

ความชุกของการขาดหายของโปรตีนพีเทนในผู้ป่วยโรคมะเร็งเต้านมชนิดทริปเป็ดเนกาทิป
(ชนิดที่ไม่แสดงถึงฮอร์โมนเอสโตรเจน ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนและฮอร์โมน)
ในประชากรของประเทศไทย

นายทิวา เกียรติปานอภิกุล

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาอายุรศาสตร์ภาควิชาอายุรศาสตร์
คณะแพทยศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2554

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย

The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR)
are the thesis authors' files submitted through the Graduate School.

PREVALENCE OF PTEN LOSS IN TRIPLE NEGATIVE BREAST CANCER, THAI POPULATION.

Mr. THIVA KIATPANABHIKUL

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Medicine

Department of Medicine

Faculty of Medicine

Chulalongkorn University

Academic Year 2011

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์

ความชุกของการขาดหายของโปรตีนพีเทนในผู้ป่วย
โรคมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาตีฟ(ชนิดที่ไม่แสดง
ถึงฮอร์โมนเอสโตรเจนฮอร์โมนโปรเจสเตอร์โรนและเฮอรั
ทู)ในประชากรของประเทศไทย

โดย

นายทิวา เกียรติปานอภิกุล

สาขาวิชา

อายุรศาสตร์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ วิโรจน์ ศรีอุฬารพงศ์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

อาจารย์ แพทย์หญิง นภา ปริญญานิติกุล

คณะแพทยศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยอนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่ง
ของการศึกษาหลักสูตรปริญญาามหาบัณฑิต

.....คณบดีคณะแพทยศาสตร์

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ ไสภณ นภาธร)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ มนต์ชัย ชาลาประวรัตน์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ วิโรจน์ ศรีอุฬารพงศ์)

..... กรรมการ

(อาจารย์ แพทย์หญิง นฤชา จิรกาลวสาน)

.....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(อาจารย์ นายแพทย์ รัช อธิวิวัฒน์)

ทิวา เกียรติปานอภิกุล: ความชุกของการขาดหายของโปรตีนพีเทนในผู้ป่วยโรคมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาติฟ (ชนิดที่ไม่แสดงถึงฮอริโมนเอสโตรเจน ฮอริโมนโปรเจกเตอร์ และเฮอรัท) ในประชากรของประเทศไทย (PREVALENCE OF PTEN LOSS IN TRIPLE NEGATIVE BREAST CANCER, THAI POPULATION) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผศ. นพ.วิโรจน์ ศรีอุฬารพงศ์, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: อ.พญ.นภาพร ญานิติคุณ, 114 หน้า.

ที่มา : โรคมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาติฟ มีความรุนแรงมากกว่ากลุ่มเซลล์มะเร็งเต้านมชนิดอื่นๆ ปัจจุบันยังไม่พบข้อบ่งชี้ใดๆ ใช้เป็นการรักษาโดยเฉพาะ แต่พบว่าโปรตีนพีเทนมีส่วนสำคัญในมะเร็งเต้านม ซึ่งถ้าทำหน้าที่บกพร่องไปนั้นอาจทำให้การพยากรณ์ของโรคยิ่งเลวลงได้

วัตถุประสงค์ : การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์หลักและรองเพื่อหาความชุกของการขาดหายของโปรตีนพีเทนในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาติฟ และความสัมพันธ์ต่างๆ ในทางคลินิก

วิธีการ : ผู้ป่วยหญิงที่เป็นโรคมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาติฟได้ตรวจชิ้นเนื้อมะเร็งถูกเตรียมด้วยวิธีไมโครแอเรียเนื้อเยื่อและตรวจหาโปรตีนพีเทนด้วยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมี โดยใช้ไมโนโคนอลแอนติบอดีโคลน 28H6 ระหว่างมิถุนายน 2549 ถึงธันวาคม 2554 จำนวน 78 ราย

ผลการวิจัย : ผู้ป่วยที่เป็นมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาติฟที่มีการขาดหายของโปรตีนพีเทนทั้งหมด 24 ราย คิดเป็นร้อยละ 30.8 โดยมีแนวโน้มว่าค่าเฉลี่ยของอายุมากกว่า ลักษณะทางพยาธิวิทยาที่รุนแรงกว่า และอัตราการกลับเป็นโรคซ้ำมากกว่ากลุ่มที่แสดงออกของโปรตีนพีเทน (odd ratio = 0.61, 95%CI=0.24-1.58, P = 0.22), มีค่ามัธยฐานการปลอดโรคประมาณ 30 เดือน

สรุปผลการวิจัย : ความชุกของการขาดหายไปของโปรตีนพีเทนมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาติฟของประชากรไทยไม่ต่างกับมะเร็งเต้านมของการศึกษาอื่นๆ มีแนวโน้มการพยากรณ์ของโรครุนแรงกว่า การติดตามโรคที่นานขึ้นและจำนวนผู้ป่วยมากขึ้นจะช่วยยืนยันผลการรักษาได้

ภาควิชา.....อายุรศาสตร์.....ลายมือชื่อนิสิต.....

สาขาวิชา.....อายุรศาสตร์.....ลายมือชื่ออ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก.....

ปีการศึกษา.....2554.....ลายมือชื่ออ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม.....

#5374633130 : MAJOR MEDICINE

KEYWORDS :PTEN LOSS / PREVALENCE / THAI POPULATION / TRIPLE NEGATIVE BREAST CANCER / IMMUNOHISTOCHEMISTRY

THIVA KIATPANABHIKUL : PREVALENCE OF PTEN LOSS IN TRIPLE NEGATIVE BREAST CANCER, THAI POPULATION. ADVISOR : ASST.PROF.VIOTE SRIURANPONG,Ph.D,M.D., CO-ADVISOR. NAPA PARINYANITIKUL, M.D.114pp.

INTRODUCTION:Currently a definitive marker for positive selection of the triple-negative breast cancer (TNBC) remains unavailable. PTEN expression may play an important role in TNBC aggressive phenotype. We sought PTEN expression in TNBC in our institute.

OBJECTIVE: The primary objective is to determine the prevalence of PTEN loss in TNBC tumor tissue. We found an association between clinical parameters and PTEN expression.

METHODS:Female TNBC patients who received treatment were identified. Tissue microarrays were constructed and we used anti-PTEN clone 28H6 to determine the level of PTEN protein.

RESULTS: There were 78 TNBC patients with adequate tumor tissue available. Our cohort found mostly grade 3, and Ki - 67 > 30%, which was not different from other studies. Thirty percent (24 of 78) had undetectable PTEN. In PTEN –negative patients, the average age was 50.3 years.Loss of PTEN expression was associated with tumor size (>2 cm) (79.3% vs 70.4%), lymphovascular invasion (52.6%vs46.8%), lymph node involvement (54.2% vs 35.1%). Time to recurrence was shorter in the PTEN negative group (30 months vs not reach) (Odd Ratio (OR) = 0.61, 95%CI = 0.24,1.58, P=0.22).

CONCLUSION:One – third of Thai TNBC patients have PTEN loss. Our data indicates a poorer prognosis in TNBC with PTEN loss. Further study in larger population and longer time of follow up is warranted.

Department.:...Medicine.....Student’s Signature.....

Field of Study:...Medicine.....Advisor’s Signature.....

Academic Year.:2011.....Co-advisor’s Signature.....

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณทุกท่านที่มีส่วนทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงสมความมุ่งหมาย
หน่วยโรคมะเร็งวิทยา ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

- | | |
|----------------------------------|---------------------------------|
| 1. ผศ.ดร.นพ.วิโรจน์ ศรีอุฬารพงศ์ | อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ |
| 2. อ.พญ.นภา ปริญญาติกุล | อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม |
| 3. นพ.ณัฐพงศ์ โตพิบูลย์พงศ์ | ให้ข้อเสนอแนะและความคิดเห็น |
| 4. นายชวลิต แซ่ล้อ | พนักงานวิจัยช่วยประสานงาน |

และเจ้าหน้าที่หน่วยมะเร็งวิทยาภาควิชาอายุรศาสตร์โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ทุกท่าน
หน่วยโภชนาการคลินิก ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

- | | |
|--------------------------------|------------------|
| 5. ผศ.นพ.มนต์ชัย ชาลาประวรรตน์ | ประธานคณะกรรมการ |
|--------------------------------|------------------|

หน่วยพยาธิวิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

- | | |
|------------------------|----------------------------------|
| 6. รศ.พญ.วรรณช ธานีกิจ | อาจารย์ผู้เชี่ยวชาญทางพยาธิวิทยา |
|------------------------|----------------------------------|

หน่วยโรคทางเดินหายใจและภาวะวิกฤตทางการหายใจ ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

- | | |
|-------------------------|--------------------------------|
| 7. อ.พญ.นฤชา จิรกาลวสาน | อาจารย์กรรมการภายในมหาวิทยาลัย |
|-------------------------|--------------------------------|

หน่วยมะเร็งวิทยา ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี
มหาวิทยาลัยมหิดล

- | | |
|-----------------------|---------------------------------|
| 8. อ.นพ.รัช อธิวิทวัช | อาจารย์กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย |
|-----------------------|---------------------------------|

Chulalongkorn International Clinical Research Centre

- | | |
|--------------------------|---------------------------------------|
| 9. คุณนิรันดร์ อินทร์ตัน | ผู้ให้คำปรึกษาเรื่องการวิเคราะห์สถิติ |
|--------------------------|---------------------------------------|

สถาบันพยาธิวิทยา กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

- | | |
|-----------------------|--|
| 10. คุณโกศล อินทรสุตร | นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ชำนาญการงานอิม-
มูโนฮิสโตเคมี |
|-----------------------|--|

รวมทั้งบิดา, มารดา, ภรรยา และครอบครัว

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ	ช
สารบัญตาราง.....	ซ
สารบัญภาพ	ฅ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	ฎ
บทที่	
1.บทนำ.....	1
2.เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
มะเร็งเต้านมและมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาติฟ.....	11
มะเร็งเต้านมกับการแสดงออกของโปรตีนพีเทน	24
3.วิธีดำเนินการวิจัย	27
การคำนวณขนาดตัวอย่าง	28
วิธีการย่อมทางอิมมูโนฮิสโตเคมี.....	29
4.ผลการวิเคราะห์ข้อมูล.....	33
ผลการศึกษาความชุกของการขาดหายไปโปรตีนพีเทน	45
5.สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ.....	58
รายการอ้างอิง	69
ภาคผนวก.....	78
ภาคผนวก ก.....	79
ภาคผนวก ข.....	83
ภาคผนวก ค.....	86
ภาคผนวก ง.....	94
ภาคผนวก จ.....	95
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์	103

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 2.1 แสดงข้อมูลการใช้ยาเคมีบำบัดสำหรับมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาติฟ.....	22
ตารางที่ 4.1 เปรียบเทียบข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยแบ่งตามปัจจัยที่สัมพันธ์กับโรคมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาติฟ.....	36
ตารางที่ 4.2 แสดงผลการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดที่ได้รับก่อนผ่าตัด	40
ตารางที่ 4.3 ข้อมูลเบื้องต้นของกลุ่มตัวอย่างที่ได้รับการตรวจหาโปรตีนพีเทนและแบ่งตามชนิดที่ไม่แสดงโปรตีนพีเทน(PTEN negative)และชนิดที่แสดงถึงโปรตีนพีเทน(PTEN positive).....	41
ตารางที่ 4.4 แสดงถึงความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยต่างๆกับการแสดงออกของโปรตีนพีเทนของมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาติฟ.....	47
ตารางที่ 4.5 แสดงความสัมพันธ์ของระยะการปลอดโรค ระหว่างปัจจัยต่างๆกับมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาติฟ.....	50
ตารางที่ 4.6 แสดงความสัมพันธ์ของระยะการปลอดโรค ระหว่างปัจจัยต่างๆกับมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาติฟโดยแยกการแสดงออกของพีเทน.....	51
ตารางที่ 4.7 แสดงการตอบสนองต่อการได้ยาเคมีบำบัดก่อนผ่าตัด	57
ตารางที่ 5.1 แสดงข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาติฟเปรียบเทียบแต่ละการศึกษา	58
ตารางที่ 5.2 แสดงข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยมะเร็งเต้านม(และมะเร็งเยื่อบุโพรงมดลูก)กับไม่แสดงออกของโปรตีนพีเทน เปรียบเทียบแต่ละการศึกษา.....	64

สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1.1 กรอบแนวคิดการวิจัย.....	5
ภาพที่ 2.1 แสดงเซลล์ต้นกำเนิดของมะเร็งเต้านมในแต่ละชนิด.....	14
ภาพที่ 2.2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง BRCA1, Basal Phenotype และ TNBCs.....	16
ภาพที่ 2.3 แสดงการอัตราเสียชีวิตจากโรคมะเร็งเต้านมในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่เป็นและไม่เป็น ชนิดทริปเปิลเนกาติฟ.....	18
ภาพที่ 2.4 แสดงการกลับเป็นซ้ำในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่เป็นและไม่เป็นชนิดทริปเปิล เนกาติฟ.....	18
ภาพที่ 2.5 แสดงการลุกลามหรือการกลับมาเป็นซ้ำครั้งแรกในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่เป็นชนิด ทริปเปิลเนกาติฟ.....	19
ภาพที่ 3.1 แสดงหลักการวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมี direct และ Indirect method	30
ภาพที่ 3.2 แสดงสไลด์ชิ้นเนื้อโดยที่สไลด์ A ย้อม Haematoxylin&Eosin (H&E) และ สไลด์ B ย้อม PTEN.....	32
ภาพที่ 4.1 แสดงการรวบรวมชิ้นเนื้อมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาติฟเพื่อนำมาศึกษา ทางอิมมูโนฮิสโตเคมี.....	34
ภาพที่ 4.2 แสดงการติดสีของโปรตีนพีเทนในนิวเคลียสของเซลล์มะเร็งเต้านม รูป A แสดงการไม่ติดสีของโปรตีนพีเทน และ รูป B แสดงการติดสีของโปรตีนพีเทน.....	35
ภาพที่ 4.3 กราฟแสดงการมีชีวิตรอดโดยรวม.....	39
ภาพที่ 4.4 กราฟแสดงการมีชีวิตโดยปลอดโรคหรือไม่มีการลุกลามของโรคมะเร็ง.....	39
ภาพที่ 4.5 กราฟแท่งแสดงการเปรียบเทียบระหว่าง PTEN negative และ PTEN positive โดยเปรียบเทียบค่า KI-67, Lymph node, Lymphovascular invasion.....	48
ภาพที่ 4.6 แสดงถึงระยะการปลอดโรคที่ 5 ปีของ PTEN negative และ PTEN positive.....	49
ภาพที่ 4.7 แสดงถึงระยะการปลอดโรคของ PTEN negative และ PTEN positive ที่อายุ < 50 ปี.....	52
ภาพที่ 4.8 แสดงถึงระยะการปลอดโรคของ PTEN negative และ PTEN positive ที่ PS = 0.....	53

ภาพที่ 4.9 แสดงถึงระยะการปลดโรคของ PTEN negative และ PTEN positive ที่ ขนาดก้อนเนื้ออก < 5 เซนติเมตร.....	53
ภาพที่ 4.10 แสดงถึงระยะการปลดโรคของ PTEN negative และ PTEN positive ที่ ไม่ลุกลามสู่ต่อมน้ำเหลืองถึงลุกลามไม่เกิน 3 ต่อมน.....	55
ภาพที่ 4.11 แสดงถึงระยะการปลดโรคของ PTEN negative และ PTEN positive ที่ ลุกลามสู่ต่อมน้ำเหลืองและหลอดเลือด.....	56

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

AC	anthracycline, cyclophosphamide
BLBC	basal-like breast cancer
BRCA	breast related cancer
CMF	cyclophosphamide, metotrexate, 5 - Fluouracil
DCIS	ductal carcinoma in situ
DFS	disease free survival
ECOG	Eastern Cooperative Oncology Group
ER	estrogen receptor
FISH	fluorescence in situ hybridization
LCIS	lobular carcinoma in situ
PFS	progression free survival
PR	progesterone receptor
PTEN	phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome 10
RECIST	response evaluation criteria in solid tumor
TNBC	triple negative breast cancer

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

มะเร็งเต้านมในผู้หญิง เป็นโรคมะเร็งอันดับสองรองจากมะเร็งปากมดลูก และที่สำคัญ เป็นสาเหตุการตายอันดับต้นๆ ในเพศหญิงอุบัติการณ์ของมะเร็งเต้านมในประเทศไทย พบ 17.2 ต่อแสนประชากร (ปี 2538-2540) ในกรุงเทพฯพบ 25.4 คนต่อประชากรแสนคน ขอนแก่น 11.6 คนต่อประชากรแสนคน อายุพบได้ตั้งแต่ 20 ปี แต่ช่วงอายุที่พบมากคือ 45-55 ปี ในปี พ.ศ. 2546 พบรายใหม่ 4,600 ราย ส่วนในปี พ.ศ. 2547 พบ 5,500 รายและมีแนวโน้มมากขึ้น อาการนำมาพบได้บ่อยคือ คลำได้ก้อนที่เต้านม อาจมี น้ำจากหัวนม มีการเปลี่ยนแปลงที่ผิวหนัง เช่นมีลักษณะเหมือนผิวส้ม (Peau d'orange) ผิวหนังมีรอยบุ๋ม ผิวหนังมีแผล บวมแดงอักเสบ การเปลี่ยนแปลงที่หัวนม เช่นแผลที่ฐานหัวนมหรือหัวนม เป็นต้น

มะเร็งเต้านม แบ่งหลักๆได้ 2 ชนิด คือ 1. ชนิดไม่ลุกลาม (non-invasive breast cancer) ซึ่งแบ่งย่อยได้ 2 ชนิดคือ ductal carcinoma in situ (DCIS) lobular carcinoma in situ (LCIS) และ 2. ชนิดลุกลาม (invasive breast cancer) ได้แก่ invasive ductal carcinoma, invasive lobular carcinoma, tubular carcinoma, medullary carcinoma, mucinous carcinoma และยังสามารถแบ่งตามชนิดของเซลล์ได้ตามการย้อมชนิดพิเศษแบบอิมมูโนฮิสโตเคมี (immunohistochemistry) อีก 3 ชนิด คือ 1. เซลล์มะเร็งที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเอสโตรเจนและ/หรือโปรเจสเตอโรน (estrogen and/or progesterone receptor positive) ซึ่งพบได้ประมาณร้อยละ 60-70 ของมะเร็งเต้านมทั้งหมด 2. เซลล์มะเร็งที่ตรวจพบว่ามีตัวรับสัญญาณเฮอรัท (HER-2/neu receptor positive) ซึ่งพบได้ประมาณร้อยละ 20-25 ของมะเร็งเต้านมทั้งหมด 3. เซลล์มะเร็งที่ไม่พบทั้งฮอร์โมนและยีนมะเร็งเฮอรัท (triple negative breast cancer) ซึ่งพบได้ประมาณร้อยละ 10-15 ของมะเร็งเต้านมทั้งหมด โดยปัจจุบันการรักษาหลักในระยะต้นคือการรักษาโดยการผ่าตัดเต้านม ควบคู่กับการรักษาเสริม (adjuvant chemotherapy) เช่น การให้ยาเคมีบำบัด (chemotherapy) การให้ยาฮอร์โมน (hormonal therapy) การรักษาโดยการรังสีรักษา (radiotherapy) และการรักษาเฉพาะแบบมุ่งเป้า (targeted therapy) โดยจากการรายงานที่ผ่านมาพบว่า กลุ่มเซลล์มะเร็งที่ไม่พบทั้งฮอร์โมนและยีนมะเร็งเฮอรัท (triple negative breast cancer) มีความรุนแรง และมีการพยากรณ์ของโรคที่รุนแรงกว่ากลุ่มเซลล์มะเร็งที่มีตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจน และ/หรือโปรเจสเตอโรน เนื่องจากพบในช่วงอายุที่น้อยกว่า อาการแสดง การดำเนินของโรค ที่รุนแรงกว่า การกลับเป็นซ้ำของโรค การ

แพร่กระจายของโรคที่รุนแรงและเร็วกว่าเช่นที่ปอด ตับ สมองและ อัตราการรอดชีวิตที่สั้นกว่าคือประมาณ 3-5 ปีหลังจากได้รับวินิจฉัยข้อมูลในการรักษามะเร็งเต้านมทริปเปิลเนกาติฟด้วยยาเคมีบำบัดโดยเฉพาะ ยังจำกัดอยู่ ส่วนใหญ่เป็นข้อมูลที่อ้างอิงจากมะเร็งเต้านมที่มีตัวรับสัญญาณและไม่มีตัวรับสัญญาณรวมอยู่ด้วย มีบางรายงานที่พบว่ามะเร็งเต้านมทริปเปิลเนกาติฟนี้ตอบสนองดีกับยาเคมีบำบัด เมื่อให้เพื่อ ลดขนาดของก้อนเนื้อออกก่อนการผ่าตัดได้มากกว่ากลุ่มที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมน อย่างไรก็ตามการพยากรณ์ของโรคไม่ได้ดีขึ้นในกลุ่มที่ไม่ตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดการหาปัจจัยที่มีผลต่อการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัด จึงน่าจะเป็นสิ่งที่มีประโยชน์มากในการวางแผนการรักษา

ที่สำคัญคือพบว่ามะเร็งเต้านมทริปเปิลเนกาติฟ มีความสัมพันธ์กับความผิดปกติของโปรตีนของเซลล์ซึ่งเป็นกลไกสำคัญในการสร้างเซลล์มะเร็ง ที่มีรายงานในปัจจุบันเช่นการกลายพันธุ์ (mutation) ของโปรตีนเช่น TP53 mutation โปรตีน BRCA1 mutations หรือมีการสร้างขึ้นมาเกินกว่าปรกติ (overexpression) เช่น โปรตีนที่ผิวเซลล์ VEGF overexpression หรือ EGFR overexpression ซึ่งมีรายงานการเกิดโรคที่สัมพันธ์ความรุนแรงของโรค และ ชนิดมีการขาดหายไปของโปรตีนที่ใช้ในการควบคุมการเกิดมะเร็ง (tumor suppressor gene) เช่น โปรตีนเรตินอบลาสโตมา (retinoblastoma) และปัจจุบันเริ่มพบความสัมพันธ์ระหว่างโปรตีนพีเทน (PTEN, phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome 10) และมะเร็งเต้านมร่วมด้วย

จากที่กล่าวไปแล้วข้างต้นว่าโปรตีนพีเทน (PTEN) มีความสำคัญคือทำหน้าที่ควบคุมและยับยั้งการสร้างเซลล์ที่ผิดปกติและมีความสัมพันธ์กับความผิดปกติในยีนพีเทน (PTEN gene) กล่าวคือพบว่าการขาดหายหรือลดลงของโปรตีนพีเทน (Loss of function), การกลายพันธุ์ (somatic mutation), การไม่เสถียรของโปรตีน (protein instability) เพิ่มโอกาสที่จะกลายเป็นเซลล์มะเร็ง เพราะ PTEN มีหน้าที่ยับยั้งการทำงานในกระบวนการทำงานของเซลล์ PI3K/Akt/mTOR pathway เพื่อให้สมดุลกัน โดยการแยกหมู่ฟอสเฟตออกจาก PI3K - activated messenger PIP - 3[1] กรณีที่ถ้าไม่สมดุลของโปรตีนพีเทน เช่น มีการขาดหายหรือจำนวนลดลงอาจมีผลคือทำให้เสียความสมดุลของกระบวนการทำงานของเซลล์ผ่านทาง PI3K/Akt/mTOR pathway เกิดการแบ่งตัวของเซลล์ (Proliferation) เพิ่มขึ้นการที่เซลล์ไม่สลายตัว (Anti-apoptosis) ทำให้เกิดเซลล์มะเร็งมีชีวิตรอด (Survive) และแพร่กระจาย (Metastasis) ในที่สุดได้ ซึ่งสามารถพบการขาดหายไปของโปรตีนพีเทนได้ในมะเร็งชนิดอื่น เช่น มะเร็งเยื่อบุโพรงมดลูก (Endometrial Cancer), มะเร็งต่อมลูกหมาก (Prostate cancer), มะเร็งของต่อมไทรอยด์ (Thyroid Cancer) ซึ่งจะสัมพันธ์กับ High grade tumor, High tumor size ร่วมด้วย

จากการศึกษาพบการขาดหายของโปรตีนพีเทนในมะเร็งเต้านม มีรายงานทั้งในชนิดที่มีเฮอรัท (HER2 positive) และไม่พบทั้งฮอร์โมนและเฮอรัท (triple negative breast cancer) มีประมาณ 30-40% ซึ่งมีผลในแง่ของการพยากรณ์ของโรคที่รุนแรงกว่า[2] และตอบสนองต่อยาบางชนิดที่น้อยกว่าเช่นยารักษากลุ่ม HER2 คือ trastuzumab[3] แต่ทั้งหมดนั้นเป็นการศึกษาในประชากรทางเชื้อชาติ Caucasian ทั้งสิ้น สำหรับในประเทศไทยยังไม่เคยมีการศึกษาในประชากรของไทย ยังไม่มีรายงานใดที่บอกถึงอุบัติการณ์ของมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาตีฟ ทั้งเรื่องของอาการ อาการแสดง การดำเนินของโรค การตอบสนองต่อการรักษา การกลับเป็นซ้ำของโรค อัตราการรอดชีวิต และยังไม่มีการศึกษาใดในประเทศไทยที่ได้ศึกษาความสัมพันธ์ของมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาตีฟกับความผิดปกติของโปรตีนพีเทน(PTEN)จึงเป็นที่มาของการศึกษานี้

คำถามของการวิจัย (Research questions)

คำถามหลัก (Primary research question)

ความชุกของการขาดหายของโปรตีนพีเทนจากการย้อมทางอิมมูโนฮิสโตเคมี ในผู้ป่วยหญิงที่เป็นโรคมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาตีฟ หรือที่ไม่แสดงถึงฮอร์โมนเอสโตรเจน ฮอร์โมนโปรเจเรตอนและเฮอรัท ในประชากรของประเทศไทย โดยข้อมูลผู้ป่วยจากรพ.จุฬาลงกรณ์ มีความแตกต่างจากการรายงานจากต่างประเทศหรือไม่

คำถามรอง (Secondary research question)

การขาดหายของโปรตีนพีเทนในผู้ป่วยโรคมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาตีฟ สามารถบ่งบอกถึงการพยากรณ์ของโรคที่ไม่ดีได้หรือไม่ โดยหาความสัมพันธ์ระหว่างสถานการณั้ตรวจพบโปรตีนพีเทน กับผลการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัด หรือระยะเวลาปลอดโรค

วัตถุประสงค์ของการวิจัย (Objectives)

1. เพื่อศึกษาหาความชุกของการขาดหายไปของโปรตีนพีเทน ในผู้ป่วยโรคมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาตีฟหรือที่ไม่แสดงถึงตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจน ฮอร์โมนโปรเจเรตอน และเฮอรัท ในประชากรของประเทศไทย

2. เพื่อสังเกตความสัมพันธ์ระหว่างการขาดหายไปของโปรตีนพีเทน กับโรคมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาตีฟหรือที่ไม่แสดงถึงฮอร์โมนเอสโตรเจน ฮอร์โมนโปรเจเรตอนและเฮอรัทในแง่

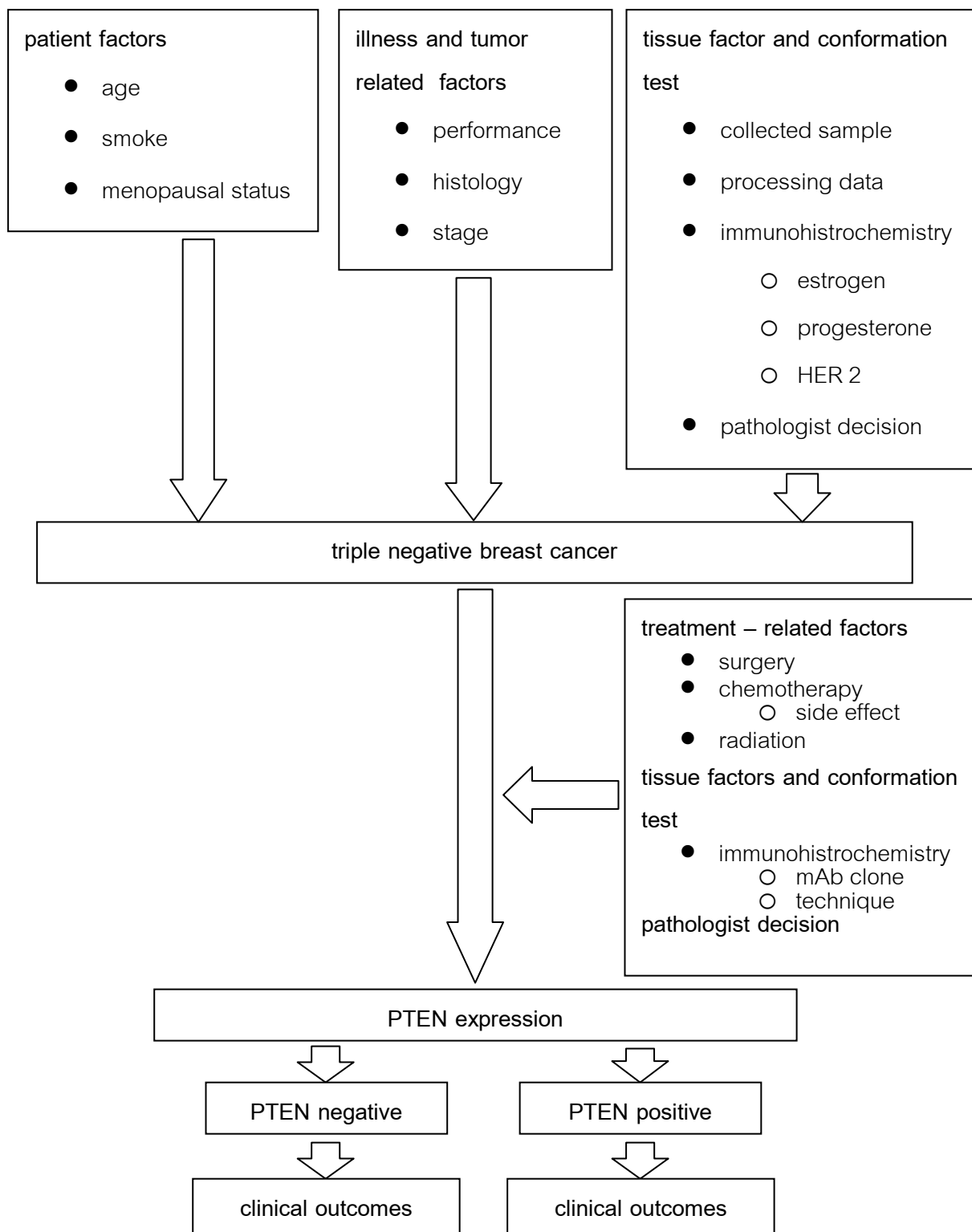
ทางคลินิก เพื่อสามารถบ่งบอกถึงการพยากรณ์ของโรคที่ไม่ดีได้ โดยสังเกตจากผลต่อการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัด และการดำเนินของโรค โดยวัดระยะเวลาการปราศจากของโรค

สมมติฐาน(Hypothesis)

Ho = ความชุกของการขาดหายของยีนพีเทนในผู้ป่วยโรคมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาติฟ ในประชากรของประเทศไทยไม่แตกต่างจากประชากรในประเทศทางตะวันตกคือร้อยละ 40

H1 = ความชุกของการขาดหายของยีนพีเทนในผู้ป่วยโรคมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาติฟ ในประชากรของประเทศไทยแตกต่างจากประชากรในประเทศทางตะวันตก

ภาพที่ 1.1 กรอบแนวคิดวิจัย (Conceptual framework)



การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติการที่ใช้ในการวิจัย (operational definitions)

- มะเร็งเต้านมชนิดทริเปิลเนกาติฟ (triple negative breast cancer)

มะเร็งเต้านมชนิดหนึ่งที่ได้รับการย่อยทางอิมมูโนฮิสโตเคมี เพื่อตรวจตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจน (estrogen) ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (progesterone) และเฮอรัท (HER - 2) โดยการตรวจไม่พบตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจน และ/หรือฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนของเซลล์ หรือเท่ากับ 0 ส่วนตัวรับสัญญาณเฮอรัท ให้มีการติดสีผลเท่ากับ 0 – 1+ หรือ หากถ้ามีการติดสี 2+ แล้ว จะได้รับการตรวจวิธีการ FISH (fluorescence in situ hybridization) ซึ่งได้ผลเป็นลบหรือน้อยกว่า 2.2 ซึ่งหมายถึงการที่ไม่แสดงออกของ เฮอรัท

- การขาดหายของโปรตีนพีเทน (PTEN loss หรือ PTEN negative)

การตรวจหาโปรตีนพีเทน โดยการ ย้อมสีทางอิมมูโนฮิสโตเคมีชนิดพีเทน จากตัวอย่างเซลล์มะเร็งเต้านมที่ฝังด้วยพาราฟินด้วยแอนติบอดีที่มีความจำเพาะต่อโปรตีนพีเทน และได้ผลลบ (negative) โดยใช้การคำนวณค่าคะแนนของ Nagata (IRS) score[3]

- ความชุกของประชากร (prevalence)

หมายถึงจำนวนกรณีผู้ป่วยที่เป็นโรคทั้งหมดในประชากร ณ เวลาหนึ่งๆหรือกล่าวคือจำนวนผู้ป่วยในประชากรหนึ่งๆ หากด้วยจำนวนประชากรทั้งหมด

- การประเมินตอบสนองต่อการรักษา

ใช้เกณฑ์การประเมินตาม RECIST criteria (Response Evaluation Criteria in Solid Tumor) version 1.0 ปี 2000

- Performance status

ใช้หลักเกณฑ์ตาม Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) ได้แก่

0 คือสามารถทำงานและออกแรงได้ตามปกติ ไม่ต่างจากตอนก่อนเป็นมะเร็งเต้านม

1 คือ สามารถทำงานได้แต่ทำงานหนักไม่ได้ ยังสามารถ ทำกิจกรรมประจำวันต่างๆ ปรกติได้ เคลื่อนไหวรวมทั้งทำงานบ้านเบาๆได้ เช่น งานสำนักงาน, กวาดพื้น, ดูดฝุ่น, บัดฝุ่น, ล้างจาน เป็นต้น

2 คือ เคลื่อนไหวได้ ทำกิจกรรมประจำวันต่างๆได้จำกัด ไม่สามารถทำงานได้ตามปกติ และ นอนติดเตียงน้อยกว่าร้อยละ 50

3 คือ ช่วยเหลือตนเองได้บ้าง ส่วนใหญ่ต้องอาศัยคนช่วยและนอนติดเตียงมากกว่า ร้อยละ 50

4 คือ นอนติดเตียงตลอดเวลา

ข้อตกลงเบื้องต้น (Assumptions)

1.การวินิจฉัยโรคมะเร็งเต้านมชนิดที่ไม่แสดงถึงฮอร์โมนเอสโตรเจน ฮอร์โมนโปรเจสเตอร์โรน นั้นหมายถึง พบการแสดงของฮอร์โมนเอสโตรเจน ฮอร์โมนโปรเจสเตอร์โรนไม่เกินประมาณ 10%

2.การวินิจฉัยโรคโรคมะเร็งเต้านมชนิดที่ไม่แสดงฮอร์โมน หมายถึง พบการแสดงของฮอร์โมนไม่เกิน 2+ (Her - 2 = 2+) หรือมีการพิสูจน์โดยการตรวจในห้องปฏิบัติการที่เรียกว่าฟิช (FISH) คือ เทคนิคในการนำส่วนของดีเอ็นเอส่วนบริเวณที่เราสนใจศึกษาติดฉลากด้วยสารเรืองแสง ซึ่งได้ผลเป็นลบหรือน้อยกว่า 2.2

3.ต้องมีข้อ 1 และ ข้อ 2 รวมกันจึงวินิจฉัยว่าเป็น triple negative breast cancer

4.เมื่อวินิจฉัยเป็นมะเร็งชนิดทริปเปิลเนกาติฟแล้ว ให้มี การย้อมทางอิมมูโนฮิสโตเคมีของพีเทน (PTEN) เพิ่ม

วิธีดำเนินการวิจัย(research design)

เป็นการศึกษาเชิงพรรณนา (descriptive study) แบบ retrospective (historical) cohort study

ลำดับขั้นตอนในการเสนอผลการวิจัย

การเก็บรวบรวมข้อมูล (data collection)

ข้อมูลทั้งหมด ประวัติ การตรวจร่างกาย ผลทางพยาธิวิทยา ผลการย้อมสีพิเศษ จะได้รับการลงบันทึกในแบบเก็บข้อมูลโดยผู้วิจัยเป็นผู้รวบรวม

ปัญหาทางจริยธรรม (ethic considerations)

การศึกษานี้ได้ส่งให้คณะกรรมการจริยธรรมของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ เพื่อขอความเห็นชอบก่อน

เนื่องจากเป็นการศึกษาเชิงพรรณนา คาดว่าน่าจะไม่มีปัญหาทางจริยธรรม เนื่องจากนำชิ้นเนื้อมะเร็งที่ได้รับการรักษาอยู่แล้วมาทำการตรวจพิเศษเพิ่มเติม ซึ่งไม่มีผลต่อการรักษาที่ผ่านมาของผู้ป่วยแต่อย่างใด แต่ข้อมูลที่ได้ทั้งหมดจะถูกเก็บข้อมูลเป็นความลับ โดยคำนึงถึงสิทธิของผู้ป่วยเป็นสำคัญ (ผู้วิจัยได้เตรียมใบยินยอมเข้าร่วมการวิจัยสำหรับผู้ป่วยและข้อมูลการติดต่อกลับ สำหรับผู้ป่วยที่ยังสามารถติดต่อได้เพื่อให้ได้รับความสะดวกในการติดต่อมากที่สุด)

ข้อจำกัดของการวิจัย (Limitations)

1. ผู้ป่วยไทยที่เป็นมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาตีฟ ที่ได้รับการตรวจชิ้นเนื้อทางพยาธิวิทยา และ /หรือ การย้อมพิเศษเพิ่มเติมเพื่อยืนยันการวินิจฉัยตามเกณฑ์การวินิจฉัยที่กำหนด ที่ได้รับการรักษาที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ตั้งแต่ พ.ศ. 2549 ถึง พ.ศ.2554 โดยมีข้อจำกัด คือ

- ระยะเวลาของการเก็บชิ้นเนื้อในช่วงเวลาที่กำหนด เนื่องจากชิ้นเนื้อบางชิ้นมีการเก็บเป็นเวลานาน อาจมีผลต่อการย้อม และการติดของสีได้
- จำนวนตัวอย่างที่มีอยู่ในช่วงเวลาที่กำหนด โดยอาจ ไม่สามารถตามหาชิ้นเนื้อมาย้อมโปรตีนพีเทนเพิ่มเติมได้

2. การตรวจโปรตีนพีเทน (PTEN) ยังไม่มีมาตรฐานการย้อมที่ทำในรพ.จุฬาลงกรณ์ จึงได้ส่งตัวอย่างชิ้นเนื้อเพื่อทำการตรวจย้อมที่สถาบันพยาธิวิทยา และการแปลผลย้อมทางอิมมูโนฮิสโตเคมี ต้องอาศัยผู้เชี่ยวชาญทางพยาธิวิทยาโดยเฉพาะ

3. การรวบรวมและประเมินข้อมูล อาจมีความไม่ครบถ้วนเนื่องจากการขาดการติดต่อของผู้ป่วย ซึ่งมีโอกาสทำให้ข้อมูลเบี่ยงเบนได้

4. ข้อมูลบางส่วนเพิ่งได้รับผู้ป่วยได้รับการวินิจฉัยมะเร็งเต้านมในระยะต้น ซึ่งได้รับการรักษาด้วยยาเคมีบำบัดก่อนการผ่าตัดจนไม่เหลือรอยโรค หรือยังอยู่ระหว่างการให้ยาเคมีบำบัดอยู่ ทำให้ข้อมูลที่ได้ อาจยังไม่สมบูรณ์ได้

5. ปัจจุบันมีการเปลี่ยนแปลงเกณฑ์การวินิจฉัยมะเร็งชนิดทริปเปิลเนกาติฟ โดยจากเดิมที่มีตัวรับสัญญาณเอสโตรเจนและ/หรือโปรเจคเตอร์อินอย่างน้อยร้อยละ 10 เป็นเพียงมีค่าผลบวกน้อยกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 1 ตามข้อกำหนดของ Saint Gallen Consensus 2009 การวิจัยนี้จึงได้มีการใช้ข้อกำหนดใหม่

ผลหรือประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย (Expected Benefit and Application)

1. สามารถทราบถึงความชุกของการขาดหายไ้ของโปรตีนพีเทน ในผู้ป่วยโรคมะเร็งเต้านมชนิดที่ไม่แสดงถึงฮอร์โมนเอสโตรเจน ฮอร์โมนโปรเจคเตอร์อินและเฮอรัท ที่เป็นประชากรของประเทศไทยได้
2. ความเป็นไปได้ของการนำผลการตรวจหาโปรตีนพีเทน ไปใช้ในการพยากรณ์โรคมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาติฟ
3. ความสัมพันธ์ระหว่างสถานะของโปรตีนพีเทน กับปัจจัยอื่นๆทางคลินิกของโรคมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาติฟ

อุปสรรคที่อาจเกิดขึ้นระหว่างการวิจัยและมาตรการในการแก้ไข (obstacles and strategies to solve the problems)

1. ข้อมูลบางส่วนที่ได้รับจากเวชระเบียนเก่าซึ่งเป็นข้อมูลย้อนหลัง ซึ่งข้อมูลที่ได้อาจไม่สมบูรณ์ หรืออาจมีข้อมูลบางส่วนที่ผู้ป่วยได้รับการรักษาหลายโรงพยาบาลทำให้ข้อมูลในเวชระเบียนไม่ครบถ้วน แนวทางการแก้ไข คือ ใช้การสัมภาษณ์เพื่อให้ได้ข้อมูลการรักษาที่อาจเกิดขึ้นนอกโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ร่วมกับขอความร่วมมือของผู้ป่วยในการขอประวัติการรักษาทั้งหมดที่เกิดขึ้นนอกโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ตลอดช่วงที่ทำการวิจัย เพื่อให้ได้ข้อมูลที่ครบถ้วนมากที่สุด

2. เทคนิคการตรวจชิ้นเนื้อและย้อมสีทางพยาธิวิทยาเพื่อหา **Biomarker** และอณูชีววิทยาสำหรับโปรตีนพีเทนของมะเร็งเต้านมมีโอกาสเกิดการคลาดเคลื่อนของผลย้อมได้ เนื่องจากการตรวจทางห้องปฏิบัติการดังกล่าวยังไม่มีมาตรฐานการทำในรพ.จุฬาลงกรณ์ ผู้ทำการวิจัยพบว่ามี การย้อมสีอิมมูโนฮิสโตเคมีที่สถาบันวิทยา จึงได้ศึกษาเปรียบเทียบวิธีการของสถาบันพยาธิวิทยากับวิธีมาตรฐานที่ได้รับการอ้างอิง ซึ่งพบว่าสถาบันพยาธิวิทยาได้ใช้วิธีที่อ้างอิงมาจากวิธีมาตรฐาน จึงได้ส่งย้อมทางอิมมูโนฮิสโตเคมีที่สถาบันพยาธิวิทยาโดยให้ใช้นักเทคนิคที่เชี่ยวชาญเพียงท่านเดียวทำการย้อม และให้พยาธิแพทย์ผู้เชี่ยวชาญเพียงหนึ่งท่านในการอ่านแปลผล ส่วนกรณีที่มีการย้อม ไม่ได้คุณภาพโดยการประเมินจากพยาธิแพทย์แล้ว จะมีการส่งย้อมให้เพื่อให้ได้ความแม่นยำของข้อมูลมากขึ้น

3. มีบางกรณีไม่สามารถติดต่อกับผู้ป่วยได้ จึงทำให้ไม่ทราบว่าผู้ป่วยมีสถานะเป็นอย่างไร วิธีการแก้ไขคือ ให้ใช้ข้อมูลที่มาตรวจจนถึงครั้งสุดท้ายมาประเมิน

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

มะเร็งเต้านม และมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาตีฟ

มะเร็งเต้านม (breast cancer)

โรคมะเร็งเต้านมเป็นมะเร็งที่พบได้บ่อยทั้งประเทศไทยและทั่วโลก และอุบัติการณ์เพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ เป็นโรคมะเร็งอันดับสองรองจากมะเร็งปากมดลูกและที่สำคัญ เป็นสาเหตุการตายอันดับต้นๆของผู้หญิง อายุที่เฉลี่ยคือ 45-55 ปี แต่เนื่องจากการแพทย์ที่ทันสมัย รวมถึงการใช้การตรวจคัดกรองที่มีประสิทธิภาพเช่นด้วยวิธีแมมโมแกรม (mammogram) โดยแนะนำที่อายุ 40 ปี จึงพบมะเร็งเต้านมในระยะต้นมากขึ้น มีผลให้อัตราการเสียชีวิตลดลงโดยเฉพาะอย่างยิ่งในช่วงปลายทศวรรษที่ 20 นี้ ความสำคัญมะเร็งเต้านมคือแต่ละชนิดจะมีความแตกต่างกันเช่น อุตบัติการณ์การเกิดโรค ช่วงอายุที่เกิดโรค เชื้อชาติ พันธุกรรม การเกิดโรคกลับซ้ำในช่วง 3 ปีแรกหรือหลังจากนั้น และการพยากรณ์ของโรคที่มีความแตกต่างกัน การรักษาเสริมหลังการผ่าตัดมะเร็งสามารถกำเนิดจากท่อน้ำนม (ductal) และจากส่วนปลายท่อน้ำนมที่สร้างน้ำนม (lobular) ส่วนผู้ชายมีอุบัติการณ์เกิดประมาณร้อยละ 0.4-1.1 ของมะเร็งในผู้ชายทั้งหมด

เป็นที่ทราบกันแล้วว่ามะเร็งเต้านมสามารถแบ่งชนิดตามพยาธิวิทยาจากการย้อมอิมมูโนฮิสโตเคมีหลักๆได้ 3 ชนิดคือ

1. เซลล์มะเร็งที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมน เอสโตรเจน และ/หรือ โปรเจสเตอโรน (estrogen receptor (ER) and/or progesterone receptor (PR) positive) และ HER – 2 negative ซึ่งพบได้ประมาณร้อยละ 60-70 ซึ่งมีอุบัติการณ์สูงสุด การพยากรณ์ของโรคดีที่สุด เมื่อแพร่กระจายส่วนใหญ่ มักจะไปที่กระดูก (bone and soft tissue) มากกว่าอวัยวะภายใน (visceral organ) อื่นๆ ตอบสนองต่อการรักษาเสริมด้วยยาต้านฮอร์โมน (adjuvant hormonal treatment) ถ้าตรวจเพิ่มเติมด้วย gene expression profile (จะกล่าวช่วงหลังต่อไป) สามารถออกได้เป็น 2 กลุ่มย่อยคือ

1.1 กลุ่มลูมินัล เอ (luminal a) ซึ่งหมายถึง กลุ่มที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเอสโตรเจน และ/หรือโปรเจสเตอโรนที่มีค่าสูง โดยที่มีค่ามากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 80 ขึ้นไป โดยที่มีตัวรับสัญญาณเฮอรัทู (ER/PR Strongly Positive/HER2 negative) ซึ่งในกลุ่มนี้มีการพยากรณ์โรคดีที่สุด

1.2 กลุ่มลูมินัล บี (luminal b) กลุ่มที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเอสโตรเจนหรือโปรเจสเตอโรน ให้ผลบวกที่ไม่สูงมาก และพบว่ามี EGFR ที่จำนวนมากขึ้น มีการพยากรณ์ที่แยกว่ากลุ่มลูมินัล เอ

2. เซลล์มะเร็งที่ตรวจพบว่ามีตัวรับสัญญาณเฮอรัท (HER-2/neu receptor positive) ซึ่งพบได้ประมาณร้อยละ 15-20 ของมะเร็งเต้านมทั้งหมด โดยมีดำเนินโรคที่รุนแรงและการพยากรณ์ของโรคแยกว่ากลุ่มที่ไม่มี พบว่าการแพร่กระจายนั้น ส่วนใหญ่มักจะไปที่ยอวัยวะภายในสำคัญ เช่น สมอง (central nervous system, CNS) ตับ (liver) ปัจจุบันมีการรักษาโดยใช้ยาต้านเฮอรัท (anti-HER2 Therapy) ซึ่งเป็นยารักษาเป้าตรง (targeted therapy) เป็นการรักษามาตรฐาน เช่น trastuzumab

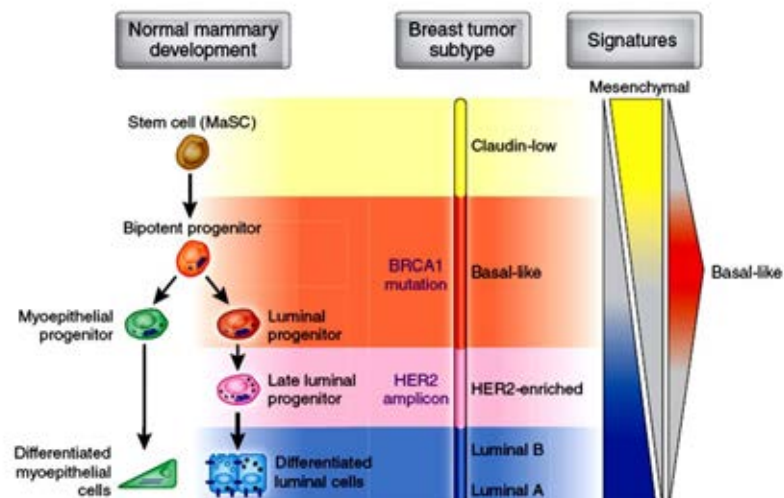
3. เซลล์มะเร็งที่ไม่พบทั้งฮอร์โมนและยีนมะเร็งเฮอรัท (triple negative breast cancer) หรือทริปเปิลเนกาตีฟ ซึ่งพบได้ประมาณร้อยละ 10-15 ของมะเร็งเต้านมทั้งหมด เป็นกลุ่มที่มีการพยากรณ์ของโรคที่แยกว่ากลุ่มเซลล์มะเร็งที่มีตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจนและ/หรือโปรเจสเตอโรน โดยปัจจัยที่พบ ได้แก่ การตั้งครวรรค์ครั้งแรกที่อายุน้อย [4] จำนวนบุตรมากการใช้ยาคุมชนิดรับประทานขณะอายุน้อยกว่า 40 ปี [5] อายุน้อยขณะวินิจฉัย [6, 7] น้ำหนักมาก [8, 9] พบมากในเศรษฐกิจต่ำ [10] และมีโรคร่วมอื่น เช่น เบาหวาน ไตรกลีเซอไรด์สูง หรือไขมันชนิดเฮชดีแอลต่ำ [11] ปัจจัยอื่นๆ เช่น เชื้อชาติผสมระหว่างแอฟริกัน-อเมริกัน [12, 13], หรือเชื้อชาติฮิสพานิก (hispanic ethnicity) [14] โดยพบว่า มีการกลับเป็นซ้ำของก้อนมะเร็งสามารถลุกลามไปยังอวัยวะที่สำคัญต่างๆที่ไม่ใช่กระดูกได้มากกว่ากลุ่มที่มีฮอร์โมน เช่นที่ สมอง (CNS metastasis) ร้อยละ 30 เทียบกับร้อยละ 10 ,ที่ปอด (pulmonary metastasis) ร้อยละ 40 เทียบกับร้อยละ 20 [15] โดยเฉพาะอย่างยิ่งใน 3 ปีแรก และมักจะเสียชีวิตภายใน 5 ปีแรกที่สูงกว่า [16, 17] แต่ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างก้อนมะเร็งกับการกระจายไปที่ต่อมน้ำเหลือง

ในปัจจุบันเมื่อวิทยาการและเทคโนโลยีมีความก้าวหน้ามากขึ้นซึ่งสามารถตรวจ molecular profiling หรือ gene-expression profiling โดยวิธีการทำ microarrays ซึ่งจากการวิจัยคัดเลือกมา 496 intrinsic gene ทำให้เราสามารถจำแนกผู้ป่วยออกได้มากขึ้นวัตถุประสงค์ที่แท้จริงนั้นเพื่อการรักษาได้ถูกต้องแม่นยำมากที่สุดโดยเฉพาะในระยะแรก (early Stage) ทำให้แบ่งได้เป็น 4 กลุ่ม [18] ดังนี้

- Estrogen receptor(ER) positive หรือ luminal – like โดยที่มี ESR1-related genes และมักตรวจพบ luminal cytokeratins และ marker ของ luminal epithelial cells ของ normal breast สามารถแบ่งย่อยได้อีก ดังนี้
 - luminal A : ER positive (strong level) และ การเปลี่ยนแปลงลักษณะของเซลล์ค่อนข้างดี (low grade)
 - Luminal B : ER positive (low level) และ การเปลี่ยนแปลงลักษณะของเซลล์ชนิดที่รุนแรง (high grade)
- HER 2 positive กลุ่มที่มีการขยายเพิ่มของยีน HER 2
- Basal-like เป็นส่วนหนึ่งมะเร็งเต้านมชนิดที่มีลักษณะทางอิมมูโนฮิสโตเคมีคล้ายกับชนิดทริปเปิลเนกาติฟ(ER negative, PR negative, HER 2 negative tumor) ซึ่งเป็นกลุ่มที่มักพบ gene ที่จำเพาะกับ myoepithelial cell และ basal keratin ได้แก่ cytokeratin(CK)5/6, CK14, CK17 ให้ผลบวก มี EGFR ให้ผลบวกร้อยละ 50 - 60 มีค่า Ki67 ที่สูง และ p53 expression ร้อยละ 80 แต่ CK 8/18 ให้ผลลบ เราสามารถตรวจพบเซลล์ที่ติดสีเหล่านี้ได้โดยการย้อมทางอิมมูโนฮิสโตเคมี (จะกล่าวช่วงหลังต่อไป)
- Normal like breast cancer

ปัจจุบันประเทศไทยยังไม่มีบริการตรวจ gene expression profile แต่อาจมีเพียงการศึกษาวิจัยเท่านั้น ฉะนั้นปัจจุบันมาตรฐานการตรวจในทางคลินิกยังคงเป็นการย้อมสีพิเศษอิมมูโนฮิสโตเคมีเท่านั้น

เมื่อการศึกษาไม่นานมานี้ พบว่าเซลล์ต้นกำเนิดของมะเร็งเต้านมแต่ละชนิด มาจากเซลล์ต้นกำเนิดเดียวกัน (stem cell) แต่แตกต่างกันในแต่ละช่วงของเวลาที่เกิด เช่น ในกรณีกลุ่ม TNBC ในกลุ่ม claudin-low จะเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงตั้งแต่จากสเต็มเซลล์เป็นเซลล์มะเร็ง เนื่องจากสเต็มเซลล์มีการหยุดการเจริญเติบโตตั้งแต่ในช่วงระยะต้น ส่วนในกรณีของกลุ่มที่มีตัวจับฮอร์โมน ER PR หรือ HER2 นั้นได้มีการเปลี่ยนแปลงของเซลล์มาในระยะกลางคือเริ่มเปลี่ยนเป็นระยะ luminal progenitor ดังรูป 2.1



ภาพที่ 2.1 แสดงเซลล์ต้นกำเนิดของมะเร็งเต้านมในแต่ละชนิด[18]

มะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาตีฟ (triple-negative breast cancer: TNBC)

จากคำจำกัดความของมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาตีฟ คือ การที่เซลล์มะเร็งเต้านมที่ไม่แสดงถึงตัวรับสัญญาณที่สำคัญ 3 ชนิด คือ estrogen receptor (ER), progesterone receptor (PR), HER - 2 receptor ซึ่งพบได้ประมาณร้อยละ 15-20 ของประชากรของมะเร็งเต้านมทั้งหมด โดยที่มักมีความสัมพันธ์กับการผิดปกติของยีน (gene) มากกว่าเซลล์มะเร็งเต้านมชนิดอื่น เช่น การกลายพันธุ์ของยีน BRCA

ปัจจัยเสี่ยงและระบาดวิทยา

จากการศึกษาทางระบาดวิทยาพบว่า มะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาตีฟ มีปัจจัยเสี่ยงดังต่อไปนี้ [12]

- เชื้อชาติแอฟริกัน – อเมริกัน (African - American)
- เชื้อชาติ ฮิสพานิก (Hispanic) หรือกลุ่มชนชาติสเปนและโปรตุเกส
- วัยก่อนหมดประจำเดือน (premenopausal woman)
- ตั้งครรภ์แรกขณะอายุน้อย (younger in first time pregnancy and earlier age of onset)

- มีประวัติการตั้งครรภ์มาก (higher levels of parity)
- ผู้หญิงที่มีสัดส่วนของเอวเทียบกับสัดส่วนของสะโพกมีค่าสูง (elevated waist to hip ratio; both pre and postmenopausal women)
- มีประวัติการเลี้ยงลูกด้วยนมเป็นระยะเวลาสั้น (shorter duration of breastfeeding)

โดยเฉพาะอย่างยิ่งถ้าเป็นกลุ่ม เชื้อชาติแอฟริกัน - อเมริกัน และเป็นวัยก่อนหมดประจำเดือน จะมีความเสี่ยงสูงขึ้นถึง 27% - 47%[4, 9] แต่อย่างไรก็ตามความสัมพันธ์ดังกล่าวยังไม่ชัดเจนในกลุ่มประชากรในแถบเอเชียหรือในประเทศไทย

ลักษณะทางพยาธิวิทยา และชีววิทยาระดับโมเลกุล

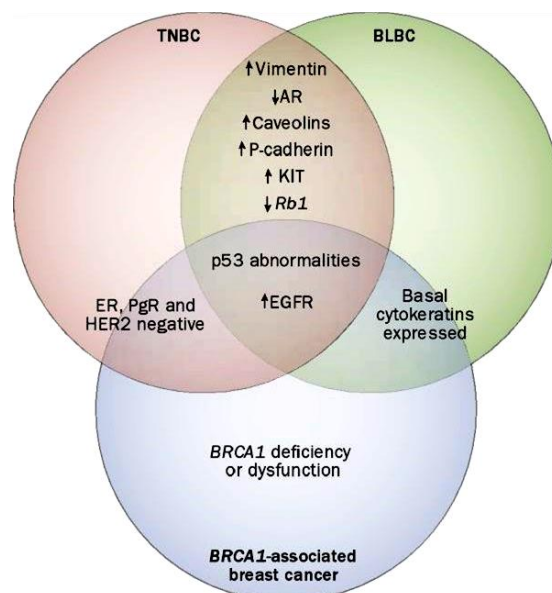
มะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาติฟมีลักษณะทางพยาธิวิทยา[19]คือ

- high histological grade (poorly differentiation) โดยเฉพาะ grade III
- elevated mitotic count
- scant stromal content
- geographic central necrosis และ multiple apoptotic cells
- pushing margin of invasion
- stromal lymphocytic response
- large mass at presentation

ตามที่กล่าวเบื้องต้น ยังไม่มีชีวโมเลกุลชนิดใดที่เฉพาะเจาะจงต่อมะเร็งเต้านมชนิด TNBC ปัจจุบันจึงนอกเหนือจากยาเคมีบำบัดแล้ว ยัง ไม่มีการรักษาเสริมใดๆที่เฉพาะเจาะจงเหมือนมะเร็งเต้านมชนิดอื่น มีการศึกษาพบว่าถ้าแบ่งกลุ่มมะเร็งเต้านมโดยใช้วิธีชีวโมเลกุล gene expression profile เราสามารถจะพบว่ากลุ่มมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาติฟสามารถแบ่งได้ 2 กลุ่มย่อยคือ Basal-like breast cancer (BLBC) หรือ Basal Phenotype (BP) และ non basal-like triple negative breast cancer (TNBC) ได้ โดยที่ทั้งสองกลุ่มยังคงแยกกันไม่ได้ ชัดเจนทั้งหมด มี

ประมาณร้อยละ 71 ของ TNBC เป็น BLBC และประมาณร้อยละ 77 ของ BLBC เป็น TNBC โดย BCBL มักจะมีการแสดงออกที่ตัวของเซลล์เช่นผิวเซลล์ เช่น Cytokeratin (high molecular weight)5/6 CK14 CK17 EGFR vimentin E-cadherin fascin caveolin - 1 และ 2 alpha-B crystalline C-kit myoepithelial marker เช่น smooth muscle antigen (SMA) p63 CD10[16]รูปที่ 2.2 กลุ่ม BLBC นั้นสามารถพบ hormonal receptor หรือ HER2 overexpression ได้ถึงร้อยละ 20[20] แต่กลุ่ม TNBC มักจะไม่มีแสดงออกของตัวรับสัญญาณเหล่านี้ โดยพบว่ากลุ่ม BLBC จะมีการพยากรณ์ของโรคที่แยกว่ากลุ่มTNBC[21] การบอกว่า TNBC เป็นการ classified ด้วยการย้อมด้วยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมี ส่วน BLBC ต้องใช้ biomarker หลายชนิดจึงจะแยกแยะได้ เช่นการย้อม myoepithelial marker ยังคงใช้ในเฉพาะห้องทดลองเท่านั้น

ยังพบความสัมพันธ์ระหว่าง BRCA mutation กับกลุ่มมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาติฟ ทั้ง BCBL และ TNBC ประมาณร้อยละ 20 (BRCA1 mutation ร้อยละ 16, BRCA2 mutation ร้อยละ 4) เมื่อเทียบกับ non - TNBC ซึ่งมีประมาณร้อยละ 5-6 [22] และความสำคัญคือพบว่าถ้า BRCA mutation พบว่ามีระยะปลอดโรค (recurrence free survival, RFS) และระยะการรอดชีวิต (overall survival, OS) ที่ดีกว่า BRCA wide type [19](รูปที่ 2.2)



ภาพที่ 2.2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง BRCA1, basal phenotype และ TNBCs

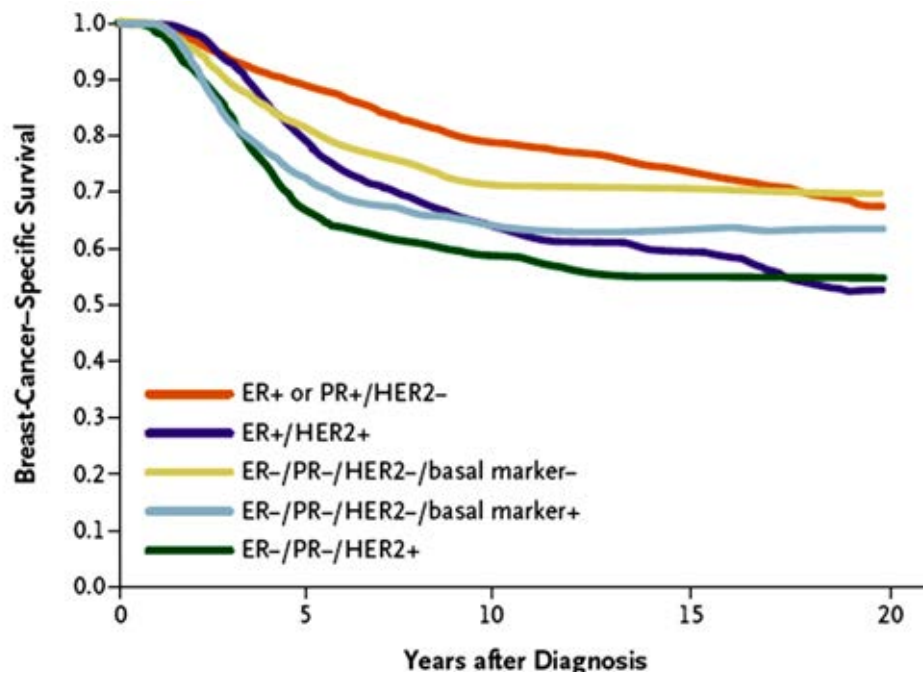
และในปัจจุบันพบมะเร็งเต้านมชนิดที่ 6 คือ claudin low ซึ่งอยู่ในกลุ่มมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาติฟเหมือนกัน แตกต่างกันที่ย่อมไม่ติดสีของ epithelial cell-cell adhesion gene คือ claudin 3,4,7 และ E-cadherin หรือ differentiated luminal cell surface markers คือ EpCAM และ MUC1 แต่จะมีการพบตรวจพบ epithelial-to-mesenchymal transition maker (EMT) และ cancer stem cell-like feature (CD44 positive, CD24 negative) และ expression ของ aldehyde dehydrogenase1 (ALDH1A1) และมีการพยากรณ์ของโรคที่ต่ำกว่า TNBC กลุ่มอื่นๆ

ถึงแม้ปัจจุบันนั้นมีการศึกษาถึงระดับโมเลกุลมากมายเพิ่มขึ้น แต่ในทางคลินิกนั้นการรักษาของมะเร็งเต้านมชนิดนี้ไม่แตกต่างกัน คือการรักษาโดยใช้เคมีบำบัดเป็นหลัก

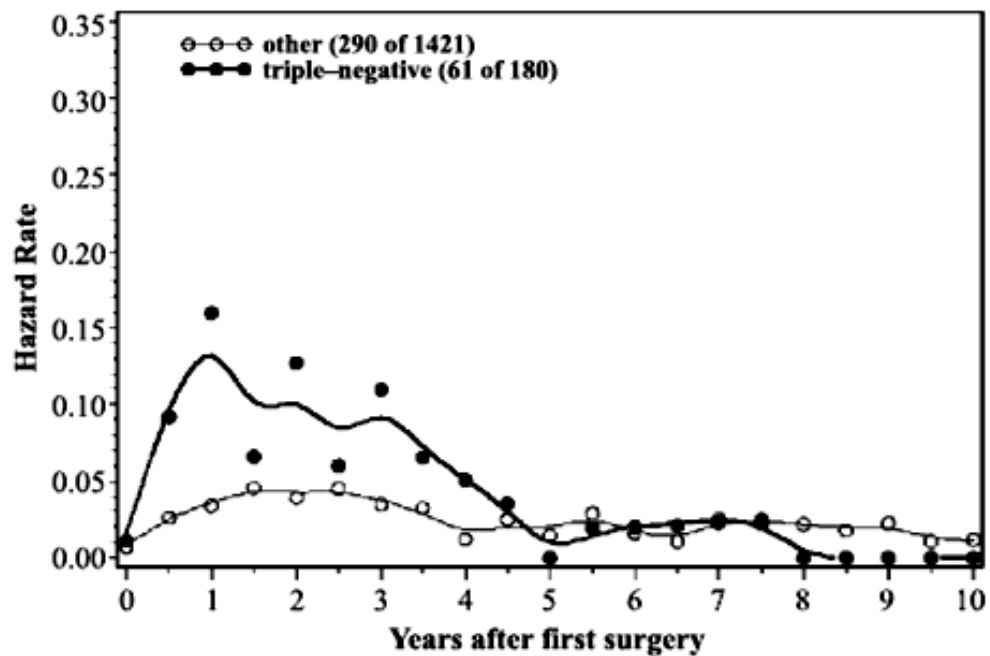
ลักษณะทางธรรมชาติและการดำเนินของโรค (natural History)

เป็นที่ทราบกันแล้วว่ามะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาติฟ เป็นกลุ่มที่มีการพยากรณ์ของโรคที่แย่กว่า (รูปที่ 2.3) และมีการกลับเป็นซ้ำ (recurrence) ที่เร็วและรุนแรงมากกว่า กระจายสู่อวัยวะภายในที่สำคัญมากกว่า เมื่อเทียบกับกลุ่ม hormonal receptor positive [14, 23-25] (รูปที่ 2.5) พบว่าสามารถกระจายสู่ระบบประสาทส่วนกลางตั้งแต่ครั้งแรกของการกลับเป็นซ้ำถึงร้อยละ 14 [26, 27] เนื่องจากการที่โรครุนแรงกว่าชนิดอื่นโดยการที่กลับมาเป็นโรคซ้ำที่รุนแรงกว่าโดยที่มี Hazard ratio(HR) เท่ากับ 2.6 และอัตราการเสียชีวิตที่สูงกว่า hazard ratio เท่ากับ 3.2 [28] แต่การรักษายังมีเฉพาะยาเคมีบำบัด โดยยังไม่มี การรักษาเสริมใดๆมาที่ได้ประโยชน์ชัดเจนอย่างเช่น anti-HER2 therapy ในมะเร็งเต้านมชนิดที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนในกรณียา anti-hormonal therapy สำหรับมะเร็งที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเอสโตรเจนและ/หรือโปรเจสโตโรน

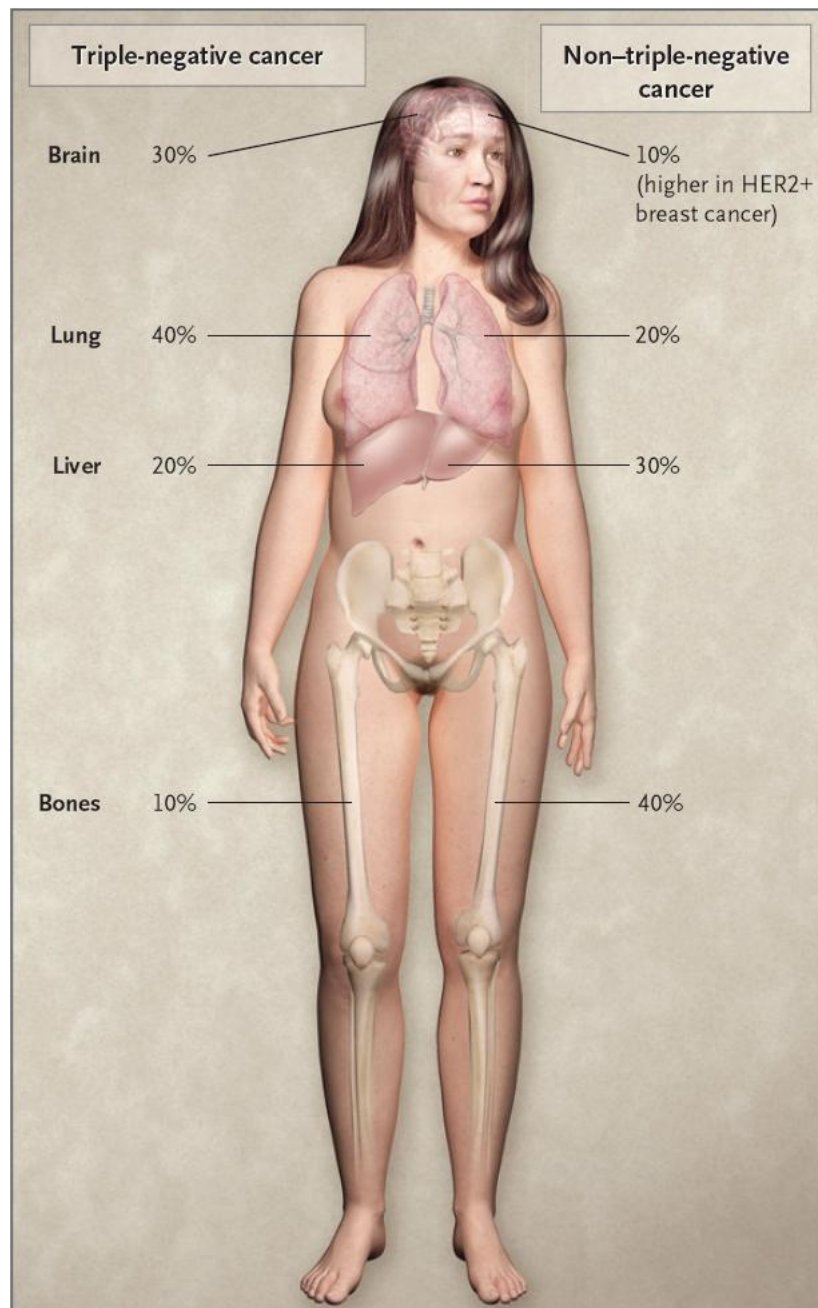
ลักษณะกราฟโอกาสการอยู่รอดของมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาติฟทั้ง BLBC และ TNBC จะต่ำในช่วง 3 – 5 ปีแรกหลังจากได้รับการวินิจฉัย และหลังจากนั้นจะลดลงมาก และที่ 10 ปี การกลับมาเป็นซ้ำของโรคจะต่ำกว่ากลุ่มมะเร็งที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเอสโตรเจน รูปที่ 2.4 [15]



ภาพที่ 2.3 แสดงการอัตราเสียชีวิตจากโรคมะเร็งเต้านมในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่เป็นและไม่ใช่ชนิดทริปเปิลเนกาตีฟ



ภาพที่ 2.4 แสดงการกลับเป็นซ้ำในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่เป็นและไม่ใช่ชนิดทริปเปิลเนกาตีฟ



ภาพที่ 2.5 แสดงการลุกลามหรือการกลับมาเป็นซ้ำครั้งแรกในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่เป็นชนิด
ทริปเปิลเนกาตีฟ[15]

การรักษา (treatment) และการตอบสนองต่อการรักษา (response)

การรักษาหลักคือการผ่าตัดเต้านม ไม่พบว่าการใช้ anti-HER - 2 หรือ hormonal therapy แล้วได้ประโยชน์เพราะฉะนั้นการรักษาเสริมที่เป็นมาตรฐานคือการให้ยาเคมีบำบัด ทั้งก่อน/หลังการผ่าตัด (neoadjuvant/adjvant chemotherapy) และที่สำคัญคือยังไม่มีสูตรเคมีบำบัดใดเป็นสูตรรักษามาตรฐาน แต่พบว่ากลุ่มนี้ มักตอบสนองโดยก้อนมะเร็งมีขนาดเล็กลงต่อการให้ยาเคมีบำบัดมากกว่ากลุ่มอื่น โดยตอบสนองได้ดีกับยาสูตรมาตรฐานหลักทั่วไป คือ anthracyclin-based, taxane-based มีรายงานว่าถ้าได้รับเคมีบำบัดเป็นแบบ neoadjuvant chemotherapy พบว่ามี การตอบสนองต่อชิ้นเนื้อโดยสมบูรณ์ (pathological complete remission, pCR) ได้ถึงร้อยละ 20 - 30 เมื่อเทียบกับร้อยละ 5 - 10 ในกลุ่มที่ไม่ใช่ทริปเปิลเนกาติฟ และพบว่าถ้าได้ pCR แล้วมีแนวโน้มที่จะได้ผลลัพธ์ที่ดีกว่ากลุ่มที่มีเซลล์มะเร็งเหลืออยู่ (residual, non - pCR) เช่น การศึกษาของ Liedtke และคณะ[14] พบว่าอัตราการรอดชีวิตที่ 3 ปีเท่ากับร้อยละ 94 เทียบกับร้อยละ 68 (P = 0.001) และพบว่าถ้าไม่ตอบสนองต่อยาสูตรแรกแล้วก็มีอัตราการรอดชีวิตน้อยกว่ากลุ่มอื่น[29] จากการศึกษาของ Haffty และคณะ พบว่ากลุ่ม TNBC มีการพยากรณ์ของโรคที่รุนแรงกว่ากลุ่มอื่น กล่าวคือ ได้ทำการศึกษาในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งเต้านมในระยะแรก (early stage) ที่ได้รับการรักษาหลักโดยการผ่าตัดเต้านมแบบอนุรักษ์ (หรือแบบเก็บเต้านมไว้) (breast conserving surgery) พบว่ากลุ่ม TNBC มีอัตราการปลอดการแพร่กระจายของโรค (distance metastatic free) น้อยกว่ากลุ่ม non - TNBC เท่ากับร้อยละ 67 เทียบกับร้อยละ 82 [30] และนอกเหนือจากนั้นแล้วการศึกษานี้เองพบว่า มะเร็งเต้านมชนิด TNBC มีความสัมพันธ์กับความผิดปกติของยีน บีอาร์ซีเอ วัน (BRCA1) ด้วย

ส่วนการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดในกลุ่มแทกเซน (taxane) มีการศึกษาแบบย้อนหลัง (retrospective data) รายงานถึงการตอบสนองที่ดีต่อยาในกลุ่ม taxane คือ docetaxel และ paclitaxel จากการวิเคราะห์การศึกษา CALGB 9344 [31] โดยที่ระยะของโรคของมะเร็งที่เข้า การศึกษาจะมีกระจายสู่ต่อมน้ำเหลือง (lymph node involvement) และได้รับการผ่าตัด และมารับ ยาเคมีบำบัด (adjuvant) แบ่งเป็น 3 กลุ่ม คือ โดยแต่ละกลุ่มประกอบด้วย doxorubicin 60, 75 และ 90 มิลลิกรัมต่อตารางเมตร ร่วมกับ cyclophosphamide 600 มิลลิกรัมต่อตารางเมตร และตามด้วย paclitaxel 175 มิลลิกรัมต่อตารางเมตร ซึ่งผลการศึกษาพบว่ากลุ่ม มะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาติฟได้ประโยชน์คือช่วยยืดเวลาการปลอดโรค (DFS) ได้ยาวนานขึ้น (P = 0.002) และการศึกษา NSABP - B27 [32] ได้สนับสนุนเช่นกันการตอบสนองต่อการได้รับยาแทกเซนเช่นกัน คือ การให้ยาเคมีบำบัดก่อนการผ่าตัด (neoadjuvant therapy) จำนวน 2411 คน โดยแบ่งการศึกษาเป็น 3 กลุ่ม

คือ กลุ่มที่ 1 : anthracyclin - cyclophosphamide (AC) → ผ่าตัด ส่วนกลุ่มที่ 2.ให้ยา AC → docetaxel → surgery, กลุ่มที่ 3.ให้ยา AC → surgery → docetaxel ผลของการศึกษาที่ได้ประโยชน์คือ clinical complete response (cCR) ร้อยละ 63.6 เทียบกับร้อยละ 40.1 ($p < 0.001$), overall response rate (ORR) ร้อยละ 90.7 เทียบกับร้อยละ 85.5 ($P < 0.001$) แต่การศึกษานี้ไม่ได้แยกกลุ่มเฉพาะ TNBC [32] ส่วนการศึกษา FNCLCC PACS 01 [33] ซึ่งเป็นการให้ยาเคมีบำบัดหลังการผ่าตัด เปรียบเทียบ 2 กลุ่มคือระหว่าง fluorouracil epirubicin cyclophosphamide หรือ FEC จำนวน 6 รอบ และ FEC จำนวน 3 รอบและตามด้วยยา docetaxel อีก 3 รอบ จากการวิเคราะห์กลุ่มย่อย (subgroup analysis) พบว่า ER และ/หรือ PR negative ที่ได้รับ docetaxel มีค่า disease free survival (DFS) ได้ดีกว่ากลุ่มที่ไม่ได้ยา taxane ซึ่งกล่าวโดยสรุปคือ ยาในกลุ่ม taxane ถือว่าอาจมีประโยชน์มากขึ้นในกลุ่มมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาติฟได้ อย่างไรก็ตามถึงแม้ข้อมูลที่พบถึงแม้จะตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดแต่การพยากรณ์ที่แยในกลุ่ม TNBC นี้ยังคงสูงกว่ากลุ่มอื่น จากการศึกษาของ Carey และคณะ พบว่าเมื่อผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาด้วย neoadjuvant treatment พบว่า TNBC มี pCR ร้อยละ 27 ซึ่งมากกว่ากลุ่ม hormonal receptor positive คือร้อยละ 7 ($p = 0.01$) มี ORR ร้อยละ 85 เทียบกับ ร้อยละ 39 ในกลุ่ม luminal A และนอกเหนือจากนั้นแล้วในการศึกษานี้ยังพบว่าเมื่อพิจารณาถึงกลุ่มย่อย TNBC หลังจากที่ได้ยาเคมีบำบัดก่อนการผ่าตัดและไม่ได้ pCR มีการพยากรณ์ของโรคที่รุนแรงกว่ากลุ่มที่ได้ pCR เนื่องจากมีค่า likelihood ของการกลับมาเป็นซ้ำที่สูงมากกว่า[34]

จากการรวบรวมข้อมูลการใช้ยาเคมีบำบัดในมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาติฟ มีดังนี้ (ตารางที่ 1)

ยากกลุ่มแพลตินัม (platinum)

จากข้อมูลเดิมพบว่ายาในกลุ่มนี้ไม่มีประสิทธิภาพในมะเร็งเต้านมโดยรวม แต่ปัจจุบันเริ่มมีข้อมูลที่สนับสนุนว่าอาจมีการตอบสนองได้ดีในมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาติฟ จากการศึกษา ก่อนหน้านี้ที่เป็น preclinical study พบว่ามะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาติฟมี BRCA mutation สูงกว่ากลุ่มอื่นและมีการตอบสนองต่อยากลุ่ม DNA-damage (BRCAในเซลล์ทำหน้าที่เป็น tumor suppressor gene ซึ่งจะช่วยให้ซ่อมแซม DNA ที่ผิดปกติในกระบวนการ double-strand DNA break repaired) ฉะนั้นเมื่อให้ยาแพลตินัมซึ่งจะไปทำดีเอ็นเอผิดปกติไป ซึ่งจะช่วยให้การตอบสนองต่อการรักษาดีขึ้น จากการศึกษา จากการศึกษาโดย neoadjuvant cisplatin[34]พบว่ามี pCR 22% และ

response rate 64% และเมื่อใช้ยาคู่กับ bevacizumab มีแนวโน้มว่าจะมีผลการตอบสนองที่เพิ่มขึ้นถึง pCR 36%[35]

ตารางที่ 2.1 แสดงข้อมูลการใช้ยาเคมีบำบัดสำหรับมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาติฟ

<u>chemotherapy</u>	<u>No. of TNBC patients</u>	<u>pCR (%)</u>	<u>year</u>
<u>anthracycline/taxanes</u>			
T-FAC	22	45	2005
AC ± taxane	34	27	2007
FAC/FEC/AC	255	20	2008
AC-->taxol	45	34	2009
<u>cisplatin/carboplatin</u>			
Cisplatin 75/m ² every 21 days	28 (2 BRCA1 mutations)	22	2006
Epirubicin/cisplatin/fluorouracil with Taxol	30	40	2008
Cisplatin 75/m ² every 21 days	10 (all with BRCA1 mutations)	90	2008
Cisplatin 75/m ² every 21 days	25 (all with BRCA1 mutations)	72	2009
Infusional ECF x 6 cycles	17 (only 6 underwent surgery)	17	2008
Platinum + docetaxel ± AC	125	34	2009
Carboplatin every 4 weeks with weekly Taxol	12	67	2009
Cisplatin 30/m ² -epirubicin 50/m ² -taxol 120/m ² – weekly regimen + G-CSF	74	60	2010
<u>epothilones</u>			
Ixabepilone	42	19	2006

กลุ่ม epithelone analog

ปัจจุบันเนื่องจาก TNBC พบว่ามีการพยากรณ์โรคที่แย่ที่สุดจึงได้พยายามคิดค้นยาตัวใหม่ๆ มาใช้ ixabepilone ซึ่งเป็น epithelone analog ซึ่งจะจับกับ tubulin ทำให้ microtubule เสถียรและหยุดการสร้างของเซลล์และตายในที่สุด จากการศึกษานำมาใช้ในผู้ป่วย TNBC ระยะลุกลามที่เคยได้รับการรักษาด้วย taxane มาก่อน โดยใช้ ixabepilone 400mg/m² bid ร่วมกับ capecitabine 2000 mg/m² bid เทียบกับ capecitabine 2500 mg/m² พบว่าประสิทธิภาพเหนือกว่า (superior) โดยพบว่าการตอบสนอง (RR) เพิ่มจากร้อยละ 9 เป็นร้อยละ 27 และเพิ่มระยะเวลาปลอดการกระจายของโรค (median PFS) จาก 2.1 เดือนเป็น 4.1 เดือน (hazard ratio = 0.66) 95% CI เท่ากับ 0.53-0.93 ซึ่งมีนัยสำคัญทางสถิติ และในปี 2006 ได้นำยาชนิดนี้มาใช้เพื่อเป็น neoadjuvant treatment พบว่าได้ pCR ร้อยละ 20 ซึ่งใกล้เคียงกับยาเคมีตัวอื่นๆ[36]

กลุ่ม PARP1 inhibitor

PARP1 inhibitor เริ่มมีบทบาทตั้งแต่ปี 2009 หลักการคือ เนื่องจาก poly ADP ribose polymerase (PARP) เป็นเอนไซม์หนึ่งซึ่งมีหน้าที่ซ่อมแซมดีเอ็นเอที่ผิดปกติ และต้องทำงานร่วมกับ BRCA เพื่อให้กระบวนการซ่อมแซมสายดีเอ็นเอเหล่านั้นมีความสมดุล โดยพบว่า มะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาติฟมี mutation ของ BRCA ได้บอยนั้นทำให้หน้าที่ของ BRCA เสียไป และเมื่อใช้ยา PARP1 inhibitor ทำให้ไม่สามารถซ่อมแซมดีเอ็นเอได้ จึงได้มีการนำ PARP inhibitor มารักษา จากการทดลองเฟสที่ 2 olaparib 400 mg bid ในการรักษา มะเร็งเต้านมที่มี BRCA defect มีการตอบสนองถึงร้อยละ 49 และมีค่า mPFS เท่ากับ 5.7 เดือน [37] ส่วน iniparib (BSI201) [38] มีทดลองเฟสที่ 2 และ 3 ร่วมกับยาเคมีบำบัด carboplatin ร่วมกับ gemcitabine +/- iniparib โดยพบว่ามี clinical benefit rate (CBR) เท่ากับร้อยละ 62 เทียบกับ ร้อยละ 21 (p = 0.002) overall response rate ร้อยละ 48 เทียบกับร้อยละ 16 (P = 0.0002), mPFS 6.9 เดือนเทียบกับ 3.3 เดือน และ mOS 9.2 เดือน เทียบกับ 5.7 เดือน (HR = 0.348) (P = 0.0005)

นอกจากนี้ยังมีข้อมูลยาเป้าตรง (targeted therapy) ที่นำมาใช้คือ

1..anti-angiogenesis : bevacizumab

จากพยาธิวิทยาซึ่งมีลักษณะเป็น high vascularity แบบ glomeruloid microvascular proliferation และ focal endothelial tuft จึงมีสมมติฐานว่า ยาต้านการสร้างหลอดเลือด

(antiangiogenesis) น่าจะได้ประโยชน์โดยการศึกษาคีตา E2100 เป็นการศึกษาในระยะที่ 3 (Phase III study) โดยเป็นการรักษามะเร็งเต้านมระยะลุกลามสูตรแรก ที่เป็นกลุ่มที่ไม่มีฮอร์โมน โดยมี ER negative ร้อยละ 36 และ PgR negative ร้อยละ 50 ของทั้งหมด โดยเทียบระหว่างการให้ยา paclitaxel 90 mg/m² (368 ราย) อย่างเดียวเทียบกับ paclitaxel 90 mg/m² ร่วมกับ bevacizumab 10 mg/kg. (354 ราย) ซึ่งใน subgroup พบว่าสามารถเพิ่ม DFS จาก 8.0 เดือนเป็น 14.0 เดือน โดยที่ hazard ratio (HR) = 0.54 (P < 0.001) [39] และปัจจุบันเพื่อตอบคำถามว่ายา bevacizumab จะได้ประโยชน์หรือไม่ใน adjuvant setting จึงมี BEATRICE Trial [40] เพื่อตอบคำถาม โดยคำถามหลักของการวิจัยนั้นเพื่อดูว่า ระยะปลอดจากโรคจะมากขึ้นหรือไม่ แต่ยังคงอยู่ในช่วงทำการวิจัยอยู่

2.anti - EGFR : cetuximab

จากการที่ TNBC มีการแสดงออกของ EGFR สูงถึงร้อยละ 60 จึงได้นำยาในกลุ่มนี้มาทดลอง แต่ผลที่ได้พบคือได้เพียงการตอบสนองต่อตัวโรค แต่ผลลัพธ์ไม่ได้ ประโยชน์สำหรับ PFS และ OS ตามการศึกษาในระยะที่ 2 [41] TBCRC 001 trial (interim analysis) คนไข้ 102 คนเป็นมะเร็งเต้านมระยะลุกลาม ที่ส่วนใหญ่มี EGFR expression ที่ได้รับยา irinotecan ร่วมกับ carboplatin (AUC2) + cetuximab (250mg/m²) เทียบกับ cetuximab (250mg/m²) เพียงอย่างเดียว primary end point คือ objective response ซึ่งมีผลรายงานเบื้องต้น (interim analysis) พบว่า cetuximab อย่างเดียว มี RR, CBR, SD ร้อยละ 10, 10, 4 เทียบกับ cetuximab ร่วมกับยาเคมีบำบัด มี RR, CBR, SD ร้อยละ 18, 27, 9 ตามลำดับ [42] ซึ่งผลที่ได้ซึ่งเป็นการรายงานเบื้องต้นนั้น อาจพบว่ามีแนวโน้มในการตอบสนองต่อการรักษา (response rate) ได้ดีขึ้น แต่ยังไม่สามารถเพิ่ม PFS และ OS ได้

มะเร็งเต้านมกับการแสดงออกของโปรตีนพีเทน

ปัจจุบันนี้มีการศึกษาพบว่ามะเร็งเต้านมบางชนิด โดยเฉพาะมะเร็งเต้านม ชนิดที่มีตัวรับฮอร์โมน และที่ไม่พบทั้งฮอร์โมนและฮอร์โมน (TNBC) มีความสำคัญเนื่องจากเป็นโรคที่รุนแรงมากกว่ากลุ่มที่ hormonal receptor positive ซึ่งพบว่ามีความสัมพันธ์กับความผิดปกติในยีน (gene) คือ พบว่ามีการขาดหายหรือลดลงของโปรตีนพีเทน (PTEN) เมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์มะเร็งเต้านมชนิดอื่น หน้าที่ของ PTEN คือเป็น tumor suppressor gene ประกอบด้วยกรดอะมิโนจำนวน 403 ตำแหน่ง เป็นส่วนสำคัญในกลไกของ PI3K - Akt - mTOR pathway โดยมีทำหน้าที่ต้านเซลล์ที่สร้างผิดปกติขึ้นมาและมีโอกาสที่จะกลายเป็นเซลล์มะเร็ง ซึ่ง PTEN จะทำหน้าที่ยับยั้งการทำงานของ PI3K - Akt - mTOR pathway (ซึ่งปกติจะสมดุลกัน) กรณีถ้าไม่สมดุล เช่นโปรตีนพีเทนขาดหายหรือจำนวนลดลงอาจมีผลคือ เกิดการกระตุ้นของกลไก PI3K - Akt - mTOR pathway เกิดการ

แบ่งตัวของเซลล์ (proliferation) การที่เซลล์ไม่สลาย (anti-apoptosis) ทำให้เกิดเซลล์มะเร็งและแพร่กระจายในที่สุดได้ กระบวนการที่มีผลทำให้เกิดการไม่แสดงออกของโปรตีนพีเทน หรือยีนพีเทนไม่สามารถแสดงหน้าที่ได้ อาจเกิดจากการที่การกลายพันธุ์ของยีน (PTEN mutation) ซึ่งอาจมีมาตั้งแต่แรกเกิดหรือความผิดปกติของกรรมพันธุ์ (germline mutation) หรือผิดปกติหลังจากกำเนิดมาแล้ว (somatic mutation) หรืออาจเกิดจากการขาดหายไปของยีน (PTEN gene deletion) หรือเกิดจากความผิดปกติในการเปลี่ยนแปลงการทำงานของยีน โดยไม่มีการเปลี่ยนแปลงของลำดับเบสที่เป็นองค์ประกอบของสารพันธุกรรม ที่เรียกว่าอีพีเจเนติก (epigenetic) ซึ่งเป็นกลไกเกิดจากที่มีกลุ่มเมทิล (methyl group) มากขึ้นในตำแหน่งของช่วง DNA ก่อนถึงจุดเริ่มสังเคราะห์ mRNA หรือ promoter การที่มีการเกาะของกลุ่มเมทิลกับสารพันธุกรรม จะยับยั้งการทำงานของยีนนั้น กรณีที่มีความผิดปกติตำแหน่งนี้จึงเรียกว่า promoter hypermethylation จากการศึกษพบว่า การขาดหายของโปรตีนพีเทน ในมะเร็งเต้านมชนิดที่ไม่พบทั้งฮอร์โมนและยีนมะเร็งเฮอรัท (triple negative breast cancer) มีประมาณร้อยละ 30-48 [43]

โดยจากการศึกษาของ Palalares และคณะ ในปี 2005 [44] ได้มีการวิเคราะห์การไม่แสดงออกของโปรตีนพีเทนในเซลล์มะเร็งเยื่อบุโพรงมดลูก (endometrial carcinoma) โดยพบว่าเกิด PTEN mutation ร้อยละ 44.7 พบ PTEN gene deletion ร้อยละ 23.6 และ promoter hypermethylation ร้อยละ 13.0 และทั้งหมดนั้นมีซึ่งสัมพันธ์กับการขาดหายไปของโปรตีนพีเทน โดยการยับยั้งอิมมูโนฮิสโตเคมีแล้วมีผลเป็นลบ (PTEN negative)

เพราะฉะนั้น ถ้ามีความผิดปกติซึ่งเกิดจากโปรตีนพีเทนจึงเป็นส่วนทำให้เกิดเซลล์มะเร็งได้ และ ข้อมูลในปัจจุบัน เราสามารถพบความผิดปกติของการแสดงออกของโปรตีนพีเทนได้ในมะเร็งหลายชนิดเช่น มะเร็งเยื่อบุโพรงมดลูก (endometrial cancer) [45-48] มะเร็งปอด (lung cancer)[47, 48] มะเร็งตับ (hepatocellular carcinoma)[49, 50] มะเร็งสมองชนิด high grade glioma[51, 52] และมะเร็งลำไส้ใหญ่ (colon cancer)[53] แต่พบน้อยหรือไม่พบเลยในเซลล์มะเร็งบางชนิด เช่น มะเร็งรังไข่ (ovarian cancer)[54, 55] มะเร็งสมองชนิด low grade glioma และมะเร็งผิวหนังชนิดเมลาโนมา (malignant melanoma)[56]

ในปัจจุบันวิธีการตรวจการแสดงออกของโปรตีนมีหลากหลายวิธี วิธีการหนึ่งที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย คือการตรวจด้วยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมี (อย่างที่ใช้ในการศึกษา) แต่ในปัจจุบันยังไม่มีกระบวนการใดที่เป็นมาตรฐานในการตรวจการแสดงออกของโปรตีนพีเทน วิธีการนี้ที่ถูกใช้ในการศึกษาต่างๆอย่างหลากหลาย เช่น anti-PTEN monoclonal antibody ชนิด clone 6H2.1, clone

28H6 แต่ข้อแตกต่างที่สำคัญคือ การเลือกชนิดของแอนติบอดีที่ใช้ เช่น anti-PTEN monoclonal antibody ชนิด clone 6H2.1 มีการศึกษาในชั้นเนื้อจากมะเร็งของเยื่อบุโพรงมดลูกของ Pallares et al.[44] ที่พบว่า clone 28H6 มีความไวสูงถึงร้อยละ 93 ในกลุ่มที่ไม่แสดงออกของโปรตีนพีเทน และพบร้อยละ 80 ในกลุ่มที่แสดงออกของโปรตีนพีเทนและไม่ต่างกับแอนติบอดีชนิดอื่น และเหตุผลที่ผู้ทำวิทยานิพนธ์เลือกใช้ anti-PTEN monoclonal antibody ชนิด clone 28H6 เนื่องจาก เป็นชนิดที่ไวต่อการตรวจสอบได้ดีซึ่งไม่แตกต่างกับ monoclonal antibody ชนิดอื่น สามารถหาได้ง่ายและราคาไม่แพงซึ่งการศึกษานี้ได้บอกถึงความเกี่ยวข้อง และมีลักษณะที่สัมพันธ์กันกับความผิดปกติของยีนพีเทน กับการไม่แสดงออกของโปรตีนพีเทนได้

ส่วนในทางคลินิกพบว่า จากข้อมูลปัจจุบันมีการศึกษามากขึ้นในมะเร็งเต้านมชนิดเฮอรัท (HER2 positive breast cancer) กับโปรตีนพีเทนในแง่ของการตอบสนองต่อการรักษา [57] ซึ่งพบว่ากลุ่มที่ไม่แสดงออกของโปรตีนพีเทน มีการตอบสนองต่อยาทราสทูซูแมบ (trastuzumab) ซึ่งเป็นยาเป้าตรงชนิดโมโนโคลนอล แอนติบอดีต่อตัวรับสัญญาณเฮอรัท (anti - HER2 monoclonal antibody) นั้นลดลง แต่บทความดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าไม่มีความแตกต่างของการตอบสนองจากยาเคมีบำบัดชนิดแทกเซน คือ พาคลิแทกเซล (paclitaxel) จากการศึกษาไม่สามารถบอกเรื่องการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดได้

จากบทความต่าง ๆ ดังกล่าวข้างต้น แสดงให้เห็นว่าการขาดหายไปของโปรตีนพีเทนในโรคมะเร็งมีส่วนสำคัญ เพราะฉะนั้นโดยเฉพาะอย่างยิ่งในมะเร็งเต้านม แต่ทั้งหมดนั้นเป็นการศึกษาในประชากร caucasian ทั้งสิ้น ยังไม่เคยมีการศึกษาในประชากรของไทย ทางผู้วิจัยจึงต้องการศึกษาหาความชุกของการขาดหายไปของโปรตีนพีเทนในประเทศไทย จึงเป็นที่มาของการศึกษานี้

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

ประชากร

ประชากรเป้าหมาย (target population)

ผู้ป่วยหญิง ชาวไทยที่ได้รับการวินิจฉัยเป็นมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาติฟ

ประชากรที่ใช้ในการศึกษา (study population)

ผู้ป่วยสตรีชาวไทยที่ได้รับการวินิจฉัยมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาติฟของหน่วยมะเร็งวิทยา โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ตั้งแต่มีถุนายน พ.ศ.2549 ถึง ธันวาคม พ.ศ.2554

เกณฑ์ในการคัดเลือกผู้ป่วยเข้าการศึกษา (inclusion criteria)

1. ผู้หญิงอายุระหว่าง 18-80 ปี
2. ได้รับการวินิจฉัยทางพยาธิวิทยาว่าเป็นมะเร็งเต้านม
3. ได้รับการตรวจวินิจฉัยยืนยันโดยการทางพยาธิวิทยาโดยพยาธิแพทย์ ที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ด้วยการย้อมอิมมูโนฮิสโตเคมี
4. มีชิ้นเนื้อทางพยาธิวิทยาว่าเป็นมะเร็งเต้านมชนิดที่ไม่แสดงถึงฮอร์โมนเอสโตรเจน ฮอร์โมนโปรเจเรตโรนและเฮอร์ทูหรือทริปเปิลเนกาติฟ (triple negative breast cancer) ที่เหลือมากพอสำหรับการตรวจเพิ่มเติมได้ โดยการย้อมโปรตีนพีเทนเพิ่มเติม
5. มีข้อมูลการตรวจติดตามการรักษาหลังการได้รับยาเคมีบำบัดครบได้อย่างน้อย 1 ครั้ง และ/หรือประเมินการตอบสนองต่อการรักษาได้

เกณฑ์ในการคัดเลือกผู้ป่วยออกจากศึกษา (exclusion criteria)

1. ผู้ป่วยไม่ยินยอมเข้าการศึกษา

การคำนวณขนาดตัวอย่าง (sample size determination)

ใช้วิธีคำนวณขนาดตัวอย่างโดยสูตรหาขนาดตัวอย่างสำหรับการประมาณค่าสัดส่วนหรือร้อยละของกลุ่มเมื่อไม่ทราบจำนวนประชากรหรือประชากรมีขนาดใหญ่

- สูตร $n = \frac{Z^2 \alpha_{/2} PQ}{d^2}$
- n = จำนวนตัวอย่างที่คำนวณได้
- $Z\alpha = Z_{0.05} = 1.96$ (two tail) ที่ความเชื่อมั่น 95เปอร์เซ็นต์ (95% confidence interval)
- P = ความชุกของการไม่แสดงออกของโปรตีนพีเทนในผู้ป่วยมะเร็งเต้านม = 0.40
- Q = $1-P = 0.60$
- d = ค่าความคลาดเคลื่อนของความชุกที่ไม่เกินร้อยละ 25 ของค่า P คิดเป็นเท่ากับ 0.1
- $n = \frac{(1.96)^2 \times (0.4) \times (0.6)}{(0.1)^2} = 92$

จึงสรุปว่า ขนาดตัวอย่างที่ต้องการศึกษาเท่ากับ 92 ราย

วิธีการศึกษา

1. ซักประวัติ ตรวจร่างกาย โรคร่วม โรคประจำตัวเดิม การรักษาที่ได้รับ ตรวจสอบยาที่รับประทานอยู่ และบันทึกข้อมูล
2. นำชิ้นเนื้อทางพยาธิวิทยามาวิเคราะห์โดยวิธี tissue microarrays (TMA) เพื่อได้รับการวินิจฉัยโรคมะเร็งเต้านมชนิดที่ไม่แสดงถึงฮอร์โมนเอสโตรเจน ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนและฮอร์โมนโดยการย้อมอิมมูโนฮิสโตเคมี (immunohistochemistry)
3. นำชิ้นเนื้อทางพยาธิจากข้อ 2. นำมาย้อมทางอิมมูโนฮิสโตเคมี เพื่อดูการแสดงออกของโปรตีนพีเทนในเซลล์มะเร็ง
4. การวิเคราะห์ชิ้นเนื้อและแปลผลโดยแพทย์ผู้เชี่ยวชาญทางพยาธิวิทยาเพียงผู้เดียวเท่านั้น
5. นำข้อมูลที่ได้อ้อมวิเคราะห์

การเก็บรวบรวมข้อมูล

ข้อมูลทั้งหมดประกอบด้วยข้อมูลของผู้ป่วย ประวัติ การตรวจร่างกาย ข้อมูลของโรค ผลทางพยาธิวิทยา การดำเนินโรค การรักษา ผลการย้อมสีพิเศษ จะได้รับการลงบันทึกในแบบเก็บข้อมูล โดยผู้วิจัยเป็นผู้รวบรวม

การวิเคราะห์ข้อมูล

1. ความแตกต่างของตัวแปรแต่ละอย่าง นำมาคำนวณทางสถิติโดยใช้ chi-square test
2. คำนวณระยะเวลาปลอดโรค (disease free survival) หรือ ปลอดการลุกลามของโรค (progression free survival) ด้วยวิธี kaplan-meier และเปรียบเทียบ DFS/PFS curves ด้วย log-rank test
3. คำนวณค่าทางสถิติทั้งหมดด้วยโปรแกรม SPSS statistical software package version 16.0 (Statistical Package for Social Science, SPSS Inc., Chicago, IL)
4. ค่าความเชื่อมั่นร้อยละ 95 จะถือว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อ $p < 0.05$

วิธีการย้อมอิมมูโนฮิสโตเคมี (immunohistochemistry, IHC)

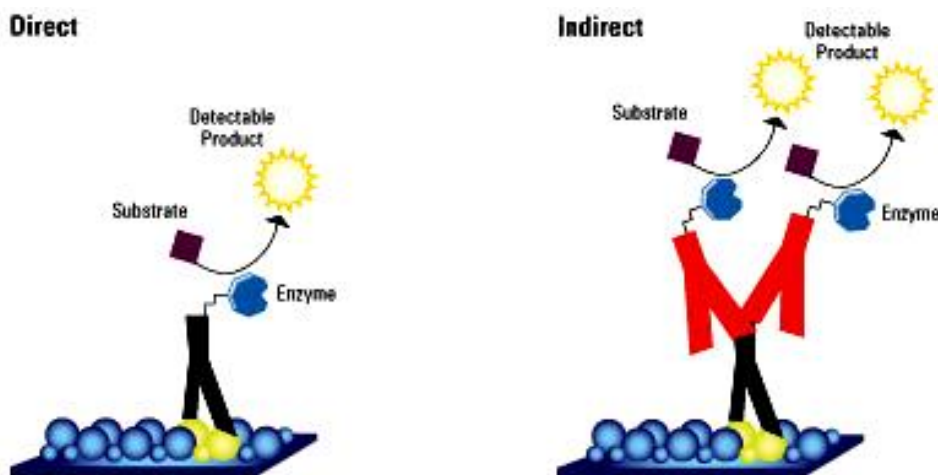
หมายถึงกระบวนการของการตรวจจับแอนติเจน (เช่น โปรตีน) ในเซลล์ของเนื้อเยื่อส่วนโดยการใช้ประโยชน์หลักการของแอนติบอดีที่มีผลสัมพันธ์เฉพาะกับแอนติเจน[58] ในเนื้อเยื่อทางชีวภาพอิมมูโนฮิสโตเคมีใช้ชื่อมาจากรากฐานคำว่า "อิมมูโน" การอ้างอิงถึงแอนติบอดีที่ใช้ในขั้นตอน และ "histo" หมายถึงเนื้อเยื่อการย้อมสีอิมมูโนวิทยาใช้กันอย่างแพร่หลายในการวินิจฉัยของเซลล์ที่ผิดปกติเช่นที่พบในเซลล์มะเร็ง เครื่องหมายโมเลกุลที่มีลักษณะเฉพาะของเซลล์ โดยเฉพาะเช่นการเจริญเติบโตของเซลล์ (proliferation) หรือการตายของเซลล์ (apoptosis) อิมมูโนฮิสโตเคมียังเป็นที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในการวิจัยพื้นฐานเพื่อทำความเข้าใจ biomarkers และ โปรตีนของเซลล์ที่แสดงออกในส่วนต่างๆของเนื้อเยื่อทางชีวภาพการปฏิสัมพันธ์ ของแอนติบอดี-แอนติเจนสามารถทำได้ในหลายวิธี ที่พบมากที่สุดคือการใช้แอนติบอดีเป็นตัวร่วม (conjugated) กับเอนไซม์เช่น เอมไซม์ peroxidase ที่ทำให้เกิดการเร่งปฏิกิริยาผลิตเป็นสีเกิดขึ้น

อัลเบิร์ต โคซและเพื่อนร่วมงานของเขา (Coons et al, 1941, Kaplan 1950) เป็นคนแรกที่แอนติบอดีที่มีฉลากสีเรืองแสงและใช้เพื่อระบุแอนติเจน ในส่วนของเนื้อเยื่อเกี่ยวกับการขยายตัวและการพัฒนาของเทคนิค immunohistochemistry เอนไซม์ได้รับการนำมาใช้ เช่น peroxidase และ alkaline phosphatase ยังได้รับการค้นพบและใช้ในการระบุปฏิกิริยาภูมิคุ้มกันวิทยาในระดับกล้องจุลทรรศน์ทั้งแสงและอิเล็กตรอน

หลักวิธีการแบ่งเป็น 2 วิธี (รูปที่ 3.1) ได้ดังนี้

1. วิธีทางตรง (direct method) โดยการใส่ แอนติบอดีที่จับ (conjugate) กับ enzyme (horse radish peroxidase หรือ alkaline phosphatase) มาจับกับแอนติเจน แล้วทำให้เกิดสี แต่ข้อเสียคือ วิธีการนี้จะมี sensitivity น้อย

2. วิธีทางอ้อม (indirect method) ใช้แอนติบอดีสองชนิด ชนิดที่ 1 คือ primary antibody ที่มีความจำเพาะต่อสิ่งที่ต้องการจะตรวจหาชิ้นๆ โดย ชนิดที่ 2 คือ secondary antibody จะ conjugate enzyme ไว้แล้ว วิธีการนี้ทำให้ sensitivity ดีขึ้น ประกอบด้วยวิธี unlabelled antibody method (Strept avidin-biotin technology, chain polymer-conjugate technology)



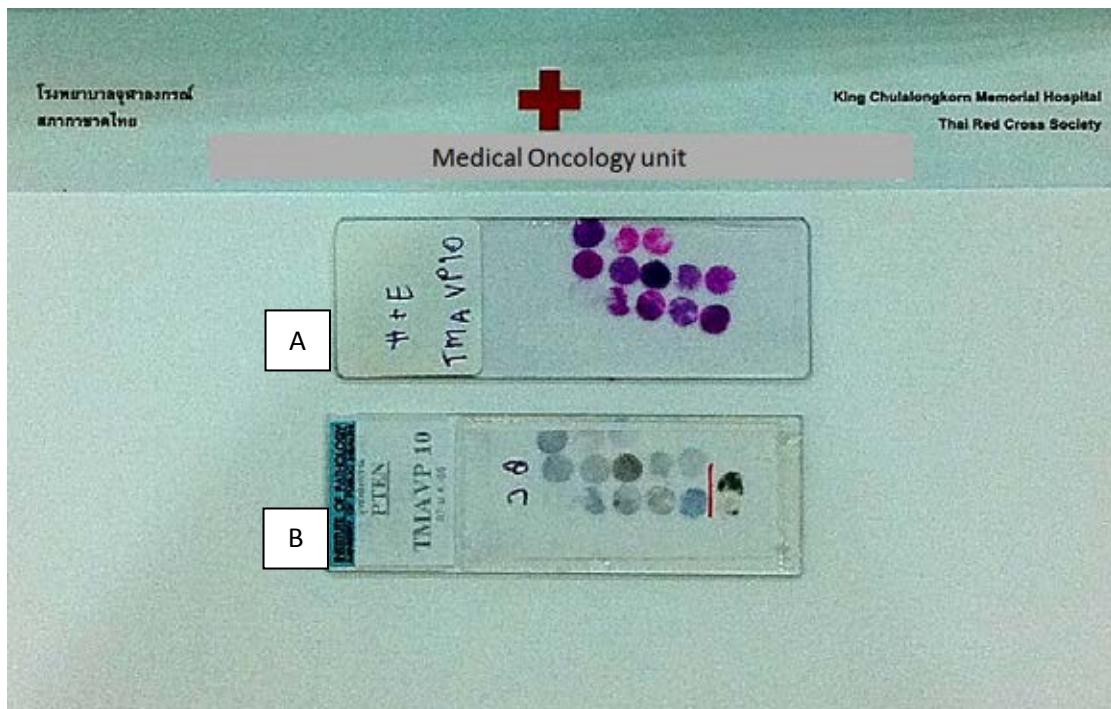
ภาพที่ 3.1 แสดงหลักการวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมี direct และ indirect method

สำหรับการวิจัยนี้ เลือกใช้วิธีการ รย้อมสีอิมมูโนฮิสโตเคมี แบบ indirect Method โดยมี ส่วนประกอบดังนี้คือ

- ชนิดของแอนติบอดี (antibody) mouse monoclonal antibody
- clone 28H6
- Ig class IgG1 Kappa
- แอนติเจน prokaryotic recombinant protein corresponding to a 200 amino acid C-terminal region of the human PTEN molecule
- positive control immunohistochemistry – tonsil
- staining pattern nuclear

ขั้นตอนอิมมูโนฮิสโตเคมี

1. ตัดชิ้นเนื้อจาก บล็อกพาราฟิน ขนาดความหนาประมาณ 5 ไมครอน
2. ละลายพาราฟินด้วยความร้อน 100 องศาเซลเซียส โดยใช้สารบัฟเฟอร์คือ TRIS-EDTA (pH 9.0) เป็นเวลา 30 นาที
3. นำ PTEN monoclonal antibody 1:300 มา incubated เป็นเวลา 40 นาที
4. ใช้ 3,3-diaminobenzidine tetrahydrochloride (DAB) 10 นาที ในการย้อมสี
5. counterstained โดย hematoxylin.
6. นำสไลด์ที่ได้ รูปที่ 3.2 นำมาวิเคราะห์โดยพยาธิแพทย์



ภาพที่ 3.2 แสดงสไลด์ tissue microarray (TMA) ชิ้นเนื้อโดยที่สไลด์ A ย้อม haematoxylin & eosin (H&E) และสไลด์ B ย้อม PTEN IHC

บทที่ 4

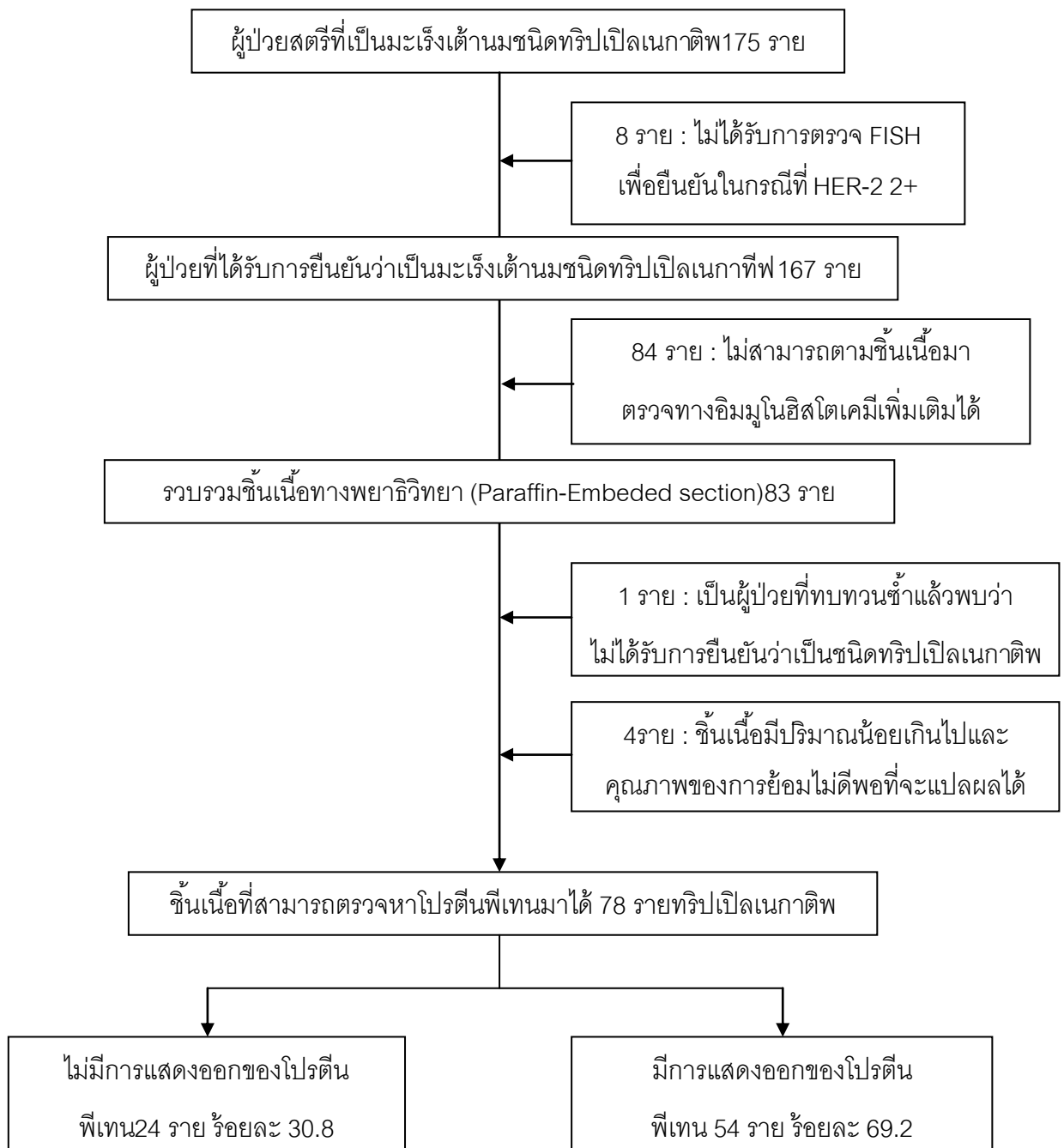
ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

การศึกษานี้เป็นการศึกษาแบบย้อนหลัง และติดตามผลต่อไปข้างหน้า (descriptive study of retrospective cohort) โดยมีวัตถุประสงค์หลัก คือ เพื่อหาความชุกของการขาดโปรตีน พีเทนในผู้ป่วยสตรีที่เป็นมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาติฟ โดย วิธีการตรวจด้วยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมี และ วัตถุประสงค์รองเพื่อศึกษาถึงการดำเนินโรค และผลการตอบสนองต่อการรักษาด้วย

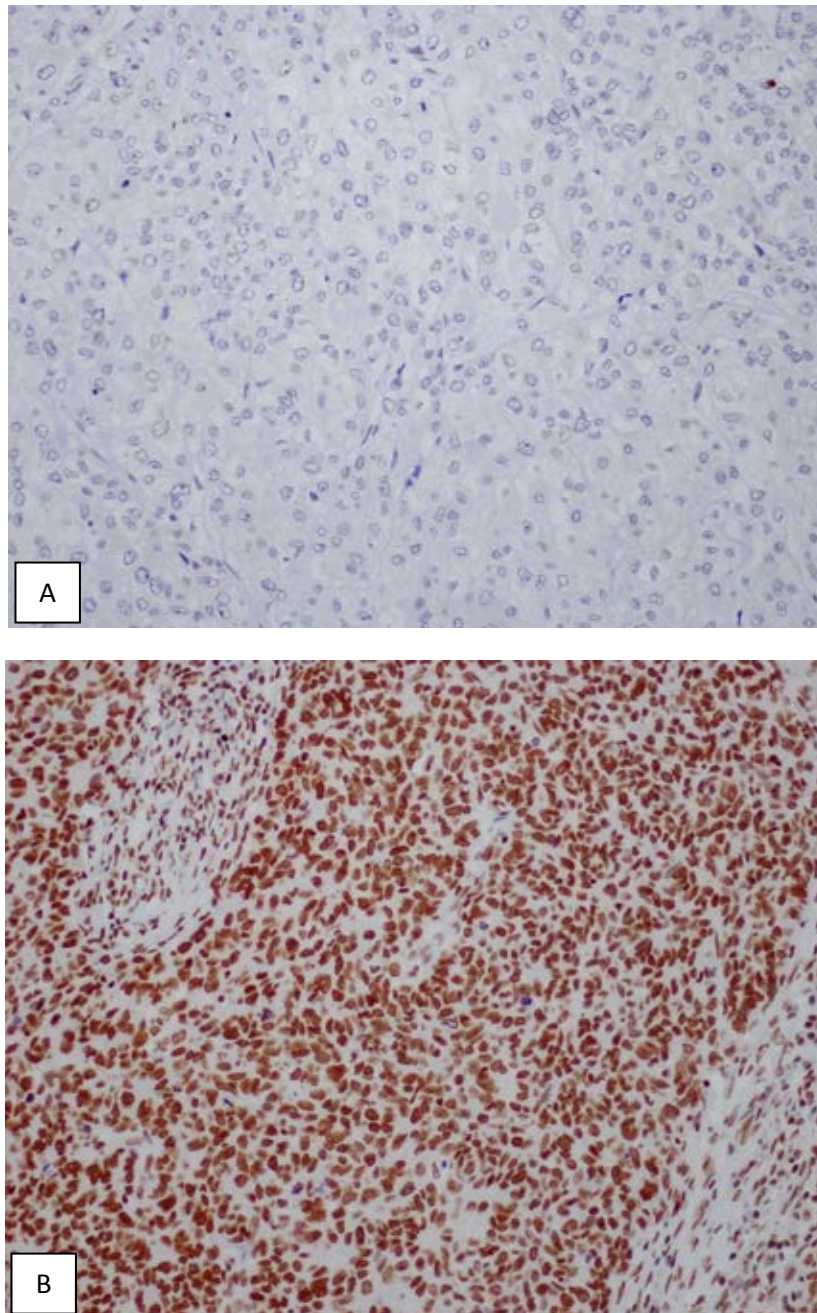
การศึกษานี้เป็นการศึกษาโปรตีนพีเทน โดยการ ด้วยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมีเพิ่มเติมจากชิ้นเนื้อของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่ได้รับการวินิจฉัยแล้วว่าเป็นชนิดทริปเปิลเนกาติฟ ที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย ตั้งแต่เดือน มิถุนายน พ.ศ. 2549 จนถึงเดือน ธันวาคม 2554 โดยศึกษาถึงลักษณะปัจจัยต่างๆของโรค การดำเนินของโรค ระยะเวลาปลอดโรค (disease free survival) ระยะเวลาปลอดการลุกลามของโรค (progression free survival) และระยะเวลาการรอดชีวิต (overall Survival)

ผู้ป่วยมะเร็งเต้านมทั้งหมดที่ได้รับการรักษาที่หน่วยมะเร็งวิทยา โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ที่ได้รับการตรวจยืนยันว่าเป็นชนิดทริปเปิลเนกาติฟ 175 ราย และสามารถนำมาตรวจโปรตีนพีเทน ได้อย่างสมบูรณ์เท่ากับ 78 ราย โดยที่มี 8 รายที่ไม่ได้รับการตรวจ FISH เพื่อยืนยันในกรณีที่ HER-2 2+ และมี 84 รายไม่สามารถตามชิ้นเนื้อมาตรวจทางอิมมูโนฮิสโตเคมีเพิ่มเติมได้ มี 1 รายเป็นที่มี การทบทวนซ้ำแล้วพบว่าไม่ได้รับการยืนยันว่าเป็นชนิดทริปเปิลเนกาติฟจริง และมี 4 รายที่ชิ้นเนื้อ มีปริมาณน้อยเกินไป และคุณภาพของการย้อม โปรตีนพีเทนไม่ดีเพียงพอที่จะแปลผล ได้ดังแสดงภาพที่ 4.1 เมื่อชิ้นเนื้อที่ได้รับการตรวจเป็นที่เรียบร้อยแล้วได้แสดงดังภาพที่ 4.2

จากการวิเคราะห์ผู้ป่วยเบื้องต้น ข้อมูลการตรวจร่างกาย ข้อมูลปัจจัยต่างๆที่เกี่ยวกับมะเร็ง เต้านม การรักษา แสดงในตารางที่ 4.1



ภาพที่ 4.1 แสดงการรวบรวมชิ้นเนื้อมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาตีฟเพื่อนำมาศึกษาทางอิมมูโนฮิสโตเคมี



ภาพที่ 4.2 แสดงการติดสีของโปรตีนพีเทนในนิวเคลียสของเซลล์มะเร็งเต้านม รูป A ไม่มีการติดสีของโปรตีนพีเทน และรูป B แสดงการติดสีของโปรตีนพีเทน

ตารางที่ 4.1 เปรียบเทียบข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยแบ่งตามปัจจัยที่สัมพันธ์กับโรคมะเร็งเต้านมชนิด
ทริปเปิลเนกาติฟ

Factor		TNBC	
		N	%
age	<=50	46	59
	>50	32	41
menopausal status	premenopausal	41	52.6
	postmenopausal	37	47.4
performance status	0	46	59
	1	32	41
size	0-2 cm.	21	26.9
	2-5 cm.	43	55.1
	>5 cm.	14	17.9
lymph node status	0 noode	47	60.3
	1-3 node	19	24.4
	4-9 node	9	11.5
	>= 10 node	3	3.8
grade	I	1	1.3
	II	16	21.1
	III	59	77.6
Ki67	<= 30 %	10	14.1
	>30%	61	85.9
	unknown	10	0

ตารางที่ 4.1 เปรียบเทียบข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยแบ่งตามปัจจัยที่สัมพันธ์กับโรคมะเร็งเต้านมชนิด
ทริปเปิลเนกาติฟ (ต่อ)

Factor		TNBC	
		n	%
lymphovascular invasion	negative	30	51.7
	positive	28	48.3
	unknown	(20)	-
stage	early*	59	75.6
	locally advanced	17	21.8
	metastasis	2	2.6
histology	ductal	71	91
	lobular	1	1.3
	other	6	7.7
type of Surgery	simple mastectomy	3	3.8
	MRM	55	70.5
	wide excision	20	29.2
pCR	pCR	10	62.5
	no pCR	6	37.5
type of Chemotherapy	adjuvant	61	78.2
	neoadjuvant	16	20.5
	palliative	2	1.3
chemotherapy			
anthracycline	no	11	14.1
	yes	67	85.9
taxane	no	46	58.9
	yes	32	41.1

* early stage = stage T1, T2 โดยที่ไม่กระจายสู่ต่อมน้ำเหลือง

การศึกษานี้รวบรวมขึ้นเนื่องจากผู้ป่วยมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาติฟทั้งหมด 175 ราย ตั้งแต่ มิถุนายน 2549 ถึง ธันวาคม 2554 มีชิ้นเนื้อที่สามารถนำมาตรวจทางอิมมูโนฮิสโตเคมี เพื่อตรวจการแสดงออกของโปรตีนพีเทน (PTEN) ทั้งหมด 82 ราย และพบว่ามีความผิดปกติสามารถนำมาวิเคราะห์ได้เพียง 78 ราย ที่สามารถนำชิ้นเนื้อตรวจได้อย่างสมบูรณ์ โดยมีอายุเฉลี่ยเท่ากับ 49.2 ปี (30-79 ปี) ผู้ป่วยส่วนใหญ่มีสภาพร่างกายแข็งแรงดี สามารถทำงานได้ตามปกติ (ECOG =0) คิดเป็นร้อยละ 59 โดยที่ภาวะการมีประจำเดือนของทั้ง 2 กลุ่มไม่ต่างกัน ขนาดของก้อนมะเร็งมีขนาดมากกว่า 2 เซนติเมตรแต่ไม่เกิน 5 เซนติเมตรมีปริมาณมากที่สุดคือร้อยละ 55.1 วิธีการวินิจฉัยส่วนใหญ่ร้อยละ 67.5 ใช้วิธีการตัดชิ้นเนื้อ (core biopsy) ซึ่งเกือบจะทั้งหมดเป็นชนิด invasive ductal carcinoma เท่ากับร้อยละ 91 โดยลักษณะทางพยาธิวิทยาพบว่าลักษณะระดับความรุนแรงของชิ้นเนื้อระดับ 3 (grade 3) คือร้อยละ 77.6 และมีค่า Ki-67 (ซึ่งเป็นค่าที่บ่งบอกถึงการแบ่งตัวของเซลล์, proliferative index) เป็นบวกสูงคือมากกว่า 30% ถึงร้อยละ 85.9 ส่วนใหญ่ผู้ป่วยมาด้วยคลำก้อนได้ที่เต้านม และเป็นระยะแรก (early stage) และมักยังไม่แพร่กระจายสู่น้ำเหลือง ร้อยละ 61.3 และพบว่าชิ้นเนื้อตัวอย่างนั่นเอง การมีหรือไม่มีภาวะการลุกลามเข้าสู่หลอดน้ำเหลือง และหลอดเลือด lympho-vascular invasion (LVI) ไม่แตกต่างกัน

เมื่อนำมาตรวจด้วยวิธีทางอิมมูโนฮิสโตเคมี พบว่าเกือบทั้งหมด ไม่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมน แต่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเอสโตรเจน 1 ตัวอย่าง คือ < 5% (ปัจจุบันได้มีการเปลี่ยนเกณฑ์การวินิจฉัยตามที่กล่าวข้างต้น คือการที่ไม่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเอสโตรเจนและโปรเจสโตโรนเมื่อ ย้อมชิ้นแล้วผลย้อมด้วยวิธีทางอิมมูโนฮิสโตเคมี น้อยกว่าหรือเท่ากับ 1) จึงให้ออกจากการศึกษานี้ไป

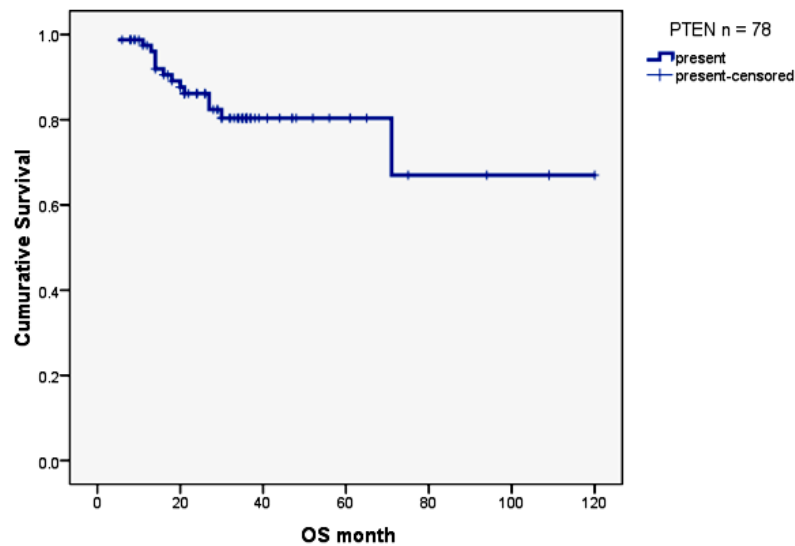
ส่วนใหญ่ได้รับการผ่าตัดด้วยวิธีการผ่าตัดเต้านมแบบ modified radical mastectomy หรือ MRM ร้อยละ 70.5 และสามารถผ่าตัดก้อนออกไปได้หมดโดยไม่มีชิ้นเนื้อมะเร็งติดชิดขอบ (negative margin) ร้อยละ 73.5 และหลังผ่าตัดผู้ป่วยได้รับยาเคมีบำบัดทั้งหมด และส่วนใหญ่ได้สูตรยาเคมีบำบัดที่มียาแอนทราไซคลิน (anthracycline) เป็นส่วนประกอบหลักร้อยละ 85.7 และมีเพียงร้อยละ 40.3 เท่านั้นที่ได้รับยาในกลุ่มแทกเซน (taxane) และร้อยละ 71.4 ได้รับการฉายแสงหลังการผ่าตัด

หลังจากได้ติดตามผู้ป่วยกลุ่มนี้จนถึงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2554 พบว่าผู้ป่วยเกิดโรคกลับเป็นซ้ำจำนวน 12 ราย ร้อยละ 15.4 โดยตำแหน่งที่กลับมาเป็นซ้ำมากที่สุด 2 ตำแหน่งคือ ที่ตำแหน่งรอยผ่าตัดเดิม (local recurrent) และบริเวณต่อมน้ำเหลือง (regional node) ตำแหน่งละร้อยละ

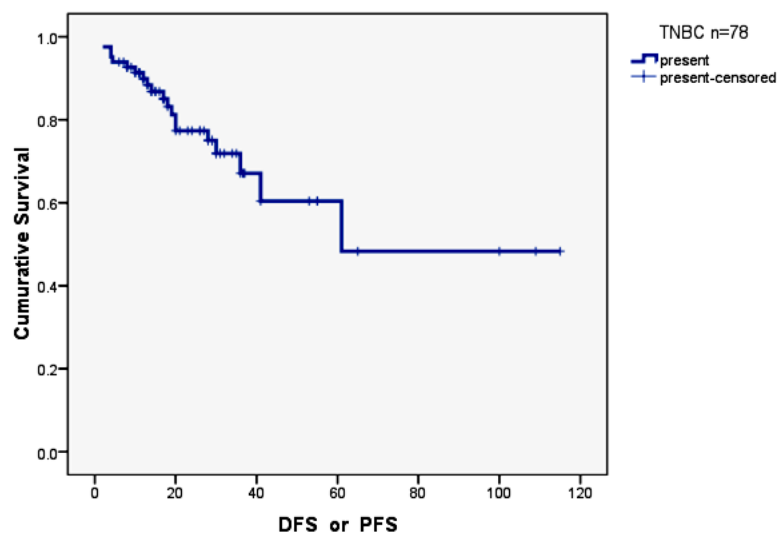
27.3 รองลงมาคือที่ปอด กระดูก และสมองตามลำดับ และสามารถพบว่ามีโอกาสกลับมาเป็นโรคซ้ำได้หลายตำแหน่งพร้อมกันได้

พบผู้ป่วยเสียชีวิตทั้งหมด 13 รายคิดเป็นร้อยละ 16.7 มีระยะเวลาการติดตามเฉลี่ยที่ 34.25 เดือนหรือประมาณ 2 ปี 8 เดือน โดยค่าต่ำที่สุดคือ 5 เดือนและค่าสูงสุดคือ 128.8 เดือน

จากศึกษาพบว่าเมื่อคำนวณค่ามัธยฐานของการปลอดโรค (median disease free survival, mDFS) เท่ากับ 61 เดือน (5 ปี 1 เดือน) ตามรูป 4.4 ส่วนค่ามัธยฐานของการมีชีวิตรอดทั้งหมดโดยประมาณ (estimated median overall survival, mOS) ยังไม่สามารถคำนวณได้ตามรูปที่ 4.3



ภาพที่ 4.3 กราฟแสดงการมีชีวิตรอดโดยรวม



ภาพที่ 4.4 กราฟแสดงการมีชีวิตโดยปลอดโรคหรือไม่การลุกลามของโรคมะเร็ง

จากกราฟ เนื่องจากไม่สามารถคำนวณค่ามัธยฐานการมีชีวิตรอดได้ แต่สามารถคำนวณค่าเฉลี่ยกลางของของการรอดโรค (mean DFS) และค่าเฉลี่ยกลางของการมีชีวิตรอดทั้งหมด (mean OS) เท่ากับ 71.8 เดือน (5 ปี 11 เดือน) และ 92 เดือน (7 ปี 8 เดือน) ตามลำดับ

การศึกษานี้มีผู้ป่วย 16 รายหรือประมาณร้อยละ 20.5 ที่วินิจฉัยเป็นระยะลุกลามเฉพาะที่ (locally advanced) และได้รับการรักษาโดยการให้ยาเคมีบำบัดก่อนผ่าตัด (neoadjuvant chemotherapy) เพื่อดูการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัด จึงได้ศึกษาเฉพาะกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับยาเคมีบำบัดก่อนการผ่าตัด เพื่อเปรียบเทียบการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดซึ่งมีผู้ป่วยที่ได้รับยาเคมีบำบัดในแต่ละสูตรก่อนผ่าตัด คือ มี 15 ราย คิดเป็นร้อยละ 93.8 ได้รับยาเคมีบำบัดกลุ่มแอนทราไซคลิน, และมี 13 ราย คิดเป็นร้อยละ 81.3 ได้รับยาเคมีบำบัดกลุ่มแทกเซน

ผลการรักษาด้วยยาเคมีบำบัดก่อนการผ่าตัดในกลุ่มมะเร็งเต้านมทริปเปิลเนกาติฟ ระยะลุกลามเฉพาะที่ โดยการประเมินผลทางพยาธิวิทยา แสดงดังตาราง 4.2

Type of response (by pathology)	n=16	Percent
CR (Complete response)	10	62.5
PR (Partial response)	4	25.0
SD (Stable disease)	1	6.25
PD (Progression of disease)	1	6.25
Response rate (CR+PR)	12	87.5

ตารางที่ 4.2 แสดงผลการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดที่ได้รับก่อนผ่าตัด

เมื่อพิจารณาเฉพาะชิ้นเนื้อที่สามารถนำมาตรวจทางอิมมูโนฮิสโตเคมี เพื่อตรวจการแสดงออกของโปรตีนพีเทน (PTEN) ทั้งหมด 82 ราย พบว่ามีคุณภาพดีพอสามารถนำมาวิเคราะห์ได้ 78 ราย ได้ผลการศึกษา ดังนี้ (ตารางที่ 4.3)

ตารางที่ 4.3 ข้อมูลเบื้องต้นของกลุ่มตัวอย่างที่ได้รับการตรวจหาโปรตีนพีเทนและแบ่งตามชนิดที่ไม่แสดงโปรตีนพีเทน (PTEN negative) และชนิดที่แสดงถึงโปรตีนพีเทน (PTEN positive)

characteristic	all PTEN		PTEN negative		PTEN positive		p-value	
	N	%	N	%	N	%		
number of patients	78	100	24	30.8	54	69.2	-	
age	<=50	46	59	11	45.8	35	64.8	0.139
	>50	32	41	13	54.2	19	35.2	
family history	no	67	88.2	19	82.6	48	90.6	0.324
	yes	9	11.8	4	17.4	5	9.4	
menopausal status	premenopausal	41	52.6	12	50	29	53.7	0.809
	postmenopausal	37	47.4	12	50	25	46.3	
performance status	0	46	59	17	70.8	29	53.7	0.214
	1	32	41	7	29.2	25	46.3	
size	0-2 cm.	21	26.9	5	20.8	16	29.6	0.675
	2-5 cm.	43	55.1	15	62.5	29	51.9	
	>5 cm.	14	17.9	4	16.7	10	18.5	

ตารางที่ 4.3 ข้อมูลเบื้องต้นของกลุ่มตัวอย่างที่ได้รับการตรวจหาโปรตีนพีเทนและแบ่งตามชนิดที่ไม่แสดงโปรตีนพีเทน (PTEN negative) และชนิดที่แสดงถึงโปรตีนพีเทน (PTEN positive)(ต่อ)

	characteristic	all PTEN		PTEN negative		PTEN positive		p-value
lymph node group	0 node	47	60.3	11	45.8	36	66.7	0.266
	1-3 node	19	24.4	9	37.5	10	18.5	
	4-9 node	9	11.5	3	12.5	6	11.1	
	>= 10 node	3	3.8	1	4.2	2	3.7	
lymph node status	negative	48	61.5	11	45.8	37	68.5	0.078
	positive	30	38.5	13	54.2	17	31.5	
grade	I	1	1.3	0	0	1	1.9	0.666
	II	16	21.1	6	27.3	10	18.5	
	III	59	77.6	16	72.7	43	79.6	
Ki67	<= 30 %	10	14.1	2	9.5	8	16	0.712
	>30%	61	85.9	19	90.5	42	84	
	unknown	10	0	0	0	0	0	
lymphovascular invasion	negative	30	51.7	9	47.4	21	53.8	0.781
	positive	28	48.3	10	52.6	18	46.8	
	unknown	24	0	0	0	0	0	

ตารางที่ 4.3 ข้อมูลเบื้องต้นของกลุ่มตัวอย่างที่ได้รับการตรวจหาโปรตีนพีเทนและแบ่งตามชนิดที่ไม่แสดงโปรตีนพีเทน (PTEN negative) และชนิดที่แสดงถึงโปรตีนพีเทน (PTEN positive)(ต่อ)

	characteristic	All PTEN		PTEN negative		PTEN positive		p-value
stage	early*	59	75.6	17	70.8	42	77.8	0.794
	locally advanced	17	21.8	7	29.2	10	18.5	
	metastasis	2	2.6	0	0	2	3.7	
histology	ductal	71	91	21	87.5	50	92.6	0.619
	lobular	1	1.3	1	4.2	0	0	
	other	6	7.7	2	8.3	4	7.4	
type of surgery	simple mastectomy	3	3.8	1	4.2	2	3.7	0.289
	MRM	55	70.5	14	58.8	41	75.9	
	wide excision	20	29.2	9	37.5	11	20.4	
pCR	pCR	10	62.5	1	20	9	81.8	0.09
	no pCR	6	37.5	4	80	2	18.2	
type of chemotherapy	adjuvant	61	78.2	17	77.2	44	77.2	0.377
	neoadjuvant	16	20.5	5	22.7	11	19.3	
	palliative	2	1.3	0	0	2	3.5	

* early stage = stage T1, T2 โดยที่ไม่กระจายสู่ต่อมน้ำเหลือง

ตารางที่ 4.3 ข้อมูลเบื้องต้นของกลุ่มตัวอย่างที่ได้รับการตรวจหาโปรตีนพีเทนและแบ่งตามชนิดที่ไม่แสดงโปรตีนพีเทน (PTEN negative) และชนิดที่แสดงถึงโปรตีนพีเทน (PTEN positive)(ต่อ)

	Characteristic	All PTEN		PTEN negative		PTEN positive		p-value
anthracycline-based	no	11	14.1	1	4.2	10	18.5	0.229
	yes	67	85.9	23	95.8	44	81.5	
taxane-based	no	46	58.9	12	50	34	63.6	0.226
	yes	32	41.1	12	50	20	36.4	
recurrence	local	3	25	1	33.3	2	25	0.896
	lymph node	3	25	0	0	3	37.5	
	bone	1	8.3	1	33.3	0	0	
	lung	2	16.7	0	0	2	25	
	brain	1	8.3	1	33.3	0	0	
	Other	2	16.7	0	0	1	12.5	
recurrence total	local-regional	6	50	1	33.33	5	55.56	0.545
	distance	6	50	2	66.67	4	44.44	
dead	no	65	83.3	19	79.2	46	85.2	0.517
	yes	13	16.7	5	20.8	8	14.8	

ผลการศึกษา ความชุกของการขาดหายไปของโปรตีนพีเทน

จากการศึกษากลุ่มตัวอย่างผู้ป่วยสตรี ที่วินิจฉัยเป็นมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาติฟ จำนวน 78 ราย พบว่ามีผู้ป่วย 24 ราย คิดเป็นร้อยละ 30.8 ที่มีการขาดโปรตีนพีเทนเมื่อนำผลการศึกษามาทดสอบสมมติฐานที่ตั้งไว้ตอนแรก คือ

H_0 = ความชุกของการขาดหายของยีนพีเทนในผู้ป่วยโรคมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาติฟ ในประชากรของประเทศไทยไม่แตกต่างจากประชากรในประเทศทางตะวันตกคือร้อยละ 40

H_1 = ความชุกของการขาดหายของยีนพีเทนในผู้ป่วยโรคมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาติฟ ในประชากรของประเทศไทยแตกต่างจากประชากรในประเทศทางตะวันตก

จะสามารถคำนวณค่า $Z = -1.64$ โดยแสดงวิธีคำนวณในภาคผนวก ซึ่งไม่ปฏิเสธ H_0 ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า ความชุกของการขาดโปรตีนพีเทนในผู้ป่วยสตรีที่เป็นมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาติฟเท่ากับร้อยละ 40

ลักษณะที่พบทางอิมมูโนฮิสโตเคมีซึ่งบอกลถึงการแสดงออกของโปรตีนพีเทน โดยใช้วิธีวัดของ "นากาตะ" โดยวัดจากผลคูณของร้อยละของจำนวนเซลล์มะเร็งที่ติดสี (คะแนน 0-4) และความเข้มของการติดสี (คะแนน 0-3) โดยแจกแจงคะแนนดังต่อไปนี้

จำนวนเซลล์มะเร็งที่ติดสี

0 คะแนน คือ ไม่มีเซลล์มะเร็งที่ติดสีเลย

1 คะแนน คือ จำนวนเซลล์มะเร็งที่นิวเคลียสมีการติดสีไม่เกินร้อยละ 25 ของเซลล์มะเร็งทั้งหมด

2 คะแนน คือ จำนวนเซลล์มะเร็งที่นิวเคลียสมีการติดสีมากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 25 และไม่เกินร้อยละ 50 ของเซลล์มะเร็งทั้งหมด

3 คะแนน คือ จำนวนเซลล์มะเร็งที่นิวเคลียสมีการติดสีมากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 50 และไม่เกินร้อยละ 75 ของเซลล์มะเร็งทั้งหมด

4 คะแนน คือ เซลล์มะเร็งทั้งหมดที่นิวเคลียสมีการติดสี

เกณฑ์ความเข้มของการติดสี

1 คะแนน คือ มีนิวเคลียสเซลล์มะเร็งไม่ติดสีเลย (negative) หรือมีความเข้มของการติดสีน้อยมาก (trace)

2 คะแนน คือ นิวเคลียสเซลล์มะเร็งมีความเข้มของการติดสีอ่อน (weak) ถึงปานกลาง (moderate)

3 คะแนน คือ นิวเคลียสเซลล์มะเร็งมีความเข้มของการติดสีมาก (Intence)

การแปลผล คือ

เมื่อได้คำนวณผลคูณมาแล้ว ถ้าค่าที่ได้น้อยกว่า 4 ถือว่ายังไม่ติดสีของโปรตีนพีเทน ซึ่งหมายถึง PTEN negative หรือ loss และเมื่อได้คำนวณผลคูณมาแล้ว ถ้าค่าที่ได้มากกว่าหรือเท่ากับ 4 ถือว่ายังติดสีของโปรตีนพีเทน ซึ่งหมายถึง PTEN positive

รูปแสดงการติดสีอิมมูโนฮิสโตเคมีแสดงในภาคผนวก จ

ผลการเปรียบเทียบ ระหว่างกลุ่มที่ไม่แสดงออกและกลุ่มที่แสดงออกของโปรตีนพีเทน

จากข้อมูลที่แสดงตามตารางดังกล่าวพบว่า มีแนวโน้มของลักษณะบางลักษณะ ที่บ่งบอกถึงความรุนแรงของโรคที่ในกลุ่มที่ไม่มีการแสดงออกของโปรตีนพีเทน มีแนวโน้มที่มีมากกว่ากลุ่มที่แสดงออกของโปรตีนพีเทน ได้แก่ ค่าการแบ่งตัวของเซลล์มะเร็ง (Ki-67) ที่มีค่ามากกว่าร้อยละ 30 ในสัดส่วนที่มากกว่า (ร้อยละ 90.5 เทียบกับร้อยละ 84) และจำนวนต่อมน้ำเหลืองที่เกี่ยวข้องมีสัดส่วนที่มากกว่า (ร้อยละ 54.2 เทียบกับร้อยละ 33.3) และการมีส่วนของก้อนมะเร็งลุกลามไปสู่ต่อมน้ำเหลืองหรือหลอดเลือด (lymphovascular invasion) มีสัดส่วนที่มากกว่า (ร้อยละ 52.6 เทียบกับร้อยละ 46.8) (รูปที่ 4.5) แต่อย่างไรก็ตามข้อมูลดังกล่าวไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ และจากข้อมูลพื้นฐานส่วนบุคคล และปัจจัยทางคลินิกระหว่างผู้ป่วยที่มีและไม่มีการแสดงออกของโปรตีนพีเทน อื่นๆไม่ว่าจะเป็น อายุ โดยค่ามัธยฐานของอายุของกลุ่มที่ไม่มีการแสดงออกของโปรตีนพีเทนมีสัดส่วนที่มากกว่า (อายุ 51 ปีเทียบกับอายุ 47 ปี) ความสามารถในการปฏิบัติในชีวิตประจำวัน (performance status, PS) วิทยก่อนหรือวิทยหมดประจำเดือน ขนาดของก้อนเนื้ออก เกรดของก้อนเนื้ออก (tumor grade) และระยะของโรคเมื่อแรกได้รับการวินิจฉัย ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติแต่อย่างใด

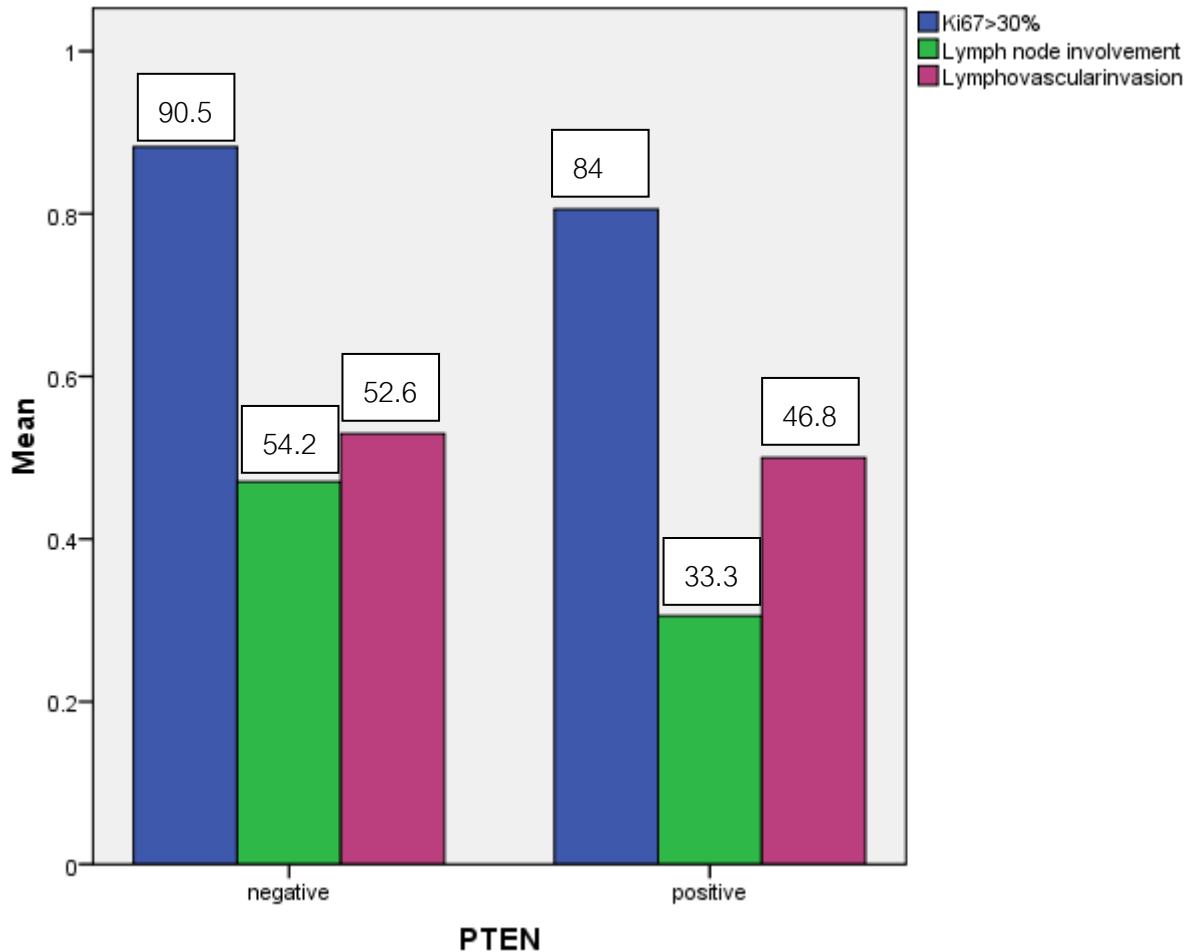
เมื่อมาดูถึงความสัมพันธ์ระหว่างโปรตีนพีเทน และปัจจัยต่างๆ ของมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาติฟดังกล่าวข้างต้น พบว่าไม่มีความสัมพันธ์กันทางสถิติ ดังตาราง 4.4

ตารางที่ 4.4 แสดงถึงความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทำนายกับการแสดงออกของโปรตีนพีเทนของมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาติฟ

Factor	TNBC		
	odd ratio	95%CI	p
อายุ(<=50,>50 ปี)	0.459	0.173-1.222	0.139
PS (0,1)	2.094	0.747-5.864	0.214
Ki-67(<=30%,>30%)	0.553	0.107-2.853	0.712
lymphovascular invasion	0.771	0.254-2.315	0.782
ต่อมน้ำเหลือง(ไม่มี/มี)	0.389	0.145-1.043	0.078
เกรดของก้อนเนื้ออก(เกรด1และ2,เกรด3)	1.466	0.465-4.622	0.552

ส่วนในกรณีที่มีการกลับเป็นซ้ำและอัตราการเสียชีวิตนั้น ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติระหว่างผู้ป่วยที่มีและไม่มีการแสดงออกของโปรตีนพีเทนเช่นกัน กล่าวคือ โอกาสที่ทำให้เกิดเหตุการณ์เทียบกับโอกาสที่ไม่เกิดเหตุการณ์ (odd ratio) มีค่า 0.694 (95% confidence interval = 0.233 - 2.062) (p = 0.572)

รูปที่ 4.5 กราฟแท่งแสดงการเปรียบเทียบระหว่าง PTEN negative และ PTEN positive โดยเปรียบเทียบค่า Ki-67, lymph node, lymphovascular invasion



การดำเนินโรค การปลอดโรค และรอดชีวิต

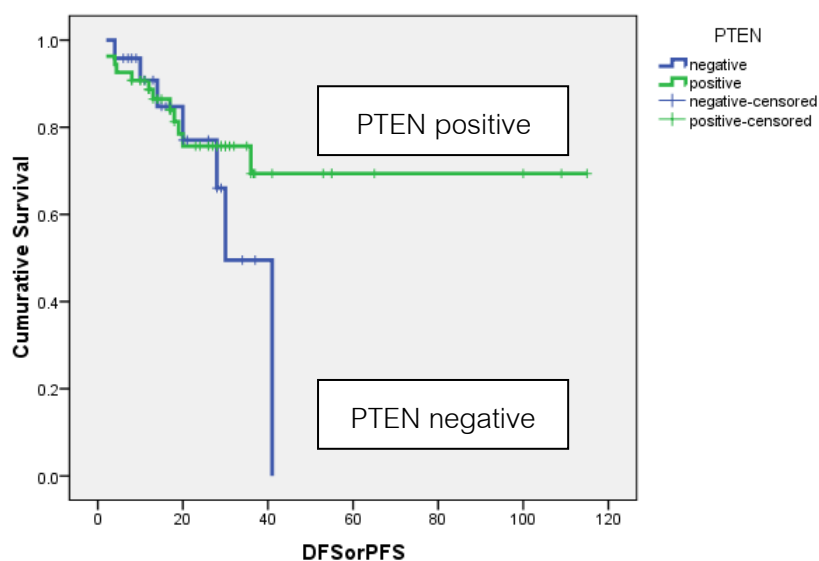
เมื่อสิ้นสุดการติดตามผู้ป่วยตามที่กำหนด ระยะเวลาเฉลี่ยของการติดตามกลุ่มตัวอย่างทั้งหมดประมาณ 31.1 เดือน หรือ 2.6 ปี และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างผู้ป่วย 2 กลุ่ม พบว่ากลุ่มที่มีการขาดโปรตีนพีเทน มีระยะเวลาติดตามอาการโดยเฉลี่ยสั้นกว่ากลุ่มที่มีการแสดงออกของโปรตีนพีเทนประมาณ 4.8 เดือน คือ 27.8 เดือน เทียบกับ 32.6 เดือน

การรักษาที่ได้รับระหว่างผู้ป่วยทั้ง 2 กลุ่ม ได้แก่ วิธีการผ่าตัด การได้รับยาเคมีบำบัด และการฉายแสงนั้น ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ผู้ป่วยกลุ่มที่มีการขาดโปรตีนพีเทนทั้งหมดจำนวน 24 ราย จากทั้งหมด 78 ราย (ร้อยละ 30.8) พบว่ามีโรคกลับเป็นซ้ำ หรือมีการลุกลามของโรคมามากขึ้นในกรณีที่เป็นมะเร็งระยะแพร่กระจาย (recurrence) จำนวน 3 ราย คิดเป็นร้อยละ 12.5 โดยมีค่าน้อยกว่ากลุ่มที่มีการแสดงออกของโปรตีนพีเทนเพียงเล็กน้อยคือจาก 9 ราย ใน 54 ราย หรือร้อยละ 16.7

เมื่อเปรียบเทียบกันหลังติดตามผลการรักษาไป 2 และ 3 ปี พบว่าผู้ป่วยกลุ่มที่มีการขาดโปรตีนพีเทนมีการดำเนินโรคที่ไม่แตกต่างกันกับกลุ่มที่มีการแสดงออกของโปรตีนพีเทน คือ มีสัดส่วนผู้ป่วยที่ยังไม่มีโรคกลับเป็นซ้ำ หรือไม่มีการลุกลามของโรคร้อยละ 8.3 เทียบกับร้อยละ 13.7 ในปีแรก ร้อยละ 12.5 เทียบกับร้อยละ 11.1 ในปีที่สอง ตามลำดับ อาจสังเกตได้ว่าปริมาณของการกลับมาเป็นซ้ำของกลุ่มที่ไม่มีการแสดงออกของโปรตีนพีเทนมีสูงขึ้นมากรกว่าอีกกลุ่มหนึ่ง แต่อย่างไรก็ตาม อุบัติการณ์ของการกลับเป็นซ้ำ หรือการลุกลามของโรคมะเร็งได้นั้นมาจากการศึกษานี้ ยังไม่ถึงร้อยละ 50 ของประชากรทั้งหมด

ผู้ป่วยที่ไม่มีการแสดงออกของโปรตีนพีเทน มีค่ามัธยฐานของระยะเวลาที่ปลอดโรคหรือไม่มีการลุกลามจากโรคมามากขึ้นเป็นเวลา 30 เดือน เทียบกับผู้ป่วยกลุ่มที่มีการแสดงโปรตีนพีเทนซึ่งยังไม่สามารถคำนวณได้ (not reached) แต่เนื่องจากระยะเวลาที่ติดตามผู้ป่วยสั้นเกินกว่าที่จะสามารถบอกได้ ($p = 0.29$) แต่อย่างไรก็ตามถ้านำข้อมูลปัจจุบันมาพิจารณาพบว่าการกลับเป็นซ้ำที่ 5 ปีของ ผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของโปรตีนพีเทนมีจำนวน 6 ราย จากทั้งหมด 24 ราย (ร้อยละ 25) มีค่ามากกว่าเมื่อเทียบกับผู้ป่วยกลุ่มที่มีการแสดงโปรตีนพีเทน 11 ราย จาก 54 ราย (ร้อยละ 20.4) $OR = 0.76$ (0.24-2.39), $p = 0.768$ โดยที่ค่ามัธยฐานของระยะเวลาที่ปลอดโรคหรือไม่มีการลุกลามจากโรคมามากขึ้นเป็นเวลา 30 เดือน ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p=0.293$) รูปที่ 4.6



ภาพที่ 4.6 แสดงถึงระยะการปลอดโรคที่ 5 ปีของ PTEN negative และ PTEN positive

ผลการวิเคราะห์ปัจจัยต่างๆกับกับระยะการปลอดโรค

จากข้อมูล เมื่อศึกษาปัจจัยต่างๆเพื่อหาความสัมพันธ์กับระยะการปลอดโรค พบว่าปัจจัยที่มีผลต่อระยะปลอดโรคที่สำคัญคือ การลุกลามสู่ออมน้ำเหลือง (odd ratio (OR) = 2.87, 95%CI = 1.77, 7.06; p = 0.02) และ การลุกลามสู่ออมน้ำเหลืองและหลอดเลือด (OR=7.12, 95%CI = 1.59, 31.9; p = 0.02) ส่วนปัจจัยอื่นๆเช่น อายุ, performance status, Ki-67, tumor grade พบว่าไม่มีอิทธิพลต่อระยะเวลาของการปลอดโรค ดังตาราง 4.5

Factor For DFS/PFS	TNBC		
	odd ratio	95%CI	p
อายุ (<=50,>50 ปี)	0.583	0.22-1.52	0.26
PS (0,1)	1.074	0.43-2.63	0.86
Ki-67(<=30%,>30%)	0.467	0.15-1.42	0.21
lymphovascular invasion	7.121	1.58-31.9	0.02*
ต่อมน้ำเหลือง (ไม่มี/มี)	2.874	1.77-7.05	0.02*
เกรดของก้อนเนื้ออก(เกรด1และ2,เกรด3)	0.763	0.29-2.01	0.59
PTEN	0.607	0.24-1.56	0.29

ตารางที่ 4.5 แสดงความสัมพันธ์ของระยะการปลอดโรค ระหว่างปัจจัยต่างๆกับมะเร็งเต้านมชนิด

ทริปเปิ้ลเนกาตีฟ

สำหรับการจำแนกย่อยลงไปเพื่อแบ่งกลุ่มของการแสดงออกของโปรตีนพีเทนหรือไม่นั้น พบว่าในแต่ละกลุ่มมีจำนวนของตัวอย่างน้อย จึงทำให้ไม่สามารถแปรผลได้ ดังตาราง 4.6

factor of DFS/PFS	PTEN negative			PTEN positive		
	odd ratio	95%CI	p	odd ratio	95%CI	P
อายุ (<=50,>50 ปี)	0.47	0.08-2.6	0.37	0.37	0.08-1.7	0.15
PS (0,1)	0.03	-	-	1.74	0.54-5.48	0.34
Ki-67(<=30%,>30%)	0.56	0.09-5.4	0.62	0.46	0.12-1.71	0.24
การลุกลามท่อน้ำเหลือง และหลอดเลือด(ไม่มี/มี)	-	-	-	10.68	1.35-84.88	NS
ต่อมน้ำเหลือง(ไม่มี/มี)	72.65	0.10-5.27	0.32	1.81	0.57-5.74	0.30
เกรดของก้อนเนื้ออก (เกรด1และ2,เกรด3)	1.13	0.17-7.32	0.89	1.08	0.23-4.94	0.93

ตารางที่4.6 แสดงความสัมพันธ์ของระยะการปลอดโรค ระหว่างปัจจัยต่างๆกับ
มะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาติฟโดยแยกการแสดงออกของพีเทน

ผลการวิเคราะห์ปัจจัยย่อย (subgroup) กับระยะการปลอดโรค

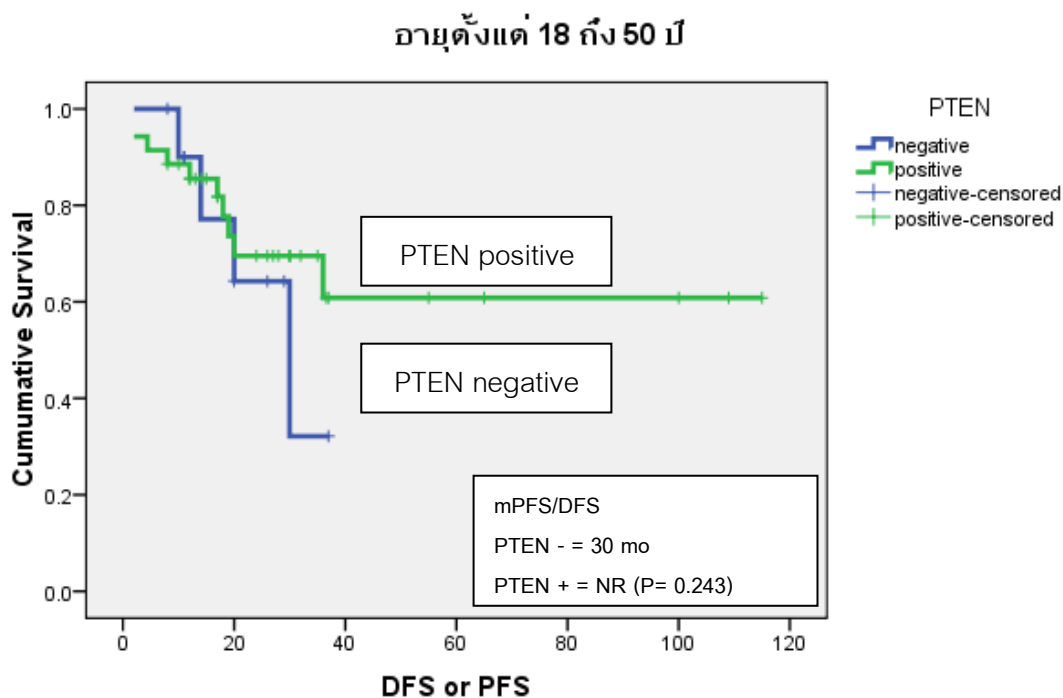
เมื่อได้มีการแบ่งกลุ่มย่อยเพื่อดูปัจจัยต่างๆดังกล่าวข้างต้น พบว่าปัจจัยบางชนิดอาจมี
แนวโน้มที่จะบอกถึงระยะการปลอดโรคได้ยกตัวอย่างเช่น

ถ้าแบ่งตามกลุ่มย่อยของอายุที่น้อยกว่าหรือเท่ากับ 50 ปี และมากกว่า 50 ปี มีจำนวน
เท่ากับ 46 รายและ 32 รายตามลำดับ พบว่าในกลุ่มไม่ มีการแสดงออกของโปรตีนพีเทนในกลุ่มที่
อายุน้อยกว่า 50 ปีมีค่ามัธยฐานของระยะการปลอดโรคที่ต่ำกว่ากลุ่มที่มีการแสดงออกของโปรตีนพีเทน
คือ 30 เดือน (95%CI = 15.23 – 44.15) เทียบกับค่าที่ 41 เดือน แตกต่างกันแต่ไม่พบความสำคัญ
ทางสถิติ (p = 0.243) รูปที่ 4.7

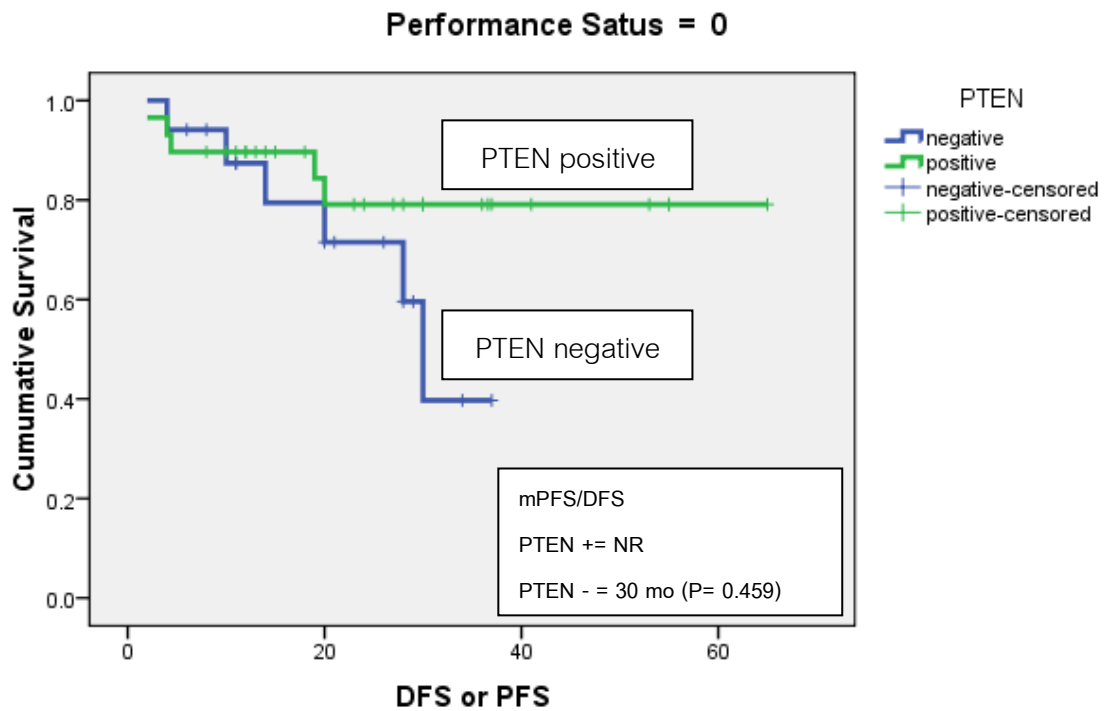
เมื่อแบ่งตามกลุ่มย่อยของความสามารถในการปฏิบัติในชีวิตประจำวัน (performance
status, PS) ของกลุ่มไม่มีการแสดงออกของโปรตีนพีเทนและกลุ่มที่มีการแสดงออกของโปรตีนพีเทน

พบว่าในกลุ่มที่มี PS เท่ากับ 0 มีจำนวนเท่ากับ 17 รายและ 29 รายตามลำดับ พบว่าค่าค่ามัธยฐานของการปลอดโรคในกลุ่มไม่มีการแสดงออกของโปรตีนพีเทนมีค่าที่ต่ำกว่ากลุ่มที่มีการแสดงออกของโปรตีนพีเทน คือ 30 เดือน (95% CI = 26.25 - 33.75) เทียบกับค่าที่ยังไม่สามารถวัดได้ (not reach) แตกต่างกันแต่ไม่พบความสำคัญทางสถิติ ($p = 0.46$) รูปที่ 4.8 ในกลุ่มที่มี PS เท่ากับ 1 ไม่พบความแตกต่าง

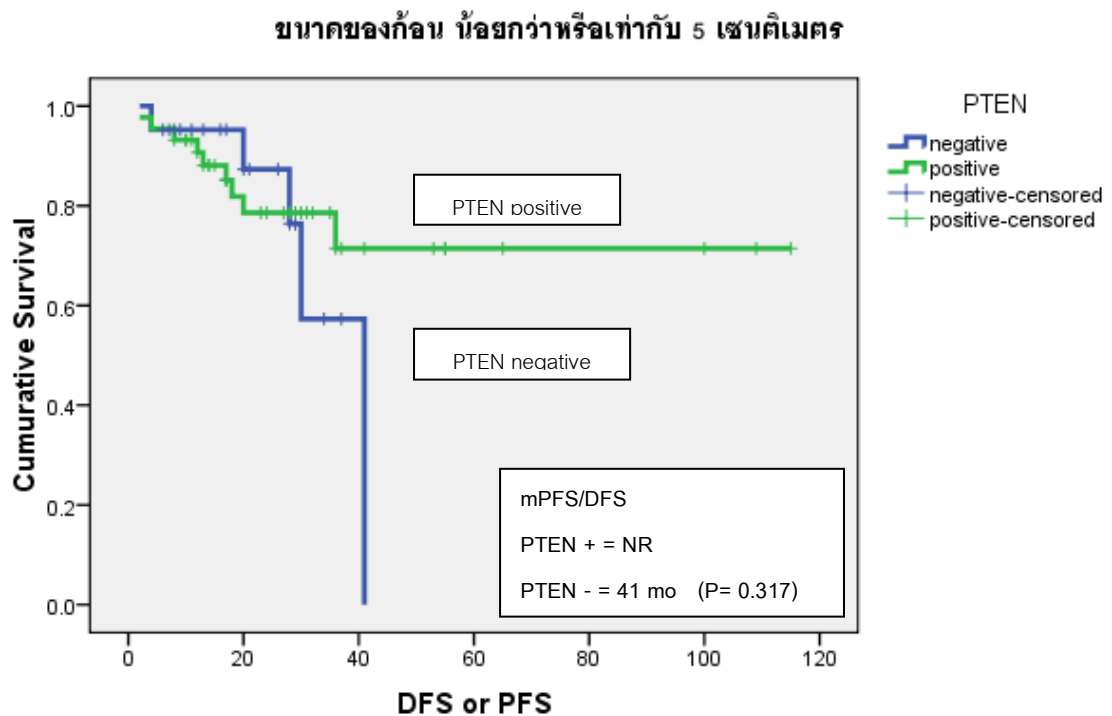
ถ้าแบ่งตามกลุ่มย่อยของขนาดของก้อน (tumor size) ที่มีขนาดเล็กกว่าหรือเท่ากับ 5 เซนติเมตร พบว่า กลุ่มไม่มีการแสดงออกของโปรตีนพีเทนและกลุ่มที่มีการแสดงออกของโปรตีนพีเทนมีจำนวนเท่ากับ 20 รายและ 44 รายตามลำดับ พบว่าค่ามัธยฐานของการปลอดโรคในกลุ่มไม่มีการแสดงออกของโปรตีนพีเทนมีค่าที่ต่ำกว่ากลุ่มที่มีการแสดงออกของโปรตีนพีเทน คือ 41 เดือน เทียบกับค่าที่ยังไม่สามารถวัดได้ (not reach) แตกต่างกันแต่ไม่พบความสำคัญทางสถิติ ($p = 0.317$) รูปที่ 4.9 ส่วนในกลุ่มที่มากกว่า 5 เซนติเมตร ไม่พบความแตกต่างกัน



ภาพที่ 4.7 แสดงถึงระยะการปลอดโรคของ PTEN negative และ PTEN positive ที่อายุ < 50 ปี



ภาพที่ 4.8 แสดงถึงระยะการปลอดโรคของ PTEN negative และ PTEN positive ที่ PS = 0



ภาพที่ 4.9 แสดงถึงระยะการปลอดโรคของ PTEN negative และ PTEN positive ที่ก้อนขนาดก้อน
 น้อยกว่า < 5 เซนติเมตร

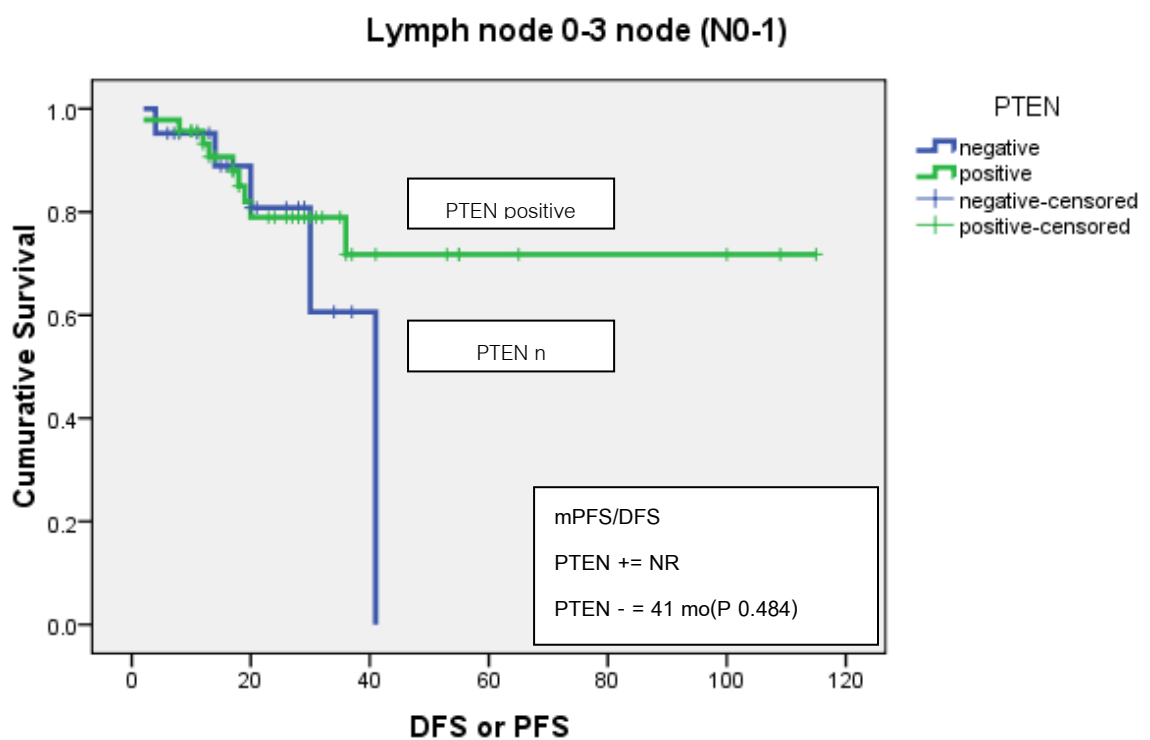
ถ้าแบ่งตามกลุ่มย่อยของการลุกลามต่อมน้ำเหลือง (lymph node) พบว่ากลุ่มที่ไม่มี การลุกลามไปต่อมน้ำเหลือง (N0) ถึงที่ลุกลามต่อมน้ำเหลืองไม่เกิน 3 ต่อมน (N1) นั้น ซึ่งถ้าแบ่งตามกลุ่ม ไม่มี การแสดงออกของโปรตีนพีเทนและกลุ่มที่มีการแสดงออกของโปรตีนพีเทนมีจำนวนเท่ากับ 21 รายและ 46 รายตามลำดับ พบว่าค่ามัธยฐานของการปลอดโรคในกลุ่มที่ไม่มี การแสดงออกของโปรตีนพีเทนมีค่าที่ต่ำกว่ากลุ่มที่มีการแสดงออกของโปรตีนพีเทน คือ 41 เดือนเทียบกับค่าที่ยังไม่ สามารถวัดได้ (not reach) แตกต่างกันแต่ไม่พบความสำคัญทางสถิติ ($p = 0.484$) เช่นกัน (รูปที่ 4.10) สำหรับในกลุ่มที่ลุกลามต่อมน้ำเหลืองมากกว่า 3 ต่อมนขึ้นไป แบ่งตามกลุ่มไม่มี การแสดงออกของโปรตีนพีเทน และกลุ่มที่มีการแสดงออกของโปรตีนพีเทนมีจำนวนเท่ากับ 4 รายและ 8 ราย ตามลำดับ พบว่าค่าระยะ ค่ามัธยฐานการปลอดโรคในกลุ่มที่ไม่มี การแสดงออกของโปรตีนพีเทนการ ปลอดโรค มีความแตกต่างกลุ่มที่มีการแสดงออกของโปรตีนพีเทน คือ 28 เดือน เทียบกับ not reach แต่ไม่พบความสำคัญทางสถิติ ($p = 0.484$)

ถ้าแบ่งตามกลุ่มของค่า Ki-67 (proliferation index) กลุ่มที่ Ki-67 มากกว่า 30% โดยให้ แบ่งตามกลุ่มไม่มี การแสดงออกของโปรตีนพีเทน และ กลุ่มที่ มีการแสดงออกของโปรตีนพีเทนมี จำนวนเท่ากับ 19 รายและ 42 รายตามลำดับ พบว่าค่ามัธยฐานของการปลอดโรคในกลุ่มไม่มี การ แสดงออกของโปรตีนพีเทนค่ามัธยฐานการปลอดโรค มีความแตกต่างกลุ่มที่มีการแสดงออกของ โปรตีนพีเทน คือ 16 เดือน เทียบกับ 26 เดือนแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.048$) (ไม่ได้แสดงรูป)

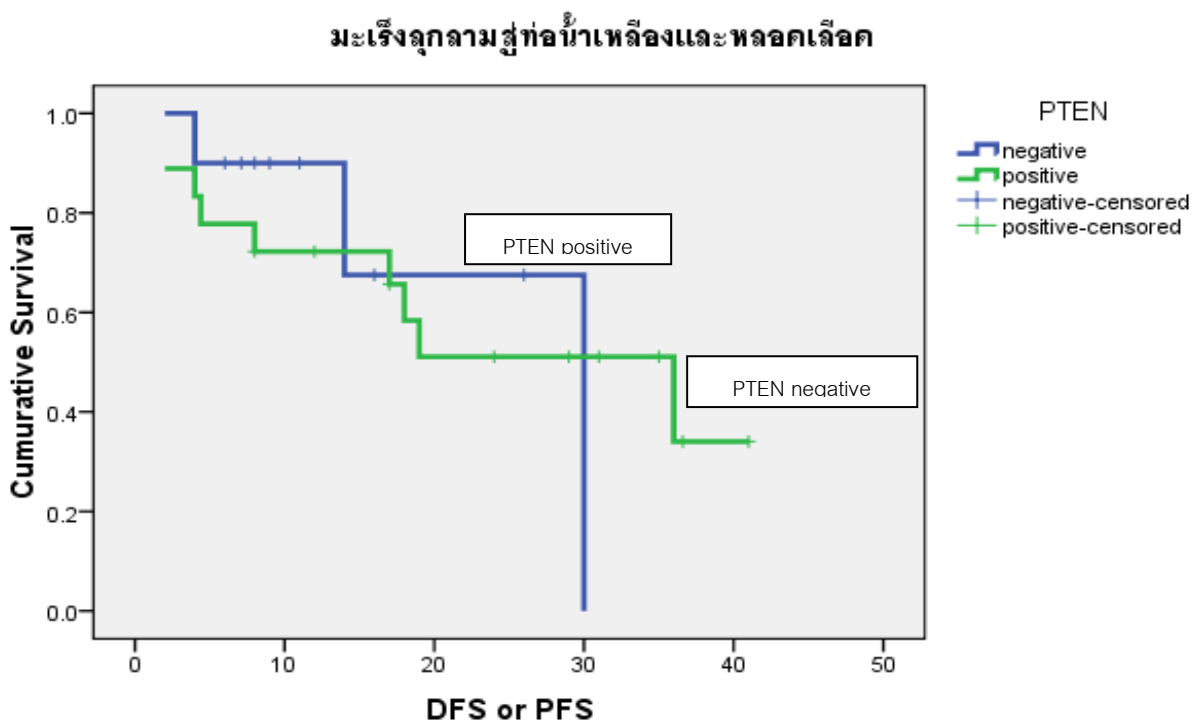
และสำหรับกลุ่มที่ก้อนเนื้อมะเร็งลุกลามสู่อวัยวะและหลอดเลือดนั้นถึงแม้พบว่ากลุ่มที่ ไม่แสดงออกของโปรตีนพีเทนมีมากกว่า (ร้อยละ 52.6 เทียบกับ 46.8) แต่แนวโน้มของความ ต่างของค่ามัธยฐานการปลอดโรค ระหว่างกลุ่มที่ไม่มี การแสดงออกของโปรตีนพีเทน และกลุ่มที่ มีการแสดงออกของโปรตีนพีเทนมีค่าไม่แตกต่างกัน รูปที่ 4.11 ($p = 0.997$)

เมื่อพิจารณาเฉพาะกลุ่มผู้ป่วยที่มาติดตามอาการตั้งแต่ที่ 2 ปีขึ้นไป พบว่าในกลุ่มที่มีการ ขาดโปรตีนพีเทน 24 ราย มีผู้ป่วยที่มีการกลับเป็นซ้ำที่ 2 ปี 4 ราย (ร้อยละ 16.7) และในกลุ่มที่มีการ แสดงออกของโปรตีนพีเทนทั้งหมด 11 ราย (ร้อยละ 20.3) แต่ไม่สามารถคำนวณค่ามัธยฐานได้ แต่ สามารถบอกค่ากลางของการปลอดโรคได้ โดยผู้ป่วยที่มีการขาดโปรตีนพีเทนมีระยะเวลาติดตาม อาการโดยเฉลี่ย 34.6 เดือน ซึ่ง สันนิษฐานว่าผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของโปรตีนพีเทน ซึ่งมีระยะติดตาม อาการโดยเฉลี่ย 89.9 เดือน ($p = 0.849$)

สำหรับกลุ่มผู้ป่วยที่มาติดตามอาการตั้งแต่ 5 ปีขึ้นไป พบว่าในกลุ่มที่มีการขาดโปรตีนพีเทน 24 ราย มีผู้ป่วยที่มีชีวิตรอดโดยไม่มีการกลับเป็นซ้ำของโรคที่ 5 ปีเท่ากับ 18 ราย และในกลุ่มที่มีการแสดงออกของโปรตีนพีเทนจำนวน 43 ราย โดยคำนวณค่ามัธยฐานของการปลอดโรคได้ของกลุ่มที่มีการขาดโปรตีนพีเทนเท่ากับ 41 เดือน แต่สามารถบอกค่ากลางของการปลอดโรค ในกลุ่มที่มีการแสดงออกของโปรตีนพีเทนได้ โดยผู้ป่วยที่มีการขาดโปรตีนพีเทนมีระยะเวลาติดตามอาการโดยเฉลี่ย 32.6 เดือน ซึ่ง สั้นกว่าผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของโปรตีนพีเทน ซึ่งมีระยะติดตามอาการโดยเฉลี่ย 87.4 เดือน ($p=0.383$)



ภาพที่ 4.10 แสดงถึงระยะการปลอดโรคของ PTEN negative และ PTEN positive ที่ไม่ถูกลามสู่ต่อมน้ำเหลืองถึง ลูกกลมไม่เกิน 3 ต่อมน



ภาพที่ 4.11 แสดงถึงระยะการปลอดโรคของ PTEN negative และ PTEN positive ที่
ลูกกลมสูท่อน้ำเหลืองและหลอดเลือด

ส่วนที่ 3 การตอบสนองต่อยาเคมีบำบัด

เมื่อศึกษาเฉพาะกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับยาเคมีบำบัดก่อนการผ่าตัด เพื่อเปรียบเทียบการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดซึ่งดูจากสัดส่วนผู้ป่วยที่รอยโรคหายไปหลังได้รับการรักษา (pathological complete response หรือ pCR) พบว่ากลุ่มที่มีการขาดโปรตีนพีเทนมีการหายไปของรอยโรคหลังได้รับการรักษา เป็นสัดส่วนที่น้อยกว่ากลุ่มที่มีการแสดงออกของโปรตีนพีเทน คือ 1 ใน 5 ราย (ร้อยละ 20) เทียบกับ 9 รายใน 11 ราย (ร้อยละ 81.8) ดังตารางที่ 4.7 และกลุ่มที่มีการขาดโปรตีนพีเทนมีการตอบสนองต่อก้อนมะเร็งทั้งหมด (overall response rate) น้อยกว่ากลุ่มที่มีการแสดงออกของโปรตีนพีเทน 3 ใน 5 ราย (ร้อยละ 60) เทียบกับตอบสนองทั้ง 11 (ร้อยละ 100)

neoadjuvant chemotherapy	PTEN negative		PTEN positive		p-value
	n	%	N	%	
pathological complete response					
pCR	1	20%	9	81.8%	0.091
no pCR	4	80%	2	18.2%	

ตารางที่ 4.7 แสดงการตอบสนองต่อการได้ยาเคมีบำบัดก่อนผ่าตัด

จากกรณีนี้ เมื่อนำข้อมูลมาพิจารณาเพื่อดูค่ามัธยฐานของการปลอดโรคเฉพาะกลุ่มที่ได้ pCR เนื่องจากในกลุ่มที่มีการขาดโปรตีนพีเทนมีเพียง 1 รายเท่านั้นซึ่งเป็นข้อมูลที่น้อยมาก จึงไม่สามารถคำนวณได้ (ค่าระยะปลอดโรคในรายนี้เท่ากับ 28 เดือน) แต่สำหรับกลุ่มที่มีการแสดงออกของโปรตีนพีเทน มีค่าเท่ากับ 19 เดือน

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

สรุปผลการวิจัย

มะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาติฟ ปัจจุบันเริ่มมีการศึกษามากขึ้นเพราะว่าเป็นโรคที่มีการพยากรณ์ของโรคที่รุนแรงกว่า และการไม่มีการรักษาเสริมอื่นใดนอกจากการให้ยาเคมีบำบัด วิทยาการในปัจจุบันล้ำหน้ามากขึ้น เราจึงใช้วิทยาการใหม่ๆ มาศึกษาและค้นหาวิธีการที่จะเอาชนะมะเร็งชนิดนี้

การศึกษานี้ได้รวบรวมผู้ป่วยมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาติฟทั้งหมด ที่ได้รับการรักษาที่หน่วยมะเร็ง โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ทั้งหมด 175 คน ตั้งแต่มีถุนายน 2549 จนถึง 31 ธันวาคม 2554 ซึ่งเทียบกับการศึกษาอื่นๆ พบว่า รวบรวมจำนวนผู้ป่วยได้ใกล้เคียงกัน ตารางที่ 5.1

ตารางที่ 5.1 แสดงข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาติฟ เปรียบเทียบแต่ละการศึกษา

Author		Carey[59, 60]	Rebecca[17]	Tan[61]	Current study
N	n	100	180	175	78(175)
	year	2006	2007	2009	2012
Age	mean age	46	53	<40 yrs	49.2
Menopausal	Premenopausal	64%			53%
	Postmenopausal	36%			47%
Size	0-2 cm.		37%	31%	27%
	2-5 cm.		56%	48%	55%
	>5 cm.		8%	21%	18%
LN status	0 noode	59%	54%	45%	60%
	1-3 node				24%
	4-9 node	41%	45%	55%	12%
	>= 10 node				4%

ตารางที่ 5.1 แสดงข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาติฟเปรียบเทียบแต่ละการศึกษา (ต่อ)

Author		Carey[59, 60]	Rebecca[1 7]	Tan[6 1]	Current study
Grade	I	2%	10%	4%	1%
	II	14%	24%	27%	21%
	III	81%	66%	69%	78%
Ki67	<= 30 %	13%			14%
	>30%	87%			86%
Lymphovascular invasion	negative		40%		52%
	positive		60%		48%
Stage	Early			78%	76%
	Locally advanced			23%	22%
	Metastasis				3%
Histology	Ductal	76%		83%	91%
	Lobular	4%		17%	1%
	other	20%			8%

คำถามของการวิจัยคือการตรวจหาความชุกของโปรตีนพีเทน ซึ่งคำนวณค่าสถิติแล้วต้องการ 92 ราย สามารถเก็บตัวอย่างมาได้ 175 ราย แต่จำนวนผู้ที่นำมาวิเคราะห์ได้จริงเท่ากับ 78 ราย ผู้วิจัยจึงสามารถจะเปรียบเทียบกับข้อมูลทั้งหมดที่สามารถนำมาแปลผลได้จริงคือ 78 ราย

การศึกษาที่ผ่านมาก่อนหน้านี้ พบข้อมูลที่ ทำในเฉพาะกลุ่มมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาติฟ ซึ่งข้อมูลของมะเร็งเต้านมชนิดนี้มักพบในผู้ป่วยอายุน้อย มีการดำเนินโรครุนแรง โอกาสกลับเป็นซ้ำหลังการรักษาเสริมสูงโดยเฉพาะใน 1-3 ปีแรก มีอัตราการรอดชีวิตสั้นกว่าชนิดอื่นๆ ส่วนมากมักเสียชีวิตในช่วง 5 ปีแรก และ ยังไม่มีการรักษาเฉพาะนอกเหนือจากยาเคมีบำบัดเป็นหลัก

จากการศึกษานี้ เมื่อวิเคราะห์แต่ละปัจจัยของมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาตีฟ เทียบกับการศึกษาก่อนหน้านี้ พบว่าค่าเฉลี่ยอายุกลางที่มากกว่า อยู่ในช่วงวัยก่อนหมดประจำเดือน มากกว่า มีการดำเนินโรครุนแรงคล้ายคลึงกับการศึกษาอื่น ๆ ก่อนหน้านี้คือ มีขนาดของก้อนอยู่ในช่วง 2-5 เซนติเมตรมากที่สุด มีเกรดของเซลล์ที่รุนแรงคือเกรด 3 และมีค่า Ki-67 ที่สูงมีผลเป็นบวก แต่ส่วนใหญ่มักมาด้วยระยะแรกมากกว่าระยะอื่น และมักจะตรวจพบว่าไม่ลุกลามเข้าสู่ต่อมน้ำเหลือง นอกเหนือจากนั้นจากข้อมูลของการศึกษาในปัจจุบันที่สำคัญคือจำนวนผู้ป่วยที่มีการกลับมาเป็นซ้ำหรือเสียชีวิตที่ 2 ปีและที่ 5 ปี มีค่าสูงขึ้นไม่มากคือ ร้อยละ 18.3 เป็นร้อยละ 20.3 หรือจำนวน 2 คน เท่ากับร้อยละ 2 และค่ามัธยฐานของการปลอดโรค คือ 61 เดือน

ความชุกของการขาดไปของโปรตีนพีเทนในมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาตีฟในประเทศไทย

วัตถุประสงค์หลักของการศึกษานี้ คือ การหาความชุกของการขาดไปของโปรตีน พีเทน จากการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า ความชุกของการขาดหายไปของโปรตีนพีเทนในมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาตีฟสำหรับประชากรของประเทศไทยมีค่าเท่ากับ ร้อยละ 30.8 เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาจากต่างประเทศที่นำมาใช้อ้างอิง พบว่าประชากรของเรามีความชุกที่ไม่แตกต่างกัน ซึ่งจากที่รายงานพบว่ามี ความชุกอยู่ในช่วง ตั้งแต่ร้อยละ 28 ถึง 48 และในทางสถิติการศึกษาในต่างประเทศที่พบเพียงร้อยละ 40 ซึ่งเมื่อนำผลการศึกษามาทดสอบสมมติฐานที่ตั้งไว้ จะสามารถคำนวณค่า $Z = -1.64$ ซึ่งไม่ปฏิเสธ H_0 จึงสรุปได้ว่าความชุกของการขาดไปของโปรตีนพีเทนในผู้ป่วยสตรีที่เป็นมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาตีฟเท่ากับร้อยละ 40 โดยที่ค่า Binomial Exact 95%CI เท่ากับ 75.7877% - 91.4232% และถึงแม้จำนวนผู้ป่วยไม่ถึงตามที่กำหนด แต่สามารถยอมรับผลการศึกษานี้ได้ เมื่อคำนวณย้อนกลับตามจำนวนตัวอย่างที่ได้ ข้อมูลนี้จะมีความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 90

อย่างที่ทราบกันแล้วว่าพีเทน เป็นยีนที่ทำหน้าที่ยับยั้งการเกิดเซลล์ขึ้นของเซลล์ที่ผิดปกติ (tumor suppressor gene) เพื่อให้เกิดความสมดุลขึ้นในเซลล์ เพราะฉะนั้น ถ้ามีความผิดปกติขึ้นซึ่งเกิดจากโปรตีนพีเทนจึงเป็นส่วนทำให้เกิดเซลล์มะเร็งได้ และอาจนำไปสู่การพยากรณ์ของโรคที่รุนแรงมากขึ้นได้

การเลือกชนิดของแอนติบอดีที่ใช้ เหตุผลที่ ผู้ทำวิทยานิพนธ์เลือกใช้ anti - PTEN monoclonal antibody ชนิด clone 28H6 เนื่องจาก เป็นชนิดที่ไวต่อการตรวจสอบได้ดี ซึ่งไม่แตกต่างกับชนิดอื่น เช่น anti-PTEN monoclonal antibody ชนิด clone 6H2.1 มีการศึกษาในชั้นเนื้อจากมะเร็งของเยื่อบุโพรงมดลูกของ Pallares et al. ที่พบว่า clone 28H6 มีความไวสูงถึงร้อยละ

93 ในกลุ่มที่ไม่แสดงออกของโปรตีนพีเทน และพบร้อยละ 80 ในกลุ่มที่แสดงออกของโปรตีนพีเทน และไม่ต่างกับแอนติบอดีชนิดอื่น และสามารถหาได้ง่ายและราคาไม่แพง ซึ่งการศึกษานี้ได้บอกถึงความเกี่ยวข้องและมีลักษณะที่สัมพันธ์กันกับความผิดปกติของยีนพีเทนกับการไม่แสดงออกของโปรตีนพีเทนได้

ข้อสำคัญของการย้อมด้วยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมีคือ คุณภาพของชิ้นเนื้อ เช่นกระบวนการฟิกเซชัน (fixation) บนพาราฟินให้เสถียร คุณภาพของการย้อมเช่นเวลาในแต่ละขั้นตอน หรือปริมาณความเข้มข้นของสารถ้อมที่สมดุลตลอดการศึกษา และการอ่านค่าและแปลผลโดยแพทย์ผู้เชี่ยวชาญทางพยาธิวิทยาโดยเฉพาะ โดยทางผู้ทำการวิจัยได้คำนึงถึงจุดนี้เป็นอย่างดี แต่เนื่องจากตัวแปรที่สำคัญคือคุณภาพของชิ้นเนื้อ เช่นบางตัวอย่างมีอายุยาวนานและไม่สามารถนำมาย้อมได้ หรือคุณภาพจากตัวอย่างชิ้นเนื้อที่มาจากโรงพยาบาลอื่น หรือส่วนชิ้นเนื้อที่ได้มาไม่เพียงพอหรือไม่มีส่วนที่เป็นมะเร็ง จึงเป็นสาเหตุหลักที่ทำให้ได้ตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์ได้นั้นน้อยกว่าจำนวนที่คำนวณไว้ (78 ตัวอย่าง, จำนวนที่คำนวณเพื่อตอบคำถามการวิจัย 92 ตัวอย่าง) แต่อย่างไรก็ตามหากคำนวณกลับทางสถิติเพื่อให้ได้จำนวนตามที่ต้องการแล้ว ค่าความชุกที่ได้ คือประมาณร้อยละ 34 ซึ่งไม่ปฏิเสธ H0 เหมือนกัน จึงสรุปได้ว่าความชุกของการขาดโปรตีนพีเทนในผู้ป่วยสตรีที่เป็นมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาตีฟเท่ากับร้อยละ 40

มาตรฐานของการอ่านและให้คะแนนของอิมมูโนฮิสโตเคมีวิธีหนึ่ง คือ วิธี immunoreactive score (IRS) มาจากการศึกษาของ“Chui et al.”[62] โดยครั้งแรกได้มีการใช้ในกรณีที่มีคะแนนน้อยกว่า 9 ซึ่งสามารถบอกถึงการไม่แสดงออกของโปรตีนพีเทนได้ประมาณ ร้อยละ 36.2 ถึง 43.2 แต่หลังจากนั้นพบว่ายิ่งให้คะแนนน้อยลงยิ่งมีความจำเพาะสูงขึ้น ผู้ทำการวิจัยนี้จึงได้อ้างอิงวิธีการที่ใช้คือ immunoreactive score และเลือกที่ใช้คะแนนที่ 0-4 เพื่อบอกลักษณะถึงการไม่แสดงออกของโปรตีนพีเทน และผู้ประเมินการอ่านคือผู้เชี่ยวชาญทางด้านพยาธิวิทยาของคณะพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์วิทยาลัย เพียง 1 ท่าน ซึ่งไม่ทราบอาการทางคลินิกของคนใช้ในแต่ละราย (blinded) จึงไม่มีอคติในการแปลผล

จากข้อมูลปัจจุบันมีการศึกษามากขึ้นในมะเร็งชนิดเฮอรัททู (HER2 positive breast cancer) กับโปรตีนพีเทนในแง่ของการตอบสนองต่อการรักษา[57] ซึ่งพบว่ากลุ่มที่ไม่แสดงออกของโปรตีนพีเทน มีการตอบสนองต่อยาทรอสตูแมบ (trastuzumab) ซึ่งเป็นยาเป้าตรงชนิดโมโนโคลนอล แอนติบอดีต่อตัวรับสัญญาณเฮอรัททู (anti-HER2 monoclonal antibody) นั้นลดลง แต่แสดงให้เห็นว่าไม่มีความแตกต่างของการตอบสนองจากยาเคมีบำบัดชนิดแทกเซน คือ พาคลิแทกเซล

(paclitaxel) ซึ่งจากการศึกษานี้ไม่สามารถบอกเรื่องการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดได้ เพราะส่วนใหญ่ใช้ในแง่การเป็นการรักษาเสริมหลังการผ่าตัด (adjuvant chemotherapy) แต่ถ้านำไปคำนวณทางสถิติเพื่อดูความสัมพันธ์ของการใช้ยาในกลุ่ม taxane กับระยะเวลาปลอดโรค พบว่ากลุ่มที่ไม่แสดงออกของโปรตีนพีเทนยังคงมีแนวโน้มค่ามัธยฐานการปลอดโรคต่ำกว่าอีกกลุ่ม คือ ที่ 28 เดือน เทียบกับ ยังไม่สามารถ คำนวณได้ (not reach), $p = 0.076$ ซึ่งจากผลลัพธ์ที่กล่าวมาจึงอาจไม่สามารถบอกการตอบสนองต่อยาได้

อภิปรายผลการวิจัย

ถึงแม้การศึกษานี้มีการติดตามผลการศึกษามานาน แต่ส วนใหญ่คนไข้จะมาในระยะแรกของโรค พบอัตรา เพียง 13 ราย (ร้อยละ 16.6) ที่เสียชีวิตจึงไม่สามารถบอกถึงค่ามัธยฐานของดำรงชีวิตโดยการปลอดโรคได้ แต่สามารถบอกค่ามัธยฐานของการปลอดโรคของกลุ่มที่ไม่แสดงออกของโปรตีนพีเทนได้ที่ 30 เดือนแสดงจากข้อมูลเบื้องต้น(บทที่4)

เมื่อนำข้อมูลจากการศึกษานี้เปรียบเทียบกับการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่า การศึกษาที่ผ่านมาเกือบทั้งหมด (ตาราง5.2) ความชุกของการไม่แสดงออกของโปรตีนพีเทนของมะเร็งเต้านมอยู่ในช่วงร้อยละ 28 ถึง 48 สำหรับมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาติฟเท่านั้นของประเทศไทย จากการคำนวณทางสถิติพบว่าอาจไม่มีความแตกต่างจากกลุ่มประชากรจากต่างประเทศ ถ้าอ้างอิงตาม Shikha et al.[63] ที่พบความชุกของการไม่แสดงออกของโปรตีนพีเทนโดยไม่แยกชนิดของมะเร็งเต้านมเท่ากับร้อยละ 40 อย่างที่กล่าวข้างต้นและมีการศึกษาของ Depowski et al.[2] โดยที่เป็นเซลล์ที่ไม่มีตัวรับสัญญาณเอสโตรเจนสูงถึงร้อยละ 68 แต่ไม่สัมพันธ์กับมะเร็งเต้านมที่ไม่มีตัวรับสัญญาณโปรเจสเทอโรน และ ในยุคนั้นยังไม่มีการศึกษาแยกกลุ่มตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นมาตรฐาน จึงอาจบอกยังไม่ได้ว่าทั้งหมดนั้น เป็นความชุกเฉพาะกลุ่ม TNBC หรือไม่ การศึกษานี้จึงเป็นการศึกษาแรกในประเทศไทยที่ตรวจหาโปรตีนพีเทนจากมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาติฟ

ปัจจุบัน เมื่อได้ทำการหาข้อมูลเพิ่มเติม พบว่าจากงานประชุม American Society of Clinical Oncology (ASCO) 2011 breast cancer symposium ในหมวดของ “Detection, Screening, and Imaging” ได้มีการนำเสนอโปสเตอร์ของ Khatib et al. ซึ่งศึกษาผู้ป่วยชนชาติปาเลสไตน์ที่วินิจฉัยเป็นมะเร็งเต้านมทั้งหมด 100 ราย และพบว่ามี TNBC ร้อยละ30 และมีการตรวจการแสดงออกของโปรตีนพีเทนโดยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมีเช่นกัน พบว่าความชุกของการไม่แสดงออกของโปรตีนพีเทนที่สัมพันธ์กับ TNBC เท่ากับร้อยละ 60 ซึ่งมากกว่าการศึกษาที่ผ่านมาทั้งหมด แต่อย่างไรก็ตาม การศึกษาดังกล่าวมีข้อสังเกตว่าประชากรที่ศึกษาทั้งหมดนั้นมีเพียง 100

รายและเป็นชนิด TNBC เพียง 30 รายเท่านั้น ถ้านำมาเทียบกับการศึกษานี้ ผู้ทำการวิจัยได้ทำการเลือกเฉพาะกลุ่มที่เป็น TNBC เท่านั้นเท่ากับ 78 ราย ซึ่งมากกว่าการศึกษาดังกล่าวประมาณ 2.5 เท่าและมีความจำเพาะมากกว่า เพราะฉะนั้น การศึกษานี้จึงเป็นการศึกษาแรกที่ตรวจการแสดงออกของโปรตีนพีเทนเฉพาะในกลุ่มมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาติฟ

ตารางที่ 5.2 แสดงข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยมะเร็งเต้านม(และมะเร็งเยื่อบุโพรงมดลูก)กับไม่แสดงออกของโปรตีนพีเทน เปรียบเทียบแต่ละการศึกษา

Author	Pallares et al.[44]	Shinichi [64]	Depowski et al.[2]	Feilotter et al.[65]	Shikha et al.[63]	Aurel et al.[43]	Current study
n	70	236	151	70	42	33	78
cancer type	Endometrium	IDC	IDC	IDC(97%)	IDC	IDC	IDC(91%)
%PTEN negative	60%	28%	48%	39%	40%	33%	30.8%
method	mAb 6H2.1	mAb 28.6	mAb 6H2.1	LOH	LOH	mAb 6H2.1	mAb 28.6
Age	-	-	mean 59	-	-	-	mean49.2
<=50	-	55.0%	-	-	-	-	59.0%
>50	-	45.0%	-	-	-	-	41.0%
tumor size							
0-2cm.	-	22.0%	25.0%	-	-	-	26.9%
2-5cm.	-	31.0%	50.0%	-	-	-	55.1%
>5cm	-	28.0%	9.0%	-	-	-	17.9%

ตารางที่ 5.2 แสดงข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยมะเร็งเต้านม(และมะเร็งเยื่อโพรงมดลูก)กับไม่แสดงออกของโปรตีนพีเทน เปรียบเทียบแต่ละการศึกษา(ต่อ)

Author	Pallares et al.[44]	Shinichi [64]	Depowski et al.[2]	Feilotter et al.[65]	Shikha et al.[63]	Aurel et al.[43]	current study
nuclear gr,							
1,2	-	26.0%	48.0%	-	48.0%	-	22.4%
3	-	33.0%	52.0%	-	52.0%	-	77.6%
lymph node							
positive	-	23.0%	60.0%	-	-	-	51.7%
negative	-	35.0%	40.0%	-	-	-	48.3%

อายุเฉลี่ยของการศึกษานี้เฉพาะกลุ่มที่ไม่แสดงออกของโปรตีนพีเทน มีอายุที่มากกว่าอายุเฉลี่ยเฉพาะกลุ่มที่มีแสดงออกของโปรตีนพีเทน คือ 51 ปีเทียบกับ 47 ปี เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาก่อนหน้านี้ ซึ่งโดยตามทฤษฎีคือ TNBC เป็นกลุ่มที่มีอายุเฉลี่ยน้อยกว่าในกลุ่มอื่นคือ 50-55 ปี [66-68] ฉะนั้นการแสดงออกหรือไม่แสดงออกของโปรตีนพีเทน อาจมีแนวโน้มสัมพันธ์กับอายุเฉลี่ยที่มากกว่ากลุ่มที่แสดงออกของโปรตีนพีเทน

ส่วนข้อมูลด้านการพยากรณ์ของโรคพบว่ากลุ่มที่ไม่แสดงออกของโปรตีนพีเทน มีแนวโน้มที่มีความรุนแรงที่มากกว่าและอาจมีการพยากรณ์ของโรคที่แย่กว่า เช่น ก้อนมีขนาดใหญ่มีมากกว่า การแบ่งตัวหรือค่า Ki-67 เป็นบวกมากกว่า มีการลุกลามสู่หลอดน้ำเหลืองและหลอดเลือดมากกว่า ถึงแม้อายุเฉลี่ยมากกว่า และเป็นกลุ่มที่ performance status ที่ดีกว่า กระจายสู่ต่อมน้ำเหลืองน้อยกว่าก็ตาม และถึงแม้การศึกษานี้ไม่ได้ออกแบบมาเพื่อบอกความแตกต่างของปัจจัยดังกล่าวก็ตาม คำถามหลักของการวิจัย คือ ศึกษาหาความชุก และข้อมูลที่ได้มานั้นจำเพาะกับ TNBC เท่านั้น ซึ่งต่างจากการศึกษาอื่นๆที่ศึกษาในกลุ่มประชากรมะเร็งเต้านมทั้งหมด หรือเฉพาะเฮอรัท

แต่อย่างไรก็ตามความแตกต่างของโดยเฉลี่ยที่โรคกลับเป็นซ้ำหรือลุกลามมากขึ้น ระหว่างผู้ป่วยทั้ง 2 กลุ่มนี้ ยังไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ เนื่องจากระยะเวลาที่ติดตามอาการผู้ป่วยโดยเฉลี่ย 2.5 ปีนั้น สั้นเกินไป เพราะผู้ป่วยส่วนใหญ่ คือ ประมาณร้อยละ 75.6 ยังเป็นมะเร็งระยะต้น ซึ่งมีการพยากรณ์โรคที่ดีอยู่แล้วการศึกษาติดตามเพียง 2-3 ปีอาจไม่เพียงพอสำหรับการวิเคราะห์ และไม่ยาวนานพอที่จะเห็นถึงความแตกต่างระหว่างผู้ป่วยทั้ง 2 กลุ่ม

การตอบสนองต่อการรักษา

ถึงแม้ในปัจจุบัน เนื่องจากวิทยาการก้าวหน้ามากขึ้นและได้มีการแบ่งกลุ่มมะเร็งเต้านมตาม Molecular Biology คือ Luminal A ร้อยละ 40, Luminal B ร้อยละ 25, HER2 ร้อยละ 20, TNBC ร้อยละ 15 ถึงแม้ TNBC ยังไม่มีตัวบ่งชี้ที่ชัดเจนในการรักษาโดยเฉพาะ แต่การศึกษาเบื้องต้นสามารถแบ่งเป็นกลุ่ม Basal-like (CK5/6+, EGFR +) และกลุ่ม Non basal – like หรือ Claudin Low (CK5/6-,EGFR+) โดยการแยกกลุ่มดังกล่าวมีผลต่อการพยากรณ์ของโรค(Prognosis) และการตอบสนองต่อการรักษา (Predictive) ได้ แต่ ปัจจุบันยังไม่มีวิธีการย้อมด้วยอิมมูโนฮิสโตเคมีที่สามารถแยกกันได้อย่างชัดเจน แต่มีความแตกต่างของการแสดงออกของ โปรตีนของเซลล์บางชนิดได้บ้าง เช่น กลุ่ม Basal-like มีการแสดงของโปรตีนชนิด CK5/6, EGFR, Cyclin E, Vimentin ที่มากกว่ากลุ่ม non basal-like แต่ในแง่ของการรักษาถือว่าในกลุ่ม TNBC ทั้งหมดนี้ คือการรักษาโดย

ยาเคมีบำบัดเป็นหลักไม่ต่างกัน อย่างไรก็ตามกลุ่ม TNBC มีความสัมพันธ์กับการกลายพันธุ์ของยีนปรีอาร์ซีเอวัน (BRCA-1, breast related cancer - 1) โดยถ้ามี BRCA mutation จะสัมพันธ์กับการตอบสนองต่อเคมีบำบัดกลุ่มพลาตินัม เช่น cisplatin ในข้อมูล phase 2 โดยพบว่าการตอบสนองต่อการให้ยาเพื่อให้ตอบสนองจนไม่พบเซลล์มะเร็ง (pCR) ถึงร้อยละ 72 แต่ในการศึกษานี้มีกลุ่มที่ให้ยาเคมีบำบัดก่อนการผ่าตัดมีจำนวนเพียง 12 ราย และไม่มีผู้ป่วยรายใดได้ รับยา cisplatin[69] เนื่องจากเหตุผลคือยา cisplatin ยังไม่เป็นมาตรฐานในการรักษาเป็นสูตรยาแรกปัจจุบัน โดยสูตรมาตรฐานหลักคือยา anthracyclin และ/หรือ ยา taxane และจากข้อมูลการศึกษานี้ มีเพียง 1 รายของกลุ่มที่ไม่แสดงออกของโปรตีนพีเทนจาก 5 ราย (ร้อยละ20) ที่ได้ pCR ซึ่งมีจำนวนน้อยผู้ป่วยน้อยมากจึงยังไม่สามารถสรุปได้ แต่ บอกได้เพียงว่า การขาดหายไปของโปรตีนพีเทน อาจไม่มีความสัมพันธ์กับการตอบสนองต่อการให้ยาเพื่อให้ตอบสนองจนไม่พบเซลล์มะเร็ง ยิ่งไปกว่านั้นคือกลุ่มที่ no pCR 4 ราย มี 1 รายที่ไม่ตอบสนองลุกลามหลังได้รับยาเคมีบำบัด (PD) ซึ่งไม่พบ PD เลยในกลุ่มที่แสดงถึงโปรตีนพีเทน อาจเป็นข้อสนับสนุนข้อหนึ่ง ที่อาจไม่มีความสัมพันธ์กับการตอบสนองต่อเคมีบำบัดได้

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

การศึกษานี้เป็นการศึกษาแบบย้อนหลังไปข้างหน้า (retrospective - cohort study) โดยวัตถุประสงค์หลักเพื่อหาความชุกของการขาดโปรตีนพีเทนในผู้ป่วยสตรี ที่วินิจฉัยเป็นมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปลเนกาติฟ การหา ความชุกของการขาดหายไปของโปรตีนพีเทนนี้ตรวจโดยกระบวนการอิมมูโนฮิสโตเคมีจากชิ้นเนื้อเดิมที่มีอยู่แล้ว และผู้ป่วยใหม่ที่ได้รับการวินิจฉัย โดยเปรียบเทียบลักษณะของผู้ป่วย ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับโรค การดำเนินของโรคและการตอบสนองต่อการรักษา

ถึงแม้ว่าการที่ได้จำนวนชิ้นเนื้อที่สมบูรณ์เท่ากับ 78 ราย จากการคำนวณจำนวนที่เพียงพอในการตอบคำถามการวิจัยที่ต้องการคือ 92 รายโดยคิดคำนวณเผื่อคุณภาพไม่ดีเท่ากับร้อยละ 25 เป็นผลทำให้ค่าความน่าเชื่อถือถึงลดลง แต่จากความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95 และหากมีการคำนวณย้อนกลับ ปรากฏว่าคำตอบของการศึกษายังคงเป็นเหมือนเดิมคือไม่ปฏิเสธสมมติฐานการวิจัย

จากการวิเคราะห์ข้อมูลทั้งหมดนี้ ผู้ทำการวิจัย สามารถสรุปได้ว่า ความชุกของการขาดโปรตีนพีเทนในผู้ป่วยสตรีที่เป็นมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปลเนกาติฟของไทยไม่แตกต่างจากการศึกษาก่อนหน้านี้โดยมีค่าเท่ากับ ร้อยละ 30.8

ส่วนในแง่ของปัจจัยที่มีผลต่อระยะเวลาการปลอดโรค หรือปลอดการลุกลามของโรคของทั้งสองกลุ่ม อาจมีแนวโน้มในแง่การพยากรณ์ของโรคที่รุนแรงกว่า แต่เนื่องจากระยะเวลาการติดตามยังไม่ นานมากนักเป็นผลทำให้ยังไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เพราะผู้ป่วยส่วนใหญ่คือกลุ่ม ผู้ป่วยที่มากในระยะแรก มีประชากรส่วนน้อยที่มาในระยะลุกลามแล้ว

ข้อเสนอแนะ

1. เพิ่มจำนวนตัวอย่างโดยการเก็บตัวอย่างให้ได้มากขึ้น เช่นการเก็บชิ้นเนื้อให้มีประสิทธิภาพ ตามชิ้นเนื้อที่มาจากโรงพยาบาลอื่นทุกชิ้น มาทบทวนชิ้นเนื้อที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ กรณีที่ชิ้นเนื้อไหนที่ไม่ได้คุณภาพแล้วให้แยกออกให้ชัดเจน
2. การติดตามกลุ่มตัวอย่างนี้ต่อไปต่อเนื่องอย่างน้อย5ปีเพื่อศึกษาถึงการดำเนินโรค ในแต่ละกลุ่ม แล้วจึงทำการวิเคราะห์ข้อมูลอีกครั้ง เพราะจะทำให้สามารถมองภาพของการ ดำเนินโรคได้ชัดเจนมากขึ้น รวมถึงสามารถวิเคราะห์การรักษาต่อหลังจากการกลับมาเป็นซ้ำหรือ หรือลักษณะการแพร่กระจายได้
3. ให้มีการเชื่อมโยงกับการศึกษาเดิม เช่น การตรวจโปรตีนเรตินอบลาสโตมา (Retinoblastoma) หรือทำการวิจัยใหม่โดยใช้ฐานข้อมูลเดิมต่อยอดในการตรวจหาโปรตีนชนิดอื่น ที่มีความสำคัญในกระบวนการเกิดมะเร็ง เช่นโปรตีนPI3K, AKT
4. รอการศึกษาใหม่ที่สามารถรักษาPTEN loss โดยใช้ยาไปตรงต่อกระบวนการ PI3K-Akt-mTOR[70]

รายการอ้างอิง

- [1] Hildebrandt MA, Yang H, Hung MC, Izzo JG, Huang M, Lin J, et al. Genetic variations in the PI3K/PTEN/AKT/mTOR pathway are associated with clinical outcomes in esophageal cancer patients treated with chemoradiotherapy. J Clin Oncol. 27(6)(Feb 20 2009):857-71.
- [2] Depowski PL, Rosenthal SI, Ross JS. Loss of expression of the PTEN gene protein product is associated with poor outcome in breast cancer. Mod Pathol. 14(7)(Jul 2001):672-6.
- [3] Nagata Y, Lan KH, Zhou X, Tan M, Esteva FJ, Sahin AA, et al. PTEN activation contributes to tumor inhibition by trastuzumab, and loss of PTEN predicts trastuzumab resistance in patients. Cancer Cell. 6(2)(Aug 2004):117-27.
- [4] Dolle JM, Daling JR, White E, Brinton LA, Doody DR, Porter PL, et al. Risk factors for triple-negative breast cancer in women under the age of 45 years. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 18(4)(Apr 2009):1157-66.
- [5] Yang XR, Pfeiffer RM, Garcia - Closas M, Rimm DL, Lissowska J, Brinton LA, et al. Hormonal markers in breast cancer: coexpression, relationship with pathologic characteristics, and risk factor associations in a population-based study. Cancer Res. 67(21)(Nov 1 2007):10608-17.
- [6] Millikan RC, Newman B, Tse CK, Moorman PG, Conway K, Dressler LG, et al. Epidemiology of basal-like breast cancer. Breast Cancer Res Treat. 109(1)(May 2008):123-39.
- [7] Yang XR, Sherman ME, Rimm DL, Lissowska J, Brinton LA, Peplonska B, et al. Differences in risk factors for breast cancer molecular subtypes in a population-based study. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 16(3)(Mar 2007):439-43.
- [8] Kwan ML, Kushi LH, Weltzien E, Maring B, Kutner SE, Fulton RS, et al. Epidemiology of breast cancer subtypes in two prospective cohort studies of breast cancer survivors. Breast Cancer Res. 11(3)2009):R31.

- [9] Trivers KF, Lund MJ, Porter PL, Liff JM, Flagg EW, Coates RJ, et al. The epidemiology of triple-negative breast cancer, including race. Cancer Causes Control. 20(7)(Sep 2009):1071-82.
- [10] Brown M, Tsodikov A, Bauer KR, Parise CA, Caggiano V. The role of human epidermal growth factor receptor 2 in the survival of women with estrogen and progesterone receptor-negative, invasive breast cancer: the California Cancer Registry, 1999-2004. Cancer. 112(4)(Feb 15 2008):737-47.
- [11] Maiti B, Kundranda MN, Spiro TP, Daw HA. The association of metabolic syndrome with triple-negative breast cancer. Breast Cancer Res Treat. 121(2)(Jun 2010):479-83.
- [12] Carey LA, Perou CM, Livasy CA, Dressler LG, Cowan D, Conway K, et al. Race, breast cancer subtypes, and survival in the Carolina Breast Cancer Study. JAMA. 295(21)(Jun 7 2006):2492-502.
- [13] Harris LN, Broadwater G, Lin NU, Miron A, Schnitt SJ, Cowan D, et al. Molecular subtypes of breast cancer in relation to paclitaxel response and outcomes in women with metastatic disease: results from CALGB 9342. Breast Cancer Res. 8(6)2006):R66.
- [14] Liedtke C, Mazouni C, Hess KR, Andre F, Tordai A, Mejia JA, et al. Response to neoadjuvant therapy and long-term survival in patients with triple-negative breast cancer. J Clin Oncol. 26(8)(Mar 10 2008):1275-81.
- [15] Foulkes WD, Smith IE, Reis-Filho JS. Triple-negative breast cancer. N Engl J Med. 363(20)(Nov 11 2010):1938-48.
- [16] Tischkowitz M, Brunet JS, Begin LR, Huntsman DG, Cheang MC, Akslen LA, et al. Use of immunohistochemical markers can refine prognosis in triple negative breast cancer. BMC Cancer. 7(2007):134.
- [17] Dent R, Trudeau M, Pritchard KI, Hanna WM, Kahn HK, Sawka CA, et al. Triple-negative breast cancer: clinical features and patterns of recurrence. Clin Cancer Res. 13(15 Pt 1)(Aug 1 2007):4429-34.
- [18] Prat A, Perou CM. Mammary development meets cancer genomics. Nat Med. 15(8)(Aug 2009):842-4.

- [19] Diaz LK, Cryns VL, Symmans WF, Sneige N. Triple negative breast carcinoma and the basal phenotype: from expression profiling to clinical practice. Adv Anat Pathol. 14(6)(Nov 2007):419-30.
- [20] Turner N, Lambros MB, Horlings HM, Pearson A, Sharpe R, Natrajan R, et al. Integrative molecular profiling of triple negative breast cancers identifies amplicon drivers and potential therapeutic targets. Oncogene. 29(14)(Apr 8 2010):2013-23.
- [21] Irvin WJ, Jr., Carey LA. What is triple-negative breast cancer? Eur J Cancer. 44(18)(Dec 2008):2799-805.
- [22] Sorlie T, Tibshirani R, Parker J, Hastie T, Marron JS, Nobel A, et al. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. Proc Natl Acad Sci U S A. 100(14)(Jul 8 2003):8418-23.
- [23] Turner NC, Reis - Filho JS, Russell AM, Springall RJ, Ryder K, Steele D, et al. BRCA1 dysfunction in sporadic basal-like breast cancer. Oncogene. 26(14)(Mar 29 2007):2126-32.
- [24] Dent R, Hanna WM, Trudeau M, Rawlinson E, Sun P, Narod SA. Pattern of metastatic spread in triple-negative breast cancer. Breast Cancer Res Treat. 115(2)(May 2009):423-8.
- [25] Rodriguez -Pinilla SM, Sarrío D, Honrado E, Hardisson D, Calero F, Benitez J, et al. Prognostic significance of basal-like phenotype and fascin expression in node-negative invasive breast carcinomas. Clin Cancer Res. 12(5)(Mar 1 2006):1533-9.
- [26] Nam BH, Kim SY, Han HS, Kwon Y, Lee KS, Kim TH, et al. Breast cancer subtypes and survival in patients with brain metastases. Breast Cancer Res. 10(1)2008):R20.
- [27] Bai B, Yuan ZY, Liu DG, Teng XY, Wang SS. Clinical features and survival analysis of different subtypes of patients with breast cancer brain metastases. Chin J Cancer. 29(4)(Apr 2010):413-9.

- [28] Venkitaraman R, Joseph T, Dhadda A, Chaturvedi A, Upadhyay S. Prognosis of patients with triple-negative breast cancer and brain metastasis. Clin Oncol (R Coll Radiol). 21(9)(Nov 2009):729-30.
- [29] Tan DS, Marchio C, Jones RL, Savage K, Smith IE, Dowsett M, et al. Triple negative breast cancer: molecular profiling and prognostic impact in adjuvant anthracycline-treated patients. Breast Cancer Res Treat. 111(1)(Sep 2008):27-44.
- [30] Haffty BG, Yang Q, Reiss M, Kearney T, Higgins SA, Weidhaas J, et al. Locoregional relapse and distant metastasis in conservatively managed triple negative early-stage breast cancer. 2006 [updated Dec 20; cited 24 36];2006/11/23:[5652-7]
Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17116942>.
- [31] Lamont EB, Herndon JE, 2nd, Weeks JC, Henderson IC, Earle CC, Schilsky RL, et al. Measuring disease-free survival and cancer relapse using Medicare claims from CALGB breast cancer trial participants (companion to 9344). J Natl Cancer Inst. 98(18)(Sep 20 2006):1335-8.
- [32] Bear HD, Anderson S, Brown A, Smith R, Mamounas EP, Fisher B, et al. The effect on tumor response of adding sequential preoperative docetaxel to preoperative doxorubicin and cyclophosphamide: preliminary results from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Protocol B-27. J Clin Oncol. 21(22)(Nov 15 2003):4165-74.
- [33] Roche H, Fumoleau P, Spielmann M, Canon JL, Delozier T, Serin D, et al. Sequential adjuvant epirubicin-based and docetaxel chemotherapy for node-positive breast cancer patients: the FNCLCC PACS 01 Trial. J Clin Oncol. 24(36)(Dec 20 2006):5664-71.
- [34] Carey LA, Dees EC, Sawyer L, Gatti L, Moore DT, Collichio F, et al. The triple negative paradox: primary tumor chemosensitivity of breast cancer subtypes. Clin Cancer Res. 13(8)(Apr 15 2007):2329-34.

- [35] Earl HM VA, Hiller L, et al. Neo-tAnGo: A neoadjuvant randomized phase III trial of epirubicin/cyclophosphamide and paclitaxel gemcitabine in the treatment of women with high-risk early breast cancer (EBC): First report of the primary endpoint, pathological complete response (pCR). J Clin Oncol. 27(12s)2009).
- [36] Roche H PE, Llombart - Cussac A, et al. Ixabepilone, an epothilone analog, is effective in ER-, PR-, HER2-negative (triple-negative) patients: data from neoadjuvant and metastatic breast cancer trials. Ann Oncol. 17 (S9):256P2006).
- [37] A. Tutt MR, J. E. Garber, S. Domchek, M. W. Audeh, J. N. Weitzel, M. Friedlander and J. Carmichael. Phase II trial of the oral PARP inhibitor olaparib in BRCA-deficient advanced breast cancer. Vol 27, : 2009):No 18S (June 20 Supplement).
- [38] O'Shaughnessy J, Osborne C, Pippen JE, Yoffe M, Patt D, Rocha C, et al. Iniparib plus chemotherapy in metastatic triple-negative breast cancer. N Engl J Med. 364(3)(Jan 20 2011):205-14.
- [39] Gray R, Bhattacharya S, Bowden C , Miller K, Comis RL. Independent review of E2100: a phase III trial of bevacizumab plus paclitaxel versus paclitaxel in women with metastatic breast cancer. J Clin Oncol. 27(30)(Oct 20 2009):4966-72.
- [40] BEATRICE Study: A Study of Avastin (Bevacizumab) Adjuvant Therapy in Triple Negative Breast Cancer. (PhaseIII. An Open Label 2-arm Study to Evaluate the Impact of Adjuvant Bevacizumab on Invasive Disease Free Survival in Triple Negative Breast Cancer).
- [41] O'Shaughnessy J WD, Vukelja SJ, et al. Preliminary results of a randomized phase II study of weekly irinotecan/carboplatin with or without cetuximab in patients with metastatic breast cancer. Breast Cancer Res Treat. (106(suppl 1):S32) 2007):Abstract 308.

- [42] Carey LA ME, Marcom PK, et al. . TBCRC 001: EGFR inhibition with cetuximab in metastatic triple negative (basal-like) breast cancer. . Breast Cancer Res Treat. 106(suppl 1):S322007):Abstract 307.
- [43] Perren A, Weng LP, Boag AH, Ziebold U, Thakore K, Dahia PL, et al. Immunohistochemical evidence of loss of PTEN expression in primary ductal adenocarcinomas of the breast. Am J Pathol. 155(4)(Oct 1999):1253-60.
- [44] Pallares J, Bussaglia E, Martinez - Guitarte JL, Dolcet X, Llobet D, Rue M, et al. Immunohistochemical analysis of PTEN in endometrial carcinoma: a tissue microarray study with a comparison of four commercial antibodies in correlation with molecular abnormalities. Mod Pathol. 18(5)(May 2005):719-27.
- [45] Bussaglia E, del Rio E, Matias - Guiu X, Prat J. PTEN mutations in endometrial carcinomas: a molecular and clinicopathologic analysis of 38 cases. Hum Pathol. 31(3)(Mar 2000):312-7.
- [46] Konopka B, Janiec -Jankowska A, Czapczak D, Paszko Z, Bidzinski M, Olszewski W, et al. Molecular genetic defects in endometrial carcinomas: microsatellite instability, PTEN and beta-catenin (CTNNB1) genes mutations. J Cancer Res Clin Oncol. 133(6)(Jun 2007):361-71.
- [47] Yamamoto C, Basaki Y, Kawahara A, Nakashima K, Kage M, Izumi H, et al. Loss of PTEN expression by blocking nuclear translocation of EGR1 in gefitinib-resistant lung cancer cells harboring epidermal growth factor receptor-activating mutations. Cancer Res. 70(21)(Nov 1 2010):8715-25.
- [48] Regina S, Valentin JB, Lachot S, Lemarie E, Rollin J, Gruel Y. Increased tissue factor expression is associated with reduced survival in non-small cell lung cancer and with mutations of TP53 and PTEN. Clin Chem. 55(10)(Oct 2009):1834-42.
- [49] Zhang LN, Zha XL, Yu Q, He JY. [Mutation analysis of the tumor suppressor gene PTEN/MMAC1/TEP1 in human hepatocellular carcinoma]. Shi Yan Sheng Wu Xue Bao. 33(3)(Sep 2000):223-7.

- [50] Yeh KT, Chang JG, Chen YJ, Chen ST, Yu SY, Shih MC, et al. Mutation analysis of the putative tumor suppressor gene PTEN/MMAC1 in hepatocellular carcinoma. Cancer Invest. 18(2)(2000):123-9.
- [51] Zhao Y, Huang Q, Wang A, Dong J, Lan Q. Mutation of PTEN in glioma stem/progenitor cells: a case report. Cancer Genet Cytogenet. 195(2)(Dec 2009):183-5.
- [52] Cai XM, Tao BB, Wang LY, Liang YL, Jin JW, Yang Y, et al. Protein phosphatase activity of PTEN inhibited the invasion of glioma cells with epidermal growth factor receptor mutation type III expression. Int J Cancer. 117(6)(Dec 20 2005):905-12.
- [53] Jhaver M, Goel S, Wilson AJ, Montagna C, Ling YH, Byun DS, et al. PIK3CA mutation/PTEN expression status predicts response of colon cancer cells to the epidermal growth factor receptor inhibitor cetuximab. Cancer Res. 68(6)(Mar 15 2008):1953-61.
- [54] Che Y, Yao Q, Dai S, Luo B, Wang Y. [Study of the mutation and expression of PTEN gene in endometrial carcinoma and epithelial ovarian cancer]. Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi. 37(10)(Oct 2002):608-11.
- [55] Fujii H, Matsumoto T, Yoshida M, Furugen Y, Takagaki T, Iwabuchi K, et al. Genetics of synchronous uterine and ovarian endometrioid carcinoma: combined analyses of loss of heterozygosity, PTEN mutation, and microsatellite instability. Hum Pathol. 33(4)(Apr 2002):421-8.
- [56] Lahtz C, Stranzenbach R, Fiedler E, Helmbold P, Dammann RH. Methylation of PTEN as a prognostic factor in malignant melanoma of the skin. J Invest Dermatol. 130(2)(Feb 2010):620-2.
- [57] Faratian D, Goltsov A, Lebedeva G, Sorokin A, Moodie S, Mullen P, et al. Systems biology reveals new strategies for personalizing cancer medicine and confirms the role of PTEN in resistance to trastuzumab. Cancer Res. 69(16)(Aug 15 2009):6713-20.
- [58] Ramos-Vara JA. Technical aspects of immunohistochemistry. Vet Pathol. 42(4)(Jul 2005):405-26.

- [59] Carey LA. Directed therapy of subtypes of triple - negative breast cancer. *Oncologist*. 15 Suppl 5(2010):49-56.
- [60] Carey L, Winer E, Viale G, Cameron D, Gianni L. Triple-negative breast cancer: disease entity or title of convenience? *Nat Rev Clin Oncol*. 7(12)(Dec 2010):683-92.
- [61] Tan GH, Taib NA, Choo WY, Teo SH, Yip CH. Clinical characteristics of triple-negative breast cancer: experience in an Asian developing country. *Asian Pac J Cancer Prev*. 10(3)(Jul-Sep 2009):395-8.
- [62] Chui X, Egami H, Yamashita J, Kurizaki T, Ohmachi H, Yamamoto S, et al. Immunohistochemical expression of the c-kit proto-oncogene product in human malignant and non-malignant breast tissues. *Br J Cancer*. 73(10)(May 1996):1233-6.
- [63] Bose S, Wang SI, Terry MB, Hibshoosh H, Parsons R. Allelic loss of chromosome 10q23 is associated with tumor progression in breast carcinomas. *Oncogene*. 17(1)(Jul 9 1998):123-7.
- [64] Tsutsui S, Inoue H, Yasuda K, Suzuki K, Higashi H, Era S, et al. Reduced expression of PTEN protein and its prognostic implications in invasive ductal carcinoma of the breast. *Oncology*. 68(4-6)2005):398-404.
- [65] Feilotter HE, Coulon V, McVeigh JL, Boag AH, Dorion-Bonnet F, Duboue B, et al. Analysis of the 10q23 chromosomal region and the PTEN gene in human sporadic breast carcinoma. *Br J Cancer*. 79(5-6)(Feb 1999):718-23.
- [66] Bauer KR, Brown M, Cress RD, Parise CA, Caggiano V. Descriptive analysis of estrogen receptor (ER)-negative, progesterone receptor (PR)-negative, and HER2-negative invasive breast cancer, the so-called triple-negative phenotype: a population-based study from the California cancer Registry. *Cancer*. 109(9)(May 1 2007):1721-8.
- [67] Rouzier R, Perou CM, Symmans WF, Ibrahim N, Cristofanilli M, Anderson K, et al. Breast cancer molecular subtypes respond differently to preoperative chemotherapy. *Clin Cancer Res*. 11(16)(Aug 15 2005):5678-85.

- [68] Trere D, Brighenti E, Donati G, Ceccarelli C, Santini D, Taffurelli M, et al. High prevalence of retinoblastoma protein loss in triple-negative breast cancers and its association with a good prognosis in patients treated with adjuvant chemotherapy. Ann Oncol. 20(11)(Nov 2009):1818-23.
- [69] Silver DP, Richardson AL, Eklund AC, Wang ZC, Szallasi Z, Li Q, et al. Efficacy of neoadjuvant Cisplatin in triple-negative breast cancer. J Clin Oncol. 28(7)(Mar 1 2010):1145-53.
- [70] I. Garrido - Laguna FJ, A. Tsimberidou et al. Phosphatase and tensin homologue (PTEN) loss and response to phase I trials targeting PI3K/AKT/mTOR pathway in patients with advanced cancer. . JCO. 28(No 15_suppl (May 20 Supplement), 2010: e13018).

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

แบบบันทึกการเก็บข้อมูล (Record form)

แบบสอบถามการวิจัยเรื่อง

“ความชุกของการขาดหายของโปรตีนพีเทนในผู้ป่วยโรคมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาติฟชนิดที่
ไม่แสดงถึง ฮอ์โมนเอสโตรเจน ฮอ์โมนโปรเจเรเตอร์และเฮอ์ทู ในประชากรของประเทศไทย”

ประวัติส่วนตัว

ชื่อ-นามสกุล

TN

HN.....

ที่อยู่

โทรศัพท์บ้าน โทรศัพท์มือถือ

1. อายุ ปี
2. เพศ 1. หญิง 2. ชาย
3. อาชีพ 1. รับราชการ 2. พนักงานรัฐวิสาหกิจ 3. นักเรียนนักศึกษา/ 4. แม่บ้าน
 5. ธุรกิจส่วนตัว 6. อื่นๆ
4. ภูมิลำเนาเดิม 1. กรุงเทพฯ 2. ภาคกลาง 3. ภาคตะวันออก 4. ภาคตะวันตก
 5. ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ 6. ภาคเหนือ 7. ภาคใต้
5. ประวัติการสูบบุหรี่ 0. ไม่เคย
 1. เคยมวน/ซอง ต่อวัน นาน วัน...../สัปดาห์/เดือน/ปี
 2. เลิกนาน วัน...../สัปดาห์/เดือน/ปี
6. อายุที่เริ่มมีประจำเดือน
7. อายุที่หมดประจำเดือน(ถ้ามี.....ปี)
8. ประวัติการใช้ยาคุมกำเนิด 0. ไม่เคยใช้
 1. เคยใช้ ชนิด 1.1 กิน 1.2 ฉีด 1.3 ฟัง นานวัน.../สัปดาห์/เดือน/ปี
 2. เลิกนาน วัน/สัปดาห์/เดือน/ปี
9. ประวัติการตั้งครรภ์. 0 ไม่เคย 1. เคย ครั้ง..... ครั้งแรกเมื่อ, วัน/สัปดาห์/เดือน/ปี
10. อายุที่ผู้ป่วยเริ่มเป็น โรคมะเร็งเต้านม
11. ระยะเวลาที่ผู้ป่วยทราบว่าพบก้อนที่เต้านมจนถึงปัจจุบัน..... วัน/สัปดาห์/เดือน/ปี

ประวัติที่เกี่ยวข้องกับผู้ป่วยโรคมะเร็งในครอบครัว

1. มะเร็งเต้านม

ความสัมพันธ์เป็น 1.มารดา 2.บุตร-ธิดา 3.พี่น้อง กับผู้ป่วย/
 4.อื่นๆรวมทั้งสิ้น(ระบุ) คน

2. มะเร็งชนิดอื่นๆ

1.รังไข่ 2.กระเพาะ 3.เยื่อผนังมดลูก
 4.อื่นๆ.....(ระบุ)

3. ความสัมพันธ์เป็น

1.บิดา/มารดา 2.บุตร-ธิดา 3.พี่น้อง กับผู้ป่วย/
 4.อื่นๆรวมทั้งสิ้น.....(ระบุ) คน

อาการแสดง

1. คล้ำได้ก้อน (breast mass) 0.ใช่ 1.ไม่ใช่
2. มีน้ำนมไหล 0.ใช่ 1.ไม่ใช่
3. เจ็บบริเวณเต้านม 0.ใช่ 1.ไม่ใช่

ตรวจร่างกาย Body weight.....kg. Height.....cm.

Performance status 0. 1. 2. 3. 4.

Breast mass 0. Right 1.Left 2.Both

Axillary Lymph node 0.none 1.not fix 2.fix

Diagnosis date(DD/MM/YYYY)

Pathological method 0.cytology(FNA) 1.Histology (Core Biopsy)

Stage of Disease 0.Early 1.Locally advanced 2.metastasis

Pathology (Type) 0.Ductal carcinoma 1.Lobular carcinoma 2.other.....

Invasive or not 0.In situ 1.Invasive

Histological grade 0. 1 1. 2 2. 3 3.anaplastic

Tumor size (cm.) 0. 0-2 1. 2-5 2. >5

Hormonal receptor

1. Estrogen 0.Negative 1.Positive.....%

2. Progesterone 0.Negative 1.Postive.....%

3. HER-2 Immunohistochemistry 0. 0 1. 1 2. 2 3. 3

FISH 0.Negative 1.Positive 2.not known

Ki 67 0.Negative 1.Positive.....%

Lymphovascular invasion 0.No 1.Yes

Lymph node 0.No 1.1-3node 2.>3node

SPECIAL Marker PTEN 0.Negative 1.Low
 2.Moderate 3.High

Retinoblastoma protein 0.Negative 1.Positive 2.not known

Treatment

Primary surgery 0.No 1.Yes

Type of surgery 0.Breast conserving 1.Modified Radical mastectomy

2nd surgery 0.No 1.Yes

Systemic Treatment

Neoadjuvant Chemotherapy 0.No 1.Yes

If yes , the regimen is

Antracyclin-based 0.No AC 2.EC 3.FAC 4.FEC 5.other.....

Taxane-based 0.No 1.Paclitaxel q3wk 2.Paclitaxel q weekly
 3.Docetaxel q 3 wk 4.Docetaxel q weekly 5.other

Other regimen 0.oral CMF 1.IV CMF 2.other.....

Adjuvant Chemotherapy 0.No 1.Yes

If yes , the regimen is

Antracyclin-based 0.No 1.AC 2.EC 3.FAC 4.FEC 5.other.....

Taxane-based 0.No 1.Paclitaxel q3wk 2.Paclitaxel q weekly
 3.Docetaxel q 3 wk 4.Docetaxel q weekly 5.other

Other regimen 0.oral CMF 1.IV CMF 2.other.....

Date last chemotherapy(DD/MM/YYYY).....

Adjuvant Herceptin 0.No 1.Yes

Adjuvant Hormonal 0.No 1.Tamoxifen 2.Aromatase inhibitor

RADIATION technique 0.No 1.Yes

Total dose.....Gy Fraction.....

Treatment result

Follow up #1 Date(DD/MM/YYYY).....

RECURRENCE 0.No 1.Yes

Type of recurrence 0.Local 1.Non visceral metastasis 2.Visceral metastasis

Location Lymph node 0.Locoregional LN 1.Distance LN

Solid organ 0.Liver 1.Lung 2.Brain

3.Bone 4.Other.....

STATUS 0.Alive with disease 1.Death Date.....

2.Lost to follow up

Follow up.....Date(DD/MM/YYYY).....

RECURRENCE 0.No 1.Yes

Type of recurrence 0.Local 1.Non visceral metastasis 2.Visceral metastasis

Location Lymph node 0.Locoregional LN 1.Distance LN

Solid organ 0.Liver 1.Lung 2.Brain

3.Bone 4.Other.....

STATUS 0.Alive with disease 1.Death Date.....

2.Lost to follow up

Follow up.....(DD/MM/YYYY).....

RECURRENCE 0.No 1.Yes

Type of recurrence 0.Local 1.Non visceral metastasis 2.Visceral metastasis

Location Lymph node 0.Locoregional LN 1.Distance LN

Solid organ 0.Liver 1.Lung 2.Brain

3.Bone 4.Other.....

STATUS 0.Alive with disease 1.Death Date.....

2.Lost to follow up

ภาคผนวก ข
เอกสารแสดงความยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัย

ใบยินยอมรับการรักษาและเข้าร่วมโครงการวิจัย

โครงการวิจัยเรื่อง ความชุกของการขาดหายของโปรตีนพีเทนในผู้ป่วยโรคมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาติฟ (ชนิดที่ไม่แสดงถึงฮอร์โมนเอสโตรเจน ฮอร์โมนโปรเจเรเตอร์โรนและเฮอิร์ทู่ ในประชากรของประเทศไทย

วันที่ให้คำยินยอม วันที่.....เดือน..... พ.ศ.....

ข้าพเจ้า นาย/นาง/นางสาว.....

ที่อยู่

ได้อ่านรายละเอียดจากเอกสารข้อมูลสำหรับผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยวิจัยที่แนบมาฉบับวันที่

..... และ ข้าพเจ้ายินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัยโดยสมัครใจ

ข้าพเจ้าได้รับสำเนาเอกสารแสดงความยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัยที่ข้าพเจ้าได้ลงนาม และ วันที่ พร้อมด้วย เอกสารข้อมูลสำหรับผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย ทั้งนี้ก่อนที่จะลงนามในใบยินยอมให้ทำการวิจัยนี้ ข้าพเจ้าได้รับการอธิบายจากผู้วิจัยถึงวัตถุประสงค์ของการวิจัย ระยะเวลาของการทำวิจัย วิธีการวิจัย อันตราย หรืออาการที่อาจเกิดขึ้นจากการวิจัย รวมทั้งประโยชน์ที่จะเกิดขึ้น จากการวิจัยและแนวทางรักษาโดยวิธีอื่นอย่างละเอียด ข้าพเจ้ามีเวลาและโอกาสเพียงพอในการซักถามข้อสงสัยจนมีความเข้าใจอย่างดีแล้ว โดยผู้วิจัยได้ตอบคำถามต่าง ๆ ด้วยความเต็มใจไม่ปิดบังซ่อนเร้นจนข้าพเจ้าพอใจ

ข้าพเจ้ารับทราบจากผู้วิจัยว่าหากเกิดอันตรายใด ๆ จากการวิจัย ดังกล่าว ผู้เข้าร่วมวิจัยจะได้รับการรักษาพยาบาลโดยไม่เสียค่าใช้จ่าย

ข้าพเจ้ามีสิทธิที่จะบอกเลิกเข้าร่วมในโครงการวิจัยเมื่อใดก็ได้ โดยไม่จำเป็นต้องแจ้งเหตุผล และการบอกเลิกการเข้าร่วมการวิจัยนี้ จะไม่มีผลต่อการรักษาโรคหรือสิทธิอื่น ๆ ที่ข้าพเจ้าจะพึงได้รับต่อไป

ผู้วิจัยรับรองว่าจะเก็บข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าเป็นความลับ และจะเปิดเผยได้เฉพาะเมื่อได้รับการยินยอมจากข้าพเจ้าเท่านั้น บุคคลอื่นในนามของคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในคน อาจได้รับอนุญาตให้เข้ามาตรวจสอบและประมวลข้อมูลของผู้เข้าร่วมวิจัย ทั้งนี้จะตั้ง งบประมาณไปเพื่อวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบความถูกต้องของข้อมูลเท่านั้น โดยการตกลงที่จะเข้าร่วมการศึกษานี้ ข้าพเจ้าได้ให้คำยินยอมที่จะให้มีการตรวจสอบข้อมูลประวัติทางการแพทย์ของผู้เข้าร่วมวิจัยได้

ผู้วิจัยรับรองว่าจะไม่มีการเก็บข้อมูลใด ๆ ของผู้เข้าร่วมวิจัย เพื่ ่มเติม หลังจากที่ข้าพเจ้าขอ ยกเลิกการเข้าร่วมโครงการวิจัยและต้องการให้ทำลายเอกสารและ/หรือ ตัวอย่างที่ใช้ตรวจสอบ ทั้งหมดที่สามารถสืบค้นถึงตัวข้าพเจ้าได้

ข้าพเจ้าเข้าใจว่า ข้าพเจ้ามีสิทธิที่จะตรวจสอบหรือแก้ไขข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าและ สามารถยกเลิกการให้สิทธิในการใช้ข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าได้ โดยต้องแจ้งให้ผู้วิจัยรับทราบ

ข้าพเจ้าได้ตระหนักว่าข้อมูลในการวิจัยรวมถึงข้อมูลทางการแพทย์ของข้าพเจ้าที่ไม่มี การเปิดเผยชื่อ จะผ่านกระบวนการต่าง ๆ เช่น การเก็บข้อมูล การบันทึกข้อมูลในแบบบันทึกและใน คอมพิวเตอร์ การตรวจสอบ การวิเคราะห์ และการรายงานข้อมูลเพื่อวัตถุประสงค์ทางวิชาการ รวมทั้งการใช้ข้อมูลทางการแพทย์ในอนาคตหรือการวิจัยทางด้านเภสัชภัณฑ์ เท่านั้น

ข้าพเจ้าได้อ่านข้อความข้างต้นและมีความเข้าใจดีทุกประการแล้ว ยินดีเข้าร่วมในการวิจัย ด้วยความเต็มใจ จึงได้ลงนามในเอกสารแสดงความยินยอมนี้

..... ลงนามผู้ให้ความยินยอม

(.....) ชื่อผู้ยินยอมตัวบรรจง

วันที่เดือน..... พ.ศ.....

ข้าพเจ้าได้อธิบายถึงวัตถุประสงค์ของการวิจัย วิธีการวิจัย อันตราย หรืออาการไม่พึง ประสงค์หรือความเสี่ยงที่อาจเกิดขึ้นจากการวิจัย รวมทั้งประโยชน์ที่จะเกิดขึ้นจากการวิจัยอย่าง ละเอียด ให้ผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยตามนามข้างต้นได้ทราบและมีความเข้าใจดีแล้ว พร้อมลงนาม ลงในเอกสารแสดงความยินยอมด้วย ความเต็มใจ

..... ลงนามผู้ทำวิจัย

(.....) ชื่อผู้ทำวิจัย ตัวบรรจง

วันที่ เดือน..... พ.ศ.....

..... ลงนามพยาน

(.....) ชื่อพยาน ตัวบรรจง

วันที่ เดือน..... พ.ศ.....

ภาคผนวก ค
เอกสารข้อมูลสำหรับอาสาสมัครโครงการวิจัย

หน่วยมะเร็งวิทยา ภาควิชาอายุรศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์วันที่ _____.

ชื่อโครงการวิจัย ความชุกของการขาดหายของโปรตีนพีเทนในผู้ป่วยโรคมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิล

เนกาติฟ (ชนิดที่ไม่แสดงถึงฮอร์โมนเอสโตรเจน ฮอร์โมนโปรเจเรเตอร์และฮอร์โมน

ทู) ในประชากรของประเทศไทย

ผู้สนับสนุนการวิจัย หน่วยมะเร็งวิทยา ภาควิชาอายุรศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

แพทย์ผู้ทำวิจัย

ชื่อ นายแพทย์ทิวา เกียรติปานอภิกุล

ที่อยู่ หน่วยมะเร็งวิทยา ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เบอร์โทรศัพท์ 02-2564533 หรือ 081-9354336

แพทย์ผู้ร่วมทำวิจัย

ชื่อ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ วิโรจน์ ศรีอุฬารพงศ์

ที่อยู่ หน่วยมะเร็งวิทยา ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เบอร์โทรศัพท์ 02-2564533

เรียน ผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยทุกท่าน

ท่านได้รับเชิญให้เข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้เนื่องจากท่านเป็นผู้ป่วยโรคมะเร็งเต้านมชนิดที่ไม่แสดงถึงฮอร์โมนเอสโตรเจน ฮอร์โมนโปรเจเรเตอร์และฮอร์โมนทู (ทริปเปิลเนกาติฟ) ก่อนที่ท่านจะ

ตัดสินใจเข้าร่วมในการศึกษาวิจัยดังกล่าว ขอให้ท่านอ่านเอกสารฉบับนี้ อย่างถี่ถ้วน เพื่อให้ท่านได้ทราบถึงเหตุผลและรายละเอียดของการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ หากท่านมีข้อสงสัยใดๆ เพิ่มเติม กรุณาซักถามจากทีมงานของแพทย์ผู้ทำวิจัย หรือแพทย์ผู้ร่วมทำวิจัยซึ่งจะเป็นผู้สามารถตอบคำถามและให้ความกระจ่างแก่ท่านได้

ท่านสามารถขอคำแนะนำในการเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้จากครอบครัว เพื่อน หรือแพทย์ประจำตัวของท่านได้ ท่านมีเวลาอย่างเพียงพอในการตัดสินใจโดยอิสระ ถ้าท่านตัดสินใจแล้วว่าจะเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ ขอให้ท่านลงนามในเอกสารแสดงความยินยอมของโครงการวิจัยนี้

เหตุผลความเป็นมา

มะเร็งเต้านมในผู้หญิง เป็นโรคมะเร็งอันดับสองรองจากมะเร็งปากมดลูก และที่สำคัญเป็นสาเหตุการตายอันดับต้นๆของผู้หญิง อัตราการเป็นมะเร็งเต้านมในประเทศไทยพบ 17.2 ต่อแสนประชากร (ปี 2538-2540) ในกรุงเทพฯพบ 25.4 ต่อแสนประชากรขอนแก่น 11.6 ต่อแสนประชากรอายุพบได้ตั้งแต่ 20 ปีแต่ช่วงอายุที่พบมากคือ 45-55 ปี

มะเร็งเต้านม แบ่งหลักๆได้ 2 ชนิด คือ 1.ชนิดไม่ลุกลาม (non invasive breast cancer) และ 2.ชนิดลุกลาม (invasive breast cancer) ซึ่งยังสามารถแบ่งตามชนิดของเซลล์ได้ตามการย้อมชนิดพิเศษ(immunohistochemistry)อีก 4 ชนิด คือ 1.เซลล์มะเร็งที่มีตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจนและ/หรือโปรเจสเตอโรน (estrogen/progesterone receptor positive) ,2. เซลล์มะเร็งที่ตรวจพบว่ามียีนมะเร็งเฮอรัท (HER-2/neu receptor positive,ER/PgR negative) 3.เซลล์มะเร็งที่ไม่พบทั้งฮอร์โมนและยีนมะเร็งเฮอรัท, (triple negative/Basal like breast cancer) 4.ชนิดอื่นๆ (unclassified) จากการรายงานที่ผ่านมาพบว่ากลุ่มเซลล์มะเร็งที่ไม่พบทั้งฮอร์โมนและยีนมะเร็งเฮอรัท (triple negative/basal like breast cancer) มีความรุนแรงและมีการพยากรณ์ของโรคที่แย่กว่ากลุ่มเซลล์มะเร็งที่มีตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจนและ/หรือโปรเจสเตอโรนทั้งเรื่องของอาการแสดง การดำเนินของโรค การตอบสนองต่อการรักษา การกลับเป็นซ้ำของโรค อัตราการรอดชีวิตและที่สำคัญคือพบว่ามะเร็งเต้านมที่รีเปิดเนกาตีฟมีความสัมพันธ์กับความผิดปกติของโปรตีนพีเทน (PTEN, phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome 10) ร่วมด้วยจากการศึกษาใน

ต่างประเทศพบการขาดหายของยีนพีเทน ในมะเร็งเต้านมชนิดที่ไม่พบทั้งฮอร์โมนและยีนมะเร็งฮอร์โมน (triple negative/basal like breast cancer) ประมาณ 30-40% แต่ทั้งหมดนั้นเป็นการศึกษาในประชากรทางด้านฝั่งตะวันตกทั้งสิ้น ยังไม่เคยมีการศึกษาในประชากรของไทย จึงเป็นที่มาของการศึกษา

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาหาความชุกของการพร่องหรือการขาดหายไปของยีนพีเทน ในผู้ป่วยโรคมะเร็งเต้านมชนิดที่ไม่แสดงถึงฮอร์โมนเอสโตรเจน ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนและฮอร์โมนในประชากรของประเทศไทย

2. เพื่อสังเกตความสัมพันธ์ระหว่างพร่องหรือการขาดหายไปของยีนพีเทน กับโรคมะเร็งเต้านมชนิดที่ไม่แสดงถึงฮอร์โมนเอสโตรเจน ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนและฮอร์โมนในแง่ทางคลินิก เพื่อสามารถบ่งบอกถึงการพยากรณ์ของโรคที่ไม่ดีได้

จำนวนผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย คือ 92 คน

วิธีการที่เกี่ยวข้องกับการวิจัย

หลังจากท่านให้ความยินยอมที่จะเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ ผู้วิจัยจะขอถามประวัติเพื่อ ข้อมูลเบื้องต้น หลังจากนั้น ผู้ป่วยจะได้รับการรักษาตามมาตรฐานของโรคมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาทีฟ ทางผู้วิจัยจะมีการตรวจตามนัดเป็นระยะตามรอบของการให้เคมีบำบัด และหลังจากการให้เคมีบำบัดครบ ทุก 1-3 เดือน เพื่อประเมินการรักษา และการเฝ้าระวังการกลับเป็นซ้ำของโรค

ความรับผิดชอบของอาสาสมัครผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย

เพื่อให้งานวิจัยนี้ประสบความสำเร็จ ผู้ทำวิจัยใคร่ขอความความร่วมมือจากท่าน โดยจะขอให้ท่านปฏิบัติตามคำแนะนำของผู้ทำวิจัยอย่างเคร่งครัด รวมทั้งแจ้งอาการผิดปกติต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นกับท่านระหว่างที่ท่านเข้าร่วมในโครงการวิจัยให้ผู้ทำวิจัยได้รับทราบ

ความเสี่ยงที่ได้รับจากการตรวจชิ้นเนื้อ

เนื่องจากท่านจะได้รับการรักษาด้วยการผ่าตัดจากทางศัลยกรรมซึ่งเป็นมาตรฐานอยู่แล้ว ทางผู้วิจัยจะนำชิ้นเนื้อนั้นนำมาทำการทดลองต่อ ซึ่งจะไม่มีผลกระทบต่อผู้ป่วยแต่อย่างใด

ความเสี่ยงที่ไม่ทราบแน่นอน

ท่านอาจเกิดอาการข้างเคียง หรือความไม่สบาย นอกเหนือจากที่ได้แสดงในเอกสารฉบับนี้ ซึ่งอาการข้างเคียงเหล่านี้เป็นอาการที่ไม่เคยพบมาก่อน เพื่อ ความปลอดภัยของท่าน ควรแจ้งผู้ทำวิจัยให้ทราบทันทีเมื่อเกิดความผิดปกติใดๆ เกิดขึ้น

หากท่านมีข้อสงสัยใดๆ เกี่ยวกับความเสี่ยงที่อาจได้รับการเข้าร่วมในโครงการวิจัย ท่านสามารถสอบถามจากผู้ทำวิจัยได้ตลอดเวลา

หากมีการค้นพบข้อมูลใหม่ ๆ ที่อาจมีผลต่อความปลอดภัย ของท่านในระหว่างที่ท่านเข้าร่วมในโครงการวิจัย ผู้ทำวิจัยจะแจ้งให้ท่านทราบทันที เพื่อให้ท่านตัดสินใจว่าจะอยู่ในโครงการวิจัยต่อไปหรือจะขอถอนตัวออกจากกรวิจัย

การพบแพทย์นอกตารางนัดหมายในกรณีที่เกิดอาการข้างเคียง

หากมีอาการข้างเคียงใด ๆ เกิดขึ้นกับท่าน ขอให้ ท่านรีบมาพบแพทย์ที่สถานพยาบาลทันที ถึงแม้ว่าจะอยู่นอกตารางการนัดหมาย เพื่อแพทย์จะได้ประเมินอาการข้างเคียงของท่าน และให้การรักษาที่เหมาะสมทันที หากอาการดังกล่าวเป็นผลจากการเข้าร่วมในโครงการวิจัย ท่านจะไม่เสียค่าใช้จ่าย

ประโยชน์ที่อาจได้รับ

ท่านจะได้รับประโยชน์จากการเข้าร่วมในการวิจัยครั้งนี้ คือได้ทราบผลการศึกษาและทราบแนวทางในการรักษาต่อไป ข้อมูลที่ได้จะนำมาซึ่งข้อมูลที่มีความสำคัญต่อโรคมะเร็งเต้านมชนิดที่ไม่แสดงถึงฮอร์โมนเอสโตรเจน ฮอร์โมนโปรเจสเตอร์โรนและฮอร์โมน (ทริปเปิลเนกาตีฟ)และความชุกของโปรตีนพีเทนในประเทศ การเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ไม่ส่งผลใดๆ เพิ่มเติมต่อสุขภาพของท่านในปัจจุบัน

ข้อปฏิบัติของท่านขณะที่ร่วมในโครงการวิจัย

ขอให้ท่านปฏิบัติดังนี้

- ขอให้ท่านให้ข้อมูลทางการแพทย์ของท่านทั้งในอดีต และปัจจุบัน แก่ผู้ทำวิจัยด้วยความสัตย์จริง
- ขอให้ท่านแจ้งให้ผู้ทำวิจัยทราบความผิดปกติที่เกิดขึ้นระหว่างที่ท่านร่วมในโครงการวิจัย
- ขอให้ท่านงดการใช้ยาอื่นนอกเหนือจากที่ผู้ทำวิจัยได้จัดให้ รวมถึงการรักษาอื่น ๆ เช่น การรักษาด้วยสมุนไพร การซื้อยาจากร้านขายยา

อันตรายที่อาจเกิดขึ้นจากการเข้าร่วมในโครงการวิจัยและความรับผิดชอบของผู้ทำวิจัย/ผู้สนับสนุนการวิจัย

หากพบอันตรายที่เกิดขึ้นจากการวิจัย ท่านจะได้รับการรักษาอย่างเหมาะสมทันที หากพิสูจน์ได้ว่าท่านปฏิบัติตามคำแนะนำของทีมผู้ทำวิจัยแล้ว ผู้ทำวิจัย /ผู้สนับสนุนการวิจัยยินดีจะรับผิดชอบค่าใช้จ่ายในการรักษาพยาบาลของท่าน และการลงนามในเอกสารให้ความยินยอม ไม่ได้หมายความว่าท่านได้สละสิทธิทางกฎหมายตามปกติที่ท่านพึงมี

ในกรณีที่ท่านได้รับอันตรายใด ๆ หรือต้องการข้อมูลเพิ่มเติมที่เกี่ยวข้องกับโครงการวิจัย ท่านสามารถติดต่อกับผู้ทำวิจัยคือ นายแพทย์ทิวา เกียรติปานอภิกุล ได้ตลอด 24 ชั่วโมง

ค่าใช้จ่ายของท่านในการเข้าร่วมการวิจัย

ค่าใช้จ่ายอื่นที่เกี่ยวข้องกับโครงการวิจัย เช่น ค่าธรรมเนียมทางการแพทย์ และ ค่าวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ ผู้สนับสนุนการวิจัยจะเป็นผู้รับผิดชอบทั้งหมด

ค่าตอบแทนสำหรับผู้เข้าร่วมวิจัย(ถ้ามี)

ท่านจะไม่ได้รับเงินค่าตอบแทนจากการเข้าร่วมในการวิจัยนี้

การเข้าร่วมและการสิ้นสุดการเข้าร่วมโครงการวิจัย

การเข้าร่วมในโครงการวิจัยครั้งนี้เป็นไปโดยความสมัครใจ หากท่านไม่สมัครใจจะเข้าร่วมการศึกษาแล้ว ท่านสามารถถอนตัวได้ตลอดเวลา การขอถอนตัวออกจากโครงการวิจัยจะไม่มีผลต่อการดูแลรักษาโรคของท่านแต่อย่างใด

ผู้ทำวิจัยอาจถอนท่านออกจากโครงการวิจัย เพื่อเหตุผลด้านความปลอดภัยของท่าน หรือเมื่อผู้สนับสนุนการวิจัยยุติการดำเนินงานวิจัย หรือในกรณีดังต่อไปนี้

- ท่านไม่สามารถปฏิบัติตามคำแนะนำของผู้ทำวิจัย
- ท่านรับประทานยาที่ไม่อนุญาตให้ใช้ในการศึกษา
- ท่านตั้งครรรภ์ระหว่างที่เข้าร่วมโครงการวิจัย
- ท่านเกิดอาการข้างเคียง หรือความผิดปกติของผลทางห้องปฏิบัติการจากการได้รับยาที่ใช้ในการศึกษา
- ท่านแพ้ยาที่ใช้ในการศึกษา
- ท่านต้องการปรับเปลี่ยนการรักษาด้วยยาตัวที่ไม่ได้รับอนุญาตจากการวิจัยครั้งนี้

การปกป้องรักษาข้อมูลความลับของอาสาสมัคร

ข้อมูลที่น่าจะไปสู่การเปิดเผยตัวท่าน จะได้รับการปกปิดและจะไม่เปิดเผยแก่สาธารณชน ในกรณีที่ผลการวิจัยได้รับการตีพิมพ์ ชื่อและที่อยู่ของท่านจะต้องได้รับการปกปิดอยู่เสมอ โดยจะใช้เฉพาะรหัสประจำโครงการวิจัยของท่าน

จากการลงนามยินยอมของท่านผู้ทำวิจัย และผู้สนับสนุนการวิจัยสามารถเข้าไปตรวจสอบบันทึกข้อมูลทางการแพทย์ของท่านได้แม้จะสิ้นสุดโครงการวิจัยแล้วก็ตาม หากท่านต้องการยกเลิกการให้สิทธิ์ดังกล่าว ท่านสามารถแจ้ง หรือเขียนบันทึกขอยกเลิกการให้คำยินยอม โดยส่งไปที่ หน่วยต่อมไร้ท่อและเมตาบอลิซึม ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หากท่านขอยกเลิกการให้คำยินยอมหลังจากที่ท่านได้เข้าร่วมโครงการวิจัยแล้ว ข้อมูลส่วนตัวของท่านจะไม่ถูกบันทึกเพิ่มเติม อย่างไรก็ตามข้อมูลอื่น ๆ ของท่านอาจถูกนำมาใช้เพื่อประเมินผลการวิจัยและท่านจะไม่สามารถกลับมาเข้าร่วมในโครงการนี้ได้อีก ทั้งนี้เนื่องจากข้อมูลของท่านที่จำเป็นสำหรับใช้เพื่อการวิจัยไม่ได้ถูกบันทึก

จากการลงนามยินยอมของท่านแพทย์ผู้ทำวิจัยสามารถบอกรายละเอียดของท่านที่เกี่ยวข้องกับการเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้ให้แก่แพทย์ผู้รักษาท่านได้

สิทธิของผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย

ในฐานะที่ท่านเป็นผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย ท่านจะมีสิทธิดังต่อไปนี้

1. ท่านจะได้รับทราบถึงลักษณะและวัตถุประสงค์ของการวิจัยในครั้งนี้
2. ท่านจะได้รับการอธิบายเกี่ยวกับระเบียบวิธีการของการวิจัยทางการแพทย์ รวมทั้งยาและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้
3. ท่านจะได้รับการอธิบายถึงความเสี่ยงและความไม่สบายที่จะได้รับจากการวิจัย
4. ท่านจะได้รับการอธิบายถึงประโยชน์ที่ท่านอาจจะได้รับจากการวิจัย
5. ท่านจะได้รับการเปิดเผยถึงทางเลือกในการรักษาด้วยวิธีอื่น ยา หรืออุปกรณ์ซึ่งมีผลดีต่อท่านรวมทั้งประโยชน์และความเสี่ยงที่ท่านอาจได้รับ
6. ท่านจะได้รับทราบแนวทางในการรักษา ในกรณีที่พบโรคแทรกซ้อนภายหลังการเข้าร่วมในโครงการวิจัย
7. ท่านจะมีโอกาสได้ซักถามเกี่ยวกับงานวิจัยหรือขั้นตอนที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย
8. ท่านจะได้รับทราบว่าการยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ ท่านสามารถขอถอนตัวจากโครงการเมื่อไรก็ได้ โดยผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยสามารถขอถอนตัวจากโครงการโดยไม่ได้รับผลกระทบใด ๆ ทั้งสิ้น

9. ท่านจะได้รับสำเนาเอกสารใบยินยอมที่มีทั้งลายเซ็นและวันที่
10. ท่านจะได้โอกาสในการตัดสินใจว่าจะเข้าร่วมในโครงการวิจัยหรือไม่ก็ได้ โดยปราศจากการใช้สิทธิพลบังคับข่มขู่ หรือการหลอกลวง

หากท่านไม่ได้รับการชดเชยอันควรต่อการบาดเจ็บหรือเจ็บป่วยที่เกิดขึ้นโดยตรงจากการวิจัย หรือท่านไม่ได้รับการปฏิบัติตามที่ปรากฏในเอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในการวิจัย ท่านสามารถร้องเรียนได้ที่ คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ตึกอำนวยการชั้น 3 โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ถนนพระราม 4 ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330 โทร 0-2256-4455 ต่อ 14, 15 ในเวลาราชการ

ขอขอบคุณในการร่วมมือของท่านมา ณ ที่นี้

.....

ภาคผนวก ง

แสดงการทดสอบสมมติฐาน

จากสมมติฐานของการศึกษานี้คือ

H0: ความชุกของการขาดโปรตีนพีเทนในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาทีฟ เท่ากับร้อยละ 40

H1: ความชุกของการขาดโปรตีนพีเทนในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาทีฟไม่ เท่ากับร้อยละ 40

เพื่อจะทดสอบว่าสัดส่วนของผู้ป่วยที่มีการขาดโปรตีนพีเทนในมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาทีฟในการศึกษานี้กับสัดส่วนที่ใช้เป็นเกณฑ์ (5) มีความแตกต่างกันหรือไม่สถิติที่ใช้คือ

$$Z = \frac{p - \pi}{\sqrt{\frac{\pi(1-\pi)}{n}}}$$

เมื่อกำหนด p แทนสัดส่วนของผู้ป่วยที่มีการขาดโปรตีนพีเทนในมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาทีฟในกลุ่มตัวอย่าง = 0.31

π แทน สัดส่วนของของผู้ป่วยที่มีการขาดโปรตีนพีเทนในมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาทีฟในประชากร = 0.40

n คือ จำนวนตัวอย่างเท่ากับ 78 ราย

ผลการคำนวณ Z เท่ากับ -1.64

จะสามารถคำนวณค่า $Z = -1.64$ ซึ่งไม่ปฏิเสธ H0 ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า ความชุกของการขาดโปรตีนพีเทนในผู้ป่วยสตรีที่เป็นมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิลเนกาทีฟเท่ากับร้อยละ 40 ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ภาคผนวก จ

รูปแสดงการตีความทางอิมมูโนฮิสโตเคมีสตร์ของโปรตีนพีเทน

การอ่านผลทางอิมมูโนฮิสโตเคมีซึ่งบอกถึงการแสดงออกของโปรตีนพีเทน โดยใช้วิธีวัดของ "Nakata et al.[3]" โดยอ้างอิงวิธีการอ่าน Immunoreactivity score[62] โดยวัดจากผลคูณของร้อยละของจำนวนเซลล์มะเร็งที่ติดสี (คะแนน 0-4) และความเข้มของการติดสี (คะแนน 0-3) โดยแจกแจงคะแนนดังต่อไปนี้

จำนวนเซลล์มะเร็งที่ติดสี

0 คะแนน คือ ไม่มีเซลล์มะเร็งที่ติดสีเลย

1 คะแนน คือ จำนวนเซลล์มะเร็งที่นิวเคลียสมีการติดสีไม่เกินร้อยละ 25 ของเซลล์มะเร็งทั้งหมด

2 คะแนน คือ จำนวนเซลล์มะเร็งที่นิวเคลียสมีการติดสีมากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 25 และไม่เกินร้อยละ 50 ของเซลล์มะเร็งทั้งหมด

3 คะแนน คือ จำนวนเซลล์มะเร็งที่นิวเคลียสมีการติดสีมากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 50 และไม่เกินร้อยละ 75 ของเซลล์มะเร็งทั้งหมด

4 คะแนน คือ เซลล์มะเร็งทั้งหมดที่นิวเคลียสมีการติดสี

เกณฑ์ความเข้มของการติดสี

1 คะแนน คือ มีนิวเคลียสเซลล์มะเร็งไม่ติดสีเลยหรือมีความเข้มของการติดสีน้อยมาก (trace)

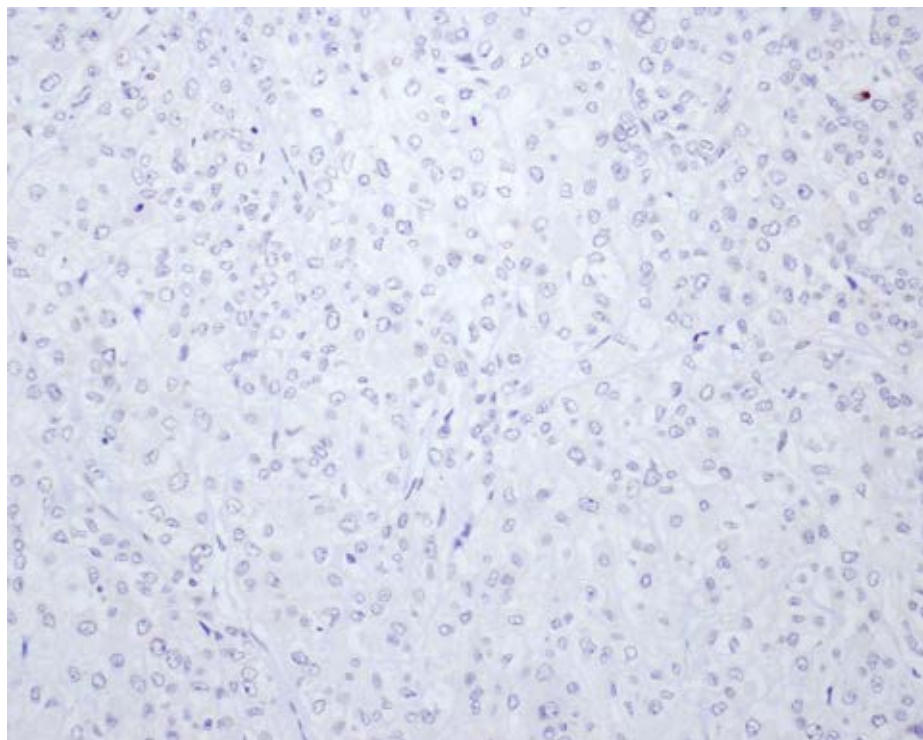
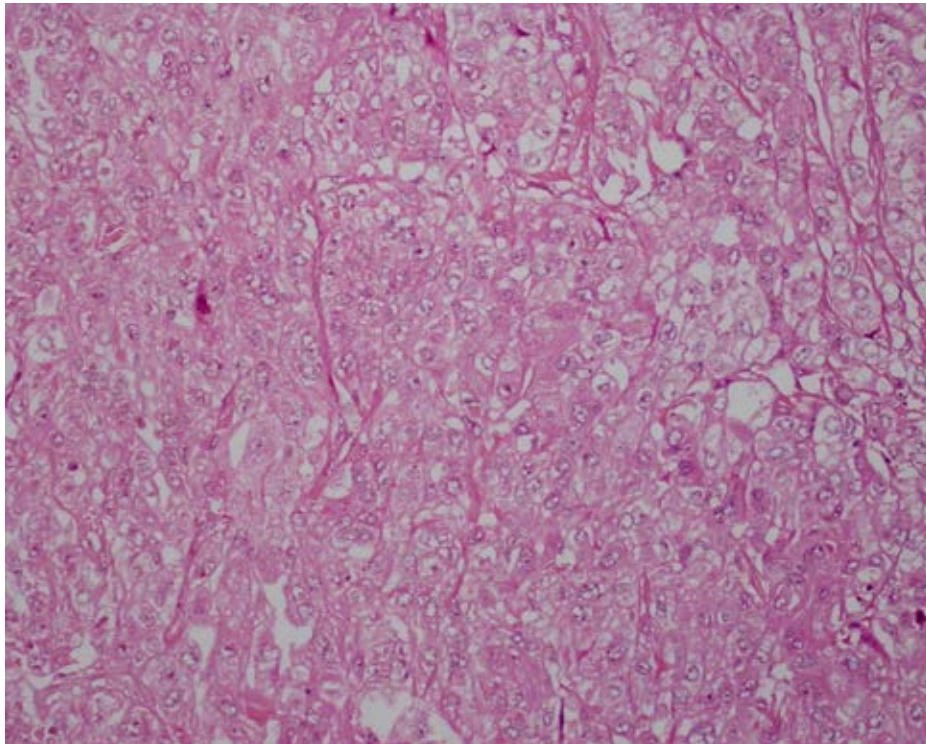
2 คะแนน คือ นิวเคลียสเซลล์มะเร็งมีความเข้มของการติดสีอ่อน (weak) ถึงปานกลาง (moderate)

3 คะแนน คือ นิวเคลียสเซลล์มะเร็งมีความเข้มของการติดสีมาก (intense)

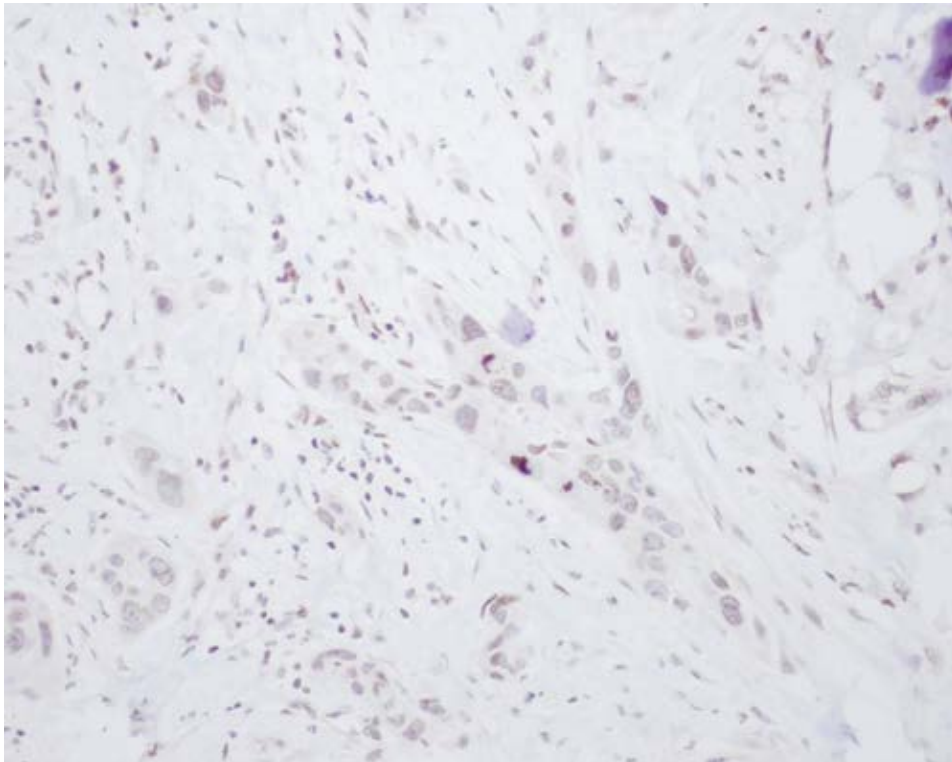
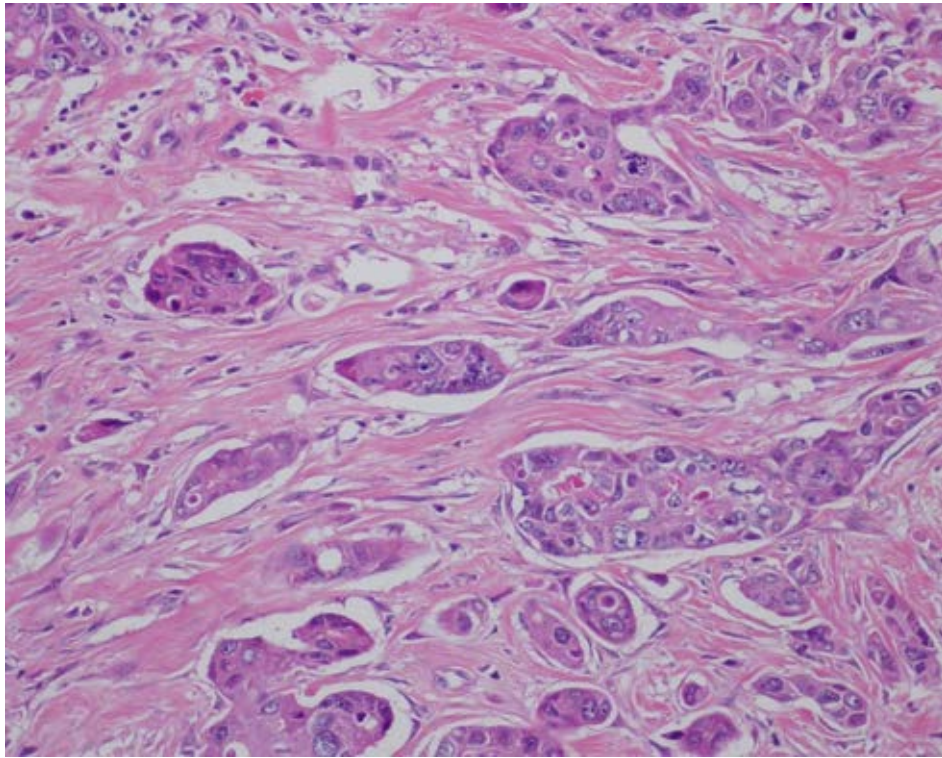
การแปลผล คือ

เมื่อได้คำนวณผลคูณมาแล้ว ถ้าค่าที่ได้น้อยกว่า 4 ถือว่าข้อมไม่ติดสีของโปรตีนพีเทน ซึ่งหมายถึง PTEN negative หรือ loss และเมื่อได้คำนวณผลคูณมาแล้ว ถ้าค่าที่ได้มากกว่าหรือเท่ากับ 4 ถือว่าข้อมติดสีของโปรตีนพีเทน ซึ่งหมายถึง PTENPositive หรือมีผลเป็นบวก

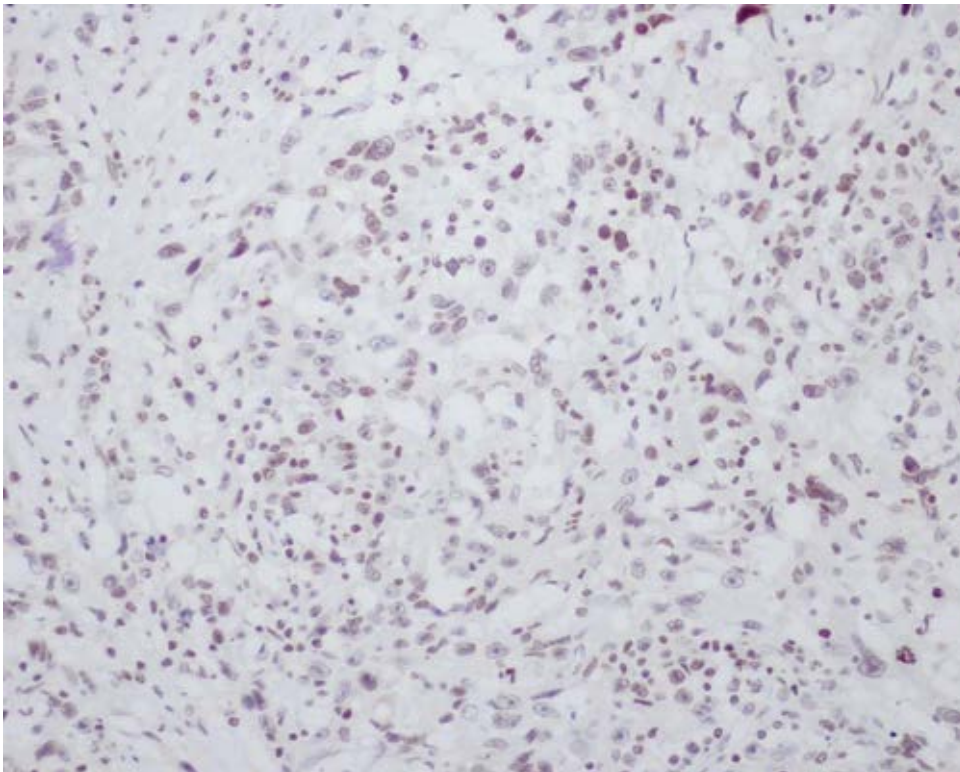
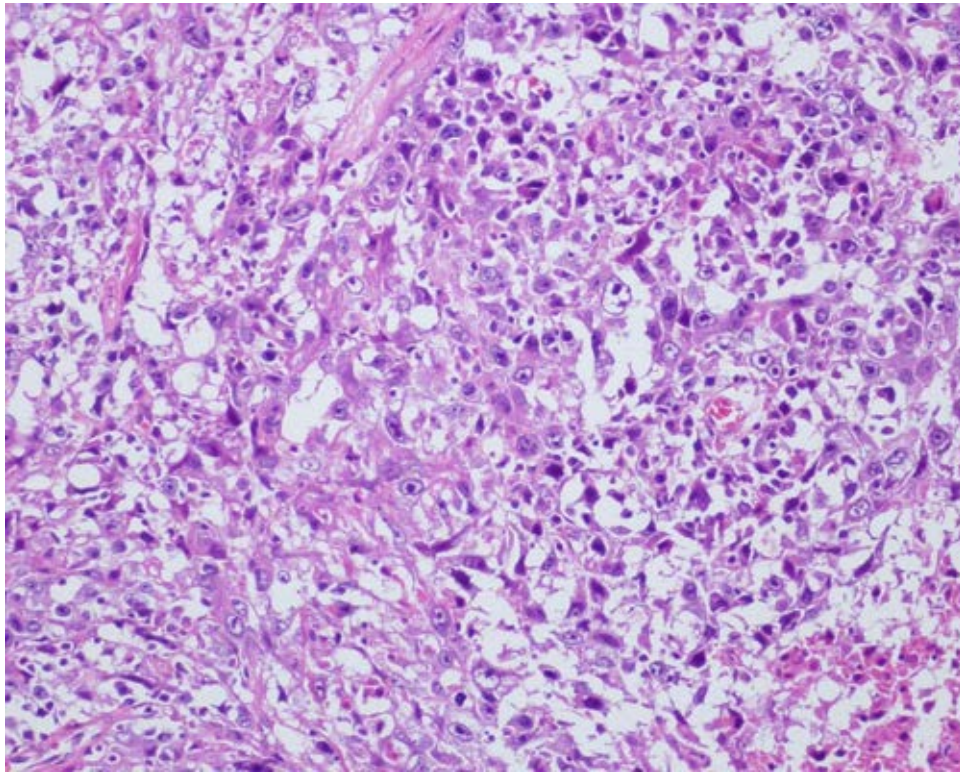
ภาพแสดงเซลล์มะเร็งจากการย้อม H&E และ ย้อมได้คะแนนเท่ากับ 0 (ขนาดกำลังขยาย x20)



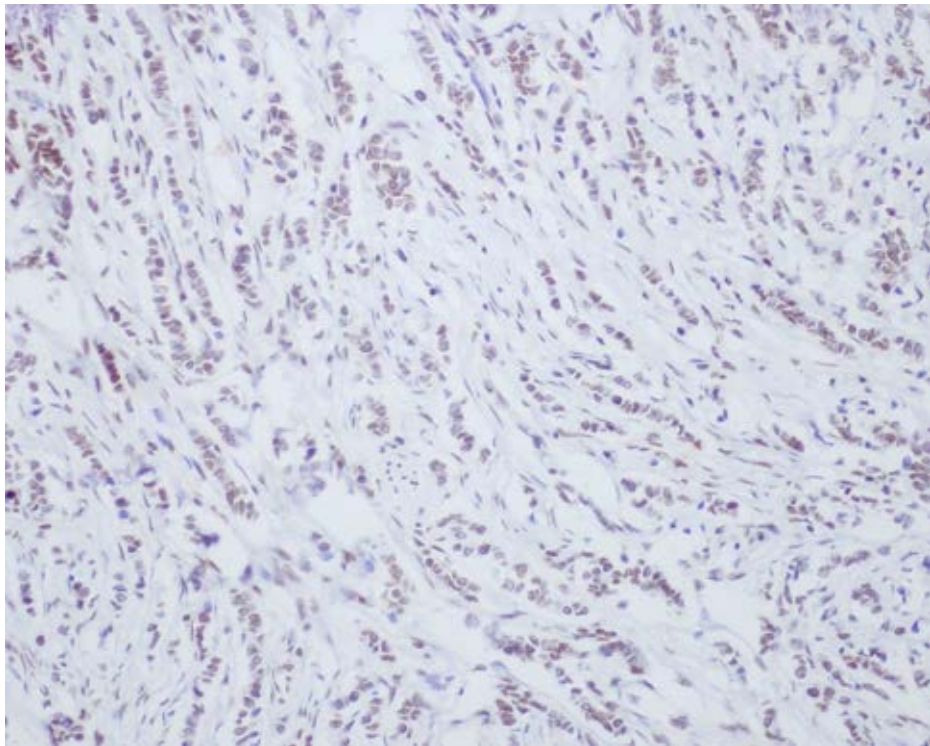
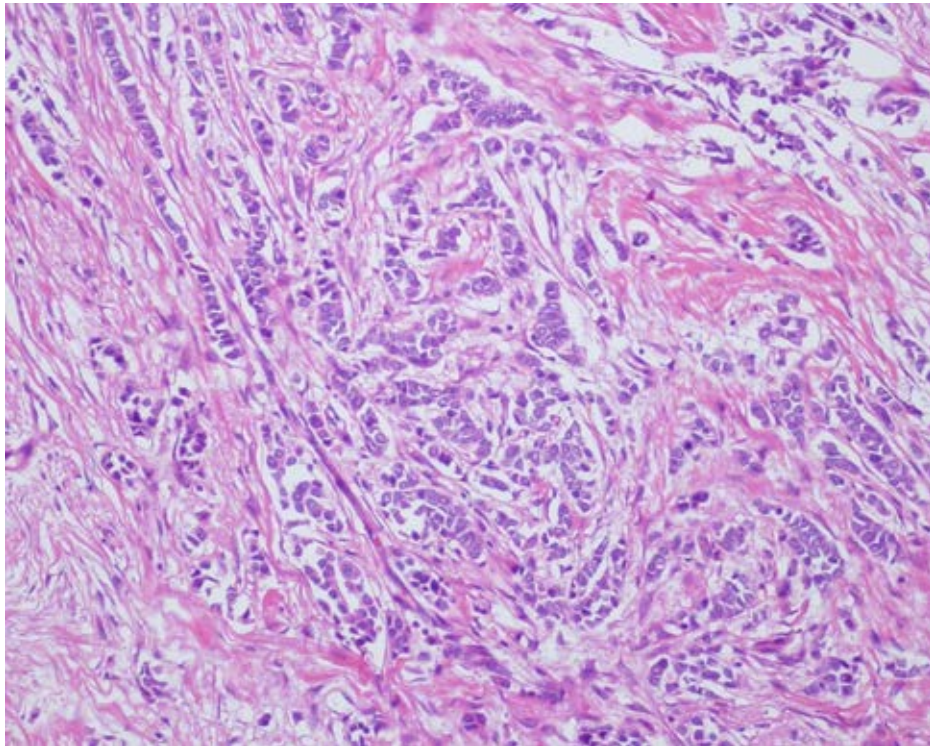
ภาพแสดงเซลล์มะเร็งจากการย้อม H&E และ ย้อมได้คะแนนเท่ากับ 1 (ขนาดกำลังขยาย x20)



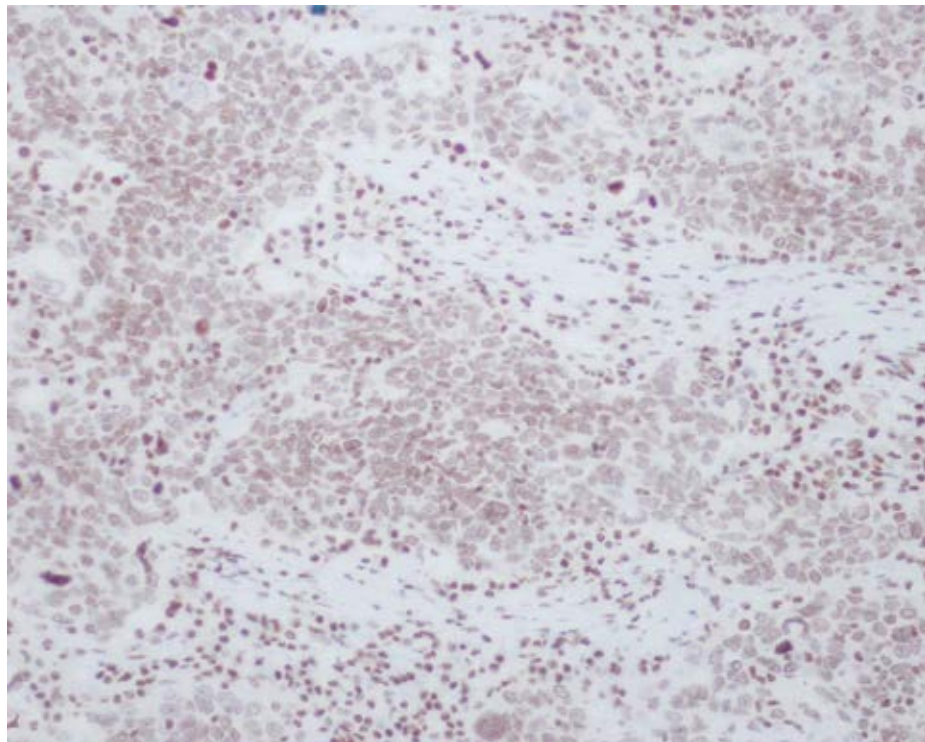
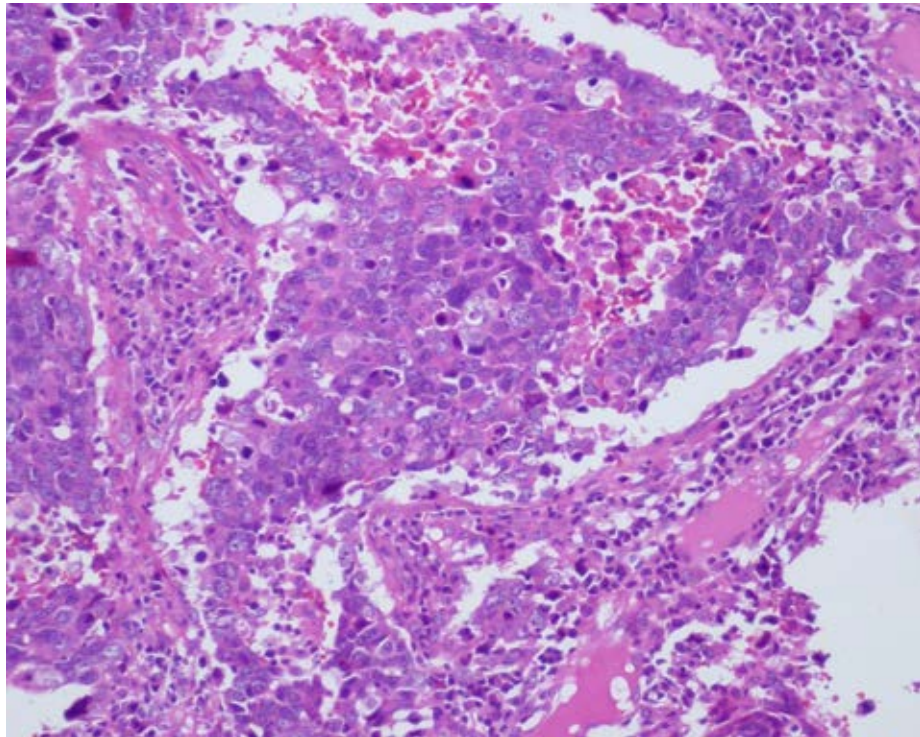
ภาพแสดงเซลล์มะเร็งจากการย้อม H&E และ ย้อมได้คะแนนเท่ากับ 4 (ขนาดกำลังขยาย x20)



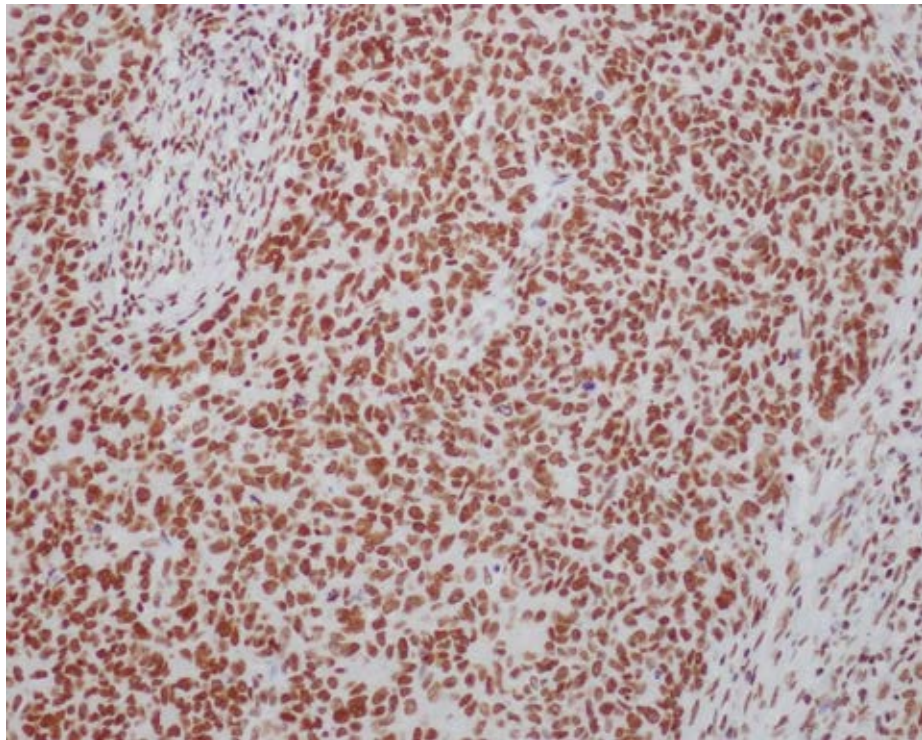
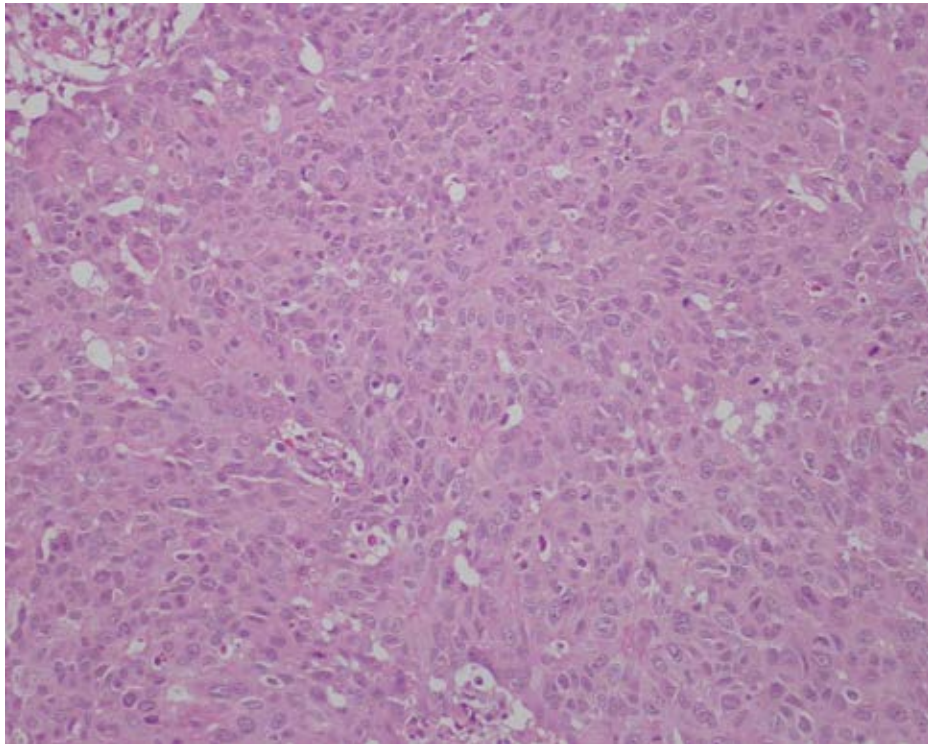
ภาพแสดงเซลล์มะเร็งจากการย้อม H&E และ ย้อมได้คะแนนเท่ากับ 6 (ขนาดกำลังขยาย x20)



ภาพแสดงเซลล์มะเร็งจากการย้อม H&E และ ย้อมได้คะแนนเท่ากับ 9 (ขนาดกำลังขยาย x20)



ภาพแสดงเซลล์มะเร็งจากการย้อม H&E และ ย้อมได้คะแนนเท่ากับ12 (ขนาดกำลังขยาย x20)



ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

ชื่อ นายทิวา เกียรติปานอภิกุล

วันเดือนปีเกิด 13 สิงหาคม พ.ศ. 2521 จังหวัดกรุงเทพมหานคร

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

นิสิตคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ	2539 - 2545
แพทย์เพิ่มพูนทักษะ โรงพยาบาลพิจิตร	2545 - 2546
แพทย์ประจำโรงพยาบาลเจริญกรุงประชารักษ์	2546 - 2548
แพทย์ประจำบ้านอายุรศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์	2548 - 2551
นายแพทย์ 6 กลุ่มบริการทางการแพทย์ กลุ่มงานอายุรกรรม	
โรงพยาบาลเจริญกรุงประชารักษ์ สำนักการแพทย์	2551- ปัจจุบัน

ปริญญาและประกาศนียบัตร

แพทยศาสตรบัณฑิต มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ	2545
วุฒิปัตรแพทย์ผู้ปวยเชี่ยวชาญสาขาอายุรศาสตร์	2551

สมาชิกสมาคมวิชาชีพ

- สมาชิกแพทยสภา
- สมาชิกราชวิทยาลัยอายุรแพทย์แห่งประเทศไทย
- สมาชิกสมาคมต่อมไร้ท่อแห่งประเทศไทย