำการวิเคราะห์เปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม โดยใช้ Mann-Whitney test ใช้ค่า $p < 0.01$ ถือว่าเป็นนัยสำคัญทางสถิติ วิเคราะห์ดัชนีสารบ่งชี้มะเร็งเดี่ยวของ CA19-9, AFP และ CEA โดยใช้เส้นโค้ง ROC ในการประเมินผลในการวินิจฉัย และค่าที่

ได้ของ CA19-9, AFP และ CEA นำมาวิเคราะห์ใน Binary Logistic regression analysis เพื่อให้ได้ binary classification regression model เพื่อวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ของ sensitivity, specificity และ correct diagnosis และใช้ joint detection ของค่า CA19-9, AFP และ CEA นำมาวิเคราะห์ใน Binary Logistic regression analysis เพื่อวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ของ sensitivity, specificity และ accuracy ในแต่ละกลุ่ม

ตารางที่ 1 ข้อมูลรายละเอียดค่า lab AFP, CA 19-9 และ CEA ตั้งแต่วันที่ 1 มกราคม 2555 - 15 มีนาคม 2562 จากงาน ภูมิคุ้มกันวิทยา กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ รพ.ชลบุรี

Test	หลักการ	บริษัทผู้ผลิต	รุ่นเครื่อง	Referent range	Unit	% CV
AFP	Chemiluminescent microparticle immunoassay	Abbott diagnostic	Architect i2000 SR	0 - 13.4	ng/ml	3.4
CEA	Chemiluminescent microparticle immunoassay	Abbott diagnostic	Architect i2000 SR	0 - 5	ng/ml	4.2
CA 19-9	Chemiluminescent microparticle immunoassay	Abbott diagnostic	Architect i2000 SR	0 - 37	U/ml	5.4

ผลการวิจัย

จากการเก็บรวบรวมข้อมูลผู้ป่วยโรคมะเร็งท่อน้ำดี และมะเร็งตับที่เข้ารับการรักษาตัวที่โรงพยาบาลชลบุรี ตั้งแต่ 1 มกราคม 2555 ถึง 15 มีนาคม 2562 รวมระยะเวลาทั้งหมด 7 ปี มีผู้ป่วยที่แพทย์สงสัยว่าเป็นมะเร็งตับและท่อน้ำดีทั้งหมด 90 คน ตัดออกจากการนำมาประเมินทางสถิติทั้งหมด 8 คน โดยเป็น benign liver diseases 5 คน และ liver metastasis 3 คน และมีผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยมะเร็งตับและท่อน้ำดีรวมทั้งหมด 82 คน แบ่งเป็นมะเร็งท่อน้ำดี 51 คน เหลือเฉพาะผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีที่มี tissue pathology ในการวินิจฉัย 34 คน และมะเร็งตับ 31 คน ซึ่งเป็นผู้ป่วยที่เข้ามาเป็นประชากรในการศึกษาครั้งนี้

พบว่าประชากรที่นำมาศึกษา แบ่งเป็นเพศชาย ร้อยละ 52.9 ในมะเร็งท่อน้ำดี และร้อยละ 64.5 ในมะเร็งตับ, เพศหญิงร้อยละ 47.1 ในมะเร็งท่อน้ำดี และร้อยละ 35.5 ในมะเร็งตับ, อายุเฉลี่ยในมะเร็งท่อน้ำดีและมะเร็งตับ คือ 58.21 และ 59.97 ปี ตามลำดับ

ผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดี มีขนาดของก้อนมะเร็งน้อยกว่า 3 เซนติเมตร ร้อยละ 8.8, ขนาด 3 ถึง 5 เซนติเมตร ร้อยละ 14.7, ขนาดมากกว่า 5 เซนติเมตรร้อยละ 64.7 และมีจำนวนมากกว่าหนึ่งก้อน ร้อยละ 11.8 และในส่วนของผู้ป่วยมะเร็งตับ พบมีขนาดของก้อนมะเร็งน้อยกว่า 3 เซนติเมตร ร้อยละ 16.1, ขนาด 3 ถึง 5 เซนติเมตร ร้อยละ 19.4, ขนาดมากกว่า 5 เซนติเมตรร้อยละ 51.1 และมีจำนวนมากกว่าหนึ่งก้อน ร้อยละ 12.9 และในผู้ป่วยมะเร็งตับมีผลเอกซเรย์คอมพิวเตอร์ที่เข้าได้กับ HCC (typical dynamic imaging, rapid arterial phase enhancement and rapid venous phase washout) ร้อยละ 64.5

ลักษณะของผู้ป่วยรายละเอียดอื่นๆ ดังแสดงในตารางที่ 2 โดยผู้ป่วยกลุ่มมะเร็งท่อน้ำดีที่ศึกษาทั้งหมด 100% จะมีผลตรวจทางพยาธิวิทยายืนยันการวินิจฉัย แต่กลุ่มมะเร็งตับที่เปรียบเทียบมีผลพยาธิวิทยาในการวินิจฉัยเพียง 22.6%

ตารางที่ 2 ข้อมูลทั่วไปของผู้ป่วย

	CCA (n=34)	HCC (n=31)
เพศชาย	18 (52.9%)	20 (64.5%)
เพศหญิง	16 (47.1%)	11 (35.5%)
อายุเฉลี่ย (ปี)	58.21	59.97
Mass size		
- <3 cm	3 (8.8%)	5 (16.1%)
- 3-5 cm	5 (14.7%)	6 (19.4%)
- >5 cm	22 (64.7%)	16 (51.1%)
Multiple masses	4 (11.8%)	4 (12.9%)
Lympho-vascular invasion	25 (73.5%)	10 (32.3%)
Lymph node metastasis	28 (82.4%)	1 (3.2%)
Resectability	9 (26.5%)	4 (12.9%)
Tissue diagnosis	34 (100%)	7 (22.6%)
AST > 40 U/L	23 (67.6%)	20 (64.5%)
ALT > 38 U/L	14 (41.2%)	17 (54.8%)
TB > 2 mg/dL	12 (35.3%)	7 (22.6%)
DB > 0.4 mg/dL	20 (58.8%)	20 (64.5%)
ALP > 117 U/L	25 (73.5%)	19 (61.3%)

การเปรียบเทียบค่าบ่งชี้มะเร็ง CA19-9, AFP และ CEA ในมะเร็งท่อน้ำดี และมะเร็งตับพบว่า ค่าบ่งชี้มะเร็ง CA19-9 และค่า CEA ในมะเร็งท่อน้ำดีสูงกว่ามะเร็งตับ แต่ค่า AFP ใน

มะเร็งท่อน้ำดีต่ำกว่าในมะเร็งตับ ซึ่งความแตกต่างกันนั้น ต่างกันอย่างสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 การเปรียบเทียบค่าสารบ่งชี้มะเร็ง CA19-9, AFP, CEA ระหว่างมะเร็งท่อน้ำดีและมะเร็งตับ

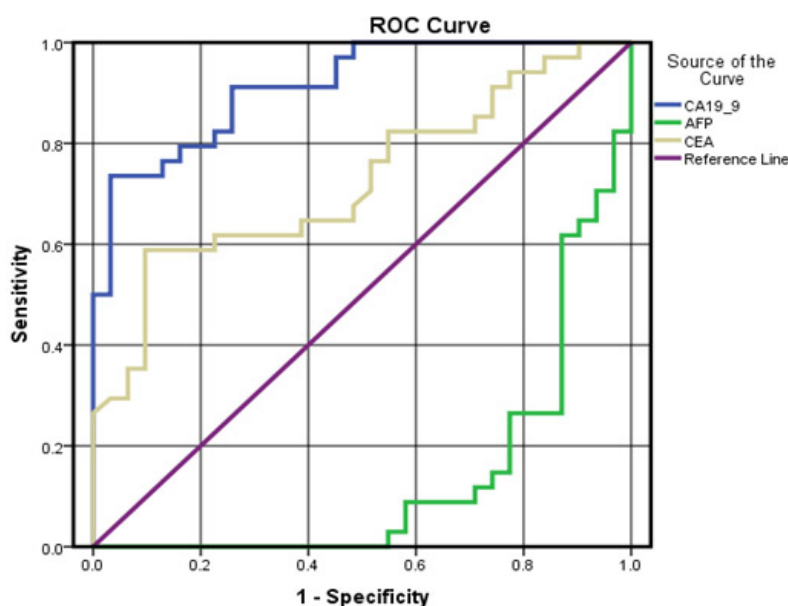
	CCA			HCC			P CCA vs. HCC
	Median	Percentile		Median	Percentile		
		25	75		25	75	
CA 19-9 (U/ml)	315.88	145.49	3079.49	8.37	2	112	<0.001
AFP (ng/ml)	4.43	2.98	13.69	333.91	32	535.11	<0.001
CEA (ng/ml)	31.65	4.8	88.92	13.66	2.82	12.6	0.002

พื้นที่ใต้ ROC curve ในการช่วยวินิจฉัยมะเร็งท่อน้ำดีของสารบ่งชี้มะเร็ง CA 19-9 และ CEA มากกว่า 0.5 โดยพื้นที่ของ CA19-9 มากกว่า CEA ตามลำดับ แต่พื้นที่ใต้ ROC curve ในการวินิจฉัยมะเร็งท่อน้ำดีของสารบ่งชี้มะเร็ง AFP อยู่

ใต้ diagonal reference line (น้อยกว่า 0.5) กล่าวคือ ในการใช้ค่าสารบ่งชี้มะเร็ง AFP ไม่สามารถใช้ในการวินิจฉัยแยกโรคมะเร็งท่อน้ำดี ดังแสดงในตารางที่ 4, รูปภาพที่ 1

ตารางที่ 4 พื้นที่ใต้ ROC curve ของ Ca19-9, AFP และ CEA ในการช่วยวินิจฉัยมะเร็งท่อน้ำดี

	AUC-ROC	Std. Error	P	95% CI
CA 19-9	0.91	0.033	<0.001	0.849 - 0.979
AFP	0.13	0.047	<0.001	0.044 - 0.229
CEA	0.72	0.063	0.002	0.601 - 0.848



รูปภาพที่ 1 ROC Curve of single detection of CA19-9, AFP and CEA in the diagnosis of Cholangiocarcinoma

จากพื้นที่ใต้ ROC curve ที่ได้แสดงในข้างต้น ค่าจุดตัดที่เหมาะสม ของสารบ่งชี้มะเร็ง CA 19-9, AFP และ CEA คือ 136.00 U/ml, 39.79 ng/ml และ 12.95 ng/ml ตามลำดับ ค่าสารบ่งชี้มะเร็ง CA 19-9 มีความสามารถในการใช้ช่วยวินิจฉัยแยกโรคมะเร็งท่อน้ำดีมากที่สุด โดยจุดตัดของ CA 19-9 ที่มากกว่า 136.00 U/ml มีความไว (sensitivity) และความจำเพาะ (specificity) ในการช่วยวินิจฉัยมะเร็งท่อน้ำดีร้อยละ 79.4 และร้อยละ 83.9 และความถูกต้อง (accuracy) ร้อยละ 81.5

ค่าสารบ่งชี้มะเร็ง AFP มีความสามารถในการช่วยวินิจฉัยแยกโรคมะเร็งท่อน้ำดีแย่มากที่สุด โดยจุดตัดของ AFP ที่มากกว่า 39.79 U/ml มีความไวและความจำเพาะในการช่วยวินิจฉัยมะเร็งท่อน้ำดีร้อยละ 11.8 และร้อยละ 29.0 และความถูกต้องร้อยละ 20.0 แต่มีความไวและความจำเพาะใน

การวินิจฉัยต่ำร้อยละ 84.6 และร้อยละ 88.2 และความถูกต้องร้อยละ 80.0 แต่หากใช้ค่าสารบ่งชี้มะเร็ง AFP ที่น้อยกว่า 39.79 U/ml ในการช่วยวินิจฉัยมะเร็งท่อน้ำดี จะมีความไวและความจำเพาะในการช่วยวินิจฉัยมะเร็งท่อน้ำดีร้อยละ 88.2 และร้อยละ 71.1 ความถูกต้องร้อยละ 80.0

ค่าสารบ่งชี้มะเร็ง CEA มีความสามารถในการใช้วินิจฉัยแยกโรคมะเร็งท่อน้ำดีรองลงมา โดยจุดตัดของ CEA ที่มากกว่า 12.95 U/ml มีความไวและความจำเพาะในการวินิจฉัยมะเร็งท่อน้ำดีร้อยละ 61.8 และร้อยละ 77.4 และความถูกต้องร้อยละ 69.2

กล่าวโดยสรุปคือ ค่าความไวความจำเพาะและความถูกต้องในการช่วยวินิจฉัยแยกโรคมะเร็งท่อน้ำดีของสารบ่งชี้มะเร็งที่สูงที่สุดคือ CA19-9 ดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 Evaluation of Single Detection of CA19-9, AFP and CEA in the diagnosis of Cholangiocarcinoma (%)

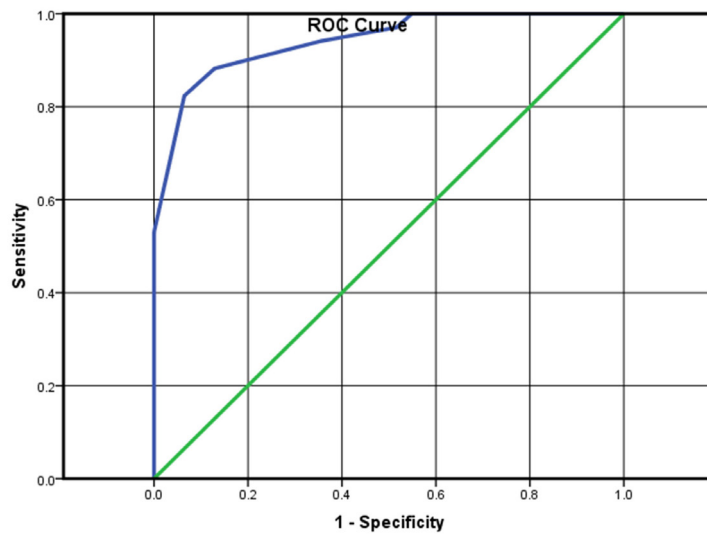
	Cut-off value	sensitivity (%)	specificity (%)	Accuracy (%)
CA 19-9	136	27/34 (79.4%)	26/31 (83.9%)	53/65 (81.5%)
AFP	39.79	4/34 (11.8%)	9/31 (29.0%)	13/65 (20.0%)
CEA	12.95	21/34 (61.8%)	24/31 (77.4%)	45/65 (69.2%)

ในการศึกษาร่วมกันของค่าสารบ่งชี้มะเร็ง CA 19-9, AFP และ CEA ความถูกต้องสูงสุดเมื่อประเมินร่วมกันทั้ง 3 ค่า โดยมีความไว ความจำเพาะ และความถูกต้องในการวินิจฉัย

มะเร็งท่อน้ำดี ร้อยละ 88.2, 87.1 และ 87.7 ตามลำดับ โดยพื้นที่ใต้ ROC curve เท่ากับ 0.94 (95% CI 0.89-0.99) ดังแสดงในตารางที่ 6 และรูปภาพที่ 2

ตารางที่ 6 Evaluation of Diagnostic Effect of joint detection of CA19-9, AFP and CEA in the diagnosis of Cholangiocarcinoma (%)

	Sensitivity (%)	Specificity (%)	Accuracy (%)
CA19-9 + AFP	24/34 (70.6%)	29/31 (93.5%)	53/65 (81.5%)
AFP + CEA	30/34 (88.2%)	22/31 (71.0%)	52/65 (80.0%)
CA19-9 + CEA	27/34 (79.4%)	26/31 (83.9%)	53/65 (81.5%)
CA19-9 + AFP + CEA	30/34 (88.2%)	27/31 (87.1%)	57/65 (87.7%)



รูปภาพที่ 2 ROC Curve of joint detection of CA19-9, AFP and CEA in the diagnosis of Cholangiocarcinoma

วิจารณ์

จากวัตถุประสงค์ซึ่งต้องการหาความสัมพันธ์ร่วมกันของ AFP, CA19-9 และ CEA ในการช่วยวินิจฉัยมะเร็งท่อน้ำดี และเพื่อหาค่า cut-off level ของ AFP, CA19-9 และ CEA ที่มีความไวและความจำเพาะมากที่สุดในการช่วยวินิจฉัยมะเร็งท่อน้ำดี พบว่าในการใช้ร่วมกันของค่าสารบ่งชี้มะเร็ง CA 19-9, AFP และ CEA มีความไว ความจำเพาะ และความถูกต้องในการวินิจฉัยมะเร็งท่อน้ำดีสูงสุด คือร้อยละ 88.2, 87.1 และ 87.7 ตามลำดับ และหากใช้เพียงค่าสารบ่งชี้มะเร็งเดียว CA 19-9 นั้นมีความสามารถในการช่วยวินิจฉัยแยกโรคมะเร็งท่อน้ำดีมากที่สุด

ซึ่งจากการศึกษาในอดีต ค่า CA19-9 มีความแตกต่างกันในแต่ละชนิดของผู้ป่วยที่มี Primary liver cancer โดยค่าจะขึ้นสูงในมะเร็งท่อน้ำดี และเกือบจะไม่สามารถตรวจพบในมะเร็งตับ ซึ่งจะช่วยในการวินิจฉัยแยกโรคระหว่างสองภาวะพบว่าเมื่อใช้ระดับของ CA19-9 มากกว่า 100 U/ml มีความไวในการช่วยวินิจฉัยร้อยละ 53⁶ มีงานวิจัยที่แสดงให้เห็นว่า

ความไวของ CA19-9 ไม่ได้รับผลกระทบจาก อายุ เพศ หมู่เลือด ตำแหน่งของมะเร็ง ระยะของมะเร็ง⁷ ซึ่งจากการศึกษาวิจัยครั้งนี้ หากใช้จุดตัด CA 19-9 มากกว่า 136.00 จะมีความไว ความจำเพาะและความถูกต้องในการช่วยวินิจฉัยมะเร็งท่อน้ำดีสูงสุดคือ ร้อยละ 79.4, 83.9 และ 81.5 ซึ่งหากใช้สารบ่งชี้มะเร็งเพียงค่าเดียว CA19-9 เป็นสารบ่งชี้มะเร็งที่ช่วยในการช่วยวินิจฉัยมากที่สุด

นอกจากนี้ งานวิจัยนี้พบว่าการเจาะสารบ่งชี้มะเร็งคู่กันเพียง 2 ค่า นั้น กล่าวคือ CA 19-9 และ AFP, AFP และ CEA, CA19-9 และ CEA ให้ความถูกต้องในการช่วยวินิจฉัยมะเร็งท่อน้ำดี ร้อยละประมาณ 80-81 ไม่ได้เพิ่มความสามารถในการช่วยวินิจฉัยต่างจากการเจาะเพียง 1 ค่า

จากการศึกษาของ Li และคณะ¹⁰ ในปี 2015 พบว่า มีการศึกษาใช้สารบ่งชี้มะเร็งร่วมกัน คือ AFP, CA19-9, CA125 และ CEA เพื่อช่วยเพิ่มความไวและความจำเพาะในการวินิจฉัยมะเร็งตับและมะเร็งท่อน้ำดี จะเห็นได้ว่าผลงานวิจัยฉบับนี้ค่อนข้างสอดคล้องกันกับผลสรุปของ Li และคณะ¹⁰

กล่าวคือ การใช้ CA19-9 ตัวเดียว ดีกว่าสารบ่งชี้มะเร็งตัวอื่น ๆ และการตรวจร่วมกันของสารบ่งชี้มะเร็งมากกว่า 1 ตัว สามารถเพิ่มความสามารถในการช่วยวินิจฉัยทั้งความไว ความจำเพาะ และความถูกต้อง

กล่าวโดยสรุป ในผู้ป่วยที่สงสัยระหว่างมะเร็งท่อน้ำดีและมะเร็งตับ สามารถใช้สารบ่งชี้มะเร็ง 3 ค่าร่วมกันคือ CA 19-9 มากกว่า 136.00 U/ml, AFP น้อยกว่า 39.79 ng/ml และ CEA มากกว่า 12.95 ng/ml สามารถวินิจฉัยมะเร็งท่อน้ำดีที่ความไวร้อยละ 88.2, ความจำเพาะร้อยละ 87.1 และความถูกต้องร้อยละ 87.7 อย่างไรก็ตามการวินิจฉัย primary liver cancer ที่เป็น gold standard ยังคงเป็นการวินิจฉัยจากผลชิ้นเนื้อทางพยาธิวิทยา แต่หากในกรณีที่ไม่สามารถสืบค้นได้ถึงผลชิ้นเนื้อทางพยาธิ หรือการได้มาซึ่งผลชิ้นเนื้อทางพยาธิมีความเสี่ยงสูง การใช้สารบ่งชี้มะเร็งทั้งสามค่าร่วมกันก็เป็นอีกทางเลือกที่สามารถทำได้ ซึ่งให้ผลความไว ความจำเพาะ และความถูกต้องที่ดี แต่หากจะเพียง 1 ค่า สารบ่งชี้มะเร็ง CA 19-9 ให้ผลความไว ความจำเพาะ และความถูกต้องที่ดีที่สุดเทียบกับสารบ่งชี้มะเร็ง AFP และ CEA

ข้อจำกัด

การวิจัยเป็นการศึกษาไปข้างหน้าและย้อนหลัง ผู้ป่วยจากส่วนที่เก็บข้อมูลย้อนหลังในอดีตอาจได้รับการเจาะเลือดไม่ครบ จึงไม่ถูกนับเข้าเป็นประชากรในการศึกษาวิจัย ทำให้จำนวนประชากรที่ควรจะได้มากขึ้นถูกตัดออก

ข้อเสนอแนะ

ในอนาคตหากทำงานวิจัยในลักษณะเดียวกันนี้ เสนอว่าควรเก็บข้อมูลผู้ป่วยในโรงพยาบาลชลบุรีในระยะเวลาอันยาวนานมากขึ้น และในอนาคตเพื่อเป็นงานวิจัยที่น่าเชื่อถือมากขึ้นอาจพิจารณาทำเป็น multicenter เพื่อที่จะได้มีข้อมูลพื้นฐานของประเทศไทย

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. การใช้ร่วมกันของ CA19-9, AFP และ CEA ในการใช้วินิจฉัยมะเร็งท่อน้ำดีให้ความไว ความจำเพาะและความถูกต้องในการช่วยวินิจฉัยและช่วยวินิจฉัยแยกโรคมะเร็งท่อน้ำดีและมะเร็งตับ มากกว่าการใช้สารบ่งชี้มะเร็งค่าใดค่าหนึ่ง

2. เพื่อทราบค่า cut-off level ของ AFP, CA19-9 และ CEA ที่มี sensitivity และ specificity และ accuracy มากที่สุดในการวินิจฉัยมะเร็งท่อน้ำดี

3. เป็นองค์ความรู้ในการวิจัยต่อไป

4. เพิ่มประสิทธิภาพในการดูแลรักษาผู้ป่วย

สรุป

ในผู้ป่วยที่สงสัยระหว่างมะเร็งท่อน้ำดีและมะเร็งตับ การใช้สารบ่งชี้มะเร็ง 3 ค่าร่วมกันคือ CA 19-9 มากกว่า 136.00 U/ml, AFP น้อยกว่า 39.79 ng/ml และ CEA มากกว่า 12.95 ng/ml สามารถช่วยวินิจฉัยมะเร็งท่อน้ำดี ที่ความไวร้อยละ 88.2, ความจำเพาะร้อยละ 87.1 และความถูกต้องร้อยละ 87.7

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยในครั้งนี้สามารถดำเนินการจนสำเร็จได้ ขอขอบพระคุณความร่วมมือจากกลุ่มงานอายุรกรรม ศัลยกรรม พยาธิวิทยา และคณะกรรมการวิจัยและจริยธรรมโรงพยาบาลชลบุรี ที่สนับสนุนให้การวิจัย

เอกสารอ้างอิง

1. Rajagopalan V, Daines WP, Grossbard ML, Kozuch P. Gallbladder and biliary tract carcinoma: a comprehensive update, Part 1. *Oncology* 2004;18: 889-96.
2. Green A, Uttaravichien T, Bhudhisawasdi V, Chartbanchachai W, Elkins DB, Marieng EO, et al. Cholangiocarcinoma in north east Thailand. A hospital-based study. *Trop Geogr Med* 1991;43: 193-8.
3. Thamavit W, Bhamarapavati N, Sahaphong S, Vajrasthira S, Angsubhakorn S. Effects of dimethylnitrosamine on induction of cholangiocarcinoma in *Opisthorchis viverrini*-infected Syrian golden hamsters. *Cancer Res* 1978;38: 4634-9.
4. Liu LK, Shao MW, Ma L, Sun J, Guan D, Shu Y. Values of seven tumor markers in the identification and diagnosis of esophageal carcinoma accompanied by neuroendocrine differentiation. *J Int Transl Med* 2015;3:39-43.
5. Chaiteerakij R, Harmsen WS, Marrero CR, Aboelsoud MM, Ndzenge A, Kaiya J, et al. A new clinically based staging system for perihilar cholangiocarcinoma. *Am J Gastroenterol* 2014;109:1881-90.

6. Patel AH, Harnois DM, Klee GG, LaRusso NF, Gores GJ. The utility of CA 19-9 in the diagnoses of cholangiocarcinoma in patients without primary sclerosing cholangitis. *Am J Gastroenterol* 2000;95:204-7.
 7. Tang X, Zhang J, Chen Y, Lan Z, Wang C. Correlation between clinicopathological features and CA19-9/CEA in patients with extrahepatic cholangiocarcinoma. *Chin J Oncol* 2014;36:662-6.
 8. Kim SW, Lim DH, Park HC, Park W, Park JO, Park YS. Salvage radiation therapy for isolated local recurrence of extrahepatic cholangiocarcinoma after radical surgery: a retrospective study. *Ann Surg Oncol* 2015;22:1308-14.
 9. Taketa K, Okada S, Win N, Hlaing NK, Wind KM. Evaluation of tumor markers for the detection of hepatocellular carcinoma in Yangon General Hospital, Myanmar. *Acta Med Okayama* 2002;56:317-20.
 10. Li Y, Li DJ, Chen J, Liu W, Li JW, Jiang P. Application of joint detection of serum AFP, CA19-9, CA125 and CEA in identification and diagnosis of cholangiocarcinoma. *Asian Pac J Cancer Prev* 2015;16:3451-5.
 11. Nanashima A, Sumida Y, Abo T, Nagasaki T, Takeshita H, Fukuoka H, et al. Patient outcome and prognostic factors in intrahepatic cholangiocarcinoma after hepatectomy. *Hepatogastroenterology* 2007;54:2337-42.
 12. Nakeeb A, Lipsett PA, Lillemoe KD, Fox-Talbot MK, Coleman J, Cameron JL, Pitt HA. Biliary carcinoembryonic antigen levels are a marker for cholangiocarcinoma. *Am J Surg* 1996;171:147-53.
 13. Sheen-Chen SM, Sun CK, Liu YW, Eng HL, Ko SF, Kuo CH. Extremely elevated CA19-9 in acute cholangitis. *Dig Dis Sci* 2007;52:3140-2.
 14. Lumachi F, Lo Re G, Tozzoli R, D'Aurizio F, Facomer F, Chiara GB, Basso SM. Measurement of serum carcinoembryonic antigen, carbohydrate antigen 19-9, cytokeratin-19 fragment and matrix metalloproteinase-7 for detecting cholangiocarcinoma: a preliminary case-control study. *Anticancer Res* 2014;34:6663-7.
 15. Wayne WD. *Biostatistics: a foundation for analysis in the health sciences*. 6th ed. John Wiley & Sons; 1995.
 16. Ngamjarus C, Chongsuvivatwong V. *n4Studies: Sample size and power calculations for iOS*. The Royal Golden Jubilee Ph.D. Program - The Thailand Research Fund & Prince of Songkla University 2014.
 17. Vatanasapt V, Martin N, Sriplung S, Chindavijak K, Sontipong S, Sriampron H, et al. Cancer incidence in Thailand 1988-1991. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* 1995;4:475-83.
-