

ความสัมพันธ์ของพหุสัณฐานของยีน *CYP3A5*, *CYP2C19*, *SLC22A1*, *ABCB1* และ
ปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อยาอิมิดาตินิบในผู้ป่วย
โรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ชาวไทย



นายอัคร์ คำโพธิ์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

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.

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาเภสัชศาสตรมหาบัณฑิต

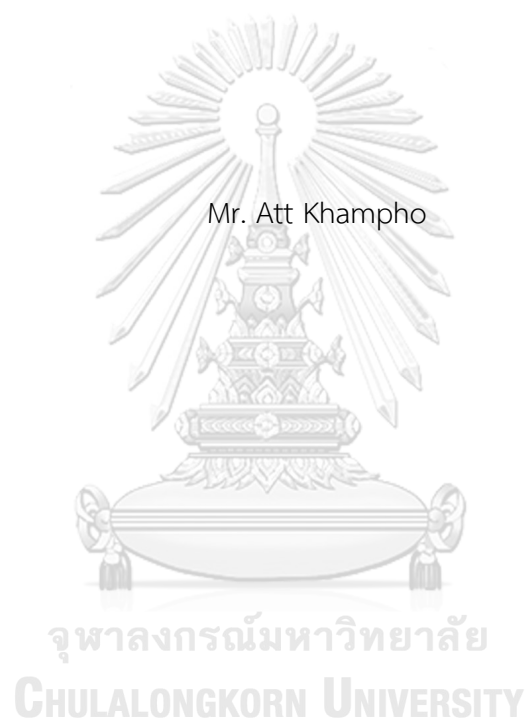
สาขาวิชาเภสัชวิทยาและพิษวิทยา ภาควิชาเภสัชวิทยาและสรีรวิทยา

คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2560

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ASSOCIATION OF POLYMORPHISMS IN *CYP3A5*, *CYP2C19*, *SLC22A1*, *ABCB1* GENES AND
NON-GENETIC FACTORS WITH IMATINIB RESPONSE IN THAI PATIENTS WITH
CHRONIC MYELOID LEUKEMIA



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Pharmacy Program in Pharmacology and
Toxicology

Department of Pharmacology and Physiology

Faculty of Pharmaceutical Sciences

Chulalongkorn University

Academic Year 2017

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์

ความสัมพันธ์ของพหุสัณฐานของยีน *CYP3A5*, *CYP2C19*, *SLC22A1*, *ABCB1* และปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรมกับการตอบสนองต่อยาอิมาตินิบในผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ชาวไทย

โดย

นายอรรถ คำโพธิ์

สาขาวิชา

เภสัชวิทยาและพิษวิทยา

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ เกษัชกรหญิง ดร.พรพิมล กิจสนาโยธิน

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

ศาสตราจารย์กิตติคุณ แพทย์หญิงแสงสุรีย์ จูฑา

คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

..... คณบดีคณะเภสัชศาสตร์

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ เกษัชกรหญิง ดร.รุ่งเพชร สุกุลบำรุงศิลป์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ เกษัชกรหญิง ดร.สุรีย์ เจียรณมงคล)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ เกษัชกรหญิง ดร.พรพิมล กิจสนาโยธิน)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(ศาสตราจารย์กิตติคุณ แพทย์หญิงแสงสุรีย์ จูฑา)

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ เกษัชกรหญิง ดร.รัตยา ลือชาพุฒิพร)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ เกษัชกร ดร.เจริญ ตรีศักดิ์)

อัคร์ คำโพธิ์ : ความสัมพันธ์ของพหุสัณฐานของยีน *CYP3A5*, *CYP2C19*, *SLC22A1*, *ABCB1* และปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อยาอิมาทินิบในผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ชาวไทย (ASSOCIATION OF POLYMORPHISMS IN *CYP3A5*, *CYP2C19*, *SLC22A1*, *ABCB1* GENES AND NON-GENETIC FACTORS WITH IMATINIB RESPONSE IN THAI PATIENTS WITH CHRONIC MYELOID LEUKEMIA) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผศ. ภญ. ดร.พรพิมล กิจสนาโยธิน, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: ศ.กิตติคุณ พญ.แสงสุรีย์ จูฑา, 98 หน้า.

โรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ (CML) เป็นโรคมะเร็งที่สัมพันธ์กับความผิดปกติในการแบ่งตัวของเซลล์มัยอีลอยด์ในไขกระดูก เหตุการณ์ผิดปกติดังกล่าวนี้เกิดจากการแลกเปลี่ยนชิ้นส่วนระหว่างโครโมโซมคู่ที่ 9 และ คู่ที่ 22 ทำให้เกิดโครโมโซมฟิลาเดลเฟีย และนำไปสู่การแสดงออกของยีน *BCR-ABL1* ยีนผิดปกติดังกล่าวนี้จะสร้างโปรตีน BCR-ABL1 ซึ่งมีคุณสมบัติของเอนไซม์ไทโรซีนไคเนสที่ทำงานมากอย่างผิดปกติ ท้ายที่สุดความผิดปกติดังกล่าวนี้จะทำให้เซลล์เม็ดเลือดขาวเพิ่มมากขึ้น และเจริญออกมาออกไขกระดูกเข้าสู่กระแสเลือด อาจกล่าวได้ว่าโปรตีน BCR-ABL1 เป็นเป้าหมายหลักในการรักษา CML อิมาทินิบเป็นยาในกลุ่มยับยั้งไทโรซีนไคเนสตัวแรกที่มีคุณสมบัติในการเป็นตัวยับยั้งแบบแข่งขัน และได้รับการรับรองในการรักษา CML ในปี 2001 อย่างไรก็ตามพบว่าผู้ป่วย CML ประมาณ 30% ล้มเหลวต่อการตอบสนองต่อการรักษา ผลการศึกษาหลายฉบับบ่งชี้ว่าการตอบสนองต่อการรักษาในผู้ป่วยแต่ละรายอาจจะได้รับอิทธิพลจากปัจจัยทางพันธุกรรม และปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับการรักษา เมื่อพิจารณาถึงคุณสมบัติทางเภสัชจลนศาสตร์ของยาอิมาทินิบ พบว่ายาถูกเปลี่ยนแปลงผ่านเอนไซม์ *CYP3A4/CYP3A5* เป็นหลัก ในขณะที่ถูกเปลี่ยนแปลงผ่านเอนไซม์ *CYP2C19* และเอนไซม์อื่น ๆ รองลงมา นอกจากนี้ยังมีรายงานการศึกษาระบุว่ายาอิมาทินิบมีคุณสมบัติเป็นขั้วประตของโปรตีนนำส่งยาเข้าเซลล์ เช่น Solute linked-carrier (SLC) หรือ Organic cation transporter 1 (OCT1) และโปรตีนนำส่งยาออกเซลล์ เช่น *ABCB1* หรือ P-glycoprotein (P-gp) การเกิดพหุสัณฐานในยีนเหล่านี้นี้อาจมีผลต่อการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาทินิบได้ นอกจากนี้ปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับการรักษา เช่น อายุ และ เพศ ก็มีรายงานบ่งชี้ว่าส่งผลต่อเภสัชจลนศาสตร์ และผลการรักษาด้วยยาอิมาทินิบ อย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษาความสัมพันธ์ในประเด็นดังกล่าวนี้ในกลุ่มประชากรชาวไทย ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการศึกษานี้จึงต้องการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรมและปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาทินิบในผู้ป่วย CML ชาวไทย โดยทำการศึกษาในผู้ป่วย 112 ราย (ผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อยาอิมาทินิบจำนวน 83 ราย และผู้ป่วยที่ไม่ตอบสนองต่อยาอิมาทินิบจำนวน 29 ราย) ณ โรงพยาบาลรามาริบัติ ระหว่างปี พ.ศ. 2554 ถึง พ.ศ. 2560 ทำการเก็บตัวอย่างเลือดจากผู้ป่วยแต่ละราย และตรวจลักษณะพหุสัณฐานของยีน *CYP3A5*, *CYP2C19*, *SLC22A1* และ *ABCB1* ร่วมกับการเก็บข้อมูลทั่วไป และข้อมูลทางคลินิกของผู้ป่วย ทำการวิเคราะห์สถิติเพื่อหาความสัมพันธ์ของปัจจัยที่คาดว่าจะมีผลต่อการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาทินิบด้วยสถิติไควสแควร์, multiple logistic regression และ cox proportional-hazards regression model พิจารณาระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ p -value น้อยกว่า 0.05 ผลการศึกษาด้วยไควสแควร์ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างพหุสัณฐานของยีน *CYP2C19*, *ABCB1* และปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับการรักษาอื่นใดแก่ อายุ และเพศ กับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาทินิบ ในขณะที่ผลการวิเคราะห์ด้วย multiple logistic regression บ่งชี้ถึงความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่าง $CYP3A5^*1/*3$ และจีโนไทป์ชนิด GG ของ ยีน *SLC22A1* กับการไม่ตอบสนองต่อการรักษาของยาอิมาทินิบในผู้ป่วย CML ชาวไทย (adjusted OR = 2.695, 95%CI = 1.052-8.357, p -value = 0.04 และ adjusted OR = 12.933, 95%CI = 1.164-143.761, p -value = 0.037 ตามลำดับ) สอดคล้องกับผลการศึกษาระยะเวลาปลอดเหตุการณ์หรือการรอดชีพด้วย cox proportional-hazards regression model ซึ่งพบความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่าง $CYP3A5^*1/*1$, $CYP3A5^*1/*3$ และจีโนไทป์ชนิด GG ของยีน *SLC22A1* กับการไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาทินิบในผู้ป่วย CML ชาวไทย (adjusted HR = 3.121, 95%CI = 1.050 – 9.276, p -value = 0.041, adjusted HR = 2.696, 95%CI = 1.113 – 6.529, p -value = 0.028 และ adjusted HR = 6.054, 95%CI = 1.637 – 22.389, p -value = 0.007 ตามลำดับ) โดยสรุปแล้วการศึกษานี้ชี้ให้เห็นถึงความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรมอื่นใดแก่ พหุสัณฐานของยีน *CYP3A5* และ *SLC22A1* กับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาทินิบในผู้ป่วย CML ชาวไทย

ภาควิชา เภสัชวิทยาและสรีรวิทยา ปลายมือชื่อนิสิต

สาขาวิชา เภสัชวิทยาและพิษวิทยา ปลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก

ปีการศึกษา 2560 ปลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม

5776136333 : MAJOR PHARMACOLOGY AND TOXICOLOGY

KEYWORDS: IMATINIB / CHRONIC MYELOID LEUKEMIA / CYP3A5 / CYP2C19 / SLC22A1 / ABCB1 / IMATINIB RESPONSE / IMATINIB NON-RESPONSE

ATT KHAMPHO: ASSOCIATION OF POLYMORPHISMS IN *CYP3A5*, *CYP2C19*, *SLC22A1*, *ABCB1* GENES AND NON-GENETIC FACTORS WITH IMATINIB RESPONSE IN THAI PATIENTS WITH CHRONIC MYELOID LEUKEMIA. ADVISOR: ASST. PROF.PORNPIMOL KUSANAYOTIN, Ph.D., CO-ADVISOR: EMERITUS PROF.SAENGSUREE JOOTAR, M.D., 98 pp.

Chronic myeloid leukemia is a type of cancer related with myeloproliferative disorder in bone marrow. The abnormal events occur from the translocation between chromosome 9 and 22, which produced Philadelphia chromosome (Ph) and lead to *BCR-ABL1* fusion gene expression. The abnormal gene produces the BCR-ABL1 protein with tyrosine kinase overactivity. Finally, this aberration lead leukemia cells to increase and spill over bone marrow into the blood stream. So, BCR-ABL1 protein is the key target of CML therapy. In 2001, Imatinib, the first tyrosine kinase inhibitors (TKIs) which is a competitive inhibitor had been approved for the treatment of CML. However, about 30 % of CML patients fail to achieve response outcome. Several studies have indicated that the response outcomes in each patient were influenced by genetic and non-genetic factors. Regarding imatinib pharmacokinetic properties, major metabolic pathway is governed by CYP3A4/3A5 while CYP2C19 and others are reported as minor pathway. Moreover, imatinib is a substrate of influx transporter such as Solute linked-carrier (SLC) or Organic cation transporter 1 (OCT1) and efflux transporters such as ABCB1 or P-glycoprotein (P-gp). The polymorphisms in these genes may have an influence on imatinib therapeutic outcomes. In addition, non-genetic factors such as age and gender have been reported to influence patient's pharmacokinetics and imatinib outcomes. However, no association study in Thai population have been done. Thus, the aim of this study was to determine the association of polymorphisms in genetic and non-genetic factors with imatinib response in Thai patients with chronic myeloid leukemia. One-hundred and twelve Thai CML patients (83 responder and 29 non-responder) from Ramathibodi Hospital between 2001 and 2017 were studied. Blood samples were collected from each participant. Polymorphisms in genetic factors including *CYP3A5*, *CYP2C19*, *SLC22A1* and *ABCB1* genes were genotyped. Demographic and clinical characteristic of patients were reviewed. For statistical analysis, the association of the suspected influencing factors with imatinib response were determined by using chi-square test, multiple logistic regression, and cox proportional-hazards regression model. A *p*-value of less than 0.05 was considered as significant. The results of chi-square test revealed that polymorphisms in *CYP2C19*, *ABCB1* and non-genetic factors including age and gender were not related to the clinical outcomes. Whereas, multiple logistic regression analysis showed the significantly association between *CYP3A5**1/*3 and GG genotype of *SLC22A1* and Imatinib non-response in Thai patients with CML (adjusted OR = 2.695, 95%CI = 1.052-8.357, *p*-value = 0.04 and adjusted OR = 12.933, 95%CI = 1.164-143.761, *p*-value = 0.037, respectively). In line with that, the finding from survival analysis by cox proportional-hazards regression model revealed the significantly association between *CYP3A5**1/*1, *CYP3A5**1/*3 and GG genotype of *SLC22A1* and imatinib non-response (adjusted HR = 3.121, 95%CI = 1.050 – 9.276, *p*-value = 0.041, adjusted HR = 2.696, 95%CI = 1.113 – 6.529, *p*-value = 0.028 and adjusted HR = 6.054, 95%CI = 1.637 – 22.389, *p*-value = 0.007, respectively). In conclusion, this study indicated the association between genetic factors including polymorphisms in *CYP3A5* and *SLC22A1* and Imatinib therapeutic outcomes in Thai patients with CML.

Department: Pharmacology and Physiology

Student's Signature

Field of Study: Pharmacology and Toxicology

Advisor's Signature

Academic Year: 2017

Co-Advisor's Signature

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความกรุณาของ ผศ. ญ. ดร.พรพิมล กิจสนาโยธิน อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผู้ซึ่งได้ให้คำชี้แนะ ความช่วยเหลือในการค้นคว้า และดำเนินการวิจัยด้วยความเมตตา เป็นอย่างดีมาโดยตลอด พร้อมทั้งให้โอกาสในการเรียนรู้ ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ ที่นี้

ขอกราบขอบพระคุณ ศ.กิตติคุณ พญ.แสงสุรีย์ จูฑา อาจารย์ประจำภาควิชาอายุรศาสตร์ สาขาวิชาอายุรศาสตร์โรคเลือด คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามาธิบดี เป็นอย่างสูง ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ในการเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม รวมถึงให้คำปรึกษา คำแนะนำ ข้อชี้แนะ และความช่วยเหลือในการดำเนินการคัดเลือกผู้ป่วยอาสาสมัครเข้าร่วมงานวิจัย จนกระทั่งการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณ รศ. พญ.พิมพ์ใจ นิภารักษ์ อาจารย์ประจำภาควิชาอายุรศาสตร์ สาขาวิชาอายุรศาสตร์โรคเลือด คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามาธิบดี ที่ได้ให้คำปรึกษา คำแนะนำ และความช่วยเหลือในการเป็นแพทย์ผู้ร่วมวิจัยในการศึกษา จนกระทั่งการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณ รศ. นพ.อาทิตย์ อังกานนท์ อาจารย์ประจำภาควิชาอายุรศาสตร์ สาขาวิชาอายุรศาสตร์โรคเลือด คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามาธิบดี ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ในการดำเนินการติดต่อทำการศึกษาวิจัย ณ คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามาธิบดี จนกระทั่งการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณคุณยุวดี สวาหนนท์ พยาบาลวิจัยประจำ สาขาวิชาอายุรศาสตร์โรคเลือด และคุณกรรณิการ์ วรวงศ์ เลขานุการประจำศูนย์ปลูกถ่ายเซลล์ต้นกำเนิด คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามาธิบดี ที่ได้ให้ความช่วยเหลือในการดำเนินการติดต่อ และเจาะเก็บตัวอย่างเลือดจากผู้ป่วยอาสาสมัครในทำการศึกษาวิจัย ณ คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามาธิบดี จนกระทั่งการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณผู้ป่วยอาสาสมัครทุกท่านที่สละเวลา และให้ความร่วมมืออย่างดีในการเก็บข้อมูล และเก็บตัวอย่างเลือด จนกระทั่งการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่านในภาควิชาเภสัชวิทยาและสรีรวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ ตลอดจนให้คำแนะนำตลอดการศึกษาระดับมหาบัณฑิต

ขอขอบคุณ ญ.กฤติกา แยมพยนต์, ภก.วัชรดนัย ไตรสุวรรณ, ภก.ฐิติพล เยาวลักษณ์ นิสิตร่วมห้องปฏิบัติการเภสัชพันธุศาสตร์ และนิสิตในหลักสูตรเภสัชวิทยาและพิษวิทยา ภาควิชาเภสัชวิทยาและสรีรวิทยา ทุกท่านที่ให้คำปรึกษา ตลอดจนกำลังใจในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นอย่างดีมาโดยตลอด

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณครอบครัวของผู้วิจัยที่ให้ความสนับสนุนมาโดยตลอด

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ญ
สารบัญรูป.....	ฐ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์.....	4
1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย.....	4
1.4 สมมุติฐานของงานวิจัย.....	5
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	5
1.6 คำสำคัญ.....	6
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	7
2.1 โรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์.....	7
2.2 การรักษาโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ และยาอิมาตินิบ.....	13
2.3 ปัจจัยที่มีความเกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อการรักษาโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ด้วยยาอิมาตินิบ.....	15
2.3.1 ปัจจัยทางพันธุกรรม (genetic factors) ที่มีความเกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อการรักษาโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ด้วยยาอิมาตินิบ.....	16
2.3.2 ปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องพันธุกรรม (genetic factors) ที่มีความเกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อการรักษาโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ด้วยยาอิมาตินิบ.....	26

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	27
3.1 ลักษณะตัวอย่างหรือประชากรที่ทำการศึกษา.....	27
3.1.1 ประชากรเป้าหมาย.....	27
3.1.2 การเลือกตัวอย่าง.....	27
3.1.3 ขนาดตัวอย่าง.....	28
3.2 วิธีดำเนินการวิจัย.....	29
3.2.1 แผนภูมิการดำเนินงาน.....	29
3.2.2 การดำเนินการวิจัย.....	30
3.3 การวิเคราะห์ข้อมูล.....	36
3.3.1 ข้อมูลทั่วไปและข้อมูลทางคลินิกของผู้ป่วย.....	36
3.3.2 ความถี่อัลลีล (allele frequencies) และความถี่จีโนไทป์ (genotype frequencies) ของแต่ละ SNPs.....	36
3.3.3 วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรมและ/หรือปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้อง กับพันธุกรรมกับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบ.....	36
3.3.4 วิเคราะห์ระยะปลอดเหตุการณ์ หรือ การรอดชีพ (survival analysis) ระหว่าง ปัจจัยทางพันธุกรรมและ/หรือปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรมกับการตอบสนอง ต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบ.....	37
บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล.....	38
4.1 ข้อมูลทั่วไปและข้อมูลทางคลินิกของผู้ป่วย.....	38
4.2 ความถี่อัลลีล (allele frequencies) และ (genotype frequencies) ของแต่ละ SNPs.....	40
4.3 ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรมและ/หรือปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรมกับ การตอบสนองต่อการรักษาโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ด้วยยาอิมาติ นิบ.....	46
4.3.1 การวิเคราะห์ความสัมพันธ์แบบสองตัวแปร (bivariate analysis).....	46

4.3.2 การวิเคราะห์ความสัมพันธ์แบบพหุตัวแปร (multivariate analysis).....	52
4.3.3 การวิเคราะห์ระยะเวลาปลอดเหตุการณ์ (Time to event) หรือการรอดชีพ (Survival analysis).....	61
บทที่ 5 อภิปราย สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ.....	69
อภิปรายผลการวิจัย.....	69
สรุปผลการวิจัย.....	74
ข้อจำกัดของการศึกษาและข้อเสนอแนะ.....	74
รายการอ้างอิง.....	76
ภาคผนวก ก เอกสารรับรองจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์.....	92
ภาคผนวก ข สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย.....	94
ภาคผนวก ค การทดสอบสมดุลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก.....	96
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	98

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
ตารางที่ 1 แสดงการดำเนินโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์.....	10
ตารางที่ 2 แสดงชนิดการตอบสนองในการประเมินผลการรักษาโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์.....	11
ตารางที่ 3 แสดงความถี่อัลลีลของ <i>CYP3A5*1</i> และ <i>CYP3A5*3</i> ในประชากรเชื้อชาติต่าง ๆ.....	18
ตารางที่ 4 แสดงความถี่อัลลีลของ <i>CYP2C19*1</i> และ <i>CYP2C19*2</i> ในประชากรเชื้อชาติต่าง ๆ.....	20
ตารางที่ 5 แสดงความถี่อัลลีลของ <i>SLC22A1 480C>G</i> ในประชากรเชื้อชาติต่าง ๆ.....	22
ตารางที่ 6 แสดงความถี่อัลลีลของ <i>ABCB1 1236C>T</i> ในประชากรเชื้อชาติต่าง ๆ.....	25
ตารางที่ 7 แสดงนิยามการตอบสนองและไม่ตอบสนองในผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์.....	31
ตารางที่ 8 แสดงส่วนประกอบในปฏิกิริยา PCR ในการตรวจลักษณะจีโนไทป์ของแต่ละ SNPs.....	34
ตารางที่ 9 แสดงอุณหภูมิและระยะเวลาของแต่ละขั้นตอนในการทำ PCR.....	35
ตารางที่ 10 แสดงข้อมูลทั่วไปและข้อมูลทางคลินิกของผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์.....	39
ตารางที่ 11 ความถี่อัลลีล (allele frequencies) ของยีน <i>CYP3A5</i> , <i>CYP2C19</i> , <i>SLC22A1</i> และ <i>ABCB1</i> ในผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ชาวไทย.....	40
ตารางที่ 12 ความถี่จีโนไทป์ (genotype frequencies) ของยีน <i>CYP3A5</i> , <i>CYP2C19</i> , <i>SLC22A1</i> และ <i>ABCB1</i> ในผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ชาวไทย.....	41
ตารางที่ 13 แสดงความถี่ของยีน <i>CYP3A5*3</i> ในการศึกษานี้และในประชากรเชื้อชาติต่าง ๆ.....	42
ตารางที่ 14 แสดงความถี่ของยีน <i>CYP2C19*2</i> ในการศึกษานี้และในประชากรเชื้อชาติต่าง ๆ.....	43
ตารางที่ 15 แสดงความถี่ของยีน <i>SLC22A1 480C>G</i> ในการศึกษานี้และในประชากรเชื้อชาติต่าง ๆ.....	44
ตารางที่ 16 แสดงความถี่ของยีน <i>ABCB1 1236C>T</i> ในการศึกษานี้และในประชากรเชื้อชาติต่าง ๆ.....	45

ตารางที่ 17 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรม (additive model) กับการตอบสนองต่อการรักษาโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ด้วยยาอิมาตินิบ.....47

ตารางที่ 18 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรม (dominant/recessive model) กับการตอบสนองต่อการรักษาโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ด้วยยาอิมาตินิบ.....49

ตารางที่ 19 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างข้อมูลทั่วไปและข้อมูลทางคลินิกกับการตอบสนองต่อการรักษาโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ด้วยยาอิมาตินิบโดย Bivariate analysis52

ตารางที่ 20 แสดงค่าสัมประสิทธิ์ความถดถอยโลจิสติกของตัวแปรต่าง ๆ ในโมเดลความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรม (additive model) กับการตอบสนองต่อการรักษาโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ด้วยยาอิมาตินิบ.....54

ตารางที่ 21 แสดงโมเดลความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรม (additive model) กับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบ.....55

ตารางที่ 22 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างจีโนไทป์ (additive model) ของความผันแปรในยีน *CYP3A5* และยีน *SLC22A1* กับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบในผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ชาวไทยโดย multiple logistic regression.....56

ตารางที่ 23 แสดงค่าสัมประสิทธิ์ความถดถอยโลจิสติกของตัวแปรต่าง ๆ ในโมเดลความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรม (dominant/recessive model) กับการตอบสนองต่อการรักษาโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ชาวไทยด้วยยาอิมาตินิบ.....58

ตารางที่ 24 แสดงโมเดลความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรม (dominant/recessive model) กับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบ.....59

ตารางที่ 25 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างจีโนไทป์ (dominant/recessive model) ของความผันแปรในยีน *CYP3A5* และยีน *SLC22A1* กับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบในผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ชาวไทยโดย multiple logistic regression60

ตารางที่ 26 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรม (additive model) และ failure-free survival กับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบในผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ชาวไทย.....62

ตารางที่ 27 แสดงความระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรม (dominant/recessive model) และ failure-free survival กับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมูตินิบในผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ชาวไทย.....66



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
รูปที่ 1	29
รูปที่ 2	63
รูปที่ 3	64
รูปที่ 4	67
รูปที่ 5	68

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

CML	Chronic myeloid leukemia
TKIs	Tyrosine kinase inhibitors
Ph	Philadelphia chromosome
BCR	Breakpoint cluster region
ABL	Abelson murine leukemia
HR	Hematologic response
CHR	Complete hematologic response
CyR	Cytogenetic response
CCyR	Complete cytogenetic response
MR	Molecular response
CMR	Complete molecular response
SNPs	Single-nucleotide polymorphisms
OCT	Organic cation transporter
P-gp	P-glycoprotein
RT-PCR	Reverse transcription polymerase chain reaction

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

โรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ (Chronic myeloid leukemia; CML) เป็นโรคที่มีความผิดปกติทางโลหิตชนิดหนึ่ง ซึ่งความผิดปกติดังกล่าวนี้เกิดขึ้นในระดับเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดเลือดในไขกระดูก (Hematopoietic Stem Cells) โดยเฉพาะเซลล์ชนิดมัยอีลอยด์ (myeloid cells) ผู้ป่วยมากกว่าร้อยละ 95 จะตรวจพบโครโมโซมฟิลาเดลเฟีย (Philadelphia chromosome; Ph⁺) ซึ่งเป็นผลมาจากการที่โครโมโซมคู่ที่ 9 และ 22 เกิดการแลกเปลี่ยนชิ้นส่วนกัน ทำให้เกิดการรวมตัวของยีน *BCR-ABL* ส่งผลให้เกิดการสร้างโปรตีนไทโรซีนไคเนส (Tyrosine kinase) อย่างผิดปกติ และทำให้การเจริญและการแบ่งเซลล์ชนิดมัยอีลอยด์ (Myeloid cells) เพิ่มขึ้นอย่างผิดปกติในไขกระดูกจนกลายเป็นเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว และเจริญออกมาไขกระดูกไปยังตับและม้ามได้ (1, 2) ทั่วโลกมีอุบัติการณ์การเกิด CML ที่ 1.0-1.5 รายต่อแสนประชากรต่อปี (3) อายุเฉลี่ยที่พบคือ 55 ปี (2) ในขณะที่ประเทศไทยมีอุบัติการณ์อยู่ที่ 0.5 รายต่อแสนประชากรต่อปี อายุเฉลี่ยที่พบคือ 38-42 ปี (4, 5) นอกจากนี้ยังพบว่าเพศชายมีอัตราการเกิดโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวที่สูงกว่าเพศหญิงถึง 1.4-1.5 : 1 (6, 7) มีการประมาณการว่าในปี ค.ศ. 2015 ประเทศสหรัฐอเมริกาจะมีผู้ป่วยใหม่มากถึง 6,600 คน และมีผู้ป่วยมากถึง 1,140 คน ที่อาจจะเสียชีวิตได้ (8) โดยผู้ป่วยมักมีอาการแสดงทางคลินิกที่ไม่จำเพาะเจาะจง เช่น มีอาการอ่อนเพลีย ไม่มีแรง ชีต โลหิตจาง ตับและหรือม้ามโต แน่นหรือไม่สบายท้อง เป็นต้น รวมถึงอาจมีอาการติดเชื้อมาร่วมด้วย หรือไม่มีอาการผิดปกติใดๆ ในขณะที่ผลตรวจทางห้องปฏิบัติการจะพบว่าเม็ดเลือดขาวสูงกว่าปกติได้ การดำเนินโรคแบ่งออกเป็น 3 ระยะ ตามรุนแรงของโรค คือ chronic phase, accelerated phase และ blastic phase ซึ่งเป็นระยะที่มีความรุนแรงของโรคสูง หากไม่ได้รับการรักษา ผู้ป่วยมักจะเสียชีวิตได้ภายในระยะเวลาสั้นๆ (6, 9) เดิมแนวทางการรักษานั้นเริ่มจากการใช้ยาเคมีบำบัด เช่น Busulfan, Cytarabine และ Hydroxyurea แต่เนื่องจากเมื่อเวลาผ่านไป ผู้ป่วยส่วนมากจะควบคุมการดำเนินของโรคไม่ได้ และเข้าสู่ระยะบลาส ตลอดจนทนต่อผลข้างเคียงของยาไม่ได้ ต่อมาจึงมีการนำ Interferon (IFN) มาใช้ในการรักษา แต่ได้ผลเฉพาะผู้ป่วยระยะเรื้อรังเท่านั้น อย่างไรก็ตามการเปลี่ยนถ่ายไขกระดูกยังคงเป็นการรักษาเดียวที่สามารถทำให้ผู้ป่วยในทุกระยะหายขาดได้ แต่เนื่องจากข้อจำกัดของการบริจาคไขกระดูก ซึ่งผู้ให้และผู้รับจะต้องมี Human leukocyte antigen (HLA) ที่เข้ากัน ตลอดจนความเสี่ยงจากภาวะแทรกซ้อน เช่น การติดเชื้อระหว่างการเปลี่ยนถ่ายไขกระดูก

เป็นต้น (1, 9) จึงนำไปสู่การพัฒนาในในกลุ่ม Tyrosine kinase inhibitors (TKIs) ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการสร้างโปรตีนไทโรซีนไคเนส เป็นผลให้เกิดการยับยั้งการถ่ายทอดสัญญาณภายในเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับการก่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวได้ (10) ในปี ค.ศ. 2001 องค์การอาหารและยาประเทศสหรัฐอเมริกาได้อนุมัติให้อิมาตินิบ (Imatinib mesylate; Gleevec® หรือ Glivec®) ซึ่งเป็นยาชนิดแรกในกลุ่ม TKIs ในการรักษา CML ในผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยใหม่ (11) และในปี ค.ศ. 2008 คณะกรรมการพัฒนาระบบยาแห่งชาติประเทศไทยได้บรรจุยาอิมาตินิบเป็นยาในบัญชียาหลักแห่งชาติประเภทบัญชี จ(2) ทำให้ผู้ป่วยที่ถือสิทธิข้าราชการสามารถเข้าถึงการใช้ยาได้ และต่อมาในปี ค.ศ. 2012 ผู้ป่วยสิทธิประกันสังคมสามารถเข้าถึงยาได้เช่นกัน ในขณะที่ผู้ป่วยสิทธิบัตรทองก็สามารถเข้าถึงยาผ่านโครงการจีแพป (Glivec International Patient Assistance Program; GIPAP) (12) อย่างไรก็ตามปัญหาสำคัญอีกประการหนึ่งในการรักษา CML คือผู้ป่วยประมาณร้อยละ 30 ที่มีประวัติการใช้อิมาตินิบแล้วไม่สามารถตอบสนองต่อการรักษา หรือการดื้อต่อยาอิมาตินิบ (drug resistance) (13-15) ซึ่งกลไกการดื้อต่อยาอิมาตินิบยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด หนึ่งในสมมุติฐานที่คาดว่าจะเกี่ยวข้องคือ การที่ยาถูกเปลี่ยนแปลงโดยเอนไซม์ในกลุ่มไซโตโครมพี 450 ชนิด CYP3A4 และ CYP3A5 ในตับเป็นหลัก และบางส่วนถูกเปลี่ยนแปลงโดยเอนไซม์ CYP1A2, CYP2D6, CYP2C9 และ CYP2C19 ดังนั้นประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ จึงส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงยาอิมาตินิบตลอดจนส่งผลต่อประสิทธิภาพในการรักษา CML และความปลอดภัยในการใช้ยาได้ การเกิดภาวะพหุสัณฐาน (polymorphisms) ชนิด single nucleotide polymorphisms (SNPs) บนยีน *CYP3A4* และ *CYP3A5* ซึ่งเป็นยีนที่ควบคุมการแสดงออกของเอนไซม์ CYP3A4 และ CYP3A5 (16, 17) อาจส่งผลให้เอนไซม์ที่ได้มีประสิทธิภาพในการเปลี่ยนแปลงยาแตกต่างกันไป แต่เนื่องจากความถี่อัลลีลของพหุสัณฐานของยีน *CYP3A4* ในประชากรชาวไทยมีความถี่ที่ต่ำมาก (18) ในขณะที่ยีน *CYP3A5**3 (variant) ซึ่งส่งผลให้เอนไซม์มีประสิทธิภาพลดลงกว่า *CYP3A5**1 (wild-type) (19) ในประชากรชาวไทยพบว่า *CYP3A5**3 มีความถี่อัลลีลประมาณ 0.62 (20) จึงอาจส่งผลต่อระดับความเข้มข้นของยาอิมาตินิบในกระแสเลือด ตลอดจนประสิทธิภาพในการรักษา CML ในผู้ป่วยชาวไทยได้ ในขณะที่การศึกษาของ de Morais และคณะ พบว่าพหุสัณฐานของยีน *CYP2C19**2 (variant) ซึ่งส่งผลให้เอนไซม์มีประสิทธิภาพลดลงกว่า *CYP2C19**1 (wild-type) (21) มีความถี่อัลลีลในประชากรชาวไทยประมาณ 0.29 – 0.35 (22, 23) ซึ่งเป็นความถี่ที่สูงมาก ผู้ป่วยที่มีจีโนไทป์ชนิด *1/*2 (Intermediate metabolizer), *2/*2 (Poor metabolizer) จะมีฟีโนไทป์ที่เปลี่ยนแปลงไป กล่าวคือจะมีการเปลี่ยนแปลงยาที่ลดลงเมื่อเทียบกับผู้ป่วยที่มีจีโนไทป์ชนิด *1/*1 (Extensive metabolizer) (24) จึงอาจส่งผลต่อประสิทธิภาพในการรักษา CML ในผู้ป่วยชาวไทยได้ นอกจากนี้ยาอิมาตินิบยังมีคุณสมบัติเป็นซับสเตรตของโปรตีนนำส่งยาในกลุ่มนำยาเข้าเซลล์ เช่น Organic cation transporter1 (OCT1) และกลุ่มนำยาออกนอกเซลล์ เช่น P-glycoprotein (P-gp) (25-27)

การเกิดภาวะพหุสัณฐานของยีนที่ควบคุมการแสดงออกของโปรตีนเหล่านี้ อาจส่งผลต่อการกระจาย ยา และเปลี่ยนแปลงระดับความเข้มข้นของระดับยา ตลอดจนส่งผลต่อประสิทธิภาพในการรักษาได้ หลักฐานสนับสนุนสมมุติฐานดังกล่าวได้แก่ การพบความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดพหุสัณฐานของยีน *SLC22A1* 480C>G ซึ่งเป็นยีนที่ทำหน้าที่ในการควบคุมการแสดงออกของโปรตีนนำส่งยา OCT1 กับการตอบสนองต่อการรักษา CML ด้วยยาอิมาตินิบ (28, 29) ในขณะที่ยีน *ABCB1* ซึ่งทำหน้าที่ควบคุม การแสดงออกตัวนำส่งยา P-gp ก็พบว่ามีความสัมพันธ์กับการตอบสนองต่อการรักษาด้วย ยาอิมาตินิบเช่นกัน (30-33) โดยจากการศึกษา meta-analysis ของ Bailing และคณะ และ Zheng และคณะ พบว่า 1236C>T ซึ่งเป็นพหุสัณฐานของยีน *ABCB1* มีความเสี่ยงต่อการดื้อยาอิมาตินิบใน ประชากรชาวเอเชีย (34, 35) อย่างไรก็ตามประเด็นดังกล่าวนี้ยังมีข้อถกเถียง และความหลากหลาย ในข้อมูล ตลอดจนกลุ่มประชากรที่ทำการศึกษามีความแตกต่างทางเชื้อชาติ จึงมีความน่าสนใจในการ ประเมินความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรมดังกล่าวและการตอบสนองต่อการรักษาในแต่ละ เชื้อชาติเพิ่มเติม นอกจากปัจจัยทางพันธุกรรมแล้ว การไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบ อาจมีความสัมพันธ์กับปัจจัยทางคลินิกที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรม (non-genetic factor) เช่น เพศ, อายุ เป็นต้น (36-41) ดังนั้นในการศึกษานี้ผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะทำการศึกษาความสัมพันธ์ ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรม ได้แก่ พหุสัณฐานของยีน *CYP3A5*, *CYP2C19*, *SLC22A1*, และ *ABCB1* ร่วมกับปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรมกับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบในผู้ป่วย CML ชาวไทย ทั้งนี้เพื่อเป็นข้อมูลในการพิจารณาในการรักษาด้วยยาอิมาตินิบให้มีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้น ตลอดจนเพื่อให้ผู้ป่วยได้รับประโยชน์สูงสุดจากการได้รับการรักษา

1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1 เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรม ได้แก่ พหุสัณฐานของยีน *CYP3A5*3*, *CYP2C19*2*, *SLC22A1 480C>G* และ *ABCB1 1236C>T* ร่วมกับปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรม กับการตอบสนองต่อยาอิมิดาตินิบในผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ชาวไทย

1.2.2 เพื่อศึกษาความถี่ของการเกิด single nucleotide polymorphisms (SNPs) ในยีน *CYP3A5*3*, *CYP2C19*2*, *SLC22A1 480C>G* และ *ABCB1 1236C>T* ในผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ชาวไทย

1.2.3 เพื่อศึกษาความถี่ในการตอบสนองและการไม่ตอบสนองต่อยาอิมิดาตินิบในผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ชาวไทย

1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

การศึกษานี้มีขอบเขตในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรม ได้แก่ พหุสัณฐานของยีน *CYP3A5*3*, *CYP2C19*2*, *SLC22A1 480C>G* และ *ABCB1 1236C>T* โดยผู้วิจัยจะทำการเก็บตัวอย่างเลือดในผู้ป่วยที่มีการตอบสนองและการไม่ตอบสนองต่อยาอิมิดาตินิบในผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ชาวไทยเพื่อวิเคราะห์จีโนไทป์จำแนกภาวะพหุสัณฐานทางพันธุกรรม ตลอดจนเก็บข้อมูลทางคลินิก ได้แก่ ปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรม และการตอบสนองในการรักษาเพื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติร่วมกัน

1.4 สมมุติฐานของงานวิจัย

ปัจจัยทางพันธุกรรม ได้แก่ พหุสัณฐานของยีน *CYP3A5*3*, *CYP2C19*2*, *SLC22A1* 480C>G และ *ABCB1* 1236C>T ร่วมกับปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรม มีความสัมพันธ์กับการตอบสนองต่อยาอิมาทินิบในผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ชาวไทย

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.5.1 ได้ข้อมูลความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรม ได้แก่ พหุสัณฐานของยีน *CYP3A5*3*, *CYP2C19*2*, *SLC22A1* 480C>G และ *ABCB1* 1236C>T ร่วมกับปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรมกับการตอบสนองต่อยาอิมาทินิบในผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ชาวไทย ซึ่งข้อมูลที่ได้ดังกล่าวสามารถนำไปประกอบกับงานวิจัยอื่น ๆ เพื่อประเมินการเลือกใช้ยา ตลอดจนการทำนายประสิทธิภาพของยาในแต่ละบุคคลที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมแตกต่างกัน

1.5.2 ได้ข้อมูลความถี่ของการเกิด single nucleotide polymorphisms (SNPs) ในยีน *CYP3A5*3*, *CYP2C19*2*, *SLC22A1* 480C>G และ *ABCB1* 1236C>T ในผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ชาวไทย

1.5.3 ได้ข้อมูลความถี่ในการตอบสนองและการไม่ตอบสนองต่อยาอิมาทินิบในผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ชาวไทย

1.6 คำสำคัญ

Imatinib

Chronic myeloid leukemia

CYP3A5

CYP2C19

SLC22A1

ABCB1

Imatinib response

Imatinib non-response



บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 โรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์

โรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ (Chronic myeloid leukemia; CML) เป็นโรคมะเร็งชนิดหนึ่งในระบบเลือด จัดเป็นโรคที่มีความผิดปกติในการแบ่งตัวของเซลล์ต้นกำเนิดประเภทมัยอีลอยด์ (myeloproliferative disorder) สาเหตุที่แท้จริงของการเกิดโรคมะเร็งยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด แต่พบว่าเกิดจากความผิดปกติในเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดเลือดในไขกระดูก (Hematopoietic Stem Cells) ทำให้ myeloid progenitor cells มีการเจริญ และแบ่งตัว (proliferation) อย่างผิดปกติ ตลอดจนมีการจำแนกตัวเอง (differentiation) และเจริญกลายเป็นเม็ดเลือดขาวในระยะต่าง ๆ (Maturation) ในปริมาณที่มากอย่างผิดปกติ (1, 2)

จากรายงานของ Court และ Richard ระบุว่า ในผู้ป่วยโรค ankylosing spondylitis ที่เคยได้รับรังสีในการรักษา มีความเสี่ยงในการเกิด CML สูงขึ้น (42) รวมถึงรายงานจาก Lange และคณะ และ Heysel และคณะ ซึ่งรายงานความสัมพันธ์ระหว่างผู้ที่รอดชีวิตจากการระเบิดที่จังหวัดอิโรชิม่า และจังหวัดนางาซากิในประเทศญี่ปุ่นกับอัตราการเกิดโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังที่สูงกว่าคนทั่วไป (43, 44) อาจกล่าวได้ว่าการได้รับรังสีเป็นปัจจัยแวดล้อมหนึ่งที่ทำให้เกิดความเสี่ยงในการเกิด CML ได้ โดยอุบัติการณ์การเกิด CML ทั่วโลกเท่ากับ 1.0 – 1.5 รายต่อแสนประชากรต่อปี (3) พบได้ตั้งแต่อายุต่ำกว่า 1 ปี จนถึง 90 ปี อายุเฉลี่ยที่พบในต่างประเทศคือ 55 - 60 ปี (2) ในขณะที่ประเทศไทยมีอุบัติการณ์อยู่ที่ 0.5 รายต่อแสนประชากรต่อปี (5) อายุเฉลี่ยที่พบคือ 38 – 42 ปี (4) นอกจากนี้ยังพบว่าเพศชายมีอัตราการเกิด CML ที่สูงกว่าเพศหญิงถึง 1.4 – 1.5 : 1 (6, 7) มีการประมาณการว่าในปี ค.ศ. 2015 ประเทศสหรัฐอเมริกา จะมีผู้ป่วยใหม่มากถึง 6,600 คน และมีผู้ป่วยมากถึง 1,140 คน ที่อาจจะเสียชีวิตได้ (8)

ความผิดปกติในการแบ่งตัวของเซลล์ต้นกำเนิดประเภทมัยอีลอยด์นี้ สืบเนื่องมาจากการสลับชิ้นส่วนระหว่างแขนข้างยาวของโครโมโซมคู่ที่ 9 (chromosome 9 q+) และ คู่ที่ 22 (chromosome 22 q-) [reciprocal chromosome t(9;22) translocation] ในไขกระดูก กล่าวคือ cellular-Abelson (c-ABL) proto-oncogene ซึ่งปกติอยู่บนแขนข้างยาวของโครโมโซมคู่ที่ 9 ถูก translocate ไปอยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 22 ซึ่งอยู่ใกล้กับบริเวณของ breakpoint cluster region (BCR) และบางส่วนของ BCR และ proto-oncogene c-sis ซึ่งปกติอยู่บริเวณ q12.3 ถึง q13.1 บนคู่ที่ 22 ถูก translocate ไปอยู่บนคู่ที่ 9 บริเวณ b3a2 หรือ b2a2 ทำให้เกิด [t(9;22)(q34;q11)] เป็นผลให้เกิดการรวมกันของยีน (BCR-ABL fusion gene) เกิดเป็นโครโมโซมฟิลาเดลเฟีย

(Philadelphia chromosome หรือ Ph+) (ดังรูปที่ 2A) และส่งผลให้เกิดการสร้าง BCR-ABL1 mRNA ที่มีขนาด 8.5 kB จนท้ายที่สุดก่อให้เกิดการสร้างโปรตีน BCR-ABL1 ที่มีขนาด 210 กิโลดาลตัน (p210) แทนที่ขนาดปกติ คือ 145 กิโลดาลตัน (p145) (1, 2) และโปรตีน BCR-ABL1 ที่ได้ จะมีคุณสมบัติของเอนไซม์ไทโรซีนไคเนส (tyrosine kinase) ที่เปลี่ยนแปลงไป กล่าวคือเอนไซม์ไทโรซีนไคเนสนี้จะมีการทำงานที่มากขึ้น ส่งผลให้เกิดการทำงานที่ผิดปกติตามวิถีการส่งสัญญาณ (signal transduction pathway) ต่าง ๆ เช่น RAS/MEK, JAK/STAT และ PI3K/AKT เป็นต้น เป็นผลให้เซลล์เม็ดเลือดขาวในไขกระดูกเกิดการแบ่งตัวอย่างควบคุมไม่ได้ และไม่เกิดการตายชนิด apoptosis ตามธรรมชาติ จนก่อให้เกิด CML (2)

CML เป็นโรคที่มีการดำเนินไปของโรคที่ช้า อาการที่ผู้ป่วยมาพบแพทย์จึงมักไม่ค่อยรุนแรง อาจพบอาการอ่อนเพลีย ไม่มีแรง เบื่ออาหาร เหงื่อออกมากกว่าปกติ น้ำหนักลด แน่นท้องดิ่งท้องบริเวณด้านซ้าย คลำก้อนในท้องได้ รวมถึงอาการที่พบน้อย เช่น มีจ้ำเลือดตามตัว เลือดออกผิดปกติ และปวดท้องได้ และในบางรายอาจมีอาการผิดปกติที่แปลก เช่น สายตาดูผิดปกติ อาการบ้านหมุน (vertigo) หรืออาการองศาตที่แข็งค้าง (priapism) ซึ่งสืบเนื่องมาจากภาวะที่เม็ดเลือดขาวมีปริมาณสูงมากอย่างในกระแสเลือด ปัจจุบันการตรวจวินิจฉัยโดยการตรวจทางห้องปฏิบัติการเป็นการตรวจเบื้องต้นที่จำเป็นในผู้ป่วยทุกราย ได้แก่ Complete blood count (CBC), การเจาะไขกระดูก (bone marrow aspiration) และการตรวจเนื้อเยื่อไขกระดูก (bone marrow biopsy), chromosome study, BUN, creatinine, uric acid รวมถึงการตรวจการทำงานของตับ (liver function test) กล่าวคือผู้ป่วย CML มากกว่าร้อยละ 90 จะมีจำนวนเม็ดเลือดขาวในปริมาณสูงมาก (มากกว่า 100,000 ต่อลูกบาศก์เมตร) และมีตัวอ่อนของเม็ดเลือดขาวในระยะต่าง ๆ เช่น ตรวจพบ neutrophil ในระยะตั้งแต่ blast cells ไปจนถึง segmented neutrophils รวมถึงพบ bands form, myelocytes และ myeloblasts รวมถึงมี eosinophils และ basophils เพิ่มขึ้นได้ ทั้งนี้ขึ้นกับระยะ และความรุนแรงของโรคด้วย โดยเซลล์เม็ดเลือดขาวที่มากผิดปกตินี้จะเข้ามาแทนที่เซลล์เม็ดเลือดปกติในไขกระดูก และท้ายที่สุดเซลล์เม็ดเลือดขาวเหล่านี้จะออกมาสู่กระแสเลือด ในขณะที่เซลล์เม็ดเลือดขาวบางส่วนจะเข้าไปอยู่ในเนื้อเยื่อและอวัยวะที่เกี่ยวข้องกับระบบเลือด และระบบภูมิคุ้มกัน เช่น ตับ และม้าม เป็นต้น ผู้ป่วย CML ในบางรายจึงมีอาการ แน่นท้อง คลำก้อนในท้องได้ก็เนื่องจากลักษณะของตับ และม้ามที่โตขึ้น ดังที่ได้กล่าวไว้ข้างต้น นอกจากนี้ยังพบว่าเซลล์ต้นกำเนิดของเกล็ดเลือดมีการเพิ่มขึ้นร่วมด้วย ผู้ป่วยบางรายจึงมีเกล็ดเลือดที่เพิ่มขึ้นตาม อย่างไรก็ตามผู้ป่วยบางส่วนอาจจะมีเกล็ดเลือดที่ต่ำลง หรือไม่เปลี่ยนแปลงได้ โดยลักษณะรูปร่างของเกล็ดเลือดมักมีรูปร่างปกติ รวมถึงมีภาวะเลือดจางร่วมแต่ไม่มากนัก (hemoglobin ระหว่าง 8.5 – 11.9 กรัมต่อเดซิลิตร) โดยลักษณะเซลล์เม็ดเลือดแดงทั้งขนาดและการติดสีปกติ (normocytic-normochromic anemia) อย่างไรก็ตามในผู้ป่วยบางรายอาจจะมีภาวะตับหรือม้ามโต แพทย์อาจจำเป็นต้องตรวจ

ทางห้องปฏิบัติการเพิ่มเติม เพื่อแยกออกจากภาวะอื่นที่มีเม็ดเลือดขาวสูงกว่าปกติ เช่น leukemoid reaction (มากกว่า 50×10^9 ต่อลิตร) ได้ การวินิจฉัยจึงยังมีความจำเป็นที่จะต้องอาศัยการตรวจทางห้องปฏิบัติการชนิดอื่นร่วม เช่น การตรวจโครโมโซมฟิลาเดลเฟีย (Philadelphia chromosome) โดยวิธี quantitative chromosome study เป็น hallmark ในการตรวจวินิจฉัย CML ซึ่งผู้ป่วยมากกว่าร้อยละ 95 จะพบโครโมโซมฟิลาเดลเฟีย โดยพบในเม็ดเลือดแดง, neutrophil, monocyte, macrophage, megakaryocyte, eosinophil, basophil และตัวอ่อนของเซลล์เหล่านี้ได้ ผู้ป่วยร้อยละ 85 จะพบโครโมโซมชนิด typical philadelphia chromosome คือ t(9,22)(q34;q11) ร้อยละ 5 จะมีโครโมโซมคู่อื่นเข้ามาร่วมในกระบวนการ translocation แต่จะมีคู่ที่ 9 และ 22 ร่วมด้วยเสมอ และร้อยละ 5 อาจจะไม่พบโดยการตรวจโครโมโซมฟิลาเดลเฟีย แต่สามารถตรวจพบ BCR-ABL fusion gene/transcript ได้โดยการตรวจ fluorescence in situ hybridization (FISH) และ reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) (1, 9, 45)

การดำเนินโรคแบ่งออกเป็น 3 ระยะ ตามรุนแรงของโรค คือ chronic phase, accelerated phase และ blastic phase (46) ดังตารางที่ 1 ซึ่ง blastic phase เป็นระยะที่มีความรุนแรงของโรครุนแรง หากไม่ได้รับการรักษา ผู้ป่วยมักจะเสียชีวิตได้ภายในระยะเวลาสั้นๆ (6, 9)

ตารางที่ 1 แสดงการดำเนินโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์

ระยะ	นิยาม
Chronic	<ul style="list-style-type: none"> - Blast ในเลือดและไขกระดูกน้อยกว่าร้อยละ 15 - Basophils ในเลือดน้อยกว่าร้อยละ 20 - จำนวนเกล็ดเลือดมากกว่าหรือเท่ากับ $100 \times 10^9 / L$ - มี Blast และ Promyelocyte ในเลือดและไขกระดูกน้อยกว่าร้อยละ 30 - ไม่พบการแทรกซึมของเซลล์นอกไขกระดูก ยกเว้นตับและม้าม
Accelerated	<ul style="list-style-type: none"> - Blast ในเลือดและไขกระดูกร้อยละ 15 ถึง 29 - Basophils ในเลือดมากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 20 - จำนวนเกล็ดเลือดน้อยกว่า $100 \times 10^9 / L$ โดยไม่สัมพันธ์กับการรักษา - มี Blast และ Promyelocyte ในเลือดและไขกระดูกน้อยกว่าร้อยละ 30 - มี Clonal chromosome abnormalities in Ph+ cells (CCA/Ph+)
Blast	<ul style="list-style-type: none"> - พบ Blast ในเลือดหรือไขกระดูก มากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 30 - มีการแทรกซึมของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวระยะ Blast นอกไขกระดูก (นอกเหนือจากม้าม)

โดยมีหลักการประเมินผลการรักษาแบ่งออกเป็น 3 ระดับ คือ การตอบสนองทางโลหิตวิทยา (Hematologic response), การตอบสนองระดับโครโมโซม (Cytogenetic response) และการตอบสนองทางอณู (Molecular response) ตามนิยามของ European LeukemiaNet (ELN) recommendations for the management of chronic myeloid leukemia (47) ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 แสดงชนิดการตอบสนองในการประเมินผลการรักษาโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์

ชนิดการตอบสนอง		เกณฑ์การตอบสนอง
Hematologic response	Complete hematologic response (CHR)	<ul style="list-style-type: none"> - จำนวนเม็ดเลือดขาวน้อยกว่า $10 \times 10^9/L$ - Basophils ในเลือดน้อยกว่าร้อยละ 5 - ไม่พบ myelocytes, promyelocytes และ myeloblasts ในเลือด - จำนวนเกล็ดเลือดน้อยกว่า $450 \times 10^9/L$ - ตับและม้ามไม่โต
	Partial hematologic response (PHR)	<ul style="list-style-type: none"> - พบ myelocytes, promyelocytes และ myeloblasts ในเลือด - จำนวนเกล็ดเลือดน้อยกว่าร้อยละ 50 ของจำนวนเกล็ดเลือดก่อนเริ่มการรักษา และมากกว่า $450 \times 10^9/L$ - ม้ามโตน้อยกว่าร้อยละ 50 ของขนาดก่อนเริ่มทำการรักษา
Cytogenetic response	Complete Cytogenetic response (CCgR)	- ไม่พบโครโมโซมฟิลาเดลเฟียในระยะเมตาเฟส (Ph+ metaphases)
	Partial Cytogenetic response (PCgR)	- พบโครโมโซมฟิลาเดลเฟียในระยะเมตาเฟส (Ph+ metaphases) ร้อยละ 1 ถึง 35
	Minor Cytogenetic response (mCgR)	- พบโครโมโซมฟิลาเดลเฟียในระยะเมตาเฟส (Ph+ metaphases) ร้อยละ 36 ถึง 65
	Minimal Cytogenetic response (minCgR)	- พบโครโมโซมฟิลาเดลเฟียในระยะเมตาเฟส (Ph+ metaphases) ร้อยละ 66 ถึง 95
	None Cytogenetic response (noCgR)	- พบโครโมโซมฟิลาเดลเฟียในระยะเมตาเฟส (Ph+ metaphases) มากกว่าร้อยละ 95

ตารางที่ 2 (ต่อ) แสดงชนิดการตอบสนองในการประเมินผลการรักษาโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์

ชนิดการตอบสนอง		เกณฑ์การตอบสนอง
Molecular response	Complete molecular response (CMoR)	- ตรวจไม่พบ <i>BCR-ABL</i> mRNA transcripts โดยวิธี real-time quantitative polymerase chain reaction (RQ-PCR)
	Major molecular response (MMoR)	- <i>BCR-ABL</i> mRNA transcripts ลดลงมากกว่าหรือเท่ากับ 3 log หรืออัตราส่วนของ <i>BCR-ABL</i> ต่อ <i>ABL</i> (หรือ housekeeping genes ตัวอื่น) น้อยกว่าหรือเท่ากับ ร้อยละ 0.1 international scale (IS)

ในขณะที่การติดตามผลการรักษาผู้ป่วย CML นอกจากประวัติและการตรวจร่างกายแล้ว จำเป็นต้องตรวจติดตามการนับเม็ดเลือด (complete blood count, CBC) การตรวจวิเคราะห์โครโมโซม (cytogenetic analysis) และหรือการตรวจระดับอณู (molecular analysis) เพื่อวัดระดับของ *BCR-ABL* transcript โดยการตรวจนับเม็ดเลือดเพื่อประเมินผลการตอบสนองทางโลหิตวิทยา ควรทำเมื่อวินิจฉัยครั้งแรก ต่อไปทุก 15 วัน จนกระทั่งได้ complete hematologic response (CHR) หลังจากนั้นทุก 3 เดือน หรือตามความจำเป็น, การตรวจวิเคราะห์โครโมโซมโดยวิธี chromosome banding analysis (CBA) ของเซลล์จากไขกระดูก (bone marrow cell) ในระยะ metaphase เพื่อประมาณการตอบสนองระดับโครโมโซม ควรตรวจเมื่อแรกวินิจฉัย หลังจากนั้นให้ตรวจที่ 3 เดือน และ 6 เดือนและทุก 6 เดือน จนกระทั่งได้ complete cytogenetic response (CCyR) หลังจากนั้นให้ตรวจทุก 12 เดือน (ในกรณีที่ไม่สามารถตรวจระดับอณูด้วยวิธี RQ-PCR ได้) ยกเว้นสงสัยว่ามีภาวะ myelodysplasia เนื่องจากมีภาวะเลือดจางที่ไม่สามารถหาสาเหตุได้ และ/หรือ leukopenia และ/หรือ thrombocytopenia หรือ suboptimal response หรือ failure เกิดขึ้น และการตรวจ RQ-PCR จากเซลล์เม็ดเลือดเพื่อประเมินปริมาณของ *BCR-ABL* transcript ที่ลดลง โดยรายงานผลเป็นอัตราส่วนของ *BCR-ABL:ABL* แล้วปรับเป็น international scale (IS) เพื่อประเมินการตอบสนองทางอณู โดยแนะนำให้ตรวจทุก 3 เดือน จนกระทั่งได้ MMR หลังจากนั้นแนะนำให้ตรวจทุก 6 เดือน (48)

2.2 การรักษาโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ และยาอิมาตินิบ

เดิมแนวทางการรักษาเริ่มจากการใช้ยาเคมีบำบัด เช่น Busulfan, Cytarabine และ Hydroxyurea แต่เนื่องจากเมื่อเวลาผ่านไป ผู้ป่วยส่วนมากจะควบคุมการดำเนินของโรคไม่ได้ และเข้าสู่ระยะblas ตลอดจนทนต่อผลข้างเคียงของยาไม่ได้ ต่อมาจึงมีการนำ Interferon (IFN) มาใช้ในการรักษา แต่ได้ผลเฉพาะผู้ป่วยระยะเรื้อรังเท่านั้น อย่างไรก็ตามผู้ป่วยยังมีการดำเนินโรค และเข้าสู่ระยะ accelerated และ blast ได้ ในขณะที่การเปลี่ยนถ่ายไขกระดูกเป็นการรักษาวิธีเดียวที่สามารถทำให้ผู้ป่วยในทุกระยะหายขาดได้ แต่เนื่องจากข้อจำกัดของการบริจาคไขกระดูก ซึ่งผู้ให้และผู้รับจะต้องมีเอชแอลเอ (Human Leukocyte Antigen; HLA) ที่เข้ากัน ตลอดจนความเสี่ยงจากภาวะแทรกซ้อน เช่น การติดเชื้อระหว่างการเปลี่ยนถ่ายไขกระดูก (10) ทำให้นำไปสู่การพัฒนาในกลุ่ม Tyrosine kinase inhibitors (TKIs) ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการสร้างโปรตีนไทโรซีนไคเนส เป็นผลให้เกิดการยับยั้งการถ่ายทอดสัญญาณภายในเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับการก่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวได้ โดยในปี ค.ศ. 2001 องค์การอาหารและยาประเทศสหรัฐอเมริกาได้อนุมัติให้ยาอิมาตินิบ (Imatinib mesilate, STI5721, CGP571488, Gleevec®, Glivec®) เป็นยาตัวแรก (prototype) ในกลุ่ม TKIs เพื่อใช้ในการรักษาโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ในผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยใหม่ (11) และในปี ค.ศ. 2008 คณะกรรมการพัฒนาระบบยาแห่งชาติประเทศไทยได้บรรจุยาอิมาตินิบเป็นยาในบัญชียาหลักแห่งชาติประเภทบัญชี จ(2) ทำให้ผู้ป่วยที่ถือสิทธิข้าราชการ สามารถเข้าถึงการใช้ยาได้ และต่อมาในปี ค.ศ. 2012 ผู้ป่วยสิทธิประกันสังคมสามารถเข้าถึงยาได้เช่นกัน ในขณะที่ผู้ป่วยสิทธิหลักประกันสุขภาพถ้วนหน้าก็สามารถเข้าถึงยาผ่านโครงการจีแพป (Glivec International Patient Assistance Program; GIPAP) ซึ่งเป็นโครงการการบริจาคมูลค่าโดยบริษัทที่ผลิตและนำเข้ายาอิมาตินิบ (12) และสามารถบริหารยาได้โดยการรับประทาน เนื่องจากยามีเภสัชภัณฑ์ในรูปแบบยาเม็ดเคลือบฟิล์มในขนาด 100 และ 400 มิลลิกรัม (11)

อิมาตินิบมีโครงสร้างทางเคมีเป็น 4-[(4-methyl-1-piperazinyl)methyl]-N-[4-methyl-3-[[4-(3-pyridinyl)-2-pyrimidinyl]amino]-phenyl] benzamide methane sulfonate ขนาดโมเลกุลเท่ากับ 589.7 ออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซีนไคเนส โดยโมเลกุลของยาจะเข้าไปแย่งจับยังบริเวณ SH-1 domain ซึ่งเป็นบริเวณที่สาร ATP (adenosine triphosphate) จะเข้าไปเติมหมู่ฟอสเฟตให้กับโปรตีน BCR-ABL จึงเป็นผลยับยั้งกระบวนการเติมหมู่ฟอสเฟตยังโมเลกุลไทโรซีนบนเอนไซม์ นำไปสู่การลดการถ่ายทอดสัญญาณภายในเซลล์ โดยเฉพาะสัญญาณที่เกี่ยวข้องกับการแบ่งตัว และการเจริญไปเป็นเซลล์มะเร็ง โดยไม่มีผลกับเซลล์ปกติ (2, 11) อิมาตินิบถูกดูดซึมอย่างรวดเร็ว และระดับยาในกระแสเลือดจะสูงสุด (C_{max}) ในระยะเวลา 1-2 ชั่วโมงภายหลัง

การรับประทาน โดยอาหารไม่มีผลต่อการดูดซึมของยา ในขณะที่มีค่าการกระจายยา (V_d) เท่ากับ 435 ลิตร โดยไม่ผ่านเข้าสู่เยื่อหุ้มสมอง และมีคุณสมบัติในการจับกับโปรตีนในกระแสเลือดมากถึงร้อยละ 95 โปรตีนในกระแสเลือด เช่น อัลบูมิน (albumin) และ AGP (α_1 -acid glycoprotein) เป็นต้น อิมาตินิบถูกเปลี่ยนแปลงโดยเอนไซม์ในกลุ่มไซโตโครมพี 450 ในตับ เช่น CYP3A4 และ CYP3A5 เป็นหลัก บางส่วนถูกเปลี่ยนแปลงผ่านเอนไซม์ CYP1A2, CYP2D6, CYP2C9 และ CYP2C19 ได้เป็นสารออกฤทธิ์ที่มีฤทธิ์เหมือนอิมาตินิบ คือ N-desmethylated piperazine derivative หรือ CGP 74588 โดยมีค่าครึ่งชีวิตเท่ากับ 40 ชั่วโมง ในขณะที่อิมาตินิบมีค่าครึ่งชีวิตเท่ากับ 18 ชั่วโมง จึงสามารถให้ยารวันละครึ่งได้ และอิมาตินิบจะถูกเปลี่ยนแปลงต่อจนได้สารที่ไม่มีฤทธิ์ โดยสารเมตาบอไลต์ทั้งในรูปมีฤทธิ์และไม่มีฤทธิ์จะสามารถถูกขับออกจากร่างกายผ่านทางอุจจาระเป็นหลัก (ส่วนมากอยู่ในรูปออกฤทธิ์) มีเพียงบางส่วนเท่านั้นที่จะถูกขับออกทางปัสสาวะ (41, 49)

สำหรับประเทศไทย นอกจากผู้ป่วยสิทธิบัตรทองซึ่งสามารถเข้าถึงยาผ่านโครงการจีแพพ (GPAP) ผู้ป่วยสิทธิข้าราชการและสิทธิประกันสังคมก็สามารถเบิกจ่ายการใช้ยาอิมาตินิบผ่านกรมบัญชีกลางตามเกณฑ์อนุมัติการใช้ยาอิมาตินิบตามข้อบ่งใช้ตามคู่มือการใช้ยาอย่างสมเหตุผลตามบัญชียาหลักแห่งชาติ บัญชี จ(2) (49)

นอกจากนี้สำหรับการตรวจคัดกรองเพื่อหา *BCR-ABL* kinase domain mutation นั้น สำหรับในสถาบันที่ตรวจได้แนะนำให้ตรวจในผู้ป่วยที่มีภาวะ suboptimal response หรือ failure และสามารถที่จะได้รับการรักษาด้วย second line Tyrosine kinase inhibitors (TKIs) ได้ และสำหรับการวัดระดับอิมาตินิบในเลือดในสถาบันที่ตรวจได้แนะนำให้ตรวจในผู้ป่วยที่สงสัยว่ามีภาวะ warning หรือ failure เพื่อให้แน่ใจว่าผู้ป่วยรับประทานยาอิมาตินิบสม่ำเสมอ ก่อนที่จะเปลี่ยนการรักษาเป็น second line TKIs หรือเปลี่ยนเป็นวิธีการรักษาอื่น นอกจากนี้อาจพิจารณาตรวจในผู้ป่วยที่เกิดผลข้างเคียงจากอิมาตินิบ (49) โดยผลการศึกษาวิจัยทางคลินิกของ Kalmanti และคณะ ในผู้ป่วย CML ที่ได้รับยาอิมาตินิบจำนวน 1379 ราย พบรายงานความน่าจะเป็นของการเกิดผลข้างเคียง (Adverse drug reactions; ADR) จากการใช้ยาอิมาตินิบในระยะเวลา 8 ปี (8-year probabilities of ADR) ดังต่อไปนี้ โดย non-hematologic ADR grade 1-4 % (อาการที่พบบ่อย เช่น การคั่งของสารน้ำและบวม น้ำ, ผลข้างเคียงในทางเดินอาหาร ร่วมกับอาการคลื่นไส้อาเจียน, ท้องเสีย, ปวดท้อง, ปวดกล้ามเนื้อและข้อ, ผื่นผิวหนัง เป็นต้น) อย่างน้อยหนึ่งอาการ เท่ากับ 73% และ grade 3-4 อย่างน้อยหนึ่งอาการ เท่ากับ 15% ในขณะที่ hematologic ADR grade 1-4 (ภาวะเลือดจาง, ภาวะเม็ดเลือดขาวต่ำกว่าปกติ และภาวะเกล็ดเลือดต่ำ) อย่างน้อยหนึ่งอาการเท่ากับ 76% และ hematologic ADR grade 3-4 อย่างน้อยหนึ่งอาการเท่ากับ 22% นอกจากนี้ยังพบผลข้างเคียงอื่นที่พบบได้น้อย แต่ร้ายแรงและอาจเป็นอันตรายถึงชีวิต เช่น การแพ้ยา, ผลต่อหัวใจ และ

ภาวะน้ำในเยื่อหุ้มปอด เป็นต้น (50) ซึ่งผู้ป่วย CML บางรายไม่สามารถทนต่อผลข้างเคียงของยาอิมาตินิบได้

2.3 ปัจจัยที่มีความเกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อการรักษาโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ด้วยยาอิมาตินิบ

ผู้ป่วยประมาณร้อยละ 30 – 40 พบว่าไม่ตอบสนองต่อการรักษาชนิด Complete Cytogenetic response (13-15) อาจกล่าวได้ว่าผู้ป่วยกลุ่มนี้ล้มเหลวจากการรักษาด้วยอิมาตินิบ ซึ่งสาเหตุประการหนึ่งเกิดจากการดื้อยาอิมาตินิบ โดย The European LeukemiaNet (ELN) ได้แบ่งการดื้อยาออกเป็น 2 ประเภท ได้แก่ การดื้อยาปฐมภูมิ (Primary resistance) คือความล้มเหลวจากการตอบสนองต่อการรักษาในระหว่างที่มีการใช้ยาโดยปราศจากการเปลี่ยนแปลง clones และการดื้อยาทุติยภูมิ (Secondary resistance) คือการสูญเสียการตอบสนองต่อการรักษาเริ่มต้นจากการที่โรคดำเนินเข้าสู่ระยะ accelerated และระยะ blast โดยกลไกการดื้อยาสามารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภทได้แก่ กลไกการดื้อยาที่เกี่ยวข้องกับ BCR-ABL (BCR-ABL dependent mechanisms) เช่น การเกิด *BCR-ABL* Duplication ทำให้เกิดการเพิ่มการทำงานของโปรตีน BCR-ABL และการเกิด *BCR-ABL* mutation หรือการเกิดการกลายพันธุ์ของยีน *BCR-ABL* เช่น การเกิดการกลายพันธุ์ที่ตำแหน่ง T315I ซึ่งเกิดจากลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่ง 944 เปลี่ยนแปลงจาก C เป็น T ทำให้กรดอะมิโนที่ตำแหน่ง 315 เปลี่ยนแปลงจากทรีโอนีนเป็นไอโซลิวซีน ส่งผลต่อรูปร่างและการทำงานของโปรตีน BCR-ABL โดยรูปร่างที่เปลี่ยนแปลงไปทำให้โมเลกุลของยาอิมาตินิบไม่สามารถเข้าจับยังโปรตีนดังกล่าวได้ และกลไกการดื้อยาที่ไม่เกี่ยวข้องกับ BCR-ABL (BCR-ABL independent mechanisms) ซึ่งกลไกที่แท้จริงยังไม่ทราบแน่ชัดแต่คาดว่าจะเกี่ยวข้อง เช่น การเกิด Epigenetic modification, การเกิด Alternative signal pathway activation, การเปลี่ยนแปลงระดับยาในกระแสเลือด เป็นต้น (46, 51) ซึ่งจากการศึกษาของ Picard และคณะ พบว่าระดับความเข้มข้นของยาอิมาตินิบในกระแสเลือด (imatinib plasma trough concentration; C_0) มีผลต่อการตอบสนองต่อการรักษาชนิด Cytogenetic และ Molecular (52) สอดคล้องกับการศึกษาของ Takahashi และคณะ ซึ่งพบว่า การตอบสนองต่อการรักษาชนิด major molecular response (MMR) สัมพันธ์กับระดับยาอิมาตินิบในกระแสเลือด (53, 54) โดยหนึ่งในกระบวนการที่สำคัญในการเปลี่ยนแปลงระดับยาในร่างกายคือ การเปลี่ยนแปลงกระบวนการเภสัชจลนศาสตร์ การเปลี่ยนแปลงเภสัชจลนศาสตร์ของยาอิมาตินิบจึงอาจส่งผลต่อการตอบสนองต่อการรักษาได้ (41, 55) โดยปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยานั้น สามารถแบ่งออกเป็นปัจจัยทางพันธุกรรม (genetic factors) และ ปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรม (non-genetic factors)

2.3.1 ปัจจัยทางพันธุกรรม (genetic factors) ที่มีความเกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อการรักษาโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ด้วยยาอิมาตินิบ

ปัจจัยทางพันธุกรรมเป็นปัจจัยประการหนึ่งที่สามารถส่งผลต่อการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบ เนื่องจากเภสัชจลนศาสตร์ของยาอิมาตินิบ ยาจจะถูกเปลี่ยนแปลงโดยเอนไซม์ในกลุ่มไซโตโครมพี 450 ในตับ เช่น CYP3A4 และ CYP3A5 เป็นหลัก และบางส่วนถูกเปลี่ยนแปลงโดยเอนไซม์ CYP1A2, CYP2D6, CYP2C9 และ CYP2C19 (41, 56) ในขณะเดียวกันอิมาตินิบก็เป็นซับสเตรต (substrate) ของโปรตีนนำส่งยาหลายชนิด ทั้งชนิดนำส่งยาเข้าสู่เซลล์ (Influx transporter) เช่น Organic cation transporter1 (OCT1) และชนิดนำส่งยาออกนอกเซลล์ (Efflux transporter) เช่น P-glycoprotein (P-gp) เป็นต้น (25-27) การเกิดพหุสัณฐานของยีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการดังกล่าวอาจส่งผลกระทบต่อการใช้ยาได้ แต่เนื่องจากความถี่อัลลีลของพหุสัณฐานของยีน CYP3A4 ในกลุ่มประชากรชาวเอเชียมีความถี่ที่ต่ำมากจากการศึกษาของ Zhou และคณะ บ่งชี้ว่า พหุสัณฐานของยีน CYP3A4 ในกลุ่มประชากรชาวจีนเชื้อสายฮั่น CYP3A4*1, *5, *6, *18 และ *21 มีความถี่อัลลีลเท่ากับร้อยละ 97, 0.5, 1, 1 และ 0.05 ตามลำดับ (57) สอดคล้องกับการศึกษาของ Pakakasama และคณะ พบว่าความถี่อัลลีลของ CYP3A4*1B เท่ากับร้อยละ 0.8 และ 0.9 ในกลุ่มผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเฉียบพลัน และกลุ่มอาสาสมัครในประชากรประเทศไทย มีความถี่อัลลีลที่ค่อนข้างต่ำ (18) ผู้วิจัยจึงทำการศึกษาภาวะพหุสัณฐาน (polymorphisms) เฉพาะยีน CYP3A5 ในขณะที่ยีน CYP2C19 เป็นยีนที่มีบทบาทในการควบคุมการแสดงออกของเอนไซม์ CYP2C19 ซึ่งมีบทบาทในการเปลี่ยนยาอิมาตินิบบางส่วนนั้น ก็มีรายงานการเกิดภาวะพหุสัณฐานชนิด CYP2C19*2 ในประชากรชาวไทยที่มีความถี่อัลลีลที่ค่อนข้างสูง (22, 23) ผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะศึกษาพหุสัณฐานดังกล่าวในการตอบสนองต่อยาอิมาตินิบในยีนทั้งสองชนิดในกลุ่มประชากรชาวไทย

2.3.1.1 พหุสัณฐาน (polymorphisms) ของยีน CYP3A4/5

CYP3A4 และ CYP3A5 เป็นยีนที่ทำหน้าที่ในการควบคุมการแสดงออกของเอนไซม์ CYP3A4 และ CYP3A5 ตามลำดับ ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่ม CYP3A superfamily ในกลุ่มเอนไซม์ไซโตโครมพี 450 (CYP450) โดยยีน CYP3A4 และ CYP3A5 อยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 7 ร่วมกับ CYP3A ชนิดอื่นๆ เช่น CYP3A7 และ CYP3A43 โดย CYP3A4 จะอยู่บนตำแหน่ง 7q21.3-q22.1 ในขณะที่ CYP3A5 จะอยู่บนตำแหน่ง 7q21-q22.1 ประกอบไปด้วย exon จำนวน 13 exon และสร้างโปรตีนที่มีจำนวนกรดอะมิโนเท่ากับ 502 กรดอะมิโนเช่นกัน (17)

CYP3A4 และ CYP3A5 เป็นเอนไซม์ที่พบมากถึงร้อยละ 30 ในกลุ่มเอนไซม์ไซโตโครมพี 450 (CYP450) ที่มีการแสดงออกในตับ นอกจากนี้ยังพบการแสดงออกของเอนไซม์ CYP3A5 ในลำไส้เล็ก รวมถึงพบการแสดงออกของเอนไซม์ CYP3A5 ในปริมาณที่มากกว่า CYP3A4 เนื้อเยื่ออื่นๆ นอกตับ เช่น ปอด, ไต, เต้านม, ต่อมลูกหมาก และ polymorphonuclear leukocytes (17) CYP3A5 เป็นยีนที่มีภาวะพหุสัณฐานทางพันธุกรรม (16, 17) โดยปัจจุบันมีการค้นพบการเกิด single nucleotide polymorphisms หรือ SNPs มากกว่า 25 อัลลีล (58) ซึ่งเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของนิวคลีโอไทด์เพียงตำแหน่งเดียว เอนไซม์ที่ได้จากมีลำดับกรดอะมิโนที่เปลี่ยนแปลงไป (non-synonymous SNPs) หรือไม่เปลี่ยนแปลง (synonymous SNPs) แต่ส่งผลให้เอนไซม์ที่ได้มีประสิทธิภาพในการเปลี่ยนแปลงยาที่แตกต่างกันไป โดยจากการศึกษาของ Kuehl และคณะ พบว่า variant ของ CYP3A5 ที่ไม่มีประสิทธิภาพในการเปลี่ยนแปลงยา (non-functional variant) คือ CYP3A5*3 ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงลำดับนิวคลีโอไทด์บนตำแหน่งที่ 6986 จาก adenine (A) เป็น guanine (G) (A6986G) ส่งผลให้เกิด splice site ที่ intron 3 ซึ่งเป็นผลให้เกิด premature termination codon และทำให้เอนไซม์ที่ได้ไม่สามารถทำหน้าที่ในการเปลี่ยนแปลงยาได้ บุคคลที่มีการแสดงออกทางจีโนไทป์แบบ CYP3A5*3/*3 จึงจัดเป็น CYP3A5 non-expressors หรือ poor metabolizer (59) เมื่อเทียบกับบุคคลที่มีการแสดงออกทางจีโนไทป์แบบ CYP3A5*1/*1 (extensive metabolizer หรือ wild-type) ซึ่งจากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า ความถี่อัลลีลของ CYP3A5*1 และ CYP3A5*3 มีความแตกต่างกันในแต่ละเชื้อชาติ ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 แสดงความถี่อัลลีลของ CYP3A5*1 และ CYP3A5*3 ในประชากรเชื้อชาติต่าง ๆ

กลุ่มชาติพันธุ์ (เชื้อชาติ)	จำนวน ประชากร	CYP3A5*1 allele	CYP3A5*3 allele	เอกสารอ้างอิง
Asian				
Thai	48	0.383	0.618	Vannaprasaht และคณะ (2013) (20)
Chinese	108	0.240	0.760	Balram และคณะ (2003) (60)
Malaysian	98	0.390	0.610	Balram และคณะ (2003) (60)
Japanese	200	0.230	0.770	Balram และคณะ (2003) (60)
Korean	82	0.200	0.800	Seong และคณะ (2013) (61)
Caucasian (White)				
Polish	100	0.035	0.915	Zochowska และคณะ (2012) (62)
Dutch	1000	0.085	0.915	Schaik และคณะ (2002) (63)
Bosnia &Herzegovina	139	0.068	0.932	Semiz และคณะ (2001) (64)
Others				
Brazilian	799	0.210	0.790	Suarez-Kurtz และคณะ (2014) (65)

จากศึกษา ของ Kim และคณะ พบว่า AA จีโนไทป์ของ CYP3A5*3 หรือ rs776746 สัมพันธ์กับการตอบสนอง (MCyR และ CCyR) ที่ลดลงในผู้ป่วยที่ได้รับยาอิมาตินิบในการรักษา CML (28) สอดคล้องกับการศึกษา meta-analysis ของ Wang และคณะ ซึ่งพบว่าพหุสัณฐานของยีน CYP3A5 ชนิด *3 สัมพันธ์กับความเสี่ยงในการพัฒนาของโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวเฉียบพลันและเรื้อรัง ชนิดมัยอีลอยด์ ในกลุ่มประชากรชาวเอเชียและคอเคเซียน (66) ในขณะที่การศึกษาของ Takahashi และคณะ และ Seong และคณะกลับไม่พบความสัมพันธ์ดังกล่าว (53, 61) ดังนั้นจึงมีความน่าสนใจที่จะประเมินการตอบสนองในการรักษาด้วยยาอิมาตินิบในผู้ป่วย CML ในชาวไทยที่มีพหุสัณฐานชนิด CYP3A5*3

2.3.1.2 พหุสัณฐาน (polymorphisms) ของยีน CYP2C19

CYP2C19 เป็นยีนที่ทำหน้าที่ในการควบคุมการแสดงออกของเอนไซม์ CYP2C19 จัดอยู่ในกลุ่ม CYP2C superfamily ในกลุ่มเอนไซม์ไซโตโครมพี 450 (CYP450) โดยยีน CYP2C19 อยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 10 ร่วมกับ CYP2C ชนิดอื่นๆ เช่น CYP2C8, CYP2C9, CYP2C18 และ CYP2C19 โดย CYP2C19 จะอยู่บนตำแหน่ง 10q24.1 – 10q24.3 ประกอบไปด้วย exon จำนวน 9 exon และสร้างโปรตีนที่มีจำนวนกรดอะมิโนเท่ากับ 490 กรดอะมิโน โดยพบการแสดงออกของเอนไซม์ CYP2C19 มากในเนื้อเยื่อดับ และบางส่วนในลำไส้เล็ก (24)

CYP2C19 เป็นยีนที่มีภาวะพหุสัณฐานทางพันธุกรรม โดยปัจจุบันมีการค้นพบการเกิด single nucleotide polymorphisms หรือ SNPs มากกว่า 35 อัลลีล (67) ซึ่งเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของนิวคลีโอไทด์เพียงตำแหน่งเดียว ส่งผลให้เอนไซม์ที่ได้มีประสิทธิภาพในการเปลี่ยนแปลงยาที่แตกต่างกันไป โดย variant ของ CYP2C19 ที่ไม่มีประสิทธิภาพในการเปลี่ยนแปลงยา (non-functional variant) คือ CYP2C19*2 ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงลำดับนิวคลีโอไทด์บนตำแหน่งที่ 681 จาก guanine (G) เป็น adenine (A) (G681A) ส่งผลให้เกิด splice site ที่ exon 5 ทำให้เอนไซม์ที่ได้ไม่สามารถทำหน้าที่ในการเปลี่ยนแปลงยา และ CYP2C19*3 ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงลำดับนิวคลีโอไทด์บนตำแหน่งที่ 636 จาก guanine (G) เป็น adenine (A) (G636A) ส่งผลให้เกิด missense ที่ exon 4 เป็นผลให้กรดอะมิโนที่ตำแหน่ง 212 เปลี่ยนจาก tryptophan (w) เป็น stop codon เกิด premature termination codon ทำให้เอนไซม์ที่ได้ไม่สามารถทำหน้าที่ในการเปลี่ยนแปลงยาเช่นเดียวกับ CYP2C19*2 ดังนั้นบุคคลที่มีการแสดงออกทางจีโนไทป์แบบ CYP2C19*2/*2 และ *3/*3 จึงจัดเป็น poor metabolizer (PM) และบุคคลที่มีการแสดงออกทางจีโนไทป์แบบ CYP2C19*1/*2 และ *1/*3 จึงจัดเป็น intermediate metabolizer (IM) เมื่อเทียบกับบุคคลที่มีการแสดงออกทางจีโนไทป์แบบ CYP2C19*1/*1 (extensive metabolizer; EM หรือ wild-type) (24) ซึ่งจากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า ความถี่อัลลีลของ CYP2C19*2 และ CYP2C19*3 มีความแตกต่างกันในแต่ละเชื้อชาติ โดยในกลุ่มประชากรชาวไทย และเอเชียจะมีความถี่อัลลีล CYP2C19*2 ในความถี่ที่สูงมากกว่าชาวคอเคเซียน และ ไม่พบความถี่อัลลีล CYP2C19*3 ในชาว คอเคเซียน และพบความถี่ที่ต่ำในประชากรชาวเอเชีย ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 แสดงความถี่อัลลีลของ *CYP2C19*1* และ *CYP2C19*2* ในประชากรเชื้อชาติต่าง ๆ

กลุ่มชาติพันธุ์ (เชื้อชาติ)	จำนวน ประชากร	<i>CYP2C19</i> *1 allele	<i>CYP2C19</i> *2 allele	เอกสารอ้างอิง
Asian				
Thai	242	0.650	0.350	Yamada และคณะ (2001) (22)
Thai	1548	0.710	0.290	Tassaneeyakul และคณะ (2006) (23)
Korean	82	0.738	0.262	Seong และคณะ (2013) (61)
Japanese	34	0.660	0.340	Yamakawa และคณะ (2011) (68)
Chinese	242	0.540	0.460	Yamada และคณะ (2001) (22)
Caucasian (White)				
Turkish	808	0.880	0.120	Aynacioglu และคณะ (1999) (69)
Dutch	70	0.764	0.236	Gardner และคณะ (2006) (70)
Dutch	1530	0.867	0.133	Tamminga และคณะ (2001) (71)
Iranian	200	0.860	0.140	Zand และคณะ (2007) (72)
Greek	283	0.869	0.131	Arvanitidis และคณะ (2007) (73)

Seong และคณะ ได้ทำการศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่างพหุสัณฐานของยีน *CYP2C19*2* และระดับความเข้มข้นในกระแสเลือด และการตอบสนองทางคลินิกของยาอิมาดินิบ แม้ว่าผลการศึกษาดังกล่าวจะไม่พบนัยสำคัญทางคลินิก (61) ซึ่งอาจเนื่องมาจากความแตกต่างทางเชื้อชาติ และขนาดประชากรในการศึกษา ในขณะที่การศึกษาของ Gardner และคณะ และ Yamakawa และคณะ ซึ่งทำการศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่างพหุสัณฐานของยีน *CYP2C19* กับการเปลี่ยนแปลงทางเภสัชจลนศาสตร์ของยาอิมาดินิบ แม้ว่าจะไม่พบนัยสำคัญทางคลินิกในประเด็นดังกล่าวเช่นกัน แต่จากผลการทดลองกลับพบว่า variants ของยีน *CYP2C19*2* มีแนวโน้มที่จะสัมพันธ์กับค่าการขจัด (Clearance; CL) ที่เปลี่ยนแปลงไปของยาอิมาดินิบ (68, 70) และอาจจะส่งผลต่อการตอบสนองที่เปลี่ยนแปลงไปของยาอิมาดินิบได้ อย่างไรก็ตามสาเหตุประการหนึ่งอาจสืบเนื่องมาจากความถี่อัลลีลของยีนดังกล่าวมีความถี่ที่ต่ำในกลุ่มประชากรชาวคอเคเซียน ในขณะที่ในกลุ่มประชากรชาวเอเชียจะมีความถี่อัลลีลที่สูงกว่า ดังแสดงในตารางที่ 7 ดังนั้นจึงมีความน่าสนใจ

ที่จะประเมินการตอบสนองในการรักษาด้วยยาอิมาตินิบในผู้ป่วย CML ในชาวไทยที่มีพหุสัณฐานชนิด CYP2C19*2

2.3.1.3 พหุสัณฐาน (polymorphisms) ของยีน SLC22A1

ยีน *SLC22A1* ตั้งอยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 6 ตำแหน่ง q23.3 ประกอบไปด้วย exon 11 exon ขนาด 37 kb (74) เป็นยีนที่ควบคุมการแสดงออกของโปรตีนนำส่งยาเข้าเซลล์ Organic cation transporter1 (OCT1) ซึ่งอยู่ในกลุ่ม solute carrier family โปรตีน OCT1 ประกอบไปด้วย 12 transmembrane domains และ hydrophilic loop ระหว่าง transmembrane ที่ 1 และ 2 และมีการแสดงออกมากในบริเวณเซลล์ตับ นอกจากนี้ยังพบในบริเวณต่อมหมวกไต, เนื้อเยื่อปอด และเนื้อเยื่อไต เป็นต้น (75, 76)

จากการศึกษาของ Thomas และคณะ พบว่าอิมาตินิบมีคุณสมบัติเป็นซับสเตรต (Substrate) ของ OCT1 (26) ต่อมา White และคณะได้ทำการศึกษาถึงความสัมพันธ์ของการแสดงออกของโปรตีน OCT1 กับการตอบสนองทางอณู (molecular response) ในเซลล์ mononuclear จากผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรัง พบว่า OCT1 มีการแสดงออกที่มากขึ้นสัมพันธ์กับการตอบสนองที่มากขึ้น (77) และการศึกษาของ de Lima และคณะ พบว่าการแสดงออกของ OCT1 mRNA ที่สูงขึ้นในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังที่มีการตอบสนองต่อการรักษาชนิด MMR แต่ไม่พบนัยสำคัญทางสถิติ (78) ในขณะที่การศึกษาของ Zhong และคณะพบความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างการแสดงออกของโปรตีน OCT1 ในกลุ่มผู้ป่วย CML ชาวเอเชียที่ตอบสนองต่อการรักษาชนิด CCyR มากกว่ากลุ่มผู้ป่วยที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษา (79) สอดคล้องกับการศึกษาของ White และคณะในผู้ป่วย CML ชาวคอเคเซียนที่พบว่า OCT1 สัมพันธ์กับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบ (80-82) ปัจจัยประการหนึ่งซึ่งส่งผลให้เกิดความแตกต่างนี้ อาจเนื่องมาจากพหุสัณฐานของยีน *SLC22A1* โดยมีรายงานการเกิดพหุสัณฐานของยีน *SLC22A1* ในมนุษย์มากกว่า 2,838 SNPs (83) และมีการศึกษาบ่งชี้ถึงความสัมพันธ์ของเภสัชจลนศาสตร์ของยาอิมาตินิบ รวมถึงการตอบสนองต่อการรักษาในผู้ป่วย CML สัมพันธ์กับพหุสัณฐานของยีน *SLC22A1* (29, 84, 85)

Kim และคณะได้ทำการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง การเกิดพหุสัณฐานของยีน *SLC22A1* 480 C>G หรือ L160F ซึ่งอยู่บน exon ที่ 2 และก่อให้เกิด missense ที่ UTR variant 5 prime และมีการเปลี่ยนแปลงลำดับกรดอะมิโนจาก Leucine เป็น Phenylalanine พบว่ามีความสัมพันธ์กับการตอบสนองชนิด MMR ในผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรัง โดยพบว่าผู้ป่วยที่มี variant ของยีนนี้จะมีความเสี่ยงที่จะล้มเหลวต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบ (28)

แต่อย่างไรก็ตามการศึกษาในประเด็นดังกล่าวนี้เป็นการศึกษาเฉพาะในกลุ่มประชากรชาวคอเคเซียน ในขณะที่การศึกษาของ Takahashi และคณะกลับไม่พบความสัมพันธ์ดังกล่าวในกลุ่มประชากรชาวญี่ปุ่น (53) ซึ่งจากการศึกษาพบว่าความถี่อัลลีลของ *SLC22A1* 480C>G มีความแตกต่างกันในแต่ละเชื้อชาติ แสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 แสดงความถี่อัลลีลของ *SLC22A1* 480C>G ในประชากรเชื้อชาติต่าง ๆ

กลุ่มชาติพันธุ์ (เชื้อชาติ)	จำนวนประชากร	C allele	G allele	เอกสารอ้างอิง
Asian				
Chinese	70	0.79	0.21	Singh และคณะ (2012) (84)
Malaysian	70	0.80	0.20	Singh และคณะ (2012) (84)
Indian	70	0.79	0.21	Singh และคณะ (2012) (84)
Japanese	194	0.84	0.16	Ohishi และคณะ (2014) (86)
Caucasian (White)				
Israel	84	0.756	0.244	Vine และคณะ (2014) (87)
Israel/German	167	0.847	0.153	Koren-Michowitz และคณะ (2014) (88)
Italian	156	0.819	0.181	Angelini และคณะ (2013) (89)
Italian	60	0.760	0.240	Paolo และคณะ (2014) (29)
UK/German	296	0.780	0.220	Giannoudis และคณะ (2013) (85)
Canadian (Dutch)	170	0.802	0.198	Kim และคณะ (2009) (28)

ดังนั้นจึงมีความน่าสนใจที่จะทำการศึกษาในกลุ่มเชื้อชาติต่างๆ รวมถึงกลุ่มผู้ป่วย CML ในประเทศไทยที่มีพหุสัณฐานชนิด *SLC22A1* 480C>G เพื่อหาปัจจัยที่จะนำมาอธิบายความแตกต่างในการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบเพิ่มเติม

2.3.1.4 พหุสัณฐาน (polymorphisms) ของยีน ABCB1

ABCB1 หรือ adenosine triphosphate (ATP) -binding cassette subfamily B member 1 หรือ Multidrug-resistance-1 (MDR1) เป็นยีนที่อยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 7 อยู่บนตำแหน่ง 7q21.12 ประกอบไปด้วย 29 exons ในส่วนที่เป็นรหัสพันธุกรรมจะมีขนาดเท่ากับ 251.3 กิโลเบส (kd) ทำหน้าที่ควบคุมการแสดงออกของโปรตีน Plasma membrane glycoprotein (P-gp) ซึ่งเป็นโปรตีนในกลุ่ม ABC transporter Protein ที่ทำหน้าที่ในการนำยาหรือสารที่มีคุณสมบัติเป็นขับสเตรตออกนอกเซลล์ (Efflux transporter) โดยต้านความเข้มข้น (concentration gradient) P-gp มีขนาดเท่า 170 กิโลดาลตัน (kDa) ประกอบด้วยกรดอะมิโนทั้งสิ้น 1,280 กรดอะมิโน มีลักษณะโครงสร้างประกอบไปด้วย 12 transmembranes แบ่งออกเป็น 2 transmembrane domain (TMD) ซึ่งเป็นบริเวณที่ขับสเตรตจะเข้ามาจับ และ 2 nucleotide-binding ในด้านไซโตพลาสซึมซึ่งเป็นบริเวณที่ ATP จะเข้ามาจับเพื่อเติมหมู่ฟอสเฟตให้กับโปรตีน (90)

P-gp มีการแสดงออกในเนื้อเยื่อหลายประเภท เช่น ตับ, ไต, ลำไส้เล็ก, ลำไส้ใหญ่, ต่อมหมวกไต, รก, รวมทั้งเยื่อหุ้มอวัยวะ เยื่อหุ้มสมอง รวมถึงยังพบบนเซลล์บางประเภท เช่น เซลล์ลิมโฟไซต์ (lymphocyte), เซลล์ต้นกำเนิดเม็ดเลือด (hematopoietic stem cells) และเซลล์มะเร็ง เป็นต้น (91-93) ดังนั้น P-gp จึงเป็นโปรตีนสำคัญที่มีบทบาทในการกระจายยา ซึ่งอาจส่งผลต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยาที่มีคุณสมบัติเป็นขับสเตรตได้ นอกจากนี้ยังพบว่าการแสดงออกของ P-gp ในตับมีความแตกต่างกันในแต่ละเชื้อชาติ (94) อาจเนื่องมาจากความแตกต่างทางพันธุกรรม โดยมีรายงานการเกิดพหุสัณฐานของยีน *ABCB1* ในมนุษย์มีมากกว่า 11,526 SNPs (83) และมีมากถึง 50 ชนิดที่พบในบริเวณ coding region (95) ซึ่งพหุสัณฐานดังกล่าวนี้เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของนิวคลีโอไทด์เพียงตำแหน่งเดียว แต่อาจส่งผลให้เอนไซม์ที่ได้มีประสิทธิภาพในการเปลี่ยนแปลงยาที่แตกต่างกันไป โดย 1236C>T, 3435C>T และ 2677G>T/A เป็น variants ที่พบว่ามีการศึกษาค่อนข้างมาก โดย 1236C>T และ 3435C>T เป็น variants ที่ทำให้มีการแสดงออกของโปรตีน P-gp มีลำดับกรดอะมิโนที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลง (synonymous SNPs) ในขณะที่ 2677G>T/A เป็น variant ที่มีการเปลี่ยนแปลงลำดับกรดอะมิโน (non-synonymous SNPs) (96) นอกจากนี้จากการศึกษาของ Tang และคณะ พบว่า variants ดังกล่าวมี Linkage disequilibrium (LD) ต่อกัน กล่าวคือ เมื่อเกิด SNPs บนตำแหน่งใดตำแหน่งหนึ่ง จะพบ SNPs ในตำแหน่งอื่นๆเช่นกัน (97)

การศึกษาของ Hoffmeyer และคณะเป็นการศึกษาแรกที่พบความสัมพันธ์ระหว่างพหุสัณฐานของ *ABCB1* และชีวประสิทธิผลของยา โดย TT genotype 3435C>T จะมีการแสดงออกของโปรตีน P-gp ในลำไส้ลดลง เป็นผลให้ระดับความเข้มข้นในกระแสเลือดของยา Digoxin เพิ่มขึ้นหลังรับประทานยา (98) และจากการศึกษาของ Mahon และคณะ พบว่าอิมาดินิบมีคุณสมบัติเป็น

ซัสเตรต ของ P-gp และพบการแสดงออกที่มากเกินไปของ P-gp ในผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดชนิดเรื้อรังที่ติดต่อยาอิมิดาตินิบ (25) สอดคล้องกับการศึกษาของ Galimberti และคณะ ซึ่งพบว่าผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาชนิด CCyR จะมีระดับการแสดงออกของยีน *ABCB1* ที่มากกว่าปกติ (99) และ Gurney และคณะ พบความสัมพันธ์ระหว่างการขจัดยาอิมิดาตินิบที่เพิ่มขึ้นในผู้ป่วยที่มี 1236C>T TT genotype (100) สอดคล้องกับการศึกษาอื่นๆที่แสดงสัมพันธ์ระหว่างเภสัชจลนศาสตร์ของยาอิมิดาตินิบในผู้ป่วย CML (29, 53, 101-103)

ABCB1 1236C>T เป็น SNPs ที่เกิดการเปลี่ยนแปลงของนิวคลีโอไทด์เพียงตำแหน่งเดียว ที่ตำแหน่ง 1236 ของ exon ที่ 12 และมี C allele เป็น wild-type โดยโปรตีนที่ได้จาก T allele (variant) จะมีลำดับโปรตีนที่ไม่เปลี่ยนแปลง (synonymous SNPs) กล่าวคือ ลำดับกรดอะมิโนที่ตำแหน่ง 412 ที่ได้ยังคงเป็น glycine โดยจากการศึกษาของ Ni และคณะ พบว่า 1236C>T สัมพันธ์กับการติดต่อยาอิมิดาตินิบในผู้ป่วย CML ชาวจีน (32) สอดคล้องกับการศึกษาของ Deenik และคณะ ซึ่งพบว่า variant ดังกล่าวสัมพันธ์กับการตอบสนองต่อการรักษาชนิด MMR และ CMR ที่ลดลง (31) ในขณะที่การศึกษาของ Dulucq และคณะ และ Au และคณะ กลับให้ผลการศึกษาในทิศทางตรงข้าม กล่าวคือ พบว่า variant ของยีนสัมพันธ์กับการตอบสนองต่อการรักษาชนิด MMR ที่เพิ่มขึ้น ในขณะที่ wild-type ของยีนสัมพันธ์กับการติดต่อยาอิมิดาตินิบ (30, 33) และไม่พบความสัมพันธ์ใด ๆ ในการศึกษาของ Takahashi (53) ซึ่งความแตกต่างนี้อาจเนื่องมาจากความแตกต่างในกลุ่มเชื้อชาติ และประชากรในแต่ละการศึกษา Bailing และคณะ และ Zheng และคณะ จึงได้ทำการศึกษา meta-analysis และพบว่า 1236C>T ในผู้ป่วย CML ชาวเอเชียมีความเสี่ยงสูงในการติดต่อยาอิมิดาตินิบ (34, 35) ดังนั้นจึงมีความน่าสนใจที่จะทำการศึกษาในผู้ป่วย CML ชาวไทย เพื่อหาปัจจัยที่จะนำมาอธิบายความแตกต่างในประเด็นดังกล่าวเพิ่มเติม

ตารางที่ 6 แสดงความถี่อัลลีลของ *ABCB1* 1236C>T ในประชากรเชื้อชาติต่าง ๆ

กลุ่มชาติพันธุ์ (เชื้อชาติ)	จำนวน ประชากร	C allele	T allele	เอกสารอ้างอิง
Asian				
Korean	82	0.433	0.567	Seong และคณะ (2013) (61)
Korean	209	0.392	0.608	Koo และคณะ (2015) (104)
Japanese	34	0.430	0.570	Yamaka และคณะ (2011) (68)
Chinese	52	0.433	0.567	Ni และคณะ (2011) (32)
Chinese	70	0.281	0.719	Singh และคณะ (2012) (84)
Malaysian	215	0.400	0.600	Au และคณะ (2014) (33)
Malaysian	70	0.342	0.658	Singh และคณะ (2012) (84)
Indian	70	0.328	0.672	Singh และคณะ (2012) (84)
Caucasian (white)				
French	84	0.536	0.464	Dulucq และคณะ (2008) (30)
French	34	0.587	0.413	Petain และคณะ (2008) (102)
Canadian (Dutch)	170	0.562	0.438	Kim และคณะ (2009) (28)
Netherland	43	0.547	0.453	Deenik และคณะ (2010) (31)
French	510	0.564	0.436	Dulucq และคณะ (2010) (105)
Spanish	64	0.539	0.461	Maffioli และคณะ (2011) (106)
Brazilian	116	0.589	0.411	Vivona และคณะ (2012) (107)
Italian	154	0.581	0.419	Angelini และคณะ (2013) (89)
Italian	60	0.643	0.357	Paolo และคณะ (2014) (29)

2.3.2 ปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรม (genetic factors) ที่มีความเกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อการรักษาโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ด้วยยาอิมาตินิบ

ปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรม (non-genetic factors) ได้แก่ เพศ และ อายุ แม้ว่าจะมีการศึกษามากมายเกี่ยวกับความแตกต่างในกระบวนการเภสัชจลนศาสตร์ระหว่างเพศ (108) แต่จากผลการศึกษาของ Dagher และคณะ พบว่าเพศไม่สัมพันธ์กับเภสัชจลนศาสตร์ของยาอิมาตินิบ ในผู้ป่วยโรคมะเร็งเยื่อใยในทางเดินอาหาร (Gastrointestinal stromal tumors) (109) ในขณะการศึกษาของ Burger และคณะในผู้ป่วย CML บ่งชี้ว่าผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาด้วยยาเคมีบำบัด และการเปลี่ยนถ่ายไขกระดูกเพศหญิงก็จะมีอัตราการรอดชีวิตที่สูงกว่าเพศชาย (37) ในขณะที่ Branford และคณะ และ Han-Xin Lin และคณะได้ทำการศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่างการตอบสนองต่อการรักษาและเพศ กลับพบว่าผู้ป่วย CML ที่ได้รับการรักษาด้วยยาอิมาตินิบเพศหญิงจะมีการตอบสนองทางอณูชนิด MMR ที่ดีกว่าเพศชาย (38, 39) ดังนั้นการประเมินความสัมพันธ์ระหว่างเพศ และการตอบสนองต่อการรักษาผู้ป่วย CML ชาวไทยที่ได้ยารับอิมาตินิบ จึงเป็นอีกหนึ่งปัจจัยที่ยังต้องทำการประเมิน และศึกษาต่อไป ในขณะที่ประชากรที่มีอายุมากขึ้น เช่น กลุ่มประชากรผู้สูงอายุจะมีการทำงานของระบบทางเดินอาหารที่เปลี่ยนแปลงไป, ระดับอัลบูมินในเลือดที่ลดลง รวมถึงการทำงานของตับและไตที่ลดลง เป็นต้น (36) ซึ่งปัจจัยต่าง ๆ เหล่านี้อาจส่งผลกระทบต่อกระบวนการเปลี่ยนแปลงเภสัชจลนศาสตร์ของยาอิมาตินิบในผู้ป่วย CML ได้ นอกจากนี้จากการศึกษาของ Wiggins และคณะยังบ่งชี้ว่าผู้ป่วย CML ที่ได้รับการรักษาด้วยยาอิมาตินิบในกลุ่มประชากรสูงอายุจะมีอัตราการรอดชีวิตที่ต่ำกว่ากลุ่มประชากรที่มีอายุต่ำกว่า (40) อย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษาถึงการตอบสนองต่อการรักษา CML ในกลุ่มประชากรที่ความแตกต่างทางอายุในประเทศไทย ดังนั้นอายุจึงอาจเป็นอีกหนึ่งปัจจัยที่อาจส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพและความปลอดภัยจากการรักษาได้

ดังนั้นในการศึกษานี้ ผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะทำการศึกษาค่าความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรม ได้แก่ พหุสัณฐานของยีน *CYP3A5*, *CYP2C19*, *SLC22A1*, และ *ABCB1* ร่วมกับปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรมกับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบในผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ชาวไทย ทั้งนี้เพื่อเป็นข้อมูลในการพิจารณาในการรักษาด้วยยาอิมาตินิบให้มีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้น ตลอดจนเพื่อให้ผู้ป่วยได้รับประโยชน์สูงสุดจากการได้รับการรักษา

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 ลักษณะตัวอย่างหรือประชากรที่ทำการศึกษา

3.1.1 ประชากรเป้าหมาย

ประชากรเป้าหมายในการทำการศึกษานี้คือผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ชาวไทยที่ได้รับการรักษาหรือมีประวัติการรักษาด้วยยาอิมาตินิบ โดยรวบรวมข้อมูลประวัติผู้ป่วยย้อนหลังในช่วงระยะเวลา 17 ปี (ตั้งแต่ พ.ศ. 2544 ถึง พ.ศ. 2560) จากฐานข้อมูลของโรงพยาบาลรามธิบดี และได้รับการรับรองโครงการการศึกษาในคน โดยคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามธิบดี เลขที่โครงการ 04-59-27

3.1.2 การเลือกตัวอย่าง

ทำการคัดเลือกผู้ป่วย/อาสาสมัครเข้าร่วมการวิจัยตามเกณฑ์การคัดเลือกผู้ป่วยเข้าร่วมโครงการวิจัย (Inclusion criteria) ดังนี้ คือ

- อาสาสมัครที่มีสัญชาติไทย และมีอายุมากกว่า 15 ปีบริบูรณ์ ซึ่งได้รับการวินิจฉัยจากแพทย์ว่าเป็นโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์
- ผู้ป่วยได้รับการรักษาหรือมีประวัติการรักษาด้วยยาอิมาตินิบ ด้วยขนาดยาที่คงที่ติดต่อกันเป็นระยะเวลาอย่างน้อย 3 เดือน ก่อนเข้าร่วมการวิจัย
- ยินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัยด้วยความเต็มใจ และผู้ป่วยหรือผู้แทนโดยชอบธรรมได้ลงลายมือชื่อในหนังสือแสดงเจตนายินยอมเข้าร่วมการวิจัย (Informed consent)

ผู้ป่วยจะถูกคัดออกจากการวิจัยหากมีลักษณะตามเกณฑ์การคัดเลือกออกจากโครงการวิจัย (Exclusion criteria) ดังนี้คือ

- ผู้ป่วยที่แพทย์วินิจฉัยว่าอาจมีอันตรายจากการเข้าร่วมการวิจัย เช่น มีประวัติแพ้ยาอิมาตินิบ, ผู้ป่วยมะเร็งชนิดอื่นที่ต้องได้รับการรักษาด้วยยาเคมีบำบัด, ผู้ป่วยโรคจิตเภทที่ควบคุมอาการไม่ได้ เป็นต้น
- ผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ที่มีการดำเนินโรคจากระยะ chronic เข้าสู่ระยะ accelerated และ blast
- ผู้ป่วยที่มีการกลายพันธุ์ของยีน *BCR-ABL* ที่ส่งผลต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบ
- ผู้ป่วยที่ไม่ให้ความร่วมมือในการรับประทานยา (non-compliance)
- ผู้ป่วยที่มีประวัติการรักษา และการตอบสนองต่อยาอิมาตินิบที่ไม่ชัดเจน
- ผู้ป่วยที่อยู่ระหว่างการตั้งครรภ์หรือให้นมบุตร
- ผู้ป่วยที่มีการเสพติดสารเสพติดหรือแอลกอฮอล์
- ผู้ป่วยที่ไม่ยินยอมให้มีการเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อการศึกษาทางเภสัชพันธุศาสตร์
- ผู้เข้าร่วมวิจัยปฏิเสธหรือขอถอนตัวออกจากโครงการวิจัย

3.1.3 ขนาดตัวอย่าง

การคำนวณขนาดตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ข้อมูลแบบ multiple logistic regression อาศัยหลักเกณฑ์ของ Peduzzi และคณะ (110) โดยคำนวณจาก minimum number of events per variable (EPV)

$$N = 10k/p$$

โดย p คือ สัดส่วนของ case ในประชากร

k คือ จำนวนตัวแปรอิสระในการศึกษา

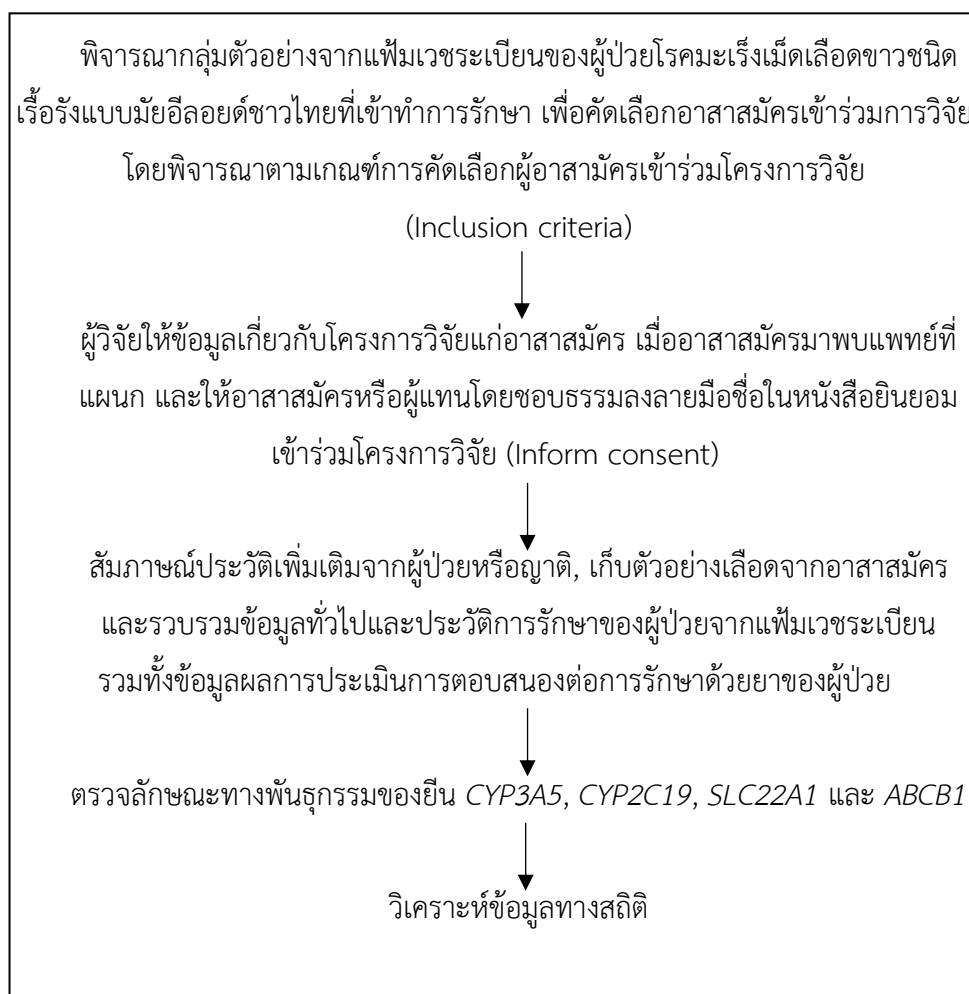
ซึ่งในการศึกษานี้ มีตัวแปรตามคือการตอบสนองต่อยาอิมาตินิบ ตัวแปรอิสระแบ่งออกเป็นปัจจัยทางพันธุกรรมจำนวน 4 ตัวแปร ได้แก่ ลักษณะทางพันธุกรรมของยีน *CYP3A5*, *CYP2C19*, *SLC2AA1* และ *ABCB1* และปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรมอย่างน้อย 1 ตัวแปร ดังนั้นจึงสามารถคำนวณขนาดตัวอย่างได้ดังต่อไปนี้ และจากการทบทวนวรรณกรรมพบว่าสัดส่วนของผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบมีประมาณ 0.3 (13-15) ดังนั้นขนาดตัวอย่างที่ต้องใช้สำหรับการวิเคราะห์ข้อมูลแบบ multiple logistic regression ในการศึกษาี้ เท่ากับ $(10 \times 5)/0.3 = 167$ คน

ดังนั้น ในการศึกษาี้จะใช้ จำนวนตัวอย่างอย่างน้อย 167 คน

3.2 วิธีดำเนินการวิจัย

งานวิจัยนี้มีรูปแบบการศึกษาวิจัยโดยการสังเกต (observational studies) สืบค้นย้อนหลัง (retrospective)

3.2.1 แผนภูมิการดำเนินงาน



รูปที่ 1 แสดงแผนภาพแสดงขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

3.2.2 การดำเนินการวิจัย

3.2.2.1 การเก็บข้อมูลทั่วไปและข้อมูลทางคลินิกของผู้ป่วย

ทำการเก็บข้อมูลผู้ป่วยจากการทบทวนประวัติจากเวชระเบียนผู้ป่วยนอก (OPD card) และเวชระเบียนผู้ป่วยในของโรงพยาบาล ร่วมกับการสัมภาษณ์เพิ่มเติมจากผู้ป่วยหรือญาติ พร้อมทั้งบันทึกลงในแบบบันทึกข้อมูล (data record form; DRF)

3.2.2.2 การประเมินการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบ

การประเมินการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบของผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์สามารถแบ่งผู้ป่วยออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ 1) กลุ่มผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ที่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบ (imatinib-responsive CML) และ 2) กลุ่มผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบ (imatinib-nonresponsive CML) ตามนิยามของ European LeukemiaNet recommendations (46) ดังตารางที่ 7

ตารางที่ 7 แสดงนิยามการตอบสนองและไม่ตอบสนองในผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์

การตอบสนอง ระยะเวลา	Response หรือ Optimal	Non-response	
		Warning	Failure
3 เดือน	ระดับโครโมโซมฟีลาเดลเฟีย (Ph+) น้อยกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 35 หรือระดับ BCR-ABL1 น้อยกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 10	ระดับโครโมโซมฟีลาเดลเฟีย (Ph+) ร้อยละ 36 ถึง 95 หรือระดับ BCR-ABL1 มากกว่าร้อยละ 10	ระดับโครโมโซมฟีลาเดลเฟีย (Ph+) มากกว่าร้อยละ 95 หรือ non-CHR
6 เดือน	ระดับโครโมโซมฟีลาเดลเฟีย (Ph+) เท่ากับร้อยละ 0 (CCyR) หรือระดับ BCR-ABL1 น้อยกว่าร้อยละ 1	ระดับโครโมโซมฟีลาเดลเฟีย (Ph+) ร้อยละ 1 ถึง 35 (PCyR) หรือระดับ BCR-ABL1 ร้อยละ 1 ถึง 10	ระดับโครโมโซมฟีลาเดลเฟีย (Ph+) มากกว่าร้อยละ 35 หรือระดับ BCR-ABL1 มากกว่าร้อยละ 10
12 เดือน	ระดับ BCR-ABL1 น้อยกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 0.1 (MMR)	ระดับ BCR-ABL1 ร้อยละ 0.1 ถึง 1	ระดับโครโมโซมฟีลาเดลเฟีย (Ph+) มากกว่าร้อยละ 0 หรือระดับ BCR-ABL1 มากกว่าร้อยละ 1
มากกว่า 12 เดือน หรือระยะเวลา ใดๆ		ผู้ป่วย CCA/Ph-	Loss of CHR Loss of CCyR Loss of MMR Mutations CCA/Ph+

3.2.2.3 การเก็บตัวอย่างเลือด

เก็บตัวอย่างเลือดจากเส้นเลือดดำบริเวณแขนของผู้ป่วย หลังจากที่ผู้ป่วยหรือผู้แทนโดยชอบธรรมได้ลงมือชื่อในหนังสือแสดงเจตนายินยอมเข้าร่วมการวิจัยแล้ว โดยทำการเก็บตัวอย่างเลือดจำนวน 1 ครั้ง ปริมาณ 10 มิลลิลิตร ใส่ใน EDTA tube เพื่อนำไปสกัด DNA และตรวจลักษณะทางพันธุกรรมของยีน *CYP3A5*3*, *CYP2C19*2*, *SLC22A1 480C>G* และ *ABCB1 1236C>T*

3.2.2.4 การเตรียมตัวอย่าง DNA

1) การแยก buffy coat ออกจากตัวอย่างเลือด และการแยกเอาเซลล์เม็ดเลือดแดงออกจาก buffy coat

นำตัวอย่างเลือด 10 มิลลิลิตร ที่เก็บอยู่ใน EDTA Tube มาปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge ที่ความเร็วรอบ 2500 rpm อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 15 นาที จะเห็นการแยกชั้นของเซลล์เม็ดเลือดแดง buffy coat และพลาสมา จากนั้นดูดเอาเฉพาะชั้น buffy coat ซึ่งจะมีลักษณะเป็นชั้นบาง ๆ สีขาวขุ่นอยู่ตรงรอยต่อระหว่างเซลล์เม็ดเลือดแดงและพลาสมา และเก็บตัวอย่างชั้น buffy coat ที่ได้ในตู้แช่อุณหภูมิต่ำ -20 องศาเซลเซียสจนกว่าจะนำไปสกัด DNA

2) การแยกเอาเซลล์เม็ดเลือดแดงออกจาก buffy coat

ล้างเซลล์เม็ดเลือดแดงส่วนเกินที่ปนชั้น buffy coat ออกด้วย Erythrocyte lysis buffer โดยมีขั้นตอนดังต่อไปนี้ ผสม Erythrocyte lysis buffer เข้ากับ buffy coat ที่แยกได้ทั้งหมดแล้วนำไปแช่ในน้ำแข็ง (อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge ที่ความเร็วรอบ 400 g อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเทส่วนน้ำด้านบนทิ้ง จะเหลือส่วนตะกอนไว้ แล้วเติม Erythrocyte lysis buffer ลงไปผสมให้เข้ากันอีกครั้ง จากนั้นนำไปแช่ในน้ำแข็ง (อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 5 นาที แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 400 g อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเทส่วนน้ำออก แล้วล้างตะกอน buffy coat ที่เหลือด้วยสารละลาย PBS และนำไปปั่นเหวี่ยงอีกครั้ง ดูดเอาส่วนน้ำทิ้งไปเก็บเฉพาะส่วน buffy coat ที่ได้ไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสจนกว่าจะนำไปสกัด DNA

3) การสกัด DNA จาก buffy coat และการวัดปริมาณและคุณภาพของตัวอย่าง DNA

สกัด DNA โดยชุดสกัด QIAamp DNA Blood Mini Kit (QIAGEN, German) ซึ่งมีวิธีการดังต่อไปนี้ เติมตัวอย่าง buffy coat ที่ผสมกับ PBS 200 ไมโครลิตร ลงใน QIAGEN protease 20 ไมโครลิตร และเติม Buffer AL (Lysis buffer) ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ลงในตัวอย่าง ผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำตัวอย่างไป incubate ที่อุณหภูมิ 56 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที แล้วเติม absolute ethanol 200 ไมโครลิตร ลงในตัวอย่าง และผสมให้เข้ากัน จากนั้นบีบตัวอย่างทั้งหมดลงใน spin column แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 rpm เป็นเวลา 1 นาที ทิ้งส่วน filtrate ไป จากนั้นเติม Buffer AW1 500 ไมโครลิตร ลงไปใน column แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 8,000 rpm เป็นเวลา 1 นาที แล้วทิ้งส่วน filtrate ไป จากนั้นเติม Buffer AW2 500 ไมโครลิตร แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 13,000 rpm เป็นเวลา 3 นาที ทิ้ง filtrate ไป จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 13,000 rpm เป็นเวลา 1 นาที อีกครั้ง และทำการชะ DNA ออกมาโดยการเติม Buffer AE 100 ไมโครลิตร incubate ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที เมื่อครบตามเวลาให้นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 8,000 rpm เป็นเวลา 1 นาที จะได้ filtrate คือ DNA จากนั้นนำ DNA ที่ได้ไปวัดความเข้มข้นโดยใช้เครื่อง Nanodrop (Thermo Scientific, USA) แล้วเก็บ DNA ที่สกัดได้ไว้ในตู้แช่อุณหภูมิต่ำ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาจีโนไทป์ต่อไป

3.2.2.6 การตรวจลักษณะทางพันธุกรรมของยีน *CYP3A5*3*, *CYP2C19*2*, *SLC22A1 480C>G* และ *ABCB1 1236C>T* โดยการจีโนไทป์

ทำการตรวจลักษณะจีโนไทป์ของยีน *CYP3A5*3*, *CYP2C19*2*, *SLC22A1 480C>G* และ *ABCB1 1236C>T* โดย Taqman[®] Genotyping Assay และวิเคราะห์ข้อมูลจีโนไทป์ด้วยโปรแกรม StepOnePlus software version 2.1 โดยมีขั้นตอน ดังนี้

1) การเตรียมตัวอย่าง DNA และการวัดคุณภาพของตัวอย่าง DNA

เจือจางตัวอย่าง DNA ที่สกัดได้ด้วย DNase free water ให้ได้ความเข้มข้นเท่ากับ 10 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร

2) การเตรียม reaction mixture

เตรียม reaction mixtures สำหรับปฏิกิริยา Polymerase Chain Reaction (PCR) เพื่อตรวจลักษณะจีโนไทป์ของแต่ละ SNPs ให้มีปริมาตรต่อหนึ่งปฏิกิริยาเท่ากับ 20 ไมโครลิตร โดยมีส่วนประกอบในปฏิกิริยาดังแสดงในตารางที่ 8 และใช้ DNase free water เป็น negative control

ตารางที่ 8 แสดงส่วนประกอบในปฏิกิริยา PCR ในการตรวจลักษณะจีโนไทป์ของแต่ละ SNPs

ส่วนประกอบในปฏิกิริยา	ปริมาตรต่อหนึ่งปฏิกิริยา (ไมโครลิตร)
2X Taqman Genotyping Master Mix	10
20X Taqman SNP Genotyping Assay	1
DNase free water	5
ตัวอย่าง DNA (10 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร)	4
ปฏิกิริยารวมต่อหนึ่งปฏิกิริยา	20

ทำการเตรียม reaction mixture ของแต่ละ SNPs จากการคำนวณปริมาตรรวม โดยใช้ 2X Taqman Genotyping Master Mix, 20X Taqman SNP Genotyping Assay, และ DNase free water ในแต่ละ reaction mixture จากนั้นทำการปิเปตส่วนประกอบต่าง ๆ ตามปริมาตรที่ได้คำนวณไว้ใส่ลงใน microcentrifuge tube แล้วนำไปผสมให้เข้ากันโดยเตรียมที่ละ SNPs จนครบ จากนั้นนำ reaction mixture ที่เตรียมเสร็จแล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

3) การเตรียม reaction plate

เติม reaction mixture ของแต่ละ SNPs ปริมาตร 8 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุมของ PCR plate ให้ครบตามจำนวนตัวอย่าง DNA ที่ต้องการตรวจจีโนไทป์ และอีก 1 ช่องสำหรับ Negative control จากนั้นทำการเติมตัวอย่าง DNA ที่ได้เตรียมไว้ จำนวน 2 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุมของ reaction plate และเติม DNase free water ในช่อง negative control แทนตัวอย่าง DNA ในแต่ละชุด SNPs ที่ต้องการตรวจจีโนไทป์ จากนั้นทำการปิด reaction plate ด้วยแผ่นฟิล์มให้สนิท และนำไปหมนเหวี่ยงเพื่อขจัดฟองอากาศ

4) การทำปฏิกิริยา Polymerase Chain Reaction (PCR)

นำ reaction plate ที่เตรียมไว้ มาทำปฏิกิริยา PCR โดยใช้เครื่อง StepOnePlus Real-Time PCR Systems โดยปฏิกิริยาจะมีรอบอุณหภูมิและระยะเวลาของแต่ละขั้นตอน ดังแสดงในตารางที่ 9

ตารางที่ 9 แสดงอุณหภูมิและระยะเวลาของแต่ละขั้นตอนในการทำ PCR

อุณหภูมิและระยะเวลา		
Initial Step	Denaturing	Annea/Extension
Hold	50 cycles	
95 องศาเซลเซียส, 10 นาที	92 องศาเซลเซียส, 15 นาที	60 องศาเซลเซียส, 90 วินาที

5) การแปลผลลักษณะทางพันธุกรรมของยีน *CYP3A5*, *CYP2C19*, *SLC22A1* และ *ABCB1*

ภายหลังเสร็จสิ้นกระบวนการ Real Time – PCR แล้ว ลักษณะทางพันธุกรรมของยีน *CYP3A5*, *CYP2C19*, *SLC22A1* และ *ABCB1* ในแต่ละ SNPs จะถูกนำมาวิเคราะห์และแปลผลโดยโปรแกรม StepOne v2.3 (Applied Biosystems) ตามหลักเกณฑ์การพิจารณาของ TaqMan SNP genotyping assay โดยหากตัวอย่าง DNA มี nucleotide bases ที่ต้องการศึกษาอยู่จริง โปรแกรมจะทำการตรวจจับสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ติดฉลากสีไว้ในแต่ละ SNPs ได้ กล่าวคือ หากติดฉลากสีใน SNPs ที่สนใจด้วยสี VIC หรือสี FAM และโปรแกรมสามารถตรวจสอบได้เพียงสีเดียวเท่านั้น ตัวอย่าง DNA ดังกล่าวจะมีลักษณะทางพันธุกรรม ณ ตำแหน่งนั้นเหมือนกันทั้ง 2 อัลลีล ซึ่งอาจจะแปลผลจีโนไทป์เป็น homozygous wild-type หรือ homozygous variant ได้ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดและการระบุฉลากสีในแต่ละ SNPs ก่อนทำการ PCR ด้วย ในขณะที่หากโปรแกรมสามารถตรวจสอบได้ทั้ง 2 สี อาจกล่าวได้ว่า ตัวอย่าง DNA นี้ จะมีลักษณะทางพันธุกรรม ณ ตำแหน่งนั้นต่างกัน 2 อัลลีล คือ อัลลีลหนึ่งเป็น wild-type และอีกอัลลีลเป็น variant จึงแปลผลจีโนไทป์เป็น heterozygous ได้

3.3 การวิเคราะห์ข้อมูล

3.3.1 ข้อมูลทั่วไปและข้อมูลทางคลินิกของผู้ป่วย

ข้อมูลทั่วไปและข้อมูลทางคลินิกของผู้ป่วย แสดงผลในรูปจำนวนร้อยละ หรือในรูปค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean \pm SD) หรือค่ากลาง และพิสัย (median, range) เปรียบเทียบข้อมูลทั่วไป และข้อมูลทางคลินิกระหว่างกลุ่มผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ที่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบ (imatinib responsive CML) และกลุ่มผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบ (imatinib non-responsive CML) โดยใช้การวิเคราะห์ไคว์สแควร์ (Chi-square test) สำหรับข้อมูลที่ไม่ต่อเนื่อง Independent-sample T test สำหรับข้อมูลต่อเนื่องที่มีการกระจายแบบปกติ และใช้ Mann-Whitney U test สำหรับข้อมูลต่อเนื่องที่มีการกระจายแบบไม่ปกติ

3.3.2 ความถี่อัลลีล (allele frequencies) และความถี่จีโนไทป์ (genotype frequencies) ของแต่ละ SNPs

รายงานผลความถี่อัลลีล (allele frequencies) และความถี่จีโนไทป์ (genotype frequencies) ของยีน *CYP3A5*, *CYP2C19*, *SLC22A1* และ *ABCB1* ในรูปจำนวนและร้อยละ และทดสอบสมมูลของฮาร์ต-ไวน์เบิร์ก (Hardy-Weinberg equilibrium) โดยใช้การวิเคราะห์ไคว์สแควร์ (Chi-square test)

3.3.3 วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรมและ/หรือปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรมกับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบ

วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรมร่วมกับปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรมกับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบ โดยใช้ multiple logistic regression พร้อมกับแสดงผลในรูปของ odds ratio และ 95% confidence interval (95% CI) โดยพิจารณาปัจจัยหรือตัวแปรร่วมในการวิเคราะห์ multiple logistic regression จากระดับนัยสำคัญไม่มากกว่า 0.25 ในการวิเคราะห์ Bivariate analysis โดยการวิเคราะห์ไคว์สแควร์ (Chi-square Test) (111)

3.3.4 วิเคราะห์ระยะปลอดเหตุการณ์ หรือ การรอดชีพ (survival analysis) ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรมและ/หรือปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรมกับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมูตินิบ

วิเคราะห์ระยะปลอดเหตุการณ์ หรือ การรอดชีพ (survival analysis) โดยใช้ Cox-proportional hazards model พร้อมกับแสดงผลในรูปของ hazard ratio และ 95% confidence interval (95% CI)

ข้อมูลทั้งหมดจะทำการวิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม SPSS for window version 22 และพิจารณาความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นเท่ากับ 95% (p -value < 0.05)



บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

4.1 ข้อมูลทั่วไปและข้อมูลทางคลินิกของผู้ป่วย

จากการสืบค้นข้อมูลผู้ป่วยชาวไทยที่มีประวัติได้รับการรักษาโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ด้วยยาอิมาตินิบระหว่างปี 2544 ถึง พ.ศ. 2560 พบผู้ป่วยอาสาสมัครที่สามารถติดต่อเข้าร่วมงานวิจัยทั้งสิ้น 120 ราย แต่มีผู้ป่วยจำนวน 8 ราย ถูกคัดออกจากการศึกษา (ตรวจพบการกลายพันธุ์ของยีน *BCR-ABL* ที่ส่งผลต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบจำนวน 2 ราย, ผู้ป่วยมะเร็งชนิดอื่นที่ต้องได้รับการรักษาด้วยยาเคมีบำบัด จำนวน 3 ราย และผู้ป่วยที่มีประวัติการรักษาและการตอบสนองต่อยาอิมาตินิบที่ไม่ชัดเจนจำนวน 3 ราย) ดังนั้นจึงทำการศึกษาข้อมูลลักษณะทั่วไปและข้อมูลทางคลินิกของผู้ป่วยอาสาสมัครจำนวนทั้งสิ้น 112 ราย ประกอบด้วยเพศหญิง 54 ราย และเพศชาย 58 ราย โดยมีค่ามัธยฐานของอายุผู้ป่วยอยู่ในช่วง 16 - 79 ปี (ค่ามัธยฐานของอายุผู้ป่วยเมื่อเริ่มรักษา CML ด้วยยาอิมาตินิบอยู่ในช่วงอายุ 13 - 72 ปี) โดยมีระยะแรกเริ่มของโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังระยะ Chronic จำนวน 94 ราย, ระยะ Accelerated จำนวน 18 ราย และไม่มีผู้ป่วยอาสาสมัครรายใดมีระยะ Blastic ทั้งนี้ผู้ป่วยอาสาสมัครทุกรายจะมีประวัติได้รับการรักษา CML ด้วยยาอิมาตินิบเป็นเวลาต่อเนื่องอย่างน้อย 3 เดือน (9 ราย ได้รับยาอิมาตินิบขนาด 300 มิลลิกรัมต่อวัน, 79 ราย ได้รับขนาดยาอิมาตินิบขนาด 400 มิลลิกรัมต่อวัน, 19 ราย ได้รับขนาดยาอิมาตินิบขนาด 600 มิลลิกรัมต่อวัน, และ 5 ราย ได้รับยาอิมาตินิบขนาด 800 มิลลิกรัมต่อวัน)

และเมื่อพิจารณาการตอบสนองต่อยาอิมาตินิบของผู้ป่วย ตาม ELN recommendation (47) สามารถแบ่งผู้ป่วย CML ในการศึกษานี้ออกเป็น 2 กลุ่ม คือ ผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อยาอิมาตินิบจำนวน 83 ราย และผู้ป่วยที่ไม่ตอบสนองต่อยาอิมาตินิบจำนวน 29 ราย ดังแสดงในตารางที่ 10 อย่างไรก็ตามในขณะที่ทำการศึกษาและประเมินการตอบสนองต่อยาอิมาตินิบผู้ป่วยอาสาสมัครทุกรายอยู่ในระยะ Chronic

ตารางที่ 10 แสดงข้อมูลทั่วไปและข้อมูลทางคลินิกของผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ (n=112)

ข้อมูลทั่วไปและข้อมูลทางคลินิก		ความถี่	ร้อยละ (พิสัย)
เพศ	หญิง	54	48.20
	ชาย	58	51.80
สิทธิการรักษา	ข้าราชการและรัฐวิสาหกิจ	29	25.90
	หลักประกันสุขภาพถ้วนหน้า	64	57.10
	เงินสด	19	17.00
อายุ	Median (min-max) 52 (16-79)	112	100.00
อายุเมื่อเริ่มยาอิมาตินิบ	Median (min-max) 42.50 (13-72)	112	100.00
ระยะแรกเริ่มของโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์	Chronic Phase	94	83.90
	Accelerated Phase	18	16.10
	Blastic Phase	0	0
ขนาดยาอิมาตินิบ (มิลลิกรัมต่อวัน)	300	9	8.00
	400	79	70.50
	600	19	17.00
	800	5	4.50
ระยะเวลาที่ผู้ป่วยได้รับยาอิมาตินิบ	≥ 10	46	41.07
	< 10	66	58.93
การตอบสนองต่อยาอิมาตินิบ	ตอบสนองต่อยาอิมาตินิบ	83	74.1
	ไม่ตอบสนองต่อยาอิมาตินิบ	29	25.9

4.2 ความถี่อัลลีล (allele frequencies) และ (genotype frequencies) ของแต่ละ SNPs

ผลการตรวจความถี่อัลลีลและความถี่จีโนไทป์ของแต่ละ SNPs จากตัวอย่าง DNA ของผู้ป่วยอาสาสมัครแสดงดังตารางที่ 11 และ 12 ตามลำดับ โดยทุกจีโนไทป์ของแต่ละ SNPs มีการกระจายอยู่ในสมดุลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก (Hardy-Weinberg equilibrium) ทำการทดสอบโดย Chi-Square test และกำหนดระดับนัยสำคัญของการทดสอบ $p\text{-value} \leq 0.05$ (การทดสอบสมดุลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก แสดงไว้ในภาคผนวก)

ตารางที่ 11 ความถี่อัลลีล (allele frequencies) ของยีน *CYP3A5*, *CYP2C19*, *SLC22A1* และ *ABCB1* ในผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ชาวไทย (n = 112)

SNPs	อัลลีล	จำนวนอัลลีล	ความถี่อัลลีล
<i>CYP3A5</i> *3 (<i>CYP3A5</i> 6986A>G)	A	77	0.34
	G	147	0.66
<i>CYP2C19</i> *2 (<i>CYP2C19</i> 681G>A)	G	167	0.75
	A	57	0.25
<i>SLC22A1</i> 480C>G	C	183	0.82
	G	41	0.18
<i>ABCB1</i> 1236C>T	C	80	0.36
	T	144	0.64

ตารางที่ 12 ความถี่จีโนไทป์ (genotype frequencies) ของยีน *CYP3A5*, *CYP2C19*, *SLC22A1* และ *ABCB1* ในผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ชาวไทย (n = 112)

SNPs	จีโนไทป์	จำนวน	ความถี่จีโนไทป์ (ร้อยละ)	p-value
<i>CYP3A5</i> *3 (<i>CYP3A5</i> 6986A>G)	AA (*1/*1)	17	15.18	0.114750
	AG (*1/*3)	43	38.40	
	GG (*3/*3)	52	46.42	
<i>CYP2C19</i> *2 (<i>CYP2C19</i> 681G>A)	GG (*1/*1)	59	52.68	0.105263
	GA (*1/*2)	49	43.74	
	AA (*2/*2)	4	3.58	
<i>SLC22A1</i> 480C>G	Homozygous CC	75	66.96	0.875587
	Heterozygous CG	33	29.46	
	Homozygous GG	4	3.58	
<i>ABCB1</i> 1236C>T	Homozygous CC	12	10.71	0.346853
	Heterozygous CT	56	50	
	Homozygous TT	44	39.29	

วิเคราะห์ข้อมูลโดย Chi-square test

ในการตรวจพหุสัณฐานของยีน *CYP3A5* ซึ่งจากการทบทวนวรรณกรรม ผู้วิจัยได้เลือก *CYP3A5**3 หรือ *CYP3A5* 6986A>G มาเป็น candidate SNPs โดยจากการศึกษานี้พบความถี่อัลลีล *CYP3A5**3 เท่ากับ 0.660 หรือประมาณร้อยละ 66 เมื่อนำความถี่อัลลีลของกลุ่มตัวอย่างผู้ป่วย CML ในการศึกษาครั้งนี้มาเปรียบเทียบกับการศึกษาในประชากรเชื้อชาติต่าง ๆ พบว่าความถี่ในการศึกษานี้ใกล้เคียงกับความถี่อัลลีลของประชากรไทยในการศึกษาก่อนหน้านี้ และมีความใกล้เคียงกับความถี่อัลลีลในกลุ่มประชากรชาวเอเชียเชื้อชาติจีน มาเลเซีย ญี่ปุ่น และเกาหลีใต้ (0.610-0.800) นอกจากนี้จากการทบทวนวรรณกรรมยังพบว่า กลุ่มประชากรชาวบราซิลมี

ความถี่อัลลีล *CYP3A5*3* ที่ใกล้เคียงกับกลุ่มประชากรชาวเอเชียเช่นกัน อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มประชากรชาวคอเคเซียนซึ่งมีความถี่อัลลีลประมาณ 0.900 กลับพบความถี่อัลลีลที่มีความแตกต่าง กล่าวคือ ในกลุ่มประชากรชาวคอเคเซียนจะพบความถี่อัลลีล *CYP3A5*3* ในสัดส่วนที่มากกว่า ดังแสดงในตารางที่ 13

ตารางที่ 13 แสดงความถี่ของยีน *CYP3A5*3* ในการศึกษาและในประชากรเชื้อชาติต่าง ๆ

กลุ่มชาติพันธุ์ (เชื้อชาติ)	จำนวน	<i>CYP3A5*1</i> allele	<i>CYP3A5*3</i> allele	เอกสารอ้างอิง
Asian				
Thai	112	0.340	0.660	การศึกษานี้
Thai	48	0.383	0.618	Vannaprasaht และคณะ (2013) (20)
Chinese	108	0.240	0.760	Balram และคณะ (2003) (60)
Malaysian	98	0.390	0.610	Balram และคณะ (2003) (60)
Japanese	200	0.230	0.770	Balram และคณะ (2003) (60)
Korean	82	0.200	0.800	Seong และคณะ (2013) (61)
Caucasian (White)				
Polish	100	0.035	0.915	Zochowska และคณะ (2012) (62)
Dutch	1000	0.085	0.915	Schaik และคณะ (2002) (63)
Bosnia & Herzegovina	139	0.068	0.932	Semiz และคณะ (2001) (64)
Others				
Brazilian	799	0.210	0.790	Suarez-Kurtz และคณะ (2014) (65)

สำหรับยีน *CYP2C19* ในการศึกษาที่ผู้วิจัยได้เลือก *CYP2C19*2* หรือ *CYP2C19* 681G>A เป็น candidate SNPs โดยจากการศึกษานี้พบความถี่อัลลีล *CYP2C19*2* เท่ากับ 0.250 หรือประมาณร้อยละ 25 เมื่อนำความถี่อัลลีลของกลุ่มตัวอย่างผู้ป่วย CML ในการศึกษา มาเปรียบเทียบกับการศึกษาในประชากรเชื้อชาติต่าง ๆ พบว่าความถี่ในการศึกษานี้ใกล้เคียงกับความถี่อัลลีลของประชากรไทยในการศึกษาก่อนหน้านี้ (0.290-0.350) และมีความใกล้เคียงกับความถี่อัลลีลในกลุ่มประชากรชาวเอเชียเชื้อชาติเกาหลี ญี่ปุ่น และจีน (0.262-0.46) อย่างไรก็ตาม

เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มประชากรชาวคอเคเซียนซึ่งมีความถี่อัลลีลประมาณ 0.100-0.200 กลับพบความถี่อัลลีลที่มีความแตกต่าง กล่าวคือ ในกลุ่มประชากรชาวคอเคเซียนจะพบความถี่อัลลีล *CYP3A5*3* ในสัดส่วนที่น้อยกว่า ดังแสดงในตารางที่ 14

ตารางที่ 14 แสดงความถี่ของยีน *CYP2C19*2* ในการศึกษานี้และในประชากรเชื้อชาติต่าง ๆ

กลุ่มชาติพันธุ์ (เชื้อชาติ)	จำนวน	<i>CYP2C19*1</i> allele	<i>CYP2C19*2</i> allele	เอกสารอ้างอิง
Asian				
Thai	112	0.750	0.250	การศึกษานี้
Thai	242	0.650	0.350	Yamada และคณะ (2001) (22)
Thai	1548	0.710	0.290	Tassaneeyakul และคณะ (2006) (23)
Korean	82	0.738	0.262	Seong และคณะ (2013) (61)
Japanese	34	0.660	0.340	Yamakawa และคณะ (2011) (68)
Chinese	242	0.540	0.460	Yamada และคณะ (2001) (22)
Caucasian (White)				
Turkish	808	0.880	0.120	Aynacioglu และคณะ (1999) (69)
Dutch	70	0.764	0.236	Gardner และคณะ (2006) (70)
Dutch	1530	0.867	0.133	Tamminga และคณะ (2001) (71)
Iranian	200	0.860	0.140	Zand และคณะ (2007) (72)
Greek	283	0.869	0.131	Arvanitidis และคณะ (2007) (73)

สำหรับยีน *SLC22A1* ในการศึกษานี้ผู้วิจัยได้เลือก *SLC22A1* 480C>G เป็น candidate SNPs โดยจากการศึกษานี้พบความถี่อัลลีล *SLC22A1* 480C>G เท่ากับ 0.180 หรือประมาณร้อยละ 18 เมื่อนำความถี่อัลลีลของกลุ่มตัวอย่างผู้ป่วย CML ในการศึกษานี้มาเปรียบเทียบกับการศึกษาในประชากรเชื้อชาติต่าง ๆ พบว่าความถี่ในการศึกษานี้ใกล้เคียงกับความถี่อัลลีลของประชากรชาวเอเชีย และกลุ่มประชากรชาวคอเคเซียนซึ่งมีความถี่อัลลีลประมาณ 0.200 หรือประมาณร้อยละ 20 ดังแสดงในตารางที่ 15

ตารางที่ 15 แสดงความถี่ของยีน *SLC22A1* 480C>G ในการศึกษานี้และในประชากรเชื้อชาติต่าง ๆ

กลุ่มชาติพันธุ์ (เชื้อชาติ)	จำนวน ประชากร	C allele	G allele	เอกสารอ้างอิง
Asian				
Thai	112	0.820	0.180	การศึกษานี้
Chinese	70	0.790	0.210	Singh และคณะ (2012) (84)
Malaysian	70	0.800	0.200	Singh และคณะ (2012) (84)
Indian	70	0.790	0.210	Singh และคณะ (2012) (84)
Japanese	194	0.840	0.160	Ohishi และคณะ (2014) (86)
Caucasian (White)				
Israel	84	0.756	0.244	Vine และคณะ (2014) (87)
Israel/German	167	0.847	0.153	Koren-Michowitz และคณะ (2014) (88)
Italian	156	0.819	0.181	Angelini และคณะ (2013) (89)
Italian	60	0.760	0.240	Paolo และคณะ (2014) (29)
UK/German	296	0.780	0.220	Giannoudis และคณะ (2013) (85)
Canadian (Dutch)	170	0.802	0.198	Kim และคณะ (2009) (28)

นอกจากนี้สำหรับยีน *ABCB1* โดยในการศึกษานี้ผู้วิจัยได้เลือก *ABCB1* 1236C>T เป็น candidate SNPs โดยจากการศึกษานี้พบความถี่อัลลีล *ABCB1* 1236C>T เท่ากับ 0.64 หรือประมาณร้อยละ 64 เมื่อนำความถี่อัลลีลของกลุ่มตัวอย่างผู้ป่วย CML ในการศึกษานี้มาเปรียบเทียบกับการศึกษาในประชากรเชื้อชาติต่าง ๆ พบว่าความถี่ในการศึกษานี้ใกล้เคียงกับความถี่อัลลีลของประชากรชาวเอเชียเชื้อชาติเกาหลี ญี่ปุ่น จีน มาเลเซีย และอินเดีย (0.567-0.719) อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มประชากรชาวคอเคเซียนซึ่งมีความถี่อัลลีลประมาณ 0.400 กลับพบความถี่อัลลีลที่มีความแตกต่าง กล่าวคือ ในกลุ่มประชากรชาวคอเคเซียนจะพบความถี่อัลลีล *ABCB1* 1236C>T ในสัดส่วนที่น้อยกว่า ดังแสดงในตารางที่ 16

ตารางที่ 16 แสดงความถี่ของยีน *ABCB1* 1236C>T ในการศึกษานี้และในประชากรเชื้อชาติต่าง ๆ

กลุ่มชาติพันธุ์ (เชื้อชาติ)	จำนวน ประชากร	C allele	T allele	เอกสารอ้างอิง
Asian				
Thai	112	0.360	0.640	การศึกษานี้
Korean	82	0.433	0.567	Seong และคณะ (2013) (61)
Korean	209	0.392	0.608	Koo และคณะ (2015) (104)
Japanese	34	0.430	0.570	Yamaka และคณะ (2011) (68)
Chinese	52	0.433	0.567	Ni และคณะ (2011) (32)
Chinese	70	0.281	0.719	Singh และคณะ (2012) (84)
Malaysian	215	0.400	0.600	Au และคณะ (2014) (33)
Malaysian	70	0.342	0.658	Singh และคณะ (2012) (84)
Indian	70	0.328	0.672	Singh และคณะ (2012) (84)
Caucasian (white)				
French	84	0.536	0.464	Dulucq และคณะ (2008) (30)
French	34	0.587	0.413	Petain และคณะ (2008) (102)
Canadian (Dutch)	170	0.562	0.438	Kim และคณะ (2009) (28)
Netherland	43	0.547	0.453	Deenik และคณะ (2010) (31)
French	510	0.564	0.436	Dulucq และคณะ (2010) (105)
Spanish	64	0.539	0.461	Maffioli และคณะ (2011) (106)
Brazilian	116	0.589	0.411	Vivona และคณะ (2012) (107)
Italian	154	0.581	0.419	Angelini และคณะ (2013) (89)
Italian	60	0.643	0.357	Paolo และคณะ (2014) (29)

4.3 ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรมและ/หรือปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรมกับการตอบสนองต่อการรักษาโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ด้วยยาอิมาตินิบ

4.3.1 การวิเคราะห์ความสัมพันธ์แบบสองตัวแปร (bivariate analysis)

4.3.1.1 ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรมกับการตอบสนองต่อการรักษา CML ด้วยยาอิมาตินิบ

1) ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรม (additive model) กับการตอบสนองต่อการรักษา CML ด้วยยาอิมาตินิบ (n=112)

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรม ได้แก่ พหุสัณฐานของยีน *CYP3A5*, *CYP2C19*, *SLC22A1* และ *ABCB1* ต่อการตอบสนองต่อการรักษา CML ด้วยยาอิมาตินิบในผู้ป่วย CML ชาวไทยจำนวน 112 ราย ด้วย Chi-Square Test นั้น สามารถแบ่งผู้ป่วยออกเป็น 2 กลุ่ม ตาม ELN recommendation ได้ดังนี้ 1) ผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อยาอิมาตินิบจำนวน 83 ราย และ 2) ผู้ป่วยที่ไม่ตอบสนองต่อยาอิมาตินิบจำนวน 29 ราย เมื่อทำการเปรียบเทียบข้อมูลทางพันธุกรรมในรูปแบบ additive model ของผู้ป่วยทั้งสองกลุ่ม พบว่ายีน *SLC22A1* 480C>G (Homozygous CC, Heterozygous CG และ Homozygous GG) สัมพันธ์กับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p -value = 0.048) ในขณะที่ยีน *CYP3A5*, *CYP2C19* และยีน *ABCB1* ไม่พบความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p -value > 0.05) อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาจากระดับนัยสำคัญทางสถิติของยีน *CYP3A5* ($CYP3A5^*3^*/^*3$, $CYP3A5^*1^*/^*3$ และ $CYP3A5^*1^*/^*1$) พบว่ามีแนวโน้มที่จะสัมพันธ์กับการตอบสนองต่อยาอิมาตินิบ (p -value = 0.151) ดังแสดงในตารางที่ 17

ตารางที่ 17 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรม (additive model) กับการตอบสนองต่อการรักษาโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ด้วยยาอิมาตินิบ (n=112)

SNPs	Genotype	Responsive (n=83), n (%)	Non- responsive (n=29), n (%)	p-value
CYP3A5*3 (CYP3A5 6986A>G)	<i>CYP3A5*3/*3</i>	43 (51.81)	9 (31.03)	0.151
	<i>CYP3A5*1/*3</i>	29 (34.94)	14 (48.28)	
	<i>CYP3A5*1/*1</i>	11 (13.25)	6 (20.69)	
CYP2C19*2 (CYP2C19 681G>A)	<i>CYP2C19*2/*2</i>	3 (3.61)	1 (3.45)	0.753 ^a
	<i>CYP2C19*1/*2</i>	38 (45.78)	11 (37.93)	
	<i>CYP2C19*1/*1</i>	42 (50.61)	17 (58.62)	
SLC22A1 480C>G	Homozygous CC	55 (66.27)	20 (68.97)	0.048 ^a
	Heterozygous CG	27 (32.53)	6 (20.69)	
	Homozygous GG	1 (1.20)	3 (10.34)	
ABCB1 1236C>T	Homozygous CC	11 (12.36)	1 (3.45)	0.336
	Heterozygous CT	40 (44.94)	16 (55.17)	
	Homozygous TT	32 (42.70)	12 (41.38)	

^ap-value calculated by Pearson Chi-Square Test

2) ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรม (dominant/recessive model) กับการตอบสนองต่อการรักษา CML ด้วยยาอิมาตินิบ (n=112)

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรม ได้แก่ พหุสัณฐานของยีน *CYP3A5*, *CYP2C19*, *SLC22A1* และ *ABCB1* ต่อการตอบสนองต่อการรักษา CML ด้วยยาอิมาตินิบในผู้ป่วย CML ชาวไทยจำนวน 112 ราย ด้วย Chi-Square Test นั้น สามารถแบ่งผู้ป่วยออกเป็น 2 กลุ่ม ตาม ELN recommendation ได้ดังนี้ 1) ผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อยาอิมาตินิบจำนวน 83 ราย และ 2) ผู้ป่วยที่ไม่ตอบสนองต่อยาอิมาตินิบจำนวน 29 ราย เมื่อทำการเปรียบเทียบข้อมูลทางพันธุกรรมในรูปแบบ dominant/recessive model ของผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มกับการตอบสนองต่อยาอิมาตินิบ ไม่พบความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p -value > 0.05) อย่างไรก็ตามกลับพบแนวโน้มความแตกต่างระหว่าง จีโนไทป์ชนิด $*3/*3$ และชนิด $*1/*1 + *1/*3$ ของยีน *CYP3A5* กับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบ (OR = 2.389; 95% = 0.974-5.857, p -value = 0.053^a) กล่าวคือ พหุสัณฐานของยีน *CYP3A5* มีแนวโน้มที่จะสัมพันธ์กับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบ เช่นเดียวกันกับยีน *SLC22A1* ก็พบแนวโน้มความแตกต่างระหว่าง จีโนไทป์ชนิด CC + CG และชนิด GG ของยีน *SLC22A1* 480C>G กับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบ (OR = 9.462; 95%CI = 0.943-94.916, p -value = 0.053^b) กล่าวคือ พหุสัณฐานของยีน *SLC22A1* มีแนวโน้มที่จะสัมพันธ์กับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบ ดังแสดงในตารางที่ 18

ตารางที่ 18 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรม (dominant/recessive model) กับการตอบสนองต่อการรักษาโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ด้วยยาอิมาตินิบ (n=112)

Genotype	Responsive (n=83), n (%)	Non-responsive (n=29), n (%)	OR, 95%CI	p-value
CYP3A5				
*3/*3	43 (48.31)	9 (31.03)	2.389; 0.974-5.857	0.053 ^a
*1/*3 + *1/*1	40 (51.69)	20 (68.97)		
*1/*1	11 (13.25)	6 (20.69)	1.708; 0.568-5.129	0.372 ^b
*1/*3 + *3/*3	72 (86.75)	23 (79.31)		
CYP2C19				
*2/*2	3 (3.61)	1 (3.45)	1.050; 0.105-10.512	1.000 ^b
*1/*2 + *1/*1	80 (96.39)	28 (96.55)		
*1/*1	42 (50.60)	17 (58.62)	1.383; 0.588-3.252	0.457 ^a
*1/*2 + *2/*2	41 (49.40)	12 (41.38)		

^ap-value calculated by Pearson Chi-Square Test

^bp-value calculated by Fisher's exact Test

ตาราง 18 (ต่อ) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรม (dominant/recessive model) กับการตอบสนองต่อการรักษาโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ด้วยยาอิมาตินิบ (n=112)

Genotype	Responsive (n=83), n (%)	Non-responsive (n=29), n (%)	OR, 95%CI	p-value
<i>SLC22A1</i> 480C>G				
CC + CG	82 (98.80)	26 (89.66)	9.462; 0.943-94.916	0.053 ^b
GG	1 (1.20)	3 (10.34)		
CC	55 (66.27)	20 (68.97)	0.884; 0.356-2.193	0.790 ^a
CG + GG	28 (33.73)	9 (31.03)		
<i>ABCB1</i> 1236C>T				
CT+CC	51 (66.27)	17 (58.62)	1.125; 0.476-2.661	0.789 ^a
TT	32 (33.73)	12 (41.38)		
CC	11 (13.25)	1 (3.45)	4.278; 0.527-34.694	0.181 ^b
TT + CT	72 (86.75)	28 (96.55)		

^ap-value calculated by Pearson Chi-Square Test

^bp-value calculated by Fisher's exact Test

4.3.1.2 ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกัับพันธุกรรมกับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบ

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกัับพันธุกรรม ได้แก่ เพศ, อายุเมื่อเริ่มยาอิมาตินิบ และระยะแรกเริ่มของโรคมะเร็งเลือดขาวเรื้อรังชนิดมัยอีลอยด์กัับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบในผู้ป่วย CML ชาวไทยจำนวน 112 ราย ด้วย Chi-Square Test นั้น สามารถแบ่งผู้ป่วยออกเป็น 2 กลุ่ม ตาม ELN recommendation ได้ดังนี้ 1) ผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อยาอิมาตินิบจำนวน 83 ราย และ 2) ผู้ป่วยที่ไม่ตอบสนองต่อยาอิมาตินิบจำนวน 29 ราย เมื่อทำการเปรียบเทียบข้อมูลที่ไม่เกี่ยวข้องกัับพันธุกรรมหรือข้อมูลทั่วไปและข้อมูลทางคลินิกของผู้ป่วยทั้งสองกลุ่ม พบว่า เพศ อายุเมื่อเริ่มรักษา CML ด้วยยาอิมาตินิบ และระยะแรกเริ่มของโรคมะเร็งเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\text{-value}>0.05$) โดยการเปรียบเทียบข้อมูลทั่วไป และข้อมูลทางคลินิกกัับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบ แสดงดังตารางที่ 19

ตารางที่ 19 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างข้อมูลทั่วไปและข้อมูลทางคลินิกกับการตอบสนองต่อการรักษาโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ด้วยยาอิมาตินิบ (n=112) Bivariate analysis

ปัจจัย		Responsive (n=83)	Non- responsive (n=29)	OR, 95%CI	p-value
เพศ	หญิง	39 (46.99)	15 (51.72)	1.209; 0.519-2.818	0.660 ^a
	ชาย	44 (53.01)	14 (48.28)		
อายุ (ปี)	อายุเมื่อเริ่ม ยาอิมาตินิบ	42, (15-72)	44, (13-60)	n/a	0.666 ^b
ระยะแรกเริ่มของ โรคมะเร็งเลือด ขาวเรื้อรังชนิด มัยอีลอยด์	Chronic	69 (83.13)	25 (86.21)	0.789; 0.237-2.623	1.00 ^a
	Accelerated	14 (16.87)	4 (13.79)		

^ap-value calculated by Pearson Chi-Square Test

^bp-value calculated by Mann-Whitney U Test

n/a = not available

4.3.2 การวิเคราะห์ความสัมพันธ์แบบพหุตัวแปร (multivariate analysis)

4.3.2.1 ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรมและปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกั
พันธุกรรมกับการตอบสนองต่อการรักษา CML ด้วยยาอิมาตินิบ (multivariate analysis)

พิจารณาปัจจัยหรือตัวแปรร่วมในการวิเคราะห์ multiple logistic regression จากระดับนัยสำคัญไม่มากกว่า 0.25 ในการวิเคราะห์ Bivariate analysis โดย Chi-square Test (111) ซึ่งจากการวิเคราะห์สองตัวแปรด้วยสถิติไคร์สแควร์ ในข้อ 4.3.1 ทำให้ทราบว่า ในการศึกษาครั้งนี้มีเพียงปัจจัยทางพันธุกรรมเท่านั้นที่สัมพันธ์กับการตอบสนองต่อการรักษา CML ด้วยยาอิมาตินิบ

1) ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรม (additive model) กับการตอบสนองต่อการรักษา CML ด้วยยาอิมาตินิบ (n=112)

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรม ได้แก่ พหุสัณฐานของยีน *CYP3A5*, และ *SLC22A1* กับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบในผู้ป่วย CML ชาวไทยจำนวน 112 ราย โดยใช้การวิเคราะห์ความถดถอยพหุโลจิสติกส์ (multiple logistic regression) นั้น สามารถแบ่งผู้ป่วยออกเป็น 2 กลุ่ม ตาม ELN recommendation ได้ดังนี้ 1) ผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อยาอิมาตินิบจำนวน 83 ราย และ 2) ผู้ป่วยที่ไม่ตอบสนองต่อยาอิมาตินิบจำนวน 29 ราย พบว่า พหุสัณฐานของยีน *CYP3A5* (*CYP3A5*1/*3*) และ *SLC22A1* (homozygous GG) มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบ (adjusted OR = 2.695, 95%CI = 1.052-8.357, *p*-value = 0.04 และ adjusted OR = 12.933, 95%CI = 1.164-143.761, *p*-value = 0.037 ตามลำดับ) ในขณะที่ *CYP3A5*1/*1* มีแนวโน้มที่จะสัมพันธ์กับการไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบ (Adjusted OR = 3.441, 95%CI = 0.951-12.451, *p*-value = 0.06) ดังแสดงในตารางที่ 20,21 และ 22

*หมายเหตุ พิจารณาปัจจัยหรือตัวแปรร่วมในการวิเคราะห์ multiple logistic regression จากระดับนัยสำคัญไม่มากกว่า 0.25 ในการวิเคราะห์ Bivariate analysis โดย Chi-square Test และวิเคราะห์ข้อมูลโดย enter method

ตารางที่ 20 แสดงค่าสัมประสิทธิ์ความถดถอยโลจิสติกของตัวแปรต่าง ๆ ในโมเดลความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรม (additive model) กับการตอบสนองต่อการรักษาโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ด้วยยาอิมาตินิบ

ตัวแปรอิสระ		Logistic Coefficient (B)	p-value	Exp (B)
Constant		-1.677	< 0.001	0.187
CYP3A5	CYP3A5*3/*3	-	0.072	-
	CYP3A5*1/*3	1.087	0.040	2.965
	CYP3A5*1/*1	1.236	0.060	3.441
SLC22A1 480C>G	Homozygous CC	-	0.048	-
	Heterozygous CG	-0.603	0.260	0.547
	Homozygous GG	2.560	0.037	12.933

p-value of Omnibus Test = 0.026, reference genotype คือ CYP3A5*3/*3 และ

Homozygous CC



ตารางที่ 21 แสดงโมเดลความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรม (additive model) กับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบ

โมเดลความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรม (additive model) กับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบ	R ²
Prob (Imatinib non-response) เมื่อ $Z = -1.677 + (1.087 \times CYP3A5^{*1/*3}) + (1.236 \times CYP3A5^{*1/*1}) + (-0.603 \times SLC22A1 \text{ 480C>G Heterozygous CG}) + (2.560 \times SLC22A1 \text{ 480C>G Homozygous GG})$	0.138

หมายเหตุ Prob (Imatinib non-response) หมายถึง โอกาสที่จะไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบ

การแทนค่าในโมเดล; $CYP3A5^{*1/*3}$: เมื่อไม่มีให้แทนค่าด้วย 0 ถ้ามีให้แทนค่าด้วย 1, $CYP3A5^{*1/*1}$ เมื่อไม่มีให้แทนค่าด้วย 0 ถ้ามีให้แทนค่าด้วย 1, $SLC22A1 \text{ 480C>G Heterozygous CG}$: เมื่อไม่มีให้แทนค่าด้วย 0, ถ้ามีให้แทนค่าด้วย 1 และ $SLC22A1 \text{ 480C>G Homozygous GG}$: เมื่อไม่มีให้แทนค่าด้วย 0 ถ้ามีให้แทนค่าด้วย 1

ตารางที่ 22 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างจีโนไทป์ (additive model) ของความผันแปรในยีน *CYP3A5* และยีน *SLC22A1* กับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมิดาตินิบในผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ชาวไทย โดย multiple logistic regression (n=112)

Genotype	Responsive (n=83), n (%)	Non- responsive (n=29), n (%)	Adjusted OR ^a	95%CI	p- value
<i>CYP3A5</i>					
<i>CYP3A5</i> *3/*3	43 (51.81)	9 (31.03)	Reference		
<i>CYP3A5</i> *1/*3	29 (34.94)	14 (48.28)	2.965	1.052-8.357	0.040
<i>CYP3A5</i> *1/*1	11 (13.25)	6 (20.69)	3.441	0.951-12.451	0.060
<i>SLC22A1</i> 480C>G					
Homozygous CC	55 (66.27)	20 (68.97)	Reference		
Heterozygous CG	27 (32.53)	6 (20.69)	0.547	0.191-1.564	0.260
Homozygous GG	1 (1.20)	3 (10.34)	12.933	1.164-143.761	0.037

^aOR วิเคราะห์ข้อมูลโดย multiple logistic regression หลังจากปรับอิทธิพลของจีโนไทป์ของ *CYP3A5* และ *SLC22A1* 480C>G

2) ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรม (dominant/recessive model) กับการตอบสนองต่อการรักษาโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ด้วยยาอิมาตินิบ (n=112)

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรม ได้แก่ พหุสัณฐานของยีน *CYP3A5* และ *SLC22A1* กับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบในผู้ป่วย CML ชาวไทยจำนวน 112 ราย โดยใช้การวิเคราะห์ความถดถอยพหุโลจิสติกส์ (multiple logistic regression) นั้น สามารถแบ่งผู้ป่วยออกเป็น 2 กลุ่ม ตาม ELN recommendation ได้ดังนี้ 1) ผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อยาอิมาตินิบจำนวน 83 ราย และ 2) ผู้ป่วยที่ไม่ตอบสนองต่อยาอิมาตินิบจำนวน 29 ราย พบว่า พหุสัณฐานของยีน *ABCB1* ไม่มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบ (p -value > 0.05) ในขณะที่พหุสัณฐานของยีน *CYP3A5* (*CYP3A5**1/*3 + *CYP3A5**1/*1) และ *SLC22A1* 480C>G (homozygous GG) มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบ (adjusted OR = 3.308, 95%CI = 1.246-8.783, p -value = 0.016 และ adjusted OR = 13.750, 95%CI = 1.240-152.435, p -value = 0.033 ตามลำดับ) ดังแสดงในตารางที่ 23, 24 และ 25

*หมายเหตุ พิจารณาปัจจัยหรือตัวแปรร่วมในการวิเคราะห์ multiple logistic regression จากระดับนัยสำคัญไม่มากกว่า 0.25 ในการวิเคราะห์ Bivariate analysis โดย Chi-square Test และวิเคราะห์ข้อมูลโดย enter method

ตารางที่ 23 แสดงค่าสัมประสิทธิ์ความถดถอยโลจิสติกของตัวแปรต่าง ๆ ในโมเดลความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรม (dominant/recessive model) กับการตอบสนองต่อการรักษาโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ด้วยยาอิมาตินิบ

ตัวแปรอิสระ		Logistic Coefficient (B)	p-value	Exp (B)
Constant		-3.391	0.003	0.034
CYP3A5	<i>CYP3A5*3/*3</i>	-	-	-
	<i>CYP3A5*1/*3</i> + <i>CYP3A5*1/*1</i>	1.196	0.016	3.308
SLC22A1 480C>G	Homozygous CC + Heterozygous CG	-	-	-
	Homozygous GG	2.621	0.033	13.750
ABCB1 1236C>T	Homozygous CC	-	-	-
	Heterozygous CT +	1.637	0.131	5.141
	Homozygous TT			

p-value of Omnibus Test = 0.005, reference genotype สำหรับ *CYP3A5*, *SLC22A1* และ *ABCB1* คือ *CYP3A5*3/*3*, Homozygous CC + Heterozygous CG และ Homozygous CC ตามลำดับ

ตารางที่ 24 แสดงโมเดลความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรม (dominant/recessive model) กับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบ

โมเดลความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรม (dominant/recessive model) กับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบ	R ²
Prob (Imatinib non-response) เมื่อ $Z = -3.391 + [1.196 \times CYP3A5^{*1}/^{*3} + CYP3A5^{*1}/^{*1}] + (2.621 \times SLC22A1 \text{ 480C>G Homozygous GG}) + (1.637 \times ABCB1 \text{ 1236C>T Heterozygous CT +Homozygous TT})$	0.160

หมายเหตุ Prob (Imatinib non-response) หมายถึง โอกาสที่จะไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบ

การแทนค่าในโมเดล; $CYP3A5^{*1}/^{*3} + CYP3A5^{*1}/^{*1}$: เมื่อไม่มีให้แทนค่าด้วย 0 ถ้ามีให้แทนค่าด้วย 1, $SLC22A1 \text{ 480C>G Homozygous GG}$: เมื่อไม่มีให้แทนค่าด้วย 0 ถ้ามีให้แทนค่าด้วย 1 และ $ABCB1 \text{ 1236C>T Heterozygous CT +Homozygous TT}$: เมื่อไม่มีให้แทนค่าด้วย 0 ถ้ามีให้แทนค่าด้วย 1

ตารางที่ 25 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างจีโนไทป์ (dominant/recessive model) ของความผันแปรในยีน *CYP3A5* และยีน *SLC22A1* กับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมามิโนบในผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ชาวไทย (n=112) โดย multiple logistic regression

Genotype	Responsive (n=83), n (%)	Non- responsive (n=29), n (%)	Adjusted OR ^a	95%CI	p- value
<i>CYP3A5</i>					
<i>CYP3A5</i> *3/*3	43 (48.31)	9 (31.03)	Reference		
<i>CYP3A5</i> *1/*3 + <i>CYP3A5</i> *1/*1	40 (51.69)	20 (68.97)	3.308	1.246-8.783	0.016
<i>SLC22A1</i> 480C>G					
Homozygous CC + Heterozygous CG	82 (98.80)	26 (89.66)	Reference		
Homozygous GG	1 (1.20)	3 (10.34)	13.750	1.240-152.435	0.033
<i>ABCB1</i> 1236C>T					
Homozygous CC	11 (13.25)	1 (3.45)	Reference		
Homozygous TT + Heterozygous CT	72 (86.75)	28 (96.55)	5.141	0.615-42.985	0.131

^aOR วิเคราะห์ข้อมูลโดย multiple logistic regression หลังจากปรับอิทธิพลของจีโนไทป์ของ *CYP3A5* และ *SLC22A1* 480C>G

4.3.3 การวิเคราะห์ระยะปลอดเหตุการณ์ (Time to event) หรือการรอดชีพ (Survival analysis)

ระยะปลอดเหตุการณ์ (Time to event หรือ survival time) หรือ ระยะเวลาดังแต่เริ่มต้น (begin date) จนเกิดเหตุการณ์ (event) ซึ่งในการศึกษานี้ ได้กำหนดให้ “ระยะเวลาดังแต่เริ่มต้น” คือ วันที่ผู้ป่วยอาสาสมัครเริ่มต้นได้รับยาอิมาตินิบ ในขณะที่ “เหตุการณ์” คือ การหยุดใช้ยาอิมาตินิบ และเหตุการณ์ที่ยังไม่เกิดขึ้นเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาที่ศึกษา จะเรียกว่า censored ดังนั้นในการวิเคราะห์ survival analysis จึงแบ่งผู้ป่วยออกเป็น 2 กลุ่ม คือ 1) ผู้ป่วยที่เกิดเหตุการณ์ หรือในการศึกษานี้คือผู้ป่วยกลุ่ม non-responsive จำนวน 29 ราย และ 2) ผู้ป่วยที่ไม่เกิดเหตุการณ์ หรือในการศึกษานี้คือผู้ป่วยกลุ่ม responsive จำนวน 83 ราย โดยอาศัย cox-proportional hazards model ในการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรม กับ failure-free survival ในการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบในผู้ป่วย CML ชาวไทย

4.3.3.1 ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรม (additive model) และ failure-free survival กับการตอบสนองต่อการรักษาโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ด้วยยาอิมาตินิบในผู้ป่วยชาวไทย (n=112) โดย Cox-proportional hazards model

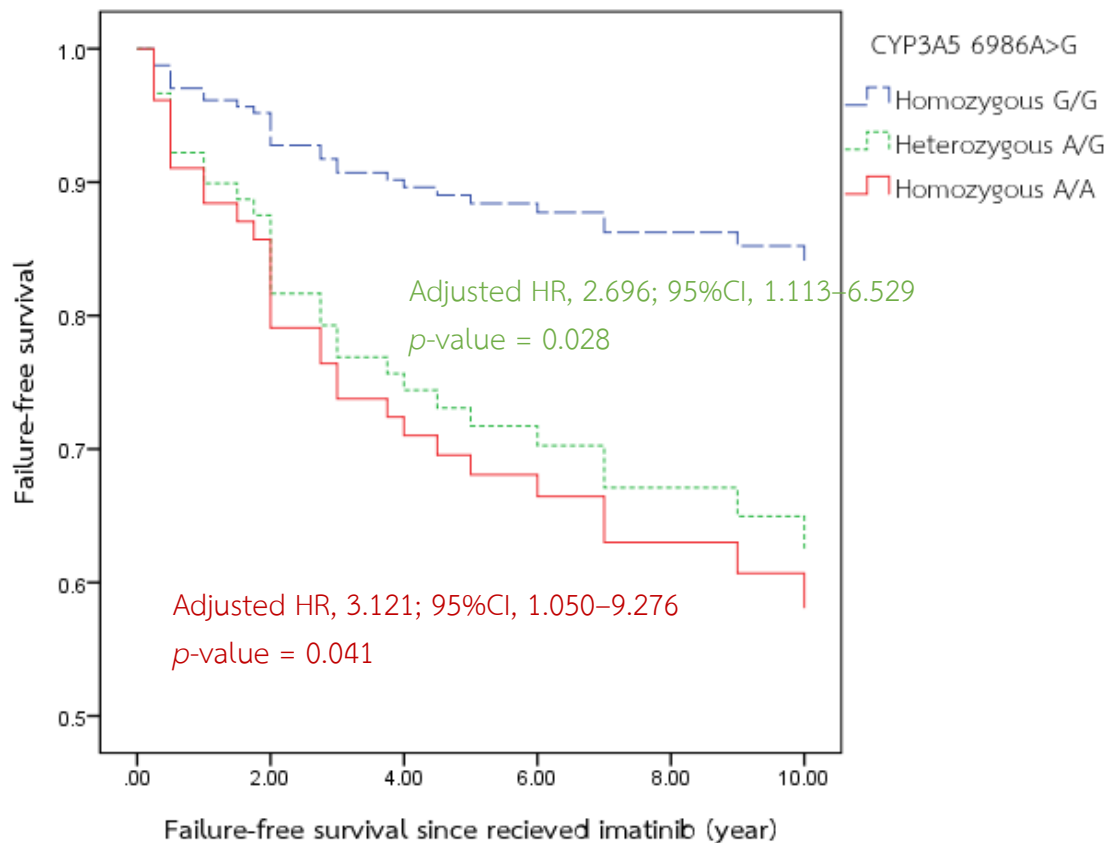
การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรม (additive model) ได้แก่ พหุสัณฐานของยีน CYP3A5 และ SLC22A1 กับ failure-free survival ในการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบในผู้ป่วย CML ชาวไทยจำนวน 112 ราย โดย Cox-proportional hazards model นั้น สามารถแบ่งผู้ป่วยออกเป็น 2 กลุ่ม ตาม ELN recommendation ได้ดังนี้ 1) ผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อยาอิมาตินิบจำนวน 83 ราย และ 2) ผู้ป่วยที่ไม่ตอบสนองต่อยาอิมาตินิบจำนวน 29 ราย พบว่า พหุสัณฐานของยีน CYP3A5*1/*1, CYP3A5*1/*3 และ SLC22A1 480C>G (homozygous GG) มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการไม่ตอบสนองต่อการรักษา CML ด้วยยาอิมาตินิบ (adjusted HR = 3.121, 95%CI = 1.050 – 9.276, p-value = 0.041, adjusted HR = 2.696, 95%CI = 1.113 – 6.529, p-value = 0.028 และ adjusted HR = 6.054, 95%CI = 1.637 – 22.389, p-value = 0.007 ตามลำดับ) ดังแสดงในตารางที่ 26 และรูปที่ 2 และรูปที่ 3 ตามลำดับ

ตารางที่ 26 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรม (additive model) และ failure-free survival กับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาติในผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ชาวไทย (n=112)

Genotype	Responsive (n=83), n (%)	Non- responsive (n=29), n (%)	Adjusted HR ^a	95%CI	p- value
CYP3A5					
<i>CYP3A5</i> *3/*3	43 (51.81)	9 (31.03)	Reference		
<i>CYP3A5</i> *1/*3	29 (34.94)	14 (48.28)	2.696	1.113 – 6.529	0.028
<i>CYP3A5</i> *1/*1	11 (13.25)	6 (20.69)	3.121	1.050 – 9.276	0.041
SLC22A1 480C>G					
Homozygous CC	55 (66.27)	20 (68.97)	Reference		
Heterozygous CG	27 (32.53)	6 (20.69)	0.592	0.237 – 1.480	0.262
Homozygous GG	1 (1.20)	3 (10.34)	6.054	1.637 – 22.389	0.007

^aHR วิเคราะห์ข้อมูลโดย Cox regression หลังจากปรับอิทธิพลของจีโนไทป์ของ *CYP3A5* และ *SLC22A1 480C>G*

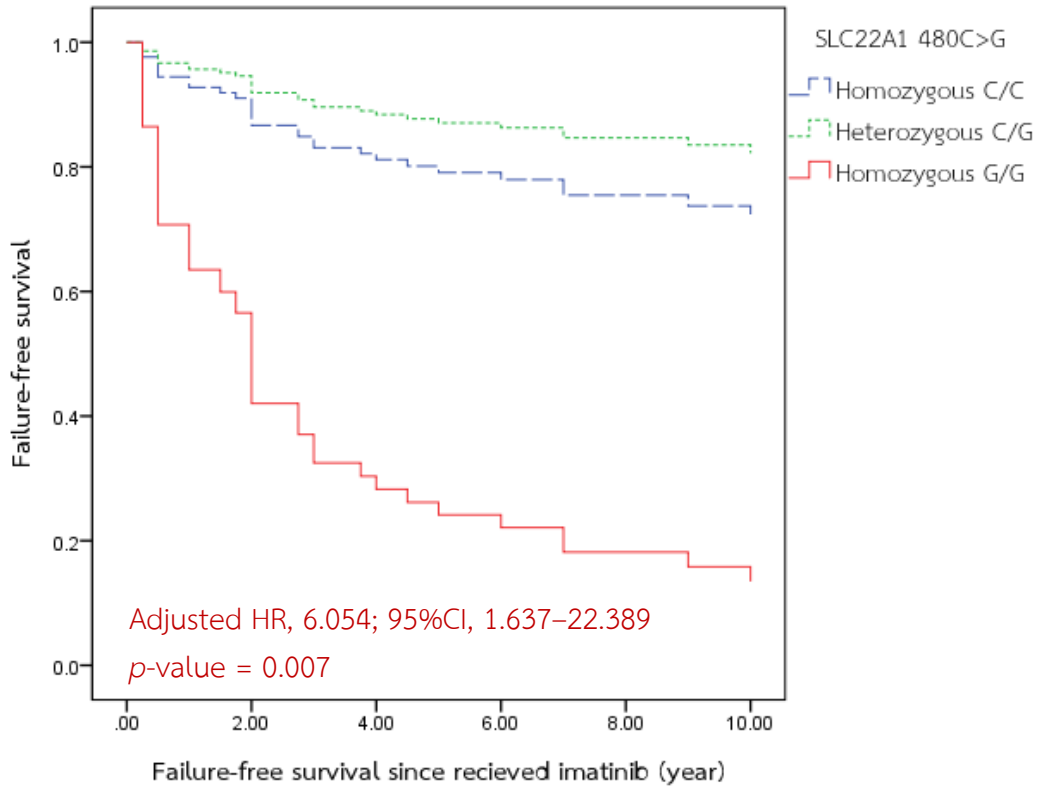
รูปที่ 2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง *CYP3A5* 6986A>G (additive model) และ failure-free survival กับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบในผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ชาวไทย (n=112) โดย cox-proportional hazards model



แกน x แสดงระยะเวลาปลอดเหตุการณ์ หรือ Failure-free survival since received Imatinib (year)

แกน y แสดงความน่าจะเป็นที่จะเกิดระยะปลอดเหตุการณ์ หรือ Failure-free survival

รูปที่ 3 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง *SLC22A1* 480C>G (additive model) และ failure-free survival กับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบในผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ชาวไทย (n=112) โดย cox-proportional hazard model



แกน x แสดงระยะเวลาปลอดเหตุการณ์ หรือ Failure-free survival since received Imatinib (year)

แกน y แสดงความน่าจะเป็นที่จะเกิดระยะปลอดเหตุการณ์ หรือ Failure-free survival

4.3.3.2 ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรม (dominant/ recessive model) และ failure-free survival กับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบในผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ชาวไทยจำนวน 112 โดย Cox-proportional hazards model

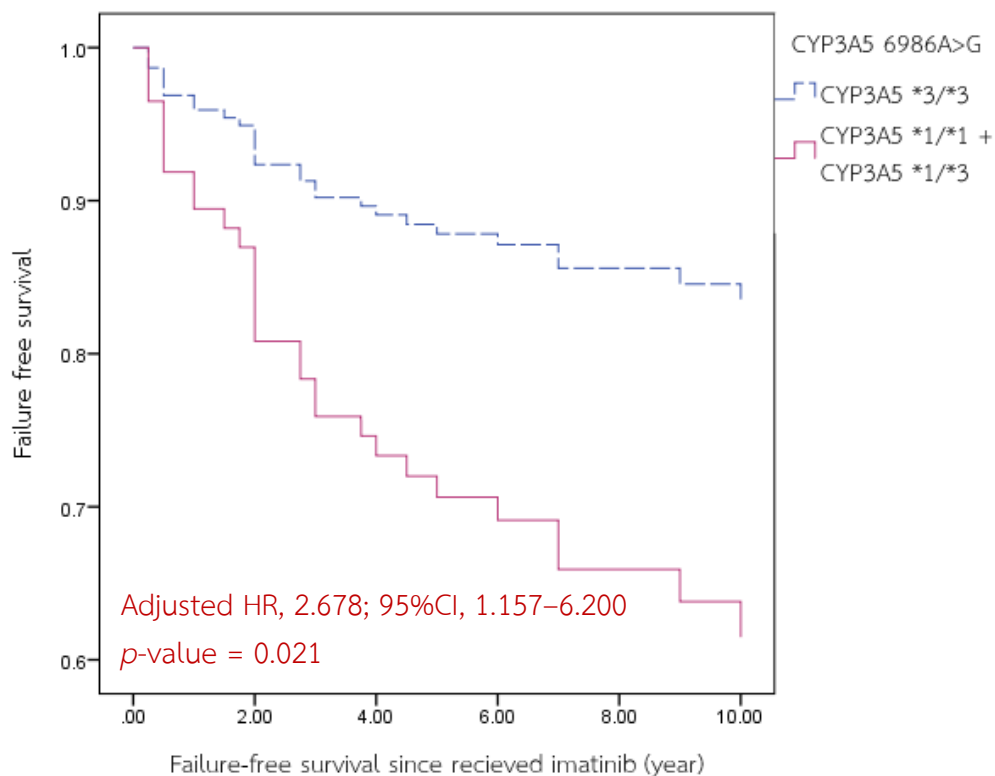
การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรม (dominant/ recessive model) ได้แก่ พหุสัณฐานของยีน *CYP3A5* และ *SLC22A1* กับ failure-free survival ในการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบในผู้ป่วย CML ชาวไทยจำนวน 112 ราย โดย Cox-proportional hazards model นั้น สามารถแบ่งผู้ป่วยออกเป็น 2 กลุ่ม ตาม ELN recommendation ได้ดังนี้ 1) ผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อยาอิมาตินิบจำนวน 83 ราย และ 2) ผู้ป่วยที่ไม่ตอบสนองต่อยาอิมาตินิบจำนวน 29 ราย พบว่า พหุสัณฐานของยีน *CYP3A5**1/*1 + *CYP3A5**1/*3 และ *SLC22A1* 480C>G (homozygous GG) มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการไม่ตอบสนองต่อการรักษา CML ด้วยยาอิมาตินิบ (adjusted HR = 2.678, 95%CI = 1.157-6.200, *p*-value = 0.021 และ adjusted HR = 6.731, 95%CI = 1.845-24.554, *p*-value = 0.004 ตามลำดับ) ดังแสดงในตารางที่ 27 และรูปที่ 4 และรูปที่ 5 ตามลำดับ

ตารางที่ 27 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรม (dominant/recessive model) และ failure-free survival กับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบในผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ชาวไทย (n=112)

Genotype	Responsive (n=83), n (%)	Non- responsive (n=29), n (%)	Adjusted HR ^a	95%CI	p- value
<i>CYP3A5</i>					
<i>CYP3A5</i> *3/*3	43 (48.31)	9 (31.03)	Reference		
<i>CYP3A5</i> *1/*3 + <i>CYP3A5</i> *1/*1	40 (51.69)	20 (68.97)	2.678	1.157-6.200	0.021
<i>SLC22A1 C480G</i>					
Homozygous CC + Heterozygous CG	82 (98.80)	26 (89.66)	Reference		
Homozygous GG	1 (1.20)	3 (10.34)	6.731	1.845-24.554	0.004

^aHR วิเคราะห์ข้อมูลโดย Cox regression หลังจากปรับอิทธิพลของจีโนไทป์ของ *CYP3A5* และ *SLC22A1 480C>G*

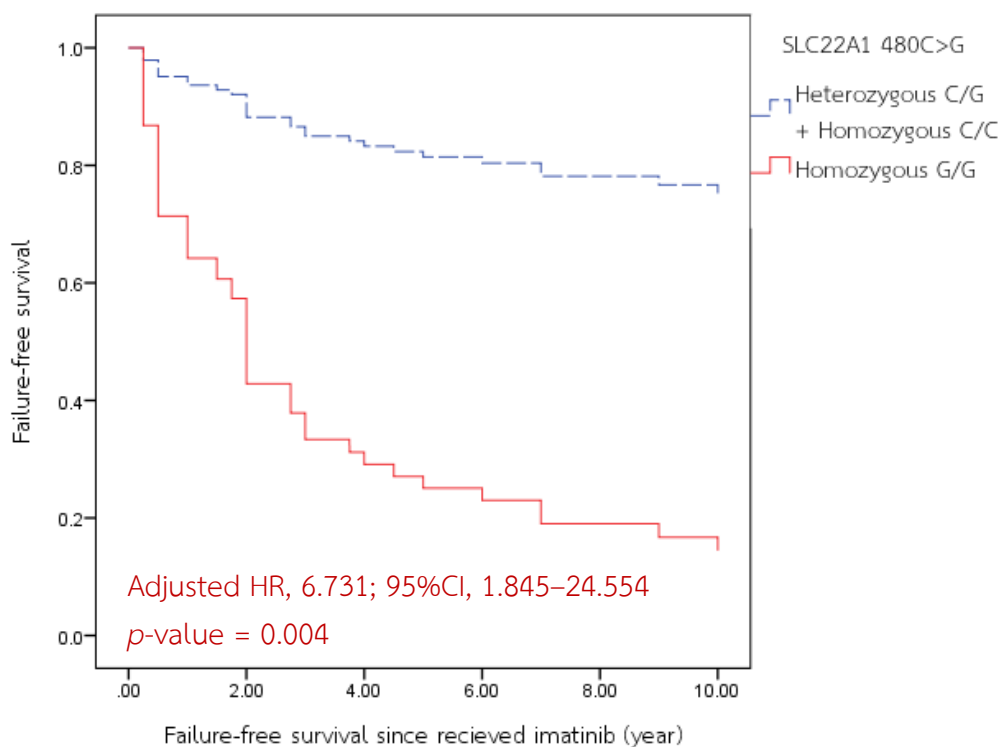
รูปที่ 4 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง CYP3A5 6986A>G (dominant/recessive model) และ failure-free survival กับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบในผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ชาวไทยจำนวน (n=112) โดย cox-proportional hazard model



แกน x แสดงระยะเวลาปลอดเหตุการณ์ หรือ Failure-free survival since received Imatinib (year)

แกน y แสดงความน่าจะเป็นที่จะเกิดระยะปลอดเหตุการณ์ หรือ Failure-free survival

รูปที่ 5 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง *SLC22A1* 480C>G (dominant/recessive model) และ failure-free survival กับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบในผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ชาวไทยจำนวน (n=112) โดย cox-proportional hazard model



แกน x แสดงระยะเวลาปลอดเหตุการณ์ หรือ Failure-free survival since received Imatinib (year)

แกน y แสดงความน่าจะเป็นที่จะเกิดระยะปลอดเหตุการณ์ หรือ Failure-free survival

บทที่ 5

อภิปราย สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

อภิปรายผลการวิจัย

CML เป็นโรคมะเร็งทางโลหิตวิทยาชนิดหนึ่ง สาเหตุที่แท้จริงไม่ทราบแน่ชัด แต่พบว่าเกิดความผิดปกติในระดับโครโมโซม โดยเกิดการแลกเปลี่ยนชิ้นส่วนของโครโมโซมระหว่าง คู่ที่ 9 และ 22 เกิดเป็นโครโมโซมฟิลาเดลเฟีย และก่อให้เกิดความผิดปกติในส่วนของ BCR-ABL1 mRNA ส่งผลให้โปรตีน BCR-ABL1 ซึ่งมีคุณสมบัติของเอนไซม์ไทโรซีนไคเนสเปลี่ยนแปลงไปท้ายที่สุด ก่อให้เกิดการเจริญ และการแบ่งตัวที่ผิดปกติของเซลล์เม็ดเลือดขาวในไขกระดูก

อิมาตินิบเป็นยาในกลุ่ม tyrosine kinase inhibitor ซึ่งมีข้อบ่งใช้สำหรับรักษา CML โดยยับยั้งการออกฤทธิ์ของเอนไซม์ไทโรซีนไคเนส (11) อย่างไรก็ตามมีผู้ป่วยจำนวนหนึ่งไม่ตอบสนอง ต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบ กล่าวคือ ภายหลังจากระยะเวลา 3 เดือนหลังจากได้รับ ยาอิมาตินิบ ผู้ป่วยยังคงตรวจพบระดับโครโมโซมฟิลาเดลเฟียมากกว่าร้อยละ 95 และหรือไม่ได้ complete hematologic response, ระยะเวลา 6 เดือนหลังจากได้รับยาอิมาตินิบ ผู้ป่วยยังคง ตรวจพบระดับโครโมโซมฟิลาเดลเฟียมากกว่าร้อยละ 35 และหรือระดับ BCR-ABL1 IS มากกว่า ร้อยละ 10 , ระยะเวลา 12 เดือนหลังจากได้รับยาอิมาตินิบ ผู้ป่วยยังคงตรวจพบระดับโครโมโซม ฟิลาเดลเฟียมากกว่าร้อยละ 0 และหรือระดับ BCR-ABL1^{IS} มากกว่าร้อยละ 1 และระยะเวลามากกว่า 12 เดือนหรือ ณ เวลาใดๆ หลังจากได้รับยาอิมาตินิบ ผู้ป่วยที่สูญเสียการตอบสนองชนิด Complete hematologic และหรือ Complete cytogenetic และหรือ major molecular response รวมทั้ง ในกรณีที่ตรวจพบการเกิดการกลายพันธุ์ในยีน *BCR-ABL1* และหรือเกิด clonal chromosomal abnormalities ในเซลล์ Ph+ (CCaVPh+) ซึ่งผู้ป่วยดังกล่าวนี้ถือว่าผู้ป่วยไม่ตอบสนองหรือล้มเหลว จากการรักษาด้วยยาอิมาตินิบ และจำเป็นต้องได้รับการรักษาด้วย TKIs ชนิดอื่น ๆ (46) ซึ่งสาเหตุ อาจสืบเนื่องมาจากปัจจัยทางพันธุกรรมและปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรมของผู้ป่วยรายนั้น ๆ ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะศึกษาปัจจัยดังกล่าวว่าส่งผลต่อการตอบสนองต่อการรักษาด้วย ยาอิมาตินิบในผู้ป่วย CML ชาวไทยหรือไม่อย่างไร

ปัจจัยทางพันธุกรรม ได้แก่ ความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *CYP3A5* และ *CYP2C19* ซึ่งพบว่าเป็นยีนที่ควบคุมการถ่ายทอดโปรตีนที่มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลง ยาอิมาตินิบในร่างกายผู้ป่วย (16, 17, 41) รวมทั้งพหุสัณฐานของยีน *SLC22A1* และ *ABCB1* ซึ่งเป็น ยีนที่ควบคุมการถ่ายทอดโปรตีนที่มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการนำยาอิมาตินิบเข้าและออก

นอกเซลล์ตามลำดับ (25-27) โดยในการศึกษานี้ผู้วิจัยได้ทำการทบทวนวรรณกรรม และเลือก candidate SNPs ที่พบความถี่ในประชากรชาวเอเชีย ได้แก่ *CYP3A5**3 หรือ *CYP3A5* 6986A>G, *CYP2C19**2 หรือ *CYP2C19* 681G>A, *SLC22A1* 480C>G และ *ABCB1* 1236C>T และทำการศึกษาความถี่อัลลีลและความถี่จีโนไทป์ของทั้ง 4 SNPs นี้ในกลุ่มผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ชาวไทย พบว่าการกระจายตัวของความถี่อัลลีลและความถี่จีโนไทป์ของทุก SNPs อยู่ในสมมติฐานฮาร์ดีไวน์เบิร์ก กล่าวคือ การถ่ายทอดยีนเหล่านี้ในกลุ่มประชากรชาวไทยจะมีค่าคงที่ในทุก ๆ รุ่น นอกจากนี้เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบในแต่ละเชื้อชาติ พบว่า ความถี่อัลลีล และความถี่จีโนไทป์ของทุก SNPs ในกลุ่มประชากรชาวไทยมีการกระจายตัวที่คล้ายคลึงกับกลุ่มประชากรเชื้อชาติต่าง ๆ ในเอเชีย เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มประชากรชาวคอเคเซียน และเชื้อชาติอื่น ๆ พบว่ามีความแตกต่างกันออกไปในแต่ละเชื้อชาติ ดังนั้นความแตกต่างทางเชื้อชาติอาจส่งผลกระทบต่อความสัมพันธ์ระหว่างการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบในผู้ป่วย CML ชาวไทย และปัจจัยทางพันธุกรรมได้

สำหรับขนาดตัวอย่างในการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ข้อมูลโดย multiple logistic regression ได้อาศัยหลักเกณฑ์ของ Peduzzi และคณะ (110) และคำนวณจาก minimum number of events per variable (EPV) ซึ่งจากการคำนวณในหัวข้อที่ 3.1.3 ทำให้ทราบว่าต้องใช้จำนวนตัวอย่างอย่างน้อย 167 ราย อย่างไรก็ตามจากผลการศึกษาเมื่อพิจารณาตัวแปรอิสระที่มีผลต่อการตอบสนองต่อยาอิมาตินิบ ซึ่งได้แก่ ลักษณะทางพันธุกรรมของยีน *CYP3A5* และ *SLC22A1* และพิจารณาสัดส่วนของผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบในการศึกษานี้ซึ่งมีสัดส่วนเท่ากับ 0.26 นั้น สามารถคำนวณขนาดตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ข้อมูลโดย multiple logistic regression ได้ทั้งสิ้น $(10 \times 2)/0.26 = 77$ ราย กล่าวคือจำนวนผู้ป่วยในการศึกษานี้ ($n=112$) เพียงพอที่จะอธิบายความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติได้โดยผู้ป่วย CML ในการศึกษานี้ สามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม ตาม ELN recommendation (46) คือ 1) ผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อยาอิมาตินิบจำนวน 83 ราย และ 2) ผู้ป่วยที่ไม่ตอบสนองต่อยาอิมาตินิบจำนวน 29 ราย เมื่อพิจารณาจีโนไทป์ของยีนแบบ additive model และทำการทดสอบความสัมพันธ์โดยสถิติไคร์สแควร์สำหรับการวิเคราะห์ความสัมพันธ์แบบสองตัวแปร พบว่าพหุสัมพันธ์ของยีน *SLC22A1* มีความสัมพันธ์กับการไม่ตอบสนองต่อการรักษา CML ด้วยยาอิมาตินิบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p -value = 0.048) สอดคล้องกับเมื่อพิจารณาจีโนไทป์ของยีนแบบ dominant/recessive model (GG vs CC+CG) ก็พบแนวโน้มความสัมพันธ์กับการไม่ตอบสนองต่อการรักษา CML ด้วยยาอิมาตินิบ (p -value = 0.053) นอกจากนี้เมื่อพิจารณาพหุสัมพันธ์ของยีน *CYP3A5* แบบ additive model และ dominant/recessive model ยังพบแนวโน้มความสัมพันธ์กับการไม่ตอบสนองต่อ

การรักษา CML ด้วยยาอิมาตินิบ ($p=0.151$ และ $p=0.053$, ตามลำดับ) สอดคล้องกับผลการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์แบบพหุตัวแปรโดยการวิเคราะห์ความถดถอยโลจิสติกแบบหลายชั้น เมื่อพิจารณาจีโนไทป์ของยีนแบบ additive model พบว่าจีโนไทป์ของยีน *CYP3A5* ชนิด $*1/*3$ และ *SLC22A1* 480C>G ชนิด GG สัมพันธ์กับการไม่ตอบสนองต่อการรักษา CML ด้วยยาอิมาตินิบ (adjusted OR = 2.695, 95%CI = 1.052-8.357, p -value = 0.04 และ adjusted OR = 12.933, 95%CI = 1.164-143.761, p -value = 0.037 ตามลำดับ) ในขณะที่ *CYP3A5* $*1/*1$ มีแนวโน้มที่จะสัมพันธ์กับการไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบ (adjusted OR = 3.441, 95%CI = 0.951-12.451, p -value = 0.06) และเมื่อพิจารณาจีโนไทป์ของยีนแบบ dominant/recessive model พบว่าจีโนไทป์ของยีน *CYP3A5* ชนิด *CYP3A5* $*1/*3$ + *CYP3A5* $*1/*1$ และ *SLC22A1* 480C>G ชนิด GG มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบ (adjusted OR = 3.308, 95%CI = 1.246-8.783, p -value = 0.016 และ adjusted OR = 13.750, 95%CI = 1.240-152.435, p -value = 0.033 ตามลำดับ) จากผลการศึกษาดังกล่าวนี้ สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Kim และคณะ ที่บ่งชี้ว่าจีโนไทป์ชนิด AA หรือ *CYP3A5* $*1/*1$ สัมพันธ์กับการตอบสนองที่ลดลงในผู้ป่วย CML ที่ได้รับยาอิมาตินิบ โดย *CYP3A5* เป็นยีนที่มีการแสดงออกมากที่บริเวณตับและทางเดินอาหาร การเกิดพหุสัญญาณของยีน *CYP3A5* $*3$ จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลำดับนิวคลีโอไทด์บนตำแหน่งที่ 6986 จาก adenine (A) เป็น guanine (G) ส่งผลให้เกิด splice site ที่ intron ที่ 3 จนก่อให้เกิด premature termination codon และทำให้เอนไซม์ที่ได้ไม่สามารถทำหน้าที่เปลี่ยนแปลงยาได้ และจากกระบวนการเปลี่ยนแปลงยาอิมาตินิบในร่างกาย (59) เอนไซม์ *CYP3A5* จัดเป็นเอนไซม์ที่มีบทบาทหน้าที่สำคัญในการเปลี่ยนแปลงยา (major pathway) ดังนั้นผู้ป่วยที่อัลลีล G หรือ $*3$ จึงส่งผลให้กระบวนการเปลี่ยนยาอิมาตินิบในร่างกายลดลงมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับผู้ป่วยที่มี *CYP3A5* $*1$ อย่างน้อยหนึ่งอัลลีล อันได้แก่ $*1/*1$ และ $*1/*3$ ซึ่งจะมีการแสดงออกของเอนไซม์ *CYP3A5* ทำหน้าที่ในการเปลี่ยนแปลงยาได้อย่างปกติ ระดับยาอิมาตินิบในกระแสเลือดจึงลดลง และอาจส่งผลต่อการตอบสนองต่อยาที่ลดลงได้ อย่างไรก็ตามมีบางการศึกษาพบว่าพหุสัญญาณของยีน *CYP3A5* ไม่สัมพันธ์กับการตอบสนองต่อยาอิมาตินิบในผู้ป่วย CML (54, 61)

นอกจากนี้ผลการศึกษาที่ยังบ่งชี้ว่าจีโนไทป์ชนิด GG ของยีน *SLC22A1* 480C>G ซึ่งเป็นยีนที่ถ่ายทอดโปรตีนตัวนำส่งยาเข้าเซลล์ (Influx transporter) สัมพันธ์กับการไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบในผู้ป่วย CML ชาวไทย ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Kim และคณะ (28) ที่บ่งชี้ว่า variant ของยีนสัมพันธ์กับการตอบสนองชนิด MMR ที่ลดลง และเสี่ยงต่อการล้มเหลวต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบ โดยยีน *SLC22A1* เป็นยีนที่พบการแสดงออกทั้งใน *BCR-ABL1*-positive cell lines และในเซลล์ของผู้ป่วย (26) นอกจากนี้ Crossman และคณะ (112) ยังพบว่า

การแสดงของ mRNA ของยีน *SLC22A1* ที่เพิ่มขึ้นสัมพันธ์กับกลุ่มผู้ป่วยที่มีการตอบสนองต่อยาอิมาตินิบชนิด CCyR โดยพหุสัณฐานของยีน *SLC22A1* เป็นปัจจัยทางพันธุกรรมอีกหนึ่งปัจจัยที่พบว่าสัมพันธ์กับการตอบสนองต่อยาอิมาตินิบในผู้ป่วย CML จากการศึกษาพบว่าจีโนไทป์ชนิด GG ของยีน *SLC22A1* บนตำแหน่งที่ 480 จาก cysteine (C) เป็น guanine (G) ซึ่งความผิดปกติดังกล่าวเกิดจากการเกิด missense ที่ UTR variant 5 prime และก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลำดับกรดอะมิโนจาก leucine (L) เป็น phenylalanine (F) อย่างไรก็ตามมีบางการศึกษาพบว่าพหุสัณฐานของยีน *SLC22A1* ไม่สัมพันธ์กับการตอบสนองต่อยาอิมาตินิบในผู้ป่วย CML (54, 113) ผลการศึกษาที่ขัดแย้งกันนี้ อาจเนื่องมาจากความแตกต่างระหว่างเชื้อชาติในกลุ่มประชากรที่ทำการศึกษา โดยจากการศึกษาความถี่อัลลีลและจีโนไทป์ของยีน *CYP3A5* และยีน *SLC22A1* ในกลุ่มประชากรผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวเรื้อรังนั้นพบว่า มีความแตกต่างระหว่างกันในแต่ละเชื้อชาติ โดยชาวเอเชียจะมีความถี่ที่คล้ายคลึงกัน (ยกเว้นชาวญี่ปุ่น) ในขณะที่มีความแตกต่างกันเล็กน้อยเมื่อเทียบกับชาวคอเคเซียนและเชื้อชาติอื่น ๆ และการนิยามการตอบสนองและไม่ตอบสนองที่แตกต่างกันในแต่ละการศึกษา อาจส่งผลให้ความสัมพันธ์กับปัจจัยทางพันธุกรรมแตกต่างกันได้ อย่างไรก็ตามในการศึกษานี้ได้พิจารณาการนิยามการตอบสนองและไม่ตอบสนองตาม ELN recommendation โดยมีได้แบ่งตามประเภทการตอบสนอง (Hematologic, Cytogenetic และ Molecular response) แต่พิจารณาการตอบสนองต่อยาอิมาตินิบ ณ เวลาใดเวลาหนึ่ง ดังนั้นผู้ป่วยอาสาสมัครในการศึกษานี้จึงอาจมีชนิดการตอบสนองและไม่ตอบสนองแตกต่างจากการศึกษาอื่นได้นอกจากนี้ความแตกต่างของเกณฑ์ในการคัดเลือกผู้ป่วยอาสาสมัครเข้าร่วมงานวิจัยก็เป็นปัจจัยอีกประการที่ส่งผลให้ผลการศึกษาแตกต่างจากการศึกษาอื่น ๆ ได้

อย่างไรก็ตามกลับไม่พบความสัมพันธ์ดังกล่าวกับพหุสัณฐานของยีน *CYP2C19* ซึ่งการเกิด SNPs ของยีน *CYP2C19*2* นั้น โพรตีนที่ถอดรหัสได้ อาจจะมีการทำงานที่ลดลง แต่อาจไม่ส่งผลกระทบต่อ การตอบสนองต่อการรักษาโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดมัยอีลอยด์ด้วยยาอิมาตินิบ กล่าวคือเมื่อพิจารณาจากกระบวนการเปลี่ยนแปลงยาอิมาตินิบในการนั้น จะพบว่าเอนไซม์ *CYP2C19* จัดเป็นเอนไซม์ที่มีบทบาทรอง (minor pathway) ในการเปลี่ยนแปลงยาอิมาตินิบ (41) ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงยาอิมาตินิบผ่านทางเอนไซม์ *CYP2C19* จึงเกิดขึ้นได้น้อยกว่าเอนไซม์ *CYP3A5* ประกอบกับความถี่อัลลีลและความถี่จีโนไทป์ในกลุ่มประชากรชาวไทย มีการกระจายตัวที่แตกต่างจากเชื้อชาติอื่น จึงส่งผลให้เกิดพหุสัณฐานของยีนเหล่านี้ ไม่ส่งผลกระทบต่อ การตอบสนองต่อการรักษาโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ด้วยยาอิมาตินิบในผู้ป่วยชาวไทย สอดคล้องกับการศึกษาของ Seong และคณะ (61) ซึ่งไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างพหุสัณฐานของยีน *CYP2C19*2* และการตอบสนองทางคลินิกของยาอิมาตินิบ และไม่พบ

ความสัมพันธ์ดังกล่าวกับพหุสัณฐานของยีน *ABCB1* สอดคล้องกับการศึกษาของ Takahashi และคณะ (54) ในขณะที่การศึกษาของ Ni และคณะ (32) ในประชากรชาวจีนพบว่า พหุสัณฐานดังกล่าวนี้สัมพันธ์กับการไม่ตอบสนองต่อการรักษา CML ด้วยยาอิมาตินิบชนิด CCyR อย่างไรก็ตามผลการศึกษาทางคลินิกในประเด็นดังกล่าวนี้กลับมีข้อถกเถียง สาเหตุสำคัญประการหนึ่งอาจเนื่องมาจากความถี่ที่แตกต่างกันในแต่ละกลุ่มประชากร ตลอดจนการนิยามการตอบสนองที่แตกต่างกันไปในแต่ละการศึกษาดังที่กล่าวไปแล้วเบื้องต้น นอกจากนี้โดยยีน *ABCB1* ซึ่งเป็นยีนที่ถ่ายทอดตัวนำส่งยาออกเซลล์ (Efflux transporter) การเกิด SNPs ของยีน *ABCB1* 1236C>T นั้น เกิดจากความเปลี่ยนแปลงนิวคลีโอไทด์บน exon ที่ 12 ในตำแหน่งที่ 1236 จาก cytosine (C) เป็น thymine (T) อย่างไรก็ตามกรดอะมิโนที่ได้จะไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงลำดับ (synonymous SNPs) กล่าวคือลำดับกรดอะมิโนที่ได้ตำแหน่ง 412 ยังคงเป็น glycine (G) ซึ่งอาจไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงการทำงานของโปรตีน (96)

ในขณะที่ปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรม ได้แก่ เพศ และอายุเริ่มต้นที่ผู้ป่วยได้รับยาอิมาตินิบนั้น Brandford และคณะ (38) และ Lin และคณะ (39) พบว่า เพศ เป็นปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับการตอบสนองชนิด molecular response และ Waggins และคณะ (40) พบว่ากลุ่มผู้ป่วย CML สูงอายุจะมีอัตราการรอดชีวิตที่ต่ำกว่าผู้ป่วยที่มีอายุน้อยกว่า อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ของตัวแปรโดยการวิเคราะห์ไควสแคร่ระหว่างปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรมกับการตอบสนองต่อการรักษาในผู้ป่วย CML ชาวไทยในการศึกษานี้ กลับไม่พบความสัมพันธ์ดังกล่าว ความแตกต่างในประเด็นดังกล่าวนี้อาจเนื่องมาจากชนิดของการตอบสนองเชื้อชาติของผู้ป่วยในการศึกษา ตลอดจนความชุกของโรคในแต่ละท้องถิ่นที่มีความแตกต่างกัน

นอกจากนี้ในการวิเคราะห์ระยะปลอดเหตุการณ์หรือการรอดชีพ (survival analysis) โดย cox-proportional hazard model ซึ่งเป็นการวิเคราะห์การถดถอย (regression analysis) รูปแบบหนึ่งที่น่าปัจจัยระยะเวลาเข้ามาวิเคราะห์ร่วมกับปัจจัยทางพันธุกรรม โดยพิจารณาการเกิดเหตุการณ์ คือ การล้มเหลวหรือไม่ตอบสนองต่อการรักษา CML ด้วยยาอิมาตินิบผู้ป่วยชาวไทยพบว่า เมื่อวิเคราะห์จีโนไทป์โดย additive model พบว่าพหุสัณฐานของยีน *CYP3A5**1/*1, *CYP3A5**1/*3 และ *SLC22A1* 480C>G (homozygous GG) มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบ (adjusted HR = 3.121, 95%CI = 1.050 – 9.276, *p*-value = 0.041, adjusted HR = 2.696, 95%CI = 1.113 – 6.529, *p*-value = 0.028 และ adjusted HR = 6.054, 95%CI = 1.637 – 22.389, *p*-value = 0.007 ตามลำดับ) สอดคล้องกับการวิเคราะห์จีโนไทป์โดย dominant/recessive model ก็พบว่าพหุสัณฐานของยีน *CYP3A5**1/*1 + *CYP3A5**1/*3 และ *SLC22A1* 480C>G (homozygous GG) มีความสัมพันธ์

อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบ (adjusted HR = 2.678, 95%CI = 1.157-6.200, p -value = 0.021 และ adjusted HR = 6.731, 95%CI = 1.845-24.554, p -value = 0.004 ตามลำดับ) ซึ่งผลการวิเคราะห์ระยะปลอดเหตุการณ์หรือการรอดชีพนี้สอดคล้องกับผลการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรมโดยการวิเคราะห์ความถดถอยพหุโลจิสติกส์ (multiple logistic regression) จึงเป็นการสนับสนุนผลการศึกษาที่บ่งชี้ว่า *CYP3A5*1* และจีโนไทป์ชนิด GG ของยีน *SLC22A1* สัมพันธ์กับการไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบ

สรุปผลการวิจัย

การศึกษานี้เป็นการศึกษาแรกในประเทศไทยที่ทำการศึกษาถึงอิทธิพลของปัจจัยทางพันธุกรรม ได้แก่ พหุสัณฐานของยีนที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงยาอิมาตินิบ และยีนที่เกี่ยวข้องกับการนำยาเข้าและนำยาออกนอกเซลล์ในผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมัยอีลอยด์ชาวไทย เบื้องต้นทำให้ทราบถึงความสัมพันธ์ระหว่างการไม่ตอบสนองต่อยาอิมาตินิบกับยีน *CYP3A5*3* และ *SLC22A1* 480C>G ซึ่งข้อมูลดังกล่าวนี้จะนำไปสู่การศึกษายืนยัน เช่น การศึกษาแบบไปข้างหน้า (prospective) เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานประกอบในการพิจารณาเลือกใช้ TKI ที่เหมาะสมในผู้ป่วยแต่ละราย และเพื่อให้ผู้ป่วยมีการตอบสนองที่ดียิ่งขึ้น ตลอดจนนำไปเป็นข้อมูลประกอบการพิจารณาการหยุดการใช้ยาได้ (treatment free-remission) ได้ในอนาคต

ข้อจำกัดของการศึกษาและข้อเสนอแนะ

เนื่องจากการศึกษานี้เป็นการศึกษาวิจัยทางคลินิกซึ่งมีการเก็บข้อมูลทางคลินิกจากโรงพยาบาลแบบย้อนหลัง (retrospective) และผู้ป่วยอาสาสมัครส่วนใหญ่เป็นผู้ป่วยที่ได้รับการส่งต่อมาจากโรงพยาบาลปฐมภูมิ และทุติยภูมิตามสิทธิการรักษาของผู้ป่วยแต่ละราย ดังนั้นข้อมูลทางคลินิกบางข้อมูลอาจไม่สมบูรณ์ และไม่สามารถนำมาวิเคราะห์ได้ การทำการศึกษาแบบไปข้างหน้า (prospective) โดยทำการติดตามผู้ป่วยอาสาสมัครรายใหม่ จะทำให้เก็บข้อมูลได้ครบถ้วนสมบูรณ์มากกว่า เช่น ระดับยาอิมาตินิบในกระแสเลือดของผู้ป่วยภายหลังได้รับยา เป็นต้น

จากการทบทวนวรรณกรรมเกี่ยวกับวิธีการเปลี่ยนแปลงยาและคุณสมบัติการเป็นสับสเตรตของยาอิมาตินิบ พบว่ายังมียีนที่น่าสนใจอีกหลายยีนที่คาดว่าจะมีผลต่อการตอบสนองต่อการรักษา CML อีกทั้งการเกิดพหุสัณฐานในยีนหนึ่งๆ อาจเกิดได้มากกว่าหนึ่งตำแหน่ง การศึกษาพหุยีน เช่น การวิเคราะห์แฮปโลไทป์ (Haplotype analysis) จึงเป็นการศึกษาเพิ่มเติมที่น่าสนใจ

นอกจากนี้การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรมและไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรมกับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอิมาตินิบในผู้ป่วย CML นั้นยังมีข้อถกเถียงและแตกต่างกันในหลายการศึกษา ดังนั้นเพื่อการยืนยันความสัมพันธ์ดังกล่าว จึงควรจะมีการศึกษาต่อไปในกลุ่มประชากรที่มีขนาดใหญ่และความหลากหลายมากขึ้น โดยอาจทำการศึกษาในหลากหลายสถาบัน



รายการอ้างอิง

1. แสงสุรีย์ จุฑา. Chronic Myeloid Leukemia. ใน: วิชัย ประยูรวัฒน์, ปัญญา เสกสรรค์, บรรณาธิการ. เวชปฏิบัติทางโลหิตวิทยา. 1 ed. นำอักษรการพิมพ์, กรุงเทพฯ: สมาคมโลหิตวิทยาแห่งประเทศไทย; 2552.
2. Chereda B, Melo JV. Natural course and biology of CML. *Ann Hematol.* 2015;94(Suppl 2):S107-S21.
3. Warren E, Ward S, Gordois A, Scuffham P. Cost-Utility Analysis of Imatinib Plesylate for the Treatment of Chronic Plyelogenous Leukemia in the Chronic Phase *CLINICAL THERAPEUTICS.* 2004;26(11):1924-33.
4. Jootar S, Ungkanont A, Chuncharunee S, Atichartakarn V. Multivariate Analysis of Prognostic Factors in Philadelphia Chromosome Positive Chronic Myeloid Leukemia: An Update of the First Series in Thailand. *Asian Pacific Journal of Allergy and Immunology.* 1996;14:25-30.
5. Kim DW, Banavali SD, Bunworasate U, Goh Y-T, Ganly P, Huang H, et al. Chronic myeloid leukemia in the Asia-Pacific region: Current practice, challenges and opportunities in the targeted therapy era. *Leukemia Research.* 2010;34:1459-71.
6. Quintás-Cardama A, Cortes JE. Chronic Myeloid Leukemia: Diagnosis and Treatment. *Mayo Clinic Proceedings.* 2006;81(7):973-88.
7. Mendizabal AM, Garcia-Gonzalez P, Levine PH. Regional variations in age at diagnosis and overall survival among patients with chronic myeloid leukemia from low and middle income countries. *Cancer Epidemiology.* 2013;37:247-54.
8. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer Statistics, 2015. *CA CANCER J CLIN.* 2015;65:5-29.

9. อุดมศักดิ์ บุญวรเศรษฐ์. Chronic Myeloid Leukemia. ใน: นภชาญ เอื้อประเสริฐ, อุดมศักดิ์ บุญวรเศรษฐ์, บรรณาธิการ. Essential Hematology for general practitioners. 1. โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ: สาขาโลหิตวิทยา ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย; 2552. p. 301-9.
10. Buchdunger E, Zimmermann J, Mett H, Meyer T, Muller M, Druker BJ, et al. Inhibition of the Abi Protein-Tyrosine Kinase in Vitro and in Vivo by a 2-Phenylaminopyrimidine Derivative. *CANCER RESEARCH*. 1996;56:100-4.
11. Savage DG, Antman KH. Imatinib Mesilate - A new oral targeted therapy. *N Engl J Med*. 2002;346(9):683-93.
12. Sruamsiri R, Ross-Degnan D, Lu CY, Chaiyakunapruk N, Wagner AK. Policies and Programs to Facilitate Access to Targeted Cancer Therapies in Thailand. *PLoS ONE*. 2015;10(3):e0119945.
13. Bixby D, Talpaz M. Mechanisms of resistance to tyrosine kinase inhibitors in chronic myeloid leukemia and recent therapeutic strategies to overcome resistance. *Hematology*. 2009;1:461-76.
14. Hochhaus A, Muller M, Radich J, Branford S, Kantarjian H, Hanfstein B, et al. Dasatinib-associated major molecular responses in patients with chronic myeloid leukemia in chronic phase following imatinib failure: response dynamics and predictive value. *Leukemia*. 2009;23:1628-33.
15. Marin D, Milojkovic D, Olavarria E, Khorashad JS, Lavallade Hd, Reid AG, et al. European LeukemiaNet criteria for failure or suboptimal response reliably identify patients with CML in early chronic phase treated with imatinib whose eventual outcome is poor. *Blood*. 2008;112(12):4437-44.
16. Hustert E, Haberl M, Burk O, Wolbold R, He Y-Q, Klein K, et al. The genetic determinants of the CYP3A5 polymorphism. *Pharmacogenetics*. 2001;11(9):773-9.

17. Lee S-J, Goldstein JA. Functionally defective or altered CYP3A4 and CYP3A5 single nucleotide polymorphisms and their detection with genotyping tests. *Pharmacogenomics*. 2005;6(4):357–71.
18. Pakakasama S, Mukda E, Sasanakul W, Kadegasem P, Udomsubpayakul U, Thithapandha A, et al. Polymorphisms of Drug-Metabolizing Enzymes and Risk of Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. *American Journal of Hematology*. 2005;79:202–5.
19. Lamba J, Hebert JM, Schuetz EG, Klein TE, Altman RB. PharmGKB summary: very important pharmacogene information for CYP3A5. *Pharmacogenet Genomics*. 2012;22(7):555–8.
20. Vannaprasaht S, Reungjui S, Supanya D, Sirivongs D, Pongskul C, Avihingsanon Y, et al. Personalized Tacrolimus Doses Determined by CYP3A5 Genotype for Induction and Maintenance Phases of Kidney Transplantation. *Clinical Therapeutics*. 2013;35(11):1762-9.
21. Morais SMFd, Wilkinson GA, Blaosdell J, Meyer UA, Nakamura K, Goldstein JA. Identification of a New Genetic Defect Responsible for the Polymorphism of (S)-Mephenytoin Metabolism in Japanese. *MOLECULAR PHARMACOLOGY*. 1994;46:594-8.
22. Yamada S, Onda M, Kato S, Matsuda N, Matsuhisa T, Yamada N, et al. Genetic differences in CYP2C19 single nucleotide polymorphisms among four Asian populations. *J Gastroenterol* 2001;36:669–72.
23. Tassaneeyakul W, Mahatthanathanatrakul W, Niwatananun K, Na-Bangchang K, Tawalee A, Krikreangsak N, et al. CYP2C19 Genetic Polymorphism in Thai, Burmese and Karen Populations. *Drug Metab Pharmacokinet* 2006;21(4):286-90.

24. Scott SA, Sangkuhl K, Shuldiner AR, Hulot J-S, Thorn CF, Altman RB, et al. PharmGKB summary: very important pharmacogene information for cytochrome P450, family 2, subfamily C, polypeptide 19. *Pharmacogenet Genomics*. 2012;22(2):159–65.
25. Mahon Fo-X, Belloc F, Lagarde Vr, Chollet C, Moreau-Gaudry Fo, Reiffers J, et al. *MDR1* gene overexpression confers resistance to imatinib mesylate in leukemia cell line models. *BLOOD*. 2003;101(6):2368-763.
26. Thomas J, Wang L, Clark RE, Pirmohamed M. Active transport of imatinib into and out of cells: implications for drug resistance. *Blood*. 2004;104(12):3739-45.
27. Eadie L, Hughes T, White D. Interaction of the Efflux Transporters ABCB1 and ABCG2 With Imatinib, Nilotinib, and Dasatinib. *Clinical pharmacology & Therapeutics*. 2014;95(3):294-306
28. Kim DH, Sriharsha L, Xu W, Kamel-Reid S, Liu X, Siminovitch K, et al. Clinical Relevance of a Pharmacogenetic Approach Using Multiple Candidate Genes to Predict Response and Resistance to Imatinib Therapy in Chronic Myeloid Leukemia. *Clin Cancer Res*. 2009;15(14):4750-8.
29. Paolo AD, Polillo M, Capecchi M, Cervetti G, Baratè C, Guerrini SAF, et al. The c.480C>G polymorphism of hOCT1 influences imatinib clearance in patients affected by chronic myeloid leukemia. *The Pharmacogenomics Journal* 2014;14:328-35.
30. Dulucq S, Bouchet S, Turcq B, Lippert E, Etienne G, Reiffers J, et al. Multidrug resistance gene (MDR1) polymorphisms are associated with major molecular responses to standard-dose imatinib in chronic myeloid leukemia. *Blood*. 2008;112(5):2024-7.

31. Deenik W, Holt Bvd, Janssen JJWM, Chu IT, Valk PJM, Ossenkoppele GJ, et al. Polymorphisms in the multidrug resistance gene MDR1 (ABCB1) predict for molecular resistance in patients with newly diagnosed chronic myeloid leukemia receiving high-dose imatinib. *Blood*. 2010;116:6144-55.
32. Ni L-N, Li J-Y, Miao K-R, Qiao C, Zhang S-J, Qiu H-R, et al. Multidrug resistance gene (MDR1) polymorphisms correlate with imatinib response in chronic myeloid leukemia. *Med Oncol* 2011;28:265-9.
33. Au A, Baba AA, Goh AS, Fadilah SAW, Teh A, Rosline H, et al. Association of genotypes and haplotypes of multi-drug transporter genes ABCB1 and ABCG2 with clinical response to imatinib mesylate in chronic myeloid leukemia patients. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 2014;68:343-9.
34. Zheng Q, Wu H, Yu Q, Kim D, Lipton J, Angelini S, et al. ABCB1 polymorphisms predict imatinib response in chronic myeloid leukemia patients: a systematic review and meta-analysis. *The Pharmacogenomics Journal* 2014;15(2):1-8.
35. Zu B, Li Y, Wang X, He D, Huang Z, Feng W. MDR1 gene polymorphisms and imatinib response in chronic myeloid leukemia: a meta-analysis. *Pharmacogenomics* 2014;15(5):667-77.
36. Mangoni AA, Jackson SHD. Age-related changes in pharmacokinetics and pharmacodynamics: basic principles and practical applications. *British Journal of Clinical Pharmacology*. 2004;57(1):6-14.
37. Berger U, Maywald O, Pfirrmann M, Lahaye T, Hochhaus A, Reiter A, et al. Gender aspects in chronic myeloid leukemia: long-term results from randomized studies. *Leukemia* 2005;19:984-9.
38. Branford S, Yeung DT, Ross DM, Prime JA, Field CR, Altamura HK, et al. Early molecular response and female sex strongly predict stable undetectable BCR-ABL1, the criteria for imatinib discontinuation in patients with CML. *Blood*. 2013;121(19):3818-24.

39. Lin H-X, Sjaarda J, Dyck J, Stringer R, Hillis C, Harvey M, et al. Gender and BCR-ABL transcript type are correlated with molecular response to imatinib treatment in patients with chronic myeloid leukemia. *European Journal of Haematology*. 2015;1-7.
40. Wiggins CL, Harlan LC, Nelson HE, Stevens JL, Willman CL, Libby EN, et al. Age Disparity in the Dissemination of Imatinib for Treating Chronic Myeloid Leukemia. *The American Journal of Medicine*. 2010;123(8):764.e1-.e9.
41. Peng B, Lloyd P, Schran H. Clinical Pharmacokinetics of Imatinib. *Clin Pharmacokinet* 2005; 44(9):879-94.
42. Court Brown WM, Richard Doll. Mortality from cancer and other causes after radiotherapy for ankylosing spondylitis. *Br Med J*. 1965;2:1327-9.
43. Lange RD, Moloney WC, Yamawaki T. Leukemia in Atomic Bomb Survivors. *Blood*. 1954;9:574-85.
44. Heyssel R, Brill AB, Woodbury LA, Nishimura ET, Ghose T, Hoshino T, et al. Leukemia in Hiroshima Atomic Bomb Survivors. *Blood*. 1960;15.
45. สาคกร พรประเสริฐ. มะเร็งเม็ดเลือดขาว. 7 ed. ดารารวบรวมการพิมพ์, เชียงใหม่: แชนงวิชาจุลทรรศน์ศาสตร์คลินิก ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่; 2556.
46. Baccarani M, Deininger MW, Rosti G, Hochhaus A, Soverini S, Apperley JF, et al. European LeukemiaNet recommendations for the management of chronic myeloid leukemia: 2013. *Blood*. 2013;122(6):872-84.
47. Baccarani M, Cortes J, Pane F, Niederwieser D, Saglio G, Apperley J, et al. Chronic Myeloid Leukemia: An Update of Concepts and Management Recommendations of European LeukemiaNet. *JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY*. 2009;27(35):6041-51.

48. ชมรมโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรังแบบมีลึลลอยด์แห่งประเทศไทย. แนวทางการรักษาผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาวเรื้อรังชนิดมีลึลลอยด์(Chronic Myeloid Leukemia)สำหรับประเทศไทย. การรักษามะเร็งเม็ดเลือดขาวเรื้อรังชนิดมีลึลลอยด์. ประเทศไทย2554.
49. คณะกรรมการพัฒนาระบบยาแห่งชาติ. บัญชียาสำหรับโรงพยาบาลและสถานบริการสาธารณสุข(บัญชียาหลักแห่งชาติแผนปัจจุบัน). In: กลุ่มนโยบายแห่งชาติด้านยา สำนักยา, editor. ประเทศไทย2558.
50. Kalmanti L, Saussele S, Lauseker M, Müller M, Dietz C, Heinrich L, et al. Safety and efficacy of imatinib in CML over a period of 10 years: data from the randomized CML-study IV. *Leukemia*. 2015;29:1123 - 32.
51. Bhamidipati PK, Kantarjian H, Cortes J, Cornelison AM, Jabbour E. Management of imatinib-resistant patients with chronic myeloid leukemia. *Ther Adv Hematol*. 2013;4(2):103-17.
52. Picard S, Titier K, Etienne G, Teilhet E, Ducint D, Bernard M-A, et al. Trough imatinib plasma levels are associated with both cytogenetic and molecular responses to standard-dose imatinib in chronic myeloid leukemia. *Blood*. 2007;109(8):3496-9.
53. Takahashi N, Miura M, Scott SA, Kagaya H, Kameoka Y, Tagawa H, et al. Influence of CYP3A5 and drug transporter polymorphisms on imatinib trough concentration and clinical response among patients with chronic phase chronic myeloid leukemia. *Journal of Human Genetics*. 2010;55:731-7.
54. Takahashi N, Wakita H, Miura M, Scott S, Nishii K, Masuko M, et al. Correlation Between Imatinib Pharmacokinetics and Clinical Response in Japanese Patients With Chronic-Phase Chronic Myeloid Leukemia. *Clinical pharmacology & Therapeutics*. 2010;88(6):809-13.
55. Cortes J, Egorin M, Guilhot F, Molimard M, Mahon F-X. Pharmacokinetic/pharmacodynamic correlation and blood-level testing in imatinib therapy for chronic myeloid leukemia. *Leukemia*. 2009;23:1537-44.

56. O'Brien S, Meinhardt P, Bond E, Beck J, Peng B, Dutreix C, et al. Effects of imatinib mesylate (STI571, Glivec) on the pharmacokinetics of simvastatin, a cytochrome P450 3A4 substrate, in patients with chronic myeloid leukaemia. *British Journal of Cancer*. 2003;89:1855-9.
57. Zhou Q, Yu X, Shu C, Cai Y, Gong W, Wang X, et al. Analysis of CYP3A4 genetic polymorphisms in Han Chinese. *Journal of Human Genetics*. 2011;56:415-22.
58. Sim SC. CYP3A5 allele nomenclature 2013 [2015, December 30]. Available from: <http://www.cypalleles.ki.se/cyp3a5.htm>.
59. Kuehl P, Zhang J, Lin Y, Lamba J, Assem M, Schuetz J, et al. Sequence diversity in CYP3A promoters and characterization of the genetic basis of polymorphic CYP3A5 expression *Nature genetics* 2001;27:383-91.
60. Balram C, Zhou Q, Cheung YB, Lee EJD. *CYP3A5*3* and **6* single nucleotide polymorphisms in three distinct Asian populations. *Eur J Clin Pharmacol* 2003;59:123-6.
61. Seong SJ, Lim M, Sohn SK, Moon JH, Oh S-J, Kim BS, et al. Influence of enzyme and transporter polymorphisms on trough imatinib concentration and clinical response in chronic myeloid leukemia patients. *Annals of Oncology*. 2013;24:756-60.
62. Żochowska D, Wyzgał J, Paćzek L. Impact of CYP3A4*1B and CYP3A5*3 polymorphisms on the pharmacokinetics of cyclosporine and sirolimus in renal transplant recipients. *Ann Transplant* 2012;17(93):36-44.
63. Schaik RHNv, Heiden IPvd, Anker JNvd, Lindemans J. CYP3A5 variant allele frequencies in Dutch Caucasians. *Clin Chem*. 2002;48:1668-71.
64. Semiz S, Đujić T, Ostanek B, Prnjavorac B, Bego T, Malenica M, et al. Analysis of CYP3A4*1B and CYP3A5*3 polymorphisms in population of Bosnia and Herzegovina. *Med Glas Ljek Komore Zenico-doboj Kantona*. 2011;8(1):84-9.

65. Suarez-Kurtz G, Vargens DD, Santoro AB, Hutz MH, Moraes MEd, Pena SDJ, et al. Global Pharmacogenomics: Distribution of CYP3A5 Polymorphisms and Phenotypes in the Brazilian Population. PLoS ONE. 2014;9(1):e83472.
66. Wang B-S, Liu Z, Xu W-X, Sun S-L. CYP3A5*3 polymorphism and cancer risk: a meta-analysis and meta-regression. Tumor Biol. 2013;34:2387-66.
67. Ingelman-Sundberg M, Daly A, Nelbert D, Sim SC. CYP2C19 allele nomenclature 2013 [cited 2016 January 04].
68. Yamakawa Y, Hamada A, Nakashima R, Yuki M, Hirayama C, Kawaguchi T, et al. Association of Genetic Polymorphisms in the Influx Transporter SLCO1B3 and the Efflux Transporter ABCB1 With Imatinib Pharmacokinetics in Patients With Chronic Myeloid Leukemia. Ther Drug Monit. 2011;33(2):244-50.
69. Aynacioglu AS, Sachse C, Bozkurt A, Kortunay S, Nacak M, Thomas Schröder, et al. Low frequency of defective alleles of cytochrome P450 enzymes 2C19 and 2D6 in the Turkish population. CLINICAL PHARMACOLOGY & THERAPEUTICS. 1999;66(2):185-92.
70. Gardner ER, Burger H, Schaik RHv, Oosterom ATv, Bruijn EAd, Guetens G, et al. Association of enzyme and transporter genotypes with the pharmacokinetics of imatinib. CLINICAL PHARMACOLOGY & THERAPEUTICS. 2006;80(2):192-201.
71. Tamminga WJ, Wemer J, Oosterhuis B, Zeeuw RAd, Leji LFMHd, Jonkman JHG. The prevalence of CYP2D6 and CYP2C19 genotypes in a population of healthy Dutch Volunteers. Eur J Clin Pharmacol. 2001;57:717-22.
72. Zand N, Tajik N, Moghaddam AS, Milanian I. Genetic polymorphisms of cytochrome p450 enzymes 2C9 and 2C19 in a healthy Iranian population. Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology 2007;34:102-5.

73. Arvanitidis K, Ragia G, Iordanidou M, Kyriaki S, Xanthi A, Tavridou A, et al. Genetic polymorphisms of drug-metabolizing enzymes CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19 and CYP3A5 in the Greek population. *Fundamental & Clinical Pharmacology* 2007;21:419–26.
74. Verhaagh S, Schweifer N, Barlow DP, Zwar R. Cloning of the Mouse and Human Solute Carrier 22a3 (*Slc22a3/SLC22A3*) Identifies a Conserved Cluster of Three Organic Cation Transporters on Mouse Chromosome 17 and Human 6q26–q27. *Genomics*. 1999;55:209-18.
75. Hilgendorf C, Ahlin G, Seithel A, Artursson P, Ungell A-L, Karlsson J. Expression of Thirty-six Drug Transporter Genes in Human Intestine, Liver, Kidney, and Organotypic Cell Lines. *Drug Metabolism and Disposition*. 2007;35(8):1333–40.
76. Koepsell H, Lips K, Volk C. Polyspecific Organic Cation Transporters: Structure, Function, Physiological Roles, and Biopharmaceutical Implications. *Pharmaceutical Research*. 2007;24(7):1227-51.
77. White DL, Saunders VA, Dang P, Engler J, Venables A, Zrim S, et al. Most CML patients who have a suboptimal response to imatinib have low OCT-1 activity: higher doses of imatinib may overcome the negative impact of low OCT-1 activity. *Blood*. 2007;110(12):4064-72.
78. Lima LTd, Vivona D, Bueno CT, Hirata RDC, Hirata MH, Luchessi AD, et al. Reduced ABCG2 and increased SLC22A1 mRNA expression are associated with imatinib response in chronic myeloid leukemia. *Med Oncol*. 2014;31(3):851.
79. Zhong J-S, Meng F-Y, Xu D, Zhou H-S, Dai M. Correlation between Imatinib Trough Concentration and Efficacy in Chinese Chronic Myelocytic Leukemia Patients. *Acta Haematol*. 2012;127:221-7.
80. White D, Saunders V, Dang P, Engler J, Hughes T. OCT-1 activity measurement provides a superior imatinib response predictor than screening for single-nucleotide polymorphisms of OCT-1. *Leukemia*. 2010;24:1962–5.

81. White DL, Dang P, Engler J, Frede A, Zrim S, Osborn M, et al. Functional Activity of the OCT-1 Protein Is Predictive of Long-Term Outcome in Patients With Chronic-Phase Chronic Myeloid Leukemia Treated With Imatinib. *J Clin Oncol* 2010;28(16):2761-7.
82. White DL, Radich J, Soverini S, Saunders VA, Frede AK, Dang P, et al. Chronic phase chronic myeloid leukemia patients with low OCT-1 activity randomized to high-dose imatinib achieve better responses and have lower failure rates than those randomized to standard-dose imatinib. *haematologica*. 2012;97(6):907-14.
83. National Center for Biotechnology Information USNLoM. SLC22A1 [2015, December 30]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/?term=SLC22A1>.
84. Singh O, Chan JY, Lin K, Heng CCT, Chowbay B. *SLC22A1-ABCB1* Haplotype Profiles Predict Imatinib Pharmacokinetics in Asian Patients with Chronic Myeloid Leukemia. *PLoS ONE*. 2012;7(12):e51771.
85. Giannoudis A, Wang L, Jorgensen AL, Xinarianos G, Davies A, Pushpakom S, et al. The hOCT1 SNPs M420del and M408V alter imatinib uptake and M420del modifies clinical outcome in imatinib-treated chronic myeloid leukemia. *Blood*. 2013;121(4):628-37.
86. Ohishi Y, Nakamuta M, Ishikawa N, Saitoh O, Nakamura H, Aiba Y, et al. Genetic polymorphisms of OCT-1 confer susceptibility to severe progression of primary biliary cirrhosis in Japanese patients. *J Gastroenterol* 2014;49:332–42.
87. Vine J, Cohen SB, Ruchlemer R, Goldschmidt N, Levin M, Libster D, et al. Polymorphisms in the human organic cation transporter and the multidrug resistance gene: correlation with imatinib levels and clinical course in patients with chronic myeloid leukemia. *Leukemia & Lymphoma*. 2014;55(11):2525–31.

88. Koren-Michowitz M, Buzaglo Z, Ribakovskiy E, Schwarz M, Pessach I, Shimoni A, et al. OCT1 genetic variants are associated with long term outcomes in imatinib treated chronic myeloid leukemia patients. *European Journal of Haematology* 2014;92:283–8.
89. Angelini S, Soverini S, Ravegnini G, Barnett M, Turrini E, Thornquist M, et al. Association between imatinib transporters and metabolizing enzymes genotype and response in newly diagnosed chronic myeloid leukemia patients receiving imatinib therapy. *haematologica*. 2013;98(2):193-200.
90. Ambudkar SV, Dey S, Hrycyna CA, Ramachandra M, Pastan I, Gottesman MM. BIOCHEMICAL, CELLULAR, AND PHARMACOLOGICAL ASPECTS OF THE MULTIDRUG TRANSPORTER. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1999;39:361-98.
91. FoJo AT, Ueda K, Slamon DJ, Poplack DG, Gottesman MM, Pastan I. Expression of a multidrug-resistance gene in human tumors and tissues. *Proc Nati Acad Sci USA*. 1987;84:265-9.
92. Thiebaut F, Tsuruo T, Hamada H, Gottesman MM, Pastan I, Willingham MC. Cellular localization of the multidrug-resistance gene product P-glycoprotein in normal human tissues. *Proc Nati Acad Sci USA*. 1987;84:7735-8.
93. Svirnovski AI, Shman TV, Serhiyenko TF, Savitski VP, Smolnikova VV, Fedasenko UU. ABCB1 and ABCG2 proteins, their functional activity and gene expression in concert with drug sensitivity of leukemia cells. *Hematology*. 2009;14(4):204-12.
94. Leschziner G, Andrew T, Pirmohamed M, Johnson M. *ABCB1* genotype and PGP expression, function and therapeutic drug response: a critical review and recommendations for future research. *The Pharmacogenomics Journal* 2007;7 154–79.
95. Fung KL, Gottesman MM. A synonymous polymorphism in a common MDR1 (*ABCB1*) haplotype shapes protein function. *Biochim Biophys Acta*. 2009;1794(5):860–71.

96. Wolking S, Schaeffeler E, Lerche H, Schwab M, Nies AT. Impact of Genetic Polymorphisms of ABCB1 (MDR1, P-Glycoprotein) on Drug Disposition and Potential Clinical Implications: Update of the Literature. *Clin Pharmacokinet* 2015;54:709–35.
97. Tang K, Ngoi S-M, Gwee P-C, Chua JMZ, Lee EJD, Chong SS, et al. Distinct haplotype profiles and strong linkage disequilibrium at the MDR1 multidrug transporter gene locus in three ethnic Asian populations. *Pharmacogenetics*. 2002;12:437–50.
98. Hoffmeyer S, Burk O, Richter Ov, Arnold HP, Brockmoller J, John A, et al. Functional polymorphisms of the human multidrugresistance gene: Multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo. *PNAS*. 2000;97(7):3473–8.
99. Galimbertia S, Cervettia G, Guerrinia F, Testia R, Pacinia S, Fazzia R, et al. Quantitative molecular monitoring of BCR-ABL and MDR1 transcripts in patients with chronic myeloid leukemia during Imatinib treatment. *Cancer Genetics and Cytogenetics* 2005;162:57–62.
100. Gurney H, Wong M, Balleine R, Rivory L, McLachlan A, Hoskins J, et al. Imatinib Disposition and ABCB1 (MDR1, P-Glycoprotein) Genotype. *CLINICAL PHARMACOLOGY & THERAPEUTICS* 2007;82(1):33-40
101. Illmer T, Schaich M, Platzbecker U, Freiberg-Richter J, Oelschlagel U, Bonin Mv, et al. P-glycoprotein-mediated drug efflux is a resistance mechanism of chronic myelogenous leukemia cells to treatment with imatinib mesylate. *Leukemia*. 2004;18:401-8.
102. Petain A, Kattygnarath D, Azard J, Chatelut E, Delbaldo C, Geoerger B, et al. Population Pharmacokinetics and Pharmacogenetics of Imatinib in Children and Adults. *Clin Cancer Res* 2008;14(21):7102-9.

103. Bouchet S, Titiere K, Moore N, Lassalle R, Ambrosino B, Poulette S, et al. Therapeutic drug monitoring of imatinib in chronic myeloid leukemia: experience from 1216 patients at a centralized laboratory. *Fundamental & Clinical Pharmacology*. 2013;27:690-7.
104. Koo DH, Ryu MH, Ryoo BY, Beck MY, Na YS, Shin JG, et al. Association of ABCG2 polymorphism with clinical efficacy of imatinib in patients with gastrointestinal stromal tumor. *Cancer Chemother Pharmacol* 2015;75:173–82.
105. Dulucq S, Preudhomme C, Guilhot F, Mahon F-X. Is there really a relationship between Multidrug Resistance Gene (MDR1) polymorphisms and major molecular response to imatinib in chronic myeloid leukemia? *Blood*. 2010;116(26):6145-6.
106. Maffioli M, Camós M, Gaya A, Hernández-Boluda J-C, Álvarez-Larrán A, Domingo A, et al. Correlation between genetic polymorphisms of the hOCT1 and MDR1 genes and the response to imatinib in patients newly diagnosed with chronic-phase chronic myeloid leukemia. *Leukemia Research* 2011;35:1014– 9.
107. Vivona D, Bueno CT, Lima LT, Hirata RDC, Hirata MH, Luchessi AD, et al. ABCB1 haplotype is associated with major molecular response in chronic myeloid leukemia patients treated with standard-dose of imatinib. *Blood Cells, Molecules, and Diseases* 2012;48:132–6
108. Gandhi M, Aweeka F, Greenblatt RM, Blaschke TF. Sex differences in pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2004;44:499-523.
109. Dagher R, Cohen M, Williams G, Rothmann M, Gobburu J, Robbie G, et al. Approval Summary: Imatinib Mesylate in the Treatment of Metastatic and/or Unresectable Malignant Gastrointestinal Stromal Tumors. *Clinical Cancer Research*. 2002;8:3034–8.

110. Peduzzi P, Concato J, Kemper E, Holford TR, Feinstein AR. A Simulation Study of the Number of Events per Variable in Logistic Regression Analysis. *J Clin Epidemiol.* 1996;49(12):1373-9.
111. Hosmer DW, Lemeshow S, Sturdivant RX. Model-Building Strategies and Methods for Logistic Regression. ใน: Balding DJ, Cressie NAC, Fitzmaurice GM, Goldstein H, Johnstone IM, Molenberghs G, et al., บรรณาธิการ. *Applied Logistic regression.* 3 ed. United States of America: John Wiley & Sons, Inc.; 2013. p. 91.
112. C.Crossman L, Druker BJ, Deininger MWN. hOCT 1 and resistance to imatinib. *BLOOD.* 2005;106(3):1133-4.
113. Gromicho M, Magalhaes M, Torres F, Dinis J, Fernandes AR, Rendeiro P, et al. Instability of mRNA expression signatures of drug transporters in chronic myeloid leukemia patients resistant to imatinib. *ONCOLOGY REPORTS* 2013;29:741-50.







คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล
 ๒๗๐ ถนนพระราม ๖ แขวงทุ่งพญาไท เขตราชเทวี กทม. ๑๐๔๐๐
 โทร. (๐๒) ๒๐๑-๑๐๐๐

Faculty of Medicine Ramathibodi Hospital, Mahidol University.
 270 Rama VI Road, Ratchathewi, Bangkok 10400, Thailand
 Tel. (662) 201-1000


Documentary Proof of Ethical Clearance
Committee on Human Rights Related to Research Involving Human Subjects
Faculty of Medicine Ramathibodi Hospital, Mahidol University

No MURA2016/264

Title of Project EC_590427	Association of Polymorphisms in <i>CYP3A5</i> , <i>CYP2C19</i> , <i>SLC22A1</i> , <i>ABCB1</i> Genes and Non-Genetic Factors with Imatinib Response in Thai Patients with Chronic Myeloid Leukemia
Protocol Number	ID 04 – 59 – 27
Principal Investigator	Mr. Att Khampho
Educational Institution	Faculty of Pharmaceutical Sciences Chulalongkorn University

The aforementioned project has been reviewed and approved by the Committee on Human Rights Related to Research Involving Human Subjects, based on the Declaration of Helsinki.

Signature of Chairman
Committee on Human Rights Related to
Research Involving Human Subjects



 Prof. Pat Mahachoklertwattana, M.D.

Date of Approval
Duration of Study

April 20, 2016
 1 Year



1. สารเคมี

QIAamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen, German)

Taqman SNP Genotyping Assays Kit (QIAGEN, U.S.A)

Universal PCR Master Mix (QIAGEN, U.S.A)

DNase free water (AppleChem, Germany)

RBC lysis buffer (QIAGEN, U.S.A.)

Phosphate Buffer Saline (PBS) (Life Technologies, U.S.A.)

Neutralizer buffer

Hybridization buffer

Ethanol

2. เครื่องมือและอุปกรณ์

เครื่องวัดปริมาณสารพันธุกรรม Nanodrop TM 1000 Spectrophotometer (Thermo Scientific, USA)

Refrigerated Centrifuge (Hermle Labortechnik, Germany)

Centrifuge (Hwrrich, Germany)

Vortex mixer (Labnet International Inc., USA)

เครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม 9700 Thermal Cycler (Applied Biosystems, USA)

StepOnePlus™ Real-time PCR Systems (Applied Biosystems, USA)

Micropipette (Gilson, USA)

Pipette tips

MicroAmp Optical 96-well reaction plate (Applied Biosystems, USA)

MicroAmp Optical Adhesive Film Kit (Applied Biosystems, USA)

Centrifugation tube 15 ml (Cornig, Mexico)

Microcentrifuge tube 1.5 ml (Hycon, China)

EDTA tube (Greiner Bio-One, Thailand)

Disposable syringe

Needle No. 24



ตาราง 1 แสดงความถี่จีโนไทป์ (genotype frequencies) ของ SNPs ในยีน *CYP3A5*, *CYP2C19*, *ABCB1* และ *SLC22A1* ในผู้ป่วย 112 ราย และการทดสอบสมมูลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก ด้วยสถิติไคร์สแควร์ (Chi-square)

SNPs	Genotypes	Observed	%	Expected
<i>CYP3A5</i>*3 (<i>CYP3A5</i> 6986A>G)	<i>CYP3A5</i> *3/*3	52	46.42	48.23
	<i>CYP3A5</i> *1/*3	43	38.40	50.53
	<i>CYP3A5</i> *1/*1	17	15.18	13.23
	total	112		
$\chi^2 = 2.487895119$, p -value = 0.114750, d.f. = 1				
<i>CYP2C19</i>*2 (<i>CYP2C19</i> 681G>A)	<i>CYP2C19</i> *2/*2	59	52.68	62.25
	<i>CYP2C19</i> *1/*2	49	43.75	42.50
	<i>CYP2C19</i> *1/*1	4	3.57	7.25
	total	112		
$\chi^2 = 2.623943459$, p -value = 0.105263, d.f. = 1				
<i>SLC22A1</i> 480C>G	Homozygous CC	75	66.96	74.75
	Heterozygous CG	33	29.46	33.50
	Homozygous GG	4	3.58	3.75
	total	112		
$\chi^2 = 0.024512866$, p -value = 0.875587, d.f. = 1				
<i>ABCB1</i> 1236C>T	Homozygous CC	12	10.71	14.29
	Heterozygous CT	56	50.00	51.43
	Homozygous TT	44	39.29	46.29
	total	112		
$\chi^2 = 0.884938272$, p -value = 0.346853, d.f. = 1				

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นายอัคร์ คำโพธิ์ เกิดเมื่อวันที่ 30 สิงหาคม พ.ศ. 2530 ณ จังหวัดเชียงใหม่ ได้มาศึกษาเล่าเรียนในระดับประถมศึกษาและมัธยมศึกษา ณ จังหวัดลำปาง และสำเร็จการศึกษาในระดับปริญญาตรี เกษศาสตรบัณฑิต จากคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร วิทยาเขตพระราชวังสนามจันทร์ จังหวัดนครปฐม และเข้าศึกษาต่อระดับปริญญาโท ในหลักสูตรเกษตรศาสตรมหาบัณฑิต เกษษวิทยาและพืชวิทยา ภาควิชาเกษตรวิทยาและสัตววิทยา คณะเกษตรศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในระหว่างการศึกษาระดับปริญญาโทมีผลงานการนำเสนอในหัวข้อ "The Association of ABCB1 1236C>T with Molecular Response to Imatinib in Thai Patients with Chronic Myeloid Leukemia" ซึ่งได้นำเสนอในรูปแบบโปสเตอร์ในงานประชุม The 40th Thai Pharmacological and Therapeutic Society of Thailand Meeting ณ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ระหว่างวันที่ 26-27 เมษายน พ.ศ. 2561



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY