

การศึกษาความสัมพันธ์ของการแสดงออกของไซโตลินบีร่วมกับพยาธิวิทยาและข้อมูลทางคลินิกในการ
พยากรณ์โรคของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต้นชนิดที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นบวกและตัวรับ
สัญญาณเฮอร์ทูเป็นลบในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ระหว่างปี พ.ศ.2553-2558



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาอายุรศาสตร์ ภาควิชาอายุรศาสตร์
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2561
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Prognostic significance of cyclin B expression plus clinicopathologic features in
hormonal positive and HER2 negative early breast cancer in King Chulalongkorn
Memorial Hospital During 2010-2015



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Medicine
Department of Medicine
Faculty of Medicine
Chulalongkorn University
Academic Year 2018
Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์

การศึกษาความสัมพันธ์ของการแสดงออกของไซคลินบี
ร่วมกับพยาธิวิทยาและข้อมูลทางคลินิกในการพยากรณ์โรค
ของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต้นชนิดที่มีตัวรับสัญญาณ
ฮอร์โมนเป็นบวกและตัวรับสัญญาณเฮอร์ทูเป็นลบใน
โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ระหว่างปี พ.ศ.2553-2558

โดย

น.ส.กาญจนาภรณ์ ถกลกิจสกุล

สาขาวิชา

อายุรศาสตร์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

อาจารย์ แพทย์หญิงนภา ปริญญานิติกุล

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะแพทยศาสตร์

(ศาสตราจารย์ นายแพทย์สุทธิพงศ์ วัชรสินธุ)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ แพทย์หญิงอรอุมา ชูติเนตร)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(อาจารย์ แพทย์หญิงนภา ปริญญานิติกุล)

..... กรรมการ

(อาจารย์ดอกเตอร์ แพทย์หญิงสุดารัตน์ สถิตธรรมนิตย์)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ แพทย์หญิงศุทธิณี อธิเมฆินทร์)

กาญจนารณณ์ ถกกลกิจสกุล : การศึกษาความสัมพันธ์ของการแสดงออกของไซคลินบีร่วมกับพยาธิวิทยาและข้อมูลทางคลินิกในการพยากรณ์โรคของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต้นชนิดที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นบวกและตัวรับสัญญาณเฮอรัฟเป็นลบในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ระหว่างปี พ.ศ.2553-2558. (Prognostic significance of cyclin B expression plus clinicopathologic features in hormonal positive and HER2 negative early breast cancer in King Chulalongkorn Memorial Hospital During 2010-2015) อ.ที่ปรึกษาหลัก : อ. พญ.นภา ปริญญานิติกุล

ความเป็นมา ผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต้นชนิดที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นบวกและตัวรับสัญญาณเฮอรัฟเป็นลบจัดอยู่ในกลุ่มที่มีการพยากรณ์โรคที่ดี อย่างไรก็ตามพบผู้ป่วยหนึ่งในสามที่มีการกลับเป็นซ้ำของโรคแม้จะได้รับการรักษาเสริมหลังการผ่าตัดแล้ว ปัจจุบันมีชุดตรวจยีนเชิงพาณิชย์สามารถทำนายการกลับเป็นซ้ำของโรคได้ ค่าการแบ่งตัวของเซลล์เป็นหนึ่งในปัจจัยที่มีผลต่อการกลับเป็นซ้ำ ไซคลินบีเป็นหนึ่งในค่าการแบ่งตัวเหล่านั้น

วัตถุประสงค์ ศึกษาการนำการแสดงออกของไซคลินบีที่ปรากฏเซลล์ของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต้นชนิดที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นบวกและตัวรับสัญญาณเฮอรัฟเป็นลบใช้ร่วมกับข้อมูลทางคลินิกและพยาธิวิทยาของผู้ป่วย เพื่อจำแนกผู้ป่วยตามความเสี่ยงของการกลับเป็นซ้ำ

วิธีการศึกษา ผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต้นชนิดที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นบวกและตัวรับสัญญาณเฮอรัฟเป็นลบของผู้ป่วยในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ระหว่างปี พ.ศ.2553-2558 จำนวน 214 ราย ทำการทบทวนข้อมูลด้านต่างๆของผู้ป่วยจากเวชระเบียนและนำชิ้นเนื้อของผู้ป่วยย้อนทางอิมมูโนฮิสโตเคมีแสดงออกของไซคลินบี เพื่อหาความสัมพันธ์ของการแสดงออกของไซคลินบีต่อการกลับเป็นซ้ำของโรคมะเร็ง

ผลการวิจัย ผู้เข้าร่วมวิจัย 214 ราย เป็นกลุ่มที่มีการกลับเป็นซ้ำของโรค 58 ราย กลุ่มที่ไม่มีการกลับเป็นซ้ำ 156 ราย อายุเฉลี่ยเมื่อเริ่มวินิจฉัย 53 ปี ข้อมูลพื้นฐานพบว่าขนาดของก้อนมะเร็ง พยาธิวิทยาของเซลล์มะเร็ง ระยะของโรค การลุกลามไปต่อมน้ำเหลือง ค่าเคไอ-67 การได้รับยาเคมีบำบัดก่อนการผ่าตัด มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การศึกษานี้ได้ใช้จุดตัดมัธยฐานที่ 7 ในการแบ่งค่าการแสดงออกของไซคลินบีออกเป็นสูงต่ำ ได้ค่าจุดตัดที่ 10 พบว่าในกลุ่มที่มีการกลับเป็นซ้ำมีการแสดงออกของไซคลินบีสูงร้อยละ 53.4 ในขณะที่กลุ่มที่ไม่มีการกลับเป็นซ้ำมีการแสดงออกของไซคลินบีสูงร้อยละ 22.4 ทำการวิเคราะห์ multivariate analysis พบว่าปัจจัยที่มีผลต่อการกลับเป็นซ้ำคือ ระดับพยาธิวิทยาของเซลล์มะเร็ง การได้รับยาเคมีบำบัดก่อนการผ่าตัด และร้อยละการแสดงออกของไซคลินบี แต่หากพิจารณาตามการแบ่งในกลุ่มที่มีการแสดงออกของไซคลินบีสูงนั้นไม่พบความสัมพันธ์กับการกลับเป็นซ้ำของโรค โอกาสปลอดโรคที่ 5 ปีของกลุ่มที่มีการแสดงออกของไซคลินบีต่ำและกลุ่มที่มีการแสดงออกของไซคลินบีสูงคือร้อยละ 84.9 และร้อยละ 60.1 ตามลำดับ

สรุปผลการวิจัย ปัจจัยที่มีผลต่อการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านมระยะต้นชนิดที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นบวกและตัวรับสัญญาณเฮอรัฟเป็นลบ ได้แก่ ระดับพยาธิวิทยาของเซลล์มะเร็ง, การได้รับยาเคมีบำบัดก่อนการผ่าตัด และร้อยละการแสดงออกของไซคลินบี ส่วนการแสดงออกของไซคลินบีที่สูงนั้นไม่พบความสัมพันธ์ต่อการกลับเป็นซ้ำของมะเร็ง

สาขาวิชา อายุรศาสตร์ ลายมือชื่อนิติ
 ปีการศึกษา 2561 ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก

6074001530 : MAJOR MEDICINE

KEYWORD: Cyclin B, Hormonal positive and HER2 negative early breast cancer, Prognostic significance, Clinicopathologic features

Kanchanaporn Takonkitsakul : Prognostic significance of cyclin B expression plus clinicopathologic features in hormonal positive and HER2 negative early breast cancer in King Chulalongkorn Memorial Hospital During 2010-2015. Advisor: Napa Parinyanitikul, M.D.

Background Approximately one third of hormonal receptor (HR) positive, HER2 negative early breast cancer reported disease relapse after adjuvant treatments. Both clinicopathologic features and multigene assays consider to be predicting factor of relapse. Cyclin B, one of proliferative markers used in OncotypeDx has been explored previously for predicting recurrence in this subgroup of breast cancers. Our study aims to determine the prognostic significance of cyclin B in combination with clinicopathologic factors in recurrent HR positive, HER2 negative breast cancer.

Methods Two-hundred and fourteen HR positive, HER2 negative early breast cancers who were diagnosed during 2010 to 2015 in King Chulalongkorn Memorial Hospital were retrospectively reviewed. All clinicopathologic factors and level of cyclin B expression were evaluated. Correlation of cyclin B expression with clinicopathologic features was also compared in recurrence and non-recurrence group.

Results In 214 patients, 58 patients were recurrence group while 156 patients were non-recurrence group. Mean age at breast cancer diagnosis were 53 years. Recurrence group had high pathological staging, tumor grade, LVI, Ki-67 and lymph node involvement compared to non-recurrence group ($p < 0.05$). Mean cyclin B expression was 9.61% (19.62 % in recurrence group and 5.88 % in non-recurrence group; $p < 0.001$). We have used cut-off of cyclin B expression at ≥ 10 % (7th decile) to classify high and low of expression. Cyclin B high expression were demonstrated in 53.4% of recurrence group compared to 22.4% of non-recurrence group. In multivariate analysis, tumor grade (OR 8.42, 95%CI 1.04-67.98; $p = 0.046$), receiving neoadjuvant chemotherapy (NAC) (OR 4.27, 95%CI 1.41-12.87; $p = 0.010$) and % cyclin B expression (OR 1.04, 95%CI 1.00-1.07; $p = 0.013$) were associated with recurrent disease. Five-year relapse free survival for cyclin B low and high expression were 84.9% and 60.1%, respectively.

Conclusions Tumor grade, receiving NAC and % cyclinB expression were associated with risk of recurrence in HR positive and HER2 negative early breast cancer.

Field of Study: Medicine

Student's Signature

Academic Year: 2018

Advisor's Signature

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณทุกท่านที่ได้ช่วยเหลือให้การวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

อาจารย์แพทย์หญิงนภา ปริญญานิติกุลภาควิชาอายุรศาสตร์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์
หลัก, รศ.พญ.วรรณุช ธนากิจ ภาควิชาพยาธิวิทยา อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมวิทยานิพนธ์ อาจารย์ปรีชา เรือง
เวชวรชัย คุณจุฑามาศ วงศ์ภูมิ นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ ที่ให้ความรู้และคำแนะนำ อันเป็นประโยชน์
แก่ผู้วิจัยมาโดยตลอด รวมถึงเจ้าหน้าที่หน่วยมะเร็งวิทยา ภาควิชาอายุรศาสตร์ และเจ้าหน้าที่หน่วย
พยาธิวิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ทุกท่าน

ผศ.พญ.อรอุมา ชูติเนตร ประธานกรรมการการสอบวิทยานิพนธ์, อ.ดร.พญ.สุดารัตน์ สติตย์
ธรรมนิത്യ, อ.นพ.นริศร ลักขณานุรักษ์และ ผศ.พญ.ศุทธิณี อธิเมฆินทร์ กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ให้
ความรู้แนวทางการวิจัยและข้อเสนอแนะที่เป็นประโยชน์แก่ผู้วิจัย

กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช ที่ได้มอบทุนเพื่อการวิจัยครั้งนี้

สุดท้ายนี้ ขอขอบพระคุณ ครอบครัวของข้าพเจ้า ขอขอบคุณเพื่อนแพทย์ประจำบ้านต่อยอด
สาขามะเร็งวิทยา ที่ให้กำลังใจและความช่วยเหลือข้าพเจ้ามาโดยตลอด

กาญจนาภรณ์ ฤทธิกิจสกุล

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

สารบัญ

	หน้า
.....	ค
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ค
.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ง
กิตติกรรมประกาศ.....	จ
สารบัญ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ฅ
สารบัญรูปภาพ.....	ญ
บทที่ 1	1
บทนำ.....	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของการวิจัย.....	1
1.2 คำถามของการวิจัย	4
1.3 วัตถุประสงค์งานวิจัย.....	4
1.4 สมมุติฐานการวิจัย	5
1.5 ข้อตกลงเบื้องต้น.....	5
1.6 กรอบแนวความคิดในการวิจัย (Conceptual Framework).....	6
1.7 การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติที่จะใช้ในการวิจัย.....	6
1.8 ผลหรือประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย	11
1.9 อุปสรรคที่อาจเกิดขึ้นและมาตรการในการแก้ไข.....	12
บทที่ 2	13
ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง	13

บทที่ 3	22
วิธีดำเนินการวิจัย	22
3.1 รูปแบบการวิจัย	22
3.2 ระเบียบการวิจัย.....	22
3.3 ขนาดตัวอย่าง	24
3.4 ขั้นตอนในการดำเนินงานวิจัย	25
3.5 การเก็บรวบรวมข้อมูล	26
3.6 ข้อจำกัดในการวิจัย.....	27
3.7 การเปิดเผยข้อมูลแสดงตัวตนของผู้ป่วย.....	27
3.8 การวิเคราะห์ข้อมูล (Data analysis).....	27
บทที่ 4	30
ผลการวิเคราะห์ข้อมูล	30
4.1 ประชากรที่นำมาศึกษา	30
4.2 ข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วย.....	30
4.3 ผลเปรียบเทียบปัจจัยที่ศึกษา.....	41
บทที่ 5	45
อภิปราย สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ	45
5.1 อภิปรายผล.....	45
5.2 สรุปผลการวิจัย.....	48
5.3 ข้อดีของการวิจัยนี้.....	48
5.4 ข้อด้อยของการวิจัยนี้.....	49
5.5 ข้อเสนอแนะ	50
บรรณานุกรม.....	51
ภาคผนวก ก.....	54

ภาคผนวก ข..... 55

ประวัติผู้เขียน..... 61



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 แสดงการแบ่งระยะของมะเร็งเต้านม ตามระบบ TNM ดัดแปลงจากเอกสารอ้างอิง(15) 7	
ตารางที่ 2 แสดงความสามารถในการใช้ชีวิตประจำวันของผู้ป่วย (ECOG performance status) (ดัดแปลงมาจากเอกสารอ้างอิง (18))	11
ตารางที่ 3 แสดงลักษณะทางอิมมูโนพยาธิวิทยา ระดับพยาธิวิทยา ความชุก พยากรณ์โรค ดัดแปลงจาก St gallen consensus 2013 และ Review article: Breast cancer intrinsic subtype classification, clinical use and future trends, 2015 (เอกสารอ้างอิงหมายเลข(1, 19)).....	14
ตารางที่ 4 แสดงข้อมูลพื้นฐานผู้ป่วยทั้งหมดโดยเปรียบเทียบกลุ่มที่มีการกลับเป็นซ้ำและไม่มีการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านมระยะต้นชนิดที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นบวกและตัวรับสัญญาณเฮอร์ทูเป็นลบ.....	33
ตารางที่ 5 แสดงตำแหน่งการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านมระยะต้นชนิดที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นบวกและตัวรับสัญญาณเฮอร์ทูเป็นลบ	37
ตารางที่ 6 แสดงค่าการแสดงออกของไซคลินบี (Cyclin B expression)	38
ตารางที่ 7 แสดงปัจจัยที่มีผลต่อการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านมโดยการวิเคราะห์แบบ Univariate analysis และ Multivariate analysis	39
ตารางที่ 8 แสดงการเปรียบเทียบค่าเคไอ-67กับค่าการแสดงออกของไซคลินบี (N=214 ราย).....	43

สารบัญรูปภาพ

หน้า

รูปภาพที่ 1 แสดงกรอบแนวความคิดในการวิจัย (Conceptual Framework).....	6
รูปภาพที่ 2 แสดงกลุ่มยีนที่ใช้ในชุดตรวจเชิงพาณิชย์ อองโคไทป์ดีเอ็กซ์(Oncotype DX) (ดัดแปลงจากเอกสารอ้างอิง(8)).....	17
รูปภาพที่ 3 แสดงวงจรการแบ่งตัวของเซลล์ที่สัมพันธ์กับไซคลิน (ดัดแปลงจากเอกสารอ้างอิง(22))	19
รูปที่ภาพ 4 แสดงระยะเวลาปลอดโรคและอัตราการรอดชีวิตโดยรวมของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต้น A และ C คือผู้ป่วยที่ไม่ได้รับการรักษาเสริมด้วยยาเคมีบำบัด B และ D คือผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาเสริมด้วยยาเคมีบำบัด(ดัดแปลงจากเอกสารอ้างอิง(25)).....	21
รูปภาพที่ 5 แสดงการติดสีย้อมทางอิมมูโนของเซลล์มะเร็งเต้านม (a) มีการแสดงออกของไซคลินบีปริมาณมาก (b) มีการแสดงออกของไซคลินบีปริมาณน้อย (ดัดแปลงจากเอกสารอ้างอิง (27)).....	21
รูปภาพที่ 6 แสดงแนวทางการวิจัย.....	29
รูปภาพที่ 7 แสดงโอกาสปลอดโรคของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต้นที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นบวก ตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นลบ (recurrence free survival) ของกลุ่มที่มีค่าการแสดงออกของไซคลินบีสูงและต่ำ	42
รูปภาพที่ 8 แสดงโอกาสปลอดโรคของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต้นที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นบวก ตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นลบ (recurrence free survival) ของกลุ่มที่มีและไม่มีค่าการแสดงออกของไซคลินบี	43
รูปภาพที่ 9 แสดงโอกาสปลอดโรคของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต้นที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นบวก ตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นลบ (recurrence free survival) ของกลุ่มที่มีค่าเคไอ-67ต่ำและสูง	44

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของการวิจัย

มะเร็งเต้านมเป็นมะเร็งที่พบเป็นอันดับ 1 ของผู้หญิงไทยและผู้หญิงทั่วโลก เป็นมะเร็งที่มีความหลากหลายทั้งในด้านพยาธิวิทยาและการรักษา ปัจจุบันมีการจำแนกผู้ป่วยมะเร็งเต้านมออกเป็น 4 กลุ่มใหญ่ตามการย้อมพิเศษทางพยาธิวิทยา (breast marker) ซึ่งได้มีข้อตกลงตามเซนต์กาเลน(St gallen consensus 2013)(1) คือ 1.กลุ่มคล้ายลูมินอล เอ (Luminal A-like) เป็นกลุ่มที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นบวก(ตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเอสโตรเจนเป็นบวก(Estrogen Receptor positive, ER positive) และหรือตัวรับสัญญาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนเป็นบวก(Progesterone Receptor positive, PR positive)) มีตัวรับสัญญาณเฮอรัททูเป็นลบ(Human epidermal growth factor receptor 2 negative: HER2 negative) และมีการแบ่งตัวของเซลล์มะเร็งต่ำ (ค่าเคไอ-67 น้อยกว่าร้อยละ 14) 2.กลุ่มคล้ายลูมินอล บี (Luminal B-like) เป็นกลุ่มที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นบวก (ตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเอสโตรเจนเป็นบวก, ตัวรับสัญญาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนเป็นลบหรือมีค่าต่ำ) มีตัวรับสัญญาณเฮอรัททูเป็นลบหรือบวก มีการแบ่งตัวของเซลล์มะเร็งสูง (ค่าเคไอ-67 มากกว่าเท่ากับร้อยละ 14) 3.กลุ่มเฮอรัททูบวก (HER-2 positive) เป็นกลุ่มที่มีตัวรับสัญญาณเฮอรัททูเป็นบวก และ 4.ทริปเปิลเนกาทีฟ (Triple negative) เป็นกลุ่มที่ตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นลบและตัวรับสัญญาณเฮอรัททูเป็นลบ

ร้อยละ 60 ของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่ได้รับการวินิจฉัยจะเป็นกลุ่มมะเร็งเต้านมระยะต้นชนิดที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นบวก (hormonal receptor positive) ได้แก่ตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเอสโตรเจนเป็นบวกและหรือตัวรับสัญญาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนเป็นบวก และตัวรับสัญญาณเฮอรัททูเป็นลบ(HER-2 negative) การรักษาหลักของผู้ป่วยกลุ่มนี้คือการผ่าตัดเต้านม ตามด้วยการใช้ยาต้านฮอร์โมนซึ่งมีโอกาสรักษาหายขาดร้อยละ 85 ที่ 10 ปี(2, 3) ส่วนการให้ยาเคมีบำบัดเสริมนั้นจะเพิ่มโอกาสการหายขาดเพิ่มขึ้นร้อยละ 5(4) ซึ่งการตัดสินใจที่จะให้ยาเคมีบำบัดนั้นขึ้นอยู่กับความเสี่ยงของการกลับเป็นซ้ำของผู้ป่วยแต่ละราย โดยที่ผ่านมามีผู้ป่วยจำนวนหนึ่งที่ได้รับยาเคมีบำบัดโดยไม่จำเป็น

ปัจจุบันมีการนำความรู้เรื่องการตรวจทางพันธุศาสตร์ระดับโมเลกุล(molecular genetics) ที่สามารถแบ่งแยกความเสี่ยงต่อการกลับเป็นซ้ำ (recurrence of disease) ของผู้ป่วยมะเร็งเต้านม ชนิดที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นบวกและตัวรับสัญญาณเฮอร์ทูเป็นลบ นำมาใช้ทำนายการกลับเป็นซ้ำของโรคมะเร็งและทำนายประโยชน์ที่จะได้รับจากการให้ยาเคมีบำบัดในผู้ป่วยกลุ่มนี้ ปัจจุบันมีชุดตรวจในเชิงพาณิชย์หลากหลายบริษัท เช่น 70 ยีนซิกเนเจอร์แมมมาปรี้น(70-gene signature MammaPrint) (5-7), อองโคไทป์ดีเอ็กซ์(OncotypeDX)(8, 9) เป็นต้น ซึ่งชุดตรวจเหล่านี้มีความแม่นยำในการทำนายสูงและสามารถช่วยในการจำแนกผู้ป่วยตามความเสี่ยงต่อการกลับเป็นซ้ำได้ ทำให้แพทย์ผู้ทำการรักษาสามารถพิจารณาแนวทางการรักษาและเลือกให้ยาเคมีบำบัดได้เหมาะสมกับผู้ป่วยแต่ละราย แต่การตรวจด้วยชุดตรวจในเชิงพาณิชย์ เหล่านี้มีค่าใช้จ่ายค่อนข้างสูงและยังไม่มีที่แพร่หลายในประเทศไทยเนื่องจากต้องส่งไปตรวจในต่างประเทศ

ปัจจัยเสี่ยงที่มีความสัมพันธ์กับการกลับเป็นซ้ำของโรคมีย่อยปัจจัยแต่ปัจจัยที่รุนแรงและสำคัญที่สุดคือการแบ่งตัวของเซลล์ (cell proliferation) โดยดูได้จากหลายค่า เช่น เคไอ-67(Ki-67), เอสทีเค15(STK15), เซอร์ไววิน(survivin), ไชคลินบี1(cyclin B1), เอ็มวายบีแอล2(MYBL2) จากข้อมูลของการศึกษาที่ใช้ของโคไทป์ดีเอ็กซ์ใน(8, 9) และไชคลินอี2(cyclin E2) จากข้อมูลของการศึกษาที่ใช้ 70 ยีนซิกเนเจอร์แมมมาปรี้น(5-7)

จากความรู้เกี่ยวกับการควบคุมแบ่งตัวของเซลล์(cell cycle regulation) พบว่าไชคลิน(cyclin)เป็นโปรตีนที่ทำงานร่วมกับซีดีเค(cdk) ควบคุมในกระบวนการแบ่งตัวของเซลล์ในระยะต่างๆ หากมีการแสดงออกที่มากเกินไปหรือผิดช่วงเวลา จะทำให้เกิดการแบ่งตัวของเซลล์ผิดปกติ นำมาซึ่งการเกิดการตายของเซลล์หรือก่อให้เกิดโรคมะเร็งได้(10) มีการศึกษาในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต้น พบว่าปริมาณการแสดงออกของไชคลินเอ, บี, อี(cyclin A, B, E)(11-13) ที่สูงสัมพันธ์กับการพยากรณ์ที่แย่งของโรคมะเร็งเต้านม ที่ผ่านมามีการนำยาใหม่ CDK4/6 inhibitor ซึ่งเป็นยาที่ยับยั้งการทำงานของ CDK4/6-cyclin D complex มาใช้รักษาผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะลุกลามได้ผลดีและช่วยเพิ่มระยะเวลาอยู่รอดโดยสงบโรคได้ แต่การใช้นี้ในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต้นยังอยู่ในช่วงของการศึกษาเก็บข้อมูล และยังไม่ได้มีการนำการแสดงออกของไชคลินมาใช้ประกอบการพิจารณาการรักษาของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต้น

ปัจจุบันมีการนำเอาความรู้เรื่องการย้อมเคไอ-67(Ki-67)(14)ซึ่งเป็นหนึ่งในหลายวิธีที่ใช้บอกการแบ่งตัวของเซลล์ โดยเคไอ-67เป็นโปรตีนในนิวเคลียสจะแสดงออกเมื่อเซลล์มีการแบ่งตัว สามารถใช้วิธีทางอิมมูโนพยาธิวิทยาตรวจวัดค่าเคไอ-67ได้ ในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต้นได้นำค่าเคไอ-67มาใช้ช่วยจำแนกความเสี่ยงเพื่อพิจารณาการให้การรักษาเสริมด้วยยาเคมีบำบัดโดยจัดกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่มีความเสี่ยงสูงคือมีค่าเคไอ-67มากกว่าเท่ากับร้อยละ 14 และกลุ่มที่มีความเสี่ยงต่ำคือค่าเคไอ-67 ที่น้อยกว่าร้อยละ 14 แต่อย่างไรก็ตามการใช้ค่าเคไอ-67 มีข้อจำกัดในการย้อมติดสีทางอิมมูโนวิทยาและการอ่านแปรผล ทางผู้วิจัยจึงต้องการศึกษาว่าหากใช้การแสดงออกของไซคลินบี(cyclin B) ซึ่งเป็นหนึ่งในค่าที่ใช้บ่งบอกการแบ่งตัวของเซลล์ จะสามารถนำมาใช้เป็นตัวแทนบอกความรุนแรงของโรคมะเร็งเต้านมระยะต้นชนิดที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นบวกและตัวรับสัญญาณเฮอร์ทูเป็นลบได้หรือไม่ และศึกษาหาความสัมพันธ์ของการแสดงออกของไซคลินบี(cyclin B) ว่าสัมพันธ์กับการพยากรณ์โรคมะเร็งเต้านมระยะต้นชนิดที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นบวกและตัวรับสัญญาณเฮอร์ทูเป็นลบหรือไม่ อย่างไร หากพบว่าการแสดงออกของไซคลินบี(cyclin B) สัมพันธ์กับการพยากรณ์โรค และสามารถทำนายการกลับเป็นซ้ำของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต้นชนิดที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นบวกและตัวรับสัญญาณเฮอร์ทูเป็นลบได้ การนำมาใช้จะช่วยประหยัดงบประมาณในการดูแลรักษาผู้ป่วยได้มากขึ้นโดยไม่ต้องส่งตรวจยีนตามชุดตรวจยีนเชิงพาณิชย์ซึ่งมีค่าใช้จ่ายสูง โดยผู้ทำการวิจัยจะศึกษาความสัมพันธ์ของการแสดงออกของไซคลินบี(cyclin B) ที่ปรากฏเซลล์ของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต้นชนิดที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นบวกและตัวรับสัญญาณเฮอร์ทูเป็นลบของผู้ป่วยในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ระหว่างปี พ.ศ.2553-2558 ว่ามีค่าเท่าใดสามารถนำมาใช้บ่งบอกความรุนแรงของโรคและมีความสัมพันธ์ในการบอกการกลับเป็นซ้ำของโรคได้หรือไม่

1.2 คำถามของการวิจัย

คำถามหลัก : การแสดงออกของไซคลินบี (cyclin B) สัมพันธ์กับการกลับเป็นซ้ำของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต้นชนิดที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นบวกและตัวรับสัญญาณเฮอรัทูปเป็นลบในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์หรือไม่

คำถามรอง : การแสดงออกของไซคลินบี(cyclin B) นำมาใช้ร่วมกับข้อมูลทางคลินิกและพยาธิวิทยาของผู้ป่วย(clinicopathologic factors) อื่นๆ เช่น อายุ, ชนิดของยาต้านฮอร์โมน, ขนาดของก้อนมะเร็ง, ระดับพยาธิของมะเร็ง, จำนวนต่อมน้ำเหลืองที่แพร่กระจาย ในการพยากรณ์การกลับเป็นซ้ำของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต้นชนิดที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นบวกและตัวรับสัญญาณเฮอรัทูปเป็นลบในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์และสามารถใช้จำแนกผู้ป่วยตามความเสี่ยงของการกลับเป็นซ้ำแทนค่าเคไอ-67 ได้หรือไม่

1.3 วัตถุประสงค์งานวิจัย

1. ศึกษาการแสดงออกของไซคลินบี (cyclin B) ในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต้นชนิดที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นบวกและตัวรับสัญญาณเฮอรัทูปเป็นลบในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ระหว่างปี พ.ศ. 2553-2558 ว่ามีค่าเท่าใด

2. ศึกษาหาความสัมพันธ์ของการแสดงออกของไซคลินบี (Cyclin B) กับการกลับเป็นซ้ำของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต้นชนิดที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นบวกและตัวรับสัญญาณเฮอรัทูปเป็นลบในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ระหว่างปี พ.ศ.2553-2558

3. ศึกษาการนำการแสดงออกของไซคลินบี (cyclin B) มาใช้ร่วมกับข้อมูลทางคลินิกและพยาธิวิทยาของผู้ป่วยอื่นๆ เพื่อใช้จำแนกผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต้นชนิดที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นบวกและตัวรับสัญญาณเฮอรัทูปเป็นลบในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ตามความเสี่ยงของการกลับเป็นซ้ำได้

4. เปรียบเทียบประสิทธิภาพของการใช้การแสดงออกของไซคลินบี(cyclinB) และค่าเคไอ-67ในการประเมินการกลับเป็นซ้ำของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต้นชนิดที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นบวกและตัวรับสัญญาณเฮอรัทูปเป็นลบ

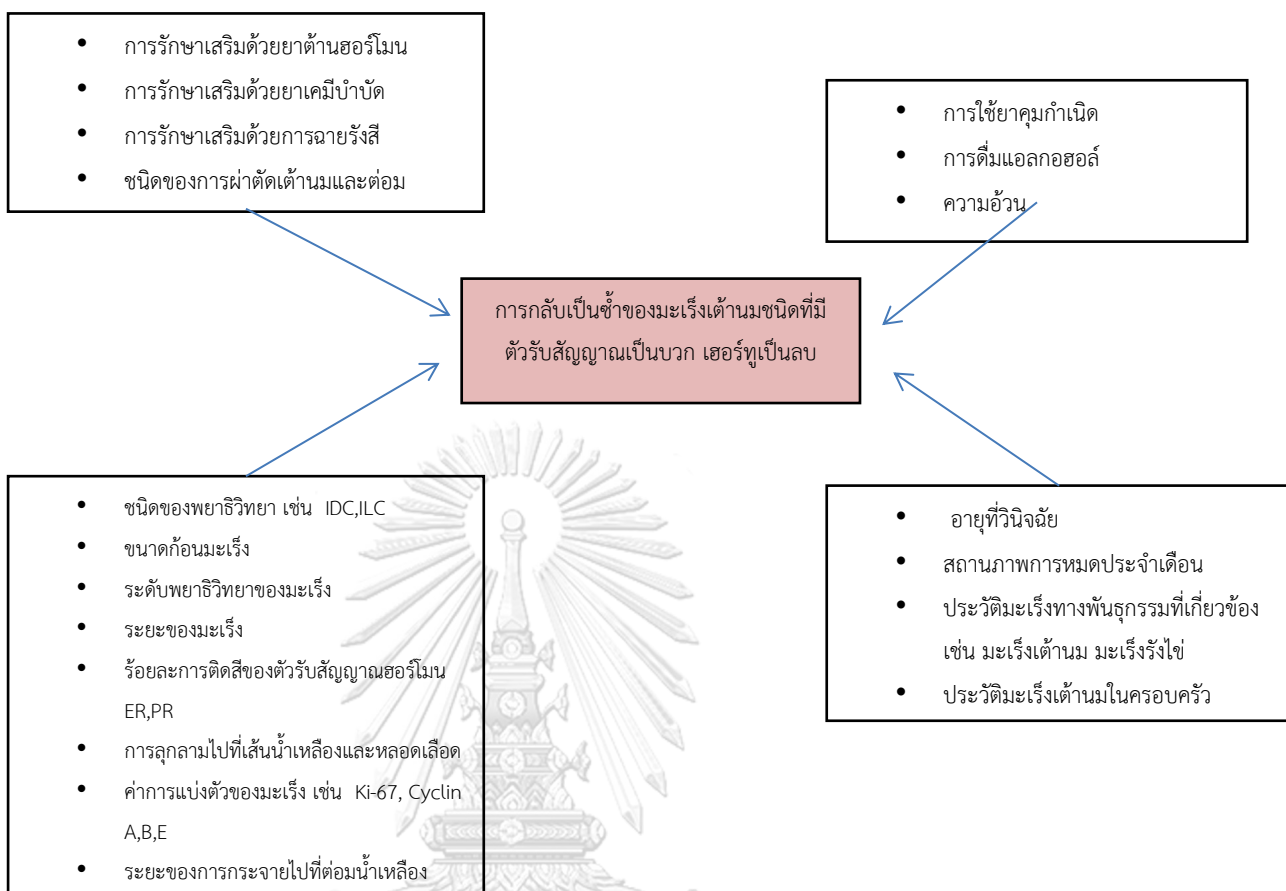
1.4 สมมุติฐานการวิจัย

- การแสดงออกของไซคลินบี (cyclin B) ที่มากสัมพันธ์กับการกลับเป็นซ้ำของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต้นชนิดที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นบวกและตัวรับสัญญาณเฮอรัททูเป็นลบ
- การแสดงออกของไซคลินบี (cyclin B) สามารถนำมาใช้ร่วมกับข้อมูลทางคลินิกและพยาธิวิทยาของผู้ป่วย เช่น อายุ, ชนิดของยาต้านฮอร์โมน, ขนาดของก้อนมะเร็ง, ระดับของพยาธิวิทยา, จำนวนต่อมน้ำเหลืองที่แพร่กระจาย สามารถพยากรณ์การกลับเป็นซ้ำของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต้นชนิดที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นบวกและตัวรับสัญญาณเฮอรัททูเป็นลบได้

1.5 ข้อตกลงเบื้องต้น

ผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต้นชนิดที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นบวกและตัวรับสัญญาณเฮอรัททูเป็นลบในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ระหว่างปี พ.ศ.2553-2558 ที่มีข้อมูลของผลชิ้นเนื้อทางพยาธิวิทยาครบถ้วนในหน่วยมะเร็งวิทยา โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

1.6 กรอบแนวความคิดในการวิจัย (Conceptual Framework)



รูปภาพที่ 1 แสดงกรอบแนวความคิดในการวิจัย (Conceptual Framework)

1.7 การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติที่จะใช้ในการวิจัย

- มะเร็งเต้านมระยะต้นคือมะเร็งเต้านมที่ได้รับการวินิจฉัยทางพยาธิวิทยาที่อยู่ในระยะ 1-3 ตามระบบ TNM ของสมาคม American Joint Committee on Cancer staging system for breast cancer version 7 (AJCC7)(15) ที่ได้รับการผ่าตัดเต้านมและหรือต่อมน้ำเหลืองออกเรียบร้อยแล้ว โดยที่ไม่มีกลุ่มที่เป็น Inflammatory breast cancer ร่วมด้วย

ตารางที่ 1 แสดงการแบ่งระยะของมะเร็งเต้านม ตามระบบ TNM ดัดแปลงจากเอกสารอ้างอิง(15)

ขนาดของก้อน (T staging)	คำอธิบาย
Tx	ไม่สามารถประเมินก้อนได้
T0	ไม่มีหลักฐานของก้อน
Tis (carcinoma in situ)	มะเร็งระยะต้นที่อยู่บนชั้นของเซลล์ปกติยังไม่แทรกเข้าไปในเนื้อเยื่อปกติ
T1	ขนาดของก้อน ≤ 2 เซนติเมตร
T2	ขนาดของก้อนมากกว่า 2 เซนติเมตร แต่ ≤ 5 เซนติเมตร
T3	ขนาดของก้อนมากกว่า 5 เซนติเมตร
T4	ก้อนติดกับผนังหน้าอกและหรือผิวหนัง ผิวหนังมีลักษณะเป็นแผลหรือตุ่ม นูน
ต่อมน้ำเหลือง(N)	คำอธิบาย
N0	ไม่พบมะเร็งในต่อมน้ำเหลือง
N1	มีการลุกลามไปยังต่อมน้ำเหลืองที่รักแร้ 1-3 ต่อมน้ำ และหรือต่อมน้ำเหลือง ใต้กระดูกซี่โครง (internal mammary lymph nodes) จากการตัดต่อมน้ำ เหลืองเซนติเนล (sentinel lymph node biopsy)
N1mi	มีการลุกลามไปยังต่อมน้ำเหลืองแบบไมโคร (micrometastasis) คือ ลุกลามมากกว่า 0.2 มิลลิเมตรและหรือมากกว่า 200 เซลล์ แต่ไม่ มากกว่า 2 มิลลิเมตร
N2	มีการลุกลามไปยังต่อมน้ำเหลืองที่รักแร้ 4-9 ต่อมน้ำ หรือคลำได้ต่อมน้ำ เหลืองใต้กระดูกซี่โครง (internal mammary lymph nodes) จาก การตรวจร่างกายหรือภาพถ่ายรังสีโดยไม่มีต่อมน้ำเหลืองที่รักแร้
N3	มีการลุกลามไปยังต่อมน้ำเหลืองที่รักแร้มากกว่าเท่ากับ 10 ต่อมน้ำ หรือมี การลุกลามไปที่ต่อมน้ำเหลืองใต้กระดูกไหปลาร้า (infraclavicular lymph node) หรือตรวจร่างกายหรือภาพถ่ายรังสีพบการลุกลามไปที่

	ต่อมน้ำเหลืองใต้กระดูกซี่โครง (internal mammary lymph nodes) ด้านเดียวกันร่วมกับการตรวจพบต่อมน้ำเหลืองรักแร้ระดับ 1 หรือ 2 จำนวนมากกว่าเท่ากับ 1 ต่อมน้ำเหลืองหรือตรวจพบการลุกลามไปที่ต่อมน้ำเหลืองรักแร้มากกว่า 3 ต่อมน้ำเหลืองและพบต่อมน้ำเหลืองใต้กระดูกซี่โครงจากการตัดต่อมน้ำเหลืองเซนติเนลหรือตรวจพบการลุกลามไปยังต่อมน้ำเหลืองเหนือกระดูกไหปลาร้าด้านเดียวกัน
การแพร่กระจายไปอวัยวะอื่น (M)	คำอธิบาย
M0	ไม่พบการแพร่กระจายไปยังอวัยวะอื่น
M1	พบแพร่กระจายไปยังอวัยวะอื่น

ระยะโรคมะเร็งเต้านม	เกณฑ์		
ระยะ 1A	T1	N0	M0
ระยะ 1B	T0	N1mi	M0
	T1	N1mi	M0
ระยะ 2A	T0	N1	M0
	T1	N1	M0
	T2	N0	M0
ระยะ 2B	T2	N1	M0
	T3	N0	M0
ระยะ 3A	T0	N2	M0
	T1	N2	M0
	T2	N2	M0
	T3	N1	M0
	T3	N2	M0
ระยะ 3B	T4	N0	M0

	T4	N1	M0
	T4	N2	M0
ระยะ 3C	T ใดๆ	N3	M0
ระยะ 4	T ใดๆ	N ใดๆ	M1

- ตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นบวกคือการย้อมทางอิมมูโนวิทยาแล้วพบว่าตัวรับสัญญาณเอสโตรเจน(Estrogen Receptor: ER) โดยใช้ Dako FLEX Monoclonal Rabbit Anti Human Estrogen Receptor α clone EP1 และหรือตัวรับสัญญาณโปรเจสเตอโรน(Progesterone: PR) โดยใช้ Dako FLEX Monoclonal Mouse Anti Human Progesterone Receptor α clone PgR 636 พบว่ามีการติดสีด้วยวิธีอิมมูโนวิทยามากกว่าเท่ากับร้อยละ 1 ถือเป็นบวกตาม ASCO/CAP guidelines(16) รายงานผลการติดสีเป็นร้อยละ

- ตัวรับสัญญาณเฮอรัท(HER2) คือการย้อมทางอิมมูโนวิทยาโดยใช้วิธี Dako Hercep Test ได้ค่า 1+ คือเฮอรัทเป็นลบ (Neagative), 2+ คือเฮอรัทกำกึ่ง (Equivocal), 3+ คือตัวรับสัญญาณเฮอรัทเป็นบวก (Positive) ในกรณีที่ค่าเฮอรัท 2+ ให้ทำการตรวจเพิ่มเติมโดยใช้วิธี In Situ Hybridization (ISH) :

- Single-probe average HER2 copy number > 6.0 signals per cell
- Dual-probe HER2/CEP17 ratio \geq 2.0 (ratio of HER2 to Chromosome 17 centromeric region) with an average HER2 copy number \geq 4.0 signals per cell
- Dual-probe HER2/CEP17 ratio \geq 2.0 with an average HER2 copy number < 4.0 signals per cell
- Dual-probe HER2/CEP17 ratio < 2.0 with an average HER2 copy number \geq 6.0 signals per cell

หากได้ค่าดังกล่าวข้างต้นแสดงถึงการมีตัวรับสัญญาณเฮอรัทเป็นบวก

- ตัวรับสัญญาณเฮอรัฟเป็นลบคือการย้อมทางอิมมูโนวิทยาโดยใช้วิธี Dako Hercep Test ได้ค่า 1+ หรือ 2+ แต่ได้ทำการตรวจเพิ่มเติมโดยใช้วิธี FISH แล้วได้ผลเป็นลบ(16)
- การย้อมค่าเคไอ-67 (Ki-67) ใช้ Dako Monoclonal Mouse Anti Human Ki-67 Antigen clone MIB-1 รายงานผลการติดสีเป็นร้อยละ(17)
- การแสดงออกของไซคลินบี(Cyclin B expression) ใช้การย้อมทางอิมมูโนวิทยาโดยใช้แอนติบอดีโดยในการศึกษานี้จะใช้แอนติบอดีของบริษัท GeneTex ซึ่งเป็นชนิดไซคลินบีวัน (Cyclin B1 antibody) แสดงค่าการแสดงออกของไซคลินบีเป็นร้อยละ
- การกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านมในระยะแรกคือ การกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านมภายในระยะเวลา 5 ปีนับจากการวินิจฉัย, การกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านมในระยะหลัง คือการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านมในระยะ 5 ปีแต่ไม่เกิน 10 ปีนับจากวินิจฉัย โดยการกลับเป็นซ้ำหมายรวมถึงการกลับเป็นซ้ำที่เต้านมข้างเดียวกันกับที่วินิจฉัย (Locoregional recurrence), การกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านมอีกข้างหนึ่ง (Contralateral second primary breast cancer), การกลับเป็นซ้ำแบบแพร่กระจายไปอวัยวะอื่นๆ (Distant metastasis)
- อาการและอาการแสดงของการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านมและต้องได้รับการตรวจยืนยันเพิ่มเติมถึงการกลับเป็นซ้ำจริง ได้แก่ การมีก้อนขึ้นมาใหม่ซึ่งอาจเป็นก้อนที่เต้านมข้างเดิมหรือเต้านมอีกข้าง ก้อนที่คอ รักแร้ ผนังหน้าอกบริเวณอื่นๆ เป็นต้น ผื่นหรือการเปลี่ยนแปลงของผิวหนังบริเวณเต้านม หน้าอก การเปลี่ยนแปลงของรูปร่างเต้านม ขนาดของเต้านม และหรืออาการบวมของเต้านมหรือแขน นอกจากนี้อาการที่อาจแสดงได้ถึงถึงการกลับเป็นซ้ำแบบแพร่กระจายไปอวัยวะอื่นๆ เช่น อาการปวดศีรษะผิดปกติ อาการทางระบบประสาทและไขสันหลัง อาการไอเรื้อรังโดยไม่มีสาเหตุ อาการปวดกระดูกปวดตามตัวโดยไม่มีสาเหตุ อาการเบื่ออาหารน้ำหนักลดโดยไม่มีสาเหตุ เป็นต้น
- วัยหมดประจำเดือน หมายถึง ผู้หญิงที่มีอายุมากกว่า 60 ปี หรืออายุน้อยกว่า 60 ปีแต่ได้รับการผ่าตัดหรือฉายแสงบริเวณรังไข่ทั้ง 2 ข้าง หรือผู้ที่ไม่มีประจำเดือนติดต่อกันอย่างน้อย 12 เดือนโดยที่ไม่ได้รับยาเคมีบำบัด ยาต้านฮอร์โมน Tamoxifen หรือยาที่กีดการทำงานของรังไข่ หรือมีการตรวจเลือดพบระดับฮอร์โมน FSH และ Estradiol อยู่ในระดับที่บ่งชี้ว่าหมดประจำเดือน

- ความสามารถในการใช้ชีวิตประจำวันของผู้ป่วย แบ่งตาม Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) performance status score โดยแบ่งเป็น 0-5 คะแนนดังต่อไปนี้(18) (ตารางที่2)

ตารางที่ 2 แสดงความสามารถในการใช้ชีวิตประจำวันของผู้ป่วย (ECOG performance status) (ดัดแปลงมาจากเอกสารอ้างอิง (18))

ระดับ	ความสามารถในการใช้ชีวิตประจำวัน
0	ความสามารถปกติ ออกแรงทำงานได้ตามปกติ ไม่มีข้อจำกัด
1	ไม่สามารถทำกิจกรรมที่ออกแรงมากได้ แต่สามารถทำกิจวัตรประจำวันและงานเบาๆ เช่น งานสำนักงาน งานบ้านได้
2	สามารถช่วยเหลือตนเองได้ทุกอย่าง แต่ไม่สามารถทำงานได้ ต้องพักบนเตียงหรือนั่งน้อยกว่าร้อยละ 50 ของเวลาที่ตื่น
3	สามารถช่วยเหลือตนเองได้บางส่วน ไม่สามารถทำงานได้ ต้องพักบนเตียงหรือนั่งมากกว่าร้อยละ 50 ของเวลาที่ตื่น
4	ไม่สามารถช่วยเหลือตนเองได้เลย ต้องนั่งหรือนอนบนเตียงตลอดเวลา
5	เสียชีวิต

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

1.8 ผลหรือประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

สามารถนำเอาความสัมพันธ์ของการแสดงออกของไซคลินบี (cyclin B) มาใช้ร่วมกับข้อมูลทางคลินิกของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต้นชนิดที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นบวกและตัวรับสัญญาณเฮอร์ทูเป็นลบมาทำนายการกลับเป็นซ้ำของโรคและสามารถใช้จำแนกผู้ป่วยเพื่อให้การการรักษาตามความเหมาะสมได้

1.9 อุปสรรคที่อาจเกิดขึ้นและมาตรการในการแก้ไข

เนื่องจากการศึกษานี้เป็นการศึกษาย้อนหลัง อาจทำให้ข้อมูลทางคลินิกบางส่วนไม่ครบถ้วน อีกทั้งขึ้นเนื้อหาทางพยาธิวิทยาที่จะนำมาตรวจอาจไม่เหมาะสมและไม่สามารถนำมาข้อมดูการ แสดงออกของไซคลินบี (cyclin B) ใหม่ได้หรือขึ้นเนื้อสูญหายไปไม่สามารถค้นหาได้ แนวทางแก้ไขคือ ใช้การสัมภาษณ์ผู้ป่วยเพื่อให้ได้ข้อมูลการรักษาเพิ่มเติมให้ครบถ้วน



บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

มะเร็งเต้านมเป็นมะเร็งที่พบบ่อยเป็นอันดับ 1 ของผู้หญิงไทยและผู้หญิงทั่วโลก เป็นมะเร็งที่มีความหลากหลายทั้งในด้านชีววิทยาและพยาธิวิทยา การรักษามะเร็งเต้านมขึ้นอยู่กับความรุนแรงของโรค โดยพิจารณาจากปัจจัยต่างๆ ได้แก่ ชนิดของเซลล์มะเร็ง (histological type), ระดับของพยาธิวิทยา (histological grade), ขนาดของก้อนมะเร็ง (tumor size), การแบ่งตัวของมะเร็ง (cell proliferation), การแพร่กระจายไปต่อมน้ำเหลือง (lymph node involvement), การมีตัวรับสัญญาณฮอร์โมน เช่น ตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเอสโตรเจน (ER), ตัวรับสัญญาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (PR), การมีตัวรับสัญญาณเฮอรัท (HER2) โดยสามารถจำแนกผู้ป่วยมะเร็งเต้านมออกได้เป็น 4 กลุ่มใหญ่ดังต่อไปนี้ ตามเซนต์กาเลน (St gallen consensus 2013)(1)คือ

1. กลุ่มคล้ายลูมินอล เอ (Luminal A-like) เป็นกลุ่มที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นบวก (ตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเอสโตรเจนเป็นบวกและหรือตัวรับสัญญาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนเป็นบวก) มีตัวรับสัญญาณเฮอรัทเป็นลบและมีการแบ่งตัวของเซลล์มะเร็งต่ำ (ค่าเคไอ-67 น้อยกว่าร้อยละ 14)

2. กลุ่มคล้ายลูมินอล บี (Luminal B-like) เป็นกลุ่มที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นบวก (ตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเอสโตรเจนเป็นบวก, ตัวรับสัญญาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนเป็นลบหรือมีค่าต่ำ) มีตัวรับสัญญาณเฮอรัทเป็นลบหรือบวก มีการแบ่งตัวของเซลล์มะเร็งสูง (ค่าเคไอ-67 มากกว่าเท่ากับร้อยละ 14)

3. กลุ่มเฮอรัทบวก (HER-2 positive) เป็นกลุ่มที่มีตัวรับสัญญาณเฮอรัทเป็นบวก

4. ทริปเปิลเนกาทีฟ (Triple negative) เป็นกลุ่มที่ตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นลบและตัวรับสัญญาณเฮอรัทเป็นลบ

ตามสถิติพบว่า ร้อยละ 60 ของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่ได้รับการวินิจฉัย จัดอยู่ในมะเร็งเต้านมระยะต้นชนิดที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นบวก (hormonal receptor positive) ได้แก่ ตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเอสโตรเจนเป็นบวก (Estrogen Receptor positive) และหรือตัวรับสัญญาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนเป็นบวก (Progesterone Receptor positive) และตัวรับสัญญาณเฮอรัทเป็นลบ (HER-2 negative)

ตารางที่ 3 แสดงลักษณะทางอิมมูโนพยาธิวิทยา ระดับพยาธิวิทยา ความชุก พยากรณ์โรค ดัดแปลง จาก St gallen concensus 2013 และ Review article: Breast cancer intrinsic subtype classification, clinical use and future trends, 2015 (เอกสารอ้างอิงหมายเลข(1, 19))

Intrinsic Subtype	Clinico-pathologic surrogate definition	Grade	Outcome	Prevalence
Luminal A	‘Luminal A-like’ ER and PR positive HER2 negative Ki-67 low (< 14%)	1,2	Good	23.7%
Luminal B	‘Luminal B like (HER2 negative)’ ER positive PR negative or low HER2 negative Ki-67 high ($\geq 14\%$)	2,3	Intermediate	14%
	‘Luminal B like (HER2 positive)’ ER positive HER2 over expressed and amplified Any Ki-67 Any PR		Poor	38%
HER2 overexpression	HER2 positive (non-luminal) HER2 over-expressed and amplified ER and PR negative	2,3	Poor	11.2%

Basal-like	Triple negative (ductal) ER and PR negative HER2 negative	3	Poor	12.3%
------------	--	---	------	-------

โดยแนวทางการรักษาผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต้นนั้น ผู้ป่วยจะได้รับการรักษาหลักคือผ่าตัดเอาก้อนมะเร็งออกซึ่งจะมีการผ่าตัดแบบเอาเต้านมออกทั้งหมด(total mastectomy) และการผ่าตัดแบบสงวนเต้านม(Breast conserving surgery) ขึ้นกับขนาดของก้อนมะเร็ง ความต้องการของผู้ป่วย และดุลยพินิจของแพทย์ผู้ทำการรักษา สำหรับต่อมน้ำเหลืองบริเวณรักแร้(axillary lymph node) นั้น อาจใช้วิธีตัดชิ้นเนื้อต่อมน้ำเหลืองแรก(Sentinel node biopsy)โดยฉีดสี blue dye เพื่อดูว่าการกระจายของมะเร็งไปที่ต่อมน้ำเหลืองต่อมแรกหรือไม่ หากพบว่าการกระจายไปที่ต่อมน้ำเหลืองก็จะทำการเลาะต่อมน้ำเหลืองที่รักแร้ออก(axillary lymph node dissection) แต่หากไม่พบการกระจายไปที่ต่อมน้ำเหลืองแรกก็ไม่มีความจำเป็นต้องเลาะต่อมน้ำเหลืองทั้งหมด ส่วนการรักษาเสริม(adjunct treatment)นั้น มีวัตถุประสงค์เพื่อลดอัตราการกลับเป็นซ้ำและเพิ่มโอกาสหายขาดของโรคมะเร็ง การรักษาเสริมหลังการผ่าตัดประกอบไปด้วย

1.การรักษาเสริมด้วยยาต้านฮอร์โมนในกรณีที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นบวกซึ่งจะมีการใช้ยาออกฤทธิ์ต้านฮอร์โมนเอสโตรเจนซึ่งพิจารณาจากการมีประจำเดือนของผู้ป่วยได้แก่ ทาม็อกซิเฟน(Tamoxifen) เป็นยาในกลุ่ม Selective estrogen receptor modulator(SERMs) ใช้ในผู้ป่วยที่ยังมีประจำเดือน, เลโทรโซล(Letrozole)และอะแนสโตรโซล(Anastrozole) ซึ่งเป็นยาในกลุ่ม Aromatase Inhibitor(AI) ใช้ในผู้ป่วยวัยหมดประจำเดือน เป็นต้น ระยะเวลาของการรับประทานยาอยู่ที่ 5-10 ปี

2.การรักษาเสริมด้วยยาต้านเฮอรัท (Trastuzumab) ซึ่งเป็นยาฉีด ในกรณีที่มีตัวรับสัญญาณเฮอรัทเป็นบวก โดยมีระยะเวลาของการให้ยา 1 ปี

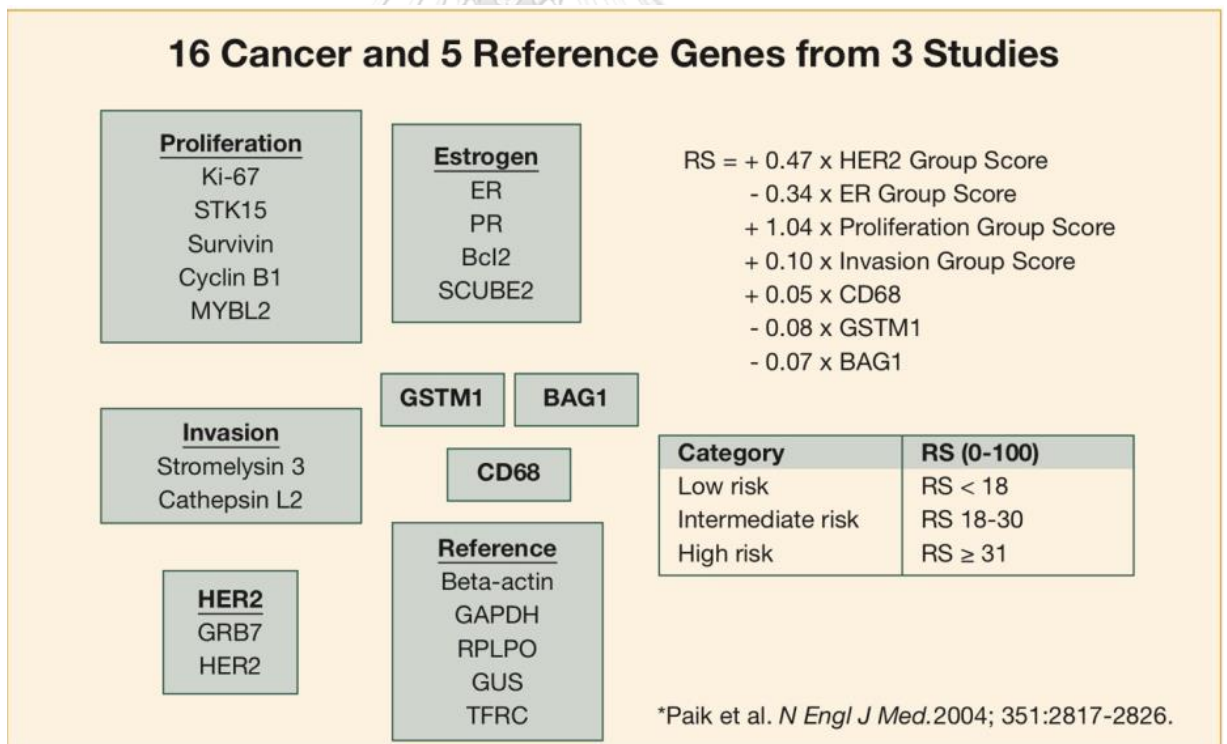
3.การรักษาเสริมด้วยการฉายแสงโดยจะทำในกรณีที่ ก้อนมะเร็งมีขนาดใหญ่กว่า 5 เซนติเมตร, มะเร็งกระจายไปที่ต่อมน้ำเหลืองรักแร้มากกว่าเท่ากับ 4 ต่อมน, ตัดมะเร็งออกไม่หมดเหลือติดขอบ (margin positive) และการผ่าตัดเต้านมแบบสงวนเต้านม

4.การรักษาเสริมด้วยยาเคมีบำบัด โดยพิจารณาจากผลชิ้นเนื้อที่มีความเสี่ยงต่อการกลับเป็นซ้ำสูง เช่น เซลล์มะเร็งมีการแบ่งตัวแตกต่างจากเซลล์ปกติปานกลางถึงมาก(moderately to poorly differentiation), ขนาดของก้อนมะเร็งมีขนาดใหญ่ (tumor size), มีการลุกลามของมะเร็งไปที่ระบบน้ำเหลืองหรือหลอดเลือด(lymphatic/vascular invasion), ตัดติดยอบ(margin positive), ค่าเคไอ-67 มากกว่าเท่ากับร้อยละ 14, มะเร็งกระจายไปที่ต่อมน้ำเหลือง(Lymph node metastasis) เป็นต้น(15, 20)

ซึ่งจากการแบ่งกลุ่มคนไข้มะเร็งเต้านมออกเป็น 4 กลุ่มตาม St gallen consensus 2013 จะพบว่าผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต้นชนิดที่มีตัวชนิดที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นบวกและตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นลบจะจัดอยู่ในกลุ่มคล้ายลูมินอลเอหรือบี ซึ่งจะได้รับการรักษาหลักโดยการผ่าตัดเต้านมออกร่วมกับการให้ยาออกฤทธิ์ต้านฮอร์โมนเอสโตรเจนเสริมระยะเวลา 5-10 ปี ร่วมกับการฉายแสงเสริมขึ้นกับว่ามีข้อบ่งชี้ในการฉายแสงหรือไม่ ส่วนการให้ยาเคมีบำบัดเสริมนั้นพิจารณาจากความเสี่ยงของการกลับเป็นซ้ำว่ามีความเสี่ยงสูงหรือไม่ ซึ่งดูตามกลุ่มของ St gallen consensus 2013 ทั้ง 4 กลุ่มมีการดำเนินโรคและพยากรณ์โรคแตกต่างกัน โดยกลุ่มคล้ายลูมินอลเอ จัดเป็นกลุ่มที่มีการพยากรณ์โรคดีที่สุดมีโอกาสการกลับเป็นซ้ำต่ำ โดยมีโอกาสหายขาดจากการได้รับการรักษาด้วยฮอร์โมนเสริมอย่างเดียวถึงร้อยละ 85 ที่ 10 ปี (2, 3) ในขณะที่กลุ่มคล้ายลูมินอลบีมีความรุนแรงมากกว่าและมีโอกาสกลับเป็นซ้ำมากกว่ากลุ่มคล้ายลูมินอลเอ แพทย์จึงมักพิจารณาให้ยาเคมีบำบัดรักษาเสริม แต่ก็มีผู้ป่วยจำนวนหนึ่งที่อยู่ในกลุ่มระหว่างกลุ่มคล้ายลูมินอลเอและกลุ่มคล้ายลูมินอลบี ซึ่งอาจเป็นกลุ่มที่ได้ประโยชน์จากการได้รับยาเคมีบำบัดหรืออาจไม่ได้ประโยชน์ จึงได้มีการนำความรู้เรื่องการแสดงออกของยีนที่สามารถบ่งบอกการพยากรณ์ของโรคมะเร็งเต้านมระยะต้นชนิดที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นบวกและตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นลบ มาใช้ทำนายการกลับเป็นซ้ำของโรค เช่น อองโคไทป์ดีเอ็กซ์(Oncotype DX) จากการศึกษาของ Soonmyung Paik และคณะ (8) ที่ตีพิมพ์ในปี 2004 โดยศึกษาการแสดงออกของยีนที่สัมพันธ์กับมะเร็งเต้านม 16 ยีนและยีนอ้างอิง 5 ยีน เพื่อทำนายการกลับเป็นซ้ำของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต้นชนิดที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นบวกและตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นลบที่ได้รับการรักษาด้วยยา Tamoxifen และไม่มีการลุกลามไปที่ต่อมน้ำเหลือง สามารถแบ่งยีนออกเป็นกลุ่มต่างๆ 8 กลุ่มได้แก่ กลุ่มที่เกี่ยวข้องกับการแบ่งตัว (Proliferation): เคไอ-67(Ki-67), เอสทีเค15(STK15), เซอร์ไววิน(survivin), ไซคลินบี1(cyclin B1), เอ็มวายบีแอล2(MYBL2) กลุ่มที่เกี่ยวข้องกับตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเอสโตรเจน(Estrogen): ตัวรับ

สัญญาณฮอร์โมนเอสโตรเจน (Estrogen Receptor :ER), ตัวรับสัญญาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (Progesterone Receptor : PR), บีซีแอล2(Bcl2), เอสซียูบีอี2(SCUBE2) กลุ่มที่เกี่ยวข้องกับการลุกลาม(invasion): สโตรมีไลซิน3(Stromelysin3), แคทเทปซินแอล2(Cathepsin L2), กลุ่มตัวรับสัญญาณเฮอรัท(HER2): จีอาร์บี7(GRB7),เฮอรัท(HER2) กลุ่มจีเอสทีเอ็ม1(GSTM1) กลุ่มบีเอจี1(BAG1) กลุ่มซีดี68(CD68) และกลุ่มยีนอ้างอิง(Reference): เบต้าแอคติน(Beta-actin), จีเอพีดีเอช(GAPDH), อาร์พีแอลพีโอ(RPLPO), จียูเอส(GUS), ทีเอฟอาร์ซี(TFRC) ซึ่งจะนำมาคำนวณเป็นคะแนนการกลับเป็นซ้ำ(Recurrence score: RS) (0-100 คะแนน) แบ่งผู้ป่วยออกเป็น 3 กลุ่มคือ กลุ่มความเสี่ยงต่ำ(Low risk) คะแนนน้อยกว่า 18 กลุ่มความเสี่ยงปานกลาง(Intermediate risk) คะแนน 18-30 และกลุ่มความเสี่ยงสูง (High risk) คะแนนมากกว่าเท่ากับ 31

รูปภาพที่ 2 แสดงกลุ่มยีนที่ใช้ในชุดตรวจเชิงพาณิชย์ อองโคไทป์ดีเอ็กซ์(Oncotype DX) (ดัดแปลงจากเอกสารอ้างอิง(8))

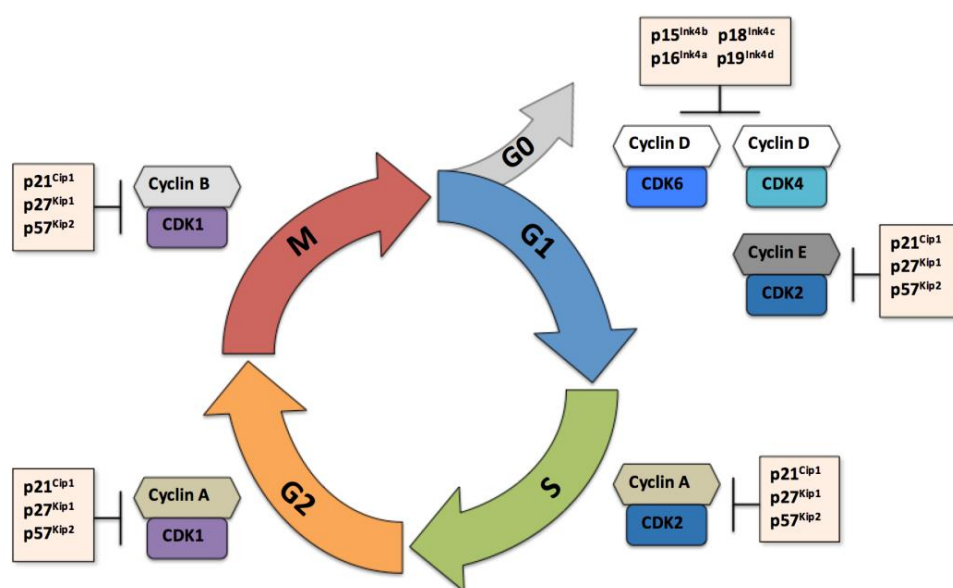


โดยพบว่ากลุ่มที่มีความเสี่ยงต่ำมีอัตราการกลับเป็นซ้ำที่ 10 ปีอยู่ที่ร้อยละ 4.3 ในขณะที่กลุ่มที่มีความเสี่ยงสูงมีอัตราการกลับเป็นซ้ำที่ 10 ปีอยู่ที่ร้อยละ 15.8%(21) จากข้อมูลข้างต้นช่วยให้ตัดสินใจได้ว่ากลุ่มผู้ป่วยที่มีความเสี่ยงต่ำไม่จำเป็นต้องได้รับการรักษาเสริมด้วยยาเคมีบำบัดซึ่งมีผลข้างเคียงสูงโดยไม่จำเป็น ชุดตรวจเชิงพาณิชย์ที่นำมาใช้ในการทำนายการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านมที่สำคัญอีกชุดหนึ่งคือ 70ยีนซิกเนเจอร์แมมมาปริ้น(70-gene signature MammaPrint)(6, 7) ซึ่งมีการศึกษาของ Laura J. และคณะที่ตีพิมพ์เมื่อปี 2002 โดยการนำชิ้นเนื้อของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมมา 98 ตัวอย่าง แบ่งเป็น 34 ตัวอย่างที่มีการกลับเป็นซ้ำใน 5 ปี, 44 ตัวอย่างที่ไม่มีการกลับเป็นซ้ำใน 5 ปี, 18 ตัวอย่างที่มีการกลายพันธุ์ของยีนบีอาร์ซีเอ1(BRCA1), 2 ตัวอย่างที่มีการกลายพันธุ์ของยีนบีอาร์ซีเอ2(BRCA2) นำมาศึกษาข้อมูลที่เกี่ยวข้องเช่น ระดับพยาธิวิทยาของเซลล์มะเร็ง (histological grade), การลุกลามของมะเร็ง (invasion), การมีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเอสโตรเจน (ER) และการแพร่กระจายของมะเร็ง(metastasis) จากนั้นนำตัวอย่างมาสกัดการพันธุกรรมเพื่อดูการแสดงออกของยีนต่างๆ 70 ยีน และสามารถแบ่งยีนออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่คือกลุ่มพยากรณ์โรคดี(good prognosis signature)และกลุ่มพยากรณ์โรคไม่ดี(poor prognosis signature) ซึ่งในกลุ่มพยากรณ์โรคไม่ดีขึ้นมีกลุ่มยีนที่เกี่ยวข้องกับการแบ่งตัวของเซลล์ได้แก่ ไซคลินอี2(cyclinE2) ไซคลินบี2(cyclinB2) ก็ตรวจพบในกลุ่มพยากรณ์โรคไม่ดีแต่ไม่ได้นำมาคำนวณใน 70 ยีน และจากการนำไปใช้พบว่าผู้ป่วยที่อยู่ในกลุ่มพยากรณ์โรคดีมีอัตราการรอดชีวิตที่ 10 ปีอยู่ที่ร้อยละ 94.5 ในขณะที่กลุ่มพยากรณ์โรคไม่ดีมีอัตราการรอดชีวิตที่ 10 ปีอยู่ที่ร้อยละ 54.6(6)จากข้อมูลข้างต้นจะเห็นได้ว่าปัจจัยสำคัญที่ใช้ทำนายการกลับเป็นซ้ำของโรคมะเร็งเต้านมปัจจัยหนึ่งคือการแบ่งตัวของเซลล์มะเร็ง (cell proliferation) โดยอาศัยดูได้จากหลายค่าดังที่กล่าวมาแล้ว

การแบ่งตัวของเซลล์มนุษย์(cell proliferation) (รูปภาพที่ 3) เริ่มจากกลุ่มโปรตีนที่ชื่อว่า mitotic promoting factor เอ็มเอฟพี(MPF) ซึ่งในเซลล์มนุษย์คือ ไซคลิน(Cyclin) และ Cyclin Dependent Kinase ซีดีเค(CDK)ซึ่งโปรตีนทั้งสองจะทำงานร่วมกันเป็น ซีดีเค-ไซคลินคอมเพล็กซ์ (cdk-cyclin complex) ควบคุมการทำงานตามวงจรการแบ่งตัวของเซลล์ โดย ไซคลินดี(cyclin D) ทำงานร่วมกับ ซีดีเค4/6(cdk4/6) ควบคุมช่วงระยะแรก(G1 phase), ไซคลินเอกับไซคลินอี(cyclin A, E) ทำงานร่วมกับ ซีดีเค2(cdk2)ควบคุมการทำงานช่วงที่ 2(S phase), ไซคลินบี(cyclin B)ทำงานร่วมกับ ซีดีเค1(cdk1)ควบคุมการทำงานช่วงที่ 3(G2-M phase) ในภาวะปกติการแสดงออกของซีดี

เค-ไซคลินคอมเพล็กซ์(cdk-cyclin complex) จะอยู่ในเกณฑ์ที่สมดุลเพื่อควบคุมการแบ่งตัวของเซลล์ร่างกาย หากมีการแสดงออกของซีดีเค-ไซคลินคอมเพล็กซ์(cdk-cyclin complex)ที่มากเกินไปหรือแสดงออกผิดช่วงเวลา จะทำให้เกิดการแบ่งตัวของเซลล์ผิดปกติ นำมาซึ่งการตายของเซลล์หรือก่อให้เกิดโรคมะเร็งได้(10)

รูปภาพที่ 3 แสดงวงจรการแบ่งตัวของเซลล์ที่สัมพันธ์กับไซคลิน (ดัดแปลงจากเอกสารอ้างอิง(22))



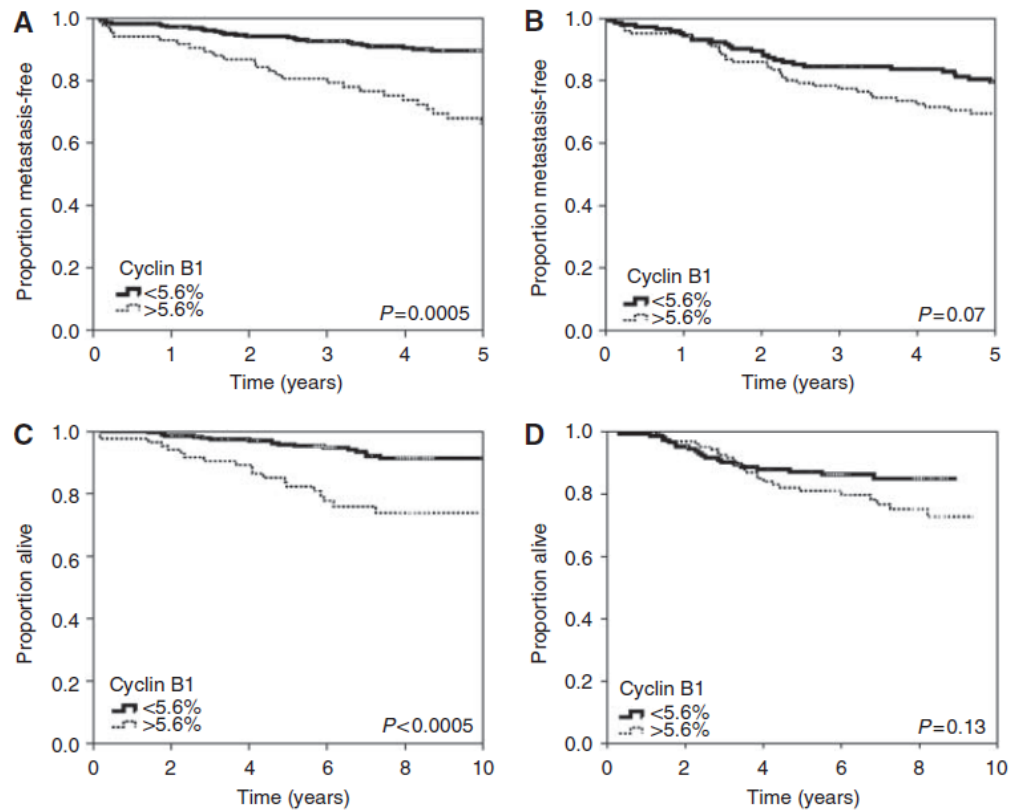
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ซึ่งจากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าการแสดงออกของไซคลินเอ, บี, อี(cyclin A, B, E)(11-13) ที่สูงสัมพันธ์กับการพยากรณ์ที่แย่งของโรคมะเร็งเต้านม แต่การแสดงออกของไซคลินดี (cyclin D)(23, 24) ยังไม่มีข้อสรุปที่ชัดเจน มีการวิจัยเชิงวิเคราะห์แบบย้อนหลังของ Aatonen(25) และคณะตีพิมพ์เมื่อปี 2009 ศึกษาผู้ป่วยมะเร็งเต้านม 1348 รายในประเทศสวีเดน กำหนดค่าการแสดงออกของไซคลินบีแบ่งที่ระดับร้อยละ 5.6 (จุดตัดมัธยฐานที่ 7 : 7th decile) ผู้ป่วยที่มีค่าไซคลินบีมากกว่าร้อยละ 5.6 จะมีระยะเวลาปลอดโรคและอัตราการรอดชีวิตโดยรวมแยกว่ากลุ่มที่มีไซคลินบีน้อยกว่าร้อยละ 5.6 (รูปภาพที่ 4) การศึกษาวิจัยเชิงวิเคราะห์แบบย้อนหลังของ Klintman(26) และคณะตีพิมพ์เมื่อปี 2013 ศึกษาในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต้นที่ไม่มีการแพร่กระจายไปต่อมน้ำเหลือง 222 ราย กำหนดค่าการแสดงออกของไซคลินบีแบ่งที่ระดับ 12.5% (จุดตัดมัธยฐานที่ 7) พบว่าผู้ป่วยที่มีค่าไซคลิน

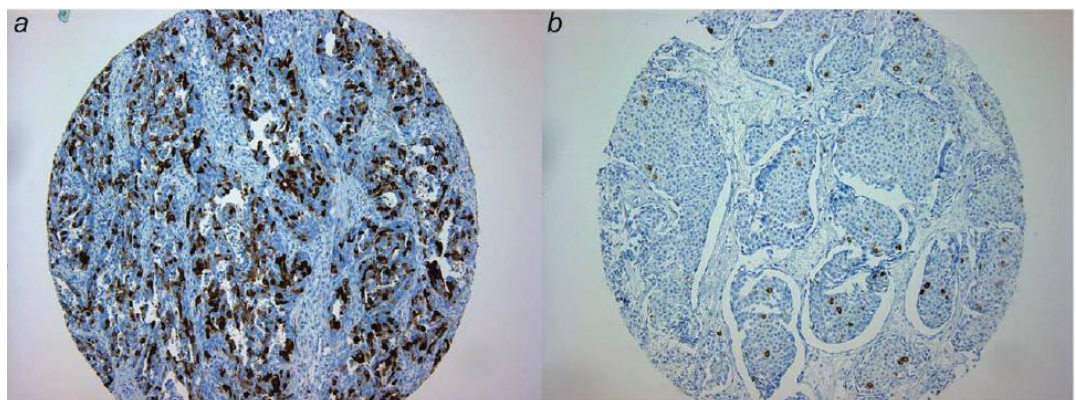
ลินปีมากกว่าร้อยละ 12.5 จะมีระยะเวลาปลอดโรคแยกว่ากลุ่มที่มีไซคลินบีน้อยกว่าร้อยละ 12.5 มีการศึกษาแบบวิเคราะห์อภิมาน(meta-analysis)ของ Xi Sunและคณะ(13) ซึ่งเป็นการรวบรวมข้อมูล 10 การศึกษาเกี่ยวกับการแสดงออกของไซคลินบี(cyclin B) เพื่อบอกการพยากรณ์โรคของมะเร็งเต้านม พบว่าการแสดงออกของไซคลินบีที่สูง (cyclin B overexpression) สัมพันธ์กับอัตราการรอดชีวิตโดยรวมที่แยกว่า(poor overall survival) ระยะเวลาที่ปลอดจากโรคที่แยกว่า(poor disease free survival) ในประเทศไทยนั้นยังไม่มีรายงานการย้อมไซคลินบีในมะเร็งเต้านมระยะต้นและยังไม่มีค่ากำหนดของการแสดงออกของไซคลินบีที่แน่ชัด การแสดงออกของไซคลินบีนั้นสามารถพบได้จากการติดสีย้อมทางอิมมูโนค่านวนมาเป็นร้อยละของการติดสีทั้งในนิวเคลียสและไซโตพลาสซึม (รูปภาพที่ 5)

จากข้อมูลข้างต้นที่พบว่าการแสดงออกของไซคลินบีที่สูงสัมพันธ์กับการพยากรณ์โรคที่ไม่ดีของผู้ป่วยมะเร็งเต้านม จึงเป็นที่มาของการวิจัยนี้ที่จะศึกษาความสัมพันธ์ของการแสดงออกของไซคลินบี(cyclin B) ที่ปรากฏเซลล์ของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต้นชนิดที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นบวกและตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นลบของผู้ป่วยในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ระหว่างปี พ.ศ.2553-2558 ว่ามีค่าเท่าใดสามารถนำมาใช้บ่งบอกความรุนแรงของโรคและมีความสัมพันธ์ในการบอกการกลับเป็นซ้ำของโรคได้หรือไม่

รูปที่ภาพ 4 แสดงระยะเวลาปลอดโรคและอัตราการรอดชีวิตโดยรวมของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต้น A และ C คือผู้ป่วยที่ไม่ได้รับการรักษาเสริมด้วยยาเคมีบำบัด B และ D คือผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาเสริมด้วยยาเคมีบำบัด (ดัดแปลงจากเอกสารอ้างอิง(25))



รูปภาพที่ 5 แสดงการติดสีย้อมทางอิมมูโนของเซลล์มะเร็งเต้านม (a) มีการแสดงออกของไซคลินบี ปริมาณมาก (b) มีการแสดงออกของไซคลินบีปริมาณน้อย (ดัดแปลงจากเอกสารอ้างอิง (27))



บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 รูปแบบการวิจัย

การศึกษานี้เป็นการศึกษาชนิด Retrospective cohort studyเป็นการศึกษาในอดีตและติดตามไปข้างหน้า เพื่อเก็บรวบรวมข้อมูลทางพยาธิวิทยาและข้อมูลทางคลินิก เพื่อหาความสัมพันธ์ของการแสดงออกของไซคลินบีกับการเกิดเป็นซ้ำของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต้นชนิดที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นบวกและตัวรับสัญญาณเฮอรัทเป็นลบ

3.2 ระเบียบการวิจัย

- สถานที่ : โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ 1873 ถนนพระราม 4 เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330
- ประชากร(Study Population)

ประชากรเป้าหมาย(Target population) คือ ประชากรหญิงไทยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นมะเร็งเต้านมระยะต้นชนิดที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นบวกและตัวรับสัญญาณเฮอรัทเป็นลบ

ประชากรตัวอย่าง(Sample population) คือ ประชากรหญิงไทยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นมะเร็งเต้านมชนิดที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นบวกและตัวรับสัญญาณเฮอรัทเป็นลบในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ระหว่างปี พ.ศ.2553-2558

- เกณฑ์การคัดเลือกผู้เข้าร่วมวิจัย (Inclusion criteria)

1.ผู้ป่วยหญิงที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นมะเร็งเต้านมระยะต้น (ระยะที่ 1-3 ตาม AJCC7) ชนิดที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นบวกและตัวรับสัญญาณเฮอรัทเป็นลบ

2.ผู้ป่วยต้องได้รับการผ่าตัดเอาเต้านมและหรือต่อมน้ำเหลืองออกได้หมดจากการยืนยันทางพยาธิวิทยา (R0 resection) โดยการผ่าตัดเต้านม ได้แก่ การผ่าตัดเต้านมทั้งเต้า (Mastectomy), การตัดสงวนเต้า (Breast conserving surgery) การผ่าตัดต่อมน้ำเหลือง ได้แก่ การผ่าตัดตรวจต่อม

น้ำเหลืองกลุ่มแรก (Sentinel lymph node) และหรือการตัดเลาะต่อมน้ำเหลืองทั้งหมด (Axillary lymph node dissection)

3. ผู้ป่วยได้รับการรักษาเสริมด้วยการฉายแสงหลังการผ่าตัดตามเกณฑ์มาตรฐานถ้ามีข้อบ่งชี้

4. ผู้ป่วยต้องได้รับการรักษาเสริมด้วยยาต้านฮอร์โมนหลังการผ่าตัด

5. ผู้ป่วยได้รับการรักษาเสริมด้วยยาเคมีบำบัดหลังการผ่าตัด (Adjuvant chemotherapy) หรือ ให้ยาเคมีบำบัดก่อนการผ่าตัด (Neoadjuvant chemotherapy) ตามข้อบ่งชี้

6. ผู้ป่วยอายุมากกว่าหรือเท่ากับ 18 ปี

7. ผู้ป่วยต้องได้รับการตรวจติดตามอย่างสม่ำเสมอเป็นเวลาอย่างน้อย 5 ปี และทำการตรวจแมมโมแกรม (Mammogram) อย่างน้อยปีละ 1 ครั้ง หรือตามที่แนะนำจากผลการตรวจ

8. ผู้ป่วยต้องมีผลชิ้นเนื้อและหรือผลย้อมทางอิมมูโนวิทยาและสามารถนำชิ้นเนื้อนั้นมาตรวจวัดการแสดงออกของไซคลินบีได้

● เกณฑ์ในการคัดออกจากการวิจัย (Exclusion criteria)

1. ผู้ป่วยที่ไม่มีผลชิ้นเนื้อและหรือผลย้อมทางอิมมูโนวิทยาและไม่สามารถนำชิ้นเนื้อมาตรวจใหม่ได้

2. ผู้ป่วยที่เป็น Inflammatory breast cancer

● ตัวชี้วัดการวิจัย (Research Outcomes)

■ ตัวชี้วัดปฐมภูมิ (Primary outcome)

- ความสัมพันธ์ของการแสดงออกของไซคลินบี (cyclin B) กับการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านมระยะต้นชนิดที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นบวกและตัวรับสัญญาณเฮอร์ทูเป็นลบ โดยการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านม หมายถึง การกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านมในข้างเดียวกับที่วินิจฉัยและบริเวณใกล้เคียง (Locoregional recurrence) การกลับเป็นซ้ำแบบแพร่กระจายไปอวัยวะอื่นๆ (Distant

recurrence) รวมถึงการเสียชีวิตจากการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านม หากการกลับเป็นซ้ำนั้นเป็นอาการแรก que แสดงถึงการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านม

- ตัวชี้วัดทุติยภูมิ (Secondary outcomes)
 - การแสดงออกของไซคลินบี (cyclin B) ในเซลล์มะเร็งของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต้นชนิดที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นบวกและตัวรับสัญญาณเฮอร์ทูเป็นลบ
 - โอกาสปลอดโรค (Recurrence free survival) คือ การปลอดจากการกลับเป็นซ้ำจากมะเร็งเต้านมข้างเดียวกับที่วินิจฉัยและบริเวณใกล้เคียง การกลับเป็นซ้ำแบบแพร่กระจายไปบริเวณอื่น การเสียชีวิตจากมะเร็งเต้านมหรือการเสียชีวิตจากมะเร็งอื่นๆโดยไม่รวมมะเร็งผิวหนังชนิดไม่ใช่เมลาโนมา

3.3 ขนาดตัวอย่าง

คำนวณตัวอย่าง(Sample size determination) จากสูตร n4Studies:

$$n_{exposure} = \left[\frac{z_{1-\frac{\alpha}{2}} \sqrt{\bar{p}\bar{q}(1+\frac{1}{r})} + z_{1-\beta} \sqrt{p_1 q_1 + \frac{p_2 q_2}{r}}}{\Delta} \right]^2$$

$$p_1 = P(\text{outcome}|\text{exposure}), q_1 = 1 - p_1$$

$$p_2 = P(\text{outcome}|\text{unexposure}), q_2 = 1 - p_2$$

$$\bar{p} = \frac{p_1 + p_2 r}{1+r}, \bar{q} = 1 - \bar{p}, r = \frac{n_{unexposure}}{n_{exposure}}$$

$$p_1 = p_2 RR$$

$$m_{exposure} = \frac{n_{exposure}}{4} \left(1 + \sqrt{1 + \frac{2(r+1)}{n_{exposure} r |p_2 - p_1|}} \right)^2$$

จากข้อมูลการวิจัยก่อนหน้านี้ของ Klintman(26) ใช้ค่าตัด(cut off point) แบ่งกลุ่มผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของไซคลินบี (cyclin B) ออกเป็น low(ต่ำ) กับ high(สูง) ที่มีฐานที่ 7th decile (ร้อยละ 12.5) โดยพบว่ากลุ่มที่มีการแสดงออกต่ำมีอัตราการกลับเป็นซ้ำของโรค(un-exposure) ที่

$p_2 = 0.179$ ในขณะที่กลุ่มที่มีการแสดงออกสูงมีอัตราการกลับเป็นซ้ำของโรค(exposure) ที่ $p_1 = 0.327$, HR 2.2 (95%CI 1.2- 3.9) ในการศึกษาที่จึงกำหนดอัตราส่วนของ case : control (ผู้ป่วยที่มีการกลับเป็นซ้ำในระยะเวลา 5 ปี: ผู้ป่วยไม่มีการการกลับเป็นซ้ำในระยะเวลา 5 ปี) = 1:3
 คำนวณขนาดตัวอย่างประชากรได้ 240 ราย โดยแบ่งเป็น case 60 รายและ control 180 ราย
 กำหนดค่า detect $\alpha = 0.05$ และ $\beta = 0.20$

3.4 ขั้นตอนในการดำเนินงานวิจัย

1. ทบทวนข้อมูลผู้ป่วยโรคมะเร็งเต้านมจากเวชระเบียนโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ โดยเลือกผู้ป่วยที่มีประวัติการเป็นมะเร็งเต้านมระยะต้นชนิดที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นบวกและตัวรับสัญญาณเฮอร์ทูเป็นลบ ที่เข้าตามเกณฑ์ผู้เข้าร่วมวิจัย ตั้งแต่วันที่ 1 มกราคม 2553 ถึงวันที่ 31 ธันวาคม 2558 ทั้งที่มีการกลับเป็นซ้ำและไม่มีการกลับเป็นซ้ำ โดยต้องได้รับการติดตามดูรักษาอย่างสม่ำเสมอในคลินิกมะเร็งวิทยาเป็นเวลาอย่างน้อย 5 ปี และให้คำจำกัดความของผู้ป่วยที่มีการกลับเป็นซ้ำหรือเสียชีวิตจากเหตุการณ์ใดๆว่าเป็นเหตุการณ์ (event) และผู้ป่วยที่ยังไม่มีการกลับเป็นซ้ำและยังมีชีวิตถึงเวลาที่จบการศึกษาวิจัย คือวันที่ 1 เมษายน 2562 ว่าเป็นเซ็นเซอร์ (censor)

2. ติดต่อภาควิชาพยาธิวิทยา ขอใช้ชิ้นเนื้อมะเร็งเต้านมที่เก็บไว้ในพาราฟินบล็อก (Formalin-fixed paraffin embeded) ของผู้ป่วยทุกคนที่เข้าเกณฑ์การวิจัย

3. ย้อมทางอิมมูโนวิทยาเพื่อดูการแสดงออกของไซคลินบี (cyclin B) ในเซลล์มะเร็งของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต้นชนิดที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นบวกและตัวรับสัญญาณเฮอร์ทูเป็นลบ

4. วิธีการย้อมดูการแสดงออกของไซคลินบี (cyclin B) อ้างอิงการย้อมจาก Klintman(26) โดยจะใช้วิธี Tumor Tissue Microarray(TMA) ย้อมด้วยแอนติบอดีของบริษัท Genetex ซึ่งเป็นชนิดไซคลินบีวัน Cyclin B1 antibody(GeneTex) เริ่มจากตัดชิ้นเนื้อออกจากกล่องพาราฟิน (paraffin block) นำชิ้นเนื้อวางบนแผ่นสไลด์ใน 1 แผ่นสไลด์(TMA) จะมีชิ้นเนื้อ 12- 16 ชิ้น จากนั้นทำการละลายพาราฟิน (De-paraffin) นำสไลด์ที่มีชิ้นเนื้อใส่ลงในเครื่อง DAKO (PT Link) เพื่อ antigen retrieval นำสไลด์ออกจากเครื่องหยุดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (3%H₂O₂) ลงบนสไลด์ทิ้งไว้ 5 นาที จากนั้นล้างสไลด์ด้วยน้ำเปล่าหลายๆรอบ running tap water 5-10 นาที หยุด Diluent บนสไลด์ทิ้ง

ไว้ 5 นาที ต่อด้วยการย้อม primary antibody โดยใช้ไซคลินบีวัน (Cyclin B1) อัตราส่วน 1:50 ที่ตั้งไว้ 12 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นล้างสไลด์ ด้วย PBS buffer ทำการย้อม secondary antibody 30 นาที ล้างสไลด์ด้วย PBS buffer ใช้ Diaminobenzidine (DAB) ย้อม 5 นาที จากนั้นล้างน้ำเปล่า ย้อม H&E แล้วล้างน้ำเปล่าอีกครั้งการย้อมทั้งหมดเป็น Manual stain โดยใช้ breast cancer tissue เป็นทั้ง positive control และ negative control

5.ตรวจนับการแสดงออกของไซคลินบี (cyclin B) บนเซลล์มะเร็ง (tumor cell) โดยพยาธิแพทย์ (pathologist) 1 ท่าน นับอย่างน้อย 200 เซลล์ โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ขนาดกำลังขยาย 40 เท่า ดูการติดสีทั้งในไซโตพลาสซึม (cytoplasm) และในนิวเคลียส (nucleus) หลังจากนั้นคำนวณเป็นร้อยละการแสดงออกของไซคลินบี (cyclin B) นำค่าที่ได้มาเรียงลำดับ ใช้ค่าจุดตัด (cut-off point) ที่มีฐานที่เจ็ด (7th decile) ในการแบ่งการแสดงออกของไซคลินบี (cyclin B) ออกเป็นการแสดงออกต่ำ (low expression) กับการแสดงออกสูง (high expression)

6.บันทึกข้อมูลผู้ป่วยโดยบันทึกลงใน case record form (ในภาคผนวก) ซึ่งประกอบไปด้วย ข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วย ข้อมูลทางคลินิกของมะเร็งเต้านม ข้อมูลทางพยาธิวิทยา ข้อมูลการรักษา ข้อมูลการกลับเป็นซ้ำ

3.5 การเก็บรวบรวมข้อมูล

เก็บข้อมูลพื้นฐานและข้อมูลทางคลินิกทั้งหมดของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต้นชนิดที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นบวกและตัวรับสัญญาณเฮอร์ทูเป็นลบในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ตามเกณฑ์การคัดเลือกผู้เข้าร่วมวิจัย โดยใช้บันทึกจากเวชระเบียน เก็บข้อมูลทางพยาธิวิทยาจากผลตรวจของภาควิชาพยาธิวิทยาคณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยผู้ดำเนินการวิจัยเป็นผู้เก็บข้อมูล และผู้บันทึกข้อมูล

3.6 ข้อจำกัดในการวิจัย

1. การศึกษานี้เป็นการศึกษาแบบย้อนหลัง ดังนั้นจึงอาจมีปัจจัยกวนที่เข้ามาเกี่ยวข้องซึ่งไม่สามารถควบคุมได้ ดังเช่น มีข้อมูลบางส่วนที่ไม่สามารถเก็บรวบรวมเนื่องจากการบันทึกข้อมูลทางเวชระเบียนที่ไม่สมบูรณ์ ขึ้นเนื้อทางพยาธิไม่สมบูรณ์หรือไม่เหมาะสมกับการย้อนการแสดงผลของไซคลินบี (cyclin B) การประเมินการกลับเป็นซ้ำของโรคมะเร็งแตกต่างกันเนื่องจากมีแพทย์ผู้ตรวจรักษาหลายคน ระยะเวลาที่มาติดตามการรักษาของผู้ป่วยที่แตกต่างกัน เป็นต้น แต่อย่างไรก็ตามเนื่องจากผู้ป่วยทั้งหมดได้รับการรักษาและตรวจติดตามที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ดังนั้นมาตรฐานการรักษาตรวจติดตามจึงอาจไม่ได้แตกต่างกันมากนักระหว่างแพทย์แต่ละบุคคล

2. ข้อจำกัดในการแปลผลเนื่องจากการศึกษานี้ได้ทำการศึกษาในโรงพยาบาลเดียว ไม่ได้มีการสุ่มตัวอย่างประชากรจากทั้งประเทศ ซึ่งผู้ป่วยมะเร็งเต้านมในแต่ละส่วนของประเทศนั้นอาจแตกต่างกันออกไป จึงอาจต้องระมัดระวังในการแปลผลและการนำไปประยุกต์ใช้

3.7 การเปิดเผยข้อมูลแสดงตัวตนของผู้ป่วย

ผู้วิจัยเคารพในความเป็นส่วนตัวและการรักษาความลับ (Privacy and confidentiality) ของผู้ป่วย โดยในแบบบันทึกข้อมูลผู้ป่วยทั้งหมดจะไม่สามารถระบุถึงตัวบุคคลได้ และไม่มี การนำข้อมูลของผู้ป่วยไปเปิดเผยเด็ดขาด นอกจากนี้การศึกษานี้เป็นการศึกษาแบบย้อนหลัง โดยจะใช้ข้อมูลที่เคยผ่าตัดมาแล้ว จึงไม่ได้มีการกระทำต่อผู้ป่วยโดยตรงที่จะทำให้เกิดอันตราย สำหรับการนำข้อมูลไปวิเคราะห์ จะใช้รหัสตัวเลขแทนผู้ป่วยแต่ละราย ส่วนการนำเสนอและตีพิมพ์ผลงานวิจัยนั้น จะนำเสนอเป็นภาพรวมของผลงานวิจัย

3.8 การวิเคราะห์ข้อมูล (Data analysis)

ข้อมูลเชิงปริมาณ (Continuous variables) เช่น อายุของผู้ป่วย, ร้อยละการติดสีของค่าเคไอ-67, ร้อยละการแสดงผลของไซคลินบี, ร้อยละการติดสีของตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเอสโตรเจนและโปรเจสโตโรน เป็นต้น แสดงข้อมูลที่ได้ออกมาเป็นค่าเฉลี่ย (Mean) และค่าพิสัยมัธยฐาน (Median)

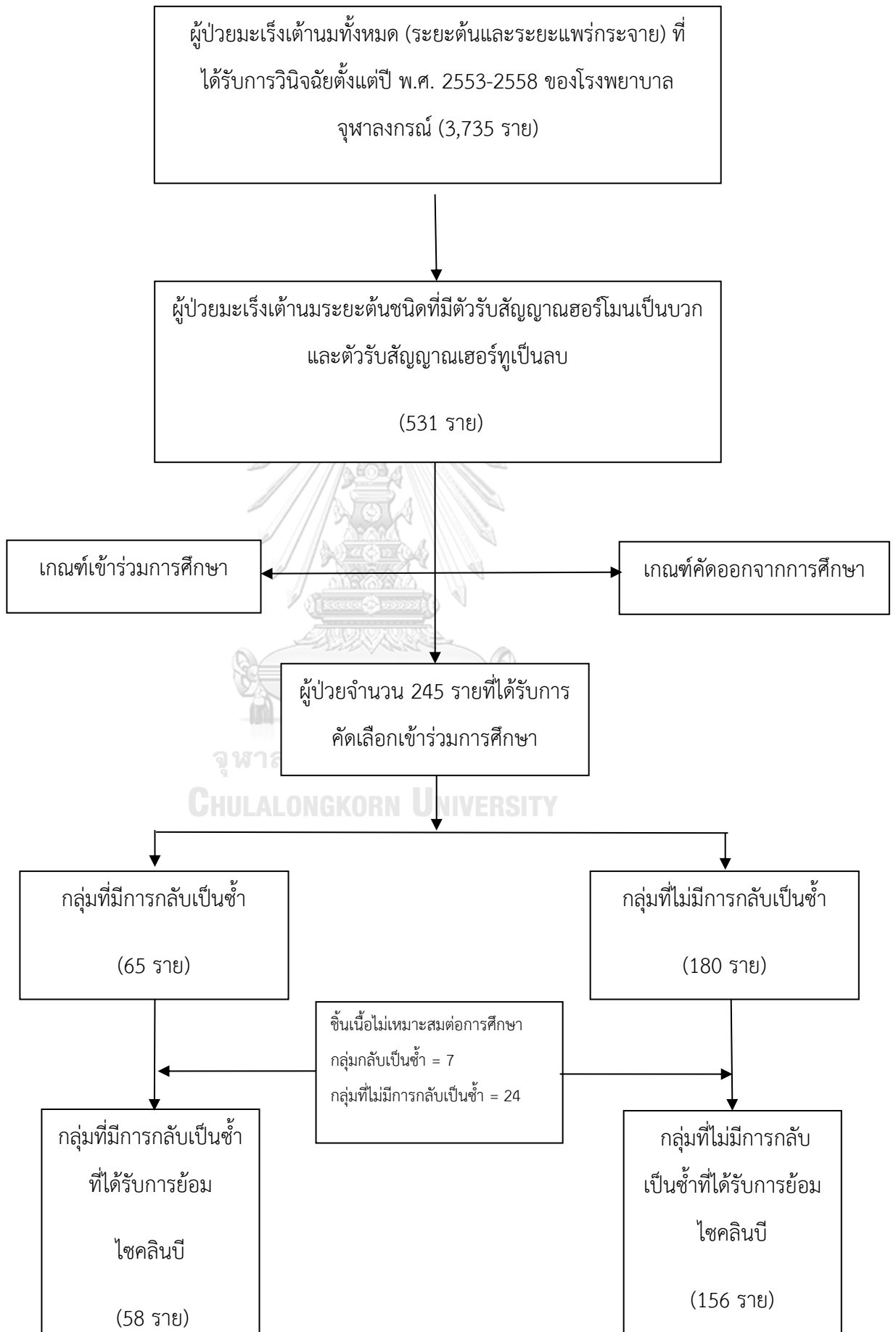
ข้อมูลเชิงคุณภาพ (Categorical variables) เช่น สถานะภาพวัยหมดประจำเดือน สถานภาพทางกาย ระยะของมะเร็ง ระดับของพยาธิวิทยา การลุกลามไปท่อน้ำเหลืองและหลอดเลือด การกระจายไปต่อมน้ำเหลือง การได้รับการฉายแสง การได้รับยาเคมีบำบัด เป็นต้น แสดงข้อมูลที่ได้เป็นจำนวนนับและร้อยละ (percent)

ปัจจัยทางคลินิกและพยาธิวิทยาที่สำคัญทั้งหมด จะนำมาวิเคราะห์หาปัจจัยที่ส่งผลต่อการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยใช้ Univariable logistic regression model และนำปัจจัยที่มีนัยสำคัญทางสถิติข้างต้นมาวิเคราะห์ต่อยอดด้วย Multivariable logistic regression model ในลำดับการวิเคราะห์หอนุমানทางสถิติ จะกำหนดค่านัยสำคัญทางสถิติที่ $p\text{-value} < 0.05$

ส่วนของการวิเคราะห์โอกาสปลอดโรคนั้น ใช้การวิเคราะห์แบบ two-sided log-rank test, การวิเคราะห์ค่า Hazard ratios และช่วงความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (95% confidence interval) ใช้ Cox proportional-hazards model และกราฟของโอกาสปลอดโรค แสดงโดยวิธี Kaplan-Meier method

โดยการคำนวณทางสถิติทั้งหมดใช้โปรแกรม SPSS version 22

รูปภาพที่ 6 แสดงแนวทางการวิจัย



บทที่ 4

ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

4.1 ประชากรที่นำมาศึกษา

ตั้งแต่วันที่ 1 เดือนมกราคม พ.ศ. 2553 ถึงวันที่ 31 เดือนธันวาคม พ.ศ. 2558 มีผู้ป่วยโรคมะเร็งเต้านมระยะต้นชนิดที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นบวกและตัวรับสัญญาณเฮอร์ทูเป็นลบ ที่เข้ารับการรักษาที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์และอยู่ในเกณฑ์การเข้าร่วมการศึกษา จำนวนทั้งหมด 214 ราย โดยเป็นผู้ป่วยที่ไม่มีการกลับเป็นซ้ำ จำนวน 156 ราย และผู้ป่วยที่มีการกลับเป็นซ้ำจำนวน 58 ราย ระยะเวลาในการติดตามการรักษาเฉลี่ยอยู่ที่ 78 เดือน (12-118 เดือน)

4.2 ข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วย

ผู้ป่วยโรคมะเร็งเต้านมระยะต้นชนิดที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นบวกและตัวรับสัญญาณเฮอร์ทูเป็นลบที่เข้ารับการรักษาที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์และอยู่ในเกณฑ์การเข้าร่วมการศึกษา ทั้งหมด 214 ราย มีอายุเมื่อแรกเริ่มวินิจฉัยเฉลี่ย 53.24 ปี โดยกลุ่มที่ไม่มีการกลับเป็นซ้ำมีอายุแรกเริ่มวินิจฉัยเฉลี่ย 52.78 ปี และกลุ่มที่มีการกลับเป็นซ้ำมีอายุแรกเริ่มวินิจฉัยเฉลี่ย 54.46 ปี ร้อยละ 51.4 ของผู้ป่วยเป็นผู้หญิงที่อยู่ในวัยหมดประจำเดือน และร้อยละ 48.6 อยู่ในวัยที่มีประจำเดือน โดยผู้ป่วยเกือบทั้งหมดมีความสามารถในการใช้ชีวิตประจำวัน 0 ถึง 1 (ร้อยละ 99.5) ในด้านอาการนำแสดงของโรคมะเร็งเต้านม ผู้ป่วยส่วนใหญ่ ร้อยละ 88.3 มาด้วยอาการคล้ำไต้ก้อนบริเวณเต้านม รองลงมา ร้อยละ 8.4 ตรวจพบเจอจากการตรวจเช็คแมมโมแกรม(mammogram)ประจำปี ร้อยละ 1.4 มีอาการนำแสดงมาด้วยการมีผิวหนังที่บริเวณเต้านมผิดปกติ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบข้อมูลทั่วไปของผู้ป่วยที่มีการกลับเป็นซ้ำและไม่มีการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านมพบว่าอายุเมื่อแรกเริ่มวินิจฉัยเฉลี่ย สภาวะวัยหมดประจำเดือน และอาการนำแสดงของโรคมะเร็งเต้านมไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของทั้งสองกลุ่ม ส่วนในเรื่องความสามารถในการใช้ชีวิตนั้นพบว่าผู้ป่วยในกลุ่มที่มีการกลับเป็นซ้ำจะมีความสามารถในการใช้ชีวิตที่แย่กว่ากลุ่มที่ไม่มีการกลับเป็นซ้ำ ความสามารถในการใช้ชีวิตประจำวันของกลุ่มที่มีการกลับเป็นซ้ำส่วนใหญ่อยู่ที่ 0 ร้อยละ 41.4 ในขณะที่กลุ่มที่ไม่มี

การกลับเป็นซ้ำความสามารถในการใช้ชีวิตประจำวันส่วนใหญ่อยู่ที่ 0 ร้อยละ 62.8 ซึ่งทั้งสองกลุ่มมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.012$)

ระยะของโรคมะเร็งเต้านมที่พบเป็นอันดับหนึ่งคือระยะสองเอ (IIA) พบร้อยละ 34.1 อันดับสองคือระยะหนึ่งเอ (IA) พบร้อยละ 28.0 อันดับสามคือระยะสองบี (IIB) พบร้อยละ 17.8 อันดับสี่คือระยะสามเอ (IIIA) ร้อยละ 12.1 ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่มีการกลับเป็นซ้ำและกลุ่มที่ไม่มีการกลับเป็นซ้ำพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.002$) พบว่าในกลุ่มที่มีการกลับเป็นซ้ำจะมีระยะของโรคที่สูงกว่ากลุ่มที่ไม่มีการกลับเป็นซ้ำ กลุ่มที่มีการกลับเป็นซ้ำมีผู้ป่วยอยู่ในระยะสาม (IIIA-IIIC) ร้อยละ 36.2, ระยะสอง (IIA-IIB) ร้อยละ 43.1 และระยะหนึ่ง (IA-IB) ร้อยละ 19.0 ในขณะที่กลุ่มที่ไม่มีการกลับเป็นซ้ำมีผู้ป่วยอยู่ในระยะสาม (IIIA-IIIC) ร้อยละ 13.4, ระยะสอง (IIA-IIB) ร้อยละ 55.2 และระยะหนึ่ง (IA-IB) ร้อยละ 31.4

ด้านข้อมูลพื้นฐานทางพยาธิวิทยา(histology) พบว่าชนิดมะเร็งเต้านมในกลุ่มที่มีการกลับเป็นซ้ำส่วนใหญ่เป็น invasive ductal carcinoma ร้อยละ 91.4 รองลงมาเป็น Mixed histology ร้อยละ 6.9 และเป็น invasive lobular carcinoma ร้อยละ 0 ในกลุ่มที่ไม่มีการกลับเป็นซ้ำส่วนใหญ่เป็น invasive ductal carcinoma ร้อยละ 92.9 รองลงมาเป็น Mixed histology ร้อยละ 5.1 และเป็น invasive lobular carcinoma ร้อยละ 1.9 ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของทั้งสองกลุ่ม ในเรื่องของระดับพยาธิวิทยาของเซลล์มะเร็ง (tumor grade) นั้น พบว่ากลุ่มที่มีการกลับเป็นซ้ำจะมีระดับของพยาธิวิทยาที่สูงกว่ากลุ่มที่ไม่มีการกลับเป็นซ้ำ โดยกลุ่มที่มีการกลับเป็นซ้ำนั้นมีระดับของพยาธิวิทยาระดับ 3 อยู่ร้อยละ 25.9, ระดับ 2 ร้อยละ 67.2 และระดับ 1 ร้อยละ 5.2 กลุ่มที่ไม่มีการกลับเป็นซ้ำมีระดับของพยาธิวิทยาระดับ 3 ร้อยละ 14.1, ระดับ 2 ร้อยละ 64.1 และระดับ 1 ร้อยละ 21.8 ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.003$) ด้านขนาดของก้อนมะเร็ง(tumor size) พบว่าในกลุ่มที่มีการกลับเป็นซ้ำมีขนาดของก้อนมะเร็งใหญ่กว่ากลุ่มที่ไม่มีการกลับเป็นซ้ำอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$) โดยพบว่ากลุ่มที่มีการกลับเป็นซ้ำมีขนาดของก้อนมะเร็งกระจายไปติดอวัยวะข้างเคียงร้อยละ 10.3 ขนาดของก้อนมากกว่า 5 เซนติเมตรร้อยละ 17.2 ขนาดของก้อน 2.1-5 เซนติเมตรร้อยละ 43.1 และขนาดของก้อนน้อยกว่าเท่ากับ 2 เซนติเมตรร้อยละ 27.6 ในขณะที่กลุ่มที่ไม่มีการกลับเป็นซ้ำมีขนาดของก้อนมะเร็งกระจายไปติดอวัยวะข้างเคียงร้อยละ 1.3 ขนาดของก้อนมากกว่า 5 เซนติเมตรร้อยละ 5.8 ขนาดของก้อน 2.1-5 เซนติเมตรร้อยละ

50.6 และขนาดของก้อนน้อยกว่าเท่ากับ 2 เซนติเมตรร้อยละ 42.3 พบการกระจายไปที่ต่อมน้ำเหลือง(nodal metastasis) ของกลุ่มที่มีการกลับเป็นซ้ำร้อยละ 62.1 ซึ่งมากกว่ากลุ่มที่ไม่มี การกลับเป็นซ้ำอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กลุ่มที่ไม่มี การกลับเป็นซ้ำพบการกระจายไปที่ต่อมน้ำเหลืองร้อยละ 36.5 ($p=0.003$) ด้านการลุกลามไปที่ท่อน้ำเหลืองและหลอดเลือด(Lymphovascular invasion: LVI) พบว่ากลุ่มที่มีการกลับเป็นซ้ำมีการลุกลามไปที่ท่อน้ำเหลืองและหลอดเลือดมากกว่า กลุ่มที่ไม่มี การกลับเป็นซ้ำอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($p<0.001$) ร้อยละ 65.5 และ 37.8 ตามลำดับ ค่าเคไอ-67(Ki-67) ก็พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของทั้งสองกลุ่มเช่นกันโดยกลุ่มที่มีการกลับเป็นซ้ำมีค่าเคไอ-67 สูงร้อยละ 89.7 เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่มี การกลับเป็นซ้ำมีค่าเคไอ-67 สูง ร้อยละ 69.9 ($p=0.003$) ในส่วนของตัวรับสัญญาณฮอร์โมนนั้น กลุ่มที่มีการกลับเป็นซ้ำเมื่อเทียบกับ กลุ่มที่ไม่มี การกลับเป็นซ้ำ พบว่ามีตัวรับสัญญาณเอสโตรเจนเป็นบวก (ER positive)และตัวรับ สัญญาณโปรเจสเทอโรนเป็นบวก (PR positive) ร้อยละ 69 และ 87.2 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4

ร้อยละ 75.2 ของผู้ป่วยทั้งหมดได้รับการรักษาหลักเป็นผ่าตัดแบบตัดเต้านมออกทั้งหมด (Mastectomy) ร้อยละ 24.8 ได้รับการผ่าตัดแบบสงวนเต้า (Breast conserving surgery) ซึ่งไม่มี ความแตกต่างกันของกลุ่มที่มีและไม่มี การกลับเป็นซ้ำ ผู้ป่วยทุกรายได้รับการรักษาเสริมด้วยยาต้าน ฮอร์โมน ร้อยละ 79.4 ใช้ Tamoxifen ร้อยละ 6.1 ใช้ยากกลุ่ม Aromatase inhibitor ซึ่งพบว่ากลุ่มที่มี การกลับเป็นซ้ำมีร้อยละของการใช้ Aromatase inhibitor มากกว่ากลุ่มที่ไม่มี การกลับเป็นซ้ำ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$) ในส่วนของการรักษาเสริมด้วยการให้ยาเคมีบำบัด นั้น พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นกัน โดยกลุ่มที่มีการกลับเป็นซ้ำได้รับยาเคมี บำบัดก่อนการผ่าตัด (Neoadjuvant chemotherapy) ร้อยละ 25.9 มากกว่ากลุ่มที่ไม่มี การกลับ เป็นซ้ำซึ่งมีการใช้ร้อยละ 5.1 ($p<0.001$) การรักษาเสริมโดยการฉายแสงพบว่ากลุ่มที่มีการกลับเป็น ซ้ำได้รับการฉายแสงมากกว่ากลุ่มที่ไม่มี การกลับเป็นซ้ำร้อยละ 72.4 และ 57.8 ตามลำดับ ซึ่งมีความ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.040$)

ตารางที่ 4 แสดงข้อมูลพื้นฐานผู้ป่วยทั้งหมดโดยเปรียบเทียบกลุ่มที่มีการกลับเป็นซ้ำและไม่มีการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านมระยะต้นชนิดที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นบวกและตัวรับสัญญาณเฮอรัทูลูเป็นลบ

ข้อมูลทั่วไปของผู้ป่วย	ผู้ป่วยทั้งหมด (214 คน)	กลุ่มกลับเป็นซ้ำ (58 คน)	กลุ่มไม่กลับเป็นซ้ำ (156 คน)	p-value
อายุเฉลี่ยเมื่อเริ่มวินิจฉัย (ปี)	53.24	54.46	52.78	0.07
สถานภาพประจำเดือน (จำนวน) (คน ; %)				0.577
วัยมีประจำเดือน	104(48.6%)	30(51.7%)	74(47.7%)	
วัยหมดประจำเดือน	110(51.4%)	28(48.3%)	82(52.6%)	
ความสามารถในการใช้ชีวิตประจำวัน (จำนวน) (คน ; %)				0.012
0	122(57.0%)	24(41.4%)	98(62.8%)	
1	91(42.5%)	34(58.6%)	57(36.5%)	
2	1(0.5%)	0	1(0.6%)	
อาการนำแสดง (จำนวน) (คน ; %)				0.088
ก้อนที่เต้านม	189(88.3%)	54(93.1%)	135(86.5%)	
สารคัดหลั่งทางเต้านม	2(0.9%)	0	2(1.3%)	
เจ็บเต้านม	2(0.9%)	1(1.7%)	1(0.6%)	
ติ่งรังไข่บริเวณเต้านม	3(1.4%)	2(3.4%)	1(0.6%)	
ตรวจพบจากการทำแมมโมแกรม	18(8.4%)	1(1.7%)	17(10.9%)	
ระยะของมะเร็งเต้านมทางพยาธิวิทยา (จำนวน) (คน ; %)				0.002
IA	60(28.0%)	11(19.0%)	49(31.4%)	
IB	0	0	0	
IIA	73(34.1%)	13(22.4%)	60(38.5%)	

IIIB	38(17.8%)	12(20.7%)	26(16.7%)	
IIIA	26(12.1%)	11(19.0%)	15(9.6%)	
IIIB	8(3.7%)	5(8.6%)	3(1.9%)	
IIIC	8(3.7%)	5(8.6%)	3(1.9%)	
ไม่มีข้อมูล	1(0.5%)	1(1.7%)	0	
ระดับของพยาธิวิทยา (จำนวน) (คน ; %)				0.003
1	37(17.3%)	3(5.2%)	34(21.8%)	
2	139(65.0%)	39(67.2%)	100(64.1%)	
3	37(17.3%)	15(25.9%)	22(14.1%)	
ไม่มีข้อมูล	1(0.5%)	1(1.7%)	0	
ชนิดของมะเร็งเต้านมทางพยาธิวิทยา (จำนวน) (คน ; %)				0.191
Invasive ductal carcinoma	198(92.5%)	53(91.4%)	145(92.9%)	
Invasive lobular carcinoma	3(1.4%)	0	3(1.9%)	
Mixed histology	12(5.6%)	4(6.9%)	8(5.2%)	
Other	1(0.5%)	1(1.7%)	0	
ขนาดของก้อนมะเร็ง (จำนวน) (คน ; %)				< 0.001
T1 (\leq 2 ซม.)	82(38.3%)	16(27.6%)	66(42.3%)	
T2 (2-5 ซม.)	104(48.6%)	25(43.1%)	79(50.6%)	
T3 (> 5 ซม.)	19(8.9%)	10(17.2%)	9(5.8%)	
T4 (กระจายไป โครงสร้างข้างเคียง)	8(3.7%)	6(10.3%)	2(1.3%)	
ไม่มีข้อมูล	1(0.5%)	1(1.7%)	0	
การกระจายไปต่อมน้ำเหลือง (จำนวน) (คน ; %)				0.003
N0 (ไม่มีการกระจาย)	121(56.5%)	22(37.9%)	99(63.5%)	

N1 (1-3 ต่อม)	60(28.0%)	20(34.5%)	40(25.6%)	
N2 (4-9 ต่อม)	24(11.2%)	10(17.2%)	14(9.0%)	
N3 (≥ 10 ต่อม)	8(3.7%)	5(8.6%)	3(1.9%)	
ไม่มีข้อมูล	1(0.5%)	1(1.7%)	0	
การลุกลามไปที่อื่นน้ำเหลืองและหลอดเลือด (จำนวน) (คน ; %)				< 0.001
มีการลุกลาม	97(45.3%)	38(65.5%)	59(37.8%)	
ไม่มีการลุกลาม	117(54.7%)	20(34.5%)	97(62.2%)	
ตัวรับสัญญาณฮอร์โมน (จำนวน) (คน ; %)				0.002
ตัวรับสัญญาณ เอสโตรเจนเป็นบวก และโปรเจสเทอโรน เป็นบวก	176(82.2%)	40(69.0%)	136(87.2%)	
ตัวรับสัญญาณ เอสโตรเจนเป็นบวก และโปรเจสเทอโรน เป็นลบ	38(17.8%)	18(31.0%)	20(12.8%)	
ค่าเคไอ-67 (จำนวน) (คน ; %)				0.003
< 14 %	53(24.8%)	6(10.3%)	47(30.1%)	
≥ 14 %	161(75.2%)	52(89.7%)	109(69.9%)	
ประเภทของการผ่าตัด (จำนวน) (คน ; %)				0.181
การผ่าตัดเอาเต้านม ออกทั้งหมด	161(75.2%)	44(75.9%)	117(75.0%)	
การผ่าตัดแบบสงวน เต้า	53(24.8%)	14(24.1%)	39(25.0%)	
การรักษาเสริมด้วยยาเคมีบำบัด (จำนวน) (คน ; %)				< 0.001

ได้รับยาก่อนการผ่าตัด	23(10.7%)	15(25.9%)	8(5.1%)	
ได้รับยาหลังการผ่าตัด	124(57.9%)	30(51.7%)	94(60.3%)	
ไม่ได้รับยาเคมีบำบัด	67(31.3%)	13(22.4%)	54(34.6%)	
การรักษาเสริมด้วยยาต้านฮอร์โมน (จำนวน) (คน ; %)				< 0.001
Tamoxifen	170(79.4%)	44(75.9%)	126(80.8%)	
AI	13(6.1%)	10(17.2%)	3(1.9%)	
สลับเปลี่ยน Tamoxifen → AI	22(10.3%)	3(5.2%)	19(12.2%)	
สลับเปลี่ยน AI → Tamoxifen	9(4.2%)	1(1.7%)	8(5.1%)	
การรักษาเสริมด้วยการฉายแสง (จำนวน ; %)	131(61.2%)	42(72.4%)	89(57.1%)	0.040

การกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านมพบว่า มีการกลับเป็นซ้ำที่บริเวณใกล้เคียงตำแหน่งเดิมที่วินิจฉัย (Locoregional recurrence) ร้อยละ 20.6 และมีการกลับเป็นซ้ำลักษณะแพร่กระจายไปอวัยวะอื่น (Distant metastasis) ร้อยละ 79.4 โดยพบว่าการกระจายไปที่กระดูกมากที่สุด ร้อยละ 56.8 รองลงมาคือปอด พบร้อยละ 48.3 และตับพบร้อยละ 44.8 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 แสดงตำแหน่งการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านมระยะต้นชนิดที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมน เป็นบวกและตัวรับสัญญาณเฮอร์ทูเป็นลบ

ตำแหน่งการกลับเป็นซ้ำ	กลุ่มกลับเป็นซ้ำ (จำนวน 58 ราย)
กลับเป็นซ้ำที่บริเวณใกล้เคียงตำแหน่งเดิมที่วินิจฉัย (จำนวน ; %)	12(20.6%)
การแพร่กระจายไปอวัยวะอื่นๆ (จำนวน ; %)	46(79.4%)
● กระดูก	33(56.8%)
● ปอด	28(48.3%)
● ตับ	26(44.8%)
● ต่อมน้ำเหลือง	23(39.7%)
● เยื่อหุ้มปอด	14(24.1%)
● สมอง	8(13.8%)
● อวัยวะอื่น	6(10.3%)

ค่าการแสดงออกของไซคลินบี (Cyclin B expression)

จำนวนผู้ป่วยที่ได้รับการย้อมทางอิมมูโนวิทยาเพื่อดูค่าการแสดงออกของไซคลินบี (cyclin B) ในเซลล์มะเร็ง 214 ราย เป็นกลุ่มที่มีการกลับเป็นซ้ำ 58 รายและกลุ่มที่ไม่มีการกลับเป็นซ้ำ 156 ราย โดยพบว่าค่าเฉลี่ยของค่าการแสดงออกของไซคลินบีอยู่ที่ร้อยละ 9.61 (0-90) โดยกลุ่มที่มีการกลับเป็นซ้ำมีค่าเฉลี่ยของค่าการแสดงออกของไซคลินบีร้อยละ 19.62 (0-90) ซึ่งมากกว่ากลุ่มที่ไม่มีการกลับเป็นซ้ำมีค่าเฉลี่ยของค่าการแสดงออกของไซคลินบีร้อยละ 5.88 (0-60) มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$) ผู้วิจัยได้ใช้ค่าจุดตัดที่มีฐานที่ 7 (cut-off point at 7th decile) เป็นจุดตัดในการแบ่งค่าการแสดงออกของไซคลินบี (cyclin B) ออกเป็น มีการแสดงออกต่ำ (low

expression) และมีการแสดงออกสูง (high expression) โดยค่าที่เป็นจุดตัดในการวิจัยนี้คือ 10 หากค่าการแสดงออกของไซคลินบีมีค่ามากกว่าเท่ากับร้อยละ 10 จัดอยู่ในกลุ่มที่มีค่าการแสดงออกของไซคลินบีสูง ถ้ามีค่าน้อยกว่า 10 จัดอยู่ในกลุ่มที่มีการแสดงออกของไซคลินบีต่ำ จากงานวิจัยนี้พบว่า ร้อยละ 69.2 ของผู้ป่วยทั้งหมดมีค่าการแสดงออกของไซคลินบีต่ำและร้อยละ 30.8 ของผู้ป่วยทั้งหมดมีค่าการแสดงออกของไซคลินบีสูง ในกลุ่มที่มีค่าการแสดงออกของไซคลินบีสูงนั้น ร้อยละ 53.4 เป็นกลุ่มที่มีการกลับเป็นซ้ำซึ่งมีค่ามากกว่า ร้อยละ 22.4 ของกลุ่มที่ไม่มีการกลับเป็นซ้ำ ทั้งสองกลุ่มมีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$) หากพิจารณาเฉพาะการมีค่าการแสดงออกของไซคลินบี (ไซคลินบีมากกว่าเท่ากับร้อยละ 1) และไม่มีการแสดงออกของไซคลินบี(ไซคลินบี เท่ากับ 0) จะพบว่าในกลุ่มที่มีการกลับเป็นซ้ำและไม่มีการกลับเป็นซ้ำของโรคนั้นไม่มีความแตกต่างต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 แสดงค่าการแสดงออกของไซคลินบี (Cyclin B expression)

	ผู้ป่วยทั้งหมด (214 ราย)	กลุ่มกลับเป็นซ้ำ (58 ราย)	กลุ่มไม่กลับเป็นซ้ำ (156 ราย)	p-value
ค่าการแสดงออกของ Cyclin B ต่ำ (น้อยกว่าร้อยละ 10)	148(69.2%)	27(46.6%)	121(77.6%)	< 0.001
ค่าการแสดงออกของ Cyclin B สูง (มากกว่าเท่ากับร้อยละ 10)	66(30.8%)	31(53.4%)	35(22.4%)	
ค่าการแสดงออกของ Cyclin B เท่ากับ ร้อยละ 0	74(34.6%)	17(29.3%)	57(36.5%)	0.323
ค่าการแสดงออกของ Cyclin B มากกว่า เท่ากับร้อยละ 1	140(65.4%)	41(70.7%)	99(63.5%)	

ตารางที่ 7 แสดงปัจจัยที่มีผลต่อการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านมโดยการวิเคราะห์แบบ Univariate analysis และ Multivariate analysis

ปัจจัยทางคลินิก และพยาธิวิทยา	Univariate analysis		Multivariate analysis	
	OR (95%CI)	p-value	OR (95%CI)	p-value
อายุเมื่อเริ่ม วินิจฉัย	1.01(0.98-1.03)	0.514		
ความสามารถใน การใช้ ชีวิตประจำวัน*	2.01(1.13-3.57)	0.017	1.79(0.83-3.87)	0.139
ระยะของมะเร็ง เต้านมทางพยาธิ วิทยา*	2.05(1.02-4.13)	0.045	0.81(0.27-2.43)	0.702
ระดับของพยาธิ วิทยา*	6.29(1.88- 21.07)	0.003	8.42(1.04- 67.98)	0.046
ขนาดของ ก้อนมะเร็ง*	1.77(0.96-3.26)	0.067		
การกระจายไป ต่อมน้ำเหลือง*	2.70(1.51-4.84)	0.001	0.86(0.29-2.52)	0.777
ค่าเคไอ-67 สูง (≥ 14%)*	2.88(1.33-6.23)	0.007	1.81(0.56-5.85)	0.320
การลุกลามไปท่อน้ำ เหลืองและ หลอดเลือด*	3.08(1.71-5.57)	< 0.001	2.07(0.78-5.49)	0.146
การได้รับยาเคมี บำบัดก่อนผ่าตัด*	6.51(2.82- 15.05)	< 0.001	4.27(1.41- 12.87)	0.010

การได้รับยาเคมีบำบัดหลังผ่าตัด*	1.18(0.64-2.18)	0.591		
ได้รับยาต้านฮอร์โมน Tamoxifen*	0.70(0.02-0.29)	< 0.001	0.02(0.00-0.16)	< 0.001
ได้รับยาต้านฮอร์โมนกลุ่ม AI*	0.87(0.41-1.85)	0.726		
ค่าการแสดงออกของ Cyclin B สูง* (\geq ร้อยละ 10)	3.96(2.09-7.52)	< 0.001	1.12(0.36-3.45)	0.843
ค่าการแสดงออกของ Cyclin B ต่ำ (< ร้อยละ 10)*	0.25(0.13-0.47)	< 0.001	0.89(0.29-2.75)	0.843
ร้อยละของค่าการแสดงออกของ cyclin B	1.05(1.03-1.07)	< 0.001	1.04(1.01-1.07)	0.013
ค่าการแสดงออกของ Cyclin B มากกว่าเท่ากับ ร้อยละ 1*	1.39(0.72-2.67)	0.324		
ค่าการแสดงออกของ Cyclin B เท่ากับ ร้อยละ 0*	0.72(0.38-1.38)	0.324		

OR = Odd ratio(ความเสี่ยงสัมพัทธ์), 95%CI = 95% Confident interval (ค่าความเชื่อมั่นร้อยละ 95), * ความสามารถในการใช้ชีวิตประจำวัน (0 vs 1,2), ระยะของมะเร็งเต้านมทางพยาธิวิทยา (ระยะที่ 1 vs ระยะที่ 2,3), ระดับของพยาธิวิทยา(grade 1 vs grade 2,3), ขนาดของก้อนมะเร็ง (T1 vs T2-4), การกระจายไปต่อมน้ำเหลือง(no vs yes), ค่าเคไอ-67 (<14%vs \geq 14%), การลุกลามไปท่อน้ำเหลืองและหลอดเลือด (no vs yes),

การได้รับยาเคมีบำบัดก่อนผ่าตัด (no vs yes), การได้รับยาเคมีบำบัดหลังผ่าตัด (no vs yes), ได้รับยาต้านฮอร์โมน Tamoxifen (no vs yes), ได้รับยาต้านฮอร์โมนกลุ่ม AIs (no vs yes), ค่าการแสดงออกของ Cyclin B ($<$ ร้อยละ 10 vs \geq ร้อยละ 10), ค่าการแสดงออกของ Cyclin B (no vs yes)

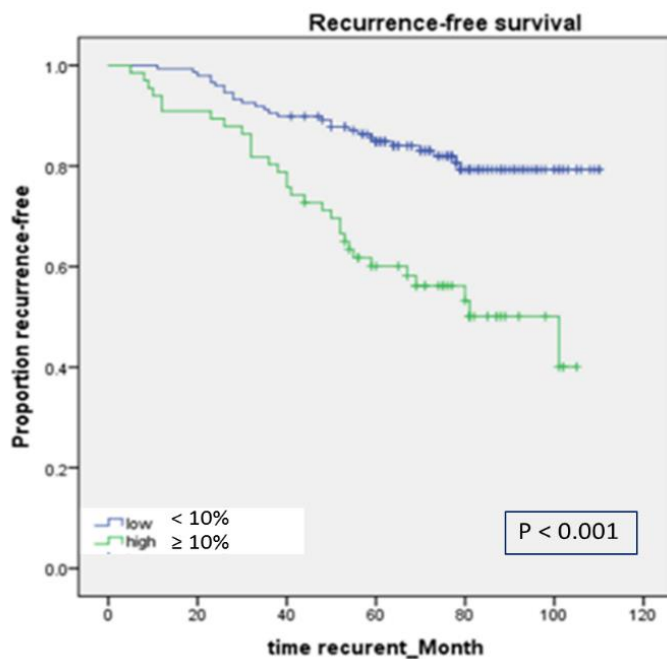
4.3 ผลเปรียบเทียบปัจจัยที่ศึกษา

จากข้อมูลดังกล่าวข้างต้น พบว่าปัจจัยที่มีผลต่อการกลับเป็นซ้ำของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต้นที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นบวกตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นลบ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยการวิเคราะห์จาก Univariate analysis ได้แก่ ความสามารถในการใช้ชีวิตประจำวัน, ระยะของมะเร็งเต้านมทางพยาธิวิทยา, ระดับของพยาธิวิทยาของมะเร็ง, การกระจายไปต่อมน้ำเหลือง, ค่าเคไอ-67 \geq 14%, การลุกลามไปต่อมน้ำเหลืองและหลอดเลือด, การได้รับยาเคมีบำบัดก่อนผ่าตัด, การได้รับยา Tamoxifen, ค่าการแสดงออกของไซคลินบีสูงและร้อยละการแสดงออกของไซคลินบี เมื่อนำปัจจัยข้างต้นมาวิเคราะห์ด้วยการวิเคราะห์แบบ Multivariate analysis พบว่าปัจจัยที่มีผลต่อการกลับเป็นซ้ำและมีนัยสำคัญทางสถิติ ได้แก่ ระดับของพยาธิวิทยาของมะเร็ง (tumor grade) (ความเสี่ยงสัมพัทธ์ 8.42, ค่าความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เท่ากับร้อยละ 1.04-67.98, $p = 0.046$), การได้รับยาเคมีบำบัดก่อนผ่าตัด (ความเสี่ยงสัมพัทธ์ 4.27, ค่าความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เท่ากับร้อยละ 1.41-12.87, $p = 0.010$) การได้รับยา Tamoxifen (ความเสี่ยงสัมพัทธ์ 0.02, ค่าความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เท่ากับร้อยละ 0.00- 0.16, $p < 0.001$), และ ร้อยละค่าการแสดงออกของไซคลินบี (ความเสี่ยงสัมพัทธ์ 1.04, ค่าความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เท่ากับร้อยละ 1.01-1.07, $p = 0.013$) จะพบว่าค่าการแสดงออกของไซคลินบีสูงมีความเสี่ยงสัมพัทธ์ต่อการกลับเป็นซ้ำอยู่ที่ 1.12 (ค่าความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เท่ากับร้อยละ 0.36-3.45, $p = 0.843$) และค่าการแสดงออกของไซคลินบีต่ำมีความเสี่ยงสัมพัทธ์ต่อการกลับเป็นซ้ำอยู่ที่ 0.89 (ค่าความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เท่ากับร้อยละ 0.29-2.75, $p = 0.843$) ซึ่งไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงในตารางที่ 7

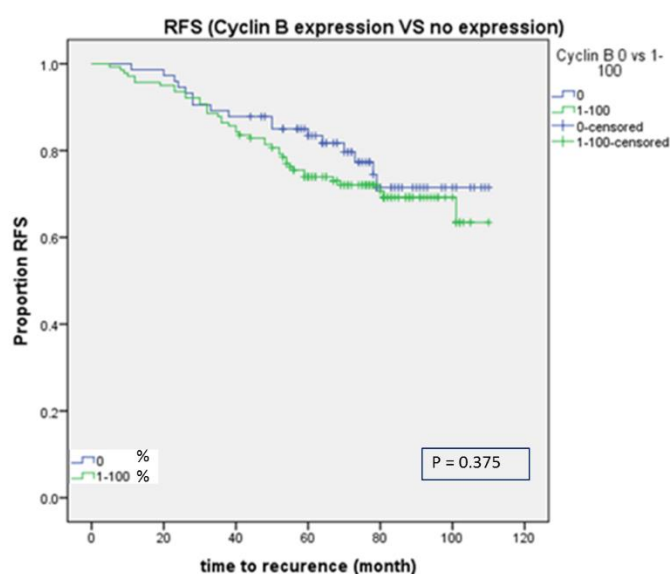
การวิเคราะห์ข้อมูลโอกาสปลอดโรคของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต้นที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นบวกตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นลบนั้นพบว่า โอกาสปลอดโรคที่ 5 ปี (5 year recurrence free survival) ของกลุ่มที่มีค่าการแสดงออกของไซคลินบีต่ำ คือ ร้อยละ 84.9 และโอกาสปลอดโรคที่ 5 ปีของกลุ่มที่มีค่าการแสดงออกของไซคลินบีสูงคือ ร้อยละ 60.1 ค่ามัธยฐานโอกาสปลอดโรค (Median free survival) ของกลุ่มที่มีค่าการแสดงออกของไซคลินบีต่ำยังไม่สามารถระบุได้ (not

reach) กลุ่มที่มีค่าการแสดงออกของไซคลินบีสูงคือ 101 เดือน (ค่าความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เท่ากับ ร้อยละ 59.97-142.03, $p < 0.001$) (รูปภาพที่ 7) เมื่อพิจารณาในกลุ่มที่มีและไม่มีค่าการแสดงออกของไซคลินบี พบว่า โอกาสปลอดโรคที่ 5 ปีของกลุ่มที่มีและไม่มีค่าการแสดงออกของไซคลินบี คือ ร้อยละ 73.9 และร้อยละ 83.4 ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.375$) ค่ามัธยฐานโอกาสปลอดโรคของกลุ่มที่มีและไม่มีค่าการแสดงออกของไซคลินบียังไม่สามารถระบุได้ (not reach) (รูปภาพที่ 8)

รูปภาพที่ 7 แสดงโอกาสปลอดโรคของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต้นที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นบวก ตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นลบ (recurrence free survival) ของกลุ่มที่มีค่าการแสดงออกของไซคลินบีสูงและต่ำ



รูปภาพที่ 8 แสดงโอกาสปลอดโรคของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต้นที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นบวก ตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นลบ (recurrence free survival) ของกลุ่มที่มีและไม่มีค่าการแสดงออกของไซคลินบี



เมื่อเปรียบเทียบค่าที่ใช้บ่งบอกถึงการแบ่งตัวของเซลล์มะเร็ง ซึ่งในการศึกษานี้เปรียบเทียบระหว่างค่าการแสดงออกของไซคลินบีกับค่าเคไอ-67 พบว่า กลุ่มผู้ป่วยที่มีค่าเคไอ-67สูง มีค่าการแสดงออกของไซคลินบีสูงร้อยละ 36 และมีค่าการแสดงออกของไซคลินบีต่ำร้อยละ 64 ในขณะที่กลุ่มผู้ป่วยที่มีค่าเคไอ-67ต่ำ มีค่าการแสดงออกของไซคลินบีสูงร้อยละ 15.1 และมีค่าการแสดงออกของไซคลินบีต่ำร้อยละ 84.9 ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังตารางที่ 8

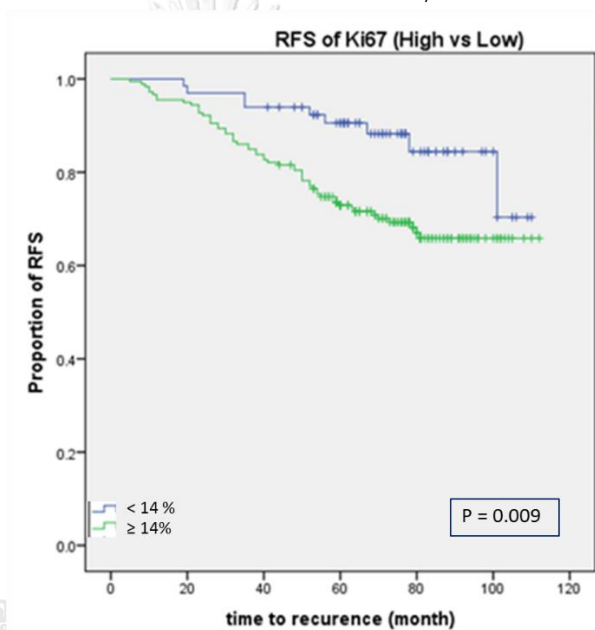
ตารางที่ 8 แสดงการเปรียบเทียบค่าเคไอ-67กับค่าการแสดงออกของไซคลินบี (N=214 ราย)

	ค่าเคไอ67ต่ำ (<14%)	ค่าเคไอ67สูง (\geq 14%)	P value
ค่าการแสดงออกของ Cyclin B ต่ำ (< ร้อยละ10)	45(84.9%)	103(64%)	0.004
ค่าการแสดงออกของ Cyclin B สูง	8(15.1%)	58(36%)	

(≥ ร้อยละ 10)			
---------------	--	--	--

เปรียบเทียบค่าความไว(sensitivity)และความจำเพาะ(specificity) ที่ใช้ทำนายต่อการกลับเป็นซ้ำของโรคมะเร็ง พบว่าค่าเคไอ-67 มีความไวที่ร้อยละ 86.2 และความจำเพาะร้อยละ 31.7 ในขณะที่ค่าการแสดงออกของไซคลินบีมีความไวที่ร้อยละ 53.4 และความจำเพาะร้อยละ 77.6

รูปภาพที่ 9 แสดงโอกาสปลอดโรคของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต้นที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นบวก ตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นลบ (recurrence free survival) ของกลุ่มที่มีค่าเคไอ-67ต่ำและสูง



โอกาสปลอดโรคที่ 5 ปี ของกลุ่มที่มีค่าเคไอ-67ต่ำคือ ร้อยละ 72.9 และโอกาสปลอดโรคที่ 5 ปีของกลุ่มที่มีค่าเคไอ-67สูงคือ ร้อยละ 90.6 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.009$) ค่ามัธยฐานโอกาสปลอดโรค (Median free survival) ของกลุ่มที่มีค่าเคไอ-67ต่ำและสูงยังไม่สามารถระบุได้ (not reach) (รูปภาพที่ 9)

บทที่ 5

อภิปราย สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

5.1 อภิปรายผล

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาหาความสัมพันธ์ของการแสดงออกของไซคลินบีร่วมกับพยาธิวิทยาและข้อมูลทางคลินิกในการพยากรณ์โรคของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต้นชนิดที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นบวกและตัวรับสัญญาณเฮอร์ทูเป็นลบในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ระหว่างปี พ.ศ. 2553-2558 มีผู้ป่วยอยู่ในเกณฑ์การเข้าร่วมการศึกษาจำนวนทั้งหมด 214 ราย โดยเป็นผู้ป่วยที่ไม่มีการกลับเป็นซ้ำ 156 ราย และผู้ป่วยที่มีการกลับเป็นซ้ำ 58 ราย (ร้อยละ 27.1) ระยะเวลาในการติดตามการรักษาเฉลี่ยอยู่ที่ 78 เดือน อายุเฉลี่ยเมื่อเริ่มวินิจฉัยอยู่ที่ 53 ปี ผู้ป่วยกึ่งหนึ่งเป็นหญิงที่อยู่ในวัยหมดประจำเดือน ผู้ป่วยหนึ่งในสามตรวจพบว่าเป็นมะเร็งเต้านมระยะที่ 2 เมื่อเริ่มวินิจฉัย สองในสามมีระดับพยาธิวิทยาของมะเร็งอยู่ในระดับ 2 นอกจากนี้ยังพบว่ามะเร็งได้มีการกระจายไปที่ต่อมน้ำเหลืองและลุกลามไปที่ท่อน้ำเหลืองและหลอดเลือด ร้อยละ 45.3 ของผู้ป่วยทั้งหมด ในด้านการรักษาผู้ป่วยทุกคนได้รับการผ่าตัดเต้านมและได้รับการรักษาเสริมด้วยยาต้านฮอร์โมน ผู้ป่วยร้อยละ 68.6 ของการศึกษานี้ได้รับยาเคมีบำบัดก่อนและหรือหลังการผ่าตัดและร้อยละ 61.2 ได้รับการฉายแสงหลังการผ่าตัดตามข้อบ่งชี้ ในส่วนของการแสดงออกของไซคลินบี ได้ทำงานย้อนทางอิมมูโนวิทยาเพื่อดูการแสดงออกของไซคลินบีในผู้ป่วยจำนวน 214 ราย พบว่าร้อยละ 30.8 มีค่าการแสดงออกของไซคลินบีสูง นอกจากนี้ยังพบว่าโอกาสปลอดโรคที่ 5 ปี (5 year RFS) ของกลุ่มที่มีค่าการแสดงออกของไซคลินบีต่ำ ดีกว่ากลุ่มที่มีค่าการแสดงออกของไซคลินบีสูงคือ ร้อยละ 84.9 และร้อยละ 60.1 ตามลำดับ

การศึกษานี้ได้ทดสอบถึงค่าการแสดงออกของไซคลินบีว่าหากไม่ใช่จุดตัดในการแบ่งกลุ่มการแสดงออกของไซคลินบีสูงต่ำ แต่ใช้เพียงมีหรือไม่มีการแสดงออกของไซคลินบีพบว่าทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในการกลับเป็นซ้ำของโรค โอกาสปลอดโรคที่ 5 ปีของกลุ่มที่มีและไม่มีการแสดงออกของไซคลินบีคือ ร้อยละ 73.9 และร้อยละ 83.4 ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความ

แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.375$) เช่นกัน การศึกษานี้จึงได้ใช้ค่าจุดตัดมัธยฐานที่ 7 (cut-off point at 7th decile) เป็นจุดตัดในการแบ่งการแสดงออกของไซคลินบี (cyclin B) ออกเป็น มีการแสดงออกต่ำ (low expression) และมีการแสดงออกสูง (high expression) โดยค่าที่เป็นจุดตัดในการวิจัยนี้คือ 10 ซึ่งจากงานวิจัยอื่นๆ (25, 26, 28) ที่ผ่านมาพบว่าค่าจุดตัดที่มัธยฐานที่ 7 สามารถแบ่งผู้ป่วยและใช้ทำนายการกลับเป็นซ้ำได้

งานวิจัยนี้มีความแตกต่างจากงานวิจัยอื่นๆ ที่ผ่านมา ยกตัวอย่างเช่น งานวิจัยของ Klinman (26) และคณะ ได้ทำการศึกษาในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต้นที่ยังไม่มีการกระจายของมะเร็งไปที่ต่อมน้ำเหลือง มีผู้เข้าร่วมวิจัยเพศหญิงมีประจำเดือนจำนวน 217 ราย พบว่ามีการกลับเป็นซ้ำของโรคมะเร็งในผู้ป่วย 47 ราย คิดเป็นร้อยละ 21.7 ของผู้ป่วยทั้งหมด ในการศึกษาได้ใช้จุดตัดค่าการแสดงออกของไซคลินบีที่ 12 (7th decile) ในการแบ่งกลุ่มผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของไซคลินบีต่ำและสูง พบว่าในกลุ่มที่มีการกลับเป็นซ้ำของโรคนั้น มีการแสดงออกของไซคลินบีสูงจำนวน 18 ราย (ร้อยละ 38.3) และมีการแสดงออกของไซคลินบีต่ำจำนวน 29 ราย (ร้อยละ 61.7) (HR 2.2, 95%CI 1.2-3.9, $p = 0.010$) จะพบว่างานวิจัยของ Klinman แตกต่างจากงานวิจัยนี้ทั้งในด้านของประชากรที่เข้าร่วมศึกษา ค่าจุดตัดที่ใช้ในการแบ่งไซคลินบีสูงต่ำและผลลัพธ์ของการแสดงออกของไซคลินบีก็แตกต่างกันด้วย นอกจากนี้ยังมีอีกหนึ่งงานวิจัยของ Koliadi (28) และคณะ ที่ศึกษาในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะที่ 1 ที่ไม่มีการกระจายของมะเร็งไปยังต่อมน้ำเหลืองและผู้ป่วยทุกคนไม่ได้รับยาเคมีบำบัด ในงานวิจัยนี้พบว่าผู้ป่วยที่มีการกลับเป็นซ้ำของโรคมะเร็ง 17 ราย ในผู้ป่วยทั้งหมด 41 ราย ในการศึกษาได้ใช้จุดตัดค่าการแสดงออกของไซคลินบีที่ 9 (7th decile) ในการแบ่งกลุ่มผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของไซคลินบีต่ำและสูง พบว่าค่าเฉลี่ยของไซคลินบีในกลุ่มที่มีการกลับเป็นซ้ำอยู่ที่ร้อยละ 12 ซึ่งสูงกว่าค่าเฉลี่ยของไซคลินบีในกลุ่มที่ไม่มีการกลับเป็นซ้ำคือร้อยละ 5 ค่าเฉลี่ยการแสดงออกของไซคลินบีของทั้งสองกลุ่มมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.001$)

ผู้วิจัยได้ทำการวิเคราะห์แบบ Multivariate analysis เพื่อหาปัจจัยที่มีผลต่อการกลับเป็นซ้ำของโรคมะเร็งเต้านมระยะต้นชนิดที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นบวกและตัวรับสัญญาณเฮอร์ทูเป็นลบ พบว่าปัจจัยที่มีผลต่อการกลับเป็นซ้ำและมีนัยสำคัญทางสถิติ ได้แก่ ระดับของพยาธิวิทยาของมะเร็ง, การได้รับยาเคมีบำบัดก่อนผ่าตัด และร้อยละการแสดงออกของไซคลินบี มีความสัมพันธ์เชิงบวกต่อการกลับเป็นซ้ำของโรค ส่วนการได้รับยา Tamoxifen มีความสัมพันธ์เชิงลบต่อการกลับเป็น

ซ้ำของโรค แต่อย่างไรก็ตามจากข้อมูลพื้นฐานของประชากรที่เรานำมาศึกษาจะพบว่าในกลุ่มที่มีการกลับเป็นซ้ำจะมีระดับของพยาธิวิทยา, การได้รับยาเคมีบำบัดก่อนผ่าตัดมากกว่ากลุ่มที่ไม่มีการกลับเป็นซ้ำอยู่เดิมแล้ว ซึ่งเราไม่สามารถควบคุมให้ปัจจัยเหล่านี้เท่ากันในทั้งสองกลุ่มได้เนื่องจากเป็นการศึกษาแบบย้อนหลัง การที่พื้นฐานของประชากรไม่เท่ากันจึงเป็นปัจจัยก่อกวนซึ่งส่งผลต่อผลลัพธ์ของงานวิจัยนี้ได้

หากพิจารณาตามค่าจุดตัดของการแสดงออกของไซคลินบีพบว่าค่าการแสดงออกของไซคลินบีสูงมีความเสี่ยงสัมพันธ์ต่อการกลับเป็นซ้ำอยู่ที่ 1.12 (ค่าความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เท่ากับร้อยละ 0.36-3.45, $p = 0.843$) ส่วนค่าการแสดงออกของไซคลินบีต่ำมีความเสี่ยงสัมพันธ์ต่อการกลับเป็นซ้ำอยู่ที่ 0.89 (ค่าความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เท่ากับร้อยละ 0.29-2.75, $p = 0.843$) ซึ่งไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ แต่อย่างไรก็ตามผู้วิจัยพบว่าร้อยละการแสดงออกของไซคลินบีความเสี่ยงสัมพันธ์ต่อการกลับเป็นซ้ำของโรคอยู่ที่ 1.04 (ค่าความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เท่ากับร้อยละ 1.01-1.07, $p = 0.013$) ซึ่งมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงถึงการศึกษาค้นคว้าวิจัยอาจยังเลือกจุดตัดที่ใช้แยกการแสดงออกของไซคลินบีสูงต่ำได้ไม่ดีพอ จึงทำให้ไม่สามารถแบ่งแยกความแตกต่างของการแสดงออกของไซคลินบีกับการกลับเป็นซ้ำของโรคได้

มีการศึกษาวิเคราะห์ห่อภิมาณ(meta-analysis) ซึ่งจัดทำโดย Xi Sun(13) และคณะ พบว่าผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่มีการแสดงออกของไซคลินบีสูงสัมพันธ์กับระยะเวลาปลอดโรคและอัตราการรอดชีวิตโดยรวมแยกว่ากลุ่มที่มีไซคลินบีต่ำ นอกจากนี้ยังพบว่าการแสดงออกของไซคลินบีสูงสัมพันธ์กับการลุกลามของมะเร็งไปที่ท่อน้ำเหลืองอีกด้วย ผลที่ออกมาสอดคล้องกับงานวิจัยนี้ที่พบว่าโอกาสปลอดโรคที่ 5 ปี (5 year RFS) ของกลุ่มที่มีการแสดงออกของไซคลินบีต่ำ ดีกว่ากลุ่มที่มีการแสดงออกของไซคลินบีสูงคือ ร้อยละ 84.9 และร้อยละ 60.1 ตามลำดับ

การศึกษานี้ได้ทำการเปรียบเทียบค่าซึ่งใช้บ่งบอกการแบ่งตัวของเซลล์มะเร็ง ได้แก่ค่าเคไอ-67 และค่าการแสดงออกของไซคลินบี พบว่าในกลุ่มที่มีค่าเคไอ-67 ต่ำมีการแสดงออกของไซคลินบีต่ำ ร้อยละ 84.9 ในขณะที่กลุ่มที่มีค่าเคไอ-67 สูงมีการแสดงออกของไซคลินบีสูงเพียงร้อยละ 36 ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบค่าความไว(sensitivity)และความจำเพาะ (specificity) ต่อการกลับเป็นซ้ำของโรคมะเร็ง พบว่าค่าเคไอ-67สูง มีความไวต่อการทำนายการกลับ

เป็นซ้ำมากกว่าการแสดงออกของไซคลินปีสูง โดยความไวของเคไอ-67สูง อยู่ที่ร้อยละ 86.2 ในขณะที่ความไวของค่าการแสดงออกของไซคลินปีสูงอยู่ที่ร้อยละ 53.4 ในขณะที่ค่าความจำเพาะนั้นพบว่าการแสดงออกของไซคลินปีสูงมีความจำเพาะต่อการกลับเป็นซ้ำมากกว่าค่าเคไอ-67สูง ค่าความจำเพาะของไซคลินปีสูงและเคไอ67สูงคือร้อยละ 77.6 และร้อยละ 31.7 ตามลำดับ

5.2 สรุปผลการวิจัย

ค่าการแสดงออกของไซคลินปีสูงมากกว่าเท่ากับร้อยละ 10 สัมพันธ์กับการกลับเป็นซ้ำของโรคมะเร็งเต้านมระยะต้นที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นบวกและตัวรับสัญญาณเฮอร์ทูเป็นลบในการวิเคราะห์ univariate analysis และมีแนวโน้มว่าอาจสัมพันธ์แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติในการวิเคราะห์แบบ multivariate analysis ส่วนค่าการแสดงออกของไซคลินปีต่ำกว่ำร้อยละ 10 นั้นพบว่ามีความสัมพันธ์กับค่าเคไอ67 ที่มีค่าต่ำด้วย นอกจากนี้ปัจจัยที่ผลต่อการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านมระยะต้นที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นบวกและตัวรับสัญญาณเฮอร์ทูเป็นลบอื่นๆ ตามการวิเคราะห์แบบ multivariate analysis ที่พบในการวิจัยนี้ได้แก่ ร้อยละค่าการแสดงออกของไซคลินปี , ระดับพยาธิวิทยาของเซลล์มะเร็ง, การได้รับยาเคมีบำบัดก่อนการผ่าตัดและการได้รับยาฮอร์โมน

5.3 ข้อดีของการวิจัยนี้

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาแรกที่ศึกษาหาความสัมพันธ์ของการแสดงออกของไซคลินปีในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต้นที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นบวกและตัวรับสัญญาณเฮอร์ทูเป็นลบในประเทศไทย เนื่องจากมีการศึกษาหลายการศึกษาในต่างประเทศที่พบว่าการแสดงออกของไซคลินปีที่สูง สัมพันธ์กับการกลับเป็นซ้ำของโรค ซึ่งผลของการวิจัยนี้เป็นอีกหนึ่งการวิจัยที่ช่วยยืนยันว่าการแสดงออกของไซคลินปีนั้นสัมพันธ์กับการกลับเป็นซ้ำของโรคจริงเหมือนเช่นในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต้นชนิดที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นบวกและตัวรับสัญญาณเฮอร์ทูเป็นลบในต่างประเทศ ข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้ยังใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการทำงานวิจัยเพิ่มเติมในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมต่อไปในอนาคต

5.4 ข้อดีของการวิจัยนี้

การวิจัยนี้มีข้อจำกัดในการศึกษาดังนี้ หนึ่งคือได้จำนวนผู้ป่วยที่ได้รับการย้อมไซคลินบี้น้อยกว่าที่คำนวณไว้ตั้งแต่ต้นที่เราคำนวณไว้ว่าต้องใช้ประชากรในกลุ่มที่มีการกลับเป็นซ้ำ 65 ราย และไม่มีการกลับเป็นซ้ำ 180 ราย แต่เนื่องปัญหาการสูญหายของชิ้นเนื้อทางพยาธิวิทยา, ชิ้นเนื้อของผู้ป่วยถูกเก็บรักษาไว้เป็นเวลานานจนไม่อาจนำมาย้อมไซคลินบีได้, ชิ้นเนื้อที่เหลือไม่เพียงพอต่อการย้อมเป็นต้น ส่งผลให้มีผู้ป่วยที่ได้รับการย้อมไซคลินบีเพียง 214 ราย เป็นกลุ่มที่มีการกลับเป็นซ้ำ 58 ราย และกลุ่มที่ไม่มีการกลับเป็นซ้ำ 156 ราย ข้อจำกัดที่สองคือค่าจุดตัดที่เราใช้แบ่งค่าสูงต่ำของไซคลินบีเนื่องจากในการศึกษาก่อนหน้าพบว่าค่าช่วงชั้นมัธยฐานที่ 7 (7th decile) เป็นจุดที่ใช้แบ่งค่าการแสดงผลของไซคลินบีสูงต่ำที่สามารถแยกความแตกต่างของการกลับเป็นซ้ำของโรคมะเร็งเต้านมได้ชัดเจน ซึ่งแต่ละการศึกษานั้นจะมีค่าที่แตกต่างกันออกไปไม่มีค่ามาตรฐานที่เป็นตัวเลขชัดเจน ส่งผลให้การศึกษานี้อาจได้ค่าจุดตัดที่ไม่เหมาะสมในการแบ่งผู้ป่วยที่มีการแสดงผลของไซคลินบีสูงต่ำได้และไม่พบความสัมพันธ์ต่อการกลับเป็นซ้ำของโรค ข้อจำกัดที่สามคือความแตกต่างของวิธีการย้อมอิมมูโนของไซคลินบี ในการวิจัยนี้ใช้แอนติบอดีของบริษัท GeneTex ซึ่งเป็นชนิดไซคลินบีวัน cyclin B1 antibody ที่ทำจากหนู ซึ่งทางบริษัทได้มีการทดสอบแล้วว่าสามารถนำมาย้อมอิมมูโนแสดงผลการแสดงผลของไซคลินบีได้จริง นำมาเจือจางด้วยความเข้มข้น 1 ต่อ 50 และย้อมชิ้นเนื้อทิ้งไว้ 12 ชั่วโมงจึงพบการติดสีของไซคลินบี แต่ในการศึกษาอื่น ๆ มีการใช้แอนติบอดี (antibody) ที่มาจากหลากหลายบริษัทแตกต่างกันไปและใช้ค่าความเจือจางที่อัตราส่วนแตกต่างกัน ใช้เวลาย้อมชิ้นเนื้อเพื่อให้เกิดการติดสีแตกต่างกันไป แต่ส่วนใหญ่แล้วการย้อมจะใช้เวลาประมาณ 1 ชั่วโมง ดังนั้นจะเห็นได้ว่าการวิจัยนี้ต้องใช้เวลาในการย้อมชิ้นเนื้อเพื่อให้ติดสีอิมมูโนนานกว่าการศึกษาอื่นๆ ซึ่งแสดงว่าวิธีการย้อมและแอนติบอดีที่ใช้ย้อมการแสดงผลของไซคลินบีนั้นยังไม่มีมาตรฐานสากลที่ใช้เป็นอันหนึ่งอันเดียวกัน และชิ้นเนื้อที่นำมาใช้ย้อมนั้นมีอายุการเก็บรักษาที่ยาวนานอาจทำให้มีปัญหาแอนติเจนหรือโปรตีนสูญเสียลงจึงทำให้กระบวนการติดสีอิมมูโนผิดเพี้ยนไปจากความเป็นจริงได้ ข้อจำกัดสุดท้ายคือการวิจัยนี้ใช้แพทย์พยาธิวิทยาเพียงหนึ่งท่านในการอ่านแปลผลค่าไซคลินบี ซึ่งอาจเกิดความผิดพลาดในการอ่านแปลผลและมีความไม่เที่ยงตรงได้ ก่อนหน้านี้เคยมีการศึกษาของ Malmstrom(27) และคณะซึ่งทำการศึกษาการแสดงผลของไซคลินบีแล้วพบว่าการใช้พยาธิแพทย์

อ่านแปลผลค่าไซคลินปีเปรียบเทียบกับการใช้คอมพิวเตอร์ในการอ่านแปลผลค่าที่ได้ออกมาไม่แตกต่างกันมากนัก

5.5 ข้อเสนอแนะ

การวิจัยต่อไปควรทำการศึกษาในกลุ่มประชากรที่มากขึ้นเพื่อเพิ่มความถูกต้องและความน่าเชื่อถือของข้อมูลที่จะนำไปประยุกต์ใช้ในประเทศไทย นอกจากนี้ควรทำการศึกษาเพื่อหาจุดตัดที่เหมาะสมในการแบ่งผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของไซคลินปีสูงและต่ำให้ชัดเจน เนื่องจากค่าที่ถูกต้องและเป็นมาตรฐานจะสามารถนำไปใช้ประโยชน์ต่อการทำนายการกลับเป็นซ้ำของโรคได้ ควรต้องศึกษาหาวิธีที่เหมาะสมในกระบวนการย้อมขึ้นเนื้อเพื่อให้ได้วิธีการย้อมทางอิมมูโนที่เป็นมาตรฐานง่าย สะดวก ประหยัดต่อการนำไปใช้โดยทั่วไป และควรมีการอ่านแปลผลที่ได้มาตรฐาน เช่นให้มีการอ่านผลโดยพยาธิแพทย์อย่างน้อยสองท่านอ่านผล หากมีความเห็นที่แตกต่างกันมากควรจะมีการพิจารณาหาข้อตกลงของการอ่านผลที่ถูกต้อง หรือการนำระบบคอมพิวเตอร์มาใช้ในการอ่านแปลผลเพิ่มเติมเพื่อความแม่นยำและเที่ยงตรงในการแปลผล เป็นต้น

ไซคลินปีเป็นหนึ่งในค่าการแบ่งตัวของเซลล์มะเร็งที่อยู่ในสมการใช้ทำนายการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านมในชุดตรวจเชิงพาณิชย์(Oncotype DX)(8, 9) มีประโยชน์ต่อการตัดสินใจในการเลือกวิธีการรักษาเสริมด้วยยาเคมีบำบัด แต่การจะส่งตรวจนั้นต้องส่งไปต่างประเทศและมีค่าใช้จ่ายสูง งานวิจัยนี้ได้เลือกนำเอาไซคลินปีซึ่งมีวิธีการตรวจที่สะดวกกว่าโดยใช้เพียงการย้อมทางอิมมูโนมาวิเคราะห์ร่วมกับข้อมูลทางคลินิกและพยาธิวิทยาอื่นๆเพื่อทำนายการกลับเป็นซ้ำของผู้ป่วย และพบว่าการแสดงออกของไซคลินปีมีความสัมพันธ์กับการกลับเป็นซ้ำของโรค ซึ่งอาจนำข้อมูลนี้มาพิจารณาทำการศึกษาต่อยอดเพื่อที่จะสามารถแบ่งผู้ป่วยตามความเสี่ยงต่อการกลับเป็นซ้ำ และพิจารณาเลือกการรักษาที่เหมาะสมกับผู้ป่วยต่อไปในอนาคต

บรรณานุกรม

1. Goldhirsch A, EP W, AS C. Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St. Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013. *Ann Oncol.* 2013;24(9):2206-23.
2. Fisher B, J C. A randomized clinical trial evaluating tamoxifen in the treatment of patients with node-negative breast cancer who have estrogen receptor-positive tumor. *N Engl J Med.* 1989;320(8):479-84.
3. Fisher B, J D. Tamoxifen and chemotherapy for lymph node-negative, estrogen receptor-positive breast cancer. *J Natl Cancer Inst.* 1997;89(22):1673-82.
4. Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials. *Lancet.* 2005;365(9472):1687-717.
5. Mook S, MK S, G V. The 70-gene prognosis-signature predicts disease outcome in breast cancer patients with 1-3 positive lymph nodes in an independent validation study. *Breast Cancer Res Treat.* 2009;116(2):295-302.
6. van de Vijver MJ HY, et al. A gene-expression signature as a predictor of survival in breast cancer. *N Engl J Med.* 2002;347(25):1999-2009.
7. Laura J, Hongyue D, Marc J. Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer. *NATURE.* 2002;415:530-36.
8. Paik S, Shak S, Tang G. A multigene assay to predict recurrence of tamoxifen-treated, node-negative breast cancer. *N Engl J Med.* 2004;351(27):2817-26.
9. Sparano J, RJ G, DF M. Prospective Validation of a 21-Gene Expression Assay in Breast Cancer. *N Engl J Med.* 2015;373(21):2005-14.
10. พิทักษ์ภากร ม. หลักการของอณูพันธุศาสตร์และพันธุศาสตร์ของมะเร็ง. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์ศิริราช คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล; 2559.
11. Khandan K, Susan L. Cyclin E and Survival in Patients with Breast Cancer. *N Engl J Med.* 2002;347(20):1566-75.
12. Michalides R, Tinteren Hv. Cyclin A is a prognostic indicator in early stage breast cancer with and without tamoxifen treatment. *British Journal of Cancer.* 2002;86:402-8.

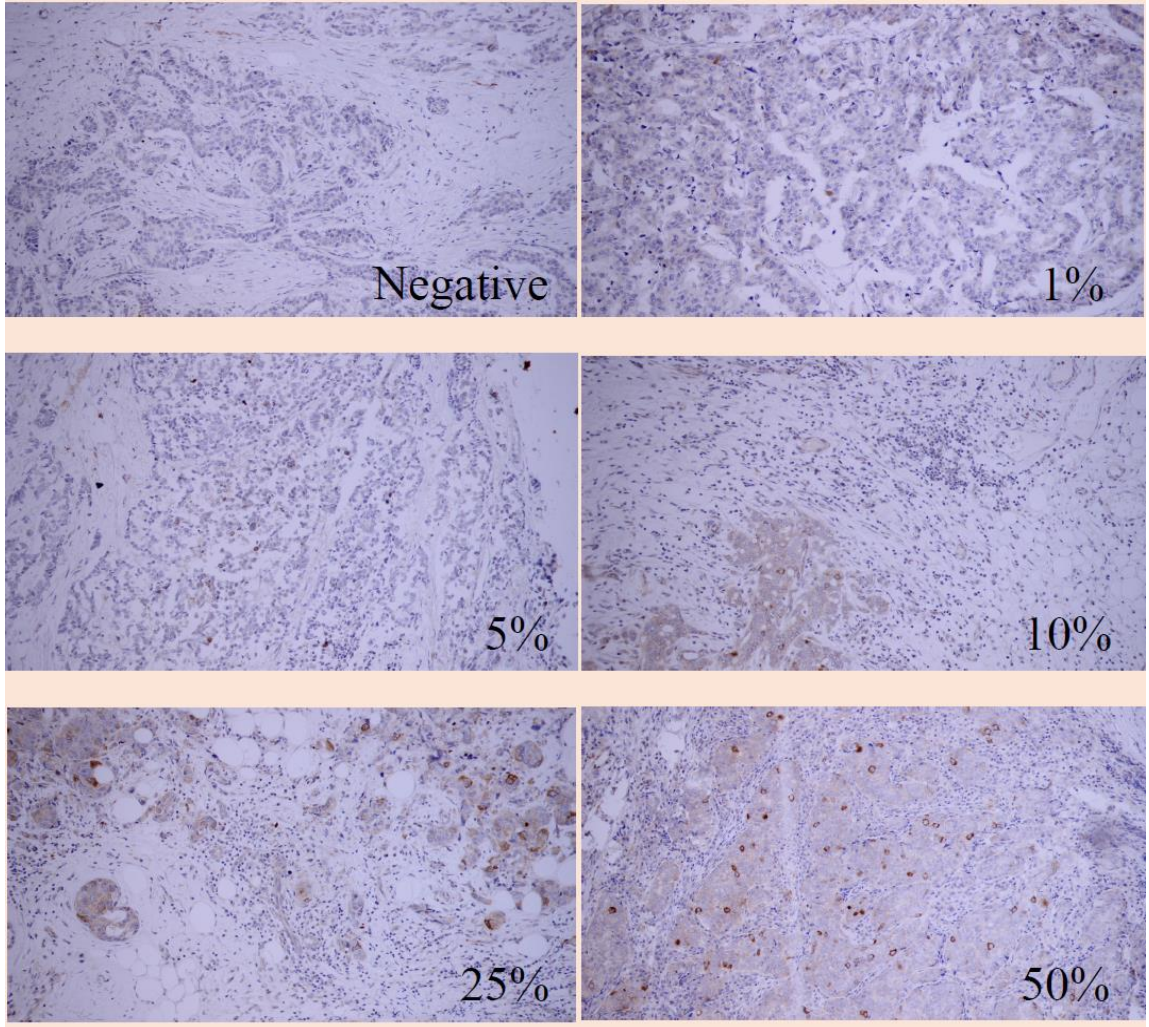
13. Sun X. Prognostic and clinicopathological significance of cyclin B expression in patients with breast cancer: A meta-analysis. *Medicine*. 2017;96(19):1-7.
14. Inwald E, Klinkhammer-Schalke M. Ki-67 is a prognostic parameter in breast cancer patients: results of a large population-based cohort of a cancer registry. *Breast Cancer Res Treat*. 2013;139:539-52.
15. NCCN Clinical practice guidelines in oncology: breast cancer Ver 3:2017 [
16. Wolff A, Hammond M. Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists clinical practice guideline update. *J Clin Oncol*. 2013;31(31):3997-4013.
17. Mayer JS, Alvarez C, Milikowski C, et al. Breast carcinoma malignancy grading by Bloom-Richardson system vs proliferation index: reproducibility of grade and advantages of proliferation index. *Mod Pathol*. 2005;18(8):1067-78.
18. Oken M, Creech R, Tormey D, et al. Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group. *Am J Clin Oncol*. 1982;5(6):649-55.
19. Xiaofeng D, Li ZT, Yankun Y. Breast cancer intrinsic subtype classification, clinical use and future trends. *Am J Cancer Res*. 2015;5:2929-43.
20. DeVita V, Lawrence T, Rosenberg S. DeVita, Hellman, and Rosenberg's Cancer: Principles and Practice of Oncology. 10th, editor. Philadelphia: Wolters Kluwer Health; 2015.
21. Eleftherios P, Gong T, Bernard F. Association Between the 21-Gene Recurrence Score Assay and Risk of Locoregional Recurrence in Node-Negative, Estrogen Receptor-Positive Breast Cancer: Result From NSABP B-14 and NSABP B-20. *Journal of Clinical Oncology*. 2010;28:1677-83.
22. Cell Cycle and Cancer [Available from: www.cubocube.com.
23. Cecilia A. High expression of cyclin D1 is associated to high proliferation rate and increased risk of mortality in women with ER-positive but not in ER-negative breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2017;164:667-78.
24. Jaesilk C. Longer Survival in Patients with Breast Cancer with Cyclin D1 Over-Expression after Tumor Recurrence: Longer, but Occupied with Disease. *J Breast Cancer*. 2014;17(1):43-53.

25. Aaltonen K, Amini R-M. High cyclin B1 expression is associated with poor survival in breast cancer. *British Journal of Cancer*. 2009;100:1055-60.
26. Klintman M, Strand C. The Prognostic value of Mitotic Activity Index (MAI), Phosphohistone H3(PPH3), Cyclin B1, Cyclin A, and Ki67 , Alone and in Combinations, in Node-Negative Premenopausal Breast Cancer. *PLOS ONE*. 2013;8(12).
27. Malmstrom E, Koliadi A. Cyclin B1 is a prognostic proliferation marker with high reproducibility in a population-based lymph node negative breast cancer cohort. *International Journal of cancer*. 2009;127:961-7.
28. Koliadi A, Nilsson C. Cyclin B is an immunohistochemical proliferation marker which can predict for breast cancer death in low-risk node negative breast cancer. *Acta Oncologic*. 2010;49:816-20.



ภาคผนวก ก

แสดงตัวอย่างการประเมินระดับค่าการแสดงออกของไซคลินบี (ร้อยละ)



ภาคผนวก ข

Case record form No. _____

Baseline Characteristics

1. Date of birth (dd/mm/yyyy)
 Body weight (Kg) Height.....(cm) BMI.....
2. Performance status 0 1 2 3 4
3. Reproductive status
 - Pre-menopause No(0) Yes(1)
 - Post-menopause No(0) Yes(1)(dd/mm/yyyy)
 - Surgical No(0) Yes(1)
 - Radiation No(0) Yes(1)
 - FSH.....LH.....Estradiol.....
 - Natural No(0) Yes(1)
4. History of pill use or hormonal supplement
 - No(0) Yes(1).....year(s)
5. Family history of breast cancer
 - No(0) Yes(1)
6. Associated cancer No(0) Yes(1)
 - CA Ovary No(0) Yes(1)
 - CA stomach No(0) Yes(1)
 - CA endometrium No(0) Yes(1)
 - Other(9).....

History of breast cancer

1. Date of Diagnosis(first visit).....(dd/mm/yyyy)
 Age of Dx.....yrs

2. Clinical presentation

- Breast mass No(0) Yes(1)
- Discharge No(0) Yes(1)
- Tenderness No(0) Yes(1)
- Screen MMG No(0) Yes(1)
- Skin retraction No(0) Yes(1)

3. Imaging for diagnosis

- MMG/USG No(0) Yes(1)
- MRI No(0) Yes(1)

4. Date of pathology..... (dd/mm/yyyy)

- Patho No..... Hospital MDCU(1) orther(9).....
- Method Cytology (FNA) No(0) Yes(1)
- Histology (excision/Sx) No(0) Yes(1)

5. Primary tumor

- Location Right No(0) Yes(1)
- Left No(0) Yes(1)
- Both No(0) Yes(1)
- Multicentric No(0) Yes(1)
- Multifocal No(0) Yes(1)
- Pathology IDC No(0) Yes(1)
- ILC No(0) Yes(1)
- Mixed IDC/ILC No(0) Yes(1)
- Other(9).....
- Histology grade 1(1) 2(2) 3(3) Missing(9)
- Tumor size.....x.....x.....(cm)
- T stage T1(0.1-2.0 cm) T2(2.1-5 cm)

- T3(>5 cm) T4a
 T4b Tx
 LN Positive(1) No.....nodes
 ALND SLNBx ALND+SLNBx
 Negative(0) Missing (9)
 LVI Positive(1) Negative(0) Missing(9)
 Margin Positive(1) Negative(0) Closed(2)

Breast marker

- ER Positive(1).....% Negative(0) N/A(9)
 PR Positive(1).....% Negative(0) N/A(9)
 HER-2 test IHC 1+(1) 2+(2) 3+(3) N/A(9)
 HER-2 by ISH Positive(1) Negative(0) N/A(9)
 Ki-67 Positive(1).....% Negative(0) N/A(9)
 p53 Positive(1).....% Negative(0) N/A(9)
 Cyclin B Positive(1).....% Negative(0)

6. Stage of disease

Clinical stage T.....N.....M.....

Pathological stage T.....N.....M.....

- 1A(1) 1B(2)
 2A(3) 2B(4)
 3A(5) 3B(6) 3C(7) N/A(9)

Treatment

1. Surgery

Resection of primary site

MRM(1) BCS(2) N/A(9)

SSM+ Reconstruction(3)

SSM without Reconstruction(4)

Axillary LN

STLND Yes(1)Total LN.....nodes Positive LN.....nodes

No(0)

ALND Yes(1)Total LN.....nodes Positive LN.....nodes

No(0)

2. Systemic treatment

Chemotherapy Yes(1) No(0)

Neoadjuvant Yes(1) No(0) N/A(9)

Adjuvant Yes(1) No(0) N/A(9)

AC(1) EC(2) FAC(3) FEC(4) CMF(5)

TC(6) AC->T weekly(7) AC->T q 3 weeks(8)

Other(9).....

Hormonal treatment Yes(1) No(0)

Plan of pattern of Tx

Tamoxifen 5 yrs(1) Letrozole 5 yrs(2)

Tamoxifen 10 yrs(3) Letrozole 10 yrs(4)

Switching Tam->Letrozole 5 yrs(5)

Switching Letrozole->Tam 5 yrs(6)

OFS + TAM or AI (7)

Tx

Tamoxifen Yes(1) No(0) Plan duration.....yrs

Start.....(dd/mm/yyyy) Stop.....(dd/mm/yyyy)

Letrozole Yes(1) No(0) Plan duration.....yrs

Start.....(dd/mm/yyyy) Stop.....(dd/mm/yyyy)

Anastrozole Yes(1) No(0) Plan duration.....yrs

Start.....(dd/mm/yyyy) Stop.....(dd/mm/yyyy)

Exemestane Yes(1) No(0) Plan duration.....yrs

Start.....(dd/mm/yyyy) Stop.....(dd/mm/yyyy)

Post-op RT Yes(1) No(0)

Recurrence

1. Recurrence Yes(1) No(0)

2. Date of recurrence.....(dd/mm/yyyy)

3. Diagnosis of recurrence

Local recurrence Distant metastasis

4. Site of recurrence

Local Yes(1) No(0)

LN Yes(1) No(0)

Bone Yes(1) No(0)

- Brain Yes(1) No(0)
- Liver Yes(1) No(0)
- Lung Yes(1) No(0)
- Other Yes(1) No(0)
5. Death Yes(1) No(0)(dd/mm/yyyy)
- Cause of death Disease(1) No associated(0)
6. Last follow up.....(dd/mm/yyyy)
7. Management at recurrence
- Hormonal(1) Chemotherapy(2)
- RT(3) Other(9).....



ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	นางสาว กาญจนารมณ์ ถกลกิจสกุล
วัน เดือน ปี เกิด	19 สิงหาคม 2528
สถานที่เกิด	จังหวัดหนองคาย
วุฒิการศึกษา	พ.ศ. 2553 แพทย์ศาสตร์บัณฑิตจากคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ พ.ศ. 2553-2554 แพทย์เพิ่มพูนทักษะ โรงพยาบาลหนองคาย พ.ศ. 2554-2556 แพทย์ใช้ทุนปีที่ 2,3 โรงพยาบาลศรีวิไล จังหวัดบึง กาฬ พ.ศ. 2556-2559 แพทย์ประจำบ้าน สาขาอายุรศาสตร์ โรงพยาบาลศิริราช พ.ศ. 2559-2560 อายุรแพทย์ทั่วไปโรงพยาบาลหนองคาย พ.ศ. 2560-2562 แพทย์ประจำบ้านต่อยอด สาขามะเร็งวิทยา ภาควิชาอายุรศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์
ที่อยู่ปัจจุบัน	38 ม.11 ต.โพธิ์ชัย อ.เมือง จ.หนองคาย 43000