

ความสำคัญของความผิดปกติของยีนพี 16 ที่เกิดจากเมทิลเลชันในการเป็นปัจจัยพยากรณ์โรค
และปัจจัยทำนายการตอบสนองต่อการรักษาในผู้ป่วยมะเร็งโพรงหลังจมูก

นาย สมชัย ติมปการณ



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาลัทธิปริญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาอายุรศาสตร์ ภาควิชาอายุรศาสตร์

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2543

ISBN 974-13-0749-7

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

THE SIGNIFICANCE OF *p16* METHYLATION AS PROGNOSTIC FACTOR AND PREDICTIVE
FACTOR OF RESPONSE IN PATIENTS WITH NASOPHARYNGEAL CARCINOMA

Mr. Somchai Limpakarn

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

Department of Medicine

Faculty of Medicine

Chulalongkorn University

Academic Year 2000


ISBN 974-13-0749-7


หัวข้อวิทยานิพนธ์ ความสำคัญของความผิดปกติของยีนพี 16 ที่เกิดจากเมทิลเลชั่นในการ
เป็นปัจจัยพยากรณ์โรคและปัจจัยทำนายการตอบสนองต่อการรักษาใน
ผู้ป่วยมะเร็งโพรงหลังจมูก
โดย นาย สมชัย ลิ้มปการณ์
สาขาวิชา อายุรศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ นรินทร์ วรวุฒิ
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม รองศาสตราจารย์นายแพทย์ อภิวัฒน์ มุทิตรางกูร

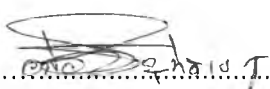
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่ง
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

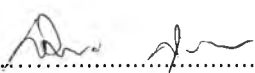

..... คณบดีคณะแพทยศาสตร์
(ศาสตราจารย์ นายแพทย์ ภิรมย์ กมลรัตนกุล)


คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์


..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ ธาณินทร์ อิศรกำรชัย)


..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ นรินทร์ วรวุฒิ)


..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(รองศาสตราจารย์นายแพทย์ อภิวัฒน์ มุทิตรางกูร)


..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ สมพงษ์ สุวรรณวลัยกร)


..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ แพทย์หญิงนงพรรณ จารุรักษ์)

สมชัย ลิ้มปการณ์: ความสำคัญของความผิดปกติของยีน p16 ที่เกิดจากเมทิลเลชันในการเป็นปัจจัยพยากรณ์โรค และปัจจัยทำนายการตอบสนองต่อการรักษาในผู้ป่วยมะเร็งโพรงหลังจมูก (THE SIGNIFICANCE OF p16 METHYLATION AS PROGNOSTIC FACTOR AND PREDICTIVE FACTOR OF RESPONSE IN PATIENTS WITH NASOPHARYNGEAL CARCINOMA) อ. ที่ปรึกษา : รศ. นพ. นรินทร์ วารวดี, อ. ที่ปรึกษาร่วม : รศ. นพ. อภิวัฒน์ มุทิรางกูร ; 98 หน้า. ISBN 974-13-0749-7.

วัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาเปรียบเทียบระยะเวลาการมีชีวิตรอด อัตราการกลับเป็นซ้ำ และอัตราการตอบสนองต่อการรักษา ในผู้ป่วยมะเร็งโพรงหลังจมูกสองกลุ่ม ที่มีและไม่มี ความผิดปกติของยีน p16 ที่เกิดจากเมทิลเลชัน

วิธีการดำเนินการศึกษาวิจัย ผู้ป่วยโรคมะเร็งโพรงหลังจมูกที่ได้รับการวินิจฉัยด้วยการตรวจชิ้นเนื้อทางพยาธิวิทยา นำมาตรวจหาความผิดปกติของยีน p16 ชนิดเมทิลเลชันในเซลล์มะเร็งด้วยวิธีMS-PCR โดยผู้ป่วยถูกแบ่งออกเป็นสองกลุ่ม คือผู้ป่วยที่ตรวจพบและไม่พบความผิดปกติของยีน p16 ที่เกิดจากเมทิลเลชัน และเปรียบเทียบความแตกต่างกันของระยะเวลาการมีชีวิตรอด อัตราการกลับเป็นซ้ำ และอัตราการตอบสนองต่อการรักษาของผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มด้วยวิธีทางสถิติ รวมทั้งดูปัจจัยพยากรณ์โรคทางคลินิกอื่นๆจากการวิเคราะห์ตัวแปรตัวเดียวและหลายตัว

ผลการศึกษา ไม่มีความแตกต่างกันของระยะเวลาการมีชีวิตรอดโดยรวม อัตราการตอบสนอง และอัตราการกลับเป็นซ้ำของผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยค่ามัธยฐานของระยะเวลาการมีชีวิตรอดโดยรวมเท่ากับ 31.35 และ 28.40 เดือนในกลุ่มที่ไม่มีและมีความผิดปกติของยีน p16 ตามลำดับ (ค่า $p=0.054$) อัตราการตอบสนองต่อการรักษาเท่ากับร้อยละ 100 และร้อยละ 82.8 ตามลำดับ (ค่า $p=0.053$) และไม่มีความแตกต่างกันของอัตราการกลับเป็นซ้ำของผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ(ค่า $p=0.071$) คือ ร้อยละ 16 และร้อยละ 23.8 ตามลำดับ แต่พบว่าค่ามัธยฐานของระยะเวลาการมีชีวิตรอดโดยปราศจากโรค มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ได้แก่ 29.00 และ 23.20 เดือนในกลุ่มที่ไม่มีและมีความผิดปกติของยีน p16 ตามลำดับ (ค่า $p=0.03$) จากการวิเคราะห์ตัวแปรตัวเดียวและวิเคราะห์ตัวแปรหลายตัว พบว่า ปัจจัยที่มีผลต่อระยะเวลาการมีชีวิตรอด คือเป็นปัจจัยพยากรณ์โรค ได้แก่ การมีหรือไม่มี ความผิดปกติของยีน p16 ที่เกิดจากเมทิลเลชัน และ ระยะเวลาของอาการและอาการแสดงที่น้อยกว่าหรือมากกว่า 2 เดือน

สรุป ความผิดปกติของยีน p16 ที่เกิดจากเมทิลเลชัน เป็นปัจจัยพยากรณ์การมีชีวิตรอดและระยะเวลาการมีชีวิตรอดโดยปราศจากโรคได้ ระยะเวลาการมีชีวิตรอดโดยปราศจากโรคของผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยพบว่ามัธยฐานของระยะเวลาการมีชีวิตรอดโดยปราศจากโรคในกลุ่มที่ไม่มี ความผิดปกติของยีน p16 ยาวนานกว่ากลุ่มที่มีความผิดปกติของยีน p16 ที่เกิดจากเมทิลเลชัน แต่ความผิดปกติของยีน p16 ที่เกิดจากเมทิลเลชัน ไม่สามารถใช้เป็นปัจจัยทำนายการตอบสนอง และปัจจัยพยากรณ์การกลับเป็นซ้ำในผู้ป่วยโรคมะเร็งโพรงหลังจมูก

ภาควิชา
สาขาวิชา
ปีการศึกษา 2543

ลายมือชื่อนิสิต
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

427 52590 30 : MAJOR MEDICINE (ONCOLOGY))

KEY WORD : *P16* GENE / *P16* METHYLATION / SURVIVAL TIME / RESPONSE RATE /
NASOPHARYNGEAL CARCINOMA

SOMCHAI LIMPAKARN: THE SIGNIFICANCE OF *p16* METHYLATION AS PROGNOSTIC FACTOR AND PREDICTIVE FACTOR OF RESPONSE IN PATIENTS WITH NASOPHARYNGEAL CARCINOMA. THESIS ADVISOR: ASSO. PROF.NARIN VORAVUD, M.D., THESIS COADVISOR: ASSOC. PROF. APIWAT MUTIRANGULA, M.D. 98 pp. ISBN 974-13-0749-7.

Objective To determine the significance of *p16* methylation as prognostic factor of survival and recurrence and predictive factor of response in nasopharyngeal carcinoma patients.

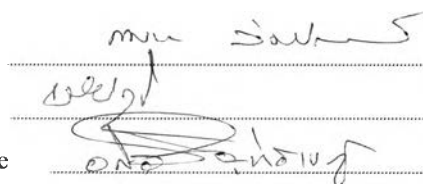
Method Between 1994 and 1999, 55 patients were selected from nasopharyngeal carcinoma patients who were diagnosed by tissue biopsy with complete clinical data. The patients were classified into two groups, with and without *p16* methylation, detected by MS-PCR from tumor's DNA extract. Survival times, recurrence rates and response rates were analyzed for difference determination between groups. Univariate and multivariate analysis were also performed to determine dependent and independent prognostic factors in NPC.

Results Overall survival times, response rates and recurrence rates in both groups were not significant different. The median overall survival time were 31.35 and 28.40 months in the patients without and with *p16* methylation, respectively ($p=0.054$). The response rates were 100% and 82.8% in the patients without and with *p16* methylation, respectively ($p=0.053$). The recurrence rates, 16% and 23.8% in each group, that were not different ($p=0.071$). But median progression-free survival times in both groups were significant different, that were 29.00 and 23.20 months in the patients without and with *p16* methylation, respectively ($p=0.03$). From univariate and multivariate analysis, *p16* methylation and duration of symptoms were found as independent prognostic factors in NPC.

Conclusion *P16* methylation was found as independent prognostic factor in NPC. The median progression-free survival times in both groups were significant different, which in the patients without *p16* methylation was longer than in the patients with *p16* methylation. *P16* methylation was not found as prognostic factors of recurrence and predictor of response.

Department Medicine
Field of study Medicine
Academic year 2000

Student's signature
Advisor's signature
Co-advisor's signature





กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดีด้วยความร่วมมือและความช่วยเหลือจากหลายบุคคล และหลายฝ่าย ผู้ศึกษาวิจัยขอขอบคุณผู้มีรายนามดังต่อไปนี้

รองศาสตราจารย์นายแพทย์นรินทร์ วรวุฒิ และรองศาสตราจารย์นายแพทย์อภิวัฒน์ มุทิรางกูร อาจารย์ที่ปรึกษาและอาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่ได้ให้คำแนะนำและข้อคิดเห็นที่ดีมาตลอด ระยะเวลาที่ทำการศึกษา

รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ ประยุทธ์ โรจน์พรประคิษฐ์ หัวหน้าสาขารังสีรักษา ภาควิชา รังสีวิทยา ที่กรุณาอำนวยความสะดวกในการค้นหาข้อมูลผู้ป่วยจากเวชระเบียนของสาขารังสีรักษา เพื่อประกอบการทำวิทยานิพนธ์นี้

คุณสายรุ้ง สักคิกุล เจ้าหน้าที่ห้องตรวจปฏิบัติการทางด้านชีวโมเลกุล ที่ช่วยเหลืออย่างมาก ในการตรวจหาความผิดปกติของ *p16* ด้วยวิธี Methylation-Specific PCR (MS-PCR) ซึ่งเป็นส่วน สำคัญมากที่ทำให้งานศึกษาวิจัยนี้ลุล่วงด้วยดี

อาจารย์สมรัตน์ เติสมหาฤทธิ์ และ อาจารย์วินัส อุดมประเสริฐกุล ที่ให้ความรู้และความ คิดเห็นที่ดีในเรื่องทางสถิติที่ใช้ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้

รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ธานีรินทร์ อินทรกำจรชัย และคณะกรรมการบริหารหลักสูตร วท.ม. อายุรศาสตร์ที่ช่วยกำกับดูแลและให้คำแนะนำในการแก้ปัญหาที่เกิดขึ้นระหว่างการศึกษา วิจัยทำให้งานศึกษาวิจัยนี้ลุล่วงด้วยดี

แพทย์และเจ้าหน้าที่ทุกท่านที่มีส่วนร่วมในการดูแลและช่วยเหลือในการค้นหาเวชระเบียน ผู้ป่วยนอกที่ใช้ในการรวบรวมข้อมูลผู้ป่วย

ผู้ให้ความช่วยเหลือทุกท่านที่อาจไม่ได้เอ่ยนามในที่นี้

และที่สำคัญ ได้แก่ คุณมณี ลิ้มปการณ์ ภรรยาอันเป็นที่รัก บุตรสาวและบุตรชาย และสมาชิก ในครอบครัว ที่คอยให้กำลังใจ ทำให้งานศึกษาวิจัยนี้ลุล่วงไปได้ด้วยดี อย่างที่ตั้งใจ

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ซ
สารบัญแผนภูมิ.....	ฅ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ.....	ฉ
บทที่	
1. บทนำ.....	1
2. เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	9
3. วิธีดำเนินการวิจัย.....	51
4. ผลการวิเคราะห์ข้อมูล.....	57
5. สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ.....	79
รายการอ้างอิง.....	84
ภาคผนวก.....	96
ประวัติผู้เขียน.....	98

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1.1 แสดงร้อยละของชนิดความผิดปกติของยีน <i>p16</i> ที่พบในโรคมะเร็งชนิดต่าง ๆ...	4
1.2 แสดงการแบ่งระยะของโรคมะเร็งโพรงหลังจมูกโดยอาศัยการแบ่งตามระบบ TNM.....	6
2.1 แสดงการให้คะแนนเพื่อการพยากรณ์โรคสำหรับผู้ป่วยมะเร็ง NPC.....	46
2.2 แสดงให้คะแนนเพื่อการพยากรณ์โรคทางคลินิกสำหรับโรคมะเร็ง NPC.....	47
4.1 แสดงร้อยละของ p16 methylation ในผู้ป่วย NPC	58
4.2 แสดงลักษณะของอายุของผู้ป่วยจากการศึกษา.....	58
4.3 แสดงกลุ่มอายุของผู้ป่วย.....	59
4.4 แสดงลักษณะอาการและอาการแสดงของผู้ป่วย.....	63
4.5 แสดงผลตอบสนองต่อการรักษา.....	65
4.6 แสดงระยะเวลาการมีชีวิตรอดโดยรวมของผู้ป่วย.....	66
4.7 เปรียบเทียบของลักษณะทั่วไปผู้ป่วยสองกลุ่ม.....	67
4.8 แสดงผลการตอบสนองต่อการรักษาของสองกลุ่มเปรียบเทียบ.....	69
4.9 แสดงการทดสอบทางสถิติเกี่ยวกับผลการตอบสนองต่อการรักษาของสองกลุ่มเปรียบเทียบ.....	70
4.10 แสดงร้อยละของการกลับเป็นซ้ำของสองกลุ่มเปรียบเทียบ.....	70
4.11 แสดงการทดสอบทางสถิติเกี่ยวกับการกลับเป็นซ้ำของสองกลุ่มเปรียบเทียบ.....	71
4.12 แสดงระยะเวลาการมีชีวิตรอดโดยรวมของทั้งสองกลุ่มเปรียบเทียบ.....	73
4.13 แสดงระยะเวลาการมีชีวิตรอดโดยปราศจากโรคของทั้งสองกลุ่มเปรียบเทียบ	73
4.14 แสดงปัจจัยหรือตัวแปรจากการวิเคราะห์แบบตัวเดียวที่มีผลต่อสภาพการมีชีวิตรอดและระยะเวลาการมีชีวิตรอด.....	75
4.15 แสดงผลเปรียบเทียบสภาพการมีชีวิตรอดของผู้ป่วยสองกลุ่ม.....	77
4.16 แสดงปัจจัยหรือตัวแปรที่มีผลต่อสภาพการมีชีวิตรอดและระยะเวลาการมีชีวิตรอดจากการวิเคราะห์หลายตัวแปร.....	78

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 แสดงขั้นตอนการเกิดเซลล์มะเร็ง.....	10
2.2 แสดงวัฏจักรเซลล์.....	12
2.3 แสดงโครงสร้างของยีน P16.....	14
2.4 แสดงการทำงานของวัฏจักรเซลล์ในระยะ G1 ต่อไปยังระยะ S	15
2.5 ภาพจำลองของกลไกแบบต่างๆของการเกิด methylation ในการเกิดมะเร็ง.....	20
2.6 แสดงภาพรวมของวิถีทางชีวเคมี(biochemical pathways) ของการเกิด cytosine methylation.....	21
2.7 รูปแสดงขั้นตอนในการตรวจค้น methylation ของ cytosines ภายใน DNA sequence โดยวิธี bisulfite conversion และรูปแสดงเกี่ยวกับการ methylation ในสิ่งมีชีวิต(In vivo).....	27
4.1 แสดงการกระจายอายุของผู้ป่วย(histogram).....	59
4.2 รูปแสดงร้อยละกลุ่มอายุของผู้ป่วย.....	60
4.3 แสดงร้อยละของเพศของผู้ป่วย.....	60
4.4 แสดงร้อยละของเชื้อชาติ.....	61
4.5 รูปแสดงร้อยละของชนิด(WHO).....	62
4.6 แสดงร้อยละของระยะโรค.....	64
4.7 แสดงร้อยละของการตรวจพบดีเอ็นเอของไวรัสอีบีวีจากก้อนมะเร็ง.....	65
4.8 แสดงผลการตอบสนองต่อการรักษาของสองกลุ่มเปรียบเทียบ.....	69
4.9 แสดงการกลับเป็นซ้ำของสองกลุ่มเปรียบเทียบ.....	71
4.10 กราฟแสดงลักษณะการกระจายของระยะเวลาการมีชีวิตโดยรวม(Kaplan-Meier curves) ของทั้งสองกลุ่มเปรียบเทียบ.....	72
4.11 กราฟแสดงลักษณะการกระจายของระยะเวลาการมีชีวิต โดยปราศจากโรค (Kaplan-Meier curves) ของทั้งสองกลุ่มเปรียบเทียบ.....	74
4.12 กราฟแสดงลักษณะการกระจายของระยะเวลาการมีชีวิต(Kaplan-Meier curves) ของสองกลุ่มที่มีอาการนานมากกว่า 2 เดือนและน้อยกว่า 2 เดือน.....	76
4.13 กราฟแสดงลักษณะการกระจายของระยะเวลาการมีชีวิต(Kaplan-Meier curves) ของสองกลุ่มที่ตรวจพบว่ามี และ ไม่มี EBVDNA.....	76