

การศึกษาความสัมพันธ์ระดับ CXCL12 ในเลือดกับการเกิดมะเร็งแพร่กระจายไปกระดูกในผู้ป่วย
มะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์



นางสาวสุนีย์ ณีชนะนนท์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

CHULALONGKORN UNIVERSITY

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาอายุรศาสตร์ ภาควิชาอายุรศาสตร์

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2556

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)

เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย

The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR) are the thesis authors' files submitted through the University Graduate School.

ASSOCIATION OF PLASMA CXCL12 LEVEL AND BONE METASTASIS IN NON SMALL
CELL LUNG CANCER PATIENTS IN KING CHULALONGKORN MEMORIAL HOSPITAL



Miss Sunee Neesanun

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

CHULALONGKORN UNIVERSITY

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 2013

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์

การศึกษาความสัมพันธ์ระดับ CXCL12 ในเลือดกับการ
เกิดมะเร็งแพร่กระจายไปกระดูกในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิด
เซลล์ไม่เล็กในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

โดย

นางสาวสุนีย์ ณีคะนันท์

สาขาวิชา

อายุรศาสตร์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

รองศาสตราจารย์ ดร. นายแพทย์วิโรจน์ ศรีอุฬารพงศ์

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่ง
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

.....คณบดีคณะแพทยศาสตร์

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ ไศภณ นภาธร)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ มนต์ชัย ชาลาประวรรตน์)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(รองศาสตราจารย์ ดร. นายแพทย์วิโรจน์ ศรีอุฬารพงศ์)

.....กรรมการ

(อาจารย์ แพทย์หญิง อรุมา ชุตินทร)

.....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ วิเชียร ศรีมนินทร์นิมิต)

ศูนย์ ศึกษานันท์ : การศึกษาความสัมพันธ์ระดับ CXCL12 ในเลือดกับการเกิดมะเร็งแพร่กระจายไปกระดูกในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์. (ASSOCIATION OF PLASMA CXCL12 LEVEL AND BONE METASTASIS IN NON SMALL CELL LUNG CANCER PATIENTS IN KING CHULALONGKORN MEMORIAL HOSPITAL) อ.ที่ปริกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รศ. ดร. นพ.วิโรจน์ ศรีอุฬารพงศ์, 48 หน้า.

ความสำคัญและที่มาปัญหาการวิจัย : 14-40% ผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดไม่เล็กระยะลุกลามจะเกิดมะเร็งกระจายไปที่กระดูกและประมาณครึ่งหนึ่งจะเกิดภาวะแทรกซ้อนตามมา ซึ่งมีผลต่อคุณภาพชีวิต อัตราการรอดชีวิตที่ 2 ปี เท่ากับ 11.3%⁽¹⁾ ถึงแม้ว่าการทำ Bone scan และ FDG-PET จะมีความไวและความจำเพาะที่สูง แต่ก็ยังพบว่ามีผลลบและผลบวกหลงได้ในชนิดมะเร็งที่มีการกัดกร่อนที่กระดูก (Osteolytic lesion)⁽²⁻⁵⁾ CXCL12/CXCR4 เป็นอีกหนึ่งกลไกการเกิดมะเร็งหลายชนิดรวมทั้งมะเร็งปอด และการกระจายมะเร็งไปที่กระดูกในผู้ป่วยมะเร็งต่อมลูกหมาก⁽⁶⁻¹¹⁾ มีการศึกษาพบว่าในผู้ป่วยมะเร็งปอดมีค่า Plasma CXCL12 สูงกว่าคนปกติ^(12, 13) และในน้ำช่องเยื่อหุ้มที่เกิดจากมะเร็งปอดมีค่า CXCL12 สูงกว่าที่เกิดจากสาเหตุอื่น⁽¹⁴⁾

วิธีดำเนินงาน : การศึกษาแบบ Cross sectional analytic study ในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กระยะลุกลามที่มารับการรักษาที่หน่วยอายุรศาสตร์มะเร็งวิทยา โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ตั้งแต่พฤษภาคม 2556 - มกราคม 2557 ทั้งสิ้น 60 ราย โดยเก็บตัวอย่างเลือดผู้ป่วยก่อนเริ่มการรักษาด้วยยาเคมีบำบัด เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระดับ Plasma CXCL12 ในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กที่มีมะเร็งกระจายมาที่กระดูกกับผู้ป่วยที่ไม่มีมะเร็งกระจายมาที่กระดูกเป็นวัตถุประสงค์หลัก และวัตถุประสงค์รองคือเพื่อดูค่า Plasma CXCL12 ว่ามีความสัมพันธ์กับการกระจายของมะเร็งไปที่อื่นด้วยหรือไม่

ผลการศึกษา : ผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็ก 60 ราย แบ่งเป็นกลุ่มที่มีมะเร็งกระจายมาที่กระดูก 24 ราย, ไม่มีกระจายไปที่กระดูก 26 ราย ไม่สามารถสรุปได้ว่ามีมะเร็งกระจายมาที่กระดูกหรือไม่จากการตรวจเบื้องต้น 10 ราย พบค่าเฉลี่ย plasma CXCL12 กลุ่มที่มีมะเร็งกระจายมาที่กระดูกมีค่า 2174.79 ± 526.26 pg/ml, ไม่มีมะเร็งกระจายมาที่กระดูกมีค่า 1959.50 ± 773.77 pg/ml ($P=0.17$) และกลุ่มที่ไม่สามารถสรุปได้ว่ามีมะเร็งกระจายมาที่กระดูกหรือไม่ มีค่า 1782.61 ± 463.24 pg/ml ในกลุ่มที่มีการกระจายของมะเร็งมากกว่าหรือเท่ากับ 3,2 และ 0-1 อวัยวะมีค่าเฉลี่ย Plasma CXCL12 2165.10 ± 769.30 , 2097.39 ± 665.21 , 1938.60 ± 611.53 pg/ml. ตามลำดับ กลุ่มที่มีมะเร็งกระจายมาที่กระดูกอวัยวะเดียว, ไม่มีมะเร็งกระจายมาที่กระดูกมีค่าเฉลี่ย plasma CXCL12 เท่ากับ 2339.00 ± 287.43 , 1853.51 ± 751.95 pg/ml ($P=0.07$) กระจายมาที่กระดูกและอวัยวะอื่นมีค่า 2120.05 ± 581.13 pg/ml

สรุป : การศึกษานี้พบว่าค่า Plasma CXCL12 มีแนวโน้มมีค่าสูงในกลุ่มที่มีมะเร็งกระจายมาที่กระดูกและมะเร็งกระจายไปหลายอวัยวะ เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลกลุ่มย่อยพบว่าผู้ป่วยที่กระจายของมะเร็งพบว่ากลุ่มที่มีมะเร็งกระจายมาที่กระดูกอวัยวะเดียวมีค่า Plasma CXCL12 สูงกว่ากลุ่มที่ไม่มีมะเร็งกระจายมาที่กระดูกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในกลุ่มที่มีมะเร็งกระจายมาที่กระดูกและอวัยวะอื่นยังคงมีค่า Plasma CXCL12 สูงกว่ากลุ่มที่ไม่มีมะเร็งกระจายมาที่กระดูกแต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ อาจเนื่องจากมีกลุ่มประชากรตัวอย่างน้อยเกินไปหรือมีโรคที่กระดูกไม่มากคงต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อดูต่อไปว่า Plasma CXCL12 มีแนวโน้มที่ใช้เป็น biomarker เพื่อดูการกระจายของมะเร็งไปที่กระดูกในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็ก

ภาควิชา อายุรศาสตร์

ลายมือชื่อนิติ
.....

สาขาวิชา อายุรศาสตร์

ลายมือชื่อ อ.ที่ปริกษาวิทยานิพนธ์หลัก
.....

ปีการศึกษา 2556

5574176930 : MAJOR MEDICINE

KEYWORDS: CXCL12 / SDF-1 / BONE METASTASIS / NON SMALL CELL LUNG CANCER

SUNEE NEESANUN: ASSOCIATION OF PLASMA CXCL12 LEVEL AND BONE METASTASIS IN NON SMALL CELL LUNG CANCER PATIENTS IN KING CHULALONGKORN MEMORIAL HOSPITAL. ADVISOR: ASSOC. PROF. VIROTE SRIURANPONG, M.D., Ph.D., 48 pp.

Introduction: 14-40% of advance stage Non small cell lung cancer had bone metastasis and a half of them occurred skeleton related event⁽¹⁵⁾ and 2 years overall survival was 11.3%.⁽¹⁾ Although the sensitivity of bone scan is quite high, its specificity is not satisfactory due to false positive or false negative in osteolytic lesion.⁽²⁻⁵⁾ CXCL12/CXCR4 axis is the one role of various cancer metastasis included NSCLC and bone metastasis in prostate cancer.⁽⁶⁻¹¹⁾ In the past, there were studies showed that higher plasma CXCL12 in NSCLC patients versus normal population^(12, 13), higher CXCL12 in malignant pleural effusion versus non malignant pleural effusion.⁽¹⁴⁾

Methods : In this study, cross-sectional analytic study, we enrolled patients with advance stage NSCLC in KCMH during May 2013 – January 2014. We collation of blood was taken place before systemic treatment to compare plasma CXCL12 level in patients who had bone metastasis versus no bone metastasis for primary endpoint. Secondary endpoint was evaluating correlation plasma CXCL12 with other organ metastasis.

Result : Total eligible patients was 60, 24 patients were NSCLC with bone metastasis, 26 patients were NSCLC without bone metastasis and 10 patients were NSCLC with inconclusive bone metastasis by screening bone scan. Mean plasma CXCL12 in bone metastasis patients was 2174.79 ± 526.26 pg/ml, no bone metastasis was 1959.50 ± 773.77 pg/ml ($p=0.17$). Plasma CXCL12 was highest in organ metastasis ≥ 3 organ 2165.10 ± 769.30 , 2 organ metastasis 2097.39 ± 665.21 pg/ml and 0-1 organ metastasis was lowest plasma CXCL12 1938.60 ± 611.53 pg/ml. Patient who had bone metastasis only had plasma CXCL12 2339.00 ± 287.43 pg/ml, higher than non bone metastasis group 1853.51 ± 751.95 pg/ml ($P=0.047$), bone metastasis and other organ metastasis 2120.05 ± 581.13 pg/ml.

Discussion : The result showed tendency of high plasma CXCL12 in NSCLC patient who had bone metastasis and multiple organ metastases. Subgroup analysis who had merely bone metastasis was higher CXCL12 level than non bone metastasis group statistic significant, and combine metastasis group still higher CXCL12 than who had no bone metastasis. However, statistical result was not significant due to small sample size. In conclusion, CXCL12 could be used as a biomarker for bone destruction and a diagnostic option as well as a key indicator to follow up patients after treatment.

Department: Medicine

Student's Signature

Field of Study: Medicine

Advisor's Signature

Academic Year: 2013

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณผู้มีรายนามดังต่อไปนี้ที่ได้ช่วยเหลือให้การวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

1. รองศาสตราจารย์ ดร.นายแพทย์ วิโรจน์ ศรีอุฬารพงศ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ที่ให้ความรู้และคำแนะนำแก่ผู้วิจัยมาตลอด
2. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ วิเชียร ศรีมนิรินทร์นิมิตร กรรมการวิทยานิพนธ์จากภายนอก
3. อาจารย์ นายแพทย์ สืบพงศ์ ธนสารวิมล หัวหน้าหน่วยอายุรศาสตร์มะเร็งวิทยาที่ให้การสนับสนุนงานวิจัยนี้
4. นางสาวสิริพร ขุนศรี ช่วยตรวจ ELISA
5. นางสาวศกลวรรณ พรทิพย์ปฏิมา และนาง พลอยดวงพร วงศ์ชนะภัย ช่วยเก็บเลือดตรวจอย่าง
6. ผู้ป่วยทุกท่านที่อนุญาตให้ใช้ตัวอย่างในงานวิจัย
7. เจ้าหน้าที่หน่วยอายุรศาสตร์มะเร็งวิทยา คณะแพทยศาสตร์จุฬาลงกรณ์ทุกท่านที่ให้ความร่วมมือในการทำวิจัย
9. ครอบครัวที่ให้การสนับสนุนในการเรียน การทำงานวิจัยตลอดมา

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฅ
หน้า.....	ฉ
สารบัญรูปภาพ.....	ญ
หน้า.....	ญ
สารบัญแผนภูมิ.....	ฎ
บทที่ 1 Back ground and Rationale.....	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย (Back ground and Rationale).....	1
บทที่ 2 Review of relate literatures	3
2.1 ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง (Review of relate literatures).....	3
Non small cell lung cancer	3
Bone metastasis	7
CXCL12/CXCR4 axis and Cancer	10
2.2 คำถามการวิจัย (Research question).....	15
2.3 วัตถุประสงค์การวิจัย (Objective).....	15
2.4 สมมุติฐาน (Hypothesis).....	15
2.5 กรอบแนวความคิดในการวิจัย (Conceptual framework).....	16
2.6 ข้อตกลงเบื้องต้น (Assumption)	16
2.7 คำสำคัญ (Key Word)	16
2.8 การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติการที่ใช้ในการวิจัย (Operational Definition).....	17
บทที่ 3 วิธีดำเนินงาน.....	18
3.1 รูปแบบการวิจัย (Research Design).....	18
3.2 ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology).....	18

3.3 การรวบรวมข้อมูล (Data collection).....	20
	หน้า
3.4 การวิเคราะห์ข้อมูล (Data analysis).....	20
3.5 ปัญหาทางจริยธรรม (Ethic consideration)	20
3.6 ข้อจำกัดทางการวิจัย (Limitation)	21
3.7 ผลหรือประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย (Expected benefit and application)	21
3.8 อุปสรรคที่อาจเกิดขึ้นและมาตรการแก้ไข (Obstacles and Strategies to solve the problem).....	21
3.9 การบริหารงานวิจัยและตารางการปฏิบัติงาน (Administration and time schedule).....	22
ตารางที่ 3 ตารางการปฏิบัติงาน.....	22
3.10 งบประมาณ (Budget).....	22
บทที่ 4 ผลการศึกษา.....	23
4.1 ผลการศึกษา.....	23
บทที่ 5 อภิปรายผลการศึกษา.....	36
5.1 Discussion	36
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	38
รายการอ้างอิง.....	39
ภาคผนวก.....	43
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์	48

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 Lung cancer staging American Joint Committee on cancer 7 th edition	5
ตารางที่ 2 Lung cancer staging American Joint Committee on cancer 7 th edition	6
ตารางที่ 3 ตารางการปฏิบัติงาน.....	22
ตารางที่ 4 Baseline patients Characteristic.....	23
ตารางที่ 5 Baseline disease status.....	25
ตารางที่ 6 Treatment	26
ตารางที่ 7 Plasma CXCL 12 Level and bone metastasis	27
ตารางที่ 8 Plasma CXCL12 level and site of metastasis.....	28
ตารางที่ 9 Plasma CXCL12 level and site of metastasis.....	29
ตารางที่ 10 Plasma CXCL12 level and Number of organ metastasis.....	30
ตารางที่ 11 Cutpoint Plasma CXCL12 level and bone metastasis	31
ตารางที่ 12 Cutpoint Plasma CXCL12 level and site of metastasis	32
ตารางที่ 13 Cutpoint Plasma CXCL12 level and site of metastasis	32
ตารางที่ 14 Cut point Plasma CXCL12 level and Number of organ metastasis	34

สารบัญรูปภาพ

	หน้า
รูปที่ 1 Molecular Evolution of lung cancer ⁽²⁸⁾	4
รูปที่ 2 Basic Steps of metastasis and hypothetical classes of metastasis genes	9
รูปที่ 3 Vicious cycle of osteolytic metastasis ⁽³⁶⁾	10
รูปที่ 4 The chemokine and chemokine receptor superfamily ⁽⁴⁸⁾	11
รูปที่ 5 Chemokine and Chemokine receptor expression on cancer cell and metastasis ⁽⁴⁹⁾	12
รูปที่ 6 Plasma CXCL 12 level and bone metastasis	28
รูปที่ 7 Compare Plasma CXCL12 level and site of metastasis	29
รูปที่ 8 Compare Plasma CXCL12 level and Number of organ metastasis	30
รูปที่ 9 Cutpoint Plasma CXCL12 level and bone metastasis	31
รูปที่ 10 Cutpoint Plasma CXCL12 level and site of metastasis	33
รูปที่ 11 Cut point Plasma CXCL12 level and Number of organ metastasis	34
รูปที่ 12 ROC Curve.....	35

สารบัญแผนภูมิ

หน้า

แผนภูมิที่ 1 กรอบแนวความคิดในการวิจัย..... 16



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทที่ 1

Back ground and Rationale

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย (Back ground and Rationale)

มะเร็งปอดเป็นมะเร็งที่พบบ่อยในประเทศไทยจากข้อมูลในปี 1989-2000 พบว่ามะเร็งปอดพบมากเป็นอันดับที่สามในผู้ชายรองจากมะเร็งตับและมะเร็งต่อมลูกหมากพบบ่อยเป็นอันดับสี่ในผู้หญิงรองจากมะเร็งปากมดลูกมะเร็งเต้านมและมะเร็งตับ⁽¹⁶⁾ อัตราการรอดชีวิตใน 5 ปีน้อยกว่าร้อยละ 15⁽¹⁷⁾ จากข้อมูลในประเทศสหรัฐอเมริกาประมาณการณ่ว่าจะมีผู้ป่วยมะเร็งปอดรายใหม่เพิ่มขึ้น 220,000 รายในปี 2012⁽¹⁸⁾

การกระจายมะเร็งไปยังกระดูกพบบ่อยในผู้ป่วยมะเร็งเต้านม มะเร็งต่อมลูกหมากมะเร็งปอด มะเร็งไต โดยพบประมาณร้อยละ 75⁽¹⁹⁾ ถึงแม้ว่ามีรายงานการเกิดมะเร็งปอดกระจายไปยังกระดูก ร้อยละ 14-40 อาจเนื่องจากอาการทางคลินิกไม่ชัดเจน⁽¹⁵⁾ จากการศึกษาของ Tsuya ในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กจำนวน 259 ราย พบมีมะเร็งกระจายไปยังกระดูกร้อยละ 30.4 โดยร้อยละ 65.7 พบมีการกระจายของมะเร็งมายังกระดูกตั้งแต่เริ่มการวินิจฉัย(1) ใกล้เคียงกับการศึกษาของ Ursavas พบมะเร็งกระจายไปยังกระดูกร้อยละ 31.1⁽²⁰⁾ โดยหนึ่งในสามของผู้ป่วยมะเร็งปอดที่มีการกระจายไปยังกระดูกจะตรวจพบความผิดปกติของกระดูกได้จากการเอ็กซเรย์กระดูกทำให้เกิดอาการปวด, กระดูกหัก, การกดไขสันหลัง, ภาวะแคลเซียมในเลือดสูง⁽²¹⁾ จากการศึกษาของ Tsuya และ Ursavas พบว่าร้อยละ 50 ของผู้ป่วยที่มีการกระจายมะเร็งปอดมาที่กระดูกจะมี skeleton related events (SREs) ซึ่งมีผลให้ผู้ป่วยมีคุณภาพชีวิตแย่ลงหรืออาจเกิดภาวะทุพพลภาพตามมาได้อัตราการรอดชีวิตในผู้ป่วยมะเร็งปอดที่มีการแพร่กระจายมายังกระดูก 1 ปีเท่ากับร้อยละ 31.6 และ 2 ปี เท่ากับร้อยละ 11.3 ตามลำดับ⁽²²⁾ ในปัจจุบันยังไม่มีการรักษาที่แพร่กระจายไปยังกระดูกให้หายขาดได้ การรักษาจึงมุ่งเน้นเพื่อบรรเทาอาการเป็นหลักดังนั้นการป้องกันหรือการตรวจพบในระยะเริ่มแรกก่อนเกิดอาการทางคลินิกน่าจะสามารถลดภาวะทุพพลภาพที่เกิดตามมาได้

จากข้อมูลในปัจจุบันภาวะ Inflammation เป็น Hallmark ของการเกิดมะเร็ง Chemokine เป็นสารที่หลั่งออกมาหลังจากมีภาวะการอักเสบเกิดขึ้นโดยพบว่า Chemokine receptors ที่อยู่บนเซลล์มะเร็งและ chemokines ที่สร้างโดยอวัยวะเป้าหมายของเซลล์มะเร็งเป็นอีกกระบวนการสำคัญในการเกิดการแพร่กระจายของมะเร็งไปยังอวัยวะต่างๆรวมถึงกระดูกด้วย⁽²³⁾ โดยพบว่า CXCR4 เป็นรีเซปเตอร์ที่พบได้ในมะเร็งหลายชนิดรวมทั้งมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็ก และ CXCL12 สร้างจาก Bone marrow stromal cell ในกระดูกซึ่ง CXCL12 จะทำหน้าที่ดึงเซลล์มะเร็งเข้ามาในกระดูกมากขึ้น กระตุ้นให้การแบ่งตัวของเซลล์มะเร็งกระตุ้นการสร้างเส้นเลือด(Angiogenesis)และเกิดการ

กระจายของมะเร็งมากขึ้น⁽²⁴⁻²⁶⁾ การตรวจ CXCR4 และ CXCL12 ในชิ้นเนื้อ โดยเฉพาะจากกระดูก เป็นวิธีที่ยุ่งยาก บางครั้งต้องใช้หัตถการที่ซับซ้อน และสร้างความเจ็บปวดให้กับผู้ป่วย และในทางปฏิบัติแล้ว กระดูกเป็นอวัยวะที่เก็บชิ้นเนื้อยาก ไม่คุ้มค่า ไม่สามารถทำได้ทุกราย ร่วมกับในการตรวจวินิจฉัยจาก Bone scan หรือ PET-CT ยังมีข้อจำกัด หรือในบางกรณียังไม่สามารถได้ข้อสรุปที่ชัดเจนว่ามีการกระจายของมะเร็งไปที่กระดูกหรือไม่ ซึ่งอาจมีผลต่อการวางแผนการรักษาและการพยากรณ์โรค จึงเป็นที่มาของการวิจัยนี้ในการตรวจ Plasma CXCL12 ด้วยวิธี ELISA เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระดับ Plasma CXCL12 กับการเกิดมะเร็งกระจายไปที่กระดูกในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็ก



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทที่ 2

Review of relate literatures

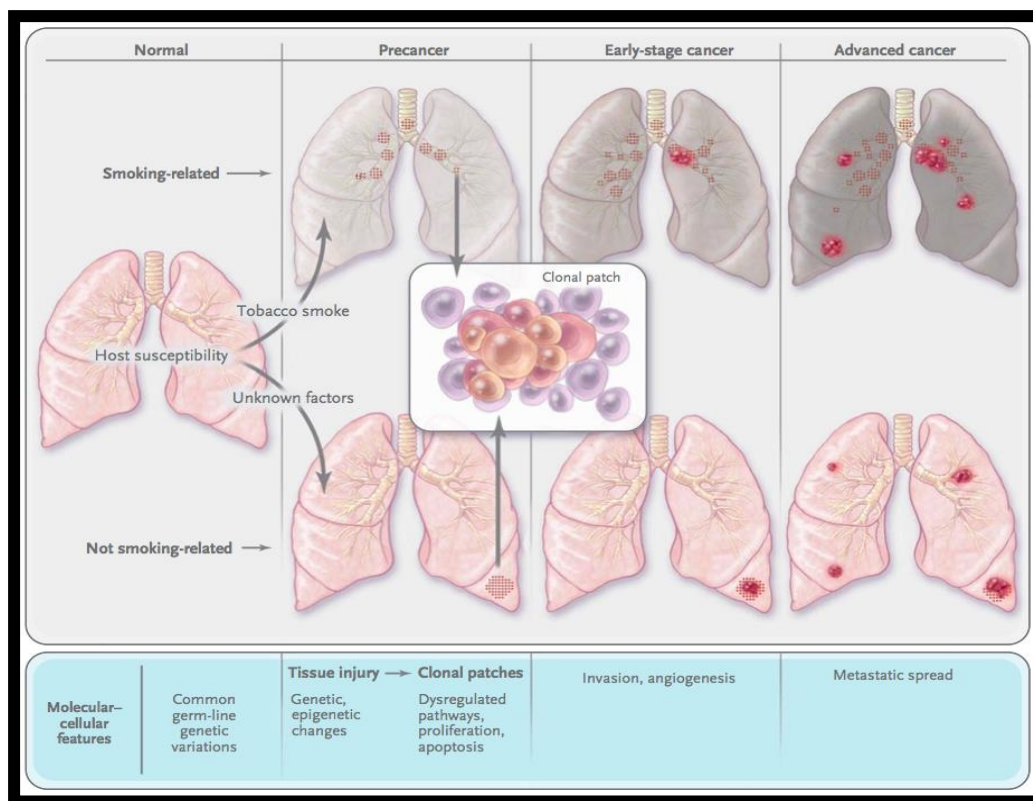
2.1 ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง (Review of relate literatures)

Non small cell lung cancer

มะเร็งปอดเป็นมะเร็งที่พบบ่อยในประเทศไทยจากข้อมูลในปี 1989-2000 พบว่ามะเร็งปอดพบมากเป็นอันดับที่สามในผู้ชายรองจากมะเร็งตับและมะเร็งต่อมลูกหมากพบบ่อยเป็นอันดับสี่ในผู้หญิงรองจากมะเร็งปากมดลูกมะเร็งเต้านมและมะเร็งตับ⁽¹⁶⁾ อัตราการรอดชีวิตใน 5 ปีน้อยกว่าร้อยละ 15⁽¹⁷⁾ จากข้อมูลในประเทศสหรัฐอเมริกาประมาณการว่าจะมีผู้ป่วยมะเร็งปอดรายใหม่เพิ่มขึ้น 220,000 รายในปี 2012⁽¹⁸⁾

ปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งปอดได้แก่ การสูบบุหรี่ , การได้รับควันบุหรี่ทางอ้อม (Passive smoker), อาชีพที่สัมผัสกับสารก่อมะเร็ง เช่น แร่ใยหิน (Asbestos), สุรา พบว่าการดื่มสุรามากกว่า 30 กรัมต่อวันเป็นปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งปอด โดยพบว่าร้อยละ 80 ของผู้ป่วยมะเร็งปอดเป็นมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็ก และร้อยละ 65 ตรวจพบระยะที่ 3 ถึง 4 อาการแสดงมักมาด้วยอาการจากก้อนที่ปอด เช่น อาการไอ, เหนื่อย หรืออาการจากมะเร็งกระจายไปตามอวัยวะต่างๆ เช่น กระจายไปเยื่อหุ้มปอดทำให้เกิดอาการเหนื่อย เจ็บหน้าอกเวลาหายใจ, อาการจากที่มะเร็งกระจายไปที่ต่อมน้ำเหลืองในช่องเยื่อหุ้มหัวใจ ทำให้มีอาการเสียงแหบ เจ็บหน้าอก หน้าบวมแขนบวมจากการมีก้อนไปกดเส้นเลือดดำบริเวณช่องอก (Superior vena cava syndrome) เป็นต้น⁽²⁷⁻²⁹⁾

ขบวนการเกิดมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็ก ประกอบด้วยหลายขั้นตอนของการเกิดมะเร็ง (Multistep carcinogenesis) เมื่อมีการบาดเจ็บของเนื้อเยื่อที่เกิดจากภาวะแวดล้อม เช่นการสูบบุหรี่หรือการเปลี่ยนแปลงทางโมเลกุล (molecular change) ไม่ว่าจะเป็น Mutation, Loss of heterogeneity, Promotor methylation เช่น EGFR mutation, KRAS mutation ทำให้เกิดเป็นระยะก่อนการเกิดมะเร็ง (Premalignant lesion) คือ Dysplasia เมื่อการเปลี่ยนแปลงเหล่านี้ยังดำเนินต่อไปเรื่อยๆมีผลให้การทำงานของเซลล์เปลี่ยนแปลงเกิดการแบ่งตัว (Proliferation) การสร้างเส้นเลือด (Angiogenesis) การต้านการตายของเซลล์ (Anti-apoptosis) ทำให้เกิดเป็นมะเร็งในระยะเริ่มต้น และเกิดการแพร่กระจายตามมา⁽²⁸⁾



รูปที่ 1 Molecular Evolution of lung cancer ⁽²⁸⁾

มะเร็งปอดชนิดเซลล์เล็กแบ่งลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาแบ่งตาม WHO histology classification 2004 แบ่งเป็น

1. Small cell carcinoma
2. Non small cell carcinoma
 - 2.1 Squamous cell carcinoma
 - 2.2 Adenocarcinoma
 - 2.2 Large cell carcinoma
 - 2.3 Adenosquamous cell carcinoma
 - 2.4 Sarcomatoid carcinoma

3. Carcinoid tumor

4. Salivary gland tumor

การวินิจฉัยผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กแบ่งผู้ป่วยเป็น 4 ระยะ ตาม American Joint Committee of cancer ⁽³⁰⁾ ดังตารางที่ 1 และ 2

ตารางที่ 1 Lung cancer staging American Joint Committee on cancer 7th edition

Primary tumor (T)
Tx : primary tumor cannot be assessed, or tumor proven by the present of malignancy cells in sputum or bronchial washing but not visualized by imaging or bronchoscopy
T0 : No evidence of primary tumor
Tis : Carcinoma in situ
T1 : Tumor 3 cm or less in greatest dimension, surrounded by lung or visceral pleura, without bronchoscope evidence of invasion more proximal than lobar bronchus T1a : Tumor 2 cm or less in greatest dimension T1b : Tumor more than 2 cm but 3 cm or less in greatest dimension
T2 : Tumor more than 3 cm but 7 cm or less or tumor with any size of following feature involves main bronchus, 2 cm or more distant to carina, invade visceral pleural (PL1or PL2); associated with atelectasis or obstructive pneumonia that extends to the hilar region but not involve entire lung T2a : Tumor more than 3 cm but 5 cm or less in greatest dimension T2b : Tumor more than 5 cm but 7 cm or less in greatest dimension
T3 : Tumor more than 7 cm or one that directly invades by of the following: Parietal (PL3) chest wall (include superior sulcus tumors), diaphragm, phrenic nerve, mediastinal pleura, parietal pericardium, or tumor involve the main bronchus (less than 2 cm distal to carina but without involve carina or associated atelectasis or obstructive pneumonitis of entire lung or separated tumor nodule(s) in the same lobe
T4 : Tumor of any size that invades any of the following mediastinum, heart, great vessel, trachea, recurrent laryngeal nerve, esophagus, vertebral body, carina, separate tumor nodule(s) in the difference ipsilateral lobe
Regional Lymph node (N)
NX : Regional lymph nodes cannot be assessed

Regional Lymph node (N)
N0 : No regional lymph node metastasis
N1 : Metastasis in ipsilateral peribronchial and/ or ipsilateral hilar lymph node and intrapulmonary nodes including involvement by direct extension
N2 : Metastasis in ipsilateral mediastinal and/or subcarinal lymph node(s)
N3 : Metastasis in contralateral mediastinal, contralateral hilar, ipsilateral or contralateral scalene or supraclavicular lymph node(s)
Distant metastasis (M)
M0 : No distant metastasis
M1 : Distant metastasis M1a : Separate tumor nodule(s) in a contralateral lobe tumor with pleural nodes or malignant pleural (or pericardial) effusion M1b: Distant metastasis

ตารางที่ 2 Lung cancer staging American Joint Committee on cancer 7th edition

Stage	T	N	M
Stage 0	Tis	N0	M0
Stage IA	T1a-b	N0	M0
Stage IB	T2a	N0	M0
Stage IIA	T2b	N0	M0
	T1a-1b, T2a	N1	M0
Stage IIB	T2b	N1	M0
	T3	N0	M0
Stage IIIA	T1a-1b, T2a-2b	N2	M0
	T3	N1-2	M0
	T4	N0-1	M0
Stage IIIB	T1a-1b, T2a-2b, T3	N3	M0
	T4	N2-3	M0
Stage IV	Any T	Any N	M1a-1b

ร้อยละ 65 ของผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กจะพบมีการกระจายของมะเร็งได้ โดยอวัยวะที่พบว่ามีมีการกระจายไปของมะเร็งบ่อยได้แก่ เยื่อหุ้มปอด,สมอง,กระดูก, ต่อมหมวกไตและตับ⁽³¹⁾ อัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยระยะ IA , IB, IIA, IIB, IIIA, IIIB, IVA และ IVB เท่ากับ 115, 76, 47, 21, 17, 10, 7 เดือนตามลำดับ⁽³⁰⁾

Bone metastasis

การกระจายมะเร็งไปยังกระดูกพบบ่อยในผู้ป่วยมะเร็งเต้านม, มะเร็งต่อมลูกหมาก, มะเร็งปอด, มะเร็งไต โดยพบประมาณร้อยละ 75⁽¹⁹⁾ ถึงแม้ว่ามีรายงานการเกิดมะเร็งปอดกระจายไปยังกระดูกร้อยละ 14-40 อาจเนื่องจากอาการทางคลินิกไม่ชัดเจน⁽¹⁵⁾ จากการศึกษาของ Tsuya ในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กจำนวน 259 ราย พบว่ามีมะเร็งกระจายไปยังกระดูกร้อยละ 30.4 โดยร้อยละ 65.7 พบมีการกระจายของมะเร็งมายังกระดูกตั้งแต่เริ่มการวินิจฉัย(1) ใกล้เคียงกับการศึกษาของ Ursavas พบมะเร็งกระจายไปยังกระดูกร้อยละ 31.1⁽²⁰⁾ Sun JM. ได้ศึกษาปัจจัยเสี่ยงการเกิดการแพร่กระจายของมะเร็งมายังกระดูกในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กพบว่า การสูบบุหรี่, เซลล์มะเร็งชนิดที่ไม่ใช่ adenocarcinoma, performance status 2 ขึ้นไป, ไม่ได้ได้รับการรักษาด้วยยากกลุ่ม targeted therapy เป็นปัจจัยที่ทำให้เกิดมะเร็งกระจายไปที่กระดูก⁽³²⁾

หนึ่งในสามของผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็ก ที่มีการกระจายมะเร็งไปยังกระดูกจะตรวจพบความผิดปกติของกระดูกได้จากการเอ็กซเรย์กระดูก ซึ่งอาจทำให้เกิดอาการปวดกระดูก, กระดูกหัก, การกดไขสันหลัง, ภาวะแคลเซียมในเลือดสูง⁽²¹⁾ จากการศึกษาของ Tsuya และ Ursavas พบว่าร้อยละ 50 ของผู้ป่วยที่มีการกระจายมะเร็งปอดมาที่กระดูกจะมี skeleton related events (SREs) ซึ่งมีผลให้ผู้ป่วยมีคุณภาพชีวิตแย่ลงหรืออาจเกิดภาวะทุพพลภาพตามมาได้ อัตราการรอดชีวิตในผู้ป่วยมะเร็งปอดที่มีการแพร่กระจายมายังกระดูก 1 ปี เท่ากับร้อยละ 31.6 และ 2 ปี เท่ากับร้อยละ 11.3 ตามลำดับ⁽²²⁾ จะมีผู้ป่วยส่วนหนึ่งไม่มีอาการหรืออาการแสดงของโรคมะเร็งที่กระจายมาที่กระดูกแต่สามารถตรวจพบได้จากการทำสแกนกระดูก (Bone scan) หรือตรวจ FDG-PET

American Society of Clinical Oncology (ASCO) และ American Collage of Chest Physicians (ACCP) ยังคงแนะนำให้ตรวจหาการกระจายของมะเร็งแม้ผู้ป่วยจะยังไม่มีอาการก็ตาม^(33, 34) Bury T และคณะ ศึกษาแบบ Retrospective เปรียบกับการใช้ Bone scan และ FDG-PET ในการวินิจฉัยมะเร็งแพร่กระจายไปที่กระดูกในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็ก จำนวน 110 ราย พบว่า FDG-PET มีความแม่นยำในการวินิจฉัยมะเร็งแพร่กระจายไปกระดูก 99% สูงกว่า Bone scan ซึ่งมีความแม่นยำ 66%⁽²⁾ จากการศึกษาแบบ Prospective ของ Schirmeister H. และคณะ

เปรียบเทียบการใช้ Bone scan และ FDG-PET ในการวินิจฉัยมะเร็งแพร่กระจายไปที่กระดูกในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กจำนวน 55 ราย พบว่า FDG-PET มีความแม่นยำดีกว่า Bone scan⁽³⁾ Cheran SK และคณะศึกษาเปรียบเทียบการใช้ FDG-PET และ Bone scan ในการวินิจฉัยการแพร่กระจายมะเร็งมาที่กระดูกในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กจำนวน 257 ราย พบว่า FDG-PET มีความแม่นยำ (Accuracy) ในการวินิจฉัย 94% bone scan มีความแม่นยำ 85% ($P < 0.005$), ทั้ง FDG-PET และ Bone scan มีความไว และความจำเพาะ 91%, 75% และ 96%, 95% ตามลำดับ⁽⁴⁾ Song J.W. ศึกษาประสิทธิภาพเปรียบเทียบการใช้ PET และ Bone scan ในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กที่มีมะเร็งกระจายมาที่กระดูกจำนวน 105 ราย พบว่า FDG-PET และ Bone scan มีความแม่นยำ ความไว ความจำเพาะเท่ากับ 98.3%, 95.1% ($P < 0.001$), 94.3%, 98.2% ($P = 0.001$) 98.8%, 97.4% ($P = 0.006$) ตามลำดับ, False positive เท่ากับ 1.2 และ 2.9%, False negative เท่ากับ 5.7% และ 21.9%⁽⁵⁾ FDG-PET ดีกว่า Bone scan ในการตรวจการกระจายมะเร็งมาที่กระดูกในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็ก

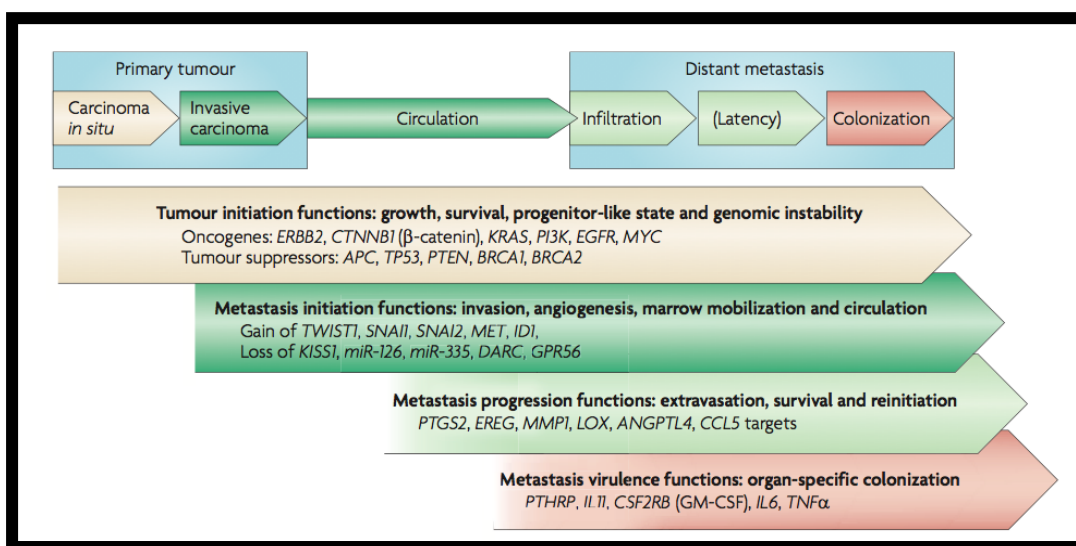
Stephan Paget ได้กล่าวถึงทฤษฎี “Seed and Soil” ที่อธิบายการเกิดการแพร่กระจายของมะเร็งไปยังอวัยวะต่างๆ ว่า อวัยวะที่มะเร็งกระจายไปต้องมีสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งด้วย⁽³⁵⁾ ซึ่งกระดูกเป็นอวัยวะที่เอื้อต่อการกระจายและการดำรงชีวิตของเซลล์มะเร็งด้วยหลายปัจจัยได้แก่

1. ไชกระดูกแดง (red marrow) เป็นที่ที่มีเส้นเลือดมาเลี้ยงมากมายเป็นแหล่งอาหารที่ดีทำให้เซลล์มะเร็งชอบกระจายมา
2. เซลล์มะเร็งสามารถสร้างสารออกมาช่วยให้เซลล์มะเร็งสามารถจับกับสโตรมาเซลล์ในไขกระดูกได้ (Stromal cell)
3. เซลล์เนื้อเยื่อในกระดูก (Bone matrix) กระตุ้นการสร้างสารสร้างเส้นเลือด (Angiogenesis factor) สารที่ทำลายกระดูก (Bone resorption factor)
4. กระดูกสามารถสร้างสารต่างๆมากมายที่เอื้อให้มีการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งและการทำลายกระดูกเองเช่น Transforming growth factor beta, Insulin-like growth factors I and II, Fibroblast growth factors, Platelet-derived growth factors, Bone morphogenetic proteins, และ calcium⁽³⁶⁾

การกระจายของมะเร็งไปยังอวัยวะต่างๆประกอบด้วยหลายขั้นตอน (Multistep)⁽³¹⁾

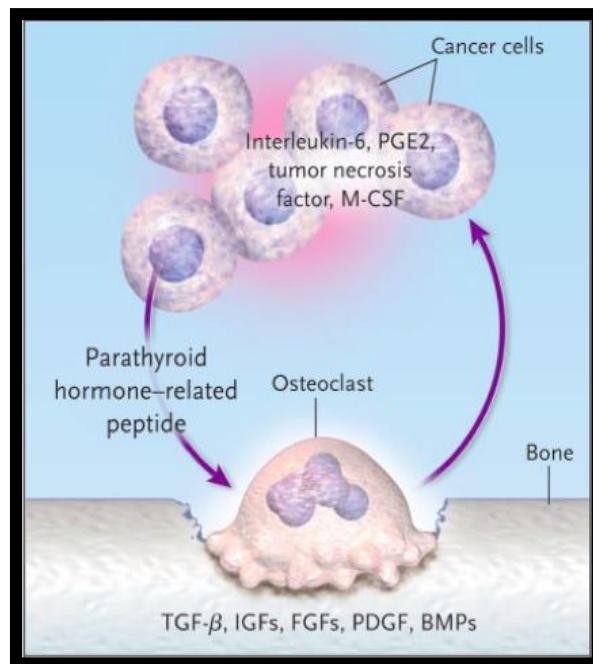
1. Local invasion

2. Intravasation and survival in circulation
3. Extravasation
4. Colonization



รูปที่ 2 Basic Steps of metastasis and hypothetical classes of metastasis genes

เซลล์มะเร็งที่กระจายไปยังกระดูกจะสร้างสารที่เรียกว่า Parathyroid hormone related peptide (PTHrP), Tumor necrotic factor- α (TNF α), Interleukin6 (IL-6), Interleukin 11(IL-11) ออสติโอคลาสโตจินิกแฟคเตอร์ (Osteoclastogenic factor) ซึ่งสามารถไปกระตุ้นการหลั่ง receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand (RANKL) จากออสติโอเบลาส (Osteoblast) และยับยั้งการสร้างสาร osteoprotegerin (OPG) ซึ่งเป็นสารที่ยับยั้งการหลั่ง RANKL ซึ่ง RANKL จะกระตุ้นให้ออสติโอคลาสแบ่งตัว (osteoclast differentiate) ทำให้เกิดการทำลายกระดูก (Bone matrix) เมื่อมีการทำลายกระดูกจะทำให้มีการหลั่งสารที่เรียกว่า Transforming Grow Factor- β (TGF β), Bone morphogenetic protein (BMP), Insulin-like growth factors (IGFs) ซึ่งสารเหล่านี้จะกลับไปกระตุ้นเซลล์มะเร็งให้มีการเจริญเติบโตและแพร่กระจายมากขึ้นจนกระทั่งเป็นวัฏจักรไปเรื่อยๆ ^(31, 36-40)

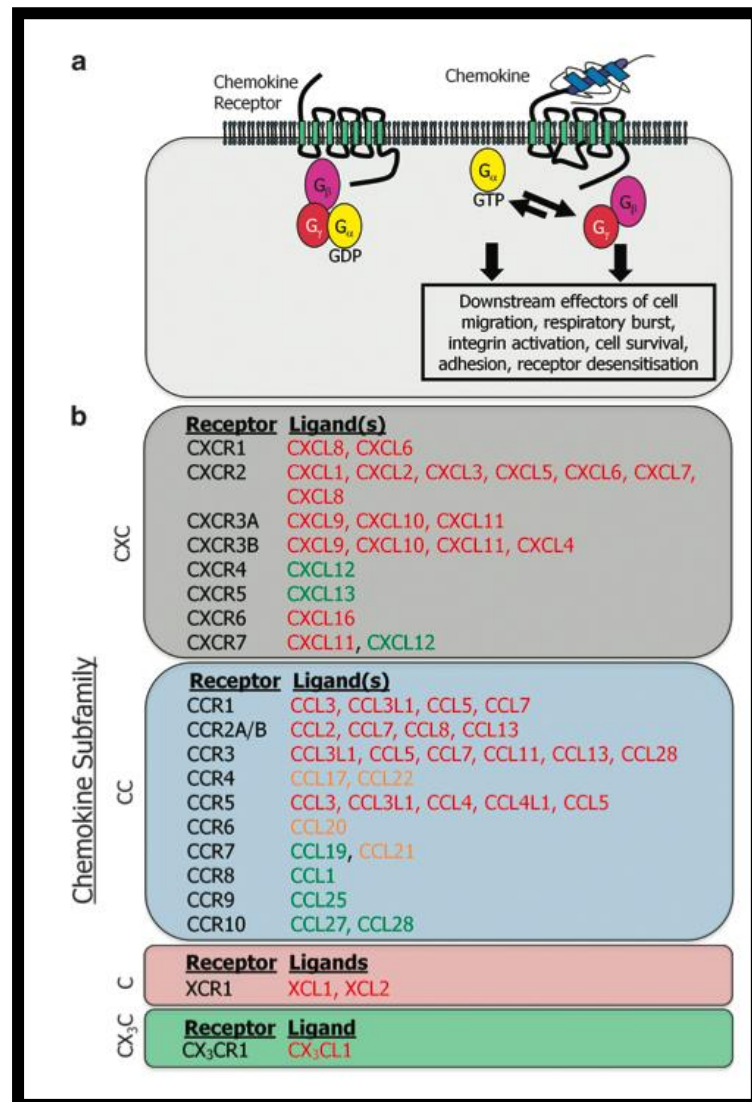


รูปที่ 3 Vicious cycle of osteolytic metastasis ⁽³⁶⁾

CXCL12/CXCR4 axis and Cancer

จากข้อมูลในปัจจุบัน ภาวะ Inflammation เป็น Hallmark ของการเกิดมะเร็ง Cytokines และ Chemokines เป็นสารที่หลั่งออกมาหลังจากมีภาวะการอักเสบเกิดขึ้นโดยพบว่า Chemokine receptors ที่อยู่บนเซลล์มะเร็งและ chemokines ที่สร้างโดยอวัยวะเป้าหมายของเซลล์มะเร็งเป็นอีกกระบวนการสำคัญในการเกิดการแพร่กระจายของมะเร็งไปยังอวัยวะต่างๆรวมถึงกระดูกด้วย

Chemokine แบ่งตามโครงสร้างหลักได้ 4 ประเภทคือ CXC (α -chemokines), CC (β -chemokines), CX₃C และ C CXCL12 สร้างมาจากไขกระดูกในชั้นสโตรมา (Bone marrow stroma cells) แบ่งตามโครงสร้างหลักๆและพบมากคือ CXCL12 α และ CXCL12 β เดิม CXCL12 เรียกอีกชื่อว่า Stromal derived factor 1 (SDF1) CXCL12 α เป็นชนิดที่พบมากที่สุด ^(24, 25) และพบได้หลายอวัยวะเช่น ตับ, สมอง, กล้ามเนื้อ ต่อมน้ำเหลือง และออสติโอเบลาสต์ ⁽⁴¹⁻⁴⁴⁾ CXCL12 ที่พบในไขกระดูกสร้างมาจาก Osteoblast ที่อยู่บน Endosteum กระตุ้นให้มี CD34⁺ cell เซลล์เม็ดเลือดขาวเคลื่อนที่เข้ามายังอวัยวะนั้นๆ ⁽⁴⁵⁾ มีผลให้เกิดกระบวนการอักเสบซึ่งเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการเจริญเติบโตของมะเร็ง ^(46, 47) Chemokine เหล่านี้จะไปจับกับตัวรับ (Receptor) ที่อยู่บนผิวเซลล์ ซึ่ง CXCL12 เป็น Ligand ที่เฉพาะเจาะจงกับ CXCR4 receptor ^(48, 49)

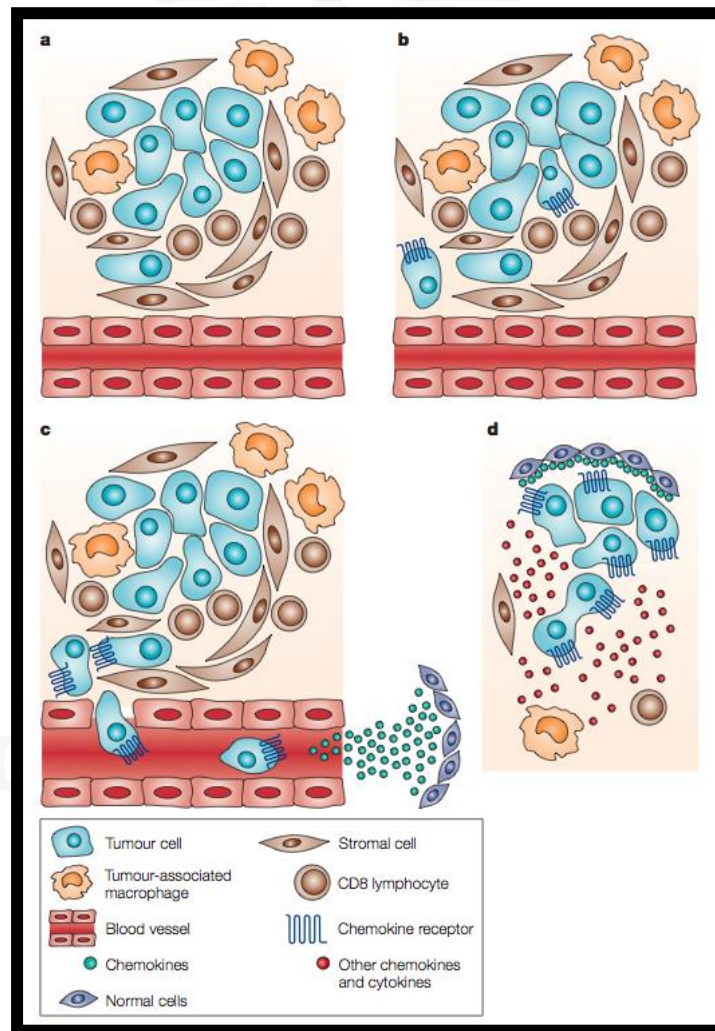


รูปที่ 4 The chemokine and chemokine receptor superfamily⁽⁴⁸⁾

CXCR4 เป็น Chemokine receptor ที่พบในมะเร็งชนิดต่างๆ มากกว่า 23 ชนิดรวมทั้ง มะเร็งต่อมลูกหมาก, มะเร็งเต้านม, มะเร็งรังไข่, มะเร็งปอด⁽⁴⁹⁾ และ CXCR4 จะพบน้อยหรือไม่พบเลยในเนื้อเยื่อที่ปกติเช่น เต้านม⁽⁵⁰⁾, รังไข่⁽⁵¹⁾

เซลล์มะเร็งที่อยู่ในอวัยวะปฐมภูมิ (Primary organ) บางครั้งยังไม่แสดง CXCR บนผิวเซลล์ แต่เมื่อมีการกลายพันธุ์ของยีน (Gene mutation) หรือมีภาวะบางอย่างเช่น hypoxia จะทำให้เซลล์มะเร็งเหล่านั้นมีการแสดงออกของ CXCR บนผิวเซลล์ ซึ่ง CXCR จะตอบสนองต่อ CXCL

ligand หากในบริเวณที่เซลล์มะเร็งอยู่มี Ligand ต่อ CXCR นั้นน้อย จะทำให้เซลล์มะเร็งเคลื่อนที่เข้า
 อวัยวะเป้าหมายที่มี CXCL ligand ที่ปริมาณสูงกว่า หรืออีกนัยหนึ่ง CXCR ทำให้เซลล์มะเร็งรุกราน
 และกระจายไปยังอวัยวะเป้าหมายตามความแตกต่างของปริมาณ CXCL ligand เมื่อเซลล์มะเร็งมี
 การกระจายไปยังอวัยวะเป้าหมายนั้นแล้ว จะไปจับ CXCL ligand กระตุ้นกระบวนการแบ่งตัว
 (Proliferation), ป้องกันการตายของเซลล์ (Anti-apoptosis) กระตุ้นการสร้าง Tumor necrotic
 factor , Proinflammatory cytokines ทำให้เซลล์มะเร็งเกิดการแบ่งตัวและมีชีวิตรอดในอวัยวะนั้น
 ต่อไป⁽⁴⁹⁾ ดังรูปที่ 5



รูปที่ 5 Chemokine and Chemokine receptor expression on cancer cell and metastasis⁽⁴⁹⁾

มีการศึกษาหลายการศึกษาที่แสดงให้เห็นว่า CXCL12/CXCR4 axis สัมพันธ์กับการเกิดการกระจายของมะเร็งไปยังอวัยวะต่างๆเช่น จากการศึกษาของ Taichman และ Sun Y-x ศึกษาพบว่า CXCL12/ CXCR4 axis เป็นกระบวนการทำให้เซลล์มะเร็งต่อมลูกหมากมีการกระจายมายังไขกระดูก^(6, 7) และพบว่าการมี CXCR4 มากมีความสัมพันธ์กับระดับของเซลล์มะเร็ง⁽⁷⁾ จากการศึกษาตรวจระดับ SDF1หรือ CXCL12 โดยวิธี ELISA พบมีปริมาณที่สูงในอวัยวะที่มีมะเร็งกระจายมาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ⁽⁸⁾ จากการศึกษาของ Kazuo Yasumoto และคณะพบว่าระดับ CXCL12 จากน้ำในช่องท้องผู้ป่วยมะเร็งกระเพาะอาหารที่มีการแพร่กระจายมะเร็งมายังเยื่อช่องท้อง (ค่าเฉลี่ย 4667 pg/ml) มีระดับสูงกว่าในผู้ป่วยที่ไม่ได้เกิดจากมะเร็งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ค่าเฉลี่ย 2000 pg/ml)⁽⁹⁾

การศึกษาของ Jan Dimberg ศึกษาาระดับพลาสมา CXCL12 ในผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่และคนปกติพบว่า ระดับ CXCL12 ในพลาสมาของผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่มีระดับน้อยกว่าคนปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.0001$) โดยศึกษาในผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่จำนวน 63 ราย (Dukes' classification A 15 ราย, B 26 ราย, C 22 ราย) มีค่า median 1597 (range 242-3197 pg/ml) และคนปกติ 78 ราย มีค่า median 2109 (range 1177-3572 pg/ml) นอกจากนี้ยังพบว่าระดับพลาสมา CXCL12 ในกลุ่มคนไข้มะเร็งลำไส้ใหญ่ Duke's stage B และ C (median 1575 pg/ml; $P < 0.0001$ และ $P = 0.0003$ ตามลำดับ) มีค่าน้อยกว่าเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม⁽¹⁰⁾

โรคมะเร็งเต้านมมีการศึกษาของ Shirley ศึกษาาระดับ Cytokine ในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมจำนวน 114 ราย พบว่าระดับ CXCL12 (SDF-1 α) ในผู้ป่วยมะเร็งเต้านม (2448 ± 49 pg/ml) มีระดับสูงกว่ากลุ่มควบคุม (2141 ± 58 pg/ml) ซึ่งเป็นอาสาสมัครที่ไม่มีโรครอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อแบ่งตาม Histology พบว่าระดับพลาสมา CXCL12 ที่สูงสัมพันธ์กับ histology high grade tumor ($P < 0.005$) และสัมพันธ์กับ Poorer prognosis Subtype คือ Basal subtype , HER2 subtype อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)(11)

โรคมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็ก จากการศึกษาของ Belperio JA, Phillips RJ, Burdick MD, Lutz M, Keane M และ Strieter R. พบว่ามี CXCR4 expression มากกว่าร้อยละ 80 ของเซลล์มะเร็งปอดทั้งชนิด squamous cell carcinoma และชนิด adenocarcinoma แต่ไม่พบความแตกต่างระหว่างโปรตีน CXCL12 ในเนื้อเยื่อมะเร็งปอดและเนื้อเยื่อปกติจากการตรวจโดยใช้ ELISA แต่พบว่าระดับ CXCL12 ในหนูที่ฉีดเซลล์มะเร็งปอดเข้าไปมีระดับโปรตีน CXCL12 สูงในต่อมหมวกไตไขกระดูกซึ่งเป็นอวัยวะที่มีการกระจายของเซลล์มะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กได้บ่อยและพบระดับ CXCL12 ต่ำที่ไตและหัวใจซึ่งเป็นอวัยวะที่เซลล์มะเร็งปอดแพร่กระจายมาไม่บ่อย เมื่อฉีด CXCL12 antibody ก็พบว่าสามารถลดการกระจายของเซลล์มะเร็งปอดมายังอวัยวะต่างๆได้แสดง

ว่า CXCL12/CXCR4 axis เป็นอีกกระบวนการหนึ่งที่ควบคุมการกระจายมะเร็งปอดไปยังอวัยวะต่างๆ⁽¹²⁾

จากการศึกษาของ Kenichi และคณะ ศึกษาพบว่า CXCL12/CXCR4 axis ทำให้มีการแพร่กระจายมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กมายังช่องเยื่อหุ้มปอด ในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดไม่เล็กทั้งหมด 43 ราย เทียบกับ nonmalignant plural effusion 19 ราย และ nonmalignant transudate pleural effusion พบว่า ระดับ CXCL12 (SDF1 α) ใน malignant pleural effusion (Mean \pm SD เท่ากับ 2040.1 ± 1041.5 pg/ml) มีระดับสูงกว่าใน transudate pleural effusion (mean \pm SD เท่ากับ 237.1 ± 248.7 pg/ml) ไม่พบความแตกต่างระหว่าง malignant pleural effusion และ non malignant exudative pleural effusion (mean \pm SD เท่ากับ 202.5 ± 925.2 pg/ml) เมื่อมาศึกษาในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็ก 13 รายที่เกิด recurrent malignant pleural effusion พบว่าระดับ pleural effusion CXCL12 มีระดับสูงกว่าในผู้ป่วยที่ไม่เกิด recurrent malignant pleural effusion (ค่าเฉลี่ย CXCL12 กลุ่ม recurrent malignant pleural effusion 2917.5 ± 819.9 pg/ml, non recurrent malignant pleural effusion 1659.8 ± 893.2 pg/ml; $P < 0.01$) เมื่อใช้ค่า Cutoff 2500 pg/ml สามารถวินิจฉัย Malignant pleural effusion โดยมี sensitivity 61.5% และ Specificity 83.3%⁽¹⁴⁾

จากการศึกษาของ Chih-ching Wu และคณะ ศึกษาระดับพลาสมา CXCL12 ในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กทั้งหมด 44 รายและคนปกติจำนวน 44 ราย พบว่าผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กมีระดับพลาสมา CXCL12 สูงกว่าคนปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยมีค่าเฉลี่ย (mean \pm SD) เท่ากับ 4.01 ± 1.57 , และ 3.11 ± 0.56 ng/ml ตามลำดับ ($P=0.0007$)⁽¹³⁾

CXCL12 ทำหน้าที่เป็น Chemoattractant จะจับกับ CXCR4 receptor ที่พบได้ในเซลล์มะเร็ง ซึ่งกระดูกเป็นอวัยวะที่สามารถสร้าง CXCL12 และมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กก็พบว่ามี CXCR4 อยู่บนผิวเซลล์ ซึ่งทั้ง CXCL12 and CXCR4 สามารถตรวจจากชิ้นเนื้อที่มีการแพร่กระจายของมะเร็งไป แต่เป็นวิธีที่ยุ่งยาก บางครั้งต้องใช้หัตถการที่ซับซ้อน และสร้างความเจ็บปวดให้กับผู้ป่วย และในทางปฏิบัติแล้ว กระดูกเป็นอวัยวะที่เก็บชิ้นเนื้อยากกว่า ไม่คุ้มค่า ไม่สามารถทำได้ทุกราย ร่วมกับในการตรวจวินิจฉัยจาก Bone scan ยังมีข้อจำกัด หรือในบางกรณียังไม่สามารถได้ข้อสรุปที่ชัดเจนว่ามีการกระจายของมะเร็งไปที่กระดูกหรือไม่ ซึ่งอาจมีผลต่อการวางแผนการรักษา และการพยากรณ์โรค การตรวจ Plasma CXCL12 ด้วยวิธี ELISA มีข้อดีคือ เป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว มีความจำเพาะ (specificity) และความไว (sensitivity) สูง, มีความถูกต้องและแม่นยำ การอ่านผล, แปลผลมีความเป็นสากล และสามารถวัดเป็นระดับที่ชัดเจนเชื่อถือได้ ไม่ต้องการผู้ชำนาญการพิเศษในการทำการตรวจและการอ่านผล จึงเป็นที่มาของการศึกษานี้ในการตรวจ

Plasma CXCL12 ในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็ก ว่าระดับ Plasma CXCL12 มีความสัมพันธ์กับการเกิดมะเร็งกระจายไปที่กระดูกหรือไม่

2.2 คำถามการวิจัย (Research question)

คำถามหลัก (Primary research question)

ระดับพลาสมา CXCL12 ในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กสัมพันธ์กับการเกิดการกระจายมะเร็งไปยังกระดูกหรือไม่

คำถามรอง (Secondary research question)

ระดับพลาสมา CXCL12 ในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กสัมพันธ์กับการเกิดการกระจายมะเร็งไปยังอวัยวะอื่นหรือไม่

2.3 วัตถุประสงค์การวิจัย (Objective)

เพื่อศึกษาระดับพลาสมา CXCL12 ในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กมีความสัมพันธ์กับการกระจายของมะเร็งไปยังกระดูก

เพื่อศึกษาหาปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับการเกิดการกระจายของมะเร็งไปยังกระดูกในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

เพื่อศึกษาระดับพลาสมา CXCL12 ในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กมีความสัมพันธ์กับการกระจายของมะเร็งไปยังอวัยวะอื่น

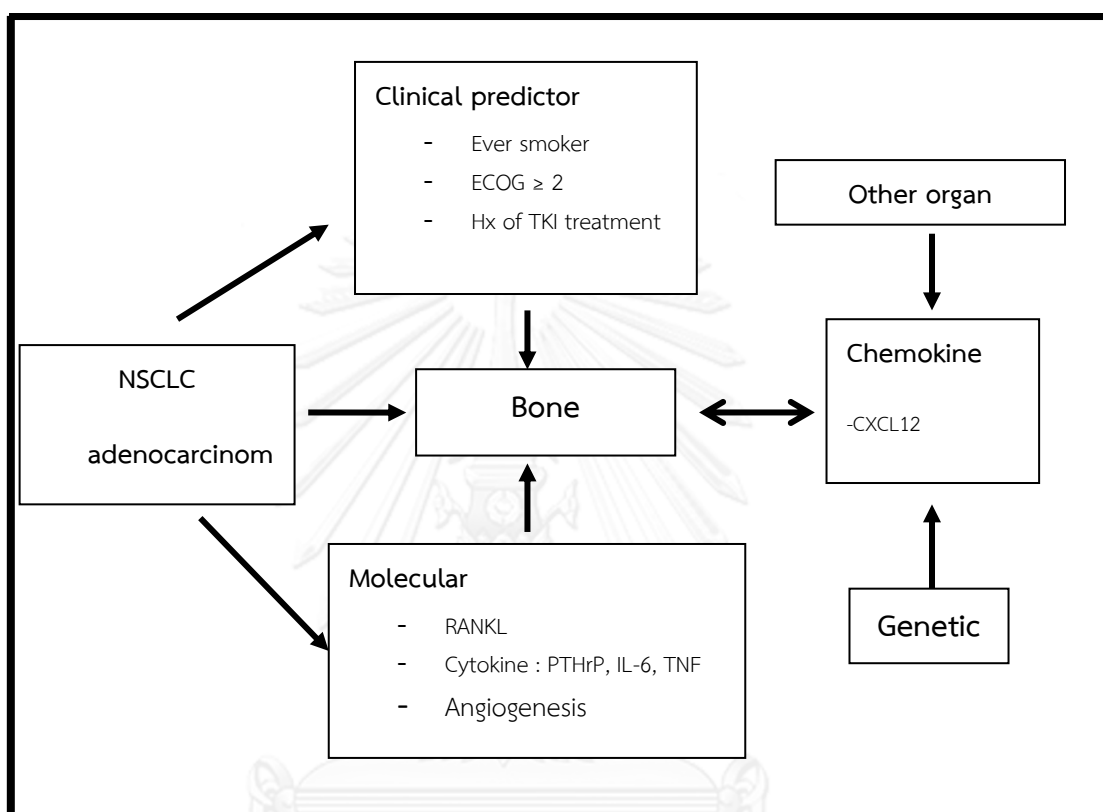
2.4 สมมุติฐาน (Hypothesis)

H₀ : ค่าเฉลี่ยพลาสมา CXCL12 ในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กที่มีมะเร็งไปยังกระดูกมีค่าเฉลี่ยน้อยกว่าหรือเท่ากับกลุ่มควบคุม

H_a : ระดับพลาสมา CXCL12 ในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กที่มีมะเร็งไปยังกระดูกมีค่าเฉลี่ยมากกว่ากลุ่มควบคุม

2.5 กรอบแนวความคิดในการวิจัย (Conceptual framework)

แผนภูมิที่ 1 กรอบแนวความคิดในการวิจัย



2.6 ข้อตกลงเบื้องต้น (Assumption)

การกระจายมะเร็งปอดมายังกระดูกวินิจฉัยจาก อาการ,ความผิดปกติจากฟิล์มเอ็กซเรย์ (Plain Film), เอ็กซเรย์คอมพิวเตอร์ (CT scan), เอ็กซเรย์คลื่นแม่เหล็ก (MRI), เอ็กซเรย์สแกนกระดูก (bone scan) หรือ PET/CT scan

2.7 คำสำคัญ (Key Word)

CXCL12, SDF-1

Bone metastasis

Non small cell lung cancer

2.8 การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติการที่ใช้ในการวิจัย (Operational Definition)

Non small cell lung cancer (มะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็ก) หมายถึง มะเร็งปอดชนิด Squamous cell carcinoma, Adenocarcinoma, Large cell carcinoma หรือเซลล์อื่นๆที่ไม่ใช่ Small cell carcinoma

Bone metastasis หมายถึง การกระกระจายของเซลล์มะเร็งไปยังกระดูก



บทที่ 3 วิธีดำเนินงาน

3.1 รูปแบบการวิจัย (Research Design)

Cross-sectional analytic study

3.2 ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

ประชากร (Population) และตัวอย่าง (Sample)

กฎเกณฑ์การคัดเลือกเข้ามาศึกษา (Inclusion Criteria)

1. ผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็ก (Non Small Cell Lung Cancer) ระยะที่สามหรือสี่ ที่มารับ การรักษาที่หน่วยมะเร็งวิทยา โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์
2. ยังไม่ได้รับยาเคมีบำบัดมาก่อน
3. อายุมากกว่า 18 ปีขึ้นไป
4. มะเร็งชนิดอื่นที่ควบคุมโรคได้นานมากกว่า 6 เดือน
5. ผู้ที่เข้าร่วมการศึกษาต้องยินยอมเข้าร่วมการวิจัย

กฎเกณฑ์การคัดออกจากการศึกษา (Exclusion Criteria)

1. ผู้ป่วยเคยที่มะเร็งชนิดอื่นที่ยังควบคุมไม่ได้
2. ตั้งครรภ์
3. มีโรคกระดูกอื่นร่วมที่ไม่เกี่ยวกับมะเร็ง

เทคนิคในการสุ่มตัวอย่าง

Target population ผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กในประเทศไทย

Sample population ผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กที่มารับการรักษาที่โรงพยาบาล
จุฬาลงกรณ์

ขนาดตัวอย่าง (Sample Size Determination)

จากข้อมูลของ Chih-ching Wu และคณะศึกษาระดับพลาสมา CXCL12 ในผู้ป่วยมะเร็ง
ปอดชนิดเซลล์ไม่เล็ก 44 ราย และคนปกติ 44 ราย พบว่าผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กมีระดับ

พลาสมา CXCL12 ค่าเฉลี่ย (mean \pm SD) เท่ากับ 4.01 ± 1.57 , และคนปกติมีค่าเท่ากับ 3.11 ± 0.56 ng/ml

โดยการตั้งสมมุติฐานว่า กลุ่มผู้ป่วยมะเร็งรังไข่ชนิดเซลล์ไม่เล็กที่มีมะเร็งแพร่กระจายไปที่กระดูกจะมีค่า Plasma CXCL12 สูงกว่ากลุ่มที่ไม่มีมะเร็งแพร่กระจายไปที่กระดูกร้อยละ 25 สามารถคำนวณขนาดตัวอย่างได้จากสูตร

$$N = 2\sigma^2 (Z \alpha + Z \beta)^2 / D^2$$

จากค่า mean plasma CXCL12 ในผู้ป่วยมะเร็งรังไข่ เท่ากับ 4.01

$$D = 1, \sigma^2 = 1.91, \alpha = 0.05, \beta = 0.2$$

จำนวนประชากรที่ต้องใช้ในการศึกษานี้ทั้งหมด = 48 คน

การสังเกตและการวัด (Observation and measurement)

ตัวแปรอิสระ	Plasma CXCL12
ตัวแปรตาม	Bone metastasis
ตัวแปรควบคุม	Non small cell lung cancer

เก็บข้อมูลหรือวัดผลโดยใช้ แบบบันทึกข้อมูล, เครื่องมือวัดระดับ CXCL 12 ในเลือด

ขั้นตอนในการดำเนินการวิจัย

1. ผู้วิจัยหรือเจ้าหน้าที่หน่วยอายุรศาสตร์มะเร็งวิทยาโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ชี้แจงวัตถุประสงค์ ขั้นตอนการวิจัย ประโยชน์ที่ผู้ป่วยจะได้รับ และความเสี่ยงที่อาจเกิดขึ้นในระหว่างที่ผู้ป่วยเข้าร่วมโครงการวิจัย โดยดำเนินการที่หน่วยมะเร็งวิทยาโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ หรือที่คลินิกผู้ป่วยนอก โรคมะเร็ง ตึก ภปร. ชั้น 3 ผู้ป่วยสามารถสอบถามข้อสงสัยและให้เวลาการตัดสินใจโดยอิสระก่อนลงนามให้ความยินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัย
2. ชักประวัติตรวจร่างกาย ระยะเวลาของโรค การกระจายของโรค ตามแบบบันทึกข้อมูล
3. เจาะเลือดจากผู้ป่วยหลังจากผู้ป่วยยินยอมเข้ารับการศึกษา
4. เจาะเลือด 10 ซีซีใน EDTA tube โดยเจาะเลือดพร้อมกับการเจาะเลือดอื่นๆที่ต้องใช้เตรียมผู้ป่วยก่อนเข้ารับการรักษาโดยวิธีมาตรฐานอยู่แล้วหรือเจาะเลือดพร้อมตอนผู้ป่วยมารับยาเคมีบำบัด ผู้เข้าร่วมการวิจัยจะถูกเจาะเลือดเพื่อตรวจระดับ CXCL12 เพียงครั้งเดียวระหว่างเข้าร่วมการวิจัย
5. ปั่นแยกซีรัมและพลาสมาเก็บที่อุณหภูมิ -70 องศาเซลเซียส โดยเก็บที่หน่วย

อายุรศาสตร์ มะเร็งวิทยา โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

6. วัดระดับ CXCL12 โดยใช้ measured using Quantikine Colorimetric ELISA kits for CXCL12 (R&D Systems)

7. เลือดที่เหลือจากการวิจัยขอเก็บสำหรับการตรวจซ้ำเพื่อยืนยันความถูกต้องของผลการทดลองและขอเก็บตัวอย่างไว้เพื่องานวิจัยในอนาคตเป็นระยะเวลา ปี 10 โดยตัวอย่างเลือดจะเก็บที่หน่วยอายุรศาสตร์มะเร็งวิทยา โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ โดยโครงการวิจัยที่จะศึกษาในอนาคตต้องเกี่ยวข้องกับโครงการวิจัยหลักที่ได้รับการรับรองและก่อนทำวิจัยจะต้องเสนอโครงร่างให้คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยรับรองจึงจะดำเนินการได้

3.3 การรวบรวมข้อมูล (Data collection)

เก็บข้อมูลจากหน่วยอายุรศาสตร์มะเร็งวิทยา โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

ผู้เก็บข้อมูลคือ ผู้ดำเนินการวิจัย และผู้บันทึกข้อมูลคือ ผู้ดำเนินการวิจัย

3.4 การวิเคราะห์ข้อมูล (Data analysis)

ใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 17.0 โดยใช้สถิติ

1. สถิติเชิงพรรณนา (Descriptive statistic) ได้แก่ ร้อยละ, ค่าเฉลี่ย และค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (Mean \pm SD) เพื่อแสดงข้อมูล Continuous data

2. สถิติเชิงอนุมาน (Inferential statistic) ใช้พิสูจน์สมมติฐาน (Hypothesis testing)

โดยใช้

- Independent sample T Test ในการเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่าง 2 กลุ่ม โดยกำหนดนัยสำคัญ P value น้อยกว่า 0.05 (one tail)

- Chi-square test ในการเปรียบเทียบข้อมูล 2 กลุ่มที่เป็น Categorical data

- One way ANOVA สำหรับข้อมูลที่มาจากการแจกแจงแบบปกติ แล้วใช้ post hoc comparison ชนิด Bonferroni เพื่อเปรียบเทียบข้อมูลระหว่างกลุ่มโดยกำหนดนัยสำคัญ P value น้อยกว่า 0.05

3.5 ปัญหาทางจริยธรรม (Ethic consideration)

งานวิจัยนี้มีหลักฐานสนับสนุน คาดว่าน่าจะมีผลดีมากกว่าผลเสียผู้ป่วยทุกรายที่เข้าร่วมโครงการวิจัยจะได้รับข้อมูลอย่างครบถ้วนและชัดเจนจากผู้วิจัยจนผู้ที่ได้รับเชิญเข้าร่วมการวิจัยเข้าใจ

เป็นอย่างดี และตัดสินใจอย่างอิสระในการให้ความยินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัย ผู้วิจัยจะเก็บรักษาความลับของอาสาสมัครที่เข้าร่วมโครงการวิจัยโดยจะไม่มี identifier ในแบบบันทึกข้อมูลที่จะระบุถึงอาสาสมัครผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย

การวิจัยนี้มีเกณฑ์การคัดเข้าและคัดออกชัดเจน ความเสี่ยงที่อาจเกิดขึ้นแก่ผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย ได้แก่ อาการเจ็บปวด ข้ำ บวมจากการเจาะเลือด อาการหน้ามืด ซึ่งอาการดังกล่าวดีขึ้นหลังการเจาะเลือดเสร็จ หรืออาจมีเลือดออกบริเวณที่เจาะเลือด ซึ่งหากมีปัญหาดังกล่าวผู้วิจัยทำการรักษาเบื้องต้นโดยการกดบริเวณที่เลือดออกซึ่งสามารถลดอาการดังกล่าวได้ และโอกาสที่จะเกิดการติดเชื้อบริเวณที่เจาะเลือดพบได้น้อยมาก

ผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยอาจจะไม่ได้รับประโยชน์ใดจากการเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ แต่ผลการวิจัยนี้จะทำให้ทราบค่า ระดับซีเ็กซีแอลสิบสองในเลือด ผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กที่มีหรือไม่มีมะเร็งกระจายมายังกระดูก ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการศึกษาและการรักษาต่อไปในอนาคต

3.6 ข้อจำกัดทางการวิจัย (Limitation)

ไม่มีค่ามาตรฐานของระดับ CXCL12 ในผู้ป่วยโรคมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็ก

3.7 ผลหรือประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย (Expected benefit and application)

1. ทำให้ทราบค่าระดับพลาสมา CXCL12 ในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดไม่เล็กที่มีมะเร็งแพร่กระจายมาที่กระดูกและไม่มีมะเร็งแพร่กระจายมาที่กระดูก
2. อาจเป็นอีกวิธีหนึ่งในการตรวจการแพร่กระจายของมะเร็งไปยังกระดูกก่อนที่ผู้ป่วยจะมีอาการทาง คลินิก
3. ใช้ติดตามการรักษาผู้ป่วยมะเร็งปอดกระจายไปที่กระดูก
4. ใช้เป็นอีกวิธีในการบอกถึงการกระจายของมะเร็งไปยังอวัยวะต่างๆ
5. อาจเป็นอีกแนวทางหนึ่งในการวิจัยในอนาคตเพื่อหาการรักษาต่อไป

3.8 อุปสรรคที่อาจเกิดขึ้นและมาตรการแก้ไข (Obstacles and Strategies to solve the problem)

การศึกษานี้ต้องใช้พลาสมาในเลือดผู้ป่วยซึ่งต้องมีการเก็บเลือดอย่างถูกวิธี มิฉะนั้นอาจเกิดความคลาดเคลื่อนในการวัดระดับพลาสมา CXCL12 ได้ การแก้ไขคือต้องมีการอธิบายให้เจ้าหน้าที่ทราบถึงวิธีการเก็บที่ถูกต้อง

3.9 การบริหารงานวิจัยและตารางการปฏิบัติงาน (Administration and time schedule)

ตารางที่ 3 ตารางการปฏิบัติงาน

	พ.ศ. 2555						พ.ศ. 2556												พ.ศ. 2557			
	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4
1. ศึกษาเตรียมงาน	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x									
2. รวบรวมข้อมูล															x	x	x	x	x			
3. วิเคราะห์ข้อมูล																			x	x		
4. รายงานผลการวิจัย																					x	x

3.10 งบประมาณ (Budget)

ผู้สนับสนุนทุนวิจัย หน่วยอายุรศาสตร์มะเร็งวิทยา ภาควิชา อายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ค่า ELISA KIT ตรวจ SDF1	60,000 บาท
ค่าเช่าเครื่องตรวจ	10,000 บาท
ค่าตรวจเลือด	5000 บาท
ค่าวัสดุสำนักงาน ค่าถ่ายเอกสาร ค่าโทรศัพท์	2000 บาท
รวม	77,000 บาท

บทที่ 4
ผลการศึกษา

4.1 ผลการศึกษา

เก็บข้อมูลและเลือดผู้ป่วยมะเร็งรังไข่ชนิดเซลล์ไม่เล็กระยะลุกลามที่มาได้รับการรักษาที่หน่วยอายุรศาสตร์มะเร็งวิทยา โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ตั้งแต่เดือน พฤษภาคม 2556 - มกราคม 2557 จำนวน 60 ราย แบ่งเป็นผู้ป่วยมะเร็งรังไข่กระจายไปที่กระดูก 24 ราย, ไม่มีมะเร็งรังไข่กระจายไปที่กระดูก 26 ราย และผลการตรวจไม่สามารถสรุปได้ว่ามีมะเร็งกระจายไปกระดูกหรือไม่จำนวน 10 ราย (ดังตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 Baseline patients Characteristic

	Bone metastasis (N = 24)	No bone metastasis (N = 26)	Inconclusive (N = 10)	
Age (min-max)	61.63±14.42 (33-89)	63.65±12.23 (37-84)	65.30±9.96 (52-77)	<i>P = 0.721</i>
Sex				<i>P = 0.487</i>
Female	8 (33.3%)	13 (50%)	4 (40%)	
Male	16 (66.7%)	13 (50%)	6 (60%)	
Smoking status				<i>P = 0.552</i>
Never smoking	9 (37.5%)	16 (61.5%)	5 (50%)	
Former smoking	9 (37.5%)	6 (23.1%)	2 (20%)	
Current smoking	5 (20.8%)	4 (15.4%)	3 (30%)	
No data	1 (4.2%)	-	-	
Smoking (pack/yr) (min-max)	1.09 (0-5)	0.58 (0-2)	1.0 (0-5)	<i>P = 0.270</i>

	Bone metastasis (N = 24)	No bone metastasis (N = 26)	Inconclusive (N = 10)	
Duration smoking (yr) (min-max)	16.17 (0-60)	11.57 (0-60)	13.8 (0-45)	$P = 0.668$
ECOG				$P = 0.393$
0-1	18 (75%)	21 (87.5%)	7 (70%)	
2	2 (8.3%)	2 (8.3%)	2 (20%)	
3-4	4 (16.7%)	1 (4.2%)	1 (10%)	

อายุเฉลี่ยผู้ป่วยมะเร็งปอดกระจายไปที่กระดูก 61.63 ปี, ไม่มีมะเร็งกระจายไปที่กระดูก 62.65 ปีและผลการตรวจไม่สามารถสรุปได้ว่ามีมะเร็งกระจายไปที่กระดูก 65.30 ปี, เป็นเพศชายมากกว่าเพศหญิง 58.9% และ 41.1%, ในกลุ่มมะเร็งปอดกระจายไปที่กระดูกพบผู้ป่วยที่ไม่เคยสูบบุหรี่, เคยสูบบุหรี่แต่หยุดแล้ว 37.5% เท่ากันและยังสูบบุหรี่อยู่ 20.8% กลุ่มไม่มีมะเร็งกระจายไปที่กระดูกผู้ป่วยที่ไม่เคยสูบบุหรี่ 61.5%, เคยสูบบุหรี่แต่หยุดแล้ว 23.1% ยังสูบบุหรี่อยู่ 15.4% ปริมาณการสูบบุหรี่ในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งปอดกระจายไปที่กระดูก และไม่มีมะเร็งกระจายไปที่กระดูก มีค่าเฉลี่ย 1.09 และ 0.58 แพคเกจต่อปี ตามลำดับ ระยะเวลาที่สูบบุหรี่โดยเฉลี่ย 13-16 ปี, ECOG 0-1, 2, 3 ในกลุ่มมะเร็งปอดกระจายไปที่กระดูกเท่ากับ 75%, 8.3%, 16.7% ส่วนในกลุ่มไม่มีมะเร็งกระจายไปที่กระดูกเท่ากับ 87.5%, 8.3%, 4.2% ตามลำดับ

ลักษณะโรค (ตารางที่ 5) พบว่าเป็นผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กกระเพาะที่สี่ 79.73%, ระยะที่สาม 20.26% ชนิดเซลล์มะเร็งในกลุ่มมะเร็งปอดกระจายไปที่กระดูกเป็นชนิด Adenocarcinoma 83.3%, Squamous cell carcinoma 8.3%, ชนิดอื่นๆ 8.3% กลุ่มมะเร็งปอดไม่กระจายไปที่กระดูกเป็นชนิด Adenocarcinoma 76.9%, Squamous cell carcinoma 19.2%, ชนิดอื่นๆ 3.8% EGFR พบว่าโดยส่วนใหญ่ไม่ได้ตรวจ EGFR 92%

จำนวนอวัยวะที่มะเร็งกระจายไป ในกลุ่มที่มะเร็งกระจายไปที่กระดูกพบว่า จำนวนอวัยวะที่มะเร็งกระจายไป 0-1, 2 และมากกว่าเท่ากับ 3 อวัยวะเท่ากับ 2.5%, 41.7% และ 33.3% ตามลำดับ กลุ่มมะเร็งไม่กระจายไปที่กระดูกเท่ากับ 73.1%, 26.9% และ 0% ตามลำดับ วิธีการตรวจหามะเร็งกระจายไปที่กระดูกในกลุ่มมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กกระจายไปที่กระดูกโดยใช้ Bone

scan 45.8%, MRI และ CT scan 25%, PET scan 4.2% ส่วนในกลุ่มไม่มีมะเร็งกระจายไปที่กระดูก ใช้ Bone scan ในการวินิจฉัย 88.5%, PET scan 11.5%

อาการในกลุ่มที่มีมะเร็งปอดกระจายไปกระดูกพบว่า ไม่มีอาการแสดง 45.8%, อาการปวด 37.5%, กระดูกหัก 4.2%, กระดูกหักทับเส้นประสาท 12.5% ตำแหน่งที่มีมะเร็งกระจายไปที่กระดูก Axial 50 %, Non axial 12.5 %, axial and non axial 37.5%

การรักษา (ดังตารางที่ 6) กลุ่มที่มีมะเร็งกระจายไปกระดูกได้รับการรักษาโดยได้รับยาเคมีบำบัด 79.2% , ฉายรังสี 20.8%, กลุ่มที่มีมะเร็งไม่กระจายไปที่กระดูกได้รับการรักษาโดยการผ่าตัด 11.5%, ฉายแสงและยาเคมีบำบัด 15.4%, เคมีบำบัด 61.5%, ฉายแสง, รักษาตามอาการและอื่นๆ เท่ากันคือ 3.8%, สูตรยาเคมีบำบัดที่ใช้ในกลุ่มมะเร็งกระจายไปกระดูกได้แก่ Platinum/Gemcitabine คิดเป็น 41.7%, Platinum/Paclitaxel 33.3%, Single agent Platinum 4.2%, Best supportive care 20.8% และในกลุ่มที่มีมะเร็งไม่กระจายไปกระดูกใช้สูตรยาเคมีบำบัด Platinum/Gemcitabine และ Platinum/Paclitaxel เท่ากันคือ 34.6%, Single agent Platinum 7.7%, targeted treatment และ Best supportive care 3.8% และไม่ได้รับยาเคมีบำบัด 15.4%

ตารางที่ 5 Baseline disease status

	Bone metastasis (N = 24)	No bone metastasis (N = 26)	Inconclusive (N = 10)	
Stage				<i>P = 0.01</i>
Stage 3	-	8 (30.8%)	3 (30%)	
Stage 4	24 (100%)	18 (69.2%)	7 (70%)	
Histology				<i>P = 0.149</i>
Adenocarcinoma	20 (83.3%)	20 (76.9%)	6 (60%)	
Squamous cell carcinoma	2 (8.3%)	5 (19.2%)	1 (10%)	
Other	2 (8.3%)	1 (3.8%)	3 (30%)	
EGFR		-		-
Wide type	3 (12.5%)	3 (11.5%)	23 (88.5%)	<i>8 (100%)</i>
Mutation	-			<i>P = 0.073</i>
No data	21 (87.5%)		-	
No. of organ metastasis				<i>P = 0.01</i>
0-1 organ metastasis	6 (25%)	19 (73.1%)	9 (90%)	
2 organ metastasis	10 (41.7%)	7 (26.9%)	1 (10%)	
≥ 3 organ metastasis	8 (33.3%)	-	-	
Dx/Screening bone				
Bone scan	11 (45.8%)	23 (88.5%)	10 (100%)	
MRI	6 (25%)	-	-	

CT Scan	6 (25%)	-	-	
PET scan	1 (4.2%)	3 (11.5%)	-	
Symptoms				
Asymptomatic	11 (45.8%)	-	-	
Pain	9 (37.5%)	-	-	
Fracture	1 (4.2%)	-	-	
Cord compression	3 (12.5%)	-	-	
Site of bone metastasis				
Axial	12 (50%)	-	-	
Non axial	3 (12.5%)	-	-	
Axial and non axial	9(37.5%)	-	-	
No bone metastasis	-	-	-	

ตารางที่ 6 Treatment

	Bone metastasis (N = 24)	No bone metastasis (N = 26)	Inconclusive (N = 10)
Treatment			
Surgery upfront	-	3 (11.5%)	1 (10%)
CCRT	-	4 (15.4%)	-
Palliative chemotherapy	19 (79.2%)	16 (61.5%)	6 (60%)
Palliative radiation	-	1 (3.8%)	2 (20%)
BSC	5 (20.8%)	1 (3.8%)	1 (10%)
Other	-	1 (3.8%)	-
Regimen Chemotherapy			
Platinum/Paclitaxel	8 (33.3%)	9 (34.6%)	1 (10%)
Platinum/Gemcitabine	10 (41.7%)	9 (34.6%)	4 (40%)
Single agent Platinum	1 (4.2%)	2 (7.7%)	1 (10%)
TKI	-	1 (3.8%)	-
BSC	5 (20.8%)	1 (3.8%)	1 (10%)
No Chemotherapy	-	4 (15.4%)	3 (30%)
Treatment bone metastasis			
No treatment	12 (50%)	-	-
Medication	1 (4.2%)	-	-
XRT+ Medication	7 (29.2%)	-	-
Sx + Medication	1 (4.2%)	-	-
Sx + Medication + XRT	2 (8.3%)	-	-
Medication + bisphosphonate + XRT	1 (4.2%)	-	-
Time to treatment			
Within 1 month	8 (33.3%)	15 (57.7%)	4 (40%)
1-2 month	8 (33.3%)	4 (15.4%)	5 (50%)
> 2-3 month	-	1 (3.8%)	1 (10%)
> 3 month	3 (12.5%)	4 (15.4%)	-
No treatment	5 (20.8%)	2 (7.7%)	-

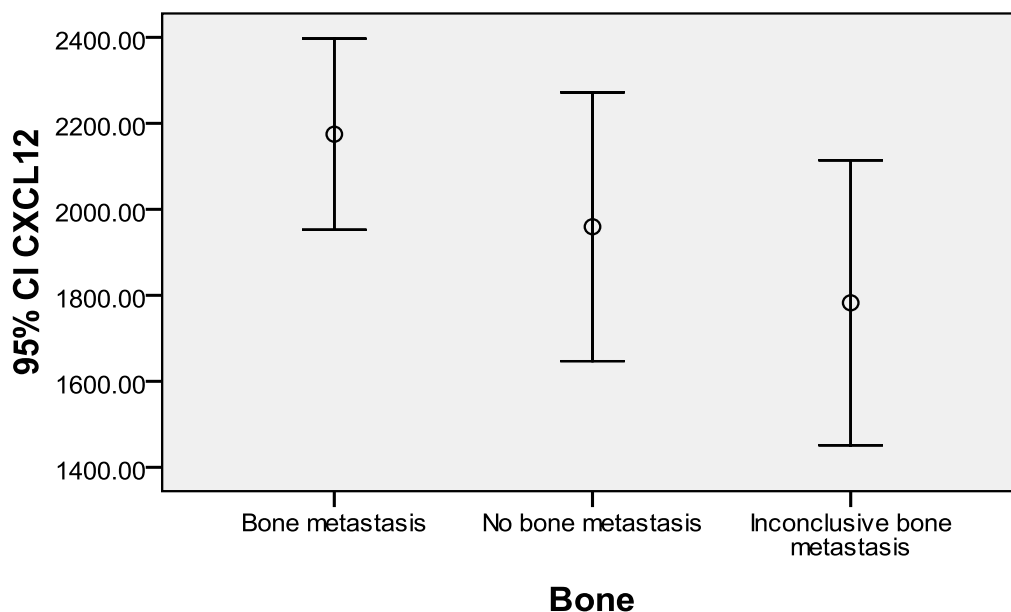
การรักษามะเร็งกระจายไปกระดูก ไม่ได้ได้รับการรักษาเพิ่มเติม 50%, ใช้ยาเพื่อระงับอาการปวด 4.2%, ฉายแสงร่วมกับการใช้ยาเพื่อระงับอาการปวด 29.2%, ผ่าตัดร่วมกับการใช้ยาเพื่อระงับอาการปวด 4.2%, ผ่าตัดร่วมกับการใช้ยาเพื่อระงับอาการปวดและฉายแสง 8.3%, ฉายแสงร่วมกับการใช้ยาเพื่อระงับอาการปวดและยากลุ่ม Bisphosphonate 4.2%

ระยะเวลาตั้งแต่วินิจฉัยจนได้รับการรักษาในกลุ่มมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กกระจายไปที่กระดูก ได้รับการรักษาภายใน 1 เดือนและ 1-2 เดือนเท่ากับคือ 33.3%, มากกว่า 3 เดือนเท่ากับ 12.5% , ไม่ได้ได้รับการรักษา 20.8% ในกลุ่มที่ไม่มีมะเร็งกระจายไปกระดูก ได้รับการรักษาภายใน 1 เดือนเท่ากับ 55.7%, 1-2 เดือน 15.4%, มากกว่า 3 เดือน 15.4%, ไม่ได้ได้รับการรักษา 7.7%

ผลการศึกษาค่า Plasma CXCL 12 พบว่า ค่าเฉลี่ยระดับ CXCL12 ในกลุ่มมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กที่มีมะเร็งกระจายมาที่กระดูกเท่ากับ 2174.79 ± 526.26 pg/ml กลุ่มที่ไม่มีมะเร็งกระจายมาที่กระดูกมีค่าเฉลี่ย Plasma CXCL12 เท่ากับ 1959.50 ± 773.77 pg/ml, $P=0.17$ และกลุ่มที่การตรวจผลการตรวจไม่สามารถสรุปได้ว่ามีมะเร็งกระจายไปกระดูกหรือไม่มีค่าเท่ากับ 1782.61 ± 463.24 pg/ml (ดังตารางที่ 7 และรูปที่ 6)

ตารางที่ 7 Plasma CXCL 12 Level and bone metastasis

	Bone metastasis (N = 24)	No bone metastasis (N = 26)	
CXCL 12 (pg/ml)	2174.79 ± 526.26	1959.50 ± 773.77	P = 0.17
Min-max	1034-3237.75	174-3168.25	



รูปที่ 6 Plasma CXCL 12 level and bone metastasis

เมื่อมาดูในกลุ่มที่มีมะเร็งกระจายมาที่กระดูกอย่างเดียวจำนวน 6 ราย มีค่าเฉลี่ย plasma CXCL12 เท่ากับ 2339.00 ± 287.43 pg/ml กับกลุ่มที่มีมะเร็งกระจายไปอวัยวะอื่นที่ไม่ใช่กระดูกจำนวน 26 ราย พบว่าค่าเฉลี่ย Plasma CXCL12 เท่ากับ 1856.59 ± 751.95 pg/ml, $P = 0.047$ กลุ่มที่มีมะเร็งกระจายไปกระดูกและอวัยวะอื่นๆจำนวน 18 ราย มีค่าเฉลี่ย Plasma CXCL12 เท่ากับ 2120.05 ± 581.13 $P = 0.241$ (ดังตารางที่ 8 และ 9 และรูปที่ 7)

ผู้ป่วย 6 รายที่มีมะเร็งกระจายมาที่กระดูกอวัยวะเดียว พบว่า 5 ใน 6 รายเป็นกลุ่มที่มีอาการจากมะเร็งกระจายมาที่กระดูก (symptomatic bone metastasis) และ 5 ใน 6 รายพบว่าเป็นกลุ่มที่มีมะเร็งกระจายมาที่กระดูกหลายตำแหน่ง (multiple bone metastasis)

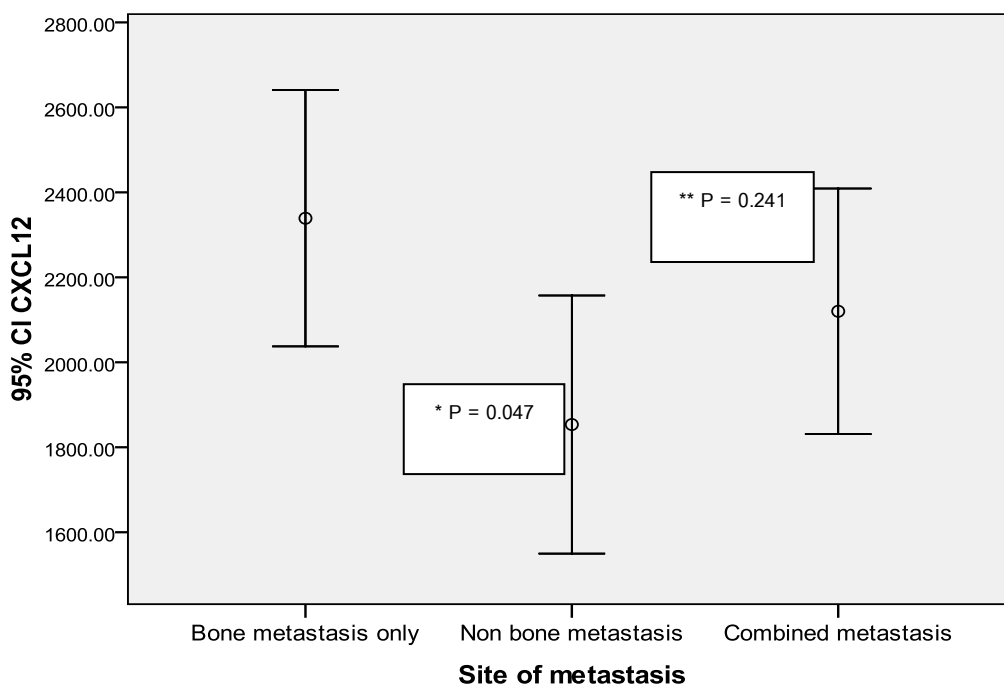
ตารางที่ 8 Plasma CXCL12 level and site of metastasis

	Bone metastasis only (N = 6)	Non bone metastasis (N = 26)	
CXCL 12 (pg/ml)	2339.00 ± 287.43	1856.59 ± 751.95	$P = 0.047$

ตารางที่ 9 Plasma CXCL12 level and site of metastasis

	Combined metastasis (18)	Non bone metastasis (N = 26)	
CXCL 12 (pg/ml)	2120.05 ± 581.13	1856.59 ± 751.95	P = 0.241

เมื่อมาแยกตามจำนวนอวัยวะที่มะเร็งกระจายไปพบว่า กลุ่มที่มะเร็งกระจายไป 0-1 อวัยวะ มีค่าเฉลี่ย plasma CXCL12 เท่ากับ 1938.60 ± 611.53 pg/ml มะเร็งกระจายไป 2 อวัยวะ มีค่าเฉลี่ย Plasma CXCL12 เท่ากับ 2096.39 ± 665.21 pg/ml มะเร็งกระจายตั้งแต่ 3 อวัยวะมีค่าเฉลี่ย Plasma CXCL12 เท่ากับ 2165.10 ± 769.30 pg/ml, P = 0.557 (ดังตารางที่ 10 และรูปที่ 8)



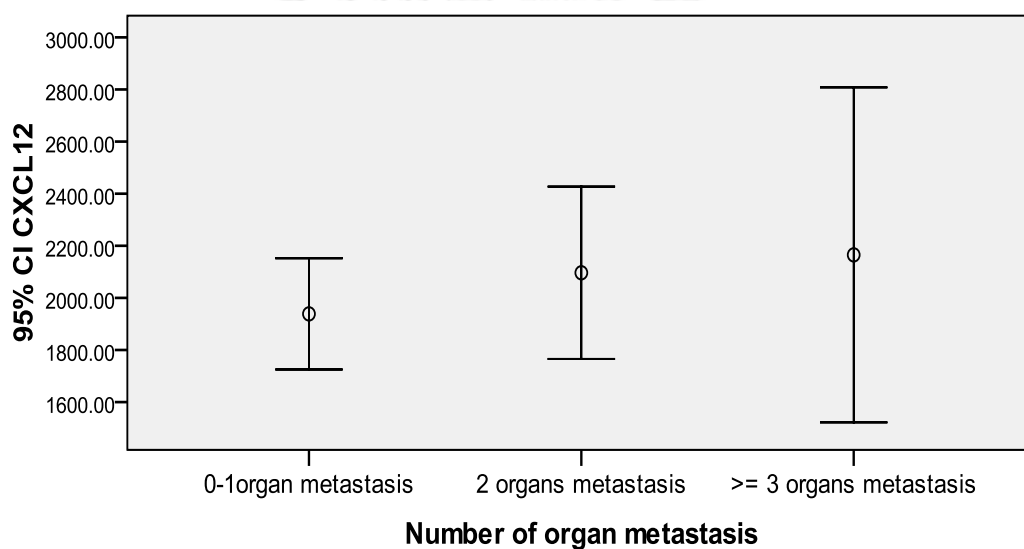
รูปที่ 7 Compare Plasma CXCL12 level and site of metastasis

*P value bone metastasis vs non bone metastasis

**P Value combined metastasis vs non bone metastasis

ตารางที่ 10 Plasma CXCL12 level and Number of organ metastasis

No of organ metastasis	0-1 (N =34)	2 (N = 18)	≥ 3 (N = 8)	
CXCL 12 (pg/ml)	1938.60±611.53	2096.39±665.21	2165.10±769.03	$P = 0.557$

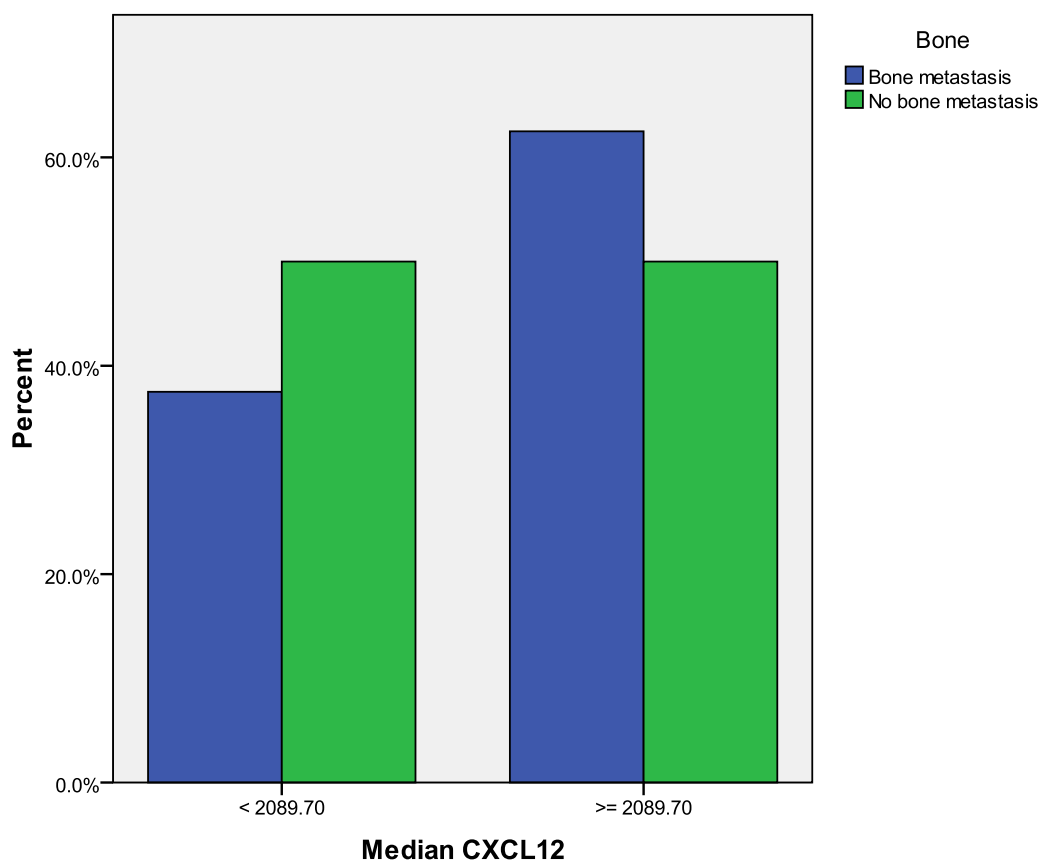


รูปที่ 8 Compare Plasma CXCL12 level and Number of organ metastasis

ค่า median plasma CXCL 12 ในการศึกษานี้มีค่าเท่ากับ 2089.70 pg/ml หากใช้ค่านี้เป็นค่า Cut point พบว่า มีผู้ป่วยที่มีค่า Plasma CXCL มากกว่าหรือเท่ากับ 2089.70 pg/ml มีมะเร็งกระจายไปที่กระดูก 62.5% ค่า Plasma CXCL12 น้อยกว่า 2089.70 pg/ml มีมะเร็งกระจายไปที่กระดูก 37.5% $P=0.374$ (ดังตารางที่ 11 และรูปที่ 9)

ตารางที่ 11 Cutpoint Plasma CXCL12 level and bone metastasis

Bone metastasis	Bone metastasis (N=24)	No bone Metastasis (N=26)	
Plasma CXCL12 (pg/ml)			<i>P = 0.374</i>
CXCL 12 < 2089.70	9 (37.5%)	13 (50%)	
CXCL 12 ≥ 2089.70	15 (62.5%)	13 (50%)	



รูปที่ 9 Cutpoint Plasma CXCL12 level and bone metastasis

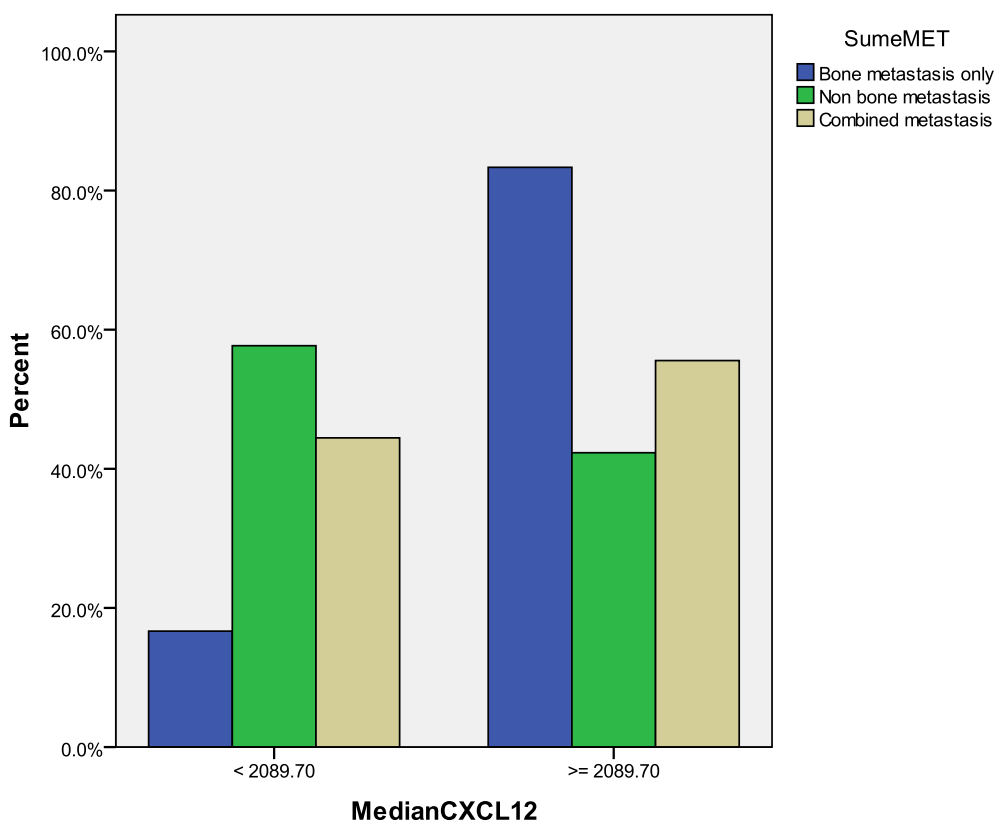
เมื่อแยกตามตำแหน่งของมะเร็งที่กระจายไปพบว่า ค่า Plasma CXCL12 ที่มากกว่าหรือเท่ากับ 2089.70 pg/ml มีมะเร็งกระจายไปที่กระดูกตำแหน่งเดียว 83.3% กระจายไปอวัยวะอื่นร่วมกับมีมะเร็งกระจายไปที่กระดูก 55.6%, ไม่มีมะเร็งกระจายมาที่กระดูก 42.3% ตามลำดับ ค่า Plasma CXCL12 ที่น้อยกว่า 2089.70 pg/ml ไม่มีมะเร็งกระจายไปที่กระดูก 57.7% มะเร็งกระจายไปที่กระดูกร่วมกับอวัยวะอื่น 44.4% กระจายไปที่กระดูกอย่างเดียว 16.7% (ดังตารางที่ 12 และ 13 และรูปที่ 10)

ตารางที่ 12 Cutpoint Plasma CXCL12 level and site of metastasis

Site of metastasis	Bone metastasis only (N=6)	Non bone Metastasis (N=26)	
Plasma CXCL12 (pg/ml)			<i>P = 0.07</i>
CXCL 12 < 2089.70	1 (16.7%)	15 (57.7%)	
CXCL 12 ≥ 2089.70	5 (83.3%)	11 (42.3%)	

ตารางที่ 13 Cutpoint Plasma CXCL12 level and site of metastasis

Site of metastasis	Combined metastasis (N=18)	Non bone Metastasis (N=26)	
Plasma CXCL12 (pg/ml)			<i>P = 0.387</i>
CXCL 12 < 2089.70	8 (44.4%)	15 (57.7%)	
CXCL 12 ≥ 2089.70	10 (55.6%)	11 (42.3%)	

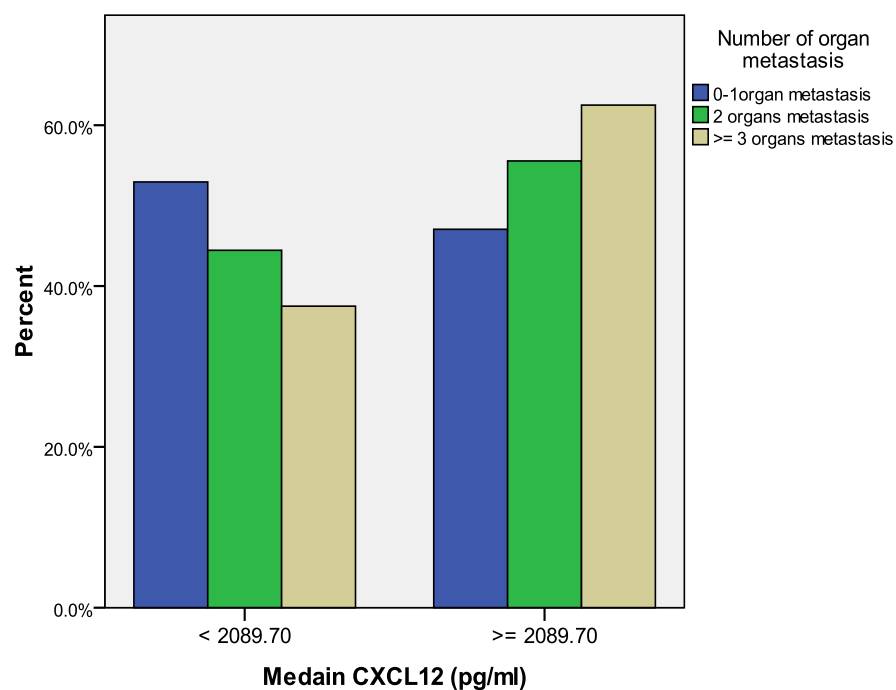


รูปที่ 10 Cutpoint Plasma CXCL12 level and site of metastasis

เมื่อแยกตามจำนวนอวัยวะที่มะเร็งกระจายไปพบว่า ค่า Plasma CXCL12 ที่มากกว่าหรือเท่ากับ 2089.70 pg/ml มีมะเร็งที่กระจายมากกว่าเท่ากับ 3 อวัยวะ 62.5%, มะเร็งกระจายไป 2 อวัยวะเท่ากับ 55.6%, 0-1 อวัยวะเท่ากับ 47.1% และค่า Plasma CXCL12 ที่น้อยกว่า 2089.70 pg/ml มีมะเร็งแพร่กระจายไป 0-1 อวัยวะเท่ากับ 52.9%, 2 อวัยวะ 44.4% และมากกว่าหรือเท่ากับ 3 อวัยวะเท่ากับ 37.5% (ดังตารางที่ 14 และรูปที่ 11)

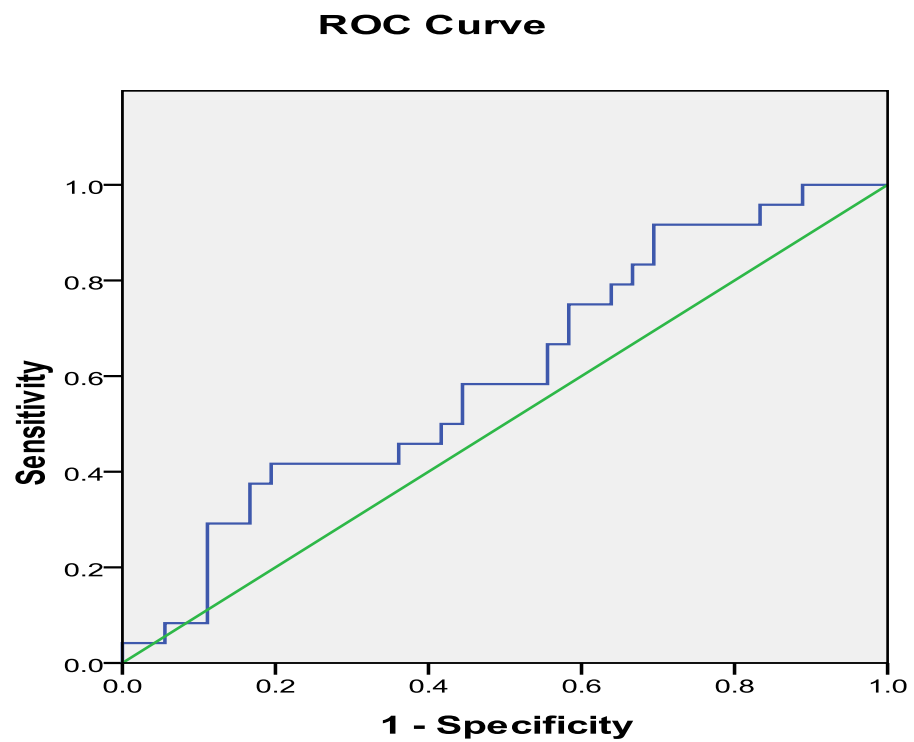
ตารางที่ 14 Cut point Plasma CXCL12 level and Number of organ metastasis

Number of organ metastasis	0-1 (N=34)	2 (N=18)	≥ 3 (N=8)	
Plasma CXCL12 (pg/ml)				<i>P = 0.679</i>
CXCL 12 < 2089.70	18 (52.9%)	8 (44.4%)	3 (37.5%)	
CXCL 12 \geq 2089.70	16 (47.1%)	10 (55.6%)	5 (62.5%)	



รูปที่ 11 Cut point Plasma CXCL12 level and Number of organ metastasis

เมื่อใช้ค่า Cutpoint ที่ 2089.70 pg/ml จาก ROC curve พบว่ามีค่าความไวในการวินิจฉัยมะเร็งกระจายมาที่กระดูกในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็ก (sensitivity) 58.3% และค่าความจำเพาะ (Specificity) 56% (รูปที่ 12)



รูปที่ 12 ROC Curve

บทที่ 5 อภิปรายผลการศึกษา

5.1 Discussion

การศึกษานี้เป็นการศึกษาเพื่อดูความสัมพันธ์ระดับ plasma CXCL12 ในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กกับการเกิดมะเร็งกระจายไปที่กระดูกซึ่งพบว่ากลุ่มที่มีมะเร็งกระจายไปที่กระดูกมีแนวโน้มที่มีค่า Plasma CXCL12 สูงกว่าในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กที่ไม่มีมะเร็งกระจายไปที่กระดูกแต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (2174.79 ± 526.26 vs 1959.50 ± 773.77 pg/ml, $P=0.17$) อาจเนื่องจาก 1. ในกลุ่มที่ไม่มีมะเร็งกระจายไปที่กระดูกจากการตรวจ อาจมีผลลบลงจากการตรวจ Bone scan ซึ่ง bone scan จะมี Specificity 75-90% มี false negative 21.9% หมายความว่าในกลุ่มที่ไม่มีมะเร็งกระจายมาที่กระดูกจริงๆแล้วอาจมีมะเร็งกระจายมาที่กระดูกแล้วแต่ยังไม่สามารถตรวจพบความผิดปกติจาก Bone scan ทำให้ค่า Plasma CXCL12 ในกลุ่มนี้สูงกว่าความเป็นจริงได้ 2. เซลล์มะเร็งปอดชนิดไม่เล็กอาจมีผลต่อกระดูกเองโดยที่ยังไม่มีมะเร็งกระจายมาที่กระดูกและกระตุ้นการสร้าง Plasma CXCL12 โดยตัวมันเอง

จากการศึกษาของ Kenichi พบว่า ในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กที่มีมะเร็งกระจายมาที่เยื่อหุ้มปอดและมีน้ำในช่องเยื่อหุ้มปอดพบว่ามีค่าเฉลี่ย CXCL12 ในน้ำเยื่อหุ้มปอด 2040.1 ± 1041.5 pg/ml⁽¹⁴⁾ มีค่าใกล้เคียงกับค่าเฉลี่ย Plasma CXCL12 ในการศึกษาที่ต่างจากการศึกษาของ Chih-ching พบว่าค่า Plasma CXCL12 ในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กมีค่า Plasma CXCL12 สูงถึง 4010 ± 1570 pg/ml ในกลุ่มควบคุมที่ไม่มีโรคพบว่ามีค่าเฉลี่ย Plasma CXCL12 เท่ากับ 3100 ± 560 pg/ml⁽¹³⁾ ซึ่งยังสูงกว่าค่าเฉลี่ย Plasma CXCL12 ในศึกษานี้และสูงกว่า Pleural CXCL12 ในการศึกษาที่กล่าวมาแล้ว ซึ่งอาจมีปัจจัยอื่นๆ ที่มีผลต่อค่า plasma CXCL12 เช่น

1. การเก็บเลือดที่ไว้นานเกินไปอาจมีผลต่อการย่อยสลายของโปรตีนทำให้มีการแปลผลผิดพลาดไป
2. มีการกำจัด CXCL12 ออกไปจากร่างกายด้วยขบวนการต่างๆ
3. มีแอนติบอดีต่อ CXCL12
4. เชื้อชาติที่แตกต่างกันอาจมีผลต่อการแสดงออกของ Gene ที่ทำหน้าที่ในการสร้าง CXCL12 ที่แตกต่างกันออกไป

จากการศึกษาของ Shirley ศึกษาในระดับ Chemokine ในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมพบว่าระดับ Plasma CXCL12 ในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมมีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (2141 ± 58 pg/ml, 2448 ± 49 pg/ml, $P < 0.005$)⁽¹¹⁾ จากการศึกษาของ Kenichi, Shirley และศึกษานี้ มีผลการศึกษาค้นคว้าคือมีค่า Plasma CXCL12 สูงในผู้ป่วยที่เป็นโรค

เมื่อแยกผู้ป่วยตามตำแหน่งอวัยวะที่มะเร็งกระจายไปพบว่า กลุ่มที่มะเร็งกระจายไปที่กระดูก อวัยวะเดียวมีค่า Plasma CXCL12 เท่ากับ 2339.00 ± 287.43 pg/ml โดยมีค่าสูงกว่ากลุ่มที่ไม่มีมะเร็งแพร่กระจายไปที่กระดูกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P=0.047$) นอกจากนี้ยังพบว่ากลุ่มที่มีมะเร็งกระจายไปที่กระดูกและอวัยวะอื่นร่วมด้วยยังมีค่า Plasma CXCL12 สูงกว่ากลุ่มที่ไม่มีมะเร็งกระจายมาที่กระดูก ซึ่งสามารถบ่งชี้ว่าค่า Plasma CXCL12 มีความสัมพันธ์กับการกระจายของมะเร็งมาที่กระดูกในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็ก

กลุ่มที่มะเร็งกระจายไปยังอวัยวะต่างๆมากกว่า 1 อวัยวะ มีแนวโน้มมีค่า Plasma CXCL12 สูงกว่ากลุ่มที่มะเร็งกระจาย 0-1 อวัยวะ แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติซึ่งอาจจะอนุมานได้ว่า ระดับ Plasma CXCL12 มีความสัมพันธ์กับการมีมะเร็งกระจายไปที่กระดูกและจำนวนอวัยวะที่มะเร็งมีการแพร่กระจายไป

เมื่อใช้ค่า Median เป็นค่า cut point แยกเป็นกลุ่มที่มีระดับ Plasma CXCL12 สูงคือมากกว่าหรือเท่ากับ 2089.70 pg/ml และค่า Plasma CXCL12 ต่ำ คือน้อยกว่า 2089.70 pg/ml พบว่า กลุ่มที่มะเร็งกระจายไปที่กระดูกอยู่ในกลุ่มที่มีค่า Plasma CXCL12 สูงเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่มีมะเร็งกระจายไปที่กระดูกแต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P= 0.07$) ในกลุ่มที่มีมะเร็งกระจายไปที่กระดูก อวัยวะเดียวพบว่าผู้ป่วย 5 ใน 6 ราย มีอาการจากมะเร็งกระจายมาที่กระดูก (symptomatic bone metastasis) ซึ่งจากกลุ่มที่มีอาการจากมะเร็งกระจายมาที่กระดูกมีทั้งหมด 13 ราย และมีโรคที่กระดูกหลายตำแหน่ง (multiple bone metastasis) และยังพบว่าระดับ Plasma CXCL12 ที่สูงมีความสัมพันธ์กับจำนวนอวัยวะที่มะเร็งกระจายไปหลายอวัยวะแต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ อาจเนื่องจากกลุ่มประชากรตัวอย่างน้อยเกินไป การศึกษานี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Shirley พบว่าในกลุ่มผู้ป่วยที่มี Plasma CXCL12 ที่สูงสัมพันธ์กับ High histology grade tumor ($P<0.005$) และสัมพันธ์กับ Poorer prognosis Subtype คือ Basal subtype, HER2 subtype อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)⁽¹¹⁾ แตกต่างจากการศึกษาของ Hassan et al. พบว่าค่าพลาสมา CXCL12 ต่ำ (<2661 pg/ml) เป็นปัจจัยที่บ่งบอกการแพร่กระจายมะเร็งในผู้ป่วยมะเร็งเต้านม (Relative risk 1.94; 95% CI 1.11-3.37; $P=0.02$) มีค่า Sensitivity 66% และ Specificity 53.4% ระดับพลาสมา CXCL12 ที่น้อยกว่า 2661 pg/ml เป็น Independent prognostic marker อัตราการรอดชีวิตที่น้อยกว่าผู้ป่วยที่ระดับพลาสมา CXCL12 สูง⁽⁵²⁾ ผลการศึกษาแตกต่างจากการศึกษานี้ อาจ

เนื่องจากมะเร็งที่ต่างชนิดกัน, เซลล์ที่ต่างกันอาจมีผลให้ระดับ Plasma CXCL 12 มีค่าแตกต่างกัน

การศึกษานี้พบว่าระดับ Plasma CXCL12 มีค่าสูงในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กที่มีมะเร็งกระจายไปที่กระดูกอย่างเดียวย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และมีแนวโน้มสูงในกลุ่มที่มะเร็งไปที่กระดูกร่วมกับอวัยวะอื่น จำนวนอวัยวะที่มะเร็งแพร่กระจายไปหลายอวัยวะแต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ เนื่องจากอาจเนื่องจากขนาดตัวอย่างน้อยเกินไป หรืออาจมีปัจจัยอื่นที่มีผลต่อระดับ Plasma CXCL12 ดังได้กล่าวมาแล้ว, ระดับ Plasma CXCL12 ไม่สัมพันธ์กับระดับ CXCL 12 ในเนื้อเยื่อ หรือเซลล์มะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กอาจมีผลต่อกระดูกเองโดยที่ยังไม่มีมะเร็งกระจายมาที่กระดูกและกระตุ้นการสร้าง Plasma CXCL12 โดยตัวมันเอง การนำค่า พลาสมา CXCL 12 เพื่อใช้ในการวินิจฉัยมะเร็งกระจายไปที่กระดูกในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กยังมีข้อจำกัด ต้องการการศึกษาเพิ่มเติม แต่ CXCL12 อาจเป็นโปรตีนที่มีบทบาทต่อกระบวนการกระจาย (Metastasis) ของมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็ก

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. เก็บข้อมูลตัวอย่างเพิ่มเติมและแยกระดับของมะเร็งกระจายไปที่กระดูกว่ามากหรือน้อย
2. อาจมีการขยายเป้าหมายการศึกษาเพื่อวัดการตอบสนองต่อการรักษาหรือการรอดชีวิต โดยอาจเก็บ Bone resorption marker อื่นๆร่วมด้วยเช่น urine NTX
3. การตรวจ CXCL12 ในเลือดอาจมีปัจจัยอื่นๆรบกวนมากกว่าการตรวจในเนื้อเยื่อที่มีมะเร็งกระจายไปแล้ว การตรวจค่า CXCL12 ในเนื้อเยื่ออาจได้ผลที่ชัดเจนกว่า
4. การเก็บเลือดนานเกินไปก่อนการตรวจค่า CXCL12 อาจมีผลต่อการสลายของโปรตีน

รายการอ้างอิง

1. Tsuya A, Kurata T, Tamura K, Fukuoka M. Skeletal metastases in non-small cell lung cancer: a retrospective study. *Lung Cancer* 2007;57:229-32.
2. Bury T, Barreto A, Daenen F, Barthelemy N, Ghaye B, Rigo P. Fluorine-18 deoxyglucose positron emission tomography for the detection of bone metastases in patients with non-small cell lung cancer. *Eur J Nucl Med* 1998;25:1244-7.
3. Schirrmester H, Glatting G, Hetzel J, Nussle K, Arslanemir C, Buck AK, et al. Prospective evaluation of the clinical value of planar bone scans, SPECT, and (18)F-labeled NaF PET in newly diagnosed lung cancer. *J Nucl Med* 2001;42:1800-4.
4. Cheran SK, Herndon JE, 2nd, Patz EF, Jr. Comparison of whole-body FDG-PET to bone scan for detection of bone metastases in patients with a new diagnosis of lung cancer. *Lung Cancer* 2004;44:317-25.
5. Song JW, Oh YM, Shim TS, Kim WS, Ryu JS, Choi CM. Efficacy comparison between (18)F-FDG PET/CT and bone scintigraphy in detecting bony metastases of non-small-cell lung cancer. *Lung Cancer* 2009;65:333-8.
6. Taichman RS, Cooper C, Keller ET, Pienta KJ, Taichman NS, McCauley LK. Use of the stromal cell-derived factor-1/CXCR4 pathway in prostate cancer metastasis to bone. *Cancer Res* 2002;62:1832-7.
7. Sun YX, Wang J, Shelburne CE, Lopatin DE, Chinnaiyan AM, Rubin MA, et al. Expression of CXCR4 and CXCL12 (SDF-1) in human prostate cancers (PCa) in vivo. *J Cell Biochem* 2003;89:462-73.
8. Sun YX, Schneider A, Jung Y, Wang J, Dai J, Wang J, et al. Skeletal localization and neutralization of the SDF-1(CXCL12)/CXCR4 axis blocks prostate cancer metastasis and growth in osseous sites in vivo. *J Bone Miner Res* 2005;20:318-29.
9. Yasumoto K, Koizumi K, Kawashima A, Saitoh Y, Arita Y, Shinohara K, et al. Role of the CXCL12/CXCR4 axis in peritoneal carcinomatosis of gastric cancer. *Cancer Res* 2006;66:2181-7.
10. Dimberg J, Hugander A, Lofgren S, Wagsater D. Polymorphism and circulating levels of the chemokine CXCL12 in colorectal cancer patients. *Int J Mol Med* 2007;19:11-5.
11. Potter SM, Dwyer RM, Curran CE, Hennessy E, Harrington KA, Griffin DG, et al. Systemic chemokine levels in breast cancer patients and their relationship with circulating menstrual hormones. *Breast Cancer Res Treat* 2009;115:279-87.
12. Phillips RJ, Burdick MD, Lutz M, Belperio JA, Keane MP, Strieter RM. The stromal derived factor-1/CXCL12-CXC chemokine receptor 4 biological axis in non-small cell lung cancer metastases. *Am J Respir Crit Care Med* 2003;167:1676-86.

13. Wu CC, Hsu CW, Chen CD, Yu CJ, Chang KP, Tai DI, et al. Candidate serological biomarkers for cancer identified from the secretomes of 23 cancer cell lines and the human protein atlas. *Mol Cell Proteomics* 2010;9:1100-17.
14. Oonakahara K, Matsuyama W, Higashimoto I, Kawabata M, Arimura K, Osame M. Stromal-derived factor-1alpha/CXCL12-CXCR 4 axis is involved in the dissemination of NSCLC cells into pleural space. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2004;30:671-7.
15. Johnston AD. Pathology of metastatic tumors in bone. *Clin Orthop Relat Res* 1970;73:8-32.
16. Sriplung H, Wiangnon S, Sontipong S, Sumitsawan Y, Martin N. Cancer incidence trends in Thailand, 1989-2000. *Asian Pac J Cancer Prev* 2006;7:239-44.
17. Pirozynski M. 100 years of lung cancer. *Respir Med* 2006;100:2073-84.
18. Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin* 2012;62:10-29.
19. Tofe AJ, Francis MD, Harvey WJ. Correlation of neoplasms with incidence and localization of skeletal metastases: An analysis of 1,355 diphosphonate bone scans. *J Nucl Med* 1975;16:986-9.
20. Ursavas A KM, Uzaslan E, Rodoplu E, Demirdögen E, Burgazlioglu B, Gozu RO. Can clinical factors be determinants of bone metastases in non-small cell lung cancer? *Ann Thorac Med* 2007;2:9-13.
21. Sullivan FJ. Palliative radiotherapy for lung cancer. In: Pass HI, Mitchell JB, Johnson DH, Turrisi AT, editors. *Lung cancer*. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1996. p. 775-89.
22. Sugiura H, Yamada K, Sugiura T, Hida T, Mitsudomi T. Predictors of survival in patients with bone metastasis of lung cancer. *Clin Orthop Relat Res* 2008;466:729-36.
23. Mantovani A, Savino B, Locati M, Zammataro L, Allavena P, Bonecchi R. The chemokine system in cancer biology and therapy. *Cytokine Growth Factor Rev* 2010;21:27-39.
24. Yin JJ, Pollock CB, Kelly K. Mechanisms of cancer metastasis to the bone. *Cell Res* 2005;15:57-62.
25. Wang J, Loberg R, Taichman RS. The pivotal role of CXCL12 (SDF-1)/CXCR4 axis in bone metastasis. *Cancer Metastasis Rev* 2006;25:573-87.
26. Kryczek I, Wei S, Keller E, Liu R, Zou W. Stroma-derived factor (SDF-1/CXCL12) and human tumor pathogenesis. *Am J Physiol Cell Physiol* 2007;292:C987-95.
27. Hoffman PC, Mauer AM, Vokes EE. Lung cancer. *Lancet* 2000;355:479-85.

28. Herbst RS, Heymach JV, Lippman SM. Lung cancer. *N Engl J Med* 2008;359:1367-80.
29. Molina JR, Yang P, Cassivi SD, Schild SE, Adjei AA. Non-small cell lung cancer: epidemiology, risk factors, treatment, and survivorship. *Mayo Clin Proc* 2008;83:584-94.
30. American Joint Committee on Cancer. Lung. In: Edge SB, Ryrd DR, Compton CC, Fritz AG, Greene FL, Trotti A 3rd, editors. *AJCC cancer staging manual*. 7th ed. New York: Springer; 2010. p. 253-66.
31. Nguyen DX, Bos PD, Massague J. Metastasis: from dissemination to organ-specific colonization. *Nat Rev Cancer* 2009;9:274-84.
32. Sun JM, Ahn JS, Lee S, Kim JA, Lee J, Park YH, et al. Predictors of skeletal-related events in non-small cell lung cancer patients with bone metastases. *Lung Cancer* 2011;71:89-93.
33. Pfister DG, Johnson DH, Azzoli CG, Sause W, Smith TJ, Baker S, Jr., et al. American Society of Clinical Oncology treatment of unresectable non-small-cell lung cancer guideline: update 2003. *J Clin Oncol* 2004;22:330-53.
34. Silvestri GA, Gould MK, Margolis ML, Tanoue LT, McCrory D, Toloza E, et al. Noninvasive staging of non-small cell lung cancer: ACCP evidenced-based clinical practice guidelines (2nd edition). *Chest* 2007;132:178S-201S.
35. Paget S. The distribution of secondary growths in cancer of the breast. 1889. *Cancer Metastasis Rev* 1989;8:98-101.
36. Roodman GD. Mechanisms of bone metastasis. *N Engl J Med* 2004;350:1655-64.
37. Guise TA. Molecular mechanisms of osteolytic bone metastases. *Cancer* 2000;88:2892-8.
38. Hauschka PV, Mavrakos AE, Iafrafi MD, Doleman SE, Klagsbrun M. Growth factors in bone matrix. Isolation of multiple types by affinity chromatography on heparin-Sepharose. *J Biol Chem* 1986;261:12665-74.
39. Yin JJ, Selander K, Chirgwin JM, Dallas M, Grubbs BG, Wieser R, et al. TGF-beta signaling blockade inhibits PTHrP secretion by breast cancer cells and bone metastases development. *J Clin Invest* 1999;103:197-206.
40. Kang Y, Siegel PM, Shu W, Drobniak M, Kakonen SM, Cordon-Cardo C, et al. A multigenic program mediating breast cancer metastasis to bone. *Cancer Cell* 2003;3:537-49.

41. Grunewald M, Avraham I, Dor Y, Bachar-Lustig E, Itin A, Jung S, et al. VEGF-induced adult neovascularization: recruitment, retention, and role of accessory cells. *Cell* 2006;124:175-89.
 42. Petit I, Szyper-Kravitz M, Nagler A, Lahav M, Peled A, Habler L, et al. G-CSF induces stem cell mobilization by decreasing bone marrow SDF-1 and up-regulating CXCR4. *Nat Immunol* 2002;3:687-94.
 43. Ponomaryov T, Peled A, Petit I, Taichman RS, Habler L, Sandbank J, et al. Induction of the chemokine stromal-derived factor-1 following DNA damage improves human stem cell function. *J Clin Invest* 2000;106:1331-9.
 44. Zou YR, Kottmann AH, Kuroda M, Taniuchi I, Littman DR. Function of the chemokine receptor CXCR4 in haematopoiesis and in cerebellar development. *Nature* 1998;393:595-9.
 45. Sun X, Cheng G, Hao M, Zheng J, Zhou X, Zhang J, et al. CXCL12 / CXCR4 / CXCR7 chemokine axis and cancer progression. *Cancer Metastasis Rev* 2010;29:709-22.
 46. Balkwill F, Mantovani A. Inflammation and cancer: back to Virchow? *Lancet* 2001;357:539-45.
 47. Coussens LM, Werb Z. Inflammation and cancer. *Nature* 2002;420:860-7.
 48. Comerford I, McColl SR. Mini-review series: focus on chemokines. *Immunol Cell Biol* 2011;89:183-4.
 49. Balkwill F. Cancer and the chemokine network. *Nat Rev Cancer* 2004;4:540-50.
 50. Muller A, Homey B, Soto H, Ge N, Catron D, Buchanan ME, et al. Involvement of chemokine receptors in breast cancer metastasis. *Nature* 2001;410:50-6.
 51. Scotton CJ, Wilson JL, Milliken D, Stamp G, Balkwill FR. Epithelial cancer cell migration: a role for chemokine receptors? *Cancer Res* 2001;61:4961-5.
 52. Hassan S, Baccarelli A, Salvucci O, Basik M. Plasma stromal cell-derived factor-1: host derived marker predictive of distant metastasis in breast cancer. *Clin Cancer Res* 2008;14:446-54.
- derived marker predictive of distant metastasis in breast cancer. *Clin Cancer Res* 2008;14:446-54.



ภาคผนวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

แบบบันทึกข้อมูลงานวิจัย

การศึกษาความสัมพันธ์ระดับพลาสมา CXCL12 กับการเกิดมะเร็งแพร่กระจายไปกระดูก

ในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

ASSOCIATION OF PLASMA CXCL12 LEVEL AND BONE METASTASIS IN NON SMALL CELL LUNG CANCER PATIENTS IN KING CHULALONGKORN MEMORIAL HOSPITAL

Demographic Data

1. Number Age y/o
2. Gender male female
3. Smoking Status
 - Never (If never skip to 4) Former smoker Current smoker
 - Duration of smoking _____ year No data
 - Duration of the last smoking _____ year No data
 - Average Cigarettes smoked per day _____ No data
4. ECOG
 - 0 1 2 3 4

Data Disease

5. Date Diagnosis (D/M/Y) : _____ / _____ / _____
6. Stage
 - I II III IV
 - T..... N..... M.....
7. Histology (from)
 - Squamous cell carcinoma Adenocarcinoma
 - Large cell carcinoma Other.....

8. Grade histology
 Well differentiate Moderate differentiate Poorly differentiate
9. EGFR status
 Mutation If mutation
 Exon 19 Exon 21 Exon 19 and 21 other _____
 Wide type No data
10. Organ metastasis
 No metastasis (if no metastasis skip to 14)
 Bone Adrenal gland Liver Brain Lung
 Pleura Lymph node Other
- If bone metastasis Go to 11, If no Bone metastasis Go to 13
11. Site of Bone metastasis
 Axial Non axial
12. Symptoms of bone metastasis
 Asymptomatic Bone pain Fracture Cord compression
13. Diagnosis Bone metastasis
 Bone scan MRI CT scan Pain film
 PET scan other _____
14. Ca level (Correct Albumin)
 10.5-12 mg/dl 12.1-14 mg/ more than 14 No data
15. Plasma CXCL12 level _____ pg/ml

Data treatment

16. First Date of treatment (D/M/Y) : ____/____/____

17. Duration from Diagnosis to start treatment

with in 1 month 1-2 months 2-3 months more than 3 months

18. Treatment Primary Lung cancer

Surgery upfront yes No

Adjuvant Chemotherapy yes No

Regimen Cis/Eto Cis/Vin Cb/Pac Other ____

CCRT yes No

Regimen Cis/Eto Cis/Vin Cb/Pac Other ____

Palliative radiation yes No

Palliative CMT yes No

other _____

19. First line treatment in palliative CMT

Chemotherapy

Regimen Platinum/Paclitaxel Platinum/Gemcitabine

Platinum/Premetaxate Platinum/Docetaxel

Single Platinum Premetraxate

Docetaxel Other

TKI If TKI Elotinib Gefitinib

20. Second line treatment

Palliative Chemotherapy

Regimen Platinum/Paclitaxel Platinum/Gemcitabine

Platinum/Premetaxate Platinum/Docetaxel

Single Platinum Premetaxate

Docetaxel Other

TKI If TKI Elotinib Gefitinib

21. Only for bone metastasis , Specific treatment for bone metastasis

No treatment Medication for control pain

Bisphosphonate Palliative radiation

Surgery Other _____

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

ชื่อ แพทย์หญิง สุนีย์ ณีชนะนันท์

วัน เดือน ปี เกิด 20 มิถุนายน 2524

ประวัติการศึกษา

แพทยศาสตรบัณฑิต เกียรตินิยมอันดับ 2 มหาวิทยาลัยมหิดล ปี 2548

วุฒิปัตรอายุรศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปี 2554

กำลังศึกษา สาขาอายุรศาสตร์มะเร็งวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติการทำงานและผลงาน

แพทย์เพิ่มพูนทักษะ โรงพยาบาล สวรรค์ประชารักษ์ จ. นครสวรรค์ ปี 2548 -2459

แพทย์เวชปฏิบัติ โรงพยาบาลลาดยาว จ. นครสวรรค์ ปี 2549-2551

อายุรแพทย์โรงพยาบาลสวรรค์ประชารักษ์ จ. นครสวรรค์ ปี 2554-2555

Research เรื่อง “Association of Plasma CXCL12 And Bone Metastasis In Advance Stage Non Small Cell Lung Cancer”

- Poster presentation งานประชุม Asian oncology society AOS 2014
- อยู่ระหว่างดำเนินการส่งมะเร็งวิทยาสมาคม Thai Society Clinical Oncology (TSCO)