

ความแตกต่างในการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดสูตรเจมิไซตาบีนกับแพลตตินัมและสูตร
แพคลิแทกเซลกับแพลตตินัมในมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กกระเพาะอาหารที่มี
การแสดงออกของโปรตีนพี 53 มากกว่าปกติ

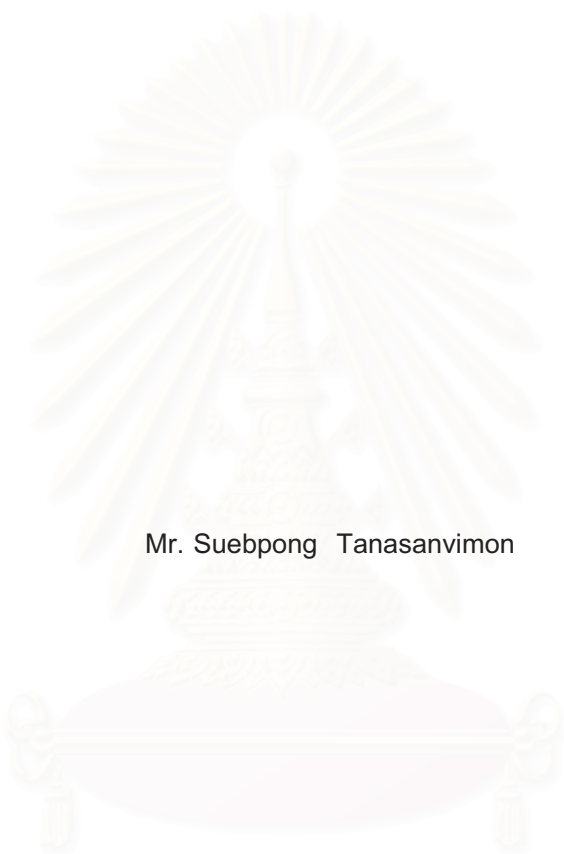


นายสีบพงศ์ ธนสารวิมล

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาอายุรศาสตร์ ภาควิชาอายุรศาสตร์
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2550
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

THE DIFFERENCE IN RESPONSE OF P53 OVEREXPRESSED ADVANCED NON-SMALL
CELL LUNG CANCER TO GEMCITABINE-PLATINUM DOUBLET AND
PACLITAXEL-PLATINUM DOUBLET



Mr. Suebpong Tanasanvimon

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

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

Department of Medicine

Faculty of Medicine

Chulalongkorn University

Academic Year 2007

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์ ความแตกต่างในการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดสูตรเจมไซตาบีนกับ
แพลตตินัมและสูตรแพคลิแทกเซลกับแพลตตินัมในมะเร็งปอดชนิดเซลล์
ไม่เล็กระยะท้ายที่มีการแสดงออกของโปรตีน พี 53 มากกว่าปกติ

โดย นาย สืบพงศ์ ธนสารวิมล

สาขาวิชา อายุรศาสตร์

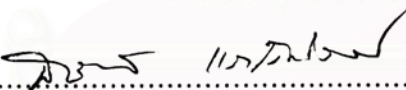
อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ วิโรจน์ ศรีอุฬารพงศ์


อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ นรินทร์ วรวุฒิ

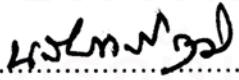
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่ง
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

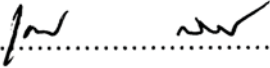

..... คณบดีคณะแพทยศาสตร์
(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ อติศร ภัทรากุลชัย)

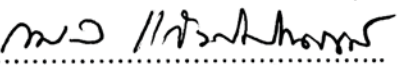
คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์


..... ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ สมเกียรติ แสงวัฒนาโรจน์)


..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ วิโรจน์ ศรีอุฬารพงศ์)


..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ นรินทร์ วรวุฒิ)


..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ เอกภพ สิริชัยนันท์)


..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ กมล แก้วกิติณรงค์)

สืบพงศ์ ธนสารวิมล : ความแตกต่างในการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดสูตรเจมไซตาบีนกับแพลตตินัมและ
 สูตรแพคลิแทกเซลกับแพลตตินัมในมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กระยะท้ายที่มีการแสดงออกของโปรตีน p53
 มากกว่าปกติ (THE DIFFERENCE IN RESPONSE OF P53 OVEREXPRESSED ADVANCED NON-
 SMALL CELL LUNG CANCER TO GEMCITABINE-PLATINUM DOUBLET AND PACLITAXEL
 PLATINUM DOUBLET) อ. ที่ปรึกษา : ผศ.นพ.วิโรจน์ ศรีอุฬารพงศ์, อ.ที่ปรึกษาร่วม : รศ.นพ.นรินทร์
 วรวุฒิ ; 61 หน้า.

ที่มา ยาเคมีบำบัดสูตร gemcitabine-platinum (PG) และสูตร paclitaxel-platinum (PT) เป็นสูตรยา
 มาตรฐานที่นิยมใช้ในการรักษาผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กระยะท้าย มีการศึกษาพบว่า การแสดงออกของโปรตีน
 p53 มีผลต่อการตอบสนองต่อยา cisplatin และยา gemcitabine แต่ไม่มีผลต่อยา paclitaxel ผู้วิจัยตั้งสมมติฐานว่า
 การแสดงออกของโปรตีน p53 อาจจะสามารถทำนายการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดที่ใช้ในการรักษามะเร็งปอดชนิด
 เซลล์ไม่เล็กระยะท้ายในยาสองสูตรดังกล่าว

ผู้ป่วยและวิธีการ ชิ้นเนื้อของผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กระยะท้ายที่ได้รับยาเคมีบำบัดสูตร PG หรือ
 สูตร PT 63 ชิ้นถูกนำมาย้อมทางอิมมูโน (immunohistochemical method) เพื่อดูการแสดงออกของโปรตีน p53 และ
 นำมาวิเคราะห์ความสัมพันธ์กับการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัด ระยะเวลาที่โรคจะลุกลาม และระยะเวลาการรอดชีวิต

ผลการวิจัย ในผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของโปรตีน p53 มากกว่าปกติมีแนวโน้มว่าผลการรักษาในกลุ่ม
 ที่ได้รับยาสูตร PT จะดีกว่า PG โดยมีอัตราการตอบสนองร้อยละ 35.0 เทียบกับร้อยละ 23.27, $p=0.29$ และระยะเวลา
 ที่โรคจะลุกลาม 161 ± 24.63 วันเทียบกับ 134 ± 36.51 วัน, $p=0.10$ เมื่อใช้เกณฑ์ที่ร้อยละ 10 พบว่าการแสดงออก
 ของโปรตีน p53 มีผลต่อการตอบสนองต่อยา PT แต่ไม่มีผลต่อยา PG ในขณะที่เมื่อใช้เกณฑ์ที่ร้อยละ 35 พบว่าการ
 แสดงออกของโปรตีน p53 มีผลต่อการตอบสนองต่อยา PG แต่ไม่มีผลต่อยา PT นอกจากนี้ยังพบว่า ผู้ป่วยที่มีการ
 แสดงออกของโปรตีน p53 มากกว่าปกติจะมีระยะเวลาที่จะมีการลุกลามของโรคสั้นกว่าผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของ
 โปรตีน p53 ปกติ

สรุปผลการวิจัย มีแนวโน้มที่การแสดงออกของโปรตีน p53 จะมีอิทธิพลต่อการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัด
 สูตรมาตรฐานที่ใช้รักษามะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กระยะท้าย ควรมีการศึกษาเพื่อหาเกณฑ์การย้อมติดสีของโปรตีน
 p53 ที่เหมาะสมและการศึกษาที่มีจำนวนผู้ป่วยมากขึ้น

ภาควิชา อายุรศาสตร์ ลายมือชื่อนิสิต
 สาขาวิชา อายุรศาสตร์ ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา
 ปีการศึกษา 2550 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

4974792530 : MAJOR MEDICINE (ONCOLOGY)

KEYWORD : P53 / ADVANCED NON-SMALL CELL LUNG CANCER / GEMCITABINE / PACLITAXEL

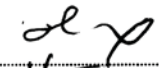
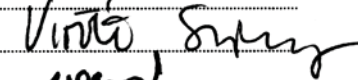

SUEBPONG TANASANVIMON : THE DIFFERENCE IN RESPONSE OF P53 OVEREXPRESSED ADVANCED NON-SMALL CELL LUNG CANCER TO GEMCITABINE-PLATINUM DOUBLET AND PACLITAXEL PLATINUM DOUBLET. THESIS ADVISOR: ASST.PROF.VIROTE SRIURANPONG, M.D. THESIS COVISOR : ASSOC.PROF.NARIN VORAVUD, M.D. 61 pp.

Background Platinum-paclitaxel (PT) and platinum-gemcitabine (PG) are the most frequently used standard first line systemic therapy for advanced non-small cell lung cancer (NSCLC). Earlier studies suggested that p53 expression may serve as one of the factors that could determine responsiveness to cisplatin and gemcitabine, but not paclitaxel. We hypothesized that the expression of p53 in lung cancer cells may be a predictive factor for chemotherapy response in NSCLC.

Patients and methods Sixty three advanced NSCLC patients' lung cancer tissue, treated with PG or PT, were analyzed for the level of p53 expression by immunohistochemistry. The association between p53 overexpression and tumor response, time to progression (TTP) and overall survival (OS) was analyzed.

Results In P53-overexpressed advanced NSCLC patients, there was a trend toward better treatment outcomes with the PT than the PG group. The response rate were 22.7% vs 35.0% (p=0.29) and TTP were 161 ± 24.63 days vs 134 ± 36.51 days (p=0.10) for PT vs PG group respectively. In the low level of P53 overexpression, the different response to PT regimen could be identified between the overexpression and no overexpression group. When P53 was highly overexpressed, the response to PG regimen was less than those of normally expressed P53 group. Moreover, P53 overexpression tumors were generally worse prognosis as demonstrated by a shorter TTP.

Conclusion Overexpression of P53 may be a predictor for the response to different combination chemotherapy regimen for advanced NSCLC. Further study in a larger population and confirmatory mutation analysis of p53 are warranted.

Department	Medicine	Student's signature	
Field of study	Medicine	Advisor's signature	
Academic year	2007	Co-advisor's signature	

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณทุกท่านที่มีส่วนร่วมทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงสมความมุ่งหมาย
สาขาวิชาอายุรศาสตร์โรคมะเร็ง ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

- | | |
|------------------------------------|---|
| 1. ผศ.นพ. วิโรจน์ ศรีอุฬารพงศ์ | อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ |
| 2. รศ.นพ. นรินทร์ วรรณิ | อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม |
| 3. ผศ.นพ. ธนินทร์ อัศววิเชียรจินดา | ให้คำปรึกษาเรื่องการวิเคราะห์ logistic regression |

ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

- | | |
|---------------------------------|---|
| 1. รศ.นพ. ชวิษฐ์ จันทรานุกวัฒน์ | ผู้คัดเลือกตัวอย่างและอ่านผลการย้อมทางอิมมูโน |
| 2. คุณปรีชา เรืองเวชวรชัย | ให้ความช่วยเหลือในการย้อมทางอิมมูโน |

รวมทั้งบิดา, มารดา และภรรยา

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ซ
สารบัญรูป.....	
บทที่	
1. บทนำ.....	1
2. มะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กกระยะท้าย.....	6
3. ยีน p53.....	13
4. ยีน p53 และมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็ก.....	18
5. บริหารศน์วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง.....	20
6. วัสดุและวิธีการ.....	23
7. ผลการวิจัย.....	30
8. อภิปรายผลการวิจัย.....	46
9. สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	49
รายการอ้างอิง.....	51
ภาคผนวก.....	59
ภาคผนวก ก.....	60
ประวัติผู้เขียน.....	61

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 2.1	การแบ่งระยะของโรคมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็ก.....	8
ตารางที่ 7.1	ข้อมูลพื้นฐานและปัจจัยทางคลินิกของผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กระยะท้ายทั้งหมดและแบ่งตามชนิดของสูตรยาเคมีบำบัดที่ได้รับ.....	32
ตารางที่ 7.2	เปรียบเทียบปัจจัยทางคลินิกในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กระยะท้ายที่มีการแสดงออกของโปรตีน p53 มากกว่าปกติ (เมื่อใช้เกณฑ์การยับยั้งมากกว่าร้อยละ 10) ที่ได้รับยาเคมีบำบัดที่แตกต่างกัน 2 กลุ่ม.....	33
ตารางที่ 7.3	สัดส่วนการแสดงออกของโปรตีน p53 มากกว่าปกติที่เกณฑ์การยับยั้งที่ระดับต่าง ๆ.....	34
ตารางที่ 7.4	พื้นที่ใต้กราฟของ ROC curve ของการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดสูตร gemcitabine-platinum และ paclitaxel-platinum ในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กระยะท้ายที่มีการแสดงออกของโปรตีน p53 โดยอาศัยเกณฑ์การยับยั้งด้วยวิธีทางอิมมูโนที่ระดับต่าง ๆ	35
ตารางที่ 7.5	เปรียบเทียบปัจจัยทางคลินิกในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กระยะท้ายที่มีการแสดงออกของโปรตีน p53 มากกว่าปกติ (เมื่อใช้เกณฑ์การยับยั้งมากกว่าร้อยละ 35) ที่ได้รับยาเคมีบำบัดที่แตกต่างกัน 2 กลุ่ม.....	37
ตารางที่ 7.6	อัตราการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดเมื่อพิจารณาตามการแสดงออกของโปรตีน p53.....	38
ตารางที่ 7.7	ตารางเปรียบเทียบอัตราการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัด 2 สูตรในกลุ่มผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของโปรตีน p53 ต่าง ๆ กัน.....	39
ตารางที่ 7.8	ระยะเวลาที่โรคจะลุกลามของผู้ป่วยในกลุ่มต่าง ๆ ตามแบ่งตามการแสดงออกของโปรตีน p53 และสูตรยาเคมีบำบัด.....	40
ตารางที่ 7.9	ระยะเวลาการรอดชีวิตของผู้ป่วยในกลุ่มต่าง ๆ ตามแบ่งตามการแสดงออกของโปรตีน p53 และสูตรยาเคมีบำบัด.....	

สารบัญรูป

		หน้า
รูปที่ 1.1	กรอบแนวคิดการวิจัย.....	4
รูปที่ 7.1	แผนผังแสดงการรวบรวมชิ้นเนื้อมะเร็งปอดที่นำมาศึกษา.....	30
รูปที่ 7.2	กราฟ ROC curve ของการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดสูตร gemcitabine-platinum และ paclitaxel-platinum ในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กกระเพาะที่มี การแสดงออกของโปรตีน p53 โดยอาศัยเกณฑ์การยอมด้วยวิธีทางอิมมูโน ที่มากกว่าร้อยละ 35	35
รูปที่ 7.2	กราฟแสดงระยะเวลาที่จะมีการลุกลามของโรคในผู้ป่วยที่ได้รับ ยาเคมีบำบัดที่แตกต่างกัน.....	41
รูปที่ 7.3	กราฟแสดงระยะเวลาที่จะมีการลุกลามของโรคในผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของโปรตีน p53 มากกว่าปกติ (มากกว่าร้อยละ 10) ได้รับยาเคมีบำบัดที่แตกต่างกัน.....	42
รูปที่ 7.4	กราฟแสดงระยะเวลาที่จะมีการลุกลามของโรคในผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของโปรตีน p53 มากกว่าปกติ (มากกว่าร้อยละ 35) ได้รับยาเคมีบำบัดที่แตกต่างกัน.....	43

บทที่ 1

บทนำ

1. ความสำคัญและที่มาของปัญหาในการวิจัย (Background and Rationale)

โรคมะเร็งปอดเป็นโรคมะเร็งที่พบบ่อยที่สุดและเป็นสาเหตุการตายอันดับหนึ่งของผู้ที่เสียชีวิตจากโรคมะเร็งทั้งหมดทั่วโลก [1] โรคมะเร็งปอดแบ่งเป็น 2 กลุ่มใหญ่ ๆ คือ โรคมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็ก (Non Small Lung Cancer) และชนิดเซลล์เล็ก (Small Cell Lung Cancer) ผู้ป่วยส่วนใหญ่เป็นโรคมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็ก โดยเฉลี่ยกลุ่มผู้ป่วยโรคมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กระยะท้าย (advance non-small-cell lung cancer) จะมีชีวิตอยู่ได้ประมาณ 4-5 เดือน และมีอัตราการรอดชีวิตที่ 1 ปี (1 year survival rate) ประมาณร้อยละ 10 มีการศึกษาแบบ meta-analysis ยืนยันถึงประโยชน์ของยาเคมีบำบัดในผู้ป่วยโรคมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กระยะท้ายโดยเพิ่มอัตราการรอดชีวิตเมื่อเทียบกับการรักษาแบบประคับประคอง (best support care) โดยไม่ให้ยาเคมีบำบัด [2,3,4] นอกจากนี้ยังมีการศึกษาแบบสุ่มพบว่า ยาเคมีบำบัดช่วยลดอาการจากโรคและเพิ่มคุณภาพชีวิตได้เมื่อเทียบกับการรักษาแบบประคับประคอง (best supportive care) [5]

ดังนั้น ในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กระยะท้ายที่ไม่มีข้อห้ามจึงควรได้รับยาเคมีบำบัดทุกคน โดยสูตรยามาตรฐานสำหรับมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กระยะท้ายที่ไม่เคยได้รับยาเคมีบำบัดมาก่อนในปัจจุบัน ได้แก่ การให้ยาในกลุ่มแพลตตินัม (platinum compounds) คือ cisplatin หรือ carboplatin ร่วมกับยาเคมีบำบัดรุ่นที่ 3 ได้แก่ paclitaxel, docetaxel, gemcitabine หรือ vinorelbine ตัวใดตัวหนึ่ง มีการศึกษาแบบสุ่มให้ผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กระยะท้ายได้รับยาเคมีบำบัดสูตรเหล่านี้ พบว่าไม่มีความแตกต่างของผลการรักษาทั้งในแง่การตอบสนองและอัตราการรอดชีวิตของผู้ป่วย [6,7] ดังนั้น การจะเลือกใช้ยาสูตรใดจึงไม่มีความแตกต่างกันในแง่ผลการรักษาหากพิจารณาจากข้อมูลทางคลินิกที่มีอยู่ แต่เนื่องจากมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กมีความหลากหลายในแง่ความผิดปกติทางพันธุกรรมซึ่งอาจมีผลทำให้ตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดแต่ละชนิดแตกต่างกัน มีรายงานการศึกษามากมายที่พบว่า ปัจจัยทางอณูชีววิทยา (molecular markers) บางชนิด มีผลต่อความแตกต่างในการได้ประโยชน์จากยาเคมีบำบัดหรือการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดบางชนิดที่ใช้ในการรักษามะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็ก เช่น การใช้ ERCC1 ในการบอกโอกาสการได้ประโยชน์จากการรักษาเสริมด้วยสูตรยาที่มี cisplatin เป็นองค์ประกอบ [8] หรือการใช้ RRM1 ในการทำนายโอกาสการตอบสนองต่อยา gemcitabine [9] การใช้

ปัจจัยทางอณูชีววิทยาที่สามารถแยกความแตกต่างในการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดบางชนิดได้อาจทำให้แพทย์สามารถเลือกสูตรยาเคมีบำบัดที่เหมาะสมต่อผู้ป่วยแต่ละคนมากยิ่งขึ้น ส่งผลให้ผลการรักษาดีขึ้น และลดโอกาสที่ผู้ป่วยจะได้รับอาการข้างเคียงจากยาเคมีบำบัดโดยไม่ได้รับประโยชน์จากยามากนัก อย่างไรก็ตาม การตรวจปัจจัยทางอณูชีววิทยาเหล่านี้บางชนิดยังไม่เป็นที่แพร่หลายและมีวิธีที่ยุ่งยากซับซ้อน จึงยังนำไปใช้ในเวชปฏิบัติได้ยาก

P53 เป็นโปรตีนซึ่งเป็นผลผลิตของยีน p53 ซึ่งเป็นยีนด้านการเกิดเนื้องอก (tumor suppressor gene) ชนิดหนึ่ง หน้าที่สำคัญอันหนึ่งของโปรตีน p53 คือ การควบคุมให้เกิดการตายของเซลล์แบบ apoptosis ในกรณีที่มีความผิดปกติรุนแรงเกิดขึ้นกับ DNA ซึ่งเป็นกลไกสำคัญในการทำลายเซลล์มะเร็งของยาเคมีบำบัดหลายชนิด การศึกษาในมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็ก พบว่า การตรวจพบความผิดปกติของโปรตีน p53 มีความสัมพันธ์กับการดื้อยาสูตรที่มียากลุ่มแพลตตินัมเป็นยาหลัก [10,11,12,13,14] ในขณะที่การกลายพันธุ์ของยีน p53 มีความสัมพันธ์กับการดื้อยา gemcitabine [15, 16] แต่ไม่มีความสัมพันธ์กับการตอบสนองต่อยา paclitaxel [17,18] จากข้อมูลเหล่านี้ ความผิดปกติของโปรตีน p53 จึงอาจทำให้มีการตอบสนองที่แตกต่างกันต่อยาเคมีบำบัดสูตรที่ใช้ platinum ร่วมกับ gemcitabine และสูตรที่ใช้ platinum ร่วมกับ paclitaxel ซึ่งเป็นสูตรยาที่นิยมใช้ในมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กระยะท้าย

2.คำถามการวิจัย (Research question)

คำถามหลัก (Primary Research Question)

การตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดของมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กระยะท้ายที่มีการแสดงออกของโปรตีน p53 มากกว่าปกติ (p53 overexpression) ต่อสูตรยา paclitaxel ร่วมกับ platinum จะดีกว่าต่อสูตรยา gemcitabine ร่วมกับ platinum หรือไม่

คำถามรอง (Secondary Research Question)

ระยะเวลาที่จะมีการลุกลามของโรค (time to progression, TTP) และระยะเวลาการรอดชีวิต (overall survival) ของกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กระยะท้ายที่มีการแสดงออกของโปรตีน p53 มากกว่าปกติ (p53 overexpression) ที่ได้รับการรักษาด้วยสูตรยา paclitaxel ร่วมกับ platinum จะยาวนานกว่ากลุ่มที่ได้รับการรักษาด้วยยา gemcitabine ร่วมกับ platinum หรือไม่

3.วัตถุประสงค์ (Objective)

1. เปรียบเทียบอัตราการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กระยะท้ายที่มีแสดงออกของโปรตีน p53 มากกว่าปกติ (p53 overexpression) ต่อสูตรยา paclitaxel ร่วมกับ platinum และสูตรยา gemcitabine ร่วมกับ platinum

2. เปรียบเทียบระยะเวลาที่ไม่มีการลุกลามและระยะเวลาการรอดชีวิตของผู้ป่วยโรคมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กระยะท้ายที่มีการแสดงออกของโปรตีน p53 มากกว่าปกติ (p53 overexpression) ที่ได้รับการรักษาด้วยยาเคมีบำบัดสูตร paclitaxel ร่วมกับ platinum และสูตร gemcitabine ร่วมกับ platinum

4.สมมติฐานของการวิจัย (Hypothesis)

สมมติฐานว่าง (Ho) : อัตราการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดของมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กระยะท้ายที่มีการแสดงออกของโปรตีน p53 มากกว่าปกติ (p53 overexpression) ต่อสูตรยา paclitaxel และ platinum กับสูตรยา gemcitabine และ platinum ไม่แตกต่างกัน

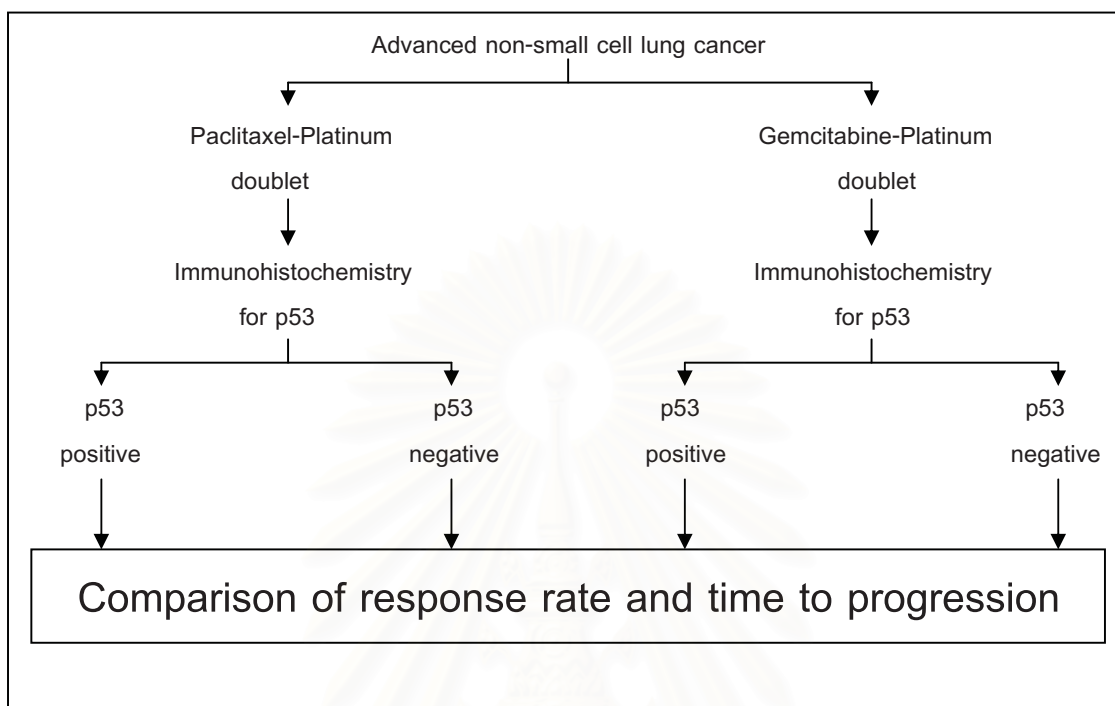
สมมติฐานแย้ง (Ha) : อัตราการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดของมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กระยะท้ายที่มีการแสดงออกของโปรตีน p53 มากกว่าปกติ (p53 overexpression) ต่อสูตรยา paclitaxel และ platinum ดีกว่าต่อสูตรยา gemcitabine และ platinum

5. กรอบแนวความคิดในการวิจัย (Conceptual framework)

ปัจจัยที่มีผลต่อการเลือกสูตรยาเคมีบำบัดในมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กระยะท้าย

1. สภาวะ (performance status) ของผู้ป่วย

มีผลต่อการพิจารณาการเลือกยาในกลุ่มแพลตตินัม โดยมีแนวโน้มที่จะเลือกยา carboplatin มากกว่า cisplatin ในกรณีที่ผู้ป่วยมีสภาวะที่ไม่ดีมากนัก แต่ไม่มีผลต่อการเลือกยา gemcitabine หรือ paclitaxel



รูปที่ 1.1 กรอบแนวคิดการวิจัย

2. โรคร่วมของผู้ป่วย

ภาวะหรือโรคร่วมบางอย่างอาจมีผลต่อการเลือกให้ยาของแพทย์ เช่น ในผู้ป่วยที่ไตทำงานบกพร่อง มีแนวโน้มที่แพทย์จะเลือกให้ยาสูตร carboplatin ร่วมกับ paclitaxel มากกว่า ปัจจัยที่มีผลต่อผลการย้อมด้วยวิธีทางอิมมูโน (immunohistochemical method)

1. ชนิดและตำแหน่งของการกลายพันธุ์

การกลายพันธุ์ชนิด missense จะสัมพันธ์กับผลการย้อมด้วยวิธีการตรวจโปรตีน p53 ด้วยการย้อมด้วยวิธีทางอิมมูโน (immunohistochemical method) เป็นอย่างดี ขณะที่การกลายพันธุ์ชนิดอื่น ๆ เช่น deletion จะไม่สัมพันธ์กับผลการย้อมด้วยวิธีทาง (immunohistochemical method) โดยพบว่า มะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กที่พบการกลายพันธุ์ของยีน p53 ชนิด missense มีประมาณร้อยละ 63 [19]

2. เทคนิคการย้อมด้วยวิธีทางอิมมูโน (immunohistochemical method)

ทั้งเทคนิคการย้อม น้ำยาที่ใช้ ชิ้นเนื้อที่ย้อม ระยะเวลาที่เก็บชิ้นเนื้อ รวมถึงวิธีการเก็บชิ้นเนื้อล้วนมีผลต่อผลการย้อมทั้งสิ้น

3. การแปลผลการย้อมด้วยวิธี immunohistochemistry

การแปลผลของพยาธิแพทย์ คุณภาพของชิ้นเนื้อและเทคนิคการย้อม เกณฑ์ที่ใช้บ่งบอกภาวะการแสดงออกของโปรตีน p53 ผิดปกติที่เลือกใช้ ล้วนมีผลต่อการแปลผลทั้งสิ้น ปัจจัยที่มีผลต่อการประเมินการตอบสนองและผลการรักษาอื่น ๆ

1. ปัจจัยอื่น ๆ ที่อาจมีผลต่อผลการรักษา

a. ปัจจัยทางคลินิก (clinical factors) เช่น น้ำหนักที่ลดลง สภาพของผู้ป่วย

b. ปัจจัยทางอณูชีววิทยา (molecular factors) อื่น ๆ เช่น ERCC1, RRM1

2. การใช้สูตรยาที่มีแพลตตินัมเป็นองค์ประกอบ

ผลของความผิดปกติของโปรตีน p53 ในมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กต่อความไวต่อยาแพลตตินัม อาจทำให้ไม่พบความแตกต่างของสูตรยาสองสูตรได้

6. การดำเนินการวิจัยโดยย่อ

เป็นการวิจัยเชิงวิเคราะห์แบบย้อนหลัง ศึกษาความแตกต่างของการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดระหว่างสูตร gemcitabine ร่วมกับ platinum และ paclitaxel ร่วมกับ platinum ในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กระยะท้ายที่มารับการรักษาที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

7. ผลประโยชน์ที่คาดว่าจะได้จากการวิจัย (Expected Benefits and Application)

1. ทำให้สามารถใช้ความผิดปกติระดับโมเลกุลที่สามารถตรวจได้ห้องปฏิบัติการทางพยาธิวิทยาทั่วไปในการเลือกสูตรยาเคมีบำบัดที่เหมาะสมกับผู้ป่วยโรคมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กแต่ละคนมากขึ้น ซึ่งจะช่วยให้ผลการรักษาดีขึ้น

2. เป็นข้อมูลสำหรับใช้วางแผนในการศึกษาต่อไป เช่น การศึกษาแบบไปข้างหน้า (prospective study)

บทที่ 2

มะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กระยะท้าย

(Advanced Non-Small Cell Lung Cancer)

โรคมะเร็งปอดเป็นโรคมะเร็งที่พบบ่อยที่สุดและเป็นสาเหตุการตายอันดับหนึ่งของผู้ที่เสียชีวิตจากโรคมะเร็งทั้งหมดทั่วโลก [1] โรคมะเร็งปอดแบ่งเป็น 2 กลุ่มใหญ่ ๆ คือ โรคมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็ก (Non Small Lung Cancer) และชนิดเซลล์เล็ก (Small Cell Lung Cancer) โดยประมาณร้อยละ 80 ของโรคมะเร็งปอดเป็นชนิดเซลล์ไม่เล็ก ซึ่งที่พบบ่อย ได้แก่ adenocarcinoma และ squamous cell carcinoma ปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญ คือ การสูบบุหรี่ ปัจจุบันการรักษามีทั้งการผ่าตัด การฉายรังสี และการให้ยาเคมีบำบัด ขึ้นอยู่กับระยะของโรคและสถานะของผู้ป่วย มะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กสามารถแพร่กระจายได้ทั้งทางน้ำเหลือง (Lymphatic spread) และทางกระแสโลหิต (Hematogenous spread) โดยพบว่าประมาณครึ่งหนึ่งของผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กตรวจพบเมื่อเข้าสู่ระยะท้ายแล้ว ซึ่งไม่สามารถให้การรักษาเพื่อหวังผลหายขาด (curative therapy)

มะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กระยะท้าย (Advanced Non-Small Cell Lung Cancer, NSCLC)

หมายถึง มะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กระยะที่ 3 ซึ่งมีน้ำในช่องเยื่อหุ้มปอดหรือเยื่อหุ้มอันเกิดจากการแพร่กระจายของโรคมะเร็ง (NSCLC stage IIIB) หรือระยะที่ 4 ตามการแบ่งระยะของมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กโดย American Joint Committee on Cancer and the International Union Against Cancer ฉบับปรับปรุง พ.ศ. 2540 [20] ซึ่งได้แสดงไว้ในตารางที่ 2.1

การดำเนินโรค (natural history)

โดยทั่วไปผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กระยะท้าย หากไม่ได้รับการรักษาที่จำเพาะต่อโรค (specific therapy) จะมีชีวิตอยู่ได้ประมาณ 4-5 เดือน และมีอัตราการรอดชีวิตที่ 1 ปี (1 year survival rate) ประมาณร้อยละ 10 โดยมักจะเสียชีวิตจากโรคมะเร็งปอดเอง [21] อย่างไรก็ตาม การรักษาในปัจจุบันสามารถยืดระยะเวลา เพิ่มอัตราการรอดชีวิต และทำให้ผู้ป่วยมีคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้นได้

การรักษา (management)

มีการศึกษามากมายที่พบว่า การให้ยาเคมีบำบัดสามารถยืดระยะเวลาและเพิ่มระยะเวลาการรอดชีวิตเมื่อเทียบกับการรักษาแบบประคับประคองเท่านั้น ซึ่งผลจากการศึกษาแบบ meta-analysis ก็ยืนยันถึงประโยชน์ของยาเคมีบำบัดในผู้ป่วยโรคมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กระยะท้าย โดยสามารถลดอัตราการตายในช่วง 6 เดือนแรกและยืดระยะเวลาการรอดชีวิตได้เล็กน้อย คือ ประมาณ 2 เดือนแต่มีนัยสำคัญทางสถิติ [2,3,4] แต่เนื่องจากประโยชน์ในแง่การยืดเวลาการรอดชีวิตยาวขึ้นไม่มากนักและผู้ป่วยก็อาจได้รับอาการข้างเคียงจากยาเคมีบำบัด คุณภาพชีวิตของผู้ป่วยจึงเป็นปัจจัยสำคัญที่ต้องพิจารณา ซึ่งการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า ยาเคมีบำบัดช่วยลดอาการจากโรคและเพิ่มคุณภาพชีวิตได้เมื่อเทียบกับการรักษาแบบประคับประคอง (best supportive care) [5] แม้แต่ในผู้ป่วยที่ไม่มีการตอบสนองของโรคที่สามารถวัดได้ (measurable tumor response) ปัจจุบันการให้ยาเคมีบำบัดเพื่อบรรเทาอาการจากโรค เพิ่มคุณภาพชีวิต และยืดระยะเวลาการรอดชีวิต (palliative chemotherapy) จึงถือเป็นการรักษามาตรฐานสำหรับผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กระยะท้าย ร่วมกับการรักษาแบบประคับประคอง (best supportive care)

ยาเคมีบำบัด

สามารถแบ่งตามลำดับการให้ยาเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่

1. ยาเคมีบำบัดสำหรับผู้ป่วยที่ไม่เคยได้รับยาเคมีบำบัดมาก่อน (first line chemotherapy)
 2. ยาเคมีบำบัดสำหรับผู้ป่วยที่เคยได้รับยาเคมีบำบัดมาก่อน (second line chemotherapy)
1. ยาเคมีบำบัดสำหรับผู้ป่วยที่ไม่เคยได้รับยาเคมีบำบัดมาก่อน (first line chemotherapy)

มะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กถือเป็นมะเร็งที่ตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดไม่มากนัก ในขณะที่ผู้ป่วยส่วนใหญ่มีอายุมากและมีโรคร่วมอื่น ๆ ทำให้ไม่พบประโยชน์ในแง่การเพิ่มอัตราการรอดชีวิต

Primary tumor	
Tx	Positive malignant cell; no lesion seen
T1	< 3-cm diameter
T2	> 3-cm diameter
T3	distal atelectasis Extension to parietal pleura, chest wall, diaphragm, or pericardium
T4	< 2 cm from carina or total atelectasis Invasion of mediastinal organs Malignant pleural effusion
Regional lymph node involvement	
N0	No nodal involvement
N1	Ipsilateral bronchopulmonary nodes
N2	Ipsilateral or subcarinal mediastinal nodes Ipsilateral supraclavicular nodes
N3	Contralateral mediastinal hilar or supraclavicular nodes
Metastasis involvement	
M0	No metastases
M1	Metastases present
Stage	TNM
IA	T1, N0, M0
IB	T2, N0, M0
IIA	T1, N1, N0
IIB	T2, N1, M0 T3, N0-1, M0
IIIA	T1-3, N2, M0
IIIB	Any T4, Any N3, M0
IV	Any M1

ตารางที่ 2.1 การแบ่งระยะของโรคมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็ก

ในผู้ป่วยระยะท้ายจากการให้ยาเคมีบำบัดในยุคแรก ๆ จนเมื่อมีการค้นพบเริ่มมีการนำยา cisplatin มาศึกษาในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กระยะท้ายจึงเริ่มพบประโยชน์จากการให้ยาเคมีบำบัดในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กระยะท้ายโดยเฉพาะในแง่การเพิ่มอัตราและยืดระยะเวลาการรอดชีวิต เมื่อเทียบกับการให้การรักษาระดับประคับประคอง (best support care) เพียงอย่างเดียว การศึกษาแบบ meta-analysis ที่พบประโยชน์ของยาเคมีบำบัดดังกล่าวข้างต้น พบว่า สูตรยาเคมีบำบัดที่มี cisplatin เป็นองค์ประกอบก็จะให้ผลการรักษาที่ดีกว่าสูตรอื่น [2,3,4] ยา cisplatin ถือเป็นยาหลักในการรักษามะเร็งปอดโดยถูกนำไปใช้ร่วมกับยาเคมีบำบัดตัวอื่น ๆ หลายชนิด การให้ยา cisplatin ร่วมกับยาในกลุ่มที่ถือเป็นยาเคมีบำบัดรุ่นที่ 2 (second generation) ได้แก่ vindesine, vinblastine และ etoposide ตัวใดตัวหนึ่งถือเป็นสูตรมาตรฐานในช่วงทศวรรษที่ 80 ในขณะที่สูตรมาตรฐานในปัจจุบันการใช้ยาในกลุ่มแพลตตินัม ได้แก่ cisplatin หรือ carboplatin ตัวใดตัวหนึ่งร่วมกับกลุ่มที่ถือเป็นยาเคมีบำบัดรุ่นที่ 3 (third generation) ได้แก่ vinorelbine, paclitaxel, docetaxel และ gemcitabine ตัวใดตัวหนึ่ง

การศึกษาเปรียบเทียบยาสูตรปัจจุบันกับสูตรเก่าส่วนใหญ่ พบว่า ยาสูตรปัจจุบันให้ผลการรักษาดีกว่าทั้งในแง่ของอัตราการตอบสนอง ระยะเวลาการลุกลามของโรค (time to progression) อัตราและระยะเวลาการรอดชีวิต และยังมีอาการข้างเคียงที่น้อยกว่า [22,23] ในขณะการศึกษาเปรียบเทียบการเลือกใช้ยา cisplatin กับ carboplatin ส่วนใหญ่ไม่พบความแตกต่างกันทั้งในแง่อัตราการตอบสนองและระยะเวลาการรอดชีวิต แม้ว่าจะมีบางการศึกษาที่พบว่า ยา cisplatin ให้ผลการรักษาที่ดีกว่าโดยเฉพาะในแง่ของอัตราการรอดชีวิตแต่ความแตกต่างค่อนข้างน้อย ซึ่งหากพิจารณาในแง่คุณภาพชีวิตของผู้ป่วยและความสะดวกในการบริหารยา [24,25,26] โดยพบว่าการที่ยา carboplatin มีอาการข้างเคียงโดยรวมอย่างอื่นโดยเฉพาะเรื่องอาการคลื่นไส้ อาเจียนและพิษต่อไตน้อยกว่ายา cisplatin โดยเฉพาะการที่ไม่ต้องให้น้ำเกลือเพื่อป้องกันพิษต่อไตเหมือนยา cisplatin ทำให้ไม่จำเป็นต้องให้ผู้ป่วยนอนโรงพยาบาล ทำให้ปัจจุบันมีแพทย์ส่วนใหญ่นิยมในเลือกใช้ยา carboplatin มากกว่า ในขณะที่การจะเลือกใช้ยาตัวใดในกลุ่มยาเคมีบำบัดรุ่นที่ 3 ระหว่างยา vinorelbine, paclitaxel, docetaxel และ gemcitabine การศึกษาของ Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) โดย Joan Schiller และคณะ พบว่า ผลการรักษาทั้งในแง่อัตราการตอบสนองและอัตราและระยะเวลาการรอดชีวิตของสูตรยาต่อไปนี้ คือ cisplatin กับ paclitaxel, cisplatin กับ gemcitabine, cisplatin กับ docetaxel และ carboplatin กับ paclitaxel ไม่มีต่างกัน

โดยมีอัตราการตอบสนองประมาณร้อยละ 19 อัตราการรอดชีวิตที่ 1 ปีร้อยละ 33 และมีชีวิตอยู่ได้ประมาณ 8 เดือน [6] ในขณะที่การศึกษาในยุโรป พบผลการรักษาที่ไม่แตกต่างกันของ cisplatin กับ gemcitabine, carboplatin กับ paclitaxel และ cisplatin กับ vinorelbine [7] จากข้อมูลเหล่านี้ทำให้ในปัจจุบันถ้าอาศัยข้อมูลทางคลินิกที่มีอยู่แพทย์สามารถเลือกใช้ยาเคมีบำบัดเหล่านี้สูตรใดก็ได้หากพิจารณาเฉพาะในแง่ผลการรักษา ส่วนระยะเวลาในการให้ยาเคมีบำบัด เนื่องจากเป็นการรักษาเพื่อบรรเทาอาการจากโรค ยืดระยะเวลาการรอดชีวิต และเพิ่มคุณภาพชีวิตของผู้ป่วย ระยะเวลาจึงน่าจะสั้นที่สุดเท่าที่ผู้ป่วยยังได้ประโยชน์จากการรักษาโดยที่มีอาการข้างเคียงจากการรักษาไม่มากนัก เนื่องจากยังไม่มีหลักฐานว่าการให้ยาเคมีบำบัดแบบต่อเนื่องไปเรื่อย ๆ (maintenance therapy) จะได้ประโยชน์มากกว่าการให้ยาเคมีบำบัดเพียง 4-6 รอบ [27] ปัจจุบันจึงแนะนำระยะเวลาให้ยาเคมีบำบัดอยู่ที่ 4-6 รอบ

ดังนั้น ปัจจุบันสูตรยาเคมีบำบัดมาตรฐานที่ใช้ในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กระยะท้ายที่ไม่เคยได้รับยาเคมีบำบัดมาก่อน คือ การให้ยากลุ่มแพลตตินัม ได้แก่ ยา cisplatin หรือ carboplatin ตัวใดตัวหนึ่งร่วมกับ ยาเคมีบำบัดรุ่นที่ 3 ได้แก่ vinorelbine, paclitaxel, docetaxel และ gemcitabine ตัวใดตัวหนึ่ง โดยปัจจุบันยังไม่มีข้อมูลทางคลินิกใดที่สามารถนำมาช่วยในการตัดสินใจในการจะเลือกใช้ยาสูตรใดดังกล่าวข้างต้น การเลือกสูตรยาใดจึงมักจะขึ้นกับอาการข้างเคียงที่คาดว่าจะเกิดขึ้น เช่น อาการข้างเคียงต่อระบบประสาทส่วนปลาย (peripheral neuropathy) ที่ควรระวังหลีกเลี่ยงในผู้ป่วยที่มีความผิดปกติของระบบประสาทส่วนปลายอยู่แล้ว หรือความระมัดระวังในการให้ยา เช่น การให้ยา gemcitabine ต้องให้สัปดาห์ละครั้ง 2-3 สัปดาห์ต่อหนึ่งรอบอาจไม่สะดวกในผู้ป่วยที่เดินทางลำบาก

อย่างไรก็ตาม ปัจจุบันความรู้ทางอณูชีววิทยาที่ก้าวหน้าทำให้เราทราบความหลากหลายของความผิดปกติทางพันธุกรรมในระดับโมเลกุลของมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็ก เนื่องจากความผิดปกติระดับโมเลกุลบางชนิดมีความสำคัญในกลไกการออกฤทธิ์ของยาเคมีบำบัดบางชนิด จึงได้มีการศึกษาซึ่งอาศัยความผิดปกติระดับโมเลกุลเหล่านี้มาใช้ในการทำนายการตอบสนองหรือการได้ประโยชน์จากยาเคมีบำบัด ซึ่งตัวที่มีหลักฐานค่อนข้างมาก ได้แก่ excision repair cross-complementation group 1 (ERCC1) และ RRM1 (regulatory subunit of ribonucleotide reductase) โดย ERCC1 เป็นเอ็นไซม์ที่มีความสำคัญในกระบวนการซ่อมแซม DNA ที่เรียกว่า nucleotide excision repair ซึ่งมีความสำคัญในการซ่อมแซม DNA ที่เป็นผลจากการออกฤทธิ์ของยา cisplatin ERCC1 จึงน่าจะเป็นตัวทำนายการ

ดีต่อยา cisplatin ซึ่งก็มีข้อมูลสนับสนุนในมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กทั้งในระยะต้นและระยะท้าย [8,28] ส่วน RRM1 เป็นเป้าหมายระดับโมเลกุลของยา gemcitabine จึงน่าจะเป็นตัวทำนายความไวต่อยา gemcitabine ซึ่งก็มีข้อมูลสนับสนุนจากการศึกษาซึ่งรวมถึงการศึกษาแบบไปข้างหน้า (prospective study) ในมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กระยะท้าย [9] อย่างไรก็ตาม เนื่องจากยังต้องการการศึกษาแบบไปข้างหน้าขนาดใหญ่เพื่อสนับสนุนข้อมูลดังกล่าวรวมถึงการตรวจหาความผิดปกติเหล่านี้ยังไม่เป็นที่แพร่หลาย จึงยังไม่ได้มีการนำมาใช้ในเวชปฏิบัติ

2. ยาเคมีบำบัดสำหรับผู้ป่วยที่เคยได้รับยาเคมีบำบัดมาก่อน (second line chemotherapy)

ผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กระยะท้ายที่เคยได้รับยาเคมีบำบัดมาแล้ว ถ้าผู้ป่วยยังแข็งแรงพอที่จะรับยาเคมีบำบัดได้ควรพิจารณาให้ยาเคมีบำบัด ซึ่งปัจจุบันมียาอยู่ 2 ชนิด ได้แก่ ยา docetaxel และยา premetrexed โดยการศึกษาแบบสุ่มระยะที่ 3 พบว่า ยา docetaxel สามารถยืดระยะเวลาการรอดชีวิตจาก 4.6 เดือนเป็น 7.5 เดือนและเพิ่มอัตราการรอดชีวิตที่ 1 ปีจากร้อยละ 11 เป็นร้อยละ 37 เมื่อเปรียบเทียบกับการรักษาแบบประคับประคองในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กระยะท้ายที่เคยได้รับยาเคมีบำบัดมาก่อน [29] ในขณะที่มีการศึกษา พบว่า ผลการรักษาด้วยยา premetrexed ไม่แตกต่างกับยา docetaxel [30]

การรักษาด้วยยาที่มุ่งเป้าระดับโมเลกุล (targeted therapy)

การรักษาโรคมะเร็งในปัจจุบันนอกจากยาเคมีบำบัดแล้วยังมียาที่มุ่งเป้าระดับโมเลกุล (targeted therapy) โดยอาศัยความก้าวหน้าในการค้นพบความผิดปกติระดับโมเลกุลของมะเร็งชนิดต่าง ๆ ซึ่งมีส่วนสำคัญในการกำเนิดและการลุกลามของโรคมะเร็ง จึงได้มีการคิดค้นยาที่ออกฤทธิ์ที่ความผิดปกติระดับโมเลกุลเหล่านี้ โดยหวังว่าจะได้ผลการรักษาที่ดีขึ้นโดยที่มีอาการข้างเคียงน้อยกว่ายาเคมีบำบัดเนื่องจากมีความจำเพาะต่อเซลล์มะเร็งมากกว่า

ในมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กความผิดปกติระดับโมเลกุลที่สำคัญอันหนึ่ง คือ Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) ซึ่งเป็นตัวรับสัญญาณ (signaling receptor) ที่ผิวเซลล์และส่งสัญญาณ (signaling transduction) ผ่านโปรตีนมากมายภายในเซลล์ไปสู่นิวเคลียส ความผิดปกติของ EGFR ทำให้เซลล์เพิ่มจำนวนอย่างผิดปกติและต่อต้านการตายของเซลล์แบบ apoptosis ซึ่งมีส่วน

สำคัญในการเกิดและการลุกลามของโรคมะเร็ง ปัจจุบันมียาที่ออกฤทธิ์ยับยั้ง EGFR (EGFR tyrosine kinase inhibitors) ซึ่งถูกนำมาใช้ในการรักษามะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กกระเพาะอยู่ 2 ตัว ได้แก่ ยา gefitinib และยา erlotinib โดยมีการศึกษาแบบสุ่มระยะที่ 3 พบว่า ยา erlotinib สามารถเพิ่มระยะเวลาการรอดชีวิตในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กกระเพาะที่เคยได้รับยาเคมีบำบัดมาก่อนเมื่อเทียบกับการรักษาแบบประคับประคอง [31] ซึ่งแม้ว่าการศึกษาแบบเดียวกันในยา gefitinib จะไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่เนื่องจากปัจจัยที่ทำนายการตอบสนองต่อยาทั้ง 2 ตัวที่สำคัญ คือ เพศหญิง เชื้อชาติเอเชีย มะเร็งชนิด adenocarcinoma และการไม่สูบบุหรี่ [32] และข้อมูลการใช้ยา gefitinib ในผู้ป่วยชาวเอเชียที่มีอยู่มากมาย [33] ทำให้ในชาวเอเชียยาทั้ง 2 ตัวยังเป็นยาที่สามารถใช้ได้ผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กกระเพาะที่เคยได้รับยาเคมีบำบัดมาก่อน โดยเฉพาะในกลุ่มที่มีปัจจัยที่ทำนายการตอบสนองต่อยาดังกล่าวข้างต้น

บทที่ 3

ยีน p53

การกลายพันธุ์ของยีน p53 เป็นความผิดปกติทางพันธุกรรมที่พบได้บ่อยที่สุดในโรคมะเร็งโปรตีน p53 ค้นพบครั้งแรกในปี ค.ศ. 1979 ในเซลล์เนื้องอกที่เกิดจากเชื้อ simian virus 40 (SV40) ซึ่งเดิมเชื่อว่าเป็น tumor antigen เนื่องจากพบว่า มี antibody ต่อต้านโปรตีนชนิดนี้ในเซลล์เนื้องอกของสัตว์ทดลองที่ได้รับเชื้อ SV40 ต่อมาถูกจัดว่าเป็นยีนที่ก่อให้เกิดมะเร็ง (oncogene) เนื่องจากสามารถตรวจพบในเซลล์มะเร็งที่เกิดจากกลไกอื่น ๆ ที่ไม่ใช่จากการติดเชื้อไวรัสและสามารถทำให้เซลล์ในหลอดทดลองไม่ตาย (immortality) รวมทั้งการทำงานร่วมกับ ras oncogene สามารถทำให้เกิดการเป็นมะเร็งของเซลล์ได้ จนเมื่อมีการศึกษาโดยใช้ p53 cDNA จาก mRNA ของเซลล์ปกติปรากฏว่าแทนที่จะมีผลให้เซลล์กลายเป็นมะเร็งกลับเกิดการเกิดมะเร็งดังกล่าว และจากคุณสมบัติในการควบคุมหรือลดการเพิ่มขึ้นของเซลล์ การกลายพันธุ์ที่มีผลให้ยีนสูญเสียการทำงาน และการที่ cDNA ของ p53 ปกติสามารถเกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นเซลล์มะเร็งจากกลไกอื่น ทำให้ปัจจุบัน p53 ถูกจัดเป็นยีนที่กวดการเกิดมะเร็ง (tumor suppressor gene) [34]

ยีน p53 และโปรตีน p53 [35,36]

ยีน p53 เป็นยีนที่อยู่บนแขนข้างสั้นของโครโมโซมคู่ที่ 17 (17p) สร้างโปรตีน p53 ซึ่งประกอบด้วยกรดอะมิโน 393 โมเลกุล ซึ่งสามารถแบ่งเป็น 5 ส่วนสำคัญ ได้แก่ N-terminal domain (กรดอะมิโนที่ 1-50), proline-riched domain (กรดอะมิโนที่ 61-94), sequence-specific DNA binding domain (กรดอะมิโนที่ 97-300), tetramerization domain (กรดอะมิโนที่ 324-352) และ basic C-terminal domain (กรดอะมิโนที่ 363-393) โปรตีน p53 เป็นโปรตีนในนิวเคลียสโดยอยู่ลักษณะ homotetramer ซึ่งประกอบด้วยสายโพลีเปปไทด์ที่เหมือนกัน 4 สาย ทำหน้าที่เป็น transcription factor ในนิวเคลียส การทำงานของโปรตีน p53 ขึ้นอยู่กับปริมาณที่เกิดขึ้นในนิวเคลียส ซึ่งปัจจัยหลักที่ควบคุมปริมาณโปรตีน p53 คือ การสลาย (degradation) ของโปรตีน 53 โดยมีค่าครึ่งชีวิตสั้นเพียง 20 นาที ในภาวะปกติเซลล์จะสร้างโปรตีน p53 อย่างรวดเร็วตลอดเวลาแต่ก็สลายไปอย่างรวดเร็วเช่นเดียวกันทำให้มีปริมาณโปรตีน 53 น้อยมาก โปรตีน p53 ถูกสลายโดยระบบ ubiquitin-proteasome เช่นเดียวกับโปรตีนอื่น ๆ ภายในเซลล์อีกหลายชนิด แต่มีโปรตีน Mdm2 เป็นตัวการ

สำคัญ โดยโปรตีน Mdm2 จะจับกับโปรตีน p53 ที่ N-terminal domain แล้วส่งไปจับกับโปรตีน ubiquitin อีกทีหนึ่งเพื่อเข้าสู่การสลายโดย proteasome ในไซโตพลาสซึมต่อไป การยับยั้งการสลายโปรตีน p53 เกิดขึ้นได้ 2 ทาง กระบวนการแรกอาศัยเอนไซม์ที่เติมหมู่ฟอสเฟต (kinases) เช่น ATM, Chk1, Chk2 โดยเอนไซม์เหล่านี้จะเติมหมู่ฟอสเฟต (phosphorylation) ที่กรดอะมิโนใน N-terminal domain ของโปรตีน p53 ทำให้โปรตีน Mdm2 ไม่สามารถจับกับโปรตีน p53 ได้ ขณะเดียวกันเอนไซม์ ATM ก็สามารถยับยั้งการทำงานของ Mdm2 โดยปฏิกิริยาการเติมหมู่ฟอสเฟตด้วย ซึ่งกระบวนการเหล่านี้จะเกิดขึ้นในภาวะที่มีการทำลาย DNA เช่น การได้รับรังสี (ionizing radiation) หรือยาเคมีบำบัด ส่วนอีกกระบวนการหนึ่งเกิดขึ้นเมื่อมีความผิดปกติของ mitogenic signals เช่น Myc overexpression, E2F1 activation, activated Ras expression จะมีการเพิ่มขึ้นของโปรตีน p14^{ARF} ซึ่งจะจับกับโปรตีน Mdm2 ทำให้เกิดการยับยั้งการทำงานของโปรตีน Mdm2 ทั้งสองกระบวนการนี้ทำให้สลายโปรตีน p53 ลดลงในขณะที่การสร้างโปรตีน p53 ยังดำเนินต่อไปอยู่ ทำให้ปริมาณโปรตีน p53 เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว

หน้าที่ของโปรตีน p53 [35,36]

โปรตีน p53 เป็น transcription factor ดังนั้น การทำงานของโปรตีน p53 จึงเป็นการกระตุ้นหรือยับยั้งการทำงานของยีนอื่น ๆ ซึ่งต้องอาศัยการจับกันระหว่าง sequence-specific DNA binding domain ของโปรตีน p53 กับยีนเป้าหมาย โดยที่ยีนเหล่านี้มีหน้าที่สำคัญอยู่ 2 ประการ คือ การหยุดวัฏจักรเซลล์ (cell cycle arrest) และการกระตุ้นให้เกิดกระบวนการตายของเซลล์แบบ apoptosis

โปรตีน p53 หยุดวัฏจักรของเซลล์โดยกระตุ้นให้ยีนหลายตัวซึ่งทำหน้าที่ควบคุมวัฏจักรของเซลล์ในระยะต่าง ๆ ที่แตกต่างกันไป เช่น ยีน *p21^{Cip1}*, *14-3-3σ* ทำงาน ทำให้เกิดการหยุดวัฏจักรของเซลล์ที่ระยะตามชนิดของยีนที่ถูกกระตุ้น ทำให้เซลล์หยุดอยู่ที่ระยะนั้นและไม่สามารถเพิ่มจำนวนต่อไปได้ เมื่อมีการทำลาย DNA เกิดขึ้นโปรตีน p53 จะเพิ่มขึ้นมีผลให้เกิดการหยุดวัฏจักรของเซลล์พร้อม ๆ กัน นั้นก็จะมีกระบวนการซ่อมแซม DNA ด้วยกลไกต่าง ๆ ซึ่งส่วนหนึ่ง เช่น nucleotide excisional repair, base excisional repair ก็ถูกกระตุ้นโดยโปรตีน p53 เช่นเดียวกัน การหยุดวัฏจักรของเซลล์และการกระตุ้นให้เกิดการซ่อมแซม DNA ทำให้โปรตีน p53 สามารถลดอัตราการกลายพันธุ์สะสมของจีโนมของเซลล์ ทำให้โปรตีน p53 ถูกเรียกว่าเป็นผู้พิทักษ์ของจีโนม (guardian of the genome) การกระตุ้นให้เกิด

การตายของเซลล์แบบ apoptosis โดยโปรตีน p53 ก็เกิดขึ้นจากการกระตุ้นยีนที่ควบคุมการเกิด apoptosis เช่น ยีน *Bax*, *PIG3*, *ARAF-1* ซึ่งจะเกิดขึ้นในกรณีที่มีการทำลายหรือความผิดปกติแบบรุนแรง

เมื่อมีการทำลาย DNA หรือ มี mitogenic signals ที่ผิดปกติเกิดขึ้น จะมีการตอบสนองของเซลล์โดยปริมาณโปรตีน p53 จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วดังกล่าวข้างต้น ทำให้เกิดการหยุดวัฏจักรเซลล์ และการซ่อมแซม DNA หรืออาจเกิดการตายของเซลล์แบบ apoptosis หากเซลล์ไม่มีโปรตีน p53 หรือ มีความผิดปกติที่ทำให้ไม่สามารถทำงานได้ปกติ เมื่อเกิดการทำลาย DNA จะทำให้เซลล์ไม่สามารถซ่อมแซม DNA และยังคงมีการเพิ่มจำนวนของเซลล์ ทำให้มีการกลายพันธุ์ของยีนต่าง ๆ ในจีโนมของเซลล์สะสมมากขึ้นไปเรื่อย ๆ จนอาจทำให้กลายเป็นเซลล์มะเร็งในที่สุด

การกลายพันธุ์ของยีน p53 (p53 mutation) [36,37]

การกลายพันธุ์ของยีน p53 มีความสำคัญในการเกิดโรคมะเร็งเกือบทุกชนิด โดยพบได้ประมาณร้อยละ 50 ของมะเร็งทั้งหมด แม้ยีน p53 จะมีขนาดใหญ่แต่การกลายพันธุ์ไม่ได้เกิดขึ้นในทุกตำแหน่งของยีน ส่วนใหญ่การกลายพันธุ์เกิดขึ้นที่ sequence-specific DNA binding domain (กรดอะมิโนที่ 97-300) โดยมีตำแหน่งที่เกิดการกลายพันธุ์บ่อยที่สุด ได้แก่ codons 175, 245, 248, 249, 273 และ 282 มากกว่าร้อยละ 80 ของการศึกษาที่เกี่ยวข้องกับการกลายพันธุ์ของยีน p53 ศึกษาการกลายพันธุ์ที่ exon ที่ 5-8 (กรดอะมิโนที่ 126-306) เป็นหลัก ซึ่งอาจทำให้ไม่ได้ข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับการกลายพันธุ์ที่ตำแหน่งอื่น ๆ ประมาณร้อยละ 70-80 ของการกลายพันธุ์เป็นชนิด missense คือ การกลายพันธุ์ที่ทำให้ยังสามารถสังเคราะห์โปรตีนได้อยู่แต่มีการแทนที่ของกรดอะมิโนเกิดขึ้น ทำให้ยังสามารถตรวจพบโปรตีน p53 ที่กลายพันธุ์ได้ในเซลล์มะเร็ง การกลายพันธุ์ในตำแหน่งต่าง ๆ กันทำให้โปรตีน p53 ที่กลายพันธุ์มีโครงสร้างที่แตกต่างกัน ทำให้มีความหลากหลายในแง่การสูญเสียคุณสมบัติในการจับกับ DNA และการกระตุ้นการทำงานของยีนอื่น ๆ การศึกษาในหนู พบว่า การกลายพันธุ์ของยีน p53 บางชนิดอาจทำให้โปรตีน p53 สูญเสียคุณสมบัติบางอย่างในขณะที่ยังมีคุณสมบัติอื่นอยู่ เช่น สูญเสียคุณสมบัติการกระตุ้นการตายของเซลล์แบบ apoptosis แต่ยังสามารถหยุดวัฏจักรเซลล์ได้อยู่

ยีน p53 มีความแตกต่างกับยีนที่กดการเกิดมะเร็ง (tumor suppressor genes) โดยทั่วไปซึ่งเป็นยีนด้อย (autosomal recessive) การกลายพันธุ์มักทำให้ยีนไม่สามารถสร้างโปรตีนได้และต้องอาศัยการกลายพันธุ์หรือการหายไปของยีนทั้ง 2 อัลลีลจึงจะมีผลต่อเซลล์ เนื่องจากยีนปกติเพียง 1

อัลลิลก็สามารถทำงานได้ แต่ในยีน p53 การกลายพันธุ์ของยีนส่วนใหญ่ยังสามารถสร้างโปรตีน p53 ได้อยู่และการกลายพันธุ์ของยีน p53 เพียง 1 อัลลิลก็สามารถก่อให้เกิดความผิดปกติแก่เซลล์ได้ ซึ่งปัจจุบันเชื่อว่าการกลายพันธุ์ของยีน p53 ก่อให้เกิดความผิดปกติแก่เซลล์โดยการยับยั้งการทำงานของโปรตีน p53 ปกติโดยโปรตีน p53 ที่กลายพันธุ์ ซึ่งเกิดจากคุณสมบัติของโปรตีน p53 ปกติที่มีการจับกันในลักษณะของ homotetramer เมื่อมีการกลายพันธุ์ของยีน p53 เกิดขึ้น แม้โปรตีน p53 ที่กลายพันธุ์ จะเสียคุณสมบัติในการทำหน้าทีไปแต่ยังสามารถจับกับโปรตีน p53 ที่ปกติเป็น tetramer ได้ซึ่งแม้จะมีโปรตีน p53 ที่กลายพันธุ์เพียงสายเดียวในสี่สายที่จับกันก็สามารถขัดขวางการทำงานของ tetramer ทั้งหมดได้ โดยการกลายพันธุ์ของยีน p53 เพียงอัลลิลเดียวสามารถทำให้โอกาสการเกิด homotetramer ของโปรตีน p53 ปกติเหลือเพียง 1/16 หรือร้อยละ 6.25 ซึ่งมีคุณสมบัติของโปรตีน p53 ที่ปกติ การกลายพันธุ์ของยีน p53 เพียงอัลลิลเดียวจึงสามารถทำให้การทำงานของโปรตีน p53 ลดลงมากทำให้เกิดการสะสมของการกลายพันธุ์ของจีโนมมากขึ้นเรื่อย ๆ จนเกิดมะเร็งในที่สุด ลักษณะการกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นแบบนี้เรียกว่า dominant-negative mutant นอกจากนี้ยังมีผู้ศึกษาพบการกลายพันธุ์ของยีน p53 ที่ก่อให้เกิดความผิดปกติแก่เซลล์จนกลายเป็นมะเร็งโดยการทำงานที่เพิ่มขึ้น (gain of oncogenic function)

การตรวจหาการกลายพันธุ์ของยีน p53 และความผิดปกติของโปรตีน p53 [38]

การตรวจหาการกลายพันธุ์ของยีน p53 ที่ดีที่สุด คือ การตรวจลำดับการเรียงตัวของสารพันธุกรรมของยีน p53 ทั้งหมด แต่เนื่องจากยีน p53 เป็นยีนที่มีขนาดใหญ่และการกลายพันธุ์ส่วนใหญ่ร้อยละ 95 เกิดขึ้นในส่วน sequence-specific DNA binding domain (กรดอะมิโนที่ 97-300) การศึกษาที่เกี่ยวข้องกับการกลายพันธุ์ของยีน p53 จึงศึกษาเฉพาะใน exon ที่ 5-8 เป็นส่วนใหญ่ โดยมักจะเริ่มจากการตรวจคัดกรองการกลายพันธุ์ของยีน p53 ก่อนด้วยการทำ single-strand conformation polymorphism หรือ denaturing gradient gel electrophoresis ส่วนของยีนที่ได้จากกระบวนการ polymerase chain reaction (PCR) เพื่อเพิ่มปริมาณของยีนในส่วนที่ต้องการ โดยอาศัยหลักการว่าเมื่อเกิดการกลายพันธุ์ที่ตำแหน่งใดตำแหน่งหนึ่งจะทำให้ส่วนของยีนนั้นที่เกิดจากกระบวนการ PCR จะเคลื่อนที่ไปบน gel electrophoresis ไปอยู่บนตำแหน่งที่แตกต่างไปจากเดิม เมื่อตรวจพบยีนส่วนที่น่าจะมีการกลายพันธุ์แล้วจึงค่อยนำไปตรวจลำดับการเรียงตัวของสารพันธุกรรมในส่วนนั้น ๆ อีกทีหนึ่ง วิธีการตรวจลักษณะนี้สามารถประหยัดค่าใช้จ่ายและเวลาในการตรวจหาความกลายพันธุ์ของยีน p53

และมีความไวค่อนข้างสูงในการตรวจหาการกลายพันธุ์ของยีน p53 แต่ก็ไม่สามารถบอกการกลายพันธุ์ในส่วนอื่น ๆ หากไม่ได้ทำการตรวจลำดับการเรียงตัวของสารพันธุกรรมของยีน p53 ทั้งยีนได้

เนื่องจากโปรตีน p53 ปกติมีค่าครึ่งชีวิตสั้นในขณะที่โปรตีน p53 ที่กลายพันธุ์มักจะมีค่าครึ่งชีวิตที่ยาวกว่าและมีการสะสมเกิดขึ้นในเซลล์ได้ ทำให้มีการนำวิธีการตรวจหาโปรตีน p53 มาใช้ โดยปัจจุบันที่วิธีที่นิยมทำมากที่สุด คือ การย้อมทางอิมมูโน (immunohistochemical staining) ซึ่งจะย้อมติดโปรตีน p53 ที่กลายพันธุ์เป็นส่วนใหญ่ ขณะที่โปรตีน p53 ปกติจะย้อมไม่ติด ข้อดีของวิธีนี้ คือ ทำได้ง่ายและสามารถทำในห้องปฏิบัติการทางพยาธิวิทยาทั่ว ๆ ไปได้ อย่างไรก็ตาม การตรวจพบความผิดปกติจากการย้อมทางอิมมูโนเพียงแค่ออกว่าน่าจะมีการกลายพันธุ์ของยีน p53 เนื่องจากเฉพาะการกลายพันธุ์แบบ missense เท่านั้นที่จะมีการสะสมของโปรตีน p53 ในขณะที่การกลายพันธุ์แบบอื่น ๆ เช่น deletions หรือ nonsense ซึ่งมีอยู่ประมาณร้อยละ 30 จะไม่มีการสะสมของโปรตีน p53 ทำให้ไม่สามารถตรวจพบได้ด้วยการย้อมทางอิมมูโน ในขณะที่ความผิดปกติที่พบจากการย้อมทางอิมมูโนก็อาจเกิดจากโปรตีน p53 ที่ปกติได้ เนื่องจากเซลล์ที่นำมาตรวจอาจอยู่ในช่วงที่มีการเพิ่มปริมาณโปรตีน p53 ของเซลล์เพื่อตอบสนองต่อภาวะบางอย่างอยู่ การศึกษาเปรียบเทียบการตรวจโปรตีน p53 ด้วยการย้อมทางอิมมูโนและการตรวจการกลายพันธุ์ของยีน p53 พบความสอดคล้องของผลการตรวจ (concordance) เพียงแค่ประมาณร้อยละ 60-70 [39]

บทที่ 4

ยีน p53 และมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็ก

การกลายพันธุ์ของยีน p53 เป็นกลไกสำคัญอันหนึ่งในการเกิดโรคมะเร็งและเป็นความผิดปกติทางพันธุกรรมที่มีได้รับการศึกษามากที่สุดในโรคมะเร็ง โดยพบได้ประมาณร้อยละ 50 ของโรคมะเร็งทั้งหมด [40] ซึ่งในมะเร็งปอดพบการกลายพันธุ์ของยีน p53 ประมาณร้อยละ 90 ของมะเร็งปอดชนิดเซลล์เล็กและร้อยละ 50 ของมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็ก [1] ได้มีการศึกษาการกลายพันธุ์ของยีน p53 ในมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กในแง่ต่าง ๆ มากมาย ทั้งกลไกการเกิดโรค ความสัมพันธ์กับปัจจัยอื่น ๆ ผลต่อการพยากรณ์โรค และการทำนายการตอบสนองต่อการรักษา

การกลายพันธุ์ของยีน p53 ในมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็ก

การกลายพันธุ์ของยีน p53 พบได้ประมาณร้อยละ 50 ของมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กโดยพบมากที่สุดในชนิด squamous cell carcinoma และน้อยที่สุดในชนิด adenocarcinoma [41] โดยยังไม่มียีนฐานที่แสดงถึงลักษณะการถ่ายทอดทางพันธุกรรมของการกลายพันธุ์ของยีน p53 ที่ทำให้เกิดมะเร็งปอด แม้จะพบความผิดปกติของโปรตีน p53 สามารถพบได้ตั้งแต่รอยโรคก่อนการเกิดมะเร็ง (pre-malignant lesions) ระยะแรก ๆ รวมทั้งเซลล์เยื่อหุ้มหลอดลมปกติแต่ส่วนมากจะพบในช่วงที่รอยโรคกำลังจะเปลี่ยนไปสู่การเป็นมะเร็ง [42] ดังนั้น การกลายพันธุ์ของยีน p53 มีความสำคัญในการเกิดมะเร็งปอดแต่ไม่ใช่กลไกที่จำเป็นต้องมีในการเกิดมะเร็งปอด การกลายพันธุ์ของยีน p53 ในผู้ป่วยมะเร็งปอดที่สูบบุหรี่มักจะเป็นการเปลี่ยนจาก Guanine เป็น Thymidine และมักเกิดขึ้นที่ตำแหน่งโคดอนที่ 157, 248 และ 273 ซึ่งอยู่ใน sequence-specific DNA binding domain [35] มีหลายการศึกษาที่พบความสัมพันธ์แบบ dose-response relationship ระหว่างการกลายพันธุ์ของยีน p53 กับการสูบบุหรี่ [43,44] การศึกษาในผู้ป่วยมะเร็งปอดที่ไม่สูบบุหรี่พบการกลายพันธุ์ของยีน p53 เพียงร้อยละ 8-26 และพบการเปลี่ยนจาก Guanine เป็น Thymidine ได้น้อย [45,46] เชื่อว่าสาร benzo[a]pyrene เป็นสารสำคัญในบุหรี่ที่เกี่ยวข้องกับการกลายพันธุ์ของยีน p53 โดยมี benzo[a]pyrene diol epoxide (BPDE) เป็นเมตาบอไลต์ที่สำคัญที่จับกับ DNA โดยเฉพาะตำแหน่งโคดอนที่ 157, 248 และ 273 ของ

ยีน p53 ซึ่งเป็นตำแหน่งที่เกิดการกลายพันธุ์ได้บ่อย [47] สารก่อมะเร็งในบุหรี่จึงน่าจะมีความสัมพันธ์กับการกลายพันธุ์ของยีน p53 ในกลไกการเกิดมะเร็งปอด

การกลายพันธุ์ของยีน p53 กับการพยากรณ์โรคของมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็ก

แม้จะมีการศึกษามากมายเกี่ยวกับความสำคัญของการกลายพันธุ์ของยีน p53 ต่อการพยากรณ์โรคของมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็ก แต่ก็ยังไม่มีข้อสรุปที่ชัดเจนว่าการกลายพันธุ์ของยีน p53 มีผลต่อการพยากรณ์โรคหรือไม่ โดยการศึกษาส่วนใหญ่ทำในผู้ป่วยที่ได้รับการผ่าตัดและใช้การตรวจโปรตีน p53 ด้วยการย้อมทางอิมมูโน ซึ่งผลส่วนใหญ่พบว่า ผู้ป่วยที่มีความผิดปกติของโปรตีน p53 จะมีการพยากรณ์โรคที่แย่กว่าผู้ป่วยที่ไม่มีความผิดปกติของโปรตีน p53 [38,48,49,50,51] แต่ก็มีการศึกษาที่พบทั้งผลตรงกันข้าม [52,53,54] และที่ไม่พบความสัมพันธ์ของความผิดปกติของโปรตีน p53 กับการพยากรณ์โรค [55,56] การที่ผลการศึกษาไม่สอดคล้องกันส่วนหนึ่งน่าจะมีสาเหตุจากที่ส่วนใหญ่ใช้การตรวจโปรตีน p53 ด้วยการย้อมทางอิมมูโน ซึ่งมีความสอดคล้องกับการตรวจการกลายพันธุ์ของยีน p53 เพียงแค่ร้อยละ 70 [38] และการศึกษาเหล่านี้แม้จะใช้การย้อมทางอิมมูโนเหมือนกัน แต่เทคนิคและแอนติบอดีที่ใช้ก็แตกต่างกันทำให้ไม่สามารถเปรียบเทียบข้ามการศึกษาได้

การกลายพันธุ์ของยีน p53 กับการตอบสนองต่อการรักษาของโรคมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็ก

เนื่องจากยีน p53 มีความสำคัญในการตอบสนองต่อการทำลาย DNA และทำให้เกิดการตายของเซลล์แบบ apoptosis ซึ่งเป็นกลไกการทำลายเซลล์มะเร็งของการฉายรังสีและยาเคมีบำบัดหลายชนิด ดังนั้น การกลายพันธุ์ของยีน p53 จึงอาจมีผลให้การตอบสนองต่อการรักษาเหล่านี้ลดลง มีหลายการศึกษาซึ่งพบว่า ในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กการกลายพันธุ์ของยีน p53 และความผิดปกติของโปรตีน p53 จะมีการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดสูตรที่มียา cisplatin เป็นยาหลักลดลง ซึ่งจะกล่าวต่อไปในบทที่ 5

บทที่ 5

ปริทรรศน์วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

การออกฤทธิ์ของยาเคมีบำบัดส่วนใหญ่ทำให้เซลล์มะเร็งตายแบบ apoptosis ซึ่งมีสารพันธุกรรมและโปรตีนเกี่ยวข้องหลายชนิด ยีน *p53* เป็นยีนที่กดกลไกการเกิดมะเร็ง (tumor suppressor gene) และมีส่วนสำคัญในการออกฤทธิ์ของยาเคมีบำบัดผ่านทางกระบวนการ apoptosis เมื่อมีการทำลายหรือการแตกหักของสาร DNA ดังกล่าวในบทที่ 3 การศึกษาระยะแรกส่วนใหญ่เป็นการศึกษาในเซลล์มะเร็งในหลอดทดลอง ซึ่งการศึกษาที่ใหญ่ที่สุด คือ การศึกษาของสถาบันมะเร็งแห่งชาติสหรัฐอเมริกา (National Cancer Institute, NCI) ซึ่งนำเซลล์มะเร็ง 60 สายพันธุ์เซลล์มาทดสอบความไวต่อยาเคมีบำบัดชนิดต่าง ๆ พบว่า เซลล์มะเร็งชนิดต่าง ๆ (ซึ่งรวมถึงเซลล์มะเร็งปอดด้วย) ที่มีการกลายพันธุ์ของยีน *p53* จะตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดบางชนิดได้น้อยกว่าเซลล์มะเร็งที่มียีน *p53* ที่ไม่มีการกลายพันธุ์ โดยเฉพาะยาที่ออกฤทธิ์ที่ DNA เช่น ยากลุ่มที่มีผลให้เกิด DNA cross-link เช่น กลุ่ม platinum , ยากลุ่ม antimetabolite เช่น ยา fluorouracil เป็นต้น ในขณะที่การกลายพันธุ์ของยีน *p53* ไม่มีผลต่อการออกฤทธิ์ของยากลุ่ม antimetabolic เช่น ยากลุ่ม taxane [57] การศึกษาในมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กมีทั้งในหลอดทดลองและในสัตว์ทดลองส่วนใหญ่ก็พบการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดลดลงในเซลล์มะเร็งที่มีการกลายพันธุ์ของยีน *p53* โดยเฉพาะยาเคมีบำบัดกลุ่มที่ออกฤทธิ์ที่ DNA [58,59] เช่นเดียวกับการศึกษาของ NCI นอกจากนี้ยังมีการศึกษาผลของความผิดปกติของ *p53* ต่อการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดรุ่นใหม่ ๆ ที่นิยมใช้ในมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กกระทำด้วย โดยเฉพาะยา gemcitabine ซึ่งเป็นยาในกลุ่ม antimetabolite ตัวหนึ่ง พบว่า เซลล์มะเร็งที่เสียการทำงานของโปรตีน *p53* จะดื้อต่อยา gemcitabine [15,16] ในขณะที่มีการศึกษาที่พบว่า การกลายพันธุ์ของยีน *p53* ไม่มีผลต่อการตอบสนองต่อยา paclitaxel [60,61]

การศึกษาที่ผ่านมาพบว่า มะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กจะมีการกลายพันธุ์ของยีน *p53* ประมาณร้อยละ 50 [1] โดยการศึกษาเกี่ยวกับผลของการกลายพันธุ์ของ *p53* ต่อการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดส่วนใหญ่ใช้วิธีการตรวจด้วยการย้อมทางอิมมูโนและศึกษาในยาเคมีบำบัดสูตรที่มี cisplatin เป็นยาหลักพบว่า มะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กที่มีการแสดงออกของโปรตีน *p53* มากกว่าปกติ มีโอกาสดีด้อยมากกว่ามะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กที่มีการแสดงออกของโปรตีน *p53* ปกติโดยพบ odd ratio ของการมีการตอบสนองต่อสูตรยาเคมีบำบัดที่มียากลุ่ม platinum เป็นองค์ประกอบ ตั้งแต่ 3 ถึง 20.05 ในผู้ป่วยที่ไม่มีเปรียบเทียบกับผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของโปรตีน *p53* มากกว่าปกติ [10,11,12,13,14] อย่างไรก็ตามยังมีความขัดแย้งของข้อมูลที่มีอยู่โดยพบว่า การศึกษาส่วนใหญ่ที่ทำในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กกระทำด้วยการแสดงออกของโปรตีน *p53* มีผลต่อการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดสูตรที่มียา cisplatin เป็นยาหลัก ในขณะที่การศึกษาในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กกระทำที่สามซึ่งส่วน

ใหญ่เป็นการให้ยาเคมีบำบัดก่อนการผ่าตัดกลับพบว่าการแสดงออกของโปรตีน p53 และการกลายพันธุ์ของยีน p53 อาจมีและไม่มีผลต่อยาเคมีบำบัดสูตรที่มียาในกลุ่ม platinum เป็นยาหลัก [62,63,64,65]

เมื่อพิจารณาสูตรยาที่ใช้ในการรักษามะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กในปัจจุบันมียาในกลุ่ม platinum เป็นยาหลัก โดยยาตัวที่สองมักจะเป็นยา gemcitabine หรือยาในกลุ่ม paclitaxel ซึ่งถือว่าไม่มีความแตกต่างกันในแง่การตอบสนองและผลการรักษาดังกล่าวในบทที่ 2 ข้อมูลจากการศึกษาในหลอดทดลองและในสัตว์ทดลองพบความแตกต่างของผลของความผิดปกติของโปรตีน p53 และการกลายพันธุ์ของยีน p53 ต่อการตอบสนองต่อยา gemcitabine และยา paclitaxel ในมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กดังกล่าวข้างต้น การศึกษาในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กระยะที่สามและระยะท้ายจำนวนไม่มากนักพบว่า การตอบสนองต่อยา paclitaxel ไม่แตกต่างกันในกลุ่มที่มีและไม่มี การกลายพันธุ์ของยีน p53 [17,18] p53 โดยเชื่อว่ากลไกการออกฤทธิ์ของยา paclitaxel ทำให้เกิด apoptosis โดยไม่อาศัย p53 (p53 independent apoptosis) ดังนั้นหากมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กได้มีการกลายพันธุ์ของยีน p53 หรือมีการแสดงออกของโปรตีน p53 มากกว่าปกติน่าจะตอบสนองต่อการรักษาด้วยสูตรยา platinum และ paclitaxel ได้ดีกว่าการรักษาด้วยสูตรยา platinum และ gemcitabine ซึ่งยังไม่มีการศึกษาเปรียบเทียบการตอบสนองต่อสูตรยา 2 สูตรดังกล่าว ในมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กที่มีและไม่มี การกลายพันธุ์ของยีน p53 หรือการแสดงออกของโปรตีน p53 มากกว่าปกติ

การตรวจหาการกลายพันธุ์ของยีน p53 ที่ใช้ในการศึกษาต่าง ๆ มีอยู่ 2 วิธี คือ การตรวจหาการกลายพันธุ์ของยีน p53 โดยตรงโดยใช้วิธี Polymerase chain reactions (PCR) และการตรวจการแสดงออกของโปรตีน p53 โดยใช้การย้อมด้วยวิธีทางอิมมูโน (immunohistochemical method) ซึ่งอาศัยหลักฐานที่ว่ายีน p53 ที่ปกติ (wild type p53) จะสร้างสาร p53 ที่มีครึ่งชีวิตสั้นซึ่งไม่สามารถตรวจพบได้ด้วยการย้อมทางอิมมูโน ในขณะที่ยีน p53 ที่มีการกลายพันธุ์ (mutated p53) จะสร้างสาร p53 ที่มีครึ่งชีวิตยาวทำให้สามารถตรวจพบโดยวิธีการย้อมทางอิมมูโนได้ อย่างไรก็ตาม การกลายพันธุ์ของยีน p53 มีหลายแบบและหลายตำแหน่ง การกลายพันธุ์ที่พบว่ายังมีการสร้างโปรตีน p53 และมีค่าครึ่งชีวิตที่ยาวขึ้นดังกล่าวมีเพียงการกลายพันธุ์ชนิด missense เท่านั้น ซึ่งรายงานการศึกษาในมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็ก พบว่า ในกรณีที่มีการกลายพันธุ์ของยีน p53 จะเป็นการกลายพันธุ์แบบ missense ประมาณร้อยละ 63 [19] การตรวจหาการกลายพันธุ์ของยีน p53 โดยตรงโดยใช้วิธี Polymerase chain reactions (PCR) จึงน่าจะมีความถูกต้องมากกว่า โดยพบความสอดคล้องของการตรวจทั้งสองวิธีประมาณร้อยละ 60-70 [38] แต่เนื่องจากยีน p53 เป็นยีนที่มีขนาดใหญ่แม้จะมีตำแหน่งการกลายพันธุ์ที่พบบ่อยอยู่ไม่กี่ตำแหน่ง แต่การตรวจด้วยวิธี PCR ก็ต้องเสียค่าใช้จ่ายสูงและไม่สามารถทำได้ในห้องปฏิบัติการทั่วไปได้ ในขณะที่การตรวจด้วยการย้อมทางอิมมูโนทำได้ง่าย ประหยัด

ค่าใช้จ่าย และสามารถทำได้ในห้องปฏิบัติการทางพยาธิวิทยาทั่วไปได้ วิธีการตรวจด้วยการย้อมทางอิมมูโนฟลูออโรสโคปีจะเหมาะสมในทางปฏิบัติมากกว่า ซึ่งก็เป็นวิธีที่ใช้มากที่สุดในการศึกษาที่ผ่านมา [10,11,12,13,14]

อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีเกณฑ์ในการแปลผลที่แน่นอนว่าการย้อมติดสีมากน้อยเท่าไรจึงจะบ่งชี้ว่ามีความผิดปกติของการแสดงออกของโปรตีน p53 การศึกษาที่ผ่านมาส่วนมากใช้เกณฑ์ร้อยละ 1 [10,11,14] และ 10 [12,13,65,66] โดยมีบางการศึกษาอาศัยข้อมูลจากการวิเคราะห์เปรียบเทียบผลการตรวจด้วยการย้อมทางอิมมูโนกับการตรวจหาการกลายพันธุ์ของยีน p53 [66] นอกจากนี้แต่ละการศึกษายังมีวิธีการการย้อมรวมถึงการใช้แอนติบอดีที่แตกต่างกัน ซึ่งทำให้ผลการศึกษาที่ผ่านทั้งในแง่ผลต่อการพยากรณ์โรคและการทำนายการตอบสนองต่อการรักษาของการแสดงออกของโปรตีน p53 ให้ผลที่มีความขัดแย้งกัน

บทที่ 6 วัสดุและวิธีการ

1. ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง (population and sample)

ประชากรเป้าหมาย หมายถึง ผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กระยะท้าย

ประชากรตัวอย่าง หมายถึง ผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กระยะท้ายที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย ตั้งแต่ เดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2545 ถึงมกราคม พ.ศ. 2550

เกณฑ์ในการคัดเลือกเข้าการศึกษา (Inclusion criteria)

1. เป็นผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กระยะท้าย (ระยะที่ 3 ที่มีน้ำในเยื่อหุ้มปอดจากมะเร็งและระยะที่ 4) ที่ได้รับการตรวจวินิจฉัยยืนยันโดยการตรวจชิ้นเนื้อทางพยาธิวิทยาโดยพยาธิแพทย์
2. เป็นผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาด้วยยาเคมีบำบัดสูตร paclitaxel-platinum doublet หรือ gemcitabine-platinum doublet ตามการเลือกของแพทย์ผู้รักษา
3. มีชิ้นเนื้อทางพยาธิวิทยาที่สามารถนำมาตรวจเพิ่มเติมด้วยการย้อมด้วยวิธีทางอิมมูโน (immunohistochemical method) ได้
4. มีรอยโรคที่สามารถใช้วัดหรือประเมินการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดได้ (measurable lesion or evaluable disease) เช่น เนื้ออกที่ตรวจพบจากการเอกซเรย์คอมพิวเตอร์ที่ขนาดใหญ่กว่า 1 เซนติเมตร
5. ได้รับการตรวจประเมินการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดโดยแพทย์ผู้รักษา หลังจากได้รับยาเคมีบำบัดอย่างน้อย 2 รอบ

เกณฑ์ในการคัดเลือกรอกจากการศึกษา (Exclusion criteria)

1. เคยได้รับการรักษาด้วยยาเคมีบำบัดสำหรับมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กมาก่อนที่จะได้รับยาเคมีบำบัดสูตร paclitaxel-platinum doublet หรือ gemcitabine-platinum doublet
2. เคยได้รับการรักษาด้วยการฉายรังสีบริเวณเนื้ออกส่วนที่จะใช้ประเมินการตอบสนอง

2. การคำนวณขนาดตัวอย่าง (sample size)

เนื่องจากไม่เคยมีข้อมูลอัตราตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดสูตร gemcitabine-platinum และสูตร pzcitaxel-platinum ในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กที่มีและไม่มี ความผิดปกติของโปรตีน p53 มาก่อน จึงอาศัยข้อมูลจากการศึกษาในสูตรยาอื่น ๆ ที่มียากุ่มแพลตตินัมเป็นยาหลัก [11,12,13,14] ซึ่งพบว่า การตอบสนองต่อสูตรยาเคมีบำบัดที่มีแพลตตินัมเป็นองค์ประกอบในมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กที่มีการแสดงออกของ p53 มากกว่าปกติมีประมาณร้อยละ 15 และ odd ratio ของการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดที่มีแพลตตินัมเป็นองค์ประกอบในมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กที่ไม่มีและมีการแสดงออกของ p53 มากกว่าปกติอยู่ที่ประมาณ 3.5 โดยกำหนดให้ความเชื่อมั่นที่ 95% และอำนาจการทดสอบทางสถิติที่ 80% อาศัยวิธีคำนวณขนาดตัวอย่างสำหรับการศึกษาเชิงวิเคราะห์เปรียบเทียบผลการตอบสนองต่อการรักษาในผู้ป่วยสองกลุ่มที่ไม่เกี่ยวข้องกัน (independent sample) โดยใช้สูตรคำนวณ ดังนี้

$$\begin{aligned} \alpha &= 0.05 \text{ (one-tailed)} & \beta &= 0.2 \\ P_1 &= 0.38 & P_0 &= 0.15 & OR &= 3.5 \\ N &= [Z_\alpha \sqrt{2PQ} + Z_\beta \sqrt{(P_1Q_1 - P_0Q_0)}] / (P_1 - P_0)^2 \\ &\approx 22 \text{ คนในแต่ละกลุ่ม} \end{aligned}$$

ขนาดตัวอย่างจากการคำนวณ 22 คนต่อกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กที่มีการแสดงออกของโปรตีน p53 มากกว่าปกติที่ได้รับยาแต่ละสูตร และจากข้อมูลการพบการกลายพันธุ์ของยีน p53 ประมาณร้อยละ 50 เพราะฉะนั้นจำนวนผู้ป่วยทั้งหมดที่ต้องการในการศึกษานี้ คือ ประมาณ 88 คน โดยวางแผนรวบรวมผู้ป่วยประมาณ 100 คน เพื่อสำหรับความผิดพลาดจากการเก็บข้อมูล

2. การสังเกตและการวัด (Observation and Measurement)

1. ตัวแปรการวิจัย

1) การแสดงออกของโปรตีน p53

การอ่านผลโดยพยาธิแพทย์หนึ่งท่านที่ไม่ทราบข้อมูลทางคลินิกของผู้ป่วย โดยรายงานผลเป็นร้อยละของจำนวนเซลล์มะเร็งที่ย้อมติดสีเทียบกับเซลล์มะเร็งทั้งหมดและอาศัยเกณฑ์การย้อมติดสีของเซลล์มะเร็งมากกว่าร้อยละ 10 ในการบ่งชี้ว่า

มีความผิดปกติในการแสดงออกของโปรตีน p53 เนื่องจากการศึกษาของ Masayuki Nishio และคณะซึ่งได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบวิธีการตรวจหาการกลายพันธุ์ของยีน p53 กับการตรวจโปรตีน p53 ด้วยการย้อมทางอิมมูโนโดยใช้แอนติบอดีโคลน DO-7 พบว่า การใช้เกณฑ์การย้อมติดสีของโปรตีน p53 ที่มากกว่าร้อยละ 10 มีความสอดคล้อง (concordance) กับผลการตรวจด้วยวิธีการตรวจหาการกลายพันธุ์ของยีน p53 มากที่สุด คือ มีอัตราความสอดคล้อง (concordance rate) ร้อยละ 90 [66] นอกจากนี้ การศึกษาเกี่ยวกับผลของการแสดงออกของโปรตีน p53 ต่อการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดโดยเฉพาะที่การศึกษาที่พบความสัมพันธ์ของการแสดงออกของโปรตีน p53 กับการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดใช้เกณฑ์การย้อมที่มากกว่าร้อยละ 10 เป็นส่วนใหญ่ [12,13,65,66] อย่างไรก็ตาม เนื่องจากยังไม่มีเกณฑ์ที่แน่นอนประกอบกับเทคนิคการย้อมและแอนติบอดีที่ใช้ในการศึกษานี้แตกต่างกับการศึกษาอื่น ๆ ผู้วิจัยจึงวางแผนที่จะวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้เกณฑ์ระดับอื่น ๆ ไปด้วย แล้วทำการวิเคราะห์ข้อมูลโดยการสร้าง receiver operating characteristic (ROC) curves สำหรับผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของโปรตีน p53 มากกว่าปกติตามเกณฑ์การย้อมติดสีที่ระดับต่าง ๆ โดยดูการตอบสนองที่แตกต่างกันสำหรับกลุ่มที่ได้รับยาเคมีบำบัดที่แตกต่างกัน 2 สูตรที่ศึกษา และเลือกเกณฑ์การย้อมติดสีระดับที่ให้ผลพื้นที่ใต้กราฟ ROC curve ที่มากที่สุดหรือสามารถแยกความแตกต่างในการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัด 2 สูตรได้ดีที่สุด

2) การตอบสนองต่อการรักษาของมะเร็งปอด

ผลเป็นการมีหรือไม่มีการตอบสนอง โดยอาศัยเกณฑ์ของ the Response Evaluation Criteria in Solid Tumors Group [67] ซึ่งแบ่งการตอบสนองต่อการรักษาเป็น 4 แบบ ได้แก่

- complete response คือ มีการหายไปของรอยโรคทั้งหมดที่เคยมีอยู่
- partial response คือ มีการลดลงของขนาดของรอยโรคที่วัดการตอบสนองได้ (measurable lesions) ทั้งหมดรวมกันมากกว่าร้อยละ 30 โดยใช้ความกว้างของเนื้องอกในแกนที่ยาวที่สุด (longest diameter)
- stable disease คือ กรณีที่ไม่เข้ากับเกณฑ์ของ partial response และ progressive disease

- progressive disease คือ มีการเพิ่มขึ้นของขนาดของรอยโรคที่วัดการตอบสนองได้ (measurable lesions) ทั้งหมดรวมกันมากกว่าร้อยละ 20 หรือมีรอยโรคใหม่เกิดขึ้น

การประเมินการตอบสนองจะใช้ผลการประเมินโดยแพทย์ผู้รักษาจากเวชระเบียนและนำผลการตรวจทางรังสีวินิจฉัยมาให้แพทย์อีกท่านหนึ่งซึ่งไม่ทราบข้อมูลทางคลินิกอื่น ๆ และผลการย้อมทางอิมมูโนประเมินอีกครั้งหนึ่งตามเกณฑ์ดังกล่าวข้างต้น โดยจะถือว่ามี การตอบสนอง (objective response) ต่อยาเคมีบำบัดเมื่อการประเมินผลการรักษาเป็น complete response หรือ partial response หากผลการประเมินการตอบสนองไม่ตรงกันจะให้แพทย์อีกท่านหนึ่งซึ่งไม่ทราบข้อมูลทางคลินิก และผลการย้อมทางอิมมูโนประเมินอีกครั้งหนึ่ง โดยใช้ผลการประเมินที่ตรงกันของแพทย์สองท่าน

3) ระยะเวลาที่ไม่มีการลุกลามของโรค (time to progression)

ผลเป็นจำนวนวันตั้งแต่เริ่มยาเคมีบำบัดจนถึงวันที่มีหลักฐานว่ามีการลุกลามของโรคเพิ่มขึ้น (disease progression) หรือผู้ป่วยเสียชีวิต หรือวันที่ผู้วิจัยกำหนดให้เป็นวันสิ้นสุดการเก็บข้อมูลเพื่อนำมาวิเคราะห์ข้อมูล

5) ระยะเวลาการรอดชีวิต (overall survival)

ผลเป็นจำนวนวันตั้งแต่เริ่มให้ยาเคมีบำบัดจนถึงวันที่ผู้ป่วยเสียชีวิตไม่ว่าจากสาเหตุใดก็ตามหรือวันที่ผู้วิจัยกำหนดเป็นวันสิ้นสุดการเก็บข้อมูลเพื่อนำมาวิเคราะห์ข้อมูล

4) ปัจจัยที่มีผลต่อการพยากรณ์โรค

อาศัยข้อมูลจากเวชระเบียนเพื่อค้นหาข้อมูลทางคลินิกซึ่งอาจมีผลต่อการพยากรณ์โรค ได้แก่

- การลดลงของน้ำหนักของผู้ป่วย

ใช้เกณฑ์การลดลงของน้ำหนักมากกว่า 4.5 กิโลกรัมหรือมากกว่าร้อยละ 5 ของน้ำหนักเดิมภายในระยะเวลา 6 เดือนโดยไม่ได้เป็นการตั้งใจลดน้ำหนักของผู้ป่วยเอง

- สภาวะของผู้ป่วย (Performance status)

ใช้เกณฑ์การประเมินสถานะของผู้ป่วยตามเกณฑ์ของ Eastern Cooperative Oncology Group โดยแบ่งสถานะของผู้ป่วยเป็น 4 ระดับ คือ

ระดับ 0 ไม่มีอาการ

ระดับ 1 มีอาการแต่สามารถทำกิจวัตรต่าง ๆ ได้ปกติ

ระดับ 2 มีอาการและทำกิจวัตรต่างๆ ได้ลดลงอยู่บนเตียงน้อยกว่าร้อยละ 50

ระดับ 3 มีอาการและทำกิจวัตรต่างๆ ได้ลดลงอยู่บนเตียงมากกว่าร้อยละ 50

ระดับ 4 นอนอยู่ที่เตียงตลอดเวลา (bed ridden)

- เพศ
- การสูบบุหรี่หรือไม่เคยสูบบุหรี่

วิธีการ

การตรวจหาโปรตีน p53 ด้วยวิธีทางอิมมูโน (immunohistochemical method)

ตัวอย่างชิ้นเนื้อของผู้ป่วยที่นำมาศึกษาจะถูกตรวจสอบโดยพยาธิแพทย์ก่อนว่ามีเซลล์มะเร็งอยู่เพียงพอที่จะนำมาข้อมและแปลผลด้วยวิธีทางอิมมูโน ชิ้นเนื้อที่ฝังอยู่ในพาราฟินจะถูกตัดเป็นสไลด์หนาประมาณ 2 ไมครอนและทิ้งไว้ให้แห้ง (air dry) 1 คืนแล้วอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นจะนำเข้าสู่เครื่องข้อมอัตโนมัติ Automate Vantana, Bench Mark® LT. โดยมีขั้นตอนสำคัญดังนี้

1. การสลายพาราฟิน (deparaffinisation)
2. การกู้คืนแอนติเจน (antigen retrieval)

เนื่องจากชิ้นเนื้อที่ผ่านการ fixation ด้วยสารฟอร์มาลินจะมีผลให้เกิดการบดบังการข้อมหาโปรตีนหรือแอนติเจนด้วยวิธีทางอิมมูโน (immunochemical method) จึงจำเป็นที่จะต้องมีการกู้คืนแอนติเจน โดยในการศึกษานี้เลือกใช้ Mild CC-1 protocol ซึ่งมีอยู่ในเครื่องอยู่แล้ว

3. การใส่แอนติบอดีปฐมภูมิ (primary antibody)

หลักการการข้อมทางอิมมูโนอาศัยการทำจับกันที่จำเพาะระหว่างแอนติบอดีกับแอนติเจน โดยแอนติบอดีต่อโปรตีน p53 ที่ใช้ในการศึกษานี้ คือ monoclonal mouse antihuman p53 protein clone: DO-7 isotype: IgG2b, kappa ของบริษัท DAKO ประเทศ

เดนมาร์ก ซึ่งถือเป็นแอนติบอดีปฐมภูมิ (primary antibody) การทำปฏิกิริยากับแอนติบอดีต่อโปรตีน p53 นี้จะใช้เวลา 32 นาทีที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

4. การใส่แอนติบอดีทุติยภูมิ (secondary antibody) และการแสดงผล

หลังจากมีการจับกันของแอนติบอดีต่อโปรตีน p53 (primary antibody) กับโปรตีน p53 (antigen) แล้ว การจะตรวจหาว่ามีโปรตีน p53 ในตัวอย่างหรือไม่ ก็อาศัยการตรวจหาแอนติบอดีต่อโปรตีน p53 โดยใช้แอนติบอดีต่อแอนติบอดีต่อโปรตีน p53 ซึ่งก็คือ แอนติบอดีทุติยภูมิ (secondary antibody) ซึ่งได้จับกับเอ็นไซม์ที่ทำให้เกิดสีไว้ก่อนแล้ว ซึ่งวิธีที่ใช้ในการศึกษานี้ คือ วิธีการย้อมแอนติบอดีทุติยภูมิ multimer technology โดยใช้ Ultra View™ Universal DAB detection kit ของ Ventana แสดงผลเป็นสีที่ติดอยู่กับแอนติบอดีทุติยภูมินั้น

การรวบรวมข้อมูล (Data Collection)

เก็บข้อมูลจากเวชระเบียนและผลการย้อมทางอิมมูโน โดยใช้แบบบันทึกข้อมูล (record form) ตามตัวแปรและข้อมูลที่ต้องการ โดยผู้วิจัยเป็นผู้บันทึกแล้วนำไปบันทึกในคอมพิวเตอร์โดยใช้โปรแกรม Statistical Package for Social Sciences เวอร์ชัน 13.0

การวิเคราะห์ข้อมูล (Data Analysis)

primary endpoint คือ เปรียบเทียบการตอบสนองของต่อยาเคมีบำบัด 2 สูตรในมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กระยะท้ายที่มีการแสดงออกของโปรตีน p53 มากกว่าปกติ

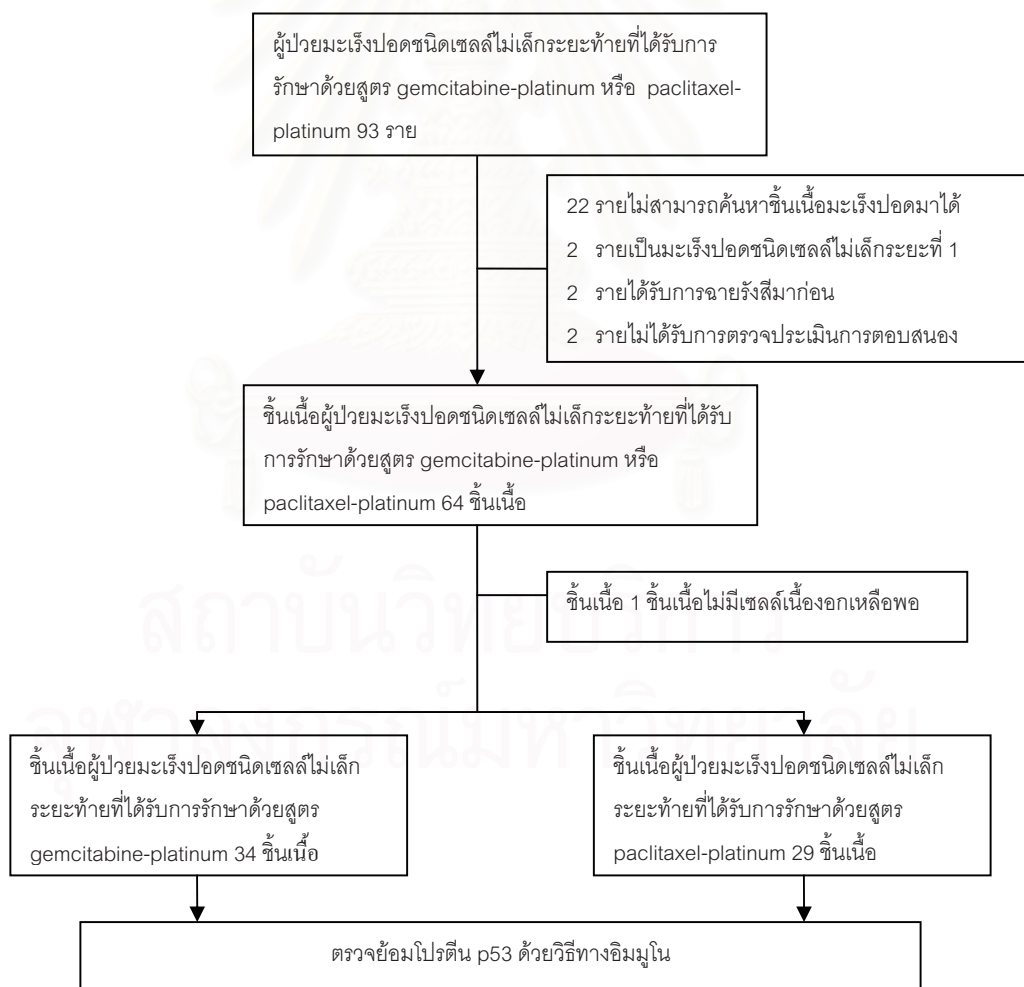
secondary endpoint คือ เปรียบเทียบระยะเวลาที่ไม่มีการลุกลามของโรค (time to progression) และระยะเวลาการรอดชีวิต (overall survival) ของผู้ป่วยโรคมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กระยะท้ายที่มีการแสดงออกของโปรตีน p53 มากกว่าปกติ ที่ได้รับยาเคมีบำบัดแต่ละสูตร

การวิเคราะห์หาเกณฑ์การย้อมติดสีที่เหมาะสมในการศึกษานี้ใช้ ROC curve ดูการตอบสนองต่อยา 2 สูตรที่ศึกษาที่เกณฑ์การย้อมติดสีที่ระดับต่าง ๆ กันโดยเลือกเกณฑ์ที่ให้ผลพื้นที่ใต้กราฟที่มากที่สุด ข้อมูลที่ทำการศึกษาเป็นข้อมูลเชิงคุณภาพ คือ การมีหรือไม่มีการตอบสนองต่อการรักษาและการแสดงออกของโปรตีน p53 ด้วยวิธีทางอิมมูโนเป็นปกติหรือมากกว่าปกติ จะใช้ Chi-square test เป็นวิธี

ทางสถิติที่ใช้ในการทดสอบสมมติฐาน (ยกเว้นในกรณีที่จำนวนตัวอย่างน้อยอาจต้องใช้ Fisher's exact test แทน) เพื่อดูความสัมพันธ์ระหว่างการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดและการแสดงออกของโปรตีน p53 ด้วยวิธีทางอิมมูโน และใช้ binary logistic regression ในการวิเคราะห์ผลของปัจจัยต่าง ๆ ต่อการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดในผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของโปรตีน p53 มากกว่าปกติ ข้อมูลที่เป็นระยะเวลาที่จะเกิดเหตุการณ์ (time to event) ได้แก่ ระยะเวลาที่จะมีการลุกลามของโรค (time to progression) และระยะเวลาการรอดชีวิต (overall survival) จะใช้วิธี Kaplan-Meier ในการวิเคราะห์เพื่อดูความแตกต่างระหว่างกลุ่มที่ได้รับยาเคมีบำบัด 2 สูตรและกลุ่มที่มีการแสดงออกโปรตีน p53 ที่แตกต่าง โดยใช้ค่าความมีนัยสำคัญทางสถิติที่ 0.05 ส่วนความแตกต่างของปัจจัยทางคลินิกอื่น ๆ ระหว่างผู้ป่วยใน 2 กลุ่มที่ได้รับยาเคมีบำบัดต่างชนิดกันจะถูกเปรียบเทียบโดยใช้วิธีทางสถิติตามลักษณะข้อมูลนั้น โดยใช้ Chi-square test สำหรับข้อมูลเชิงคุณภาพ เช่น เพศ, สภาวะของผู้ป่วย เป็นต้น และใช้ student t-test สำหรับข้อมูลเชิงปริมาณ เช่น อายุ

บทที่ 7 ผลการศึกษา

ผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กระยะท้ายที่ได้รับการยืนยันการวินิจฉัยด้วยการตรวจชิ้นเนื้อซึ่งเข้ารับการรักษาที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์โดยได้รับยาเคมีบำบัดเป็นสูตร gemcitabine-platinum หรือสูตร paclitaxel-platinum เป็นยาเคมีบำบัดสูตรแรกในช่วงตั้งแต่เดือน พฤศจิกายน พ.ศ. 2545 ถึงเดือน มกราคม พ.ศ. 2551 มีทั้งสิ้น 93 คน โดยมีตัวอย่างชิ้นเนื้อทางพยาธิวิทยาทั้งที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์หรือสามารถตามชิ้นเนื้อจากที่อื่นมาตรวจเพิ่มเติมได้ 64 ชิ้นเนื้อและตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ยังมีเซลล์เนื้องอกอยู่พอที่จะประเมินผลการย้อมทางอิมมูโนได้มีจำนวนทั้งสิ้น 63 คน ดังแสดงในรูปที่ 7.1



รูปที่ 7.1 แผนผังแสดงการรวบรวมชิ้นเนื้อมะเร็งปอดที่นำมาศึกษา

ข้อมูลพื้นฐานและปัจจัยทางคลินิกที่เกี่ยวข้องกับมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กกระเพาะอาหารของผู้ป่วยทั้งหมดและแบ่งตามสูตรยาเคมีบำบัดที่ผู้ป่วยได้รับแสดงไว้ในตารางที่ 7.1 มีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มผู้ป่วยทั้ง 2 กลุ่มที่ได้รับยาเคมีบำบัดสูตรที่แตกต่างกัน โดยพบว่า มีสัดส่วนของผู้ป่วยเพศหญิง พยาธิวิทยาชนิด adenocarcinoma และผู้ป่วยที่ไม่สูบบุหรี่ในกลุ่มที่ได้รับยาเคมีบำบัดสูตร paclitaxel-platinum มากกว่ากลุ่มที่ได้รับยาเคมีบำบัดสูตร gemcitabine-platinum อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ในการตรวจโปรตีน p53 ด้วยวิธีทางอิมมูโน พบว่า มีการแสดงออกของโปรตีน p53 มากกว่าปกติ (>10%) อยู่ทั้งหมด 42 (ร้อยละ 66.7) คน โดยถ้าพิจารณาในกลุ่มที่ได้รับยาเคมีบำบัดที่แตกต่างกัน พบว่า กลุ่มที่ได้รับยาเคมีบำบัดสูตร gemcitabine-platinum มีการตรวจพบการแสดงออกของโปรตีน p53 มากกว่าปกติ 22 (ร้อยละ 64.7) คน ส่วนกลุ่มที่ได้รับยาเคมีบำบัดสูตร paclitaxel-platinum มีการตรวจพบการแสดงออกของโปรตีน p53 มากกว่าปกติ 20 (ร้อยละ 68.9) คน โดยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=.721$) เมื่อพิจารณาเฉพาะผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของโปรตีน p53 มากกว่าปกติ แม้จะพบว่า มีสัดส่วนของเพศหญิง พยาธิวิทยาชนิด adenocarcinoma และผู้ป่วยที่ไม่สูบบุหรี่ในกลุ่มที่ได้รับ paclitaxel-platinum มากกว่าในกลุ่มที่ได้รับ gemcitabine-platinum แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างนัยสำคัญทางสถิติรวมถึงอายุในกลุ่ม paclitaxel-platinum ที่น้อยกว่า ดังแสดงในตารางที่ 7.2

	Total (n = 63)	Platinum-gemcitabine (n=34)	Platinum-paclitaxel (n=29)	P value
Age (mean \pm SD years)	57.46 \pm 9.40	59.35 \pm 9.75	55.24 \pm 8.61	0.084
Gender				
- Female	37 (58.7%)	16 (47.1%)	21 (72.4%)	0.042
- Male	46 (41.3%)	18 (52.9%)	8 (27.6%)	
Stage				
- IIIb	11 (17.5%)	7 (20.6%)	4 (13.8%)	0.677
- IV	49 (77.8%)	25 (73.5%)	24 (82.8%)	
- Recurrent disease	3 (4.8%)	2 (5.9%)	1 (3.4%)	
Pathology				
- Adenocarcinoma	45 (71.4%)	19 (55.9%)	26 (89.7%)	0.011
- Squamous cell carcinoma	2 (3.2%)	2 (5.9%)	0	
- NSCLC, unspecified	16 (25.4%)	13 (38.2%)	3 (10.3%)	
ECOG				
- ECOG 1	55 (87.3%)	30 (88.2%)	25 (86.2%)	1.000
- ECOG 2	8 (12.7%)	4 (11.8%)	4 (13.8%)	
Smoking status				
- No	34 (54%)	13 (38.2%)	21 (72.4%)	0.002
- Yes	21 (33.3%)	17 (50.0%)	4 (13.8%)	
- unknown	8 (12.7%)	4 (11.8%)	4 (13.8%)	
Weight loss				
- No	26 (41.3%)	12 (35.3%)	14 (48.3%)	0.303
- Yes	23 (36.5%)	14 (41.2%)	9 (31.0%)	
- Unknown	14 (22.2%)	8 (23.5%)	6 (20.7%)	

ตารางที่ 7.1 ข้อมูลพื้นฐานและปัจจัยทางคลินิกของผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กระยะท้ายทั้งหมด และแบ่งตามชนิดของสูตรยาเคมีบำบัดที่ได้รับ

	Platinum-gemcitabine (n=22)	Platinum-paclitaxel (n=20)	P value
Age (mean ± SD years)	57.87 ± 9.62	54.25 ± 9.30	0.120
Gender			
- Female	10 (45.5%)	14 (70%)	0.108
- Male	12 (54.5%)	6 (30%)	
Stage			
- IIIb	4 (18.2%)	3 (15.0%)	0.962
- IV	17 (77.3%)	16 (80.0%)	
- Recurrent disease	1 (4.5%)	1 (5.0%)	
Pathology			
- Adenocarcinoma	14 (63.6%)	18 (90.0%)	0.195
- Squamous cell carcinoma	2 (9.1%)	0	
- NSCLC, unspecified	5 (22.7%)	2 (10.0%)	
ECOG			
- ECOG 1	19 (86.4%)	16 (80.0%)	0.691
- ECOG 2	3 (13.6%)	4 (20.0%)	
Smoking status			
- No	9 (40.9%)	13 (65.0%)	0.078
- Yes	10 (45.5%)	3 (15.0%)	
- unknown	3 (13.6%)	4 (20.0%)	
Weight loss			
- No	7 (31.8%)	9 (45.0%)	0.588
- Yes	7 (31.8%)	6 (30.0%)	
- Unknown	8 (36.4%)	5 (25.0%)	

ตารางที่ 7.2 เปรียบเทียบปัจจัยทางคลินิกในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กกระเพาะอาหารที่มีการแสดงออกของโปรตีน p53 มากกว่าปกติ (เมื่อใช้เกณฑ์การยอมติดสีมากกว่าร้อยละ 10) ที่ได้รับยาเคมีบำบัดที่แตกต่างกัน 2 กลุ่ม

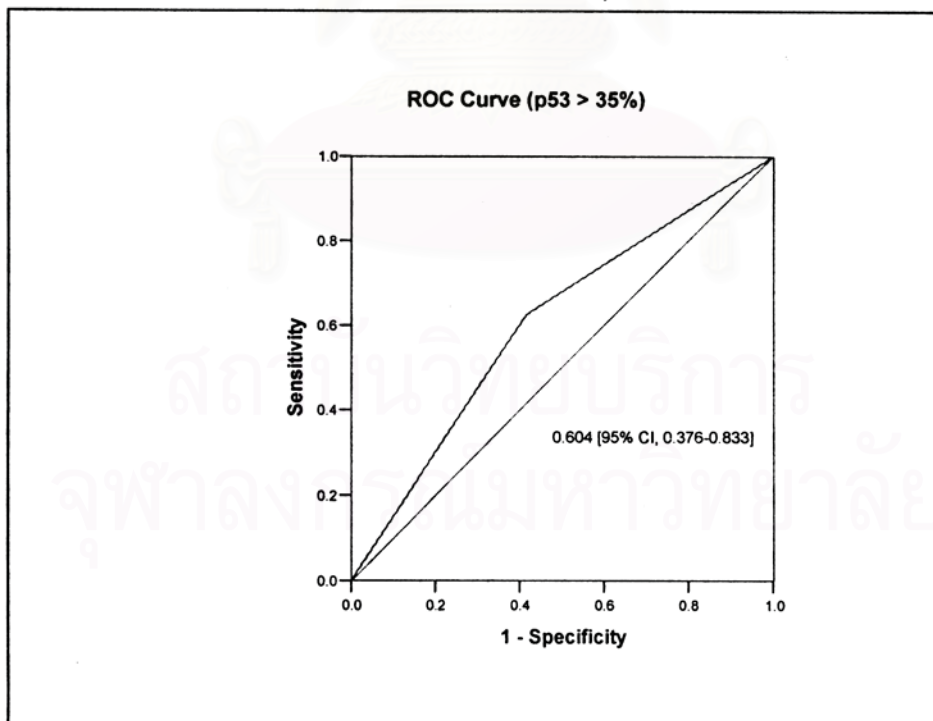
เนื่องจากยังไม่มีเกณฑ์ที่ใช้แยกความผิดปกติของโปรตีน p53 ด้วยการย้อมด้วยวิธีทางอิมมูโนที่แน่นอน ผู้วิจัยจึงได้วิเคราะห์อัตราการตรวจพบการแสดงออกมากกว่าปกติของโปรตีน p53 โดยใช้เกณฑ์ที่ระดับต่าง ๆ ดังแสดงในตารางที่ 7.3 โดยพบว่าการใช้เกณฑ์การย้อมติดสีที่มากกว่าร้อยละ 30 ถึง 40 พบสัดส่วนของผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของโปรตีน p53 มากกว่าปกติที่เท่ากัน คือ ร้อยละ 50.8 และเมื่อวิเคราะห์ข้อมูลโดยการสร้าง ROC curves สำหรับผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของโปรตีน p53 มากกว่าปกติตามเกณฑ์การย้อมติดสีที่ระดับต่าง ๆ โดยดูการตอบสนองที่แตกต่างกันสำหรับกลุ่มที่ได้รับยาเคมีบำบัดที่แตกต่างกัน 2 สูตรที่ศึกษา ดังแสดงในตารางที่ 7.4 พบว่า การใช้เกณฑ์การย้อมติดสีโปรตีน p53 ที่มากกว่าร้อยละ 30 ถึง 40 ได้ ROC curve ที่มีพื้นที่ใต้กราฟมากที่สุด คือ 0.604 ± 0.117 [95% CI, 0.376-0.833] ดังแสดงในรูปที่ 7.2 หรือน่าจะเป็นเกณฑ์ที่พบความแตกต่างของการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดสูตร gemcitabine-platinum และสูตร paclitaxel-platinum ได้ดีที่สุด ผู้วิจัยจึงได้เลือกเกณฑ์การตรวจพบโปรตีน p53 ที่มากกว่าร้อยละ 35 มาวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างการตอบสนองและระยะเวลาที่จะมีการลุกลามของโรคกับการแสดงออกของโปรตีน p53 ควบคู่กับเกณฑ์ที่มากกว่าร้อยละ 10 ที่วางแผนไว้

Cut off levels	Percentage of p53 overexpression	Cut off levels	Percentage of p53 overexpression
p53 > 1%	81.0	p53 > 35%	50.8
p53 > 10%	65.1	P53 > 40%	50.8
P53 > 15%	60.3	P53 > 45%	49.2
P53 > 20%	55.6	P53 > 50%	41.3
P53 > 25%	52.4	P53 > 55%	39.7
P53 > 30%	50.8	P53 > 60%	39.7

ตารางที่ 7.3 สัดส่วนการแสดงออกของโปรตีน p53 มากกว่าปกติที่เกณฑ์การย้อมสีที่ระดับต่าง ๆ

Cut off level	ROC curve (area \pm SE)
P53 > 1%	0.532 \pm 0.093
P53 > 10%	0.575 \pm 0.099
P53 > 20%	0.585 \pm 0.112
P53 > 30%	0.604 \pm 0.117
P53 > 40%	0.604 \pm 0.117
P53 > 50%	0.575 \pm 0.137
P53 > 60%	0.566 \pm 0.138

ตารางที่ 7.4 พื้นที่ใต้กราฟของ ROC curve ของการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดสูตร gemcitabine-platinum และ paclitaxel-platinum ในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กระยะท้ายที่มีการแสดงออกของโปรตีน p53 โดยอาศัยเกณฑ์การยอมด้วยวิธีทางอิมมูโนที่ระดับต่าง ๆ



รูปที่ 7.2 กราฟ ROC curve ของการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดสูตร gemcitabine-platinum และ paclitaxel-platinum ในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กระยะท้ายที่มีการแสดงออกของโปรตีน p53 โดยอาศัยเกณฑ์การยอมด้วยวิธีทางอิมมูโนที่มากกว่าร้อยละ 35

เมื่อใช้เกณฑ์การย้อมติดสีที่มากกว่าร้อยละ 35 พบว่ามีการตรวจพบการแสดงออกของโปรตีน p53 มากกว่าปกติอยู่ทั้งหมด 32 (ร้อยละ 50.8) คน โดยถ้าพิจารณาในกลุ่มที่ได้รับยาเคมีบำบัดที่แตกต่างกัน พบว่า กลุ่มที่ได้รับยาเคมีบำบัดสูตร gemcitabine-platinum มีการตรวจพบการแสดงออกของโปรตีน p53 มากกว่าปกติ 17 (ร้อยละ 50.0) คน ส่วนกลุ่มที่ได้รับยาเคมีบำบัดสูตร paclitaxel-platinum มีการตรวจพบการแสดงออกของโปรตีน p53 มากกว่าปกติ 15 (ร้อยละ 51.7) คน โดยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=.891$) เมื่อพิจารณาเฉพาะผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของโปรตีน p53 มากกว่าปกติ พบว่ามีผู้ป่วยที่ไม่สูบบุหรี่ในกลุ่มที่ได้รับ paclitaxel-platinum มากกว่าในกลุ่มที่ได้รับ gemcitabine-platinum อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=.048$) รวมทั้งยังพบสัดส่วนของเพศหญิงในกลุ่มที่ได้รับ paclitaxel-platinum มากกว่าด้วยแต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่ปัจจัยอื่น ๆ มีความคล้ายคลึงกันในแต่ละกลุ่มที่ได้รับยาเคมีบำบัดต่างชนิดกัน ดังแสดงในตารางที่ 7.5

มีผู้ป่วยที่มีการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดทั้งหมด 17 คนคิดเป็นอัตราการตอบสนองร้อยละ 27 โดยในผู้ป่วยกลุ่มที่ได้รับยาเคมีบำบัดสูตร gemcitabine-platinum มีอัตราการตอบสนองร้อยละ 23.5 และกลุ่มที่ได้รับยาเคมีบำบัดสูตร paclitaxel-platinum มีอัตราการตอบสนองร้อยละ 31.0 แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=.550$) เมื่อพิจารณาเฉพาะกลุ่มที่มีการแสดงออกของโปรตีน p53 มากกว่าปกติโดยใช้เกณฑ์การย้อมติดสีที่มากกว่าร้อยละ 10 พบว่าอัตราการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดในกลุ่มที่ได้รับยาเคมีบำบัดสูตรยาเคมีบำบัดสูตร paclitaxel-platinum เท่ากับร้อยละ 35.0 มากกว่ากลุ่มที่ได้รับยาเคมีบำบัดสูตร gemcitabine-platinum ซึ่งมีอัตราการตอบสนองร้อยละ 22.7 แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ($p=.296$) เมื่อใช้เกณฑ์การย้อมติดสีมากกว่าร้อยละ 35 ในการบอกว่ามีการแสดงออกของโปรตีน p53 มากกว่าปกติ พบว่าอัตราการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดในกลุ่มที่ได้รับยาเคมีบำบัดสูตรยาเคมีบำบัดสูตร paclitaxel-platinum เท่ากับร้อยละ 30.0 มากกว่ากลุ่มที่ได้รับยาเคมีบำบัดสูตร gemcitabine-platinum ซึ่งมีอัตราการตอบสนองร้อยละ 17.6 แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=.270$) อัตราการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดแต่ละสูตรในผู้ป่วยทั้งหมด ผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของโปรตีน p53 ที่ปกติและมากกว่าปกติตามเกณฑ์การย้อมติดสีมากกว่าร้อยละ 10 และร้อยละ 35 ได้แสดงในตารางที่ 7.6 และ 7.7

	Platinum-gemcitabine (n=17)	Platinum-paclitaxel (n=15)	P value
Age (mean \pm SD years)	57.87 \pm 9.62	56.60 \pm 8.49	0.699
Gender			
- Female	7 (41.2%)	10 (66.7%)	0.149
- Male	10 (58.8%)	5 (33.3%)	
Stage			
- IIIb	2 (11.8%)	2 (13.3%)	0.986
- IV	14 (82.3%)	12 (80.0%)	
- Recurrent disease	1 (5.9%)	1 (6.7%)	
Pathology			
- Adenocarcinoma	12 (70.6%)	18 (90.0%)	0.346
- Squamous cell carcinoma	2 (11.8%)	0 (0.0%)	
- NSCLC, unspecified	3 (17.6%)	2 (10.0%)	
ECOG			
- ECOG 1	14 (82.4%)	16 (80.0%)	0.865
- ECOG 2	3 (17.6%)	4 (20.0%)	
Smoking status			
- No	6 (35.3%)	9 (60.0%)	0.048
- Yes	8 (47.1%)	2 (13.3%)	
- unknown	3 (17.6%)	4 (26.7%)	
Weight loss			
- No	5 (29.4%)	8 (53.3%)	0.414
- Yes	6 (35.3%)	4 (26.7%)	
- Unknown	6 (35.3%)	3 (20.0%)	

ตารางที่ 7.5 เปรียบเทียบปัจจัยทางคลินิกในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กกระยะท้ายที่มีการแสดงออกของโปรตีน p53 มากกว่าปกติ (เมื่อใช้เกณฑ์การย้อมติดสีมากกว่าร้อยละ 35) ที่ได้รับยาเคมีบำบัดที่แตกต่างกัน 2 กลุ่ม

เมื่อวิเคราะห์ผลของปัจจัยต่าง ๆ ได้แก่ เพศ, สถานะของผู้ป่วย (performance status), การลดลงของน้ำหนักตัว, การสูบบุหรี่, ชนิดของมะเร็งปอดทางพยาธิวิทยา (pathological type) และสูตรยาต่อการตอบสนองในผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของโปรตีน p53 มากกว่าปกติ โดยใช้ Binary logistic regression model พบว่า เมื่อใช้เกณฑ์การยับยั้งที่มากกว่าร้อยละ 10 ไม่พบว่า มีปัจจัยใดที่มีผลต่อการตอบสนองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่เมื่อใช้เกณฑ์การยับยั้งที่มากกว่าร้อยละ 35 พบว่า มีเพียงสูตรยาเคมีบำบัดเป็นปัจจัยที่มีผลต่อการตอบสนอง (independently predictive factor) ($p=0.033$)

	Overall group		Platinum-gemcitabine doublet		Platinum-paclitaxel doublet	
P53 > 10%						
- overexpression	12/42(28.6%)	P=.466	5/22 (22.7%)	P=.598	7/20 (35.0%)	P=.409
- normally expression	5/21 (22.7%)		3/12 (25.0%)		2/9 (22.2%)	
P53 > 35%						
- overexpression	8/32 (25.0%)	P=.469	3/17 (17.6%)	P=.276	5/15 (30.0%)	P=.550
- normally expression	9/31 (29.0%)		5/17 (29.4%)		4/14 (28.6%)	

ตารางที่ 7.6 อัตราการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดเมื่อพิจารณาตามการแสดงออกของโปรตีน p53

Cut off levels	P53 status	Platinum-gemcitabine doublet	Platinum-paclitaxel doublet	P value
P53 >10%	Overexpression	5/22 (22.7%)	7/20 (35.0%)	.296
	Normal expression	3/12 (25.0%)	2/9 (22.2%)	.647
P53 > 35%	Overexpression	3/17 (17.6%)	5/15 (30.0%)	.270
	Normally expression	5/17 (29.4%)	4/14 (28.6%)	.637

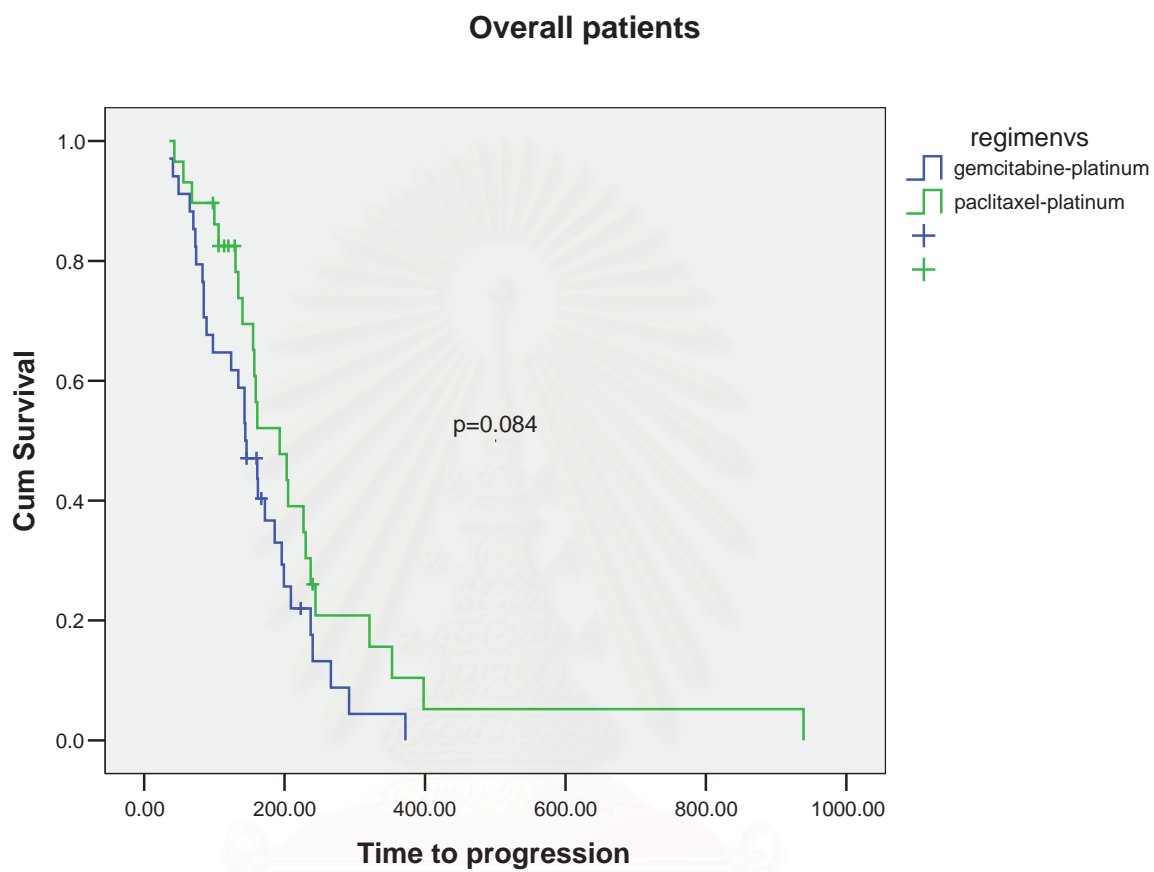
ตารางที่ 7.7 ตารางเปรียบเทียบอัตราการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัด 2 สูตรในกลุ่มผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของโปรตีน p53 ต่าง ๆ

ค่ามัธยฐานของระยะเวลาที่จะมีการลุกลามของโรค (time to progression) ของผู้ป่วยโดยรวมคือ 161 วัน [95% CI, 141-180 วัน] โดยมีแนวโน้มว่า ระยะเวลาที่จะมีการลุกลามของโรคในกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับยาเคมีบำบัดสูตร paclitaxel-platinum (193 วัน, 95%CI, 125-260 วัน) จะดีกว่ากลุ่มที่ได้รับยาเคมีบำบัดสูตร gemcitabine-platinum (144 วัน, 95%CI, 114-174 วัน) แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.084$) เมื่อใช้เกณฑ์การยอมติดสีที่มากกว่าร้อยละ 10 ระยะเวลาที่จะมีการลุกลามของโรคในผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของโปรตีน p53 มากกว่าปกติประมาณ 159 วัน [95%CI, 137-181 วัน] เปรียบเทียบกับในผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของโปรตีน p53 ปกติ 186 วัน [95%CI, 112-260 วัน] แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=.856$) ในกลุ่มผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของโปรตีน p53 มากกว่าปกติ พบแนวโน้มว่า ระยะเวลาที่จะมีการลุกลามของโรคในกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับยาเคมีบำบัดสูตร paclitaxel-platinum (161 วัน, 95%CI, 113-209 วัน) จะดีกว่ากลุ่มที่ได้รับยาเคมีบำบัดสูตร gemcitabine-platinum (134 วัน, 95%CI, 66-201 วัน) แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=.104$) เมื่อใช้เกณฑ์การยอมติดสีที่มากกว่าร้อยละ 35 ระยะเวลาที่จะมีการลุกลามของโรคในผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของโปรตีน p53 มากกว่าปกติประมาณ 134 วัน [95%CI, 93-175 วัน] เปรียบเทียบกับในผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของโปรตีน p53 ปกติ 199 วัน [95%CI, 152-246 วัน] แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=.297$).

ในกลุ่มผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของโปรตีน p53 มากกว่าปกติ พบแนวโน้มว่า ระยะเวลาที่จะมีการลุกลามของโรคในกลุ่มผู้ป่วยได้รับยาเคมีบำบัดสูตร paclitaxel-platinum (157 วัน, 95%CI, 116-198 วัน) จะดีกว่ากลุ่มที่ได้รับยาเคมีบำบัดสูตร gemcitabine-platinum (124 วัน, 95%CI, 58-190 วัน) แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=.182$) เช่นกัน ข้อมูลระยะเวลาที่จะมีการลุกลามของโรคของผู้ป่วยที่ได้รับยาเคมีบำบัดทั้ง 2 สูตรแบ่งตามผลการตรวจโปรตีน p53 และกราฟระยะเวลาที่จะมีการลุกลามของโรคแสดงในตารางที่ 7.8 และรูปที่ 7.2, 7.3 และ 7.4

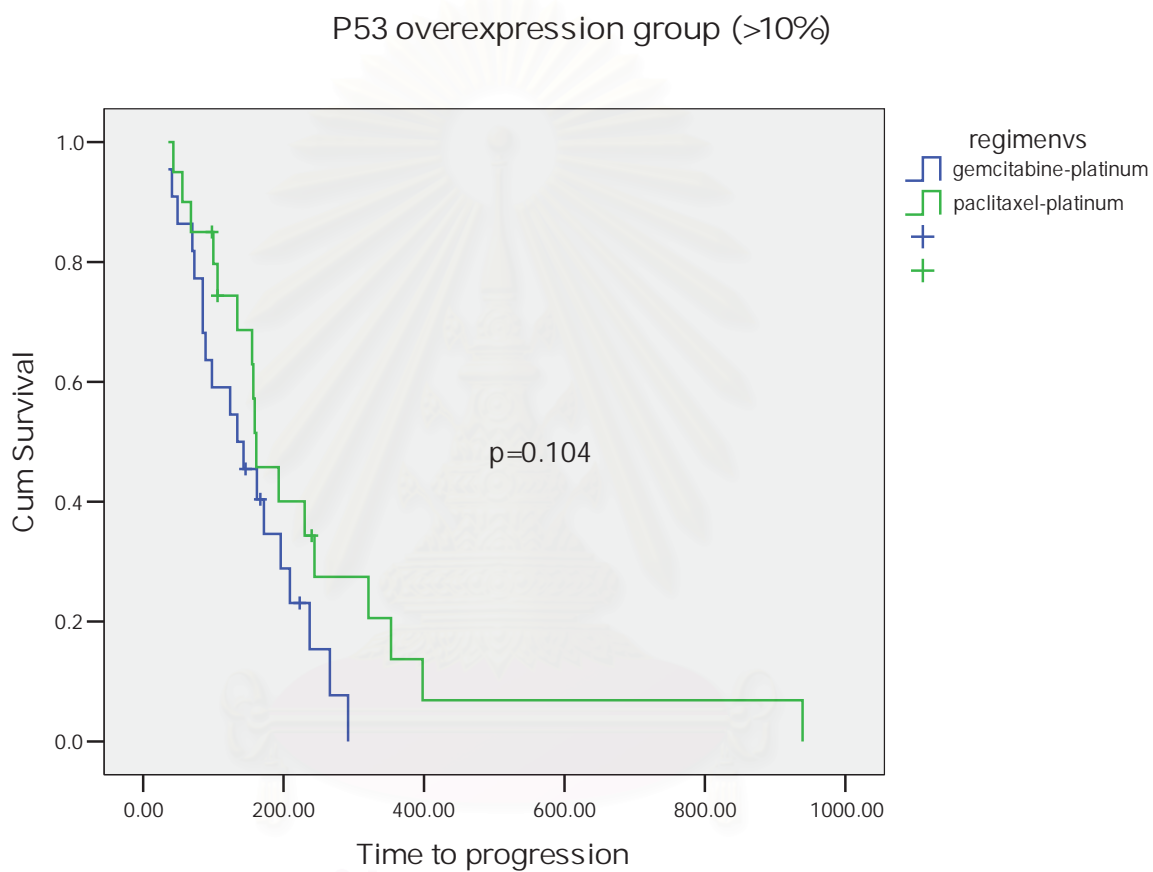
Time to progression (days)	Overall group	Platinum-gemcitaine	Platinum-paclitaxel	P value
Overall group	161 [95%CI, 141-180]	144 [95%CI, 114-174]	193 [95%CI, 125-260]	.084
Cut off level of 10%				.104
- p53 overexpression	159 [95%CI, 137-181]	134 [95%CI, 62-206]	161 [95%CI, 113-209]	
- p53 normal expression	186 [95%CI, 112-260]	161 [95%CI, 120-172]	203 [95%CI, 125-281]	.699
Cut off level of 35%				.182
-p53 overexpression	134 [95%CI, 93-175]	124 [95%CI, 58-190]	157 [95%CI, 116-198]	
- p53 normal expression	199 [95%CI, 152-246]	172 [95%CI, 126-218]	205 [95%CI, 168-242]	.258

ตารางที่ 7.8 ระยะเวลาที่โรคจะลุกลามของผู้ป่วยในกลุ่มต่าง ๆ ตามแบ่งตามการแสดงออกของโปรตีน p53 และสูตรยาเคมีบำบัด

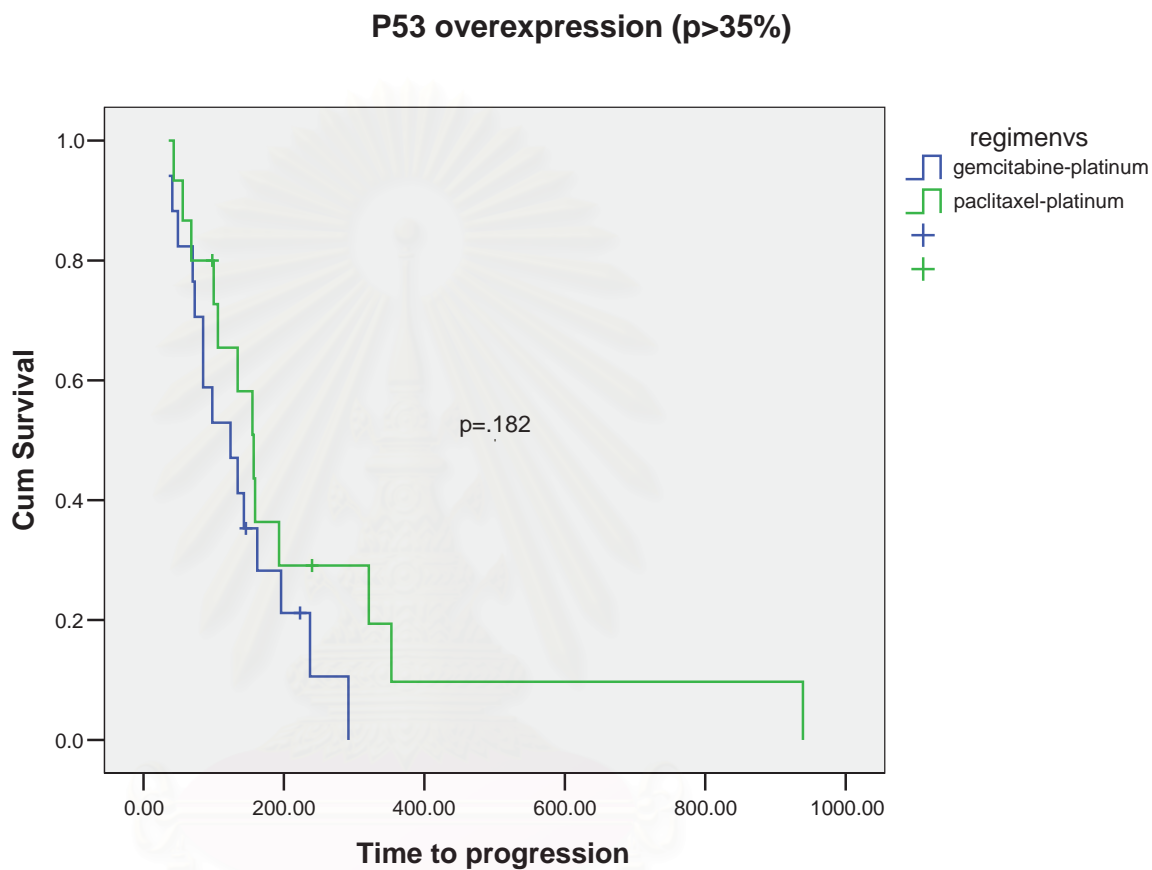


รูปที่ 7.2 กราฟแสดงระยะเวลาที่จะมีการลุกลามของโรคในผู้ป่วยที่ได้รับยาเคมีบำบัดที่แตกต่างกัน

สถานวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 7.3 กราฟแสดงระยะเวลาที่จะมีการลุกลามของโรคในผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของโปรตีน p53 มากกว่าปกติ (มากกว่าร้อยละ 10) ได้รับยาเคมีบำบัดที่แตกต่างกัน



รูปที่ 7.5 กราฟแสดงระยะเวลาที่จะมีการลุกลามของโรคในผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของโปรตีน p53 มากกว่าปกติ (มากกว่าร้อยละ 35) ได้รับยาเคมีบำบัดที่แตกต่างกัน

ค่ามัชฌิมของระยะเวลาการรอดชีวิต (overall survival) ของผู้ป่วยโดยรวม คือ 458 วัน [95% CI, 263-652 วัน] โดยมีแนวโน้มว่า ระยะเวลาการรอดชีวิตในกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับยาเคมีบำบัดสูตร paclitaxel-platinum 475 วัน [95%CI, 201-758 วัน] เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับยาเคมีบำบัดสูตร gemcitabine-platinum 435 วัน [95%CI, 268-601 วัน] แตกต่างกันไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.713$) เมื่อใช้เกณฑ์การย้อมติดสีที่มากกว่าร้อยละ 10 ระยะเวลาการรอดชีวิตในผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของโปรตีน p53 มากกว่าปกติประมาณ 435 วัน [95%CI, 209-661 วัน] ไม่แตกต่างกับในผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของโปรตีน p53 ปกติ 458 วัน [95%CI, 274-642 วัน], ($p=0.908$) ในกลุ่มผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของโปรตีน p53 มากกว่าปกติ ระยะเวลาการรอดชีวิตในกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับยาเคมีบำบัดสูตร paclitaxel-platinum 540 วัน [95%CI, 297-783 วัน] ยาวนานกว่ากลุ่มที่ได้รับยาเคมีบำบัดสูตร gemcitabine-platinum 343 วัน [95%CI, 128-558 วัน] แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.597$) เมื่อใช้เกณฑ์การย้อมติดสีที่มากกว่าร้อยละ 35 ระยะเวลาการรอดชีวิตในผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของโปรตีน p53 มากกว่าปกติประมาณ 540 วัน [95%CI, 277-803 วัน] เปรียบเทียบกับในผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของโปรตีน p53 ปกติ 435 วัน [95%CI, 296-574 วัน] แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.948$). ในกลุ่มผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของโปรตีน p53 มากกว่าปกติ พบว่า ระยะเวลาการรอดชีวิตในกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับยาเคมีบำบัดสูตร paclitaxel-platinum (540 วัน, 95%CI, 278-802 วัน) ดีกว่ากลุ่มที่ได้รับยาเคมีบำบัดสูตร gemcitabine-platinum (343 วัน, 95%CI, 128-558 วัน) แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.895$) เช่นกัน ข้อมูลระยะเวลาการรอดชีวิตผู้ป่วยที่ได้รับยาเคมีบำบัดทั้ง 2 สูตรแบ่งตามผลการตรวจโปรตีน p53 แสดงในตารางที่ 7.9

Overall survival	Overall patients	Gemcitabine- platinum	Paclitaxel-platinum
Overall patients	458 [95% CI, 263- 652]	435 [95%CI, 268- 601]	475 [95%CI, 201- 748]
Cut off level of 10% - p53 overexpression	435 [95%CI, 209- 661]	343 [95%CI, 128- 558]	540 [95%CI, 297- 783]
- p53 normal expression	458 [95%CI, 274- 642]	458 [95%CI, 229- 688]	311 [95%CI, 140- 482]
Cut off level of 35% - p53 overexpression	540 [95%CI, 277- 803]	343 [95%CI, 0-798]	540 [95%CI, 278- 802]
- p53 normal expression	435 [95%CI, 296- 574]	435 [95%CI, 275 - 595]	376 [95%CI, 148- 604]

ตารางที่ 7.9 ระยะเวลาการรอดชีวิตของผู้ป่วยในกลุ่มต่าง ๆ ตามแบ่งตามการแสดงออกของโปรตีน p53 และสูตรยาเคมีบำบัด

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 8 อภิปรายผลการวิจัย

ปัจจุบันการรักษามาตรฐานสำหรับผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กกระเพาะ คือ การให้ยาเคมีบำบัด เพื่อเพิ่มระยะเวลาการรอดชีวิต บรรเทาอาการของผู้ป่วยและทำให้คุณภาพชีวิตของผู้ป่วยดีขึ้น โดยที่อาจมีผลข้างเคียงจากการรักษาอยู่บ้าง สูตรยาซึ่งประกอบด้วยยาในกลุ่มแพลตตินัมร่วมกับยาเคมีบำบัดรุ่นที่สามสูตรยาเคมีบำบัดมาตรฐานสำหรับผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กกระเพาะที่ยังไม่เคยได้รับยาเคมีบำบัดมาก่อน ถึงแม้ว่าจะมีการศึกษาพบว่าในแง่ผลการรักษาการจะเลือกให้ยาตัวใดในสูตรยาดังกล่าวไม่มีความแตกต่างกันเมื่ออาศัยเฉพาะข้อมูลทางคลินิก แต่ปัจจุบันมีการนำความผิดปกติระดับโมเลกุลหลายชนิดไปใช้ในการทำนายผลการรักษาจากยาเคมีบำบัดสูตรต่าง ๆ ในหลายการศึกษา [8,9] ซึ่งหากพบว่ามีความผิดปกติใดที่สามารถนำมาใช้ทำนายผลการรักษาต่อยาเคมีบำบัดแต่ละสูตรได้จะทำให้เราสามารถเลือกสูตรยาที่เหมาะสมกับผู้ป่วยแต่ละคนได้ดียิ่งขึ้น ทำให้ผลการรักษาดีขึ้นและการเกิดอาการข้างเคียงโดยได้รับประโยชน์จากยาไม่มากนักลดลง ในการศึกษานี้ผู้วิจัยเลือกใช้การแสดงผลของโปรตีน p53 ในการทำนายอัตราการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัด 2 สูตรที่นิยมใช้ในการรักษาผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กกระเพาะ ได้แก่ สูตร gemcitabine-platinum และ paclitaxel-platinum

เกณฑ์การยับยั้งโปรตีน p53 ยังไม่มีการกำหนดแน่นอน เนื่องจากเทคนิควิธีการตรวจและการใช้แอนติบอดีที่แตกต่างกันในการศึกษาต่าง ๆ ซึ่งในการศึกษานี้สิ่งที่แตกต่างจากการศึกษาอื่น ๆ คือ การใช้เครื่องอัตโนมัติในการย้อม ดังนั้น เกณฑ์การยับยั้งโปรตีนจึงอาจแตกต่างไปจากการศึกษาก่อนหน้านี้ โดยในการศึกษานี้ผู้วิจัยจึงใช้เกณฑ์การยับยั้งโปรตีน p53 สองระดับ คือ การยับยั้งโปรตีนที่มากกว่าร้อยละ 10 และ 35 โดยเกณฑ์การยับยั้งโปรตีนที่มากกว่าร้อยละ 10 ของเซลล์มะเร็งเป็นเกณฑ์ที่ให้ผลสอดคล้องกับการตรวจการกลายพันธุ์ได้ดีที่สุดในการศึกษาเปรียบเทียบการตรวจทั้ง 2 วิธีก่อนหน้านี้⁶⁶ และใช้ในหลายการศึกษาที่หาความสัมพันธ์ระหว่างการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดและการแสดงผลของโปรตีน p53 [12,13,65,66] ในขณะที่เกณฑ์การยับยั้งโปรตีนที่มากกว่าร้อยละ 35 เป็นเกณฑ์ที่ทำนายความแตกต่างในการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัด 2 สูตรที่ศึกษาในผู้ป่วยที่มีการแสดงผลของโปรตีน p53 ได้ดีที่สุดเมื่อวิเคราะห์ผลการศึกษาโดยใช้ ROC curve ซึ่งอาจจะไม่ใช่เกณฑ์ที่ดีที่สุดเนื่องจากไม่มีการศึกษาเปรียบเทียบวิธีการตรวจที่ใช้ในการศึกษานี้กับการตรวจหาการกลายพันธุ์ (validation study)

เมื่อใช้เกณฑ์การข้อมติดีส์ทั้งที่มากกว่าร้อยละ 10 และร้อยละ 35 พบว่าในผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของโปรตีน p53 มากกว่าปกติ 42 และ 32 คนตามลำดับ มีแนวโน้มว่า อัตราการตอบสนองและระยะเวลาที่โรคจะลุกลามในผู้ป่วยที่ได้รับยาสูตร paclitaxel-platinum ดีกว่าผู้ป่วยที่ได้รับยาสูตร gemcitabine-paltinum แม้จะไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งเมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี binary logistic regression พบว่า ในผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของโปรตีน p53 มากกว่าปกติเมื่อใช้เกณฑ์การข้อมติดีส์ที่มากกว่าร้อยละ 35 (ไม่พบเมื่อใช้เกณฑ์การข้อมติดีส์ที่มากกว่าร้อยละ 35) การใช้สูตรยาเคมีบำบัดที่แตกต่างกัน 2 สูตรที่ศึกษาให้ผลการตอบสนองที่แตกต่างกันโดยไม่ขึ้นกับชนิดทางพยาธิวิทยา (pathology), การสูบบุหรี่, น้ำหนักที่ลดลง, เพศและสถานะของผู้ป่วย ดังนั้น เราจึงอาจใช้การแสดงออกของโปรตีน p53 มากกว่าปกติเมื่อใช้เกณฑ์การข้อมติดีส์ที่มากกว่าร้อยละ 35 โดยใช้วิธีการข้อมและแอนติบอดียตามการศึกษานี้ มาทำนายการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัด 2 สูตรนี้ได้

อย่างไรก็ตาม ในการวิเคราะห์ข้อมูลผู้ป่วยทุกคนทั้งที่มีและไม่มีการแสดงออกของโปรตีน p53 ที่ผิดปกติ พบว่าทั้งอัตราการตอบสนองและระยะเวลาที่โรคจะลุกลามในผู้ป่วยที่ได้รับยาสูตร paclitaxel-platinum นั้นก็ดีกว่าผู้ป่วยที่ได้รับยาสูตร gemcitabine-paltinum อยู่แล้ว จึงไม่สามารถสรุปได้ว่า ผลของการแสดงออกของโปรตีน p53 มากกว่าปกติต่อการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดดังกล่าวข้างต้นได้ผล โดยเฉพาะเมื่อพบปัจจัยทางคลินิกที่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับยาทั้งสองสูตร คือ การพบผู้ป่วยเพศหญิง, พยาธิวิทยาชนิด adenocarcinoma และผู้ป่วยที่ไม่สูบบุหรี่ในกลุ่มที่ได้รับยาสูตร paclitaxel-platinum มากกว่าในกลุ่มที่ได้รับยาสูตร gemcitabine-platinum ก็มีความน่าสนใจว่าอาจเป็นปัจจัยที่มีผลต่ออัตราการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดในแต่ละสูตร แต่จำนวนตัวอย่างที่ค่อนข้างน้อยและเป็นการศึกษาแบบย้อนหลังคงไม่สามารถสรุปได้ในการศึกษานี้

การเปรียบเทียบอัตราตอบสนองของยาเคมีบำบัดในแต่ละสูตรเมื่อพิจารณาตามการตรวจโปรตีน p53 พบว่ามีผลที่แตกต่างกันจากการใช้เกณฑ์การข้อมติดีส์ที่ร้อยละ 10 และร้อยละ 35 เมื่อใช้เกณฑ์การข้อมติดีส์ที่ร้อยละ 10 มีแนวโน้มว่าความผิดปกติของโปรตีน p53 จะมีผลต่อการตอบสนองต่อยา paclitaxel-platinum แต่ไม่มีผลต่อยา gemcitabine-platinum (อัตราการตอบสนองต่อยาสูตร gemcitabine-platinum ไม่แตกต่างกันในกลุ่มที่มีและไม่มีการแสดงออกของโปรตีน p53 มากกว่าปกติ แต่มีแนวโน้มว่าอัตราการตอบสนองต่อยาสูตร paclitaxel-platinum ในกลุ่มที่มีการแสดงออกของโปรตีน p53 มากกว่าปกติจะดีกว่ากลุ่มที่ไม่มีแสดงออกของโปรตีน p53 มากกว่าปกติ) ในขณะที่การใช้เกณฑ์การข้อมติดีส์ที่ร้อยละ 35 กลับมีแนวโน้มว่าความผิดปกติของโปรตีน p53 จะมีผลต่อการ

ตอบสนองต่อยา gemcitabine-platinum แต่ไม่มีผลต่อยา paclitaxel-platinum (กลุ่มผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของโปรตีน p53 ปกติมีแนวโน้มว่าอัตราการตอบสนองต่อยาสูตร gemcitabine-platinum จะดีกว่าในผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของโปรตีน p53 มากกว่าปกติ แต่อัตราการตอบสนองต่อยาสูตร paclitaxel-platinum ไม่แตกต่างกัน) การเลือกใช้เกณฑ์การยับยั้งการเติบโตที่เหมาะสมจึงมีความจำเป็นมาก โดยวิธีที่ดีที่สุด คือ การตรวจการกลายพันธุ์ของยีน p53 แล้วมาวิเคราะห์ความสัมพันธ์กับการตรวจโปรตีน p53 ด้วยการยับยั้งทางอิมมูโน ซึ่งไม่ได้ทำในการศึกษานี้ อย่างไรก็ตาม แม้เราจะไม่ทราบว่าการใช้เกณฑ์การยับยั้งการเติบโตในระดับใดจะเหมาะสมกว่า แต่ก็ดูเหมือนว่าการแสดงออกของโปรตีน p53 จะมีผลต่อการตอบสนองต่อยา gemcitabine หรือยา paclitaxel ไม่ตัวใดก็ตัวหนึ่งขึ้นอยู่กับใช้เกณฑ์ใด ซึ่งหากพิจารณาจากข้อมูลการศึกษาที่มีอยู่ก่อนหน้านี้ ซึ่งพบว่า การกลายพันธุ์ของยีน p53 ทำให้เนื้องอกมีโอกาที่จะดีต่อยา gemcitabine มากขึ้น ในขณะที่ไม่มีผลต่อการตอบสนองต่อยา paclitaxel [15,16,17,18] แล้วซึ่งดูจะสอดคล้องกับผลการศึกษาที่ใช้เกณฑ์การยับยั้งการเติบโตที่ร้อยละ 35 มากกว่า

เป็นที่น่าสังเกตว่าระยะเวลาที่จะมีการลุกลามของโรคทั้งในกลุ่มที่ได้รับยาสูตร gemcitabine-platinum และ paclitaxel-platinum ไม่ว่าจะใช้เกณฑ์การยับยั้งการเติบโตที่ร้อยละ 10 หรือ 35 ของผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของโปรตีน p53 มากกว่าปกติมีแนวโน้มว่าจะยาวนานกว่าของผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของโปรตีน p53 ปกติ การแสดงออกของโปรตีน p53 จึงอาจเป็นปัจจัยในการพยากรณ์โรคของมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กเช่นเดียวกับที่พบในการศึกษาอื่น ๆ [38,68,69,70,71] อย่างไรก็ตาม ในส่วนของระยะเวลาการรอดชีวิตกลับไม่พบแนวโน้มแบบเดียวกัน ซึ่งอาจเป็นผลจากการที่ผู้ป่วยได้รับการรักษาหลังจากที่โรคลุกลามแล้วแตกต่างกัน

แม้ว่าในการศึกษานี้จะมีจำนวนตัวอย่างที่ค่อนข้างน้อย เป็นการศึกษาแบบย้อนหลัง และรวมถึงการไม่ทราบเกณฑ์การยับยั้งการเติบโตของโปรตีน p53 ที่เหมาะสม แต่ก็มีแนวโน้มว่าการแสดงออกของโปรตีน p53 น่าจะมีอิทธิพลต่อการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดสูตร gemcitabine-platinum หรือ paclitaxel-platinum ซึ่งการจะพิสูจน์สมมติฐานดังกล่าวจำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อหาเกณฑ์การยับยั้งการเติบโตของโปรตีน p53 ที่เหมาะสม การศึกษาที่มีจำนวนตัวอย่างมากกว่านี้ และการศึกษาแบบไปข้างหน้าเพื่อลดปัจจัยกวน (confounding factors) อื่น ๆ

บทที่ 9

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

การศึกษานี้เป็นการวิจัยเชิงวิเคราะห์แบบย้อนหลังเปรียบเทียบผลของการแสดงออกของโปรตีน p53 ต่อการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดสูตร gemcitabine-platinum และสูตร paclitaxel-platinum ในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กกระเพาะ โดยใช้วิธีการย้อนทางอิมมูโนในการตรวจการแสดงออกของโปรตีน p53

แม้ว่าจะพบแนวโน้มว่าผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของโปรตีน p53 ที่มากกว่าปกติจะตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดสูตร paclitaxel-platinum ดีกว่าสูตร gemcitabine-platinum แต่ไม่สามารถสรุปได้ว่าเป็นผลจากความผิดปกติของโปรตีน p53 เนื่องจากในการศึกษานี้เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลของผู้ป่วยทั้งหมดการตอบสนองต่อยาสูตร paclitaxel-platinum ก็ดีกว่ายาสูตร gemcitabine-platinum อยู่แล้ว

การวิเคราะห์ที่เกณฑ์การย้อมติดสีที่ระดับต่างกันให้ผลการศึกษาที่แตกต่างกัน โดยเมื่อใช้เกณฑ์ร้อยละ 10 มีแนวโน้มว่าการแสดงออกของโปรตีน p53 อาจมีผลต่อการตอบสนองต่อยา paclitaxel ในขณะที่เมื่อใช้เกณฑ์ร้อยละ 35 กลับมีแนวโน้มว่าการแสดงออกของโปรตีน p53 อาจมีผลต่อการตอบสนองต่อยา gemcitabine อย่างไรก็ตาม เนื่องจากไม่ทราบเกณฑ์การย้อมติดสีว่าระดับเท่าไรจึงจะเหมาะสมสำหรับวิธีการย้อมและแอนติบอดีที่ใช้ในการศึกษานี้ จึงไม่สามารถสรุปผลของการแสดงออกของโปรตีน p53 ว่าจะมีผลต่อยาตัวใดแต่น่าจะมีผลต่อยาไม่ตัวใดก็ตัวหนึ่ง ซึ่งถ้าอาศัยเฉพาะข้อมูลการศึกษาก่อนหน้านี้ดูเหมือนว่าจะสอดคล้องกับผลการศึกษาที่ใช้เกณฑ์ร้อยละ 35 มากกว่า

อย่างไรก็ตาม เนื่องจากการศึกษามีจำนวนตัวอย่างค่อนข้างน้อยและเป็นการศึกษาแบบย้อนหลัง ทำให้ไม่สามารถสรุปผลได้มากกว่านี้

ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการทำการศึกษหาเกณฑ์การย้อมติดสีของโปรตีน p53 ที่เหมาะสมสำหรับวิธีการย้อมและแอนติบอดีที่ใช้ในการศึกษานี้ โดยการเปรียบเทียบกับการตรวจการกลายพันธุ์ของยีน p53
2. ควรมีการศึกษาที่มีตัวอย่างที่มากกว่านี้ โดยใช้เกณฑ์การย้อมติดสีของโปรตีน p53 ที่เหมาะสม และการศึกษาแบบไปข้างหน้าในอนาคต

3. ปัจจัยทางคลินิกบางประการอาจมีผลต่อการตอบสนองของยาเคมีบำบัด ได้แก่ เพศ ชนิดของพยาธิวิทยา และการสูบบุหรี่ ซึ่งน่าจะมีการศึกษาเพิ่มเติมที่มีจำนวน ตัวอย่างมากพอและโดยเฉพาะการศึกษาแบบไปข้างหน้า



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการอ้างอิง

- [1] Schrupp DS, Altorki NK, Henschke CL, Carter D, Turrisi AT, Gutierrez. Non-small lung cancer. In : Devita, Jr. VT, Hellman S, Rosenberg SA, editors Cancer: Principle and practice of oncology. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins 2005:753-810.
- [2] Rapp E, Pater JL, Willan A, Y Cormier, N Murray, WK Evans, et al. Chemotherapy can prolong survival in patients with advanced non-small-cell lung cancer — report of a Canadian multicenter randomized trial. **J Clin Oncol** 1988;6:633-41.
- [3] Marino P, Pampallona S, Preatoni A, Cantoni A, Invernizzi F. Chemotherapy vs. supportive care in advanced non-small-cell lung cancer: results of a meta-analysis of the literature. **Chest** 1994;106:861-5.
- [4] Chemotherapy in non-small cell lung cancer: a meta-analysis using updated data on individual patients from 52 randomised clinical trials. **BMJ** 1995;311:899-909.
- [5] Cullen M, Billingham J, Woodruffe C, Chetiyawardana AD, Gower NH, Joshi R, et al. Mitomycin, ifosfamide, and cisplatin in unresectable non-small-cell lung cancer: effects on survival and quality of life. **J Clin Oncol** 1999;17:3188-94.
- [6] Schiller JH, Harrington D, Belani CP, Lager C, Sandler A, Krook j, et al. Comparison of four chemotherapy regimens for advanced non-small-cell lung cancer. **N Engl J Med** 2002;346:92-8.
- [7] Scagliotti GV, De Marinis F, Rinaldi M, L. Crinò, C. Gridelli, S. Ricci, et al. Phase III randomized trial comparing three platinum-based doublets in advanced non-small-cell lung cancer. **J Clin Oncol** 2002;20:4285-91.
- [8] Olaussen KA, Dunant A, Fouret P, Brambilla E, André F, Haddad V, et al. DNA Repair by ERCC1 in Non-Small-Cell Lung Cancer and Cisplatin-Based Adjuvant Chemotherapy. **N Engl J Med** 2006;355:983-91.
- [9] Bepler G, Sharma A, Greenberg H, Cantor A, Li X, Hazelton T, Walsh F, Simon G Prospective evaluation of RRM1 as a predictor of response gemcitabine/carboplatin (GC) in non-small cell lung cancer (NSCLC). **J Clin Oncol** 2006;24:7054. [Abstract]
- [10] Gajra A, Tatum AH, Newman N, Gambles GP, Lichtenstein S, Rooney MT, et al. The predictive value of neuroendocrine markers and p53 for response to chemotherapy and survival in patients with advanced non-small cell lung cancer. **Lung Cancer** 2002;36:159-65.

- [11] Gregorc v, Ludovini V, Pistola L, Darwish S, Floriani I, Bellezza G, et al. Relevance of p53, bcl2 and Rb expression on resistance to cisplatin-based chemotherapy in advanced non-small lung cell cancer. **Lung Cancer** 2003;39:40-8.
- [12] Kawasaki M, Nakanishi Y, Kuwano K, Yatsunami J, Takayama K, Hara N, et al. The utility of p53 immunostaining of transbronchial biopsy specimens of lung cancer: p53 overexpression predicts poor prognosis and chemoresistance in advanced non-small cell lung cancer. **Clin Cancer Res** 1997;3:1195-200.
- [13] Kawasaki M, Nakanishi Y, Kuwano K, Takayama K, Kiyohara C, Hara N. Immunohistochemically detected p53 and P-glycoprotein predict the response to chemotherapy in lung cancer. **Eur J Cancer** 1998;1998:1352-7.
- [14] Ludovini V, Gregorc V, Pistola L, Mihaylova Z, Floriani I, Darwish S, et al. Vascular endothelial growth factor, p53, Rb, Bcl-2 expression and response to chemotherapy in advanced non-small lung cancer. **Lung Cancer** 2004;46:77-85.
- [15] Galmarini CM, Clarke ML, Falette N, Puisieux A, Mackey JR, Dumontet C. Expression of a non-functional p53 affects the sensitivity of cancer cells to gemcitabine. **Int J Cancer** 2002;97:439-445.
- [16] Chen M, Hough AM, Lawrence TS The role of p53 in gemcitabine-mediated cytotoxicity and radiosensitization. **Cancer Chemother Pharmacol** 2000;45:369-70.
- [17] Safran H, King T, Choy H, Gollerkeri A, Kwakwa H, Lopez F, et al. p53 mutation do not predict response to paclitaxel/radiation for nonsmall cell lung carcinoma. **Cancer** 1996;78:1203-10.
- [18] King TC, Akerley W, Fan AC, Moore T, Mangray S, Chen MH, et al. p53 mutation do not predict response to paclitaxel in metastatic nonsmall cell lung carcinoma. **Cancer** 2000;89:769-73.
- [19] Top B, Mooi WJ, Klaver SG, Boerrigter L, Wisman P, Elbers HRJ, et al. Comparative analysis of p53 gene mutation and protein accumulation in human non-small lung cancer. **Int J Cancer** 1995;64:83-91.
- [20] American Joint Committee on Cancer: Lung. In: Greene, FL, Page, DL, Fleming, ID, et al editors **AJCC (American Joint Committee on Cancer) Cancer Staging Manual** New York: Springer-Verlag; 2002:127-37.

- [21] Rapp E, Pater JL, Willan A, Y Cormier, N Murray, WK Evans, et al. Chemotherapy can prolong survival in patients with advanced non-small-cell lung cancer — report of a Canadian multicenter randomized trial. *J Clin Oncol* 1988;6:633-41.
- [22] Bonomi P, Kim K, Fairclough D, Cella D, Kugler J, Rowinsky E, et al. Comparison of survival and quality of life in advanced non-small-cell lung cancer patients treated with two dose levels of paclitaxel combined with cisplatin versus etoposide with cisplatin: results of an Eastern Cooperative Oncology Group trial. *J Clin Oncol* 2000;18:623-31.
- [23] Le Chevalier T, Brisgand D, Douillard JY, Pujol JL, Alberola V, Monnier A, et al. Randomized study of vinorelbine and cisplatin versus vindesine and cisplatin versus vinorelbine alone in advanced non-small-cell lung cancer: results of a European multicenter trial including 612 patients. *J Clin Oncol* 1994 Feb;12:360-7.
- [24] Klastersky J, Sculier JP, Lacroix H, Dabouis G, Bureau G, Libert P, et al. A randomized study comparing cisplatin or carboplatin with etoposide in patients with advanced non-small-cell lung cancer: European Organization for Research and Treatment of Cancer Protocol 07861. *J Clin Oncol* 1990 Sep;8:1556-62.
- [25] Rosell R, Gatzemeier U, Betticher DC, Keppler U, Macha HN, Pirker R, et al. Phase III randomised trial comparing paclitaxel/carboplatin with paclitaxel/cisplatin in patients with advanced non-small-cell lung cancer: a cooperative multinational trial. *Ann Oncol* 2002 Oct;13:1539-49.
- [26] Hotta K, Matsuo K, Ueoka H, Kiura K, Tabata M, Tanimoto M. Meta-analysis of randomized clinical trials comparing Cisplatin to Carboplatin in patients with advanced non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2004 Oct 1;22:3852-9.
- [27] Socinski MA, Schell MJ, Peterman A, Bakri Km, Yates S, Gitten R. et al. Phase III trial comparing a defined duration of therapy versus continuous therapy followed by second-line therapy in advanced-stage IIIB/IV non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2002 Mar 1;20:1335-43.
- [28] Rosell R, Cobo M, Isla D et al. ERCC1 mRNA-based randomized phase III trial of docetaxel (doc) doublets with cisplatin (cis) or gemcitabine (gem) in stage IV nonsmall- cell lung cancer (NSCLC) patients (p). *J Clin Oncol* 2005 ASCO Annual Meeting Proceedings (Abstr 7002): 621s.

- [29] Shepherd, FA, Dancey, J, Ramlau, R, Mattson K, Gralla R, O'Rourke M, et al. Prospective randomized trial of docetaxel versus best supportive care in patients with non-small-cell lung cancer previously treated with platinum-based chemotherapy. **J Clin Oncol** 2000; 18:2095-103.
- [30] Hanna, N, Shepherd, FA, Fossella, FV, Pereira JR, De Marinis F, von Pawel J, et al. Randomized Phase III Trial of Pemetrexed Versus Docetaxel in Patients With Non-Small-Cell Lung Cancer Previously Treated With Chemotherapy. **J Clin Oncol** 2004; 22:1589-97.
- [31] Shepherd, FA, Rodrigues Pereira, J, Ciuleanu, T, Tan EH, Hirsh V, Thongprasert S, et al. Erlotinib in previously treated non-small-cell lung cancer. **N Engl J Med** 2005; 353:123-32.
- [32] Thatcher, N, Chang, A, Parikh, P, Rodrigues Pereira J, Ciuleanu T, von Pawel J, et al. Gefitinib plus best supportive care in previously treated patients with refractory advanced non-small-cell lung cancer: results from a randomised, placebo-controlled, multicentre study (Iressa Survival Evaluation in Lung Cancer). **Lancet** 2005; 366:1527-37.
- [33] Fukuoka, M, Yano, S, Giaccone, G, Tamura T, Nakagawa K, Douillard JY, et al. Multi-Institutional Randomized Phase II Trial of Gefitinib for Previously Treated Patients With Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer. **J Clin Oncol** 2003; 21:2237-46.
- [34] Levine AJ, Momand J, Finlay CA. The p53 Tumor Suppressor Gene. **Nature** 1991;351:453-6.
- [35] Robles AI, Linke SP, Harris CC. The p53 Network in Lung Carcinogenesis. **Oncogene** 2002;21:6898-907.
- [36] Weinberg RA. P53 and apoptosis : Master guargian and executiver. In: Weinberg RA. **The biology of cancer**. New York: **Garland science** 2007:307-56.
- [37] Soussi T, Lozano G. P53 mutation heterogeneity on Cancer. **Biochem Biophys Res Com** 2005;331:834-42.
- [38] Campling BG, El-Deiry W. Clinical implication of p53 mutation in lung cancer. **Mol Biotech** 2003;24:141-56.
- [39] Carbone DP, Mitsudomi T, Chiba I, Piantadosi S, Rusch V, Nowak JA, et al. P53 immunostaining positivity is associated with reduced survival and is imperfectly

- correlate with gene mutations in resected non-small cell lung cancer. **Chest** 1994;106:877S-381S.
- [40] Soussi T, Beroud C. Assessing TP53 status in human tumours to evaluate clinical outcome. **Nat Rev Cancer** 2001;1:233-40.
- [41] Kishimoto Y, Murakami Y, Shiraishi M, Hayashi K, Sekiya T. Aberrations of the p53 tumor suppressor gene in human non-small cell carcinoma of the lung. **Cancer Res** 1992;52:4799-804.
- [42] Walker C, Robertson LJ, Myskow MW, Dixon GR, Pendleton N. P53 expression in normal and dysplastic bronchial epithelium and in lung carcinomas. **Br J Cancer** 1994;70:297-303.
- [43] Suzuki H, Takahashi T, Kuroishi T, Suyama M, Ariyoshi T, Ueda R. P53 mutations in non-small cell lung cancer in Japan. **Cancer Res** 1992;52:734-6.
- [44] Kondo K, Tsuzuki H, Sasa M, Sumitomo M, Uyama T, Monden Y. A dose-response relationship between the frequency of p53 mutations and tobacco consumption in lung cancer patients. **J Surg Oncol** 1996;61:20-6.
- [45] Takagi Y, Osada H, Kuroishi T, Mitsudomi T, Kondo M, Niimi T, et al. p53 mutations in non-small-cell lung cancers occurring in individuals without a past history of active smoking. **Br J Cancer** 1998;77:1568-72.
- [46] Husgafvel-Pursiainen K, Boffetta P, Kannio A, Nyberg F, Pershagen G, Mukeria A, et al. p53 mutations and exposure to environmental tobacco smoke in a multicenter study on lung cancer. **Cancer Res** 2000;60:2906-11.
- [47] Denissenko MF, Pao A, Tang M, Pfeifer GP. Preferential formation of benzo[a]pyrene adducts at lung cancer mutational hotspots in p53. **Science** 1996;274:430-2.
- [48] Quinlan DC, Davidson AG, Summers CL, Warden HE, Doshi HM. Accumulation of p53 protein correlates with poor prognosis in human lung cancer. **Cancer Res** 1992;52:4828-31.
- [49] Mitsudomi T, Oyama T, Kusano T, Osaki T, Nakanishi R, Shirakusa T. Mutations of the p53 gene as a predictor of poor prognosis in patients with non-small-cell lung cancer. **J Natl Cancer Inst** 199;85:2018-23.

- [50] Horio Y, Takahashi T, Kuroishi T, Hibi K, Suyama M, Niimi T. Prognostic significance of p53 mutations and 3p deletions in primary resected nonsmall cell lung cancer. **Cancer Res** 1993;53:1–4.
- [51] Ebina M, Steinberg SM, Mulshine JL, Linnoila RI. Relationship of p53 overexpression and up-regulation of proliferating cell nuclear antigen with the clinical course of non-small cell lung cancer. **Cancer Res** 1994;54:2496–503.
- [52] Passlick B, Izbicki JR, Reithmüller G, Pantel K. p53 in non-small cell lung cancer. **J Natl Cancer Inst** 1994;86:801–2.
- [53] Volm Mattern J. Immunohistochemical detection of p53 in non-small-cell lung cancer (letter). **J Natl Cancer Inst** 1994;86:1249.
- [54] Lee JS, Yoon A, Kalapurakal SK, Ro JY, Lee JJ, Tu N, et al. Expression of p53 oncoprotein in non-small-cell lung cancer: a favorable prognostic factor. **J Clin Oncol** 1995;13:1893–903.
- [55] Langendijk J A, Thunnissen FB, Lamers RJ, de Jong JMA, ten Velde GPM, Wouters, EFM. The prognostic significance of accumulation of p53 protein in stage III non-small cell lung cancer treated with radiotherapy. **Radiother Oncol** 1995;36:218–24.
- [56] Geradts J, Fong KM, Zimmerman PV, Maynard R, Minna JD. Correlation of abnormal RB, p16ink4a, and p53 expression with 3p loss of heterozygosity, other genetic abnormalities, and clinical features in 103 primary non-small cell lung cancers. **Clin. Cancer Res** 1999;5:791–800.
- [57] O'Connor PM, Jackman J, Bae I, Myers TG, Fan S, Mutoh M, et al. Characterization of the p53 tumor suppressor pathway in cell lines of the National cancer institute anticancer drug screen and correlations with the growth-inhibitory potent of 123 anticancer agents. **Cancer res** 1997;57:4285-4300.
- [58] Perdomo JA, Naomoto Y, Haisa M, Fujiwara T, Hamada M, Yasuoka Y. In vivo influence of p53 status on proliferation and chemoradiosensitivity in non-smallcell lung cancer. **J Cancer Res Clin Oncol** 1998;124:10–8.
- [59] Lai SL, Perng RP, Hwang J. P53 gene status modulates the chemosensitivity of non-small cell lung cancer cells. **J Biomed Sci** 2000;7:64–70.

- [60] Vogt U, Zaczek A, Klinke F, Granetzny A, Bielawski K, Falkiewicz B. P53 Gene status in relation to ex vivo chemosensitivity of non-small cell lung cancer. **J Cancer Res Clin Oncol** 2002;128:141–7.
- [61] Perez-Soler R, Kemp B, Wu QP, Mao L, Gomez J, Zeleniuch-Jacquotte A. Response and determinants of sensitivity to paclitaxel in human non-small cell lung cancer tumors heterotransplanted in nude mice. **Clin Cancer Res** 2000;6:4932–8.
- [62] Korobowicz E, Zdunek M. Immunohistochemical study of p53 in non-small cell lung cancer before and after preoperative chemotherapy. **Pol J Pathol** 2000;51:71–6.
- [63] Rusch V, Klimstra D, Venkatraman E, Oliver J, Martini N, Gralla R. Aberrant p53 expression predicts clinical resistance to cisplatin-based chemotherapy in locally advanced non-small cell lung cancer. **Cancer Res** 1995;55:5038–42.
- [64] Junker K, Wiethage T, Muller KM, Thomas M. P53 tumoursuppressor gene in non-small-cell lung cancer with neoadjuvant therapy. **J Cancer Res Clin Oncol** 2000;126:238–45.
- [65] Kandioler-Eckersberger D, Kappel S, Mittlbock M, Dekan G, Ludwig C, Janschek E, et al. The TP53 genotype but not immunohistochemical result is predictive of response to cisplatin-based neoadjuvant therapy in stage III non-small cell lung cancer. **J Thorac Cardiovasc Surg** 1999;117:744–50.
- [66] Nishio M, Koshikawa T, Kuroishi T, Motokazu S, Uchida K, Takago Y, et al. Prognostic significance of abnormal p53 accumulation in primary, resected non-small cell lung cancers. **J Clin Oncol** 1996;14:497-502.
- [67] Therasse P, Arbutk SG, Eisenhauer EA, Wanders J, Kaplan RS, Rubinstein L, et al. New guidelines to evaluate the response to treatment in solid tumors. **J Natl Cancer Inst** 2000;92:205-16.
- [68] Quinlan DC, Davidson AG, Summers CL, Warden HE, Doshi H M. Accumulation of p53 protein correlates with poor prognosis in human lung cancer. **Cancer Res** 1992;52:4828–31.
- [69] Mitsudomi T, Oyama T, Kusano T, Osaki T, Nakanishi R, Shirakusa T. Mutations of the p53 gene as a predictor of poor prognosis in patients with non-small-cell lung cancer. **J. Natl. Cancer Inst** 1993;85:2018–23.

- [70] Horio Y, Takahashi T, Kuroishi T, Hibi K, Suyama M, Niimi T, et al. Prognostic significance of p53 mutations and 3p deletions in primary resected nonsmall cell lung cancer. **Cancer Res** 1993;53:1–4.
- [71] Ebina M, Steinberg SM, Mulshine JL, Linnoila RI. Relationship of p53 overexpression and up-regulation of proliferating cell nuclear antigen with the clinical course of non-small cell lung cancer. **Cancer Res** 1994;54:2496–503.



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก
NSCLC P53 study

No...

Name.....

HN.....

Age.....

ECOG ___ 0 ___ 1 ___ 2 ___ 3 ___ 4

Smoking status ___ non-smoker ___ Ex-smoker ___ smoker

Type ___ Adenocarcinoma ___ Squamous cell CA ___ Others

Stage ___ I ___ II ___ III ___ IV

Metastatic site ___ Bone ___ Brain ___ Liver ___ Adrenal ___ other

Significant wt. loss ___ Yes ___ No

Diagnostic date (DD/MM/YY)

Treatment start date..... (DD/MM/YY)

Regimen ___ Gemcitabine base ___ Paclitaxel base

___ Cisplatin ___ Cisplatin

___ Carboplatin ___ Carboplatin

Response ___ CR ___ PR ___ SD ___ PD

Progression date(DD/MM/YY)

Subsequent systemic therapy ___ Yes ___ No

Current status ___ Alive

___ Death, date.....(DD/MM/YY)

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

ชื่อ นายสีบพงศ์ ธนสารวิมล

วันเดือนปีเกิด 23 กันยายน พ.ศ. 2520 จังหวัดกรุงเทพมหานคร

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

นิสิตคณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	2537-2543
แพทย์เพิ่มพูนทักษะ โรงพยาบาลสุโขทัย	2543-2544
แพทย์ประจำโรงพยาบาลร้อยเอ็ด	2544-2546
แพทย์ประจำบ้านอายุรศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์	2546-2549

ปริญญาและประกาศนียบัตร

แพทยศาสตรบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	2543
ประกาศนียบัตรวิทยาศาสตร์ทางการแพทย์คลินิก	2548
วุฒิบัตรแพทย์ผู้เชี่ยวชาญสาขาอายุรศาสตร์	2549

สมาชิกสมาคมวิชาชีพ

- สมาชิกแพทยสภา
- สมาชิกราชวิทยาลัยอายุรแพทย์แห่งประเทศไทย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย