

The Role of Cytology in the Diagnosis of Lung Adenocarcinoma in Pleural Effusion

Sineenat Thachkaekhonpin*, Chanerin Chantan, Tanakarn Doksang

Division of Surgical Pathology and Cytology, Department of Pathology, Faculty of Siriraj Medicine, Mahidol University, Bangkok 10700, Thailand.

Siriraj Medical Bulletin 2026;19(3):245-255.

ABSTRACT

Lung cancer is a major global health issue and a leading cause of cancer-related mortality. Accurate and timely diagnosis of lung adenocarcinoma, which is often detected at an advanced stage, is crucial for effective treatment planning. Pleural fluid cytology is a highly effective, minimally invasive standard diagnostic tool that provides rapid results. This academic article aims to systematically review the cytological process, from sample collection, slide preparation, and staining to interpretation based on The International System for Reporting Serous Fluid Cytopathology (TIS), with a focus on the cytomorphological features of adenocarcinoma. Furthermore, the article delves into key diagnostic challenges, including distinguishing primary lung cancer from metastatic disease, differentiating malignant cells from reactive mesothelial cells, and addressing issues of specimen quality. It also presents solutions, emphasizing the use of ancillary techniques, particularly immunohistochemistry (IHC), as a critical tool for enhancing diagnostic accuracy. The integration of morphological evaluation with these ancillary studies is essential for achieving the highest diagnostic precision, ensuring patients receive appropriate and timely treatment.

Keywords: Cytology; lung adenocarcinoma; pleural effusion; differential diagnosis; The International System for Reporting Serous Fluid Cytopathology (TIS)

*Correspondence to: Sineenat Thachkaekhonpin

Email: liiwzst@gmail.com

Received: 1 September 2025

Revised: 29 January 2026

Accepted: 30 March 2026

<https://dx.doi.org/10.33192/smb.v19i3.277408>

บทบาทของเซลล์วิทยาในการวินิจฉัยมะเร็งปอดชนิดอะดีโนคาร์ซิโนมาในน้ำในช่องเยื่อหุ้มปอด

สินีนาง รัชแก้วกรพันธุ์*, ขนรินทร์ จันทร์ทัน, ธนากร ดอกแสง

หน่วยศัลยพยาธิวิทยาและเซลล์วิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพมหานคร 10700 ประเทศไทย.

บทคัดย่อ

โรคมะเร็งปอดเป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญทั่วโลกและเป็นสาเหตุการเสียชีวิตอันดับต้น ๆ การวินิจฉัยที่แม่นยำและรวดเร็ว โดยเฉพาะมะเร็งปอดชนิดอะดีโนคาร์ซิโนมาซึ่งมักตรวจพบในระยะลุกลาม มีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการวางแผนการรักษา การตรวจทางเซลล์วิทยาของน้ำในช่องเยื่อหุ้มปอด (pleural fluid cytology) ถือเป็นเครื่องมือวินิจฉัยมาตรฐานที่มีประสิทธิภาพสูง เนื่องจากเป็นเทคนิคที่รุกรานร่างกายน้อยและให้ผลลัพธ์ที่รวดเร็ว บทความวิชาการนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทบทวนกระบวนการตรวจทางเซลล์วิทยาอย่างเป็นระบบ ตั้งแต่การเก็บสิ่งส่งตรวจ การเตรียมสไลด์ การย้อมสี ไปจนถึงการแปลผลตามระบบสากล The International System for Reporting Serous Fluid Cytopathology (TIS) โดยเน้นลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์มะเร็งอะดีโนคาร์ซิโนมา นอกจากนี้ บทความยังเจาะลึกถึงความท้าทายหลักในการวินิจฉัย ได้แก่ การจำแนกแหล่งกำเนิดของเซลล์มะเร็งระหว่างมะเร็งปอดปฐมภูมิกับมะเร็งที่แพร่กระจายมาจากอวัยวะอื่น การแยกความแตกต่างระหว่างเซลล์มะเร็งกับเซลล์บุเยื่อหุ้มปอดที่เกิดปฏิกิริยาตอบสนอง (reactive mesothelial cells) และปัญหาด้านคุณภาพของสิ่งส่งตรวจ พร้อมทั้งนำเสนอแนวทางการแก้ไขโดยใช้เทคนิคเสริม โดยเฉพาะการย้อมสีอิมมูโนฮิสโตเคมี (Immunohistochemistry; IHC) ซึ่งเป็นเครื่องมือสำคัญในการเพิ่มความแม่นยำในการวินิจฉัย การบูรณาการระหว่างลักษณะทางสัณฐานวิทยาและเทคนิคเสริมเหล่านี้จะช่วยให้การวินิจฉัยมีความถูกต้องสูงสุด ส่งผลให้ผู้ป่วยได้รับการรักษาที่เหมาะสมและทันเวลาที่

คำสำคัญ: เซลล์วิทยา; มะเร็งปอดชนิดอะดีโนคาร์ซิโนมา; น้ำในช่องเยื่อหุ้มปอด; การวินิจฉัยโรค; การรายงานระบบ TIS

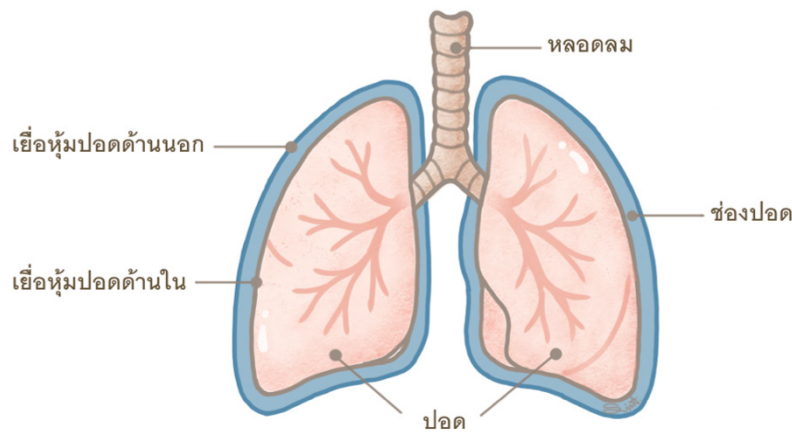
บทนำ

โรคมะเร็งยังคงเป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญระดับโลก มีอุบัติการณ์และอัตราการเสียชีวิตสูง จากสถิติโรคมะเร็งทั่วโลกประจำปี พ.ศ. 2565 โดยจำแนกตามภูมิภาคของโลก ซึ่งอ้างอิงจากข้อมูลของสำนักงานวิจัยมะเร็งระหว่างประเทศ (International Agency for Research on Cancer; IARC) พบว่ามะเร็งปอดเป็นมะเร็งที่ถูกตรวจพบบ่อยที่สุดคิดเป็นร้อยละ 12.4 ของมะเร็งที่พบทั้งหมดทั่วโลกและยังเป็นสาเหตุการเสียชีวิตอันดับหนึ่งจากโรคมะเร็งอีกด้วย¹ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง มะเร็งปอดชนิดอะดีโนคาร์ซิโนมา (lung adenocarcinoma) ซึ่งเป็นชนิดที่พบบ่อยที่สุด² และมักถูกวินิจฉัยในระยะลุกลาม เนื่องจากในระยะแรกผู้ป่วยส่วนใหญ่ไม่แสดงอาการที่ชัดเจน การที่มีมะเร็งปอดเป็นมาตกรเฉียบพลันทำให้การวินิจฉัยที่รวดเร็วแม่นยำเป็นปัจจัยสำคัญที่ช่วยเพิ่มทางเลือกในการรักษาและโอกาสการรอดชีวิตอย่างมีนัยสำคัญ³ การวินิจฉัยโรคมะเร็งอย่างแม่นยำต้องอาศัยการตรวจที่สามารถยืนยันการมีอยู่ของเซลล์มะเร็ง (malignant) ได้ แม้การซักประวัติและตรวจทางรังสีจะมีบทบาทในการตั้งข้อสงสัย แต่การตรวจทางพยาธิวิทยา (pathology) และ

การตรวจทางเซลล์วิทยา (cytology) ถือเป็นมาตรฐานสูงสุด (gold standard) ในการยืนยันการวินิจฉัย⁴

การตรวจทางเซลล์วิทยา เริ่มขึ้นช่วงศตวรรษที่ 20 โดย Dr. George N. Papanicolaou พัฒนาการทดสอบ Papanicolaou (PAP) test เพื่อตรวจหามะเร็งปากมดลูกและโรคอื่น ๆ ของปากมดลูก⁵ การตรวจทางเซลล์วิทยาเป็นการศึกษาลักษณะของเซลล์ขนาดเล็กภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เป็นวิธีการวินิจฉัยที่ได้รับความนิยมอย่างสูง เนื่องจากเป็นเทคนิคที่รุกรานร่างกายน้อย (minimally invasive) มีค่าใช้จ่ายต่ำ และมีความเสี่ยงต่อภาวะแทรกซ้อนน้อยกว่าเมื่อเทียบกับการตัดชิ้นเนื้อเพื่อตรวจทางพยาธิวิทยา⁶

ช่องปอด (pleural cavity) คือช่องว่างที่อยู่ระหว่างเยื่อหุ้มปอดสองชั้นที่หุ้มปอดไว้ ได้แก่ เยื่อหุ้มปอดชั้นนอก (parietal pleura) จะบุผนังช่องอกด้านใน และเยื่อหุ้มปอดชั้นใน (visceral pleura) จะคลุมอยู่ด้านนอกของปอด (ภาพที่ 1) โดยในภาวะปกติช่องว่างนี้จะมีของเหลว (pleural fluid) ปริมาณเล็กน้อย (ประมาณ 10-20 มิลลิลิตร) ที่สร้างจากเซลล์บุเยื่อหุ้มปอด (mesothelial cells) เพื่อทำหน้าที่หล่อลื่น มีสีใส หรือสีเหลืองอ่อน ไม่มีตะกอน พบเซลล์บุเยื่อ



ภาพที่ 1 แผนภาพแสดงโครงสร้างทางกายวิภาคของปอด แสดงองค์ประกอบของระบบหายใจส่วนล่าง ประกอบด้วย หลอดลม (trachea) ที่แตกแขนงเข้าสู่ปอด (lungs) ทั้งสองข้าง ปอดแต่ละข้างถูกห่อหุ้มด้วยเยื่อหุ้มปอด (pleura) ซึ่งเป็นเยื่อบาง ๆ 2 ชั้น ได้แก่ เยื่อหุ้มปอดชั้นใน (visceral pleura) ซึ่งแนบติดกับผิวของปอด เยื่อหุ้มปอดชั้นนอก (parietal pleura) ซึ่งบุอยู่ด้านในของช่องอก ระหว่างเยื่อหุ้มปอดทั้งสองชั้นนี้คือ ช่องปอด (pleural cavity) เป็นช่องว่างที่มีของเหลวอยู่เล็กน้อย เพื่อช่วยลดแรงเสียดทานในระหว่างการหายใจ

ที่มา: วาดโดย สนิทนาฏ รัชแก้วกรพันธุ์ หน่วยศัลยพยาธิวิทยาและเซลล์วิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล

หุ้มปอด เซลล์เม็ดเลือดขาว lymphocytes และ neutrophils ได้^{7,8} เมื่อมีการสะสมของน้ำในช่องปอดที่ผิดปกติ โดยเฉพาะในผู้ป่วยที่แพทย์สงสัยว่าจะเป็นมะเร็งปอด แพทย์จะทำการเจาะดูดของเหลวเพื่อส่งตรวจทางเซลล์วิทยา ซึ่งสามารถให้ข้อมูลสำคัญในการวินิจฉัยและวางแผนการรักษาต่อไป จากจำนวนสถิติการส่งตรวจน้ำในช่องเยื่อหุ้มปอดของผู้ป่วยมาตรวจที่หน่วยศัลยพยาธิวิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา โรงพยาบาลศิริราช ซึ่งมีจำนวนเฉลี่ยสูงถึง 963 ครั้งต่อปี (สถิติระหว่างเดือนมกราคม พ.ศ. 2565 - ธันวาคม พ.ศ. 2567) ตัวเลขดังกล่าวไม่เพียงแต่สะท้อนถึงอุบัติการณ์ของโรคที่พบบ่อยในประเทศไทยเท่านั้น แต่ยังบ่งบอกถึงบทบาทสำคัญอย่างยิ่งของการตรวจทางเซลล์วิทยา

การทำความเข้าใจลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์ (cytomorphology) เป็นหัวใจสำคัญที่ทำให้การตรวจน้ำในช่องเยื่อหุ้มปอดมีความแม่นยำสูง เนื่องจากเซลล์มะเร็งชนิดอะดีโนคาร์ซิโนมา (adenocarcinoma) มีลักษณะเฉพาะที่แตกต่างจากเซลล์ปกติหรือเซลล์บุเยื่อหุ้มปอดที่เกิดปฏิกิริยาตอบสนอง (reactive mesothelial cells) ไม่ว่าจะเป็นรูปแบบการจัดเรียงตัวของเซลล์ (cellular arrangement) หรือความผิดปกติของนิวเคลียสและไซโทพลาสซึม (nuclear and cytoplasmic features) ในเชิงคลินิก การตรวจพบเซลล์มะเร็งในน้ำในช่องเยื่อหุ้มปอดไม่เพียงแต่เป็นการยืนยันการวินิจฉัยโรคแต่ถือเป็นตัวบ่งชี้การแพร่กระจายของโรคสู่ระยะลุกลาม (metastatic disease/stage IV)⁹ ซึ่งส่งผลโดยตรงต่อการปรับเปลี่ยนแผนการรักษาจากการมุ่งเน้นการผ่าตัด (curative resection) สู่วิธีการรักษาทางอายุรกรรม ได้แก่ เคมีบำบัด (chemotherapy) และการรักษาแบบมุ่งเป้า (targeted therapy)

การตรวจทางเซลล์วิทยาของน้ำในช่องเยื่อหุ้มปอดจึงเป็นกระบวนการที่มีความสำคัญสูงสุดในการประเมินระยะโรคและพยากรณ์โรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ แต่ด้วยข้อจำกัดที่สำคัญบางประการ ทำให้บางครั้งการวินิจฉัยอาจคลาดเคลื่อน ดังนั้น บทบาทความจำเป็นของการทบทวนกระบวนการตรวจทางเซลล์วิทยาอย่างเป็นระบบ ตั้งแต่การเก็บส่งตรวจ การเตรียมสไลด์ การย้อมสี ไปจนถึงการรายงานผลตามระบบสากล TIS โดยเน้นลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์มะเร็งอะดีโนคาร์ซิโนมาในน้ำในช่องเยื่อหุ้มปอด พร้อมทั้งนำเสนอแนวทางและเกณฑ์มาตรฐานในการวินิจฉัยเพื่อแยกแยะเซลล์มะเร็งปอดออกจากเซลล์มะเร็งแพร่กระจายจากแหล่งกำเนิดต่าง ๆ และแยกความแตกต่างระหว่างเซลล์มะเร็งกับเซลล์บุเยื่อหุ้มปอดที่เกิดปฏิกิริยาตอบสนอง รวมถึงปัญหาด้านคุณภาพของสิ่งส่งตรวจ พร้อมทั้งนำเสนอแนวทางการแก้ไขโดยใช้เทคนิคเสริม โดยเฉพาะการย้อมสีอิมมูโนฮิสโตเคมี ซึ่งเป็นเครื่องมือสำคัญในการเพิ่มความแม่นยำในการวินิจฉัยเพื่อให้บุคลากรทางพยาธิวิทยาและผู้ที่เกี่ยวข้องสามารถนำองค์ความรู้ไปประยุกต์ใช้ในการเพิ่มประสิทธิภาพการวินิจฉัยและการดูแลรักษาผู้ป่วยในระดับคลินิกต่อไป

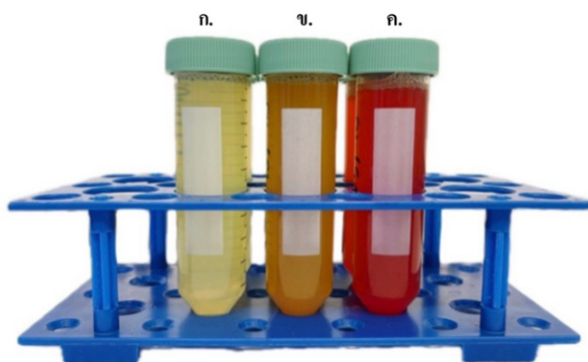
ขั้นตอนการตรวจทางเซลล์วิทยา

การวินิจฉัยทางเซลล์วิทยาที่มีความแม่นยำสูงอาศัยความสมบูรณ์ของกระบวนการเชิงระบบที่เชื่อมโยงกัน ตั้งแต่ ขั้นตอนก่อนการวิเคราะห์ (pre-analytical phase) คือการเก็บและรักษาสภาพสิ่งส่งตรวจอย่างเหมาะสม ขั้นตอนการวิเคราะห์ (analytical phase) ที่ครอบคลุมการเตรียมสไลด์ การย้อมสี และการประเมินทางสัณฐานวิทยา ไปจนถึง ขั้นตอนหลังการวิเคราะห์ (post-an-

alytical phase) คือการแปลผลและรายงานผล ความสมบูรณ์ และคุณภาพในทุกขั้นตอนมีผลต่อคุณภาพของผลการวินิจฉัย การควบคุมมาตรฐานในทุกกระบวนการจึงมีความสำคัญอย่างยิ่ง

1. การเก็บสิ่งส่งตรวจ

แพทย์ทำการเจาะน้ำในช่องเยื่อหุ้มปอดด้วยวิธี Thoracentesis โดยแพทย์จะใช้เข็มขนาดเล็ก แทะผ่านผิวหนังและกล้ามเนื้อ ระหว่างซี่โครงเข้าไปในช่องเยื่อหุ้มปอดเพื่อดูดน้ำในช่องเยื่อหุ้มปอดเมื่อปลายเข็มเข้าไปถึงบริเวณที่มีของเหลวแล้ว แพทย์จะต่อสายเข้ากับขวดสุญญากาศหรือกระบอกฉีดยา (syringe) เพื่อดูดออกมาอย่างช้า ๆ (ภาพที่ 2) โดยแนะนำให้เก็บปริมาตร 50-100 มิลลิลิตร ในภาชนะที่สะอาด การส่งตัวอย่างควรทำอย่างรวดเร็วภายใน 1-2 ชั่วโมงหลังการเจาะ หรือเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ได้ไม่เกิน 24 ชั่วโมง เพื่อคงสภาพของเซลล์



2. การเตรียมสิ่งส่งตรวจ

นำสิ่งส่งตรวจมาปั่นแยก (centrifugation) จำนวน 2 หลอดทดลอง ที่ความเร็ว 2,000 รอบต่อนาที (round per minute-RPM) เป็นเวลา 10 นาที เพื่อตกตะกอนเซลล์ จากนั้นจะนำไปเตรียมสไลด์หลายรูปแบบเพื่อวัตถุประสงค์ที่ต่างกัน ได้แก่ ทำสเมียร์ปล่อยแห้ง (air-dried smear) สำหรับการย้อมสี diff - quick stain (DQ stain) 1 แผ่น นำตะกอนส่วนที่เหลือเติมน้ำเกลือ (normal saline solution-NSS) ปริมาณเล็กน้อยเพื่อทำไซโตสปิน (cyto spin) โดยปั่นที่ความเร็ว 750 RPM เป็นเวลา 3 นาที แล้วตรึงด้วยแอลกอฮอล์ 95% จำนวน 2 แผ่น สำหรับการย้อมสี PAP stain ซึ่งให้รายละเอียดนิวเคลียสดี ส่วนตะกอนอีกหลอดตรึงด้วยสารละลายฟอร์มาลิน 10% เพื่อทำเซลล์บล็อก (cell block) เป็นการนำตะกอนเซลล์ไปผ่านกระบวนการเหมือนชิ้นเนื้อ ทำให้สามารถนำไปย้อมสีพิเศษเพิ่มเติมได้¹⁰ (ภาพที่ 4)

ภาพที่ 2 แผนภาพแสดงหัตถการการเจาะน้ำในช่องเยื่อหุ้มปอด (thoracentesis) แสดงการเจาะระบายของเหลวที่สะสมอย่างผิดปกติในช่องเยื่อหุ้มปอดที่เรียกว่า ภาวะน้ำในช่องเยื่อหุ้มปอด (pleural effusion) ผู้ป่วยจะถูกจัดให้อยู่ในท่านั่งโน้มตัวไปข้างหน้า เพื่อช่วยขยายช่องระหว่างกระดูกซี่โครง ทำให้สามารถสอดเข็มเข้าไปได้ง่ายและปลอดภัยยิ่งขึ้น โดยแพทย์สอดเข็มพร้อมกระบอกฉีดยาผ่านผนังทรวงอกเข้าไปยังช่องเยื่อหุ้มปอด เพื่อดูดระบายของเหลวที่คั่งอยู่ออกมา

ที่มา: วาดโดย สนิตนาฏ จัษฎ์แก้วกรพินธุ์ หน่วยศัลยพยาธิวิทยาและเซลล์วิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล

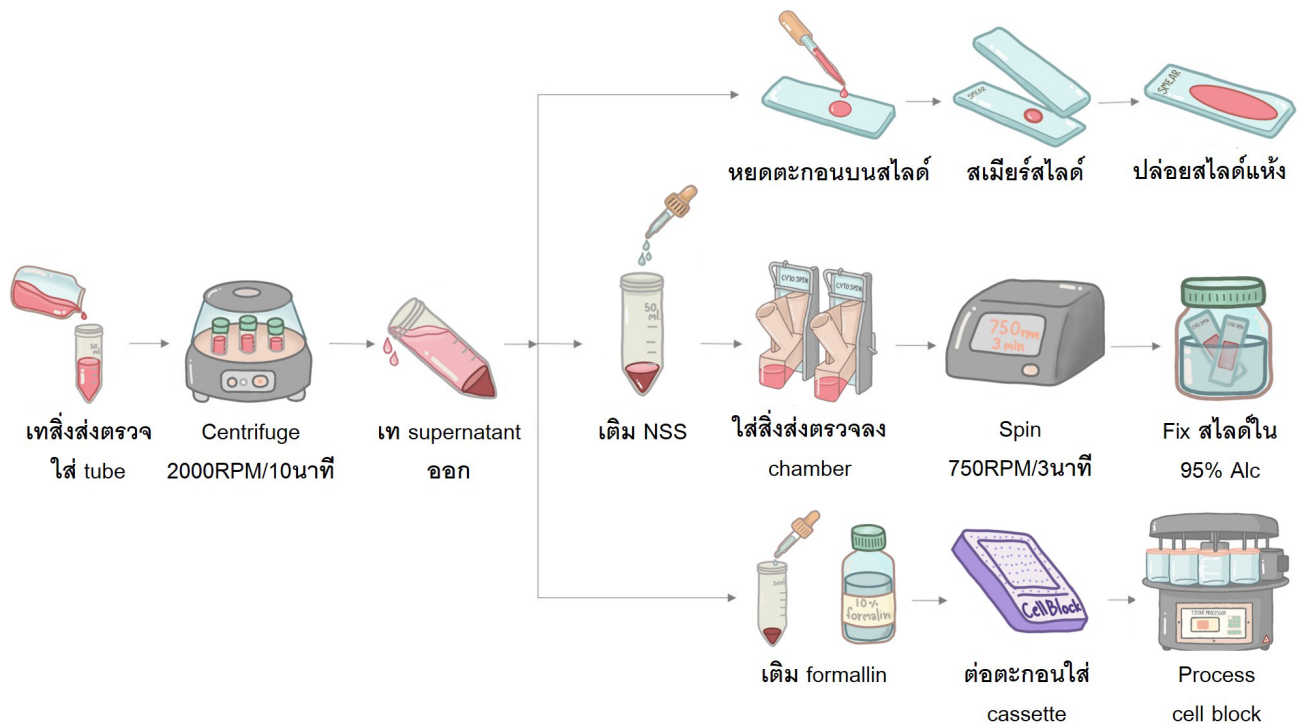
ภาพที่ 3 ลักษณะทางกายภาพของน้ำในช่องเยื่อหุ้มปอดที่ส่งตรวจทางเซลล์วิทยา แสดงตัวอย่างมีลักษณะปรากฏแตกต่างกัน ซึ่งสามารถให้ข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับพยาธิสภาพได้ โดยเรียงจากซ้ายไปขวา

ก. น้ำสีเหลืองฟางข้าว (serous/straw-colored) เป็นลักษณะที่พบได้บ่อยที่สุด มักเป็นของเหลวชนิด Transudate

ข. น้ำสีเหลืองขุ่นและขุ่น (turbid/amber) อาจบ่งชี้ถึงการมีเซลล์ โปรตีน หรือไขมันในปริมาณสูง ซึ่งมักเป็นของเหลวชนิด exudate ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบหรือการติดเชื้อ

ค. น้ำมีเลือดปน (hemorrhagic) บ่งชี้ว่ามีเลือดออกในช่องเยื่อหุ้มปอด ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากการบาดเจ็บหรือโรคมะเร็ง

ที่มา: ถ่ายโดย สนิตนาฏ จัษฎ์แก้วกรพินธุ์ หน่วยศัลยพยาธิวิทยาและเซลล์วิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล



ภาพที่ 4 แผนผังแสดงขั้นตอนการเตรียมน้ำในช่องเยื่อหุ้มปอดสำหรับการวินิจฉัยทางเซลล์วิทยา แสดงกระบวนการเตรียมน้ำในช่องเยื่อหุ้มปอดในห้องปฏิบัติการเซลล์วิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล เริ่มจากการนำสิ่งส่งตรวจมาปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 2,000 RPM เป็นเวลา 10 นาที เพื่อแยกตะกอนเซลล์ (sediment) ออกจากส่วนของเหลว (supernatant) จากนั้นตะกอนเซลล์ที่ได้จะถูกนำไปเตรียมสไลด์ด้วยเทคนิคที่แตกต่างกัน 3 รูปแบบ ได้แก่

- การเตรียมสไลด์โดยตรง (direct smear) เป็นวิธีที่ง่ายที่สุด โดยการนำตะกอนเซลล์มาหยดลงบนแผ่นสไลด์แล้วเกลี่ยให้กระจายตัว (smear) จากนั้นจึงปล่อยให้แห้งเพื่อรอการย้อม DQ stain ต่อไป

- การเตรียมสไลด์ด้วยเครื่องปั่นไซโตสปิน (cyto spin preparation) ตะกอนเซลล์จะถูกผสมด้วยน้ำเกลือก่อนนำไปใส่ใน chamber แล้วปั่นด้วยความเร็ว 750 RPM เป็นเวลา 3 นาที เพื่อให้เซลล์เกาะบนแผ่นสไลด์ในบริเวณที่กำหนด จากนั้นนำสไลด์ไปแช่ในแอลกอฮอล์ 95% เพื่อคงสภาพเซลล์ (fixation) ทันที

- การเตรียมเซลล์บล็อก (cell block preparation) ตะกอนเซลล์จะถูกคงสภาพด้วยฟอร์มาลิน 10% จากนั้นนำก้อนตะกอนเซลล์มาห่อและบรรจุในดิสก์ (cassette) ก่อนจะนำไปผ่านกระบวนการทางเนื้อเยื่อวิทยา (histological processing) เพื่อสร้างเป็นบล็อกพาราฟิน ซึ่งสามารถนำไปตัดเป็นแผ่นบางๆ เพื่อย้อมสีพิเศษหรือย้อมสีอมูโนฮิสโตเคมีได้

ที่มา: วาดโดย สนิทนาฏ ธัชแก้วกรพินธุ์ หน่วยศัลยพยาธิวิทยาและเซลล์วิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล

3. การย้อมสี

3.1 การย้อม PAP stain

- นำสไลด์ที่ผ่านการตรึงอย่างน้อย 15 นาทีแล้วจุ่มในแอลกอฮอล์ 95% แอลกอฮอล์ 80% และน้ำเปล่าตามลำดับ

- จุ่มสไลด์ในสี Harris hematoxylin 1 นาที ล้างน้ำสะอาด (running water) และจุ่มในสารละลายกรด-แอลกอฮอล์ (acid alcohol) 1 ครั้ง ล้างน้ำสะอาด จากนั้นจุ่มในแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (NH₄OH) 1% ในแอลกอฮอล์ 70% แล้วจุ่มสไลด์ในแอลกอฮอล์ 80% และ แอลกอฮอล์ 95% ตามลำดับ

- จุ่มสไลด์ในสี Orange G-6 1-2 นาที แล้วจุ่มในแอลกอฮอล์ 95% จากนั้นจุ่มในสี Eosin Azure 50 (EA-50) 5 นาที

- จุ่มสไลด์ในแอลกอฮอล์ 95% และ แอลกอฮอล์ 100% ตามลำดับ จากนั้นจุ่มใน Xylene

- หยด mounting medium และปิดด้วย cover slip¹⁰

3.2 การย้อม DQ stain

- นำสไลด์ที่แห้งแล้วจุ่มใน methanol 5-10 ครั้ง

- จุ่มในสี eosin 8-10 ครั้ง ล้างน้ำสะอาด แล้วจุ่มในสี Methylene blue 8-10 ครั้ง แล้วล้างน้ำสะอาดอีกครั้ง

- เช็ดด้านหลังสไลด์ ทิ้งไว้ให้แห้ง ปิดด้วย Cover slip¹⁰

4. การแปลผล

การแปลผลทางเซลล์วิทยาของน้ำในช่องเยื่อหุ้มปอด ปัจจุบันเป็นไปตาม The International System for Reporting Serous Fluid Cytopathology (TIS) เป็นระบบการรายงานผลทางเซลล์วิทยาของน้ำในช่องต่างๆ ของร่างกายที่เป็นมาตรฐานสากล ช่วยลดความแปรปรวนในการวินิจฉัยและเพิ่มความแม่นยำในการสื่อสารระหว่างพยาธิแพทย์กับแพทย์ผู้ดูแลคนไข้ ระบบ TIS แบ่งการวินิจฉัยออกเป็น 5 ประเภทได้แก่ Malignant (MAL), Suspicious



5.1 ชุดสีย้อม PAP stain



5.2 ชุดสีย้อม diff quick stain

ภาพที่ 5 ชุดสีย้อม PAP stain และ ชุดสีย้อม DQ stain

5.1 แสดงส่วนประกอบหลักของชุดสีย้อม PAP stain ซึ่งเป็นสีย้อมมาตรฐานสำหรับงานเซลล์วิทยา ประกอบด้วยสีย้อม 3 ชนิด โดยแต่ละส่วนมีหน้าที่ดังนี้:

- ก. Harris hematoxylin เป็นสีย้อมสำหรับนิวเคลียส (nuclear stain) สีย้อมมีประจุบวก ทำปฏิกิริยากับประจุลบในนิวเคลียสทำให้ติดสีน้ำเงินถึงม่วงเข้ม
 - ข. Orange G-6 เป็นสีย้อมสำหรับไซโทพลาสซึม (cytoplasmic stain) สีย้อมกรดโมเลกุลเล็ก ทำปฏิกิริยากับโปรตีนเคราตินในไซโทพลาสซึมทำให้ติดสีส้ม
 - ค. EA-50 เป็นสีย้อมผสม (polychromatic stain) ระหว่าง Eosin Y, light green SF, และ Bismarck brown Y เป็นสีย้อมสำหรับไซโทพลาสซึม โดย Eosin Y จับกับโปรตีนที่เป็นด่างในเซลล์ตัวแก่ทำให้ติดสีชมพูถึงแดง ส่วน light green SF จับกับโปรตีนของเซลล์ตัวอ่อนที่ไม่สะสมเคราตินทำให้ติดสีฟ้าหรือเขียว
- 5.2 แสดงส่วนประกอบหลักของชุดสีย้อม DQ stain ซึ่งเป็นสีย้อมในกลุ่มโรมานอฟสกี (Romanowsky stain) ที่ใช้สำหรับย้อมสไลด์ทางเซลล์วิทยาและโลหิตวิทยาอย่างรวดเร็ว ประกอบด้วยสารละลาย 3 ชนิด ดังนี้

- ง. Methanol เป็นสารละลายสำหรับคงสภาพเซลล์ (fixative solution) ใช้สำหรับแช่สไลด์เป็นขั้นตอนแรกเพื่อรักษาสภาพของเซลล์และป้องกันไม่ให้เซลล์หลุดจากสไลด์หรือบวม
- จ. Eosin เป็นสีย้อมที่มีคุณสมบัติเป็นกรด (acidic dye) มีประจุลบดึงดูดและจับกับประจุบวกในไซโทพลาสซึมและแกรนูลบางชนิดทำให้ติดสีชมพูถึงแดง
- ฉ. Methylene blue และอนุพันธ์ เป็นสีย้อมที่มีคุณสมบัติเป็นเบส (basic dye) มีประจุบวกดึงดูดและจับกับประจุลบในนิวเคลียสและไซโทพลาสซึม ทำให้ติดสีน้ำเงินถึงม่วง

ที่มา: ถ่ายโดย สินีนาฏ ธัชแก้วกรพันธุ์ หน่วยศัลยพยาธิวิทยาและเซลล์วิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล

for Malignancy (SFM), Atypia of Undetermined Significance (AUS), Negative for Malignancy (NFM) และ Non-Diagnostic (ND)¹¹ โดยในบริบทของมะเร็งจะเน้นที่ 3 ประเภทหลัก ดังนี้

1. Malignant (MAL) - Positive for malignancy

พบเซลล์มะเร็งที่มีลักษณะชัดเจนทั้งในด้านสัณฐานวิทยาของเซลล์และการเรียงตัวของเซลล์ ซึ่งสามารถยืนยันได้ว่าเป็นมะเร็ง

- การเรียงตัวของเซลล์มักพบเซลล์จำนวนมาก (high cellularity) เรียงตัวเป็นกลุ่มสามมิติ (three dimensional clusters) คล้ายลูกบอล รูปแบบคล้ายต่อม (acinar/glandular formations) หรือกลุ่มเซลล์คล้ายตั้งเนื้อ (papillary formations) นอกจากนี้ยังพบเซลล์เดี่ยว ๆ (single scattered cells)¹¹ (ภาพที่ 6)

- ลักษณะนิวเคลียสขนาดใหญ่กว่าปกติชัดเจน (nuclear enlargement) ทำให้อัตราส่วนนิวเคลียสต่อไซโทพลาสซึม Nuclear-to-Cytoplasmic (N:C) Ratio สูงขึ้น ขอบนิวเคลียสไม่เรียบ (irregular nuclear contours) มักมีความหลากหลายทั้งขนาดและรูปร่าง (nuclear pleomorphism) โครมาตินจับกันเป็นก้อนหยาบ (coarse chromatin) และติดสีเข้ม (hyperchromasia) มัก

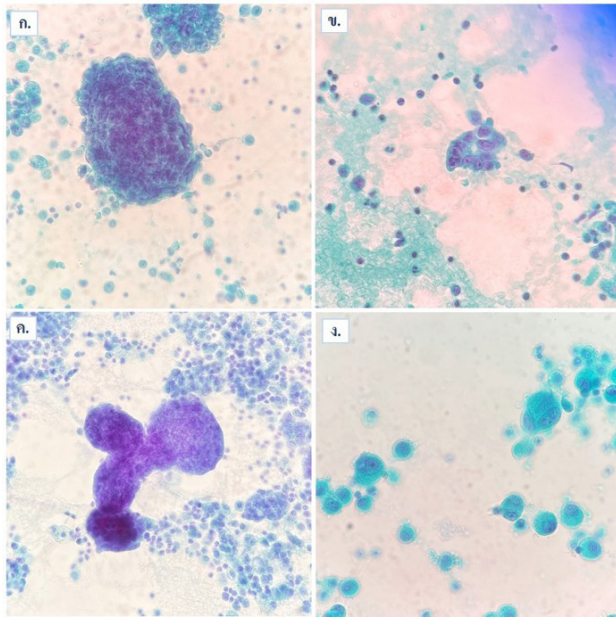
พบนิวคลีโอลัสขนาดใหญ่และเด่นชัด (prominent nucleoli) อาจพบมากกว่า 1 จุดในนิวเคลียส บางครั้งพบการแบ่งเซลล์ (mitotic figures)¹¹ (ภาพที่ 7)

- ลักษณะไซโทพลาสซึมมักมีลักษณะที่ละเอียด (delicate cytoplasm) มักมีแวคิวโอลในไซโทพลาสซึม (intracytoplasmic vacuoles) ซึ่งอาจมีสารเมือกบรรจุอยู่ (mucin-filled vacuoles) หากแวคิวโอลมีขนาดใหญ่มากจนดันนิวเคลียสไปอยู่ชิดขอบเซลล์ จะเรียกว่า Signet-ring cell ซึ่งเป็นลักษณะที่บ่งชี้ถึงอะดีโนคาร์ซิโนมา¹¹ (ภาพที่ 8)

- พื้นหลังอาจพบการตายของเนื้อเยื่อ (necrosis) หรือเลือดปน (hemorrhagic background) การพบ Mucin ถือเป็นลักษณะสำคัญที่บ่งชี้ถึงมะเร็งปอดชนิดอะดีโนคาร์ซิโนมา¹¹ (ภาพที่ 9)

2. Suspicious for Malignancy (SFM) วินิจฉัยเมื่อ

พบเซลล์ผิดปกติซึ่งมีลักษณะคล้ายเซลล์มะเร็งอย่างมาก แต่ยังขาดเกณฑ์การวินิจฉัยที่ครบถ้วน อาจเนื่องมาจากมีจำนวนเซลล์ผิดปกติ น้อยเกินไป (low cellularity) หรือคุณภาพของสิ่งส่งตรวจไม่ดีพอที่



ภาพที่ 6 ลักษณะทางเซลล์วิทยาของเซลล์มะเร็งในน้ำในช่องเยื่อหุ้มปอดที่แสดงรูปแบบการเรียงตัวที่แตกต่างกัน (ย้อมด้วย PAP stain, กำลังขยาย 4 เท่า)

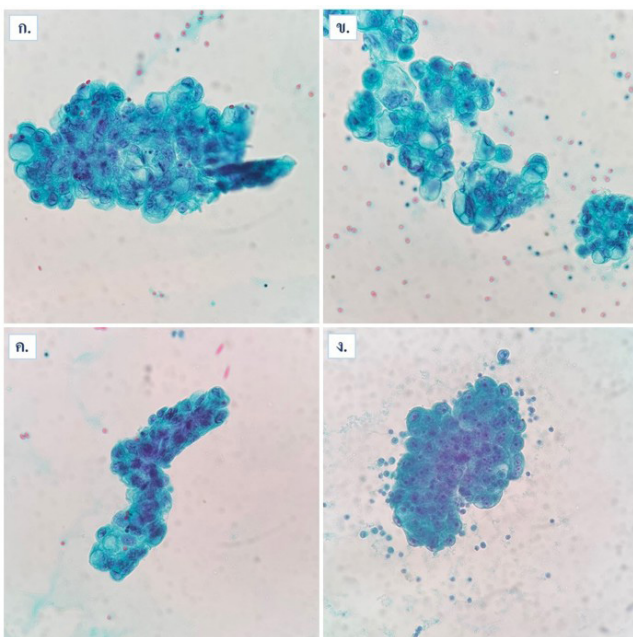
ก. กลุ่มเซลล์สามมิติ (three dimensional clusters) เซลล์เกาะกลุ่มกันเป็นก้อนใหญ่หนาแน่น มีรูปร่างกลมรี ทำให้เห็นขอบเขตและรายละเอียดของเซลล์แต่ละตัวได้ไม่ชัดเจน

ข. การเรียงตัวคล้ายต่อม (acinar formation) กลุ่มเซลล์มีการจัดเรียงตัวเป็นวงคล้ายโครงสร้างของต่อม (gland) โดยล้อมรอบช่องว่างที่อยู่ตรงกลาง (lumen)

ค. กลุ่มเซลล์คล้ายตั้งเนื้อ (papillary formations) เซลล์เรียงตัวกันเป็นโครงสร้างที่ยื่นออกไปคล้ายนิ้วมือหรือกิ่งก้าน

ง. เซลล์เดี่ยว (single scattered cells) เซลล์มะเร็งที่หลุดออกมาเป็นเซลล์เดี่ยว ๆ และกระจายตัวอยู่ทั่วไป ไม่เกาะกลุ่มกับเซลล์อื่น

ที่มา: ถ่ายโดย สินีนาฏ ธัชแก้วกรพินธุ์ หน่วยพยาธิวิทยาและเซลล์วิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล



ภาพที่ 7 ลักษณะทางเซลล์วิทยาของนิวเคลียสในเซลล์มะเร็ง (ย้อมด้วย PAP stain กำลังขยาย 40 เท่า)

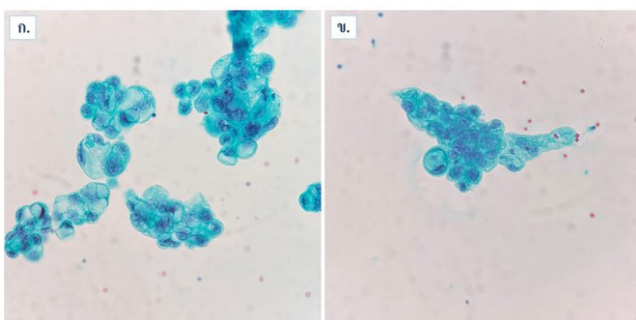
ก. นิวเคลียสมีขนาดใหญ่ และมีสัดส่วนนิวเคลียสต่อไซโทพลาซึม (N:C ratio) สูงขึ้นอย่างเห็นได้ชัด

ข. นิวเคลียสมีรูปร่างแตกต่างกัน (pleomorphic nuclei) ในเซลล์กลุ่มเดียวกัน และมีขอบเขตไม่เรียบ

ค. นิวเคลียสติดสีเข้มผิดปกติ (hyperchromatic nuclei) และลักษณะของโครมาตินภายในจับตัวกันเป็นก้อนหยาบ (coarse chromatin)

ง. นิวเคลียสมีนิวคลีโอลัส (nucleolus) ขนาดใหญ่ ปรากฏเป็นจุดสีแดงเข้มที่เห็นได้อย่างชัดเจน

ที่มา: ถ่ายโดย สินีนาฏ ธัชแก้วกรพินธุ์ หน่วยพยาธิวิทยาและเซลล์วิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล

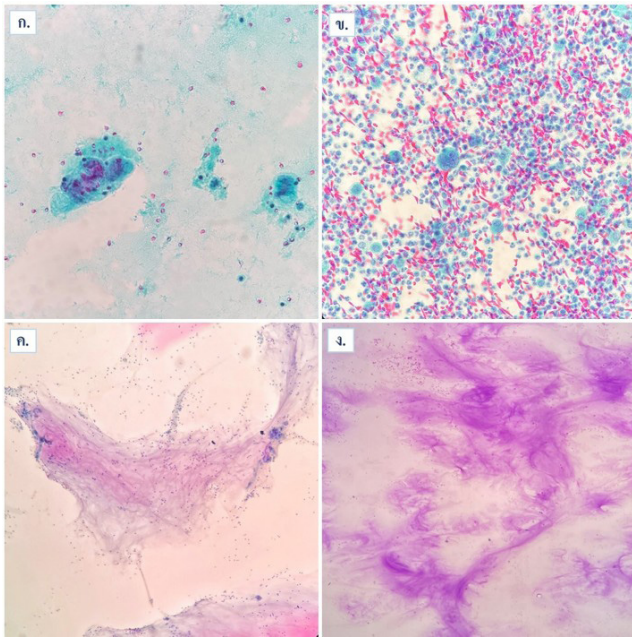


ภาพที่ 8 ลักษณะทางเซลล์วิทยาของไซโทพลาซึมในเซลล์มะเร็ง (ย้อมด้วย PAP stain กำลังขยาย 40 เท่า)

ก. ไซโทพลาซึมมีลักษณะบอบบาง (delicate cytoplasm) และพบฟองอากาศหรือแวคิวโอล (intracytoplasmic vacuolation) อยู่ภายใน

ข. เซลล์มะเร็งที่มีลักษณะเป็นวงแหวน (signet-ring cell) ซึ่งเกิดจากแวคิวโอลขนาดใหญ่ที่เต็มไปด้วยเมือก (mucin) เบียดนิวเคลียสจนแบนไปอยู่บริเวณขอบเซลล์

ที่มา: ถ่ายโดย สินีนาฏ ธัชแก้วกรพินธุ์ หน่วยพยาธิวิทยาและเซลล์วิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล



ภาพที่ 9 ลักษณะพื้นหลัง (background) ที่พบร่วมกับเซลล์มะเร็ง (กำลังขยาย 40 เท่า)

ก. พื้นหลังสกปรก มีเศษซากของเซลล์ที่ตายแล้ว (necrotic background) (ย้อมด้วย PAP stain)

ข. พื้นหลังมีเลือดปนอยู่มาก (hemorrhagic background) พบเซลล์เม็ดเลือดแดงกระจายตัวอยู่ทั่วไปร่วมกับเซลล์มะเร็ง (ย้อมด้วย PAP stain)

ค. พื้นหลังมีเมือก ย้อมติดสีชมพูบาง ๆ คล้ายฟิล์ม (ย้อมด้วย PAP stain)

ง. พื้นหลังมีเมือก ย้อมติดสีม่วงอมชมพูเข้ม (ย้อมด้วย Diff-Quick stain)

ที่มา: ถ่ายโดย สนิทนาถ อึ้งแก้วกรพันธุ์ หน่วยพยาธิวิทยาและเซลล์วิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล

จะให้การวินิจฉัยที่ชัดเจนได้ เช่น cellular degeneration, blood contamination¹¹

3. Atypia of Undetermined Significance (AUS)

วินิจฉัยเมื่อพบเซลล์ผิดปกติ (atypical cells) แต่ลักษณะที่พบไม่เพียงพอที่จะจัดให้อยู่ในประเภท MAL หรือ SFM และไม่สามารถระบุได้อย่างชัดเจนว่าความผิดปกตินั้นเกิดจากปฏิกิริยาปกติของร่างกาย (reactive changes) หรือเป็นมะเร็ง โดยพบเซลล์ผิดปกติเล็กน้อยถึงปานกลาง¹¹

ปัญหาและแนวทางแก้ไขในการวินิจฉัย

แม้ว่าการตรวจทางเซลล์วิทยาจะเป็นเครื่องมือที่มีประสิทธิภาพสูง แต่ในทางปฏิบัติยังคงมีข้อจำกัดสำคัญบางประการเป็นปัญหาในการวินิจฉัย ได้แก่

1. ปัญหา: ความยากในการระบุแหล่งกำเนิดของเซลล์มะเร็ง

เมื่อตรวจพบเซลล์มะเร็งชนิดอะดีโนคาร์ซิโนมา สามารถยืนยันได้ว่าผู้ป่วยเป็นมะเร็ง แต่ไม่สามารถแยกได้ว่าเป็นมะเร็งปอดหรือมะเร็งจากอวัยวะอื่นแพร่กระจายมา เนื่องจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์อาจมีความคล้ายกัน การระบุแหล่งกำเนิดที่แน่นอน มีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการเลือกแนวทางการรักษาที่จำเพาะเจาะจง

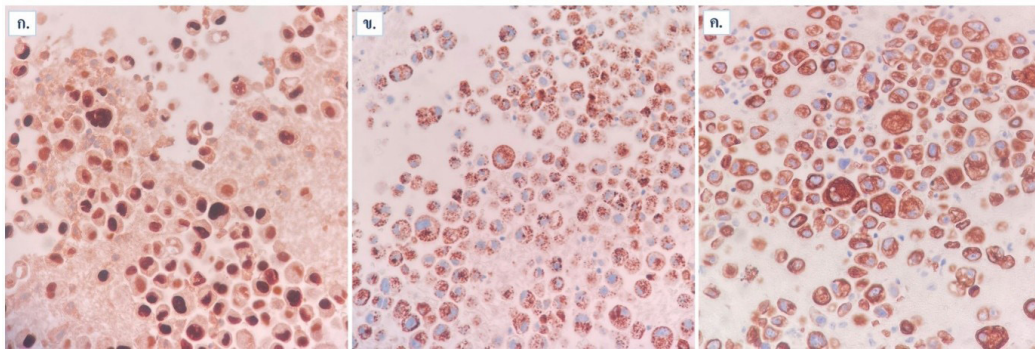
แนวทางแก้ไข: ใช้การย้อมสีอิมมูโนฮิสโตเคมีร่วมกับการตรวจทางเซลล์วิทยา เป็นวิธีการหลักที่มีประสิทธิภาพที่สุดในการระบุแหล่งกำเนิดของเซลล์มะเร็ง โดยใช้แอนติบอดี (antibody) ที่

จำเพาะกับโปรตีนที่แสดงออกในเซลล์จากอวัยวะต้นกำเนิดที่แตกต่างกัน ดังนี้

- มะเร็งปอดชนิดอะดีโนคาร์ซิโนมา ตัวย้อมที่แนะนำ ได้แก่ Thyroid transcription factor-1 (TTF-1) ซึ่งจะย้อมติดในนิวเคลียสและมีความจำเพาะสูงสำหรับมะเร็งปอดและไทรอยด์ อีกตัวย้อมที่สำคัญคือ Napsin A ซึ่งจะย้อมติดในไซโทพลาสซึมและมีความจำเพาะสูงต่อมะเร็งปอดชนิดอะดีโนคาร์ซิโนมา นอกจากนี้ยังสามารถใช้ตัวย้อมกลุ่ม Cytokeratin เพื่อช่วยในการวินิจฉัย โดย Cytokeratin 7 (CK7) มักย้อมติดในไซโทพลาสซึมของเซลล์มะเร็งปอด (ภาพที่ 10) ในขณะที่ Cytokeratin 20 (CK20) มักย้อมไม่ติด ซึ่งเป็นลักษณะทั่วไปของมะเร็งปอด

- มะเร็งเต้านม ใช้ตัวย้อมที่มีความจำเพาะสูง ได้แก่ GATA binding protein 3 (GATA3) ซึ่งจะย้อมติดในนิวเคลียส และ Mammaglobin ซึ่งจะย้อมติดในไซโทพลาสซึม นอกจากนี้ การย้อม Estrogen Receptor (ER) และ Progesterone Receptor (PR) ซึ่งย้อมติดในนิวเคลียสจะช่วยยืนยันการวินิจฉัยในมะเร็งเต้านมชนิด hormone receptor-positive ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (ภาพที่ 11ก-11ง.)

- มะเร็งกระเพาะอาหาร/ลำไส้ใหญ่ ใช้ตัวย้อม Caudal-type homeobox transcription factor-2 (CDX2) ซึ่งย้อมติดในนิวเคลียสและมีความจำเพาะสูงสำหรับมะเร็งในระบบนี้ และมักจะย้อมติดด้วย CK20 ที่ไซโทพลาสซึม (ภาพที่ 12จ.-12ฉ.) แต่โดยทั่วไปแล้วมะเร็งลำไส้ใหญ่ส่วนใหญ่จะย้อมไม่ติด CK7 ดังนั้น ชุดตัวย้อมเหล่านี้จึงช่วยให้สามารถแยกมะเร็งปอดออกจากมะเร็งที่แพร่กระจายมาจากระบบทางเดินอาหารได้อย่างชัดเจน¹²



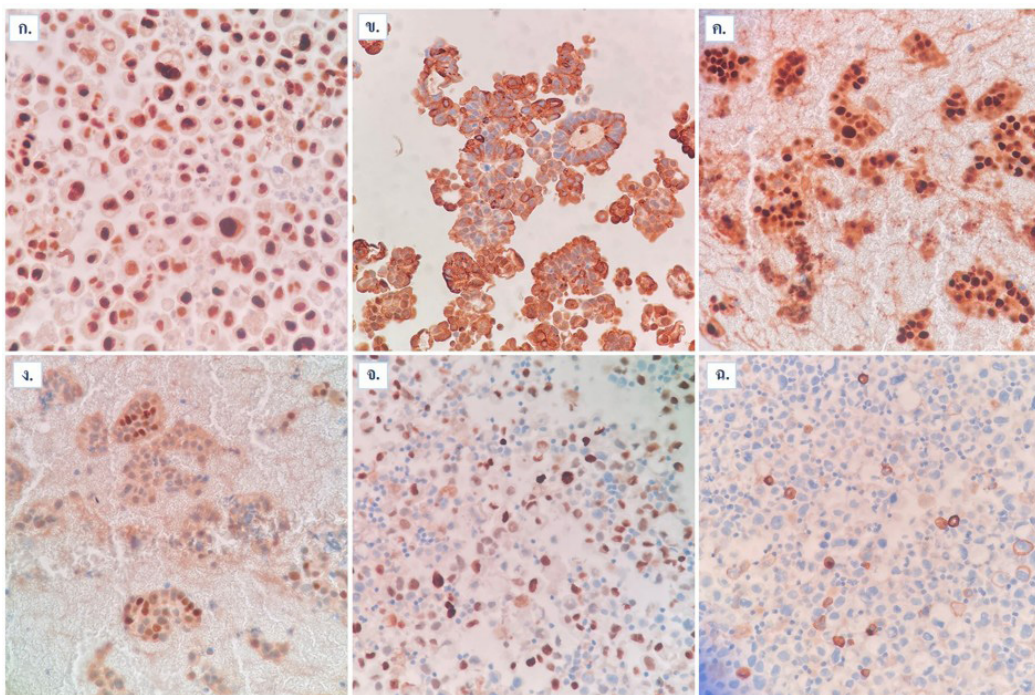
ภาพที่ 10 ผลการย้อมสีอิมมูโนฮิสโตเคมีในเซลล์มะเร็งปอดชนิดอะดีโนคาร์ซิโนมา (กำลังขยาย 40 เท่า)

ก. การย้อมติดสีของ TTF-1 ให้ผลบวกโดยจะติดสีน้ำตาลที่นิวเคลียสของเซลล์มะเร็ง (nuclear positivity)

ข. การย้อมติดสีของ Napsin A ให้ผลบวกโดยจะติดสีน้ำตาลลักษณะเป็นจุดละเอียดในไซโทพลาซึม (granular cytoplasmic positivity)

ค. การย้อมติดสีของ CK7 ให้ผลบวกโดยจะติดสีน้ำตาลที่ไซโทพลาซึมและเยื่อหุ้มเซลล์ (cytoplasmic and membranous positivity)

ที่มา: ถ่ายโดย สินีนาฏ ชัยแก้วกรพินธุ์ หน่วยสัลยพยาธิวิทยาและเซลล์วิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล



ภาพที่ 11 ผลการย้อมสีอิมมูโนฮิสโตเคมีสำหรับช่วยวินิจฉัยมะเร็งแพร่กระจายจากแหล่งกำเนิดต่าง ๆ (กำลังขยาย 40 เท่า)

- มะเร็งเต้านม (breast carcinoma markers)

ก. GATA3 ให้ผลบวก โดยจะติดสีน้ำตาลที่นิวเคลียสของเซลล์มะเร็ง

ข. Mammaglobin ให้ผลบวก โดยจะติดสีน้ำตาลที่ไซโทพลาซึม

ค. ER ให้ผลบวก โดยจะติดสีน้ำตาลที่นิวเคลียส

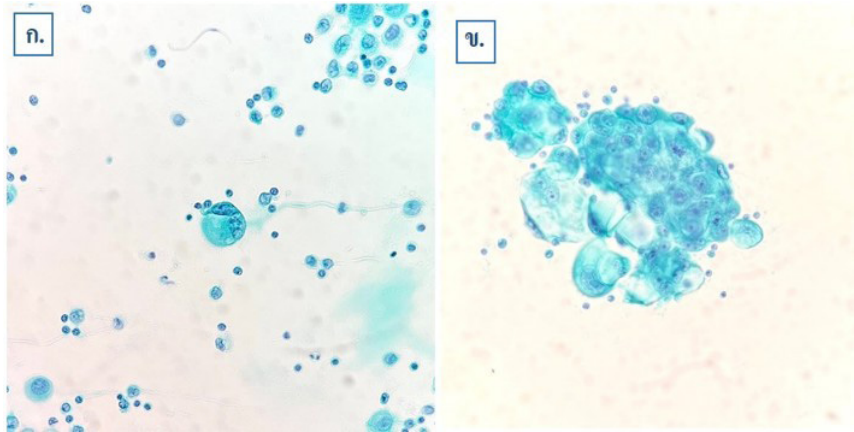
ง. PR ให้ผลบวก โดยจะติดสีน้ำตาลที่นิวเคลียส

- มะเร็งลำไส้ใหญ่ (colorectal carcinoma markers)

จ. CDX2 ให้ผลบวก โดยจะติดสีน้ำตาลที่นิวเคลียส

ฉ. CK20 ให้ผลบวก โดยจะติดสีน้ำตาลที่ไซโทพลาซึม

ที่มา: ถ่ายโดย สินีนาฏ ชัยแก้วกรพินธุ์ หน่วยสัลยพยาธิวิทยาและเซลล์วิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล



ภาพที่ 12 ภาพเปรียบเทียบลักษณะทางเซลล์วิทยาของเซลล์บุเยื่อหุ้มปอดที่เกิดปฏิกิริยาตอบสนองกับเซลล์มะเร็งปอดชนิดอะดีโนคาร์ซิโนมา (ย้อมด้วย PAP stain กำลังขยาย 40 เท่า)

ก. เซลล์บุเยื่อหุ้มปอดที่เกิดปฏิกิริยาตอบสนอง (reactive mesothelial cells) แสดงเซลล์ที่มีนิวเคลียสขนาดใหญ่ขึ้นเล็กน้อย ขอบเขตค่อนข้างกลมเรียบ โครมาตินภายในละเอียดสม่ำเสมอ (fine chromatin) และนิวเคลียสเห็นไม่เด่นชัด อาจพบแวคิวโอล (vacuole) ในไซโทพลาซึมแต่จะไม่เด่นชัดนิวเคลียสให้เบี่ยงไปอย่างชัดเจน

ข. เซลล์มะเร็งปอดชนิดอะดีโนคาร์ซิโนมา แสดงเซลล์มะเร็งที่เกาะกลุ่มกัน นิวเคลียสมีขนาดใหญ่ รูปร่างหลากหลาย ขอบไม่เรียบ โครมาตินจับตัวเป็นก้อนหยาบ (coarse chromatin) และมีนิวเคลียสขนาดใหญ่เห็นได้ชัดเจน (prominent nucleoli) ภาพนี้ยังแสดงลักษณะเด่นคือเซลล์รูปร่างแหวน (signet-ring cell) ซึ่งมีแวคิวโอลขนาดใหญ่เบียดนิวเคลียสไปอยู่ด้านข้าง

ที่มา: ถ่ายโดย สินีนาฏ ธัชแก้วกรพันธุ์ หน่วยศัลยพยาธิวิทยาและเซลล์วิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล

2. ปัญหา: ความคล้ายคลึงของเซลล์มะเร็งกับเซลล์ปกติที่ตอบสนองผิดปกติ

โดยทั่วไปเซลล์มะเร็งจะมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ผิดปกติชัดเจน แต่เซลล์บุเยื่อหุ้มปอดที่มีการอักเสบหรือการระคายเคืองเรื้อรัง อาจมีลักษณะเปลี่ยนแปลงไป (reactive changes) จนดูคล้ายเซลล์มะเร็งได้ เช่น มีขนาดใหญ่ขึ้น นิวเคลียสโต และมีนิวเคลียสชัดเจน และอาจพบช่องว่างในไซโทพลาซึม ทำให้เกิดความสับสนต่อการวินิจฉัยผิดพลาดเป็นผลบวกเทียม (false Positive) หรือผลลบเทียม (false Negative)

แนวทางแก้ไข 1: พิจารณาลักษณะทางสัณฐานวิทยาอย่างละเอียด

เซลล์รวมตัวเป็นกลุ่มหลวมๆ (loose clusters) หรือแผ่นแบน (sheets) ขอบของกลุ่มเซลล์มักเรียบและสม่ำเสมอ และมีช่องว่างระหว่างเซลล์ที่เรียกว่า "windows" ซึ่งเป็นลักษณะเด่นของ Mesothelial origin นิวเคลียสแม้จะโตแต่ยังมีรูปร่างกลมรีสม่ำเสมอ (uniform) มีโครมาตินที่ละเอียด (finely granular chromatin) และนิวเคลียสอาจใหญ่แต่ไม่เท่าเซลล์มะเร็ง vacuoles มักมีขนาดเล็ก ไม่ดันนิวเคลียสให้เบี่ยงไปอย่างชัดเจน และ background ไม่พบ debris หรือ necrosis

แนวทางแก้ไข 2: การใช้เทคนิคอิมมูโนฮิสโตเคมีเป็นเครื่องมือที่ช่วยยืนยันการวินิจฉัย

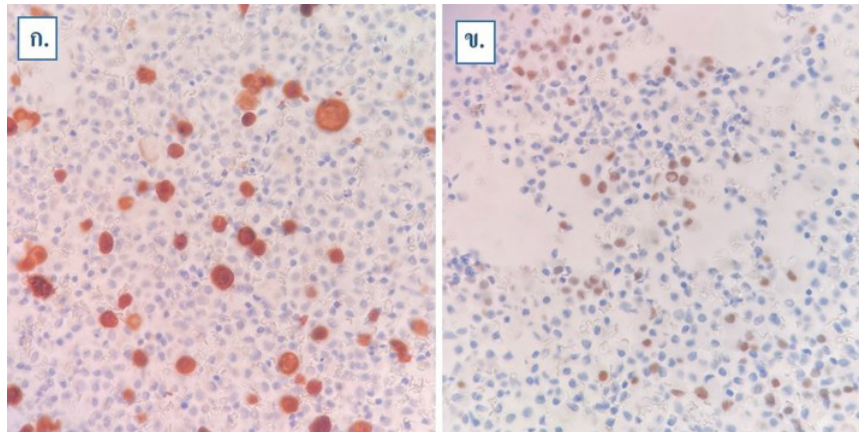
หลักการสำคัญคือการใช้ตัวย้อมที่จำเพาะกับโปรตีนที่แสดงออกในเซลล์แต่ละชนิด ตัวย้อมที่ใช้ในการแยกเซลล์บุเยื่อหุ้มปอดออกจากเซลล์มะเร็งที่แพร่กระจายมา ได้แก่ calretinin

เป็นตัวย้อมที่มีความจำเพาะสูงต่อเซลล์บุเยื่อหุ้มปอด ให้ผลบวก (+++) ในเซลล์บุเยื่อหุ้มปอดที่เกิดปฏิกิริยาตอบสนอง แต่จะให้ผลลบ (-) ในเซลล์มะเร็งชนิดอะดีโนคาร์ซิโนมาที่แพร่กระจายมา นอกจากนี้ Wilms' tumor 1 (WT-1) ยังเป็นตัวย้อมอีกชนิดที่แสดงออกในนิวเคลียสของเซลล์บุเยื่อหุ้มปอด ให้ผลบวก (++) ในเซลล์บุเยื่อหุ้มปอด แต่ให้ผลลบ (-) ในเซลล์มะเร็งอะดีโนคาร์ซิโนมา ยกเว้นในมะเร็งรังไข่บางชนิดที่อาจให้ผลบวก ดังนั้นการให้ผลบวกกับตัวย้อม calretinin และ/หรือ WT-1 ร่วมกับการให้ผลลบกับตัวย้อมสำหรับมะเร็งปอด (เช่น TTF-1 และ napsin A) จะสามารถยืนยันได้อย่างมั่นใจว่าเซลล์ที่ตรวจพบนั้นคือเซลล์บุเยื่อหุ้มปอดที่เกิดปฏิกิริยาตอบสนอง ไม่ใช่เซลล์มะเร็งที่แพร่กระจายมา ทำให้การวินิจฉัยถูกต้องแม่นยำยิ่งขึ้น¹² (ภาพที่ 13)

3. ปัญหา: คุณภาพและปริมาณของสิ่งส่งตรวจ

ปริมาณเซลล์มะเร็งที่น้อยเกินไป (low cellularity) หรือคุณภาพสิ่งส่งตรวจที่ไม่ดี เช่น การเสื่อมสภาพของเซลล์ หรือการปนเปื้อนของเลือดจำนวนมาก อาจทำให้ไม่สามารถให้การวินิจฉัยได้ (non-diagnostic) ซึ่งส่งผลให้ผู้ป่วยต้องได้รับการตรวจซ้ำและทำให้การรักษาล่าช้า

แนวทางแก้ไข: ควรเก็บตัวอย่างในปริมาณที่เพียงพอ และจัดส่งอย่างรวดเร็วภายใต้อุณหภูมิที่เหมาะสม ใช้เทคนิคเพิ่มความเข้มข้นของเซลล์ด้วยการปั่นตกตะกอน ใช้น้ำยาละลายเม็ดเลือดแดงลดเลือดปนเปื้อน และการจัดทำขั้นตอนปฏิบัติงานมาตรฐาน (standard operating procedures - SOPs) ที่รัดกุม จะช่วยลดความผิดพลาดและเพิ่มคุณภาพของการวินิจฉัยได้



ภาพที่ 13 ผลการย้อมสีอิมมูโนฮิสโตเคมีสำหรับเซลล์บุเยื่อหุ้มปอด (mesothelial cell markers) (กำลังขยาย 40 เท่า)

ก. การย้อมติดสีของแคลเรตินิน (calretinin) ให้ผลบวกโดยจะติดสีน้ำตาลเข้มทั้งในนิวเคลียสและไซโทพลาซึม (nuclear and cytoplasmic positivity)

ข. การย้อมติดสีของ WT-1 ให้ผลบวกโดยจะติดสีน้ำตาลเฉพาะส่วนของนิวเคลียส (nuclear positivity)

ที่มา: ถ่ายโดย สินีนาฏ ธัชแก้วกรพินธุ์ หน่วยศัลยพยาธิวิทยาและเซลล์วิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล

สรุป

โรคมะเร็งปอดมีอุบัติการณ์และอัตราการเสียชีวิตที่สูง การวินิจฉัยที่รวดเร็วเป็นกุญแจสำคัญในการเพิ่มโอกาสการรักษา การตรวจทางเซลล์วิทยาของน้ำในช่องปอดเป็นเครื่องมือการวินิจฉัยที่มีบทบาทสำคัญอย่างยิ่ง กระบวนการนี้เป็นเทคนิคที่รุกรานร่างกายน้อย ให้ผลรวดเร็ว และสามารถให้ข้อมูลที่จำเป็นต่อการยืนยันการวินิจฉัยได้อย่างแม่นยำ เป็นประโยชน์ในการวางแผนการรักษาความสำเร็จในการวินิจฉัยที่แม่นยำไม่ได้ขึ้นอยู่กับเพียงขั้นตอนใดขั้นตอนหนึ่ง แต่เป็นผลลัพธ์ของการบูรณาการองค์ความรู้และเทคโนโลยีตลอดทั้งกระบวนการ อย่างไรก็ตาม การวินิจฉัยยังคงมีความท้าทาย โดยเฉพาะการแยกชนิดของเซลล์และการระบุแหล่งกำเนิดของมะเร็งซึ่งจำเป็นต้องอาศัยความชำนาญในการประเมินลักษณะทางสัณฐานวิทยาเข้ากับการใช้เทคนิคเสริมที่ทันสมัย โดยเฉพาะอย่างยิ่งการย้อมสีอิมมูโนฮิสโตเคมีเพื่อให้การตรวจทางเซลล์วิทยาของน้ำในช่องเยื่อหุ้มปอดยังคงเป็นเครื่องมือสำคัญและมีประสิทธิภาพในการวินิจฉัยมะเร็งปอดชนิดอะดีโนคาร์ซิโนมา การนำเทคโนโลยีใหม่ ๆ มาผสมผสานจะช่วยยกระดับความแม่นยำให้สูงขึ้น ทำให้การวินิจฉัยเป็นไปอย่างถูกต้องและรวดเร็ว เพื่อให้การรักษาผู้ป่วยเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ และเป็นประโยชน์สูงสุดต่อผู้ป่วย

เอกสารอ้างอิง

1. Bray F, Laversanne M, Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2024;74(3):229-63.
2. Wallen2. DJMJM. Lung Adenocarcinoma United States: StatPearls Publishing; 2023. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK519578/>.

3. Polanco D, Pinilla L, Gracia-Lavedan E, Mas A, Bertran S, Fierro G, et al. Prognostic value of symptoms at lung cancer diagnosis: a three-year observational study. *J Thorac Dis.* 2021;13(3):1485-94.
4. Jain D, Roy-Chowdhuri S. Advances in cytology of lung cancer. *Seminars in Diagnostic Pathology.* 2021;38(5):109-15.
5. Chandrasekhar V, Krishnamurti C. George Papanicolaou (1883-1962): Discoverer of the Pap Smear. *J Obstet Gynaecol India.* 2018;68(3):232-5.
6. DeMay RM. *The Art & Science of Cytopathology.* 2nd ed. Chicago: ASCP Press; 2012.
7. Standring S. *Gray's Anatomy: The Anatomical Basis of Clinical Practice.* 42nd Edition. 2020.
8. Light RW. *Pleural Diseases.* 6th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2013.
9. Goldstraw P, Chansky K, Crowley J, Rami-Porta R, Asamura H, Eberhardt WEE, et al. The IASLC Lung Cancer Staging Project: Proposals for Revision of the TNM Stage Groupings in the Forthcoming (Eighth) Edition of the TNM Classification for Lung Cancer. *J Thorac Oncol.* 2016;11(1):39-51.
10. Gill GW. *Cytopreparation: Principles & Practice.* New York, NY: Springer; 2013.
11. Çakır EC, Harvey; Ersöz, Ceyda; Fadda, Guido; Faquin, William C.; Kalhan, Ashish; Kurtycz, Daniel F.I.; Laucirica, Rodolfo; Michaels, Peter; Najafian, Afshin; Onur, Işin; Pantanowitz, Liron; Rossi, Esther Diana; Roy-Chowdhuri, Sinchita; Savic Prince, Spasenija; Simsir, Aylin; Valente, Philip; Vielh, Philippe. *The International System for Reporting Serous Fluid Cytopathology.* Cham: Springer; 2020.
12. Dabbs DJ. *Diagnostic Immunohistochemistry: Therapeutic and Genomic Applications.* 6th ed. Philadelphia, PA: Elsevier; 2022.