Evaluation of the Efficacy of Detecting Human Papillomavirus 14 High Risk Types Genetic Material by Real Time PCR with Cytological Abnormalities and Colposcopy

Sirinya Phetphichai[*1] Nattaporn KlyKleung[1] and Anugoon Bunkhong[2]

[1]*Regional Medical Sciences Center 3 Nakhonsawan, Nakhonsawan Province, Thailand*
[2]*The Office of Disease Prevention and Control 3 Nakhonsawan, Nakhonsawan Province, Thailand*

Abstract

HPV DNA test has been used to screen for cervical cancer in Thai women to increase the detection opportunity of new cervical cancer. The information regarding the test efficacy in the 3rd health zone women is still unclear. This research aimed to study the efficacy of HPV genotypic test on detecting the cytological abnormalities. During the 2021 fiscal year, Thai women aged 30-60 years in Phichit, Uthai Thani, Chainat and Kamphaeng Phet provinces, who underwent cervical cancer screening according to the primary HPV test guidelines, were recruited. HPV non 16/18 were also screened for cytological abnormalities by liquid-based cytology (LBC) method. Cytological abnormalities were found at 20.07%. The top five findings were HPV 52, multiple HPV non 16/18, HPV 58, HPV 66 and HPV 51 at 5.18%, 3.97%, 2.42%, 1.84% and 1.38%, respectively. The confirmation by colposcopy indicated the positive predictive values (PPV) of HPV 16, HPV 18 and non 16/18 at 48.28%, 61.54% and 55.88%, respectively. HPV 45, HPV 68 and HPV 18 had higher rates of adenocarcinoma at 100%, 33.33% and 6.90%, respectively. The incidence rate of HPV 51-associated squamous cell carcinoma (SCC) was 11.11%. Therefore, the efficacy of this process is acceptable for cervical cancer screening. Furthermore, an increased follow-up of patients with abnormalities for comprehensive confirmation, would increase the likelihood of a new cervical cancer detection.

Keywords: Cervical cancer, HPV DNA test, Colposcopy, Liquid-based cytology

***Corresponding author E-mail address:** sirinya.p@dmsc.mail.go.th
Received: 10 February 2022 Revised: 12 May 2022 Accepted: 31 May 2022

การประเมินประสิทธิผลแนวทางการตรวจหาสารพันธุกรรม Human Papillomavirus 14 High Risk Types ด้วยวิธี Real Time PCR ร่วมกับการตรวจความผิดปกติทางเซลล์วิทยา และ Colposcopy

ศิริญญา เพชรพิชัย[*1] ณัฐพร คล้ายคลึง[1] และ อนุกูล บุญคง[2]

[1]ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 3 นครสวรรค์ จังหวัดนครสวรรค์
[2]สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 3 จังหวัดนครสวรรค์

บทคัดย่อ

การนำ HPV DNA test มาใช้ตรวจคัดกรองโรคมะเร็งปากมดลูกในหญิงไทย เพื่อเพิ่มโอกาสในการตรวจพบโรคมะเร็งปากมดลูกรายใหม่ อย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษาประสิทธิผลของวิธีการตรวจดังกล่าวในเขตสุขภาพที่ 3 การวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิผลของการตรวจหาสารพันธุกรรม HPV genotype กับความผิดปกติทางเซลล์วิทยา ในกลุ่มหญิงไทยช่วงอายุ 30-60 ปี ที่เข้ารับการตรวจคัดกรองโรคมะเร็งปากมดลูกในพื้นที่จังหวัดพิจิตร อุทัยธานี ชัยนาท และกำแพงเพชร โดยใช้ข้อมูลปีงบประมาณ 2564 และแนวทางการตรวจ primary HPV test โดย HPV non 16/18 ทั้งหมดและตรวจคัดกรองความผิดปกติทางเซลล์วิทยา โดยวิธี liquid-based cytology (LBC) ร่วมด้วย ผลการศึกษาพบความผิดปกติทางเซลล์วิทยาร้อยละ 20.07 โดย 5 อันดับแรกที่พบคือ HPV 52, multiple HPV non 16/18, HPV 58, HPV 66 และ HPV 51 ที่ร้อยละ 5.18, 3.97, 2.42, 1.84 และ 1.38 ตามลำดับ และผลตรวจยืนยันด้วยวิธี colposcopy พบ positive predictive value (PPV) ของ HPV 16, HPV 18 และ non 16/18 ที่ร้อยละ 48.28, 61.54 และ 55.88 ตามลำดับ และพบว่า HPV 45, HPV 68 และ HPV 18 มีอัตราเกิดโรคมะเร็งปากมดลูกชนิด adenocarcinoma ที่ร้อยละ 100, 33.33 และ 6.90 ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าการติดเชื้อ HPV 51 มีอัตราเกิดโรคมะเร็งปากมดลูกชนิด squamous cell carcinoma (SCC) ที่ร้อยละ 11.11 แสดงว่าวิธีการดำเนินการดังกล่าวมีประสิทธิผลเพียงพอสำหรับการตรวจคัดกรอง และหากมีการติดตามผู้ป่วยที่ตรวจพบความผิดปกติให้เข้ารับการตรวจยืนยันอย่างครอบคลุมเพิ่มขึ้นจะส่งผลให้มีโอกาสตรวจพบโรคมะเร็งปากมดลูกรายใหม่ได้สูงขึ้น

คำสำคัญ: โรคมะเร็งปากมดลูก, HPV DNA test, Colposcopy, Liquid-based cytology

---

***ผู้รับผิดชอบบทความ E-mail address:** sirinya.p@dmsc.mail.go.th
รับบทความ: 10 กุมภาพันธ์ 2565 แก้ไขบทความ: 12 พฤษภาคม 2565 รับตีพิมพ์บทความ: 31 พฤษภาคม 2565

บทนำ

โรคมะเร็งปากมดลูกยังคงเป็นปัญหาสุขภาพสำคัญในกลุ่มประเทศกำลังพัฒนา โดยพบว่าในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ มีอัตราอุบัติการณ์ปรับมาตรฐานตามอายุ (age-standardized incidence rate, ASR) เท่ากับ 16.3 ต่อประชากรสตรี 100,000 คน และในภาคเหนือของประเทศไทยมี ASR เท่ากับ 18.2 ต่อประชากรสตรี 100,000 คน อุบัติการณ์ในการตรวจพบโรคมะเร็งปากมดลูกในแต่ละพื้นที่ขึ้นกับประสิทธิภาพการตรวจคัดกรองโรคมะเร็งและความชุกของการติดเชื้อ human papillomavirus (HPV) ในกลุ่มประชากรในแต่ละพื้นที่[1] การตรวจคัดกรองที่มีประสิทธิภาพสามารถช่วยเพิ่มการตรวจพบผู้ป่วยโรคมะเร็งรายใหม่ได้เป็นอย่างดี การติดเชื้อ high-risk HPV เป็นสาเหตุสำคัญของโรคมะเร็งปากมดลูก โดยเริ่มตั้งแต่การติดเชื้อ HPV เข้าไปในร่างกายซึ่งเกี่ยวข้องกับการมีเพศสัมพันธ์ หลังจากนั้นการติดเชื้อ HPV บริเวณปากมดลูกคงอยู่และพัฒนาทำให้เซลล์ปากมดลูกผิดปกติมากขึ้นเกิดเป็นรอยโรค carcinoma *in situ* (CIS) และ adenocarcinoma *in situ* (AIS) และสุดท้ายเกิดโรคมะเร็งปากมดลูกตามมา ซึ่งกระบวนการทั้งหมดต้องใช้เวลานานประมาณ 10-20 ปี ตั้งแต่ติดเชื้อ HPV จนกระทั่งเป็นมะเร็งปากมดลูก จากความรู้ดังกล่าวสามารถนำมาใช้ในการคัดกรองความผิดปกติของปากมดลูกก่อนที่จะมีการเปลี่ยนแปลงกลายเป็นเซลล์มะเร็ง การตรวจคัดกรองโรคมะเร็งปากมดลูกที่มีการให้บริการในประเทศไทยในปัจจุบันมี 3 วิธี คือ (1) การตรวจเซลล์วิทยาของปากมดลูก (cervical cytology) ซึ่งปัจจุบันใช้การตรวจเซลล์วิทยาปากมดลูกแบบมาตรฐาน (Papanicolaou stain smear: Pap smear หรือ conventional cytology) และการตรวจเซลล์วิทยาโดยเก็บเซลล์ในน้ำยารักษาสภาพ (liquid-based cytology, LBC) (2) การตรวจด้วยน้ำส้มสายชู (visual inspection with acetic acid, VIA) เพื่อสังเกตความผิดปกติของเซลล์บริเวณปากมดลูก (3) การตรวจหาเชื้อ HPV (HPV DNA test) ซึ่งแบ่งการตรวจออกไปอีก 2 แนวทางคือ (1) การตรวจด้วยวิธี Co-test คือมีการตรวจ HPV DNA test ร่วมกับการตรวจทางเซลล์วิทยาในทุกราย และ (2) การตรวจด้วยวิธี primary HPV test ซึ่งเป็นการตรวจที่ระบุสายพันธุ์ของเชื้อ HPV โดยให้ความสำคัญกับ HPV 16 และ HPV 18 ซึ่งมีศักยภาพในการทำให้เกิดโรคมะเร็ง จึงให้ดำเนินการตรวจยืนยันทันทีภายหลังการตรวจพบด้วยวิธี colposcopy ซึ่งเป็นการตรวจโดยการส่องกล้องคอลโปสโคป (colposcope) ส่วน HPV สายพันธุ์เสี่ยงสูงอื่น ๆ กำหนดให้ตรวจด้วยวิธี LBC เพื่อตรวจสอบความผิดปกติของเซลล์ปากมดลูก หากผลตรวจเป็นลบ (negative) ให้ตรวจซ้ำด้วย Co-test ทุก 1 ปี และเมื่อตรวจพบความผิดปกติตั้งแต่ระดับ atypical squamous cells of undetermined significance (ASC-US) จึงสามารถส่งตัวผู้ป่วยเข้ารับการตรวจยืนยันด้วยวิธี colposcopy ต่อไป[2] อย่างไรก็ตาม International Agency for Research on Cancer (IARC) พบว่าเชื้อ HPV สายพันธุ์เสี่ยงสูงอื่น ๆ ก็มีศักยภาพในการทำให้เกิดมะเร็งปากมดลูกได้เช่นกัน[3] ดังนั้นผู้วิจัยจึงได้สนใจศึกษาประสิทธิผลการตรวจ HPV genotype กับความผิดปกติทางเซลล์วิทยา ในกลุ่มที่เข้ารับการตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูก ตามแนวทาง primary HPV test ที่เป็นการตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูกด้วย HPV DNA test และตรวจคัดกรองซ้ำด้วยวิธีทางเซลล์วิทยาเมื่อตรวจพบการติดเชื้อ HPV non 16/18

วัสดุและวิธีการ

กลุ่มตัวอย่าง

การวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาข้อมูลย้อนหลังแบบภาคตัดขวาง (retrospective cross sectional

study) ในกลุ่มหญิงไทยที่เข้ารับการตรวจคัดกรองโรคมะเร็งปากมดลูก ในพื้นที่จังหวัดพิจิตร อุทัยธานี ชัยนาท และกำแพงเพชร โดยมีหน่วยงานที่เข้าร่วม 4 จังหวัด โดยแยกเป็น โรงพยาบาลประจำจังหวัด 3 แห่ง โรงพยาบาลชุมชน 39 แห่ง โรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบล 328 แห่ง การวิจัยใช้ข้อมูลผลตรวจทางห้องปฏิบัติการตรวจคัดกรองโรคมะเร็งปากมดลูก ด้วยวิธี HPV DNA test ในสตรีไทยช่วงอายุ 30-60 ปี ที่เข้าร่วมโครงการตรวจคัดกรองโรคมะเร็งปากมดลูกด้วยวิธี HPV DNA test ของศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 3 นครสวรรค์ ระหว่างเดือนมีนาคม ถึงเดือนกันยายน พ.ศ. 2564 ภายใต้โครงการตรวจคัดกรองโรคมะเร็งปากมดลูกด้วยวิธี HPV DNA test ของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข โดยในปีงบประมาณ 2564 มีผู้เข้ารับบริการตรวจคัดกรองโรคมะเร็งปากมดลูกทั้งสิ้น 28,870 ราย โดยมีเกณฑ์ในการคัดเลือกตัวอย่างจากอาสาสมัครเข้าร่วมโครงการวิจัย คือ เป็นตัวอย่างส่งตรวจคัดกรองโรคมะเร็งปากมดลูก ด้วยวิธี HPV DNA test ที่มีการส่งตรวจ HPV DNA test ในช่วงเวลาที่ศึกษา และเกณฑ์ในการคัดตัวอย่างอาสาสมัครออกจากโครงการ คือ เป็นตัวอย่างส่งตรวจคัดกรองโรคมะเร็งปากมดลูกด้วยวิธี HPV DNA test ที่ไม่มีข้อมูลผลตรวจ HPV DNA test หรือผลตรวจ liquid base cytology (LBC) อย่างใดอย่างหนึ่งหรือไม่มีข้อมูลผลตรวจยืนยันด้วยวิธี colposcopy ที่ติดตามข้อมูลมาจากหน่วยบริการ โครงการนี้ผ่านการอนุมัติโดยคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในคนกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข หมายเลขอ้างอิงที่ สธ 0625/EC098

การเก็บสิ่งส่งตรวจ

ใช้ตัวอย่างเซลล์ปากมดลูก (cervical swab) ที่เก็บด้วยชุดเก็บตัวอย่างสำเร็จรูป Cell prep pap test (Biodyne, Korea) ซึ่งมีน้ำยารักษาสภาพเซลล์ที่มีปริมาตร 20 มิลลิลิตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง (25-30 องศาเซลเซียส)

การตรวจ HPV DNA Test

การสกัด DNA เชื้อ HPV

แบ่งตัวอย่างเซลล์ปากมดลูกมาสกัด DNA โดยใช้เครื่องสกัดสารพันธุกรรมอัตโนมัติ Chemagic 360 Instrument และน้ำยาสกัดสารพันธุกรรมสำเร็จรูป Chemagic Viral DNA/RNA Extraction Kit (Perkins Elmer, England) เก็บตัวอย่าง DNA ไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธี real time PCR

การตรวจวิเคราะห์ HPV DNA Test ด้วยวิธี Real Time PCR

ตรวจ DNA ของเชื้อ HPV ด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป Anyplex^{TM} II HPV HR Detection Kit[4] (Seegene, Korea) สามารถตรวจ HPV genotype ได้ 14 สายพันธุ์เสี่ยงสูง ได้แก่ 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 และ 68 โดยเตรียม Master mix reagent ปริมาตรรวม 15 ไมโครลิตร ประกอบด้วย 4X HPV HR TOM, 4X Anyplex PCR Master mix (with UDG) และ RNase-free Water อย่างละ 5 ไมโครลิตร แล้วเติม DNA 5 ไมโครลิตร จากนั้นเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วยเครื่อง real time PCR รุ่น CFX96 Real time PCR system® (Bio-Rad IVD, USA) โดยตั้งค่า protocol แบบ End-point Catcher Melting Temperature Analysis (End-point CMTA) เมื่อตรวจวิเคราะห์เสร็จแปลผลการทดสอบด้วยโปรแกรม Seegene viewer (Seegene, Korea)

การตรวจทางเซลล์วิทยา

ตัวอย่างเซลล์ปากมดลูกที่ตรวจ HPV DNA test แล้วพบเชื้อ HPV สายพันธุ์อื่น ๆ ที่ไม่ใช่สายพันธุ์ 16 หรือ 18 (HPV non 16/18) นำตัวอย่างที่เหลือส่งตรวจความผิดปกติทางเซลล์วิทยาด้วยวิธี LBC โดยผู้เชี่ยวชาญและพยาธิแพทย์ ณ สถาบันพยาธิวิทยา กรมการแพทย์ และรายงานผลทางเซลล์วิทยาในรูปแบบของ The 2014 Bethesda System[2] (Table 1)

การตรวจ Colposcopy

เมื่อตรวจ HPV DNA test แล้วพบเชื้อ HPV สายพันธุ์ 16, 18 หรือพบสายพันธุ์อื่น ๆ ที่ไม่ใช่สายพันธุ์ 16 หรือ 18 (HPV non 16/18) แล้วตรวจ LBC ให้ผลบวกซึ่งพบความผิดปกติของเซลล์ จะมีการตรวจผู้ติดเชื้อด้วยการส่องกล้องตรวจปากมดลูกและช่องคลอดโดยแพทย์เพื่อยืนยันความผิดปกติและประเมินรอยโรคที่เกิดขึ้น

Table 1 Reporting cytology results by The 2014 Bethesda System[2]

Characteristic	classification
Abnormal Squamous cells	1. Atypical squamous cells (ASC) - Atypical squamous cells of undetermined significance (ASC-US) - Atypical squamous cells cannot exclude HSIL (ASC-H)
	2. Low-grade squamous intraepithelial lesion (LSIL) such as HPV infection and Mild dysplasia or CIN1
	3. High-grade squamous intraepithelial lesion (HSIL) such as Moderate dysplasia, Severe dysplasia and Carcinoma *in situ* (CIS) or CIN2 and CIN3
	4. Squamous cell carcinoma (SCC)
Abnormal Glandular cells	1. Atypical glandular cells (AGC) Endocervical cells or Endometrial cells or not otherwise specified (AGC NOS)
	2. Atypical glandular cells, favor neoplasia (AGC FN) Atypical endocervical cells or not otherwise specified Glandular cells
	3. Adenocarcinoma *in situ* (AIS) for Endocervix
	4. Adenocarcinoma for Endocervical, Endometrial or Not otherwise specified

การวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ข้อมูลประกอบด้วย (1) วิเคราะห์ความชุกในการติดเชื้อ HPV (2) วิเคราะห์อัตราการตรวจพบความผิดปกติทางเซลล์วิทยา ด้วยวิธี LBC เมื่อติดเชื้อ HPV non 16/18 และ (3) วิเคราะห์โอกาสการตรวจพบความผิดปกติของเซลล์มะเร็งปากมดลูกระยะเริ่มแรก ด้วยวิธี colposcopy กับการติดเชื้อ HPV แต่ละสายพันธุ์

Table 2 The prevalence of HPV infection. (N = 28,870)

Characteristic	Number of HPV infection (%)
HPV Positive type 16	248 (0.86)
Multiple HPV 16	94 (0.33)
HPV Positive type 18	102 (0.35)
Multiple HPV 18	37 (0.13)
HPV Positive type non 16/18	1,739 (6.02)

Table 3 Cytological test of HPV non 16/18 – positive samples by LBC method

HPV Analysis	LBC Bethesda (N = 1,739)						
	NILM	Atypical glandular cells (AGC)	Atypical squamous cells (ASC)	LSIL	HSIL	SCC	Total (Abnormal%, Normal%)
Multiple HPV non 16/18	187	3	44	20	2	0	256 (3.97, 10.75)
HPV 31	47	0	10	1	3	0	61 (0.81, 2.70)
HPV 33	35	0	6	2	5	1	49 (0.81, 2.01)
HPV 35	10	0	0	1	0	1	12 (0.12, 0.58)
HPV 39	130	0	8	2	3	0	143 (0.75, 7.48)
HPV 45	32	2	1	0	1	0	36 (0.23, 1.84)
HPV 51	98	0	10	8	6	0	122 (1.38, 5.64)
HPV 52	299	3	55	9	22	1	389 (5.18, 17.19)
HPV 56	71	0	9	9	1	0	90 (1.09, 4.08)
HPV 58	140	2	26	4	10	0	182 (2.42, 8.05)
HPV 59	54	1	6	1	0	0	62 (0.46, 3.11)
HPV 66	124	0	17	15	0	0	156 (1.84, 7.13)
HPV 68	163	2	12	3	1	0	181 (1.04, 9.37)
Total	**1,390**	**13**	**204**	**75**	**54**	**3**	**1,739 (20.07, 79.93)**

Table 4 Colposcopy examination of HPV-positive women

HPV Type	Colposcopy Bethesda analyte (N = 257)							Total (Abnormal%, Normal%)	PPV (%)
	NILM	ASC-US	LSIL/ CIN 1	HSIL/ CIN 2	HSIL/ CIN 3	SCC	Adeno carcinoma		
Multiple HPV non 16/18	10	0	5	3	3	0	0	21 (4.28, 3.89)	52.38
Multiple HPV 16	15	2	8	2	4	0	0	31 (6.23, 5.84)	51.61
Multiple HPV 18	4	0	3	1	2	0	0	10 (2.33, 1.56)	60.00
HPV 16	45	0	25	5	10	0	0	85 (15.56, 17.51)	47.06
HPV 18	11	0	11	4	1	0	2	29 (7.00, 4.28)	62.07
HPV 31	2	0	2	1	1	0	0	6 (1.56, 0.78)	66.67
HPV 33	0	0	1	1	0	0	0	2 (0.78, 0.00)	100.00
HPV 35	0	0	0	0	1	0	0	1 (0.39, 0.00)	100.00
HPV 39	4	0	0	3	0	0	0	7 (1.17, 1.56)	42.86
HPV 45	0	0	0	0	0	0	1	1 (0.39, 0.00)	100.00
HPV 51	4	0	1	2	1	1	0	9 (1.95, 1.56)	55.56
HPV 52	14	0	6	2	7	0	0	29 (5.84, 5.45)	51.72
HPV 56	2	0	1	0	1	0	0	4 (0.78, 0.78)	50.00
HPV 58	3	0	2	3	2	0	0	10 (2.72, 1.17)	70.00
HPV 66	5	0	4	0	0	0	0	9 (1.56, 1.95)	44.44
HPV 68	1	0	1	0	0	0	1	3 (0.78, 0.39)	66.67
Total	**120**	**2**	**70**	**27**	**33**	**1**	**4**	**257 (53.31, 46.69)**	**53.31**

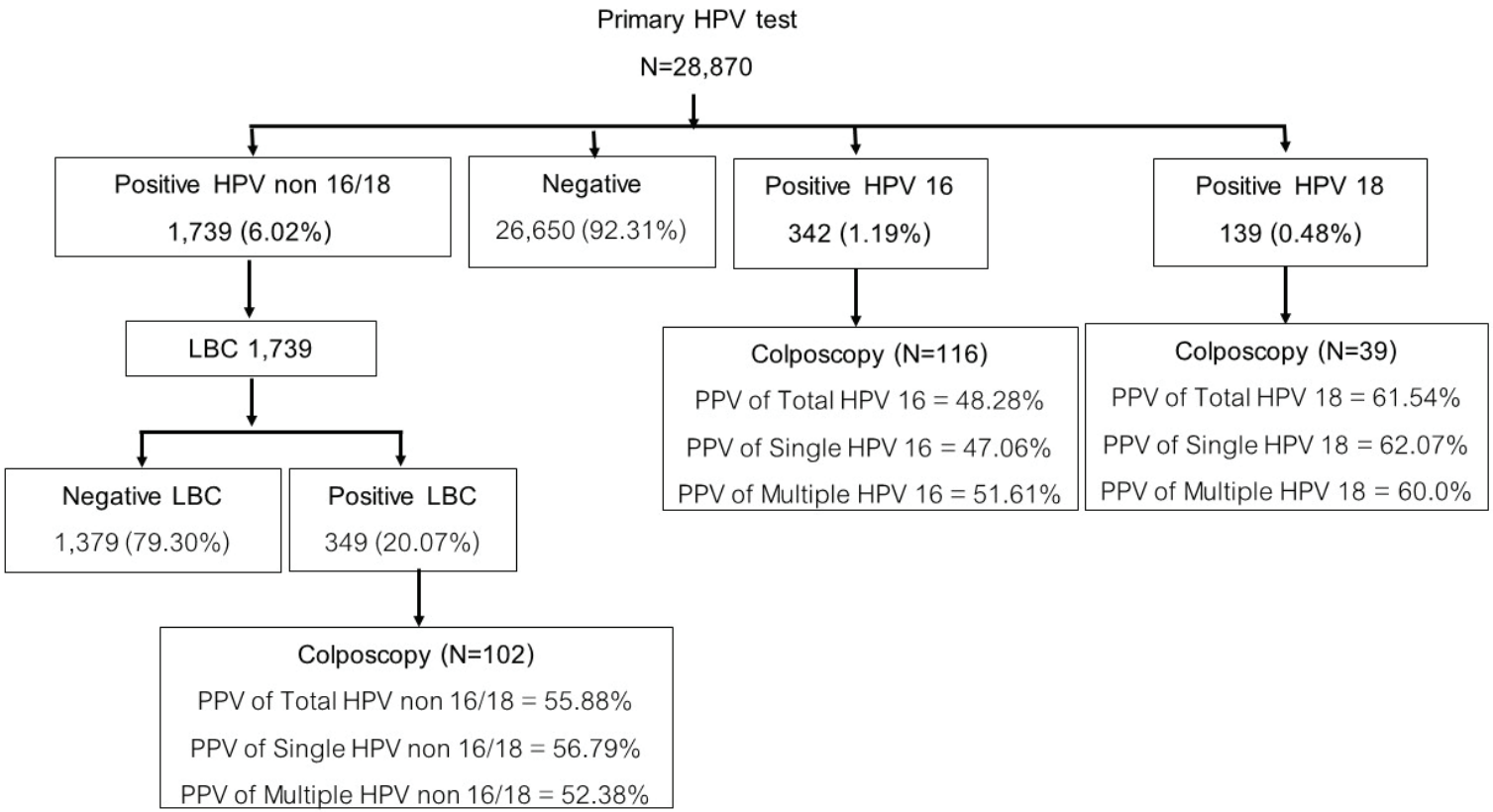

Fig. 1 The efficacy of cervical cancer screening by primary HPV test at The Regional Medical Science 3, Nakhon Sawan

ผลการศึกษา

ผลการตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูกด้วยวิธี HPV DNA test ของผู้เข้าร่วมโครงการทั้งหมด 28,870 ราย จากพื้นที่จังหวัดพิจิตร อุทัยธานี ชัยนาท และกำแพงเพชร พบว่าช่วงอายุผู้รับบริการที่ตรวจพบ HPV เท่ากับ 45.56 ± 7.96 ปี โดยตรวจพบการติดเชื้อ HPV สายพันธุ์เสี่ยงสูง 2,220 ราย คิดเป็นร้อยละ 7.69 (Table 2) กลุ่มที่ตรวจพบ HPV non 16/18 รวม 1,739 ราย ได้ส่งตรวจทางเซลล์วิทยาด้วยวิธี LBC ทุกราย โดยให้ผลลบ คือ ไม่พบเซลล์ผิดปกติ (negative for intraepithelial lesion or malignancy, NILM) ทั้งหมด 1,390 ราย และพบตัวอย่างที่ให้ผลบวก คือมีความผิดปกติทางเซลล์วิทยา 349 ราย ค่า PPV ที่ตรวจพบความผิดปกติทางเซลล์วิทยาโดยรวมที่ใช้วิธี LBC เป็นวิธีอ้างอิง เท่ากับร้อยละ 20.07 สายพันธุ์ที่พบความผิดปกติสูงสุด 5 อันดับแรก ได้แก่ HPV 52, Multiple HPV non 16/18, HPV 58, HPV 66 และ HPV 51 ที่ร้อยละ 5.18, 3.97, 2.42, 1.84 และ 1.38 ตามลำดับ (Table 3) และตรวจพบความผิดปกติมีความรุนแรงในการเกิดมะเร็งปากมดลูกตั้งแต่ระดับ HSIL/CIN2 ถึง SCC โดย 3 อันดับแรกที่มีความผิดปกติ คือ HPV 52, HPV 58 และอันดับ 3 พบความผิดปกติเท่ากัน คือ HPV 51 และ HPV 33 ที่ร้อยละ 1.32, 0.58 และ 0.35 ตามลำดับ การตรวจคัดกรองด้วย HPV genotype และ LBC ทำให้ทราบถึงความรุนแรงในการเกิดโรคในแต่ละรายได้ดี สามารถลดการตรวจยืนยันด้วยวิธี colposcopy โดยไม่จำเป็น นอกจากนั้นยังสามารถตรวจติดตามและพบการเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ ในระยะก่อนเกิดมะเร็งปากมดลูกได้อย่างต่อเนื่อง

ผู้ติดเชื้อ HPV ที่ได้รับการตรวจยืนยันทางเซลล์วิทยาด้วยวิธี colposcopy มีจำนวนทั้งสิ้น 257 ราย ตรวจพบความผิดปกติของมะเร็งปากมดลูกตั้งแต่ระยะเริ่มแรก (ASC-US) โดยการติดเชื้อ HPV ความเสี่ยงสูง 14 สายพันธุ์มีโอกาสเกิดโรคมะเร็งปากมดลูก (PPV) ที่ร้อยละ 53.3 สายพันธุ์ที่พบความผิดปกติสูงสุด คือ HPV 16, HPV 18, HPV 52 และ HPV 58 โดยพบโอกาสเกิดโรคมะเร็งปากมดลูกแต่ละสายพันธุ์ที่ร้อยละ 47.06, 62.07, 51.72 และ 70.00 ตามลำดับ และพบการติดเชื้อหลายชนิดแบบ multiple infection สูงสุดที่กลุ่ม Multiple HPV 18, Multiple HPV non 16/18 และ Multiple HPV 16 โดยมีค่า PPV เท่ากับร้อยละ 60.00, 52.38 และ 51.61 ตามลำดับ (Table 4) โดยกลุ่ม multiple infection พบความผิดปกติทางเซลล์วิทยาในระดับ ASC-US ถึง HSIL/CIN3 เมื่อประเมินความรุนแรงด้วยเซลล์วิทยาในระดับ squamous cell carcinoma (SCC) พบว่ามีการติดเชื้อชนิดเดียวแบบ single infection ของสายพันธุ์ HPV 51 สำหรับ adenocarcinoma พบว่ามีการติดเชื้อแบบ single infection ของสายพันธุ์ HPV18, HPV 45 และ HPV 68 โดยมีอัตราการเกิด adenocarcinoma สูงเมื่อติดเชื้อ HPV 45, HPV 68 และ HPV 18 ที่ร้อยละ 100, 33.33 และ 6.90 ตามลำดับ นอกจากนี้พบว่าการติดเชื้อ HPV 51 มีอัตราเกิดโรคมะเร็งปากมดลูกแบบ SCC ที่ร้อยละ 11.11 หากผู้รับบริการมีการเข้ารับการตรวจด้วยวิธี colposcopy เพิ่มขึ้น จะสามารถประเมินความรุนแรงของการเกิดโรคมะเร็งปากมดลูกจากการติดเชื้อ HPV แต่ละสายพันธุ์ได้ดียิ่งขึ้น

ผลการวิจัยพบว่าการตรวจคัดกรองโรคมะเร็งปากมดลูกตามแนวทาง primary HPV test ทำให้ทราบถึงระดับความรุนแรงของผู้ป่วยแต่ละรายและมีโอกาสตรวจพบโรคมะเร็งปากมดลูกตั้งแต่ระยะเริ่มแรกด้วยวิธี colposcopy จากแนวทางการตรวจคัดกรองได้แยกแนวทางการตรวจตามความรุนแรงของการเกิดโรคมะเร็งปากมดลูก โดยกลุ่มที่ตรวจพบการติดเชื้อ HPV 16 และ HPV 18 ซึ่งเป็นกลุ่มที่มีศักยภาพในการก่อโรคมะเร็งสูง จึงเข้าสู่กระบวนการ

ตรวจยืนยันด้วยวิธี colposcopy ภายหลังการตรวจพบการติดเชื้อ โดยตรวจพบความผิดปกติ (PPV) จากกระบวนการดังกล่าวเมื่อติดเชื้อ HPV 16 และ HPV 18 ที่ร้อยละ 48.2 และ 61.54 ตามลำดับ ส่วนกลุ่ม HPV non 16/18 ซึ่งเป็นกลุ่มสายพันธุ์ความเสี่ยงสูงในการเกิดโรคมะเร็งจึงดำเนินการตรวจคัดกรองซ้ำด้วยวิธี LBC หากพบความผิดปกติตั้งแต่ระดับ ASC-US จึงตรวจยืนยันด้วยวิธี colposcopy จากการดำเนินการตามกระบวนการพบค่า PPV ของกลุ่ม HPV non 16/18 เท่ากับร้อยละ 55.88 (Fig. 1) เมื่อประเมินผลการดำเนินการของทั้งสองวิธีด้วยสถิติ chi square test พบว่าผลการดำเนินการด้วยทั้งสองแนวทางไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ *p*-value เท่ากับ 0.502

วิจารณ์

จากการตรวจคัดกรองตามแนวทาง primary HPV test ทั้งหมด 28,870 ราย พบความชุกของการติดเชื้อ HPV 14 HR ที่ร้อยละ 7.69 โดยพบความชุกของเชื้อ HPV 16, HPV 18 และ HPV non 16/18 ที่ร้อยละ 1.19, 0.48 และ 6.02 ตามลำดับ และในการตรวจพบ HPV non 16/18 ทุกรายได้ตรวจคัดกรองความผิดปกติทางเซลล์วิทยา โดยวิธี LBC ร่วมด้วยและพบความชุกของความผิดปกติทางเซลล์วิทยาที่ร้อยละ 1.21 ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของดุริยาและคณะ ในปี พ.ศ. 2558 ซึ่งพบความชุกของการติดเชื้อ HPV ในโรงพยาบาลมะเร็งลำปางที่ร้อยละ 6 และพบการติดเชื้อ HPV 5 อันดับแรก คือ HPV 52, HPV 16, HPV 58, HPV 18 และ HPV 66 ตามลำดับ[5] แต่จากการศึกษาของทุมวดีและคณะ ปี พ.ศ. 2561 พบความชุกของการติดเชื้อ HPV ในพื้นที่ภาคเหนือสูงถึงร้อยละ 19.3 จากกลุ่มตัวอย่าง 119 ราย[6] ซึ่งแตกต่างจากการศึกษานี้ที่พบความชุกของพื้นที่เพียงร้อยละ 7.69 โดยสาเหตุอาจเกิดจากการใช้ปริมาณตัวอย่างที่เพิ่มขึ้นและพื้นที่มีความจำเพาะในภาคเหนือตอนล่าง จากข้อมูลกลุ่มที่ตรวจพบการติดเชื้อ HPV non 16/18 แล้วตรวจต่อด้วยวิธี LBC พบอัตราความผิดปกติทางเซลล์วิทยาตั้งแต่ระยะเริ่มแรก (ASC-US) ที่ร้อยละ 20.07 โดยพบ 5 อันดับแรก ได้แก่ HPV 52, multiple HPV non 16/18, HPV 58, HPV 66 และ HPV 51 ที่ร้อยละ 5.18, 3.97, 2.42, 1.84 และ 1.38 ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างจากรายงานของ Campos-Romero A และคณะ ในปี พ.ศ. 2562 ที่ศึกษาใน 20 รัฐของประเทศเม็กซิโก พบผลการตรวจคัดกรอง HPV genotype ที่มีความผิดปกติทางเซลล์วิทยาตั้งแต่ระดับ ASC-US สูงสุดใน HPV 16, HPV 31, HPV 51 และ HPV 18 ที่ร้อยละ 4.13, 4.12, 3.39 และ 1.07 ตามลำดับ[7] แสดงว่าประชากรในแต่ละพื้นที่มีโอกาสในการติดเชื้อ HPV สายพันธุ์ต่าง ๆ แตกต่างกันไป จากผลการตรวจยืนยันทางเซลล์วิทยาด้วยวิธี colposcopy ทั้งหมด 257 ราย ในการศึกษาครั้งนี้ตรวจพบความผิดปกติของโรคมะเร็งปากมดลูกตั้งแต่ระยะเริ่มแรก โดยทั้ง 14 สายพันธุ์มีโอกาสก่อโรคมะเร็งปากมดลูกที่มีค่า PPV ที่ร้อยละ 53.31 สายพันธุ์ที่พบความผิดปกติจากการตรวจ colposcopy สูงสุด ได้แก่ HPV 16, HPV 18, HPV 52 และ HPV 58 โดยพบโอกาสเกิดโรคมะเร็งปากมดลูกแต่ละสายพันธุ์ที่ร้อยละ 47.06, 62.07, 51.72 และ 70.00 ตามลำดับ และพบการติดเชื้อแบบ multiple infection สูงสุดที่กลุ่ม multiple HPV 18, multiple HPV non 16/18 และ multiple HPV 16 โดยมีค่า PPV เท่ากับร้อยละ 60.00, 52.38 และ 51.61 ตามลำดับ รายละเอียดดังแสดงใน Table 4 และเมื่อประเมินการติดเชื้อ HPV แบบ single infection กับผลการตรวจยืนยันด้วยวิธี colposcopy พบว่าการติดเชื้อ HPV 45, HPV 68 และ HPV 18 มีอัตราการเกิด adenocarcinoma ที่ร้อยละ 100, 33.33

และ 6.90 ตามลำดับ นอกจากนี้พบว่าการติดเชื้อ HPV 51 มีอัตราเกิดโรคมะเร็งปากมดลูกแบบ SCC ที่ร้อยละ 11.11 เมื่อประเมินด้วยตัวเลขทางสถิติพบว่า HPV genotype มีความสำคัญในการทำให้ทราบถึงความผิดปกติของโรคมะเร็งแต่ละระยะที่แตกต่างกัน ดังนั้นการใช้ HPV DNA test แบบ HPV genotype เป็นพื้นฐานในการตรวจคัดกรองโรคมะเร็งปากมดลูกจะสามารถบอกถึงการติดเชื้อแบบฝังแน่น (persistence) เมื่อตรวจติดตามในปีต่อ ๆ ไป และเมื่อประเมินความผิดปกติร่วมกับวิธี LBC ส่งผลให้เพิ่มโอกาสในการตรวจพบความรุนแรงของโรคในระยะต่าง ๆ ได้ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Guan P. และคณะ ที่ศึกษาจากกลุ่มตรวจคัดกรองโรคมะเร็งปากมดลูกโดยใช้ HPV screening พบว่าในภูมิภาคเอเชียพบการติดเชื้อ HPV 16, HPV 18 และ HPV 45 ในประชากรส่วนใหญ่ที่ตรวจพบความผิดปกติ และเมื่อประเมินความรุนแรงตั้งแต่ระยะ HSIL/CIN3 พบว่าเชื้อ HPV 18 และ 45 เป็นสายพันธุ์ที่มีความรุนแรงในการก่อโรคมะเร็งปากมดลูกสูง (invasive cervical cancers (ICCs)[8] และจากการศึกษาของ Tjalma และคณะ ในปี พ.ศ. 2555 ได้ศึกษาในกลุ่มผู้ตรวจคัดกรองโรคมะเร็งปากมดลูกด้วย HPV DNA test พบเชื้อ HPV 16, HPV 18 และ HPV 45 ประมาณร้อยละ 75 มีโอกาสในการตรวจพบ squamous cell carcinoma และร้อยละ 94 พบเป็น adenocarcinoma โดยเป็น HPV 18 และ HPV 45 ที่ร้อยละ 44 และ 14 ตามลำดับ[9] และการศึกษานี้แตกต่างจากการศึกษาในประเทศไทยของ Aromseree และคณะ ในปี พ.ศ. 2557 ที่ศึกษาการติดเชื้อจากตัวอย่างชิ้นเนื้อรอยโรคของสตรีที่มี HSIL พบ HPV16, HPV18, HPV 52 และ HPV 58 เป็น 4 สายพันธุ์ที่สำคัญ แต่อุบัติการณ์อาจจะแตกต่างกันไปในแต่ละภูมิภาค โดยพบการติดเชื้อ HPV สายพันธุ์ HPV 16, HPV 18 และ HPV 58 ที่ร้อยละ 40, 100 และ 20 ตามลำดับ ในกลุ่มที่ตรวจทางเซลล์วิทยาในระดับ HSIL[10] จากแนวทางการตรวจคัดกรอง HPV DNA test ของประเทศไทย เมื่อตรวจพบ HPV 16 หรือ HPV 18 สามารถส่งตรวจยืนยันด้วยวิธี colposcopy ได้ หากตรวจพบการติดเชื้อกลุ่ม HPV non 16/18 ต้องดำเนินการตรวจ LBC เพื่อตรวจความผิดปกติของเซลล์ตั้งแต่ระยะเริ่มแรกและหากพบความผิดปกติของเซลล์มะเร็งปากมดลูกตั้งแต่ระยะ ASC-US จึงตรวจ colposcopy เพื่อการยืนยันผลการตรวจ จากการศึกษาพบว่ากลุ่มที่ตรวจพบความผิดปกติ ตรวจพบ HPV 16 หรือ HPV 18 เข้ารับการตรวจยืนยันเพียงร้อยละ 32.22 และพบผลการตรวจยืนยันมีโอกาสพบความผิดปกติตั้งแต่ระยะ ASC-US ของ HPV 16 หรือ HPV 18 พบค่า PPV ที่ร้อยละ 48.28 และ 61.54 ตามลำดับ ส่วนกลุ่ม HPV non 16/18 พบค่า PPV เท่ากับร้อยละ 55.88 เมื่อประเมินการดำเนินการด้วยทั้งสองวิธีการด้วยสถิติ chi square test พบว่าการดำเนินการด้วยแนวทางทั้งสองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ p-value เท่ากับ 0.502 แสดงว่าการดำเนินการตามแนวทางดังกล่าว ส่งผลให้มีการตรวจยืนยันด้วย colposcopy มีประสิทธิผลและเพิ่มโอกาสในการตรวจพบโรคมะเร็งปากมดลูกรายใหม่ได้เพิ่มขึ้น

สรุปผลการศึกษา

การตรวจคัดกรองโรคมะเร็งปากมดลูกตามแนวทาง primary HPV test ทำให้ทราบถึงระดับความรุนแรงของผู้ป่วยแต่ละรายและมีโอกาสตรวจพบโรคมะเร็งปากมดลูกตั้งแต่ระยะเริ่มแรกด้วยวิธี colposcopy สูงขึ้น หากการตรวจคัดกรองมีการดำเนินการด้วยวิธี HPV genotype จะสามารถติดตามการเกิดโรคตั้งแต่ระยะเริ่มแรกที่มีการติดเชื้อ HPV แบบฝังแน่น (persistence) และประเมินความผิดปกติทางเซลล์วิทยา ด้วยวิธี LBC เพื่อติดตามการ

เกิดโรคได้อย่างต่อเนื่องและลดการตรวจยืนยันด้วยวิธี colposcopy โดยไม่จำเป็น การติดตามผู้ป่วยที่ตรวจพบความผิดปกติและเข้ารับการตรวจยืนยันอย่างครอบคลุมเพิ่มมากขึ้น ส่งผลให้เพิ่มโอกาสในการตรวจพบโรคมะเร็งปากมดลูกรายใหม่ได้เพิ่มขึ้น และการประเมิน HPV genotype กับความรุนแรงของการเกิดโรคมะเร็งปากมดลูกจะมีความชัดเจนเพิ่มขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการตรวจคัดกรองโรคมะเร็งปากมดลูก ด้วยวิธี HPV DNA test ของศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 3 นครสวรรค์ งานวิจัยนี้สำเร็จลงได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับความกรุณาอย่างสูงจากท่านผู้อำนวยการศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 3 นครสวรรค์ ที่ให้คำแนะนำปรึกษาตลอดจนปรับปรุงแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ระหว่างการดำเนินการด้วยความเอาใจใส่อย่างดี ผู้วิจัยตระหนักถึงความตั้งใจจริงและความทุ่มเทของท่านและกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง ขอขอบคุณข้อมูลจากโรงพยาบาลพิจิตร อุทัยธานี ชัยนาท และกำแพงเพชร เป็นอย่างสูง รวมทั้งขอขอบคุณคณะเจ้าหน้าที่ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 3 นครสวรรค์ เป็นอย่างสูงที่ให้ความร่วมมือช่วยเหลือตลอดการดำเนินงาน จนทำให้งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. Cervical cancer screening. in: Amarapong SK, Siriangkul S. Pathology of the cervix. Chiang Mai: Faculty of Medicine Chiang Mai University; 2018. p. 308-32. (in Thai)
2. Guidelines for screening for cervical cancer. in: Laohutanon P, Chaiwirawattana A, Imsamran W, editor. screening guidelines diagnose and treat cervical cancer. Bangkok: National Cancer Institute, Department of Medicine, Ministry of Public Health; 2018. p. 6-20. (in Thai)
3. Gargano J, Meites E, Watson M, Unger E, Markowitz L. Chapter 5: human papillomavirus (HPV). In: Roush SW, Baldy LM, Hall MAK, editors. Manual for the surveillance of vaccine-preventable diseases. Atlanta: Centers for Disease Control and Prevention (CDC); 2017. p. 1-7.
4. Seegene Inc..Anyplex^{TM}II HPV HR Detection (Cat. No. HP7E00X). Seoul, Republic of Korea. 2019.
5. Fongmool D, Nakong M, Lalitwongsa S, Gayurawong W. Prevalence and distribution of high-risk human papilloma virus infection in Lampang Cancer Hospital. Chiang Mai Medical Technology Journal 2015; 48: 231-40. (in Thai)
6. Tangsiriwattana T, Pholampaisathit S, Chainuan A, *et al*. Prevalence of human papillomavirus (HPV) infection and various types in Thai women with normal pap smear. Journal of the Department of Science 2019; 61: 73-85. (in Thai)

7. Campos-Romero A, Anderson KS, Longatto-Filho A, *et al.* The bunden of 14 hr-HPV genotypes in women attending routine cervical cancer screening in 20 states of Mexico: a cross-sectional study. Scientific Report 2019; 9: 10094.
8. Guan P, Howell-Jones R, Li N, *et al.* Human papillomavirus types in 115,789 HPV-positive women: a meta-analysis from cervical infection to cancer. Int J Cancer 2012; 131: 2349-59.
9. Tjalma WAA, Depuydt CE. Don't forget HPV-45 in cervical cancer screening. Am J Clin Pathol 2012; 137: 161-6.
10. Aromseree S, Chaiwongkot A, Ekalaksananan T, Kongyingyoes B, Patarapadungkit N, Pientong C. The three most common human papillomavirus oncogenic types and their integration state in Thai women with cervical precancerous lesions and carcinomas. J Med Virol 2014; 86: 1911-9.