การศึกษาการพยากรณ์โรคโดยอาศัยระดับเซลล์เม็ดเลือดขาวลิมป์โฟไซต์ที่ตรวจพบในชิ้นเนื้อร่วมกับข้อมูลทางคลินิกในการทำนายโอกาสกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านมชนิดที่มีตัวรับสัญญาณเฮอร์ทู ระยะแรกในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ระหว่างปีพ.ศ. 2548-2559

นางสาวสุรัมภา ประภัสสรวิจิตร

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย
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 University Graduate School.

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาอายุรศาสตร์ ภาควิชาอายุรศาสตร์
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2560
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Prognostic value of Tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) and clinical value for Prediction of Breast Cancer Recurrence in HER2 Positive Early Breast Cancer after Surgery in King Chulalongkorn Memorial Hospital During 2005-2016

Miss Surampa Prapatsornvichit

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

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 2017

Copyright of Chulalongkorn University

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การศึกษาการพยากรณ์โรคโดยอาศัยระดับเซลล์เม็ดเลือดขาวลิมป์โฟไซต์ที่ตรวจพบในชิ้นเนื้อร่วมกับข้อมูลทางคลินิกในการทำนายโอกาสกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านมชนิดที่มีตัวรับสัญญาณเฮอร์ทูระยะแรกในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ระหว่างปีพ.ศ. 2548-2559
โดย	นางสาวสุรัมภา ประภัสสรวิจิตร
สาขาวิชา	อายุรศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	อาจารย์ แพทย์หญิง นภา ปริญญานิติกูล
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	อาจารย์ นายแพทย์ เทวินทร์ อติกานต์กุล

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....คณบดีคณะแพทยศาสตร์

(ศาสตราจารย์ นายแพทย์ สุทธิพงศ์ วัชรสินธุ)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ

(ศาสตราจารย์ นายแพทย์ พลภัทร โรจน์นครินทร์)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(อาจารย์ แพทย์หญิง นภา ปริญญานิติกูล)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(อาจารย์ นายแพทย์ เทวินทร์ อติกานต์กุล)

.....กรรมการ

(อาจารย์ แพทย์หญิง อรอุมา ชุติเนตร)

.....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(แพทย์หญิง สิริวิมล ไทรแจ่มจันทร์)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

สุรัมภา ประภัสสรวิจิตร : การศึกษาการพยากรณ์โรคโดยอาศัยระดับเซลล์เม็ดเลือดขาวลิมป์โฟไซต์ที่ตรวจพบในชิ้นเนื้อร่วมกับข้อมูลทางคลินิกในการทำนายโอกาสกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านมชนิดที่มีตัวรับสัญญาณเฮอร์ทูระยะแรกในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ระหว่างปีพ.ศ. 2548-2559 (Prognostic value of Tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) and clinical value for Prediction of Breast Cancer Recurrence in HER2 Positive Early Breast Cancer after Surgery in King Chulalongkorn Memorial Hospital During 2005-2016) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: อ. พญ. นภา ปริญญานิติกูล, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: อ. นพ. เทวินทร์ อติกานต์กุล, หน้า.

ความเป็นมา แม้ว่าในปัจจุบันผู้ป่วยมะเร็งเต้านมกลุ่มที่มีตัวรับสัญญาณเฮอร์ทูจะได้รับการรักษาด้วยยาต้านเฮอร์ทูแล้ว แต่ยังพบว่ามีผู้ป่วยจำนวนหนึ่งมีการกลับเป็นซ้ำของโรค มีหลายการศึกษาพบว่าระดับเซลล์เม็ดเลือดขาวลิมป์โฟไซต์ที่ตรวจพบในชิ้นเนื้อ (TILs) มีความสัมพันธ์กับพยากรณ์โรคที่ดี

วัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาระดับเซลล์เม็ดเลือดขาวลิมป์โฟไซต์ที่ตรวจพบในชิ้นเนื้อ (TILs) ร่วมกับปัจจัยทางคลินิกและพยาธิวิทยาในการพยากรณ์โอกาสการกลับเป็นซ้ำของโรคในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมชนิดที่มีตัวรับสัญญาณเฮอร์ทูระยะแรก

วิธีการศึกษา ศึกษาในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมชนิดที่มีตัวรับสัญญาณเฮอร์ทูระยะ 1-3 แบบย้อนหลัง ระหว่างมกราคม 2548 ถึงธันวาคม 2560 จำนวน486 คนโดยศึกษาระดับ TILs ร่วมกับปัจจัยทางคลินิกและพยาธิวิทยาโดยทำการวิเคราะห์ปัจจัยที่มีผลต่อการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านมชนิดที่มีตัวรับสัญญาณเฮอร์ทูอย่างมีนัยสำคัญ

ผลการวิจัย หลังจากติดตามผู้ป่วย 4.1 ปี พบผู้ป่วยมีการกลับเป็นซ้ำของโรคทั้งหมด 92 รายคิดเป็นร้อยละ 18.9 และปัจจัยที่มีผลลดการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ได้แก่ การได้รับการรักษาด้วยยามุ่งเป้าต่อตัวรับสัญญาณเฮอร์ทูและระดับปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวลิมป์โฟไซต์ที่ตรวจพบในชิ้นเนื้อ (TILs) ที่สูง

สรุปผลการวิจัย ระดับปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวลิมป์โฟไซต์ที่ตรวจพบในชิ้นเนื้อ (TILs) ที่สูงและการได้รับการรักษาด้วยยามุ่งเป้าต่อตัวรับสัญญาณเฮอร์ทู สามารถเป็นปัจจัยพยากรณ์โอกาสการกลับเป็นซ้ำในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมชนิดที่มีตัวรับสัญญาณเฮอร์ทู

ภาควิชา อายุรศาสตร์ ลายมือชื่อนิสิต .....

สาขาวิชา อายุรศาสตร์ ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก .....

ปีการศึกษา 2560 ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม .....

5974105730 : MAJOR MEDICINE

KEYWORDS: HER-2 POSITIVE BREAST CANCER / PROGNOSTIC AND CLINICAL VALUES / TUMOR-INFILTRATING LYMPHOCYTES

SURAMPA PRAPATSORNVICHIT: Prognostic value of Tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) and clinical value for Prediction of Breast Cancer Recurrence in HER2 Positive Early Breast Cancer after Surgery in King Chulalongkorn Memorial Hospital During 2005-2016. ADVISOR: NAPA PARINYANITIKUL, CO-ADVISOR: TAYWIN ATIKANKUL, pp.

Background: Human epidermal growth factor receptor 2 (HER-2) breast cancer is associated with diminished disease-free and survival. Despite receiving adjuvant Trastuzumab, 20% of these patients had recurrence after treatment. Several clinical studies had demonstrated that high level of Tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) were associated with better prognosis. So, this study was aimed to identify prognostic and clinical values that associated with outcomes especially in term of disease free survival.

Methods: Four hundred and eighty-six patients with early stage HER-2 positive breast cancer who were diagnosed and treated at King Chulalongkorn Memorial Hospital from January 2005 to December 2016 were reviewed retrospectively. Clinico-pathological features, stromal TILs and survival outcomes were analyzed.

Results: Ninety two out of 486 (18.9%) patients had recurrent disease after a median follow up of 4.1 years. In 100 available tissues that evaluated for stromal TILs, only 14 patients had high stromal TILs and 46 patients had recurrent disease. Median percentage of stromal TILs in recurrent was lower than non-recurrent subgroup. From multivariate analysis, high stromal TILs and Trastuzumab used were associated with decreased risk of recurrences.

Conclusion: High stromal TILs and Trastuzumab used were statistically significant prognostic values for predicting disease recurrence in HER-2 positive early breast cancer.

Department:	Medicine	Student's Signature	.....
Field of Study:	Medicine	Advisor's Signature	.....
Academic Year:	2017	Co-Advisor's Signature	.....

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณทุกท่านที่ได้ช่วยเหลือให้การวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

อาจารย์ แพทย์หญิง นภา ปริญญานิติกูล ภาควิชาอายุรศาสตร์ อาจารย์ที่ปรึกษาหลักวิทยานิพนธ์, อาจารย์ นายแพทย์ เทวินทร์ อติกานต์กุล อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมวิทยานิพนธ์ ที่ให้ความรู้และคำแนะนำ อันเป็นประโยชน์แก่ผู้วิจัยมาโดยตลอด รวมถึงเจ้าหน้าที่หน่วยมะเร็งวิทยา ภาควิชาอายุรศาสตร์ และเจ้าหน้าที่หน่วยพยาธิวิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ทุกท่าน

ศาสตราจารย์ นายแพทย์ พลภัทร โรจน์นครินทร์ ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์, ผู้ช่วยศาสตราจารย์ แพทย์หญิง อรอุมา ชุติเนตร และพันโท แพทย์หญิง สิริวิมล ไทรแจ่มจันทร์ กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ให้ความรู้แนวทางการวิจัยและข้อเสนอแนะที่เป็นประโยชน์แก่ผู้วิจัย

สุดท้ายนี้ กราบขอบพระคุณ ครอบครัวของข้าพเจ้า บิดาผู้ล่วงลับ ขอบคุณเพื่อนแพทย์ประจำบ้านต่อยอด สาขามะเร็งวิทยา ที่ให้กำลังใจและให้ความช่วยเหลือข้าพเจ้ามาตลอด

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ
กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ
สารบัญ ..... ช
สารบัญตาราง ..... ฌ
สารบัญรูป ..... ญ
คำอธิบายสัญลักษณ์ และคำย่อ ..... ฎ
บทที่ 1 บทนำ 1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย 1
1.2 คำถามของการวิจัย 3
1.3 วัตถุประสงค์งานวิจัย 3
1.4 สมมติฐาน 3
1.5 ข้อตกลงเบื้องต้น 4
1.6 กรอบความคิดแนววิจัย (Conceptual Framework) 4
1.7 การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติที่จะใช้ในการวิจัย 4
1.8 ผลหรือประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย 9
1.9 อุปสรรคที่อาจเกิดขึ้นระหว่างการวิจัยและมาตรการการแก้ไข 9
บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง 10
บทที่ 3 22
วิธีดำเนินการวิจัย 22
3.1 รูปแบบการวิจัย 22
3.2 ระเบียบวิธีการวิจัย 22

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

หน้า

3.3 ขนาดตัวอย่าง 23
3.4 ขั้นตอนในการดำเนินการวิจัย 24
3.5 การรวบรวมข้อมูล 25
3.6 ข้อจำกัดในการวิจัย 25
3.7 การเปิดเผยข้อมูลแสดงตัวตนของผู้ป่วย 26
3.8 การวิเคราะห์ข้อมูล (Data analysis) 26
บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล 29
4.1 ประชากรที่นำมาศึกษา 29
4.2 ข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วย 29
4.3 ผลเปรียบเทียบปัจจัยที่ศึกษา 39
บทที่ 5 45
อภิปรายผล สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ 45
5.1 อภิปรายผล 45
5.2 สรุปผลการวิจัย 49
5.3 ข้อดีของการศึกษานี้ 49
5.4 ข้อด้อยของการศึกษานี้ 50
5.5 ข้อเสนอแนะ 50
..... 52
รายการอ้างอิง 52
ภาคผนวก ก 58
ขั้นตอนวิธีการประเมินระดับ TILs ในชิ้นเนื้อ (ดัดแปลงจากเอกสารอ้างอิง 12) 58
ภาคผนวก ข 59
ภาคผนวก ค 60

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

หน้า

ภาคผนวก ง 61

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์ 65

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

สารบัญตาราง

ตาราง 1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างการแบ่งชนิดของมะเร็งเต้านมทางพันธุกรรมกับการแบ่งชนิดมะเร็งเต้านมทางคลินิกพยาธิ (ดัดแปลงจากเอกสารอ้างอิง 1) 6

ตาราง 2 แสดงความสามารถในการใช้ชีวิตประจำวัน (ECOG Performance Status) (ดัดแปลงมาจากเอกสารอ้างอิง 13)..... 8

ตาราง 3 แสดงข้อมูลพื้นฐานผู้ป่วยทั้งหมดโดยเปรียบเทียบกลุ่มที่มีกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านมและกลุ่มที่ไม่มีกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านม..... 31

ตาราง 4 แสดงการกลับเป็นซ้ำและการเสียชีวิต..... 34

ตาราง 5 แสดงข้อมูลพื้นฐานผู้ป่วยที่มีการประเมินระดับปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวลิมป์โฟไซต์ 36

ตาราง 6แสดงระดับปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวลิมป์โฟไซต์ (Stromal TILs)..... 39

ตาราง 7แสดงปัจจัยที่มีผลต่อการกลับเป็นซ้ำและการเสียชีวิตของมะเร็งเต้านมโดยการวิเคราะห์แบบ Univariate analysis 40

ตาราง 8 แสดงปัจจัยที่มีผลต่อการกลับเป็นซ้ำและการเสียชีวิตของมะเร็งเต้านมโดยการวิเคราะห์แบบ Multivariate analysis 41

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญรูป

รูปภาพ 1 แสดงกรอบความคิดแนววิจัย (Conceptual Framework) 4

รูปภาพ 2 แสดง HER signaling pathway (ดัดแปลงจากเอกสาร (18)) 12

รูปภาพ 3 แสดง Tumor immune microenvironment (ดัดแปลงจากเอกสารหมายเลข 36) 17

รูปภาพ 4 แสดงแนวทางการวิจัย 28

รูปภาพ 5 แสดงโอกาสปลอดโรคและโอกาสรอดชีวิตของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่ได้รับการรักษาเสริมด้วยยา **Trastuzumab** 42

รูปภาพ 6 แสดงโอกาสปลอดโรคของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมเฉพาะกลุ่มที่ไม่มีการลุกลามและมีการลุกลามไปยังต่อมน้ำเหลืองที่ได้รับการรักษาเสริมด้วยยา **Trastuzumab (p = 0.02)** 43

รูปภาพ 7 แสดงโอกาสปลอดโรคและโอกาสรอดชีวิตของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมโดยแยกตามระดับปริมาณ **Stromal TILs** 44

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

คำอธิบายสัญลักษณ์ และคำย่อ

HER-2	Human epithelial growth factor receptor 2
TILs	Tumor-infiltrating lymphocytes
ER	Estrogen receptor
PgR	Progesterone receptor
DFS	Disease free survival
OS	Overall survival
pCR	Pathological complete response
ISH	In situ hybridization
ECOG	Eastern Cooperative Oncology Group
CMIR	Cell-mediated immune response
HIR	Humoral immune response
IL	Interleukin
TGF-β1	Transforming growth factor beta 1
MDSC	Myeloid derived suppressor cell
PD L1	Programmed death ligand 1
PD 1	Programmed death 1
CTLA-4	Cytotoxic T lymphocyte associated protein 4

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย

มะเร็งเต้านมจัดเป็นปัญหาที่สำคัญของสาธารณสุขไทยและทั่วโลก จากข้อมูลรายงานสถิติโรคมะเร็งของประเทศไทย (Cancer in Thailand Vol.VIII, 2010 – 2012) พบอุบัติการณ์การเกิดโรคมะเร็งเต้านมมากที่สุดเป็นอันดับ 1 ในสตรีไทยคิดเป็น 28.6 ต่อประชากรแสนคน โดยมีอัตราการเสียชีวิตและอัตราการเกิดโรคเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ช่วงอายุเฉลี่ยที่พบสูงสุดได้แก่ 50-55 ปี อย่างไรก็ตาม ในปัจจุบันความก้าวหน้าในเรื่องการตรวจคัดกรองโรคและการรักษามะเร็งเต้านมทำให้แพทย์สามารถตรวจและวินิจฉัยโรคได้ในตั้งแต่ระยะแรก ทำให้ผู้ป่วยมะเร็งเต้านมมีอายุที่ยืนยาวมากขึ้นกว่าในอดีต

มะเร็งเต้านมเป็นมะเร็งที่มีความหลากหลาย เพราะมีการเปลี่ยนแปลงในระดับโมเลกุลและองค์ประกอบของเซลล์ที่ซับซ้อน ทำให้การดำเนินโรค การรักษาและผลการตอบสนองต่อการรักษาทั้งยาเคมีบำบัดและฮอร์โมน มีความแตกต่างกันในแต่ละชนิด โดยปัจจุบันสามารถแบ่งมะเร็งเต้านม จากการย้อมชิ้นเนื้อพยาธิวิทยาพิเศษ Breast marker โดยวิธีทางอิมมูน (Immunohistochemistry) ได้แก่ ตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเอสโตรเจน (Estrogen receptor, ER) หรือตัวรับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (Progesterone, PR) และตัวรับสัญญาณเฮอร์ทู (HER-2) โดยแบ่งได้เป็น 4 กลุ่มใหญ่ตาม St Gallen concensus 2013 (1) โดยกลุ่มที่มีการดำเนินโรคที่รุนแรงคือกลุ่มที่มีตัวรับ HER-2 ซึ่งพบได้ประมาณ 20-25% ของมะเร็งเต้านมทั้งหมด พบว่าผู้ป่วยมะเร็งเต้านมกลุ่มนี้มีโอกาสเกิดการกลับเป็นซ้ำของโรคสูงกว่ากลุ่มที่ไม่มีตัวรับ HER-2

ปัจจุบันมีการกล่าวถึงการรักษาผู้ป่วยด้วย Precision หรือ Personalized medicine คือการรักษาที่ตรงกับโรคของผู้ป่วย โดยมุ่งเน้นแก้ไขความผิดปกติที่เกิดขึ้นในผู้ป่วยแต่ละราย จากนั้นจึงเลือกวิธีหรือยารักษาโรคที่เหมาะสมที่สุดกับผู้ป่วยรายนั้น หัวใจสำคัญอย่างหนึ่งของการนำ Precision medicine มาใช้ในการรักษาผู้ป่วยคือ เครื่องมือหรือวิธีในการทำนายว่าการรักษาที่แพทย์จะให้กับผู้ป่วยนั้น มีโอกาสที่จะได้ผลสูงมากน้อยแค่ไหน เมื่อแพทย์สามารถตรวจเพื่อทำนายผลการตอบสนองของการรักษาวิธีหรือยาสูตรต่างๆได้ตั้งแต่ต้น แพทย์จึงสามารถเลือกการรักษาที่ดีที่สุดสำหรับผู้ป่วย วิธีที่เป็นที่นิยมมากที่สุด ในปัจจุบันคือการหา Biomarker ที่เหมาะสมกับโรคหรือการรักษาชนิดนั้นๆ การรักษามะเร็งด้วยยาชนิดต่างๆที่ออกฤทธิ์มุ่งเป้าหรือจำเพาะเจาะจงต่อเซลล์มะเร็ง (Targeted therapy) มักออกฤทธิ์ยับยั้งหรือแก้ไขความผิดปกติของ pathway หรือโปรตีนต่างๆที่ผิดปกติไปซึ่ง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

โปรตีนเหล่านี้เป็นผลผลิตจากการกลายพันธุ์ ในระดับยีนหรือโมเลกุลของดีเอ็นเอ (Gene mutation) ที่เกิดขึ้นในเซลล์มะเร็ง ดังนั้น biomarker ที่เหมาะสมและใช้กันมากที่สุดได้แก่ การตรวจหาการกลายพันธุ์ในระดับยีนที่จำเพาะเจาะจง(specific gene mutation) ที่ใช้ทำนายการตอบสนองหรือไม่ตอบสนองต่อยาที่ใช้

HER-2 เป็นโปรตีนตัวหนึ่งที่เรียกว่า Human Epidermal Growth Factor Receptor (HER2) ซึ่งมีหน้าที่สนับสนุนการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง โดยการตรวจหา HER2 amplification /overexpression สามารถใช้ทำนายการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยา anti-HER-2 โดยปัจจุบัน HER-2 จัดเป็นปัจจัยที่บ่งบอก การพยากรณ์โรค (Prognostic factor) และสามารถทำนายผลการรักษา (Predictive factor) ของมะเร็งเต้านม โดยปัจจุบันการรักษาผู้ป่วยกลุ่มนี้จึงได้แก่ การรักษามุ่งเป้าหรือจำเพาะเจาะจง (Targeted therapy) ต่อต้านตัวรับสัญญาณ HER-2 (anti-HER-2 : Trastuzumab) ร่วมกับยาเคมีบำบัด มีการศึกษาหลายการศึกษาในช่วง 20 ปีที่ผ่านมาเกี่ยวกับการรักษามะเร็งกลุ่มนี้ พบว่าในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะแรกที่มีตัวรับสัญญาณ HER-2 การนำ Trastuzumab มาใช้ร่วมกับการรักษาเสริมด้วยยาเคมีบำบัด ทั้งที่ให้พร้อมหรือตามหลัง การรักษาด้วยยาเคมีบำบัดแล้วทำให้มีระยะเวลาปลอดจากโรคและอัตราการกลับเป็นซ้ำของโรคดีกว่าการใช้ยาเคมีบำบัดเพียงอย่างเดียว จากคำแนะนำของ International Guideline ได้แก่ NCCN (National Comprehensive Cancer Network) (2) เครือข่ายะเร็งแห่งชาติของอเมริกา ซึ่งได้รวบรวมข้อมูลจากหลายการศึกษา ได้แก่ Joint analysis ซึ่งประกอบด้วย NCCTG N9831 และ NSABP-31 trial และ HERA trial พบว่าในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะแรก ถ้ามีก้อนขนาดมากกว่า 1 cm แม้จะยังไม่มีการแพร่กระจายไปยังต่อมน้ำเหลือง การใช้ยา Trastuzumab ร่วมกับยาเคมีบำบัดสามารถลดการกลับเป็นซ้ำอย่างมีนัยสำคัญ แต่เนื่องจากยา Trastuzumab มีราคาแพง ทำให้หลักเกณฑ์การพิจารณาให้ยา Trastuzumab ในไทยตามสิทธิหลักประกันสุขภาพจะสามารถใช้ได้เฉพาะในผู้ป่วยที่มีการแพร่กระจายไปที่ต่อมน้ำเหลืองเท่านั้น ทำให้ผู้ป่วยไม่สามารถเข้าถึงยาได้ ทำให้ปัจจุบันจึงมีความพยายามที่จะศึกษาหาปัจจัยพยากรณ์โรคอื่นๆ เพื่อช่วยในการดูแลรักษาผู้ป่วยกลุ่มนี้ได้ดีขึ้น

Tumor infiltrating lymphocytes หรือ TILs (3) เป็นเซลล์เม็ดเลือดขาว Lymphocyte ที่พบในมะเร็ง ผิวหนังเมลาโนมา (Melanoma), ลำไส้ใหญ่, รังไข่ และพบในมะเร็งเต้านมโดยเฉพาะในกลุ่มที่เป็นชนิด ทริปเปิลเนกาทีฟ (Triple negative) คือกลุ่มที่ไม่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมน Estrogen หรือ Progesterone receptor และHER-2 และในกลุ่มที่มีตัวรับ HER-2 โดยสามารถพบ TILs ทั้งในตัวเซลล์มะเร็งและในองค์ประกอบที่เป็นสภาวะแวดล้อมของเซลล์มะเร็ง (Stromal cell ; Tumor microenvironment) โดย TILs ประกอบด้วยเซลล์หลายชนิด ด้วยสัดส่วนที่แตกต่างกัน โดยดูจากลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาและการย้อมสีวิธีมาตรฐานฮีมาทอกซิลินและอีโอซิน (Hematoxylin and Eosin staining) ในช่วง 5 ปีที่ผ่านมามีหลายการศึกษา (4-7) พบว่าการมีเซลล์เม็ดเลือดขาว

Lymphocyte (TILs) ในตัวเซลล์มะเร็งเป็นตัวสะท้อนให้เห็นถึงปฏิกิริยาการตอบสนองของภูมิคุ้มกันร่างกายต่อเซลล์มะเร็ง โดยพบว่าระดับของ TILs มีความสัมพันธ์ โดยตรงกับการตอบสนองต่อการรักษาและสามารถใช้เป็นตัวพยากรณ์โรคมะเร็งเต้านมทั้งสองกลุ่มนี้ได้ (6, 8)

การศึกษานี้จึงได้จัดทำขึ้นเพื่อศึกษาการพยากรณ์โอกาสการกลับเป็นซ้ำในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมชนิดที่มีตัวรับสัญญาณ HER-2 ระยะแรกหลังจากที่ได้รับการผ่าตัด โดยใช้ระดับเซลล์เม็ดเลือดขาวลิมป์โฟไซต์ที่ตรวจได้จากชิ้นเนื้อร่วมกับข้อมูลจากพยาธิวิทยาและข้อมูลทางคลินิกในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

1.2 คำถามของการวิจัย

คำถามหลัก : การใช้ระดับปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวลิมป์โฟไซต์ (TILs) ที่อยู่บนของเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านมที่มีตัวรับสัญญาณ HER-2 ร่วมกับการใช้ข้อมูลทางคลินิกและพยาธิวิทยาอื่นๆได้แก่ อายุผู้ป่วย, ประวัติการได้รับยา Trastuzumab, การได้รับยาเคมีบำบัด, ขนาดของชิ้นเนื้อมะเร็ง, เกรด, จำนวนต่อมน้ำเหลืองที่มะเร็งลุกลาม,วิธีทางอิมมูโนวิทยาของตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเอสโตรเจน, โปรเจสเตอโรน, ค่าการแบ่งตัวของมะเร็งเคไอ-67 เพื่อดูการพยากรณ์โอกาสการกลับเป็นซ้ำของโรคมะเร็งเต้านมชนิดที่มีตัวรับสัญญาณ HER-2 ระยะแรกในผู้ป่วยหญิงไทยได้หรือไม่

คำถามรอง : ระดับปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวลิมป์โฟไซต์ (TILs) ที่อยู่บนของเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านมที่มีตัวรับสัญญาณ HER-2 ที่สูง ทำให้มีการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบสมบูรณ์เพิ่มขึ้นได้หรือไม่

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

1.3 วัตถุประสงค์งานวิจัย

1. ศึกษาระดับของ TILs ในการพยากรณ์การกลับเป็นซ้ำของโรค (Disease free survival, DFS) ในมะเร็งเต้านมชนิดที่มีตัวรับสัญญาณเฮอร์ทูระยะแรก

2. ศึกษาดูความสัมพันธ์ของระดับTILs กับการที่ก้อนมะเร็งมีการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบสมบูรณ์ (Pathological complete response, pCR) ต่อการรักษาในกรณีให้ยาก่อนผ่าตัด (Neoadjuvant chemotherapy) และอัตราการรอดชีวิตโดยรวม (Overall survival, OS) ในมะเร็งเต้านมชนิดที่มีตัวรับสัญญาณเฮอร์ทูระยะแรก

1.4 สมมติฐาน

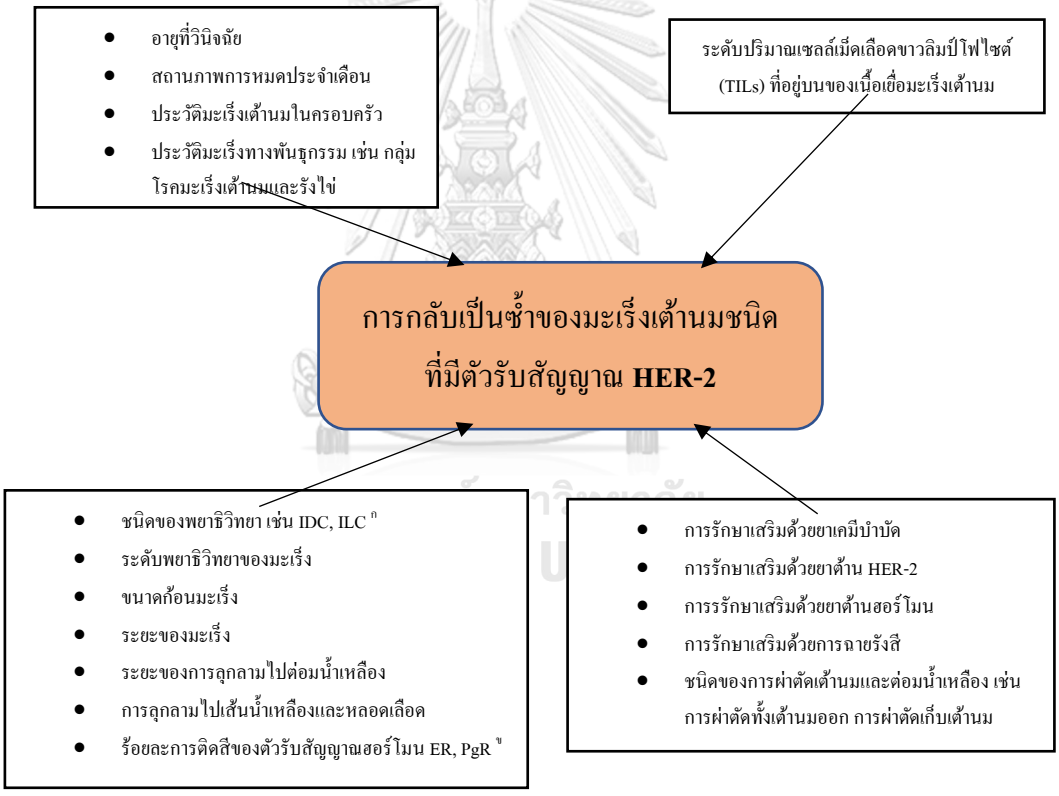
การใช้ระดับปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวลิมป์โฟไซต์ (TILs) ที่ตรวจพบในชิ้นเนื้อมะเร็งเต้านมที่มีตัวรับสัญญาณ HER-2 ร่วมกับการใช้ข้อมูลทางคลินิกและพยาธิวิทยาอื่นๆได้แก่ อายุผู้ป่วย,

ประวัติการได้รับยา Trastuzumab, การได้รับยาเคมีบำบัด, ขนาดของชิ้นเนื้อมะเร็ง, เกรด, จำนวนต่อมน้ำเหลืองที่มะเร็งลุกลาม,วิธีทางอิมมูโนวิทยาของตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเอสโตรเจน, โปรเจสเตอโรน, ค่าการแบ่งตัวของมะเร็งเคไอ-67 เพื่อดูการพยากรณ์โอกาสการกลับเป็นซ้ำของโรคมะเร็งเต้านมชนิดที่มีตัวรับสัญญาณ HER-2 ระยะแรกในผู้ป่วยหญิงไทยได้

1.5 ข้อตกลงเบื้องต้น

ผู้ป่วยมะเร็งเต้านมชนิดที่มีตัวรับสัญญาณ HER-2 ระยะแรกที่มีข้อมูลของผลชิ้นเนื้อทางพยาธิวิทยา ครบถ้วนในหน่วยมะเร็งวิทยา โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

1.6 กรอบความคิดแนวิจัย (Conceptual Framework)



ก : IDC – Invasive ductal carcinoma, ILC – Invasive lobular carcinoma

ข : ER – Estrogen receptor, PgR – progesterone receptor

รูปภาพ 1 แสดงกรอบความคิดแนวิจัย (Conceptual Framework)

1.7 การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติที่จะใช้ในการวิจัย

- มะเร็งเต้านมระยะแรกชนิดที่มีตัวรับสัญญาณ HER-2 คือ มะเร็งเต้านมที่ได้รับการวินิจฉัยโดย ทางพยาธิวิทยายืนยันโดยในการศึกษาจะเจาะจงเฉพาะ Invasive ductal carcinoma และ

Invasive lobular carcinoma เท่านั้นที่ย้อมทางอิมมูโนวิทยาแล้วพบว่าตัวรับ HER-2 3+ หรือ 2+ แต่ได้รับการตรวจ HER2 amplification เพิ่มเติมโดยวิธี In Situ Hybridization (ISH) ที่อยู่ในระยะที่ I-III ตาม American joint Committee on Cancer Staging System for Breast Cancer version 7 (AJCC7) ที่ได้รับการผ่าตัดมะเร็งเต้านม และหรือต่อมน้ำเหลืองออกเรียบร้อย โดยต้องไม่รวมกลุ่มที่เป็น Inflammatory breast cancer

• ชนิดย่อยของมะเร็งเต้านมตามคลินิกพยาธิวิทยา (Clinico-Pathologic Surrogate Definition) แบ่งย่อยตาม St Gallen International Expert Consensus 2013(1) ได้เป็น กลุ่มคล้ายลูมินอลเอ (Luminal A-like), กลุ่มคล้ายลูมินอลบี (Luminal B-like), กลุ่มเฮอร์ทูบวก (HER-2 positive), ทริปเปิลเนกาทีฟ (Triple negative)

- กลุ่มคล้ายลูมินอลเอ (Luminal A-like) คือ กลุ่มที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเอสโตรเจนและตัวรับสัญญาณฮอร์โมนโปรเจสโตรเจนเป็นบวก, ตัวรับสัญญาณเฮอร์ทูเป็นลบ, และมีค่าเคไอ-67 ต่ำ (การแบ่งเคไอ-67 มีความแตกต่างระหว่างห้องปฏิบัติการ โดยแนะนำค่าน้อยกว่าร้อยละ 14 เป็นค่าที่มีความสัมพันธ์กับกลุ่มลูมินอลเอในการตรวจทางพันธุกรรมและในส่วนค่าร้อยละตัวรับสัญญาณโปรเจสเตอโรนตัดค่าที่มากกว่าเท่ากับร้อยละ 20 เป็นค่าที่สัมพันธ์กับกลุ่มลูมินอลเอในการตรวจทางพันธุกรรม
- กลุ่มคล้ายลูมินอลบี (Luminal B-like) แบ่งได้เป็นสองกลุ่มย่อย ได้แก่
    - กลุ่มคล้ายลูมินอลบีที่มีตัวรับสัญญาณเฮอร์ทูเป็นลบคือ กลุ่มที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเอสโตรเจนเป็นบวกและตัวรับสัญญาณเฮอร์ทูเป็นลบ และมีอย่างน้อยในต่อไปนี้คือ มีค่าการแบ่งตัวเคไอ 67 ที่สูงมากกว่าเท่ากับร้อยละ 14 หรือมีค่าร้อยละตัวรับสัญญาณโปรเจสเตอโรนที่ต่ำกว่าร้อยละ 20 หรือเป็นลบ
    - กลุ่มคล้ายลูมินอลบีที่มีตัวรับสัญญาณเฮอร์ทูเป็นบวกคือ กลุ่มที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเอสโตรเจนเป็นบวกและมีตัวรับสัญญาณเฮอร์ทูเป็นบวก โดยไม่คำนึงถึงค่าการแบ่งตัวเคไอ 67 และค่าตัวรับสัญญาณโปรเจสเตอโรน
- กลุ่มเฮอร์ทูบวก (HER-2 positive) คือ กลุ่มที่มีตัวรับสัญญาณเฮอร์ทูเป็นบวกโดยตัวรับสัญญาณเอสโตรเจนและโปรเจสเตอโรนเป็นลบ
- กลุ่มทริปเปิลเนกาทีฟ (Triple negative) คือ กลุ่มที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเอสโตรเจน, ตัวรับสัญญาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน และตัวรับสัญญาณเฮอร์ทูเป็นลบทั้งหมด

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตาราง 1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างการแบ่งชนิดของมะเร็งเต้านมทางพันธุกรรมกับการแบ่งชนิดมะเร็งเต้านมทางคลินิกพยาธิ (ดัดแปลงจากเอกสารอ้างอิง 1)

Intrinsic subtype	**Clinico-Pathologic Surrogate Definition**
Luminal A	- Luminal A-like : All of : ER and PgR positive, HER-2 negative, Ki-67'low', Recurrence risk 'low' based on multi-gene-expression assay (if available)
Luminal B	- Luminal B-like (HER-2 negative) ER positive, HER-2 negative, and at least one of : Ki-67 'high', PgR 'negative or low', Recurrence risk 'high' based on multi-gene- Expression assay (if available) - Luminal B-like (HER-2 positive) ER positive, HER-2 over-expressed or Amplified, any Ki-67, any PgR
Erb-B2 overexpression	HER-2 positive (non-luminal) HER-2 over-expressed or amplified, ER and PgR absent
Basal-like	Triple negative (ductal) ER and PgR absent, HER-2 negative

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

- นิยามทางพยาธิวิทยา Invasive ductal carcinoma และ Invasive lobular carcinoma ตาม WHO classification, 4th edition 2013
- ตัวรับสัญญาณเฮอร์ทูโดยการตรวจวิธีทางอิมมูโนวิทยาโดยใช้ Ventana PATHWAY ได้ค่าและแปลผลดังต่อไปนี้

  1+ คือ เฮอร์ทูเป็นลบ (negative), 2+ คือ เฮอร์ทูก้ำกึ่ง (equivocal), 3+ คือ เฮอร์ทูเป็นบวก (positive) ในกรณีที่ค่าทางอิมมูโนวิทยาได้เป็น 2+ ให้ทำการตรวจเพิ่มเติมโดยวิธี In Situ Hybridization (ISH) โดยใช้เกณฑ์ดังต่อไปนี้

  - สำหรับชิ้นเนื้อในปีพศ. 2548-2555 (รายละเอียดเพิ่มเติมใน ASCO-CAP 2007) (9)

- FISH amplified (ratio of HER2 to CEP 17 of > 2.2 or average HER2 gene copy number > 6 signals/nucleus) for those test systems without an internal control probe

- สำหรับชิ้นเนื้อในปีพศ. 2556-2558 (รายละเอียดเพิ่มเติมใน ASCO-CAP 2013) (10)
  - Single-probe average HER2 copy number > 6.0 signals/cell
  - Dual-probe *HER2*/CEP17 ratio $\geq$ 2.0 (ratio of HER2 to chromosome 17 centromeric region) with an average HER2 copy number $\geq$ 4.0 signals per cell
  - Dual-probe *HER2*/CEP17 ratio $\geq$ 2.0 with an average HER2 copy number <4.0 signals/cell
  - Dual-probe *HER2*/CEP17 ratio < 2.0 with an average HER2 copy number $\geq$ 6.0 signals/cell

- การตรวจวิธีทางอิมมูโนวิทยาของเซลล์เม็ดเลือดขาวลิมป์โฟไซต์ (Tumor-infiltrating lymphocytes หรือ TILs) ด้วยวิธีการย้อมสีมาตรฐานฮีมาทอกซิลินและอีโอซิน (Hematoxylin and Eosin staining) อ้างอิงจาก Standardized methodology ตาม Recommendations by an International TILs Working Group 2014 (11)โดยมีพยาธิแพทย์เป็นผู้ตรวจสอบหลักร่วมกับผู้วิจัย มีขั้นตอนดังรูปภาพที่ 1 และประเมินแยกระดับ TILs ดังภาคผนวก ข
- การกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านม หมายถึง การกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านมในข้างเดียวกันกับที่วินิจฉัยและบริเวณใกล้เคียง (Locoregional recurrence), การกลับเป็นซ้ำแบบแพร่กระจายไปอวัยวะอื่นๆ (Distant recurrence), การกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านมอีกข้างหนึ่ง (Contralateral second primary invasive cancer)
- การจัดระดับมะเร็งทางพยาธิวิทยาใช้ Elston and Ellis modification of the Scarff-Bloom- Richardson grading system โดยใช้กล้อง กำลังขยาย 0.59 มม ต่อกำลังขยายใหญ่ (high power field-HPF) โดยแบ่งเป็น เกรด 1 เท่ากับ 0-9 mitotic figures/10 HPFs, เกรด 2 ท่ากับ 10-20 mitotic figures/10HPFs, และเกรด 3 มากกว่า 20 mitotic figures/ 10HPFs (12)
- การตรวจวิธีทางอิมมูโนวิทยาของตัวรับสัญญาณเอสโตรเจนใช้ Dako FLEX Monoclonal Rabbit Anti Human Estrogen Receptor α clone EP1 และตัวรับสัญญาณโปรเจสเตอโรนใช้ Dako FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Progesterone Receptor clone

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

PgR 636 โดยใช้ Dako Autostainer (Dako, Glostrup, Denmark) และใช้ protocol ตาม EnVision™ FLEX High pH system พบว่ามีการติดสีด้วยวิธีอิมมูโนวิทยามากกว่าเท่ากับร้อยละ 1 ถือว่าเป็นบวกตาม ASCO/CAP guidelines และการรายงานผลเป็นร้อยละที่ติดสี (10)

- การย้อมเคไอ-67 (Ki-67) ใช้ Dako Monoclonal Mouse Anti-Human Ki67 Antigen Clone MIB-1 โดยใช้ Dako Autostainer (Dako, Glostrup, Denmark) แล้วใช้ protocol ตาม EnVision™ FLEX High pH system โดยรายงานผลเป็นร้อยละที่ติดสี (12)
- ความสามารถในการใช้ชีวิตประจำวันของผู้ป่วยใช้ตาม Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) performance status score โดยแบ่งเป็น 0-5 คะแนนดังต่อไปนี้ (13) (ตารางที่ 2)
- วัยหมดประจำเดือน หมายถึง ผู้หญิงที่มีอายุมากกว่า 60 ปี หรือผู้หญิงที่มีอายุน้อยกว่า 60 ปี แต่ได้ รับการผ่าตัดหรือฉายแสงบริเวณรังไข่ทั้งสองข้าง, หรือผู้ที่ไม่มีประจำเดือนติดต่อกันอย่างน้อย 12 เดือนโดยที่ไม่ได้รับยาต้านฮอร์โมน Tamoxifen, ยาเคมีบำบัดหรือยาที่กดการทำงานของรังไข่ หรือ มีการตรวจเลือดพบระดับฮอร์โมน FSH และ Estradiol อยู่ในระดับที่ชี้บ่งถึงการหมดประจำเดือน

*ตาราง 2 แสดงความสามารถในการใช้ชีวิตประจำวัน **(ECOG Performance Status)** (ดัดแปลงมาจากเอกสารอ้างอิง 13)*

ระดับ	ความสามารถในการใช้ชีวิตประจำวัน
0	ความสามารถปกติ ออกแรงทำงานได้เหมือนก่อนป่วย ไม่มีข้อจำกัด
1	ไม่สามารถทำกิจกรรมที่ออกแรงมากได้ แต่สามารถทำกิจวัตรประจำวันและงานเบาๆ เช่น งานบ้านและงานสำนักงาน
2	สามารถเคลื่อนไหวและช่วยเหลือตัวเองได้ทุกอย่าง แต่ไม่สามารถทำงานได้ ต้องพักบนเตียงหรือนั่งน้อยกว่าร้อยละ 50 ของเวลาตื่น
3	สามารถช่วยเหลือตัวเองได้บางส่วน ไม่สามารถทำงานได้ ต้องพักบนเตียงหรือนั่งมากกว่าร้อยละ 50 ของเวลาตื่น
4	ไร้สมรรถภาพ ไม่สามารถช่วยเหลือตัวเองได้เลย ต้องนั่งหรือนอนบนเตียงตลอดเวลา
5	เสียชีวิต

1.8 ผลหรือประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย

ประโยชน์ที่ได้จากการวิจัยคือเพื่อหาปัจจัยการพยากรณ์โรค และช่วยทำนายโอกาสการกลับเป็นซ้ำของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่มีตัวรับสัญญาณ HER-2 ระยะแรกที่มาจากกลุ่มผู้ป่วยในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์เพื่อสามารถนำไปใช้ในเวชปฏิบัติและใช้เป็นแนวทางในการรักษาผู้ป่วย รวมถึงจัดเก็บข้อมูลของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่มีตัวรับสัญญาณ HER-2 เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการศึกษาวิจัยในอนาคตของ ผู้ป่วยหญิงไทยต่อไป

1.9 อุปสรรคที่อาจเกิดขึ้นระหว่างการวิจัยและมาตรการการแก้ไข

เนื่องจากเป็นการเก็บข้อมูลย้อนหลัง ทำให้ข้อมูลทางคลินิกและทางพยาธิวิทยาบางส่วนที่ทบทวน จากเวชระเบียนเก่า อาจจะไม่ครบถ้วนสมบูรณ์ หรืออาจมีข้อมูลบางส่วนที่ผู้ป่วยได้รับการรักษาจากหลายโรงพยาบาลขาดหายไป แนวทางการแก้ไข คือใช้การสัมภาษณ์ผู้ป่วยเพื่อให้ได้ข้อมูลการรักษาเพิ่มเติมเพื่อให้ได้ข้อมูลที่ครบถ้วนมากที่สุด

ชิ้นเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านมในพาราฟินที่นำมาตรวจเซลล์เม็ดเลือดขาวลิมป์โฟไซต์ (Tumor-infiltrating lymphocytes หรือ TILs ด้วยวิธีการย้อมสีมาตรฐานฮีมาทอกซิลินและอีโอซินที่นำมาตรวจสอบระดับ TILs อาจมีคุณภาพการติดสีทางอิมมูโนวิทยาของชิ้นเนื้อที่จางลงเมื่อเวลาผ่านไป ซึ่งมีผลต่อการรายงานผลและแปลผลดังที่กล่าวมา

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 2
ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

โรคมะเร็งเต้านมเป็นมะเร็งที่พบได้บ่อยทั้งประเทศไทยและทั่วโลก พบมากที่สุดเป็นอันดับหนึ่งใน ผู้หญิงไทย ถือเป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญของไทย โดยอายุเฉลี่ยของผู้ป่วยอยู่ระหว่าง 50-55 ปี แต่เนื่องจากการแพทย์ที่ทันสมัย รวมถึงมีการตรวจคัดกรองที่มีประสิทธิภาพเช่น วิธีแมมโมแกรม (mammogram) โดยแนะนำให้ตรวจที่อายุ 40 ปี ส่งผลให้ตรวจพบผู้ป่วยมะเร็งเต้านมในระยะแรกมากขึ้น มีผลให้อัตราการเสียชีวิตของผู้ป่วยลดลง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในช่วงปลายทศวรรษที่ 20 นี้ มะเร็งเต้านมถือเป็นมะเร็งที่มีความหลากหลายแตกต่างกันในแต่ละชนิด ทั้งอุบัติการณ์ การเกิดโรค ช่วงอายุที่เกิดโรค เชื้อชาติ พันธุกรรม เพราะมีการเปลี่ยนแปลงในระดับโมเลกุลและองค์ประกอบของเซลล์ที่ซับซ้อน ทำให้การดำเนินโรค การพยากรณ์โรค รักษาและผลการตอบสนอง ต่อการรักษาทั้งยาเคมีบำบัดและฮอร์โมน

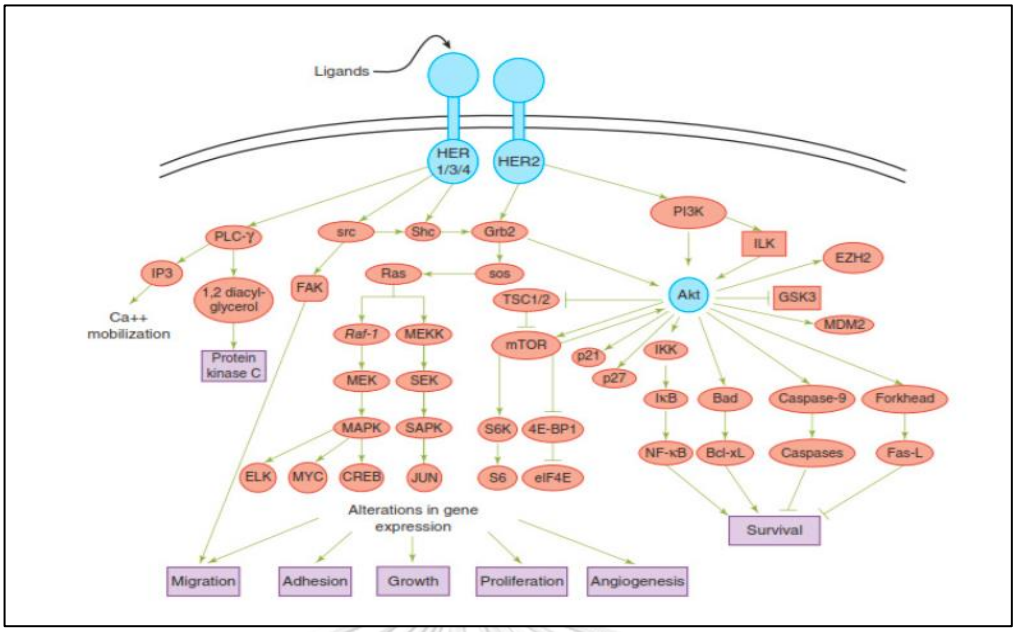
โดยปัจจุบันมีการศึกษาพันธุศาสตร์ระดับโมเลกุลของมะเร็งเต้านม (14) เพื่อจำแนกชนิดของมะเร็ง เต้านม โดยการตรวจชิ้นเนื้อด้วยวิธีไมโครอเรย์ (Microarray) หรือการทำเรียวไทม์พีซีอาเชิงปริมาณ (qRT-PCR) (14-16) วิเคราะห์พันธุศาสตร์ระดับโมเลกุลของมะเร็งเต้านมโดยละเอียดและพบว่าสามารถแบ่งกลุ่มมะเร็งเต้านมได้เป็น 4 กลุ่มย่อยได้แก่ กลุ่มคล้ายลูมินอลเอ (Luminal A-like), กลุ่มคล้ายลูมินอลบี (Luminal B-like), กลุ่มเฮอร์ทูบวก (HER-2 positive), กลุ่มเบซอล (Basal) และในบางการศึกษา (17) พบว่าอาจแบ่งได้ถึง 5 กลุ่มย่อย โดยมีกลุ่มคล้ายนอร์มอล (Normal-like) เพิ่มอีกหนึ่งกลุ่ม ซึ่งการแบ่งกลุ่มดังกล่าวมีผลต่อการ ดำเนินโรค, การพยากรณ์โรค รวมถึงการรักษาที่แตกต่างกันดังกล่าวข้างต้น โดยเฉพาะในกลุ่มเฮอร์ทูบวก คือกลุ่มที่มีตัวรับสัญญาณเฮอร์ทูที่มียามุ่งเป้าออกฤทธิ์ต้านเฮอร์ทูเฉพาะ แต่อย่างไรก็ตามในทางเวชปฏิบัติ ไม่สามารถตรวจทางพันธุศาสตร์ระดับโมเลกุลในผู้ป่วยทุกราย เนื่องจากมีความยุ่งยากในเทคนิคการตรวจ และค่าใช้จ่ายที่สูง ดังนั้นจึงมีวิธีการตรวจย้อมชิ้นเนื้อพยาธิวิทยาพิเศษ Breast marker โดยวิธีทางอิมมูน (Immunohistochemistry) ที่จะสามารถแสดงถึงลักษณะทางพันธุศาสตร์ระดับโมเลกุลได้ อันได้แก่ ตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเอสโตรเจน (Estrogen receptor, ER) หรือตัวรับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (Progesterone, PR) และตัวรับสัญญาณเฮอร์ทู (HER-2) และค่าการแบ่งตัวเคไอ-67 (Ki-67) โดยสามารถแบ่งได้เป็น 4 กลุ่มตาม St Gallen concensus 2013 (1)ได้แก่ กลุ่มคล้ายลูมินอลเอ (Luminal A-like), กลุ่มคล้ายลูมินอลบี (Luminal B-like), กลุ่มเฮอร์ทูบวก (HER-2 positive) และกลุ่มทริปเปิลเนกาทีฟ (Triple negative) (ดังตารางที่ 1) แม้ว่าข้อมูลทางคลินิกและพยาธิวิทยา เมื่อเปรียบเทียบกับข้อมูลทางพันธุศาสตร์ระดับโมเลกุล อาจจะมีบางส่วนแตกต่างกัน แต่ยังสามารถ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

จำแนกการดำเนินโรค, การพยากรณ์โรคและการรักษา ของแต่ละกลุ่มได้เช่นเดียวกัน โดยกลุ่มคล้ายลูมินอลเอ (Luminal A-like) คือกลุ่มที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นบวก (ตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเอสโตรเจนเป็นบวกและ/หรือตัวรับสัญญาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนเป็นบวก) โดยที่ไม่มีตัวรับสัญญาณ HER-2 และมีการแบ่งตัวของเซลล์มะเร็งช้าโดยดูจากค่าเคไอ-67 ต้องน้อยกว่าร้อยละ 14 และกลุ่มคล้ายลูมินอลบี (Luminal B-like) เฉพาะในกลุ่มที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเป็นบวก โดยไม่มีตัวรับสัญญาณ HER-2 แต่มีการแบ่งตัวของเซลล์มะเร็งเร็วโดยค่าเคไอ-67 มากกว่าเท่ากับร้อยละ 14 ซึ่งในทั้งสองกลุ่มนี้มีพยากรณ์โรคที่ดี มีโอกาสปลอดจากโรคและโอกาสหายขาดจากโรคที่ 10 ปีถึงร้อยละ 60 และ 75 ตามลำดับ หลังการรักษาหลัก แต่ถ้าผู้ป่วยกลุ่มนี้ได้รับการรักษาเสริม (Adjuvant therapy) ด้วยยาต้านฮอร์โมน พบว่าผู้ป่วยจะมีโอกาสปลอดจากโรคและโอกาสหายขาดจากโรคที่ 10 ปี เพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 74 และ 82 ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกับอีก 2 กลุ่มได้แก่ กลุ่มเฮอร์ทู บวก (HER-2 positive) มีตัวรับสัญญาณ HER-2 และกลุ่มทริปเปิลเนกาทีฟ (Triple negative) คือ ตัวรับสัญญาณฮอร์โมนและHER-2 เป็นลบ ซึ่ง 2 กลุ่มนี้มีการดำเนินโรคและการพยากรณ์โรคที่รุนแรงและไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยฮอร์โมน

กลุ่มที่มีตัวรับสัญญาณ HER-2 พบได้ประมาณร้อยละ 20-25 ของมะเร็งเต้านมทั้งหมด HER-2 (Human epidermal growth factor receptor-2) หรือ “neu หรือ c-erbB-2” เป็นหนึ่งในสมาชิกของ Epidermal growth factor receptor (EGFR) ที่ถูก encoded โดย HER-2 gene ซึ่งเป็น proto-oncogene ที่อยู่บน chromosome 17q21 โดยหลังจากที่ extracellular domain ของ HER-2 ได้รับการจับแล้วจะทำให้เกิด กระบวนการ Dimerization และ Phosphorylation ส่งผลให้มีการกระตุ้นของ downstream pathway ทำให้เกิด cell proliferation, survival, differentiation, angiogenesis, invasion และ metastasis ดังรูปที่ 2

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University



รูปภาพ 2 แสดง HER signaling pathway (ดัดแปลงจากเอกสาร (18))

พบว่าผู้ป่วยกลุ่มนี้มีโอกาสเกิดการกลับเป็นซ้ำของโรคสูงกว่ากลุ่มที่ไม่มีตัวรับสัญญาณ HER-2 โดยการมี HER-2 overexpression ถือเป็นทั้ง predictive และ prognosis factor ในผู้ป่วยกลุ่มนี้จึงมีการใช้ยามุ่งเป้า (Targeted therapy) ที่ออกฤทธิ์จำเพาะกับ HER-2 (anti-HER-2 therapy) เช่น Trastuzumab (Herceptin^{R}), Pertuzumab, Lapatinib และ TDM1 ซึ่งถือเป็นยาที่เปลี่ยนโฉมการรักษามะเร็งเต้านมจาก Conventional cytotoxic chemotherapy มาเป็นการใช้ Target therapy ต่อความผิดปกติที่จำเพาะต่อเซลล์มะเร็ง ซึ่งปัจจุบัน ยากลุ่มนี้ถือเป็นยามาตรฐานสำหรับการรักษาผู้ป่วยมะเร็งเต้านมทุกรายที่พบ HER-2 overexpression

จากการศึกษา HERA trial (19) (HERceptin Adjuvant) ซึ่งเป็น RCT double blind phase 3 ที่เริ่มศึกษา ในเดือนธันวาคม 2544 โดยมีผู้ป่วยที่เป็นโรคมะเร็งเต้านมที่มีตัวรับสัญญาณ HER-2 ระยะแรกประมาณ 5,102 คนใน 480 พื้นที่จาก 39 ประเทศทั่วโลก เปรียบเทียบการใช้ยา Trastuzumab ควบคู่ไปกับการสังเกตการณ์หลังการให้การรักษาเสริมด้วยเคมีบำบัด (Adjuvant Chemotherapy) ในเบื้องต้น โดยเคมีบำบัดใช้ก่อนหรือหลังการผ่าตัด ใช้ยาเคมีบำบัดสูตร Anthracycline+-Taxanes และการใช้รังสีรักษา (ถ้าเห็นว่าเหมาะสม) เป็นเวลา 12-24 เดือน ในการศึกษานี้มีลักษณะของผู้ป่วยที่ไม่มีการลุกลามไปที่ต่อมน้ำเหลืองคิดเป็นร้อยละ 33 โดย ผลการศึกษาจากข้อมูลล่าสุดพบว่าเมื่อติดตามผู้ป่วยที่ระยะเวลาเฉลี่ย 11 ปี (ปี 2558) การให้ยา Trastuzumab เป็นระยะเวลา 1 ปี สามารถลดอัตราการกลับเป็นซ้ำร้อยละ 24 และลดอัตราการเสียชีวิตของ โรคอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติได้ถึงร้อยละ 24 ที่ระยะเวลา 8 ปี เช่นเดียวกัน และเมื่อ

นำมาเปรียบเทียบกับการให้ยา Trastuzumab เป็นระยะเวลา 2 ปี พบว่าอัตราการกลับเป็นซ้ำและอัตราการเสียชีวิตไม่แตกต่างกันกับการให้ยา Trastuzumab เป็นระยะเวลา 1 ปี นอกจากนี้จากการศึกษา Joint analysis ซึ่งเป็นการรวมข้อมูลของ 2 การศึกษาเข้าด้วยกัน ประกอบด้วย NCCTG N9831 และ NSABP-31 trial (20) จำนวนผู้ป่วยทั้งหมด ประมาณ 5500 คน โดยศึกษาเปรียบเทียบการรักษาผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่มีตัวรับสัญญาณ HER-2 ระหว่าง การให้ยาเคมีบำบัดสูตร Doxorubicin, Cyclophosphamide และPaclitaxel (ACT) กับการใช้ยาเคมีบำบัดสูตร ACT เพิ่มเติมด้วย Trastuzumab ทุกสัปดาห์เป็นเวลา 1 ปี (ACTH) ผลการศึกษาจากข้อมูลล่าสุดพบว่าเมื่อติดตามผู้ป่วยที่ระยะเวลาเฉลี่ย 10 ปี การใช้ยา Trastuzumab สามารถลดอัตราการกลับเป็นซ้ำของโรคที่ระยะเวลา 8.4 ปี ได้ถึงร้อยละ 40 และสามารถลดอัตราการเสียชีวิตได้ถึงร้อยละ 37 เช่นเดียวกัน โดยประโยชน์ที่ได้ไม่ขึ้นกับอายุ การแสดงออกของตัวรับสัญญาณฮอร์โมน และการกระจายหรือไม่กระจายไป ยังต่อมน้ำเหลือง จากการศึกษา BCIRG 006 (21) พบว่ากลุ่มผู้ป่วยที่ได้ยา Trastuzumab เป็นการรักษาเสริม ไม่ว่าจะใช้ร่วมกับสูตรยาเคมีบำบัดที่มีหรือไม่มียากลุ่ม Antracyclines เป็นส่วนประกอบ โดยหลังจากติดตามผลการรักษา 36 เดือน ยา Trastuzumab สามารถลดอัตราการกลับเป็นซ้ำและลดอัตราการเสียชีวิตของผู้ป่วยได้เพิ่มขึ้นประมาณร้อยละ 6 เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้ยา นอกจากนี้ยังมีการศึกษา FinHER (22) ได้ศึกษาการใช้ยา Trastuzumab เป็นเวลา 9 สัปดาห์ ร่วมกับการให้ยาเคมีบำบัด Docetaxel หรือ Vinorelbine ติดตามด้วยยา FEC จำนวน 3 รอบโดยไม่มี Trastuzumab ในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะแรกที่มีตัวรับสัญญาณ HER-2 ทั้งที่มีและไม่มีการกระจายไปยังต่อมน้ำเหลือง จากการติดตามเป็นเวลา 36 เดือน พบว่าผู้ป่วยในกลุ่มที่ได้รับยา Trastuzumab มีอัตราการอยู่รอดโดยปราศจากโรคดีขึ้นกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับยาอย่างมีนัยสำคัญ (ร้อยละ 89 และ 78 ตามลำดับ) แต่ไม่มีความแตกต่างของอัตราการเสียชีวิต จากการศึกษาที่กล่าวมาทั้งหมด International guidelines ได้แก่ NCCN (National Comprehensive Cancer Network) หรือเครือข่ายมะเร็งแห่งชาติของอเมริกาและ ESMO (European Society for Medical Oncology) หรือสมาคมมะเร็งวิทยาแห่งยุโรปจึงแนะนำให้ยา Trastuzumab ในผู้ป่วยผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่มีตัวรับสัญญาณ HER-2 ระยะแรกที่มีการลุกลามไปที่ต่อมน้ำเหลืองและในผู้ป่วยที่มีขนาดของก้อนมะเร็งเต้านมที่มากกว่า 1 cm แม้จะยังไม่มีการลุกลามไปที่ต่อมน้ำเหลืองก็ตาม ถือเป็นคำแนะนำระดับ category 1 และอาจจะพิจารณาให้ยา Trastuzumab ในกลุ่มที่มีขนาดของก้อนมะเร็งเต้านมที่น้อยกว่า 1 cm และยังไม่มีการลุกลามไปที่ต่อมน้ำเหลือง (23) เช่นกัน แต่เป็นคำแนะนำระดับ category 2A แต่ในประเทศไทยเนื่องจาก Trastuzumab เป็นยาที่มีราคาแพงทำให้มีข้อจำกัดในการรักษาผู้ป่วยในกลุ่มนี้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งผู้ป่วยที่มีสิทธิการรักษาตามหลักประกันสุขภาพถ้วนหน้าจะใช้ยานี้ได้เฉพาะในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะแรกที่ได้รับการผ่าตัดก้อนมะเร็งออกได้หมดด้วย curative breast surgery และผลการตรวจทางพยาธิวิทยาพบว่ามีการแพร่กระจายไปที่

ต่อมน้ำเหลืองเท่านั้น ทำให้ในปัจจุบันมีความพยายามในการหาปัจจัยพยากรณ์โรค ในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมกลุ่ม HER-2 เพื่อเป็นแนวทางการดูแลผู้ป่วยได้ดีขึ้น มีหลายการศึกษาพบว่าระดับปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวลิมป์โฟไซต์ (Tumor-infiltrating lymphocytes; TILs) ที่อยู่บนของเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านม ถือเป็นอีก Biomarker หนึ่งที่มีบทบาทสำคัญในมะเร็งเต้านมโดยสามารถพบ TILs ในทุก subtype ของมะเร็งเต้านม แต่พบว่า TILs ถือเป็น prognostic value ในกลุ่มที่มีการดำเนินโรครุนแรงและมีการแบ่งตัวของเซลล์มะเร็งเร็ว คือกลุ่ม HER-2 positive และกลุ่ม Triple negative (6)

โดยทั่วไปแล้วระบบภูมิคุ้มกัน (Immune system) แบ่งเป็น ภูมิคุ้มกันสืบทอด (Innate immunity) และภูมิคุ้มกันได้มา (Adaptive immunity)

- Innate immunity เป็นภูมิคุ้มกันชนิดไม่มีความจำเพาะ (Non-specific) กับเชื้อโรคชนิดใดชนิดหนึ่ง เป็นกลไกโดยทั่วไปของร่างกายในการป้องกันอันตรายให้กับร่างกาย เช่น ผิวหนัง ชั้นเยื่อเมือกตามอวัยวะ ต่างๆ รวมทั้งการทำงานของเซลล์เม็ดเลือดขาวที่ทำลายสิ่งแปลกปลอมที่เข้ามาในร่างกายด้วยขบวนการ เก็บกินเชื้อโรค (Phagocytosis) และปฏิกิริยาการอักเสบ (Inflammation) โดยเซลล์เม็ดเลือดขาว ได้แก่ Dendritic cell, Natural killer cell, Macrophage, Neutrophil, Basophil, Eosinophil และ Mast cell เป็นต้น และทำหน้าที่กระตุ้นการเกิด Adaptive immune response

- Adaptive immunity เป็นภมิคุ้มกันชนิดที่มีความจำเพาะ (Specific) มากกว่า innate immunity เป็นระบบภูมิคุ้มกันที่ร่างกายสร้างขึ้นมาใหม่เพื่อทำลายแอนติเจนหรือเชื้อโรคอย่างจำเพาะเจาะจงเพียงแอนติเจนชนิดเดียวเท่านั้น โดยภูมิคุ้มกันที่สร้างขึ้นมานี้จะเกิดปฏิกิริยาที่เยื้อหุ้มเซลล์ของเซลล์ที่เข้ามาในร่างกาย อาจทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ฉีกขาดและเซลล์ทำงานได้น้อยลง แอนติเจนที่เคยเข้ามาในร่างกายแล้วครั้งหนึ่งจะถูกจดจำและบันทึกในความทรงจำไว้ (Immunological memory) หากแอนติเจนชนิดเดียวกันนี้เข้ามาอีก ภูมิคุ้มกันที่ตอบสนองต่อแอนติเจนนั้นจะตอบสนองได้อย่างรวดเร็ว สามารถแบ่งภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะนี้ออกเป็น 2 ชนิดคือภูมิคุ้มกันแบบพึ่งเซลล์ (Cell-mediated immune response; CMIR) และภูมิคุ้มกันแบบพึ่งแอนติบอดี้หรือใช้สารน้ำ (Antibody or Humoral immune response; HIR)

- Cell-mediated immune response เป็นภูมิคุ้มกันที่เกิดจากการทำหน้าที่ของเซลล์จำเพาะ ได้แก่ เซลล์เม็ดเลือดขาวพวกทีลิมป์โฟไซต์หรือทีเซลล์ (T lymphocyte or T cell) ที่เป็นกลุ่มเซลล์ที่สร้างและพัฒนาจากต่อมไทมัส ทีเซลล์ที่สร้างจากต่อมไทมัสจะถูกปล่อยออกมาในกระแสเลือดเพื่อเข้าไปเจริญเติบโตในต่อมน้ำเหลืองและม้ามต่อไป ทีเซลล์แต่ละเซลล์จะสร้างตัวรับรู้แอนติเจนแบบจำเพาะบนเยื่อหุ้มเซลล์ของมัน โดยตัวรับรู้เหล่านี้จะมีลักษณะจำเพาะต่อแอนติเจนชนิดเดียวเท่านั้น โดยทั่วไปก่อนที่เซลล์แอนติเจนหรือเซลล์

แปลกปลอมจะเกาะจับกับทีเซลล์ เซลล์เหล่านี้มักถูกเก็บกินด้วยเซลล์แมคโครฟาจ (Macrophage cell) ซึ่งเซลล์แอนติเจนดังกล่าวส่วนใหญ่จะเป็นเซลล์ของเชื้อไวรัสหรือเซลล์มะเร็ง เมื่อทีเซลล์มาเกาะกับแอนติเจนที่ตัวรับจำเพาะบนผิวของเซลล์แล้ว มันจะเปลี่ยนแปลงเป็นทีเซลล์ที่ทำงานได้ดี จากนั้นจะแบ่งเซลล์แบบไมโตซีสเพื่อเพิ่มจำนวนทีเซลล์ให้ได้มากขึ้น ทีเซลล์ที่ได้จากการแบ่งตัวจะเคลื่อนที่ไปยังตำแหน่งที่แอนติเจนเข้ามาในร่างกาย เพื่อที่จะต่อสู้กับแอนติเจนชนิดเดียวกันกับแอนติเจนที่เคยได้รับ สำหรับทีเซลล์ที่ทำงานได้ดีในร่างกายได้แก่ CD8+ cytotoxic T lymphocyte หรือ Natural killer cell; NK cells ทำหน้าที่ เกาะจับกับแอนติเจนและทำลายแอนติเจน แต่จะไม่ทำลายเซลล์พวกเดียวกัน, CD4+ helper T lymphocyte เซลล์ชนิดนี้จะตอบสนองภูมิคุ้มกันของร่างกายด้วยการหลั่ง สารลิมโฟไคน์ (Lymphokines) หรือไซโทไคน์ (Cytokines) เข้าไปยังเนื้อเยื่อที่อยู่รอบๆ สารแต่ละชนิดจะ ทำหน้าที่แตกต่างกันไป เช่น ลิมโฟไคน์บางชนิดจะช่วยเพิ่มการทำงานของบีลิมป์โฟไซต์ หรือบีเซลล์ (B lymphocyte or B cell) ช่วยเพิ่มการทำงานของ CD8+ cytotoxic T lymphocyte หรือช่วยการทำงานของ Suppressor T lymphocyte ซึ่งเป็นเซลล์ที่ยับยั้งการทำหน้าที่ของ CD8+ cytotoxic T lymphocyte โดยปฏิกิริยาย้อนกลับ Suppressor T cell จะช่วยป้องกันไม่ให้ B lymphocyte เปลี่ยนเป็นพลาสมาเซลล์ (Plasma cell) ซึ่งการทำงานที่ตรงข้ามกันของเซลล์ชนิดนี้ จะช่วยควบคุมระดับการตอบสนองภูมิคุ้มกันแบบพึ่งเซลล์และภูมิคุ้มกันแบบพึ่งแอนติบอดี้ของร่างกายให้อยู่ในระดับที่สมดุล และหากเซลล์เม็ดเลือดขาวของ Adaptive immune response เหล่านี้ ไป accumulate ที่ Tumor cell จะเรียกว่า “Tumor-infiltrating lymphocytes; TILs”

- Antibody or Humoral immune response ได้แก่ ได้แก่ พลาสม่าเซลล์ (Plasma cell), แอนติบอดี หรืออิมมูโนโกลบูลิน (Antibody or immunoglobulin) และเซลล์ความจำ (Memory cell)

ระบบภูมิคุ้มกัน (Immune system) ทำหน้าที่ป้องกันการเกิดโรคมะเร็ง สามารถตรวจจับและทำลาย เซลล์มะเร็งจากการแสดงออกของแอนติเจนซึ่งแตกต่างจากเซลล์ปกติอื่นในร่างกาย ภูมิต้านทานต่อต้าน เซลล์มะเร็งนี้เรียกว่า “Cancer immunoediting” ซึ่งกระบวนการนี้จัดเป็นกลไกหลักในการควบคุม เซลล์มะเร็งของร่างกาย (23)

การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันต่อเซลล์มะเร็งสามารถแบ่งได้เป็น 3 ระยะคือ

1. ระยะ Elimination เป็นระยะที่ระบบภูมิคุ้มกันทั้ง Innate และadaptive immunity ทำงานร่วมกัน เพื่อตรวจจับและทำลายเซลล์มะเร็งที่กำลังก่อตัวขึ้นก่อนที่จะพัฒนากลายเป็นมะเร็ง โดยใน ระยะ Elimination นี้การทำลายนั้นเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์
2. ระยะ Equilibrium เป็นระยะที่ระบบภูมิคุ้มกันรักษาสภาวะสมดุล ในบางกรณีที่เซลล์มะเร็ง ไม่ถูกทำลายอย่างสมบูรณ์ แต่ระบบภูมิคุ้มกันสามารถรักษาสภาวะสมดุล ทำให้เซลล์มะเร็ง ที่ยังมีชีวิตอยู่ไม่สามารถเจริญเติบโตจนกลายเป็นก้อนมะเร็งได้
3. ระยะ Escape เป็นระยะที่เซลล์มะเร็งมีการปรับตัว กดการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน หรือมีการ เสื่อมถอยของระบบภูมิคุ้มกันตามธรรมชาติ ทำให้เซลล์มะเร็งสามารถหลบหนีการทำลาย และลุกลามมากขึ้นเป็นมะเร็งในที่สุด (24)

แม้ว่าระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายจะสามารถสังเกตความแตกต่างของโครงสร้างโปรตีนในระดับอะตอมและมีการผลิต T cell ที่มีความจำเพาะเจาะจงกับแอนติเจนบนเซลล์มะเร็ง อย่างไรก็ตามเซลล์มะเร็งสามารถหลบหนีการรับรู้และการทำงานของเซลล์ภูมิคุ้มกันได้ โดยกลไกอย่างหนึ่งคือการเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะไม่ตอบสนองต่อแอนติเจน (induction of tolerance) เนื่องจากเซลล์มะเร็งนั้นมีกลายพันธุ์มาจากเซลล์ปกติในร่างกาย ทำให้มีการแสดงออกของแอนติเจนจำนวนมากที่ไม่แตกต่างจากเซลล์ปกติ มีผลให้เซลล์ภูมิคุ้มกันไม่ตอบสนองต่อแอนติเจนเหล่านั้น (25) นอกจากนี้เซลล์มะเร็งและเซลล์แวดล้อมในก้อนมะเร็ง (Tumor microenvironment) มีการพัฒนากลไกความต้านทานอื่นหลายอย่างในการหลบหนีการทำงานของระบบ ภูมิคุ้มกัน ได้แก่

- การหลั่งสาร cytokines หลากหลายชนิดที่มีฤทธิ์กดการทำงานของ Effector T cell เช่น interleukin (IL)-4, IL-10 (26), IL-13 และ transforming growth factor beta1 (TGF-β1) (27)

- การหลบหนีการตรวจจับของ T cell ด้วยการลดการแสดงออกของแอนติเจนและโปรตีน human leukocyte antigen (HLA) ซึ่งใช้ในการนำเสนอแอนติเจนให้กับ T cell (28)

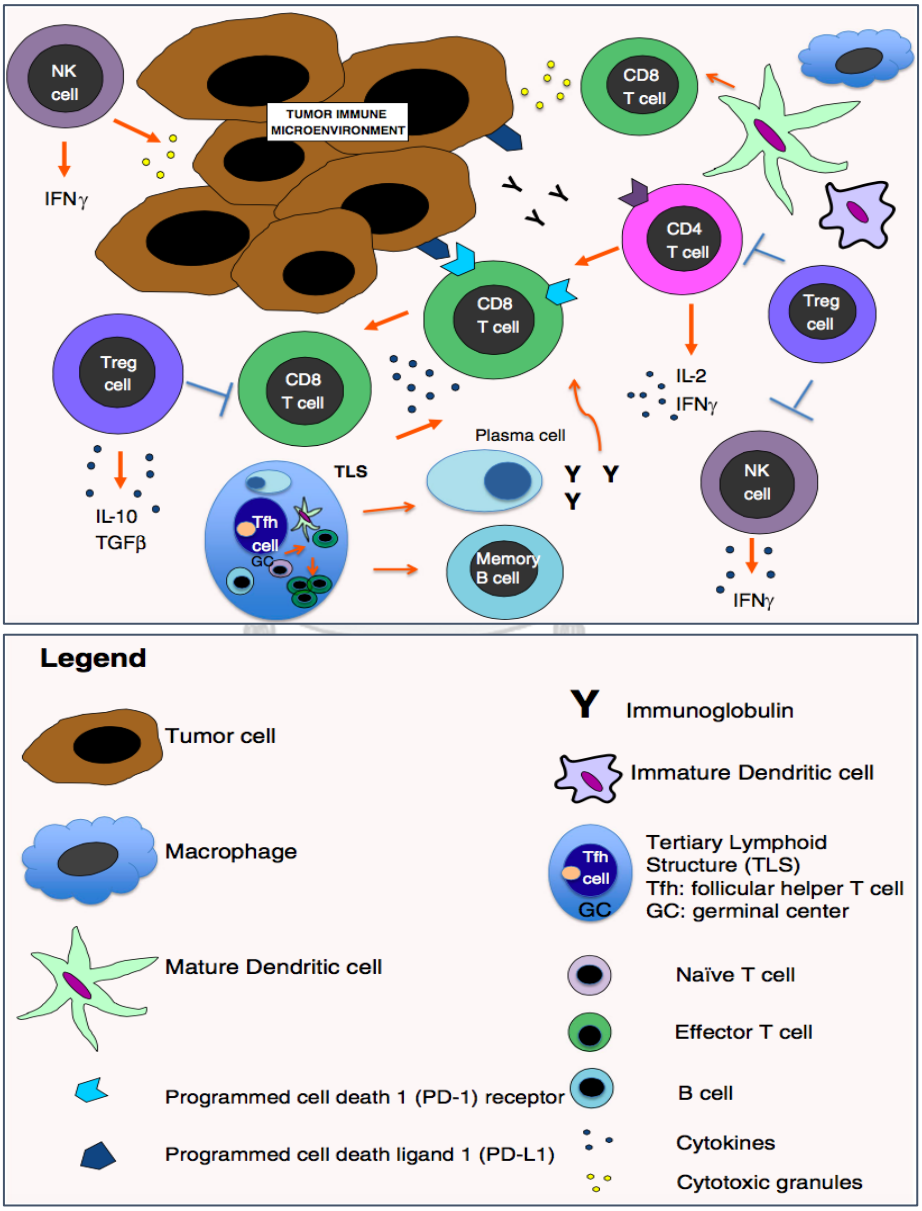
- การเพิ่มจำนวนของเซลล์ควบคุมภูมิคุ้มกัน ได้แก่ regulatory T cell (Tregs) และmyeloid derived suppressive cell (MDSC) ซึ่งส่งสัญญาณกดการทำงานของ T cell (29, 30)

- เซลล์มะเร็งมีการแสดงออกของโปรตีนซึ่งทำหน้าที่ยับยั้งการแบ่งตัว (proliferation) ของ T cell และเหนี่ยวนำให้ T cell เกิดการตายแบบ apoptosis (31)

- เซลล์มะเร็งมีการแสดงออกของโปรตีนได้แก่ PD-L1 (Programmed death 1 ligand) ซึ่งจับกับตัวรับ PD-1 (Programmed death 1) บน T cell ทำให้เกิดการส่งสัญญาณยับยั้งการทำงานของ T cell โดยปกติตัวรับ PD-1 ร่วมกับตัวรับ CTLA-4 (Cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4) ทำหน้าที่เป็น immune checkpoint มีบทบาทสำคัญในการลดการกระตุ้น T cell โดยจะช่วยป้องกันภาวะภูมิแพ้ตนเองหรือ autoimmunity อย่างไรก็ตาม ในกรณีเซลล์มะเร็ง การกระตุ้นกลไกนี้ทำให้ยับยั้งการทำงานของ T cell ส่งผล ให้ไม่เกิดการตอบสนองและทำลายเซลล์มะเร็ง

ถึงแม้ว่า T cell จะสามารถจดจำเซลล์มะเร็งนั้นได้ (32) ในปัจจุบันจึงมีการพัฒนายากลุ่ม Monoclonal antibody จะเป็นตัวยับยั้งการจับกันของ PD-1 และ PD-L1 มีผลทำให้ T cell ทำงานได้ตามปกติ

ส่วนประกอบของเซลล์ภูมิคุ้มกันในสภาวะแวดล้อมของเซลล์มะเร็ง (Tumor microenvironment) มีความหลากหลายและประกอบด้วยเซลล์เม็ดเลือดขาวหลายชนิดได้แก่ เซลล์เม็ดเลือดขาว T lymphocytes, B lymphocytes, Natural killer cells(NK), Macrophage cells และ Dendritic cells ในสัดส่วนที่แตกต่างกัน โดยพบปริมาณ T lymphocytes มากที่สุด ดังรูปที่ 2



รูปภาพ 3 แสดง Tumor immune microenvironment (ดัดแปลงจากเอกสารหมายเลข 36)

Gu-Trantien และคณะ (33)ได้ทำการศึกษาเซลล์ภูมิคุ้มกันในชิ้นเนื้อมะเร็งเต้านมที่โดยใช้วิธี Flow cytometry และ Microarray พบว่ามีปริมาณ T lymphocytes 75% ใน TILs, B lymphocytes น้อยกว่า 20%, Monocytes/macrophage cells น้อยกว่า 10% และNatural killer cells น้อยกว่า 5% โดยปกติแล้ว T cells ทำหน้าที่กำจัดสิ่งแปลกปลอมหรือจุลชีพต่างๆ แบ่งเป็น CD8+T lymphocytes ซึ่งมีแอนติเจนชนิด CD8 บนผนังเซลล์ และเป็นเซลล์ component หลักของ TILs ทำหน้าที่ทำลายกำจัดเซลล์มะเร็ง โดยอาศัยการส่งสัญญาณของ helper T-cells หรือ CD4+ T lymphocytes โดยร่างกายจะจดจำเซลล์โดยการจับกันกับ MHC Class I + peptide ทำให้สามารถจดจำแอนติเจนที่เคยเข้าสู่ร่างกายมาแล้ว ส่วน Helper T-cell หรือ CD4+lymphocytes เป็นเซลล์เม็ดเลือดขาวที่มีแอนติเจนชนิด CD4 บนผนังเซลล์ เป็นเซลล์ที่ช่วยตรวจตราหาสิ่งแปลกปลอมและส่งสัญญาณให้เซลล์อื่นบนระบบภูมิคุ้มกันรับรู้ว่ามีสิ่งแปลกปลอมเข้ามาซึ่งแบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ Th1 ซึ่งจะผลิต Interferon-gamma เพื่อกระตุ้นการทำงานของ macrophages และB cells ทำให้เกิดการตอบสนองของ CMIR และ Th2 จะหลั่ง IL-4 เพื่อไปกระตุ้นการทำงานของ B cells ให้ผลิต Antibody ที่ไม่ได้ทำหน้าทีในการทำลายเซลล์ เป็นการตอบสนองแบบ HIR ดังที่กล่างไปข้างต้น โดยมี หลายการศึกษาพบว่า CD8+ TILs ที่ตรวจพบด้วยวิธีย้อม immunohistochemistry บน tissue Microarray (TMA) มีความสัมพันธ์กับผลการรักษาที่ดีในมะเร็งเต้านม (34)

โดยปกติสามารถพบ TILs ทั้งในส่วนของ intratumoral และ stroma ของมะเร็ง สามารถส่งตรวจจากชิ้นเนื้อนำไปย้อม Hematoxylin และ Eosin (H&E) โดย intratumoral TILs เป็นเซลล์ที่อยู่ติดกับเซลล์มะเร็ง (cell-to-cell contact) ส่วน stromal TILs เป็นเซลล์ที่อยู่รอบๆบริเวณเนื้อเยื่อประสานแวดล้อมที่อยู่ ข้างเคียงกับเซลล์มะเร็ง ทำให้การประเมิน intratumoral TILs ทำได้ยากกว่า stromal TILs International TILs Working Group 2014 (11) ได้กำหนดค่ามาตรฐานในการประเมินระดับปริมาณ TILs เป็นข้อมูลเชิงปริมาณต่อเนื่อง (Continuous data) โดยสัดส่วนเป็น area occupied by TILs ต่อพื้นที่ของ stromal area ทั้งหมด โดยมะเร็งที่มีปริมาณ TILs มากกว่าร้อยละ 50 จะถือว่าเป็น Lymphocyte predominant breast cancer (LPBC) ซึ่งเป็นกลุ่มที่มีพยากรณ์โรคดีที่สุด

TILs score สามารถแบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม (11) ได้แก่

- Low คือปริมาณของ Stromal TILs น้อยกว่าร้อยละ 10 ของพื้นที่ทั้งหมด
- Intermediate คือปริมาณของ Stromal TILs ร้อยละ 10-50
- High หรือ LPBC คือปริมาณของ Stromal TILs มากกว่าร้อยละ 50

การศึกษาก่อนหน้านี้พบว่าการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายต่อเซลล์มะเร็ง รวมถึง TIL จะมีมากในกลุ่ม Triple negative, HER2-positive breast cancer, High grade

(Grade III), High Ki67 expression ซึ่งเป็นกลุ่มที่อัตราการแพร่กระจายของมะเร็งสูงและอัตราการรอดชีวิตต่ำเมื่อเทียบกับ Luminal A (35-38)

Liu และคณะ (34) ได้ศึกษาผู้ป่วยมะเร็งเต้านมจำนวน 3403 คน ติดตามการรักษาในระยะยาว พบว่า CD8+ TILs มีความสัมพันธ์กับกลุ่มมะเร็งเต้านมที่มีการแบ่งตัวเร็ว, ไม่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมน Estrogen, มีตัวรับสัญญาณ HER-2 และเป็นกลุ่ม triple negative โดยในกลุ่ม triple negativeพบว่า CD8+ TILs เป็น independent favorable prognostic indicator ช่วยเพิ่มอัตราการรอดชีวิต โดยมี Hazard ratio (HR) 0.35 ; 95% CI 0.23-0.54) เช่นเดียวกับ Mahmoud และคณะ (39) ได้ทำการศึกษาผู้ป่วยมะเร็งเต้านมจำนวน 1334 คน ซึ่งเมื่อติดตามผู้ป่วยในระยะยาว พบว่า CD8+ TILs มีความสัมพันธ์กับผลการรักษาที่ดีอย่างมีนัยสำคัญ โดยเฉพาะกลุ่มผู้ป่วยที่อายุน้อย, เนื้อเยื่อมะเร็งมีการแบ่งตัวเร็วและไม่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมน โดยมีค่า p value < 0.001 และระดับ TILs ที่มีการเพิ่มขึ้นมีความสัมพันธ์กับผลการรักษาที่ดีอย่างมีนัยสำคัญกับอัตราการรอดชีวิตที่เพิ่มขึ้นของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมโดยมีค่า p value = 0.001

Loi และคณะทำการศึกษา BIG 02-98 (8) ซึ่งเป็นศึกษา Randomized control trial phase 3 โดย เปรียบเทียบการรักษาระหว่าง Adjuvant chemotherapy สูตรยา Doxorubicin-based กับการใช้ Doxorubicin-based เพิ่มเติมด้วย Docetaxel ในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะแรกที่มีการลุกลามไปต่อมน้ำเหลืองทั้งหมด 2887 คน โดยมีผู้ป่วยกลุ่มที่มีตัวรับสัญญาณHER-2 จำนวน 297 คน พบว่าระดับ Stromal TILs มีความสัมพันธ์กับระยะเวลาปลอดจากโรค (p = 0.042) และอัตราการรอดชีวิตที่เพิ่มขึ้น (p = 0.018) ในผู้ป่วยที่ได้รับยาเคมีบำบัดกลุ่ม Anthracycline อย่างมีนัยสำคัญ แต่อย่างไรก็ตามในการศึกษานี้ผู้ป่วยไม่ได้รับยา Trastuzumab เนื่องจากในขณะนั้นยังไม่ได้เป็น standard of care

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ต่อมามีการศึกษา FinHER (22) ซึ่งทำการศึกษาผู้ป่วยกลุ่ม triple negativeจำนวน 134 คน และกลุ่มที่มีตัวรับสัญญาณHER-2 จำนวน 209 คนที่ได้รับการรักษาด้วยยา Trastuzumab ผลการศึกษาพบว่าทุกร้อยละ 10 ของระดับ TILs ที่เพิ่มขึ้น สามารถลดอัตราการกลับเป็นซ้ำของโรคได้ถึงร้อยละ18 (p = 0.025) นอกจากนี้ Dieci และคณะ (40) ได้ทำการศึกษาระดับ TILs ในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมทั้งหมดจำนวน 816 คน ที่ได้รับการรักษาเสริมด้วยยาเคมีบำบัดสูตร Antracyclines based เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับการรักษาเสริมด้วยยาเคมีบำบัด โดยมีผู้ป่วยที่มีตัวรับสัญญาณ HER-2 จำนวน 112 คน โดยจากการวิเคราะห์ด้วยวิธี Multivariate พบว่า ทุกร้อยละ 10 ของระดับ intratumoral และ stromal TILs ที่เพิ่มขึ้นสามารถเพิ่มอัตราการรอดชีวิตได้ร้อยละ 11 (p = 0.005) และในการศึกษา N 9831 ซึ่งจัดทำโดย Perez และคณะ (20) มีการศึกษาเพิ่มเติมในเรื่องความสัมพันธ์ของระดับ Stromal TILs กับระยะเวลาการปลอดจากโรคในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่มีตัวรับสัญญาณHER-2 จำนวน 3505 คน ที่ได้รับการรักษาเสริมด้วยยาเคมีบำบัดสูตร Doxorubicin,

Cyclophosphamide และPaclitaxel (ACT) กับการใช้ยาเคมีบำบัดสูตร ACT เพิ่มเติมด้วย Trastuzumab ทุกสัปดาห์เป็นเวลา 1 ปี (ACTH) โดยการศึกษานี้ประเมินระดับ Stromal TILs ด้วยการย้อมสีมาตรฐานฮีมาทอกซิลินและอีโอซิน ใช้ระดับ TILs เป็น continuous data ตั้งแต่ 0-100% ในการศึกษานี้ให้คำนิยามของ LPBC ที่มีระดับปริมาณ Stromal TILs ที่มากกว่าหรือเท่ากับ 60% พบว่า ผู้ป่วยส่วนใหญ่เกือบร้อยละ 60 มีปริมาณ Stromal TILs อยู่ระหว่าง 0 ถึง 19% มีเพียงร้อยละ10 ของผู้ป่วยที่เป็น LPBC และผลการศึกษาพบว่าในกลุ่มผู้ป่วยที่เป็น LPBC มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับระยะเวลาการปลอดจากโรคที่เพิ่มขึ้นในกลุ่มผู้ป่วยที่ไม่ได้การรักษาเสริมด้วยยา Trastuzumab

Roberto และคณะ (41) ได้ทำการศึกษา NeoALTTO trial ซึ่งเป็นศึกษา Randomized control trial ศึกษาในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมกลุ่มที่มีตัวรับสัญญาณHER-2 455 คน ระหว่างปี 2008-2010 เพื่อดูความสัมพันธ์ของระดับ TILs กับการที่ก้อนมะเร็งมีการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบสมบูรณ์ (Pathological complete response, pCR) ต่อการรักษาซึ่งถือเป็นผลลัพธ์ที่ใช้เป็นตัวแทน (Surrogate Outcome) ของอัตราการอยู่รอดโดยปราศจากโรคและอัตราการรอดชีวิตโดยรวม โดยให้ยาต้าน HER2 แบบ dual blockage พบว่าการให้ยา Trastuzumab และ Lapatinib ร่วมกับการให้ยาเคมีบำบัดโดยให้ยาก่อนผ่าตัด (Neoadjuvant chemotherapy) ผลการศึกษา พบว่าระดับ TILs ที่มากกว่าร้อยละ 5 มีความสัมพันธ์กับการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบสมบูรณ์ (pCR) (adjusted odds ratio, 2.60 , p = 0.01) และอัตราการอยู่รอดโดยปราศจากโรค โดยทุกร้อยละ 1 TILs ที่เพิ่มขึ้นมีความสัมพันธ์ในการลดอัตราการเกิดได้ร้อยละ 3 โดยมี adjusted hazard ratio = 0.97 (p = 0.002) ในทุกกลุ่มผู้ป่วย นอกจากนี้ยังมีการศึกษา GeparSixto ซึ่งจัดทำโดย Denkert และคณะ (42) ทำศึกษาในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมกลุ่มที่มีตัวรับสัญญาณ HER-2 จำนวน 266 คนและผู้ป่วยมะเร็งเต้านมกลุ่ม Tripple negative จำนวน 314 คน โดยศึกษาผลของการเพิ่มยาเคมีบำบัดก่อนการผ่าตัด โดยเพิ่มยา Carboplatin ในสูตร Anthracycline และ Taxane-based เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับยาสูตร Anthracycline และ Taxane-based โดยประเมินดูระดับ TILs และการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบสมบูรณ์ (pCR) ศึกษาทั้ง intratumoral และ stromal TILs ด้วยการย้อมสีมาตรฐานฮีมาทอกซิลินและอีโอซิน ใช้ระดับ TILs เป็น continuous data พบว่ามีผู้ป่วยที่เป็น LPBC คิดเป็นร้อยละ 24.5 ของผู้ป่วยทั้งหมด โดยในผู้ป่วยกลุ่มนี้มีการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบสมบูรณ์ คิดเป็นร้อยละ 59.9 เมื่อเทียบกับกลุ่มผู้ป่วยที่เป็น Non-LPBC คิดเป็นร้อยละ 33.8 (p = 0.001) และจากการวิเคราะห์ด้วยวิธี Multivariate พบว่า LPBC มีความสัมพันธ์เป็นปัจจัยทำนายการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบสมบูรณ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Odd ratio 2.66, p < 0.001)

จากข้อมูลการศึกษาวิจัยข้างต้น จะเห็นได้ว่า TILs สามารถใช้เป็นปัจจัยพยากรณ์โรคของมะเร็งเต้านมชนิดที่มีตัวรับสัญญาณ HER-2 อย่างไรก็ตามประชากรที่ศึกษานั้นเป็นชาวตะวันตกทั้งหมด ทำให้การนำมาใช้ในประชากรไทย อาจจะไม่สามารถใช้ได้อย่างถูกต้อง เนื่องจากเป็นที่ทราบกันอยู่แล้วว่ามะเร็งเต้านมในประเทศทางตะวันตก เช่น ยุโรป, อเมริกา มีการดำเนินโรคที่แตกต่างกับประเทศทางเอเชีย ซึ่งอาจจะเป็นผลจากพันธุกรรมที่แตกต่างกันและยังไม่เคยมีการศึกษาเรื่อง TILs ในประเทศไทย ดังนั้นการศึกษานี้ จึงจัดทำขึ้นเพื่อศึกษาปัจจัยพยากรณ์โอกาสการกลับเป็นซ้ำในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมชนิดที่มีตัวรับสัญญาณ HER-2 ระยะแรกหลังจากที่ได้รับการผ่าตัด โดยใช้ระดับปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวลิมป์โฟไซต์ (TILs) ที่ตรวจได้จากชิ้นเนื้อซึ่งอาจจะใช้เป็นปัจจัยการพยากรณ์โรคร่วมกับข้อมูลจากพยาธิวิทยาและข้อมูลทางคลินิกในผู้ป่วยหญิงไทย เพื่อจะได้ใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่อศึกษาวิจัยต่อไปในอนาคต

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 รูปแบบการวิจัย

การศึกษานี้เป็นแบบชนิด Retrospective cohort study

3.2 ระเบียบวิธีการวิจัย

ประชากรที่ศึกษา (Study Population)

ประชากรไทยผู้หญิงที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นมะเร็งเต้านมชนิดที่มีตัวรับสัญญาณ HER-2 จากการตรวจทางพยาธิวิทยาระยะต้นของหน่วยมะเร็งวิทยา ในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ตั้งแต่วันที่ 1 มกราคม 2548 จนถึงวันที่ 31 ธันวาคม 2559

เกณฑ์การคัดเลือกผู้ป่วยเข้าร่วมการวิจัย (Inclusion criteria)

1. ผู้ป่วยหญิงที่เป็นมะเร็งเต้านมระยะต้นชนิดที่มีตัวรับสัญญาณ HER-2 ที่มีตัวรับสัญญาณ HER-2 ที่ได้รับการวินิจฉัยโดยทางพยาธิวิทยายืนยันว่าเป็นมะเร็งชนิด Invasive ductal carcinoma และหรือ Invasive lobular carcinoma เท่านั้นที่ย้อมทางอิมมูโนวิทยาแล้วพบว่ามีตัวรับHER-2 ที่อยู่ในระยะ ที่ I-III ตาม American Joint Committee on Cancer staging System for Breast Cancer version 7 (AJCC7)
2. ผู้ป่วยต้องได้รับการผ่าตัดมะเร็งเต้านมและหรือต่อมน้ำเหลืองออกได้หมดจากการยืนยันทาง พยาธิวิทยา (R0 resection) โดยการผ่าตัดดังต่อไปนี้ ได้แก่ การผ่าตัดเต้านมทั้งเต้าและหรือเสริมเต้านม (Simple mastectomy with/ without skin sparing with/without reconstruction), การตัดเฉพาะก้อน (Breast conserving surgery) โดยจะตรวจต่อมน้ำเหลืองกลุ่มแรก (Sentinel lymph node) และหรือเลาะต่อมน้ำเหลืองทั้งหมด (Axillary lymph node dissection)
3. ผู้ป่วยได้รับการรักษาด้วยยาเคมีบำบัดหลังการผ่าตัด (Adjuvant chemotherapy) หรือให้ยา เคมีบำบัดก่อนการผ่าตัด (Neoadjuvant chemotherapy) โดยผู้ป่วยจะได้รับยาหรือไม่ได้รับยา Trastuzumab หรือไม่ก็ได้
4. ผู้ป่วยอายุมากกว่า 18 ปี
5. ผู้ป่วยได้รับการฉายแสงหลังการผ่าตัดตามเกณฑ์การรักษามาตรฐานถ้ามีข้อบ่งชี้

6. ผู้ป่วยต้องได้รับการตรวจติดตามตามแพทย์นัดสม่ำเสมอ เป็นเวลาตั้งแต่อย่างน้อย 3 ปี และทำการตรวจแมมโมแกรมอย่างน้อยปีละ 1 ครั้ง ทุกปีหรือตามที่แนะนำจากผลการตรวจ

<u>เกณฑ์การคัดผู้ป่วยออกจากการศึกษา (Exclusion criteria)</u>

1. ผู้ป่วยที่เป็น Inflammatory breast cancer
2. ผู้ป่วยที่ไม่มีผลชิ้นเนื้อและหรือผลการย้อมทางอิมมูโนวิทยาและไม่สามารถตามชิ้นเนื้อมาตรวจใหม่ได้

<u>ตัวชี้วัดการศึกษาวิจัย (Research Outcome)</u>

- **ตัวชี้วัดปฐมภูมิ**
  - การกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านม โดยหมายถึง การกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านมในข้างเดียวกันกับที่วินิจฉัยและบริเวณใกล้เคียง (Locoregional recurrence), การกลับเป็น ซ้ำแบบแพร่กระจายไปอวัยวะอื่นๆ (Distant recurrence), รวมถึงการเสียชีวิตจากการ กลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านม ถ้าการเสียชีวิตนั้นเป็นอาการแรกที่แสดงถึง การกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านม
- **ตัวชี้วัดทุติยภูมิ**
  - โอกาสปลอดโรค (Recurrence free survival) ตามเกณฑ์ STEEP (43) คือ การปลอดจากการกลับเป็นซ้ำจากมะเร็งเต้านมข้างเดียวกันกับที่วินิจฉัยและบริเวณใกล้เคียง (Locoregional recurrence), การกลับเป็นซ้ำแบบแพร่กระจายไปอวัยวะอื่นๆ (Distant recurrence), การเสียชีวิตจากมะเร็งเต้านมหรือการเสียชีวิตจากมะเร็งอื่นที่ไม่ใช่มะเร็งเต้านมโดยไม่รวมมะเร็งผิวหนังชนิดที่ไม่ใช่เมลาโนมา (Non melanoma skin cancer)
  - โอกาสรอดชีวิตทั้งหมด (Overall survival) คือการรอดจากการเสียชีวิตจากทุกสาเหตุ

3.3 ขนาดตัวอย่าง

คำนวณจำนวนตัวอย่างผู้ป่วยโดยใช้สูตรสำหรับ Logistic regression (Peduzzi et al. 1996) (44) ดังนี้

$$N = 10*k/p$$

N = จำนวนประชากรที่ต้องการศึกษา

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

k = จำนวนปัจจัยที่นำมาใช้พยากรณ์การกลับเป็นซ้ำ คือ ปัจจัยที่คาดว่าจะมีความสัมพันธ์อย่าง มีนัยสำคัญทางสถิติกับการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านม ได้แก่ ระดับปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวลิมป์โฟไซต์ (Level of TILs), ขนาดก้อนมะเร็ง, ระยะการลุกลามไปยังต่อมน้ำเหลือง, ร้อยละของตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเอสโตรเจน, ร้อยละของตัวรับสัญญาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน, ร้อยละของค่าการแบ่งตัวเคไอ 67

p = อุบัติการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านมชนิดที่มีตัวรับสัญญาณ HER-2 คือ 0.4

ดังนั้นขนาดตัวอย่างประชากร 150 คน โดยจะต้องมีจำนวนผู้ป่วยที่มีการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านมจำนวนอย่างน้อย 60 คน) (44)

3.4 ขั้นตอนในการดำเนินการวิจัย

1. ทบทวนข้อมูลผู้ป่วยโรคมะเร็งเต้านมจากเวชระเบียนของหน่วยมะเร็งวิทยา ภาควิชาอายุรศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ โดยเลือกผู้ป่วยที่มีประวัติการเป็นมะเร็งเต้านมชนิดที่มีตัวรับสัญญาณ HER-2 ที่เข้าตามเกณฑ์การคัดเลือกผู้เข้าร่วมวิจัย ตั้งแต่วันที่ 1 มกราคม 2548 จนถึงวันที่ 31 ธันวาคม 2559 ทั้งที่ไม่มีการกลับเป็นซ้ำ และมีการกลับเป็นซ้ำโดยที่ติดตามดูการกลับเป็นซ้ำของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมชนิดที่มีตัวรับสัญญาณ HER-2 ที่มาติดตามการรักษาเป็นประจำสม่ำเสมอในคลินิกมะเร็งวิทยาเป็นเวลาอย่างน้อย 3 ปี จนถึง 31 ธันวาคม 2560 และให้คำจำกัดความของผู้ป่วยที่มีการกลับเป็นซ้ำหรือเสียชีวิต จากสาเหตุใดๆก็ตามว่าเป็นเหตุการณ์ (event) และผู้ป่วยที่ยังไม่มีการกลับเป็นซ้ำและยังมีชีวิตจนถึงเวลาที่จบการศึกษาวิจัย คือ 31 ธันวาคม 2560 ว่าเป็นเซ็นเซอร์ (censor)
2. ติดต่อภาควิชาพยาธิวิทยาขอใช้ชิ้นเนื้อมะเร็งเต้านมที่เก็บไว้ในพาราฟินบล็อค (Formalin-fixed paraffin embeded) ของผู้ป่วยทุกรายที่เข้าตามเกณฑ์การคัดเลือกผู้เข้าร่วมวิจัย และติดต่อแพทย์พยาธิวิทยาเพื่อประเมินระดับปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวลิมป์โฟไซต์ (TILs) ในชิ้นเนื้อ
3. สุ่มชิ้นเนื้อจำนวน 100 ชิ้น (ผู้ป่วย 100 คน)โดยแบ่งสุ่มตรวจชิ้นเนื้อที่ไม่มีการกลับเป็นซ้ำ 50 ชิ้น และชิ้นเนื้อที่มีการกลับเป็นซ้ำอีก 50 ชิ้นเพื่อศึกษาดูความแตกต่างกันของระดับ ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวลิมป์โฟไซต์ (TILs) ในชิ้นเนื้อของทั้งสองกลุ่ม
4. การบันทึกข้อมูล (รายละเอียดใน Data collection sheet ในภาคผนวก)

    1) บันทึกข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยได้แก่ เพศ อายุ ประวัติการเจริญพันธ์ ประวัติประจำเดือน ประวัติการให้นมบุตร ประวัติมะเร็งอื่นที่อาจจะเกี่ยวเนื่องกับ มะเร็งเต้านม

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ที่ถ่ายทอดทางพันธุกรรม เช่น มะเร็งรังไข่ มะเร็งมดลูก เป็นต้น ประวัติมะเร็งในครอบครัว น้ำหนัก ส่วนสูง ประวัติการใช้ฮอร์โมนเสริมหรือ ยาคุมกำเนิด สถานะภาพทางร่างกายของผู้ป่วย (Performance status ตาม ECOG performance status) (ตารางที่ 2)

2) บันทึกข้อมูลทางคลินิกของมะเร็งเต้านม ได้แก่ ตำแหน่งก้อน ต่อมน้ำเหลือง อาการที่นำมาตรวจ วันที่วินิจฉัยมะเร็งเต้านม (โดยนับวันที่มีระบุในผลชิ้นเนื้อ)

3) บันทึกข้อมูลทางพยาธิวิทยา ได้แก่ ชนิดของมะเร็ง เกรด ขนาด จำนวนต่อมน้ำเหลือง ลักษณะที่ลุกลามไปยังท่อน้ำเหลืองและหรือหลอดเลือดโดยรอบ ผลการย้อมตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเอสโตรเจนและโปรเจสโตรเจน การย้อมHER-2 การย้อมเคไอ-67 และระดับปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวลิมป์โฟไซต์ (TILs)

4) บันทึกข้อมูลการรักษา ได้แก่ การผ่าตัด ประเภทการผ่าตัดและชนิดของการเลาะต่อมน้ำเหลือง ประวัติการได้รับยาเคมีบำบัดทั้งก่อนและหลังการผ่าตัด การได้รับยา Trastuzumab การได้รับยาต้านฮอร์โมนหลังผ่าตัด ชนิดของยาและระยะเวลาที่ได้รับยา รวมถึงการได้รับการฉายแสงหลังผ่าตัด

5) บันทึกข้อมูลการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านม ได้แก่ ตำแหน่งที่กลับเป็นซ้ำ การกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านมในข้างเดียวกันกับที่วินิจฉัยและบริเวณใกล้เคียง (Locoregional recurrence), การกลับเป็นซ้ำแบบแพร่กระจายไปอวัยวะอื่นๆ (Distant recurrence), การกลับเป็นซ้ำมะเร็งเต้านมอีกข้างหนึ่ง (Contralateral second primary invasive cancer), การวินิจฉัยการกลับเป็นซ้ำ (อาการทางคลินิก และหรือตรวจยืนยันชิ้นเนื้อโดยพยาธิวิทยา) การเสียชีวิตและสาเหตุการเสียชีวิต

3.5 การรวบรวมข้อมูล

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย CHULALONGKORN UNIVERSITY

เก็บข้อมูลพื้นฐานและข้อมูลทางคลินิกทั้งหมดของผู้ป่วยตามเวชระเบียนของหน่วยมะเร็งวิทยา โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ที่ได้รับการวินิจฉัยมะเร็งเต้านมระยะต้นชนิดที่มีตัวรับสัญญาณ HER-2 ตามเกณฑ์การคัดเลือกผู้ป่วยเข้าร่วมการวิจัย หลังจากนั้นเก็บรวบรวมข้อมูลผลการตรวจทางพยาธิวิทยาของผู้ป่วยที่เข้าร่วมการวิจัยจากภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ผู้ดำเนินการวิจัยเป็นผู้เก็บข้อมูลและผู้บันทึกข้อมูล

3.6 ข้อจำกัดในการวิจัย

1. การศึกษานี้เป็นการศึกษาแบบย้อนหลัง ดังนั้นอาจมีปัจจัยกวนที่เข้ามาเกี่ยวข้องในการรักษาโดยไม่สามารถควบคุมได้ เช่น การตรวจติดตามหลังจากรักษาแล้วไม่ได้เหมือนกันในทุกคน

เนื่องจากขึ้นกับแพทย์ที่รักษาเพราะไม่ได้เป็นการศึกษาแบบไปข้างหน้าที่จะมีแบบแผนการตรวจติดตามชัดเจน อาจทำให้การมาตรวจเจอว่ามีการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านมอาจไม่เท่ากันในแต่ละคน เป็นต้น แต่อย่างไรก็ตามเนื่องจากผู้ป่วยทั้งหมดรักษาและตรวจติดตามที่หน่วยมะเร็งวิทยา โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ดังนั้นมาตรฐานการตรวจติดตามจึงไม่ได้แตกต่างกันมากระหว่างแพทย์แต่ละบุคคล

2. ข้อจำกัดในการแปลผลเนื่องจากการศึกษานี้ทำในโรงพยาบาลเดียว ไม่ได้มีการสุ่มประชากรจากทั่วประเทศ ดังนั้นการนำไปใช้ในประชากรโดยรวมอาจจะต้องระวังในการแปลผล เนื่องจากโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์เป็นโรงเรียนแพทย์ ดังนั้นผู้ป่วยที่เป็นมะเร็งเต้านมอาจจะแตกต่างไปจากประชากรส่วนใหญ่ของประเทศและอาจจะต่างไปจากโรงพยาบาลชุมชน

3.7 การเปิดเผยข้อมูลแสดงตัวตนของผู้ป่วย

ข้อมูลที่แสดงตัวตนของผู้ป่วยจะถูกเก็บไว้เป็นความลับ จะไม่มีการนำข้อมูลที่แสดงตัวตนของผู้ป่วยไปเปิดเผยโดยเด็ดขาด สำหรับการนำข้อมูลไปวิเคราะห์ จะใช้รหัสตัวเลขแทนผู้ป่วยแต่ละราย ส่วนในการตีพิมพ์ผลงานการวิจัยหรือการนำเสนอผลงานวิชาการจะเสนอในภาพรวมของผลการวิจัย จะไม่มีการนำข้อมูลที่แสดงตัวตนของผู้ป่วยไปเปิดเผยโดยเด็ดขาด หากมีความจำเป็นต้องแสดงข้อมูลที่เป็น ตัวตนของผู้ป่วย จะต้องได้รับการยินยอมจากผู้ป่วยเป็นลายลักษณ์อักษรเท่านั้น

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

3.8 การวิเคราะห์ข้อมูล (Data analysis)

ปัจจัยทางคลินิกและพยาธิวิทยาที่กำหนดทั้งหมด มาวิเคราะห์หาปัจจัยที่มีผลต่อการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยการใช้ Univariable logistic regression model และนำปัจจัยดังกล่าวข้างต้นมาวิเคราะห์ Multivariable logistic regression model โดยทำการคัดเลือกปัจจัยที่ไม่มีผลต่อการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติออก (โดยกำหนดให้คือ ปัจจัยที่ทำให้ p-value > 0.1 ใน log likelihood) โดยวิธี Stepwise backward elimination และนำเฉพาะปัจจัยที่มีผลต่อการกลับเป็นซ้ำอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติมาตรวจสอบโดย Multivariable logistic regression model

ข้อมูลเชิงปริมาณ (Continuous variables) เช่น อายุผู้ป่วย, ระดับปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาว ลิมป์โฟไซต์, ร้อยละการติดสีย้อมอิมมูโนวิทยาของตัวรับสัญญาณฮอร์โมนเอสโตรเจนและโปรเจสโตรเจน เป็นต้น แสดงข้อมูลที่ได้เป็นค่ามัธยฐานและค่าพิสัยมัธยฐาน

ข้อมูลเชิงคุณภาพ (Categorical variables) เช่น สถานภาพทางกาย, สถานะภาพประจำเดือน, ระยะของก้อนมะเร็ง, ระยะการลุกลามไปยังต่อมน้ำเหลือง, การได้รับยาเคมีบำบัด, ยา Trastuzumab เป็นต้น แสดงข้อมูลที่ได้เป็นจำนวนนับและร้อยละ

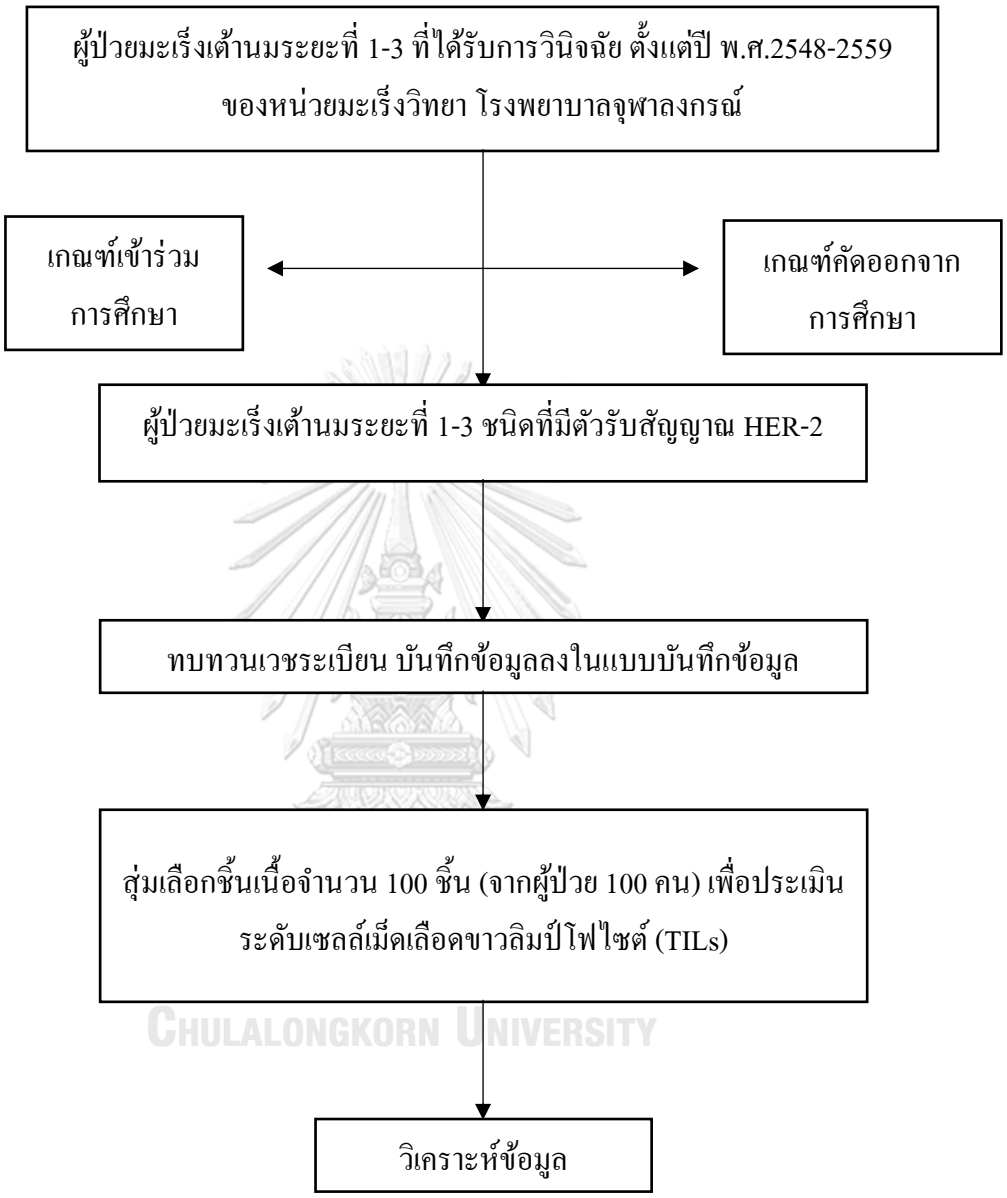
การเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มที่มีการกลับเป็นซ้ำของโรคมะเร็งเต้านมและกลุ่มที่ไม่มี การกลับเป็นซ้ำของโรคมะเร็งเต้านม ใช้การวิเคราะห์แบบ Chi-square ในกรณีที่เป็นข้อมูลเชิงคุณภาพและใช้การวิเคราะห์แบบ Wilcoxon rank-sum test ในกรณีที่เป็นข้อมูลเชิงปริมาณ

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

โดยการคำนวณทางสถิติทั้งหมดใช้โปรแกรม STATA version 14.0

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

รูปภาพ 4 แสดงแนวทางการวิจัย



CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทที่ 4
ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

4.1 ประชากรที่นำมาศึกษา

ตั้งแต่เดือนมกราคม พ.ศ. 2545 ถึง ธันวาคม พ.ศ. 2559 มีผู้ป่วยโรคมะเร็งเต้านมระยะต้น (ระยะที่ I- III) ที่มีตัวรับสัญญาณ HER-2 ที่เข้ารับการรักษาที่หน่วยมะเร็งวิทยา โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ อยู่ในเกณฑ์การเข้าร่วมศึกษา จำนวนทั้งหมด 486 ราย โดยผู้ป่วยที่มีการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านม จำนวน 92 ราย และผู้ป่วยที่ไม่มีการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านม จำนวน 394 ราย ในผู้ป่วยที่มีการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านม ได้รับการรักษาเสริมหลังการผ่าตัดด้วยยาเคมีบำบัดจำนวน 53 ราย และได้รับการรักษาเสริมด้วยยา Trastuzumab จำนวน 39 ราย คิดเป็นร้อยละ 57.6 และ 42.4 ตามลำดับ ส่วนในกลุ่มผู้ป่วยที่ไม่มีการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านม ได้รับการรักษาเสริมหลังการผ่าตัดด้วยยาเคมีบำบัดจำนวน 321 รายและได้รับการรักษาเสริมด้วยยา Trastuzumab จำนวน 300 ราย คิดเป็นร้อยละ 81.5 และ 76.1 ตามลำดับ โดยผู้ป่วยที่มีการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านมเสียชีวิตจำนวน 37 คน คิดเป็นร้อยละ 92.5 ส่วนในกลุ่มผู้ป่วยที่ไม่มีการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านมเสียชีวิตจำนวน 3 คน ณ เวลาที่เก็บข้อมูลการศึกษา

4.2 ข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วย

ผู้ป่วยโรคมะเร็งเต้านมชนิดตัวรับสัญญาณ HER-2 ระยะต้นที่ได้รับการรักษาโดยการผ่าตัด ทั้งหมด 486 ราย โดยมีอายุเฉลี่ยอยู่ที่ 52 ปี ผู้ป่วยเกือบทั้งหมดมีความสามารถในการใช้ชีวิตประจำวัน 0 ถึง 1 (ร้อยละ 99.4) และผู้ป่วยส่วนใหญ่อยู่ในวัยหมดประจำเดือน คิดเป็นร้อยละ 56 เมื่อติดตามผู้ป่วยทั้งหมด โดยมีค่ามัธยฐานของระยะเวลาในการติดตามเท่ากับ 4.1 (ค่าพิสัยมัธยฐาน 0.5-19.9) ปี พบว่ามีผู้ป่วยที่มีการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านม 92 ราย คิดเป็นร้อยละ 18.9 ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบข้อมูลทั่วไปของกลุ่มผู้ป่วยที่มี การกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านมกับกลุ่มผู้ป่วยที่ไม่มีการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านมพบว่า อายุเฉลี่ย, วัยหมดประจำเดือนของผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มไม่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกลุ่มที่มีการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านมมีค่ามัธยฐานของอายุเฉลี่ย 49 ปี เทียบกับกลุ่มที่ไม่มีการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านม 52 ปี และวัยหมดประจำเดือนร้อยละ 51.1 ในกลุ่มที่มีการกลับเป็นซ้ำเทียบกับร้อยละ 57.1 ในกลุ่มที่ไม่มีการกลับเป็นซ้ำ

ผู้ป่วยในกลุ่มที่กลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านมพบว่ามีความสามารถในการใช้ชีวิตประจำวันส่วนใหญ่อยู่ที่ 1 ร้อยละ 52.2 ซึ่งแตกต่างกับในกลุ่มที่ไม่มีการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านมที่มี

ความสามารถในการใช้ชีวิตประจำวันส่วนใหญ่อยู่ที่ 0 คิดเป็นร้อยละ 54.8 และมีผู้ป่วยในกลุ่มกลับเป็นซ้ำจำนวน 2 ราย (ร้อยละ 2.2) ที่มีความสามารถในการใช้ชีวิตประจำวันเท่ากับ 2 ในส่วนของระยะของมะเร็งเต้านมมีความแตกต่างกันในสองกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกลุ่มที่ไม่มีการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านมมีระยะของมะเร็งเต้านมที่น้อยกว่า โดยพบระยะ IA เท่ากับร้อยละ 19.3 เมื่อเทียบกับผู้ป่วยในกลุ่มที่กลับเป็นซ้ำของโรคมีระยะดังกล่าว คิดเป็นร้อยละ 14.1แต่กลับมีผู้ป่วยในระยะ IIIC ร้อยละ17.4 ซึ่งเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่มีการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านม พบเพียงร้อยละ 10.1 แต่อย่างไรก็ตามผู้ป่วยส่วนใหญ่ของทั้งสองกลุ่มอยู่ในระยะ IIA คือคิดเป็นร้อยละ 33.5 ในกลุ่มที่ไม่มีการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านมและร้อยละ 23.9 ในกลุ่มที่กลับเป็นซ้ำ

ส่วนของข้อมูลพื้นฐานทางพยาธิวิทยา พบว่าทั้งสองกลุ่มมีชนิดมะเร็งเต้านมทางพยาธิวิทยาที่ไม่แตกต่างกัน คือผู้ป่วยส่วนใหญ่เป็น Invasive ductal carcinoma ร้อยละ 92.4 และร้อยละ 94.7 ในกลุ่มที่กลับเป็นซ้ำและกลุ่มที่ไม่มีการกลับเป็นซ้ำของโรคตามลำดับ เช่นเดียวกับขนาดของก้อนมะเร็ง, ระดับของการลุกลามต่อมน้ำเหลือง, การลุกลามไปยังเส้นน้ำเหลืองและหลอดเลือด รวมถึงค่าการแบ่งตัวของมะเร็ง ผู้ป่วยส่วนใหญ่ของทั้งสองกลุ่มมีขนาดก้อนมะเร็งระยะที่ 2 (2.1-5ซม.), ไม่มีการลุกลามไปยังต่อมน้ำเหลือง แต่ส่วนใหญ่มีการลุกลามไปยังเส้นน้ำเหลืองและหลอดเลือดและมีค่าการแบ่งตัวของมะเร็งเคไอ-67 มาก ดังแสดงใน ตารางที่ 3

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตาราง 3 แสดงข้อมูลพื้นฐานผู้ป่วยทั้งหมดโดยเปรียบเทียบกลุ่มที่มีกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านมและกลุ่มที่ไม่มีกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านม

ข้อมูลทั่วไปของผู้ป่วย	ผู้ป่วยทั้งหมด 486 คน	กลุ่มไม่กลับเป็นซ้ำ จำนวน 394 คน	กลุ่มกลับเป็นซ้ำ จำนวน 92 คน	P value
อายุผู้ป่วย				
● **อายุค่ามัธยฐาน, ปี (พิสัย)**	52 (26-85)	52 (26-83)	49 (29-85)	0.41
สถานภาพประจำเดือน (จำนวน;%)				
● **วัยหมดประจำเดือน**	272 (56%)	225 (57.1%)	47 (51.1%)	0.25
ความสามารถในการใช้ชีวิตประจำวัน (จำนวน;%)				0.04
● **0**	258 (53.1%)	216 (54.8%)	42 (45.6%)	
● **1**	225 (46.3%)	177 (44.9%)	48 (52.2%)	
● **2**	3 (0.6%)	1 (0.3%)	2 (2.2%)	
อาการนำ (จำนวน;%)				
● **ก้อนที่เต้านม**	437 (89.9%)	348 (88.3%)	89 (96.7%)	0.02
● **สารคัดหลั่งทางเต้านม**	19 (3.9%)	16 (4.1%)	3 (3.3%)	0.72
● **เจ็บเต้านม**	48 (9.9%)	41 (10.4%)	7 (7.6%)	0.42
● **ดึงรั้งผิวหนังบริเวณเต้านม**	12 (2.5%)	9 (2.3%)	3 (3.3%)	0.59
● **ตรวจเจอโดยการทำเอกซ์เรย์หรืออัลตราซาวน์**	42 (8.6%)	39 (9.9%)	3 (3.3%)	0.04
ระยะของมะเร็งเต้านมทางพยาธิวิทยา (จำนวน;%)				
● **IA**	89 (18.3%)	76 (19.3%)	13 (14.1%)	0.04
● **IB**	0	0	0	
● **IIA**	154 (31.7%)	132 (33.5%)	22 (23.9%)	
● **IIB**	82 (16.8%)	68 (17.2%)	14 (15.2%)	
● **IIIA**	73 (15.1%)	57 (14.5%)	16 (17.4%)	
● **IIIB**	21 (4.3%)	14 (3.5%)	7 (7.6%)	
● **IIIC**	56 (11.5%)	40 (10.1%)	16 (17.4%)	
ระดับของพยาธิวิทยา (จำนวน;%)				
● **ระดับที่ 1**	15 (3.1%)	14 (3.5%)	1 (1.1%)	

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

• ระดับที่ 2	206 (42.4%)	172 (43.6%)	34 (36.9%)	0.01
• ระดับที่ 3	210 (43.2%)	173 (43.9%)	37 (40.2%)	
ชนิดมะเร็งเต้านมทางพยาธิวิทยา (จำนวน;%)				
• Invasive ductal carcinoma	458 (94.2%)	373 (94.7%)	85 (92.4%)	0.05
• Invasive lobular carcinoma	9 (1.8%)	6 (1.5%)	3 (3.3%)	0.01
• Mixed histology	8 (1.6%)	7 (1.8%)	1 (1.1%)	0.01
ขนาดของก้อนมะเร็ง (จำนวน;%)				
• ≤ 1 ซม.	44 (9%)	39 (9.9%)	5 (5.4%)	0.01
• 1.1-2 ซม.	95 (19.5%)	77 (19.5%)	18 (19.6%)	
• 2.1-5 ซม.	265 (54.5%)	221 (56.1%)	44 (47.8%)	
• > 5 ซม.	46 (9.5%)	36 (9.1%)	10 (10.7%)	
ระดับการลุกลามต่อมน้ำเหลือง (จำนวน;%)				
• ระดับที่ 0 (N0)	232 (47.7%)	193 (48.9%)	39 (42.4%)	<0.01
• ระดับที่ 1 (N1, 1-3 ต่อมน้ำเหลือง)	120 (24.7%)	106 (26.9%)	14 (15.2%)	
• ระดับที่ 2 (N2, 4-9 ต่อมน้ำเหลือง)	63 (12.9%)	49 (12.4%)	14 (15.2%)	
• ระดับที่ 3 (N3, ≥10 ต่อมน้ำเหลือง)	54 (11.1%)	40 (10.1%)	14 (15.2%)	
ตับรับสัญญาณฮอร์โมน (จำนวน;%)				
• ตัวรับสัญญาณเอสโตรเจนเป็นบวกและ/หรือตัวรับสัญญาณโปรเจสเตอโรนเป็นบวกหรือลบ	231 (47.5%)	185 (46.9%)	46 (50%)	0.1
• ตัวรับสัญญาณเอสโตรเจนเป็นลบและ/หรือตัวรับสัญญาณโปรเจสเตอโรนเป็นลบ	254 (52.3%)	209 (53%)	45 (48.9%)	

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ข้อมูลทั่วไปของผู้ป่วย (ต่อ)	ผู้ป่วยทั้งหมด จำนวน 486 คน	กลุ่มไม่กลับเป็นซ้ำ จำนวน 394 คน	กลุ่มกลับเป็นซ้ำ จำนวน 92 คน	P value
การลุกลามไปยังเส้นน้ำเหลืองและหลอดเลือด (LVI) (จำนวน;%)				
● มีการลุกลาม	217 (44.6%)	176 (44.7%)	41 (44.6%)	0.02
● ไม่มีการลุกลาม	182 (37.5%)	156 (39.6%)	26 (28.3%)	
ค่าการแบ่งตัวมะเร็งเคไอ-67 (จำนวน;%)				
● < 14	29 (5.9%)	21 (5.3%)	8 (8.7%)	0.09
● ≥ 14	391 (80.4%)	325 (82.5%)	66 (71.7%)	
ประเภทของการผ่าตัด (จำนวน;%)				
● การผ่าตัดเอาเต้านมออกหมด	327 (67.3%)	261 (66.2%)	66 (71.7%)	0.19
● การผ่าตัดแบบอนุรักษ์เต้านม	123 (25.3%)	101 (25.6%)	22 (23.9%)	
● การผ่าตัดเอาเต้านมออกและเสริมเต้านมใหม่	29 (5.9%)	26 (6.6%)	3 (3.3%)	
การรักษาเสริมด้วยยาเคมีบำบัด (จำนวน;%)				
● ได้รับยาก่อนการผ่าตัด	95 (19.5%)	66 (16.7%)	29 (31.5%)	<0.01
● ได้รับยาหลังการผ่าตัด	374 (77%)	321 (81.5%)	53 (57.6%)	
● ไม่ได้รับยาเคมีบำบัด	17 (3.5%)	7 (1.8%)	10 (10.9%)	
การรักษาเสริมด้วยยา Trastuzumab (จำนวน;%)				
● ได้รับ	339 (69.7%)	300 (76.1%)	39 (42.4%)	<0.01
● ไม่ได้รับ	144 (29.6%)	91 (23.1%)	53 (57.6%)	
การรักษาเสริมด้วยยาต้านฮอร์โมน (จำนวน;%)				
● ได้รับ	227 (46.7%)	189 (47.9%)	38 (41.3%)	0.02
● ไม่ได้รับ	255 (52.5%)	204 (51.8%)	51 (55.4%)	
การรักษาเสริมด้วยรังสีรักษาหลังการผ่าตัด (จำนวน;%)				
● ได้รับ	359 (73.9%)	293 (74.4%)	66 (71.7%)	0.08
● ไม่ได้รับ	123 (25.3%)	99 (25.1%)	24 (26.1%)	

Chulalongkorn University

LVI = Lymphovascular invasion

ผู้ป่วยส่วนใหญ่ไม่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนทั้งเอสโตรเจนและโปรเจสเตอโรน คิดเป็นร้อยละ 52.3, ได้รับการรักษาเสริมด้วยยาเคมีบำบัด (ก่อนหรือหลังการผ่าตัด) คิดเป็นร้อยละ 96.5 และได้รับการรักษาเสริมด้วยยา Trastuzumab ร้อยละ 69.7 ของผู้ป่วยทั้งหมด โดยในกลุ่มที่ไม่มีการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านม พบว่ามีสัดส่วนของผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาเสริมด้วยยา Trastuzumab มีจำนวนมากกว่าผู้ป่วยที่ไม่ได้รับยา Trastuzumab คือร้อยละ 76.1 และ 23.1 ตามลำดับ เช่นเดียวกันกับกลุ่มที่มีการกลับเป็นซ้ำพบว่าผู้ป่วยที่ไม่ได้รับยา Trastuzumab มีการกลับเป็นซ้ำของโรคมากกว่าคิดเป็นร้อยละ 57.6

ในส่วนของผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาเสริมด้วยยาเคมีบำบัดก่อนการผ่าตัดมีทั้งหมด 95 คน คิดเป็นร้อยละ 19 ของ ผู้ป่วยทั้งหมด และพบว่ามีผู้ป่วยที่มีการตอบสนองอย่างสมบูรณ์เมื่อตรวจทางพยาธิวิทยา (Pathological complete response; pCR) เพียง 6 คน (ร้อยละ 6.3)

หลังจากติดตามผู้ป่วยโดยมีค่ามัธยฐานของระยะเวลาในการติดตามเท่ากับ 4.1 (ค่าพิสัยมัธยฐาน 0.5-19.9) ปี พบว่ามีผู้ป่วยที่มีการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านม 92 ราย คิดเป็นร้อยละ 18.9 ของผู้ป่วยทั้งหมด โดยพบการกลับเป็นซ้ำลักษณะแพร่กระจายไปอวัยวะอื่นๆ ร้อยละ 67.4, มีการแพร่กระจายที่สมอง 17 ราย คิดเป็นร้อยละ18.5, มีการลุกลามไปบริเวณอวัยวะข้างเคียงร้อยละ 25 นอกจากนี้พบว่ามีผู้ป่วยเสียชีวิต ทั้งหมด 40 ราย คิดเป็นร้อยละ 8.2 โดยพบว่าสัมพันธ์กับมะเร็งเต้านม 37 ราย ดังตารางที่ 4

ตาราง 4 แสดงการกลับเป็นซ้ำและการเสียชีวิต

<u>การกลับเป็นซ้ำ</u> (จำนวน 92 คน, 18.9%)	
การลุกลามไปบริเวณอวัยวะข้างเคียง (จำนวน;%)	23 (25%)
การแพร่กระจายไปอวัยวะอื่นๆ (จำนวน;%)	62 (67.4%)
• **สมอง**	17 (27.4%)
• **กระดูก**	36 (58.1%)
• **ตับ**	31 (50%)
• **ปอด**	42 (67.7%)
• **อวัยวะอื่น**	21 (33.9%)
<u>การเสียชีวิต</u> (จำนวน 40 คน, 8.2%)	
• **การเสียชีวิตจากสาเหตุจากมะเร็งเต้านม (จำนวน;%)**	37 (92.5%)
• **การเสียชีวิตจากสาเหตุอื่นๆ (จำนวน;%)**	3(7.5%)

ในส่วนของการประเมินระดับปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวลิมป์โฟไซต์ (Stromal TILs) จากการสุ่มเลือกพาราฟินบล็อคชิ้นเนื้อที่ผ่านการย้อมสีฮีมาทอกซิลินและอีโอซินจำนวน 100 บล็อค (จากผู้ป่วย 100 คน) พบว่ามีบล็อคชิ้นเนื้อของผู้ป่วยที่มีการกลับเป็นซ้ำและไม่มีการกลับเป็นซ้ำ จำนวน 46 คนและ 54 คน ตามลำดับ โดยข้อมูลพื้นฐานทั่วไปของผู้ป่วย 100 คนมีการประเมินระดับ Stromal TILs พบว่ามีลักษณะพื้นฐานคล้ายคลึงกันกับผู้ป่วยที่ทำการศึกษาทั้งหมด คือเป็นวัยหมดประจำเดือน, เป็นผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะ IIA, มีระยะพยาธิวิทยาของชิ้นเนื้อมะเร็งระยะที่ 3, มีขนาดของก้อนมะเร็งระยะที่ 2 (2.1-5 ซม.), ไม่มีการลุกลามไปยังต่อมน้ำเหลือง ส่วนใหญ่มีการลุกลามไปยังเส้นน้ำเหลืองและหลอดเลือดรวมถึงมีค่าการแบ่งตัวของมะเร็งเคไอ-67 มาก เช่นเดียวกันกับในกลุ่มผู้ป่วยที่มีการกลับเป็นซ้ำจำนวน 46 คน ที่มีการประเมินระดับ Stromal TILs เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มผู้ป่วยที่มีการกลับเป็นซ้ำทั้งหมด 92 คน (ดังตารางที่ 3) พบว่าลักษณะพื้นฐานส่วนใหญ่มีความคล้ายคลึงกัน ยกเว้นลักษณะบางประการ เช่น ส่วนใหญ่เป็นผู้ป่วย ระยะ IIIA, ไม่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนทั้งเอสโตรเจนและโปรเจสโตรเจน และผู้ป่วยได้รับการรักษาเสริมด้วยยา Trastuzumab ดังตารางที่ 5

จากการศึกษาพบว่าในบล็อคชิ้นเนื้อจากผู้ป่วย 100 คน พบว่าในกลุ่มผู้ป่วยที่มีการกลับเป็นซ้ำ มีระดับ Stromal TILs มัธยฐานเท่ากับ 17.5% ซึ่งมีค่าต่ำกว่าเมื่อเทียบกับกลุ่มผู้ป่วยที่ไม่มีการกลับเป็นซ้ำ ซึ่งมีระดับ Stromal TILs มัธยฐานเท่ากับ 27.5% และเมื่อนำมาวิเคราะห์แยกผู้ป่วยตามระดับ Stromal TILs โดยแบ่งเป็นสามกลุ่ม ได้แก่ ระดับ Stromal TILs ต่ำ ปานกลางและระดับสูงหรือที่เรียกว่า LPBC พบว่าผู้ป่วยส่วนใหญ่มีระดับ Stromal TILs อยู่ในระดับปานกลาง คิดเป็นร้อยละ 47 รองลงมาคือระดับต่ำและระดับสูง คิดเป็นร้อยละ 39 และ 14 ตามลำดับ โดยเมื่อวิเคราะห์แยกในกลุ่มผู้ป่วยที่มีการกลับเป็นซ้ำพบว่าผู้ป่วยที่มีระดับ Stromal TILs ต่ำ มีการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านมมากที่สุด คือ 23 คน คิดเป็นร้อยละ 59 ตรงกันข้ามกับผู้ป่วยที่มีระดับ Stromal TILs สูงซึ่งพบการกลับเป็นซ้ำน้อยที่สุด คือ 4 คน คิดเป็นร้อยละ 28.6 ดังตารางที่ 6 และเมื่อวิเคราะห์เพิ่มเติมโดยแบ่งตามการได้รับการรักษาเสริมด้วยยาเคมีบำบัดก่อนและหลังการผ่าตัดนั้น พบว่าในผู้ป่วย 100 คน มีผู้ป่วยได้รับยาเคมีบำบัดก่อนการผ่าตัดทั้งหมด 25 คน โดยพบผู้ป่วยมีการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านมทั้งหมด 16 คน โดยกลุ่มผู้ป่วยที่มีระดับ Stromal TILs ต่ำ เป็นกลุ่มที่มีการกลับเป็นซ้ำมากที่สุด พบจำนวน 11 คน คิดเป็นร้อยละ 68.7 และกลุ่มผู้ป่วยที่มีระดับ Stromal TILs สูง พบการกลับเป็นซ้ำน้อยที่สุด คือ 2 คน คิดเป็นร้อยละ 12.5 และเมื่อศึกษาดูความเปลี่ยนแปลงของระดับ Stromal TILs ของผู้ป่วยแต่ละคน โดยเปรียบเทียบระดับ Stromal TILs ในผู้ป่วยที่ได้รับยาเคมีบำบัดก่อนและหลังการผ่าตัดนั้น พบว่าผู้ป่วยส่วนใหญ่มีระดับ Stromal TILs ลดลง โดยพบจำนวน 15 คน คิดเป็นร้อยละ 60 รองลงมาคือผู้ป่วยมีระดับ Stromal TILs

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

เพิ่มขึ้น จำนวน 6 คน คิดเป็นร้อยละ 24 และมีผู้ป่วยคิดเป็นร้อยละ 16 ที่มีระดับ Stromal TILs ไม่เปลี่ยนแปลงจากเดิม

ตาราง 5 แสดงข้อมูลพื้นฐานผู้ป่วยที่มีการประเมินระดับปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวลิมป์โฟไซต์ *(Stromal TILs)*

ข้อมูลทั่วไปของผู้ป่วย	ผู้ป่วยทั้งหมด จำนวน 100 คน	กลุ่มไม่กลับเป็นซ้ำ จำนวน 54 คน	กลุ่มกลับเป็นซ้ำ จำนวน 46 คน	P value
อายุผู้ป่วย				
● **อายุค่ามัธยฐาน, ปี (พิสัย)**	51 (26-73)	52 (26-69)	49 (29-73)	0.16
สถานภาพประจำเดือน (จำนวน;%)				
● **วัยหมดประจำเดือน**	51 (51%)	31 (57.4%)	20 (43.5%)	0.15
ความสามารถในการใช้ชีวิตประจำวัน (จำนวน;%)				
● **0**	57 (57%)	29 (53.7%)	28 (60.9%)	0.47
● **1**	43 (43%)	25 (46.3%)	18 (39.1%)	
อาการนำ (จำนวน;%)				
● **ก้อนที่เต้านม**	94 (94%)	50 (92.6%)	44 (95.6%)	0.52
● **สารคัดหลั่งทางเต้านม**	6 (6%)	39 (5.5%)	3 (6.5%)	0.84
● **เจ็บเต้านม**	12 (12%)	7 (12.9%)	5 (10.8%)	0.75
● **ดึงรั้งผิวหนังบริเวณเต้านม**	5 (5%)	2 (3.7%)	3 (6.5%)	0.52
● **ตรวจเจอโดยการทำเอกซ์เรย์หรืออัลตราซาวน์**	4 (4%)	2 (3.7%)	2 (4.3%)	0.87
ระยะของมะเร็งเต้านมทางพยาธิวิทยา (จำนวน;%)				
● IA	22 (22%)	15 (27.7%)	7 (15.2%)	0.01
● IB	0	0	0	
● IIA	28 (28%)	18 (33.3%)	10 (21.7%)	
● IIB	18 (18%)	12 (22.2%)	6 (13%)	
● IIIA	16 (16%)	5 (9.2%)	11 (23.9%)	

CHULALONGKORN UNIVERSITY

• IIIB	3 (3%)	0	3 (6.5%)	
• IIIC	12 (12%)	3 (5.5%)	9 (19.6%)	
ระดับของพยาธิวิทยา (จำนวน;%)				
• ระดับที่ 1	3 (3%)	2 (3.7%)	1 (2.2%)	0.6
• ระดับที่ 2	40 (40%)	22 (40.7%)	18 (39.1%)	
• ระดับที่ 3	48 (48%)	27 (50%)	21 (45.6%)	
ชนิดมะเร็งเต้านมทางพยาธิวิทยา (จำนวน;%)				
• Invasive ductal carcinoma	94 (94%)	50 (92.6%)	44 (95.6%)	0.52
• Invasive lobular carcinoma	2 (2%)	1 (1.8%)	1 (2.2%)	0.91
• Mixed histology	2 (2%)	1 (1.8%)	1 (2.2%)	0.9
ขนาดของก้อนมะเร็ง (จำนวน;%)				
• ≤ 1 ซม.	7 (7%)	5 (9.2%)	2 (4.3%)	0.31
• 1.1-2 ซม.	25 (25%)	14 (25.9%)	11 (23.9%)	
• 2.1-5 ซม.	55 (55%)	31 (57.4%)	24 (52.1%)	
• > 5 ซม.	8 (8%)	2 (3.7%)	6 (13%)	
ระดับการลุกลามต่อมน้ำเหลือง (จำนวน;%)				
• ระดับที่ 0 (N0)	50 (50%)	30 (55.5%)	20 (43.5%)	0.04
• ระดับที่ 1 (N1, 1-3 ต่อมน้ำเหลือง)	25 (25%)	17 (31.5%)	8 (17.4%)	
• ระดับที่ 2 (N2, 4-9 ต่อมน้ำเหลือง)	13 (13%)	4 (7.5%)	9 (19.6%)	
• ระดับที่ 3 (N3, ≥10 ต่อมน้ำเหลือง)	10 (10%)	3 (5.5%)	7 (15.2%)	
ตับรับสัญญาณฮอร์โมน (จำนวน;%)				
• ตัวรับสัญญาณเอสโตรเจนเป็นบวกและ/หรือตัวรับสัญญาณโปรเจสเตอโรนเป็นบวกหรือลบ	45 (45%)	26 (48.1%)	19 (41.3%)	0.49

CHULALONGKORN UNIVERSITY

• ตัวรับสัญญาณเอสโตรเจนเป็นลบและ/หรือตัวรับสัญญาณโปรเจสเตอโรนเป็นลบ	55 (55%)	28 (51.9%)	27 (58.7%)	

ข้อมูลทั่วไปของผู้ป่วย (ต่อ)	ผู้ป่วยทั้งหมด 100 คน	กลุ่มไม่กลับเป็นซ้ำ จำนวน 54 คน	กลุ่มกลับเป็นซ้ำ จำนวน 46 คน	P value
การลุกามไปยังเส้นน้ำเหลืองและหลอดเลือด (LVI) (จำนวน;%)				
• มีการลุกลาม	43 (43%)	18 (33.3%)	25 (54.3%)	0.11
• ไม่มีการลุกลาม	41 (41%)	26 (48.1%)	15 (32.6%)	
• ไม่พบรายงาน	16 (16%)	10 (18.6%)	6 (13.1%)	
ค่าการแบ่งตัวมะเร็ง เคไอ-67 (จำนวน;%)				0.61
• < 14	7 (7%)	4 (7.4%)	3 (6.5%)	
• ≥ 14	86 (86%)	45 (83.3%)	41 (89.1%)	
ประเภทของการผ่าตัด (จำนวน;%)				0.57
• การผ่าตัดเอาเต้านมออกหมด	68 (68%)	34 (62.9%)	34 (73.9%)	
• การผ่าตัดแบบอนุรักษ์เต้านม	28 (28%)	17 (31.5%)	11 (23.9%)	
• การผ่าตัดเอาเต้านมออกและเสริมเต้านมใหม่	3 (3%)	2 (3.7%)	1 (2.2%)	
การรักษาเสริมด้วยยาเคมีบำบัด (จำนวน;%)				0.04
• ได้รับยาก่อนการผ่าตัด	25 (25%)	9 (16.7%)	16 (34.8%)	
• ได้รับยาหลังการผ่าตัด	74 (74%)	45 (83.3%)	29 (63%)	
• ไม่ได้รับยาเคมีบำบัด	1 (1%)	0	1 (2.2%)	
การรักษาเสริมด้วยยา Trastuzumab (จำนวน;%)				0.93
• ได้รับ	57 (57%)	31 (57.4%)	26 (56.5%)	
• ไม่ได้รับ	43 (43%)	23 (42.6%)	20 (43.5%)	

การรักษาเสริมด้วยยาต้านฮอร์โมน (จำนวน;%)				0.21
● **ได้รับ**	45 (45%)	28 (51.8%)	17 (36.9%)	
● **ไม่ได้รับ**	54 (54%)	26 (48.1%)	28 (60.9%)	
การรักษาเสริมด้วยรังสีรักษาหลังการผ่าตัด (จำนวน;%)				0.49
● **ได้รับ**	75 (75%)	39 (72.2%)	36 (78.3%)	
● **ไม่ได้รับ**	25 (25%)	15 (27.8%)	10 (21.7%)	

LVI = Lymphovascular invasion

ตาราง 6แสดงระดับปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวลิมป์โฟไซต์ (Stromal TILs)

ระดับปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวลิมป์โฟไซต์ (%Stromal TILs)	**ผู้ป่วยทั้งหมด 100 คน**	**กลุ่มไม่กลับเป็นซ้ำ จำนวน 54 คน**	**กลุ่มกลับเป็นซ้ำ จำนวน 46 คน**	**P value**
ต่ำ (0-15%)	39 (39%)	16 (41%)	23 (59%)	0.03
ปานกลาง (20-40%)	47 (47%)	28 (59.6%)	19 (40.4%)	
สูง (50-90%)	14 (14%)	10 (71.4%)	4 (28.6%)	

โดยเมื่อมาพิจารณาระดับ stromal TILs ในกลุ่มผู้ป่วย HER-2 ที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนและไม่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนนั้น พบว่าในกลุ่มที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมน มีระดับ stromal TILs มัธยฐานต่ำกว่ากลุ่มที่ไม่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมน คือ 15% และ 30% ตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์แบ่งตามการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านม พบว่าในกลุ่มที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมน ระดับ stromal TILs มัธยฐานของกลุ่มที่มีการกลับเป็นซ้ำมีความแตกต่างกันกับกลุ่มที่ไม่มีการกลับเป็นซ้ำเล็กน้อย คือ 19.5% และ 24.6% ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันกับกลุ่มที่ไม่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมน โดยพบว่าในกลุ่มที่มีการกลับเป็นซ้ำนั้น มีระดับ stromal TILs มัธยฐานมีความแตกต่างกันกับกลุ่มที่ไม่มีการกลับเป็นซ้ำชัดเจน คือ 23.2% และ 34.1% ตามลำดับ

4.3 ผลเปรียบเทียบปัจจัยที่ศึกษา

จากข้อมูลดังกล่าวข้างต้น พบว่าปัจจัยที่มีผลต่อการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยการทำ Univariate analysis ได้แก่ ขนาดของก้อนมะเร็ง, การลุกลามต่อม

น้ำเหลือง, ระดับของพยาธิวิทยา, การได้รับการรักษาเสริมด้วยยา Trastuzumab และระดับปริมาณ Stromal TILs ที่สูง ส่วนปัจจัยที่มีผลต่อการเสียชีวิตของมะเร็งเต้านมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ได้แก่ การลุกลามต่อมน้ำเหลือง, ระดับของพยาธิวิทยา ดังตารางที่ 7

เมื่อนำปัจจัยที่มีผลต่อการกลับเป็นซ้ำและการเสียชีวิตของมะเร็งเต้านมดังกล่าวมาวิเคราะห์ต่อด้วย Multivariate analysis พบว่าปัจจัยที่มีผลต่อการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ได้แก่ ระดับปริมาณ Stromal TILs ที่สูงและการได้รับการรักษาเสริมด้วยยา Trastuzumab ส่วนปัจจัยที่มีผลต่อการเสียชีวิตของมะเร็งเต้านมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ได้แก่ การลุกลามต่อมน้ำเหลือง ดังตารางที่ 8

ตาราง 7 แสดงปัจจัยที่มีผลต่อการกลับเป็นซ้ำและการเสียชีวิตของมะเร็งเต้านมโดยการวิเคราะห์แบบ Univariate analysis

ปัจจัยทางคลินิกและพยาธิวิทยา	**โอกาสปลอดจากโรค**			**โอกาสรอดชีวิต**		
	HR	95% CI	P value	HR	95% CI	P value
ขนาดของก้อนมะเร็ง	1.0	1.00-1.001	0.03	1.0	0.99-1.00	0.06
การลุกลามต่อมน้ำเหลือง	1.0	1.00-1.001	<0.01	1.0	1.001-1.002	<0.01
ระดับของพยาธิวิทยา	1.1	0.99-1.17	0.05	1.13	1.02-1.26	0.02
การลุกลามไปยังเส้นน้ำเหลือง และหลอดเลือด	1.01	0.96-1.07	0.61	1.02	0.94-1.11	0.67
การมีตัวรับสัญญาณเอสโตรเจนหรือโปรเจสโตรเจน	1.17	0.92-1.49	0.19	1.21	0.87-1.67	0.25
ค่าการแบ่งตัวเคไอ-67	1.0	0.99-1.00	0.72	1.0	0.99-1.01	0.73
การได้รับยา Trastuzumab	0.38	0.25-0.58	<0.01	0.89	0.49-1.61	0.71
ระดับปริมาณ Stromal TILs	0.53	0.33-0.85	<0.01	0.92	0.45-1.87	0.82

HR = Hazard ratio, 95% CI = 95% Confident interval

ตาราง 8 แสดงปัจจัยที่มีผลต่อการกลับเป็นซ้ำและการเสียชีวิตของมะเร็งเต้านมโดยการวิเคราะห์แบบ Multivariate analysis

ปัจจัยทางคลินิกและพยาธิวิทยา	โอกาสปลอดจากโรค			โอกาสรอดชีวิต		
	HR	95% CI	P value	HR	95% CI	P value
ขนาดของก้อนมะเร็ง	1.0	0.99-1.00	0.85	0.99	0.99-1.00	0.59
การลุกลามต่อมน้ำเหลือง	1.0	0.99-1.00	0.07	1.00	1.001-1.003	0.002
ระดับของพยาธิวิทยา	1.02	0.93-1.13	0.65	1.07	0.93-1.24	0.32
การลุกลามไปยังเส้นน้ำเหลือง และหลอดเลือด	0.97	0.91-1.04	0.43	0.95	0.85-1.05	0.321
การมีตัวรับสัญญาณเอสโตรเจนหรือโปรเจสโตรเจน	1.02	0.81-1.29	0.84	1.01	0.71-1.43	0.965
ค่าการแบ่งตัวเคไอ-67	0.99	0.99-1.00	0.76	0.99	0.99-1.00	0.91
การได้รับยา Trastuzumab	0.39	0.25-0.61	<0.01	0.96	0.54-1.71	0.89
ระดับปริมาณ TILs	0.52	0.32-0.85	0.01	0.93	0.44-1.98	0.86

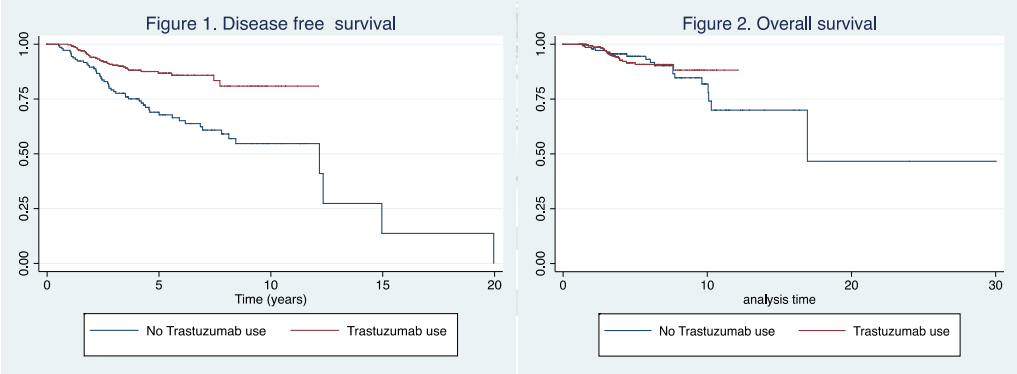
HR = Hazard ratio, 95% CI = 95% Confident interval

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

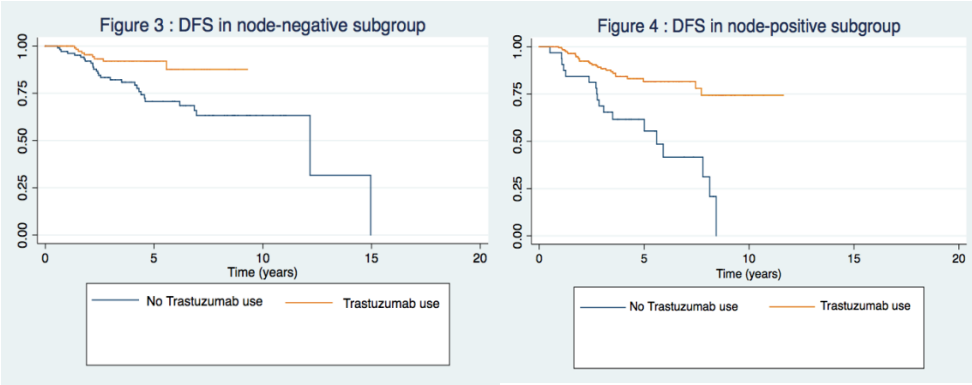
การศึกษาวิเคราะห์ข้อมูลการรอดชีพ **(Survival analysis)** ของประชากรศึกษาทั้งหมด

การศึกษาผลของการให้การรักษาเสริมด้วยยา Trastuzumab ต่อโอกาสปลอดโรคจากการกลับเป็นซ้ำและโอกาสการรอดชีวิตของมะเร็งเต้านมที่มีตัวรับสัญญาณ HER-2 พบว่าในกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับยา Trastuzumab มีโอกาสปลอดโรคมะเร็งเต้านมที่ 5 ปีอยู่ที่ร้อยละ 86.8 (ค่าความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เท่ากับร้อยละ 81.9-90.4), ในกลุ่มผู้ป่วยที่ไม่ได้รับการยา Trastuzumab และในกลุ่มผู้ป่วยที่ศึกษาทั้งหมดมีโอกาสปลอดโรคมะเร็งเต้านมที่ 5 ปีอยู่ที่ร้อยละ 69 (ค่าความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เท่ากับร้อยละ 59.9-76.4) และ 80.9 (ค่าความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เท่ากับร้อยละ 76.5-84.5) ตามลำดับ ในส่วนของโอกาสการรอดชีวิตพบว่าในกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการยา Trastuzumab มีโอกาสรอดชีวิตของมะเร็งเต้านมที่ 5 ปีอยู่ที่ร้อยละ 91.5 (ค่าความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เท่ากับ ร้อยละ 87.1-94.5), ในกลุ่มผู้ป่วยที่ไม่ได้รับการยา Trastuzumab และในกลุ่มผู้ป่วยที่ศึกษาทั้งหมดมีโอกาสรอดชีวิตของมะเร็งเต้านมที่ 5 ปีอยู่ที่ร้อยละ 94.5 (ค่าความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เท่ากับร้อยละ 88.8-97.4) และ 92.6 (ค่าความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เท่ากับร้อยละ 89.4-94.9) ตามลำดับ ดังรูปภาพที่ 5

เมื่อศึกษาเฉพาะกลุ่มผู้ป่วยที่มีโรคลุกลามไปยังต่อมน้ำเหลือง พบว่าการให้การรักษาเสริมด้วยยา Trastuzumab สามารถเพิ่มโอกาสปลอดโรคจากการกลับเป็นซ้ำ โดยในกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับยา Trastuzumab มีโอกาสปลอดโรคมะเร็งเต้านมที่ 5 ปีอยู่ที่ร้อยละ 83.6 (ค่าความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เท่ากับ ร้อยละ 76.6-88.6), ในกลุ่มผู้ป่วยที่ไม่ได้รับการยา Trastuzumab และในกลุ่มผู้ป่วยที่มีโรคลุกลามไปยังต่อมน้ำเหลือง ทั้งหมดมีโอกาสปลอดโรคมะเร็งเต้านมที่ 5 ปีอยู่ที่ร้อยละ 62.5 (ค่าความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เท่ากับร้อยละ 43.5-76.7) และ 80.4 (ค่าความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เท่ากับร้อยละ 73.9-85.5) ตามลำดับ เช่นเดียวกันกับกลุ่มผู้ป่วยที่ไม่มีโรคลุกลามไปยังต่อมน้ำเหลือง พบว่าผู้ป่วยยังได้ประโยชน์จากการรักษาเสริมด้วยยา Trastuzumab โดยในกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับยา Trastuzumab มีโอกาสปลอดโรคมะเร็งเต้านมที่ 5 ปีอยู่ที่ร้อยละ 92.8 (ค่าความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เท่ากับร้อยละ 86.1-96.3), ในกลุ่มผู้ป่วยที่ไม่ได้รับการยา Trastuzumab และในกลุ่มผู้ป่วยที่ไม่มีโรคลุกลามไปยังต่อมน้ำเหลืองทั้งหมดมีโอกาสปลอดโรคมะเร็งเต้านมที่ 5 ปีอยู่ที่ ร้อยละ 72.9 (ค่าความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เท่ากับร้อยละ 61.9-81.2, p value 0.02) และ 82.9 (ค่าความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เท่ากับร้อยละ 76.4-86.7) ตามลำดับ ดังรูปภาพที่ 6



รูปภาพ 5 แสดงโอกาสปลอดโรคและโอกาสรอดชีวิตของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่ได้รับการรักษาเสริมด้วยยา ***Trastuzumab***

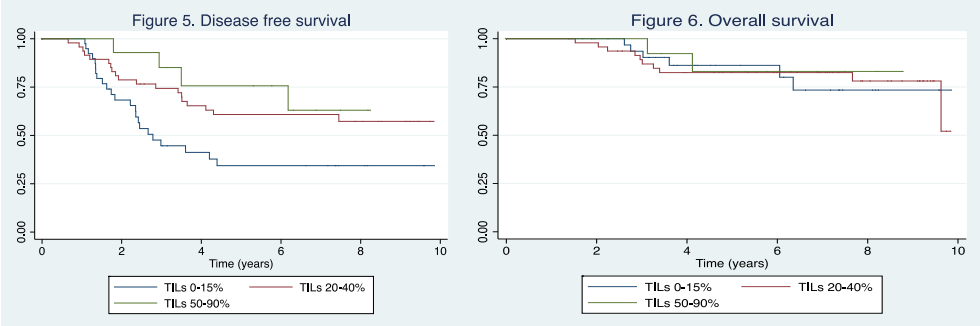


รูปภาพ 6 แสดงโอกาสปลอดโรคของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมเฉพาะกลุ่มที่ไม่มีการลุกลามและมีการลุกลามไปยังต่อมน้ำเหลืองที่ได้รับการรักษาเสริมด้วยยา ***Trastuzumab (p = 0.02)***

ในส่วนของระดับปริมาณ Stromal TILs ต่อโอกาสปลอดโรคจากการกลับเป็นซ้ำและโอกาสการรอดชีวิตของมะเร็งเต้านมที่มีตัวรับสัญญาณ HER-2 พบว่าในกลุ่มผู้ป่วยที่มีระดับปริมาณ Stromal TILs สูงจะมีโอกาสปลอดโรคมะเร็งเต้านมที่ 5 ปีอยู่ที่ร้อยละ 75.7 (ค่าความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เท่ากับ ร้อยละ 41.3-91.6), ในกลุ่มผู้ป่วยที่มีระดับปริมาณ Stromal TILs ปานกลางและในกลุ่มผู้ป่วยที่มีระดับปริมาณ Stromal TILs ต่ำมีโอกาสปลอดโรคมะเร็งเต้านมที่ 5 ปีอยู่ที่ร้อยละ 60.8 (ค่าความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เท่ากับร้อยละ 45.2-73.3) และ 34.3 (ค่าความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เท่ากับร้อยละ 18.9-50.3) ตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์เฉพาะในกลุ่มผู้ป่วยที่ไม่มีโรคลุกลามไปยังต่อมน้ำเหลืองร่วมกับการที่ได้รับและไม่ได้รับการรักษาเสริมด้วยยา Trastuzumab พบว่าในกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับยา Trastuzumab ผู้ป่วยที่มีระดับปริมาณ Stromal TILs สูงจะมีโอกาสปลอดโรคมะเร็งเต้านมที่ 3 ปีอยู่ที่ร้อยละ 100, ในกลุ่มผู้ป่วยที่มีระดับปริมาณ Stromal TILs ปานกลาง และในกลุ่มผู้ป่วยที่มีระดับปริมาณ Stromal TILs ต่ำ มีโอกาสปลอดโรคมะเร็งเต้านมที่ 3 ปีอยู่ที่ร้อยละ 80 และ 100 ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างชัดเจนกับกลุ่มผู้ป่วยที่ไม่ได้รับยา Trastuzumab ผู้ป่วยที่มีระดับปริมาณ Stromal TILs สูง จะมีโอกาสปลอดโรคมะเร็งเต้านมที่ 3 ปีอยู่ที่ร้อยละ 100 ซึ่งสูงกว่าในกลุ่มผู้ป่วยที่มีระดับปริมาณ Stromal TILs ปานกลาง และในกลุ่มผู้ป่วยที่มีระดับปริมาณ Stromal TILs ต่ำมีโอกาสปลอดโรคมะเร็งเต้านมที่ 3 ปีอยู่ที่ร้อยละ 62.3 และ 35.2 ตามลำดับ

ในส่วนของโอกาสการรอดชีวิตพบว่าในกลุ่มผู้ป่วยที่มีระดับปริมาณ Stromal TILs สูงจะมีโอกาสรอดชีวิตของมะเร็งเต้านมที่ 5 ปีอยู่ที่ร้อยละ 83.1 (ค่าความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เท่ากับ ร้อยละ 47.2-95.5), ในกลุ่มผู้ป่วยที่มีระดับปริมาณ Stromal TILs ปานกลางและในกลุ่มผู้ป่วยที่มีระดับปริมาณ Stromal TILs ต่ำมีโอกาสปลอดโรคมะเร็งเต้านมที่ 5 ปีอยู่ที่ร้อยละ 82.5 (ค่าความเชื่อมั่น

ร้อยละ 95 เท่ากับร้อยละ 67.9-90.8) และ 86.2 (ค่าความ เชื่อมั่นร้อยละ 95 เท่ากับร้อยละ 67.1-94.6) ตามลำดับ ดังรูปภาพที่ 7



*รูปภาพ 7 แสดงโอกาสปลอดโรคและโอกาสรอดชีวิตของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมโดยแยกตามระดับปริมาณ **Stromal TILs***

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทที่ 5

อภิปรายผล สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

5.1 อภิปรายผล

การศึกษานี้ได้จัดทำขึ้นเพื่อศึกษาการพยากรณ์โอกาสการกลับเป็นซ้ำในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมชนิดที่มีตัวรับสัญญาณ HER-2 ระยะแรกหลังจากที่ได้รับการผ่าตัด โดยใช้ระดับปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวลิมป์โฟไซต์ (TILs)ที่ตรวจได้จากชิ้นเนื้อร่วมกับข้อมูลคลินิกและพยาธิวิทยา จากการศึกษาพบว่ามีผู้ป่วยทั้งหมดจำนวน 486 คนที่ได้รับการวินิจฉัยในช่วงระหว่าง มกราคม 2548 ถึงเดือนธันวาคม 2559 เครื่องมือที่ใช้ในการเก็บรวบรวมข้อมูลประกอบด้วย แบบบันทึกข้อมูลพื้นฐานทั่วไป ข้อมูลทางพยาธิวิทยา ข้อมูลการรักษาและการกลับเป็นซ้ำ รวมถึงชิ้นเนื้อมะเร็งเต้านมที่เก็บไว้ในพาราฟินบล็อค มีพยาธิแพทย์เป็นผู้ประเมินระดับปริมาณ TILs ผลการศึกษาพบว่าหลังจากติดตามผู้ป่วย 4.1 ปี มีผู้ป่วยที่มีการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านม 92 คน คิดเป็นร้อยละ 18.9 ส่วนใหญ่เป็นการกลับเป็นซ้ำ เป็นลักษณะการแพร่กระจายลุกลายไปอวัยวะอื่น คิดเป็นร้อยละ 67.4 โดยพบว่าผู้ป่วยที่มีการกลับเป็นซ้ำ มีอายุเฉลี่ย 49 ปี, เป็นผู้ป่วยระยะ IIA, มีขนาดก้อนมะเร็งระยะที่ 2 (2.1-5ซม.), มีระดับพยาธิวิทยาเกรด III ส่วนใหญ่เป็นกลุ่มไม่มีการลุกลามไปยังต่อมน้ำเหลือง แต่มีการลุกลามไปยังเส้นน้ำเหลืองและหลอดเลือด และมีค่าการแบ่งตัวของมะเร็งเคไอ-67 มาก รวมถึงเป็นกลุ่มที่ไม่ได้รับยา Trastuzumab ซึ่งเมื่อนำมา วิเคราะห์ด้วย univariate พบว่าปัจจัยที่มีผลต่อการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านมอย่างมีนัยสำคัญทาง สถิติได้แก่ ขนาดของก้อนมะเร็ง, การลุกลามไปยังต่อมน้ำเหลือง, ระดับของพยาธิวิทยา และการได้รับยา Trastuzumab แต่อย่างไรก็ตามเมื่อทำการวิเคราะห์ด้วย multivariate พบว่าการได้รับยา Trastuzumab เป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านมในผู้ป่วยกลุ่มนี้ โดยสามารถลดโอกาสการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติได้ถึงร้อยละ 61 ซึ่งพบว่าผลการศึกษามีความใกล้เคียงกับการศึกษา retrospective study อื่น เช่น การศึกษา RETROHER (45) ที่ทำการศึกษาผู้ป่วยมะเร็ง เต้านมชนิดที่มีตัวรับสัญญาณ HER-2 ระยะแรกจำนวน 925 คนในประเทศอิตาลี พบว่ามีผู้ป่วยที่มี การกลับเป็นซ้ำรวมคิดเป็นร้อยละ 21 โดยปัจจัยที่มีผลต่อการกลับเป็นซ้ำในผู้ป่วยเมื่อวิเคราะห์ด้วย multivariate ได้แก่ อายุน้อยกว่า 55 ปี, ผู้ป่วยระยะ III, การได้รับยาต้านฮอร์โมน และการได้รับยา Trastuzumab หรือในการศึกษา retrospective study ที่ทำการศึกษาผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะแรกในประเทศ แคนาดา (46) ทั้งหมด 503 คนโดยมีผู้ป่วยมะเร็งเต้านมชนิดที่มีตัวรับสัญญาณ HER-2 จำนวน 94 คน พบว่าผู้ป่วยที่ได้รับยา Trastuzumab มีระยะปลอดโรคจากการกลับเป็นซ้ำมากกว่าผู้ป่วยที่ไม่ได้รับยาอย่าง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

มีนัยสำคัญทางสถิติเช่นเดียวกัน

เมื่อวิเคราะห์แยกเฉพาะผู้ป่วยที่ไม่มีการลุกลามไปต่อมน้ำเหลือง พบว่าการให้การรักษาเสริมด้วยยา Trastuzumab สามารถเพิ่มโอกาสปลอดโรคจากการกลับเป็นซ้ำเช่นเดียวกัน แต่อย่างไรก็ตาม ในการศึกษานี้ยังไม่ได้วิเคราะห์แยกในเรื่องขนาดของก้อนมะเร็งเพิ่มเติมในผู้ป่วยกลุ่มนี้ ซึ่งคำแนะนำจากเครือข่ายมะเร็งแห่งชาติของอเมริกาและสมาคมมะเร็งวิทยาแห่งยุโรปแนะนำให้ยา Trastuzumab ในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่มีตัวรับสัญญาณ HER-2 ระยะแรกที่มีขนาดของก้อนมะเร็งเต้านมที่น้อยกว่า 1 ซม. แม้จะยังไม่มีการลุกลามไปที่ต่อมน้ำเหลือง แต่เป็นคำแนะนำระดับ category 2A เนื่องจากไม่มีการศึกษาที่เป็น randomized control trial ในผู้ป่วยกลุ่มนี้ชัดเจน

ในส่วนของคำถามหลักของการวิจัยคือการใช้ระดับปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวลิมป์โฟไซต์ (TILs) ที่อยู่บนเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านมที่มีตัวรับสัญญาณ HER-2 เพื่อช่วยประเมินการพยากรณ์โอกาสการกลับเป็นซ้ำของโรคมะเร็งเต้านมนั้น โดยในการศึกษานี้ใช้วิธีการประเมินระดับ Stromal TILs เนื่องจากสามารถประเมินได้ง่ายกว่าระดับ intratumoral TILs โดยใช้เป็นข้อมูลเชิงปริมาณต่อเนื่อง (Continuous data) ซึ่งอ้างอิงจาก Standardized methodology ตาม Recommendations by an International TILs Working Group 2014 (11) โดยมีพยาธิแพทย์เป็นผู้ตรวจสอบหลัก 1 ท่าน ใช้วิธีทำการย้อมสีมาตรฐานฮีมาทอกซิลินและอีโอซินจากบล็อกชิ้นเนื้อ ซึ่งเป็นวิธีที่ทำได้ง่ายและสะดวก อย่างไรก็ตาม พบว่ายังมีวิธีอื่นที่สามารถใช้ประเมิน TILs ได้เช่น การตรวจด้วยวิธีการย้อมพิเศษ immunohistochemistry โดยใช้ T cell marker เช่น CD3, CD4, CD8 หรือ FOXP3, การทำ Flow cytometry (47), การทำ Gene expression analysis โดยใช้วิธี Quantitative PCR หรือจากการทำ Tissue microarray (42, 48) เป็นต้น โดยจากผลการศึกษาในผู้ป่วย 100 คน พบว่าในกลุ่มผู้ป่วยที่มีการกลับเป็นซ้ำ มีระดับ Stromal TILs เฉลี่ยมัธยฐานต่ำกว่าเมื่อเทียบกับกลุ่มผู้ป่วยที่ไม่มีการกลับเป็นซ้ำ และเมื่อวิเคราะห์แยกผู้ป่วยตามระดับ Stromal TILs โดยแบ่งเป็นสามกลุ่มตามระดับปริมาณ Stromal TILs พบว่าผู้ป่วยส่วนใหญ่ คิดเป็นร้อยละ 47 มีระดับ Stromal TILs ปานกลาง (20-40%) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ โดยพบว่าผู้ป่วยที่มีระดับ Stromal TILs ต่ำ มีการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านมมากที่สุด และในผู้ป่วยที่มีระดับ Stromal TILs สูง หรือ LPBC ซึ่งในการศึกษานี้พบ 14 คน คิดเป็นร้อยละ 14 โดยกลุ่มนี้พบว่ามีการกลับเป็นซ้ำน้อยที่สุด คือเป็นกลุ่มที่มีพยากรณ์โรคที่ดีสุด และเมื่อมาพิจารณาระดับ stromal TILs แยกในกลุ่มผู้ป่วยที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนและไม่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนนั้น พบว่าในกลุ่มที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมน มีระดับ stromal TILs มัธยฐานต่ำกว่ากลุ่มที่ไม่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมน คือ 15% และ 30% ตามลำดับ เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ด้วยวิธี univariate และ multivariate พบว่าระดับ stromal TILs ที่สูงเป็น

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ปัจจัยพยากรณ์โรคในการลดการกลับเป็นซ้ำ โดยสามารถลดโอกาสการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติได้ถึงร้อยละ 48 แต่อย่างไรก็ตามพบว่าระดับ Stromal TILs ไม่มีผลกับอัตราการรอดชีวิตของผู้ป่วยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบข้อมูลการศึกษาก่อนหน้านี้ ได้แก่ BIG 02-98 (8) ซึ่งเป็นการศึกษา RCT เปรียบเทียบการรักษาระหว่าง Adjuvant chemotherapy สูตรยา Anthracycline-based ในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะแรกที่มีการลุกลามไปต่อมน้ำเหลืองทั้งหมด 2,009 คนโดยมีผู้ป่วยกลุ่มที่มีตัวรับสัญญาณ HER-2 จำนวน 297 คน การศึกษานี้มีการศึกษาระดับ TILs เพิ่มเติมเป็น retrospective study เพื่อใช้เป็นปัจจัยทำนายและพยากรณ์โรค โดยใช้วิธีทำการย้อมสีมาตรฐานฮีมาทอกซิลินและอีโอซิน แต่ในการศึกษานี้มีการประเมินระดับ TILs ทั้งในส่วน intratumoral และ stromal TILs และให้คำจำกัดความของ LPBC คือปริมาณของ Stromal TILs มากกว่า 50% และวิเคราะห์ดูความสัมพันธ์แบ่งเป็น 2 กลุ่มคือ LPBC และ non-LPBC โดยผลการศึกษา พบว่าระดับ Stromal TILs มีความสัมพันธ์กับระยะเวลาปลอดจากโรค (p = 0.042) และอัตราการรอดชีวิตที่เพิ่มขึ้น (p = 0.018) ในผู้ป่วยที่มีตัวรับสัญญาณ HER-2 ที่ได้รับยาเคมีบำบัดกลุ่ม Anthracycline อย่างมีนัยสำคัญ แต่อย่างไรก็ตาม ในการศึกษานี้ทั้ง intratumoral และ stromal TILs ไม่ได้เป็นปัจจัยพยากรณ์โรค ในกลุ่มผู้ป่วยที่มีตัวรับสัญญาณ HER-2 และผู้ป่วยในการศึกษานี้ยังไม่ได้การรักษาด้วย Trastuzumab เนื่องจากในขณะนั้นยังไม่ได้เป็น standard of care นอกจากนี้มีการศึกษา FinHER (22) ซึ่งทำการศึกษาผู้ป่วยกลุ่ม triple negative จำนวน 134 คนและกลุ่มที่มีตัวรับสัญญาณ HER-2 จำนวน 232 คนที่ได้รับการรักษาด้วยยา Trastuzumab ทำการประเมินทั้ง intratumoral และ stromal TILs ด้วยวิธีทำการย้อมสีมาตรฐานฮีมาทอกซิลินและอีโอซินเช่นเดียวกัน โดยใช้ระดับ TILs เป็น continuous data จากผลการศึกษาพบว่าทุกๆ 10% ของระดับ stromal TILs ที่เพิ่มขึ้นสามารถเพิ่มอัตราการปลอดจากการแพร่กระจายของโรคได้ถึงร้อยละ 18 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p = 0.025) รวมถึงการศึกษาของ Dieci และคณะ (40) ได้ทำการศึกษาระดับ TILs ในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมทั้งหมดจำนวน 816 คน ที่ได้รับการรักษาเสริมด้วยยาเคมีบำบัดสูตร Antracyclines based เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับการรักษาเสริมด้วยยาเคมีบำบัด โดยมีผู้ป่วยที่มีตัวรับสัญญาณHER-2 จำนวน 112 คน โดยจากการวิเคราะห์ด้วยวิธี Multivariate พบว่า ทุกๆ 10% ของระดับ intratumoral และ stromal TILs ที่เพิ่มขึ้นสามารถเพิ่มอัตราการรอดชีวิตได้ร้อยละ 15 (p = 0.003) และร้อยละ 11 (p = 0.005) ตามลำดับ นอกจากนี้ยังมีการศึกษา N 9831 ซึ่งจัดทำโดย Perez และคณะ (20) ศึกษาความสัมพันธ์ของระดับ Stromal TILs กับระยะเวลาการปลอดจากโรคในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่มีตัวรับสัญญาณHER-2 จำนวน 3505 คน ที่ได้รับการรักษาเสริมด้วยยาเคมีบำบัดสูตร Doxorubicin, Cyclophosphamide และPaclitaxel (ACT) กับการใช้ยาเคมีบำบัดสูตร ACT เพิ่มเติมด้วย Trastuzumab ทุกสัปดาห์เป็นเวลา 1 ปี (ACTH) โดยในการศึกษานี้ประเมินระดับ Stromal TILs

ด้วยการย้อมสีมาตรฐานฮีมาทอกซิลินและอีโอซิน ใช้ระดับ TILs เป็น continuous data ตั้งแต่ 0-100% ในการศึกษานี้ให้คำนิยามของ LPBC ที่มีระดับปริมาณ Stromal TILs ที่มากกว่าหรือเท่ากับ 60% พบว่าผู้ป่วยส่วนใหญ่เกือบร้อยละ 60 มีปริมาณ Stromal TILs อยู่ระหว่าง 0 ถึง 19% มีเพียงร้อยละ10 ของผู้ป่วยที่เป็น LPBC และผลการศึกษาพบว่าในกลุ่มผู้ป่วยที่เป็น LPBC มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับระยะเวลาการปลอดจากโรคที่เพิ่มขึ้นในกลุ่มผู้ป่วยที่ไม่ได้การรักษาเสริมด้วยยา Trastuzumab

ในส่วนของผลการศึกษาดูความสัมพันธ์ของระดับ TILs กับการที่ก้อนมะเร็งมีการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบสมบูรณ์ (Pathological complete response; pCR) ต่อการรักษาในกรณีให้ยาก่อนผ่าตัด (Neoadjuvant chemotherapy) โดยก่อนหน้านี้มีการศึกษา NeoALTTO trial(40) ศึกษาในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมกลุ่มที่มีตัวรับสัญญาณ HER-2 455 คน เนื่องจากในการศึกษานี้มีผู้ป่วยเพียงร้อยละ 10.6 ของผู้ป่วยทั้งหมดที่อยู่ในกลุ่ม LPBC ผู้ทำการศึกษาจึงไม่ได้วิเคราะห์แบ่งเป็น 2 กลุ่ม เหมือนดังการศึกษาที่กล่าวมาข้างต้น จากการศึกษานี้พบว่า ระดับ TILs ที่มากกว่า 5% มีความสัมพันธ์กับการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบสมบูรณ์ (pCR) (adjusted odds ratio, 2.60, p = 0.01) และพบว่าทุกๆ 1% ของระดับ TILs ที่เพิ่มขึ้นมีความสัมพันธ์ในการลดอัตราการกลับเป็นซ้ำได้ร้อยละ 3 โดยมี adjusted hazard ratio = 0.97 (p = 0.002) ในทุกกลุ่มผู้ป่วย เช่นเดียวกันกับการศึกษา GeparSixto ซึ่งจัดทำโดย Denkert และคณะ (42) ทำศึกษาในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมกลุ่มที่มีตัวรับสัญญาณ HER-2 จำนวน 266 คนและผู้ป่วยมะเร็งเต้านมกลุ่ม Tripple negative จำนวน 314 คน โดยศึกษาผลของการเพิ่มยาเคมีบำบัดก่อนการผ่าตัด โดยเพิ่มยา Carboplatin ในสูตร Anthracycline และ Taxane-based เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับยาสูตร Anthracycline และ Taxane-based โดยประเมินดูระดับ TILs และการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบสมบูรณ์ (pCR) ศึกษาทั้ง intratumoral และ stromal TILs ด้วยการย้อมสีมาตรฐานฮีมาทอกซิลินและอีโอซิน ใช้ระดับ TILs เป็น continuous data แบ่งผู้ป่วยเป็นสองกลุ่มคือ LPBC และ Non-LPBC ในการศึกษานี้ให้คำนิยามของ LPBC ที่มีระดับปริมาณ Stromal TILs ที่มากกว่าหรือเท่ากับ 60% พบว่ามีผู้ป่วยที่เป็น LPBC คิดเป็นร้อยละ 24.5 ของผู้ป่วยทั้งหมด โดยในผู้ป่วยกลุ่มนี้มีการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบสมบูรณ์ คิดเป็นร้อยละ 59.9 เมื่อเทียบกับกลุ่มผู้ป่วยที่เป็น Non-LPBC คิดเป็นร้อยละ 33.8 (p = 0.001) และจากการวิเคราะห์ด้วยวิธี Multivariate พบว่า LPBC มีความสัมพันธ์เป็นปัจจัยทำนายการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบสมบูรณ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Odd ratio 2.66, p < 0.001) อย่างไรก็ตาม ในการศึกษาที่จัดทำขึ้นนี้พบว่ามีผู้ป่วยที่ได้รับยาเคมีบำบัดก่อนการผ่าตัดมีทั้งหมด 95 คน คิดเป็นร้อยละ 19 ของผู้ป่วยทั้งหมด และพบว่ามีผู้ป่วยที่มีการตอบสนองอย่างสมบูรณ์เมื่อตรวจทางพยาธิวิทยา (pCR) เพียง 6 คน (ร้อยละ 6.3) เท่านั้น และมีปัญหาในการประเมินระดับ TILs จากบล็อคชิ้นเนื้อ จึงไม่สามารถประเมินสรุปความสัมพันธ์นี้ได้ชัดเจน

จะเห็นได้ว่าการศึกษาหลายการศึกษาที่ได้กล่าวมาข้างต้นพบว่าระดับ Stromal TILs จัดเป็นปัจจัยพยากรณ์โอกาสการกลับเป็นซ้ำของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมโดยเฉพาะกลุ่มผู้ป่วยชนิดที่มีตัวรับสัญญาณ HER-2 และกลุ่มผู้ป่วย Tripple negative ส่วนในกลุ่มผู้ป่วยชนิดที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนนั้น ในหลายการศึกษาที่ผ่านมาและจากการศึกษานี้พบว่า ในผู้ป่วยกลุ่มนี้ มีระดับ stromal TILs มัธยฐานของกลุ่มที่มีการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านม ไม่แตกต่างกันกับกลุ่มที่ไม่มีการกลับเป็นซ้ำ ซึ่งต่างกับกลุ่มผู้ป่วยที่ไม่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมน ดังนั้นในกลุ่มผู้ป่วยชนิดที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมน หรือกลุ่มคล้ายลูมินอลเอ (Luminal A-like) ระดับ Stromal TILs อาจไม่มีความสัมพันธ์กับโอกาสปลอดโรคและโอกาสรอดชีวิตของผู้ป่วย และไม่สามารถใช้เป็นปัจจัยพยากรณ์โรคในกลุ่มผู้ป่วยชนิดนี้ได้

5.2 สรุปผลการวิจัย

ระดับปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวลิมป์โฟไซต์ (TILs) ที่ตรวจได้จากชิ้นเนื้อที่สูงและการได้รับการรักษาเสริมด้วยยา Trastuzumab สามารถเป็นปัจจัยพยากรณ์โอกาสการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านมชนิดที่มีตัวรับสัญญาณ HER-2 ระยะแรกได้

5.3 ข้อดีของการศึกษานี้

เป็นการศึกษาแรกของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมชนิดที่มีตัวรับสัญญาณ HER-2 ระยะแรกในประเทศไทย ที่มีการวิเคราะห์ปัจจัยที่มีผลต่อการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านม เนื่องจากเป็นที่ทราบกันดีว่ามะเร็งเต้านมในประเทศทางตะวันตก มีการดำเนินโรคที่แตกต่างกับประเทศทางเอเชีย ซึ่งอาจจะเป็นผลจากพันธุกรรมที่แตกต่างกัน และเป็นการศึกษาแรกในประเทศไทยที่ศึกษาเรื่องปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวลิมป์โฟไซต์ (TILs) ในการเป็นปัจจัยพยากรณ์โอกาสการกลับเป็นซ้ำในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมชนิดที่มีตัวรับสัญญาณHER-2 และจะเห็นได้ว่าวิธีที่ใช้ประเมินระดับ Stromal TILs สามารถทำได้ง่าย สะดวก และมีค่าใช้จ่ายน้อย นอกจากนี้การศึกษานี้ยังเป็นการจัดเก็บรวบรวมข้อมูลผู้ป่วยมะเร็งเต้านมชนิดที่มีตัวรับสัญญาณ HER-2 ระยะแรกและสามารถนำข้อมูลที่ได้จากการศึกษาดังกล่าวใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่อทำการศึกษาวิจัยเพิ่มเติมในผู้ป่วยหญิงไทยต่อไปในอนาคต

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

5.4 ข้อด้อยของการศึกษานี้

เนื่องจากเป็นการเก็บข้อมูลย้อนหลัง ทำให้ข้อมูลทางคลินิกและทางพยาธิวิทยาบางส่วนที่ทบทวนจากเวชระเบียนเก่า อาจจะไม่ครบถ้วนสมบูรณ์และมีข้อมูลบางส่วนที่ผู้ป่วยได้รับการรักษาจากหลายโรงพยาบาลขาดหายไป

ขนาดประชากรที่นำมาศึกษา แม้ว่าจะได้ตามเกณฑ์เบื้องต้นที่กำหนด แต่อย่างไรก็ตามจะเห็นว่ามีปัจจัยที่ก่อนหน้านี้มีข้อมูลชัดเจนว่ามีผลต่อการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านม แต่เมื่อทำการวิเคราะห์ข้อมูลกลับไม่พบว่ามีผลต่อการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยอาจจะเกี่ยวกับจำนวนของประชากรที่อาจมีจำนวนไม่มากพอที่จะแสดงผลของปัจจัยดังกล่าวข้างต้น

ระยะเวลาการติดตามผู้ป่วยในงานวิจัยนี้ค่อนข้างสั้น เนื่องจากค่ากึ่งกลางการติดตามอยู่ที่ 4.1 (ค่าพิสัยมัธยฐาน 0.5-19.9) ปี ทำให้อาจส่งผลต่อการวิเคราะห์ข้อมูลการกลับเป็นซ้ำของผู้ป่วยได้

การใช้ยาเคมีบำบัดหรือยาต้านฮอร์โมนแต่ละชนิด อาจจะมีผลต่อการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านมมากน้อยต่างกัน ซึ่งในการศึกษานี้ไม่ได้มีการวิเคราะห์ผลดังกล่าว รวมถึงชิ้นเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านมในพาราฟินบล็อคที่นำมาตรวจสอบระดับปริมาณเซลล์ เม็ดเลือดขาวลิมป์โฟไซต์ที่ตรวจได้จากชิ้นเนื้อ ด้วยวิธีการย้อมสีมาตรฐานฮีมาทอกซิลินและอีโอซิน อาจมีคุณภาพการติดสีทางอิมมูโนวิทยาของชิ้นเนื้อที่จางลงเมื่อเวลาผ่านไป ซึ่งอาจมีผลต่อการรายงานผลและแปลผลดังที่กล่าวมา

5.5 ข้อเสนอแนะ

ศึกษาในกลุ่มประชากรที่จำนวนมากขึ้น และตรวจสอบระดับปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวลิมป์โฟไซต์จากชิ้นเนื้อเพิ่มขึ้น เพื่อเพิ่มความถูกต้องน่าเชื่อถือของข้อมูลและสามารถนำผลการศึกษาไปใช้ประโยชน์ เพื่อเป็นแนวทางในการรักษาผู้ป่วยมะเร็งเต้านมได้ดียิ่งขึ้น รวมถึงอาจศึกษาระดับปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวลิมป์โฟไซต์จากชิ้นเนื้อแพิ่มเติมในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่เป็นระยะลุกลามที่ได้รับการวินิจฉัยตั้งแต่แรก หรือในกลุ่มที่มีการกลับเป็นซ้ำของโรคแล้ว

ทำการวิเคราะห์ข้อมูลชนิดของการใช้ยาเคมีบำบัด เพื่อดูความสัมพันธ์กับปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวลิมป์โฟไซต์จากชิ้นเนื้อเพิ่มเติม ซึ่งอาจใช้เป็นเครื่องมือช่วยในการเลือกชนิดยาเคมีบำบัดในผู้ป่วยต่อไป

ในส่วนของวิธีการประเมินปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวลิมป์โฟไซต์จากชิ้นเนื้อ อาจใช้วิธีอื่นเปรียบเทียบกับวิธีย้อมสีมาตรฐานฮีมาทอกซิลินและอีโอซิน เช่น การตรวจด้วยวิธีการย้อมพิเศษ immunohistochemistry โดยใช้ T cell marker เช่น CD3, CD4, CD8 หรือ FOXP3 หรือการทำตรวจ Flow cytometry เป็นต้น รวมถึงปรึกษากับพยาธิแพทย์ เพื่อทำการรายงานปริมาณ Stromal

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

TILs ในใบรายงานผลทางพยาธิวิทยาเพิ่มเติม เพื่อให้แพทย์ผู้ทำการรักษาผู้ป่วยได้ใช้เป็นแนวทางในการรักษาผู้ป่วยมะเร็งเต้านมได้ดียิ่งขึ้น

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

รายการอ้างอิง

1. Goldhirsch A, Winer EP, Coates AS, Gelber RD, Piccart-Gebhart M, Thurlimann B, et al. Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013. Ann Oncol. 2013;24(9):2206-23.

2. Network NCC. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology 2016.

3. Moore OS, Jr., Foote FW, Jr. The relatively favorable prognosis of medullary carcinoma of the breast. Cancer. 1949;2(4):635-42.

4. Oble DA, Loewe R, Yu P, Mihm MC, Jr. Focus on TILs: prognostic significance of tumor infiltrating lymphocytes in human melanoma. Cancer Immun. 2009;9:3.

5. Zhang L, Conejo-Garcia JR, Katsaros D, Gimotty PA, Massobrio M, Regnani G, et al. Intratumoral T cells, recurrence, and survival in epithelial ovarian cancer. N Engl J Med. 2003;348(3):203-13.

6. Denkert C, Loibl S, Noske A, Roller M, Muller BM, Komor M, et al. Tumor-associated lymphocytes as an independent predictor of response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. J Clin Oncol. 2010;28(1):105-13.

7. Galon J, Costes A, Sanchez-Cabo F, Kirilovsky A, Mlecnik B, Lagorce-Pages C, et al. Type, density, and location of immune cells within human colorectal tumors predict clinical outcome. Science. 2006;313(5795):1960-4.

8. Loi S, Sirtaine N, Piette F, Salgado R, Viale G, Van Eenoo F, et al. Prognostic and predictive value of tumor-infiltrating lymphocytes in a phase III randomized adjuvant breast cancer trial in node-positive breast cancer comparing the addition of docetaxel to doxorubicin with doxorubicin-based chemotherapy: BIG 02-98. J Clin Oncol. 2013;31(7):860-7.

9. Wolff AC, Hammond ME, Schwartz JN, Hagerty KL, Allred DC, Cote RJ, et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer. Arch Pathol Lab Med. 2007;131(1):18-43.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

10. Wolff AC, Hammond ME, Hicks DG, Dowsett M, McShane LM, Allison KH, et al. Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists clinical practice guideline update. J Clin Oncol. 2013;31(31):3997-4013.

11. Salgado R, Denkert C, Demaria S, Sirtaine N, Klauschen F, Pruneri G, et al. The evaluation of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in breast cancer: recommendations by an International TILs Working Group 2014. Ann Oncol. 2015;26(2):259-71.

12. Meyer JS, Alvarez C, Milikowski C, Olson N, Russo I, Russo J, et al. Breast carcinoma malignancy grading by Bloom-Richardson system vs proliferation index: reproducibility of grade and advantages of proliferation index. Mod Pathol. 2005;18(8):1067-78.

13. Oken MM, Creech RH, Tormey DC, Horton J, Davis TE, McFadden ET, et al. Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group. Am J Clin Oncol. 1982;5(6):649-55.

14. van de Vijver MJ, He YD, van't Veer LJ, Dai H, Hart AA, Voskuil DW, et al. A gene-expression signature as a predictor of survival in breast cancer. N Engl J Med. 2002;347(25):1999-2009.

15. Cancer Genome Atlas N. Comprehensive molecular portraits of human breast tumours. Nature. 2012;490(7418):61-70.

16. Dai X, Li T, Bai Z, Yang Y, Liu X, Zhan J, et al. Breast cancer intrinsic subtype classification, clinical use and future trends. Am J Cancer Res. 2015;5(10):2929-43.

17. Wallden B, Storhoff J, Nielsen T, Dowidar N, Schaper C, Ferree S, et al. Development and verification of the PAM50-based Prosigna breast cancer gene signature assay. BMC Med Genomics. 2015;8:54.

18. Schwartz's principles of surgery 10th edition. . 2017.

19. Piccart-Gebhart MJ, Procter M, Leyland-Jones B, Goldhirsch A, Untch M, Smith I, et al. Trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive breast cancer. N Engl J Med. 2005;353(16):1659-72.

20. Perez EA, Ballman KV, Tenner KS, Thompson EA, Badve SS, Bailey H, et al. Association of Stromal Tumor-Infiltrating Lymphocytes With Recurrence-Free Survival

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

in the N9831 Adjuvant Trial in Patients With Early-Stage HER2-Positive Breast Cancer. JAMA Oncol. 2016;2(1):56-64.

21. Slamon D, Eiermann W, Robert N, Pienkowski T, Martin M, Press M, et al. Adjuvant trastuzumab in HER2-positive breast cancer. N Engl J Med. 2011;365(14):1273-83.

22. Loi S, Michiels S, Salgado R, Sirtaine N, Jose V, Fumagalli D, et al. Tumor infiltrating lymphocytes are prognostic in triple negative breast cancer and predictive for trastuzumab benefit in early breast cancer: results from the FinHER trial. Ann Oncol. 2014;25(8):1544-50.

23. Tolaney SM, Barry WT, Dang CT, Yardley DA, Moy B, Marcom PK, et al. Adjuvant paclitaxel and trastuzumab for node-negative, HER2-positive breast cancer. N Engl J Med. 2015;372(2):134-41.

24. Dunn GP, Bruce AT, Ikeda H, Old LJ, Schreiber RD. Cancer immunoediting: from immunosurveillance to tumor escape. Nat Immunol. 2002;3(11):991-8.

25. Smyth MJ, Dunn GP, Schreiber RD. Cancer immunosurveillance and immunoediting: the roles of immunity in suppressing tumor development and shaping tumor immunogenicity. Adv Immunol. 2006;90:1-50.

26. Sato T, Terai M, Tamura Y, Alexeev V, Mastrangelo MJ, Selvan SR. Interleukin 10 in the tumor microenvironment: a target for anticancer immunotherapy. Immunol Res. 2011;51(2-3):170-82.

27. Alshaker HA, Matalka KZ. IFN-gamma, IL-17 and TGF-beta involvement in shaping the tumor microenvironment: The significance of modulating such cytokines in treating malignant solid tumors. Cancer Cell Int. 2011;11:33.

28. Rabinovich GA, Gabrilovich D, Sotomayor EM. Immunosuppressive strategies that are mediated by tumor cells. Annu Rev Immunol. 2007;25:267-96.

29. Monu NR, Frey AB. Myeloid-derived suppressor cells and anti-tumor T cells: a complex relationship. Immunol Invest. 2012;41(6-7):595-613.

30. Fujimura T, Kambayashi Y, Aiba S. Crosstalk between regulatory T cells (Tregs) and myeloid derived suppressor cells (MDSCs) during melanoma growth. Oncoimmunology. 2012;1(8):1433-4.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

31. Igney FH, Krammer PH. Immune escape of tumors: apoptosis resistance and tumor counterattack. J Leukoc Biol. 2002;71(6):907-20.

32. Dotti G. Blocking PD-1 in cancer immunotherapy. Blood. 2009;114(8):1457-8.

33. Gu-Trantien C, Loi S, Garaud S, Equeter C, Libin M, de Wind A, et al. CD4(+) follicular helper T cell infiltration predicts breast cancer survival. J Clin Invest. 2013;123(7):2873-92.

34. Liu S, Lachapelle J, Leung S, Gao D, Foulkes WD, Nielsen TO. CD8+ lymphocyte infiltration is an independent favorable prognostic indicator in basal-like breast cancer. Breast Cancer Res. 2012;14(2):R48.

35. Whitford P, Mallon EA, George WD, Campbell AM. Flow cytometric analysis of tumour infiltrating lymphocytes in breast cancer. Br J Cancer. 1990;62(6):971-5.

36. Droeser R, Zlobec I, Kilic E, Guth U, Heberer M, Spagnoli G, et al. Differential pattern and prognostic significance of CD4+, FOXP3+ and IL-17+ tumor infiltrating lymphocytes in ductal and lobular breast cancers. BMC Cancer. 2012;12:134.

37. Ghebeh H, Barhoush E, Tulbah A, Elkum N, Al-Tweigeri T, Dermime S. FOXP3+ Tregs and B7-H1+/PD-1+ T lymphocytes co-infiltrate the tumor tissues of high-risk breast cancer patients: Implication for immunotherapy. BMC Cancer. 2008;8:57.

38. Adams S, Gray RJ, Demaria S, Goldstein L, Perez EA, Shulman LN, et al. Prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes in triple-negative breast cancers from two phase III randomized adjuvant breast cancer trials: ECOG 2197 and ECOG 1199. J Clin Oncol. 2014;32(27):2959-66.

39. Mohamed M, Sarwath H, Salih N, Bansal D, Chandra P, Husain NE, et al. CD8+ tumor infiltrating lymphocytes strongly correlate with molecular subtype and clinico-pathological characteristics in breast cancer patients from Sudan. Translational Medicine Communications. 2016;1(4):1-6.

40. Dieci MV, Mathieu MC, Guarneri V, Conte P, Delaloge S, Andre F, et al. Prognostic and predictive value of tumor-infiltrating lymphocytes in two phase III randomized adjuvant breast cancer trials. Ann Oncol. 2015;26(8):1698-704.

41. Baselga J, Bradbury I, Eidtmann H, Di Cosimo S, de Azambuja E, Aura C, et al. Lapatinib with trastuzumab for HER2-positive early breast cancer (NeoALTTO): a randomised, open-label, multicentre, phase 3 trial. Lancet. 2012;379(9816):633-40.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

42. Denkert C, von Minckwitz G, Brase JC, Sinn BV, Gade S, Kronenwett R, et al. Tumor-infiltrating lymphocytes and response to neoadjuvant chemotherapy with or without carboplatin in human epidermal growth factor receptor 2-positive and triple-negative primary breast cancers. J Clin Oncol. 2015;33(9):983-91.

43. Hudis CA, Barlow WE, Costantino JP, Gray RJ, Pritchard KI, Chapman JA, et al. Proposal for standardized definitions for efficacy end points in adjuvant breast cancer trials: the STEEP system. J Clin Oncol. 2007;25(15):2127-32.

44. Peduzzi P, Concato J, Kemper E, Holford TR, Feinstein AR. A simulation study of the number of events per variable in logistic regression analysis. J Clin Epidemiol. 1996;49(12):1373-9.

45. Vici P, Pizzuti L, Natoli C, Moscetti L, Mentuccia L, Vaccaro A, et al. Outcomes of HER2-positive early breast cancer patients in the pre-trastuzumab and trastuzumab eras: a real-world multicenter observational analysis. The RETROHER study. Breast Cancer Res Treat. 2014;147(3):599-607.

46. Zurawska U, Baribeau DA, Giilck S, Victor C, Gandhi S, Florescu A, et al. Outcomes of her2-positive early-stage breast cancer in the trastuzumab era: a population-based study of Canadian patients. Curr Oncol. 2013;20(6):e539-45.

47. Brown M, Wittwer C. Flow cytometry: principles and clinical applications in hematology. Clin Chem. 2000;46(8 Pt 2):1221-9.

48. Desmedt C, Haibe-Kains B, Wirapati P, Buyse M, Larsimont D, Bontempi G, et al. Biological processes associated with breast cancer clinical outcome depend on the molecular subtypes. Clin Cancer Res. 2008;14(16):5158-65.

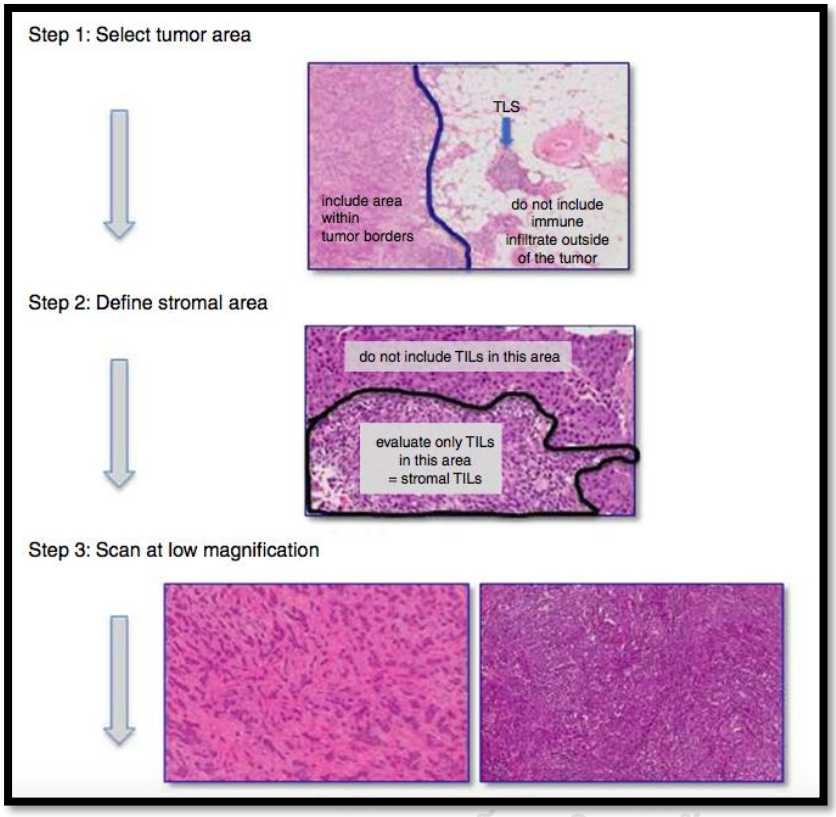
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก

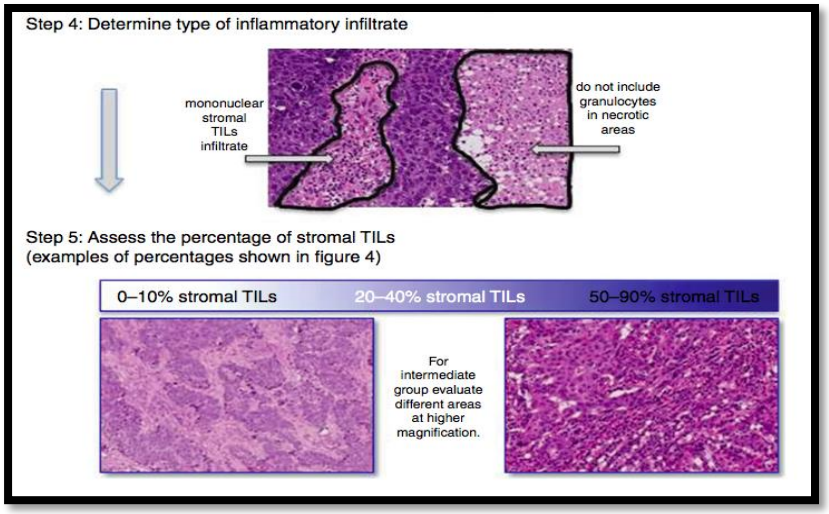
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก ก

ขั้นตอนวิธีการประเมินระดับ **TILs** ในชิ้นเนื้อ **(**ดัดแปลงจากเอกสารอ้างอิง **12)**

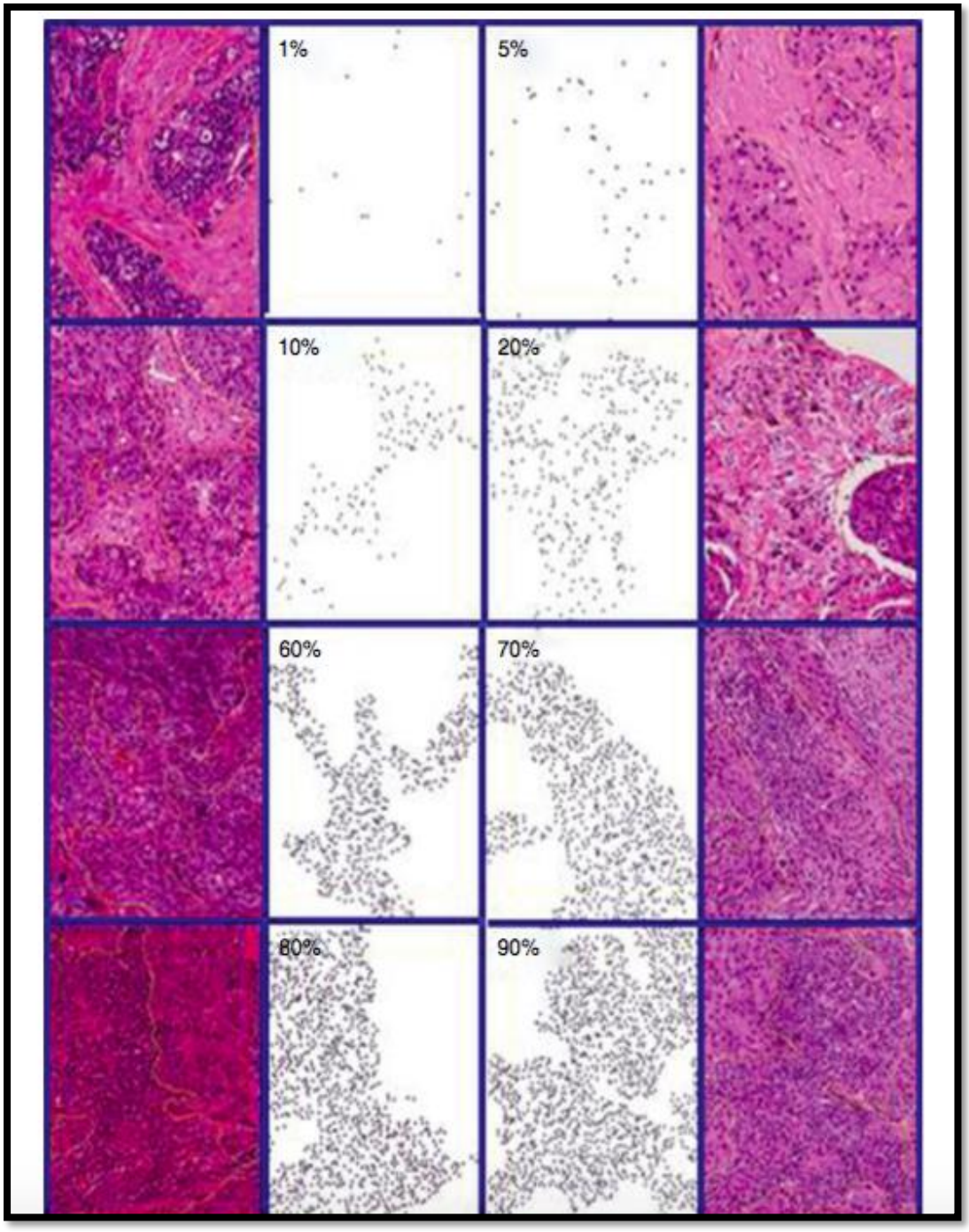


จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY



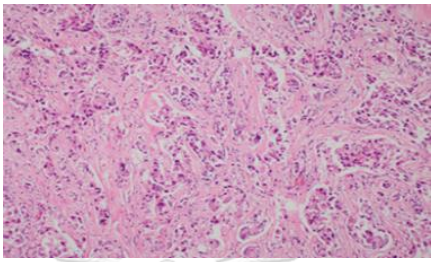
ภาคผนวก ข

แสดงระดับปริมาณ **TILs ที่แตกต่างกัน (**ดัดแปลงจากเอกสารอ้างอิง **12)**

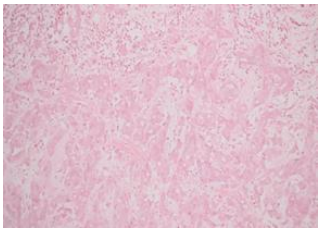


ภาคผนวก ค

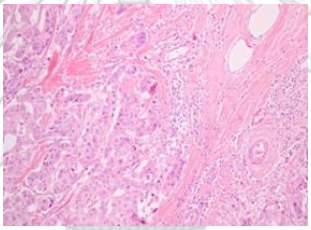
แสดงตัวอย่างการประเมินระดับปริมาณ **TILs** ในผู้ป่วยที่ทำการศึกษา



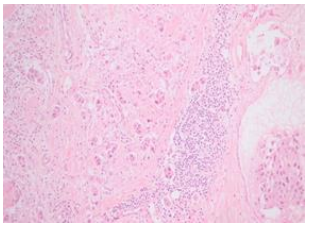
A-1 <10%



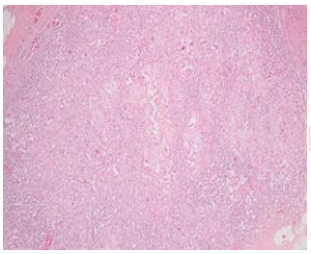
B-1 20%



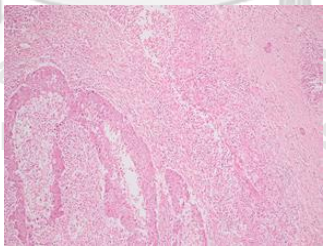
B-2 30%



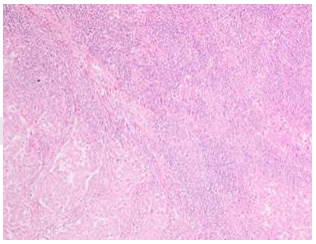
B-3 40%



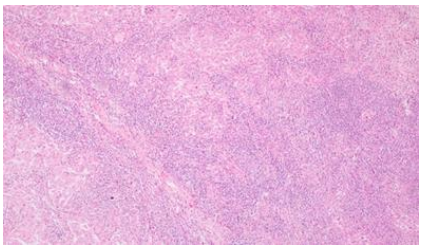
C-1 50%



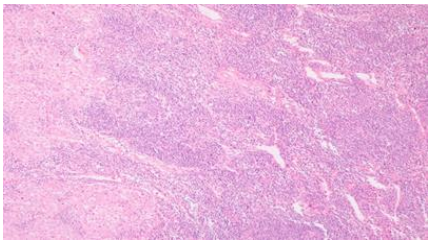
C-2 60%



C-3 70%



C-4 80%



C-5 90%

ภาคผนวก ง

Case record form No.____ Baseline characteristics

1. Age at Dx .....
2. Body weight.....Kg Height.....cm (at diagnosis)
3. Performance status ☐0 ☐1 ☐2 ☐3 ☐4
4. Reproductive status

   Pre-menopause ☐ No (0) ☐ Yes (1)

   Post-menopause ☐ No (0) ☐ Yes (1) ...../...../.....mm/dd/yy

   Surgical ☐ No (0) ☐ Yes (1)

   Radiation ☐ No (0) ☐ Yes (1)

   FSH _____LH_____Estradiol_____

   Natural ☐ No (0) ☐ Yes (1)
5. History of pill use or hormonal supplement ☐No (0) ☐Yes (1).....year(s)
6. Family History of breast cancer ☐ No (0) ☐ Yes (1).....
7. Associated cancer ☐ No (0) ☐ Yes (1)

   CA ovary ☐ No (0) ☐ Yes (1)

   CA stomach ☐ No (0) ☐ Yes (1)

   CA endometrium ☐ No (0) ☐ Yes (1)

   ☐Other(9).....
8. Clinical presentation

   Breast mass ☐ No (0) ☐ Yes (1)

   Discharge ☐ No (0) ☐ Yes (1)

   Tendernes ☐ No (0) ☐ Yes (1)

   Screening from MMG ☐ No (0) ☐ Yes (1)
9. Imaging for diagnosis

   MMG/USG ☐ No (0) ☐ Yes (1)

   MRI ☐ No (0) ☐ Yes (1)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

History of breast cancer

1. Diagnosis

Date via pathology (mm/dd/yy).....Patho No.....

Hospital.....

Date via first visit (mm/dd/yy).....

Method Cytology (FNA) ☐ No (0) ☐ Yes (1)

Histology(excision/surgery) ☐ No (0) ☐ Yes (1)

2. Stage of disease

1) cT.....N.....M.....stage.....

2) pT.....N.....M.....stage.....

3. Primary tumor

-Location

Rt. ☐ No (0) ☐ Yes (1)

Lt. ☐ No (0) ☐ Yes (1)

Both ☐ No (0) ☐ Yes (1)

Multicentric ☐ No (0) ☐ Yes (1)

Multifocal ☐ No (0) ☐ Yes (1)

-Pathology

IDC ☐ No (0) ☐ Yes (1)

ILC ☐ No (0) ☐ Yes (1)

Mixed ☐ No (0) ☐ Yes (1)

☐Other (9).....

-Histology grade ☐1 (1) ☐2 (2) ☐3 (3) ☐missing (9)

-Tumor size.....cm

-T stage ☐T1(0.1-2.0cm) ☐T2 (2.1-5 cm)

☐ T3 >5 cm ☐T4a ☐ T4b ☐ Tx

-LN ☐positive (1) No. .....Nodes ☐Negative (0)

-LVI ☐positive (1) ☐ negative (0)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

-Breast marker

-ER ☐positive (1).....% ☐ negative (0) ☐N/A (9)

-PgR ☐positive (1).....% ☐ negative (0) ☐N/A (9)

-HER-2 test IHC ☐1+ ☐2+ ☐3+ ☐N/A (9)

-HER-2 ISH ☐positive (1) ☐ negative (0) ☐N/A (9)

-Ki-67 ☐positive (1).....% ☐ negative (0) ☐N/A (9)

-p53 ☐positive (1) ☐ negative (0).....%

-TILs Neoadjuvant.....% Adjuvant.....%

- Margin ☐positive (1) ☐ negative (0) ☐closed(2)

- Metastasis ☐M0 (0) ☐M1 (1) ☐Mx(9)

- Site of metastasis ☐LN (1) ☐Lung (2) ☐Liver (3)

☐Bone(4) ☐Brain (5)

Treatment

1.Surgery

Resection of primary site

☐ MRM (1)

☐ BCS (2)

☐ SSM+Reconstruction (3)

Axillary LN

STLND ☐Yes (1) ☐No (0) Total LN _____ nodes Positive LN _____ nodes

ALND ☐Yes (1) ☐No (0) Total LN _____ nodes Positive LN _____ nodes

2.Systemic treatment

Type of drug

Chemotherapy treatment ☐Yes (1) ☐No (0)

☐AC(1) ☐EC(2) ☐FAC(3) ☐FEC(4)

☐CMF(5) ☐TC(6) ☐AC—>T(7) - .....

Cycles **Other**.....

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Trastuzumab ☐Yes (1) ☐No (0)

Hormonal treatment ☐Yes (1) ☐No (0)

Tamoxifen ☐ Yes (1) ☐ No (0) Plan duration .....Years

Start date (mm/dd/yy)..... Stop treatment (mm/dd/yy).....

- Letrozole ☐Yes(1) ☐No(0) Plan duration..... Years

Start date (mm/dd/yy)..... Stop treatment (mm/dd/yy).....

- Anatrozole ☐Yes(1) ☐No(0) Plan duration..... Years

Start date (mm/dd/yy)..... Stop treatment (mm/dd/yy).....

- Exemestane ☐ Yes (1) ☐ No (0) Plan duration ..... Years

Start date (mm/dd/yy)..... Stop treatment (mm/dd/yy).....

3.Post operative RT ☐Yes (1) ☐No (0)

Recurrence

1.Recurrence ☐Yes (1) ☐No (0)

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

3.Diagnosis of recurrent ☐ Local recurrent ☐Distant metastasis

☐ Death at recurrent

4.BW.....Kg Ht .....cm (at recurrence)

5.Site of recurrence

-Local ☐Yes (1) ☐No (0) .....

- LN ☐Yes (1) ☐No (0) .....

- Bone ☐Yes (1) ☐No (0).....

- Liver ☐Yes (1) ☐No (0).....

- Brain ☐Yes (1) ☐No (0) .....

- Lung ☐Yes (1) ☐No (0) .....

- Other ☐Yes (1) ☐No (0) .....

6.Death ☐Yes (1) ☐No (0) .....(mm/dd/yy)

7.Last follow up .....(mm/dd/yy)

8.Management at recurrence ..... (4)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

ชื่อ นางสาวสุรัมภา ประภัสสรวิจิตร

วันเดือนปีเกิด วันที่ 6 ตุลาคม พ.ศ. 2525 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร

การศึกษาและการทำงาน

พ.ศ. 2550 แพทยศาสตร์บัณฑิต จากคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

พ.ศ. 2550-2551 แพทย์เพิ่มพูนทักษะ โรงพยาบาลตราด

พ.ศ. 2551-2552 แพทย์ใช้ทุนปีที่ 2 โรงพยาบาลสมเด็จพระยุพราชเลิงนกทา จังหวัดยโสธร

พ.ศ. 2552-2553 แพทย์ใช้ทุนปีที่ 3 โรงพยาบาลธัญบุรี จังหวัดปทุมธานี

พ.ศ. 2553-2556 แพทย์ประจำบ้าน สาขาอายุรศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

พ.ศ. 2556-2559 อายุรแพทย์ทั่วไป โรงพยาบาลบางละมุง จังหวัดชลบุรี

พ.ศ. 2559-2561 แพทย์ประจำบ้านต่อยอด สาขามะเร็งวิทยา ภาควิชาอายุรศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

ปริญญาและประกาศนียบัตร

พ.ศ. 2550 แพทยศาสตร์บัณฑิต

พ.ศ. 2556 วุฒิบัตรผู้มีความรู้ความชำนาญประกอบวิชาชีพเวชกรรม สาขาอายุรศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University