

อัตราการรอดชีวิตในระยะยาวของมะเร็งต่อมน้ำเหลือง  
ชนิดดีฟิวลาจปีเซลล์ โดยใช้การตรวจตามเกณฑ์ของฮานส์  
ในผู้ป่วยไทยที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์



นางสาวจิราวดี น้อยวัฒนกุล

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
CHULALONGKORN UNIVERSITY

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.

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาอายุรศาสตร์ ภาควิชาอายุรศาสตร์  
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
ปีการศึกษา 2558  
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

THE LONG-TERM OVERALL SURVIVAL RATE FOR DIFFUSE LARGE B CELL LYMPHOMA  
BASED ON HANS' CRITERIA IN THAI PATIENTS AT KING CHULALONGKORN MEMORIAL  
HOSPITAL

Miss Jirawadee Noiwattanakul



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 2015

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์

อัตราการรอดชีวิตในระยะยาวของมะเร็งต่อมน้ำเหลือง  
ชนิดดีฟิวลาจปีเซลล์ โดยใช้การตรวจตามเกณฑ์ของ  
ฮานส์ในผู้ป่วยไทยที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

โดย

นางสาวจิราวดี น้อยวัฒนกุล

สาขาวิชา

อายุรศาสตร์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ศาสตราจารย์ ดร. นายแพทย์พลภัทร โรจน์นครินทร์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ ธรรมธร อาศนะเสน

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัย  
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

..... คณบดีคณะแพทยศาสตร์

(ศาสตราจารย์ นายแพทย์ สุทธิพงษ์ วัชรสินธุ)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ แพทย์หญิง สมนพร บุญะรัตเวช สองเมือง)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(ศาสตราจารย์ ดร. นายแพทย์พลภัทร โรจน์นครินทร์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ ธรรมธร อาศนะเสน)

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ ขจร ตีระธนากุล)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(อาจารย์ นายแพทย์ รวิสุต เดียววิศเรศ)

จิราวดี น้อยวัฒนกุล : อัตราการรอดชีวิตในระยะยาวของมะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิดดีฟิวสลาจบีเซลล์ โดย  
ใช้การตรวจตามเกณฑ์ของฮานส์ในผู้ป่วยไทยที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ (THE LONG-TERM OVERALL  
SURVIVAL RATE FOR DIFFUSE LARGE B CELL LYMPHOMA BASED ON HANS' CRITERIA IN  
THAI PATIENTS AT KING CHULALONGKORN MEMORIAL HOSPITAL) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์  
หลัก: ศ. ดร. นพ.พลภัทร โรจน์นครินทร์, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: รศ. นพ. ธรรมธร อาศนะเสน, 60  
หน้า.

ที่มา: Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) เป็นมะเร็งต่อมน้ำเหลืองที่พบบ่อยที่สุดในประเทศไทย การใช้ Gene expression profiling (GEP) สามารถแบ่ง DLBCL ตามจุดกำเนิดของเซลล์คือ Germinal center B-cells (GCB) และ Non-germinal center B-cells (Non-GCB) ทั้งสองกลุ่มมีการพยากรณ์โรคที่แตกต่างกัน อาจนำไปสู่การรักษาที่ต่างกันด้วย แต่ GEP นั้นไม่สามารถทำได้ทั่วไป Hans และคณะ จึงนำ immunohistochemistry ซึ่งทำได้ง่าย ราคาไม่แพงและเชื่อถือได้มาใช้แทน อย่างไรก็ตามความเชื่อถือได้ของวิธีนี้ยังมีความขัดแย้งในบางการศึกษา ทั้งยังไม่เคยมีการศึกษาการพยากรณ์โรคด้วยวิธีนี้ในประเทศไทย

วัตถุประสงค์: เพื่อเปรียบเทียบอัตราการรอดชีวิต (overall survival, OS) ของผู้ป่วย DLBCL ชนิด GCB และ Non-GCB ด้วยการตรวจทาง immunohistochemistry ตาม Hans' criteria

วิธีการศึกษา: Retrospective cohort study ศึกษา DLBCL รายใหม่ ตาม WHO 2008 criteria อายุ  $\geq 18$  ปี ที่มีชิ้นเนื้อเพียงพอต่อการตรวจทางพยาธิวิทยา ช่วง มกราคม 2552 ถึง กันยายน 2558 เกณฑ์การคัดออกคือ Indolent lymphoma ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงไปเป็น large-cell lymphoma, HIV associated lymphoma, Primary mediastinal B cell lymphoma, Primary CNS lymphoma และ Primary effusion lymphoma โดยผู้ป่วยทุกรายต้องได้รับการรักษาด้วยเคมีบำบัดที่มี Doxorubicin ชิ้นเนื้อได้รับการย้อมทาง immunohistochemistry เพื่อสามารถแยกจุดกำเนิดของเซลล์

ผลการศึกษา: ผู้ป่วย 119 ราย อายุเฉลี่ย  $56 \pm 14$  ปี มีระยะเวลาติดตาม 29 เดือน พบว่า Non-GCB มี median overall survival(OS) 37 เดือน เทียบกับ GCB = not reach (Hazard ratio =2.23 [95%CI; 1.10-4.52],  $P = 0.013$ ) OS ที่ 3 ปีของ Non-GCB เป็นร้อยละ 49 เทียบกับ GCB ร้อยละ 74 ( $P = 0.02$ , log rank test) จากการวิเคราะห์หazard ratio 4 ปัจจัยที่สัมพันธ์กับการลดลงของอัตราการรอดชีวิตโดยรวม ได้แก่ serum LDH สูง (Adjusted HR 2.40, 95%CI 1.04-5.52,  $P = 0.04$ ), โรคระยะที่ 3-4 (Adjusted HR 2.28, 95%CI 1.06-4.88,  $P = 0.034$ ) การไม่ได้รับ Rituximab (Adjusted HR 3.21, 95%CI 1.71-6.03,  $P < 0.001$ ) และ กลุ่ม non-GCB (Adjusted HR 2.08, 95%CI 1.02-4.27,  $P = 0.045$ )

สรุปผล: กลุ่ม Non-GCB โดย Hans criteria เป็นตัวแปรที่สัมพันธ์กับอัตราการรอดชีวิตที่สั้นลง ในผู้ป่วยไทยที่เป็น DLBCL

ภาควิชา	อายุรศาสตร์	ลายมือชื่อนิติ	.....
สาขาวิชา	อายุรศาสตร์	ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก	.....
ปีการศึกษา	2558	ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม	.....

# # 5774015730 : MAJOR MEDICINE

KEYWORDS: DIFFUSE LARGE B CELL LYMPHOMA / PROGNOSIS / CELL OF ORIGIN

JIRAWADEE NOIWATTANAKUL: THE LONG-TERM OVERALL SURVIVAL RATE FOR DIFFUSE LARGE B CELL LYMPHOMA BASED ON HANS' CRITERIA IN THAI PATIENTS AT KING CHULALONGKORN MEMORIAL HOSPITAL. ADVISOR: ASST. PROF. PONLAPAT ROJNUKARIN, M.D.,Ph.D., CO-ADVISOR: ASSOC. PROF. THAMATHORN ASSANASEN, M.D., 60 pp.

*Background:* Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) is the most common lymphoma type in Thailand. Gene expression profiling (GEP) can classify DLBCL by the cell of origin into germinal center B-cell (GCB) and Non-GCB subtypes that are different in prognosis and may lead to different therapy. Nevertheless, GEP is not generally available. Hans *et al* has developed a simple and inexpensive immunohistochemistry algorithm that can reliably categorize DLBCL. However, the validation data are still conflicting and there has been no study in Thailand.

*Objective:* To compare the overall survival (OS) of patients who were diagnosed as DLBCL of GCB vs. Non-GCB subgroups as classified by immunohistochemistry

*Methods:* This is a retrospective cohort study. The newly-diagnosed DLBCL patients, aged  $\geq 18$  years, who had adequate remaining tissue pathology for further study from January 2009 to September 2015, were enrolled. The patients with transformed lymphoma, HIV-associated lymphoma, primary mediastinal B cell lymphoma, primary CNS lymphoma and primary effusion lymphoma were excluded. All of them were treated by doxorubicin-based chemotherapy. The paraffin-embedded tissue was immunohistochemically stained to determine the cell of origin using Hans criteria.

*Result:* There were 119 patients. The mean age was  $56 \pm 14$  years old. With a median follow up of 29 months, the median overall survival time (OS) for the Non-GCB group was 37 months compared with not reach for the GCB group (Hazard ratio [HR] 2.23, 95% confidence interval [CI] 1.10-4.52,  $P = 0.013$ ). The 3-year OS for the non-GCB was 49% compared with 74% for the GCB group ( $P = 0.02$ , log rank test). By multivariate analysis, 4 factors were significantly associated with poor OS that were high serum LDH (Adjusted HR 2.40, 95%CI 1.04-5.52,  $P = 0.04$ ), Stage 3-4 (Adjusted HR 2.28, 95%CI 1.06-4.88,  $P = 0.034$ ), chemotherapy without rituximab (Adjusted HR 3.21, 95%CI 1.71-6.03,  $P < 0.001$ ) and the non-GCB subtype (Adjusted HR 2.08, 95%CI 1.02-4.27,  $P = 0.045$ ).

*Conclusion:* The Non-GCB subgroup by Hans criteria is independently associated with shorter overall survival in Thai patients with DLBCL.

Department: Medicine

Student's Signature .....

Field of Study: Medicine

Advisor's Signature .....

Academic Year: 2015

Co-Advisor's Signature .....

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้ สามารถสำเร็จลุล่วงได้เนื่องจากความเมตตากรุณา และความช่วยเหลือ เป็นอย่างดีจาก

• สาขาวิชาโลหิตวิทยา ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ศาสตราจารย์ นายแพทย์ ชานินทร์ อินทรกำธรชัย อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ศาสตราจารย์ นายแพทย์ พลภัทร โรจน์นครินทร์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

อาจารย์ แพทย์หญิง ปณิสนิ ลวสุต ให้คำปรึกษาการวิเคราะห์ข้อมูล

• ภาควิชาเวชศาสตร์ป้องกันและสังคม คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รองศาสตราจารย์สมรัตน์ เลิศมหาฤทธิ์ ให้ข้อเสนอแนะและความคิดเห็น

นายธนะภูมิ รัตนานุกพงศ์ ให้ข้อเสนอแนะและความคิดเห็น

• ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ ธรรมธร อาศนะเสน อาจารย์ผู้วิจัยร่วมและให้คำปรึกษา

สุดท้ายนี้ ขอขอบพระคุณบิดาผู้ล่วงลับที่เป็นแรงบันดาลใจในการเป็นโลหิตแพทย์ และ มารดาผู้เป็นกำลังใจตลอดมา

## สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ญ
หน้า.....	ฎ
สารบัญรูปภาพ.....	ฏ
หน้า.....	ฐ
สารบัญแผนภูมิ.....	ฑ
หน้า.....	ฒ
บทที่ 1 .....	1
บทนำ.....	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของการวิจัย .....	1
1.2 คำถามของการวิจัย .....	2
1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	2
1.4 สมมติฐาน.....	2
1.5 กรอบแนวคิดในการวิจัย .....	3
1.6 ข้อตกลงเบื้องต้น .....	3
1.7 คำนิยามเชิงปฏิบัติการ.....	3
1.8 รูปแบบการวิจัย .....	5
1.9 วิธีดำเนินการวิจัยโดยย่อ .....	5
1.10 ปัญหาทางจริยธรรม.....	5

1.11 ข้อจำกัดในการวิจัย.....	6
1.12 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย .....	6
1.13 อุปสรรคที่อาจเกิดขึ้นและมาตรการแก้ไข.....	6
บทที่ 2 .....	7
ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง .....	7
2.1 ระบาดวิทยา (Epidemiology).....	7
2.2 พยาธิกำเนิด (Pathogenesis) .....	7
2.3 พยาธิวิทยา (Pathology) .....	10
2.4 อาการและอาการแสดง .....	12
2.5 การพยากรณ์โรค .....	13
2.6 การรักษา (Treatment).....	24
บทที่ 3 .....	32
วิธีดำเนินการวิจัย .....	32
3.1 รูปแบบการวิจัย .....	32
3.2 ระเบียบวิธีการวิจัย .....	32
3.3 ขนาดตัวอย่าง (Sample size determination) .....	33
3.4 ขั้นตอนในการดำเนินการวิจัย.....	34
3.5 การรวบรวมข้อมูล .....	34
3.6 ข้อจำกัดในการวิจัย.....	34
3.7 การเปิดเผยข้อมูลแสดงตัวตนของผู้ป่วย.....	35
3.8 การวิเคราะห์ข้อมูล .....	35
บทที่ 4 .....	36
ผลการวิจัย .....	36



4.1 คุณลักษณะของประชากรในการศึกษา.....	36
4.2 การวิเคราะห์ความแตกต่างของการรอดชีวิตในระยะยาว (Overall Survival) ระหว่าง กลุ่ม GCB และ Non-GCB.....	39
4.3 การวิเคราะห์ความแตกต่างของการมีชีวิตอยู่โดยปราศจากโรคกำเริบ (Progression free survival) ระหว่างกลุ่ม GCB และ Non-GCB .....	41
4.4 การวิเคราะห์ความแตกต่างของการรอดชีวิตในระยะยาว (Overall Survival) และการมี ชีวิตอยู่โดยปราศจากโรคกำเริบ (Progression free survival) ระหว่างกลุ่มที่ได้ Rituximab และ ไม่ได้ Rituximab.....	42
4.5 การวิเคราะห์ผลของ Rituximab ต่อการรอดชีวิตในระยะยาว (Overall Survival) และ การมีชีวิตอยู่โดยปราศจากโรคกำเริบ (Progression free survival) ในกลุ่ม GCB และ Non-GCB.....	43
4.6 การวิเคราะห์ความแตกต่างของ Overall Survival และ Progression free survival ใน Rituximab group เทียบระหว่างกลุ่ม GCB และ Non-GCB.....	46
บทที่ 5 .....	48
อภิปราย สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ .....	48
อภิปรายผล.....	48
จุดแข็งของการวิจัย.....	50
ข้อจำกัดในการวิจัย.....	50
สรุปผล .....	50
ข้อเสนอแนะ .....	50
รายการอ้างอิง .....	51
ภาคผนวก.....	56
ภาคผนวก ก. ....	56
ภาคผนวก ข. ....	59
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์ .....	60



## สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 Diffuse large B-cell lymphoma: variants, subgroups and subtypes/entities .....	14
ตารางที่ 2 Ann Arbor classification .....	15
ตารางที่ 3 ปัจจัยที่มีผลต่ออัตราการรอดชีวิตโดยรวมของผู้ป่วย DLBCL.....	15
ตารางที่ 4 ผลการรักษาผู้ป่วย aggressive NHL ตามกลุ่มเสี่ยงโดย International Prognostic Index .....	16
ตารางที่ 5 ผลการย้อม Immunohistochemical stain, TMA classification, IPI scores และผลต่อ Overall survival, Event free survival จากการศึกษาของ Hans .....	19
ตารางที่ 6 แสดงการจำแนกชนิดของ DLBCL ตาม Immunophenotype จากการศึกษาของ Lluís Colomo .....	20
ตารางที่ 7 อัตราการหายจากโรค และอัตราการรอดชีวิตโดยรวมที่ 5 ปี ในผู้ป่วย DLBCL 128 ราย ตามปัจจัยการพยากรณ์โรค จากการศึกษาของ Lluís Colomo.....	21
ตารางที่ 8 แสดงผลลัพธ์ของแต่ละแผนภูมิที่ใช้ในการตรวจ immunephenotype.....	23
ตารางที่ 9 แสดงผลการตอบสนองต่อการรักษาด้วย CHOP หรือ CHOP ร่วมกับ Rituximab ในผู้ป่วย DLBCL รายใหม่ ที่มีอายุในช่วง 60 ถึง 80 ปี (GELA study).....	27
ตารางที่ 10 ข้อมูลพื้นฐานของประชากรที่นำมาศึกษา.....	36
ตารางที่ 11 ข้อมูลทางคลินิกของประชากรที่นำมาศึกษา.....	37
ตารางที่ 12 ข้อมูลพื้นฐานและข้อมูลทางคลินิกของประชากรที่นำมาศึกษา จำแนกตาม Cell of Origin .....	38
ตารางที่ 13 ความสัมพันธ์ระหว่าง subtype และปัจจัยอื่นๆ กับการเสียชีวิตในระยะยาว.....	40
ตารางที่ 14 ความสัมพันธ์ระหว่าง subtype และปัจจัยอื่นๆ กับการกำเริบของโรค.....	42
ตารางที่ 15 แสดงปัจจัยที่มีผลต่อ overall และ progression free survival ของกลุ่ม GCB .45	
ตารางที่ 16 แสดงปัจจัยที่มีผลต่อ overall และ progression free survival ของกลุ่ม Non-GCB .....	46

ตารางที่ 17 ข้อมูลพื้นฐานและข้อมูลทางคลินิก กลุ่ม Rituximab จำแนกตาม Cell of Origin 47

ตารางที่ 18 ผลของ Rituximab ที่มีต่อ OS และ PFS ในกลุ่ม GCB และ Non-GCB .....49



## สารบัญรูปภาพ

หน้า

รูปภาพที่ 1 แสดงช่วงเวลาการเจริญพัฒนาของลิ้มโฟไซด์และอวัยวะสำคัญหลักที่ใช้ในการเจริญพัฒนาในมนุษย์ .....	7
รูปภาพที่ 2 แสดงกระบวนการ VDJ recombination.....	8
รูปภาพที่ 3 B-cell differentiation ภายใน germinal center .....	9
รูปภาพที่ 4 แสดงกระบวนการทางโมเลกุล ในการปรับเปลี่ยนอิมมูโนโกลบูลินอื่น.....	9
รูปภาพที่ 5 Cellular origin of human B-cell lymphoma.....	10
รูปภาพที่ 6 Centroblastic variants .....	11
รูปภาพที่ 7 Immunoblastic variants .....	11
รูปภาพที่ 8 Anaplastic variants.....	11
รูปภาพที่ 9 แผนภูมิการย้อมอิมมูโนฮิสโตเคมี ที่ใช้ในการศึกษาของ Paul N. Meyer .....	22
รูปภาพที่ 10 กลไกการออกฤทธิ์ของ Rituximab ในการทำลายเซลล์มะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิด B cell .....	31

## สารบัญแผนภูมิ

หน้า

แผนภูมิที่ 1 แสดงอัตราการรอดชีวิตของผู้ป่วย 1880 ราย ใน Ann Arbor stages II, III และ IV โดยแยกตาม IPI.....	17
แผนภูมิที่ 2 Kaplan-Meier curve แสดงอัตราการรอดชีวิตโดยรวมที่ 5 ปี ของผู้ป่วย DLBCL จำนวน 240 รายที่ได้รับเคมีบำบัด กลุ่ม anthracycline-based ตามลักษณะการแสดงออกของ ยีน.....	18
แผนภูมิที่ 3 กราฟอัตราการรอดชีวิตโดยรวม (OS curves) และ TMA classification .....	20
แผนภูมิที่ 4 Time to Treatment Failure และอัตราการรอดชีวิตที่ 3 ปี เปรียบการใช้เคมีบำบัดสูตร CHOP, m-BACOD, ProMACE-CytaBOM และ MACOP-B.....	25
แผนภูมิที่ 5 Overall Survival และ 3-year OS เปรียบการใช้เคมีบำบัดสูตร CHOP, m-BACOD, ProMACE-CytaBOM และ MACOP-B.....	26
แผนภูมิที่ 6 Event-free Survival ของผู้ป่วย 399 ราย ที่ได้ CHOP/R-CHOP จากการศึกษาของ Bertrand Coiffier .....	27
แผนภูมิที่ 7 Overall survival ของผู้ป่วย 399 ราย ที่ได้ CHOP/R-CHOP จากการศึกษาของ Bertrand Coiffier .....	28
แผนภูมิที่ 8 Kaplan-Meier curve ของ progression-free และ overall survival แยกตาม Gene-Expressionของผู้ป่วย DLBCL ที่ได้รับการรักษาด้วย R-CHOP.....	30
แผนภูมิที่ 9 Kaplan-Meier survival curves แสดง overall survival เทียบระหว่างกลุ่ม GCB และ Non-GCB .....	39
แผนภูมิที่ 10 Kaplan-Meier survival curves แสดง progression free survival เทียบระหว่างกลุ่ม GCB และ Non-GCB.....	41
แผนภูมิที่ 11 Kaplan-Meier survival curves แสดง overall survival และ progression free survival เทียบระหว่างกลุ่ม Rituximab กับ Control.....	43
แผนภูมิที่ 12 Kaplan-Meier survival curves แสดง overall survival และ progression free survival ของกลุ่ม GCB และ Non-GCB.....	44

แผนภูมิที่ 14 Kaplan-Meier survival curves แสดง PFS แยกตาม Cell of Origin ใน Rituximab group.....	47
แผนภูมิที่ 13 Kaplan-Meier survival curves แสดง OS แยกตาม Cell of Origin ใน Rituximab group.....	47



## คำอธิบายสัญลักษณ์ และคำย่อ

ABC	Activated B-cell-like
AID	Require activation-induced cytidine deaminase
BCL-6	B-cell lymphoma 6 protein
BCR	B-cell receptor
CD	Cluster of Differentiation
cDNA	Complementary Deoxyribonucleic acid
CLP	Common lymphoid progenitor
COO	Cell of Origin
CR	Complete remission
CRu	Complete remission unconfirmed
DLBCL	Diffuse large B-cell lymphoma
ECOG	Eastern Cooperative Oncology Group
GCB	Germinal center B-cell-like
GEP	Gene Expression Profile
IPI	International Prognostic Index
LDH	Lactate dehydrogenase
MUM1	Multiple myeloma oncogene 1 gene
NHL	Non-Hodgkin lymphoma
OS	Overall survival

PD	Progressive disease
PET	Positron Emission Tomography
PFS	Progression free survival
PR	Partial remission
PS	Performance status
RAG	Recombinase-activating genes
SD	Stable disease
TMA	Tissue microarray





# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความสำคัญและที่มาของการวิจัย

Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) เป็นมะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิด Non-Hodgkin lymphoma (NHL) ที่พบได้บ่อยที่สุดในประเทศไทย คิดเป็นร้อยละ 64 ของผู้ป่วย NHL ทั้งหมดในประเทศไทย<sup>(1)</sup> ส่วนในต่างประเทศ พบประมาณ ร้อยละ 30-40 ของ NHL ที่วินิจฉัยใหม่<sup>(2)</sup> ลักษณะอาการทางคลินิกของ DLBCL ได้แก่ ต่อมน้ำเหลืองโตหรือมีก้อนในอวัยวะต่างๆนอกต่อมน้ำเหลือง ไข่น้ำหนักลด เหงื่อออกกลางคืน ตับม้ามโต การแบ่งระยะของโรคตาม Ann Arbor classification<sup>(3)</sup> อย่างไรก็ตาม การแบ่งระยะของโรคตาม Ann Arbor classification นี้ ยังไม่สามารถใช้เป็นตัวพยากรณ์โรคที่ดี<sup>(4)</sup>

ในปี ค.ศ. 1993 International Non-Hodgkin's Lymphoma Prognostic Factor Project<sup>(5)</sup> ได้นำเสนอตัวชี้วัดทางคลินิกก่อนการรักษาของผู้ป่วย aggressive NHL ที่สามารถใช้ทำนายการตอบสนองต่อการรักษาได้อย่างแม่นยำ เรียกว่า International Prognostic Index (IPI) ซึ่งขึ้นกับปัจจัยต่างๆ ได้แก่ อายุ ( $\leq 60$  และ  $> 60$  ปี) ระยะของโรค(stage I/II และ III/IV), ระดับ Lactate dehydrogenase (LDH) ในเลือด (ปกติ และ มากกว่าปกติ), Performance status (PS  $< 2$  และ  $\geq 2$ ) และ Extranodal involvement ( $\leq 1$  และ  $> 1$ )

ที่ผ่านมา ได้มีความพยายามหาปัจจัยพยากรณ์โรคแบบอื่นที่นอกเหนือจากการใช้ IPI ดังเช่น Rosenwald A. และคณะ<sup>(6)</sup> ได้ใช้วิธี molecular profiling คือ cDNA microarray เพื่อแยกชนิดของ DLBCL ตามจุดกำเนิดของเซลล์ (Cell of Origin, COO) ออกเป็น germinal center B-cell-like (GCB), activated B-cell-like (ABC) หรือ type 3 gene expression ซึ่งพบว่ามีค่าแม่นยำในการพยากรณ์โรคดีกว่า IPI อย่างไรก็ตาม วิธีนี้มีข้อจำกัดคือ ต้องใช้ชิ้นเนื้อสดหรือแช่แข็ง ไม่สามารถใช้ชิ้นเนื้อที่แช่ในฟอร์มาลิน อีกทั้งยังมีราคาแพงและไม่สามารถทำได้ในทุกสถาบัน

Christine P. Hans และคณะ<sup>(7)</sup> จึงนำวิธี Tissue microarray (TMA) ซึ่งใช้หลักการของ immunohistochemistry มาใช้แทน เนื่องจากวิธีการนี้มีราคาถูกกว่า และสามารถทำได้ในหลายสถาบัน วิธีนี้สามารถแยก DLBCL ตาม COO ได้เป็นสองกลุ่มคือ GCB และ Non-GCB การศึกษานี้ได้ใช้การตรวจด้วยวิธี cDNA microarray classification เป็น gold standard พบว่า

- Sensitivity ของ TMA เป็น 71% ในกลุ่ม GCB และ 88% ในกลุ่ม Non-GCB

- Positive predictive value ของ TMA classification เป็น 87% ในกลุ่ม GCB และ 73% ในกลุ่ม Non-GCB
- อัตราการรอดชีวิตโดยรวมที่ 5 ปี ของกลุ่ม GCB เป็น 76% ส่วนกลุ่ม Non-GCB เป็น 34% อย่างไรก็ตาม ในประเทศไทยยังไม่เคยมีรายงานอุบัติการณ์ของ GCB และ Non-GCB ในผู้ป่วย DLBCL และมีความสำคัญต่อการพยากรณ์โรคเพียงใด

## 1.2 คำถามของการวิจัย

### คำถามหลัก (Primary research question)

ผู้ป่วยที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ซึ่งป่วยด้วยโรค Diffuse large B-cell lymphoma ชนิด Germinal center B-cells (GCB) ตาม Hans' criteria มีค่ามัธยฐานของการรอดชีวิตในระยะยาว (Median overall survival) สูงกว่า ชนิด Non-germinal center B-cells (Non-GCB) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติหรือไม่

### คำถามรอง (Secondary research question)

ผู้ป่วยที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ซึ่งป่วยด้วยโรค Diffuse large B-cell lymphoma ชนิด Germinal center B-cells (GCB) ตาม Hans' criteria มีอัตราการรอดชีวิตโดยรวมที่ 3 ปี (3-year overall survival) สูงกว่า ชนิด Non-germinal center B-cells (Non-GCB) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติหรือไม่

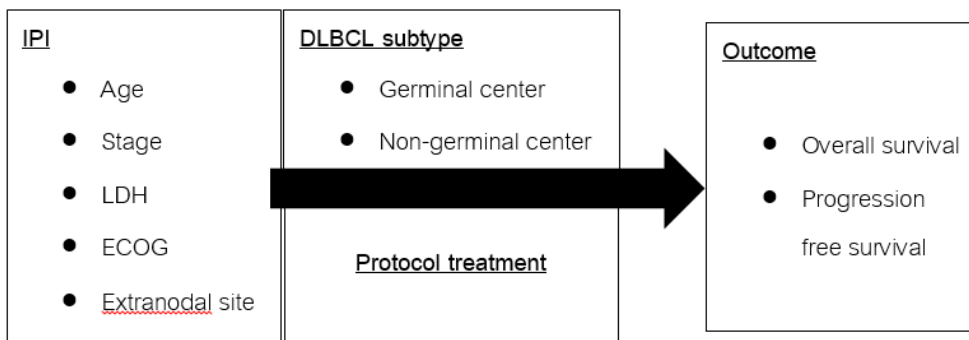
## 1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาค่ามัธยฐานของการรอดชีวิตในระยะยาว (Median overall survival) ของผู้ป่วย Diffuse large B-cell lymphoma ชนิด Germinal center B-cells (GCB) และ Non-germinal center B-cells (Non-GCB) ตาม Hans' criteria ในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์
2. เพื่อศึกษาอัตราการรอดชีวิตโดยรวมที่ 3 ปี (3-year overall survival) ของผู้ป่วย Diffuse large B-cell lymphoma ชนิด Germinal center B-cells (GCB) และ Non-germinal center B-cells (Non-GCB) ตาม Hans' criteria ในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

## 1.4 สมมติฐาน

การแยกชนิดของ Diffuse large B-cell lymphoma โดยใช้ Hans' criteria พบว่า ผู้ป่วยชนิด Germinal center B-cells (GCB) มีค่ามัธยฐานของการรอดชีวิตในระยะยาว (Median overall survival) สูงกว่า ชนิด Non-germinal center B-cells (Non-GCB) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

### 1.5 กรอบแนวคิดในการวิจัย

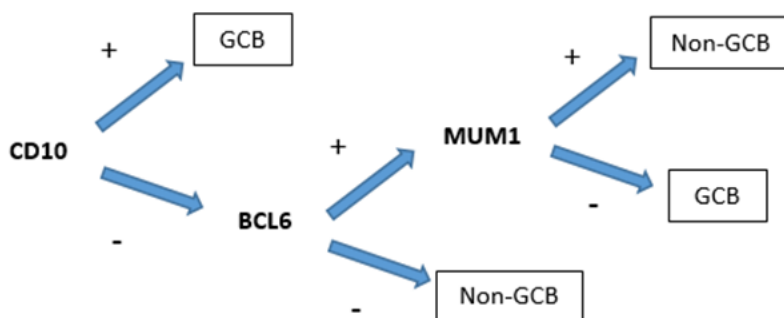


### 1.6 ข้อตกลงเบื้องต้น

- Event คือ การเสียชีวิตจากสาเหตุใดๆในช่วงระยะเวลาที่ทำการศึกษา
- Censored case ผู้ป่วยที่ไม่สามารถติดตามจนถึงสิ้นสุดการศึกษาและข้อมูลจากทะเบียนราษฎร์ยังไม่มีอาการเสียชีวิต หรือผู้ป่วยที่เสียชีวิตจากสาเหตุอื่นก่อนที่จะเกิด event

### 1.7 คำนิยามเชิงปฏิบัติการ

1. เกณฑ์การตัดสินผลการย้อมทาง immunohistochemistry ของ CD10, BCL6 และ MUM1 จะมีผลเป็นบวกเมื่อ เซลล์มะเร็งย้อมติดสี มากกว่าหรือเท่ากับ ร้อยละ 30
2. เกณฑ์การตัดสินว่าเป็น DLBCL ชนิด GCB หรือ Non-GCB ตาม Hans' criteria ดังนี้



3. Overall survival (OS) คือ ช่วงเวลาที่นับจากวินิจฉัยโรคได้ที่รพ.จุฬาลงกรณ์ จนถึงผู้ป่วยเสียชีวิตหรือไม่สามารถติดตามได้
4. Progression free survival (PFS) คือ ช่วงเวลาที่นับจากการวินิจฉัยโรคจนถึงได้รับการวินิจฉัยว่าโรคกลับเป็นซ้ำ หรือโรคกำเริบ
5. Complete remission (CR): ไม่ปรากฏหลักฐานของโรค กล่าวคือ
  - a) หากผู้ป่วยเคยมี PET positive ก่อนที่จะได้รับการรักษา หลังการรักษาต้องมีผล PET negative
  - b) หากผู้ป่วยเคยมี PET negative หรือ ไม่ได้ทำ PET scan ก่อนการรักษา หลังการรักษาก้อนมะเร็งต้องยุบลงจนเป็นปกติ จากการตรวจด้วย CT scan
  - c) ต่อมาน้ำเหลือง ตับและม้ามคล้ำไม่พบจากการตรวจร่างกาย และไม่มีก้อนภายในตับ ม้าม
  - d) ผลตรวจทางพยาธิวิทยาของไขกระดูกไม่พบเซลล์มะเร็งต่อมน้ำเหลือง
6. Complete remission, unconfirmed (CRu): (กรณีที่ทำ PET scan จะไม่มี CRu)
  - a) ขนาดของก้อนมะเร็งลดลง  $> 75\%$  ผลตรวจทางพยาธิวิทยาของไขกระดูกไม่พบเซลล์มะเร็งต่อมน้ำเหลือง **หรือ**
  - b) ผลการตรวจ CT scan ไม่พบก้อนมะเร็ง แต่ไม่ได้ทำการตรวจ bone marrow
7. Partial remission (PR): ก้อนมะเร็งเล็กลง และไม่มีรอยโรคเกิดใหม่ กล่าวคือ ขนาดก้อนมะเร็ง  $\geq 50\%$  ของเส้นผ่านศูนย์กลางรวมของก้อนต่อมน้ำเหลืองที่ใหญ่ที่สุด 6 ก้อน และไม่มีก้อนอื่นๆขนาดใหญ่ขึ้น
  - a) หากผู้ป่วยเคยมี PET positive ก่อนที่จะได้รับการรักษา หลังการรักษายังคงมีผล PET positive ที่ก้อนมะเร็งต่อมน้ำเหลือง อย่างน้อยหนึ่งตำแหน่ง
  - b) หากผู้ป่วยเคยมี PET negative หรือ ไม่ได้ทำ PET scan ก่อนการรักษา หลังการรักษาก้อนมะเร็งต้องยุบลงจากการตรวจด้วย CT scan
  - c) ก้อนในตับและม้าม มีขนาดเล็กลง  $\geq 50\%$  ของเส้นผ่านศูนย์กลางรวมของก้อน (ในก้อนเดี่ยวคิดเส้นผ่านกลางที่ยาวที่สุด) ไม่มีก้อนใดที่ขนาดใหญ่ขึ้นในตับม้าม
  - d) ผลตรวจทางพยาธิวิทยาของไขกระดูกอาจพบหรือไม่พบเซลล์มะเร็งต่อมน้ำเหลือง
8. Stable disease (SD): การตอบสนองไม่ได้ CR/PR แต่ไม่ใช่ PD
  - a) หากผู้ป่วยเคยมี PET positive ก่อนได้รับการรักษา และหลังการรักษาก็ยังมีผล PET positive ในตำแหน่งเดิม แต่ไม่มีรอยโรคใหม่จากการตรวจ CT หรือ PET
  - b) หากผู้ป่วยเคยมี PET negative หรือไม่ได้ทำ PET scan ก่อนการรักษา หลังการรักษาไม่มีการเปลี่ยนแปลงของขนาดก้อนมะเร็งต่อมน้ำเหลือง จากตรวจ CT scan

9. Relapsed/Progressive disease (PD): มีรอยโรคเกิดขึ้นใหม่ หรือ ขนาดของก้อนมะเร็งเพิ่มขึ้น  $\geq 50\%$  ของขนาดก้อนเดิมที่เคยลดลงเล็กน้อยที่สุด

- a) มีรอยโรคใหม่ขนาด  $> 1.5$  cm. ในกรณีที่มีก้อนต่อมน้ำเหลืองหลายก้อน ขนาดของก้อนต้องเพิ่มขึ้น  $> 50\%$  ของผลรวมเส้นผ่านศูนย์กลาง หรือ หากมีต่อมน้ำเหลืองเพียงก้อนเดียว (มีเส้นผ่านศูนย์กลางเดิมในแกนที่สั้นที่สุด มากกว่า 1 cm.) ขนาดของก้อนต้องเพิ่มขึ้น  $> 50\%$  ของเส้นผ่านศูนย์กลางในแกนที่ยาวที่สุด
- b) รอยโรครามี PET positive

**หมายเหตุ** การประเมินการตอบสนองต่อการรักษาตาม Revised response criteria for malignant lymphoma<sup>(8)</sup>

## 1.8 รูปแบบการวิจัย

Retrospective and prospective cohort study

## 1.9 วิธีดำเนินการวิจัยโดยย่อ

- 1) ค้นหารายชื่อผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยตาม ICD-10 เป็น C38.8 Large cell lymphoma ในช่วงเดือนมกราคม พ.ศ. 2552 ถึง ธันวาคม พ.ศ. 2557 จากข้อมูลของหน่วยงานสารสนเทศและเวชระเบียน
- 2) ตรวจสอบผลการตรวจทางพยาธิวิทยาของผู้ป่วยแต่ละรายทางคอมพิวเตอร์ เพื่อยืนยันข้อมูลการวินิจฉัยและคัดกลุ่มที่ตรงตาม exclusion criteria ออก
- 3) คัดรายชื่อผู้ป่วยที่ไม่เข้า Inclusion criteria ออก
- 4) ผลตรวจพยาธิวิทยาของผู้ป่วยรายใดที่ยังย้อม CD10, BCL6 และ MUM1 ไม่ครบทั้งสามชนิด จะมีการส่งตรวจเพิ่มเติมให้ครบ
- 5) ยืมแฟ้มประวัติผู้ป่วย เพื่อบันทึกและรวบรวมข้อมูล
- 6) วิเคราะห์ข้อมูล
- 7) สรุปผลการวิจัย วิเคราะห์ผล และนำเสนอต่อคณะกรรมการวิจัย

## 1.10 ปัญหาทางจริยธรรม

- หลักความเคารพในบุคคล (Respect for person) โดยการขอความยินยอมผู้เข้าร่วมในการวิจัย แต่การวิจัยนี้เป็นการศึกษาในห้องปฏิบัติการทางพยาธิวิทยา ไม่มีการติดต่อเพื่อเก็บข้อมูล

โดยตรงจากผู้เข้าร่วมในการวิจัย ผู้วิจัยจะเก็บรักษาความลับของผู้เข้าร่วมในการวิจัย โดยในแบบบันทึกข้อมูลจะไม่มี identifier ที่จะระบุถึงตัวผู้เข้าร่วมในการวิจัย

- หลักการให้ประโยชน์ ไม่ก่อให้เกิดอันตราย (Beneficence/Non-maleficence) ผู้เข้าร่วมในการวิจัยจะไม่ได้รับประโยชน์ใดๆ อาจเกิดความเสี่ยงต่อตัวผู้เข้าร่วมในการวิจัยเพียงเล็กน้อย คือความลับของผู้เข้าร่วมในการวิจัยอาจถูกเปิดเผย ผู้วิจัยจะเก็บรักษาความลับของผู้เข้าร่วมในการวิจัย
- หลักความยุติธรรม (Justice) คือมีเกณฑ์การคัดเลือกและออกชัดเจน

### 1.11 ข้อจำกัดในการวิจัย

1. เนื่องจากการศึกษาเป็นแบบ Retrospective cohort study จึงมีประชากรบางส่วนที่อาจไม่สามารถติดตามข้อมูลได้ครบถ้วน ข้อมูลสูญหาย
2. งบประมาณในการส่งตรวจเพิ่มเติมทาง immunohistochemistry

### 1.12 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

1. ทราบค่ามัธยฐานของการรอดชีวิตในระยะยาว (Median overall survival) ของผู้ป่วย Diffuse large B-cell lymphoma ชนิด Germinal center B-cells (GCB) และ Non-germinal center B-cells (Non-GCB) ตาม Hans' criteria ในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์
2. ทราบอัตราการรอดชีวิตโดยรวมที่ 3 ปี (3-year overall survival) ของผู้ป่วย Diffuse large B-cell lymphoma ชนิด Germinal center B-cells (GCB) และ Non-germinal center B-cells (Non-GCB) ตาม Hans' criteria ในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

ซึ่งความรู้ที่ได้เหล่านี้อาจนำไปสู่การเปลี่ยนแปลงวิธีการประเมินผู้ป่วยก่อนการรักษา และการเลือกใช้ยาเคมีบำบัดในอนาคต

### 1.13 อุปสรรคที่อาจเกิดขึ้นและมาตรการแก้ไข

- ข้อมูลสูญหาย เนื่องจากผู้ป่วยไม่มาติดตามการรักษา  
วิธีแก้ไข ติดตามจากทะเบียนราษฎร์ ว่าผู้ป่วยยังมีชีวิตอยู่หรือไม่ หรือเสียชีวิตเมื่อใด

## บทที่ 2

### ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 ระบาดวิทยา (Epidemiology)

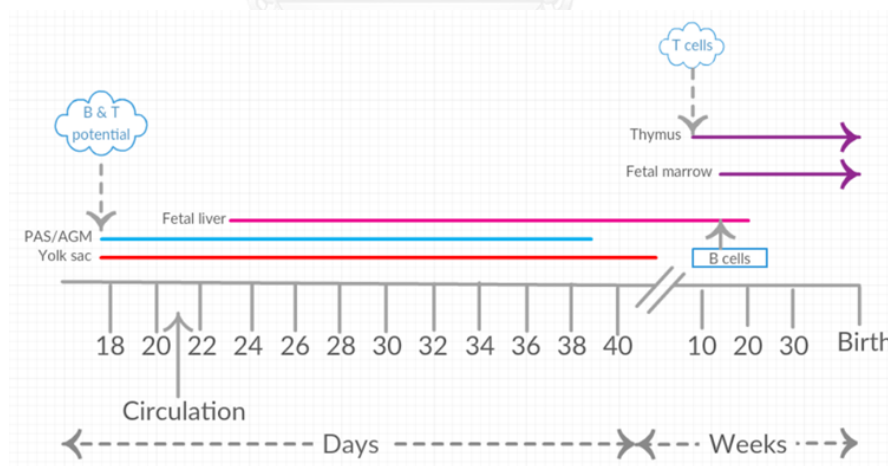
Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) เป็นมะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิด Non-Hodgkin lymphoma (NHL) ที่พบได้บ่อยที่สุดในประเทศไทย คิดเป็นร้อยละ 64 ของผู้ป่วย NHL ทั้งหมดในไทย ส่วนในต่างประเทศ พบประมาณ 30-40% ของ NHL ที่วินิจฉัยใหม่

#### 2.2 พยาธิกำเนิด (Pathogenesis)

##### การเจริญพัฒนาของบีลิมโฟไซต์ (B-cell development and lymphogenesis)

: Hematopoietic cells เริ่มสร้างใน yolk sac หลังปฏิสนธิได้ 18 วัน และที่ 30 วันจะถูกสร้างจาก fetal liver จนกระทั่งอายุครรภ์ได้ 11 สัปดาห์ จึงถูกสร้างจากไขกระดูก จากนั้น Hematopoietic cells จะถูกกำหนดให้เป็นเซลล์ในสาย myeloid หรือ lymphoid ต่อไป ดังรูปภาพที่ 1

รูปภาพที่ 1 แสดงช่วงเวลาการเจริญพัฒนาของลิมโฟไซต์และอวัยวะสำคัญหลักที่ใช้ในการเจริญพัฒนาในมนุษย์



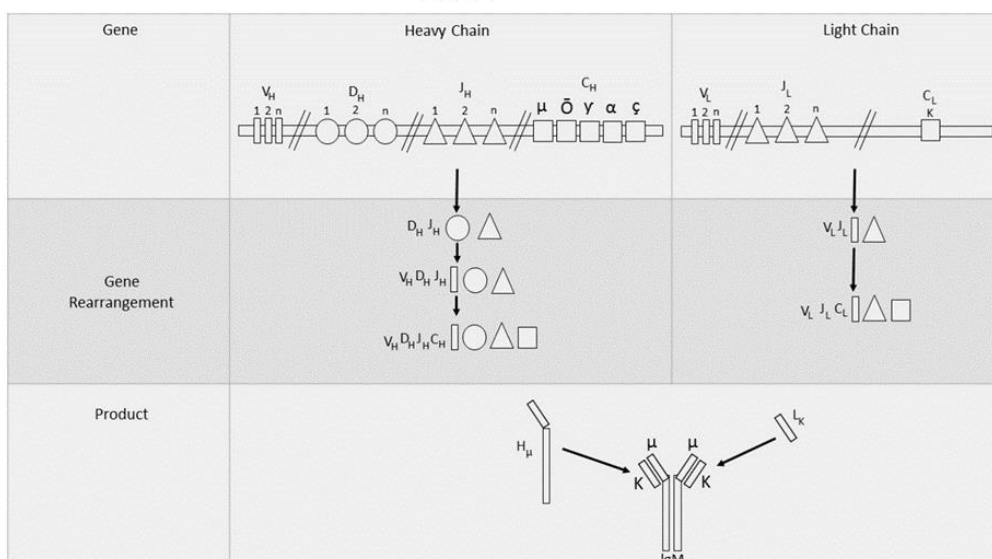
ภาพดัดแปลงจาก Williams Hematology. 8th ed.2010: 1096.

B-cell นั้นจะเจริญพัฒนาจาก Common lymphoid progenitor (CLP) จนเป็น mature B-cell ที่ไขกระดูก กระบวนการที่สำคัญในช่วงนี้คือ การจัดเรียงของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างอิมมูโนโกลบูลินทั้ง Heavy chain และ Light chain เพื่อให้ได้ surface immunoglobulin ที่

ทำหน้าที่เป็น B-cell receptor (BCR) บนผิวของเซลล์ ที่มีความหลากหลายต่อแอนติเจน โดยอาศัย เอนไซม์ Recombinase-activating genes (RAG1, RAG2)<sup>(9)</sup> เรียกกระบวนการนี้ว่า **VDJ recombination**<sup>(10)</sup> ซึ่งจะเกิดขึ้นบนโครโมโซม ดังนี้

- โครโมโซมคู่ที่ 14 ซึ่งเป็นตำแหน่งของ Heavy chain gene
- โครโมโซมคู่ที่ 2 ซึ่งเป็นตำแหน่งของ Kappa light chain gene
- โครโมโซมคู่ที่ 22 ซึ่งเป็นตำแหน่งของ Lambda light chain gene

รูปภาพที่ 2 แสดงกระบวนการ VDJ recombination



ภาพดัดแปลงจาก Wintrobe's Clinical Hematology. 13th ed.2014: 260.

B-cell ที่มี BCR แล้วก็คือ mature B-cell ก็จะออกจาก bone marrow ไปยัง secondary lymphoid organ (ต่อมน้ำเหลืองและม้าม) ต่อไป

Mature B-cell จะเข้าสู่ secondary lymphoid organ บริเวณ Germinal center ซึ่งที่นี้ B-cell จะสัมผัสกับแอนติเจน กระตุ้นให้เกิดการแบ่งตัว (Clonal expansion) เกิดกระบวนการที่สำคัญ อีก 2 กระบวนการ (รูปภาพที่ 3) คือ

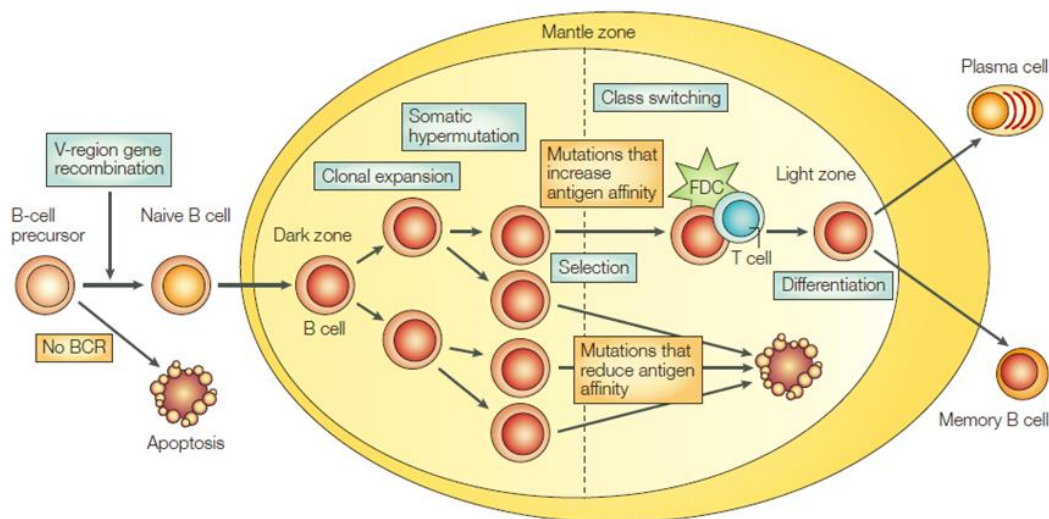
- **Somatic hypermutation**<sup>(11, 12)</sup> กระบวนการนี้อาศัยเอนไซม์ activation-induced cytidine deaminase (AID) เพื่อให้เกิด mutation ของ Variable region (V) gene ผลคือได้แอนติบอดีที่มีความสามารถในการจับกับแอนติเจนที่หลากหลาย โดยแอนติบอดีที่จับกับ



แอนติเจนได้แน่น (high affinity antibodies) จะเจริญเป็น plasma cell หรือ memory B-cell ต่อไป ส่วนแอนติบอดีที่จับกับแอนติเจนอย่างหลวม (low affinity antibodies) จะเกิด apoptosis

- **Class switching**<sup>(12, 13)</sup> คือการเปลี่ยนแปลงของ Heavy chain เพื่อให้ได้อิมมูโนโกลบูลินต่างชนิดกัน ได้แก่ IgG, IgA และ IgE โดยอาศัยเอนไซม์ activation-induced cytidine deaminase (AID)

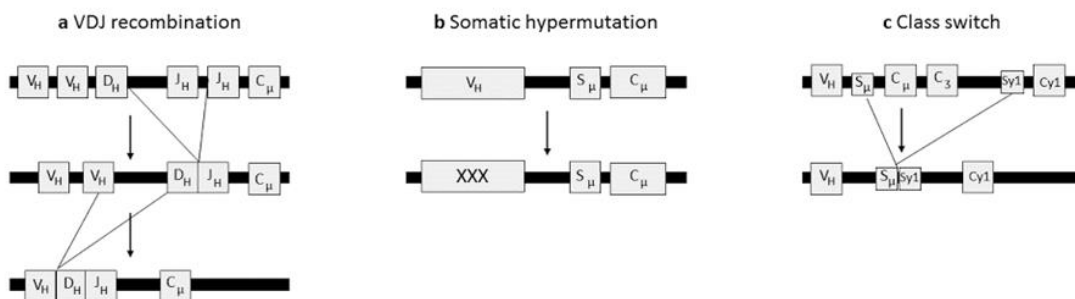
รูปภาพที่ 3 B-cell differentiation ภายใน germinal center<sup>(14)</sup>



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ภาพจาก Nature review cancer 2005.5;251-260.

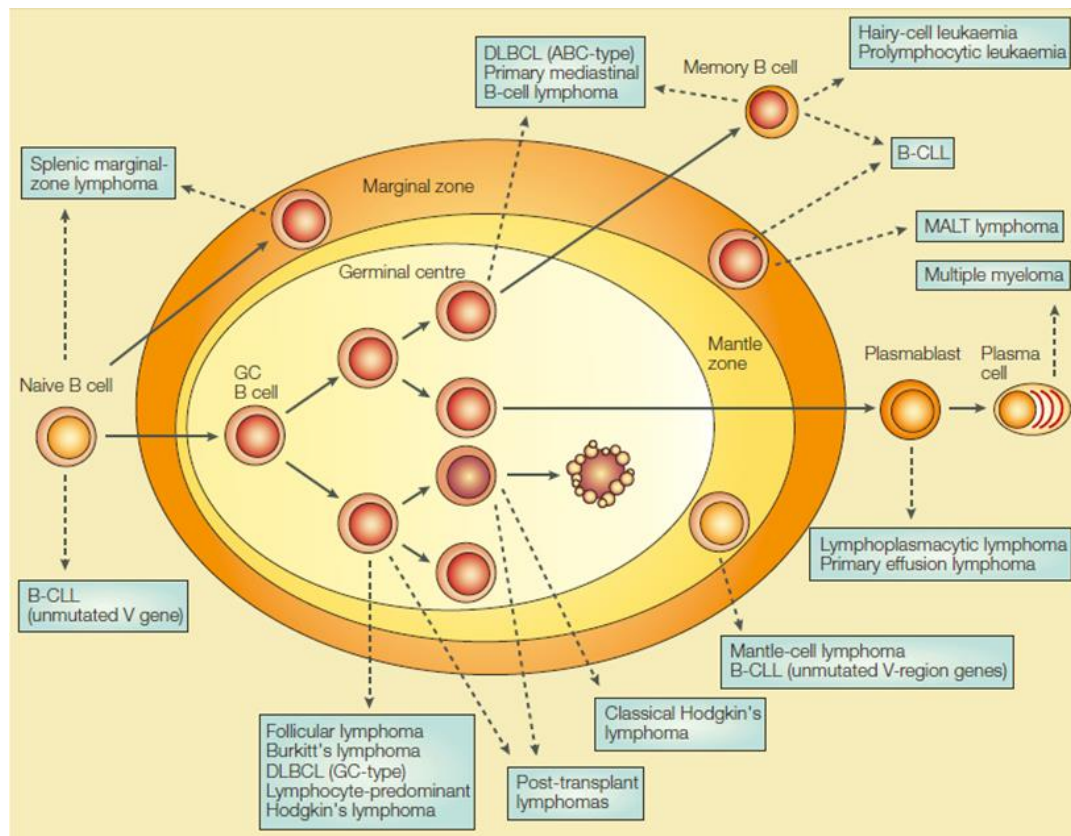
รูปภาพที่ 4 แสดงกระบวนการทางโมเลกุล ในการปรับเปลี่ยนอิมมูโนโกลบูลินยีน (ภาพดัดแปลงจาก Nature review cancer 2005.5;251-260.)



กระบวนการ VDJ recombination และ Class switching ต้องมีการแยกสาย double-stranded DNA ออกจากกัน ซึ่งอาจเกิดการสลับตำแหน่งของโครโมโซมที่ผิดปกติ (chromosomal translocation) จนกลายเป็น B-cell lymphoma ได้ เช่นเดียวกับ Somatic

hypermutation ที่ทำให้เกิดการกลายพันธุ์ของยีนที่ผิดปกติ<sup>(14, 15)</sup>(รูปภาพที่ 4) DLBCL ส่วนใหญ่เกิดขึ้นเอง แต่มีบางส่วนที่เปลี่ยนแปลงมาจากมะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิดอื่นที่มีความรุนแรงน้อยกว่า เช่น Chronic lymphocytic leukemia/Small lymphocytic leukemia(CLL/SLL), Follicular lymphoma, Marginal zone lymphoma

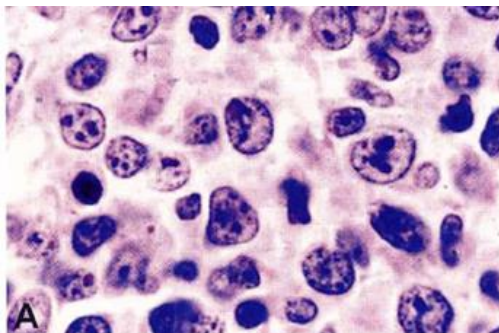
รูปภาพที่ 5 Cellular origin of human B-cell lymphoma<sup>(14, 15)</sup> (ภาพจาก Nature review cancer2005;5;251-260.)



### 2.3 พยาธิวิทยา (Pathology)

ลักษณะชิ้นเนื้อของต่อมน้ำเหลืองที่เป็นมะเร็ง จะมีการเพิ่มจำนวนของลิมโฟไซต์ที่กลายเป็นเซลล์มะเร็งขนาดใหญ่ กระจายทั่วไปในต่อมน้ำเหลืองทำให้โครงสร้างลักษณะภายในของต่อมน้ำเหลืองผิดปกติไป นอกจากนี้ยังพบแมคโครฟาจที่กินเซลล์มะเร็งที่ตายเข้าไปทำให้มองเห็นเศษโครมาตินสีดำอยู่ในไซโตพลาสซึม (Tingible body macrophage)<sup>(16)</sup> เซลล์มะเร็งที่พบนั้นมีลักษณะแตกต่างกัน 3 แบบตาม WHO<sup>(17)</sup>

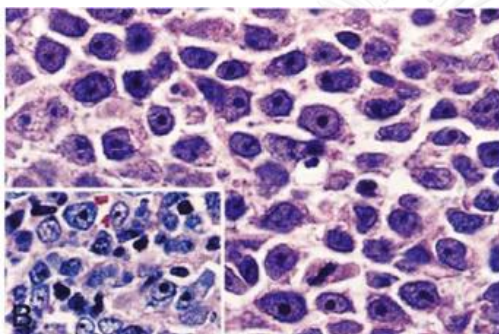
- **Centroblastic variants** เป็นชนิดที่พบบ่อยที่สุด เซลล์มีขนาดกลางถึงใหญ่ รูปร่างกลมหรือรี โครมาตินละเอียด มีนิวคลีโอลัส 2-3 อัน ไซโตพลาสซึมสีน้ำเงินปริมาณน้อย



รูปภาพที่ 6 Centroblastic variants

(ภาพจาก WHO Classification of tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. 4th ed. 2008: 233-7.

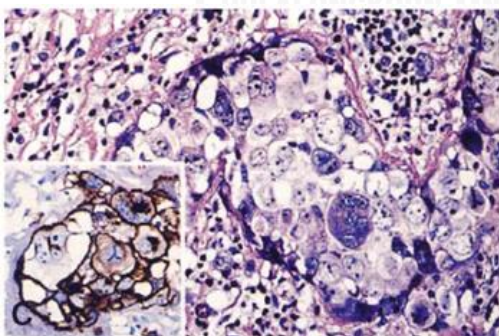
- **Immunoblastic variants** เซลล์มี nucleolus ตรงกลางอันเดียว ไฮโดพลาสซึมสีน้ำเงินปริมาณมาก อาจคล้าย plasma cell ต้องแยกจากกันด้วยอาการทางคลินิกและ immunophenotype



รูปภาพที่ 7 Immunoblastic variants

(ภาพจาก WHO Classification of tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. 4th ed. 2008: 233-7.

- **Anaplastic variants** เซลล์มีขนาดใหญ่ถึงใหญ่มาก รูปร่างกลมรี หรือบิดเบี้ยว นิวเคลียสประหลาด



รูปภาพที่ 8 Anaplastic variants

(ภาพจาก WHO Classification of tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. 4th ed. 2008: 233-7.

พบว่า ผู้ป่วย DLBCL ที่ชั้นเนื้อประกอบด้วย เซลล์มะเร็งชนิด Immunoblastic ร้อยละ 90 ของเซลล์ทั้งหมด อาจสัมพันธ์กับการพยากรณ์โรคที่เลว<sup>(18)</sup>

## Immunophenotype

DLBCL แทบทุกคนจะมีการแสดงออกของ Cluster of Differentiation (CD) ซึ่งเป็นลักษณะทั่วไปของ B-cell (pan-B-cell antigen) ได้แก่ CD19, CD20, CD22, CD79a และ PAX5<sup>(17)</sup> นอกจากนี้ยังมีการแสดงออกของ surface และ/หรือ cytoplasmic immunoglobulin (IgM > IgA) ซึ่งพบได้ ร้อยละ 50-75<sup>(19)</sup>

PAX5 เป็น B-cell-specific activator protein ที่พบได้ใน B-cell ตั้งแต่ช่วง Pro-B จนถึง Mature B-cell ซึ่งมีส่วนสำคัญอย่างมากในการเจริญพัฒนาของ B-cell<sup>(20)</sup>

ภายหลังจากการรักษาด้วย Rituximab (Monoclonal antibody for B-cell cancer) แล้ว CD20 อาจหายไปจากเซลล์มะเร็ง<sup>(21)</sup>

ส่วน marker ที่มีการแสดงออกแตกต่างกันไปในผู้ป่วยแต่ละราย ได้แก่ CD10, BCL6, BCL2, IRF4(MUM1), GCET1, LMO2, FoxP1 การแสดงออกของ marker แต่ละตัวนั้นมีความสัมพันธ์กับชนิดย่อยของ DLBCL กล่าวคือ CD10, BCL6, GCET1, LMO2 บ่งว่าเซลล์มะเร็งนั้นมีต้นกำเนิดมาจาก germinal center ส่วน IRF4(MUM1), LMO2 บ่งว่าเซลล์มะเร็งนั้นมีต้นกำเนิดมาจาก non-germinal center<sup>(16)</sup>

DLBCL อาจมีการแสดงออกของ CD5 ได้ ซึ่งพบประมาณร้อยละ 5 ของผู้ป่วย DLBCL ทั้งหมด มักพบในผู้สูงอายุ เพศหญิงมากกว่าเพศชาย และขณะให้การวินิจฉัยมักเป็นระยะแพร่กระจาย<sup>(22)</sup> การจะแยกผู้ป่วยเหล่านี้ออกจาก Blastoid variant ของ Mantle cell lymphoma ได้โดยการตรวจ CyclinD1 ซึ่งจะตรวจไม่พบในผู้ป่วย DLBCL

Ki 67 เป็น marker of cells in cycle โดยพบว่าสัดส่วนของเซลล์ที่มี Ki67+ ในก้อนมะเร็งนั้นเป็นตัวบ่งชี้อัตราการแบ่งตัว (Proliferation rate) ของเซลล์มะเร็ง DLBCL จะมี Ki67+ ได้ตั้งแต่ ร้อยละ 30 ถึงเข้าใกล้ร้อยละ 100 โดย Ki67 ที่มากกว่าร้อยละ 90 เป็นตัวบ่งชี้ว่ามีการพยากรณ์โรคที่เลว<sup>(23)</sup>

## 2.4 อาการและอาการแสดง

ผู้ป่วยส่วนใหญ่มักมาพบแพทย์ด้วยเรื่องต่อมน้ำเหลืองโต หรือก้อนในอวัยวะต่างๆนอกต่อมน้ำเหลือง อาจมีก้อนเดียวหรือหลายก้อน ไข้ น้ำหนักลด เหงื่อออกกลางคืน อาจตรวจพบตับม้ามโต และอาการอื่นๆที่หลากหลายแตกต่างกันไปตามอวัยวะที่เกี่ยวข้อง<sup>(24)</sup> เช่น เลือดออกในทางเดินอาหาร ลำไส้อุดตัน เป็นต้น

ขณะให้การวินิจฉัย พบว่าครึ่งหนึ่งของผู้ป่วยจะอยู่ในระยะที่ 1 หรือ 2 ของโรค<sup>(2)</sup> ส่วนน้อยเป็นระยะที่ 4 ที่เซลล์มะเร็งลุกลามเข้าไขกระดูกพบได้ร้อยละ 11 ถึงร้อยละ 14<sup>(25, 26)</sup>

DLBCL นี้เป็นโรคที่มีลักษณะการดำเนินโรครุนแรง ผู้ป่วยจึงมักเสียชีวิตในระยะเวลาเป็นเดือน ถ้าไม่ได้รับการรักษาหรือการรักษาไม่ได้ผล อย่างไรก็ตาม ผู้ป่วยระยะที่ 3 หรือ 4 เมื่อได้รับการรักษาด้วยยาเคมีบำบัดก็มีโอกาสหายจากโรคได้มากกว่าร้อยละ 50 แต่มีผู้ป่วยจำนวนหนึ่งราว 1 ใน 3 ที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาหรือกลับเป็นซ้ำหลังการรักษา

มะเร็งต่อมน้ำเหลืองนี้มีก้อนได้ทั้งที่ต่อมน้ำเหลือง (nodal) และในอวัยวะต่างๆนอกต่อมน้ำเหลือง (extranodal) ซึ่งพบได้มากถึงร้อยละ 40<sup>(27)</sup> ตำแหน่งที่พบมากที่สุดคือ ทางเดินอาหารโดยเฉพาะที่กระเพาะอาหารและ ileocecal region แต่ที่จริงแล้วอวัยวะต่างๆนอกต่อมน้ำเหลืองที่อื่นๆ ก็สามารถตำแหน่งแรกของการเกิดโรค (primary site) ได้ เช่น กระดูก อัณฑะ ม้าม ต่อมน้ำลาย ต่อมไทรอยด์ ตับ ตไต และต่อมหมวกไต การแบ่งชนิด DLBCL โดยลักษณะของเซลล์ (morphology) ความแตกต่างด้านชีวภาพ (biology) และอาการแสดง ดังตารางที่ 1

## 2.5 การพยากรณ์โรค

การแบ่งระยะของโรคอาศัยลักษณะการกระจายตัวของรอยโรคที่ต่อมน้ำเหลืองและรอยโรคนอกต่อมน้ำเหลือง ตาม Ann Arbor classification<sup>(3)</sup> ดังตารางที่ 2

อย่างไรก็ตาม การแบ่งระยะของโรคตาม Ann Arbor classification นี้ ยังไม่สามารถใช้เป็นตัวพยากรณ์โรคที่ดี<sup>(4)</sup>

ในปี ค.ศ. 1993 International Non-Hodgkin's Lymphoma Prognostic Factor Project<sup>(5)</sup> ได้นำเสนอตัวชี้วัดทางคลินิกก่อนการรักษาของผู้ป่วย aggressive NHL ที่สามารถใช้ในการทำนายการตอบสนองต่อการรักษาได้อย่างแม่นยำ เรียกว่า International Prognostic Index (IPI) โดยข้อมูลนี้ได้จากการศึกษาผู้ป่วย 2,031 ราย รักษาด้วยเคมีบำบัดซึ่งมี Doxorubicin เป็นส่วนประกอบ ใน 16 สถาบันที่สหรัฐอเมริกา แคนาดา และประเทศในทวีปยุโรป ระหว่างปี ค.ศ. 1982-1987 พบว่า ปัจจัยทางคลินิกก่อนการรักษาซึ่งมีผลต่อการหายจากโรค (CR) และระยะเวลาในการมีชีวิตของผู้ป่วย ได้แก่ อายุ ( $\leq 60$  และ  $> 60$ ) ระยะของโรค (stage I/II และ III/IV), ระดับ Lactate dehydrogenase (LDH) ในเลือด (ปกติ และสูงกว่าปกติ), Performance status (PS  $< 2$  และ  $\geq 2$ ) และ Extranodal involvement ( $\leq 1$  และ  $> 1$ ) ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 1 Diffuse large B-cell lymphoma: variants, subgroups and subtypes/entities

<b>Diffuse large B-cell lymphoma, not otherwise specified (NOS)</b>
<p>Common morphologic variants</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Centroblastic</li> <li>Immunoblastic</li> <li>Anaplastic</li> </ul> <p>Rare morphologic variants</p> <p>Molecular subgroup</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Germinal center B-cell like (GCB)</li> <li>Activated B-cell like (ABC)</li> </ul> <p>Immunohistochemical subgroups</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>CD5-positive DLBCL</li> <li>Germinal center B-cell like (GCB)</li> <li>Non-germinal center B-cell like (Non-GCB)</li> </ul>
<b>Diffuse large B-cell lymphoma subtypes</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>T-cell/histiocyte-rich large B-cell lymphoma</li> <li>Primary DLBCL of the CNS</li> <li>Primary cutaneous DLBCL, leg type</li> <li>EBV positive DLBCL of the elderly</li> </ul>
<b>Other lymphomas of large B cells</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Primary mediastinal (thymic) large B-cell lymphoma</li> <li>Intravascular large B-cell lymphoma</li> <li>DLBCL associated with chronic inflammation</li> <li>Lymphomatoid granulomatosis</li> <li>ALK-positive LBCL</li> <li>Plasmablastic lymphoma</li> <li>Large B-cell lymphoma arising in HHV8-associated multicentric Castlemans disease</li> <li>Primary effusion lymphoma</li> </ul>
<b>Borderline cases</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>B-cell lymphoma, unclassifiable, with features intermediate between diffuse large B-cell lymphoma and Burkitt lymphoma</li> <li>B-cell lymphoma, unclassifiable, with features intermediate between diffuse large B-cell lymphoma and classical Hodgkin lymphoma</li> </ul>

ตารางที่ 2 Ann Arbor classification

ระยะ	ลักษณะ
ระยะที่ 1	มีรอยโรคที่ต่อมน้ำเหลืองหรือนอกต่อมน้ำเหลืองเพียงบริเวณเดียว
ระยะที่ 2	มีรอยโรคที่ต่อมน้ำเหลืองหรือนอกต่อมน้ำเหลืองตั้งแต่ 2 ตำแหน่งขึ้นไป โดยต้องอยู่ภายในด้านเดียวกันของกระบังลม
ระยะที่ 3	มีรอยโรคที่ต่อมน้ำเหลืองหรือนอกต่อมน้ำเหลืองที่อยู่คนละด้านของกระบังลม และ/หรือพบรอยโรคที่ม้ามร่วมด้วย
ระยะที่ 4	มีรอยโรคกระจายออกไปเกินตำแหน่งเริ่มต้นที่พบ ตำแหน่งที่พบการกระจายได้บ่อย เช่น ตับ, ไช กระดูก, หรือปอด

ตารางที่ 3 ปัจจัยที่มีผลต่ออัตราการรอดชีวิตโดยรวมของผู้ป่วย DLBCL ตัดแปลงจากเอกสารอ้างอิงที่<sup>(5)</sup>

ปัจจัยทางคลินิก ผู้ป่วยทั้งหมด (n = 1385)	Relative Risk	P Value
● Age		
● Serum LDH	1.96	<0.001
● Performance status (PS < 2 และ ≥2)	1.85	<0.001
● Stage (I/II และ III/IV)	1.80	<0.001
● Extranodal involvement (≤ 1 และ > 1)	1.47	<0.001
	1.48	<0.001
ผู้ป่วยอายุ ≤ 60 ปี (n = 885)		
● Stage (I/II และ III/IV)	2.17	<0.001
● Serum LDH	1.95	<0.001
● Performance status (PS < 2 และ ≥2)	1.81	<0.001

เมื่อคิดจำนวนปัจจัยของการพยากรณ์โรคที่แยหเหล่านี้ในผู้ป่วยแต่ละราย จะสามารถแบ่งผู้ป่วยเป็นกลุ่มตามจำนวนปัจจัยเสี่ยง ได้แก่ ปัจจัยเสี่ยงต่ำ (Low), ต่ำปานกลาง (Low-intermediate), สูงปานกลาง (High-intermediate), และสูง (High) กลุ่มปัจจัยเสี่ยงนี้มีความสัมพันธ์โดยตรงกับอัตราการหายขาดจากโรค (Complete remission; CR) อัตราการรอดชีวิตโดยปราศจากโรคที่ 5 ปี (5-year relapse-free survival) และอัตราการรอดชีวิตโดยรวมที่ 5 ปี (5-year Overall survival) ดังตารางที่ 4 นอกจากนี้ International Non-Hodgkin's Lymphoma Prognostic Factor Project ยังแสดงให้เห็นว่า แม้ผู้ป่วยอยู่ใน Ann Arbor classification เดียวกันก็ยังมีอัตราการพยากรณ์โรคที่แตกต่างกันไปตาม IPI ดังรูปภาพที่ 9



แม้ IPI ยังคงเป็นตัวชี้วัดที่สำคัญในผู้ป่วย DLBCL แต่เนื่องจาก DLBCL เป็นโรคที่ความหลากหลายทางด้านคลินิก การตอบสนองต่อการรักษาก็มีความแตกต่างกันอย่างมาก จึงเชื่อว่าจะมีปัจจัยอื่นๆ ทางด้านชีวภาพ(Biologic prognostic factors) หรือพันธุศาสตร์เข้ามาเกี่ยวข้อง ที่ผ่านมามีผู้พยายามค้นหาปัจจัยการพยากรณ์โรคแบบอื่นที่ นอกเหนือจากการใช้ IPI ดังเช่น ในปี ค.ศ. 2000 Ash A. Alizadeh และคณะ<sup>(28)</sup> ได้ศึกษาการแสดงออกของยีน ด้วย complementary DNA microarrays (cDNAs) พบว่าผู้ป่วย DLBCL ที่มีลักษณะการแสดงออกของยีนแบบ germinal center B-cells (GCB) มีการพยากรณ์โรคที่ดีกว่าผู้ป่วยที่มีลักษณะของยีนเป็น activated B-cells (ABC) กล่าวคือ อัตราการรอดชีวิตโดยรวมที่ 5 ปี ของผู้ป่วยกลุ่ม GCB เท่ากับ 76% ในขณะที่กลุ่ม ABC มีเพียง 16% ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.01$ )

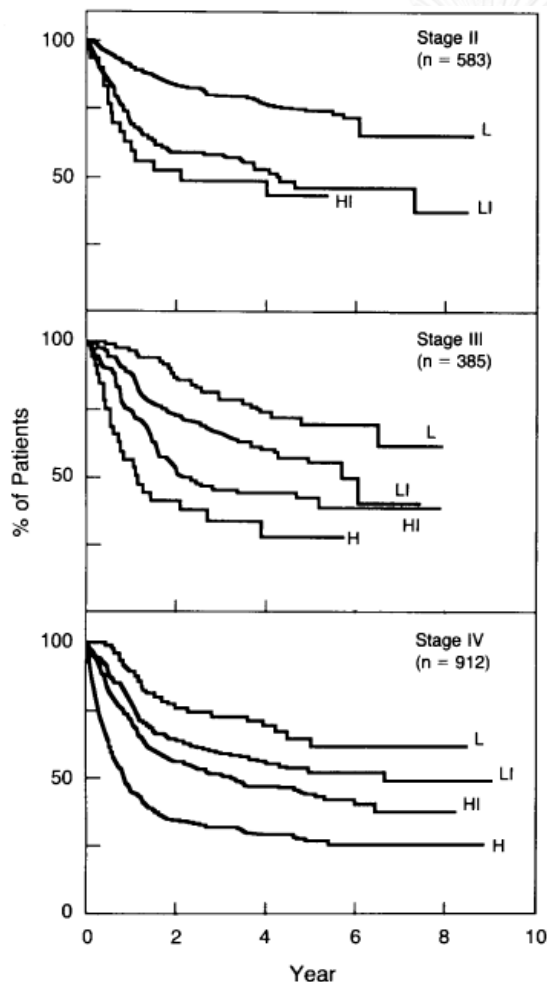
ตารางที่ 4 ผลการรักษาผู้ป่วย aggressive NHL ตามกลุ่มเสี่ยงโดย International Prognostic Index \*

ชนิดกลุ่มเสี่ยง	จำนวนของปัจจัยเสี่ยง	อัตราการหายจากโรค (CR) (%)	อัตราการรอดชีวิตโดยปราศจากโรคที่ 5 ปี (%)	อัตราการรอดชีวิตโดยรวมที่ 5 ปี (%)	
1. ผู้ป่วยทุกราย	Low	0, 1	87	70	73
	Low-intermediate	2	67	50	51
	High-intermediate	3	55	49	43
	High	4, 5	44	40	26
2. ผู้ป่วยอายุ ≤ 60 ปี	Low	0	92	86	83
	Low-intermediate	1	78	66	69
	High-intermediate	2	57	53	46
	High	3	46	58	32
3. ผู้ป่วยอายุ > 60 ปี	Low	0	91	46	56
	Low-intermediate	1	71	45	44
	High-intermediate	2	56	41	37
	High	3	36	37	21

\*ดัดแปลงจากเอกสารอ้างอิงที่<sup>(5)</sup>



ต่อมา Rosenwald A. และคณะ<sup>(6)</sup> ได้ทำการศึกษาในลักษณะที่คล้ายคลึงกันกับ Alizadeh โดยใช้วิธี cDNA microarrays พบว่าสามารถแยก DLBCL ออกเป็น 3 กลุ่มตามลักษณะการแสดงออกของยีนคือ germinal center B-cell-like (GCB), activated B-cell-like (ABC) และ type 3 gene expression อัตราการรอดชีวิตโดยรวมภายหลังจากได้ยาเคมีบำบัดกลุ่ม anthracycline-based พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.01$ ) กล่าวคือ อัตราการรอดชีวิตโดยรวมที่ 5 ปี ของผู้ป่วยกลุ่ม GCB เท่ากับ 60% ในขณะที่กลุ่ม ABC เท่ากับ 35% และ type 3 gene expression เท่ากับ 39% (รูปภาพที่ 10) อย่างไรก็ตาม วิธีนี้มีข้อจำกัดคือ ต้องใช้ชิ้นเนื้อสดหรือแช่แข็ง ไม่สามารถใช้ชิ้นเนื้อที่แช่ในฟอร์มาลิน อีกทั้งยังมีราคาแพง ไม่สามารถทำได้ในทุกสถาบัน

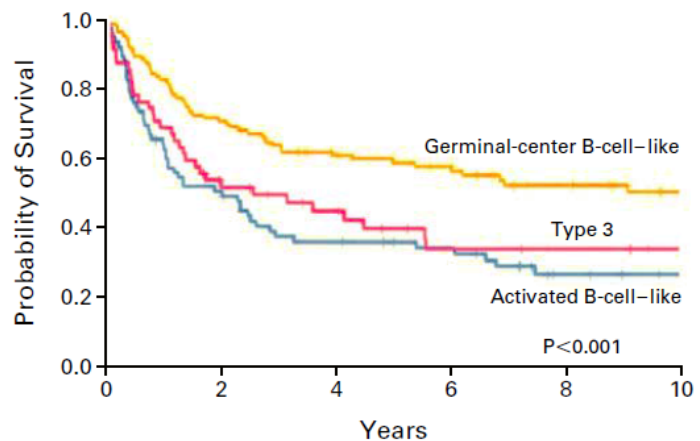


แผนภูมิที่ 1 แสดงอัตราการรอดชีวิตของผู้ป่วย 1880 ราย ใน Ann Arbor stages II, III และ IV โดยแยกตาม IPI

L; low risk, LI; low intermediate risk, HI; high intermediate risk, H; high risk

รูปที่ 9 นำมาจากเอกสารอ้างอิงที่ 1

**แผนภูมิที่ 2** Kaplan-Meier curve แสดงอัตราการรอดชีวิตโดยรวมที่ 5 ปีของผู้ป่วย DLBCL จำนวน 240 รายที่ได้รับเคมีบำบัด กลุ่ม anthracycline-based ตามลักษณะการแสดงออกของยีน ภาพจากเอกสารอ้างอิงที่ 3



No. AT RISK						
Germinal-center B-cell-like	115	81	60	46	32	19
Type 3	52	24	18	10	8	5
Activated B-cell-like	73	35	23	19	8	5

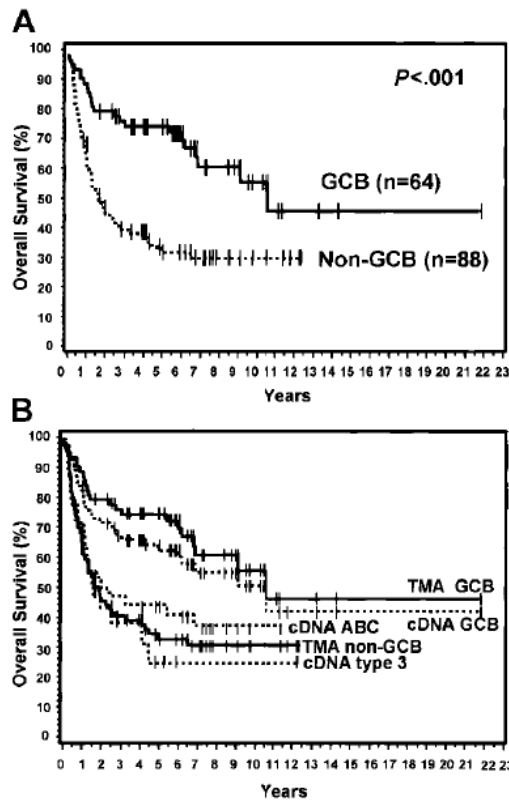
ในปี ค.ศ. 2004 Christine P. Hans และคณะ<sup>(7)</sup> ได้นำเสนอบทความเกี่ยวกับการใช้ Tissue microarray (TMA) มาใช้แยกชนิดของ DLBCL แทนวิธี cDNA microarrays เนื่องจากวิธี TMA นี้มีราคาถูกกว่า และสามารถทำได้ในหลายสถาบัน การศึกษานี้ได้นำชิ้นเนื้อของผู้ป่วย DLBCL จำนวน 152 ราย มาย้อมด้วย antibodies ได้แก่ CD20, CD10, Bcl6, MUM1, Bcl2, cyclinD2 และ FOXP1 เทียบกับ gold standard คือ cDNA microarrays พบว่า

- Sensitivity ของ TMA เป็น 71% ในกลุ่ม GCB และ 88% ในกลุ่ม Non-GCB
- Positive predictive value ของ TMA classification เป็น 87% ในกลุ่ม GCB และ 73% ในกลุ่ม Non-GCB
- อัตราการรอดชีวิตโดยรวมที่ 5 ปี ของกลุ่ม GCB เป็น 76% ส่วนกลุ่ม Non-GCB เป็น 34%

ตารางที่ 5 ผลการย้อม Immunohistochemical stain, TMA classification, IPI scores และผลต่อ

Overall survival, Event free survival ในแต่ละปัจจัย ดัดแปลงจากเอกสารอ้างอิงที่ <sup>(7)</sup>

	จำนวน (%)	5-y OS, %(95%CI)	P	5-y EFS, %(95%CI)	P
<b>CD10</b>					
Negative	110(72)	44 (34-53)	0.019	47(37-57)	0.89
Positive	42(28)	74(60-87)		51(35-68)	
<b>Bcl-6</b>					
Negative	67(44)	30(18-42)	< 0.001	35(22-49)	0.013
Positive	85(56)	69(59-79)		57(46-68)	
<b>MUM1</b>					
Negative	80(53)	66(55-76)	0.009	62(51-74)	0.003
Positive	71(47)	36(24-48)		31(19-43)	
<b>Bcl-2</b>					
Negative	76(50)	55(43-66)	0.17	54(42-67)	0.17
Positive	76(50)	50(38-61)		42(30-55)	
<b>TMA</b>					
GCB	64(42)	76(66-87)	< 0.001	63(50-76)	0.007
Non-GCB	88(58)	34(24-45)		36(25-47)	
<b>IPI score</b>					
0-2	84(66)	68(58-78)	< 0.001	65(54-76)	< 0.001
3-5	44(34)	31(17-45)		23(9-37)	



**แผนภูมิที่ 3** กราฟอัตราการรอดชีวิตโดยรวม (OS curves) และ TMA classification (A) OS curve ของ GCB และ Non-GCB โดยใช้วิธีการแยกชนิดตาม TMA (B) OS curve ของ GCB และ Non-GCB ที่ใช้วิธีการแยกชนิดตาม TMA เทียบกับการใช้วิธี cDNA ที่สามารถแยกได้เป็น GCB, Non-GCB และ type 3 รูปจากเอกสารอ้างอิงที่ 1

อย่างไรก็ตาม ก่อนหน้านี้ในปี 2003 Lluís Colomo และคณะ<sup>(29)</sup> ได้นำเสนอบทความเกี่ยวกับปัจจัยที่มีผลต่อการพยากรณ์โรคที่ศึกษาในผู้ป่วย DLBCL รายใหม่จำนวน 128 ราย โดยจำแนกผู้ป่วยตาม Immunophenotype เป็น Germinal center-CD10+, Germinal center-CD10-, Post-germinal center (ตารางที่ 6) พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันทั้งอัตราการหายจากโรค (CR,%) และอัตราการรอดชีวิตโดยรวมที่ 5 ปี (5-yr OS, %) แต่พบว่ามีปัจจัยทางชีวภาพคือ Bcl2 เกี่ยวข้องกับการพยากรณ์โรคของผู้ป่วยทั้งสามกลุ่ม (ตารางที่ 7)

ตารางที่ 6 แสดงการจำแนกชนิดของ DLBCL ตาม Immunophenotype (ดัดแปลงจากเอกสารอ้างอิงที่<sup>(29)</sup>)

Origin	CD10	Bcl-6	MUM1	CD138
Germinal center-CD10+	+	+	-	-
Germinal center-CD10-	-	+	-	-
Post-germinal center	-	+/-	+	-

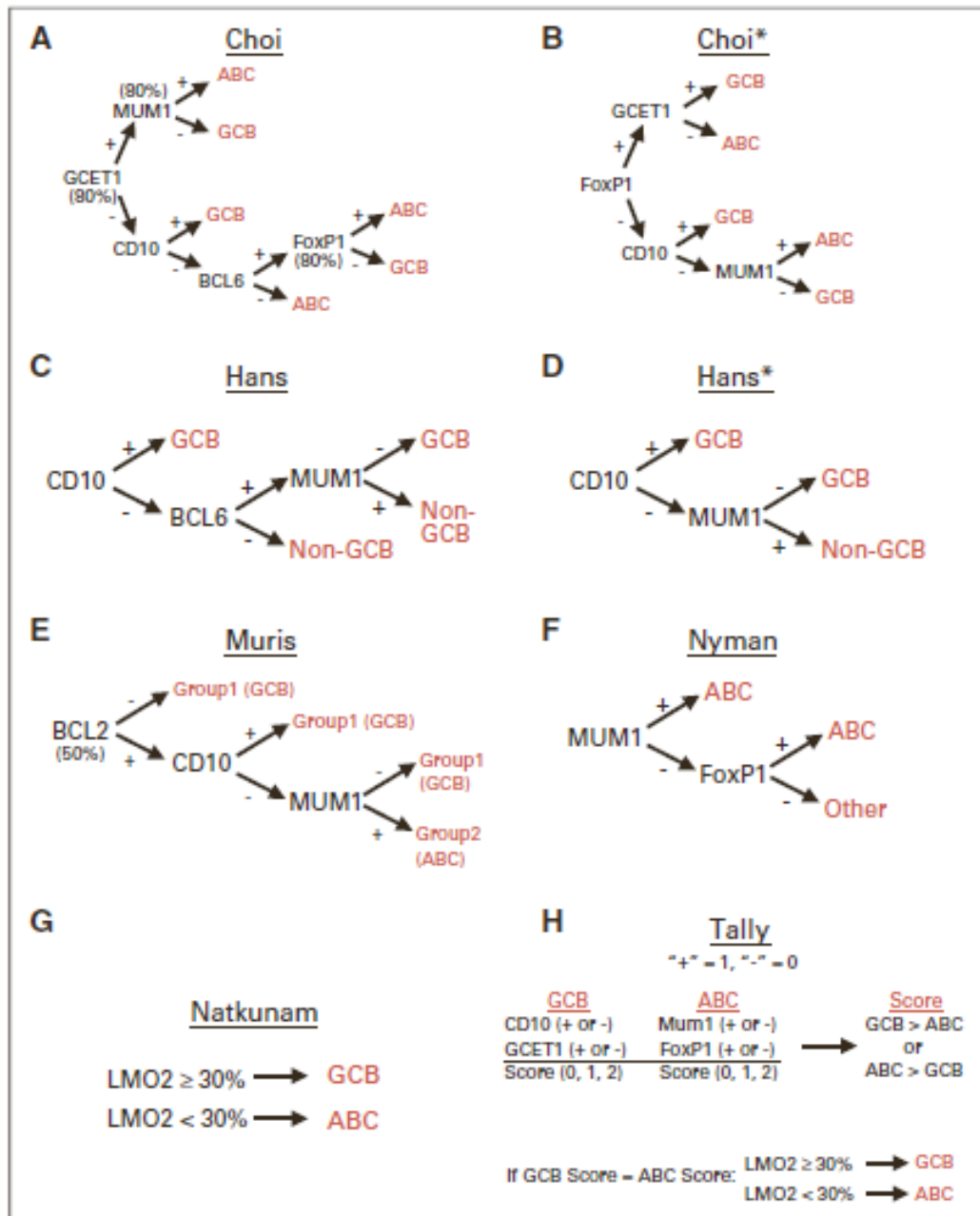
ตารางที่ 7 อัตราการหายจากโรค และอัตราการรอดชีวิตโดยรวมที่ 5 ปี ในผู้ป่วย DLBCL 128 ราย ตามปัจจัยการพยากรณ์โรค (ดัดแปลงจากเอกสารอ้างอิงที่ <sup>(29)</sup>)

	จำนวนผู้ป่วยที่มี ข้อมูลเพียงพอ	อัตราการหาย จากโรค (CR,%)	อัตราการรอด ชีวิตโดยรวมที่ 5 ปี (5-yr OS, %)	<i>P</i>
Bcl-2 expression				
• Negative( ≤ 25%)	52	62	57	0.03
• Positive ( > 25%)	74	54	34	
Differentiation pattern				
• GC-CD10+	24	50	40	Not significant
• GC-CD10-	30	69	54	
• pGC	60	55	42	

ในปี ค.ศ. 2011 Paul N. Meyer และคณะ<sup>(30)</sup> นำเสนอบทความชื่อ

Immunohistochemical Methods for Predicting Cell of Origin and Survival in Patients With Diffuse Large B-Cell Lymphoma Treated With Rituximab ซึ่งทำการศึกษาเปรียบเทียบเพื่อหาความสอดคล้องของการจำแนก immunophenotype แต่ละแบบกับ Gene Expression Profile (GEP) ที่ได้จากการตรวจด้วยวิธี microarray analysis พบว่า แผนภูมิของ Choi มีผลการตรวจที่สอดคล้องกับ GEP มากที่สุดถึง 87% รองลงมาคือ แผนภูมิของ Hans มีความสอดคล้อง 86% นอกจากนี้ยังพบว่าแผนภูมิของ Hans มีsensitivity 82%, specificity 90%, Positive predictive value 90%, Negative predictive value 82% และมีความแตกต่างของ OS และ EFS ในกลุ่ม GCB และ ABC อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังตารางที่ 8

รูปภาพที่ 9 แผนภูมิการย้อมอิมมูโนฮิสโตเคมี ที่ใช้ในการศึกษาของ Paul N. Meyer และคณะ



ตารางที่ 8 แสดงผลลัพธ์ของแต่ละแผนภูมิที่ใช้ในการตรวจ immunephenotype

Algorithm and immune-phenotype	No.	Conc (%)	Sens (%)	Spec (%)	PPV (%)	NPV (%)	Survival (%)	EFS HR 95%CI	OS HR 95%CI
<b>Choi</b>								2.5	2.4
GCB	83	87	85	89	89	85	78	1.5 to 4.3	1.3 to 4.4
ABC	86						86		
<b>Choi*</b>								2.3	1.9
GCB	83	87	85	89	89	85	84	1.4 to 3.9	1.1 to 3.4
ABC	87						81		
<b>Hans</b>								2.5	2.2
GCB	79	86	82	90	90	82	75	1.5 to 4.3	1.2 to 4.0
ABC	90						89		
<b>Hans*</b>								2.3	2.0
GCB	93	87	90	83	85	88	91	1.4 to 3.9	1.1 to 4.5
ABC	78						75		
<b>Muris</b>								3.4	3.2
GCB	122	77	99	54	69	98	125	2.0 to 5.8	1.8 to 5.6
ABC	45						38		
<b>Nyman</b>								1.7	1.6
GCB	62	81	67	95	94	73	62	1.0 to 3.0	0.9 to 2.9
ABC	108						105		
<b>Natkunam</b>								2.2	1.9
GCB	84	74	74	74	76	73	85	1.3 to 3.6	1.1 to 3.5
ABC	86						84		
<b>Tally</b>								2.5	2.2
GCB	76	93	86	99	99	87	69	1.4 to 4.4	1.2 to 4.1
ABC	94						87		

**NOTE.** The hazard ratio of GCB or its equivalent is set to 1 for each algorithm. Of the total number of patients analyzed, 130 have algorithm data, IPI data, and gene expression profile data determined by microarray analysis. Of those 130 patients, 122 have data for all algorithms, two patients are missing one algorithm, and an additional two patients are missing two algorithms.

**Abbreviations:** IPI, International Prognostic Index; IPT, immunophenotype determined by the algorithm; Conc, concordance; Sens, sensitivity; Spec, specificity; PPV, positive predictive value; NPV, negative predictive value; EFS, event-free survival; HR, hazard ratio; OS, overall survival; GCB, germinal center B-cell type; ABC, activated B-cell type; Choi\*, modified Choi algorithm; Hans\*, modified Hans algorithm.

### Biological prognostic factor

**Bcl-6** เป็น zinc-finger protein ซึ่งพบได้ใน germinal center B cell ทำหน้าที่เป็น transcriptional repressor เกี่ยวกับ cell differentiation<sup>(31)</sup> Bcl-6 จะมีการแสดงออกมากขึ้นใน proliferative germinal center cell (GC) และแสดงออกน้อยลงใน plasma cell ซึ่งวิวัฒนาการจาก GC

ในภาวะที่มี Bcl-6 rearrangement จะมีการแสดงออกของ Bcl-6 มากตลอดไป ทำให้ GC cell ไม่สามารถวิวัฒนาการไปเป็น plasma cell ได้ จึงเกิด clonal proliferation ของ large cell ใน germinal center อย่างไม่หยุดยั้ง จนกลายเป็น diffuse large B-cell lymphoma ดังนั้นผู้ป่วย DLBCL ที่มี Bcl6+ จึงมีการพยากรณ์โรคที่แยกว่ากลุ่มที่ Bcl6-ซึ่งมีการศึกษาของ Winter JN<sup>(32)</sup> สนับสนุนข้อมูลนี้

**Bcl-2** เป็น mitochondrial membrane-bound protein ที่มีบทบาทในการป้องกันเซลล์ตายด้วยกระบวนการ apoptosis Bcl-2 จะมีการแสดงออกมากขึ้นเมื่อเกิด t(14;18)(q32,q21) ผลคือเซลล์มะเร็งจะไม่ถูกทำลายด้วย apoptosis<sup>(31)</sup> ดังนั้นผู้ป่วย DLBCL ที่มี Bcl-2+ จึงมีการพยากรณ์โรคที่แย่ ดังการศึกษาของ Lluís Colomo และคณะ<sup>(29)</sup> ที่ได้กล่าวมาแล้ว

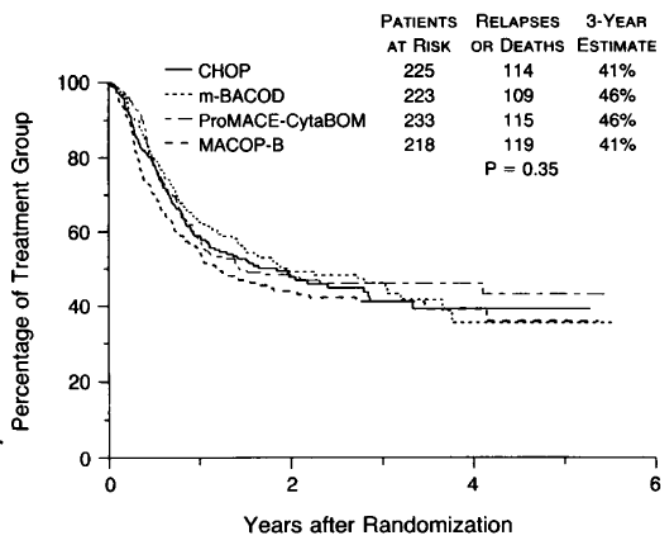
**MUM1** (multiple myeloma oncogene 1) gene<sup>(33)</sup> มีหน้าที่ทำให้เกิด lymphocyte activation และการเจริญขั้นสุดท้ายของ B cell (terminal B cell differentiation) แต่เมื่อเกิด t(6;14)(p25q32) ผลทำให้ MUM1 gene ถูกกระตุ้นทำงานมากกว่าปกติ พบใน DLBCL ชนิด activated B-cell (ABC)

### **2.6 การรักษา (Treatment)**

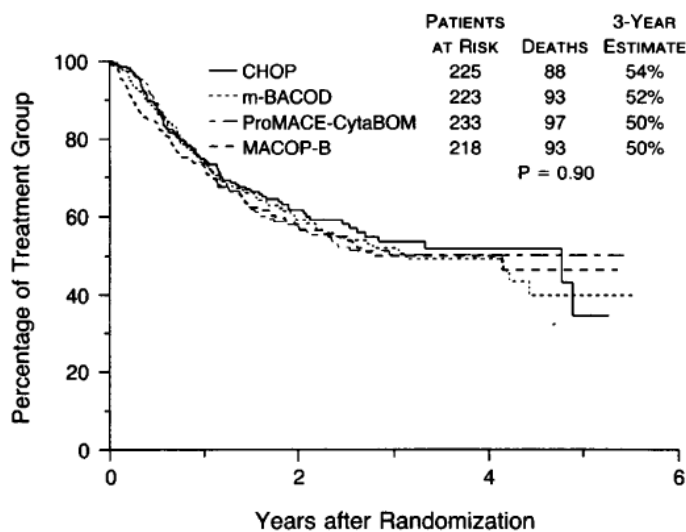
DLBCL ได้รับการรักษาให้หายขาดครั้งแรกด้วยเคมีบำบัด ราวปี ค.ศ.1975 โดย Vincent T. Devita และคณะ<sup>(34)</sup> ได้เสนอรายงานการรักษาผู้ป่วย DLBCL ด้วยเคมีบำบัดสูตรผสม M.O.P.P. หรือ C.-M.O.P.P. (nitrogen mustard (6 mg/m<sup>2</sup>), vincristine (1-4 mg/m<sup>2</sup>) วันที่ 1 และ 8 ของรอบเคมีบำบัด, procarbazine (100 mg/m<sup>2</sup>) 14 วันต่อรอบเคมีบำบัด และ prednisone (40 mg/m<sup>2</sup>) 14 วันต่อรอบเคมีบำบัด เฉพาะรอบที่ 1 และ 4 ของการรักษา ส่วน C.-M.O.P.P. จะใช้ cyclophosphamide (650 mg/m<sup>2</sup>) วันที่ 1 และ 8 แทน nitrogen mustard) หลังจากนั้น สถาบันต่างๆ ได้คิดสูตรเคมีบำบัดออกมาใช้หลายสูตร เช่น CHOP, ProMACE-MOPP, ProMACE-CytaBOM, MACOP-B, m-BACOD, COP-BLAM เป็นต้น<sup>(35-41)</sup>



ต่อมาในปี ค.ศ. 1993 Richard I. Fisher และคณะ<sup>(42)</sup> ได้เสนอการศึกษาทางคลินิกเปรียบเทียบการใช้เคมีบำบัดสูตร CHOP, m-BACOD, ProMACE-CytaBOM และ MACOP-B ในผู้ป่วย Advanced Non-Hodgkin's Lymphoma พบว่า แต่ละกลุ่มไม่แตกต่างกันในการตอบสนองต่อการรักษาทั้ง partial และ complete response นอกจากนี้ อัตราการรอดชีวิตโดยปราศจากโรคที่ 3 ปีของผู้ป่วยทั้งหมดเป็นร้อยละ 44 (41% ในกลุ่ม CHOP และ MACOP-B, 46% ในกลุ่ม m-BACOD และ Pro-MACE-CytaBOM;  $P = 0.35$ ) อัตราการรอดชีวิตโดยรวมที่ 3 ปี เป็นร้อยละ 52 (50% ในกลุ่ม Pro-MACE-CytaBOM และ MACOP-B, 52% ในกลุ่ม m-BACOD, 54% ในกลุ่ม CHOP;  $P = 0.90$ ) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในแต่ละกลุ่ม ดังแผนภูมิที่ 4 และ 5



แผนภูมิที่ 4 Time to Treatment Failure และอัตราการรอดชีวิตที่ 3 ปี เปรียบเทียบการใช้เคมีบำบัดสูตร CHOP, m-BACOD, ProMACE-CytaBOM และ MACOP-B



แผนภูมิที่ 5 Overall Survival และ 3-year OS เปรียบการใช้เคมีบำบัดสูตร CHOP, m-BACOD, ProMACE-CytaBOM และ MACOP-B

อย่างไรก็ตาม มีความแตกต่างกันของผลข้างเคียงที่รุนแรงในผู้ป่วยแต่ละกลุ่ม กล่าวคือ มีอัตราการเสียชีวิตจากการรักษา 1% ในกลุ่ม CHOP, 3% ในกลุ่ม Pro-MACE-CytaBOM, 5% ในกลุ่ม m-BACOD และ 6% ในกลุ่ม MACOP-B เมื่อรวมอัตราการเสียชีวิตจากการรักษาและอาการไม่พึงประสงค์จากยาที่เป็นอันตรายถึงชีวิตด้วยกันแล้ว พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในแต่ละกลุ่ม ( $P = 0.001$ ) ด้วยเหตุที่ CHOP ให้ผลการรักษาได้ดี ไม่แตกต่างจากเคมีบำบัดสูตรอื่น และมีผลข้างเคียงน้อยกว่า จึงกลายเป็นสูตรเคมีบำบัดที่ได้รับการยอมรับอย่างแพร่หลายตั้งแต่นั้นเป็นต้นมา

ในปี ค.ศ. 2002 Bertrand Coiffier และคณะ<sup>(43)</sup> ได้ตีพิมพ์บทความการวิจัยทางคลินิก ในผู้ป่วย DLBCL รายใหม่ ที่มีอายุในช่วง 60 ถึง 80 ปี (GELA study) เปรียบเทียบระหว่างการใช้ Rituximab-CHOP และ CHOP พบว่าการใช้ Rituximab ร่วมกับ CHOP ให้ผลการรักษาที่ดีกว่าการใช้ CHOP เพียงอย่างเดียว โดยไม่มีผลข้างเคียงที่รุนแรง กล่าวคือ อัตราการตอบสนองต่อการรักษาทั้ง complete response หรือ unconfirmed complete response เป็นร้อยละ 76 ในกลุ่มที่ได้รับ Rituximab ร่วมกับ CHOP เทียบกับร้อยละ 63 ในกลุ่มที่ได้รับ CHOP เพียงอย่างเดียว ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังตารางที่ 9

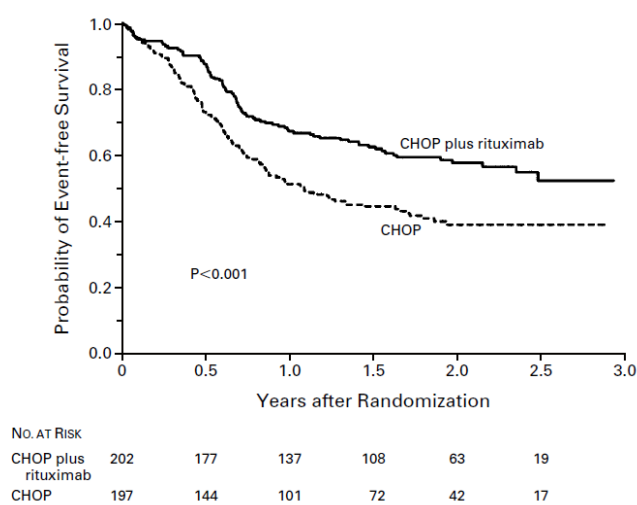
ตารางที่ 9 แสดงผลการตอบสนองต่อการรักษาด้วย CHOP หรือ CHOP ร่วมกับ Rituximab ในผู้ป่วย DLBCL รายใหม่ ที่มีอายุในช่วง 60 ถึง 80 ปี (GELA study)

Response to Treatment with CHOP or CHOP plus Rituximab *		
Response	CHOP plus Rituximab (N=202)	CHOP (N=197)
	No. (%)	
Complete response	106 (52)	72 (37)
Unconfirmed complete response	46 (23)	52 (26)
Partial response	15 (7)	11 (6)
Stable disease	2 (1)	1 (1)
Progressive disease	19 (9)	43 (22)
Death without progression	12 (6)	11 (6)
Could not be assessed †	2 (1)	7 (4)

\* International workshop criteria

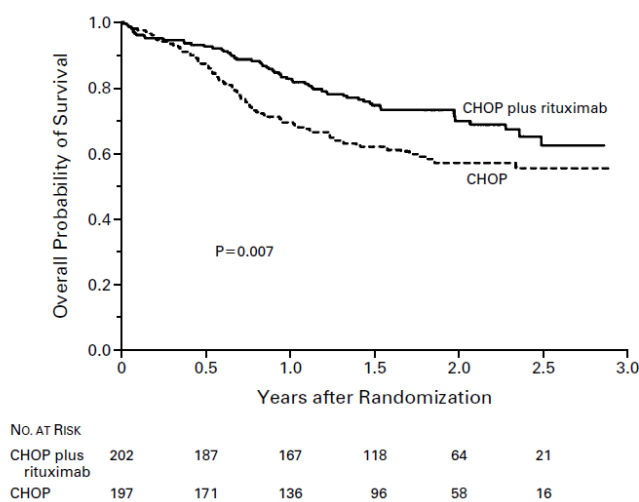
†หยุดการรักษาเนื่องจาก มีผลข้างเคียงจากการรักษา ผู้ป่วยขอหยุดการรักษา หรือผู้ทำการวิจัยให้หยุดการรักษาก่อนที่จะประเมินผลการรักษา

การศึกษาของ Bertrand Coiffier และคณะ ยังแสดงให้เห็นว่า การได้ Rituximab ร่วมกับ CHOP สามารถเพิ่มอัตราการรอดชีวิตโดยปราศจากโรค (Event-free survival) และ อัตราการรอดชีวิตโดยรวม (Overall survival) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแผนภูมิที่ 6 และ 7



แผนภูมิที่ 6 Event-free Survival ของผู้ป่วย 399 ราย ที่ได้ CHOP/R-CHOP (การศึกษา Bertrand Coiffier)

อัตราการรอดชีวิตโดยปราศจากโรคที่ 2 ปี (2-year Event-free survival) ในกลุ่มที่ได้ Rituximab ร่วมกับ CHOP เป็นร้อยละ 57 ส่วนกลุ่มที่ได้ CHOP เพียงอย่างเดียว เป็นร้อยละ 39 ( $P < 0.001$ )<sup>(43)</sup>



แผนภูมิที่ 7 Overall survival ของผู้ป่วย 399 ราย ที่ได้ CHOP/R-CHOP (การศึกษา Bertrand Coiffier)

อัตราการรอดชีวิตโดยรวมที่ 2 ปี (2-year overall survival) ในกลุ่มที่ได้ Rituximab ร่วมกับ CHOP เป็นร้อยละ 70 ส่วนกลุ่มที่ได้ CHOP เพียงอย่างเดียว เป็นร้อยละ 57 ( $P = 0.007$ ) และอัตราการรอดชีวิตโดยรวมที่ 10 ปี (10-year overall survival) เป็นร้อยละ 43.5 เทียบกับร้อยละ 27.6 ( $P = 0.005$ )

ในปี 2006 Michael Pfreundschuh และคณะ<sup>(44)</sup> นำเสนอบทความชื่อ CHOP-like chemotherapy plus rituximab versus CHOP-like chemotherapy alone in young patients with good-prognosis diffuse large-B-cell lymphoma: a randomised controlled trial by the MabThera International Trial (MInT) Group ศึกษาในผู้ป่วยทั้งหมด 824 ราย ช่วงอายุ 18-60 ปี, aalPI  $\leq 1$ , stage II-IV หรือ stage I ที่มีก้อนมะเร็งขนาดใหญ่ (bulky) จากนั้นสุ่มผู้ป่วยออกเป็นสองกลุ่ม กลุ่มแรกได้รับ CHOP-like chemotherapy ร่วมกับ rituximab ( $n = 413$ ) จำนวน 6 ครั้ง กลุ่มที่สองได้รับ CHOP-like chemotherapy เพียงอย่างเดียว ( $n = 411$ ) จำนวน 6 ครั้งเช่นกัน และผู้ป่วยที่มีก้อนขนาดใหญ่ (Bulky) หรือมีรอยโรคนอกต่อมน้ำเหลือง (extranodal sites) จะได้รับการฉายแสงร่วมด้วย ผลการศึกษาพบว่า ผู้ป่วยที่ได้รับ CHOP-like chemotherapy ร่วมกับ rituximab มี 3-year EFS สูงกว่ากลุ่มที่ได้ CHOP-like chemotherapy เพียงอย่างเดียว

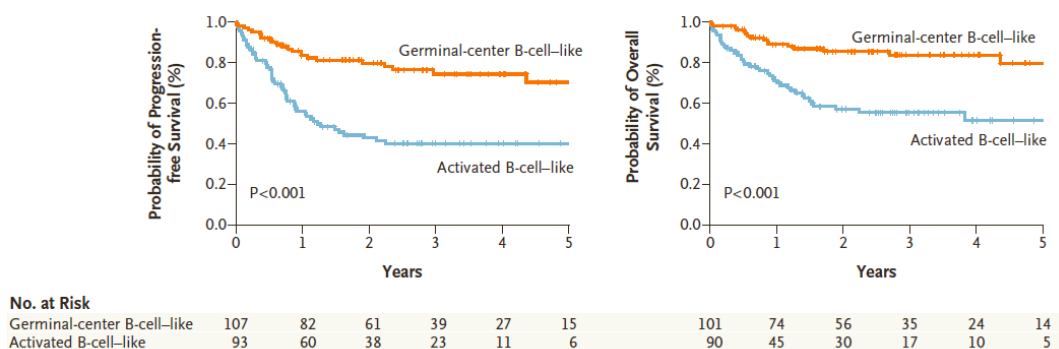
อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (79% [95% CI 75–83] เทียบกับ 59% [54–64]; log-rank  $p < 0.0001$ ) และกลุ่มที่ได้รับ CHOP-like chemotherapy ร่วมกับ rituximab ยังมี 3-year overall survival สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญ (93% [90–95] เทียบกับ 84% [80–88]; log-rank  $p = 0.0001$ ) จาก การศึกษานี้สรุปว่า การให้ Rituximab ร่วมกับ CHOP จำนวน 6 ครั้ง เป็นการรักษาที่มีประสิทธิภาพ ในผู้ป่วย DLBCL กลุ่มอายุน้อยที่มีความเสี่ยงต่ำ

ต่อมา หลายการศึกษาพยายามที่จะพัฒนาสูตรเคมีบำบัดที่มีประสิทธิภาพเหนือกว่า R-CHOP แต่ผลลัพธ์ที่ออกมา ก็ยังไม่มีสูตรเคมีบำบัดใดที่มีประสิทธิภาพเหนือกว่า<sup>(45, 46)</sup> นอกจาก การศึกษาของ Christian Recher และคณะ<sup>(47)</sup> ที่ทำการเปรียบเทียบ dose-intensive rituximab, doxorubicin, cyclophosphamide, vincristine, bleomycin และ prednisone (R-ACVBP) กับ standard rituximab, doxorubicin, cyclophosphamide, vincristine และ prednisone (R-CHOP) ผลการศึกษาพบว่า อัตราการรอดชีวิตโดยปราศจากโรคที่ 3 ปี (3-year progression-free survival) ของ R-ACVBP สูงกว่า R-CHOP อย่างมีนัยสำคัญ (87% [95% CI, 81–91] เทียบกับ 73% [66–79]; HR 0.48 [0.30–0.76];  $p = 0.0015$ ) และอัตราการรอดชีวิตโดยรวม (overall survival) ของ R-ACVBP ก็สูงกว่า R-CHOP อย่างมีนัยสำคัญ (92% [87–95] เทียบกับ 84% [77–89]; HR 0.44 [0.28–0.81];  $p = 0.0071$ ) อย่างไรก็ตาม ผู้ป่วยในกลุ่ม R-ACVBP จำนวน 82 ราย (42%) มี ผลข้างเคียงจากยาเคมีบำบัดที่รุนแรง สูงกว่ากลุ่มที่ได้ R-CHOP ที่เกิดเพียง 28 ราย (15%) นอกจากนี้ กลุ่มที่ได้ R-ACVBP ยังเกิด febrile neutropenia สูงกว่ากลุ่มที่ได้ R-CHOP (38% [75 ใน 196] เทียบกับ 9% [16 ใน 183])

นอกจากนี้ยังมีการศึกษา phase 2 trial ของ Wilson WH. และคณะ<sup>(48)</sup> ทำในผู้ป่วยราย ใหม่ DLBCL อายุ 18 ปีขึ้นไป ระยะของโรคตั้งแต่ 2 ขึ้นไป ได้รับยาเคมีบำบัดสูตร DA-EPOCH-R ผล การศึกษาที่มีระยะของการติดตามการรักษา 62 เดือน พบว่า time to progression เป็น 81% และ overall survival เป็น 84% และถ้าแบ่งกลุ่มตามความเสี่ยง IPI พบว่า time to progression ของกลุ่ม low/low-intermediate เป็น 87%, กลุ่ม high-intermediate เป็น 92% และกลุ่ม high risk เป็น 54% หากแบ่งตาม immunophenotype พบว่า 5-years event-free survival ของกลุ่ม GCB เทียบกับ Non-GCB เป็น 94% เทียบกับ 58%,  $P = 0.008$  อย่างไรก็ตาม การใช้ DA-EPOCH-R ในผู้ป่วยกลุ่ม high risk นั้นยังไม่ถือเป็นมาตรฐานการรักษา

ดังนั้น ปัจจุบันถือว่า R-CHOP-21 ซึ่งให้ยาเคมีบำบัดแต่ละรอบห่างกัน 21 วัน เป็นสูตรเคมี บำบัดมาตรฐานที่ใช้ในการรักษา DLBCL

การศึกษาของ G. Lenz และคณะ<sup>(49)</sup> ปี 2008 ในผู้ป่วย DLBCL รายใหม่จำนวน 414 ราย ซึ่งทุกรายได้รับการตรวจ GEP ในจำนวนนี้ 233 ราย ได้รับการรักษาด้วย R-CHOP พบว่ากลุ่ม GCB-DLBCL มี Overall Survival และ Progression free Survival สูงกว่ากลุ่ม ABC-DLBCL อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแผนภูมิที่ 8



แผนภูมิที่ 8 Kaplan-Meier curve ของ progression-free และ overall survival แยกตาม Gene-Expression ของผู้ป่วย DLBCL ที่ได้รับการรักษาด้วย R-CHOP

Kai Fu และคณะ<sup>(50)</sup> ทำการศึกษาในผู้ป่วย DLBCL รายใหม่ 243 ราย โดยทุกรายจะได้รับการแยกเป็นกลุ่ม GCB หรือ Non-GCB ด้วย Immunophenotype ตาม Hans criteria ในจำนวนนี้ ผู้ป่วย 131 ราย ได้รับการรักษาด้วย R-CHOP อีก 112 ราย ได้รับ CHOP เมื่อศึกษาในกลุ่มที่ได้ Rituximab พบว่า กลุ่ม GCB มี 3-year Overall Survival ดีกว่ากลุ่ม Non-GCB (85% vs 69%;  $P = 0.032$ ) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

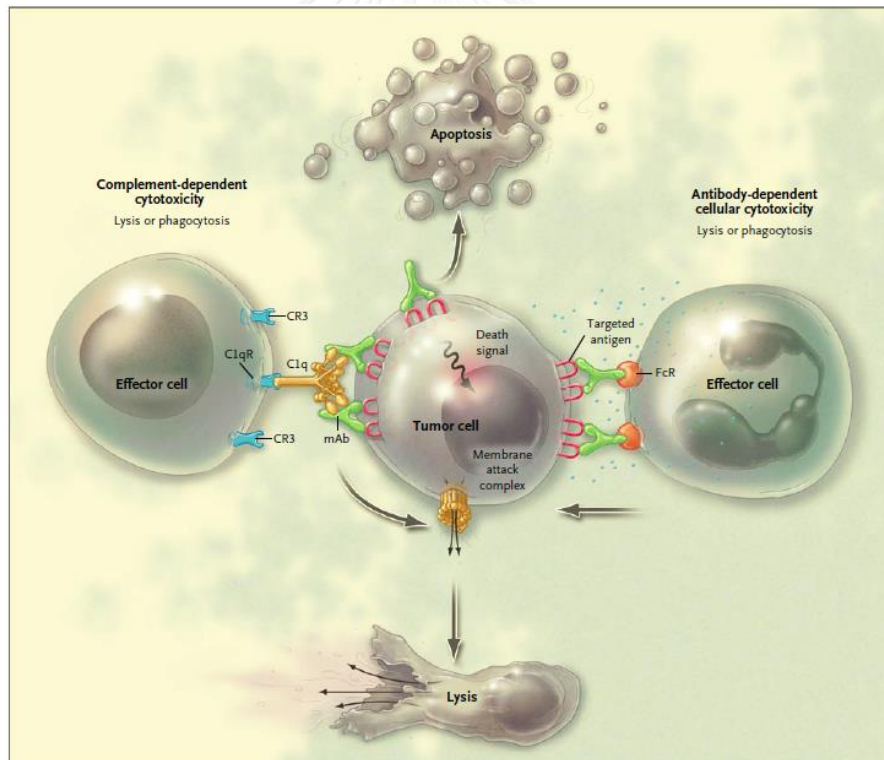
อย่างไรก็ตาม การศึกษาของ Heidi Nyman และคณะ<sup>(51)</sup> ในผู้ป่วย DLBCL รายใหม่ 194 ราย (104 ราย ได้รับการรักษาด้วย CHOP ส่วนอีก 90 ราย ได้รับ R-CHOP) พบว่า ที่ระยะเวลา 27 เดือน ผู้ป่วยกลุ่ม GCB มี OS ดีกว่ากลุ่ม Non-GCB เมื่อได้รับการรักษา CHOP (70% เทียบกับ 47%;  $P = 0.012$ ) แต่จะไม่แตกต่างกันถ้าได้รับการรักษาด้วย R-CHOP (77% เทียบกับ 76%;  $P = 0.936$ ) เช่นเดียวกับการศึกษาของ Ying Huang และคณะ<sup>(52)</sup> ทำการศึกษาผู้ป่วย DLBCL รายใหม่ในประเทศจีนจำนวน 204 ราย (107 ราย ได้รับการรักษาด้วย CHOP ส่วนอีก 97 รายได้รับ R-CHOP) พบว่า ผู้ป่วยกลุ่ม GCB มี 5-year OS ดีกว่ากลุ่ม Non-GCB เมื่อได้รับการรักษา CHOP (65.0% เทียบกับ 40.9%;  $P = 0.011$ ) แต่จะไม่แตกต่างกันถ้าได้รับการรักษาด้วย R-CHOP (76.5% เทียบกับ 61.3%;  $P = 0.141$ )

**Rituximab** เป็น monoclonal chimeric antibody ตัวแรกที่ประกอบด้วย human immunoglobulin G1 และ K constant region กับ murine variable region เป้าหมายของ Rituximab คือ B cell antigen CD20 ที่แสดงออกบนผิวของ B cell ปกติและมากกว่าร้อยละ 90 ของ B cell ที่เป็นมะเร็ง<sup>(53)</sup>

กลไกการออกฤทธิ์ของ Rituximab ในการทำลายเซลล์มะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิด B cell โดยผ่านทาง 3 กระบวนการคือ (ดังรูปภาพที่ 17 <sup>(54)</sup>)

- Complement-dependent toxicity (CDC)
- Antibody-dependent cellular cytotoxicity (ADCC)
- Induction of apoptosis

รูปภาพที่ 10 กลไกการออกฤทธิ์ของ Rituximab ในการทำลายเซลล์มะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิด B cell (ภาพจาก N Engl J Med 2008;359:613-26.)



CD20 เป็น transmembrane calcium channel ที่มีบทบาทในการกระตุ้นให้มีการแบ่งตัวและพัฒนาของ B cell เริ่มพบการแสดงออกของ CD20 ตั้งแต่ระยะ pre-B cell เป็นต้นไป แต่จะไม่พบในระยะที่ถูกกระตุ้นจนกลายเป็น plasma cell แล้ว ด้วยคุณสมบัตินี้เป็นข้อดี ทำให้ร่างกายผู้ป่วยยังสามารถสร้างแอนติบอดีได้ แม้ได้รับ anti-B-cell therapy แล้ว ช่วยลดผลกระทบต่อการถูกกดภูมิคุ้มกัน <sup>(54)</sup>

## บทที่ 3

### วิธีดำเนินการวิจัย

#### 3.1 รูปแบบการวิจัย

การศึกษาวิจัยแบบ Retrospective and Prospective cohort

#### 3.2 ระเบียบวิธีการวิจัย

- ประชากร (Population) และตัวอย่าง (Sample)

ได้แก่ ผู้ป่วยรายใหม่ ที่ได้รับการวินิจฉัยเป็น Diffuse large B-cell lymphoma ตาม WHO 2008 criteria ซึ่งได้รับการวินิจฉัยและรักษาที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ในช่วงเดือน มกราคม พ.ศ. 2552 ถึง ธันวาคม พ.ศ. 2557

- เกณฑ์การคัดเลือกกลุ่มตัวอย่างเข้าร่วมโครงการวิจัย (Inclusion Criteria)

- 1) อายุ  $\geq 18$  ปี
- 2) มีชิ้นเนื้อที่เพียงพอต่อการตรวจทาง Immunohistochemical stain และเป็นผลตรวจทางพยาธิวิทยาของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์
- 3) ผู้ป่วยรายใหม่ วินิจฉัยเป็น Diffuse large B-cell lymphoma ตาม WHO 2008 criteria รักษาด้วย Doxorubicin-based chemotherapy

- เกณฑ์การคัดเลือกกลุ่มตัวอย่างออกจากโครงการวิจัย (Exclusion Criteria)

- 1) Indolent lymphoma with subsequent transformation into a large-cell lymphoma
- 2) HIV associated lymphoma
- 3) Primary mediastinal B cell lymphoma
- 4) Primary CNS lymphoma
- 5) Primary effusion lymphoma



### 3.3 ขนาดตัวอย่าง (Sample size determination)

การคำนวณจำนวนประชากรตัวอย่าง (Dupont, 1990; Schoenfeld and Richter, 1982)

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

$$p = 1 - p_{\alpha} \exp\left(-\ln(2) \frac{F}{m}\right)$$

$$p_{\alpha} = 1 - \frac{\exp\left(-\ln(2) \frac{A}{m}\right)}{\ln(2) \frac{A}{m}}$$

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

- POWER: 90% ,  $\alpha = 0.05$
- A: accrual time during which subjects are recruited to the study  $\rightarrow$  5 year
- F: additional follow-up time after the end of recruitment.  $\rightarrow$  1 years
- C: median survival time for GCB group.  $\rightarrow$  10 years
- E: median survival time for Non-GCB group.  $\rightarrow$  2 years
- r: ratio of median survival times.  $r = E/C$
- $m = (C+E) / 2$

หมายเหตุ C และ E เป็นค่า median survival time ของผู้ป่วยกลุ่ม GCB และ Non-GCB จากการศึกษาของ Christine P. Hans และคณะ

คำนวณจำนวนประชากรตัวอย่างแต่ละกลุ่มได้ 25 คน และรวมกับค่าที่ข้อมูลอาจสูญหายอีกร้อยละ 20 จะได้จำนวนประชากรตัวอย่างแต่ละกลุ่มประมาณ 30 คน

### 3.4 ขั้นตอนในการดำเนินการวิจัย

1. ขอใบรับรองจริยธรรม จากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
2. ขออนุญาตทำวิจัยในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย จากผู้อำนวยการ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์
3. ค้นหารายชื่อผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยตาม ICD-10 เป็น C38.8 Large cell lymphoma ในช่วงเดือนมกราคม พ.ศ. 2552 ถึง ธันวาคม พ.ศ. 2557 จากข้อมูลของหน่วยงานสารสนเทศและเวชระเบียน
4. ตรวจสอบผลการตรวจทางพยาธิวิทยาของผู้ป่วยแต่ละรายทางคอมพิวเตอร์ เพื่อยืนยันข้อมูลการวินิจฉัยและคัดกลุ่มที่ตรงตาม exclusion criteria ออก
5. คัดรายชื่อผู้ป่วยที่ไม่เข้า Inclusion criteria ออก
6. ผลตรวจพยาธิวิทยาของผู้ป่วยรายใดที่ยังย้อม CD10, BCL6 และ MUM1 ไม่ครบทั้งสามชนิด จะมีการส่งตรวจเพิ่มเติมให้ครบ
7. ยืมแฟ้มประวัติผู้ป่วย เพื่อบันทึกและรวบรวมข้อมูล
8. วิเคราะห์ข้อมูล
9. สรุปผลการวิจัย วิเคราะห์ผล และนำเสนอต่อคณะกรรมการวิจัย

### 3.5 การรวบรวมข้อมูล

สถานที่เก็บข้อมูล : งานเวชระเบียน สำนักงานสารสนเทศ หอผู้ป่วยวชิราวุธบน  
 ผู้เก็บและบันทึกข้อมูล : ผู้ดำเนินการวิจัยเก็บและบันทึกข้อมูลในแบบบันทึก (ภาคผนวก ก.)  
 และรวบรวมข้อมูลกรอกลงในคอมพิวเตอร์โปรแกรม SPSS version 17

### 3.6 ข้อจำกัดในการวิจัย

1. เนื่องจากการศึกษาเป็นแบบ Retrospective cohort study จึงมีประชากรบางส่วนที่อาจไม่สามารถติดตามข้อมูลได้ครบถ้วน ข้อมูลสูญหาย
2. งบประมาณในการส่งตรวจเพิ่มเติมทาง immunohistochemistry มีราคาสูง

### 3.7 การเปิดเผยข้อมูลแสดงตัวตนของผู้ป่วย

ข้อมูลที่แสดงตัวตนของผู้ป่วยจะถูกเก็บไว้เป็นความลับ ไม่มีการนำข้อมูลที่แสดงตัวตนของผู้ป่วยมาเปิดเผยเด็ดขาด สำหรับการนำข้อมูลไปวิเคราะห์จะใช้รหัสแทนตัวผู้ป่วยแต่ละราย ในการตีพิมพ์ผลงานการวิจัยหรือนำเสนอผลงานวิชาการจะเสนอในภาพรวมของผลการวิจัย หากมีความจำเป็นต้องแสดงข้อมูลที่เป็นตัวตนของผู้ป่วย จะต้องได้รับความยินยอมจากผู้ป่วยเป็นลายลักษณ์อักษรเท่านั้น

### 3.8 การวิเคราะห์ข้อมูล

#### ข้อมูลพื้นฐานประชากร

- Categorical data นำเสนอเป็นความถี่หรือร้อยละ (Frequency, %) ได้แก่ เพศ, อาชีพ, โรคประจำตัว, Type of DLBCL, ECOG, stage, extranodal site, IPI score, Immunophenotype, chemotherapy regimen, outcome, relapsed or progressive disease
- Continuous data นำเสนอโดยใช้ Mean(SD) ได้แก่ อายุ

#### เปรียบเทียบข้อมูลประชากร 2 กลุ่ม

- Categorical data ใช้ Chi-Square หรือ Fisher's exact test
- Continuous data ได้แก่ อายุ ใช้ Mean estimation (2 independent sample) ด้วย Unpaired t-test

#### Survival Analysis

- Survival rate and standard error ได้แก่ OS, PFS ใช้ Kaplan-Meier methods, log-rank test
- Univariate analysis เพื่อดูความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรและอัตราการรอดชีวิตใช้ log-rank test
- Multivariate analysis เพื่อหาปัจจัยที่มีผลต่อ OS และ PFS ใช้ Cox regression analysis, Enter method

Statistical significant (two-sided)  $P < 0.05$

ใช้ SPSS version 17.0 ในการวิเคราะห์ข้อมูล

## บทที่ 4

### ผลการวิจัย

#### 4.1 คุณลักษณะของประชากรในการศึกษา

ผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยเป็น DLBCL ช่วง มกราคม พ.ศ. 2552 ถึง ธันวาคม พ.ศ. 2557 จำนวน 274 รายมี 119 ราย ที่ตรงตามเกณฑ์การคัดเลือกและมีข้อมูลเพียงพอต่อการศึกษา

ข้อมูลทั่วไปของประชากรที่นำมาศึกษามี เพศชาย 58 (48.7%) ราย เพศหญิง 61 (51.3%) ราย อายุเฉลี่ย 56 ( $\pm 14$ ) ปี (อายุอยู่ในช่วง 18 - 81 ปี) ผู้ป่วยส่วนใหญ่ไม่มีโรคประจำตัว ส่วนโรคประจำตัวที่พบมากที่สุดคือ ความดันโลหิตสูง (26.1%) รองลงมาคือเบาหวาน (16%) ดังตารางที่ 10

ตารางที่ 10 ข้อมูลพื้นฐานของประชากรที่นำมาศึกษา

ข้อมูลพื้นฐาน	จำนวน (n = 119)	ร้อยละ
เพศ		
- ชาย	58	48.7
- หญิง	61	51.3
อายุ (ปี)	ค่าเฉลี่ย = 56, ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน = 14	
โรคประจำตัว		
โรคหัวใจ	5	4.2
โรคความดันโลหิตสูง	31	26.1
โรคเบาหวาน	19	16.0
โรคไต	1	0.8

ตาม International prognostic index (IPI/age-adjusted IPI) มีจำนวนผู้ป่วยในกลุ่มความเสี่ยงต่ำ (Low risk, Low-intermediate risk) ร้อยละ 46.2 ใกล้เคียงกับกลุ่มความเสี่ยงสูง (High-intermediate risk, High risk) ร้อยละ 53.8% ผู้ป่วยส่วนใหญ่เป็นระยะที่ 3-4 ของโรค มี extranodal site  $\leq 1$  ตำแหน่ง และ serum LDH สูงกว่าระดับปกติ ดังตารางที่ 11

ตารางที่ 11 ข้อมูลทางคลินิกของประชากรที่นำมาศึกษา

ข้อมูลทางคลินิก	จำนวน (n = 119)	ร้อยละ
ระดับ LDH		
- ระดับ LDH ปกติ	38	31.9
- ระดับ LDH สูงกว่าปกติ	81	68.1
Performance Status		
- ECOG 0	47	39.5
- ECOG 1	30	25.2
- ECOG 2	22	18.5
- ECOG 3	15	12.6
- ECOG 4	5	4.2
ระยะของโรค (Stage)		
- Stage 1	12	10.1
- Stage 2	41	34.5
- Stage 3	29	24.4
- Stage 4	37	31.1
จำนวน Extranodal Site		
- ไม่มี	41	34.5
- Extranodal Site ≤ 1	61	51.3
- Extranodal Site > 1	17	14.3
International Prognostic Index (IPI/aa IPI)		
- Low risk	23	19.3
- Low-intermediate risk	32	26.9
- High-intermediate risk	35	29.4
- High risk	29	24.4
Chemotherapy regimens		
- CHOP	38	31.9
- Rituximab-CHOP	62	52.1
- Others †	19	16

**Abbreviations:** LDH, lactate dehydrogenase; ECOG, Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status; IPI, International Prognostic Index; aa IPI, age-adjusted International Prognostic Index; CHOP, Cyclophosphamide Doxorubicin Vincristine Prednisolone

† Other chemotherapy regimens ดังภาคผนวก ข

ตารางที่ 12 ข้อมูลพื้นฐานและข้อมูลทางคลินิกของประชากรที่นำมาศึกษา จำแนกตาม Cell of Origin

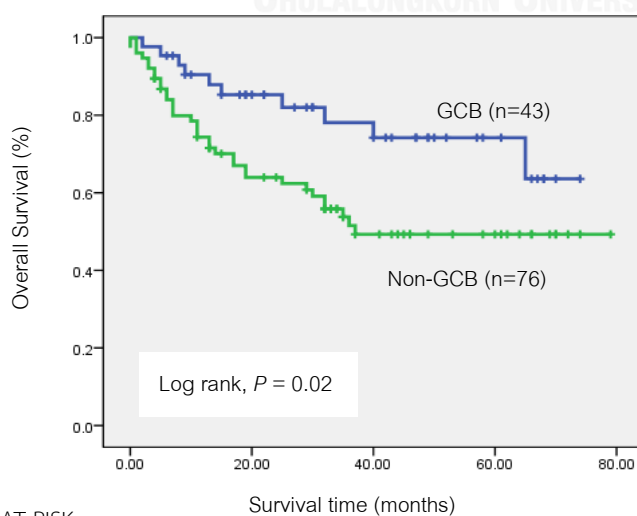
ข้อมูลพื้นฐาน	n (%)		p-value
	GCB (n=43)	Non-GCB (n=76)	
เพศ			0.246
- ชาย	24 (55.8)	34 (44.7)	
- หญิง	19 (44.2)	42 (55.3)	
อายุ (ปี); ค่าเฉลี่ย (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)	53 (15)	58 (13)	0.068
โรคประจำตัว			
โรคหัวใจ	0 (0.0)	5 (6.6)	0.158
โรคความดันโลหิตสูง	11 (25.6)	20 (26.3)	0.930
โรคเบาหวาน	6 (14.0)	13 (17.1)	0.652
โรคไต	1 (2.3)	0 (0.0)	0.361
Serum LDH			0.353
- Normal	16 (37.2)	22 (28.9)	
- High	27 (62.8)	54 (71.1)	
Stage			0.076
- 1	1 (2.3)	11 (14.5)	
- 2	19 (44.2)	22 (28.9)	
- 3	12 (27.9)	17 (22.4)	
- 4	11 (25.6)	26 (34.2)	
Extranodal site			0.741
- ไม่มี Extranodal	13 (30.2)	28 (36.8)	
- ≤ 1	23 (53.5)	38 (50.0)	
- > 1	7 (16.3)	10 (13.2)	
ECOG			0.130
- ECOG0	22 (51.2)	25 (32.9)	
- ECOG1	8 (18.6)	22 (28.9)	
- ECOG2	9 (20.9)	13 (17.1)	
- ECOG3	4 (9.3)	11 (14.5)	
- ECOG4	0 (0.0)	5 (6.6)	
IPI / aIPI			0.256
- Low risk	9 (20.9)	14 (18.4)	
- Low-intermediate risk	13 (30.2)	19 (25.0)	
- High-intermediate risk	15 (34.9)	20 (26.3)	
- High risk	6 (14.0)	23 (30.3)	
Chemotherapy regimen			0.658
- Control group	18 (41.9)	35 (46.1)	
- Rituximab group	25 (58.1)	41 (53.9)	

ผลการย้อมทาง immunohistochemistry แบ่งผู้ป่วยตาม Cell of Origin เป็นสองกลุ่มคือ GCB 43 ราย (36%) และ Non-GCB 76 ราย (64%) ในกลุ่ม GCB ส่วนใหญ่จะย้อมติดทั้ง CD10 และ BCL6 มี 24 ราย (55.82%) ส่วนที่เหลือ 6 ราย (13.95%) ย้อมติด CD10 เพียงอย่างเดียว อีก 13 ราย (30.23%) ย้อมติดเฉพาะ BCL6

ข้อมูลพื้นฐานประชากรเปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม GCB และ Non-GCB พบว่าไม่มีความแตกต่างกันของทั้งสองกลุ่ม ไม่ว่าจะเป็นเพศ อายุ โรคประจำตัว ระดับ serum LDH ระยะของโรค จำนวน Extranodal site Performance status International prognostic index และสูตรยาเคมีบำบัดที่ได้รับ ดังตารางที่ 12

#### 4.2 การวิเคราะห์ความแตกต่างของการรอดชีวิตในระยะยาว (Overall Survival) ระหว่างกลุ่ม GCB และ Non-GCB (จำนวน 119 ราย)

ณ เวลาที่วิเคราะห์ข้อมูล มีผู้ป่วยเสียชีวิต 44 ราย(37%) อีก 75 ราย(63%) ยังมีชีวิตอยู่ คำนวณระยะเวลาที่ติดตามการรักษา (median follow up time) 29 เดือน พบว่า คำนวณระยะเวลาของการรอดชีวิต (median overall survival) ของกลุ่ม Non-GCB แย่กว่ากลุ่ม GCB อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ [37 เดือน เทียบกับ not reach, HR =2.23, 95%CI 1.102-4.523, P = 0.013] อัตราการรอดชีวิตโดยรวมที่ 3 ปี (3-year overall survival) ของกลุ่ม Non-GCB ก็แย่กว่ากลุ่ม GCB อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ [49% เทียบกับ 74%, P = 0.02, log rank test] แผนภูมิที่ 9



แผนภูมิที่ 9 Kaplan-Meier survival curves แสดง overall survival เทียบระหว่างกลุ่ม GCB และ Non-GCB

ผลจากการวิเคราะห์ด้วย Cox multivariate proportional hazards analysis พบปัจจัยที่มีผลต่อ overall survival ของผู้ป่วย DLBCL คือ high serum LDH [Adjusted HR 2.40, 95%CI 1.043-5.524, P = 0.040], Stage 3-4 [Adjusted HR 2.278, 95%CI 1.064-4.878, P = 0.034] การได้รับเคมีบำบัด โดยไม่ได้รับ Rituximab [Adjusted HR 3.208, 95%CI 1.707-6.029, P < 0.001] และกลุ่ม Non-GCB [Adjusted HR 2.081, 95%CI 1.015-4.266, P = 0.045] ดังตารางที่ 13

ตารางที่ 13 ความสัมพันธ์ระหว่าง subtype และปัจจัยอื่นๆ กับการเสียชีวิตในระยะยาว

ปัจจัย	Univariable Model		Multivariable Model	
	Unadjusted HR (95% CI)	p-value	Adjusted HR (95% CI)	p-value
Subtype (Non-GCB vs GCB)	2.233 (1.102, 4.523)	0.026	2.081 (1.015, 4.266)	0.045
Age (> 60 vs ≤ 60)	1.280 (0.703, 2.328)	0.420	-	-
LDH level (High vs Normal)	3.382 (1.504, 7.604)	0.003	2.400 (1.043, 5.524)	0.040
Stage (Stage 3-4 vs Stage 1-2)	3.341 (1.681, 6.637)	0.001	2.278 (1.064, 4.878)	0.034
Extranodal site (> 1 vs ≤ 1)	2.763 (1.353, 5.640)	0.005	1.619 (0.740, 3.546)	0.228
ECOG (ECOG 2-4 vs ECOG 0-1)	2.634 (1.455, 4.768)	0.001	1.710 (0.898, 3.257)	0.102
Chemotherapy regimen (Control vs Rituximab group)	2.968 (1.594, 5.526)	0.001	3.208 (1.707, 6.029)	< 0.001

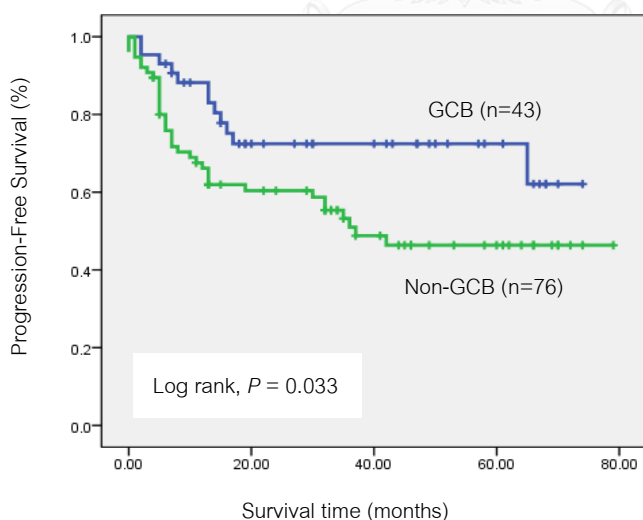
Abbreviations: Non-GCB, non-germinal center B-cell-like; GCB, germinal center B-cell-like; LDH, lactate dehydrogenase; ECOG, Eastern Cooperative Oncology Group



#### 4.3 การวิเคราะห์ความแตกต่างของการมีชีวิตอยู่โดยปราศจากโรคกำเริบ (Progression free survival) ระหว่างกลุ่ม GCB และ Non-GCB (จำนวน 119 ราย)

ที่ median follow up time 29 เดือน พบว่า ค่ามัธยฐานของการมีชีวิตอยู่โดยปราศจากโรคกำเริบ (median progression free survival) ของกลุ่ม Non-GCB แย่กว่ากลุ่ม GCB อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ [37 เดือน เทียบกับ not reach, HR =1.992, 95%CI 1.036-3.833,  $P = 0.019$ ] อัตราการมีชีวิตอยู่โดยปราศจากโรคกำเริบที่ 3 ปี (3-year progression free survival) ของกลุ่ม Non-GCB ก็แย่กว่ากลุ่ม GCB อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ [48% เทียบกับ 72%,  $P = 0.033$ , log rank test] แผนภูมิที่ 10

ผลจากการวิเคราะห์ด้วย Cox multivariate proportional hazards analysis พบปัจจัยที่มีผลต่อ progression free survival ของผู้ป่วย DLBCL คือ high serum LDH [Adjusted HR 2.213, 95%CI 1.010-4.850,  $P = 0.047$ ], Stage 3-4 [Adjusted HR 2.161, 95%CI 1.045-4.469,  $P = 0.038$ ] การได้รับเคมีบำบัด โดยไม่ได้รับ Rituximab [Adjusted HR 3.197, 95%CI 1.740-5.874,  $P < 0.001$ ] และ ECOG 2-4 [Adjusted HR 1.90, 95%CI 1.022-3.532,  $P = 0.043$ ] ดังตารางที่ 14



แผนภูมิที่ 10 Kaplan-Meier survival curves แสดง progression free survival เทียบระหว่างกลุ่ม GCB และ Non-GCB

No. AT RISK				
GCB	39	21	13	5
Non-GCB	72	33	17	6

ตารางที่ 14 ความสัมพันธ์ระหว่าง subtype และปัจจัยอื่นๆ กับการกำเริบของโรค (Progression)

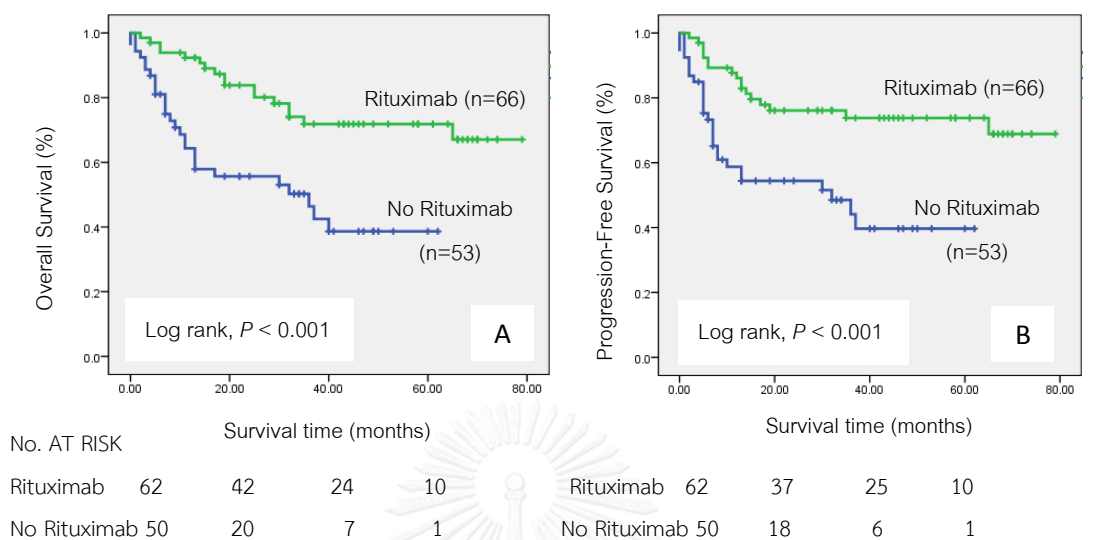
ปัจจัย	Univariable Model		Multivariable Model	
	Unadjusted HR (95% CI)	p-value	Adjusted HR (95% CI)	p-value
Subtype (Non-GCB vs GCB)	1.992 (1.036, 3.833)	0.039	1.782 (0.916, 3.469)	0.089
Age (> 60 vs ≤ 60)	1.259 (0.711, 2.229)	0.430	-	-
LDH level (High vs Normal)	3.234 (1.509, 6.931)	0.003	2.213 (1.010, 4.850)	0.047
Stage (Stage 3-4 vs Stage 1-2)	3.238 (1.680, 6.242)	< 0.001	2.161 (1.045, 4.469)	0.038
Extranodal site (> 1 vs ≤ 1)	2.585 (1.311, 5.096)	0.006	1.462 (0.694, 3.082)	0.318
ECOG (ECOG 2-4 vs ECOG 0-1)	2.930 (1.656, 5.184)	< 0.001	1.900 (1.022, 3.532)	0.043
Chemotherapy regimen (Control vs Rituximab group)	3.122 (1.714, 5.689)	< 0.001	3.197 (1.740, 5.874)	< 0.001

Abbreviations: Non-GCB, non-germinal center B-cell-like; GCB, germinal center B-cell-like; LDH, lactate dehydrogenase; ECOG, Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status; IPI, International Prognostic Index; aa IPI, age-adjusted International Prognostic Index

#### 4.4 การวิเคราะห์ความแตกต่างของการรอดชีวิตในระยะยาว (Overall Survival) และการมีชีวิตอยู่โดยปราศจากโรคกำเริบ (Progression free survival) ระหว่างกลุ่มที่ได้ Rituximab และ ไม่ได้ Rituximab (จำนวน 119 ราย)

การศึกษาเปรียบเทียบกลุ่มที่ได้รับการรักษาด้วย Rituximab ร่วมกับเคมีบำบัดสูตรมาตรฐาน (Rituximab group) และกลุ่มที่ได้เฉพาะเคมีบำบัดสูตรมาตรฐานเพียงอย่างเดียว (Control group) พบว่า Control group มี median overall survival แย่กว่ากลุ่ม Rituximab group [36 เดือน เทียบกับ not reach, HR =2.968, 95%CI 1.594-5.526,  $P < 0.001$ ] อัตราการรอดชีวิตโดยรวมที่ 3 ปี (3-year overall survival) ของกลุ่ม Control group ก็แย่กว่า Rituximab group [37% เทียบกับ 72%,  $P < 0.001$ , log rank test] Median progression free survival ของกลุ่ม Control group แย่กว่ากลุ่ม Rituximab group [32 เดือน เทียบกับ not reach, HR =1.992, 95%CI 1.036-3.833,  $P < 0.001$ ] อัตราการมีชีวิตอยู่โดยปราศจากโรคกำเริบที่ 3 ปี

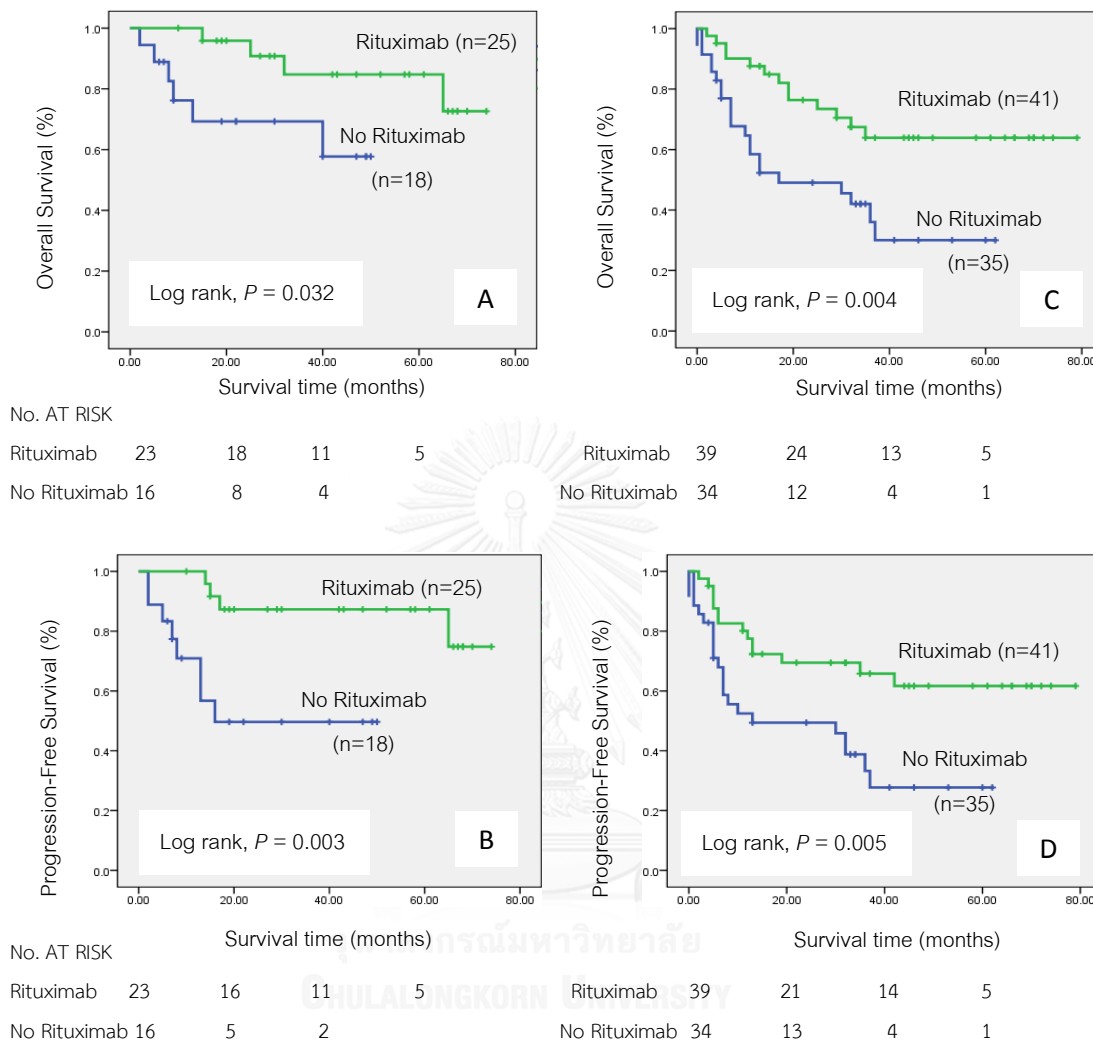
(3-year progression free survival) ของกลุ่ม Control group ก็แย่กว่ากลุ่ม Rituximab group [33% เทียบกับ 74%,  $P < 0.001$ , log rank test] ดังแผนภูมิที่ 11



แผนภูมิที่ 11 Kaplan-Meier survival curves แสดง overall survival (A) และ progression free survival (B) เทียบระหว่างกลุ่ม Rituximab กับ Control

#### 4.5 การวิเคราะห์ผลของ Rituximab ต่อการรอดชีวิตในระยะยาว (Overall Survival) และการมีชีวิตอยู่โดยปราศจากโรคกำเริบ (Progression free survival) ในกลุ่ม GCB และ Non-GCB

การวิเคราะห์ผู้ป่วยกลุ่ม GCB ที่ได้รับ Rituximab ร่วมกับเคมีบำบัดสูตรมาตรฐานในการรักษา (Rituximab group) พบว่ามี OS และ PFS ดีกว่ากลุ่มที่รับได้เคมีบำบัดสูตรมาตรฐานเพียงอย่างเดียว (Control group) [3-yr OS, 85% เทียบกับ 57%,  $P = 0.032$ , log rank test; 3-year PFS, 87% เทียบกับ 50%,  $P = 0.003$ , log rank test] Cox multivariate proportional hazards analysis พบปัจจัยที่มีผลต่อ OS ในกลุ่ม GCB คือ การได้รับ Rituximab ร่วมกับเคมีบำบัดสูตรมาตรฐาน [Adjusted HR 4.970, 95%CI 1.192-20.722,  $P = 0.028$ ] และมีโรคที่ Extranodal site  $\leq 1$  ตำแหน่ง [Adjusted HR 6.711, 95%CI 1.711-26.325,  $P = 0.006$ ] ส่วนปัจจัยที่มีผลต่อ PFS ในกลุ่ม GCB คือได้รับ Rituximab ร่วมกับเคมีบำบัดสูตรมาตรฐาน [Adjusted HR 5.818, 95%CI 1.532-22.098,  $P = 0.010$ ] และมีโรคที่ Extranodal site  $\leq 1$  ตำแหน่ง [Adjusted HR 3.631, 95%CI 1.087-12.132,  $P = 0.036$ ] ดังแผนภูมิที่ 12 ตารางที่ 15



**แผนภูมิที่ 12** Kaplan-Meier survival curves แสดง overall survival (A) และ progression free survival (B) ของกลุ่ม GCB; overall survival (C) และ progression free survival (D) ของกลุ่ม Non-GCB

การวิเคราะห์ผู้ป่วยกลุ่ม Non-GCB พบว่า Rituximab group มี OS และ PFS ดีกว่า Control group เช่นกัน [3-yr OS, 64% เทียบกับ 28%,  $P = 0.004$ ; 3-year PFS, 66% เทียบกับ 25%,  $P = 0.005$ , log rank test] Cox multivariate proportional hazards analysis พบปัจจัยที่มีผลต่อ OS ในกลุ่ม Non-GCB คือ การได้รับ Rituximab ร่วมกับเคมีบำบัดสูตรมาตรฐาน [Adjusted HR 2.903, 95%CI 1.434-5.874,  $P = 0.003$ ], Stage 3-4 [Adjusted HR 2.384,

95%CI 1.010-5.626,  $P = 0.047$ ] และ ECOG 2-4 [Adjusted HR 2.126, 95%CI 1.031-4.381,  $P = 0.041$ ] ส่วนปัจจัยที่มีผลต่อ PFS ในกลุ่ม Non-GCB คือ การได้รับ Rituximab ร่วมกับเคมีบำบัด สูตรมาตรฐาน [Adjusted HR 2.553, 95%CI 1.284-5.077,  $P = 0.008$ ], Stage 3-4 [Adjusted HR 2.439, 95%CI 1.011-5.880,  $P = 0.047$ ] และ ECOG 2-4 [Adjusted HR 2.118, 95%CI 1.031-4.350,  $P = 0.041$ ] ดังแผนภูมิที่ 12 และตารางที่ 16

ตารางที่ 15 แสดงปัจจัยที่มีผลต่อ overall และ progression free survival ของกลุ่ม GCB (43 ราย)

ปัจจัย	overall survival				progression free survival			
	Univariable Model		Multivariable Model		Univariable Model		Multivariable Model	
	Unadjusted HR (95% CI)	$P$	Adjusted HR (95% CI)	$P$	Unadjusted HR (95% CI)	$P$	Adjusted HR (95% CI)	$P$
Age (> 60 vs ≤ 60)	0.667 (0.140, 3.181)	0.612	-	-	0.745 (0.200, 2.771)	0.661	-	-
LDH level (High vs Normal)	3.476 (0.725, 16.664)	0.119	-	-	3.811 (0.829, 17.526)	0.086	-	-
Stage (Stage 3-4 vs Stage 1-2)	2.460 (0.627, 9.646)	0.197	-	-	1.800 (0.542, 5.983)	0.337	-	-
Extranodal site (> 1 vs ≤ 1)	5.343 (1.460, 19.560)	0.011	6.711 (1.711, 26.325)	0.006	3.627 (1.080, 12.182)	0.037	3.631 (1.087, 12.132)	0.036
ECOG (ECOG 2-4 vs ECOG 0-1)	1.510 (0.426, 5.356)	0.524	-	-	1.770 (0.561, 5.579)	0.330	-	-
Chemotherapy regimen (Control vs Rituximab group)	4.092 (1.016, 16.482)	0.047	4.970 (1.192, 20.722)	0.028	5.823 (1.529, 22.170)	0.010	5.818 (1.532, 22.098)	0.010

Abbreviations: GCB, germinal center B-cell-like; LDH, lactate dehydrogenase; ECOG, Eastern Cooperative Oncology Group

ตารางที่ 16 แสดงปัจจัยที่มีผลต่อ overall และ progression free survival ของกลุ่ม Non-GCB (76 ราย)

ปัจจัย	overall survival				progression free survival			
	Univariable Model		Multivariable Model		Univariable Model		Multivariable Model	
	Unadjusted HR (95% CI)	P	Adjusted HR (95% CI)	P	Unadjusted HR (95% CI)	P	Adjusted HR (95% CI)	P
Age (> 60 vs ≤ 60)	1.328 (0.678, 2.603)	0.408	-	-	1.316 (0.684, 2.532)	0.411	-	-
LDH level (High vs Normal)	3.173 (1.227, 8.209)	0.017	2.164 (0.809, 5.787)	0.124	2.755 (1.145, 6.630)	0.024	1.785 (0.705, 4.522)	0.222
Stage (Stage 3-4 vs Stage 1-2)	3.755 (1.693, 8.331)	0.001	2.384 (1.010, 5.626)	0.047	4.029 (1.828, 8.881)	0.001	2.439 (1.011, 5.880)	0.047
Extranodal site (> 1 vs ≤ 1)	2.321 (0.954, 5.644)	0.063	-	-	2.414 (1.051, 5.548)	0.038	1.322 (0.545, 3.209)	0.537
ECOG (ECOG 2-4 vs ECOG 0-1)	3.150 (1.591, 6.235)	0.001	2.126 (1.031, 4.381)	0.041	3.447 (1.764, 6.736)	< 0.001	2.118 (1.031, 4.350)	0.041
Chemotherapy regimen (Control vs Rituximab group)	2.639 (1.316, 5.289)	0.006	2.903 (1.434, 5.874)	0.003	2.530 (1.287, 4.973)	0.007	2.553 (1.284, 5.077)	0.008

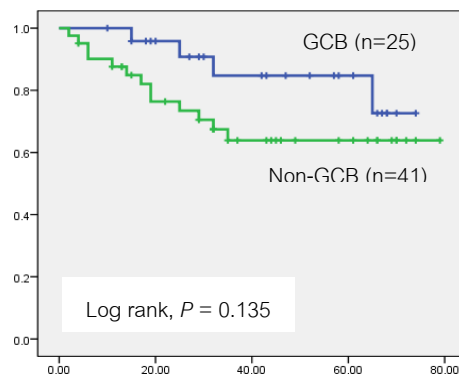
Abbreviations: Non-GCB, non-germinal center B-cell-like; LDH, lactate dehydrogenase; ECOG, Eastern Cooperative Oncology Group

#### 4.6 การวิเคราะห์ความแตกต่างของ Overall Survival และ Progression free survival ใน Rituximab group เทียบระหว่างกลุ่ม GCB และ Non-GCB (จำนวน 66 ราย)

ข้อมูลพื้นฐานประชากรกลุ่ม Rituximab group ที่นำมาศึกษา เมื่อแยกตาม cell of origin ไม่มีความแตกต่างกัน (ตารางที่ 17) ผลการวิเคราะห์เทียบระหว่างกลุ่ม GCB และ Non-GCB พบว่า 3-year OS และ 3-year PFS ไม่แตกต่างกัน [3-yr OS, 85% เทียบกับ 64%, P = 0.135, log rank test; 3-yr PFS 87% เทียบกับ 66%, P = 0.074, log rank test] (แผนภูมิที่ 13, 14)

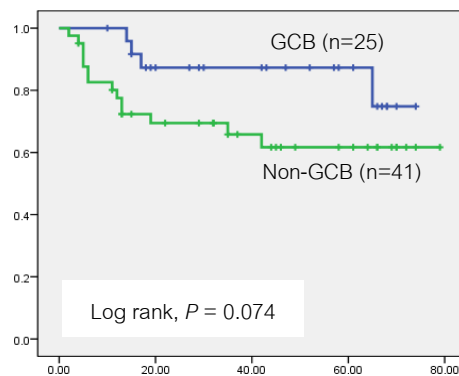
ตารางที่ 17 ข้อมูลพื้นฐานและข้อมูลทางคลินิก  
กลุ่ม Rituximab จำแนกตาม Cell of Origin

ข้อมูลพื้นฐาน	n (%)		p-value
	GCB (n=25)	Non-GCB (n=41)	
เพศ			0.706
ชาย	14 (56.0)	21 (51.2)	
หญิง	11 (44.0)	20 (48.8)	
อายุ (ปี); ค่าเฉลี่ย (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)	50 (16)	57 (12)	0.050
Serum LDH			0.314
Normal	11 (44.0)	13 (31.7)	
High	14 (56.0)	28 (68.3)	
Stage			0.490
1	1 (4.0)	6 (14.6)	
2	9 (36.0)	13 (31.7)	
3	8 (32.0)	9 (22.0)	
4	7 (28.0)	13 (31.7)	
Extranodal site			0.669
ไม่มี Extranodal	6 (24.0)	14 (34.1)	
<= 1	15 (60.0)	22 (53.7)	
> 1	4 (16.0)	5 (12.2)	
ECOG			0.620
ECOG0	13 (52.0)	17 (41.5)	
ECOG1	5 (20.0)	9 (22.0)	
ECOG2	5 (20.0)	7 (17.1)	
ECOG3	2 (8.0)	8 (19.5)	
ECOG4	0 (0.0)	0 (0.0)	
IPI			0.228
Low risk	7 (28.0)	9 (22.0)	
Low-intermediate risk	5 (20.0)	11 (26.8)	
High-intermediate risk	10 (40.0)	9 (22.0)	
High risk	3 (12.0)	12 (29.3)	
Abbreviations: GCB, germinal center B-cell-like; Non-GCB, non-germinal center B-cell-like; LDH, lactate dehydrogenase; ECOG, Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status; IPI, International Prognostic Index; aa IPI, age-adjusted International Prognostic Index			



	Survival time (months)			
No. AT RISK	0-20	20-40	40-60	60-80
GCB 23	18	11	5	
Non-GCB 39	24	13	6	

แผนภูมิที่ 14 Kaplan-Meier survival curves แสดง OS แยกตาม Cell of Origin ใน Rituximab group



	Survival time (months)			
No. AT RISK	0-20	20-40	40-60	60-80
GCB 23	16	11	5	
Non-GCB 39	21	14	5	

แผนภูมิที่ 13 Kaplan-Meier survival curves แสดง PFS แยกตาม Cell of Origin ใน Rituximab group

## บทที่ 5

### อภิปราย สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

#### อภิปรายผล

DLBCL เป็นโรคที่มีอาการ อาการแสดง การดำเนินของโรค และการตอบสนองต่อการรักษาที่แตกต่างกันในผู้ป่วยแต่ละคน ดังนั้นการมีเครื่องมือช่วยบอกการพยากรณ์ของโรค จึงเป็นสิ่งสำคัญต่อการวางแผนการรักษา

การศึกษานี้เป็นการศึกษาเชิงวิเคราะห์ แบบ retrospective cohort ร่วมกับ prospective ในผู้ป่วย DLBCL รายใหม่ ที่นำ Hans criteria มาใช้แยกจุดกำเนิดของเซลล์เป็นสองกลุ่มคือ GCB และ Non-GCB พบว่า ที่มีระยะเวลานานเวลาติดตาม 29 เดือน Non-GCB มี median overall survival time(OS) 37 เดือน เทียบกับ GCB = not reach [HR=2.23 (95%CI; 1.10-4.52),  $P = 0.013$ ] 3-year-OS ของ Non-GCB เป็น 49% เทียบกับ GCB 74% [ $P = 0.02$ , log-rank test] ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Hans และคณะ ที่พบว่า Non-GCB มี overall survival ที่แย่กว่า GCB [5-year OS 34% vs 76%,  $P < 0.001$ ]

กลุ่มประชากรที่นำมาศึกษามีความชุกของกลุ่ม Non-GCB ร้อยละ 64 สูงกว่ากลุ่ม GCB ที่มี ร้อยละ 36 จะเห็นได้ว่ามีความชุกของกลุ่ม Non-GCB สูงกว่าการศึกษาของ Hans (Non-GCB 58%, GCB 42%) เล็กน้อย อย่างไรก็ตาม ผลการศึกษาที่ได้ยังคงมีความสอดคล้องกับการศึกษาของ Hans และคณะ

จากการวิเคราะห์ตัวแปรเชิงพหุ มี 4 ปัจจัยที่สัมพันธ์กับการลดลงของอัตราการรอดชีวิต โดยรวม ได้แก่ high serum LDH [Adjusted HR 2.40, 95%CI 1.043-5.524,  $P = 0.040$ ], Stage 3-4 [Adjusted HR 2.278, 95%CI 1.064-4.878,  $P = 0.034$ ] การได้รับเคมีบำบัด โดยไม่ได้รับ Rituximab [Adjusted HR 3.208, 95%CI 1.707-6.029,  $P < 0.001$ ] และกลุ่ม Non-GCB [Adjusted HR 2.081, 95%CI 1.015-4.266,  $P = 0.045$ ]

จากการศึกษานี้ยังพบว่า 3-year PFS ของกลุ่ม Non-GCB ก็แย่กว่ากลุ่ม GCB อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ [48% vs 72%,  $P = 0.033$ , log rank test] การวิเคราะห์ผลของ Rituximab ต่อการรักษา พบว่า กลุ่มที่ได้ Rituximab ร่วมกับเคมีบำบัด มี 3-year OS และ 3-year PFS ดีกว่ากลุ่มที่ได้เคมีบำบัดเพียงอย่างเดียว [3-year OS: 72% vs 37%,  $P < 0.001$ ; 3-year PFS: 74% vs



33%,  $P < 0.001$ , log rank test] สอดคล้องกับสองการศึกษาก่อนหน้านี้ กล่าวคือ ในปี ค.ศ. 2002 Bertrand Coiffier และคณะ<sup>(43)</sup> (GELA study) เปรียบเทียบการใช้ Rituximab-CHOP กับ CHOP พบว่า อัตราการตอบสนองต่อการรักษาทั้ง complete หรือ unconfirmed complete response ในกลุ่มที่ได้ Rituximab-CHOP ดีกว่า CHOP เพียงอย่างเดียว [76% vs 63%,  $P = 0.005$ ] Rituximab-CHOP ยังสามารถเพิ่มทั้ง Event-free survival และ Overall survival [2-year EFS: 57% vs 39%,  $P < 0.001$ ; 2-year OS: 70% vs 57%,  $P = 0.007$ ] อีกการศึกษา ในปี 2006 Michael Pfreundschuh และคณะ<sup>(44)</sup> (MInT study) พบว่า ผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาด้วย CHOP ร่วมกับ rituximab ก็มี EFS และ OS สูงกว่ากลุ่มที่ได้ CHOP เพียงอย่างเดียว [3-year EFS: 79% vs 59%,  $P < 0.0001$ ; 3-year OS: 93% vs 84%,  $P = 0.0001$ ]

การวิเคราะห์ผลของการได้รับ Rituximab ร่วมกับเคมีบำบัดในการรักษาผู้ป่วยกลุ่ม GCB และ Non-GCB พบว่า Rituximab สามารถเพิ่ม OS และ PFS ได้ในผู้ป่วยทั้งสองกลุ่ม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังตารางที่ 18

ตารางที่ 18 ผลของ Rituximab ที่มีต่อ OS และ PFS ในกลุ่ม GCB และ Non-GCB

ผลของ Rituximab ที่มีต่อ OS และ PFS ในกลุ่ม GCB และ Non-GCB						
Cell of Origin	3-year overall survival			3-year progression free survival		
	Rituximab group	Control group	$P$ log rank test	Rituximab group	Control group	$P$ log rank test
GCB	85%	57%	$P = 0.032$	87%	50%	$P = 0.003$
Non-GCB	64%	28%	$P = 0.004$	66%	25%	$P = 0.005$

เมื่อเทียบตาม Cell of Origin ดูเหมือนว่า Non-GCB ก็ยังคงมีการพยากรณ์โรคที่แย่มากกว่า GCB ซึ่งน่าจะเป็นไปตาม 2 การศึกษาก่อนหน้านี้ คือ ในปี 2008 ของ G. Lenz และคณะ<sup>(49)</sup> นำผู้ป่วย DLBCL รายใหม่จำนวน 414 ราย ทุกรายได้รับการตรวจ GEP ในจำนวนนี้ 233 ราย ได้รับการรักษาด้วย R-CHOP พบว่ากลุ่ม GCB-DLBCL มี OS และ PFS สูงกว่ากลุ่ม ABC-DLBCL อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การศึกษาต่อมาของ Kai Fu และคณะ<sup>(50)</sup> ทำในผู้ป่วย DLBCL รายใหม่ 243 ราย โดยทุกรายจะได้รับการแยกเป็นกลุ่ม GCB หรือ Non-GCB ด้วย Immunophenotype ตาม Hans criteria ในจำนวนนี้ ผู้ป่วย 131 ราย ได้รับการรักษาด้วย R-CHOP อีก 112 ราย ได้รับ CHOP เมื่อวิเคราะห์กลุ่มที่ได้ Rituximab พบว่า กลุ่ม GCB มี 3-year Overall Survival ดีกว่ากลุ่ม Non-GCB [85% vs 69%;  $P = 0.032$ ]

อย่างไรก็ตาม ในการศึกษาี้ เมื่อวิเคราะห์ย่อยเฉพาะกลุ่มที่ได้ Rituximab พบว่า ไม่มี ความแตกต่างกันทั้ง OS และ PFS ระหว่างกลุ่ม GCB และ Non-GCB ทั้งนี้เนื่องจาก เมื่อจำนวน ประชากรที่ศึกษาน้อยเกินไป เมื่อเทียบกับของ G.Lenz และ Kai Fu

### จุดแข็งของการวิจัย

เป็นการศึกษารวบรวมข้อมูล เพื่อพยากรณ์โรคตามจุดกำเนิดของเซลล์ในผู้ป่วย DLBCL ครั้งแรกในประเทศไทย

### ข้อจำกัดในการวิจัย

ข้อจำกัดของการศึกษาี้คือ ประชากรที่นำมาศึกษาส่วนใหญ่ได้มาจากส่วนที่เป็น การศึกษาแบบ retrospective cohort ถึง 96% เนื่องจากมีข้อจำกัดเกี่ยวกับระยะเวลาที่จะ ทำการศึกษาไปข้างหน้า

ชิ้นเนื้อของผู้ป่วยทุกรายได้รับการตรวจทางพยาธิวิทยาโดยพยาธิแพทย์ผู้เชี่ยวชาญท่าน เดียวกัน แต่ในส่วนของชิ้นเนื้อที่ย้อมเพิ่มเติมมีการนำไปอ่านผลย้อม immunohistochemistry ด้วย โปรแกรมคอมพิวเตอร์ ซึ่งเมื่อนำมาตรวจสอบกับพยาธิแพทย์ภายหลังพบว่า มีผลอ่านไม่ตรงกับพยาธิ แพทย์จำนวน 4 ราย ใน 30 ราย (2 ราย อ่านผิดจาก GCB เป็น Non-GCB และอีก 2 ราย อ่านผิด จาก Non-GCB เป็น GCB) อย่างไรก็ตาม ถือว่ามีจำนวนน้อยมากเมื่อเทียบกับจำนวนผู้ป่วยทั้งหมด 119 ราย

### สรุปผล

DLBCL ในประชากรไทยส่วนใหญ่เป็นกลุ่ม Non-GCB โดย Hans criteria ซึ่ง subtype นี้ เป็นตัวแปรที่สัมพันธ์กับอัตราการรอดชีวิตโดยรวมที่สั้นลง การให้ Rituximab ร่วมกับ Antracycline-based chemotherapy สามารถเพิ่ม overall survival และ progression free survival ได้ทั้งกลุ่ม GCB และ Non-GCB ในผู้ป่วย DLBCL ชาวไทย

### ข้อเสนอแนะ

การศึกษาต่อไปในอนาคตคือ นำชิ้นเนื้อที่มีอยู่ของการศึกษาี้ ไปตรวจหาจุดกำเนิด ของเซลล์โดยใช้ Gene Expression Profile เพื่อหาความไว ความจำเพาะของวิธี TMA และดูความ สอดคล้องของการพยากรณ์โรค นอกจากนี้ การศึกษาแบบ prospective study มีความจำเป็นใน การช่วยยืนยันผลของการศึกษาี้

## รายการอ้างอิง

1. Bunvorasate U. Thai lymphoma study group. *Blood* 2011;118:S2064.
2. Armitage JO. A clinical evaluation of the International Lymphoma Study Group classification of non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* 1997;89:3909-18.
3. Carbone PP, Kaplan HS, Musshoff K, Smithers DW, Tubiana M. Report of the Committee on Hodgkin's Disease Staging Classification. *Cancer Res* 1971;31:1860-1.
4. Rosenberg SA. Validity of the Ann Arbor staging classification for the non-Hodgkin's lymphomas. *Cancer Treat Rep* 1977;61:1023-7.
5. Shipp MA, Harrington DP, Anderson JR, Armitage JO, Bonadonna G, Brittinger G, et al. A predictive model for aggressive non-Hodgkin's lymphoma. The International Non-Hodgkin's Lymphoma Prognostic Factors Project. *N Engl J Med* 1993;329:987-94.
6. Rosenwald A, Wright G, Chan WC, Connors JM, Campo E, Fisher RI, et al. The use of molecular profiling to predict survival after chemotherapy for diffuse large B cell lymphoma. *Blood* 2002;346:1937-47.
7. Hans CP, Weisenburger DD, Greiner TC, Gascoyne RD, Delabie J, Ott G, et al. Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray. *Blood* 2004;103:275-82.
8. Cheson BD, Pfistner B, Juweid ME, Gascoyne RD, Specht L, Horning SJ, et al. Revised response criteria for malignant lymphoma. *J Clin Oncol* 2007;25:579-86.
9. Fugmann SD, Lee AI, Shockett PE, Villey IJ, Schatz DG. The RAG Proteins and V(D)J Recombination: Complexes, Ends, and Transposition. *Annu Rev Immunol* 2000;18:495-527.
10. Paraskevas F. B Lymphocytes. In: Greer JP, Arber DA, Glader B, List AF, Means RT Jr, Paraskevas F, et al., editors. *Wintrobe's clinical hematology*. 13th ed. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins; 2014.
11. Teillaud JL, Desaymard C, Giusti AM, Haseltine B, Pollock RR, Yelton DE, et al. Monoclonal Antibodies Reveal the Structural Basis of Antibody Diversity *Science* 1983;222:721-6.
12. Stevenson FK, Sahota SS, Ottensmeier CH, Zhu D, Forconi F, Hamblin TJ. The Occurrence and Significance of V Gene Mutations in B Cell-Derived Human Malignancy. *Adv Cancer Res* 2001;83:81-116.
13. Kraal G, Weissman IL, Butcher EC. Germinal centre B cells: antigen specificity and changes in heavy chain class expression. *Nature* 1982;298:377-9.

14. Kuppers R. Mechanisms of B-cell lymphoma pathogenesis. *nature review cancer* 2005;5:251-62.
15. Kuppers R, Klein U, Hansmann ML, Rajewsky K. Cellular origin of human B-cell lymphomas. *N Engl J Med* 1999;341:1520-9.
16. Macon WR, Kurtin PJ, Dogan A. Diagnosis and Classification of Lymphomas. In: Greer JP, Arber DA, Glader B, List AF, Means RT Jr, Paraskevas F, et al., editors. *Wintrobe's clinical hematology*. 13th ed. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins; 2014. p. 1780-2.
17. Stein H, Warnke RA, Chan WC, Jaffe ES, Chan JKC, Gatter KC, et al. Diffuse large B-cell lymphoma, not otherwise specified. In: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, et al., editors. *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. France: International Agency for Research on Cancer(IARC); 2008. p. 233-7.
18. Diebold J, Anderson JR, Armitage JO, Connors JM, Maclennan KA, Muller-Hermelink HK, et al. Diffuse Large B-cell Lymphoma: A Clinicopathologic Analysis of 444 Cases Classification According to the Updated Kiel Classification. *leukemia & Lymphoma* 2002;43:97-104.
19. Loddenkemper C, Anagnostopoulos I, Hummel M, Leder KJ, Foss HD, Jundt F, et al. Differential Eμ enhancer activity and expression of BOB.1/OBF.1, Oct2, PU.1, and immunoglobulin in reactive B-cell populations, B-cell non-Hodgkin lymphomas, and Hodgkin lymphomas. *J Pathol* 2004;202:60-9.
20. Nera KP, Kohonen P, Narvi E, Peippo A, Mustonen L, Terho P, et al. Loss of Pax5 Promotes Plasma Cell Differentiation. *Immunity* 2006;24:283-93.
21. Davis TA, Czerwinski DK, Levy R. Therapy of B-Cell Lymphoma with Anti-CD20 Antibodies Can Result in the Loss of CD20 Antigen Expression. *Clin Cancer Res* 1999;5:611-5.
22. Yamaguchi M, Seto M, Okamoto M, Ichinohasama R, Nakamura N, Yoshino T, et al. De novo CD5+ diffuse large B-cell lymphoma: a clinicopathologic study of 109 patients. *blood* 2002;99:815-21.
23. Lossos IS, Morgensztern D. Prognostic Biomarkers in Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *J Clin Oncol* 2006;24:995-1007.
24. Armitage JO, Weisenburger DD. New Approach to Classifying Non-Hodgkin's Lymphomas: Clinical Features of the Major Histologic Subtypes. *J Clin Oncol* 1998;16:2780-95.
25. Campbell J, Seymour JF, Matthews J, Wolf M, Stone J, Juneja S. The prognostic impact of bone marrow involvement in patients with diffuse large cell lymphoma

- varies according to the degree of infiltration and presence of discordant marrow involvement. *Eur J Haematol* 2006;76:473-80.
26. Chung R, Lai R, Wei P, Lee J, Hanson J, Belch AR, et al. Concordant but not discordant bone marrow involvement in diffuse large B-cell lymphoma predicts a poor clinical outcome independent of the International Prognostic Index. *Blood* 2007;110:1278-82.
  27. Harris NL, Jaffe ES, Stein H, Banks PM, Chan JKC, Cleary ML, et al. A Revised European-American Classification of Lymphoid Neoplasms: A Proposal From the International Lymphoma Study Group. *Blood* 1994;84:1361-92.
  28. Alizadeh AA, Eisen MB, Davis RE, Ma C, Lossos IS, Rosenwald A, et al. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature* 2000;403:503-11.
  29. Colomo L, Lopez-Guillermo A, Perales M, Rives S, Martinez A, Bosch F, et al. Clinical impact of the differentiation profile assessed by immunophenotyping in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 2003;101:78-84.
  30. Meyer PN, Fu K, Greiner TC, Smith LM, Delabie J, Gascoyne RD, et al. Immunohistochemical methods for predicting cell of origin and survival in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab. *J Clin Oncol* 2011;29:2007.
  31. Kim AS. Molecular genetic aspects of Non-Hodgkin lymphomas. In: Greer JP, Arber DA, Glader B, List AF, Means RT Jr, Paraskevas F, et al., editors. *Wintrobe's clinical hematology*. 13th ed. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins; 2014. p. 1801-26.
  32. Winter JN, Weller EA, Horning SJ, Krajewska M, Variakojis D, Habermann TM, et al. Prognostic significance of Bcl-6 protein expression in DLBCL treated with CHOP or R-CHOP: a prospective correlative study. *Blood* 2006;107:4207-13.
  33. Tsuboi K, Lida S, Inagaki H, Kato M, Hayami Y, Hanamura I. MUM1/IRF4 expression as a frequent in mature lymphoid malignancy. *Leukemia* 2000;14:449-56.
  34. Devita VT, Canellos GP, Chabner B, Schein P, Hubbard SP, Young RC. Advanced diffuse histiocytic lymphoma, a potentially curable disease. *Lancet* 1975;1:248-50.
  35. Armitage JO, Dick FR, Corder MP, Garneau SC, Platz CE, Slymen DJ. Predicting Therapeutic Outcome in Patients with Diffuse Histiocytic Lymphoma Treated with Cyclophosphamide, Adriamycin, Vincristine and Prednisone (CHOP). *Cancer* 1982;50:1695-720.
  36. Laurence J, Coloman M, Allen SL, Silver RT, Pasmantier M. Combination Chemotherapy of Advanced Diffuse Histiocytic Lymphoma with the Six-Drug COP-BLAM Regimen. *Ann Intern Med* 1982;97:190-5.
  37. Klimo P, Connors JM. MACOP-B Chemotherapy for the Treatment of Diffuse Large-Cell Lymphoma. *Ann Intern Med* 1985;102:596-602.

38. Shipp MA, Harrington DP, Klatt MM, Jochelson MS, Pinmus GS, Marshall JL, et al. Identification of Major Prognostic Subgroups of Patients with Large-Cell Lymphoma Treated with m-BACOD or M-BACOD. *Ann Intern Med* 1986;104:757-65.
39. Longo DL, DeVita VT, Duffey PL, Wesley MN, Ihde DC, Hubbard SM, et al. Superiority of ProMACE-CytaBOM over ProMACE-MOPP in the treatment of advanced diffuse aggressive lymphoma: result of a prospective randomized trial. *J Clin Oncol* 1991;9:25-38.
40. Fisher RI, Devita VT, Hubbard SM, Longo DL, Wesley R, Chabner BA, et al. Diffuse aggressive lymphomas: increased survival after alternating flexible sequences of ProMACE and MOPP chemotherapy. *Ann Intern Med* 1983;98:304-9.
41. Skarin AT, Canellos GP, Rosenthal DS. Improved prognosis of diffuse histiocytic and undifferentiated lymphoma by use of high dose methotrexate alternating with standard agents (M-BACOD). *J Clin Oncol* 1983;1:91-8.
42. Fisher RI, Gaynor ER, Dahlborg S, Oken MM, Grogan TM, Mize EM, et al. Comparison of a standard regimen (CHOP) with three intensive chemotherapy regimens for advanced non-Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med* 1993;328:1002-6.
43. Coiffier B, Lepage E, Briere J, Herbrecht R, Tilly H, Bouabdallah R, et al. CHOP Chemotherapy plus rituximab compared with CHOP alone in elderly patients with diffuse large-B-cell lymphoma. *N Engl J Med* 2002;346:235-42.
44. Pfreundschuh M, Trumper L, Osterborg A, Pettengell R, Trneny M, Imrie K, et al. CHOP-like chemotherapy plus rituximab versus CHOP-like chemotherapy alone in young patients with good-prognosis diffuse large-B-cell lymphoma: a randomised controlled trial by the MabThera International Trial (MInT) Group. *Lancet Oncol* 2006;7:379-91.
45. Cunningham D, Hawkes EA, Jack A, Qian W, Smith P, Mouncey P, et al. Rituximab plus cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisolone in patients with newly diagnosed diffuse large B-cell non-Hodgkin lymphoma: a phase 3 comparison of dose intensification with 14-day versus 21-day cycles. *Lancet* 2013;381:1817-26.
46. Schmitz N, Nickelsen M, Ziepert M, Haenel M, Borchmann P, Schmidt C, et al. Conventional chemotherapy (CHOEP-14) with rituximab or high-dose chemotherapy (MegaCHOEP) with rituximab for young, high-risk patients with aggressive B-cell lymphoma: an open-label, randomised, phase 3 trial (DSHNHL 2002-1). *Lancet Oncol* 2012;13:1250-9.
47. Recher C, Coiffier B, Haioun C, Molina TJ, Fermé C, Casasnovas O, et al. Intensified chemotherapy with ACVBP plus rituximab versus standard CHOP plus rituximab for the treatment of diffuse large B-cell lymphoma (LNH03-2B): an open-label randomised phase 3 trial. *Lancet* 2011;378:1858-67.

48. Wilson WH, Jung SH, Porcu P, Hurd D, Johnson J, Martin SE, et al. A Cancer and Leukemia Group B multi-center study of DA-EPOCH-rituximab in untreated diffuse large B-cell lymphoma with analysis of outcome by molecular subtype. *Haematologica* 2012;97:758-65.
49. Lenz G, Wright G, Dave SS, Xiao W, Powell J, Zhao H, et al. Stromal Gene Signatures in Large-B-Cell Lymphomas. *N Engl J Med* 2008;359:2313-23.
50. Fu K, Weisenburger DD, Choi WWL, Perry KD, Smith LM, Shi X, et al. Addition of Rituximab to Standard Chemotherapy Improves the Survival of Both the Germinal Center B-Cell-Like and Non-Germinal Center B-Cell-Like Subtypes of Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *J Clin Oncol* 2008;26:4587-94.
51. Nyman H, Adde M, Karjalainen-Lindsberg ML, Taskinen M, Berglund M, Amini RM, et al. Prognostic impact of immunohistochemically defined germinal center phenotype in diffuse large B-cell lymphoma patients treated with immunochemotherapy. *Blood* 2007;109:4930-5.
52. Huang Y, Ye S, Cao Y, Li Z, Huang J, Huang H, et al. Outcome of R-CHOP or CHOP Regimen for Germinal Center and Nongerminal Center Subtypes of Diffuse Large B-Cell Lymphoma of Chinese Patients. *The ScientificWorld Journal* 2012;2012:1-7.
53. Stashenko P, Nadler LM, Hardy R, Schlossman SF. Characterization of a human B lymphocyte-specific antigen. *J Immunol* 1980;125:1678-85.
54. Cheson BD, Leonard JP. Monoclonal Antibody Therapy for B-Cell Non-Hodgkin's Lymphoma. *N Engl J Med* 2008;359:613-26.

## ภาคผนวก

ภาคผนวก ก.

Case number

### Case record form (Diffused large B cell lymphoma)

#### Part I : patient demographic data

1. Sex 01 male 02 female SEX
2. Age  years AGE
3. Birthday (DD/MM/YY) // BIRTH
4. ที่อยู่ปัจจุบัน 01 กรุงเทพฯ 02 ต่างจังหวัด ADDRESS
- .....
- .....
5. สิทธิการรักษา INSURE
- 01 ประกันสุขภาพถ้วนหน้า 02ข้าราชการ/รัฐวิสาหกิจ 03 ประกันสังคม
- 04 เงินสด 05 อื่นๆ
6. อาชีพ OCCUPATION
- 01 รับราชการ 02 พนักงานรัฐวิสาหกิจ 03 พนักงานบริษัท
- 04 ธุรกิจส่วนตัว 05 รับจ้างทั่วไป 06 เกษตรกร
- 07 ไม่ได้ประกอบอาชีพ 08 พนักงานโรงงาน 09 ช่างอัญมณี 10 ไม่ทราบ
7. โรคประจำตัว COMORBID
- 01 โรคหัวใจ 02 ความดันโลหิตสูง 03 เบาหวาน
- 04 โรคไต 05 อื่นๆ..... 06 ไม่มี

#### Part II : Clinical data

8. Diagnosis date (Pathology report) // DIAG
9. Type of DLBCL TYPE
- 01 Nodal 02 Primary extranodal site (.....)
10. Serum LDH = ..... LDH
11. ECOG ECOG
- 01 ECOG0 02 ECOG1 03 ECOG2 04 ECOG3 05 ECOG4
12. Stage: 01 stage1 02 stage2 03 stage3 04 stage4 STAGE
13. Extranodal : 01 Extranodal  $\leq$  1 02 Extranodal  $>$  1 03 None EXTRA
- Specifie site .....



**International prognostic index**

IPI	aa-IPI (age ≤ 60)
<input type="checkbox"/> age > 60	-
<input type="checkbox"/> LDH > normal	<input type="checkbox"/> LDH > normal
<input type="checkbox"/> ECOG 2-4	<input type="checkbox"/> ECOG 2-4
<input type="checkbox"/> stage 3 or 4	<input type="checkbox"/> stage 3 or 4
<input type="checkbox"/> extranodal > 1 site	-

**14. IPI score =.....**

- 01 Low risk(0,1)                      02 Low-Intermediate(2)  
03 High-Intermediate(3)            04 High risk(4,5)

IPI

**15. aa-IPI score=.....**

- 01 Low risk(0)                              02 Low-Intermediate(1)  
03 High-Intermediate(2)                04 High risk(3)

AAIPI

**16. B symptoms :**    01 No            02 Yes

BSYM

**17. BM involvement :** 01 No            02 Yes            03 Unknown

BM

**18. Serum albumin < 3.5 g/dl** 01 No    02 Yes            03 Unknown

ALB

**19. HIV serology :**    01 Negative    02 Positive    03 Unknown

HIV

**Immunohistochemistry**    Date of report //

Patho.No.....

IHC	Negative01	Positive02	Not done03
20. CD10			
21. BCL-6			
22. MUM-1			
23. BCL-2			
24. c-Myc			
25. CyclinD1			
26. Ki-67			

**27. Immunohistochemistry** 01 GCB    02 ABC    03 Un-identify

IHC

**Baseline CBC**

28. Hb.....g/dl HB
29. WBC ...../ul WBC
30. % Lymphocyte .....% LYM
31. Platelet ...../ul PLT
32. Chemotherapy regimen : CHEMO
- 01 CHOP    02 R-CHOP    03 CVP    04 R-CVP
- 05 EPOCH    06 R-EPOCH    07 Others    08 No chemotherapy
33. Total course of chemotherapy 01 six    02 eight    03 others CYCLE
34. Outcome : 01 CR    02 CRu    03 PR OUTCOME
- 04 SD    05 PD    06 Unknown
35. Date of CR    // CRDATE
36. Relapse/PD    01 No    02 Yes RELAPSE
37. Date of Relapse/PD    // REDATE
38. Salvage Rx    01 No    02 Yes SALVAGE
39. Salvage regimen SALREG
- 01 ESHAP    02 R-ESHAP    03 EPOCH    04 R-EPOCH
- 05 ICE    06 R-ICE    07 Other
40. Post-salvage outcome POSTOC
- 01 CR    02 CRu    03 PR
- 04 SD    05 PD    06 Unknown
41. Has SCT done    01 No    02 Yes SCT
42. Date of SCT    // SCTDATE
43. Date of last follow up    // FUDATE
44. Status at last follow up    01 Alive    02 Death STATUS
45. Did the patient loss to follow up    01 No    02 Yes LOSSFU

ภาคผนวก ข.

แสดงสูตรเคมีบำบัดอื่นๆ นอกจาก R-CHOP และ CHOP ในผู้ป่วยจำนวน 19 ราย แยกตามการได้รับ Rituximab

Control group		Rituximab group	
สูตรเคมีบำบัด	จำนวน (ราย)	สูตรเคมีบำบัด	จำนวน (ราย)
EOPCH	6	R-EPOCH ตามด้วย R-CHOP	2
EPOCH ตามด้วย CHOP	2	R-EPOCH	1
EPOCH+High dose MTX ตามด้วย CHOP+ High dose MTX	1	R-CHOP สลับ R-ESHAP	1
miniCHOP±R	1		
miniCHOP	1		
miniCHOP±R ตามด้วย R-EPOCH	1		
CHOP±R สลับ ESHAP	1		
CHOP สลับ ESHAP	1		
CHOP ตามด้วย R-EPOCH	1		

## ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

ชื่อ แพทย์หญิง จิราวดี น้อยวัฒนกุล

วัน เดือน ปีเกิด 30 มกราคม 2523

สถานที่เกิด จังหวัดนครราชสีมา

ที่อยู่ปัจจุบัน 188/10 ซอยสี่สีศิริ 3 ถนนสี่สีศิริ ต.ในเมือง อ.เมือง จ.นครราชสีมา  
30000

E-mail : beestmed@gmail.com

Phone : 081-5470193

ประวัติการศึกษา

มีนาคม 2547 ปริญญาตรี แพทยศาสตรบัณฑิต มหาวิทยาลัยมหิดล

กรกฎาคม 2553 วุฒิบัตร สาขาอายุรศาสตร์ แพทยสภา

ประสบการณ์การทำงาน

เมษายน 2547 - เมษายน 2548 แพทย์เพิ่มพูนทักษะ รพ.มหาราชนครราชสีมา

พฤษภาคม 2548 - พฤษภาคม 2550 แพทย์เวชปฏิบัติทั่วไป รพ.โนนไทย จ.  
นครราชสีมา

มิถุนายน 2550 - พฤษภาคม 2553 แพทย์ประจำบ้าน สาขาอายุรศาสตร์ รพ.  
จุฬาลงกรณ์

มิถุนายน 2553 - เมษายน 2556 อายุรแพทย์ รพ.ด่านขุนทด จ.นครราชสีมา

พฤษภาคม 2556 - พฤษภาคม 2557 อายุรแพทย์ รพ.มหาราชนครราชสีมา

มิถุนายน 2557 - ปัจจุบัน แพทย์ประจำบ้านต่อยอดอายุรศาสตร์สาขาโลหิต  
วิทยา รพ.จุฬาลงกรณ์