

การตรวจ MCM2 เพื่อทำนายการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบ RCB0/1 ภายหลังจากให้ยาเคมี
บำบัดก่อนผ่าตัดในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต้นชนิดมีตัวรับฮอร์โมนและไม่มีตัวรับเฮอร์ทู



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาอายุรศาสตร์ ภาควิชาอายุรศาสตร์
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2563
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Predicting significance of MCM2 expression after neoadjuvant chemotherapy in
hormonal receptor positive HER2 negative early breast cancer



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

Department of Medicine

FACULTY OF MEDICINE

Chulalongkorn University

Academic Year 2020

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การตรวจ MCM2 เพื่อทำนายการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบ RCBO/I ภายหลังการให้ยาเคมีบำบัดก่อนผ่าตัดในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต้นชนิดมีตัวรับฮอร์โมนและไม่มีตัวรับเฮอิร์ทู
โดย	นายธิตินันท์ สุศิริวัฒนนนท์
สาขาวิชา	อายุรศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	รองศาสตราจารย์ แพทย์หญิงนภา ปริญญานิติกุล
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	อาจารย์ นายแพทย์กรุณย์พงษ์ เอี่ยมเพ็ญแข

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะแพทยศาสตร์
(ศาสตราจารย์ นายแพทย์สุทธิพงศ์ วัชรสินธุ)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ครองวงศ์ มุสิกถาวร)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(รองศาสตราจารย์ แพทย์หญิงนภา ปริญญานิติกุล)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(อาจารย์ นายแพทย์กรุณย์พงษ์ เอี่ยมเพ็ญแข)

..... กรรมการ
(อาจารย์ นายแพทย์อมรพันธุ์ วงศ์กาญจนา)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ แพทย์หญิงศุทธิณี อิทธิเมฆินทร์)

ชิตินันท์ สุศิริวัฒนนนท์ : การตรวจ MCM2 เพื่อทำนายการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบ RCBO/I ภายหลังการให้ยาเคมีบำบัดก่อนผ่าตัดในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต้นชนิดมีตัวรับฮอร์โมนและไม่มีตัวรับเฮอร์ทู. (Predicting significance of MCM2 expression after neoadjuvant chemotherapy in hormonal receptor positive HER2 negative early breast cancer) อ.ที่ปรึกษาหลัก : รศ. พญ.นภา ปริญญานิติกุล, อ.ที่ปรึกษาร่วม : อ. นพ.กรุณย์พงษ์ เอี่ยมเพ็ญแข

ความเป็นมา การตอบสนองทางพยาธิวิทยาภายหลังการได้รับยาเคมีบำบัดก่อนผ่าตัดมีความสัมพันธ์กับผลลัพธ์ทางคลินิก ปัจจุบันไม่มีปัจจัยใดที่สามารถทำนายการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดในมะเร็งเต้านมชนิดมีตัวรับฮอร์โมนและไม่มีตัวรับเฮอร์ทูได้อย่างแม่นยำ เช่นเดียวกับ Ki-67 การแสดงออกของโปรตีน MCM2 ซึ่งมีหน้าที่ควบคุมการสังเคราะห์ดีเอ็นเอในระดับสูงซึ่งถึงการแบ่งตัวของเซลล์ที่รวดเร็ว และมีความสัมพันธ์กับการพยากรณ์โรคที่ไม่ดีในมะเร็งหลายชนิดรวมถึงมะเร็งเต้านม การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการแสดงออกของ MCM2 ในชิ้นเนื้อก่อนได้รับยาเคมีบำบัดเพื่อทำนายการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบ RCB O/I ในมะเร็งเต้านมระยะต้นชนิดมีตัวรับฮอร์โมนและไม่มีตัวรับเฮอร์ทู

วิธีการศึกษา ทบทวนเวชระเบียนอิเล็กทรอนิกส์ของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต้นชนิดมีตัวรับฮอร์โมนและไม่มีตัวรับเฮอร์ทูที่ได้รับยาเคมีบำบัดก่อนผ่าตัดในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ระหว่าง 1 มกราคม 2558 - 31 ธันวาคม 2563 นำชิ้นเนื้อก่อนได้รับยาเคมีบำบัดตรวจการแสดงออกของ MCM2 ด้วยการย้อมอิมมูโนฮิสโตเคมีและทบทวนลักษณะทางพยาธิวิทยาเพื่อคำนวณ RCB index ในชิ้นเนื้อหลังได้รับยาเคมีบำบัด คำนวณการติดสีของ MCM2 ด้วยโปรแกรมวิเคราะห์ภาพ Aperio Imagescope

ผลการวิจัย ผู้ป่วยทั้งหมด 88 คน มีค่ามัธยฐานอายุ 49 ปี (พิสัย 27-80 ปี) 61.4% เป็นวัยก่อนหมดประจำเดือน มีระยะโรคมะเร็งทางคลินิก cT4 และ cN1 40% และ 66.7% ตามลำดับ เป็นมะเร็งเต้านมชนิด invasive ductal carcinoma 91.1% มีระดับทางพยาธิวิทยาระดับที่ 2 58.9% มีการแสดงออกของ ER >10% 92.2% และสถานะ PR เป็นลบ 22.2% ในชิ้นเนื้อมะเร็งเต้านมทั้งหมด 72 ชิ้นที่สามารถย้อม MCM2 และประเมิน RCB index ได้ พบว่าการแสดงออกของ MCM2 >=40% มีความสัมพันธ์กับการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบ RCB O/I อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากการวิเคราะห์แบบ univariate analysis (OR = 18.33 ช่วงความเชื่อมั่น 95% = 1.88-178.98 p-value = 0.012) ปัจจัยทางพยาธิวิทยาคลินิกที่พบว่ามีความสัมพันธ์กับ MCM2 >=40% คือ ระดับของพยาธิวิทยาระดับที่ 3 การแสดงออกของ ER <=10% สถานะ PR เป็นลบ และ Ki-67 >=20% แต่ในการวิเคราะห์แบบ multivariate analysis ไม่มีปัจจัยทางพยาธิวิทยาคลินิกใดสัมพันธ์กับการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบ RCB O/I ลักษณะทางอิมมูโนฮิสโตเคมีก่อนและหลังให้ยาเคมีบำบัดมีลักษณะโดยรวมใกล้เคียงกัน ค่ามัธยฐานของการปลอดโรค และอัตราการปลอดโรคที่ 3 ปี ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างผู้ป่วยที่มีการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบ RCB O/I และ RCB II/III

สรุปผลการวิจัย การแสดงออกของ MCM2 >=40% ด้วยการตรวจทางอิมมูโนฮิสโตเคมี ในชิ้นเนื้อก่อนได้รับยาเคมีบำบัดของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต้นชนิดมีตัวรับฮอร์โมนและไม่มีตัวรับเฮอร์ทู มีความสัมพันธ์กับการตอบสนองแบบ RCB O/I การตรวจการแสดงออกของ MCM2 อาจช่วยทำนายประโยชน์ของยาเคมีบำบัดก่อนผ่าตัดในผู้ป่วยกลุ่มนี้ได้ อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในประชากรที่มีขนาดใหญ่ขึ้นเพื่อยืนยันผลของการศึกษานี้

สาขาวิชา อายูรศาสตร์

ปีการศึกษา 2563

ลายมือชื่อ นิสิต

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม

6270041030 : MAJOR MEDICINE

KEYWORD:

Thiti Susiriwatananont : Predicting significance of MCM2 expression after neoadjuvant chemotherapy in hormonal receptor positive HER2 negative early breast cancer. Advisor: Assoc. Prof. NAPA PARINYANITIKUL, M.D. Co-advisor: KROONPONG IAMPENKHAE, M.D.

Background: Minimal residual cancer burden (RCB) after neoadjuvant chemotherapy is associated with better clinical outcomes in early breast cancer. Currently, no factor can reliably predict response to chemotherapy in hormonal receptor positive and HER2 negative breast cancer. Similar to Ki-67, high expression of mini-chromosome maintenance 2 (MCM2), a protein regulating initiation of DNA replication, is correlated with high proliferative index and worse clinical outcome in various cancer types, including breast cancer. This study aims to evaluate expression of MCM2 in pre-chemotherapy specimen for prediction of RCB 0/I in hormonal receptor positive and HER2 negative early breast cancer.

Methods: Electronic medical records of hormonal receptor positive and HER2 negative early breast cancer patients who received neoadjuvant chemotherapy followed by surgery between January 1, 2015 to December 31, 2020 in King Chulalongkorn Memorial Hospital were retrospectively reviewed. Immunostaining of MCM2 in pre-chemotherapy specimens and RCB index in post-chemotherapy specimens were evaluated for association. Image analysis for MCM2 expression was performed by Aperio Imagescope software. Univariate and multivariate analysis of clinicopathologic features and MCM2 were investigated for predicting response after neoadjuvant chemotherapy.

Results: Of 88 patients with early hormonal positive and HER2 negative breast cancer who received neoadjuvant chemotherapy, median age was 49 years (range 27-80) and 61.4% were premenopausal. Clinical stage cT4 and cN1 were 40% and 66.7%, respectively. 91.1% had invasive ductal carcinoma, 58.9% had histologic grade 2, 92.2% had >10% ER positivity and 22.2% had PR negative. 44% had 2 neoadjuvant chemotherapy regimens and anthracycline followed by paclitaxel was the most common regimen. RCB 0/I was observed in 7 patients (8.3%) and only 1 patient (1.2%) had RCB 0. In 72 available specimens for MCM2 and RCB evaluation, MCM2 expression $\geq 40\%$ was associated with RCB 0/I response in univariate analysis (OR = 18.33, 95% CI = 1.88-178.98, p-value = 0.012). Clinicopathologic features associated with MCM2 $>40\%$ were histologic grade 3, ER $\leq 10\%$, negative PR status, and Ki-67 $\geq 20\%$. No clinicopathologic factor was associated with RCB 0/I in multivariate analysis. Breast biomarkers in pre- and post-chemotherapy specimens were mostly constant. 3-year recurrence free survival was not significantly difference between patients with RCB 0/I and RCB II/III response.

Conclusion: MCM2 expression $\geq 40\%$ in pre-chemotherapy specimens was associated with higher RCB 0/I response in hormonal receptor positive and HER2 negative early breast cancer. Testing for MCM2 expression may predict neoadjuvant chemotherapy benefit in this breast cancer subtype. Further study with larger sample size is necessary to validate the result from this study.

Field of Study: Medicine

Academic Year: 2020

Student's Signature

Advisor's Signature

Co-advisor's Signature

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณทุกท่านที่ได้ช่วยเหลือให้การวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

รศ. พิเศษ พญ.นภา ปริญญานิติกุล ภาควิชาอายุรศาสตร์ อาจารย์ที่ปรึกษาหลักวิทยานิพนธ์, อาจารย์ นพ.กรุณย์พงษ์ เอี่ยมเพ็ญแข อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม วิทยานิพนธ์ ที่ให้ความรู้และคำแนะนำ อันเป็นประโยชน์แก่ผู้วิจัยมาโดยตลอด รวมถึงเจ้าหน้าที่หน่วยมะเร็งวิทยา ภาควิชาอายุรศาสตร์ และเจ้าหน้าที่หน่วยพยาธิวิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ทุกท่าน

รศ. นพ.ครองวงศ์ มุสิกถาวรประธานกรรมการสอบ วิทยานิพนธ์ และ อาจารย์ นพ.อมรพันธุ์ วงศ์กาญจนา กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ให้ความรู้แนวทางการวิจัยและข้อเสนอแนะที่เป็น ประโยชน์แก่ผู้วิจัย

สุดท้ายนี้ กราบขอบพระคุณ ครอบครัวของข้าพเจ้า ขอบคุณเพื่อนแพทย์ประจำบ้านต่อยอด สาขา มะเร็งวิทยา ที่ให้ความช่วยเหลือข้าพเจ้ามาโดยตลอด

ธิดิฐ์ สุศิริวัฒนนนท์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ง
กิตติกรรมประกาศ.....	จ
สารบัญ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ฌ
สารบัญภาพ.....	ฎ
บทที่ 1 บทนำ.....	12
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย.....	12
1.2 คำถามของการวิจัย.....	15
1.3 วัตถุประสงค์งานวิจัย.....	15
1.4 สมมติฐาน.....	16
1.5 ข้อตกลงเบื้องต้น.....	16
1.6 กรอบความคิดแนววิจัย.....	16
1.7 การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติที่จะใช้ในงานวิจัย.....	17
1.8 ผลหรือประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย.....	18
บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง.....	19
บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย.....	31
3.1 รูปแบบการวิจัย (Research design).....	31
3.2 ระเบียบวิธีการวิจัย (Research methodology).....	31
3.3 ขนาดตัวอย่างและการคำนวณ.....	31
3.4 ขั้นตอนในการดำเนินการวิจัย.....	32

3.5 การเก็บรวบรวมข้อมูล (Data collection)	33
3.6 ข้อจำกัดในการวิจัย	33
3.7 การเปิดเผยข้อมูลแสดงตัวตนของผู้ป่วย.....	34
3.8 การวิเคราะห์ข้อมูลและสถิติที่ใช้วิเคราะห์ (Data Analysis and Statistics).....	34
บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล	36
4.1 ประชากรที่นำมาศึกษา	36
4.2 ข้อมูลทั่วไปของผู้ป่วย.....	37
4.3 การตอบสนองทางพยาธิวิทยาภายหลังการได้รับยาเคมีบำบัดก่อนผ่าตัด.....	40
4.4 จุดตัดของการแสดงออกของ MCM2 และ Ki-67	41
4.5 การแสดงออกของ MCM2 และการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบ RCB 0/I	42
4.6 ความสัมพันธ์ของลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิกและการแสดงออกของ MCM2.....	42
4.7 ความสัมพันธ์ของลักษณะทางพยาธิวิทยาทางคลินิกต่อการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบ RCB 0/I.....	43
4.9 ความสัมพันธ์ของการแสดงออกของ MCM2 และ Ki-67.....	47
4.10 ผลลัพธ์ของยาเคมีบำบัดก่อนมะเร็งเต้านมและต่อมน้ำเหลือง.....	48
4.11 การเปลี่ยนแปลงของอิมมูโนฮิสโตเคมีภายหลังการได้รับยาเคมีบำบัด.....	50
4.12 การกลับเป็นซ้ำของโรคและความสัมพันธ์กับ RCB index.....	51
บทที่ 5 อภิปรายผล สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ.....	53
5.1 อภิปรายผล.....	53
5.2 สรุปผลการวิจัย.....	56
5.3 ข้อดีของการศึกษานี้.....	56
5.4 ข้อด้อยของการศึกษานี้.....	57
5.5 ข้อเสนอแนะ.....	57
บรรณานุกรม.....	58

ภาคผนวก ก	ขั้นตอนการย้อมและแปลผลการแสดงออกของ MCM2	59
ภาคผนวก ข	ขั้นตอนการประเมินและคำนวณ RCB index	60
ภาคผนวก ค	Case record form.....	61
ประวัติผู้เขียน.....		70



สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 การแบ่งกลุ่มย่อยของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมตามมติของคณะกรรมการแพทย์ผู้เชี่ยวชาญในการรักษาโรคมะเร็งเต้านมนานาชาติเมื่อคราวประชุมที่เมือง St. Gallen ในปี ค.ศ. 2011 (4)	13
ตารางที่ 2 ข้อบ่งชี้ในการให้การรักษาเสริมในผู้ป่วยมะเร็งเต้านม ตามแนวทางของ National Comprehensive Cancer Network ปี 2019 (5)	19
ตารางที่ 3 การศึกษาให้ยาเคมีเปรียบเทียบกับระหว่างก่อนและหลังผ่าตัดในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต้น	20
ตารางที่ 4 การศึกษาให้ยาเคมีร่วมกับยาต้านฮอร์โมนก่อนผ่าตัดในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต้น	21
ตารางที่ 5 การศึกษาให้ยาต้านฮอร์โมนก่อนผ่าตัดในผู้ป่วยโรคมะเร็งเต้านมระยะต้นที่ตรวจพบตัวรับฮอร์โมน	23
ตารางที่ 6 ข้อมูลทั่วไปของผู้ป่วย	38
ตารางที่ 7 การตอบสนองทางพยาธิวิทยาภายหลังได้ยาเคมีบำบัด	40
ตารางที่ 8 การแสดงออกของ MCM2 \geq 40% และการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบ RCB 0/I	42
ตารางที่ 9 ลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิกและการแสดงออกของ MCM2 \geq 40%	42
ตารางที่ 10 ลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิกและการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบ RCB 0/I	43
ตารางที่ 11 ปัจจัยทางพยาธิวิทยาคลินิก และการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบ RCB 0/I เมื่อวิเคราะห์ด้วย univariate analysis	45
ตารางที่ 12 ปัจจัยทางพยาธิวิทยาคลินิก และการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบ RCB 0/I เมื่อวิเคราะห์ด้วย multivariate analysis	46
ตารางที่ 13 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพยาธิวิทยาและการแสดงออกของ MCM2 กับการเกิด RCB 0/I	47
ตารางที่ 14 ความสัมพันธ์ของการแสดงออกของ MCM2 และ Ki-67 ในชิ้นเนื้อก่อนได้รับยาเคมีบำบัด	47
ตารางที่ 15 ระยะของก้อนมะเร็งก่อนและหลังได้รับยาเคมีบำบัด	48

ตารางที่ 16	ระยะของต่อมน้ำเหลืองก่อนและหลังได้รับยาเคมีบำบัด	49
ตารางที่ 17	การแสดงออกของ MCM2 และการตอบสนองของก้อนมะเร็งเต้านม	49
ตารางที่ 18	การแสดงออกของ MCM2 และการตอบสนองของต่อมน้ำเหลือง	50
ตารางที่ 19	การเปลี่ยนแปลงของสถานะ ER และ PR ภายหลังจากได้รับยาเคมีบำบัดก่อนผ่าตัด.....	51
ตารางที่ 20	การเปลี่ยนแปลงของ Ki-67 ภายหลังจากได้รับยาเคมีบำบัด.....	51



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

สารบัญภาพ

	หน้า
รูปที่ 1 อุบัติการณ์ของการเกิดการแพร่กระจายของมะเร็งเต้านมโดยแบ่งตามกลุ่มย่อย	14
รูปที่ 2 ความเสี่ยงในการกลับเป็นซ้ำของโรคมะเร็งเต้านมตามตำแหน่งและกลุ่มย่อย	14
รูปที่ 3 กรอบความคิดแนววิจัย (Conceptual framework)	16
รูปที่ 4 ผลของการมีการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบสมบูรณ์ต่อระยะปลอดโรคของมะเร็งเต้านมตามกลุ่มย่อยต่างๆ; A = Luminal A like, B = Luminal B (HER2 negative),	24
รูปที่ 5 วิธีการคำนวณ Residual cancer burden.....	26
รูปที่ 6 ความสัมพันธ์ระหว่าง Residual cancer burden และการกลับเป็นซ้ำของโรคในมะเร็งเต้านมตามกลุ่มย่อยต่างๆที่ 5 ปีและ 10 ปี	26
รูปที่ 7 การแสดงออกของ Ki-67 และ MCM2 ในวัฏจักรเซลล์.....	28
รูปที่ 8 การแสดงออกของ MCM2 ใน luminal breast cancer	28
รูปที่ 9 การแสดงออกของ MCM2 กับการกลับเป็นซ้ำของโรคและการรอดชีวิตเปรียบเทียบกับ Ki-67	29
รูปที่ 10 แนวทางการวิจัย.....	35
รูปที่ 11 การคัดเลือกประชากรที่นำมาวิเคราะห์	37
รูปที่ 12 ROC curve การแสดงออกของ MCM2 และ Ki-67 กับการเกิด RCB 0/1.....	41
รูปที่ 13 การแสดงออกของ MCM2 และ luminal subtype	47
รูปที่ 14 ความสัมพันธ์ของการแสดงออกของ MCM2 และ Ki-67	48
รูปที่ 15 Kaplan-Meier curve ของการกลับเป็นซ้ำของโรคเมื่อแบ่งตาม RCB index	52

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย

มะเร็งเต้านมเป็นมะเร็งที่พบบ่อยที่สุดในโลกและเป็นโรคมะเร็งที่ก่อให้เกิดการเสียชีวิตเป็นลำดับที่ 2 จากโรคมะเร็งทั้งหมด (1) จากข้อมูลทะเบียนมะเร็งระดับโรงพยาบาลของประเทศไทยปี พ.ศ. 2560 พบว่ามะเร็งเต้านมเป็นโรคมะเร็งที่ได้รับการวินิจฉัยในผู้ป่วยมะเร็งรายใหม่เป็นลำดับที่ 1 โดยผู้ป่วยจำนวนมากตรวจพบเมื่อโรครยังอยู่ในระยะต้น (ระยะที่ 1-3) ถึง 78% (2)

ปัจจุบันการรักษามะเร็งเต้านมระยะต้นมีความก้าวหน้าอย่างมาก ผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาอย่างเหมาะสมและมีโรคอยู่ที่เต้านมเพียงอย่างเดียว มีอัตราการรอดชีวิตที่ 5 ปี สูงถึง 99% แม้ว่าโรคจะมีการแพร่กระจายไปยังต่อมน้ำเหลืองที่รักแร้แล้ว อัตราการรอดชีวิตที่ 5 ปียังสูงถึง 85% (3)

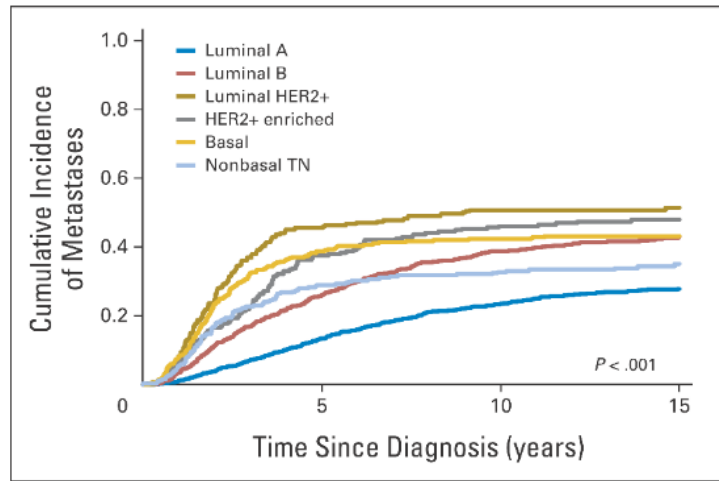
ความสำเร็จของการรักษาเป็นผลจากการจำแนกผู้ป่วยมะเร็งเต้านมได้เหมาะสมมากขึ้น การจำแนกผู้ป่วยมะเร็งเต้านมด้วยวิธีการตรวจทางชีววิทยาโมเลกุลสามารถแบ่งผู้ป่วยออกเป็นกลุ่มย่อยที่มีพยากรณ์โรคและการรักษาแตกต่างกัน ทำให้แพทย์ผู้รักษาเลือกการรักษาที่เหมาะสมกับผู้ป่วยแต่ละคนได้ มะเร็งเต้านมอาจแบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม คือ 1. กลุ่มที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมน (hormonal receptor) คือตรวจพบ estrogen receptor (ER) หรือ progesterone receptor (PR) เป็นกลุ่มที่พบบ่อยที่สุด ซึ่งพบได้ 60-70% 2. กลุ่มที่มีตัวรับสัญญาณ Human Epidermal Growth factor receptor type 2 (HER2) พบได้ 15-20% 3. กลุ่มที่ตรวจไม่พบตัวรับสัญญาณฮอร์โมนและตัวรับสัญญาณ HER2 (Triple negative breast cancer; TNBC) พบได้ 10-15% วิธีการแบ่งผู้ป่วยมะเร็งเต้านมอีกวิธีหนึ่งที่ใช้กันอย่างแพร่หลายคือ การแบ่งตามมติของคณะกรรมการแพทย์ผู้เชี่ยวชาญในการรักษาโรคมะเร็งเต้านมนานาชาติเมื่อคราวประชุมที่เมือง St. Gallen ในปี ค.ศ. 2011 (4) ซึ่งแบ่งผู้ป่วยมะเร็งเต้านมตามผลการตรวจทางอิมมูโนพยาธิวิทยา ได้เป็น 5 กลุ่ม ได้แก่ luminal A, luminal B, HER2-enriched, basal-like และ normal breast-like แสดงรายละเอียดของกลุ่มย่อยต่างๆตาม St. Gallen ปี ค.ศ. 2011 ในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 การแบ่งกลุ่มย่อยของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมตามมติของคณะกรรมการแพทย์ผู้เชี่ยวชาญในการรักษาโรคมะเร็งเต้านมนานาชาติเมื่อคราวประชุมที่เมือง St. Gallen ในปี ค.ศ. 2011 (4)

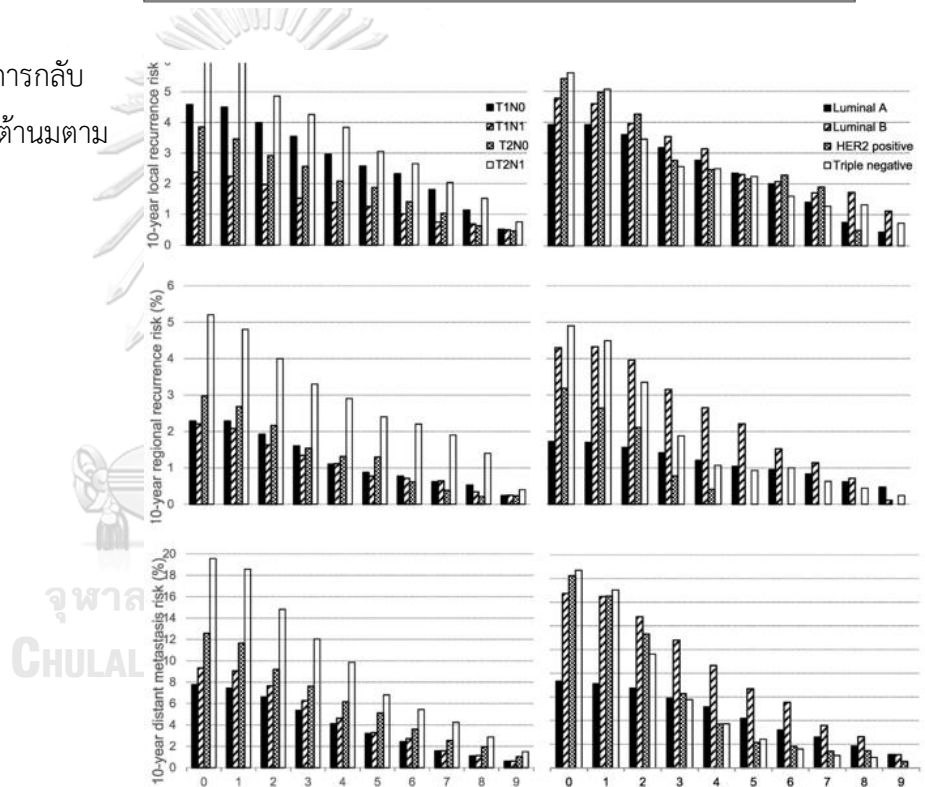
กลุ่มย่อยของมะเร็งเต้านม	การย้อมพิเศษทางอิมมูโนฮิสโตเคมี			
	ER	PR	HER2	Ki-67
Luminal A	+	+	-	<14%
Luminal B (HER2 -)	+	+	-	≥14%
Luminal B (HER2+)	+	+	+	Any
HER2+	-	-	+	Any
Triple negative	-	-	-	Any

เมื่อแบ่งผู้ป่วยตามการย้อมอิมมูโนฮิสโตเคมี จะสามารถแบ่งผู้ป่วยที่มีการพยากรณ์โรคและการตอบสนองของการรักษาที่แตกต่างกันได้ ผู้ป่วยที่ย้อมติดสัญญาณตัวรับฮอร์โมนจะมีพยากรณ์โรคที่ดีที่สุด มีโอกาสการแพร่กระจายน้อยกว่ากลุ่มอื่น แต่ก็โอกาสมีการกลับเป็นซ้ำได้ภายในระยะเวลา 10 ปีหลังจากการวินิจฉัย การย้อมติดตัวรับฮอร์โมนบ่งชี้ว่าผู้ป่วยจะตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาต้านฮอร์โมน กลุ่ม TNBC เป็นกลุ่มที่มีพยากรณ์โรคที่แย่ที่สุด โดยจะมีการดำเนินโรคที่เร็วและรุนแรงพบมีการแพร่กระจายของโรคได้บ่อย และกลับเป็นซ้ำได้มากในช่วงระยะเวลา 2-3 ปีแรกหลังจากการวินิจฉัย ปัจจุบันพบว่าผู้ป่วยกลุ่ม TNBC บางรายจะตอบสนองด้วยการให้ยาภูมิคุ้มกันบำบัดและยากลุ่ม PARP inhibitors สำหรับกลุ่มที่มีตัวรับสัญญาณ HER2 ในอดีตพบว่าการพยากรณ์โรคที่ไม่ดีเช่นเดียวกับกลุ่ม TNBC แต่หลังจากการค้นพบยาต้านฮอร์โมน ผู้ป่วยในกลุ่มนี้ก็มีการพยากรณ์โรคที่เทียบเท่ากับกลุ่มที่ตรวจพบสัญญาณรับฮอร์โมน

รูปที่ 1 อุบัติการณ์ของการเกิด
การแพร่กระจายของมะเร็งเต้านม
โดยแบ่งตามกลุ่มย่อย



รูปที่ 2 ความเสี่ยงในการกลับ
เป็นซ้ำของโรคมะเร็งเต้านมตาม
ตำแหน่งและกลุ่มย่อย



การผ่าตัดเป็นการรักษาหลักที่ทำให้มะเร็งเต้านมระยะต้นหายขาดได้ ในบางภาวะที่มีความเสี่ยงสูงต่อการกลับเป็นซ้ำ การให้การรักษาเสริมสามารถช่วยลดการกลับเป็นซ้ำของโรคได้ การรักษาเสริม ได้แก่ การให้ยาเคมีบำบัด ยามุ่งเป้า ยาต้านฮอร์โมน และการฉายแสง โดยชนิดของการรักษาเสริมที่เลือกใช้ขึ้นอยู่กับ ขนาดของก้อนมะเร็ง การแพร่กระจายของโรคไปยังต่อมน้ำเหลือง ชนิดของการผ่าตัด และการตรวจทางอิมมูโนวิทยา

เดิมการรักษาเสริมมักเป็นการรักษาที่ให้เพิ่มเติมหลังการผ่าตัด แต่ในปัจจุบันมีการศึกษาเกี่ยวกับการให้ยาเคมีบำบัดก่อนผ่าตัดมากขึ้น โดยพบว่ามีประโยชน์ดังนี้

1. ลดขนาดของก้อนมะเร็งที่มีขนาดใหญ่ให้มีขนาดเล็กลง เพื่อให้ผ่าตัดก้อนออกหมดได้ง่ายขึ้น
2. เพื่อให้ผ่าตัดเต้านมแบบอนุรักษ์ได้มากขึ้น
3. เป็นการรักษามะเร็งที่อาจมีการแพร่กระจายไปแล้ว แต่ไม่สามารถตรวจพบได้ทางคลินิก
4. เป็นการทดสอบการตอบสนองของก้อนมะเร็งต่อยาเคมีบำบัด

นอกจากนี้ยังมีหลายการศึกษาพบว่าหากได้รับยาเคมีบำบัดก่อนผ่าตัดแล้วขึ้นเนื้อหลังการผ่าตัดไม่พบว่ามีเซลล์มะเร็งเหลืออยู่ หรือที่เรียกว่าการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบสมบูรณ์ (Complete pathological response; pCR) จะสัมพันธ์กับผลลัพธ์ทางคลินิกที่ดี ปัจจุบันได้มีการนำการรักษาเสริมมาให้ก่อนการผ่าตัดมะเร็งเต้านมมากขึ้นสำหรับผู้ป่วยบางกลุ่ม เช่น กลุ่มที่มีตัวรับสัญญาณ HER2 และกลุ่ม TNBC ที่มีการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดดี หรือ กลุ่มที่มีก้อนมะเร็งที่หน้าอกหรือต่อมน้ำเหลืองที่รักแร้ขนาดใหญ่ เพื่อลดขนาดก้อนลงก่อนผ่าตัด

มะเร็งเต้านมชนิดมีตัวรับฮอร์โมนและไม่มีตัวรับเฮอร์ทูเป็นกลุ่มของมะเร็งเต้านมที่มีการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดค่อนข้างน้อยเมื่อเทียบกับมะเร็งเต้านมชนิดอื่นๆ ปัจจุบันยังไม่มีตัวบ่งชี้ที่ดีพอที่จะช่วยพยากรณ์ผลลัพธ์ของการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดในผู้ป่วยมะเร็งกลุ่มนี้ได้ หากสามารถทราบปัจจัยที่ทำนายการตอบสนองของการให้ยาเคมีบำบัดก่อนผ่าตัดได้ จะทำให้สามารถวางแผนการรักษาและเลือกผู้ป่วยที่เหมาะสมที่จะได้รับประโยชน์สูงสุดจากการให้ยาเคมีบำบัดได้

1.2 คำถามของการวิจัย

คำถามหลัก: ระดับการแสดงออกของโปรตีน MCM2 ซึ่งตรวจด้วยอิมมูโนฮิสโตเคมีในชิ้นเนื้อมะเร็งเต้านมก่อนได้ยาเคมีบำบัด สามารถทำนายการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบ RCB 0/I ในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต้นชนิดมีตัวรับฮอร์โมนและไม่มีตัวรับเฮอร์ทู ที่ได้รับยาเคมีบำบัดก่อนผ่าตัดได้หรือไม่

คำถามรอง: มีปัจจัยทางพยาธิวิทยาคลินิกอื่นที่สามารถทำนายการเกิด การตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบ RCB 0/I ได้หรือไม่

1.3 วัตถุประสงค์งานวิจัย

วัตถุประสงค์หลัก: เพื่อศึกษาการแสดงออกของ MCM2 ด้วยการตรวจอิมมูโนฮิสโตเคมีในชิ้นเนื้อมะเร็งเต้านมก่อนได้รับยาเคมีบำบัด เพื่อทำนายการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบ RCB 0/I ภายหลังการให้ยาเคมีบำบัดก่อนผ่าตัดในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต้นชนิดมีตัวรับฮอร์โมนและไม่มีตัวรับเฮอร์ทู

วัตถุประสงค์รอง:

1. เพื่อศึกษาปัจจัยทางพยาธิวิทยาคลินิกที่สามารถทำนายการเกิดการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบ RCB 0/1
2. เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของการแสดงออกของ MCM2 และลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิกของมะเร็งเต้านม
3. เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของการแสดงออกของ MCM2 และ Ki-67
4. เพื่อเปรียบเทียบลักษณะทางอิมมูโนฮิสโตเคมีระหว่างชิ้นเนื้อมะเร็งเต้านมก่อน และหลังได้รับยาเคมีบำบัด
5. เพื่อศึกษาการกลับเป็นซ้ำของโรคเมื่อแบ่งผู้ป่วยตาม RCB index

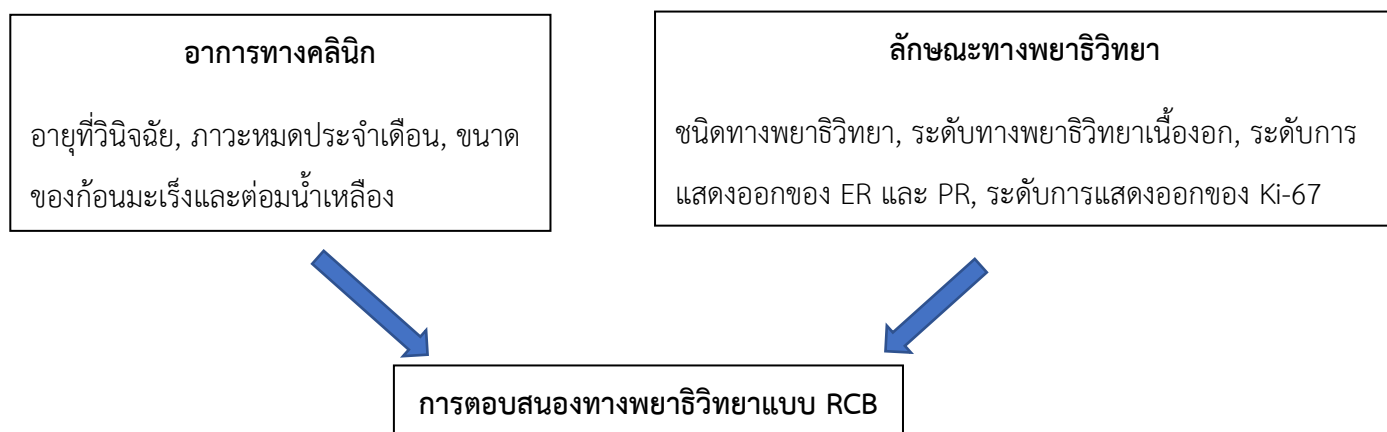
1.4 สมมติฐาน

การตรวจระดับการแสดงออกของโปรตีน MCM2 ในชิ้นเนื้อก่อนได้รับยาเคมีบำบัดด้วยอิมมูโนฮิสโตเคมี สามารถทำนายการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบ RCB 0/1 ในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต้นชนิดที่มีตัวรับฮอร์โมนและไม่มีตัวรับเฮอร์ทูที่มีชิ้นเนื้อใน

1.5 ข้อตกลงเบื้องต้น

ผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต้นชนิดที่มีตัวรับฮอร์โมนและไม่มีตัวรับเฮอร์ทูที่มีชิ้นเนื้อในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ซึ่งสามารถย้อมอิมมูโนฮิสโตเคมีเพิ่มเติม และทบทวนผลตรวจทางพยาธิวิทยาได้อย่างครบถ้วน

1.6 กรอบความคิดแนววิจัย



รูปที่ 3 กรอบความคิดแนววิจัย (Conceptual framework)

1.7 การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติที่จะใช้ในงานวิจัย

มะเร็งเต้านมระยะต้น (Early breast cancer)	ผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต้น โดยแบ่งตาม America Joint Committee on Cancer (AJCC) 8 th edition อยู่ใน anatomic stage group I-III
Neoadjuvant chemotherapy	การให้ยาเคมีบำบัดก่อนผ่าตัด
การตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบสมบูรณ์ (Pathological complete response หรือ RCB 0)	การตรวจไม่พบเซลล์มะเร็งที่มีลักษณะลุกลามในชิ้นเนื้อเต้านมและต่อมน้ำเหลืองที่รักแร้ (ypT0/Tis, ypN0) ภายหลังจากการให้ยาเคมีบำบัดก่อนผ่าตัด หรือคำนวณคะแนน RCB index ได้ 0
RCB-I	การตรวจพบเซลล์มะเร็งปริมาณน้อย โดยคำนวณคะแนน RCB index ได้ ≤ 1.36
มะเร็งเต้านมชนิด invasive ductal carcinoma, invasive lobular carcinoma, mucinous carcinoma	นิยามทางพยาธิวิทยาตาม WHO classification, 4 th edition 2013
มะเร็งเต้านมชนิดมีตัวรับฮอร์โมน (Hormonal receptor positive breast cancer)	มะเร็งเต้านมที่ตรวจอิมมูโนฮิสโตเคมีติดตัวรับ estrogen หรือ progesterone $\geq 1\%$ (รายละเอียดเพิ่มเติมตาม ASCO/CAP estrogen and progesterone testing 2020)
มะเร็งเต้านมชนิด luminal A และ luminal B	มะเร็งเต้านมชนิดมีตัวรับฮอร์โมน โดยหากมีการแสดงออกของ Ki-67 $<14\%$ จัดเป็น luminal A และ หากมีการแสดงออกของ Ki-67 $\geq 14\%$ จัดเป็น luminal B
มะเร็งเต้านมชนิดไม่มีตัวรับเฮอรัททู (HER2 negative breast cancer)	มะเร็งเต้านมที่ตรวจอิมมูโนฮิสโตเคมีติดตัวรับ HER2 0 หรือ 1+ หรือ 2+ และตรวจเพิ่มเติมโดยวิธี fluorescence in situ hybridization (FISH) ได้ผลเป็นลบ (รายละเอียดเพิ่มเติมตาม ASCO/CAP HER2 testing 2018)
การจัดระดับมะเร็งทางพยาธิวิทยา (Histologic grading)	ใช้ Elston and Ellis modification of the Scarff-Bloom- Richardson grading system โดยใช้กล้องกำลังขยาย 0.59 มม ต่อกำลังขยายใหญ่ (high power field-HPF) โดยแบ่งเป็น เกรด 1 เท่ากับ 0-9 mitotic figures/10 HPFs, เกรด 2 เท่ากับ 10-20 mitotic figures/10HPFs และเกรด 3 มากกว่า 20 mitotic figures/ 10HPFs
การแสดงออกของ Ki-67 ในระดับสูง (High Ki-67 expression)	มีการแสดงออกของ Ki-67 $\geq 20\%$

การย้อม MCM2	ใช้ Sigma Aldrich Polyclonal anti-MCM2 HPA031496 dilution 1/200 โดยใช้เครื่องย้อมอัตโนมัติ (Discovery XT system, Ventana Medical Systems, Roche) รายงานผลเป็น%ที่ติดสี
วัยหมดประจำเดือน (menopause)	ผู้หญิงที่มีอายุมากกว่า 60 ปี หรือผู้หญิงที่มีอายุน้อยกว่า 60 ปี แต่ได้รับการผ่าตัดหรือฉายแสงบริเวณรังไข่ทั้งสองข้าง, หรือผู้ที่ไม่มีประจำเดือนติดต่อกันอย่างน้อย 12 เดือนโดยที่ไม่ได้รับยาต้านฮอร์โมน Tamoxifen, ยาเคมีบำบัดหรือยาที่กีดการทำงานของรังไข่ หรือมีการตรวจเลือดพบระดับฮอร์โมน FSH และ Estradiol อยู่ในระดับที่ชี้บ่งถึงการหมดประจำเดือน
การกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านม (breast cancer recurrence)	การกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านมข้างเดียวกับที่วินิจฉัยหรือบริเวณใกล้เคียง (locoregional recurrence), การกลับเป็นซ้ำแบบแพร่กระจายไปอวัยวะอื่นที่ไม่ใช่เต้านม (distant recurrence) การกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านมอีกข้างหนึ่ง (second primary breast cancer)

1.8 ผลหรือประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย

ประโยชน์ที่ได้จากการงานวิจัยนี้ คือ อาจทราบถึงปัจจัยที่สามารถทำนายการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดก่อนผ่าตัดในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมชนิดที่มีตัวรับฮอร์โมนและไม่มีตัวรับฮอร์โมน ซึ่งอาจเป็นข้อมูลสำคัญที่ช่วยเลือกแนวทางการรักษาผู้ป่วยกลุ่มนี้ในอนาคต

1.9 อุปสรรคที่อาจเกิดขึ้นระหว่างการวิจัยและมาตรฐานการแก้ไข

การศึกษานี้เป็นการศึกษาแบบวิเคราะห์แบบย้อนหลัง ซึ่งอาจทำให้เกิดอุปสรรคดังนี้

1. ข้อมูลที่บันทึกในเวชระเบียนอิเล็กทรอนิกส์อาจไม่ครบถ้วน
2. ชิ้นเนื้อเดิมอาจมีคุณภาพหรือปริมาณไม่เพียงพอสำหรับการตรวจเพิ่มเติม
3. ชิ้นเนื้อจากการผ่าตัดเต้านมอาจไม่สามารถตามมาตรฐานเพิ่มเติมได้หากไม่ได้รับการผ่าตัดชิ้นเนื้อที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

มาตรฐานการรักษาโรคมะเร็งเต้านมระยะต้น คือ การผ่าตัดเต้านมและให้การรักษาเสริมในกรณีที่ผู้ป่วยมีความเสี่ยงสูงที่จะเกิดการกลับเป็นซ้ำหรือการแพร่กระจายของโรค โดยข้อบ่งชี้ของการรักษาเสริมแต่ละชนิดแสดงดังตารางที่ 2

การรักษาเสริมก่อนผ่าตัด (Neoadjuvant therapy) ในมะเร็งเต้านมระยะต้นนั้นแรกเริ่มมีการใช้ในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต้นที่มีการลุกลาม (Locally advanced breast cancer; LABC) โดยมีจุดประสงค์เพื่อลดขนาดของก้อนมะเร็งในกรณีที่ไม่สามารถผ่าตัดได้ หรือในกรณีที่ผ่าตัดได้ยาก ทำให้โอกาสที่จะสามารถผ่าตัดก้อนมะเร็งออกหมดได้เพิ่มมากขึ้น ในปัจจุบันการให้ยาเคมีบำบัดก่อนผ่าตัดเป็นมาตรฐานของการรักษามะเร็งเต้านมที่มีการลุกลามเนื่องจากมีประโยชน์ในการทดสอบการตอบสนองของก้อนมะเร็งต่อยาเคมีบำบัด ช่วยรักษามะเร็งที่อาจมีการแพร่กระจายไปแล้วแต่ไม่สามารถตรวจพบได้ทางคลินิก และช่วยเพิ่มโอกาสที่จะผ่าตัดเต้านมแบบอนุรักษ์ได้มากขึ้น

การศึกษาเกี่ยวกับการรักษาเสริมที่สำคัญแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 2 ข้อบ่งชี้ในการให้การรักษาเสริมในผู้ป่วยมะเร็งเต้านม ตามแนวทางของ National Comprehensive Cancer Network ปี 2019 (5)

ชนิดของการรักษาเสริม	ข้อบ่งชี้
ยาเคมีบำบัด	
1. ER/PR+, HER2 –	<ul style="list-style-type: none"> - ขนาดก้อนมะเร็ง ≥ 5 cm - มีการแพร่กระจายไปต่อมน้ำเหลือง ≥ 4 ต่อม - มีความเสี่ยงสูงในการกลับเป็นซ้ำจากการตรวจ multigene assays
2. ER/PR-, HER2+	<ul style="list-style-type: none"> - ขนาดก้อนมะเร็ง ≥ 1 cm - มีการแพร่กระจายไปยังต่อมน้ำเหลือง
3. ER/PR-, HER2-	<ul style="list-style-type: none"> - ขนาดก้อนมากกว่า 0.5 cm - มีการแพร่กระจายไปยังต่อมน้ำเหลือง ขนาด ≥ 0.2 mm

การฉายแสง	1. มีการแพร่กระจายไปต่อมน้ำเหลือง ≥ 1 ต่อม 2. การผ่าตัดเต้านมแบบอนุรักษ์ 3. ขนาดก้อนมะเร็ง ≥ 5 ซม. 4. ตรวจพบเซลล์มะเร็งที่ขอบชิ้นเนื้อผ่าตัด (positive margin)
ยาด้านฮอร์โมน	ตรวจพบตัวรับฮอร์โมน (ER/PR+) $\geq 1\%$
ยาด้าน HER2	ตรวจพบตัวรับ HER2*

*เกณฑ์การตรวจพบตัวรับ HER2 คือ ตรวจด้วยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมีได้คะแนน 3+ หรือตรวจได้คะแนน 2+ และตรวจ Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) พบ HER2 amplification (6)

ตารางที่ 3 การศึกษาให้ยาเคมีบำบัดเปรียบเทียบระหว่างก่อนและหลังผ่าตัดในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต้น

การศึกษา	จำนวนผู้ป่วย	ประชากร	การรักษา	pCR (%)	BCS (%)
NSABP-B18 (7)	1,523	ผ่าตัดได้	AC x 4 -> ผ่าตัด ผ่าตัด -> AC x 4	13 -	67 60
NSABP-B27 (8)	2,411	ผ่าตัดได้	AC x 4 -> ผ่าตัด AC x 4 -> D x 4 -> ผ่าตัด AC x 4 -> ผ่าตัด -> D x 4	13 26 14	62 64 62
EORTC 10902 (9)	698	T1-T4, N0-N1	FEC x 4 -> ผ่าตัด ผ่าตัด -> FEC x 4	4 -	23 18
Aberdeen trial (10)	162	T3-T4, N2	CVAP -> ผ่าตัด CVAP x 4 -> D x 4 -> ผ่าตัด	15 31	48 67
GEPAR Duo (11)	913	T2-T3, N0-N2	AC x 4 -> D x 4 -> ผ่าตัด AD q2w x 4 -> ผ่าตัด	14 7	63 58
MDACC (12)	258	Stage I-IIA	T q3w x 4 -> FAC x 4 -> ผ่าตัด wT x 12 -> FAC x 4 -> ผ่าตัด	16 28	38 47
ECTO trial (13)	1,355	T2-T3, N0-N1	AT x 4 -> CMF x 4 -> ผ่าตัด ผ่าตัด -> AT x 4 -> CMF x 4	17 18	65 34
AGO study (14)	631	T > 3 cm	E q2w x 3 -> T q2w x 3 -> ผ่าตัด ET x 4 -> ผ่าตัด	10 -	66 55

A = Doxorubicin, C = Cyclophosphamide, D = Docetaxel, T = paclitaxel, E = Epirubicin,

F = Fluouracil, M = Methotrexate, V = Vincristine

NSABP-B18 เป็นการศึกษาแบบสุ่มและมีกลุ่มควบคุม ที่มีกลุ่มตัวอย่างขนาดใหญ่พบว่าการให้ยาเคมีบำบัดสูตร Anthracyclines ร่วมกับ Cyclophosphamide 4 รอบ ก่อนหรือหลังการผ่าตัดในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่ผ่าตัดได้ไม่มีความแตกต่างกันของการกลับเป็นซ้ำของโรคและอัตราการรอดชีวิต แต่พบว่าหากให้ยาก่อนผ่าตัดจะสามารถผ่าตัดเต้านมแบบอนุรักษ์ได้มากขึ้น จาก% 60 เป็น% 68 และในผู้ป่วยที่มีการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบสมบูรณ์พบว่าสัมพันธ์กับการกลับเป็นซ้ำของโรคที่ลดลงและมีอัตราการรอดชีวิตที่มากขึ้น (7)

นอกเหนือจากการให้ยาเคมีบำบัดแล้ว ต่อมาได้มีการศึกษาที่ให้การรักษาเสริมก่อนผ่าตัดตามผลการตรวจทางอิมมูโนฮิสโตเคมี โดยให้ยาด้านฮอร์โมนในผู้ป่วยที่ตรวจพบตัวรับสัญญาณฮอร์โมนและให้ยาด้านฮอร์โมนในผู้ป่วยที่ตรวจพบตัวรับฮอร์โมน

ในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต้นที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมน ที่ได้รับการรักษาเสริมก่อนการผ่าตัด พบว่าการให้ยาด้านฮอร์โมน ร่วมกับยาเคมีบำบัดสามารถเพิ่มโอกาสการเกิดการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบสมบูรณ์ได้ บางการศึกษา (15, 16) พบว่าให้การให้ยาด้านฮอร์โมนเพียงอย่างเดียวโดยไม่ได้ให้ยาเคมีบำบัดร่วมด้วยก็ทำให้ผู้ป่วยจำนวนหนึ่งแม้จะมีจำนวนไม่มากเกิดการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบสมบูรณ์ได้ สำหรับผู้ป่วยที่มีตัวรับฮอร์โมนร่วมกับตัวรับฮอร์โมน ข้อมูลจากการศึกษาต่างๆแสดงผลทั่วไปในทางเดียวกันว่ามีอัตราของการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบสมบูรณ์ที่ต่ำกว่าผู้ป่วยที่ตรวจพบตัวรับฮอร์โมนเพียงอย่างเดียว การศึกษาสำคัญในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต้นที่ตรวจพบตัวรับฮอร์โมน แสดงตามตารางที่ 4

ตารางที่ 4 การศึกษาให้ยาเคมีร่วมกับยาด้านฮอร์โมนก่อนผ่าตัดในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต้น

การศึกษา	จำนวนผู้ป่วย	ประชากร	การรักษา	pCR (%)	BCS (%)
MDACC (17)	42	T1-T3, N0-N1	T q3w x4 -> FECx4 Add H	26 65	53 57
NOAH (18)	288	T3N1, T4, Any T with N2-N3	AT q3w x3 -> T q3w x4 -> CMFx4 Add H	22 43	NR
GEPARQuinto (19)	445	ขนาดก้อน > 1 cm	ECx4+L -> D+/-X + L ECx4+H -> D+/-X + H	22 31	56 66

การศึกษา	จำนวนผู้ป่วย	ประชากร	การรักษา	pCR (%)	BCS (%)
TRYPHAENA (20)	620	ขนาดก้อน > 1 cm	TCHP×6 -> H FEC×3 -> TPH×3 -> H q3w FEC + HP q3 x3 -> T + HP q3 x3 -> H q3w	66 57 62	27 17 22
NeoALTTO (21)	455	ขนาดก้อน > 2 cm	L -> T q1w H -> T q1w L+H -> T q1w	25 30 51	43 39 41
NeoSphere (15)	417	ขนาดก้อน > 1 cm	D+H D+H+P H+P D+P	26 46 17 24	NR
NSABP B-41 (22)	529	ขนาดก้อน > 2 cm	AC×4 -> T q1w + H AC×4 -> T q1w + L AC×4 -> T q1w + H + L	49 47 60	55 46 50
CALGB 40601 (23)		ขนาดก้อน > 1 cm, Stage II-III	T q1w + H + L x16w -> AC×4 + H T q1w + H x16w -> AC×4 + H T q1w + L x16w -> AC×4 + H	56 46 32	NR

A = Doxorubicin, C = Cyclophosphamide, D = Docetaxel, T = paclitaxel, E = Epirubicin,
F = Fluouracil, M = Methotrexate, V = Vincristine,
H = Trastuzumab, P = Pertuzumab, L = Lapatinib

ในกลุ่มที่ตรวจพบตัวรับฮอร์โมนเพียงอย่างเดียว มีการศึกษาให้ยาต้านฮอร์โมนเป็นการรักษาเสริมก่อนผ่าตัดเป็นเวลา 3-4 เดือน พบว่าส่วนใหญ่มีการตอบสนองทางพยาธิวิทยาบางส่วน และมีการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบสมบูรณ์ปริมาณเล็กน้อย มีการศึกษาที่เปรียบเทียบระหว่างยาเคมีบำบัดเทียบกับการให้ยาต้านฮอร์โมนสำหรับเป็นการรักษาเสริมก่อนผ่าตัดพบว่าการรักษาทั้งสองชนิดให้ผลตอบสนองที่ใกล้เคียงกัน (24) ปัจจุบันการให้ยาต้านฮอร์โมนก่อนผ่าตัดมักจะสงวนไว้สำหรับผู้ป่วยที่มีอายุมากหรือมีโรคประจำตัวร่วมที่ไม่สามารถทนต่อการให้ยาเคมีบำบัดได้ เนื่องจากยาต้านฮอร์โมนออกฤทธิ์ได้ช้ากว่ายาเคมีบำบัด ข้อมูลการศึกษาการให้ยาต้านฮอร์โมนก่อนผ่าตัดแสดงตามตารางที่ 5

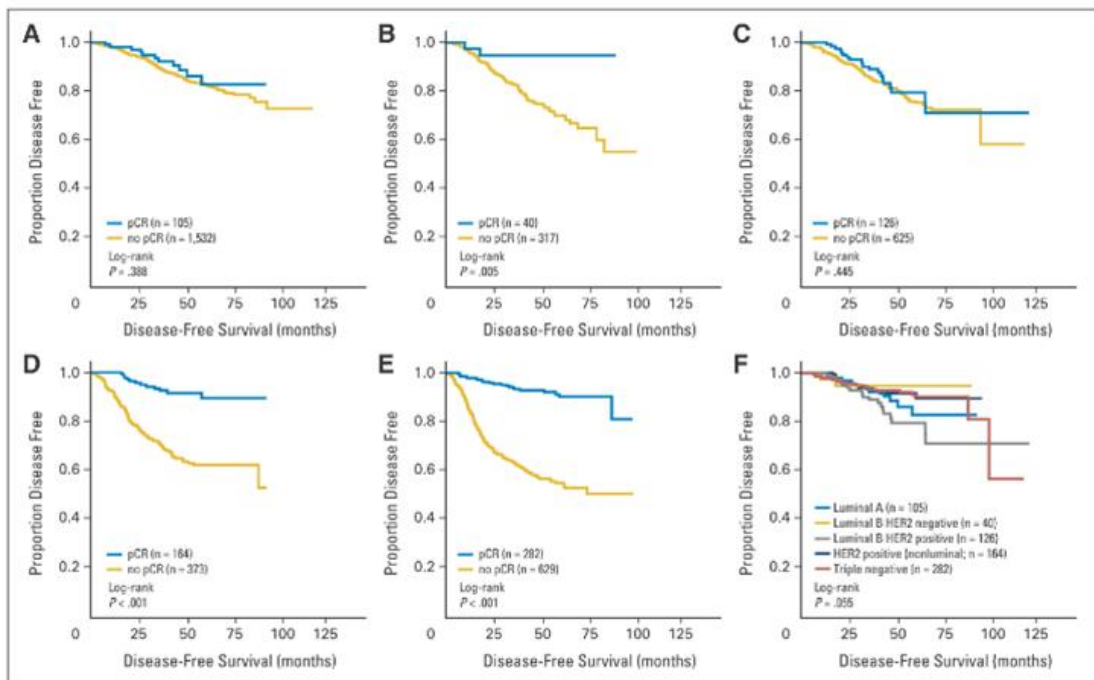
ตารางที่ 5 การศึกษาให้ยาต้านฮอร์โมนก่อนผ่าตัดในผู้ป่วยโรคมะเร็งเต้านมระยะต้นที่ตรวจพบตัวรับฮอร์โมน

การศึกษา	จำนวนผู้ป่วย	การรักษา	ระยะเวลา (เดือน)	อัตราการตอบสนอง (%)	pCR (%)	BCS (%)
P024 (25)	324	Letrozole	4	55	1.3	45
		Tamoxifen		36	1.9	35
IMPACT (26)	330	Anastrozole	3	37	-	46
		Tamoxifen		36		22
		Combined		39		26
PROACT (27)	461	Anastrozole	3	40	-	NR
		Tamoxifen		35		
Semiglazov et al (24)	73	Exemestane	3	89	5	39
		Tamoxifen		57	3	11
ACOSOGZ1031 (28)	377	Exemestane	4	63	-	67
		Letrozole		75		75
		Anastrozole		70		70

งานวิจัยในเวลาต่อมาได้มีความพยายามที่จะหาความสัมพันธ์ระหว่างการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบสมบูรณ์ภายหลังการให้การรักษาเสริมก่อนผ่าตัดกับผลลัพธ์ทางคลินิก จากการศึกษาวิเคราะห์แบบอภิมาน (29, 30) พบว่า แต่ละการศึกษามีการใช้ค่าจำกัดความของการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบสมบูรณ์ที่ต่างกัน แต่ลักษณะทางพยาธิวิทยาที่มีความสัมพันธ์กับการกลับเป็นซ้ำของโรคต่ำและการรอดชีวิตที่สูงขึ้น คือ การตรวจไม่พบเซลล์มะเร็งที่มีลักษณะลุกลามในชั้นเนื้อเต้านมและต่อมน้ำเหลืองที่รักแร้ โดยความสัมพันธ์ดังกล่าวจะพบชัดเจนในชนิดของมะเร็งบางชนิดเท่านั้น คือ ชนิด luminal B/HER2-negative, HER2-positive (nonluminal) และ Triple negative ในปัจจุบันจึงถือได้ว่าการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบสมบูรณ์เป็นผลลัพธ์ตัวแทนของการกลับเป็นซ้ำของโรคและอัตราการรอดชีวิตในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมกลุ่มดังกล่าว

อย่างไรก็ตามเมื่อติดตามผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาเสริมในระยะยาวพบว่าข้อมูลที่แตกต่างกัน การศึกษาวิเคราะห์แบบอภิมานของ Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG) (31) ซึ่งศึกษาผลลัพธ์ในระยะยาวของผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาเสริมก่อนผ่าตัดเปรียบเทียบ

กับหลังผ่าตัดพบว่า ไม่มีความแตกต่างของอัตราการรอดชีวิตระหว่างทั้ง 2 กลุ่ม ในผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาเสริมก่อนผ่าตัดมีการกลับเป็นซ้ำของโรคเฉพาะที่สูงกว่า แต่การกลับเป็นซ้ำนั้นไม่ได้นำไปสู่อัตราการรอดชีวิตที่ลดลง โดยผลลัพธ์นี้อาจเกิดจากการที่ผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาเสริมก่อนผ่าตัดมีอัตราการผ่าตัดเต้านมแบบอนุรักษ์ที่มากกว่า การศึกษาแบบอภิมานอีกการศึกษาหนึ่ง (32) ทำการหาความสัมพันธ์ระหว่างการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบสมบูรณ์ภายหลังการได้รับยาเคมีบำบัดกลุ่ม Anthracyclines และ Taxanes ก่อนผ่าตัดต่อการกลับเป็นซ้ำและอัตราการรอดชีวิตของมะเร็งเต้านมในระยะยาว พบว่า การตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบสมบูรณ์มีความสัมพันธ์กับการกลับเป็นซ้ำของโรคที่ลดลงและอัตราการรอดชีวิตที่ยาวนานขึ้น โดยจะพบความสัมพันธ์นี้จะพบเฉพาะในผู้ป่วยกลุ่ม TNBC และ กลุ่มที่มีตัวรับ เฮอร์ทูเท่านั้น แต่จะไม่พบความสัมพันธ์นี้ในมะเร็งเต้านมกลุ่มอื่น



รูปที่ 4 ผลของการมีการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบสมบูรณ์ต่อระยะปลอดโรคของมะเร็งเต้านมตามกลุ่มย่อยต่างๆ; A = Luminal A like, B = Luminal B (HER2 negative), C = Luminal B (HER2 positive), D = HER2 positive, E = Triple negative

เนื่องจากการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบสมบูรณ์เป็นผลลัพธ์ที่ดีของการรักษาจึงมีความพยายามในการหาปัจจัยทำนายการตอบสนอง และปัจจัยการพยากรณ์โรคในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่ให้การรักษาเสริมก่อนผ่าตัด มีการศึกษาพบว่าปัจจัยที่ช่วยทำนายการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบสมบูรณ์ ได้แก่ ก้อนมะเร็งขนาดเล็ก, ขนาดและต่อมน้ำเหลืองขนาดเล็ก, มีการตอบสนองทางคลินิกของก้อนมะเร็งและต่อมน้ำเหลือง, การตรวจพบตัวรับฮอร์โมน, มะเร็งเต้านมกลุ่ม TNBC, ค่า Ki-67 สูง, ตรวจพบ Tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) และระดับของพยาธิวิทยาระดับที่ 3 ส่วนปัจจัยที่ทำนายว่ามีโอกาสการเกิดการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบสมบูรณ์ที่ต่ำ ได้แก่ การตรวจพบตัวรับฮอร์โมน, ก้อนมะเร็งชนิด invasive lobular carcinoma และการตรวจพบการลุกลามเข้าสู่หลอดเลือดและน้ำเหลือง (33-36) อย่างไรก็ตามในปัจจุบันปัจจัยที่สำคัญที่สุดซึ่งถึงการตอบสนองต่อการให้ยาเคมีบำบัดก่อนผ่าตัด คือ การตรวจไม่พบตัวรับฮอร์โมน และการตรวจพบตัวรับฮอร์โมน (37) ส่วนปัจจัยอื่น ๆ ยังไม่พบที่มีความสัมพันธ์ที่ชัดเจน

จากข้อมูลข้างต้นจะเห็นได้ว่าผู้ป่วยมะเร็งเต้านมชนิดที่มีตัวรับฮอร์โมนซึ่งเป็นกลุ่มที่พบมากที่สุดเป็นกลุ่มที่มีการตอบสนองต่อการรักษาเสริมก่อนผ่าตัดต่ำที่สุด มีผู้ป่วยจำนวนน้อยที่จะมีการตอบสนองทางพยาธิวิทยา

การประเมินการตอบสนองทางพยาธิวิทยาโดยแบ่งเป็นการตอบสนองแบบสมบูรณ์และไม่สมบูรณ์นั้น มีข้อจำกัดในการพยากรณ์โรคในผู้ป่วยกลุ่มที่มีการตอบสนองแบบไม่สมบูรณ์ เนื่องจากในกลุ่มที่มีการตอบสนองต่อการรักษาเสริมก่อนผ่าตัดได้ดีแต่ไม่ได้มีนิยามเข้ากับการตอบสนองแบบสมบูรณ์ก็มีข้อมูลว่ามีพยากรณ์โรคที่ต่ำกว่ากลุ่มที่ไม่มีการตอบสนองทางพยาธิวิทยาเลย การแบ่งการตอบสนองโดยใช้ Residual cancer burden (RCB) (38) ซึ่งพัฒนาโดยสถาบัน MD Anderson cancer center เป็นอีกวิธีหนึ่งที่นิยมใช้ การประเมินด้วย RCB index จะแบ่งลักษณะทางพยาธิวิทยาภายหลังได้รับการรักษาเสริมก่อนผ่าตัดออกเป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ RCB 0, RCB-I, RCB-II และ RCB-III ด้วยการคำนวณตามรูปที่ 5 โดย RCB 0 มีความหมาย เช่นเดียวกับการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบสมบูรณ์ RCB-I คือ มีปริมาณเซลล์มะเร็งเหลือน้อย RCB-II คือ มีปริมาณเซลล์มะเร็งเหลือปานกลาง และ RCB-III คือ มีปริมาณเซลล์มะเร็งเหลือมาก หลังจากติดตามผู้ป่วยหลังการผ่าตัด 5 ปี พบว่า RCB 0 และ RCB-I มีการพยากรณ์โรคที่ใกล้เคียงกัน จึงอาจกล่าวได้ว่าการตอบสนองแบบ RCB-I ก็จัดเป็นกลุ่มที่มีการตอบสนองที่ดีต่อการรักษาเสริมก่อนผ่าตัดเช่นเดียวกับการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบสมบูรณ์ สำหรับมะเร็งเต้านมกลุ่มที่มีตัวรับฮอร์โมนและไม่มีตัวรับฮอร์โมน พบว่ามีสัดส่วนของผู้ป่วยที่มีการตอบสนองแบบ RCB 0/I ภายหลังการได้รับการรักษาเสริมก่อนผ่าตัด 23% (39) นอกจากนี้การศึกษาแบบอภิมาน (40) ยังพบว่าการแบ่งการตอบสนองด้วย RCB สามารถพยากรณ์การกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านมทุกชนิดในระยะยาวได้อีกด้วย ดังแสดงตามรูปที่ 6

รูปที่ 5 วิธีการคำนวณ Residual cancer burden

(A)

(1) Primary Tumor Bed

Primary Tumor Bed Area: (mm) X (mm)

Overall Cancer Cellularity (as percentage of area): (%)

Percentage of Cancer That Is *in situ* Disease: (%)

(2) Lymph Nodes

Number of Positive Lymph Nodes:

Diameter of Largest Metastasis: (mm)

Residual Cancer Burden:

Residual Cancer Burden Class:

(B)

Response in the breast

Response in the lymph nodes

$$RCB = 1.4(f_{inv} d_{prim})^{0.17} + [4(1 - 0.75^{LN})d_{met}]^{0.17}$$

Proportion of residual invasive carcinoma area that contains invasive carcinoma

(1 - (%CIS/100)) x (%CA/100)
Can ignore CIS

2 largest dimensions of residual invasive carcinoma

$\sqrt{d_1 d_2}$

Number of positive lymph nodes

Size of largest lymph node metastasis

Independently prognostic

รูปที่ 6 ความสัมพันธ์ระหว่าง Residual cancer burden และการกลับเป็นซ้ำของโรคในมะเร็งเต้านมตามกลุ่มย่อยต่างๆที่ 5 ปีและ 10 ปี

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

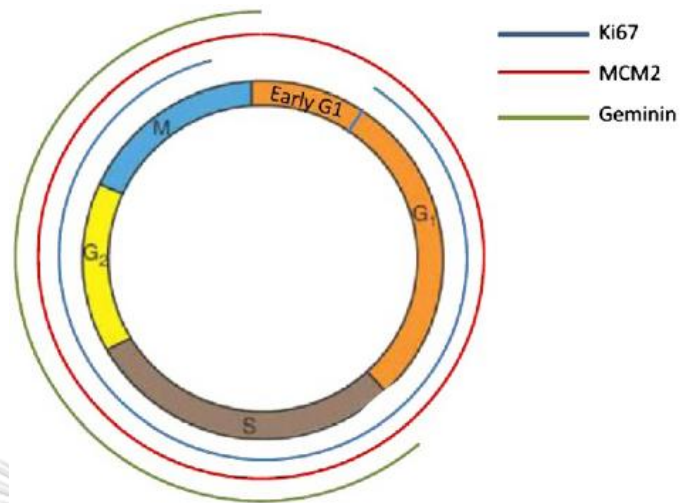
Breast Cancer Subtype	Pathologic Complete Response	RCB-I	RCB-II	RCB-III
Triple-Negative				
5 yr	91%	80%	66%	28%
10 yr	86%	75%	61%	25%
HR-/HER2+				
5 yr	94%	85%	63%	60%
10 yr	93%	85%	63%	60%
HR+/HER2+				
5 yr	94%	91%	76%	54%
10 yr	91%	83%	64%	45%
HR+/HER2-				
5 yr	88%	91%	80%	71%
10 yr	81%	86%	69%	52%

HR = hormone receptor; RCB = residual cancer burden.

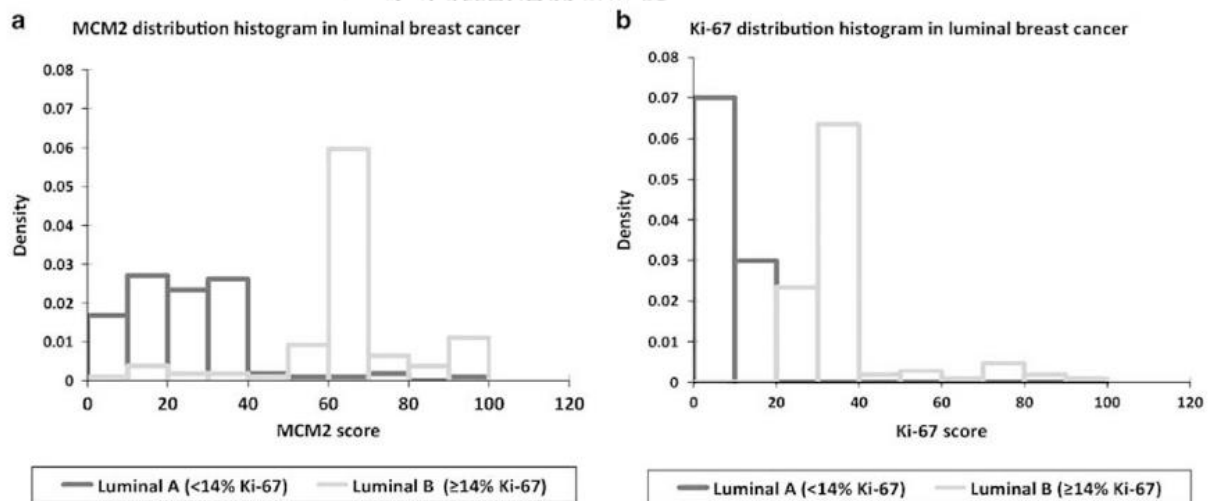
Ki-67 เป็นโปรตีนที่เกิดจากการทำงานของยีน MKI67 ซึ่งเกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของเซลล์ แต่ปัจจุบันยังไม่ทราบหน้าที่การทำงานชัดเจน การตรวจย้อมอิมมูโนฮิสโตเคมีพบการแสดงออกของ Ki-67 ในระดับสูงมีความสัมพันธ์กับเซลล์ที่แบ่งตัวเร็วและการพยากรณ์โรคที่ไม่ดี ตามแนวทางของ St. Gallen ใช้จุดตัดของ Ki-67 ที่ $\geq 14\%$ เพื่อแบ่งมะเร็งเต้านมกลุ่มที่มีตัวรับฮอร์โมนเป็น Luminal A และ Luminal B ที่มีพยากรณ์โรคแตกต่างกัน ส่วนในแง่ของการตอบสนองต่อการรักษาเสริมก่อนผ่าตัดที่ดีในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต้นนั้นแนะนำให้ใช้จุดตัดของ Ki-67 ที่ $\geq 20\%$ (41) แต่บางการศึกษาพบว่าการใช้จุดตัด Ki-67 ที่ $\geq 40-45\%$ (42, 43) สามารถทำนายการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบสมบูรณ์ได้ดีกว่า อย่างไรก็ตามการตรวจ Ki-67 ยังมีข้อจำกัดบางประการที่สำคัญ เช่น Ki-67 ไม่มีการแสดงออกในระยะเริ่มต้นของ G1 ในวัฏจักรเซลล์ มีความคลาดเคลื่อนของค่า Ki-67 สูงเมื่อมีการตรวจซ้ำ และยังไม่มีการตรวจ Ki-67 ที่เป็นที่ยอมรับในการบอกพยากรณ์ของโรคในมะเร็งเต้านม เนื่องจากมีการรายงานค่า Ki-67 แตกต่างกันในแต่ละการศึกษา (41, 44)

Mini-chromosome maintenance 2 หรือ MCM2 เป็นโปรตีนที่จัดอยู่ในกลุ่มของ MCM protein complex ซึ่งประกอบไปด้วยโปรตีน 6 ตัว คือ MCM2-MCM7 มีหน้าที่เกี่ยวกับการเริ่มต้นการสังเคราะห์ DNA การตรวจพบ MCM2 ในระดับที่สูงสามารถบอกพยากรณ์ที่ไม่ดีในมะเร็งชนิดต่างๆได้ เช่น ในมะเร็งเต้านม มะเร็งลำไส้ และมะเร็งไทรอยด์ (45-47) ในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่มีระดับของ MCM2 สูง พบว่ามีความสัมพันธ์กับลักษณะทางพยาธิวิทยาที่ไม่ดี โดยเฉพาะในกลุ่ม Luminal B, กลุ่มที่มีตัวรับฮอร์โมน และกลุ่ม TNBC ในกลุ่มที่มีการแสดงออกของ MCM2 ต่ำ จะสัมพันธ์กับช่วงระยะเวลาปลอดโรคที่ยาวนานขึ้น จากการศึกษาเปรียบเทียบระหว่างการใช้ Ki-67 กับ MCM2 พบว่ามีการแสดงออกของ MCM2 มากกว่า Ki-67 ในเซลล์มะเร็งเต้านม เนื่องจาก MCM2 จะมีการแสดงออกตลอดขณะที่เซลล์กำลังมีการแบ่งตัว ส่วน Ki-67 จะเริ่มแสดงออกในระยะท้ายของระยะ G1 ในวัฏจักรเซลล์เท่านั้น (รูปที่ 7) นอกจากนี้การตรวจ MCM2 ยังสามารถแยกผู้ป่วยกลุ่มที่มีตัวรับฮอร์โมนชนิด Luminal A และ Luminal B ที่มีพยากรณ์โรคต่างกันได้ดีกว่า Ki-67 โดยใช้จุดตัดของ MCM2 ที่ $\geq 38.4\%$ (รูปที่ 8 และ รูปที่ 9) (48) ยังมีการศึกษาจำนวนน้อยที่ศึกษาถึงการใช้ MCM2 ในการทำนายการตอบสนองทางพยาธิวิทยาภายหลังการให้การรักษาเสริมก่อนผ่าตัด การศึกษาหนึ่งทำการหาความสัมพันธ์ระหว่างโปรตีนที่ควบคุมวัฏจักรเซลล์ ได้แก่ MCM2, Ki-67, PHH3 และ Cyclin A กับการตอบสนองต่อการรักษาเสริมก่อนผ่าตัดในผู้ป่วยมะเร็งเต้านม 57 คน พบว่าผู้ป่วยที่มีค่า MCM2 สูง มีความสัมพันธ์กับการเกิดการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบสมบูรณ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยใช้ค่าจุดตัดของ MCM2 ที่ $\geq 47.5\%$ (43) อีกการศึกษาหนึ่งพบว่า MCM2 ที่จุดตัด $\geq 30\%$ มีความสัมพันธ์กับอัตราการรอดชีวิตในผู้ป่วยมะเร็งเต้านม (49) อย่างไรก็ตามต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมทางคลินิกเกี่ยวกับการตรวจ MCM2 ก่อนจะนำมาใช้เป็นมาตรฐานในการส่งตรวจในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมต่อไป

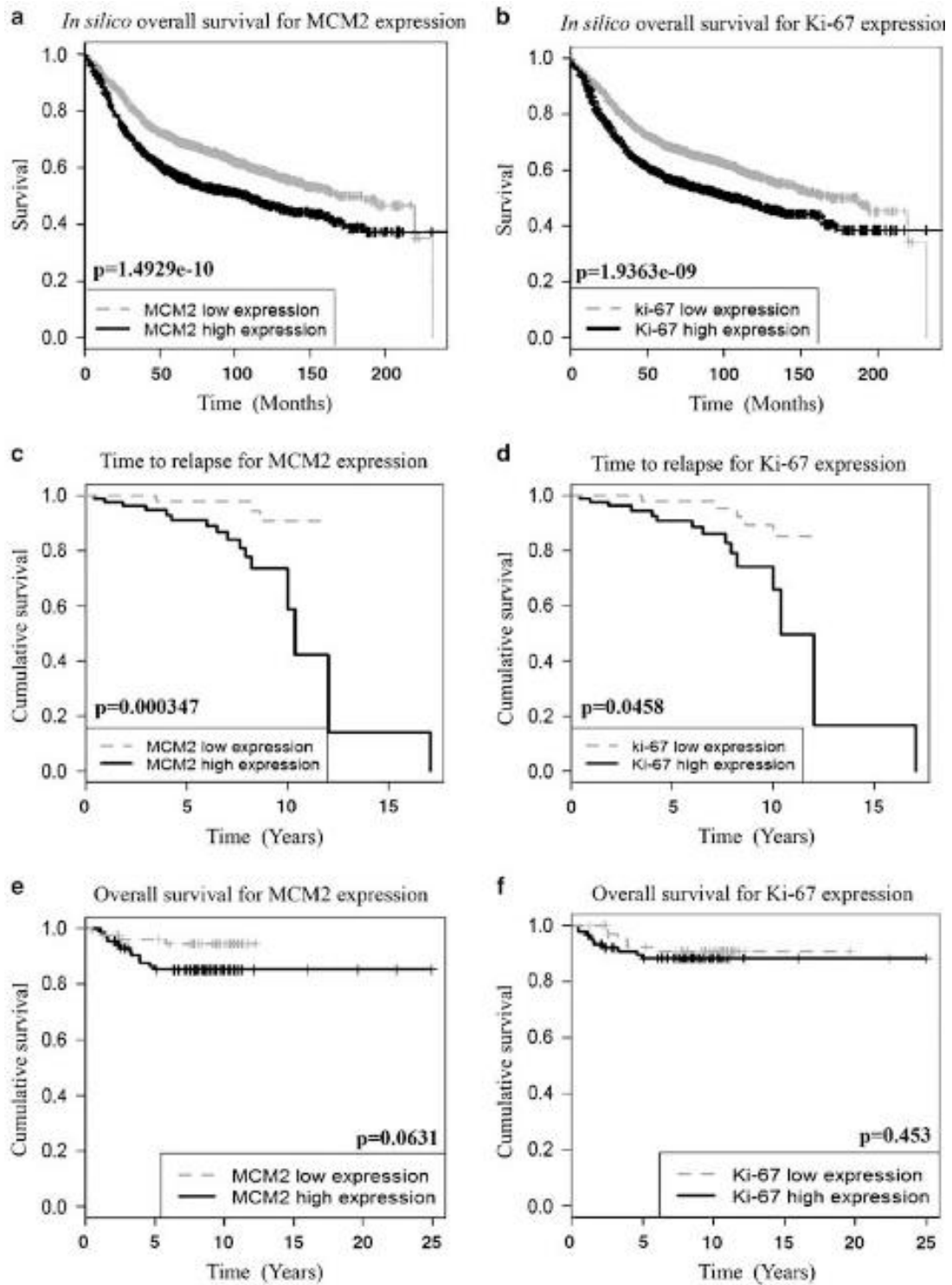
รูปที่ 7 การแสดงออกของ Ki-67 และ MCM2 ในวัฏจักรเซลล์



รูปที่ 8 การแสดงออกของ MCM2 ใน luminal breast cancer



รูปที่ 9 การแสดงออกของ MCM2 กับการกลับเป็นซ้ำของโรคและการรอดชีวิตเปรียบเทียบกับ Ki-67



ด้วยความสามารถของ MCM2 ที่สามารถตรวจพบในมะเร็งเต้านมในระดับที่สูงกว่า Ki-67 และสามารถจำแนกผู้ป่วยกลุ่มที่มีตัวรับฮอร์โมนชนิด Luminal A และ Luminal B ได้ดีกว่า Ki-67 การตรวจ MCM2 ในชิ้นเนื้อมะเร็งเต้านมก่อนผ่าตัดอาจสามารถทำนายการตอบสนองทางพยาธิวิทยาที่แตกต่างกันในผู้ป่วยกลุ่มนี้ได้ ซึ่งอาจมีประโยชน์ในการพยากรณ์โรคและเลือกการรักษาที่เหมาะสมในผู้ป่วยกลุ่มนี้ได้ดียิ่งขึ้น



บทที่ 3

วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 รูปแบบการวิจัย (Research design)

การศึกษานี้เป็นการวิจัยเชิงวิเคราะห์แบบย้อนหลังและไปข้างหน้าในสถาบันเดียว (Single center, retrospective cohort study)

3.2 ระเบียบวิธีการวิจัย (Research methodology)

ประชากรที่ศึกษา (Study Population)

ประชากรหญิงไทยที่ได้รับการวินิจฉัยเป็นมะเร็งเต้านมระยะต้นชนิดที่มีตัวรับฮอร์โมนและไม่มีตัวรับเฮอร์ทูจากการตรวจทางพยาธิวิทยาที่ได้รับยาเคมีบำบัดก่อนผ่าตัดในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ตั้งแต่ 1 มกราคม พ.ศ. 2558 ถึง 31 ธันวาคม พ.ศ. 2563

เกณฑ์การคัดเลือกผู้ป่วยเข้าร่วมการวิจัย (Inclusion criteria)

1. ผู้ป่วยหญิงที่ได้รับการวินิจฉัยเป็นมะเร็งเต้านมชนิดมีตัวรับฮอร์โมนและไม่มีตัวรับเฮอร์ทูจากการตรวจทางพยาธิวิทยา
2. มีระยะโรคอยู่ในระยะที่ I-III ตาม America Joint Committee in Cancer (AJCC) 8th edition
3. ได้รับยาเคมีบำบัดก่อนผ่าตัดและตามด้วยการผ่าตัดเต้านม
4. มีชิ้นเนื้อมะเร็งเต้านมที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ที่สามารถส่งย้อมอิมมูโนฮิสโตเคมีและพบทวนลักษณะทางพยาธิวิทยาได้

เกณฑ์การคัดผู้ป่วยออกจากการศึกษา (Exclusion criteria)

1. ผู้ป่วยได้รับการวินิจฉัยเป็นมะเร็งเต้านมระยะแพร่กระจาย
2. ไม่มีชิ้นเนื้อและไม่สามารถตามมาตรฐานเพิ่มเติมที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ได้

3.3 ขนาดตัวอย่างและการคำนวณ

ใช้วิธีคำนวณขนาดตัวอย่างโดยอาศัย 10 events per variable rule (EPV) (50) (Peduzzi and Concato, 1995) สำหรับ multivariable binary logistic regression โดยอาศัยตัวแปรตามกรอบแนวคิดวิจัยทั้งหมด 3 ตัวแปร ได้แก่

- ค่า Ki-67, ระดับมะเร็งทางพยาธิวิทยา และสถานะของ PR

$$N = 10 \times EPV = 10 \times 3 = 30 \text{ คน}$$

สัดส่วนของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมชนิดที่มีตัวรับฮอร์โมน และไม่มีตัวรับเฮอรัท ที่ได้รับการรักษาเสริม ก่อนผ่าตัด และมีการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบ RCB 0/I เป็น 23% (39)

$$N = 30/0.23 = 130 \text{ คน}$$

คิดโอกาสที่ข้อมูลของผู้ป่วยจะขาดหาย 10% จะต้องใช้ประชากรทั้งหมด = $130 \times 110/100 = 143$ คน

3.4 ขั้นตอนในการดำเนินการวิจัย

1. ทบทวนข้อมูลผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยเป็นมะเร็งเต้านมระยะต้น ตามรหัสโรค ICD10 ซึ่งเข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ในช่วง เดือนมกราคม พ.ศ. 2558 - เดือนธันวาคม พ.ศ. 2563 จากฐานข้อมูลผู้ป่วยโรคมะเร็งของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ และศึกษาเวชระเบียน อิเล็กทรอนิกส์ เพื่อคัดเลือกผู้ป่วยตาม inclusion และ exclusion criteria เก็บข้อมูลจากเวชระเบียน โดยใช้แบบบันทึกข้อมูล (case record form) ดังภาคผนวก ค

2. ติดต่อภาควิชาพยาธิวิทยาเพื่อขอใช้ชิ้นเนื้อมะเร็งเต้านมที่เก็บไว้ในพาราฟินบล็อก (formalin-fixed paraffin embedded) ของผู้ป่วยที่เข้าเกณฑ์ inclusion criteria และติดต่อหน่วยอิมมูโนฮิสโตเคมีหน่วยพยาธิวิทยาเพื่อนำชิ้นเนื้อก่อนผ่าตัดตรวจย้อม MCM2 และติดต่อพยาธิแพทย์เพื่อทบทวนลักษณะทางพยาธิวิทยาของชิ้นเนื้อหลังได้ยาเคมีบำบัดเพื่อนำมาคำนวณ RCB index

3. ขั้นตอนการย้อม MCM2 มีดังนี้

- นำชิ้นเนื้อ formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) ของมะเร็งเต้านมก่อนผ่าตัด มาย้อมอิมมูโนฮิสโตเคมี ด้วยแอนติบอดี MCM2 [rabbit polyclonal; HPA031496, Sigma Aldrich, dilution 1/200] โดยใช้เครื่องย้อมอัตโนมัติ (Discovery XT system, Ventana Medical Systems, Roche)
- นำชิ้นเนื้อที่ผ่านการย้อมอิมมูโนฮิสโตเคมี สแกนเข้าสู่ระบบดิจิทัล และบันทึกข้อมูลลงบนเครื่องคอมพิวเตอร์
- ชิ้นเนื้อที่จะนำมาวิเคราะห์จะต้องมีเซลล์มะเร็งอยู่อย่างน้อย 50 เซลล์ ต่อชิ้นเนื้อ
- วิเคราะห์การติดสี MCM2 ของเซลล์มะเร็ง โดยนับจำนวนของเซลล์มะเร็งที่ติดสีต่อจำนวนเซลล์มะเร็งทั้งหมด ด้วยการใช้โปรแกรม Aperio ImageScope ชุดวิเคราะห์ nucleus V9 และให้คะแนนตั้งแต่ 0%-100% ดังภาคผนวก ก

4. ขั้นตอนการทบทวนลักษณะทางพยาธิวิทยาของชิ้นเนื้อภายหลังได้รับยาเคมีบำบัด เพื่อคำนวณ RCB index มีดังนี้

- ทบทวนชิ้นเนื้อมะเร็งเต้านมและต่อมน้ำเหลืองภายหลังได้รับยาเคมีบำบัด ตามวิธีของ MD Anderson cancer center (ภาคผนวก ข) โดยวัดขนาดของ tumor bed, ประเมินสัดส่วนของ cancer cellularity และ in situ disease จำนวนของต่อมน้ำเหลืองที่มีโรคมะเร็งแพร่กระจาย และวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของต่อมน้ำเหลืองที่มีโรคมะเร็งที่ใหญ่ที่สุด
- คำนวณ RCB index ผ่านทาง residual cancer burden calculator (<http://www3.mdanderson.org/app/medcalc/index.cfm?pagename=jsconvert3>)

4. บันทึกข้อมูล

- บันทึกข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วย ได้แก่ เพศ อายุ และประวัติประจำเดือน
- บันทึกข้อมูลทางคลินิกของมะเร็งเต้านม ได้แก่ ตำแหน่งของก้อน ระยะของก้อนมะเร็งที่เต้านมและต่อมน้ำเหลือง และวันที่ได้รับการตรวจชิ้นเนื้อและวันที่ได้รับการผ่าตัด
- บันทึกข้อมูลทางพยาธิวิทยา ได้แก่ ชนิดของมะเร็ง ระดับของมะเร็ง ขนาด การแพร่กระจายสู่ต่อมน้ำเหลือง การลุกลามสู่หลอดเลือด ผลการย้อมอิมมูโนฮิสโตเคมีของ ER, PR, HER2, Ki-67, p53 และ MCM2
- บันทึกข้อมูลการรักษา ได้แก่ วิธีการผ่าตัดเต้านมและต่อมน้ำเหลือง ชนิดและจำนวนสูตรของยาเคมีบำบัดที่ผู้ป่วยได้รับ การฉายแสงหลังการผ่าตัด และการได้รับยาต้านฮอร์โมน
- บันทึกข้อมูลการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านม ได้แก่ วันที่กลับเป็นซ้ำ และตำแหน่งของโรคที่กลับเป็นซ้ำ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

3.5 การเก็บรวบรวมข้อมูล (Data collection)

เก็บข้อมูลพื้นฐาน ข้อมูลทางคลินิก และข้อมูลทางพยาธิวิทยาของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมชนิดมีตัวรับฮอร์โมนและไม่มีตัวรับฮอร์โมน ระยะต้นที่ได้รับยาเคมีบำบัดก่อนผ่าตัดจากเวชระเบียน อิเล็กทรอนิกส์ตามเกณฑ์การคัดเลือกผู้ป่วยเข้าร่วมการวิจัย ข้อมูลทั้งหมดของผู้เข้ารับการศึกษ将被บันทึกลงบนแบบบันทึกข้อมูลและถูกจัดเก็บเข้าสู่ระบบคอมพิวเตอร์เพื่อจะนำข้อมูลไปวิเคราะห์ต่อไป

3.6 ข้อจำกัดในการวิจัย

1. เนื่องจากการศึกษานี้เป็นการศึกษาแบบย้อนหลัง ทำให้มีความเสี่ยงที่จะมีข้อมูลขาดหายและไม่สามารถรวบรวมได้ครบถ้วนจากการทบทวนเวชระเบียนอิเล็กทรอนิกส์ นอกจากนี้ชิ้นเนื้อทาง

พยาธิวิทยาอาจไม่สามารถตามมาได้ทั้งหมด และอาจมีคุณภาพไม่เหมาะสมต่อการย้อมอิมมูโนฮิสโตเคมีหรือการทบทวนลักษณะทางพยาธิวิทยา

2. การศึกษานี้ทำในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์เพียงแห่งเดียว ลักษณะของประชากรมะเร็งเต้านมอาจมีความแตกต่างไปจากประชากรส่วนใหญ่ของประเทศ การนำข้อมูลจากการศึกษานี้ไปใช้ในวงกว้างอาจต้องมีความระมัดระวังในการแปลผล

3.7 การเปิดเผยข้อมูลแสดงตัวตนของผู้ป่วย

ข้อมูลที่แสดงตัวตนของผู้ป่วยจะถูกเก็บเป็นความลับ ไม่มีการนำข้อมูลที่แสดงตัวตนของผู้ป่วยไปเปิดเผยโดยเด็ดขาด การวิเคราะห์ข้อมูลจะใช้รหัสตัวเลขแทนผู้ป่วยแต่ละราย สำหรับการตีพิมพ์ผลงานวิจัยหรือการนำเสนอผลงานทางวิชาการจะเสนอในภาพรวมของผลการวิจัย จะไม่มีการนำข้อมูลที่แสดงตัวตนของผู้ป่วยไปเปิดเผย

3.8 การวิเคราะห์ข้อมูลและสถิติที่ใช้วิเคราะห์ (Data Analysis and Statistics)

- ประเมินความสัมพันธ์ของระดับ MCM2 และปัจจัยทางพยาธิวิทยาคลินิกอื่น ๆ ที่สัมพันธ์กับการเกิดการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบ RCB 0/I โดยใช้สถิติ Chi-square หรือ Fisher exact test และใช้ multivariable logistic regression เพื่อคำนวณ odd ratio ของความสัมพันธ์ของปัจจัยนั้น ๆ กับการเกิด RCB 0/I ใน univariate และ multivariate analysis

- ข้อมูลเชิงคุณภาพรายงานเป็น%หรือความถี่

- ข้อมูลเชิงปริมาณมีการแจกแจงปกติรายงานเป็น mean (SD), ข้อมูลเชิงปริมาณที่มีการแจกแจงไม่ปกติรายงานเป็น median (IQR)

- การหาจุดตัดของการแสดงออกของ MCM2 และ Ki-67 ที่เหมาะสม ใช้ Receiver Operating Characteristics (ROC)

- การเปรียบเทียบความแตกต่างของกลุ่มที่มีการตอบสนองแบบ RCB 0/I และ RCB II/III ใช้การวิเคราะห์โดย Chi-square ในกรณีที่เป็นการเชิงคุณภาพ และใช้การวิเคราะห์ Wilcoxon rank-sum test ในกรณีที่เป็นการเชิงปริมาณ

- การวิเคราะห์การกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านมในผู้ป่วยใช้ Kaplan-Meier เพื่อวิเคราะห์โอกาสปลอดโรคของผู้ป่วยทั้งหมด ใช้การวิเคราะห์ Cox proportional-hazards model เพื่อคำนวณค่า hazard ratio และช่วงความเชื่อมั่น 95% (95% confidence interval) และใช้ two-sided log rank test เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของแต่ละกลุ่ม

- การคำนวณทางสถิติทั้งหมดใช้โปรแกรม SPSS version 22.0

รูปที่ 10 แนวทางการวิจัย



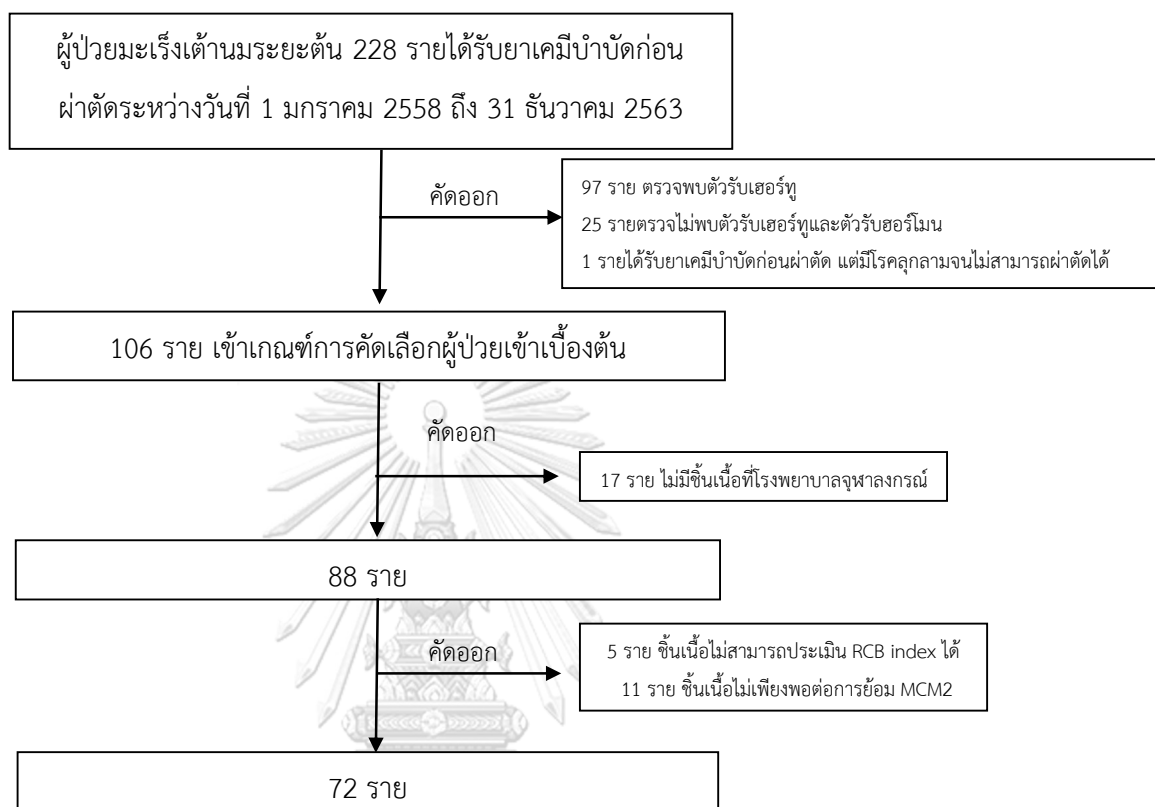
บทที่ 4

ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

4.1 ประชากรที่นำมาศึกษา

ระหว่างวันที่ 1 มกราคม 2558 ถึง วันที่ 31 ธันวาคม 2563 มีผู้ป่วยมะเร็งเรื้อรังตามระยะต้น 228 รายที่ได้รับยาเคมีบำบัดก่อนผ่าตัดและได้รับการผ่าตัดเต้านม มีผู้ป่วย 97 ราย ตรวจพบตัวรับฮอร์โมน มี 25 รายตรวจไม่พบตัวรับฮอร์โมนและตัวรับฮอร์โมน และ 106 รายที่มีตัวรับฮอร์โมนและไม่มีตัวรับฮอร์โมน มีผู้ป่วย 1 รายที่ได้รับยาเคมีบำบัดก่อนผ่าตัด แต่มีโรคลูกกลมจนไม่สามารถผ่าตัดได้ มีผู้ป่วย 17 รายที่ไม่มีชิ้นเนื้อในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ จากการทบทวนชิ้นเนื้อของผู้ป่วย 88 ราย มีผู้ป่วย 5 ราย ที่ชิ้นเนื้อไม่สามารถประเมิน RCB index ได้ และมี 11 รายที่ชิ้นเนื้อไม่เพียงพอต่อการย้อม MCM2 จึงมีผู้ป่วยทั้งหมด 72 รายที่สามารถย้อม MCM2 และประเมิน RCB index ได้

รูปที่ 11 การคัดเลือกประชากรที่นำมาวิเคราะห์



4.2 ข้อมูลทั่วไปของผู้ป่วย

ผู้ป่วยมะเร็งเต้านมชนิดมีตัวรับฮอร์โมนและไม่มีตัวรับฮอร์โมนระยะต้นที่ได้รับยาเคมีบำบัดก่อนผ่าตัดและได้รับการผ่าตัดเต้านม ซึ่งมีชิ้นเนื้อในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์มีทั้งหมด 88 ราย มี 2 รายที่มีมะเร็งเต้านม 2 ข้าง (2.2%) มีค่ามัธยฐานของอายุ 49 ปี และอยู่ในภาวะหมดประจำเดือน 54 ราย (61.4 %) ระยะของโรคทางคลินิกที่พบบ่อยที่สุด คือ ระยะ cT4 (40%) และระยะ cN1 (66.7%) มะเร็งชนิด invasive ductal carcinoma เป็นชนิดที่พบบ่อยที่สุด (91.1%) โดยส่วนมากระดับของมะเร็งอยู่ในระดับที่ 2 (58.9%) มีระดับ ER > 10% 92.2% และมีสถานะ PR เป็นลบ 22.2% ผู้ป่วยส่วนใหญ่ถูกจัดอยู่ในกลุ่ม luminal B-like (80%) จากชิ้นเนื้อทั้งหมด 90 ชิ้น มีชิ้นเนื้อ 85 ชิ้นที่สามารถย้อม Ki-67 ได้ และมี 77 ชิ้นที่สามารถย้อม MCM2 ได้ ค่ามัธยฐานของการแสดงออก Ki-67 และ MCM2 คือ 30% และ 23.6% ตามลำดับ ผู้ป่วยได้รับยาเคมีบำบัดก่อนผ่าตัด 1 สูตร 53.3% และ 2 สูตร 44.4% โดยยาเคมีบำบัดสูตรแรกที่ใช้มากที่สุด คือ สูตร AC 4 รอบ (84.4%) ส่วนยาเคมีบำบัดที่ใช้มากที่สุดในสูตรที่ 2 คือ paclitaxel ทุก 1 สัปดาห์ 12 รอบ (% 52.4) ผู้ป่วยส่วนมาก

ได้รับการผ่าตัดแบบเอาเต้านมและต่อมน้ำเหลืองออกทั้งหมด (78.9% และ 93.3% ตามลำดับ)

ตารางที่ 6 แสดงข้อมูลผู้ป่วยของการศึกษา

ตารางที่ 6 ข้อมูลทั่วไปของผู้ป่วย

ข้อมูลทั่วไปของผู้ป่วย	จำนวน (%) (N = 88)
ค่ามัธยฐานของอายุ, ปี (พิสัย)	49 (27-80)
มะเร็งเต้านม 2 ข้าง	2 (2.2%)
สถานภาพประจำเดือน	
- วัยก่อนหมดประจำเดือน	54 (61.4%)
- วัยหมดประจำเดือน	34 (38.6%)
ระยะของมะเร็งเต้านมทางคลินิก (AJCC 8 th)	
- stage 2	31 (34.4%)
- stage 3	59 (65.6%)
ระยะของก้อนมะเร็งทางคลินิก	
- cTx-1	3 (3.3%)
- cT2	29 (32.2%)
- cT3	22 (24.4%)
- cT4	36 (40%)
ระยะของต่อมน้ำเหลืองทางคลินิก	
- cN0	13 (14.4%)
- cN1	60 (66.7%)
- cN2	14 (15.6%)
- cN3	3 (3.3%)
ชนิดมะเร็งเต้านมทางพยาธิวิทยา	
- invasive ductal carcinoma	82 (91.1%)
- invasive lobular carcinoma	5 (5.6%)
- mucinous carcinoma	2 (2.2%)
- mixed + other	1 (1.1%)
ระดับของพยาธิวิทยา	

ข้อมูลทั่วไปผู้ป่วย	จำนวน (%) (N = 88)
- ระดับที่ 1	7 (7.8%)
- ระดับที่ 2	53 (58.9)
- ระดับที่ 3	9 (10%)
- ไม่มีรายงาน	21 (23.3%)
สถานะของ ER	
- 1-10%	7 (7.8%)
- > 10%	83 (92.2%)
สถานะของ PR	
- $\geq 1\%$	70 (77.8%)
- เป็นลบ	20 (22.2%)
ชนิดของมะเร็งเต้านม	
- Luminol-A like	13 (14.4%)
- Luminol-B like	72 (80%)
- Unknown	5 (5.6%)
ค่ามัธยฐานการแสดงออกของ Ki-67 (IQR) (n = 85)	30% (20-50)
- Ki-67 $\geq 20\%$	69 (81.2%)
- Ki-67 < 20%	16 (18.8%)
ค่ามัธยฐานการแสดงออกของ MCM2 (IQR) (n = 77)	23.06% (11.62-36.77)
- MCM2 $\geq 40\%$	17 (22.1%)
- MCM2 < 40%	60 (77.9%)
ยาเคมีบำบัดก่อนผ่าตัด	
จำนวนสูตรยาที่ผู้ป่วยได้รับ	
- 1 สูตร	48 (53.3%)
- 2 สูตร	40 (44.4%)
- 3 สูตร	2 (2.2%)
สูตรยาเคมีบำบัด	
สูตรที่ 1	
- anthracycline-based	78 (86.6%)

ข้อมูลทั่วไปผู้ป่วย	จำนวน (%) (N = 88)
- Paclitaxel-based	8 (8.9%)
- สูตรอื่นๆ	3 (3.3%)
สูตรที่ 2	
- Paclitaxel-based	36 (85.8%)
- Docetaxel	3 (7.1%)
- สูตรอื่นๆ	3 (3.3%)
การผ่าตัด	
การผ่าตัดเต้านม	
- ผ่าตัดเต้านมออกทั้งหมด	71 (78.9%)
- ผ่าตัดเต้านมแบบอนุรักษ์	19 (21.1%)
การผ่าตัดต่อมน้ำเหลือง	
- ผ่าตัดเลาะต่อมน้ำเหลืองออกทั้งหมด	84 (93.3%)
- ผ่าตัดต่อมน้ำเหลืองเซนติเนล	6 (6.7%)

4.3 การตอบสนองทางพยาธิวิทยาภายหลังการได้รับยาเคมีบำบัดก่อนผ่าตัด

จากชิ้นเนื้อทั้งหมด 90 ชิ้น มี 84 ชิ้นที่สามารถประเมิน RCB index ได้ โดย RCB 0/I พบในผู้ป่วย 7 ราย (8.3%) มี RCB 0 หรือการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบสมบูรณ์ 1 ราย (1.2%) ผู้ป่วยส่วนมากมีปริมาณเซลล์มะเร็งหลงเหลืออยู่หลังการได้รับยาเคมี โดยมี RCB II/III ในผู้ป่วย 77 ราย (85.5%) ตารางที่ 7 แสดง RCB index และระยะทางพยาธิวิทยาของมะเร็งเต้านมภายหลังการได้รับยาเคมีบำบัด

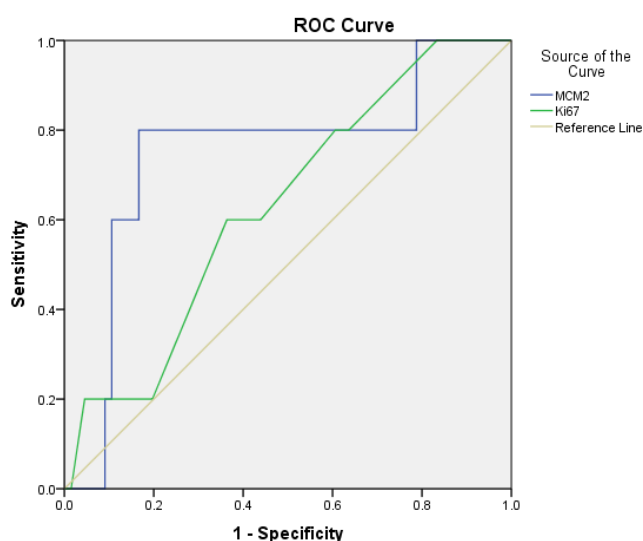
ตารางที่ 7 การตอบสนองทางพยาธิวิทยาภายหลังได้ยาเคมีบำบัด

การตอบสนองทางพยาธิวิทยา	จำนวน (%) (N=84)
Residual cancer burden	
- RCB 0 (pCR)	1 (1.1%)
- RCB 1	6 (6.7%)
- RCB 2	37 (41.1%)

- RCB 3	40 (44.4%)
- ไม่สามารถประเมินได้	6 (6.7%)
ระยะทางพยาธิวิทยาของก้อนมะเร็ง	
- ypT0	2 (2.2%)
- ypTis	2 (2.2%)
- ypT1-4	86 (95.6%)
ระยะทางพยาธิวิทยาของต่อมน้ำเหลือง	
- ypN0	27 (30%)
- ypN1-3	63 (70%)

4.4 จุดตัดของการแสดงออกของ MCM2 และ Ki-67

การหาจุดตัดที่เหมาะสมของการแสดงออกของ MCM2 และ Ki-67 ใช้การวิเคราะห์ Receiver Operating Characteristic (ROC) curve (แผนภาพที่) พื้นที่ใต้กราฟของการแสดงออกของ MCM2 มีค่า 0.748 ส่วน Ki-67 มีค่า 0.63 เมื่อประเมินความไวและความจำเพาะร่วมด้วย พบว่าจุดตัดที่เหมาะสมของ MCM2 คือ 40% (ความไว 80% ความจำเพาะ 82.1%) และ Ki-67 คือ 30% (ความไว 80% ความจำเพาะ 40%)



รูปที่ 12 ROC curve การแสดงออกของ MCM2 และ Ki-67 กกับการเกิด RCB 0/I

4.5 การแสดงออกของ MCM2 และการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบ RCB 0/I

มีชิ้นเนื้อทั้งหมด 72 ชิ้นที่สามารถย้อม MCM2 และประเมินการตอบสนองทางพยาธิวิทยาด้วย RCB index ได้

ตารางที่ 8 การแสดงออกของ MCM2 $\geq 40\%$ และการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบ RCB 0/I

การแสดงออกของ MCM2 (N=72)	RCB 0/I (N = 5)	RCB II/III (N = 67)	p-value
$\geq 40\%$	4 (80%)	12 (17.9%)	0.001
$< 40\%$	1 (20%)	55 (82.1%)	

เมื่อใช้จุดตัดการแสดงออกของ MCM2 $\geq 40\%$ จะพบการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบ RCB 0/I ได้มากกว่า RCB II/III เมื่อเทียบกับการใช้ค่าจุดตัดของ MCM2 ที่ระดับอื่น ๆ โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value = 0.001)

4.6 ความสัมพันธ์ของลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิกและการแสดงออกของ MCM2

ตารางที่ 9 ลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิกและการแสดงออกของ MCM2 $\geq 40\%$

ลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิก	MCM2 $\geq 40\%$	MCM2 $< 40\%$	p-value
ระยะก่อนมะเร็งทางคลินิก T4	8/17 (47.1%)	24/60 (40%)	0.602
ตรวจพบต่อมน้ำเหลืองทางคลินิก	15/17 (88.2%)	55/60 (90.9%)	0.664
ชนิดมะเร็งเต้านมทางพยาธิวิทยา - invasive ductal carcinoma	16/17 (94.1%)	55/60 (91.7%)	0.739
ระดับของพยาธิวิทยา - ระดับที่ 3	6/16 (37.5%)	3/46 (6.5%)	0.002
ER $\leq 10\%$	4/17 (23.5%)	2/60 (3.3%)	0.006
สถานะ PR เป็นลบ	8/17 (47.1%)	10/60 (16.7%)	0.009
Ki-67 $\geq 20\%$	17/17 (100%)	47/59 (79.7%)	0.043

ลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิก	MCM2 \geq 40%	MCM2 <40%	p-value
p53 \geq 5%	12/16 (75%)	30/50 (60%)	0.278

ลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิกที่พบว่ามีความสัมพันธ์กับการแสดงออกของ MCM2 \geq 40% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ได้แก่ ระดับของพยาธิวิทยาระดับที่ 3 ER \leq 10% สถานะ PR เป็นลบ และ Ki-67 \geq 20% โดยขนาดของก้อนมะเร็งเต้านม การตรวจพบต่อมน้ำเหลืองทางคลินิก และชนิดของมะเร็งเต้านมทางพยาธิวิทยา ไม่พบว่ามีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับระดับของ MCM2 ดังแสดงในตารางที่ 11

4.7 ความสัมพันธ์ของลักษณะทางพยาธิวิทยาทางคลินิกต่อการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบ RCB 0/I

ลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิกและความสัมพันธ์กับการตอบสนองแบบ RCB แสดงในตารางที่ 12 พบว่าปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับ RCB 0/I อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ได้แก่ การตรวจพบต่อมน้ำเหลืองทางคลินิก ระดับของพยาธิวิทยาระดับที่ 3 และสถานะ PR เป็นลบ

ตารางที่ 10 ลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิกและการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบ RCB 0/I

ลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิก	RCB 0/I (N = 7)	RCB II/III (N = 77)	p-value
ค่ามัธยฐานของอายุเมื่อวินิจฉัย, ปี (IQR)	60 (49-64)	49 (43-59)	0.391
สถานภาพประจำเดือน - วัยหมดประจำเดือน	4/7 (57.1%)	29/75 (38.7%)	0.348
ระยะก้อนมะเร็งทางคลินิก T4	3/7 (42.9%)	30/77 (63.8%)	0.840
ตรวจไม่พบต่อมน้ำเหลืองทางคลินิก	3/7 (42.9%)	7/77 (9.1%)	< 0.001
ชนิดมะเร็งเต้านมทางพยาธิวิทยา - invasive ductal carcinoma	7/7 (100%)	70/77 (90.9%)	0.405
ระดับของพยาธิวิทยา - ระดับที่ 3	3 /7(42.9%)	6/61 (9.8%)	0.015
ER >10%	6/7 (85.7%)	71/77 (92.2%)	0.552

ลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิก	RCB 0/I (N = 7)	RCB II/III (N = 77)	p-value
สถานะ PR เป็นลบ	4/7 (57.1%)	14/77 (18.2%)	0.016
Ki-67 \geq 20%	6/7 (85.7%)	59/73 (80.8%)	0.751
p53 \geq 5%	4/6 (66.7%)	36/63 (57.1%)	0.652
Luminal-B like	7/7 (100%)	61/73 (83.6%)	0.24
ได้รับยาเคมีบำบัดก่อนผ่าตัด \geq 2 สูตร	2/7 (28.6%)	36/77 (46.8%)	0.355

จากข้อมูลข้างต้น เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลโดย univariate analysis (ตารางที่ 13) พบว่า การแสดงออกของ MCM2 \geq 40% มีความสัมพันธ์กับการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบ RCB 0/I ที่เพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (OR = 18.33 ค่าความเชื่อมั่นร้อยละ 95 = 1.88-178.98) ส่วนปัจจัยทางพยาธิวิทยาทางคลินิกที่มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ได้แก่ การตรวจไม่พบต่อมน้ำเหลืองทางคลินิก (OR = 13.33 ค่าความเชื่อมั่นร้อยละ 95 = 2.47-72.01) ระดับของพยาธิวิทยา ระดับที่ 3 (OR = 6.88 ค่าความเชื่อมั่นร้อยละ 95 = 1.23-38.31) และสถานะ PR เป็นลบ (OR = 6 ค่าความเชื่อมั่นร้อยละ 95 = 1.20-29.87) สำหรับมะเร็งเต้านมชนิด luminal-B like และการแสดงออกของ Ki-67 \geq 20% และ สถานะของ ER 1-10% มีแนวโน้มที่จะมีความสัมพันธ์กับ RCB 0/I มากขึ้น แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตามเมื่อวิเคราะห์ข้อมูลโดย multivariate analysis (ตารางที่ 14) การแสดงออกของ MCM2 \geq 40% มีความสัมพันธ์กับการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบ RCB 0/I ที่มากขึ้นแต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (OR = 5.36 ค่าความเชื่อมั่นร้อยละ 95 = 0.37-78.60)

ตารางที่ 11 ปัจจัยทางพยาธิวิทยาคลินิก และการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบ RCB 0/I เมื่อวิเคราะห์ด้วย univariate analysis

ปัจจัย	จำนวน	RCB 0/I (จำนวน, %)	OR (95% CI)	p-value
อายุ (ปี)				
- > 50	41	5 (12.2%)	2.85 (0.52-15.58)	0.228
- ≤ 50	43	2 (4.7%)	1	
สถานภาพประจำเดือน				
- วัยหมดประจำเดือน	34	4 (11.8%)	2.09 (0.44-10)	0.356
- วัยก่อนหมดประจำเดือน	50	3 (56%)	1	
ระยะของก้อนมะเร็งทางคลินิก				
- cT0-3	51	4 (7.8%)	0.85 (0.18-4.01)	0.84
- cT4	33	3 (9.1%)	1	
ระยะของต่อมน้ำเหลืองทางคลินิก				
- cN0	11	4 (36.4%)	13.33 (2.47-72.01)	0.003
- cN1-3	73	3 (4.1%)	1	
ระดับของพยาธิวิทยา				
- ระดับที่ 3	9	3 (33.3%)	6.88 (1.23-38.31)	0.028
- ระดับที่ 1-2	59	4 (6.8%)	1	
สถานะของ ER				
- 1-10%	7	1 (14.3%)	1.97 (0.20-19.19)	0.558
- > 10%	77	6 (7.8%)	1	
สถานะของ PR				
- เป็นลบ	18	4 (22.2%)	6.00 (1.20-29.87)	0.029
- ≥1%	66	3 (4.5%)	1	
จำนวนสูตรของยาเคมีบำบัดก่อนผ่าตัด				
- ≥2 สูตร	38	2 (5.3%)	0.46 (0.08-2.49)	0.365
- 1 สูตร	46	5 (10.9%)	1	

ปัจจัย	จำนวน	RCB 0/I (จำนวน, %)	OR (95% CI)	p-value
Ki-67				
- \geq 20%	65	6 (9.2%)	1.42 (0.16-12.79)	0.752
- < 20%	15	1 (6.7%)	1	
MCM2				
- \geq 40%	16	4 (25%)	18.33 (1.88-178.98)	0.012
- < 40%	56	1 (1.8%)	1	
p53				
- \geq 5%	40	4 (10%)	1.5 (0.26-8.8)	0.653
- < 5%	29	2 (6.9%)	1	

ตารางที่ 12 ปัจจัยทางพยาธิวิทยาคลินิก และการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบ RCB 0/I เมื่อวิเคราะห์ด้วย multivariate analysis

ปัจจัย	OR (95% CI)	p-value
MCM2 \geq 40% vs. < 40%	5.36 (0.37-78.60)	0.22
cN0 vs. cN+	13.76 (0.54-353.80)	0.11
PR negative vs. PR positive	6.28 (0.42-94.98)	0.18
Histologic grade 3 vs. grade 1-2	4.48 (0.29-69.58)	0.28

4.8 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพยาธิวิทยาและการแสดงออกของ MCM2

ER <10% ระดับทางพยาธิวิทยาระดับที่ 3 และ สถานะของ PR เป็นลบ มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการแสดงออกของ MCM2 >40% เมื่อพบระดับทางพยาธิวิทยาระดับที่ 3 หรือสถานะของ PR เป็นลบ ร่วมกับการแสดงออกของ MCM2 >40% จะพบความสัมพันธ์กับการเกิด RCB 0/I มากขึ้น

ตารางที่ 13 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพยาธิวิทยาและการแสดงออกของ MCM2 กับการเกิด RCB 0/1

ปัจจัย	OR (95% CI)	p-value
MCM2 \geq 40% x ER \leq 10%	8.13 (0.60-109.85)	0.115
MCM2 \geq 40% x ระดับทางพยาธิวิทยาระดับที่ 3	26.5 (3.14-223.9)	0.003
\geq 40% x สถานะ PR เป็นลบ	85.33 (7.16-1017.33)	<0.001

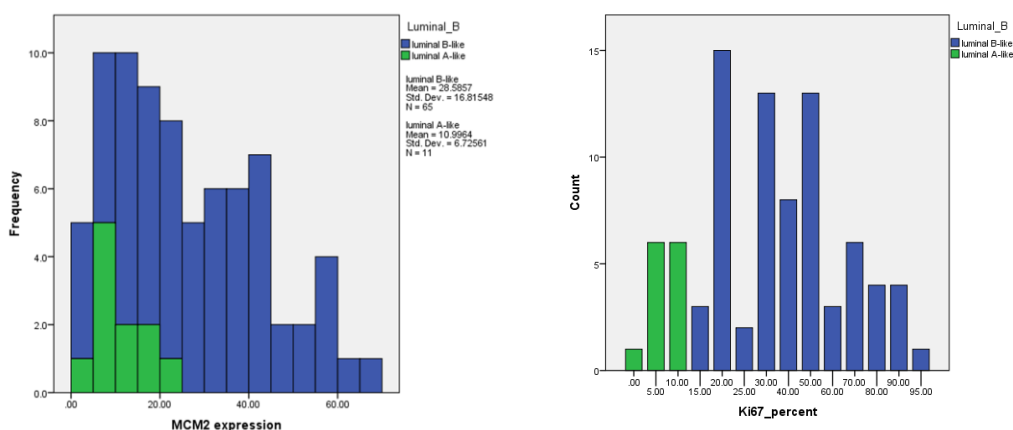
4.9 ความสัมพันธ์ของการแสดงออกของ MCM2 และ Ki-67

ตารางที่ 14 ความสัมพันธ์ของการแสดงออกของ MCM2 และ Ki-67 ในชิ้นเนื้อก่อนได้รับยาเคมีบำบัด

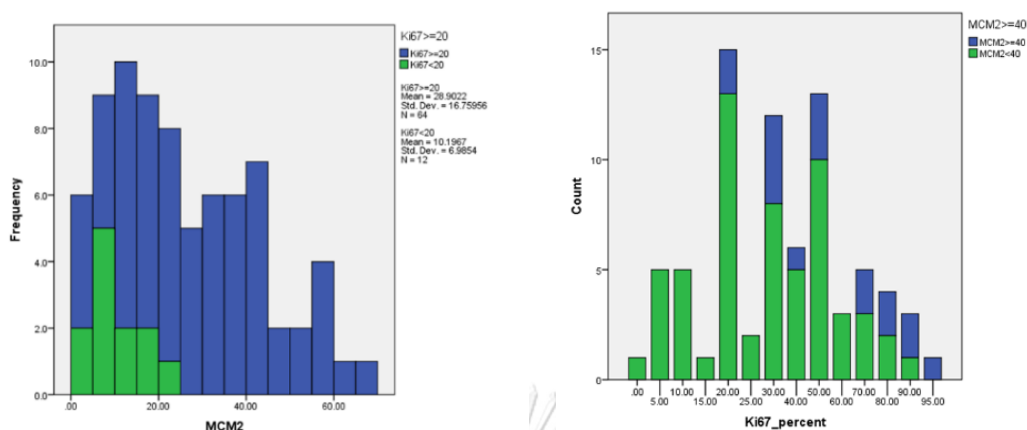
	Ki-67 \geq 20%	Ki-67 <20%	ข้อมูลขาดหาย	ทั้งหมด
MCM2 \geq 40%	17	0	0	17
MCM2 < 40%	47	12	1	60
ทั้งหมด	64	12		

จากตารางที่ 15 ชิ้นเนื้อที่มีการแสดงออกของ MCM2 \geq 40% ทุกชิ้นจะมี การแสดงออกของ Ki-67 \geq 20% ไม่มีชิ้นเนื้อที่มีการแสดงออกของ MCM2 > 40% และพบว่ามี Ki-67 < 20% สำหรับชิ้นเนื้อที่มี Ki-67 \geq 20% มีชิ้นเนื้อ 26.5% ที่มี MCM2 \geq 40% รูปที่ 12 และรูปที่ 13 แสดงการแสดงผลของ MCM2 และ Ki-67 ในชิ้นเนื้อก่อนได้รับยาเคมีบำบัด

รูปที่ 13 การแสดงออกของ MCM2 และ luminal subtype



รูปที่ 14 ความสัมพันธ์ของการแสดงออกของ MCM2 และ Ki-67



4.10 ผลลัพธ์ของยาเคมีบำบัดต่อก้อนมะเร็งเต้านมและต่อมน้ำเหลือง

ดังแสดงในตารางที่ 16 และตารางที่ 17 ส่วนมากยาเคมีบำบัดก่อนผ่าตัดทำให้ก้อนมะเร็งเต้านมและต่อมน้ำเหลืองมีขนาดเล็กลง 1-2 ระยะ อย่างไรก็ตามมีผู้ป่วยจำนวนหนึ่งไม่มีการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดหรือแม้กระทั่งมีก้อนโตขึ้นในขณะที่ไปผ่าตัด

ตารางที่ 15 ระยะของก้อนมะเร็งก่อนและหลังได้รับยาเคมีบำบัด

ระยะของก้อนมะเร็งทางคลินิก	จำนวน, %	ระยะของก้อนมะเร็งทางพยาธิวิทยา	จำนวน, %
cT4	36 (40%)	ypT4	8 (22.2%)
		ypT3	10 (27.8%)
		ypT2	10 (27.8%)
		ypT1	7 (19.4%)
		ypT0	1 (2.8%)
cT3	22 (24.4%)	ypT3	3 (13.6%)
		ypT2	9 (40.9%)
		ypT1	10 (45.5%)
cT2	29 (32.2%)	ypT3	1 (3.4%)
		ypT2	16 (55.2%)
		ypT1	12 (41.4%)

ระยะของก้อนมะเร็งทางคลินิก	จำนวน, %	ระยะของก้อนมะเร็งทางพยาธิวิทยา	จำนวน, %
cTx-1	3 (3.3%)	ypT2	1 (33.3%)
		ypT1	1 (33.3%)
		ypT0	1 (33.3%)

ตารางที่ 16 ระยะของต่อมน้ำเหลืองก่อนและหลังได้รับยาเคมีบำบัด

ระยะของต่อมน้ำเหลืองทางคลินิก	จำนวน, %	ระยะของต่อมน้ำเหลืองทางพยาธิวิทยา	จำนวน, %
cN3	3 (3.3%)	ypN3	1 (33.3%)
		ypN1	2 (66.7%)
cN2	14 (15.6%)	ypN3	2 (14.3%)
		ypN2	4 (28.6%)
		ypN1	4 (28.6%)
		ypN0	4 (28.6%)
cN1	60 (66.7%)	ypN3	6 (10%)
		ypN2	12 (20%)
		ypN1	28 (46.7%)
		ypN0	14 (23.3%)
cN0	13 (14.4%)	ypN2	1 (7.7%)
		ypN1	3 (23.1%)
		ypN0	9 (69.2%)

ตารางที่ 17 การแสดงออกของ MCM2 และการตอบสนองของก้อนมะเร็งเต้านม

	มีการตอบสนองของก้อนมะเร็งเต้านม	ไม่มีการตอบสนองของก้อนมะเร็งเต้านม	p-value
MCM2 \geq 40%	13 (76.5%)	4 (23.5%)	0.44
MCM2 < 40%	40 (66.7%)	20 (33.3%)	

ตารางที่ 18 การแสดงออกของ MCM2 และการตอบสนองของต่อมน้ำเหลือง

	มีการตอบสนองของต่อมน้ำเหลือง	ไม่มีการตอบสนองของต่อมน้ำเหลือง	p-value
MCM2 \geq 40%	6 (40%)	9 (60%)	0.36
MCM2 < 40%	15 (27.8%)	39 (72.2%)	

เมื่อเปรียบเทียบการแสดงออกของ MCM2 กับระยะของก้อนมะเร็งและต่อมน้ำเหลืองที่เปลี่ยนแปลงไปภายหลังได้ยาเคมีบำบัด พบว่า ผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของ MCM2 \geq 40% มีแนวโน้มที่จะมีการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดมากกว่าผู้ป่วยที่มี MCM < 40% แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 18 และ ตารางที่ 19)

4.11 การเปลี่ยนแปลงของอิมมูโนฮิสโตเคมีภายหลังการได้รับยาเคมีบำบัด

มีผู้ป่วย 13% ที่ไม่มีข้อมูลอิมมูโนฮิสโตเคมีในชิ้นเนื้อภายหลังได้ยาเคมีบำบัดมีสถานะ ER และ PR ในชิ้นเนื้อก่อนและหลังได้รับยาเคมีบำบัดมีลักษณะที่ค่อนข้างใกล้เคียงกัน (ตารางที่ 20) สำหรับเฮอรัทส่วนมากมีคะแนนอิมมูโนฮิสโตเคมีเท่าเดิมหรือลดลง มีผู้ป่วย 2 รายที่มีคะแนนอิมมูโนฮิสโตเคมีของเฮอรัทในชิ้นเนื้อก่อนให้ยาเคมีบำบัด 0 คะแนน แต่ตรวจพบมีคะแนนอิมมูโนฮิสโตเคมี 2 คะแนน และตรวจ FISH เป็นบวกในชิ้นเนื้อภายหลังการผ่าตัด อย่างไรก็ตามมีผู้ป่วยที่ได้รับการยืนยันสถานะเฮอรัท ด้วย FISH ในผู้ป่วยที่มีคะแนนอิมมูโนฮิสโตเคมีของเฮอรัท 2 คะแนนในการศึกษานี้เพียง 50% ตารางที่ 21 แสดงระดับของ Ki-67 ที่เปลี่ยนแปลงภายหลังได้รับยาเคมีบำบัดก่อนผ่าตัด

ตารางที่ 19 การเปลี่ยนแปลงของสถานะ ER และ PR ภายหลังจากได้รับยาเคมีบำบัดก่อนผ่าตัด

ชั้นเนื้อก่อนได้รับยาเคมีบำบัด		ชั้นเนื้อหลังได้รับยาเคมีบำบัด	
สถานะ ER	N, %	สถานะ ER	N, %
เป็นบวก	90 (100%)	เป็นบวก	73 (81.1%)
1-10%	7 (7.8%)	1-10%	3 (3.9%)
		เป็นลบ	5 (5.6%)
		missing	12 (13.3%)
ชั้นเนื้อก่อนได้รับยาเคมีบำบัด		ชั้นเนื้อหลังได้รับยาเคมีบำบัด	
สถานะ PR	N, %	สถานะ PR	N, %
เป็นบวก	70 (77.8%)	เป็นบวก	56 (71.8%)
เป็นลบ	20 (22.2%)	เป็นลบ	22 (28.2%)
		missing	12 (13.3%)

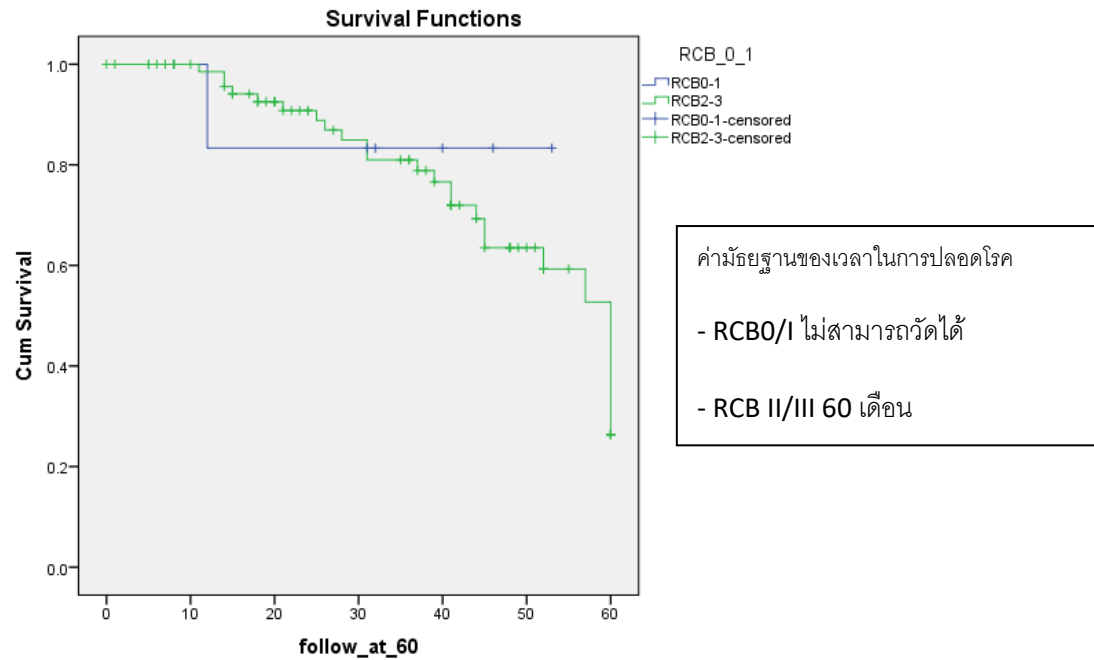
ตารางที่ 20 การเปลี่ยนแปลงของ Ki-67 ภายหลังจากได้รับยาเคมีบำบัด

	ชั้นเนื้อก่อนได้รับยาเคมีบำบัด(N = 85)	ชั้นเนื้อหลังได้รับยาเคมีบำบัด (N = 75)
ค่ามัธยฐานของ Ki-67 (IQR)	30% (20-50)	10% (5-35)
Ki-67 ลดลง $\geq 1\%$	-	49/71 (69%)

4.12 การกลับเป็นซ้ำของโรคและความสัมพันธ์กับ RCB index

ที่ระยะเวลาจุดตัดของการศึกษา (วันที่ 31 ธันวาคม 2563) ค่ามัธยฐานของระยะเวลาในการติดตามผู้ป่วย คือ 21.5 เดือน มีผู้ป่วย 25 ราย (28.4%) ที่มีการกลับเป็นซ้ำของโรค และมีผู้ป่วย 3 รายเสียชีวิต (3.4%) ค่ามัธยฐานของเวลาในการปลอดโรคในกลุ่มที่มีการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบ RCB 0/I นั้นยังไม่สามารถวัดได้ ในขณะที่กลุ่มที่มีการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบ RCB II/III มีค่ามัธยฐานของเวลาในการปลอดโรค 60 เดือน ($p=0.622$) (รูปที่ 14)

รูปที่ 15 Kaplan-Meier curve ของการกลับเป็นซ้ำของโรคเมื่อแบ่งตาม RCB index



บทที่ 5

อภิปรายผล สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

5.1 อภิปรายผล

จากการศึกษาแบบย้อนหลังนี้ มีผู้ป่วยมะเร็งเต้านมชนิดมีตัวรับฮอร์โมนและไม่มีตัวรับเฮอร์ทูที่ได้รับยาเคมีบำบัดก่อนผ่าตัด 88 ราย มีชิ้นเนื้อที่ประเมิน RCB index ได้ 84 ชิ้นและพบว่ามี การตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบ RCB 0/I ทั้งหมด 7 ราย (8.3%) ในผู้ป่วย 72 รายที่สามารถย่อย MCM2 และประเมิน RCB index ได้ พบว่าการแสดงออกของ MCM2 $\geq 40\%$ มีความสัมพันธ์กับการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบ RCB 0/I ที่มากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (OR = 18.33 ค่าความเชื่อมั่นร้อยละ 95 = 1.88-178.98, p-value = 0.001) โดยก้อนมะเร็งที่มี MCM2 $\geq 40\%$ จะพบ ลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิกที่ไม่ดีอื่นๆร่วมด้วย ได้แก่ ระดับทางพยาธิวิทยาระดับที่ 3 สถานะ ER $\leq 10\%$ สถานะ PR เป็นลบ และ Ki-67 $\geq 20\%$ นอกจากนี้ยังพบว่าการตรวจไม่พบต่อมน้ำเหลืองทางคลินิก ระดับทางพยาธิวิทยาระดับที่ 3 และสถานะ PR เป็นลบมีความสัมพันธ์กับการเกิด RCB 0/I ใน univariate analysis อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติด้วย อย่างไรก็ตามไม่พบว่าการแสดงออกของ MCM2 และปัจจัยทางพยาธิวิทยาคลินิกใดมีความสัมพันธ์กับ RCB 0/I ใน multivariate analysis ซึ่งอาจอธิบายได้จากขนาดตัวอย่างที่ไม่เพียงพอ และอุบัติการณ์การเกิด RCB 0/I ในการศึกษาที่ต่ำกว่า การศึกษาอื่นๆ

ปัจจุบันการศึกษาเกี่ยวกับ MCM2 ในมะเร็งเต้านมยังมีจำนวนน้อย ข้อมูลจากการศึกษา ส่วนใหญ่พบว่าการแสดงออกของ MCM2 ในระดับสูงมีความสัมพันธ์กับการกลับเป็นซ้ำของโรคและ อัตราการเสียชีวิตที่มากขึ้นโดยไม่ขึ้นกับชนิดของมะเร็งเต้านม อย่างไรก็ตาม การเลือกใช้จุดตัดของ MCM2 มีความแตกต่างกันในแต่ละการศึกษา จากการศึกษาในผู้ป่วยมะเร็งเต้านม 1232 ราย (48) พบว่าในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมชนิด luminal-B, HER2 positive และ TNBC มีระดับการแสดงออกของ MCM2 ที่สูงกว่ามะเร็งเต้านมชนิด luminal-A โดยมีอุบัติการณ์ของ MCM2 ระดับสูง ซึ่งใช้จุดตัดที่ $\geq 40\%$ ด้วยการตรวจอิมมูโนฮิสโตเคมี (mouse monoclonal; #12079, dilution 1/200, citrate buffer, Cell Signaling) คือ 4.5% ใน luminal-A 78.6% ใน luminal-B 82.2% ใน HER2 positive และ 82.2% ใน TNBC อีกการศึกษาหนึ่งโดย Issac และคณะ(51) วิเคราะห์การแสดงออกของ MCM2 mRNA ในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมชนิดมีตัวรับฮอร์โมนและไม่มีตัวรับเฮอร์ทู 404 ราย และพบการแสดงออกของ mRNA ในระดับสูง 2% ใน luminal-A และ 71% ใน luminal-B และเมื่อตรวจการแสดงออกของ MCM2 ด้วยอิมมูโนฮิสโตเคมี (mouse monoclonal; #12079, dilution 1/100, citrate buffer, Cell Signaling) โดยใช้จุดตัดที่ $\geq 35\%$ พบว่ามีความสัมพันธ์กับการกลับเป็น

ซ้ำของโรคในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมกลุ่มนี้ การแบ่งผู้ป่วยมะเร็งเต้านมด้วยการแสดงออกของ MCM2 ออกเป็น 2 กลุ่ม อาจช่วยจำแนกผู้ป่วยมะเร็งเต้านมชนิดมีตัวรับฮอร์โมนและไม่มีตัวรับฮอร์โมนทุกกลุ่มใหม่ที่มีพยากรณ์โรคแตกต่างกันได้ อย่างไรก็ตามวิธีการตรวจ และจุดตัดของ MCM2 ที่เหมาะสม จำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป

ปัจจุบันการใช้โปรแกรมวิเคราะห์ภาพได้เข้ามามีบทบาทในการอ่านผลทางพยาธิวิทยามากขึ้น โดยมีประโยชน์คือสามารถแปลผลได้ในปริมาณมากได้อย่างรวดเร็ว และมีความเที่ยงตรงสูง สำหรับการแปลผลอิมมูโนฮิสโตเคมีของ MCM2 และ Ki-67 ด้วยโปรแกรมวิเคราะห์ภาพมีการศึกษาพบว่ามีความแม่นยำใกล้เคียงกับการแปลผลด้วยสายตาของพยาธิแพทย์ (48) อย่างไรก็ตามการศึกษาที่ใช้โปรแกรมวิเคราะห์ภาพสำหรับการวัดการแสดงออกของ MCM2 เท่านั้น จึงอาจทำให้การวัดการแสดงผลของ Ki-67 มีความคลาดเคลื่อนได้

การศึกษาก่อนหน้าพบว่าการแสดงออกของ Ki-67 ในระดับสูงสัมพันธ์กับการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบสมบูรณ์ (52-54) แต่ความสัมพันธ์ของระดับ Ki-67 และการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดในผู้ป่วยที่ไม่ได้มีการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบสมบูรณ์นั้นยังมีข้อมูลไม่ชัดเจนนัก (55, 56) การใช้การตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบสมบูรณ์เป็นผลลัพธ์ในการประเมินการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดเพียงอย่างเดียว อาจทำให้การประเมินประโยชน์ของยาเคมีบำบัดในผู้ป่วยที่ไม่มีการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบสมบูรณ์ต่ำเกินไป (57) การใช้ RCB index ซึ่งอาศัยการคำนวณโรคมะเร็งที่เหลืออยู่หลังจากการให้ยาเคมีบำบัดแทนการใช้การตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบสมบูรณ์อาจให้ข้อมูลเรื่องประโยชน์ของยาเคมีบำบัดได้ดีกว่า โดยเฉพาะในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมชนิดมีตัวรับฮอร์โมนและไม่มีตัวรับฮอร์โมนซึ่งมีอุบัติการณ์การเกิดการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบสมบูรณ์น้อยกว่ามะเร็งเต้านมแบบอื่นๆ การศึกษานี้พบว่าการแสดงออกของ MCM2 สัมพันธ์กับการเกิด RCB 0/I ในขณะที่ Ki-67 ไม่มีความสัมพันธ์กับการเกิด RCB 0/I และเป็นการศึกษาแรกที่ศึกษาการแสดงออกของ MCM2 และใช้ RCB index ในการประเมินการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดก่อนผ่าตัด **Tókés** และคณะ (56) ศึกษาการแสดงออกของ MCM2, Ki-67, CyclinA และ PHH3 ในชิ้นเนื้อก่อนผ่าตัดของผู้ป่วยมะเร็งเต้านม 52 ราย พบว่าการแสดงออกของ MCM2 $\geq 30\%$ และ Ki-67 $\geq 20\%$ ด้วยการตรวจอิมมูโนฮิสโตเคมี มีความสัมพันธ์กับการเกิดพยาธิวิทยาแบบสมบูรณ์ แต่ไม่มีความสัมพันธ์กับการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดในกรณีที่ไม่มีการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบสมบูรณ์ซึ่งประเมินโดยใช้ Pinder classification อย่างไรก็ตามการศึกษานี้มีผู้ป่วยมะเร็งเต้านมชนิดมีตัวรับฮอร์โมนและไม่มีตัวรับฮอร์โมนที่มีการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบสมบูรณ์เพียง 1 รายจาก 19 รายเท่านั้น ดังนั้นในอนาคตจึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับ MCM2 และ Ki-67 เพื่อทำนายประโยชน์ของยาเคมีบำบัดก่อนผ่าตัดในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมกลุ่มนี้

ในการศึกษานี้มีผู้ป่วยที่มีการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบ RCB 0/I เพียง 7 ราย (8.33%) โดยมี 1 ราย (1.2%) ที่มี RCB 0 หรือ pCR และมีผู้ป่วย 6 ราย (7.1%) ที่มี RCB I ซึ่งเป็นสัดส่วนที่น้อยกว่าในการศึกษาอื่น แม้ว่ามะเร็งเต้านมชนิดมีตัวรับฮอร์โมนและไม่มีตัวรับเฮอร์ทูจะมีการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดน้อยกว่ามะเร็งเต้านมชนิดอื่น ๆ แต่จากการศึกษาของ Symmans และคณะรายงานการตอบสนองแบบ RCB 0/I ในมะเร็งเต้านมกลุ่มนี้ภายหลังได้รับยาเคมีบำบัดสูตร T/FAC ที่ 23% (39) สาเหตุที่อุบัติการณ์ของ RCB 0/I ในการศึกษานี้ต่ำกว่าการศึกษาอื่น ๆ อาจอธิบายได้จาก ระยะของมะเร็งเต้านมในผู้ป่วยส่วนใหญ่เป็นระยะลุกลาม โดยมีระยะทางคลินิกระยะที่ 3 65.6% ได้รับยาเคมีบำบัดเพียง 1 สูตร 53.3% และมีการรวมมะเร็งเต้านมชนิด invasive lobular carcinoma และ invasive mucinous carcinoma ซึ่งมีการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดน้อยเข้ามาในการศึกษานี้ด้วย เนื่องจากผู้ป่วยส่วนใหญ่อยู่ในระยะลุกลามและมีการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดได้น้อย จึงพบว่าอัตราการผ่าตัดเต้านมแบบอนุรักษ์และการเลาะต่อมน้ำเหลืองแบบเซนติเนลมีอัตราที่ต่ำกว่าการศึกษาอื่น (21.1% และ 6.6% ตามลำดับ) ที่ได้รับยาเคมีบำบัดก่อนผ่าตัด (53)

มีการศึกษาปัจจัยทางพยาธิวิทยาคลินิกหลายปัจจัยเพื่อทำนายการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดก่อนผ่าตัด แต่ปัจจุบันข้อมูลจากการศึกษาต่างๆ ให้ผลขัดแย้งกัน การศึกษาส่วนมากพบว่ามะเร็งเต้านมที่มีการแสดงออกของ Ki-67 ในระดับสูง สถานะ PR เป็นลบ และระดับทางพยาธิวิทยา ระดับสูงมีแนวโน้มที่จะตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดก่อนผ่าตัดได้ดี ผลการวิเคราะห์แบบ univariate analysis ในการศึกษาพบว่า การตรวจไม่พบต่อมน้ำเหลืองทางคลินิก ระดับทางพยาธิวิทยา ระดับที่ 3 และสถานะ PR เป็นลบมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบ RCB 0/I และให้ผลสอดคล้องกับผลการศึกษาก่อนหน้านี้ ซึ่งรายงานว่ามะเร็งเต้านมในระยะต้นมีแนวโน้มที่จะมีการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดได้ดีกว่ามะเร็งเต้านมระยะลุกลาม การมีสถานะของ PR เป็นลบและระดับทางพยาธิวิทยา ระดับที่ 3 สัมพันธ์กับการตอบสนองทางคลินิกและการตอบสนองทางพยาธิวิทยาต่อยาเคมีบำบัด (46, 52-54, 58, 59) ในการศึกษาพบว่า สถานะ PR เป็นลบ และระดับทางพยาธิวิทยา ระดับที่ 3 มีปฏิสัมพันธ์กับการแสดงออกของ MCM2 เมื่อมีการแสดงออกของ MCM2 $\geq 40\%$ ร่วมกับสถานะ PR เป็นลบ หรือระดับทางพยาธิวิทยา ระดับที่ 3 จะพบความสัมพันธ์กับการเกิด RCB 0/I มากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ หากมีการศึกษาเพิ่มเติมที่รวมการแสดงผลของ MCM2 และปัจจัยทางพยาธิวิทยาคลินิกมาพิจารณาร่วมกัน อาจสามารถทำนายการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดได้แม่นยำยิ่งขึ้น

การตรวจอิมมูโนฮิสโตเคมีของชิ้นเนื้อก่อนและหลังได้รับยาเคมีบำบัดในการศึกษาส่วนมาก มักพบว่าการเปลี่ยนแปลงของสถานะ ER และ PR มากกว่า สถานะของฮอร์โมน (60, 61) การศึกษา นี้พบว่าสถานะของ ER และ PR มีสถานะคงเดิมในชิ้นเนื้อส่วนใหญ่ โดยมีการเปลี่ยนแปลงสถานะของ ER และ PR 1.5% และ 6% ตามลำดับ สำหรับสถานะของฮอร์โมน ชิ้นเนื้อส่วนใหญ่มีคะแนนอิมมูโนฮิสโตเคมีระหว่างชิ้นเนื้อก่อนและหลังให้ยาเคมีบำบัดที่ใกล้เคียงกันเช่นเดียวกัน ในการศึกษานี้มีผู้ป่วยที่มีคะแนนอิมมูโนฮิสโตเคมีของฮอร์โมน $2+$ ทั้งหมด 33 ราย แต่มีผู้ป่วยเพียง 12 ราย (36.4%) ที่ได้รับการส่งตรวจยืนยันสถานะของฮอร์โมนด้วย FISH ซึ่งมีผู้ป่วย 2 รายที่มีผล FISH เป็นบวกและได้รับการรักษาเสริมด้วยยาต้านฮอร์โมนภายหลังการผ่าตัด ดังนั้นการส่งตรวจอิมมูโนฮิสโตเคมีในชิ้นเนื้อภายหลังการผ่าตัดที่มีขนาดใหญ่กว่าชิ้นเนื้อก่อนผ่าตัด อาจมีประโยชน์ต่อการตัดสินใจเลือกการรักษาเสริมได้

ในขณะที่วิเคราะห์ผลการศึกษานี้ ค่ามัธยฐานของการปลอดโรคในกลุ่มที่มีการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบ RCB 0/I ยังไม่สามารถประเมินได้ ในขณะที่ในกลุ่มที่มีการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบ RCB II/III นั้นมีค่ามัธยฐานของการปลอดโรค 60 เดือน แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p -value = 0.622) เช่นเดียวกับอัตราการปลอดโรคที่ 3 ปี ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นเดียวกัน เนื่องจากผู้ป่วยมะเร็งเต้านมชนิดมีตัวรับฮอร์โมนและไม่มีตัวรับฮอร์โมนก็มีการดำเนินโรคที่ยาวนาน จึงจำเป็นต้องมีการติดตามผู้ป่วยกลุ่มนี้ต่อไปในระยะยาว

5.2 สรุปผลการวิจัย

การแสดงผลของ $MCM2 \geq 40\%$ ด้วยการอิมมูโนฮิสโตเคมีมีความสัมพันธ์กับการตอบสนองทางพยาธิวิทยาแบบ RCB 0/I ในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมชนิดมีตัวรับฮอร์โมนและไม่มีตัวรับฮอร์โมนที่มากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ใน univariate analysis ในขณะที่ Ki-67 ไม่สามารถทำนายการตอบสนองทางพยาธิวิทยาในผู้ป่วยกลุ่มนี้ได้ การตรวจการแสดงผลของ MCM2 ด้วยอิมมูโนฮิสโตเคมีอาจเป็นปัจจัยสำคัญที่ช่วยในการพยากรณ์ผลการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดก่อนผ่าตัดในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะต้นที่มีตัวรับฮอร์โมนและไม่มีตัวรับฮอร์โมน

5.3 ข้อดีของการศึกษานี้

การศึกษานี้เป็นการศึกษาแรกเกี่ยวกับการแสดงผลของ MCM2 และการตอบสนองทางพยาธิวิทยาโดยใช้ RCB index ในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมชนิดมีตัวรับฮอร์โมนและไม่มีตัวรับฮอร์โมน และมีการใช้ระบบคอมพิวเตอร์ช่วยในการอ่านผลการแสดงผลของ MCM2 ทำให้มีการแปลผลที่แม่นยำ

5.4 ข้อดีของการศึกษานี้

การศึกษานี้เป็นการศึกษาแบบย้อนหลัง การเก็บข้อมูลโดยการทบทวนเวชระเบียน อิเล็กทรอนิกส์ทำให้มีข้อมูลทางพยาธิวิทยาคลินิกไม่ครบถ้วนจากการบันทึกเวชระเบียนที่ไม่สมบูรณ์ หรือจากการที่ผู้ป่วยได้รับการรักษาในหลายโรงพยาบาล นอกจากนี้การศึกษานี้มีขนาดประชากรที่น้อยกว่าที่คำนวณได้ เนื่องจากชิ้นเนื้อที่เก็บไว้ในโรงพยาบาลมีการขาดหาย ไม่เพียงพอต่อการ ย้อมอิมมูโนฮิสโตเคมี และบางชิ้นเนื้อที่มีคุณภาพไม่เหมาะสม โดยเฉพาะชิ้นเนื้อที่มีอายุมาก

5.5 ข้อเสนอแนะ

หากมีการเก็บตัวอย่างประชากรเพิ่มเติมและทำการศึกษาไปข้างหน้าจะสามารถเก็บข้อมูลทางคลินิกและพยาธิวิทยาของผู้ป่วยได้ครบถ้วนมากขึ้น ลดโอกาสการสูญหายหรือเสียคุณภาพของชิ้นเนื้อ ทำให้การวิเคราะห์ข้อมูลและผลลัพธ์มีความน่าเชื่อถือยิ่งขึ้น นอกจากนี้หากการประเมินลักษณะทางพยาธิวิทยาและการให้คะแนนทางอิมมูโนฮิสโตเคมีทำโดยการใช้ระบบคอมพิวเตอร์ทั้งหมดจะทำให้ผลลัพธ์ของการศึกษามีความแม่นยำมากยิ่งขึ้น

บรรณานุกรม

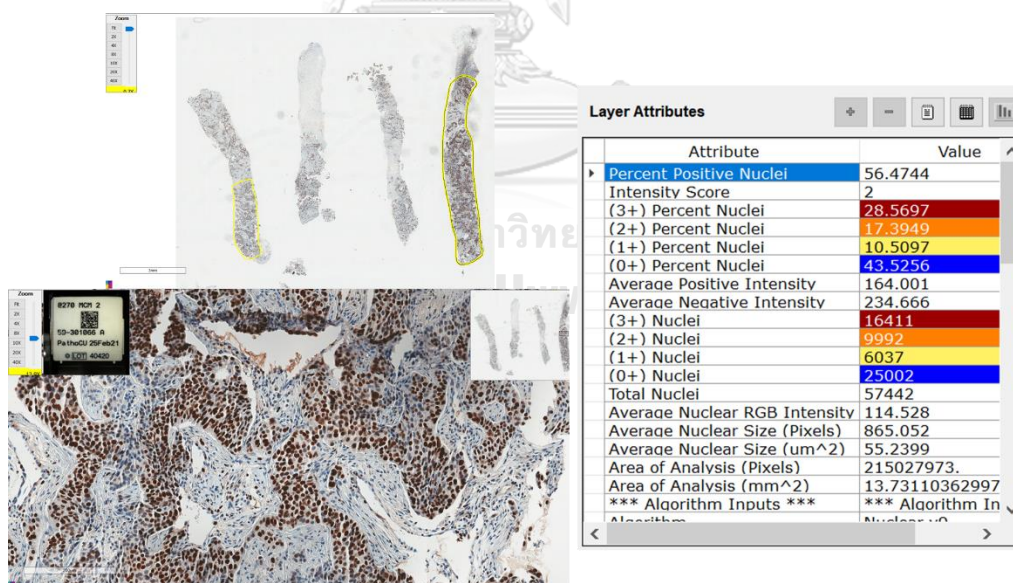


จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ภาคผนวก ก

ขั้นตอนการย้อมและแปลผลการแสดงออกของ MCM2

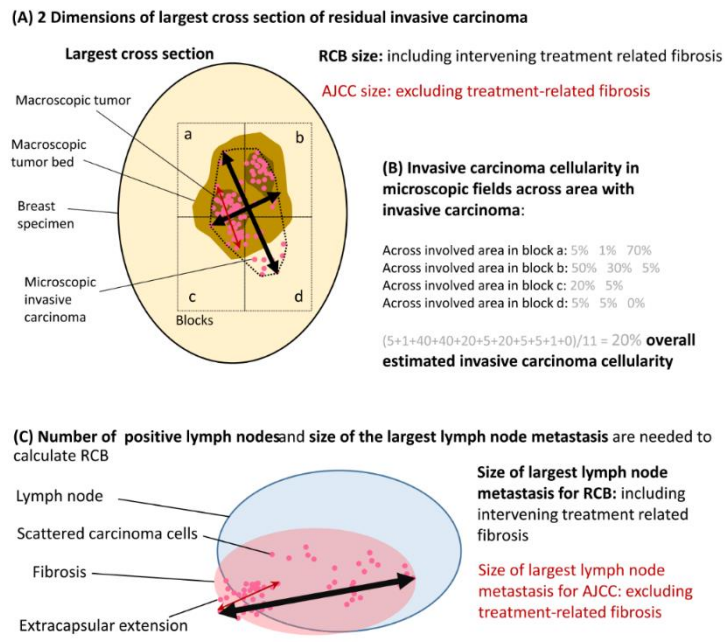
1. ย้อมอิมมูโนฮิสโตเคมี MCM2 ด้วย anti-MCM2 HPA 031496, Sigma Aldrich, rabbit polyclonal, dilution 1 : 200 ในชิ้นเนื้อมะเร็งเต้านมชนิดมีตัวรับฮอร์โมนและไม่มีตัวรับเฮอร์ทูก่อนได้รับยาเคมีบำบัด โดยการใช้เครื่องย้อมอัตโนมัติ Discovery XT system, Ventana Medical Systems, Roche
2. แปลงภาพจากสไลด์ที่ย้อม MCM2 เป็นภาพดิจิทัลด้วยเครื่อง scan
3. เลือกวิเคราะห์ชิ้นเนื้อที่มีเซลล์มะเร็งอยู่อย่างน้อย 50 เซลล์ ต่อชิ้นเนื้อ และวิเคราะห์การติดสี MCM2 ของเซลล์มะเร็ง โดยนับจำนวนของเซลล์มะเร็งที่ติดสีต่อจำนวนเซลล์มะเร็งทั้งหมด โดยใช้โปรแกรม Aperio ImageScope ชุดวิเคราะห์ nucleus V9 และให้คะแนนตั้งแต่ 0-100% ตัวอย่างการใช้ภาพโปรแกรมแสดงดังรูปด้านล่าง



ภาคผนวก ข

ขั้นตอนการประเมินและคำนวณ RCB index

1. วัดตัวแปรที่ใช้ในการประเมิน RCB index



2. วิธีการคำนวณ RCB index

(A)

(1) Primary Tumor Bed

Primary Tumor Bed Area: (mm) X (mm)

Overall Cancer Cellularity (as percentage of area): (%)

Percentage of Cancer That Is *in situ* Disease: (%)

(2) Lymph Nodes

Number of Positive Lymph Nodes:

Diameter of Largest Metastasis: (mm)

Residual Cancer Burden:

Residual Cancer Burden Class:

(B)

Response in the breast

$1.4(f_{inv} d_{prim})^{0.17}$

Proportion of residual invasive carcinoma area that contains invasive carcinoma
 $(1 - (\%CIS/100)) \times (\%CA/100)$
Can ignore CIS

2 largest dimensions of residual invasive carcinoma
 $\sqrt{d_1 d_2}$

Response in the lymph nodes

$+ [4(1 - 0.75^{LN})d_{met}]^{0.17}$

Number of positive lymph nodes

Size of largest lymph node metastasis

Independently prognostic

RCB index	RCB score
RCB 0	0
RCB I	≤ 1.36
RCB II	1.36-3.28
RCB III	> 3.28

ภาคผนวก ค

Case record form

Case record form No. ____

Baseline characteristics

1. Birth date
2. Age at diagnosis
3. Menopause No (0) Yes (1)
4. Site Left (0) Right (1)

Clinical information and operation of breast cancer

1. Date of tissue biopsy pathology number
2. Date of surgery pathology number.....
3. Type of surgery mastectomy (1) breast conserving surgery (2)
4. Type of lymph node axillary lymph node dissection (1) sentinel lymph node biopsy (2)
5. Clinical T stage cT0 (0) cT1 (1) cT2 (2) cT3 (3) cT4 (4)
6. Clinical N stage cN0 (0) cN1 (1) cN2 (2) cN3 (3)
7. AJCC 8th clinical stage 1 (1) 2 (2) 3 (3)

Pathological information of breast cancer

1. Pathological T stage ypT0 (0) ypT1 (1) ypT2 (2) ypT3 (3) ypT4 (4)

2. Pathological N stage ypN0 (0) ypN1 (1) ypN2 (2) ypN3 (3)

3. AJCC 8th pathological stage 1 (1) 2 (2) 3 (3)

4. Type of histology

invasive ductal carcinoma (1) invasive lobular carcinoma (2) mucinous carcinoma (3)

other

5. Lymphovascular invasion No (0) Yes (1)

6. Margin free (1) R1 (2) R2 (3)

Breast histologic grade and immunohistochemistry profile

Profile	Pre-chemotherapy specimen	Post-chemotherapy specimen
Grade	<input type="checkbox"/> grade 1 <input type="checkbox"/> grade 2 <input type="checkbox"/> grade 3	<input type="checkbox"/> grade 1 <input type="checkbox"/> grade 2 <input type="checkbox"/> grade 3
ER	<input type="checkbox"/> positive% <input type="checkbox"/> negative	<input type="checkbox"/> positive% <input type="checkbox"/> negative
PR	<input type="checkbox"/> positive% <input type="checkbox"/> negative	<input type="checkbox"/> positive% <input type="checkbox"/> negative
HER2	<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1+ <input type="checkbox"/> 2+ <input type="checkbox"/> 3+ <input type="checkbox"/> FISH	<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1+ <input type="checkbox"/> 2+ <input type="checkbox"/> 3+ <input type="checkbox"/> FISH
Ki-67	<input type="checkbox"/> positive% <input type="checkbox"/> negative	<input type="checkbox"/> positive% <input type="checkbox"/> negative
p53	<input type="checkbox"/> positive% <input type="checkbox"/> negative	<input type="checkbox"/> positive% <input type="checkbox"/> negative

Intrinsic subtype

Pre-chemotherapy specimen: luminal A-like (1) luminal B-like (2)

Post-chemotherapy specimen

luminal A-like (1) luminal B-like (2) luminal B-like, HER2 positive (3)
hormonal receptor negative, HER2 positive (4) triple negative (5)

Residual cancer burden

Primary tumor bed	
Primary tumor bed area(mm) x.....(mm)
Overall cancer cellularity%
Percentage of cancer that is <i>in situ</i> disease%
Lymph nodes	
Number of positive lymph nodes	
Diameter of largest metastasis(mm)
Residual cancer burden	
Residual cancer burden class	<input type="checkbox"/> 1 (1) <input type="checkbox"/> 2 (2) <input type="checkbox"/> 3 (3)

Treatment information

Number of neoadjuvant chemotherapy regimen 1 (1) 2 (2) 3 (3)

1st chemotherapy regimen: number of cycles

AC (1) dose-dense AC (2) Paclitaxel q 1 wk (3) Paclitaxel q 3 wk (4)
dose-dense paclitaxel (5) other

2nd chemotherapy regimen: number of cycles

AC (1) dose-dense AC (2) Paclitaxel q 1 wk (3) Paclitaxel q 3 wk (4)
dose-dense paclitaxel (5) other

Adjuvant treatment

Chemotherapy No (0) Yes (1) Number of cycles

AC (1) dose-dense AC (2) Paclitaxel q 1 wk (3) Paclitaxel q 3 wk (4)
dose-dense paclitaxel (5) other

Hormonal treatment No (0) Yes; start date

Tamoxifen (1) Letrozole (2) Other

Post-operative radiation, No (0) Yes (1); sitetotal fraction.....

Recurrence

1. Recurrence No (0) Yes (1); recurrence date

2. Site of recurrence

local; site distant; site

3. Treatment after recurrence

4. Death No (0) Yes (1); expired date

5. Last follow up date

1. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2018;68(6):394-424.
2. National Cancer Institute. Hospitale-based cancer registry 20172017, December. Available from: http://www.nci.go.th/th/cancer_record/cancer_rec1.html.
3. American Society of Clinical Oncology. Breast cancer: Statistics 2019, July [Available from: <https://www.cancer.net/cancer-types/breast-cancer/statistics>].
4. Gnant M, Harbeck N, Thomssen C. St. Gallen 2011: Summary of the Consensus Discussion. *Breast Care (Basel).* 2011;6(2):136-41.
5. National Comprehensive Cancer Insstitute. Breast cancer2019.
6. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists. Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Testing in Breast Cancer. 2018.
7. Fisher B, Brown A, Mamounas E, Wieand S, Robidoux A, Margolese RG, et al. Effect of preoperative chemotherapy on local-regional disease in women with operable breast cancer: findings from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project B-18. *J Clin Oncol.* 1997;15(7):2483-93.
8. Mamounas EP. NSABP Protocol B-27. Preoperative doxorubicin plus cyclophosphamide followed by preoperative or postoperative docetaxel. *Oncology (Williston Park).* 1997;11(6 Suppl 6):37-40.
9. van der Hage JA, van de Velde CJ, Julien JP, Tubiana-Hulin M, Vandervelden C, Duchateau L. Preoperative chemotherapy in primary operable breast cancer: results from the European Organization for Research and Treatment of Cancer trial 10902. *J Clin Oncol.* 2001;19(22):4224-37.
10. Heys SD, Hutcheon AW, Sarkar TK, Ogston KN, Miller ID, Payne S, et al. Neoadjuvant docetaxel in breast cancer: 3-year survival results from the Aberdeen trial. *Clin Breast Cancer.* 2002;3 Suppl 2:S69-74.
11. von Minckwitz G, Raab G, Caputo A, Schutte M, Hilfrich J, Blohmer JU, et al. Doxorubicin with cyclophosphamide followed by docetaxel every 21 days compared with doxorubicin and docetaxel every 14 days as preoperative treatment in operable breast cancer: the GEPARDUO study of the German Breast Group. *J Clin Oncol.* 2005;23(12):2676-85.
12. Green MC, Buzdar AU, Smith T, Ibrahim NK, Valero V, Rosales MF, et al. Weekly paclitaxel improves pathologic complete remission in operable breast cancer when compared with paclitaxel once every 3 weeks. *J Clin Oncol.* 2005;23(25):5983-92.
13. Gianni L, Baselga J, Eiermann W, Guillem Porta V, Semiglazov V, Lluch A, et al. Feasibility and tolerability of sequential doxorubicin/paclitaxel followed by cyclophosphamide, methotrexate, and fluorouracil and its effects on tumor response as preoperative therapy. *Clin Cancer Res.* 2005;11(24 Pt 1):8715-21.
14. Moebus V, Jackisch C, Lueck HJ, du Bois A, Thomssen C, Kurbacher C, et al. Intense dose-dense sequential chemotherapy with epirubicin, paclitaxel, and cyclophosphamide compared with conventionally scheduled chemotherapy in high-risk primary breast cancer: mature results of an AGO phase III study. *J Clin Oncol.* 2010;28(17):2874-80.
15. Gianni L, Pienkowski T, Im YH, Roman L, Tseng LM, Liu MC, et al. Efficacy and safety of neoadjuvant pertuzumab and trastuzumab in women with locally advanced, inflammatory, or early HER2-positive breast cancer (NeoSphere): a randomised multicentre, open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2012;13(1):25-32.
16. Rimawi MF, Mayer IA, Forero A, Nanda R, Goetz MP, Rodriguez AA, et al. Multicenter phase II study of neoadjuvant lapatinib and trastuzumab with hormonal therapy

and without chemotherapy in patients with human epidermal growth factor receptor 2-overexpressing breast cancer: TBCRC 006. *J Clin Oncol*. 2013;31(14):1726-31.

17. Buzdar AU, Valero V, Ibrahim NK, Francis D, Broglio KR, Theriault RL, et al. Neoadjuvant therapy with paclitaxel followed by 5-fluorouracil, epirubicin, and cyclophosphamide chemotherapy and concurrent trastuzumab in human epidermal growth factor receptor 2-positive operable breast cancer: an update of the initial randomized study population and data of additional patients treated with the same regimen. *Clin Cancer Res*. 2007;13(1):228-33.

18. Gianni L, Eiermann W, Semiglazov V, Manikhas A, Lluch A, Tjulandin S, et al. Neoadjuvant chemotherapy with trastuzumab followed by adjuvant trastuzumab versus neoadjuvant chemotherapy alone, in patients with HER2-positive locally advanced breast cancer (the NOAH trial): a randomised controlled superiority trial with a parallel HER2-negative cohort. *Lancet*. 2010;375(9712):377-84.

19. Untch M, Loibl S, Bischoff J, Eidtmann H, Kaufmann M, Blohmer JU, et al. Lapatinib versus trastuzumab in combination with neoadjuvant anthracycline-taxane-based chemotherapy (GeparQuinto, GBG 44): a randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2012;13(2):135-44.

20. Schneeweiss A, Chia S, Hickish T, Harvey V, Eniu A, Hegg R, et al. Pertuzumab plus trastuzumab in combination with standard neoadjuvant anthracycline-containing and anthracycline-free chemotherapy regimens in patients with HER2-positive early breast cancer: a randomized phase II cardiac safety study (TRYPHAENA). *Ann Oncol*. 2013;24(9):2278-84.

21. 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.

22. Robidoux A, Tang G, Rastogi P, Geyer CE, Jr., Azar CA, Atkins JN, et al. Lapatinib as a component of neoadjuvant therapy for HER2-positive operable breast cancer (NSABP protocol B-41): an open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2013;14(12):1183-92.

23. Carey LA, Berry DA, Cirincione CT, Barry WT, Pitcher BN, Harris LN, et al. Molecular Heterogeneity and Response to Neoadjuvant Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Targeting in CALGB 40601, a Randomized Phase III Trial of Paclitaxel Plus Trastuzumab With or Without Lapatinib. *J Clin Oncol*. 2016;34(6):542-9.

24. Semiglazov VF, Semiglazov VV, Dashyan GA, Ziltsova EK, Ivanov VG, Bozhok AA, et al. Phase 2 randomized trial of primary endocrine therapy versus chemotherapy in postmenopausal patients with estrogen receptor-positive breast cancer. *Cancer*. 2007;110(2):244-54.

25. Eiermann W, Paepke S, Appfelstaedt J, Llombart-Cussac A, Eremin J, Vinholes J, et al. Preoperative treatment of postmenopausal breast cancer patients with letrozole: A randomized double-blind multicenter study. *Ann Oncol*. 2001;12(11):1527-32.

26. Smith IE, Dowsett M, Ebbs SR, Dixon JM, Skene A, Blohmer JU, et al. Neoadjuvant treatment of postmenopausal breast cancer with anastrozole, tamoxifen, or both in combination: the Immediate Preoperative Anastrozole, Tamoxifen, or Combined with Tamoxifen (IMPACT) multicenter double-blind randomized trial. *J Clin Oncol*. 2005;23(22):5108-16.

27. Cataliotti L, Buzdar AU, Noguchi S, Bines J, Takatsuka Y, Petrakova K, et al. Comparison of anastrozole versus tamoxifen as preoperative therapy in postmenopausal women with hormone receptor-positive breast cancer: the Pre-Operative "Arimidex" Compared to Tamoxifen (PROACT) trial. *Cancer*. 2006;106(10):2095-103.

28. Ellis MJ, Suman VJ, Hoog J, Lin L, Snider J, Prat A, et al. Randomized phase II neoadjuvant comparison between letrozole, anastrozole, and exemestane for postmenopausal women with estrogen receptor-rich stage 2 to 3 breast cancer: clinical and biomarker outcomes and predictive value of the baseline PAM50-based intrinsic subtype--ACOSOG Z1031. *J Clin Oncol*. 2011;29(17):2342-9.
29. Cortazar P, Zhang L, Untch M, Mehta K, Costantino JP, Wolmark N, et al. Pathological complete response and long-term clinical benefit in breast cancer: the CTNeoBC pooled analysis. *Lancet*. 2014;384(9938):164-72.
30. von Minckwitz G, Untch M, Blohmer JU, Costa SD, Eidtmann H, Fasching PA, et al. Definition and impact of pathologic complete response on prognosis after neoadjuvant chemotherapy in various intrinsic breast cancer subtypes. *J Clin Oncol*. 2012;30(15):1796-804.
31. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative G. Long-term outcomes for neoadjuvant versus adjuvant chemotherapy in early breast cancer: meta-analysis of individual patient data from ten randomised trials. *Lancet Oncol*. 2018;19(1):27-39.
32. Spring LM, Fell G, Arfe A, Trippa L, Greenup R, Reynolds K, et al. Abstract GS2-03: Pathological complete response after neoadjuvant chemotherapy and impact on breast cancer recurrence and mortality, stratified by breast cancer subtypes and adjuvant chemotherapy usage: Individual patient-level meta-analyses of over 27,000 patients. *Cancer Research*. 2019;79:GS2-03.
33. Bear HD. Neoadjuvant chemotherapy for operable breast cancer: individualizing locoregional and systemic therapy. *Surg Oncol Clin N Am*. 2010;19(3):607-26.
34. Choi HJ, Ryu JM, Kim I, Nam SJ, Kim SW, Yu J, et al. Nomogram for accurate prediction of breast and axillary pathologic response after neoadjuvant chemotherapy in node positive patients with breast cancer. *Ann Surg Treat Res*. 2019;96(4):169-76.
35. Sasanpour P, Sandoughdaran S, Mosavi-Jarrahi A, Malekzadeh M. Predictors of Pathological Complete Response to Neoadjuvant Chemotherapy in Iranian Breast Cancer Patients. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2018;19(9):2423-7.
36. Tan W, Yang M, Yang H, Zhou F, Shen W. Predicting the response to neoadjuvant therapy for early-stage breast cancer: tumor-, blood-, and imaging-related biomarkers. *Cancer Manag Res*. 2018;10:4333-47.
37. Tewari M, Krishnamurthy A, Shukla HS. Predictive markers of response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *Surg Oncol*. 2008;17(4):301-11.
38. Symmans WF, Peintinger F, Hatzis C, Rajan R, Kuerer H, Valero V, et al. Measurement of residual breast cancer burden to predict survival after neoadjuvant chemotherapy. *J Clin Oncol*. 2007;25(28):4414-22.
39. Symmans WF, Wei C, Gould R, Yu X, Zhang Y, Liu M, et al. Long-Term Prognostic Risk After Neoadjuvant Chemotherapy Associated With Residual Cancer Burden and Breast Cancer Subtype. *J Clin Oncol*. 2017;35(10):1049-60.
40. Yau C vdNM, Wei J, et al.,. Residual cancer burden after neoadjuvant therapy and long-term survival outcomes in breast cancer: A multi-center pooled analysis. 2019.
41. 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.
42. Fasching PA, Heusinger K, Haeberle L, Niklos M, Hein A, Bayer CM, et al. Ki67, chemotherapy response, and prognosis in breast cancer patients receiving neoadjuvant treatment. *BMC Cancer*. 2011;11:486.

43. Tokes T, Tokes AM, Szentmartoni G, Kiszner G, Madaras L, Kulka J, et al. Expression of cell cycle markers is predictive of the response to primary systemic therapy of locally advanced breast cancer. *Virchows Arch.* 2016;468(6):675-86.
44. Cheang MC, Chia SK, Voduc D, Gao D, Leung S, Snider J, et al. Ki67 index, HER2 status, and prognosis of patients with luminal B breast cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2009;101(10):736-50.
45. Cho Mar K, Eimoto T, Nagaya S, Tateyama H. Cell proliferation marker MCM2, but not Ki67, is helpful for distinguishing between minimally invasive follicular carcinoma and follicular adenoma of the thyroid. *Histopathology.* 2006;48(7):801-7.
46. Guzinska-Ustymowicz K, Pryczynicz A, Kemona A, Czyzewska J. Correlation between proliferation markers: PCNA, Ki-67, MCM-2 and antiapoptotic protein Bcl-2 in colorectal cancer. *Anticancer Res.* 2009;29(8):3049-52.
47. Wojnar A, Kobierzycki C, Krolicka A, Pula B, Podhorska-Okolow M, Dziegiel P. Correlation of Ki-67 and MCM-2 proliferative marker expression with grade of histological malignancy (G) in ductal breast cancers. *Folia Histochem Cytobiol.* 2010;48(3):442-6.
48. Yousef EM, Furrer D, Laperriere DL, Tahir MR, Mader S, Diorio C, et al. MCM2: An alternative to Ki-67 for measuring breast cancer cell proliferation. *Mod Pathol.* 2017;30(5):682-97.
49. Loddo M, Kingsbury SR, Rashid M, Proctor I, Holt C, Young J, et al. Cell-cycle-phase progression analysis identifies unique phenotypes of major prognostic and predictive significance in breast cancer. *Br J Cancer.* 2009;100(6):959-70.
50. Peduzzi P, Concato J, Feinstein AR, Holford TR. Importance of events per independent variable in proportional hazards regression analysis. II. Accuracy and precision of regression estimates. *J Clin Epidemiol.* 1995;48(12):1503-10.
51. Issac MSM, Yousef E, Tahir MR, Gaboury LA. MCM2, MCM4, and MCM6 in Breast Cancer: Clinical Utility in Diagnosis and Prognosis. *Neoplasia.* 2019;21(10):1015-35.
52. Lips EH, Mulder L, de Ronde JJ, Mandjes IA, Vincent A, Vrancken Peeters MT, et al. Neoadjuvant chemotherapy in ER+ HER2- breast cancer: response prediction based on immunohistochemical and molecular characteristics. *Breast Cancer Res Treat.* 2012;131(3):827-36.
53. Omranipour R, Jalili R, Yazdankhahkenary A, Assarian A, Mirzania M, Eslami B. Evaluation of Pathologic Complete Response (pCR) to Neoadjuvant Chemotherapy in Iranian Breast Cancer Patients with Estrogen Receptor Positive and HER2 Negative and impact of predicting variables on pCR. *Eur J Breast Health.* 2020;16(3):213-8.
54. Petruolo OA, Pilewskie M, Patil S, Barrio AV, Stempel M, Wen HY, et al. Standard Pathologic Features Can Be Used to Identify a Subset of Estrogen Receptor-Positive, HER2 Negative Patients Likely to Benefit from Neoadjuvant Chemotherapy. *Ann Surg Oncol.* 2017;24(9):2556-62.
55. Acs B, Zambo V, Vizkeleti L, Szasz AM, Madaras L, Szentmartoni G, et al. Ki-67 as a controversial predictive and prognostic marker in breast cancer patients treated with neoadjuvant chemotherapy. *Diagn Pathol.* 2017;12(1):20.
56. Tokes T, Tokes AM, Szentmartoni G, Kiszner G, Muhl D, Molnar BA, et al. Prognostic and Clinicopathological Correlations of Cell Cycle Marker Expressions before and after the Primary Systemic Therapy of Breast Cancer. *Pathol Oncol Res.* 2020;26(3):1499-510.
57. Bossuyt V, Provenzano E, Symmans WF, Boughey JC, Coles C, Curigliano G, et al. Recommendations for standardized pathological characterization of residual disease for neoadjuvant clinical trials of breast cancer by the BIG-NABCG collaboration. *Ann Oncol.* 2015;26(7):1280-91.

58. Nakashoji A, Matsui A, Nagayama A, Iwata Y, Sasahara M, Murata Y. Clinical predictors of pathological complete response to neoadjuvant chemotherapy in triple-negative breast cancer. *Oncol Lett.* 2017;14(4):4135-41.
59. von Minckwitz G, Sinn HP, Raab G, Loibl S, Blohmer JU, Eidtmann H, et al. Clinical response after two cycles compared to HER2, Ki-67, p53, and bcl-2 in independently predicting a pathological complete response after preoperative chemotherapy in patients with operable carcinoma of the breast. *Breast Cancer Res.* 2008;10(2):R30.
60. Niikura N, Tomotaki A, Miyata H, Iwamoto T, Kawai M, Anan K, et al. Changes in tumor expression of HER2 and hormone receptors status after neoadjuvant chemotherapy in 21,755 patients from the Japanese breast cancer registry. *Ann Oncol.* 2016;27(3):480-7.
61. Tural D, Karaca M, Zirtiloglu A, B MH, Sendur MA, Ozet A. Receptor discordances after neoadjuvant chemotherapy and their effects on survival. *J BUON.* 2019;24(1):20-5.



ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	ฉัตรวิมล สุศิริวัฒนนนท์
วัน เดือน ปี เกิด	4 ธันวาคม 2533
สถานที่เกิด	กรุงเทพฯ
วุฒิการศึกษา	พ.ศ. 2558 แพทยศาสตรบัณฑิต คณะแพทยศาสตร์ ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล (เกียรตินิยมอันดับ 1) พ.ศ. 2562 อายุรแพทย์ โรงพยาบาลพุทธชินราช พิษณุโลก พ.ศ. 2562 นิสิตปริญญาโท แพทย์ประจำบ้านต่อยอด ภาควิชาอายุรศาสตร์ สาขามะเร็งวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ที่อยู่ปัจจุบัน	33/233 ซ. 6/5 ม. ลดาวัลย์ ถ. ศรีนครินทร์ ต. บางแก้ว อ. บางพลี จ. สมุทรปราการ 10540