# ความสัมพันธ์ระหว่างการพยากรณ์โรคที่ดีของผู้ป่วยที่มีภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรมและการกลายพันธุ์ของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู

นายพิชยุตม์ บุญญาบารมี

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาอายุรศาสตร์ ภาควิชาอายุรศาสตร์
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2565
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

# Good Prognosis of Adult Hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH) associated with the *HAVCR2* germline mutation

Mr. Pitchayut Boonyabaramee

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

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 2022

Copyright of Chulalongkorn University

| | |
|---|---|
| หัวข้อวิทยานิพนธ์ | ความสัมพันธ์ระหว่างการพยากรณ์โรคที่ดีของผู้ป่วยที่มีภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรมและการกลายพันธุ์ของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู |
| โดย | นายพิชยุตม์ บุญญาบารมี |
| สาขาวิชา | อายุรศาสตร์ |
| อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก | รองศาสตราจารย์ แพทย์หญิงจันทนา ผลประเสริฐ |

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะแพทยศาสตร์
(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ฉันชาย สิทธิพันธุ์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์พิสุทธิ์ กตเวทิน)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(รองศาสตราจารย์ แพทย์หญิงจันทนา ผลประเสริฐ)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ แพทย์หญิงอภิญญ์เพ็ญ สาระยา วสันติวงศ์)

..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์วีรภัทร โอวัฒนาพาณิช)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

พิชยุตม์ บุญญาบารมี : ความสัมพันธ์ระหว่างการพยากรณ์โรคที่ดีของผู้ป่วยที่มีภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรมและการกลายพันธุ์ของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู . ( Good Prognosis of Adult Hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH) associated with the *HAVCR2* germline mutation) อ.ที่ปรึกษาหลัก : รศ. พญ.จันทนา ผลประเสริฐ

ภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรมเป็นภาวะที่มีการกระตุ้นของภูมิกันที่มากจนเกินไป โดยสาเหตุของภาวะนี้ได้แก่ โรคมะเร็ง, การติดเชื้อ และภาวะภูมิคุ้มกันต้านตนเอง และในบางกรณีไม่ทราบสาเหตุ ในงานวิจัยเมื่อไม่นานมานี้พบว่ามีความสัมพันธ์ระหว่างการกลายพันธุ์แต่กำเนิดของยีนเอชเอวีซีอาร์ทูซึ่งส่วนใหญ่เป็นชนิดวาย 82 ซี (Y82C) กับมะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิดทีเซลล์ชื่อว่า subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma (SPTCL) งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อหาอุบัติการณ์ของการกลายพันธุ์ยีนเอชเอวีซีอาร์ทูในผู้ป่วยที่มีภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรมจากมะเร็งต่อมน้ำเหลือง SPTCL และกลุ่มที่ไม่ทราบสาเหตุ และเปรียบเทียบลักษณะทางคลินิก (clinical outcome) รวมถึงอัตราการมีชีวิตรอด (survival outcome) กับภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรมจากสาเหตุอื่นๆ

งานวิจัยรวบรวมผู้ป่วยที่มีอายุตั้งแต่ 15 ปีขึ้นไปที่มีภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรมจากเกณฑ์การวินิจฉัยของปี 2004 (HLH-2004 criteria) หรือผู้ป่วยที่มีอาการทางคลินิกที่เข้าได้กับภาวะนี้แม้ไม่ครบตามเกณฑ์วินิจฉัย นำชิ้นเนื้อที่เก็บในพาราฟิน หรือเลือดมาสกัดดีเอนเอและใช้เทคนิคการหาลำดับนิวคลีโอไทด์ (DNA sequencing) เพื่อตรวจหายีนเอชเอวีซีอาร์ทูตำแหน่งวาย 82 ซี (Y82C) ในผู้ป่วยที่มีภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรมจากมะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิด SPTCL และไม่ทราบสาเหตุ

ผลการศึกษา รวบรวมผู้ป่วยทั้งหมด 65 คน โดยเป็นผู้ชาย 60% และมีค่ามัธยฐานอายุที่ 45 ปี ตรวจพบการกลายพันธุ์ยีนเอชเอวีซีอาร์ทูทั้งหมด 9 (13.8%) คน โดยเป็นผู้ป่วยมะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิด SPTCL 5 คน และไม่ทราบสาเหตุอีก 4 คน สาเหตุอื่นของภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรมได้แก่ โรคมะเร็งที่ไม่ใช่มะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิด SPTCL 22 (33.8%) คน, ไม่ทราบสาเหตุและไม่มีการกลายพันธุ์ของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู 18 (27.7%) คน, การติดเชื้อ 10 (15.4%) คน และภาวะภูมิคุ้มกันต่อตัวเอง 6 (9.2%) คน โดยผู้ป่วยที่มีการกลายพันธุ์ของยีนเอชเอวีซีอาร์ทูมีการรอดชีวิตที่ดีกว่ากลุ่มอื่นๆ โดยมี hazard ratio (HR) 0.218; 95% Confidence interval (CI) 0.05-0.90, p-value 0.036 และกลุ่มที่มีการกลายพันธุ์นี้เองมีระดับฮีโมโกลบินที่สูงกว่า และระดับนิวโตรฟิลที่ต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญ

โดยสรุป การกลายพันธุ์ของยีนเอชเอวีซีอาร์ทูสามารถที่จะแบ่งเป็นกลุ่มย่อยหนึ่งของภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม ซึ่งมีอัตราการรอดชีวิตที่ดีกว่า รวมถึงช่วยบอกพยากรณ์โรคของภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรมได้

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สาขาวิชา อายุรศาสตร์ ลายมือชื่อนิสิต .....

ปีการศึกษา 2565 ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก .....

# # 6470095030 : MAJOR MEDICINE
KEYWORD: hemophagocytic lymphohistiocytosis, subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma, HAVCR2

Pitchayut Boonyabaramee : Good Prognosis of Adult Hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH) associated with the *HAVCR2* germline mutation. Advisor: Assoc. Prof. CHANTANA POLPRASERT, M.D.

Hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH) is immune overactivation condition. Etiologies included malignancies, infections, and autoimmune diseases. Recent studies identified association between germline *HAVCR2* mutations, commonly p.Y82C, in subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma (SPTCL) and HLH. We aimed to explore the incidence of germline *HAVCR2* mutation in SPTCL-associated and idiopathic HLH and compare clinical outcomes with HLH from other causes.

We collected patients, aged 15 or older, with HLH or HLH-like systemic illness. HLH was defined according to the HLH-2004 criteria. While HLH-like systemic illness was incomplete HLH-2004 criteria patients, but clinically consistent with HLH. Direct sequencing was done in idiopathic and SPTCL-associated HLH to detect germline *HAVCR2* p.Y82C. DNA was extracted from formalin-fixed paraffin-embedded specimens or blood samples.

Of the 65 patients, 60% were male with median age of 45-year-old. We detected germline *HAVCR2* mutations in 9 (13.8%) cases; 5 SPTCL and 4 idiopathic HLH. The other causes of HLH were 22 (33.8%) cases of hematologic malignancies excluding SPTCL, 18 (27.7%) idiopathic HLH without *HAVCR2* mutation, 10 (15.4%) infections and 6 (9.2%) autoimmune diseases. Germline *HAVCR2* mutation patients showed superior survival than the others with hazard ratio 0.218; 95% Confidence interval 0.05-0.90 and p-value 0.036. Patients with germline *HAVCR2* mutations showed significantly higher hemoglobin levels but lower absolute neutrophil count.

In conclusion, germline *HAVCR2* mutations define a subgroup of HLH with better survival than the others and help to determine the prognosis of HLH.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

| | | |
|---|---|---|
| Field of Study: | Medicine | Student's Signature ..... |
| Academic Year: | 2022 | Advisor's Signature ..... |

# กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้ สามารถสำเร็จลุล่วงได้เนื่องจากความเมตตากรุณา และความช่วยเหลือเป็นอย่างดีจาก อาจารย์ แพทย์หญิงจันทนา ผลประเสริฐ ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ที่ได้เสียสละเวลาในการให้คำปรึกษาอย่าดีเสมอมา ซึ่งผู้วิจัยกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการณ์ประจำหน่วยโลหิตวิทยา โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ที่ให้ความร่วมมือในการเก็บข้อมูล ช่วยเหลือเก็บตัวอย่างเลือดหรือตัวอย่างชิ้นเนื้อ และการตรวจทางห้องปฏิบัติการณ์ รวมถึงขอบพระคุณแพทย์ประจำโรงพยาบาลอุดรธานีและโรงพยาบาลนครปฐมที่เสียสละเวลาเก็บข้อมูล และขอบพระคุณผู้ป่วยและผู้ดูแลทุกท่านที่เสียสละเวลาอันมีค่าในการเข้าร่วมโครงการครั้งนี้

ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งในความกรุณาของทุกท่านที่กล่าวมา ตลอดจนผู้ที่ไม่ได้กล่าวนามในที่นี้ ซึ่งมีส่วนให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

สุดท้ายนี้ กราบขอบพระคุณบิดา มารดา ที่ให้ความช่วยเหลือและเป็นกำลังใจตลอดมา

พิชยุตม์ บุญญาบารมี

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

# สารบัญ

**หน้า**


..... ค

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ค

..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ง

กิตติกรรมประกาศ ..... จ

สารบัญ ..... ฉ

สารบัญตาราง ..... ซ

สารบัญรูปภาพ ..... ฌ

บทที่ 1 บทนำ ..... 1

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย ..... 1

1.2 คำถามของการวิจัย ..... 2

1.3 วัตถุประสงค์งานวิจัย ..... 2

1.4 สมมติฐาน ..... 2

1.5 กรอบความคิดแนววิจัย ..... 3

1.6 ผลหรือประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย ..... 3

1.7 อุปสรรคที่อาจเกิดขึ้นระหว่างการวิจัยและมาตรฐานการแก้ไข ..... 3

บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง ..... 4

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย ..... 8

3.1 รูปแบบการวิจัย (Research design) ..... 8

3.2 ระเบียบวิธีการวิจัย (research methodology) ..... 8

3.3 จำนวนผู้ป่วยที่จะนำเข้าการศึกษาวิจัย (sample size) ..... 8



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

3.4 ขั้นตอนในการดำเนินการวิจัย ..... 9
3.5 การรวบรวมข้อมูล (Data collection) ..... 12
3.6 ข้อจำกัดในงานวิจัย (Limitation) ..... 12
3.7 ปัญหาทางจริยธรรม ..... 12
3.8 การวิเคราะห์ข้อมูล (Data analysis) ..... 13
บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล ..... 14
ผลการวิเคราะห์ข้อมูล ..... 14
บทที่ 5 อภิปรายผล สรุปผลการวิจัย และ ข้อเสนอแนะ ..... 27
5.1 อภิปรายผล ..... 27
5.2 สรุปผล ..... 29
5.3 เปรียบเทียบกับการศึกษาก่อนหน้าที่เคยศึกษา ..... 29
5.4 ข้อดีของการศึกษานี้ ..... 29
5.5 ข้อด้อยของการศึกษานี้ ..... 30
5.6 ข้อเสนอแนะ ..... 30
บรรณานุกรม ..... 31
ประวัติผู้เขียน ..... 35

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

# สารบัญตาราง

**หน้า**

ตารางที่ 1 ข้อมูลทั่วไปของผู้ป่วย..... 15

ตารางที่ 2 สาเหตุของภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม..... 16

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบ Hazard ratio ของสาเหตุการเกิดภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH)..... 21

ตารางที่ 4 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยต่างๆกับอัตราการรอดชีวิต ..... 21

ตารางที่ 5 เปรียบเทียบ Hazard ratio ของสาเหตุการเกิดภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) เฉพาะกลุ่มที่ตรวจดีเอนเอได้..... 25

ตารางที่ 6 ข้อมูลผู้ป่วยในกลุ่มที่มีการกลายพันธุ์ของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (HAVCR2)..... 25

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

# สารบัญรูปภาพ

**หน้า**

รูปที่ 1 อัตราการรอดชีวิตโดยแบ่งสาเหตุการเกิดภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) เป็นมีและไม่มีการกลายพันธุ์ของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (HAVCR2)..... 18

รูปที่ 2 อัตราการรอดชีวิตโดยแบ่งสาเหตุการเกิดภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม(HLH) เป็น 3 กลุ่ม .. 19

รูปที่ 3 อัตราการรอดชีวิตโดยแบ่งสาเหตุการเกิดภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม(HLH) เป็น 5 กลุ่ม .. 20

รูปที่ 4 อัตราการรอดชีวิตโดยแบ่งสาเหตุการเกิดภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม(HLH) เป็น 3 กลุ่ม เฉพาะกลุ่มที่ตรวจดีเอนเอได้ ..... 22

รูปที่ 5 อัตราการรอดชีวิตโดยแบ่งสาเหตุการเกิดภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม(HLH) เป็น 2 กลุ่ม เฉพาะกลุ่มที่ตรวจดีเอนเอได้ ..... 23

รูปที่ 6 อัตราการรอดชีวิตโดยแบ่งสาเหตุการเกิดภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม(HLH) เป็น 5 กลุ่ม เฉพาะกลุ่มที่ตรวจดีเอนเอได้ ..... 24

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

# บทที่ 1
# บทนำ

## 1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย

ภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (hemophagocytic syndrome, HLH) เป็นความผิดปกติของระบบภูมิคุ้มกันของร่ายกายที่มากเกินนำไปสู่การเกิดการทำงานของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดแมคโคร-ฟาจ (macrophage), ทีเซลล์ชนิดไซโตทอกสิก (Cytotoxic T cell) และเอ็นเคเซลล์ (Natural killer (NK) cell) ที่มากเกินไปและทำให้เกิดการปล่อยสารไซโตไคน์ (cytokine) ปริมาณมาก รวมถึงภาวะภูมิคุ้มกันที่ผิดปกติไป นำไปสู่การเกิดความเสียหายต่ออวัยวะหลายระบบในร่างกาย [1, 2] โดยภาวะนี้สามารถพบได้ในหลายโรค เช่น มะเร็งต่อมน้ำเหลือง มะเร็งเม็ดเลือด มะเร็งที่ไม่ใช่มะเร็งทางโลหิต-วิทยา การติดเชื้อ หรือภาวะภูมิคุ้มกันต่อตนเอง (autoimmune) [1]

มะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิด subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma (SPTCL) เป็นมะเร็งต่อมน้ำเหลืองที่พบได้น้อย ซึ่งเป็นมะเร็งที่เกิดขึ้นได้เองในชั้นผิวหนัง (cutaneous) ซึ่งมีความสัมพันธ์กับภาวะภูมิต้านทานตัวเอง (autoimmune) ประมาณ 20% [3] ซึ่งโดยส่วนใหญ่จะมีพยากรณ์โรคที่ดี การดำเนินโรคค่อนข้างช้า (indolent) โดยประมาณ 15-20% ที่มีการดำเนินโรคที่รุนแรงและมีความสัมพันธ์กับการเกิดภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH)[4] อย่างไรก็ตามการรักษาโรคนี้ในปัจจุบันใช้ยากดภูมิคุ้มกัน (immunosuppressive drug) เป็นหลัก และมีการตอบสนองและอัตราการมีชีวิตรอดที่สูง [5]

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ในงานวิจัยปัจจุบันค้นพบว่ามีความผิดปกติของการกลายพันธุ์แต่กำเนิด (germline mutation) ของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (Hepatitis A Virus-Cellular Receptor 2, *HAVCR2*) ในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิด SPTCL บางคน [6, 7] ซึ่งคาดว่าความผิดปกตินี้อาจจะเป็นตัวส่งเสริมให้เกิดมะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิด SPTCL และในผู้ป่วยเหล่านี้มีแนวโน้มจะมีภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) ได้มากกว่ากลุ่มที่ไม่มีการกลายพันธุ์นี้ [8] ในทางกลับกันการตรวจหายีนผิดปกตินี้ในผู้ป่วยที่มีภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) น่าจะช่วยประเมินและพยากรณ์โรคได้มากขึ้น อย่างไรก็ตามยังไม่มีงานวิจัยที่ศึกษาถึงลักษณะทางคลินิก (clinical outcome) รวมถึงอัตราการมีชีวิตรอด (survival outcome) และปัจจัยที่มีผลร่วมอื่นๆ สำหรับผู้ป่วยที่มีความผิดปกติของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (*HAVCR2*) ในภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) จึงเป็นที่มาของการวิจัยนี้

**1.2 คำถามของการวิจัย**

**คำถามการวิจัยหลัก (Primary research question)**

ผู้ป่วยที่มีภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) และมีการกลายพันธุ์ของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (*HAVCR2*) มีการพยากรณ์โรคที่ดีกว่าผู้ป่วยที่มีภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม(HLH) และไม่มียีนเอชเอวีซีอาร์ทู (*HAVCR2*) ผิดปกติหรือไม่

**คำถามการวิจัยรอง (Secondary research question)**

ผู้ป่วยที่มีภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) และมีการกลายพันธุ์ของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (*HAVCR2*) จะมีลักษณะทางคลินิก เช่นอายุ เพศ อาการแสดง เป็นต้น แตกต่างจากผู้ที่ป่วยที่มีภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) และไม่มีการกลายพันธุ์ของยีนหรือไม่

**1.3 วัตถุประสงค์งานวิจัย**

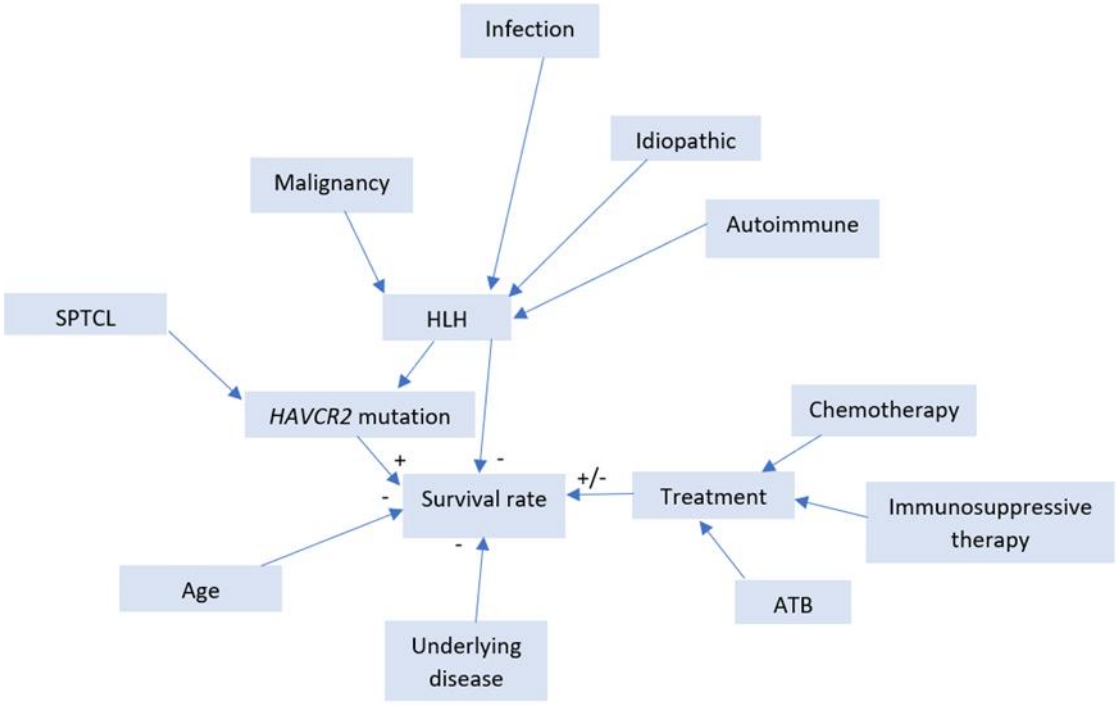
เพื่อศึกษาอัตราการรอดชีวิต (survival rate) ในผู้ป่วยที่มีภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) ที่มีการกลายพันธุ์ของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (*HAVCR2*) เปรียบเทียบกับผู้ป่วยที่ไม่มีการกลายพันธุ์ของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (*HAVCR2*)

**1.4 สมมติฐาน**

การกลายพันธุ์ของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (*HAVCR2*) เป็นพยาธิกำเนิดหนึ่งของโรคมะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิด subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma ซึ่งมีอัตราการรอดชีวิตที่สูง ดังนั้น ผู้ป่วยที่มีภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) มีการกลายพันธุ์ของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (*HAVCR2*) น่าจะมีอัตราการรอดชีวิตที่ดีกว่าผู้ป่วยที่มีภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) และไม่มีการกลายพันธุ์ของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (*HAVCR2*)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

**1.5 กรอบความคิดแนววิจัย**




**1.6 ผลหรือประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย**

การศึกษาวิจัยนี้เป็นการศึกษาเพื่อดูพยากรณ์โรคในแง่การมีชีวิตรอด (survival outcome) ของผู้ป่วยที่มีภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) ที่มีการกลายพันธุ์ของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (*HAVCR2*) เป็นครั้งแรกว่ามีความสัมพันธ์กันหรือไม่ จึงน่าจะมีประโยชน์ในการเข้าใจตัวโรคและพยาธิกำเนิดของภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) ได้ดีขึ้น นำไปสู่การตรวจหายีนที่ผิดปกตินี้ เพื่อใช้วางแผนการรักษาและพยากรณ์โรคในผู้ป่วยกลุ่มนี้ได้ดีมากขึ้น หรือต่อยอดไปถึงการรักษาใหม่ๆในอนาคต เช่นการรักษาแบบพุ่งเป้าไปยังยีนที่ผิดปกตินี้ เป็นต้น

**1.7 อุปสรรคที่อาจเกิดขึ้นระหว่างการวิจัยและมาตรฐานการแก้ไข**

การตรวจชิ้นเนื้อที่เก็บรักษาไว้นานอาจจะมีผลต่อการย้อมเพิ่มเติมทำให้ตรวจได้ผลลบลวง (false negative) ได้ แต่อย่างไรก็ตามผู้ทำการวิจัยได้ใช้การตรวจแบบโพลีเมอเรส เชน รีแอคชั่น (polymerase chain reaction, PCR) ที่มีความไว (sensitivity) ค่อนข้างดี น่าจะช่วยให้การตรวจมีผลลบลวงที่น้อยลง และด้วยการตรวจสกัดดีเอนเอ (DNA) และ PCR เพื่อหาความผิดปกติของยีนต้องใช้การตรวจที่จำเพาะและอาจมีปัญหาเรื่องค่าใช้จ่ายที่เพิ่มขึ้นในการวิจัย ทางผู้วิจัยจึงขอทุนการวิจัยเพิ่มเติมเพื่อสนับสนุนการตรวจที่มีค่าใช้จ่ายเพิ่มเติมนี้

# บทที่ 2
# ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

โปรตีนที่ผลิตโดยเอชเอวีซีอาร์ทู (*HAVCR2*) ชื่อว่า T cell immunoglobulin and mucin domain-containing protein 3 (TIM3) [9] พบว่าเป็นตัวรับ (receptor) บนผิวของทีเซลล์ชนิดเฮล-เปอร์ และไซโตท็อกซิก (TH1 helper T cells and cytotoxic T cells) รวมถึงเซลล์ชนิดไมอีลอยด์ (myeloid cell) [10] โดยโปรตีนนี้ทำหน้าที่ยับยั้งการทำงานของทีเซลล์ชนิดเฮลเปอร์ (TH1 helper cell) ยับยั้งการปล่อยไซโตไคน์ (cytokine) ชนิดทูเมอร์เนโครซิสแฟคเตอร์ (tumor necrosis factor) และ อินเตอร์เฟอรอน แกมมา (interferon gamma) รวมถึงทำให้เกิดให้เกิดการแตกของเซลล์มะเร็ง (apoptosis) ที่มาจับกับตัวรับ TIM3 ด้วย [10, 11] ซึ่งความผิดปกติ (dysregulation) ของ TIM3 จะนำไปสู่การเกิดความผิดปกติของภูมิคุ้มกัน และเกิดภาวะภูมิต้านทานต่อตนเองได้ (autoimmune disease) [10]

ความผิดปกติของ TIM3 จากการกลายพันธุ์ (mutation) ของเอชเอวีซีอาร์ทู (*HAVCR2*) ที่ตำแหน่ง c.245A>G (Tyr82Cys) และ c.291A>G (Ile97Met) ทำให้เกิดความผิดปกติของอิมมูโนโกลบูลิน (immunoglobulin V domain) [11] และการกลายพันธุ์ที่ทำให้เสียการทำงาน (loss-of-function mutation) ของโปรตีนนี้นำไปสู่การเกิดความผิดปกติต่อกระบวนการอักเสบ (inflammation) ในร่างกาย รวมถึงการเกิดภาวะภูมิคุ้มกันต่อตนเอง (autoimmune) ซึ่งจากกระบวนการที่ผิดปกติที่กล่าวมาข้างต้นเป็นตัวกระตุ้นให้เกิดมะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิด subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma (SPTCL) ได้ [7] โดยมะเร็งชนิดนี้เป็นมะเร็งต่อมน้ำเหลืองที่พบได้น้อย อยู่ในบริเวณชั้นใต้ผิวหนังบริเวณชั้นไขมัน (subcutaneous) มักไม่พบความผิดปกติของระบบต่อมน้ำเหลืองบริเวณอื่น แต่เป็นความผิดปกติของทีเซลล์ชนิดไซโตท็อกซิก (cytotoxic T cell) [12, 13]

อุบัติการณ์การเกิดมะเร็งชนิด SPTCL พบน้อยกว่า 1% ของมะเร็งต่อมน้ำเหลืองที่ไม่ใช่ชนิดฮอดจ์กิน (non-Hodgkin lymphoma) [14] โดยผู้ป่วยมักมาด้วยผื่นผิวหนังลักษณะเป็นปื้นหนา (plaque) หรือก้อนนูน (nodule) ของชั้นใต้ผิวหนังขนาด 0.5-2 เซนติเมตร โดยเฉพาะที่แขน ขา และลำตัว นอกจากนี้ยังสามารถพบได้ที่บริเวณใบหน้า คอ หรือหลังด้วยแต่น้อยกว่า [4, 8] โดยส่วนใหญ่มักจะไม่เจ็บ และไม่มีแผล (ulcer) และผู้ป่วยมักมีอาการไข้ อ่อนเพลีย เบื่ออาหาร น้ำหนักลด ร่วมกับผลเลือดมีเซลล์เม็ดเลือดต่ำ (cytopenia) และมีค่าเอมไซม์ของตับผิดปกติ หากมีภาวะ

ฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) ซึ่งพบได้ประมาณ 20% จะทำให้อาการเหล่านี้ชัดเจนยิ่งขึ้น โดยตัวโรคมักไม่เข้าไปในไขกระดูกและไม่ไปต่อมน้ำเหลืองบริเวณอื่น [4, 8, 14]

ในปัจจุบันพบว่าการรักษามะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิด SPTCL ไม่ได้ใช้การรักษาด้วยยาเคมีบำบัดเป็นหลักเหมือนสมัยก่อน ในการศึกษาของ Michonneau D. et al ศึกษามะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิด SPTCL ทั้งหมด 23 ราย โดยมีผู้ป่วย 16 รายที่ได้รับการรักษาแรกเป็นยากดภูมิคุ้มกัน เช่น สเตียรอยด์, เมโทรเทกเซด (methotrexate), ไซโคลสปอริน (cyclosporin) หรือ ไฮดรอกซี่คลอโรควิน (hydroxychloroquine) และที่เหลืออีก 7 รายได้ยาเคมีบำบัดหลายชนิดร่วมกัน เช่น CHOP หรือ CHOEP พบว่ากลุ่มแรกที่ได้ยากดภูมิคุ้มกันพบโรคสงบ (complete remission) ได้ 81% เปรียบเทียบกับกลุ่มยาเคมีบำบัดได้ 28% ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.025$) [15] ดังนั้นการรักษาผู้ป่วยมะเร็งต่อมนำเหลืองชนิด SPTCL สามารถใช้ยากดภูมิคุ้มกันเป็นหลัก และได้ผลการตอบสนองค่อนข้างดี

ในการศึกษาวิจัย SPTCL ในปัจจุบันค้นพบว่ามีความเกี่ยวข้องกับความผิดปกติของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (*HAVCR2*) ดังกล่าวข้างต้น โดยอาจจะเกิดจากการถ่ายทอดทางพันธุกรรมเป็นลักษณะยีนด้อย (autosomal recessive) ซึ่งต้องมีความผิดปกติแบบโฮโมไซกัส (homozygous) จึงจะเกิดโรค ดังงานวิจัยของ Gayden T et al ในผู้ป่วย SPTCL ทั้งหมด 27 ราย พบความผิดปกติของอิมมูโนโกลบูลิน (immunoglobulin V domain) ทั้งหมด 16 ราย โดยที่ตำแหน่ง c.245A>G (Tyr82Cys) พบในคนเอเชียและพอลินีเชีย (Polynesian) เป็นหลัก และ c.291A>G (Ile97Met) พบในคนยุโรปเป็นหลัก โดยในคนที่มีความผิดปกติของยีนนี้ส่วนใหญ่ (87.5%) จะมีภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) ด้วย และในผู้ป่วย 1 คนที่มีข้อมูลว่ามีไซโตไคน์ (cytokine) เพิ่มขึ้นจริงดังกระบวนการเกิดโรคที่กล่าวข้างต้น [7]

จากการศึกษาของรศ.พญ.จันทนา ผลประเสริฐ หน่วยโลหิตวิทยา โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ร่วมกับประเทศญี่ปุ่นเกี่ยวกับความผิดปกติของยีนนี้ ศึกษาผู้ป่วยชาวเอเชียน 13 คนที่เป็นมะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิด SPTCL และไม่มีประวัติโรคนี้ในครอบครัว มียีนเอชเอวีซีอาทู (*HAVCR2*) ผิดปกติทั้งหมด 11 คน โดยเป็นแบบโฮโมไซกัส (homozygous) ของ c.245A>G (p.Y82C) 10 คน และเฮเทอโรไซกัส (heterozygous) ของ c.245A>G (p.Y82C) และ c.302C>T (p.T101I) หนึ่งคน อีก 2 คนที่ไม่พบยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (*HAVCR2*) ผิดปกติ เกิด SPTCL จากการติดเชื้อเอชไอวี และโรคลูปัส (SLE) การศึกษานี้มีภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) ในคนที่มียีนผิดปกติ 18.2% นอกจากนี้ยัง

Chulalongkorn University

พบว่ามียีนที่ผิดปกติ (somatic mutation) ชนิดอื่นที่อาจเกี่ยวข้องกับการเกิด SPTCL เช่น *TET2, CHD3, BCOR, BAZ2A, SPEN, MSH6* และ *PER1* เป็นต้น [6]

ในส่วนของภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) เป็นภาวะที่ภูมิคุ้มกันถูกกระตุ้นอย่างผิดปกติ และเกิดการอักเสบขึ้นในร่างกาย ปัจจุบันพบว่าภาวะนี้ไม่ใช่เพียงเกิดจากการถ่ายทอดทางพันธุกรรม (familial) แต่ยังสามารถเกิดขึ้นได้เอง (sporadic) ซึ่งอาจจะสัมพันธ์กับการติดเชื้อ โรคมะเร็ง หรือโรครูมาติสซั่ม (rheumatologic disease) โดยอุบัติการณ์ของโรค ส่วนใหญ่เป็นรายงานผู้ป่วยเด็ก แต่ในผู้ใหญ่มีรายงานเรื่องอุบัติการณ์ค่อนข้างน้อย มีรายงานการเก็บข้อมูลในเมโยคลินิก (Mayo clinic) ที่เป็นโรงพยาบาลตติยภูมิ (tertiary care) พบประมาณ 1 คนต่อผู้ป่วยที่ต้องนอนโรงพยาบาล 2,000 คน [16] ดังนั้นการวินิจฉัยภาวะนี้ในผู้ใหญ่จึงปรับใช้เกณฑ์การวินิจฉัยที่ทำจากการศึกษาวิจัยในเด็ก

เกณฑ์การวินิจฉัยภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรมของปีค.ศ 2004 (HLH-2004 criteria) [17] ต้องประกอบด้วยอย่างน้อย 5 ข้อใน 8 ข้อดังต่อไปนี้

1. ไข้ ≥ 38.5°C 2. ม้ามโต

3. เม็ดเลือดต่ำมากกว่าเท่ากับ 2 ชนิดดังนี้
   - ฮีโมโกลบิน (hemoglobin) < 9 g/dL
   - เกล็ดเลือด (Platelet) < $100x10^9$ /L
   - นิวโตรฟิล (absolute neutrophil) < $1x10^9$ /L

4. ไตรกลีเซอร์ไลด์สูง (hypertriglyceridemia) หรือฟิบริโนเจนต่ำ (hypofibrinogenemia)
   - ไตรกลีเซอร์ไลด์ (triglyceride) ≥ 265 mg/dL
   - ฟิบริโนเจน (fibrinogen) ≤ 150 mg/dL

5. เห็นลักษณะของภาวะฮีโมฟาโกไซโตซิส (Hemophagocytosis) ในไขกระดูก ม้าม หรือต่อมน้ำเหลือง

6. มีการทำงานของเอ็นเคเซลล์ (NK cell activity) ต่ำหรือไม่มีเลย

7. เฟอริติน (ferritin) ≥ 500 mcg/L 8. sCD25 (sIL2R$\alpha$) ≥ 2,400 U/ml

หลักการรักษาภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) คือควบคุมภาวะภูมิคุ้มกันที่มากเกินไปโดยยาที่ช่วยกดภูมิคุ้มกันและกดการทำงานของเซลล์เม็ดเลือด (myelosuppressive agent)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

โดยส่วนใหญ่คือสเตียรอยด์ขนาดสูง คือเดกซาเมทาโซน (Dexamethasone) และยาเคมีบำบัดอีโต-โปไซด์ (etoposide) [1]

พยากรณ์โรคของภาวะนี้ในเด็กพบว่าหากเป็นชนิดที่ถ่ายทอดทางพันธุกรรม (familial) หากไม่รักษาจะมีอัตราการอยู่รอดเพียง 2 เดือน และเพิ่มขึ้นหากได้รับการรักษาดังกล่าวข้างต้น ส่วนพยากรณ์โรคในผู้ใหญ่ไม่ดีเช่นกัน จากการศึกษาแบบย้อนหลัง (retrospective) ในอเมริกาพบว่ามีเพียง 31% ที่มีชีวิตหลังจากตรวจติดตามเป็นมัธยฐานเวลา (median time) 32.2 เดือน และมัธยฐานระยะเวลาความอยู่รอด (median overall survival) อยู่ที่ 4 เดือน หลังจากได้รับการรักษาไม่ว่าจากยากดภูมิคุ้มกัน ยาเคมีบำบัด หรือปลูกถ่ายไขกระดูกก็ตาม [18]

จากการศึกษาข้างต้นทั้งหมด การมีความผิดปกติของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (*HAVCR2*) มีแนวโน้มว่ามีความสัมพันธ์กับการพบภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) ในมะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิด SPTCL ซึ่งการรักษามะเร็งต่อมน้ำเหลืองนี้ด้วยยากดภูมิคุ้มกัน ให้ผลการตอบสนองที่ดีรวมถึงมีอัตราการรอดชีวิตที่สูง ดังนั้นผู้วิจัยคาดว่า หากผู้ป่วยมีภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) ที่มีความผิดปกติของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (*HAVCR2*) น่าจะมีลักษณะการดำเนินโรคและพยากรณ์โรคเหมือนมะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิด SPTCL ที่ค่อนข้างดี และสามารถรักษาด้วยยากดภูมิคุ้มกันแล้วให้ผลการตอบสนองที่ดี ผู้วิจัยจึงต้องการศึกษาภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) ที่มีความผิดปกติของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (*HAVCR2*) ว่าจะมีผลต่ออัตราการรอดชีวิต (survival rate) หรือไม่

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

# บทที่ 3
# วิธีดำเนินการวิจัย

## 3.1 รูปแบบการวิจัย (Research design)

เป็นการวิจัยแบบสังเกตข้อมูลกลุ่มย้อนหลัง (retrospective observational study) เป็นหลัก ร่วมกับการเก็บข้อมูลแบบไปข้างหน้า (prospective observational study)

## 3.2 ระเบียบวิธีการวิจัย (research methodology)

**เกณฑ์การคัดเลือกเข้ามาศึกษา (inclusion criteria)**

- วินิจฉัยว่ามีภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) โดยเข้าเกณฑ์การวินิจฉัยของปีค.ศ. 2004 หรือมีอาการทางคลินิกที่เข้ากับภาวะนี้ได้ในกรณีไม่ครบตามเกณฑ์การวินิจฉัยของปีค.ศ. 2004 (HLH-like systemic illness)
- เป็นคนเอเชีย (Asian)
- อายุมากกว่าเท่ากับ 15 ปี

**เกณฑ์การตัดออกจากการศึกษา (exclusion criteria)**

- ไม่มีข้อมูลในเวชระเบียนโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์
- ไม่ยินยอมเข้าร่วมโครงการ (ในการเก็บข้อมูลไปข้างหน้า)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

## 3.3 จำนวนผู้ป่วยที่จะนำเข้าการศึกษาวิจัย (sample size)

จำนวนผู้ป่วยที่จะนำเข้าการศึกษาวิจัยคาดว่ามีจำนวน 60 คน โดยคำนวณจากสูตร[19]

$$n = \left(z_{\alpha/2} + z_{\beta}\right)^2 \left(\frac{(1+1/m)/p}{\ln(r)^2}\right)$$

$$p = 1 - p_a \exp(-\ln(2)F/m)$$

$$p_a = 1 - \frac{\exp(-\ln(2)A/m)}{\ln(2)A/m}$$

$$m = (C+E)/2$$

โดย C คือ median survival time สำหรับกลุ่มที่ไม่มีความผิดปกติของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (*HAVCR2*)

จากงานวิจัยของ Sameer A, et al [16] ที่ศึกษาผู้ป่วยที่มีภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) ในผู้ใหญ่ ประมาณและมัธยฐานระยะเวลาความอยู่รอด (median survival time) คือ 2.1 เดือน

E คือ และมัธยฐานระยะเวลาความอยู่รอด (median survival time) สำหรับกลุ่มที่มีความผิดปกติของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (*HAVCR2*)

r คือ E/C หรือ Hazard ratio (HR)

เนื่องจากไม่มีงานวิจัยเกี่ยวกับภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) และยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (*HAVCR2*) มาก่อนจึงประมาณจากงานวิจัยของ Willemze R. et al [4] และคาดว่าผู้ป่วยกลุ่มนี้จะมีมัธยฐานระยะเวลาความอยู่รอด (median survival time) ดีกว่า โดยประมาณให้ HR คือ 0.25

A คือระยะเวลาที่รวบรวมผู้ป่วย ในงานวิจัยนี้ย้อนหลังทั้งหมด 10 ปี ร่วมกับช่วงเวลาเก็บข้อมูลไปข้างหน้า แทนค่า A เป็น 134 เดือน *

F คือระยะเวลาที่ตรวจติดตามหลังจากรวบรวมผู้ป่วยแล้ว คิดเป็นช่วงเวลาสำหรับเก็บข้อมูลไปข้างหน้า แทนค่าเป็น 4 เดือน

M คือ จำนวนกลุ่มที่มีความผิดปกติของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (*HAVCR2*) ต่อจำนวนกลุ่มที่ไม่มีความผิดปกติของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (*HAVCR2*) โดยประมาณให้เท่ากับ 0.1 เนื่องจากไม่เคยมีข้อมูลมาก่อน

$\alpha$ = 0.05 และ $\beta$ = 0.2

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

* หากได้ผู้เข้าร่วมการวิจัยไม่ครบตามที่คำนวณเบื้องต้น สามารถเพิ่มระยะเวลาในการเก็บข้อมูลไปข้างหน้าคือแทนค่า A เป็น 138 ซึ่งคำนวณแล้วจำนวนผู้เข้าร่วมการศึกษา (sample size) ยังคงเดิม

**3.4 ขั้นตอนในการดำเนินการวิจัย**

1. เขียนโครงร่างการวิจัย (research proposal) และเสนอต่อคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัย

2. หลังจากผ่านการพิจารณาเรื่องจริยธรรมการวิจัย จึงติดต่อเพื่อรวบรวมข้อมูล เก็บข้อมูลทั้งย้อนหลังและไปข้างหน้า ดังรายละเอียดดังนี้

**การเก็บข้อมูลย้อนหลัง**

1. ดำเนินการผ่านคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในคน เพื่อขอเวชระเบียนรวมถึงชิ้นเนื้อของผู้ป่วยที่จะนำเข้าการศึกษา

2. ติดต่อฝ่ายเวชระเบียนเพื่อสืบค้นประวัติของผู้ป่วยที่มีภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) จาก ICD10 รหัส D76.1 Hemophagocytic lymphohistiocytosis ร่วมกับสืบค้นในสมุดบันทึกผลการตรวจไขกระดูกของหน่วยโลหิตวิทยา โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ที่วินิจฉัยภาวะนี้ ตั้งแต่ 1 มกราคม พ.ศ. 2554 จนถึง 31 สิงหาคม พ.ศ. 2564

สาเหตุที่เก็บย้อนหลังสิบปีเนื่องจาก ชิ้นเนื้อที่เก็บไว้นานขึ้น การสกัดเพื่อตรวจดีเอนเอ (DNA) อาจจะให้ผลลัพธ์ที่ไม่ดี[20] แต่มีงานวิจัยของ Gillio-Tos A, et al ทำการสกัดดีเอนเอ (DNA) จากชิ้นเนื้อที่เก็บในพาราฟิน (paraffin-embedded) ที่เก็บรักษาไว้ประมาณ 20 ปี ซึ่งสามารถสกัดดีเอนเอ (DNA) ออกมาได้อย่างมีประสิทธิภาพ[21] อย่างไรก็ตามภาควิชาพยาธิวิทยาจะเก็บชิ้นเนื้อไว้เพียง 10 ปีเท่านั้น

3. สืบค้นประวัติของผู้ป่วยว่าสามารถเข้าได้กับเกณฑ์การวินิจฉัยภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) ค.ศ. 2004 จากผลเลือด และผลการตรวจทางพยาธิวิทยา (pathology) วินิจฉัยว่าภาวะฮีโมฟาโกไซ-ติกซินโดรม (HLH) เกิดจากสาเหตุใด มีโรคประจำตัวใดที่เกี่ยวข้อง เช่นมะเร็ง การติดเชื้อ โรคภูมิ-ต้านทานตนเอง (autoimmune) หรือไม่ทราบสาเหตุ

4. บันทึกข้อมูลโดยใช้แบบฟอร์มที่รวบรวมข้อมูลที่ต้องการศึกษา

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

5. ติดต่อฝ่ายพยาธิวิทยาเพื่อนำชิ้นเนื้อจากการเจาะไขกระดูกหรือจากส่วนอื่นของผู้ป่วยที่เข้าเกณฑ์การคัดเลือกเข้ามาศึกษาวิจัย โดยชิ้นเนื้อนั้นเป็นชิ้นเนื้อที่เหลือจากการตรวจวินิจฉัยและไม่ได้นำไปตรวจเพิ่มอีกแล้ว หรือเจาะเลือดจากผู้ป่วยที่ยินยอม นำมาสกัดดีเอนเอ (DNA)

6. ใช้ชุดสกัดดีเอนเอ (DNA) ของชิ้นเนื้อจากพาราฟิน โดยใช้ชุดสกัดดีเอนเอ GeneRead DNA FFPE kit (Qiagen) หรือจากเลือดโดยใช้ชุดสกัดดีเอนเอ Gentra Puregene Blood Kits (Qiagen)

7. ใช้ไพร์เมอร์ (primer) สำหรับโปรแกรม PCR ดังนี้คือ forward primer 5’-GGAAGCTGAGGGTGTATTTCT-3’ และ reverse primer 5’-TCAGAGCCAGCTAAAGATTCC-3’

8. ดำเนินการตามโปรแกรม PCR โดยใช้ดีเอนเอ (DNA) ขนาด 100 นาโนกรัมสำหรับเลือด และขนาด 200 นาโนกรัมสำหรับชิ้นเนื้อจากพาราฟิน

9. โปรแกรม PCR ได้แก่ ทำปฏิกิริยาที่ 94 องศาเซลเซียส 5 นาที หลังจากนั้นทำการเพิ่มจำนวน (amplification) 30 รอบ (cycle) เป็นเวลา 60 วินาทีที่ 94 องศาเซลเซียส ต่อด้วย 60 วินาทีที่ 56 องศาเซลเซียส และ 60 วินาทีที่ 72 องศาเซลเซียส สุดท้ายคือใช้เวลา 5 นาทีที่ 72 องศาเซลเซียส สำหรับชิ้นเนื้อพาราฟินจะใช้เอมไซม์ KOD-FX Neoenzyme (Toyobo) ที่มีประสิทธิภาพสูงในการเพิ่มจำนวนดีเอนเอ (DNA amplification) แม้ว่าดีเอนเอ (DNA) จากชิ้นเนื้อพาราฟินนั้นจะคุณภาพไม่ดีเนื่องจากถูกเก็บมานานก็ตาม

10. ผลิตภัณฑ์ (PCR product) ที่ได้มีขนาด 249 คู่เบส ครอบคลุมแอกซอน (axon) 2 ซึ่งรวมตำแหน่งโลคัสที่สำคัญในการหาการกลายพันธุ์ คือ Y82C, I97M และ T101I

11. ทำการจัดลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยเทคนิค Sanger sequencing จากดีเอนเอ (DNA) ที่สกัดจากเลือด และจากชิ้นเนื้อพาราฟิน และนำมาเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลเพื่อดูว่ามีตำแหน่งที่มีความผิดปกติของยีน *HAVCR2* หรือไม่ต่อไป

การตรวจโปรตีนที่ผิดปกติที่เกิดจากยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (*HAVCR2*) ที่ผิดปกติตรวจได้ยาก เนื่องจากการตรวจโดยปกติจะตรวจได้ว่าเป็นโปรตีนชนิดใด แต่ในผู้ป่วยที่มียีนนี้ผิดปกติ จะผลิตโปรตีน TIM-3 เช่นเดิม เพียงแต่รูปร่างผิดปกติไป (misfold) [7]

**การเก็บข้อมูลไปข้างหน้า**

1. หากมีผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่ามีภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) ตั้งแต่ 1 กันยายน พ.ศ. 2564 และเข้าเกณฑ์การคัดเลือกเข้าการศึกษา ผู้วิจัยจะติดต่อและให้ข้อมูลเกี่ยวกับรายละเอียดของโครงการวิจัย วัตถุประสงค์ วิธีการดำเนินการ ประโยชน์ที่จะได้รับและความเสี่ยง ตอบข้อสงสัย และต้องได้รับความยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษร (informed consent) จากผู้เข้าร่วมงานวิจัย จึงดำเนินการเก็บข้อมูลต่อไป โดยผู้เข้าร่วมงานวิจัยสามารถออกจากงานวิจัยได้ทุกเมื่อหากไม่ต้องการเข้าร่วมงานวิจัยต่อในการเก็บข้อมูลไปข้างหน้า

2. ทำการสืบค้นและบันทึกข้อมูลเหมือนขั้นตอนการเก็บข้อมูลย้อนหลัง รวมถึงติดต่อขอชิ้นเนื้อจากการเจาะไขกระดูกเพื่อดำเนินการสกัดดีเอนเอ (DNA) และตรวจ PCR

3. ติดตามผู้ป่วยโดยดูจากเวชระเบียนไปจนสิ้นสุดการวิจัยนี้เพื่อบันทึกถึงอัตราการรอดชีวิต และปัจจัยที่อาจจะเกี่ยวข้องกับการรอดชีวิต

เมื่อได้ข้อมูลครบถ้วน จึงดำเนินการวิเคราะห์ผลเพื่อแปลผลอัตราการรอดชีวิตและปัจจัยที่เกี่ยวข้องด้วยวิธีการทางสถิติ ดังจะกล่าวในรายละเอียดต่อไป

**3.5 การรวบรวมข้อมูล (Data collection)**

เก็บข้อมูลจากเวชระเบียนของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ของผู้ป่วยที่เข้าเกณฑ์

ผู้เก็บข้อมูลคือ ผู้ดำเนินการวิจัย และผู้บันทึกข้อมูลคือ ผู้ดำเนินการวิจัย

**3.6 ข้อจำกัดในงานวิจัย (Limitation)**

เนื่องจากภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) พบได้ไม่บ่อยนัก ดังนั้นอาจจะต้องใช้การสืบค้นย้อนหลังที่มากพอให้พบผู้เข้าร่วมการวิจัยในจำนวนที่เหมาะสม และอาจจะต้องใช้เวลาในการค้นหาชิ้นเนื้อมาตรวจย้อมเพิ่มเติม ซึ่งทางผู้ทำการวิจัยตั้งใจจะสืบค้นย้อนหลังไปประมาณ 10 ปีและเก็บรวบรวมข้อมูลที่อาจจะเพิ่มเข้ามาในช่วง 1 ปีครึ่งนับตั้งแต่เริ่มเก็บข้อมูล ซึ่งน่าจะทำให้ข้อมูลที่ต้องการเพียงพอ และยังคงมีชิ้นเนื้อให้สามารถนำกลับมาย้อมตรวจเพิ่มเติมได้

**3.7 ปัญหาทางจริยธรรม**

ผู้วิจัยขอความยินยอมโดยผ่านการประเมินของคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในคน เพื่อสืบค้นประวัติเวชระเบียนและตรวจเพิ่มเติมจากชิ้นเนื้อเดิมของผู้ที่เข้าร่วมการวิจัย ผู้วิจัยจะเคารพในการเก็บรักษาความลับของผู้เข้าร่วมการวิจัย โดยการศึกษาครั้งนี้จะไม่ระบุ Hospital Number (HN) รวมถึงชื่อและนามสกุลในการเชื่อมโยงข้อมูลของผู้ป่วย และข้อมูลที่ได้จากการศึกษารวมทั้งประวัติของผู้ป่วยจะถูกเก็บรักษาเป็นความลับโดยคำนึงถึงสิทธิผู้ป่วยเป็นสำคัญ และการนำเสนอผลการศึกษาวิจัยจะไม่นำเสนอข้อมูลรายบุคคล ผู้เข้าร่วมการวิจัยจะได้รับข้อมูลรายละเอียดเกี่ยวกับงานวิจัยครบถ้วน และตัดสินใจด้วยตนเองในการเข้าร่วมโครงการวิจัย โดยทุกคนให้ความยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษร (consent form) ซึ่งคาดว่าไม่น่ามีปัญหาทางจริยธรรม

เนื่องจากเป็นงานวิจัยทางด้านพันธุศาสตร์ ในการส่งพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในคน ได้ทำเอกสารเพิ่มเติมคือ เอกสารชี้แจงข้อมูลและเอกสารยินยอมแบบเปิดกว้างเพื่อเก็บรักษาข้อมูลและตัวอย่างชีวภาพไว้สำหรับการวิจัยในอนาคต, เนื่องจากเก็บข้อมูลในผู้ป่วยอายุ 15 ปีขึ้นไป จึงทำเอกสารชี้แจงข้อมูลคำอธิบายและเอกสารยินยอมสำหรับผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย 15-18 ปี และ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ผู้แทนโดยชอบธรรม รวมถึงเอกสารสำหรับให้ข้อมูลและความยินยอมสำหรับญาติผู้ป่วย เนื่องจากผู้ป่วยภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) อาจจะไม่สามารถรับทราบข้อมูลและยินยอมด้วยตกเองได้

การแจ้งผลการตรวจหาความผิดปกติของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (*HAVCR2*) แก่ผู้ป่วย จะแจ้งผ่านไปทางแพทย์เจ้าของไข้ที่ดูแลต่อเนื่อง รวมถึงข้อมูลความสัมพันธ์ของภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) หลังวิเคราะห์เมื่อจบการศึกษาวิจัยนี้แล้ว

**3.8 การวิเคราะห์ข้อมูล (Data analysis)**

ใช้ Chi-square test เพื่อเปรียบเทียบข้อมูลที่มี 2 กลุ่ม (binary outcome)

ใช้ Kaplan-Meier curve เพื่อดูอัตราการรอดชีวิต (survival rate and median survival) และใช้ Log-rank test ในการดูความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ใช้ Multivariate Cox Regression Analysis สำหรับหาความสัมพันธ์ของปัจจัยต่างๆที่รวบรวมข้อมูลได้และมีผลต่ออัตราการรอดชีวิต โดยใช้ค่า p–value ที่ต่ำกว่า 0.05 แสดงให้เห็นว่ามีนัยสำคัญทางสถิติ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

# บทที่ 4
# ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

**ผลการวิเคราะห์ข้อมูล**

จากการศึกษาผู้ป่วยตั้งแต่เดือนมกราคม พ.ศ. 2554 จนถึงเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2565 รวบรวมผู้ป่วยที่มีภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) หรือกลุ่มที่มีอาการทางคลินิกเข้าได้ (HLH-like systemic illness) ทั้งหมด 65 คน **(ตารางที่ 1)** โดยเป็นผู้ชายร้อยละ 60 (39/65) และมีค่ามัธยฐานของอายุที่ 45 ปี เกณฑ์การวินิจฉัยภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม ค.ศ. 2004 มีค่ามัธยฐานของคะแนนที่ 5 ข้อ คิดเป็น 44.6% (29/65) ของทั้งหมด และมีช่วงคะแนนตั้งแต่ 3-6 ข้อ โดยที่ทุกคนมีไข้, มีภาวะม้ามโตร้อยละ 72.8, มีภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรมในไขกระดูกร้อยละ 98.5, มัธยฐานของค่าฮีโมโกลบินคือ 7.3 กรัมต่อเดซิลิตร, เกล็ดเลือด $50x10^9$ ต่อลิตร, เม็ดเลือดขาว $2.2x10^9$ ต่อลิตร, เฟอริติน (ferritin) 15,613 ไมโครกรัมต่อลิตร, ฟิบริโนเจน (fibrinogen) 2 กรัมต่อลิตร และไตรกลีเซอไลด์ (triglyceride) 3.1 มิลลิโมลต่อลิตร การรักษาที่ได้รับหลังจากวินิจฉัยส่วนใหญ่คือสเตียรอยด์ 87.7% รองลงมาเป็นยาอีโตโปไซด์ (Etoposide) 33.8%, ไอวีไอจี (IVIG) 32.3% และไซโคลสปอริน (Cyclosporin) 20%

จากตรวจดีเอนเอพบว่ามีการกลายพันธุ์ของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (*HAVCR2*) ทั้งหมด 9 คน (13.8%) มี 5 คนที่ภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) ที่เกิดจากมะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิด SPTCL และ 4 คนที่ไม่ทราบสาเหตุ (idiopathic HLH) ในผู้ป่วย 9 คนนี้มีการกลายพันธุ์แบบโฮโมไซกัส (homozygous) 6 คน แบบเฮเทอโรไซกัส (heterozygous) 3 คน ซึ่งในกลุ่มเฮเทอโรไซกัส (heterozygous) มาจากกลุ่มที่ไม่ทราบสาเหตุการเกิดภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (idiopathic HLH) ทั้งหมด ส่วนกลุ่มที่ไม่มีการกลายพันธุ์ของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (*HAVCR2*) แบ่งเป็นมะเร็งทางโลหิตวิทยาที่ไม่ใช่มะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิด SPTCL ทั้งสิ้น 33.8% (22/65), ไม่ทราบสาเหตุของภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (idiopathic HLH) และไม่มีการกลายพันธุ์ของยีนดังกล่าว 27.7% (18/65), การติดเชื้อ 15.4% (10/65) และภาวะภูมิคุ้มกันต่อตนเอง (autoimmune) 9.2% (6/65) **(ตารางที่ 2)** ในกลุ่มมะเร็งทางโลหิตวิทยาทั้ง 22 คนประกอบด้วยมะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิดเอ็นเคทีเซลล์ (NK/T-cell lymphoma) ร้อยละ 36.4 (8/22), มะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิดตัวใหญ่ (diffuse large B cell lymphoma) ร้อยละ 18.2 (4/22), มะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิดทีเซลล์ (T-cell

**ตารางที่ 1 ข้อมูลทั่วไปของผู้ป่วย**

| ข้อมูลทั่วไปของผู้ป่วย | ผู้ป่วยทั้งหมด (N = 65) | กลุ่มที่มีการกลายพันธุ์ยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (N = 9) | กลุ่มที่ไม่มีการกลายพันธุ์ยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (N = 56) | P - value |
|---|---|---|---|---|
| อายุ (ปี, มัธยฐาน [ค่าพิสัยระหว่างควอไทล์]) | 45 [27.5,58.5] | 30 [17.5,52.5] | 46.0 [31.8,59] | 0.064 |
| เพศ<br>ชาย<br>หญิง | <br>39 (60%)<br>26 (40%) | <br>4 (44.4%)<br>5 (55.6%) | <br>35 (62.5%)<br>21 (37.5%) | 0.470 |
| เกณฑ์วินิจฉัยภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (จำนวนข้อ)<br>3<br>4<br>5<br>6<br>มัธยฐาน [ค่าพิสัยระหว่างควอไทล์] | <br>1 (1.5%)<br>6 (9.2%)<br>29 (44.6%)<br>29 (44.6%)<br>5[5, 6] | <br>1 (11.1%)<br>1 (11.1%)<br>4 (44.4%)<br>3 (33.3%)<br>5[4.5, 6] | <br>0 (0%)<br>5 (8.9%)<br>25 (44.6%)<br>26 (46.4%)<br>5[5, 6] | 0.290 |
| ไข้ | 65 (100%) | 9 (100%) | 56 (100%) | 1.000 |
| ฮีโมโกลบิน (กรัมต่อเดซิลิตร, มัธยฐาน [ค่าพิสัยระหว่างควอไทล์]) | 7.3 [6.7,8.4] | 8.9 [7.4,9.5] | 7.1 [6.5,8.0] | 0.001 |
| เกล็ดเลือด (x $10^9$ ต่อลิตร, มัธยฐาน [ค่าพิสัยระหว่างควอไทล์]) | 50 [24,79.5] | 84.0 [47,136.5] | 42 [22.0,70.8] | 0.070 |
| จำนวนเม็ดเลือดขาว (x $10^9$ ต่อลิตร , มัธยฐาน [ค่าพิสัยระหว่างควอไทล์]) | 2.2 [1.2,5.9] | 1.3 [0.7,1.9] | 2.3 [1.3,8.2] | 0.018 |
| จำนวนนิวโตรฟิล (x $10^9$ ต่อลิตร, มัธยฐาน [ค่าพิสัยระหว่างควอไทล์]) | 1.1 [0.6,3.6] | 0.7 [0.2,1.3] | 1.3 [0.6,3.9] | 0.028 |
| ภาวะม้ามโต | 48 (72.8%) | 6 (66.7%) | 42 (75%) | 0.687 |
| เฟอริติน (ไมโครกรัมต่อลิตร, มัธยฐาน [ค่าพิสัยระหว่างควอไทล์]) | 15,613 [7,503, 79,161] | 14,957 [6,482 , 83,437] | 16,667 [7,765 , 74,327] | 0.750 |
| ฟิบริโนเจน (กรัมต่อลิตร, มัธยฐาน [ค่าพิสัยระหว่างควอไทล์]) | 2.0 [1.0,3.2] | 1.2 [0.8,2.0] | 2.2 [1.3,3.4] | 0.117 |
| ไตรกลีเซอร์ไลด์(มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร, มัธยฐาน [ค่าพิสัยระหว่างควอไทล์]) | 274 [203,389] | 247 [185,539] | 274 [212,380] | 0.887 |
| ภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรมในไขกระดูก | 64 (98.5%) | 8 (88.9%) | 56 (100%) | 0.138 |

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| การรักษาเมื่อแรกวินิจฉัย | | | | |
| สเตียรอยด์ | 57 (87.7%) | 9 (100%) | 48 (85.7%) | 0.580 |
| อีโตโปไซด์ | 22 (33.8%) | 3 (33.3%) | 19 (33.9%) | 1.000 |
| ไซโคลสปอริน | 13 (20%) | 5 (55.6%) | 8 (14.2%) | 0.013 |
| ไอวีไอจี | 21 (32.3%) | 3 (33.3%) | 18 (32.1%) | 1.000 |

lymphoma) ร้อยละ 13.6 (3/22), มะเร็งเม็ดเลือดแดง (pure erythroid leukemia) ร้อยละ 9.1 (2/22), มะเร็งต่อมน้ำเหลืองที่ไม่ใช่ชนิดฮอดจ์กิน (non-Hodgkin lymphoma) ร้อยละ 9.1 (2/22), มะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิดฮอดจ์กิน (Hodgkin lymphoma) ร้อยละ 9.1 (2/22) และกลุ่มโรคไมอีโลดิสเพลเซีย (myelodysplastic neoplasm) ร้อยละ 4.5 (1/22)

**ตารางที่ 2 สาเหตุของภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม**

| **สาเหตุของภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม** | มีการกลายพันธุ์ | ไม่มีการกลายพันธุ์ | ไม่ทราบการกลายพันธุ์ |
|---|---|---|---|
| **กลุ่มที่มีการกลายพันธุ์ยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (N=9)** | | | |
| *โฮโมไซกัส* | | | |
| - SPTCL | 5 | 0 | 0 |
| - ไม่ทราบสาเหตุ | 1 | 0 | 0 |
| *เฮเทอโรไซกัส* | | | |
| - ไม่ทราบสาเหตุ | 3 | 0 | 0 |
| **โรคมะเร็งทางโลหิตวิทยา (N=22)** | | | |
| มะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิดเอ็นเคทีเซลล์ | 0 | 0 | 8 |
| มะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิดตัวใหญ่ | 0 | 0 | 4 |
| มะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิดทีเซลล์ | 0 | 3 | 3 |
| มะเร็งเม็ดเลือดแดง | 0 | 0 | 2 |
| มะเร็งต่อมน้ำเหลืองที่ไม่ใช่ชนิดฮอดจ์กิน | 0 | 1 | 1 |
| มะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิดฮอดจ์กิน | 0 | 0 | 2 |
| กลุ่มโรคไมอีโลดิสเพลเซีย | 0 | 0 | 1 |
| **ไม่ทราบสาเหตุ (N=18)** | 0 | 11 | 7 |
| **การติดเชื้อ (N=10)** | 0 | 1 | 9 |
| **ภาวะภูมิคุ้มกันต่อตนเอง (N=6)** | 0 | 5 | 1 |

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่มีการกลายพันธุ์ของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (*HAVCR2*) พบว่าอายุของผู้ป่วยในกลุ่มที่มีกลายพันธุ์มีอายุที่น้อยกว่า แต่ไม่ได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (มัธยฐานอายุ 30 ปี เทียบกับอายุ 46 ปี, P value 0.064) ส่วนผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ คือ ฮีโมโกลบินมีค่าสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญ (8.9 กรัมต่อเดซิลิตรเทียบกับ 7.1 กรัมต่อเดซิลิตร, P value = 0.001) รวมถึงมีจำนวนเม็ดเลือดขาว ($1.3 \times 10^9$ ต่อลิตร เทียบกับ $2.3 \times 10^9$ ต่อลิตร, P value = 0.018) และจำนวนนิวโตรฟิลที่ต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญ ($0.7 \times 10^9$ ต่อลิตร เทียบกับ $1.3 \times 10^9$ ต่อลิตร, P value = 0.028) แต่ผลทางห้องปฏิบัติการอื่นเมื่อแรกวินิจฉัยไม่ได้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ในส่วนของการรักษาเมื่อวินิจฉัยภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) ไม่พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญของผู้ป่วย 2 กลุ่มนี้ ยกเว้นการรักษาด้วยไซโคลสปอริน (cyclosporin) ที่มีการใช้มากกว่าอย่างมีนัยสำคัญในกลุ่มผู้ป่วยที่มีการกลายพันธุ์ยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (*HAVCR2*) คือ 55.6% เทียบกับ 14.2% (P value = 0.013) และในการรักษากลุ่มที่มีการกลายพันธุ์นี้มีทั้งหมด 6 คนที่ไม่ได้ใช้ยาเคมีบำบัด คือใช้เพียงสเตียรอยด์และหรือไซโคลสปอริน (cyclosporin)

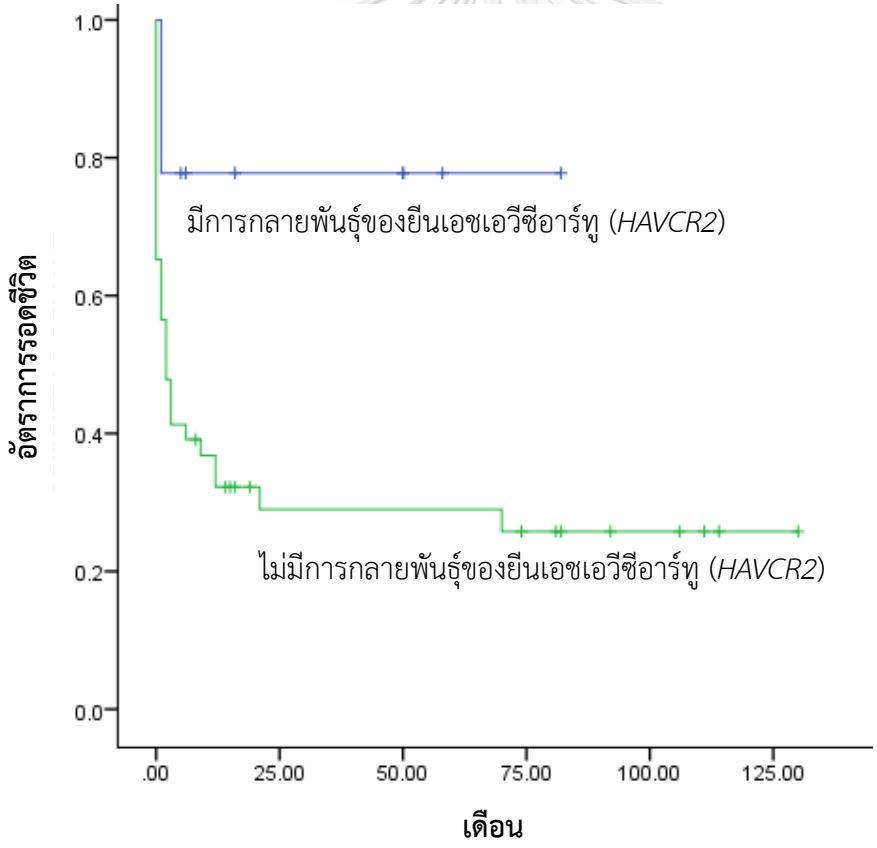
เนื่องจากดีเอนเอที่สกัดจากชิ้นเนื้อบางชิ้นมีคุณภาพไม่ดีหรือไม่สามารถหาชิ้นเนื้อที่เหมาะสมได้ จึงไม่สามารถตรวจหาการกลายพันธุ์ของยีนได้ในผู้ป่วยทุกราย โดยสามารถตรวจได้ในกลุ่มมะเร็งทางโลหิตวิทยาที่ไม่ใช่มะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิด SPTCL 4 ใน 22 คน (18%), การติดเชื้อ 1 ใน 10 คน (10%), ภาวะภูมิคุ้มกันต่อตนเอง (autoimmune) 5 ใน 6 คน (83%) และกลุ่มที่ไม่ทราบสาเหตุของภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) 11 ใน 18 คน (61%) ซึ่งในผู้ป่วยทั้งหมดที่สามารถส่งตรวจการกลายพันธุ์จากดีเอนเอ (DNA sequencing) โดยไม่รวมกลุ่มที่ตรวจพบการกลายพันธุ์ของยีนเอชเอวี-ซีอาร์ทูตำแหน่งวาย 82 ซี (*HAVCR2*$^{Y82C}$) ตรวจไม่พบการกลายพันธุ์ของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (*HAVCR2*) ชนิดอื่น คือเอกซอน (exon) 2 เช่นกัน

มีผู้ป่วยที่ยังมีชีวิตเมื่อจบการศึกษาวิจัยทั้งสิ้น 24 ใน 65 คน คิดเป็นร้อยละ 37 โดยผู้ป่วยที่มีการกลายพันธุ์ของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (*HAVCR2*) มีอัตราการรอดชีวิตที่ดีกว่าอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่มีการกลายพันธุ์ของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (*HAVCR2*) มีค่า Hazard ratio (HR) 0.218, 95% Confident interval (CI) 0.05-0.90, P value = 0.036 **(รูปที่ 1)** และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) ที่มีการกลายพันธุ์ของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (*HAVCR2*) กับกลุ่มย่อยที่มีภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) จากโรคมะเร็งและไม่ทราบสาเหตุการเกิดภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) พบว่ามีอัตราการรอดชีวิตที่ดีกว่าอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีค่า HR 0.167, 95% CI 0.04-0.70 P value = 0.014 และเช่นเดียวกับกลุ่มที่เกิดจากการติดเชื้อและ

ภาวะภูมิคุ้มกันต่อตนเอง (autoimmune) มีอัตราการรอดชีวิตที่ดีกว่าอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีค่า HR 0.384, 95% CI 0.17-0.88, P value = 0.028 **(รูปที่ 2)**

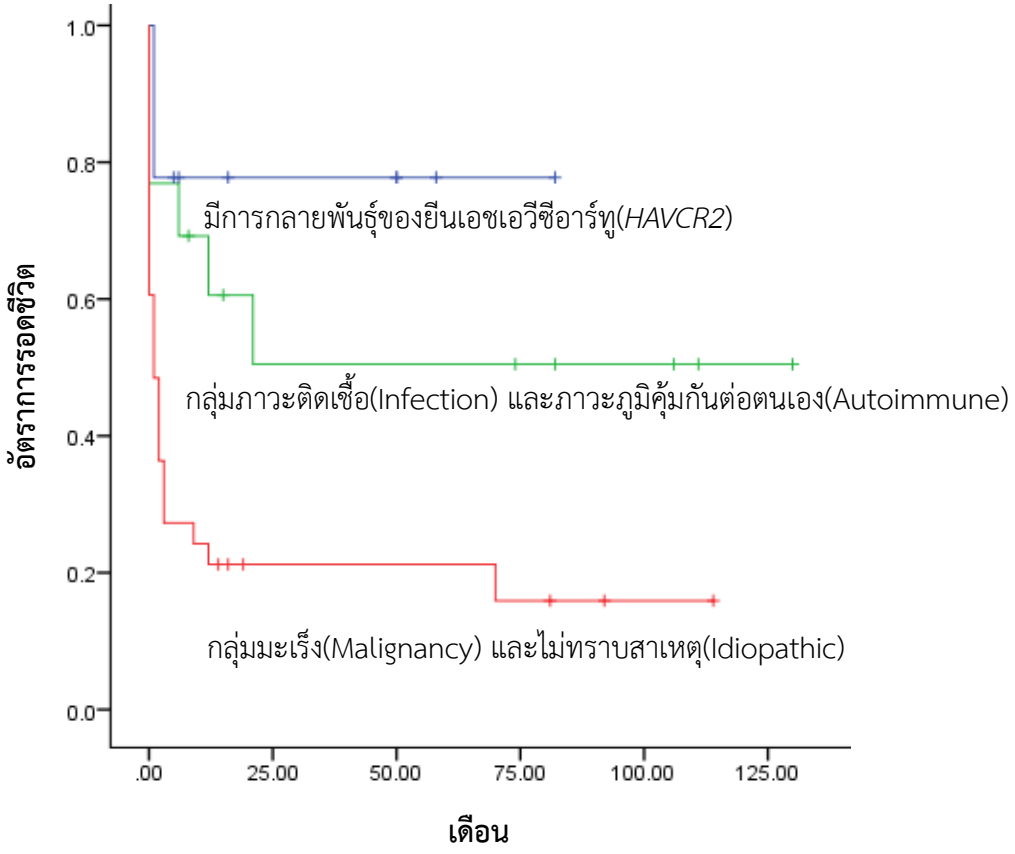
**รูปที่ 1 อัตราการรอดชีวิตโดยแบ่งสาเหตุการเกิดภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) เป็นมีและไม่มีการกลายพันธุ์ของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (*HAVCR2*)**

Kaplan-Meier Curve แสดงอัตราการรอดชีวิต (overall survival) โดยแบ่งสาเหตุการเกิดภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) ออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่มี (สีน้ำเงิน) และไม่มีการกลายพันธุ์ของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (*HAVCR2*) (สีเขียว) และมี P value = 0.022 จาก log rank test



**รูปที่ 2 อัตราการรอดชีวิตโดยแบ่งสาเหตุการเกิดภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม(HLH) เป็น 3 กลุ่ม**

Kaplan-Meier Curve แสดงอัตราการรอดชีวิต (overall survival) โดยแบ่งสาเหตุการเกิดภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) ออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ คือ มีการกลายพันธุ์ของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (HAVCR2) (สีน้ำเงิน) , กลุ่มภาวะติดเชื้อ (Infection) และภาวะภูมิคุ้มกันต่อตนเอง (Autoimmune) (สีเขียว) และกลุ่มมะเร็ง (Malignancy) และไม่ทราบสาเหตุ (Idiopathic) (สีแดง) และมี P value = 0.003 จาก log rank test

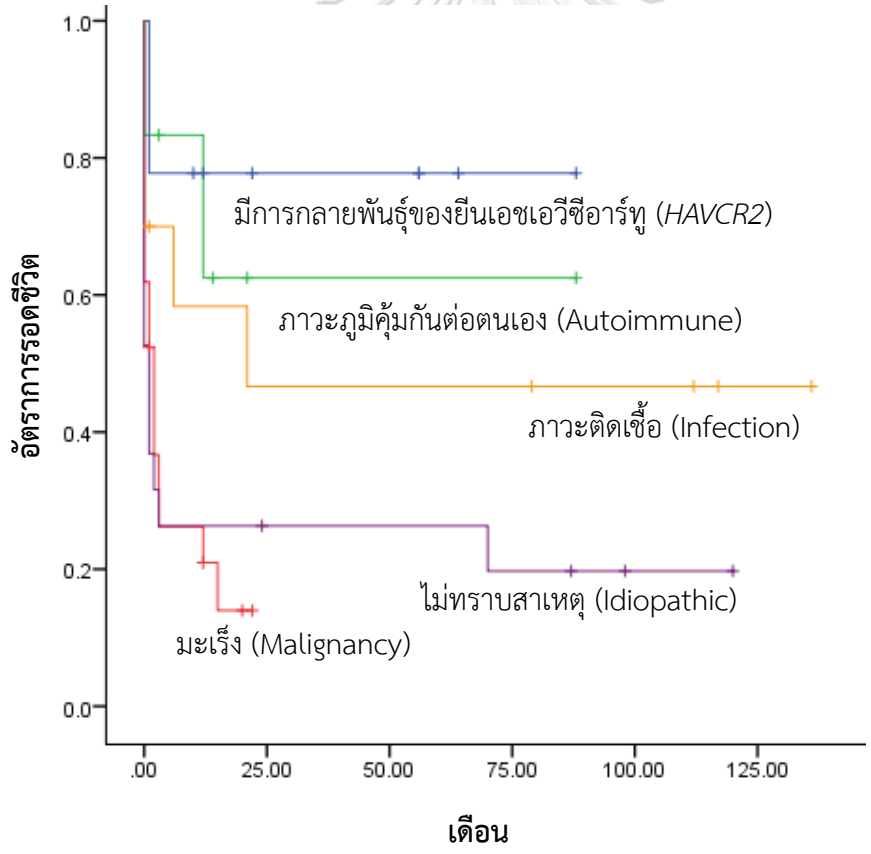



นอกจากนี้หากแบ่งตามกลุ่มย่อยเป็น 5 กลุ่ม จะพบว่าภาวะฮีโมฟาโกไซซิกซินโดรม (HLH) ในกลุ่มที่มีกลายพันธุ์ของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (*HAVCR2*) มีอัตราการรอดชีวิตที่ดีที่สุดและดีกว่าอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มที่เกิดจากมะเร็ง **(รูปที่ 3 และตารางที่ 3)** และเมื่อวิเคราะห์ปัจจัยที่มีผลต่อการรอดชีวิตด้วย Cox regression analysis พบว่าไม่มีปัจจัยใดที่ส่งผลต่ออัตราการรอดชีวิตของ

ภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม ยกเว้นการมีการกลายพันธุ์ของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (*HAVCR2*) ดังที่ได้กล่าวถึงไปเบื้องต้น **(ตารางที่ 4)**

**รูปที่ 3 อัตราการรอดชีวิตโดยแบ่งสาเหตุการเกิดภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม(HLH) เป็น 5 กลุ่ม**

Kaplan-Meier Curve แสดงอัตราการรอดชีวิต (overall survival) โดยแบ่งสาเหตุการเกิดภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) ออกเป็น 5 กลุ่ม คือ มีการกลายพันธุ์ของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (HAVCR2) (สีน้ำเงิน), ภาวะภูมิคุ้มกันต่อตนเอง (Autoimmune) (สีเขียว), กลุ่มภาวะติดเชื้อ (Infection) (สีส้ม) ไม่ทราบสาเหตุ (Idiopathic) (สีม่วง) และกลุ่มมะเร็ง (Malignancy) (สีแดง) และมี P value = 0.013 จาก log rank test



**ตารางที่ 3** เปรียบเทียบ Hazard ratio ของสาเหตุการเกิดภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH)

| ตัวแปร | HR (95%CI) | P value |
|---|---|---|
| มะเร็ง (Malignancy) | ตัวเปรียบเทียบ | |
| มีการกลายพันธุ์ของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (*HAVCR2*) | 0.16 (0.04-0.69) | 0.014 |
| ภาวะภูมิคุ้มกันต่อตนเอง (Autoimmune) | 0.26 (0.06-1.12) | 0.071 |
| ภาวะติดเชื้อ (Infection) | 0.44 (0.16-1.19) | 0.106 |
| ไม่ทราบสาเหตุ (Idiopathic) | 0.89 (0.44-1.81) | 0.752 |

**ตารางที่ 4** แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยต่างๆกับอัตราการรอดชีวิต

| ตัวแปร | HR (95%CI) | P value |
|---|---|---|
| อายุ | 1.012 (0.99-1.03) | 0.173 |
| เพศ (ชาย) | 1.288 (0.68-2.45) | 0.443 |
| ฮีโมโกลบิน | 0.957 (0.74-1.23) | 0.733 |
| เกล็ดเลือด | 0.994 (0.99-1.00) | 0.131 |
| จำนวนเม็ดเลือดขาว | 0.970 (0.92-1.03) | 0.278 |
| จำนวนนิวโตรฟิล | 0.954 (0.89-1.02) | 0.163 |
| ไตรกลีเซอร์ไลด์ | 0.999 (0.99-1.00) | 0.406 |
| ฟิบริโนเจน | 1.155 (0.93-1.44) | 0.200 |
| เฟอริติน | 1.000 (1.00-1.00) | 0.177 |
| การรักษาเมื่อแรกวินิจฉัย | | |
| สเตียรอยด์ | 1.689 (0.60-4.76) | 0.321 |
| อีโตโปไซด์ | 1.571 (0.84-2.94) | 0.158 |
| ไซโคลสปอริน | 0.709 (0.31-1.60) | 0.408 |
| ไอวีไอจี | 1.063 (0.55-2.01) | 0.856 |
| มีการกลายพันธุ์ของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (*HAVCR2*) | 0.218 (0.05-0.90) | 0.036 |

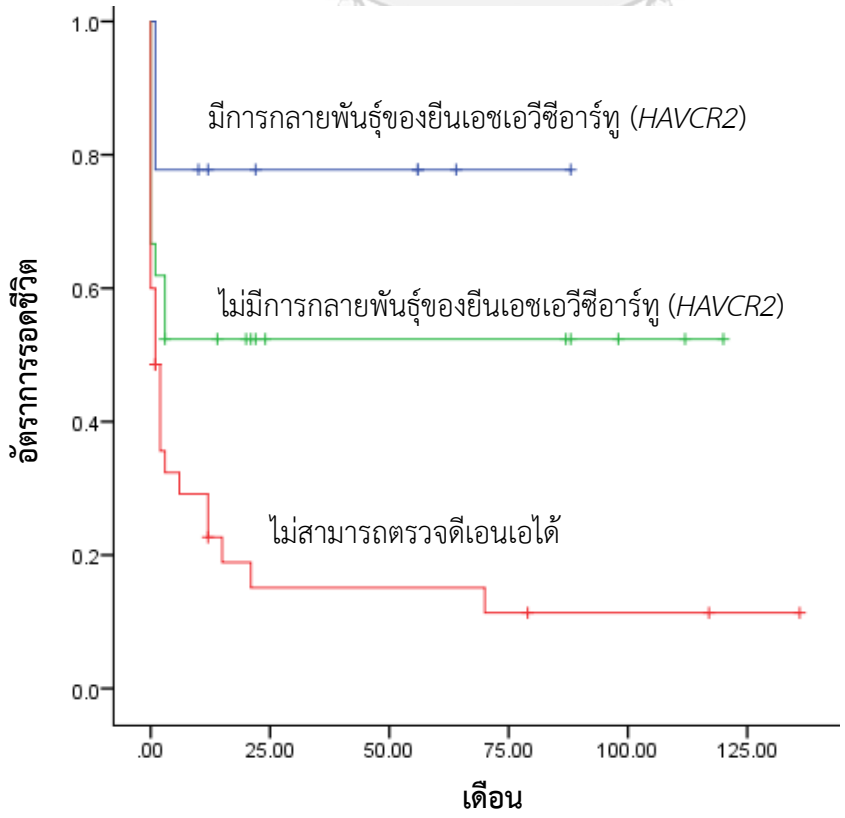
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลเฉพาะในผู้ป่วยที่สามารถตรวจดีเอนเอ (DNA) ได้เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่สามารถตรวจดีเอนเอ (DNA) ได้ พบว่ากลุ่มที่มีการกลายพันธุ์ของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (*HAVCR2*) มีอัตราการรอดชีวิตที่ดีกว่ากลุ่มที่ไม่ได้ตรวจดีเอนเอ **(รูปที่ 4)** โดยมี HR 0.163, 95% CI 0.04-0.69 P value = 0.013

สำหรับข้อมูลเฉพาะกลุ่มที่สามารถตรวจดีเอนเอ (DNA) ได้ทั้งหมด 30 คน พบว่าอัตราการรอดชีวิตของกลุ่มที่มีและไม่มีการกลายพันธุ์ของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (*HAVCR2*) โดยมี HR 0.372, 95% CI 0.08-1.69 P value = 0.202 **(รูปที่ 5)** และเมื่อแยกเป็นกลุ่มย่อย 5 กลุ่มก็ไม่พบความแตกต่างกันของแต่ละสาเหตุของภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) **(รูปที่ 6 และตารางที่ 5)**

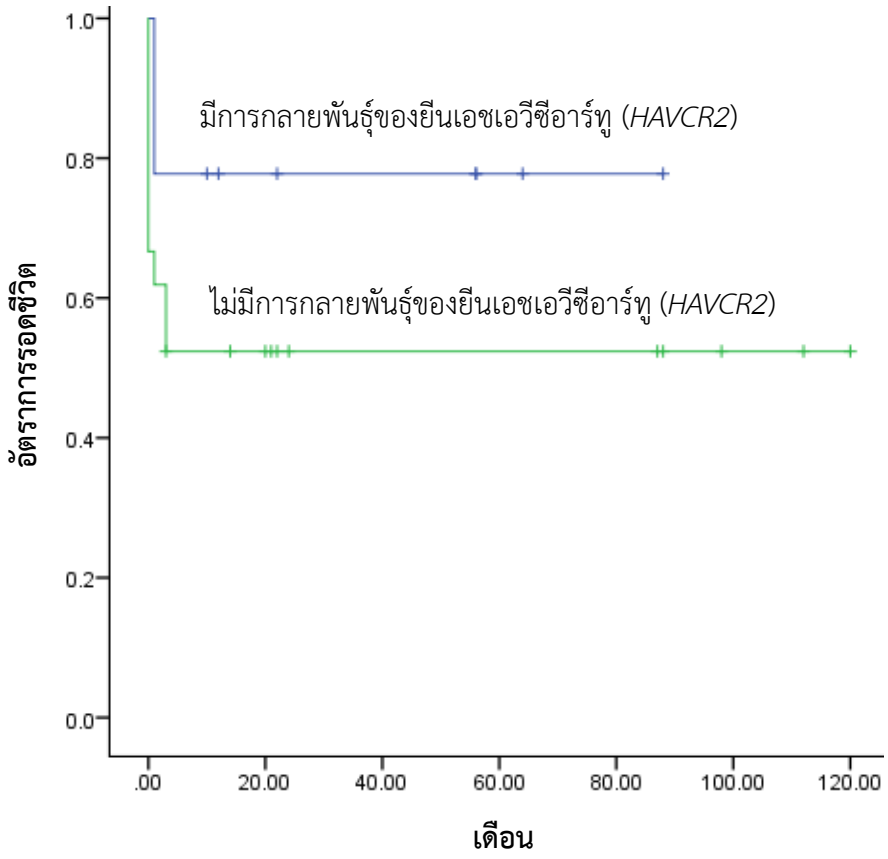
**รูปที่ 4 อัตราการรอดชีวิตโดยแบ่งสาเหตุการเกิดภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม(HLH) เป็น 3 กลุ่ม เฉพาะกลุ่มที่ตรวจดีเอนเอได้**

Kaplan-Meier Curve แสดงอัตราการรอดชีวิต (overall survival) โดยแบ่งสาเหตุการเกิดภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) ออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ คือ มีการกลายพันธุ์ของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (*HAVCR2*) (สีน้ำเงิน), ไม่มีการกลายพันธุ์ของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (*HAVCR2*) (สีเขียว) และกลุ่มที่ไม่สามารถตรวจดีเอนเอได้ (สีแดง) และมี P value = 0.002 จาก log rank test



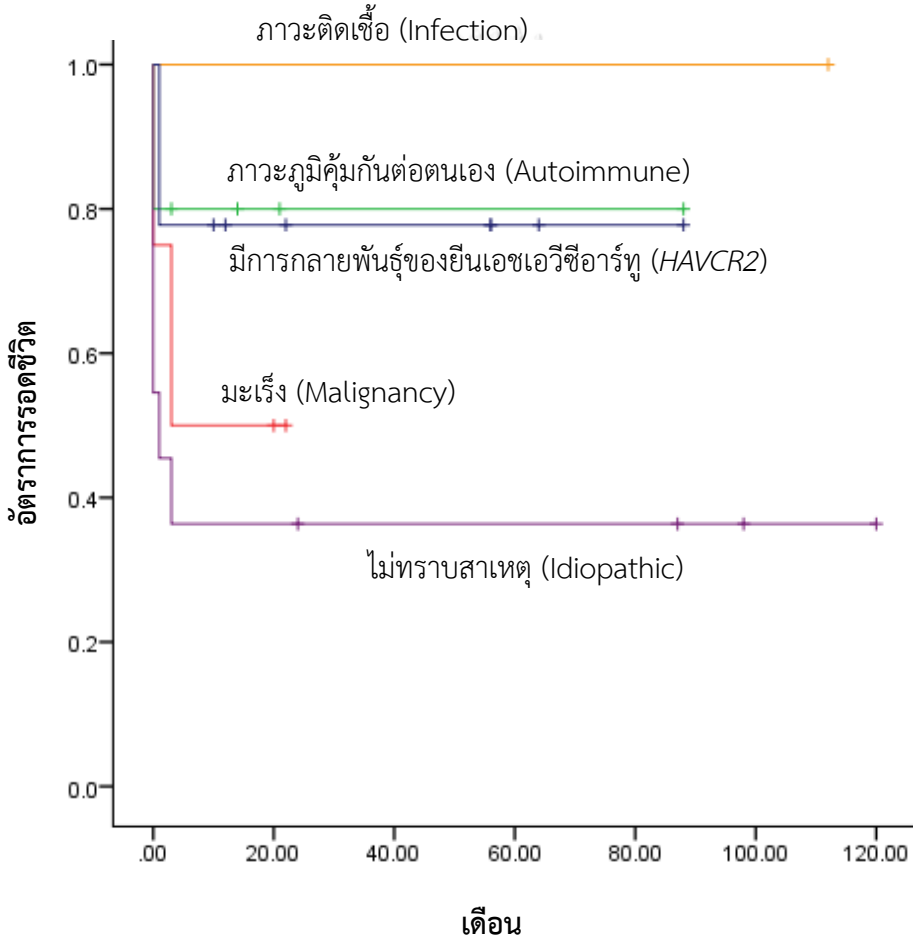
**รูปที่ 5 อัตราการรอดชีวิตโดยแบ่งสาเหตุการเกิดภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม(HLH) เป็น 2 กลุ่ม เฉพาะกลุ่มที่ตรวจดีเอนเอได้**

Kaplan-Meier Curve แสดงอัตราการรอดชีวิต (overall survival) โดยแบ่งสาเหตุการเกิดภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) ออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ มีการกลายพันธุ์ของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (*HAVCR2*) (สีน้ำเงิน), ไม่มีการกลายพันธุ์ของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (*HAVCR2*) (สีเขียว) และมี P value = 0.188 จาก log rank test



**รูปที่ 6 อัตราการรอดชีวิตโดยแบ่งสาเหตุการเกิดภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม(HLH) เป็น 5 กลุ่ม เฉพาะกลุ่มที่ตรวจดีเอนเอได้**

Kaplan-Meier Curve แสดงอัตราการรอดชีวิต (overall survival) โดยแบ่งสาเหตุการเกิดภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) ออกเป็น 5 กลุ่ม คือ มีการกลายพันธุ์ของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (HAVCR2) (สีน้ำเงิน), ภาวะภูมิคุ้มกันต่อตนเอง (Autoimmune) (สีเขียว), กลุ่มภาวะติดเชื้อ (Infection) (สีส้ม) ไม่ทราบสาเหตุ (Idiopathic) (สีม่วง) และกลุ่มมะเร็ง (Malignancy) (สีแดง) และมี P value = 0.230 จาก log rank test



**ตารางที่ 5** เปรียบเทียบ Hazard ratio ของสาเหตุการเกิดภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) เฉพาะกลุ่มที่ตรวจดีเอนเอได้

| ตัวแปร | HR (95%CI) | P value |
|---|---|---|
| มะเร็ง (Malignancy) | ตัวเปรียบเทียบ | |
| มีการกลายพันธุ์ของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (*HAVCR2*) | 0.394 (0.06-2.80) | 0.352 |
| ภาวะภูมิคุ้มกันต่อตนเอง (Autoimmune) | 0.391 (0.04-4.31) | 0.443 |
| ภาวะติดเชื้อ (Infection) | ไม่สามารถคำนวณได้ | |
| ไม่ทราบสาเหตุ (Idiopathic) | 1.653 (0.34-7.97) | 0.531 |

เมื่อวิเคราะห์ในกลุ่มของคนที่มีการกลายพันธุ์ของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (*HAVCR2*) ทั้งหมด 9 คน พบว่ากลุ่มมีการกลายพันธุ์แบบโฮโมไซกัส และเฮเทอโรไซกัส ไม่ได้มีลักษณทางคลินิกที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ **(ตาราง 6)** และกลุ่มที่มีกลายพันธุ์แบบโฮโมไซกัสมีอัตราการรอดชีวิตที่ดีกว่าจากการคำนวณ log rank test (P value = 0.033) แต่เมื่อคำนวณด้วย cox regression analysis พบว่าไม่ได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ คือ HR 0.004 95% CI 0-6,361 P value = 0.446

**ตารางที่ 6** ข้อมูลผู้ป่วยในกลุ่มที่มีการกลายพันธุ์ของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (*HAVCR2*)

| **ข้อมูลทั่วไปของผู้ป่วย** | **กลุ่มที่มีการกลายพันธุ์ยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (N = 9)** | **กลายพันธุ์แบบโฮโมไซกัส (N = 6)** | **กลายพันธุ์แบบเฮเทอโรไซกัส (N = 3)** | **P - value** |
|---|---|---|---|---|
| อายุ (ปี, มัธยฐาน [ค่าพิสัยระหว่างควอไทล์]) | 30 [17.5,52.5] | 29 [16.7,50.5] | 30 [18,-] | 1.000 |
| เพศ | | | | |
| ชาย | 4 (44.4%) | 3 (50%) | 1 (33.3%) | 1.000 |
| หญิง | 5 (55.6%) | 3 (50%) | 2 (66.7%) | |
| เกณฑ์วินิจฉัยภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (จำนวนข้อ) | | | | |
| 3 | 1 (11.1%) | 1 (16.7%) | 0 (0%) | 0.381 |
| 4 | 1 (11.1%) | 0 (0%) | 1 (33.3%) | |
| 5 | 4 (44.4%) | 2 (33.3%) | 2 (66.7%) | |
| 6 | 3 (33.3%) | 3 (50%) | 0 | |

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| มัธยฐาน [ค่าพิสัยระหว่างควอไทล์] | 5[4.5, 6] | 5.5[4.5, 6] | 5[4, -] | |
| ไข้ | 9 (100%) | 6 (100%) | 3 (100%) | 1.000 |
| ฮีโมโกลบิน (กรัมต่อเดซิลิตร, มัธยฐาน [ค่าพิสัยระหว่างควอไทล์]) | 8.9 [7.4,9.5] | 8.8 [7.4,9.0] | 9.6 [7.4,-] | 0.262 |
| เกล็ดเลือด (x $10^9$ ต่อลิตร, มัธยฐาน [ค่าพิสัยระหว่างควอไทล์]) | 84.0 [47,136.5] | 67.5 [48.5,124.8] | 90.0 [4.0,-] | 1.000 |
| จำนวนเม็ดเลือดขาว (x $10^9$ ต่อลิตร , มัธยฐาน [ค่าพิสัยระหว่างควอไทล์]) | 1.3 [0.7,1.9] | 1.2 [0.9,1.5] | 1.97 [0.1,-] | 0.548 |
| จำนวนนิวโตรฟิล (x $10^9$ ต่อลิตร, มัธยฐาน [ค่าพิสัยระหว่างควอไทล์]) | 0.7 [0.2,1.3] | 0.6 [0.2,0.8] | 1.53 [0,-] | 0.548 |
| ภาวะม้ามโต | 6 (66.7%) | 4 (66.7%) | 2 (66.7%) | 1.000 |
| เฟอริติน (ไมโครกรัมต่อลิตร, มัธยฐาน [ค่าพิสัยระหว่างควอไทล์]) | 14,957 [6,482 , 83,437] | 10,300 [6,675 , 15,675] | 8,349 [5,967,-] | 0.548 |
| ฟิบริโนเจน (กรัมต่อลิตร, มัธยฐาน [ค่าพิสัยระหว่างควอไทล์]) | 1.2 [0.8,2.0] | 1.0 [ 0.7,1.6] | 4.1 [1.3,-] | 0.286 |
| ไตรกลีเซอร์ไลด์(มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร, มัธยฐาน [ค่าพิสัยระหว่างควอไทล์]) | 274 [203,389] | 310 [188.5, 961.25] | 251 [164,-] | 0.714 |
| ภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรมในไขกระดูก | 8 (88.9%) | 5 (83.3%) | 3 (100%) | 1.000 |
| การรักษาเมื่อแรกวินิจฉัย | | | | |
| สเตียรอยด์ | 9 (100%) | 6 (100%) | 3 (100%) | 1.000 |
| อีโตโปไซด์ | 3 (33.3%) | 2 (33.3%) | 1 (33.3%) | 1.000 |
| ไซโคลสปอริน | 5 (55.6%) | 4 (66.7%) | 1 (33.3%) | 0.524 |
| ไอวีไอจี | 3 (33.3%) | 1 (16.7%) | 2 (66.7%) | 0.226 |

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

# บทที่ 5
# อภิปรายผล สรุปผลการวิจัย และ ข้อเสนอแนะ

## 5.1 อภิปรายผล

การกลายพันธุ์ของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (*HAVCR2*) ตรวจพบครั้งแรกในมะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิด SPTCL และพบว่ามีความสัมพันธ์กับการเกิดภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH)[7] เช่นเดียวกับงานวิจัยนี้ที่พบว่ามีการกลายพันธุ์ของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (*HAVCR2*) ในมะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิด SPTCL ที่มีภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) ในผู้ป่วย 4 คน และที่น่าสนใจคือในจำนวนผู้ป่วย 61% (11 ใน 18 คน) ที่มีภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) และไม่ทราบสาเหตุ ตรวจพบว่ามีการกลายพันธุ์ของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (*HAVCR2*) 36% (4 ใน 11 คน) โดยงานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยแรกที่แสดงให้เห็นถึงการกลายพันธุ์แต่กำเนิดของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (germline *HAVCR2*) ในภาวะฮีโมฟา-โกไซติกซินโดรม (HLH) ที่ไม่ทราบสาเหตุและไม่ใช่โรคมะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิด SPTCL ซึ่งการที่มีการกลายพันธุ์นี้ในภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) มีความสัมพันธ์กับการมีอัตราการรอดชีวิตที่ดีกว่ากลุ่มที่เกิดจากสาเหตุอื่นๆ และเนื่องจากการรักษาด้วยยาไซโคลสปอริน (cyclosporin) มีมากกว่าในกลุ่มที่มีการกลายพันธุ์ ซึ่งอาจจะมีผลต่ออัตราการรอดชีวิต แต่เมื่อวิเคราะห์ด้วย cox regression analysis ไม่พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างกลุ่มที่มีและไม่มีการกลายพันธุ์ที่ใช้ยาไซโคลสปริน (cyclosporin) (HR 0.017 95%CI 0.02-1.46) P value = 0.107)

ในทางตรงกันข้ามภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) ที่เกิดจากมะเร็ง หรือไม่ทราบสาเหตุ และไม่มีการกลายพันธุ์ของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (*HAVCR2*) มีอัตราการรอดชีวิตที่ค่อนข้างแย่ และผู้ป่วยที่มีภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) ที่เกิดจากการกลายพันธุ์ของยีนนี้จะมีภาวะซีดที่น้อยกว่า มีจำนวนเม็ดเลือดขาวและนิวโตรฟิลที่ต่ำกว่า รวมถึงมีพยากรณ์โรคที่ดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรมกลุ่มที่ไม่มีการกลายพันธุ์ของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (*HAVCR2*)

การกลายพันธุ์ของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (*HAVCR2*) ทำให้ภูมิคุ้มกันของร่างกายตอบสนองผิดปกติและทำงานมากขึ้น ผ่านการสร้างโปรตีน TIM3 ที่ผิดรูป (misfold) ซึ่งความผิดปกติของภูมิคุ้มกันดังกล่าวนำไปสู่การเกิดมะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิด SPTCL และภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) ได้ในที่สุด [7, 10] เนื่องจากมะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิด SPTCL มีพยาธิกำเนิดจากการควบคุมภูมิคุ้มกันที่ไม่ปกติดังกล่าวข้างต้น ทำให้โรคมะเร็งนี้เองมีการดำเนินโรคที่ค่อยเป็นค่อยไป (indolent) โดยสามารถรักษาด้วยยากดภูมิคุ้มกัน แล้วให้ผลการรักษาและการตอบสนองที่ดีแม้ไม่มียาเคมีบำบัด

ในสูตรการรักษาก็ตาม [12, 15] เช่นเดียวกันกับผู้ป่วยภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) จากการกลายพันธุ์ของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (*HAVCR2*) ที่อาจจะมีกลไกลการเกิดโรคที่คล้ายกับมะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิด SPTCL ทำให้ภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) ชนิดนี้มีพยากรณ์โรคที่ดี สำหรับโรคมะเร็งการที่มีเซลล์มะเร็งเพิ่มจำนวนและกระจายไป (high tumor burden) ทำให้เกิดการหลั่งสารไซโตไคน์ (cytokine) ที่มากขึ้นผิดปกติ ร่วมกับการมีภาวะภูมิคุ้มกันที่บกพร่องไป จากการรักษาด้วยยาเคมีบำบัดและตัวโรคมะเร็งเอง ทำให้ง่ายต่อการติดเชื้อแทรกซ้อน และทั้งหมดนี้นำไปสู่การเกิดภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) ได้ [22] เป็นเหตุให้ภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) ที่เกิดจากมะเร็งมีอัตราตายที่สูง รวมถึงมีพยากรณ์โรคที่แย่ ส่วนในกลุ่มที่ไม่ทราบสาเหตุของการเกิดภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม การที่มีการเสียชีวิตค่อนข้างสูงน่าจะเกิดจากที่ไม่มีการรักษาที่เหมาะสมและตรงต่อตัวโรค เพราะสาเหตุที่แน่ชัดไม่สามารถระบุได้และไม่ได้การรักษาที่สาเหตุโดยตรง

ในงานศึกษาวิจัยนี้มีผู้ป่วยที่มีภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) จากการกลายพันธุ์ของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (*HAVCR2*) 1 คนจาก 6 คน คิดเป็นร้อยละ 16.7 ที่เสียชีวิตหลังจากรักษาด้วยยากดภูมิคุ้มกันเพียงอย่างเดียว ในขณะที่มี 1 คนจาก 3 คน คิดเป็นร้อยละ 33.3 ที่ได้รับการรักษาที่มียาเคมีบำบัดคือ อีโตโปไซด์ (etoposide) ในสูตรการรักษาและเสียชีวิต เป็นไปในทางเดียวกับรายงานผู้ป่วย (case report) ที่มีภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) จากการกลายพันธุ์ของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (*HAVCR2*) และมีการอักเสบของชั้นไขมันในเยื่อบุช่องท้อง (omental panniculitis) เดิม ผู้ป่วยได้รับการรักษาด้วยยาเคมีบำบัดตามสูตรการรักษา HLH-94 และวางแผนจะทำการปลูกถ่ายไขกระดูกร่วมด้วย แต่หลังจากรู้ผลการตรวจเพิ่มเติมว่ามีการกลายพันธุ์ของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (*HAVCR2*) จึงได้ปรับการรักษาเป็นยาที่ไม่ใช่กลุ่มยาเคมีบำบัด ประกอบด้วยไซโคลสปอริน (cyclosporin) และสเตียรอยด์แทน ซึ่งให้ผลการรักษาและการตอบสนองที่ดีแม้ไม่ได้ปลูกถ่ายไขกระดูกก็ตาม [23] จากผลลัพธ์ทั้งหมดนี้สนับสนุนว่าควรตรวจหายีนที่มีกลายพันธุ์ในภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) โดยเฉพาะกลุ่มที่ไม่ทราบสาเหตุชัดเจน เพราะการรักษาที่เหมาะสมอาจจะใช้เพียงยากดภูมิคุ้มกันมากกว่ายาเคมีบำบัดที่มีผลข้างเคียงค่อนข้างมาก

ในจำนวนผู้ป่วยทั้ง 9 คนที่มีการกลายพันธุ์ของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (*HAVCR2*) พบว่ามี 5 คนที่เป็นมะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิด SPTCL และ 1 คนที่ไม่ทราบสาเหตุชัดเจน มีการกลายพันธุ์แบบโฮโมไซกัส (homozygous) และกลุ่มที่ไม่ทราบสาเหตุอีก 3 คนที่เหลือมีการกลายพันธุ์แบบเฮเทอโรไซกัส (heterozygous) ซึ่งจากการศึกษาที่ผ่านมากลุ่มที่มีการกลายพันธุ์แบบโฮโมไซกัส (homozygous) จะมีความสัมพันธ์กับการเกิดมะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิด SPTCL และภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม

(HLH) [6] แต่ในกลุ่มที่กลายพันธุ์แบบเฮเทอโรไซกัส (heterozygous) ยังไม่มีการอธิบายถึงความสัมพันธ์ที่ชัดเจนนัก โดยในกลุ่มนี้อาจจะมีการกลายพันธุ์ของยีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการจัดการการอักเสบในร่างกาย หรือมีสาเหตุอื่นที่ยังไม่ทราบร่วมด้วย แต่สำหรับการศึกษาวิจัยนี้จากข้อมูลผู้ป่วยเบื้องต้น ไม่พบความแตกต่างกันอย่างชัดเจนใน 2 กลุ่มนี้ ดังนั้นอาจจะต้องมีการศึกษาในอนาคตเพื่อดูถึงความสัมพันธ์ของยีนกับตัวโรคที่มากขึ้น

**5.2 สรุปผล**

การศึกษาวิจัยนี้ชี้ให้เห็นว่าการกลายพันธุ์ของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (*HAVCR2*) อาจจะสามารถแยกสาเหตุของการเกิดภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) เป็นอีกกลุ่มหนึ่งที่มีอัตราการรอดชีวิตที่ดีกว่าสาเหตุอื่น ร่วมกับช่วยบอกแนวทางการรักษาที่ใช้สูตรยาที่รุนแรงน้อยลงกว่าเดิมได้ และมีการพยากรณ์โรคที่ดี

**5.3 เปรียบเทียบกับการศึกษาก่อนหน้าที่เคยศึกษา**

เนื่องจากไม่เคยมีการศึกษาวิจัยในเรื่องความสัมพันธ์ของการเกิดภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) กับการกลายพันธุ์ของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (*HAVCR2*) มาก่อน จึงไม่สามารถเปรียบเทียบได้

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

**5.4 ข้อดีของการศึกษานี้**

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาย้อนหลังไป 10 ปีและมีการเก็บข้อมูลไปข้างหน้าเพิ่มอีกประมาณ 1 ปีครึ่ง ซึ่งเป็นระยะเวลาที่ค่อนข้างนาน ทำให้มีการเก็บรวบรวมผู้ป่วยที่มีภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) ได้มากแม้จะเป็นโรคที่มีอุบัติการณ์ไม่เยอะ และใช้การตรวจดีเอนเอ เพื่อตรวจหาการกลายพันธุ์ในหลายตำแหน่งที่เป็นไปได้ ซึ่งครอบคลุมตำแหน่งการกลายพันธุ์ของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (*HAVCR2*) ที่เคยมีการกล่าวถึง รวมถึงเป็นการขยายผลจากการศึกษาที่ผ่านมาของโรคมะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิด SPTCL ที่มีความสัมพันธ์กับการกลายพันธุ์ของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (*HAVCR2*) และการเกิดภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) ทำให้รู้ว่ามีสาเหตุการเกิดโรคที่สามารถรักษาด้วยยากดภูมิคุ้มกัน และไม่ต้องรับผลข้างเคียงของการรักษาที่รุนแรงเหมือนเก่า ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อผู้ป่วยในอนาคต

**5.5 ข้อด้อยของการศึกษานี้**

ในการศึกษาวิจัยนี้ใช้เกณฑ์การวินิจฉัยภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) ของปีค.ศ. 2004 ซึ่งมีการตรวจทางห้องปฏิบัติการบางอย่างที่ไม่สามารถตรวจได้ในประเทศไทย เช่น การทำงานของเอ็นเคเซลล์ (NK cell activity) และ sCD25 จึงอาจทำให้ผู้ป่วยที่เข้าเกณฑ์การวินิจฉัยมีน้อยลง งานศึกษาวิจัยนี้จึงรวมผู้ป่วยที่มีอาการทางคลินิกที่เข้ากับภาวะนี้ได้ในกรณีไม่ครบตามเกณฑ์การวินิจฉัยของปีค.ศ. 2004 (HLH-like systemic illness) และการเก็บข้อมูลย้อนหลังที่ 10 ปีทำให้มีบางส่วน (53.8%) ที่ไม่สามารถตรวจดีเอนเอได้ ไม่ว่าจะจากการที่ไม่มีสิ่งส่งตรวจ หรือส่งตรวจแล้วคุณภาพของดีเอนเอไม่ดีพอสำหรับการตรวจหาการกลายพันธุ์

**5.6 ข้อเสนอแนะ**

การศึกษาวิจัยเพิ่มเติมโดยเฉพาะการศึกษาวิจัยไปข้างหน้า (prospective study) รวมถึงการรวบรวมข้อมูลเพิ่มเติมในสถาบันหรือโรงพยาบาลอื่น (multicenter) เพื่อเพิ่มจำนวนผู้ป่วยในการศึกษาวิจัยน่าจะให้ข้อมูลของความสัมพันธ์ระหว่างการกลายพันธุ์ของยีนเอชเอวีซีอาร์ทู (*HAVCR2*) กับภาวะฮีโมฟาโกไซติกซินโดรม (HLH) ได้มากขึ้น และมีอำนาจทางสถิติ (power) ของการศึกษาวิจัยมากขึ้น นอกจากนี้อาจศึกษาเพิ่มเติมในระดับที่ลึกลงไปเช่น การเปลี่ยนแปลงของโปรตีนที่ควบคุมการแสดงออกของยีน (transcription factor) ว่ามีความแตกต่างกันในกลุ่มที่มีและไม่มีการกลายพันธุ์หรือไม่ เพื่อเข้าใจในกระบวนการเกิดโรคที่มากขึ้น หรือเป็นแนวทางในการหาการรักษาใหม่ในอนาคต

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

# บรรณานุกรม


1. Al-Samkari H, Berliner N. Hemophagocytic Lymphohistiocytosis. Annual review of pathology. 2018;13:27-49.

2. Jordan MB, Allen CE, Weitzman S, Filipovich AH, McClain KL. How I treat hemophagocytic lymphohistiocytosis. Blood. 2011;118(15):4041-52.

3. Musick SR, Lynch DT. Subcutaneous Panniculitis Like T-cell Lymphoma. StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing



Copyright © 2021, StatPearls Publishing LLC.; 2021.



4. Willemze R, Jansen PM, Cerroni L, Berti E, Santucci M, Assaf C, et al. Subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma: definition, classification, and prognostic factors: an EORTC Cutaneous Lymphoma Group Study of 83 cases. Blood. 2008;111(2):838-45.

5. Willemze R. Cutaneous lymphomas with a panniculitic presentation. Seminars in diagnostic pathology. 2017;34(1):36-43.

6. Polprasert C, Takeuchi Y, Kakiuchi N, Yoshida K, Assanasen T, Sitthi W, et al. Frequent germline mutations of HAVCR2 in sporadic subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma. Blood Adv. 2019;3(4):588-95.

7. Gayden T, Sepulveda FE, Khuong-Quang D-A, Pratt J, Valera ET, Garrigue A, et al. Germline HAVCR2 mutations altering TIM-3 characterize subcutaneous panniculitis-like T cell lymphomas with hemophagocytic lymphohistiocytic syndrome. Nature Genetics. 2018;50(12):1650-7.

8. Sonigo G, Battistella M, Beylot-Barry M, Ingen-Housz-Oro S, Franck N, Barete S, et al. HAVCR2 mutations are associated with severe hemophagocytic syndrome in subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma. Blood. 2020;135(13):1058-61.

9. Monney L, Sabatos CA, Gaglia JL, Ryu A, Waldner H, Chernova T, et al. Th1-specific cell surface protein Tim-3 regulates macrophage activation and severity of an autoimmune disease. Nature. 2002;415(6871):536-41.

10. Das M, Zhu C, Kuchroo VK. Tim-3 and its role in regulating anti-tumor immunity. Immunological reviews. 2017;276(1):97-111.



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

11. Wolf Y, Anderson AC, Kuchroo VK. TIM3 comes of age as an inhibitory receptor. Nature reviews Immunology. 2020;20(3):173-85.

12. Alsomali DY, Bakshi N, Kharfan-Dabaja M, El Fakih R, Aljurf M. Diagnosis and treatment of subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma: A systematic literature review. Hematology/Oncology and Stem Cell Therapy. 2021.

13. Sugeeth MT, Narayanan G, Jayasudha AV, Nair RA. Subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma. Proc (Bayl Univ Med Cent). 2017;30(1):76-7.

14. Parveen Z, Thompson K. Subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma: redefinition of diagnostic criteria in the recent World Health Organization-European Organization for Research and Treatment of Cancer classification for cutaneous lymphomas. Archives of pathology & laboratory medicine. 2009;133(2):303-8.

15. Michonneau D, Petrella T, Ortonne N, Ingen-Housz-Oro S, Franck N, Barete S, et al. Subcutaneous Panniculitis-like T-cell Lymphoma: Immunosuppressive Drugs Induce Better Response than Polychemotherapy. Acta dermato-venereologica. 2017;97(3):358-64.

16. Parikh SA, Kapoor P, Letendre L, Kumar S, Wolanskyj AP. Prognostic factors and outcomes of adults with hemophagocytic lymphohistiocytosis. Mayo Clinic proceedings. 2014;89(4):484-92.

17. Henter JI, Horne A, Aricó M, Egeler RM, Filipovich AH, Imashuku S, et al. HLH-2004: Diagnostic and therapeutic guidelines for hemophagocytic lymphohistiocytosis. Pediatric blood & cancer. 2007;48(2):124-31.

18. Schram AM, Comstock P, Campo M, Gorovets D, Mullally A, Bodio K, et al. Haemophagocytic lymphohistiocytosis in adults: a multicentre case series over 7 years. 2016;172(3):412-9.

19. Dupont WD, Plummer WD, Jr. Power and sample size calculations. A review and computer program. Controlled clinical trials. 1990;11(2):116-28.

20. Blood DNA Yield but Not Integrity or Methylation Is Impacted After Long-Term Storage. 2016;14(1):29-38.

21. Gillio-Tos A, De Marco L, Fiano V, Garcia-Bragado F, Dikshit R, Boffetta P, et al. Efficient DNA extraction from 25-year-old paraffin-embedded tissues: study of 365 samples. Pathology. 2007;39(3):345-8.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

22. Daver N, McClain K, Allen CE, Parikh SA, Otrock Z, Rojas-Hernandez C, et al. A consensus review on malignancy-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis in adults. Cancer. 2017;123(17):3229-40.

23. Tromp SAM, Gillissen MA, Bernelot Moens SJ, van Leeuwen EMM, Jansen MH, Koens L, et al. Treatment of an HLH-mimic disease based on HAVCR2 variants with absent TIM-3 expression. Blood Advances. 2022;6(15):4501-5.



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

# ประวัติผู้เขียน

| | |
|---|---|
| **ชื่อ-สกุล** | พิชยุตม์ บุญญาบารมี |
| **วัน เดือน ปี เกิด** | 6 มกราคม 2534 |
| **สถานที่เกิด** | กรุงเทพมหานคร |
| **วุฒิการศึกษา** | จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย |
| **ที่อยู่ปัจจุบัน** | 47/49 ซ. สายไหม 34/1 แขวงสายไหม เขตสายไหม กทม. 10220 |
| **ผลงานตีพิมพ์** | - Boonyabaramee P, Pittayanon R, Sunpavat A, Lerttanatum N, Faknak N, Wisedopas N. The Helicobacter pylori detection rate by using combination of rapid urease test at antrum and body vs histopathology in population who stop proton pump inhibitor less than 2 weeks. GastroHep. 2021; 3: 339– 343.<br>- Moonla C, Polprasert C, Komvilaisak P, et al. Germline HAVCR2 mutations and their relation to the clinical spectrum of subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma and hemophagocytic lymphohistiocytosis: results from a multicenter study and meta-analysis [published online ahead of print, 2023 Apr 13]. Haematologica. 2023;10.3324/haematol.2022.282419.<br>- Boonyabaramee P, Polprasert C, Kongkiatkamon S, Kobbuaklee S, Settapiboon R, Pongudom S, Faknuam S, Rojnuckarin P; Good Prognosis of Adult Hemophagocytic Lymphohistiocytosis (HLH) Associated with the HAVCR2 germline Mutation. Blood 2022; 140 (Supplement 1): 8316–8317. |
| **รางวัลที่ได้รับ** | - รางวัลแพทย์ประจำบ้านต่อยอดดีเด่น ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ประจำปี 2565 |

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University