

สหสัมพันธ์ของลักษณะสภาวะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็งในผู้ป่วยโรคมะเร็งปอดชนิดไม่ใช่เซลล์เล็ก
ระยะลุกลามที่มียื่นกลายเป็นอู่เชื้อเอชไอวีและได้รับยามุ่งเป้าเอชไอวีเอชไอวี



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาอายุรศาสตร์ ภาควิชาอายุรศาสตร์
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2565
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Correlation of tumor microenvironment signature in advanced stage non-small cell
lung cancer with *EGFR* mutation who received EGFR-TKIs



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

Department of Medicine

FACULTY OF MEDICINE

Chulalongkorn University

Academic Year 2022

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	สหสัมพันธ์ของลักษณะสภาวะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็งในผู้ป่วยโรคมะเร็งปอดชนิดไม่ใช้เซลล์เดี่ยวระยะลุกลามที่มียื่นกลายพันธุ์อีจีเอฟอาร์และได้รับยามุ่งเป้าอีจีเอฟอาร์
โดย	นายชัยพงศ์ งามโชควัฒนา
สาขาวิชา	อายุรศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	รองศาสตราจารย์ แพทย์หญิงชนิดา วินะยานุวัตติคุณ
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ปัญชวิษฐ์ จันทรานูวัฒน์

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะแพทยศาสตร์
(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ฉันทชาย สิทธิพันธุ์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ แพทย์หญิงอรอุมา ชูติเนตร)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(รองศาสตราจารย์ แพทย์หญิงชนิดา วินะยานุวัตติคุณ)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ปัญชวิษฐ์ จันทรานูวัฒน์)

..... กรรมการ
(นายแพทย์ประสิทธิ์ เผ่าทองคำ)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(แพทย์หญิงกุลธิดา มณีนิล)

ชัชพงศ์ งามโชควัฒนา : สหสัมพันธ์ของลักษณะสภาวะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็งในผู้ป่วยโรคมะเร็งปอดชนิดไม่ใช้เซลล์เล็กระยะลุกลามที่มียีนกลายพันธุ์อีจีเอฟอาร์และได้รับยามุ่งเป้าอีจีเอฟอาร์. (Correlation of tumor microenvironment signature in advanced stage non-small cell lung cancer with *EGFR* mutation who received EGFR-TKIs) อ.ที่ปรึกษาหลัก : รศ. พญ.ชนิตา วินะยานุวัติกุล, อ.ที่ปรึกษาร่วม : รศ. นพ.บุญชูวิชญ์ จันทรา นุวัฒน์

บทนำ ปัจจุบันการรักษา มะเร็งปอดในผู้ป่วยโรคมะเร็งปอดชนิดไม่ใช้เซลล์เล็กระยะลุกลามที่มียีนกลายพันธุ์อีจีเอฟอาร์ มีการรักษาด้วยยามุ่งเป้าอีจีเอฟอาร์เป็นการรักษามาตรฐาน แต่ผู้ป่วยแต่ละคนมีอัตราการควบคุมโรคที่แตกต่างกัน ส่วนหนึ่งมีสาเหตุมาจากสภาวะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็งที่มีความแตกต่างกัน การศึกษานี้จึงจัดทำขึ้นเพื่อประเมินความสัมพันธ์ของสภาวะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็งและอัตราการควบคุมโรคด้วยยามุ่งเป้าอีจีเอฟอาร์

วิธีการดำเนินการวิจัย ผู้ป่วยมะเร็งปอดที่ได้รับการรักษาด้วยยามุ่งเป้าอีจีเอฟอาร์ ในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ จำนวน 85 คน ได้รับการตรวจย้อมชิ้นเนื้อเพื่อย้อมดูอิมมูโนฮิสโตเคมี (immunohistochemistry) เพื่อประเมินสภาวะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็งได้แก่ PD-L1, CD8 TILs และ FOXP3 TILs และติดตามผลการรักษาขณะได้รับการรักษาด้วยยามุ่งเป้าอีจีเอฟอาร์

ผลการวิจัย การศึกษาพบว่าผู้ป่วยที่มีการอักเสบของสภาวะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็งจำนวน 14% (มีการแสดงออกของ PD-L1 \geq 15% และ การแสดงออกของ intratumoral CD8 TILs \geq 10%) และมีความสัมพันธ์ของ PD-L1 และ intratumoral CD8 TILs กันในเชิงบวกและมีนัยสำคัญทางสถิติ และผู้ป่วยที่มีการอักเสบของสภาวะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็งจะมีอัตราการควบคุมโรคที่สั้นกว่าและมีอัตราการอยู่รอดโดยรวมที่สั้นกว่า

สรุปผลการวิจัย ผู้ป่วยโรคมะเร็งปอดชนิดไม่ใช้เซลล์เล็กระยะลุกลามที่มียีนกลายพันธุ์อีจีเอฟอาร์และได้รับการรักษาด้วยยามุ่งเป้าอีจีเอฟอาร์ มีสภาวะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็งที่มีความสัมพันธ์กันและสัมพันธ์กับอัตราการควบคุมโรคที่สั้นกว่า

สาขาวิชา อายุรศาสตร์

ปีการศึกษา 2565

ลายมือชื่อนิสิต

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม

6470093830 : MAJOR MEDICINE

KEYWORD: EGFR mutation, advanced stage NSCLC, PD-L1, CD8+ TILs, Tumor microenvironment
 Chaipayong Ngamchokwathana : Correlation of tumor microenvironment signature in advanced stage non-small cell lung cancer with *EGFR* mutation who received EGFR-TKIs.
 Advisor: Assoc. Prof. CHANIDA VINAYANUWATTIKUN, M.D. Co-advisor: Assoc. Prof. POONCHAVIST CHANTRANUWATANA, M.D.

Background: The impact of tumor microenvironment in advanced non-small cell lung cancer (NSCLC) who had epidermal growth factor receptor (*EGFR*) mutation remained debated. We investigated the correlation of tumor microenvironment (PD-L1, CD8 and FOXP3) and the association of EGFR TKI treatment outcome.

Methods: A prospective study was conducted to recruit 100 participants who were diagnosed advanced NSCLC with *EGFR* mutation. All patients were received treatment with EGFR-tyrosine kinase inhibitors (TKIs). Tumor microenvironment composed of programmed cell death ligand-1 (PD-L1) expression, CD8+ tumor infiltrating lymphocyte (TILs) and forkhead box P3 (FOXP3+) TILs density were evaluated by immunohistochemistry. The primary endpoint was the correlation between PD-L1, CD8+, and FOXP3+ TILs density. The Correlations among TILs and clinicopathological characteristics/outcome of treatment were analyzed.

Results: Eighty-five patients with adequate tumor material were evaluated. Twelve (14%) patients expressed high PD-L1 ($\geq 15\%$) or intratumoral CD8+ TILs ($>10\%$). The correlation of PD-L1 and intratumoral CD8+ TILs was significantly ($r = 0.3034$, $p=0.005$). Multivariate analysis revealed that Inflamed tumor was correlated with shorten PFS with the HR of 2.110, 95%CI: 0.968-4.599, p -value 0.06.

Conclusions: Among advanced stage NSCLC with *EGFR* mutation, tumor microenvironment PD-L1 and intratumoral CD8+ TILs expression was correlated with outcome of treatment.

Field of Study: Medicine

Student's Signature

Academic Year: 2022

Advisor's Signature

Co-advisor's Signature

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณทุกท่านที่ได้ช่วยเหลือให้การวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

รองศาสตราจารย์ดอกเตอร์แพทย์หญิง ชนิดา วินะยานุวัตติคุณ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก, รองศาสตราจารย์นายแพทย์ ปุณฺณวิชช์ จันทรานุวัฒน์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมวิทยานิพนธ์ ที่ได้สละเวลาในการให้คำปรึกษาและข้อเสนอแนะอย่างดี ซึ่งผู้วิจัยขอขอบคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

รวมถึงขอบพระคุณคณาจารย์ในหน่วยโรคมะเร็ง ภาควิชาอายุรศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ที่ให้ความร่วมมือส่งผู้ป่วยเข้าร่วมการศึกษานี้และขอขอบคุณแพทย์ประจำบ้านและแพทย์ประจำบ้านต่อยอดอายุรศาสตร์มะเร็งวิทยาในการคัดกรองคนไข้เข้าร่วมการศึกษาวินิจฉัยนี้ ตลอดจนผู้ที่ไม่ได้กล่าวนามในที่นี้ที่มีส่วนช่วยให้วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จขึ้นมาได้

รองศาสตราจารย์(พิเศษ) แพทย์หญิง อรุมา ชูตินेत्र ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์, อาจารย์นายแพทย์ประสิทธิ์ เผ่าทองคำและอาจารย์แพทย์หญิงกุลธิดา มณีนิล กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ที่ให้ความรู้แนวทางการวิจัยและข้อเสนอแนะที่เป็นประโยชน์แก่ผู้วิจัย

สุดท้ายนี้ผู้วิจัยขอขอบคุณบิดา มารดา และครอบครัวของข้าพเจ้าที่ให้กำลังใจและช่วยเหลือตลอดมา

ชัยพงศ์ งามโชควัฒนา

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

สารบัญ

	หน้า
.....	ค
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ค
.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ง
กิตติกรรมประกาศ.....	จ
สารบัญ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ฉ
สารบัญรูปภาพ.....	ญ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	1
บทที่ 1 โครงงานวิจัย.....	2
1.1 ความสำคัญ และที่มาของปัญหาการวิจัย (background and rational).....	2
1.2 คำถามของการวิจัย (research question).....	2
1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย (objective).....	3
1.4 สมมติฐาน (hypothesis).....	4
1.5 ข้อตกลงเบื้องต้น (assumption).....	4
1.6 กรอบแนวคิดในการวิจัย (conceptual framework).....	4
1.7 การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติที่ใช้ในการวิจัย (operational definition).....	6
1.8 ผลหรือประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย (expected benefit and application)	7
1.9 อุปสรรคที่อาจเกิดขึ้นและมาตรการแก้ไข (obstacles and strategies to solve the problems).....	7
บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง.....	8

บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย	12
3.1 รูปแบบการวิจัย (research design)	12
3.2 ระเบียบวิธีการวิจัย (research methodology).....	12
3.3 ขนาดตัวอย่างและการคำนวณ (sample size determination).....	13
3.4 ขั้นตอนในการดำเนินการวิจัย	13
3.5 การรวบรวมข้อมูล (data collection).....	14
3.6 ข้อจำกัดในการวิจัย (limitation).....	20
3.7 ปัญหาทางจริยธรรม (ethical considerations).....	20
3.8 การวิเคราะห์ข้อมูล (data analysis).....	21
3.9 การรับรองงานวิจัย (research approval)	21
บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล	22
4.1 ประชากรที่นำมาศึกษา	22
4.2 ข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วย	24
4.3 ผลลัพธ์หลักของงานวิจัย.....	25
4.4 ผลลัพธ์รองของงานวิจัย	27
บทที่ 5 อภิปรายผล สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	40
5.1 อภิปรายผล.....	40
5.2 สรุปผล.....	42
5.3 เปรียบเทียบกับการศึกษาก่อนหน้า	43
5.4 ข้อดีของการศึกษานี้.....	43
5.5 ข้อด้อยของการศึกษานี้.....	43
5.6 ข้อเสนอแนะ	44
บรรณานุกรม.....	50
ภาคผนวก.....	51

บรรณานุกรม.....	2
ประวัติผู้เขียน.....	4



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 แสดงสมรรถภาพในการใช้ชีวิตประจำวัน (ECOG Performance Status)	20
ตารางที่ 2 แสดงข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วย (baseline characteristics).....	24
ตารางที่ 3 แสดงผลการย้อม immunohistochemistry ของ tumor microenvironment	25
ตารางที่ 4 การวิเคราะห์ปัจจัยที่มีผลกับ progression-free survival แบบตัวแปรเดียวและพหุตัวแปร.....	38
ตารางที่ 5 การวิเคราะห์ปัจจัยที่มีผลกับ overall survival แบบตัวแปรเดียวและพหุตัวแปร.....	39



สารบัญรูปภาพ

	หน้า
รูปภาพที่ 1 กรอบแนวคิดการวิจัย.....	5
รูปภาพที่ 2 แสดงลักษณะรูปร่างและนิยามของ Stromal TILs และ Intratumoral TILs	16
รูปภาพที่ 3 แสดงขั้นตอนวิธีการประเมินระดับการแสดงออกของ TILs ในชิ้นเนื้อ โดยการย้อม immunohistochemistry.....	17
รูปภาพที่ 4 แสดงการวัดระดับ TILs ที่มีความแตกต่างกัน.....	18
รูปภาพที่ 5 แสดงตัวอย่างการเปรียบเทียบการติดสี Immunohistochemistry ของ TILs.....	19
รูปภาพที่ 6 แสดงตัวอย่างการย้อม immunohistochemistry ของผู้ป่วย.....	19
รูปภาพที่ 7 แสดงแนวทางการวิจัย.....	23
รูปภาพที่ 8 แสดงความสัมพันธ์ของ PD-L1 expression และ intratumoral CD8 TILs	26
รูปภาพที่ 9 แสดงสัดส่วนการกระจายตัวของ tumor microenvironment.....	27
รูปภาพที่ 10 แสดงความสัมพันธ์ของ Tumor microenvironment	28
รูปภาพที่ 11 กราฟแสดงอัตราการอยู่รอดโดยโรคสงบ (progression-free survival) ของกลุ่มผู้ป่วย ที่มีภาวะ inflamed tumor microenvironment และ non-inflamed tumor microenvironment.....	33
รูปภาพที่ 12 กราฟแสดงอัตราการอยู่รอดโดยโรคสงบ (progression-free survival) ของกลุ่มผู้ป่วย ที่มีภาวะ inflamed tumor microenvironment และ non-inflamed tumor microenvironment เมื่อทำการเพิ่ม FOXP3 TILs ที่มีสภาวะการอักเสบเข้าไป	34
รูปภาพที่ 13 กราฟแสดงอัตราการอยู่รอดโดยรวม (overall survival) ของกลุ่มผู้ป่วยที่มีภาวะ inflamed tumor microenvironment และ non-inflamed tumor microenvironment.....	35
รูปภาพที่ 14 กราฟแสดงอัตราการอยู่รอดโดยรวม (overall survival) ของกลุ่มผู้ป่วยที่มีภาวะ inflamed tumor microenvironment และ non-inflamed tumor microenvironment เมื่อทำการเพิ่ม FOXP3 TILs ที่มีสภาวะการอักเสบเข้าไป.....	36

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

AJCC	American Joint Committee on Cancer
CD8	Cluster of Differentiation 8
CTLA4	Cytotoxic T-lymphocyte Associated Protein 4
ECOG	Eastern Cooperative Oncology Group
EGFR	Epidermal Growth Factor Receptor
FOXP3	Forkhead Box P3
IHC	Immunohistochemistry
IL	Interleukin
MDSC	Myeloid Derived Suppressive Cell
NSCLC	Non-small Cell Lung Cancer
OS	Overall Survival
PD-L1	Program Cell Death Ligand 1
PFS	Progression-free Survival
TILs	Tumor-infiltrating lymphocytes
TKIs	Tyrosine Kinase Inhibitors
TME	Tumor microenvironment
TPS	Tumor Proportional Score
Treg	Regulatory T cell

บทที่ 1

โครงงานวิจัย

1.1 ความสำคัญ และที่มาของปัญหาการวิจัย (background and rational)

ปัจจุบันโรคมะเร็งปอดถือเป็นปัญหาทางสาธารณสุขที่สำคัญของประชากรทั่วโลก มีผู้ป่วยได้รับการวินิจฉัยมะเร็งปอดรายใหม่ 1.5 ล้านรายต่อปี ซึ่งปัจจุบันมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ ซึ่งมะเร็งปอดในประเทศไทย พบมากเป็นอันดับที่ 2 ในประชากรเพศชาย ถึง 23.0 ต่อประชากร 100,000 คน และพบเป็นอันดับที่ 5 ในเพศหญิง ถึง 10.9 คนต่อประชากร 100,000 คน (1) มะเร็งปอดแบ่งเป็นกลุ่มใหญ่ๆ 2 ชนิด คือ ชนิดเซลล์ขนาดเล็ก (small cell lung cancer) และชนิดเซลล์ที่ขนาดใหญ่ (non-small cell lung cancer) ซึ่งในกลุ่มหลังนี้พบได้ 85% (2) ของมะเร็งปอดทั้งหมด และในกลุ่มนี้ยังมีแยกย่อยออกเป็นชนิดต่าง ๆ อีกหลายชนิด เช่น adenocarcinoma, squamous cell carcinoma และอื่นๆ

ปัจจุบันการรักษามะเร็งปอดชนิดไม่ใช่เซลล์เล็กกระยะลุกลาม มีการตรวจพบยีนกลายพันธุ์อีจีเอฟอาร์ ซึ่งหากได้รับการรักษาด้วยยามุ่งเป้าอีจีเอฟอาร์ จะช่วยให้ผู้ป่วยมีอัตราการควบคุมโรคที่ยาวนานมากขึ้น เมื่อเทียบกับการรักษาด้วยยาเคมีบำบัดแบบดั้งเดิม ซึ่งอัตราการควบคุมโรคที่ยาวนานมากขึ้น ส่งผลต่ออัตราการรอดชีวิตของผู้ป่วยที่เพิ่มขึ้น (3-5)

อัตราการควบคุมโรคของผู้ป่วยโรคมะเร็งปอดที่ได้รับการรักษาด้วยยามุ่งเป้าอีจีเอฟอาร์ในแต่ละคนมีความแตกต่างกัน ส่วนหนึ่งมีสาเหตุมาจากการที่ผู้ป่วยมีสถานะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็งที่มีความแตกต่างกัน (6) โดยสถานะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็ง ประกอบไปด้วย PD-L1, CD8 TILs และ FOXP3 TILs (7) งานวิจัยนี้ จึงจัดทำขึ้นเพื่อประเมินสถานะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็งก่อนเริ่มการรักษาและประเมินเรื่องความสัมพันธ์ของสถานะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็งที่จะนำไปสู่อัตราการควบคุมโรคของผู้ป่วยโรคมะเร็งปอด

1.2 คำถามของการวิจัย (research question)

1.2.1 คำถามหลัก (primary research question)

- ระดับการแสดงออกของ PD-L1 มีสหสัมพันธ์ (correlation) กับระดับของ intratumoral CD8+ TILs ในผู้ป่วย advanced-stage non-small cell lung cancer ที่มี *EGFR* mutation และได้รับการรักษาด้วยยามุ่งเป้า EGFR-TKIs หรือไม่

1.2.2 คำถามรอง (secondary research question)

- ระดับการแสดงออกของ PDL1 มีสหสัมพันธ์ (correlation) กันระดับของ intratumoral FOXP3+ Tregs ในผู้ป่วย advanced-stage non-small cell lung cancer ที่มี *EGFR* mutation และได้รับการรักษาด้วยยามุ่งเป้า EGFR-TKIs หรือไม่
- สภาวะแวดล้อมในเซลล์มะเร็งสามารถพยากรณ์อัตราการรอดชีวิตโดยโรคสงบ (progression-free survival) ในผู้ป่วย advanced-stage non-small cell lung cancer ที่มี *EGFR* mutation และได้รับการรักษาด้วยยามุ่งเป้า EGFR-TKIs หรือไม่
- สภาวะแวดล้อมในเซลล์มะเร็งสามารถพยากรณ์อัตราการรอดชีวิตโดยรวม (overall survival) ในผู้ป่วย advanced-stage non-small cell lung cancer ที่มี *EGFR* mutation และได้รับการรักษาด้วยยามุ่งเป้า EGFR-TKIs หรือไม่

1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย (objective)

วัตถุประสงค์หลัก

1. เพื่อศึกษาสหสัมพันธ์ระหว่างระดับการแสดงออกของ PD-L1 และระดับของ intratumoral CD8+ T-cells ของผู้ป่วย advanced-stage non-small cell lung cancer ที่มี *EGFR* mutation และได้รับการรักษาด้วยยามุ่งเป้า EGFR-TKIs

วัตถุประสงค์รอง

1. เพื่อศึกษาสหสัมพันธ์ระหว่างระดับการแสดงออกของ PD-L1 และระดับของ intratumoral FOXP3+ Tregs ของผู้ป่วย advanced-stage non-small cell lung cancer ที่มี *EGFR* mutation และได้รับการรักษาด้วยยามุ่งเป้า EGFR-TKIs
2. เพื่อศึกษาว่าสภาวะแวดล้อมในเซลล์มะเร็งสามารถพยากรณ์ progression-free survival ในผู้ป่วย advanced-stage non-small cell lung cancer ที่มี *EGFR* mutation และได้รับการรักษาด้วยยามุ่งเป้า EGFR-TKIs

1.4 สมมติฐาน (hypothesis)

1. ระดับการแสดงออกของ PD-L1 และระดับของ intratumoral CD8+ T-cells ของผู้ป่วย advanced-stage non-small cell lung cancer ที่มี *EGFR* mutation และได้รับการรักษาด้วยยามุ่งเป้า EGFR-TKIs มีสหสัมพันธ์กันในเชิงบวก และไม่มีสหสัมพันธ์กับ stromal CD8+ T-cells
2. ระดับการแสดงออกของ PD-L1 และระดับของ regulatory T-cells (FOXP3) ของผู้ป่วย advanced stage non-small cell lung cancer ที่มี *EGFR* mutation และได้รับการรักษาด้วยยามุ่งเป้า EGFR-TKIs มีสหสัมพันธ์กันในเชิงบวก
3. สภาวะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็งสามารถทำนายผลของการรักษาด้วยยามุ่งเป้า EGFR ได้

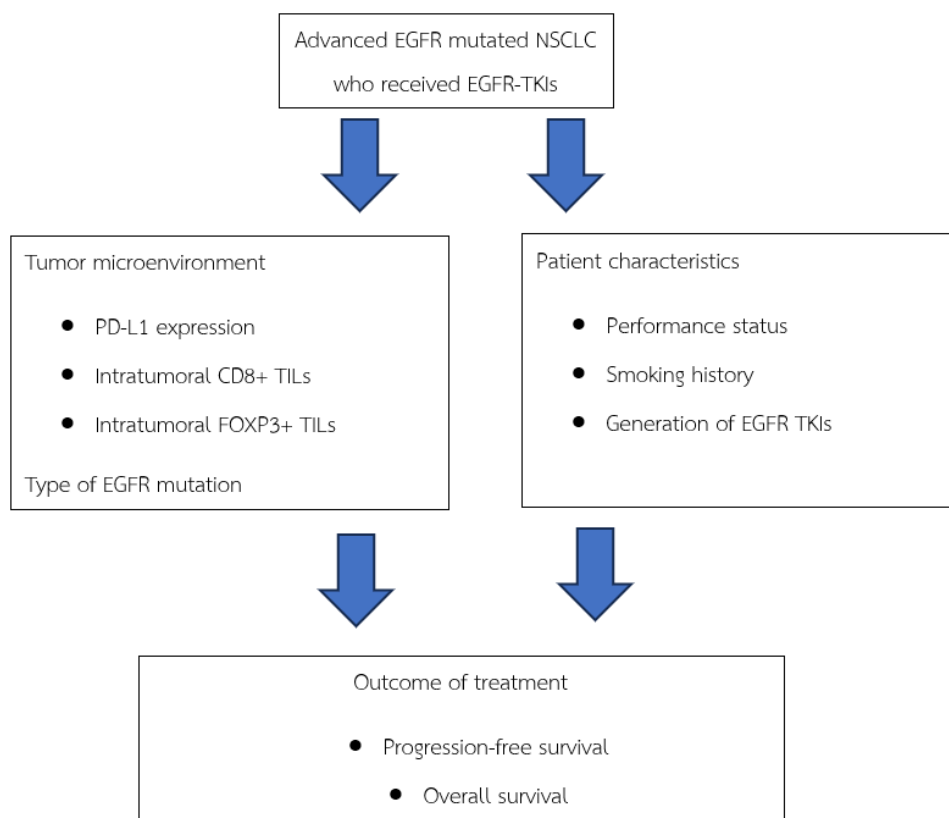
1.5 ข้อตกลงเบื้องต้น (assumption)

ผู้ป่วยที่เข้าร่วมวิจัย จะต้องมีการตรวจชิ้นเนื้อจากภาควิทยาพยาธิวิทยาและได้รับการตรวจย้อม immunohistochemistry เพื่อใช้ในการแปลผลการย้อมประเมินสภาวะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็ง และทุกรายจะต้องได้รับยามุ่งเป้าอีจีเอฟอาร์

1.6 กรอบแนวคิดในการวิจัย (conceptual framework)

งานวิจัยนี้ ออกแบบตามกรอบแนวคิดการวิจัย ตามแผนภาพที่ 1 โดยแบ่งเป็น Tumor microenvironment และปัจจัยของผู้ป่วย เช่น เพศ อายุ ชนิดของ *EGFR* mutation, ชนิดของยามุ่งเป้าที่ได้รับการรักษา และประวัติการสูบบุหรี่

รูปภาพที่ 1 กรอบแนวคิดการวิจัย



1.7 การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติที่ใช้ในการวิจัย (operational definition)

มะเร็งปอดชนิดไม่ใช้เซลล์เล็ก คือ มะเร็งที่มีต้นกำเนิดจากปอด โดยมีผลทางพยาธิวิทยา ยืนยัน โดยเป็นมะเร็งปอดชนิดที่เป็น non-small cell ซึ่งประกอบไปด้วย adenocarcinoma, squamous cell carcinoma, large cell carcinoma, adeno-squamous cell carcinoma เป็นต้น

การประเมินระยะของโรคมะเร็งปอดชนิดไม่ใช้เซลล์เล็ก ใช้เกณฑ์การประเมินระยะโรคของ American Joint Committee on Cancer classification 8th edition (8) ซึ่งการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ในการศึกษาผู้ป่วยโรคมะเร็งปอดระยะลุกลาม หรือระยะที่ 4 โดยเป็นมะเร็งปอดระยะลุกลามแพร่กระจาย ได้แก่ กระจายไปปอดด้านตรงข้ามกับมะเร็งปอดตั้งต้น กระจายไปเยื่อหุ้มปอด เยื่อหุ้มหัวใจ มีน้ำในช่องโพรงปอดหรือเยื่อหุ้มหัวใจจากมะเร็งปอด หรือมีการกระจายของโรคมะเร็งปอดไปยังอวัยวะอื่นๆ

EGFR mutation คือ การตรวจพบยีนกลายพันธุ์ของ *EGFR* ที่เป็นตำแหน่งที่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยามุ่งเป้า *EGFR* ได้แก่ การตรวจพบยีนกลายพันธุ์ที่ตำแหน่ง exon 19 deletion และตำแหน่ง exon 21 mutation ชนิด L858R และการตรวจพบยีนกลายพันธุ์ที่ตำแหน่งที่พบได้น้อย ได้แก่ การกลายพันธุ์ที่ตำแหน่ง exon18 ชนิด G719X และ exon 21 L861Q

EGFR-TKIs คือ ยารักษาโรคมะเร็งปอดชนิดไม่ใช้เซลล์เล็กชนิดรับประทาน ซึ่งยามุ่งเป้า *EGFR* ซึ่งประกอบไปด้วย ยาดังต่อไปนี้ ได้แก่ erlotinib, gefitinib, afatinib, dacomitinib และ Osimertinib

Tumor microenvironment คือ สภาวะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็งที่ประกอบไปด้วยเซลล์หลากหลายชนิด เช่น เซลล์บุผนังหลอดเลือด เซลล์สร้างเส้นใย เซลล์ภูมิคุ้มกัน เป็นต้น รวมถึงส่วนประกอบภายนอกเซลล์ เช่น ไซโตไคน์ สารเคลือบเซลล์ เป็นต้น

PD-L1 expression คือ โปรตีนที่ปรากฏอยู่บนผิวเซลล์มะเร็ง โดยเซลล์มะเร็งสามารถใช้ PD-L1 เป็นกลไกในการหลบหนีจากระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย ซึ่งการแสดงออกนี้จะสามารถบ่งชี้การตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาภูมิคุ้มกันบำบัด (immunotherapy) โดย PD-L1 นี้จะประเมินการแสดงผลออกโดยการย้อม immunohistochemistry

Tumor infiltrating lymphocyte (TILs) คือ ชนิดของภูมิคุ้มกันชนิดหนึ่งที่พบในสภาวะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็ง โดยประกอบไปด้วยเม็ดเลือดขาวชนิด lymphocyte ชนิดต่างๆ ซึ่งจะเป็นส่วนที่ช่วยจดจำและทำลายเซลล์มะเร็งและผลิตโมเลกุลส่งสัญญาณกระตุ้นเซลล์ภูมิคุ้มกันอื่นๆ โดยประกอบไปด้วย 2 ส่วน ได้แก่ ส่วนที่อยู่ในเซลล์มะเร็ง (intratumoral part) และส่วนที่อยู่รอบนอก (stroma part)

Progression-free survival คือ ระยะเวลาที่ผู้ป่วยยังมีชีวิต โดยเริ่มนับตั้งแต่ผู้ป่วยเริ่มได้รับการวินิจฉัยมะเร็งเรื้อรังปอดระยะลุกลามที่ได้รับการตรวจพบ EGFR mutation และได้รับการรักษาด้วยยา มุ่งเป้า EGFR-TKIs จนถึงระยะเวลาที่โรคลุกลามมากขึ้นหรือผู้ป่วยเสียชีวิต โดยมีเกณฑ์การประเมินตามแนวทาง RECIST criteria version 1.1 (9)

Overall survival คือ ระยะเวลาที่ผู้ป่วยยังมีชีวิต โดยเริ่มนับตั้งแต่ผู้ป่วยเริ่มได้รับการวินิจฉัยมะเร็งเรื้อรังปอดระยะลุกลามที่ได้รับการตรวจพบ EGFR mutation และได้รับการรักษาด้วยยา มุ่งเป้า EGFR-TKIs จนถึงระยะเวลาที่ผู้ป่วยเสียชีวิต โดยมีเกณฑ์การประเมินตามแนวทาง RECIST criteria version 1.1 (9)

1.8 ผลหรือประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย (expected benefit and application)

ทำให้ทราบถึงความสัมพันธ์ของ PD-L1, intratumoral CD8+ TILs และ FOXP3+ TILs ว่ามีความสัมพันธ์กันหรือไม่ รวมถึงทำให้ทราบถึงสถานะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็งว่ามีความสัมพันธ์กับผลของการรักษาด้วยยา มุ่งเป้า EGFR-TKIs และระยะเวลาในการควบคุมโรคของผู้ป่วย Advanced stage NSCLC with EGFR mutation

1.9 อุปสรรคที่อาจเกิดขึ้นและมาตรการแก้ไข (obstacles and strategies to solve the problems)

เนื่องจากการแปลผล FOXP3 TILs ยังไม่ได้มีมาตรฐานในการแปลผล จึงได้ใช้การทบทวนวรรณกรรมจากงานวิจัยก่อนหน้า และพิจารณาใช้ค่ากลางในการแปลผล

เนื่องจากการศึกษาแบบไปข้างหน้า จึงมีโอกาสดังกล่าวจะได้คนไข้ไม่ครบตามที่คาดหวังไว้ ซึ่งอาจจะส่งผลต่อ power ของการวิจัย ซึ่งหากได้คนไข้ไม่ครบตามที่คาดหวัง จะมีการนำคนไข้ที่ศึกษาแบบย้อนกลับมาเข้าร่วมการศึกษาด้วย

บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

ปัจจุบันโรคมะเร็งปอดถือเป็นปัญหาทางสาธารณสุขที่สำคัญของประชากรทั่วโลก มีผู้ป่วยได้รับการวินิจฉัยมะเร็งปอดรายใหม่ 1.5 ล้านรายต่อปี ซึ่งปัจจุบันมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ โดยมีอัตราการรอดชีวิตที่ 5 ปีอยู่เพียง 14% (10) ซึ่งมะเร็งปอดในประเทศไทย พบมากเป็นอันดับที่ 2 ในประชากรเพศชาย ถึง 23.0 ต่อประชากร 100,000 คน และพบเป็นอันดับที่ 5 ในเพศหญิง ถึง 10.9 คนต่อประชากร 100,000 คน (11) มะเร็งปอดแบ่งเป็นกลุ่มใหญ่ๆ 2 ชนิด คือ ชนิดเซลล์ขนาดเล็ก (small cell lung cancer) และชนิดเซลล์ที่ขนาดใหญ่ (non-small cell lung cancer) ซึ่งในกลุ่มหลังนี้พบได้ 85% ของมะเร็งปอดทั้งหมด (2) และในกลุ่มนี้ยังมีแยกย่อยออกเป็นชนิดต่าง ๆ อีกหลายชนิด เช่น adenocarcinoma, squamous cell carcinoma และอื่นๆ

ในช่วงระยะเวลาสิบกว่าปีที่ผ่านมา มีการเปลี่ยนแปลงการรักษาของโรคมะเร็งปอดอย่างมาก จากเดิมที่มีการรักษาด้วยเคมีบำบัด doublet platinum ซึ่งเป็นการรักษามะเร็งปอดชนิดเซลล์ที่ขนาดใหญ่ อยู่ที่ประมาณ 25% โดยที่อัตราการรอดชีวิต 1 ปีสูงถึง 30% เมื่อเปรียบเทียบกับในอดีต (12, 13) ในปัจจุบันมีความรู้ความเข้าใจในระดับชีวภาพโมเลกุลมากขึ้น มีการตรวจพบยีนกลายพันธุ์ชนิดต่างๆ มากมายมากขึ้น ซึ่งหนึ่งในนั้นคือมีการตรวจพบยีนกลายพันธุ์อีจีเอฟอาร์ ซึ่งเป็นยีนกลายพันธุ์ที่พบมากที่สุด (4) โดยเฉพาะอย่างยิ่งในชาวไทย ซึ่งพบได้สูงถึง 49.06% (3) จึงมีการพัฒนายาพุ่งเป้า EGFR-TKIs (4, 5) ซึ่งเพิ่มอัตราการรอดชีวิตในผู้ป่วยที่มียีนกลายพันธุ์อีจีเอฟอาร์ สภาวะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็ง (tumor microenvironment) (6) ประกอบไปด้วย 4 ส่วนหลักๆ ได้แก่ Immune cells เช่น T lymphocyte, B lymphocyte, dendritic cell, NK cell เป็นต้น; Stromal cell เช่น cancer associated fibroblasts, pericyte และ mesenchymal stromal cells; Signaling molecule หลังออกมาจาก cell ต่างๆ และอยู่ใน extracellular matrix เช่น growth factor cytokine chemokine และ Blood and lymphatic vascular network ซึ่งการที่ผู้ป่วยมี tumor microenvironment ที่แตกต่างกัน จะส่งผลต่อการย้อมติดสีทาง immunohistochemistry ที่แตกต่างกัน

Edward E. Graves และคณะ (7) ได้ศึกษาเรื่อง tumor microenvironment ของ non-small cell lung cancer พบว่าการที่มี tumor microenvironment ที่แตกต่างกัน ส่งผลต่อการรักษาที่แตกต่างกัน เช่นการเกิดภาวะการขาดออกซิเจนจะส่งผลต่อการแพร่กระจายของมะเร็ง รวมถึงการต่อการรักษาด้วยรังสีรักษา นอกจากนี้การได้รับ EGFR-TKIs เช่น erlotinib และ gefitinib ยัง

อาจส่งผลให้มะเร็งลดการหลั่งสารก่อการสร้างสารกระตุ้นหลอดเลือดไปเลี้ยงเซลล์มะเร็งและเพิ่มออกซิเจนต่อเซลล์มะเร็งได้ ส่งผลให้มะเร็งเติบโตช้าลง

ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายจะมีความแตกต่างของโครงสร้างโปรตีนในระดับโมเลกุลและมีการผลิต T-cell ที่มีความจำเพาะเจาะจงกับแอนติเจนบนผิวเซลล์มะเร็ง ซึ่งเซลล์มะเร็งมีความสามารถในการหลบหลีกการรับรู้และการทำงานของเซลล์ภูมิคุ้มกันได้ โดยกลไกอย่างหนึ่งคือการเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะที่ไม่ตอบสนองต่อแอนติเจน เนื่องจากเซลล์มะเร็งนั้นมีการกลายพันธุ์มาจากเซลล์ที่ปกติในร่างกาย ทำให้มีการแสดงออกของแอนติเจนเหล่านั้น (14) นอกจากนี้ในเซลล์มะเร็งและสภาวะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็งมีการพัฒนาความต้านทานในการหลบหลีกระบบภูมิคุ้มกัน ได้แก่

- 1) การหลั่งสารไซโตไคน์ (cytokines) หลายชนิดที่กีดการทำงานของ effector T-cell เช่น IL-4, IL-10, IL-13 และ transforming growth factor beta1 เป็นต้น (15, 16)
- 2) การหลบหนีการตรวจจับของ T-cell ด้วยการลดการแสดงออกของ antigen และโปรตีน human leukocyte antigen (HLA) ซึ่งใช้ในการนำเสนอแอนติเจนให้กับ T-cell (17)
- 3) การเพิ่มจำนวนของเซลล์ที่ควบคุมภูมิคุ้มกัน ได้แก่ regulatory T-cells (Tregs) และ myeloid derived suppressive cell (MDSC) ทำหน้าที่ส่งสัญญาณกีดการทำงานของ T-cell (18)
- 4) เซลล์มะเร็งมีการแสดงออกของโปรตีนได้แก่ PD-L1 ซึ่งจับกับตัวรับของ PD-1 บน T-cell ซึ่งทำให้เกิดการส่งสัญญาณยับยั้งการทำงานของ T-cell ซึ่งโดยปกติตัวรับ PD-1 ร่วมกับตัวรับ CTLA-4 (Cytotoxic T-lymphocyte associated protein 4) ทำหน้าที่เป็น immune checkpoint ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการลดการกระตุ้น T-cell โดยจะช่วยป้องกันภาวะภูมิคุ้มกันทำลายเซลล์ตนเอง หรือ autoimmune ซึ่งในเซลล์มะเร็ง การที่กระตุ้นกลไกนี้ จะทำให้ยับยั้งการทำงานของ T-cell และส่งผลให้ไม่เกิดการตอบสนองและทำลายเซลล์มะเร็ง ถึงแม้ว่า T-cell จะสามารถจดจำเซลล์มะเร็งได้ ซึ่งในปัจจุบันมีการพัฒนายากลุ่ม monoclonal antibody ซึ่งจะเป็นตัวยับยั้งการจับกันของ PD-1 และ PD-L1 และมีผลทำให้ T-cell ทำงานได้ตามปกติ (19)

Fridman WH และคณะ (20) ได้ศึกษาภาวะของ T cells กับผลการแสดงออกทางคลินิกของมะเร็งหลายชนิด ทั้งมะเร็งชนิดเมลาโนมา มะเร็งเต้านม มะเร็งไต มะเร็งรังไข่ รวมถึงมะเร็งปอดชนิดไม่ใช้เซลล์เล็ก พบว่าการที่มี tumor infiltrating lymphocyte (TILs) ที่สูง จะสัมพันธ์กับการที่มีพยากรณ์โรคที่ดี

Kurt A. Schalper และคณะ (21) ได้ศึกษาเรื่องการวัดระดับ CD3, CD8 และ CD20-positive lymphocyte พบว่า การที่มี tumor infiltrating lymphocytes โดยเฉพาะ CD8+ cytotoxic T-lymphocytes สัมพันธ์กับการมีพยากรณ์โรคที่ดีรวมถึงสามารถทำนายการตอบสนองของการรักษาด้วยยาภูมิคุ้มกันบำบัดใน advanced-stage non-small cell lung cancer ได้

Kohsuke Isomoto และคณะ (22) ได้ศึกษา ผลกระทบของการรักษาด้วย EGFR-TKIs ต่อ tumor microenvironment พบว่าการได้รับยามุ่งเป้า EGFR-TKIs นั้นจะสามารถเพิ่มการเปลี่ยนแปลง tumor microenvironment ในผู้ป่วย โดยเฉพาะการเพิ่มการแสดงออกของ PD-L1 ภายหลังการรักษา และการเปลี่ยนแปลงของ CD8+ และ FoxP3 นั้น มีการลดลงภายหลังการรักษา

Michele W.L. Teng และคณะ (23) ได้ศึกษาเกี่ยวกับการจำแนกชนิดของ tumor microenvironment ที่เกี่ยวกับ T-cell infiltration และ PD-L1 พบว่าสามารถจำแนกได้เป็น 4 ชนิด ซึ่งขึ้นอยู่กับการแสดงออกของ tumor infiltrating lymphocyte และการแสดงออกของ PD-L1 โดยอาจจะเลือกการรักษาให้เหมาะสมกับ tumor microenvironment ของผู้ป่วยได้

Yijun Jia และคณะ (24) ได้ศึกษาเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงของ tumor microenvironment ในหนู ที่ได้รับยามุ่งเป้า EGFR-TKIs พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของ tumor microenvironment ที่ชัดเจนภายหลังการรักษาในระยะแรก ซึ่งมีการเพิ่มขึ้นของ CD8+ T cells, dendritic cells และ M1-like TAMs และมีการลดลงของ regulatory T-cells (Treg) และ ยับยั้งการเปลี่ยนแปลงของ M1-like TAMs เป็น M2-like TAMs รวมถึงมีการรายงานการยับยั้งปัจจัยที่กดภูมิคุ้มกันตลอดการรักษา อย่างไรก็ตามการรักษาด้วยยามุ่งเป้า EGFR-TKIs ในระยะหลังนั้น การเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นไม่ชัดเจน

Azuma K. และคณะ (25) ได้ศึกษาพบว่าการตรวจพบการแสดงออกของ PD-L1 ที่สูงเป็นสิ่งที่จะทำนายพยากรณ์โรคว่าจะมีการตอบสนองต่อยามุ่งเป้า EGFR-TKIs ที่ไม่ดี

Alexandra Giatromanolaki และคณะ (26) ได้ศึกษาเกี่ยวกับการมีความหนาแน่นของ FOXP3 และการแสดงออกของ PD-L1 ในผู้ป่วย non-small cell lung cancer พบว่า การมี FOXP3 ที่มีความหนาแน่นสูงจะส่งผลต่อการเกิดการลุกลามของมะเร็งปอดที่เร็วกว่า และมีพยากรณ์โรคที่แย่กว่า

TILs สามารถพบได้ทั้งสองส่วน ทั้งส่วนของ intratumoral และ stromal ของเซลล์มะเร็ง ซึ่งสามารถส่งตรวจจากชิ้นเนื้อที่นำไปย้อมทางพยาธิวิทยา โดยการย้อม Hematoxylin และ Eosin (H&E) โดย intratumoral TILs เป็นเซลล์ที่อยู่ติดกับเซลล์มะเร็ง สำหรับ stromal TILs เป็นเซลล์ที่อยู่บริเวณโดยรอบ เป็นบริเวณเนื้อเยื่อประสานแวดล้อมที่อยู่ข้างเซลล์มะเร็ง ทำให้การประเมิน intratumoral TILs นั้นทำได้ยากกว่า stromal TILs โดย International TILs Working Group 2014 (27) ได้กำหนดค่ามาตรฐานในการประเมินการแสดงออกของ TILs ซึ่งเป็นข้อมูลเชิงปริมาณ

ต่อเนื่อง โดยสัดส่วนเป็น area occupied by TILs ต่อพื้นที่ของ stromal area ทั้งหมด โดยมะเร็งที่มี TILs มากกว่าร้อยละ 50 จะเป็นกลุ่มที่มีพยากรณ์โรคที่ดีที่สุด

P.Sitthideatphaiboon และคณะ (28) ได้ศึกษาพบว่าระดับของ T-cell derived circulating tumor DNA ที่สูงขึ้นสัมพันธ์กับการมี intratumoral CD3/CD8-positive lymphocytes มากขึ้น แต่ไม่สัมพันธ์กับ stromal tumor-infiltrating lymphocyte นอกจากนี้ยังพบว่า intratumoral CD3+ tumor-infiltrating lymphocyte มี positive correlation กับ intratumoral CD8+ tumor-infiltrating lymphocyte แต่ไม่พบว่า intratumoral CD3+ lymphocyte มี correlation กับ PD-L1 expression

Patrick M Forde และคณะ (29) ได้ศึกษาเกี่ยวกับการให้การรักษาด้วย Anti-PD1 ในผู้ป่วยที่เป็นมะเร็งปอด ก่อนการผ่าตัดรักษามะเร็ง พบว่าในผู้ป่วยที่มีการตอบสนองต่อการรักษาด้วย Nivolumab ซึ่งเป็นการรักษาด้วยยาภูมิคุ้มกันบำบัด จะมี CD8+ T cells ที่เพิ่มมากขึ้น ซึ่งสามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ถึงการตอบสนองต่อการรักษาได้

Cruz-Rico และคณะ (30) ได้ศึกษาเกี่ยวกับความสัมพันธ์ของมะเร็งปอดชนิด adenocarcinoma และการแสดงออกของ PD-L1 พบว่า ไม่ได้มีชนิดของมะเร็งปอดที่จำเพาะเจาะจงที่มีความสัมพันธ์กับการที่มีการแสดงออกของ High PDL1 โดยในการศึกษานี้ พบว่าผู้ป่วยที่มี PD-L1 $\geq 15\%$ จะมีความสัมพันธ์กับการที่มี Progression-free survival และ overall survival ที่ต่ำกว่า

บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 รูปแบบการวิจัย (research design)

การวิจัยนี้เป็นรูปแบบงานศึกษาแบบไปข้างหน้า (prospective cohort studies)

3.2 ระเบียบวิธีการวิจัย (research methodology)

3.2.1 ประชากรที่ศึกษา

ผู้ป่วยโรคมะเร็งปอดชนิดไม่ใช่เซลล์เล็กระยะลุกลาม (advanced stage non-small cell lung cancer) ที่มีผลการตรวจยืนยันกลายเป็นอู่จี้เอพอาร์และได้รับยามุ่งเป้าอีจีเอฟอาร์

3.2.2 เกณฑ์ในการคัดเลือกเข้ามาศึกษา (inclusion criteria)

- อายุตั้งแต่ 18 ปีขึ้นไป
- มีผลการตรวจยืนยันการวินิจฉัยโรคมะเร็งปอดชนิดไม่ใช่เซลล์เล็กระยะลุกลาม (advanced non-small cell lung cancer)
 - มีผลการตรวจยืนยันการตรวจทางห้องปฏิบัติการว่าพบ *EGFR* mutation ที่ตอบสนองต่อยามุ่งเป้า *EGFR* ได้แก่ exon 19 deletions, exon 21 L858R, exon 18 G719X, exon 20 S768I และ exon 21 L861Q
 - ผู้ป่วยได้รับยามุ่งเป้า *EGFR*-TKIs ชนิดใดชนิดหนึ่งเป็นยารักษาครั้งแรก (First line of treatment)

3.2.3 เกณฑ์ในการคัดเลือกรอกจากการศึกษา (exclusion criteria)

- มีผลการตรวจชิ้นเนื้อที่ไม่สมบูรณ์ หรือมีผลการอ่านทาง immunohistochemistry ที่ไม่สมบูรณ์
- เคยได้รับการรักษาด้วยยาเคมีบำบัด (chemotherapy) ยามุ่งเป้า (targeted therapy) หรือยาภูมิคุ้มกันบำบัด (immunotherapy) ชนิดใดชนิดหนึ่งมาก่อน

3.2.4 เกณฑ์ในการยุติงานวิจัย (termination criteria)

- ผู้ป่วยขอถอนตัวออกจากงานวิจัย

- ผู้ป่วยได้รับยามุ่งเป้าแล้วมีหลักฐานการไม่ตอบสนองต่อยามุ่งเป้าและต้องหยุดการรักษาด้วยยามุ่งเป้า
- ผู้ป่วยเสียชีวิต

3.3 ขนาดตัวอย่างและการคำนวณ (sample size determination)

ใช้วิธีการคำนวณขนาดตัวอย่างโดยใช้สูตรหาความสัมพันธ์ ตามสูตรดังนี้ (31)

$$N = [(Z_{\alpha} + Z_{\beta}) \div (C_1 - C_2)]^2 + 3.$$

จากการทบทวนวรรณกรรม ยังไม่เคยมีการศึกษาเรื่องสหสัมพันธ์ระหว่างระดับการแสดงออกของ PD-L1 และ CD8+ TILs มาก่อนในโรคมะเร็งปอดชนิดไม่ใช้เซลล์เดี่ยวระยะลุกลาม จึงได้ทบทวนวรรณกรรมเพิ่มเติม (32) พบว่าเคยมีการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างระดับการแสดงออกของ PD-L1 และ CD8+ TILs expression ในผู้ป่วยมะเร็งกระเพาะอาหารระยะลุกลาม มีระดับสหสัมพันธ์อยู่ที่ 0.35 กำหนด significance level ที่ 0.05 ผู้วิจัยยอมรับความแตกต่างอย่างน้อย 10% จึงคำนวณประชากรที่เข้าร่วมการศึกษาได้ทั้งหมด 82 คน

3.4 ขั้นตอนในการดำเนินการวิจัย

ผู้ป่วยโรคมะเร็งปอดชนิดไม่ใช้เซลล์เดี่ยวระยะลุกลาม หลังจากได้รับผลการตรวจพบยีนกลายพันธุ์ EGFR และประเมินตาม inclusion และ exclusion ผู้ป่วยเข้าเกณฑ์ในการศึกษาจะได้รับการชักชวนให้เข้าร่วมการศึกษา

1. ผู้วิจัยอธิบายถึงวิธีการวิจัยและประโยชน์ของการวิจัยให้กับผู้ป่วย
2. หลังจากผู้ป่วยลงนามในใบยินยอมเข้าร่วมการวิจัย จะมีการติดตามผู้ป่วยจากเวชระเบียนการตรวจรักษาของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ และให้คำจำกัดความของผู้ป่วยที่มีการกลับมาเป็นซ้ำหรือเสียชีวิต จากสาเหตุใดๆก็ตามและผู้ป่วยที่ยังไม่มีการกลับมาเป็นซ้ำและยังมีชีวิตจนถึงเวลาที่จบการศึกษาวิจัย คือ วันที่ 31 ธันวาคม 2565 ว่าเป็นเซ็นเซอร์ (censor)

นำชิ้นเนื้อที่ได้รับการวินิจฉัยของผู้ป่วยมาย้อม Immunohistochemistry เพื่อดู PD-L1 expression โดยใช้ antibody clone 22C3 Primary Monoclonal Mouse Anti-Human (cat. No. IHC 22C3 pharmDx; Dako, United States), วัดระดับการแสดงออกของ Intratumoral CD8+ TILs, Stromal CD8+ TILs Intratumoral clone C8/144B Primary Monoclonal Mouse

AntiHuman (cat. No. IR623; Dako, United States), วัดระดับการแสดงออกของ Intratumoral FOXP3+ TILs และ Stromal FOXP3+ TILs (abcam 236A/E7 dilution 1:100)

3. อ่านผลการย้อม immunohistochemistry โดยพยาธิแพทย์ผู้เชี่ยวชาญ 1 ท่าน
4. เก็บข้อมูลประวัติ baseline characteristics และติดตามประเมินผลการรักษาจากเวชระเบียนของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์และบันทึกลงใน case record form

3.5 การรวบรวมข้อมูล (data collection)

วิธีการเก็บข้อมูล

- ผู้เข้าร่วมวิจัยจะได้รับการบันทึกข้อมูลพื้นฐาน ได้แก่ เพศ อายุ โรคประจำตัว ประวัติการสูบบุหรี่และดื่มสุรา ชนิดของมะเร็งปอด ชนิดของยีนกลายพันธุ์อีจีเอฟอาร์ ระดับความแข็งแรง (ECOG performance status) ชนิดของยามุ่งเป้าอีจีเอฟอาร์ที่ได้รับ
- ผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย จะได้รับการรักษาด้วยยามุ่งเป้าอีจีเอฟอาร์และมีการติดตามการรักษาตามมาตรฐาน โดยจะติดตามการรักษาทางเวชระเบียน
- ผู้อ่านผลชิ้นเนื้อและอ่านผลย้อม immunohistochemistry คือ พยาธิแพทย์ผู้ร่วมวิจัย
- วิธีการอ่านผลชิ้นเนื้อ - การแปลผลการแสดงออก PD-L1 ใช้ clone antibody 22C3 ในการย้อม โดยประเมินการแปลผลการแสดงออกเป็นร้อยละ และอ่านผลโดยพยาธิแพทย์ผู้เชี่ยวชาญ 1 ท่าน โดยวิธีการอ่านจะนำชิ้นเนื้อ block slide มาทำ fix ใน formalin และมีการทำให้แห้งและทำละลายใน alcohol และ xylene หลังจากนั้นก็มีการทำละลายด้วย paraffin อุณหภูมิไม่เกิน 60 °C หลังจากนั้นได้ทำการ fixation ใน 10% neutral buffered formalin ต่อเป็นเวลา 12-72 ชั่วโมง หลังจากนั้นก็ทำการตัดชิ้นเนื้อเป็นชิ้นละ 4-5 μm และนำมาวางบนแผ่น DAKO FLEX IHC microscope slide หลังจากนั้นมาอบที่อุณหภูมิ 58 ± 2 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง, สำหรับการอ่านผล PD-L1 นั้น นำ slide ที่เตรียมไว้มาย้อม hematoxylin and eosin โดยจะต้องมี tumor cells อย่างน้อย 100 viable tumor cell จึงจะเพียงพอต่อการแปลผล PD-L1 หากชิ้นเนื้อเพียงพอต่อการย้อม PD-L1 และการรายงานผล PD-L1 จะรายงานผลเป็น Tumor Proportion Score (TPS) จะรายงานผลเป็นร้อยละ โดยมีวิธีการคำนวณ ดังนี้

○ วิธีการคำนวณ TPS

$$\text{TPS} = \frac{\# \text{ PD-L1 positive tumor cells}}{\text{Total \# of PD-L1 positive + PD-L1 negative tumor cells}}$$

โดยนับจำนวนมะเร็งที่ติดสี PD-L1 ทั้งหมดหารด้วย จำนวนเซลล์มะเร็งทั้งหมด (รวมเซลล์มะเร็งที่ติดสี PD-L1 และมะเร็งที่ไม่ติดสี PD-L1) คูณด้วย 100 ผลที่ได้จึงออกมาเป็นร้อยละ

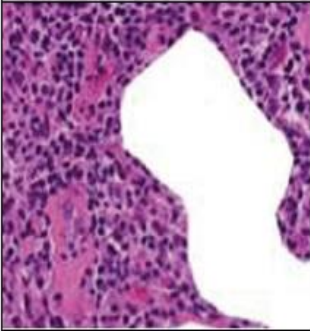

- วิธีการแปลผล PD-L1 สำหรับการแปลผลโดยใช้ TPS โดยมีเกณฑ์การประเมินการแสดงออกตาม Cruz-Rico และคณะ (30) ซึ่งใช้ PD-L1 TPS \geq 15% จัดเป็นกลุ่มที่มีการอักเสบของสภาวะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็ง (Inflamed tumor microenvironment) และกลุ่มผู้ป่วยที่ PD-L1 TPS < 15% จัดเป็นกลุ่มที่ไม่มีการอักเสบของสภาวะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็ง (Non-inflamed tumor microenvironment) ซึ่งจะส่งผลให้เห็นความแตกต่างของ progression-free survival และ overall survival อย่างมีนัยสำคัญ
- วิธีการอ่านผลชิ้นเนื้อ สำหรับ tumor infiltrating lymphocytes (TILs) (21) โดยจะมีการอ่านผลออกมาเป็นเปอร์เซ็นต์ของการติดสีชิ้นเนื้อ ตั้งแต่ 0-100% ซึ่งจะมีการอ่านผล TILs จะแบ่งการอ่านเป็น 2 ส่วน คือ
 - ส่วน intratumoral เป็นส่วนที่อยู่ติดกับเซลล์มะเร็ง เป็นตัวบ่งชี้ถึงการอักเสบของเซลล์มะเร็ง
 - ส่วน stromal เป็นส่วนที่อยู่รอบนอกของเซลล์มะเร็ง (รูปภาพที่ 2,3,4)
- วิธีการแปลผล TILs score สามารถแบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม ตาม TILs working group 2014 (27) แบ่งได้เป็น 3 กลุ่มดังนี้
 - Low TILs คือ ปริมาณของ TILs น้อยกว่าร้อยละ 10 ของพื้นที่ทั้งหมด
 - Intermediate TILs คือ ปริมาณของ TILs มีปริมาณร้อยละ 10-50 ของพื้นที่ทั้งหมด
 - High TILs คือ ปริมาณของ TILs มากกว่าร้อยละ 50 ของพื้นที่ทั้งหมด
 โดยจากงานวิจัยนี้จะมีการประเมินผู้ป่วยที่เป็น Intermediate and high TILs (TILs \geq 10%) เป็นกลุ่มผู้ป่วยที่มีภาวะการอักเสบของสภาวะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็ง (Inflamed tumor microenvironment)

- ผู้เก็บข้อมูล คือ ผู้ดำเนินการวิจัย
- ผู้บันทึกและเก็บรวบรวมข้อมูล คือ ผู้ดำเนินการวิจัย

ขั้นตอนการประเมิน TILs

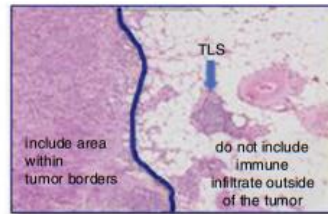
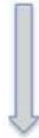
รูปภาพที่ 2 แสดงลักษณะรูปร่างและนิยามของ Stromal TILs และ Intratumoral TILs



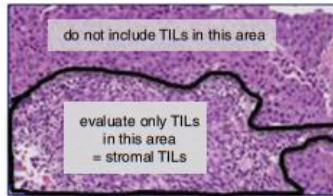
Morphology	Definition and biological relevance	Diagnostic relevance
Stromal TILs		
	Indicator of increased accumulation of immune-cells in tumor tissue	Stromal TILs have been shown to be predictive for increased response to neoadjuvant chemotherapy as well as improved outcome after adjuvant chemotherapy. Based on current data, this parameter is the best parameter for characterization of TILs.
Intratumoral TILs		
	TILs with direct cell-cell contact with carcinoma cells, might be an indicator of direct cell-based anti-tumor effects.	Several studies have shown that intratumoral TILs are more difficult to evaluate and do not provide additional predictive/prognostic information compared to stromal TILs.

รูปภาพที่ 3 แสดงขั้นตอนวิธีการประเมินระดับการแสดงออกของ TILs ในชิ้นเนื้อ โดยการย้อม immunohistochemistry

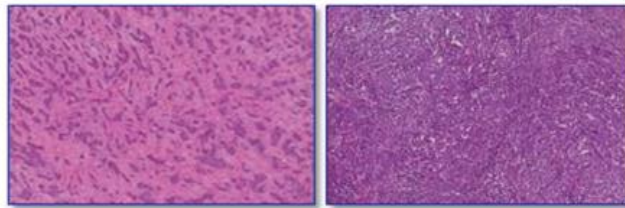
Step 1: Select tumor area



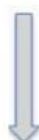
Step 2: Define stromal area



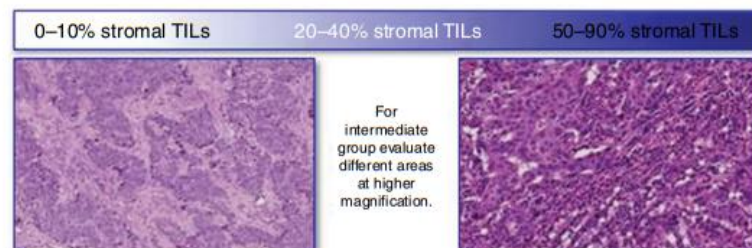
Step 3: Scan at low magnification



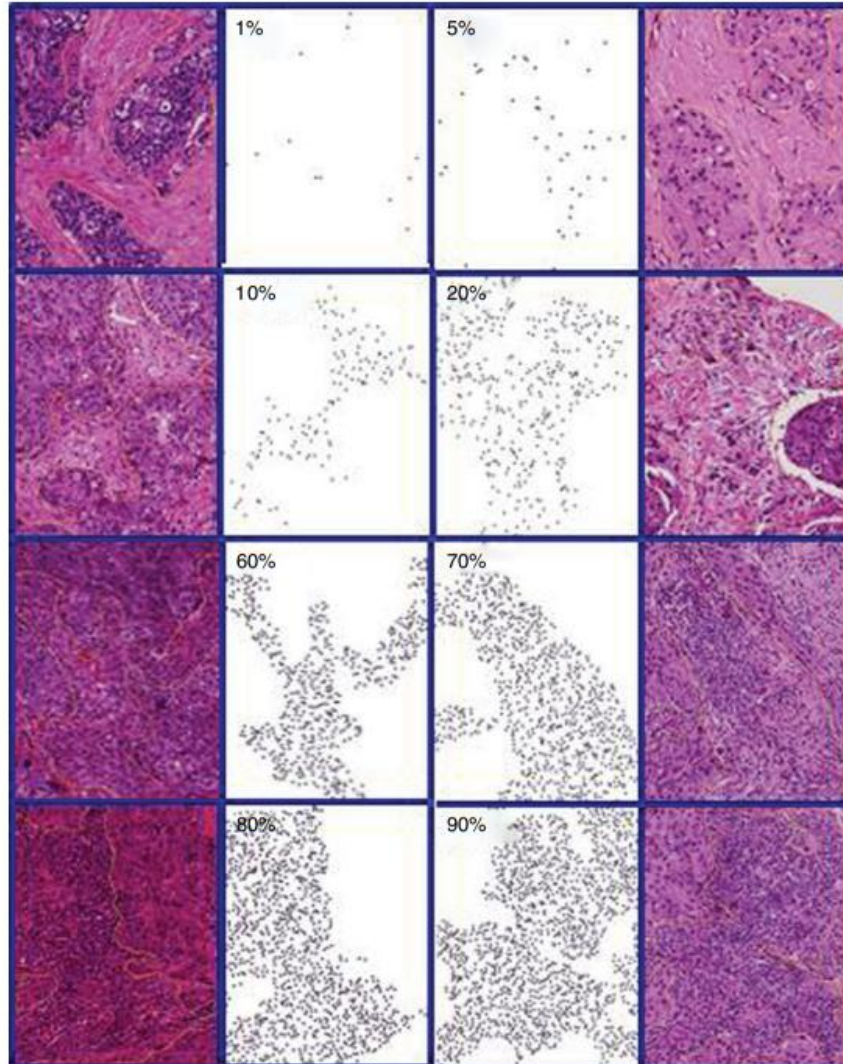
Step 4: Determine type of inflammatory infiltrate



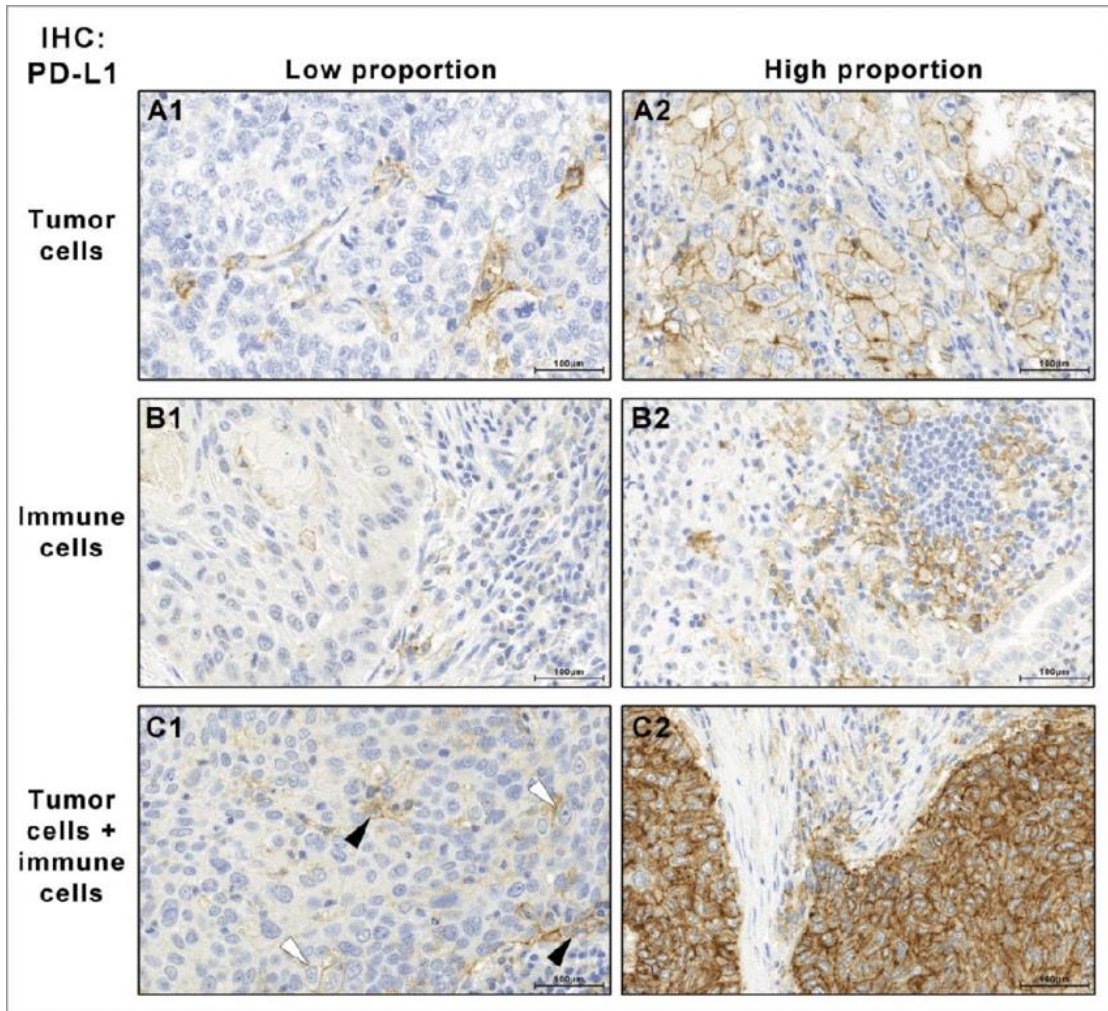
Step 5: Assess the percentage of stromal TILs
(examples of percentages shown in figure 4)



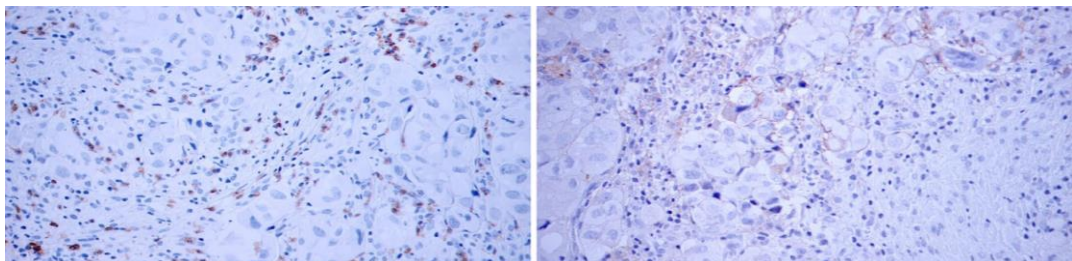
รูปภาพที่ 4 แสดงการวัดระดับ TILs ที่มีความแตกต่างกัน



รูปภาพที่ 5 แสดงตัวอย่างการเปรียบเทียบการติดสี Immunohistochemistry ของ TILs



รูปภาพที่ 6 แสดงตัวอย่างการย้อม immunohistochemistry ของผู้ป่วย



ตารางที่ 1 แสดงสมรรถภาพในการใช้ชีวิตประจำวัน (ECOG Performance Status)

ระดับ	ความสามารถในการใช้ชีวิตประจำวัน
0	ความสามารถปกติ ออกแรงทำงานได้เหมือนก่อนเจ็บป่วย ไม่มีข้อจำกัดในด้านสมรรถภาพการใช้ชีวิตประจำวัน
1	ไม่สามารถทำกิจกรรมที่ออกแรงมากได้ แต่สามารถทำกิจวัตรประจำวันและงานเบาๆ เช่น งานบ้าน
2	สามารถเคลื่อนไหวและช่วยเหลือตนเองได้ทุกอย่าง แต่ไม่สามารถทำงานได้ ต้องพักบนเตียงหรือนั่งน้อยกว่าร้อยละ 50 ของเวลาตื่น
3	สามารถช่วยเหลือตนเองได้บางส่วน ไม่สามารถทำงานได้ ต้องนั่งพักบนเตียงหรือนั่งมากกว่าร้อยละ 50 ของเวลาตื่น
4	ไร้สมรรถภาพ ไม่สามารถช่วยเหลือตนเองได้เลย ต้องนั่งหรือนอนบนเตียงตลอดเวลา
5	เสียชีวิต

3.6 ข้อจำกัดในการวิจัย (limitation)

ผู้ป่วยที่เข้าร่วมการวิจัยนี้ เป็นผู้ป่วยที่เข้ามารับการรักษาที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ อาจจะไม่ได้เป็นตัวแทนของประชากรส่วนมากที่เป็นโรคมะเร็งปอดชนิดไม่ใช่เซลล์เล็กระยะลุกลาม

อาสาสมัครจะไม่ได้รับประโยชน์โดยตรงจากการวิจัย แต่ข้อมูลที่ได้จากการวิจัยจะนำไปวิเคราะห์และพัฒนาการประเมินสภาวะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็ง เพื่อช่วยในการตรวจและติดตามการรักษาผู้ป่วยโรคมะเร็งปอดในอนาคตได้

การวิจัยนี้มีการอ่านผลสภาวะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็ง ซึ่งมีการย้อม FOXP3+ TILs ซึ่งยังไม่ได้มีมาตรฐานในการแปลผลที่ชัดเจน จึงได้ทำการทบทวนวรรณกรรมและกำหนดค่าการอ่านผลโดยอ้างอิงจากการทบทวนวรรณกรรมดังกล่าว

3.7 ปัญหาทางจริยธรรม (ethical considerations)

ข้อมูลที่แสดงตัวตนของผู้ป่วย จะถูกเก็บเป็นความลับ จะไม่มีการนำข้อมูลที่แสดงตัวตนของผู้ป่วยไปเปิดเผยโดยเด็ดขาด สำหรับการนำข้อมูลไปวิเคราะห์ จะใช้รหัสแทนตัวผู้ป่วยแต่ละราย ในการตีพิมพ์ผลงานการวิจัยหรือนำเสนอผลงานวิชาการ จะเสนอในภาพรวมของผลการวิจัย จะไม่มีการ

นำข้อมูลที่แสดงตัวตนของผู้ป่วยไปเปิดเผยโดยเด็ดขาด หากมีความจำเป็นต้องแสดงข้อมูลที่เป็นตัวตนของผู้ป่วย จะต้องได้รับการยินยอมจากผู้ป่วยเป็นลายลักษณ์อักษรเท่านั้น

3.8 การวิเคราะห์ข้อมูล (data analysis)

ข้อมูลทั่วไปของผู้ป่วย ได้แก่ ข้อมูลอายุ เพศ โรคประจำตัว สำหรับข้อมูลเชิงกลุ่ม จะแสดงเป็นจำนวนร้อยละ และทดสอบความแตกต่างระหว่างกลุ่มด้วย Chi-square Test สำหรับข้อมูลเชิงปริมาณที่มีการแจกแจงแบบปกติ จะแสดงเป็นค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานและทดสอบความแตกต่างระหว่างกลุ่มด้วย Unpaired T-Test ส่วนข้อมูลเชิงปริมาณที่ไม่ได้มีการแจกแจงแบบปกติจะแสดงเป็นค่ามัธยฐานและพิสัยระหว่างควอไทล์ (IQR) และทดสอบความแตกต่างระหว่างกลุ่มด้วย Mann-Whitney U Test

การวิเคราะห์สหสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรชนิดต่อเนื่อง ใช้สถิติ Pearson correlation coefficient ทั้งข้อมูลที่มีการกระจายตัวแบบปกติและกระจายตัวแบบไม่ปกติ นอกจากนี้ผู้วิจัยยังได้ทำการวิเคราะห์ข้อมูลแบบตัวแปรเดียว (univariate) และหลายตัวแปร (multivariate) โดยใช้ binary logistic regression ถึงปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับผลลัพธ์

ปัจจัยที่จะนำมาวิเคราะห์ใน multivariate analysis จะคัดเลือกจากปัจจัยที่มีผลต่อการรักษาด้วยยามุ่งเป้า EGFR ซึ่งมีหลักฐานเชิงประจักษ์ว่าเป็นปัจจัยที่มีผลต่อการควบคุมโรค

ผู้วิจัยทำการวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรม Stata SE version 17

3.9 การรับรองงานวิจัย (research approval)

การศึกษานี้ได้รับการรับรองจากคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมวิจัยในคน คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย หมายเลข IRB 0624/65 เมื่อวันที่ 28 ตุลาคม 2565

บทที่ 4

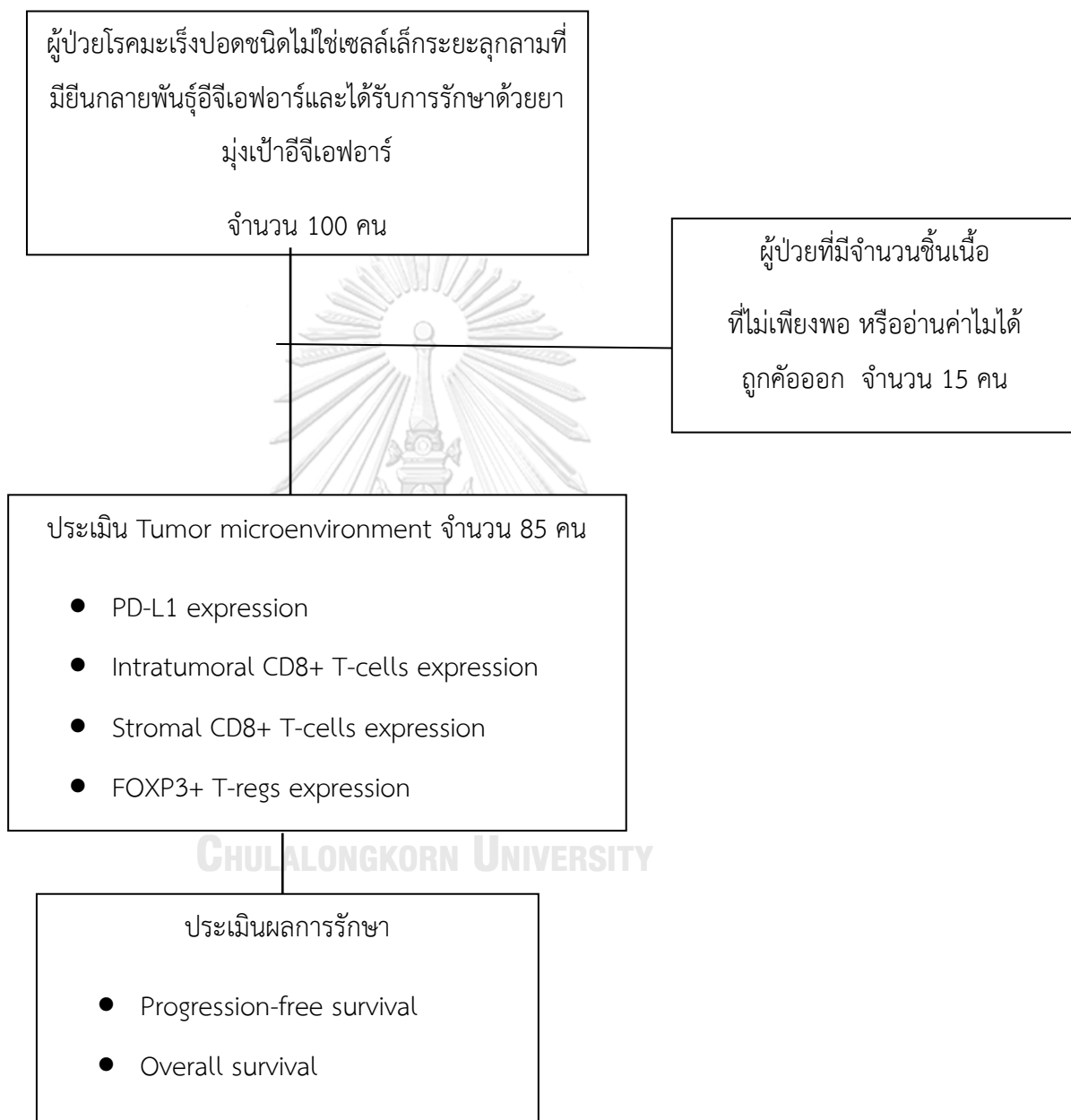
ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

4.1 ประชากรที่นำมาศึกษา

ผู้วิจัยได้เก็บรวบรวมข้อมูลผู้ป่วยโรคมะเร็งปอดชนิดไม่ใช่เซลล์เล็กระยะลุกลาม ตั้งแต่วันที่ 1 มกราคม พ.ศ. 2564 ถึงวันที่ 31 ธันวาคม พ.ศ. 2565 มีผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยโรคมะเร็งปอดชนิดไม่ใช่เซลล์เล็กระยะลุกลาม และมีผลการตรวจพบยีนกลายพันธุ์อีจีเอฟอาร์ และได้รับการรักษาด้วยยามุ่งเป้าอีจีเอฟอาร์ ที่เข้ารับการรักษาที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ทั้งหมด 100 คน โดยมีผู้ป่วยที่อยู่ในเกณฑ์คัดออกจากงานวิจัยทั้งหมด 15 คน ซึ่งทั้งหมดเป็นผู้ป่วยที่มีผลการอ่าน immunohistochemistry ที่ไม่สมบูรณ์ เนื่องจากมีผลการตรวจชิ้นเนื้อที่ไม่เพียงพอต่อการย้อม หรือผลการตรวจชิ้นเนื้อไม่สมบูรณ์ จึงมีผู้ป่วยเข้าร่วมงานวิจัยเพื่อเข้าสู่กระบวนการคัดเลือกทั้งหมด 85 คน



รูปภาพที่ 7 แสดงแนวทางการวิจัย



4.2 ข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วย

ผู้ป่วยกลุ่มโรคมะเร็งปอดชนิดไม่ใช้เซลล์เดี่ยวระยะลุกลามแพร่กระจายที่มียื่นกลายพันธุ์อีจีเอฟอาร์ จำนวน 85 คน แบ่งเป็นผู้ป่วยที่มีการอักเสบของสภาวะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็งจำนวน 12 คน (ร้อยละ 14) และผู้ป่วยที่ไม่มีการอักเสบของสภาวะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็งทั้งหมด 73 คน (ร้อยละ 86) โดยมีค่ามัธยฐานของอายุเท่ากับ 65 ปี เพศชายจำนวน 21 คน (ร้อยละ 25) ผู้ป่วยส่วนใหญ่เป็นมะเร็งชนิด adenocarcinoma (ร้อยละ 94) ชนิดของอีจีเอฟอาร์กลายพันธุ์ที่พบมากที่สุดคือ ชนิด exon 19 deletion (ร้อยละ 66) รองลงมา คือชนิด exon 21 L858R (ร้อยละ 29) ผู้ป่วยส่วนใหญ่ได้รับการรักษาด้วยยามุ่งเป้ารุ่นที่ 1 (ร้อยละ 81) การประเมินสภาพความแข็งแรงของผู้ป่วยตาม Eastern Co-operation Oncology Group (ECOG) status อยู่ที่ 0-1 คะแนน (ร้อยละ 90) โดยรวมพบว่าทั้งสองกลุ่ม มีความสมดุลใกล้เคียงกัน ไม่พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ 2 แสดงข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วย (baseline characteristics)

ลักษณะพื้นฐานของผู้ป่วย	ผู้ป่วยทั้งหมด จำนวน 85 คน	กลุ่มผู้ป่วยที่มีการ อักเสบของสภาวะ แวดล้อมรอบ เซลล์มะเร็ง (Inflamed tumor)จำนวน 12 คน	กลุ่มผู้ป่วยที่ไม่มีการ อักเสบของสภาวะ แวดล้อมรอบ เซลล์มะเร็ง (Non- inflamed tumor) จำนวน 73 คน	P-value
เพศ, จำนวน (ร้อยละ)				
เพศชาย	21 (24.7)	3 (25.0)	18 (24.7)	1.000
เพศหญิง	64 (75.3)	9 (75.0)	55 (75.3)	
อายุที่ได้รับการวินิจฉัย, จำนวน (ร้อยละ)				
อายุน้อยกว่า 60 ปี	23 (27.1)	3 (25.0)	20 (27.4)	1.000
อายุมากกว่าหรือเท่ากับ 60 ปี	62 (72.9)	9 (75.0)	53 (72.6)	
ประวัติการสูบบุหรี่, จำนวน (ร้อยละ)				
ไม่เคยสูบบุหรี่	72 (84.7)	11 (91.7)	61 (83.6)	0.410
เลิกสูบบุหรี่แล้ว	10 (11.8)	1 (8.3)	9 (12.3)	
ยังสูบบุหรี่อยู่	3 (3.5)	0 (0)	3 (4.1)	

ประเภททางพยาธิวิทยาของมะเร็งปอด, จำนวน (ร้อยละ)				
Adenocarcinoma	80 (94.1)	10 (83.3)	70 (95.9)	0.144
Non adenocarcinoma	5 (5.9)	2 (1.7)	3 (3.9)	
ระดับสมรรถภาพทางร่างกาย (ECOG PS), จำนวน (ร้อยละ)				
ECOG 0-1	77 (90.6)	11 (91.6)	66 (90.4)	1.000
ECOG 2-3	8 (9.4)	1 (8.3)	7 (9.5)	
ชนิดของยามุ่งเป้า (EGFR-TKIs), จำนวน (ร้อยละ)				
Erlotinib/Gefitinib	69 (81.2)	11 (91.6)	58 (79.5)	0.449
Osimertinib	16 (18.8)	1 (8.3)	15 (20.5)	
ชนิดของยีนกลายพันธุ์ก่อมะเร็ง (EGFR mutation), จำนวน (ร้อยละ)				
Exon 19 deletion	56 (65.9)	6 (50.0)	50 (68.5)	0.072
Exon 21 L858R	25 (29.4)	4 (33.3)	21 (28.8)	
Uncommon mutation	4 (4.7)	2 (16.7)	2 (2.7)	

EGFR: epidermal growth factor receptor, ECOG: Eastern Cooperative Oncology Group, TKIs: tyrosine kinase inhibitor, PS: performance status

ตารางที่ 3 แสดงผลการย้อม immunohistochemistry ของ tumor microenvironment

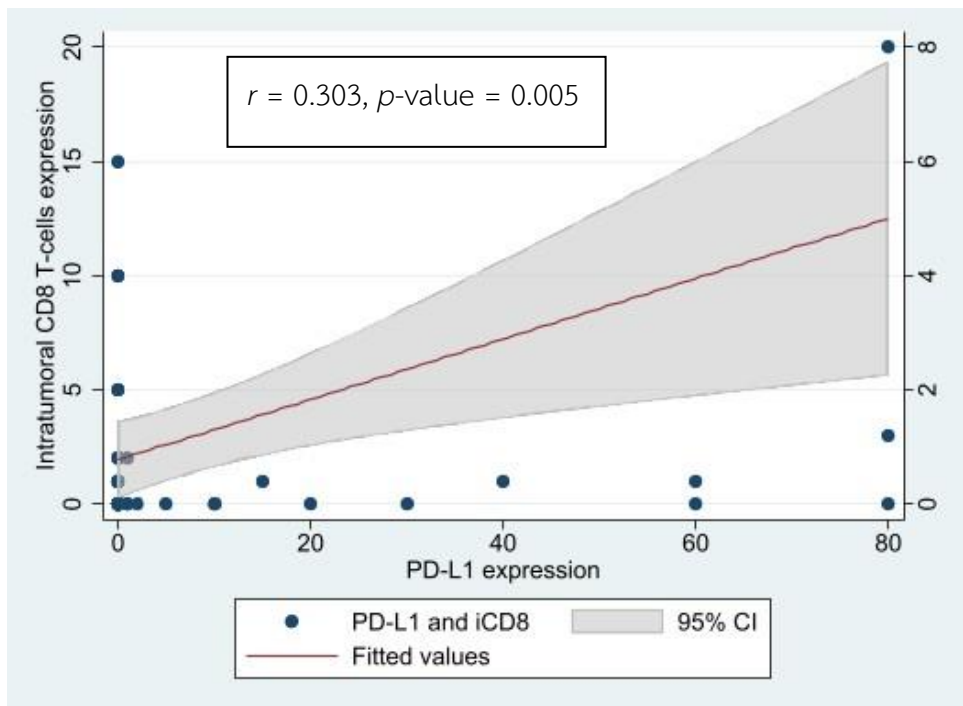
	PD-L1 expression	Intratumoral CD8 TILs	Stromal CD8 TILs	FOXP3 TILs
ค่ากลาง (%)	0	0	1.00	1.00
95%CI	1.97-9.68	0.41-1.75	3.12-7.26	3.37-9.50
ช่วงระยะ (%)	0-80	0-20	0-80	0-80

4.3 ผลลัพธ์หลักของงานวิจัย

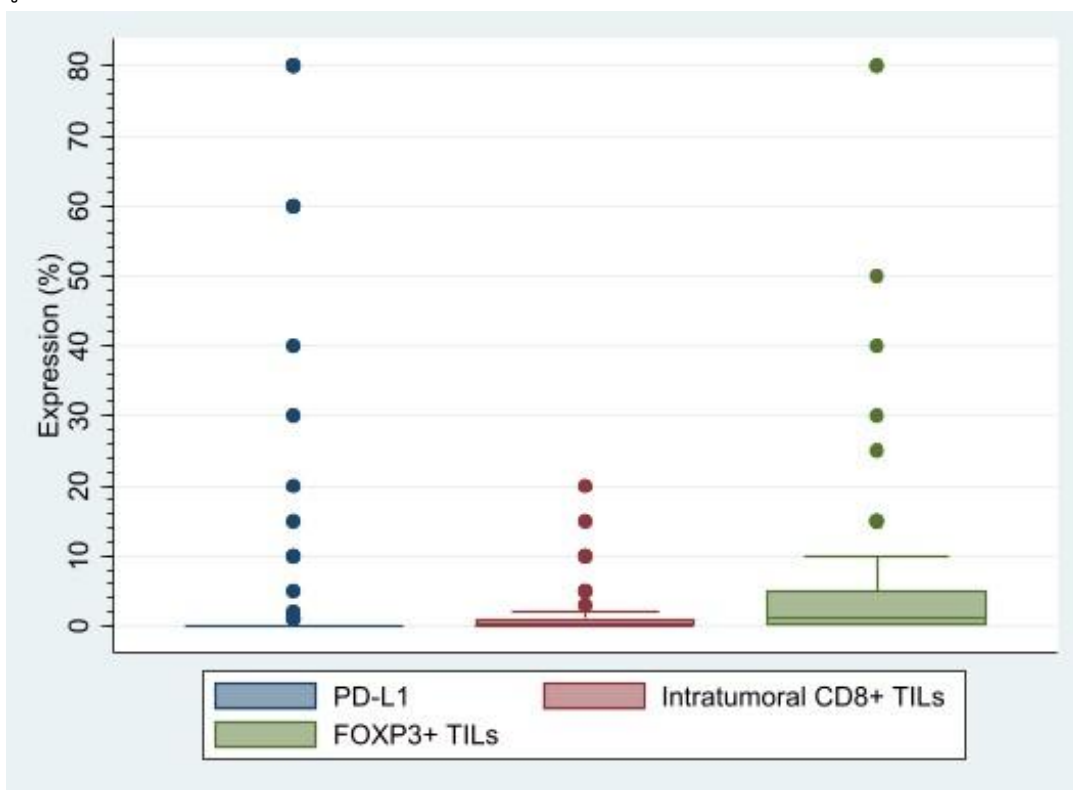
ในการศึกษานี้พบว่าค่ามัธยฐานของ PD-L1 เท่ากับ 0% (ช่วงระยะ 0-80%) ค่ามัธยฐานของ intratumoral CD8+ TILs เท่ากับ 0% (ช่วงระยะ 0-20%) ค่ามัธยฐานของ FOXP3+ TILs เท่ากับ 1% (ช่วงระยะ 0-80%) (ตารางที่ 3, รูปภาพที่ 9) โดยพบว่ามีค่า PD-L1 ที่มีการอักเสบ

จำนวน 9 คน (ร้อยละ 10.5) และ intratumoral CD8+ TILs ที่มีการอักเสบทั้งหมด 3 คน (ร้อยละ 3.5) เมื่อวิเคราะห์สหสัมพันธ์ของการแสดงออกของ PD-L1 และ intratumoral CD8+ TILs พบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์ (r ratio) เท่ากับ 0.3034 p-value = 0.005 ดังแสดงใน (รูปภาพที่ 8)

รูปภาพที่ 8 แสดงความสัมพันธ์ของ PD-L1 expression และ intratumoral CD8 TILs



รูปภาพที่ 9 แสดงสัดส่วนการกระจายตัวของ tumor microenvironment



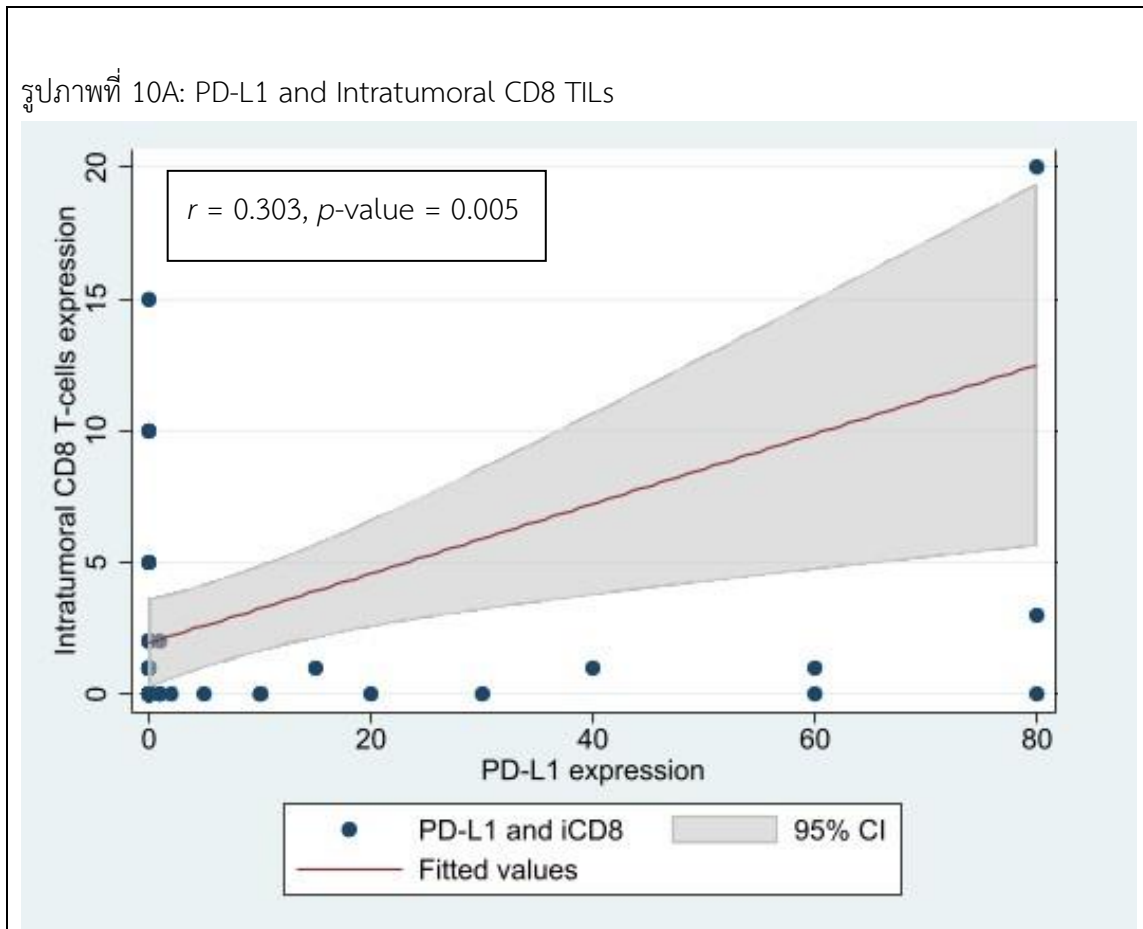
4.4 ผลลัพธ์รองของงานวิจัย

4.4.1 สหสัมพันธ์ของลักษณะสภาวะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็งชนิดต่างๆ

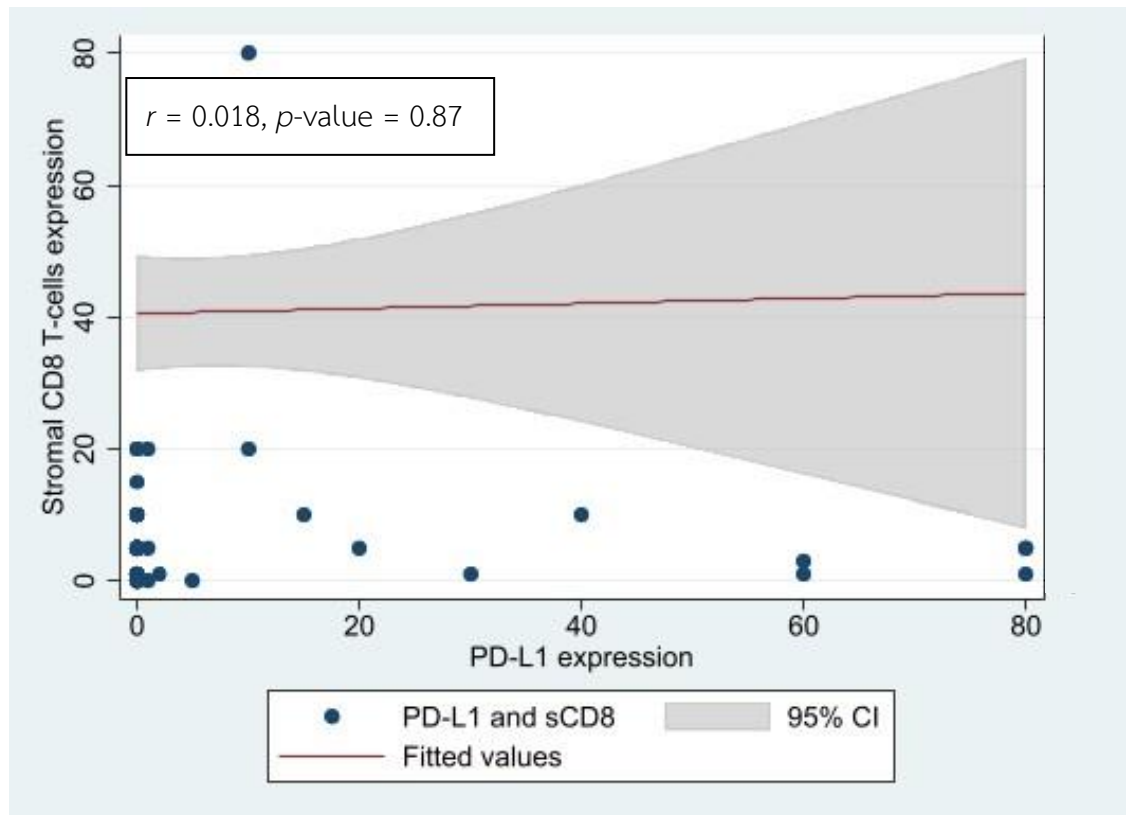
เมื่อวิเคราะห์สหสัมพันธ์ของการแสดงออกของ PD-L1 และ stromal CD8+ TILs พบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์ของความสัมพันธ์อยู่ที่ 0.018, p-value = 0.87 (รูปภาพที่ 10B) ของการแสดงออกของ PD-L1 และ total CD8+ TILs พบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์ของความสัมพันธ์อยู่ที่ 0.108, p-value = 0.326 (รูปภาพที่ 10C) สหสัมพันธ์ของการแสดงออกของ PDL1 และ FOXP3+ TILs พบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์ของความสัมพันธ์ เท่ากับ 0.2309, p-value = 0.034 (รูปภาพที่ 10D) สหสัมพันธ์ของการแสดงออกของ intratumoral CD8+ TILs และ FOXP3+ TILs พบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์ของความสัมพันธ์เท่ากับ -0.046, p-value = 0.678 (รูปภาพที่ 10E) และสหสัมพันธ์ของการแสดงออกของ total CD8+ TILs และ FOXP3+ TILs เท่ากับ 0.525, p-value < 0.0001 (รูปภาพที่ 10F)

รูปภาพที่ 10 แสดงความสัมพันธ์ของ Tumor microenvironment

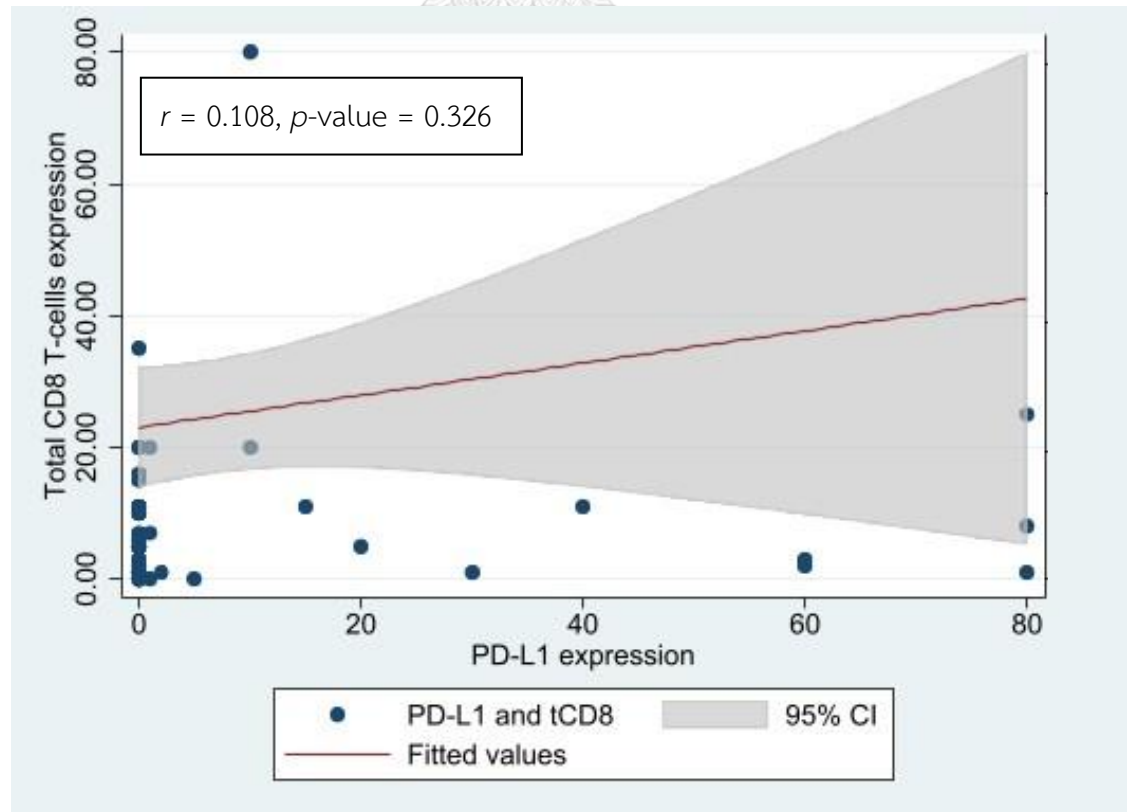
รูปภาพที่ 10A: PD-L1 and Intratumoral CD8 TILs



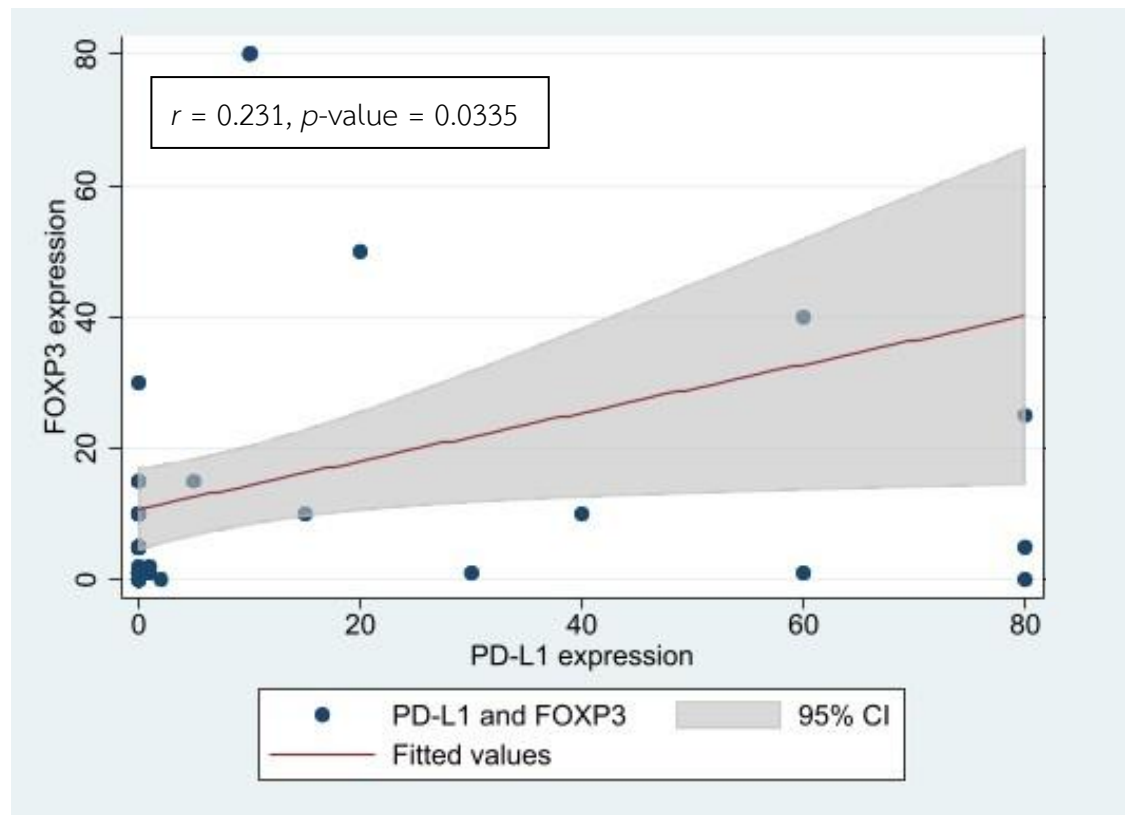
รูปภาพที่ 10B: PDL1 and stromal CD8 TILs



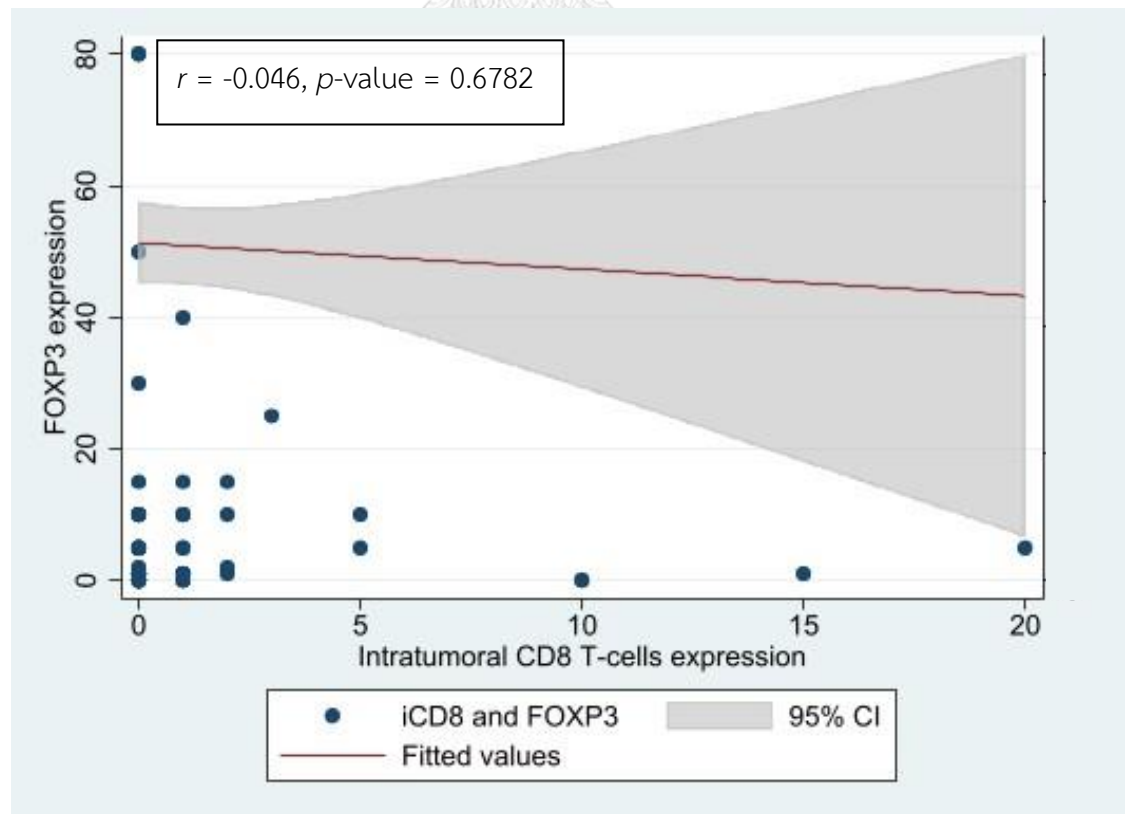
รูปภาพที่ 10C: PD-L1 and total CD8 TILs

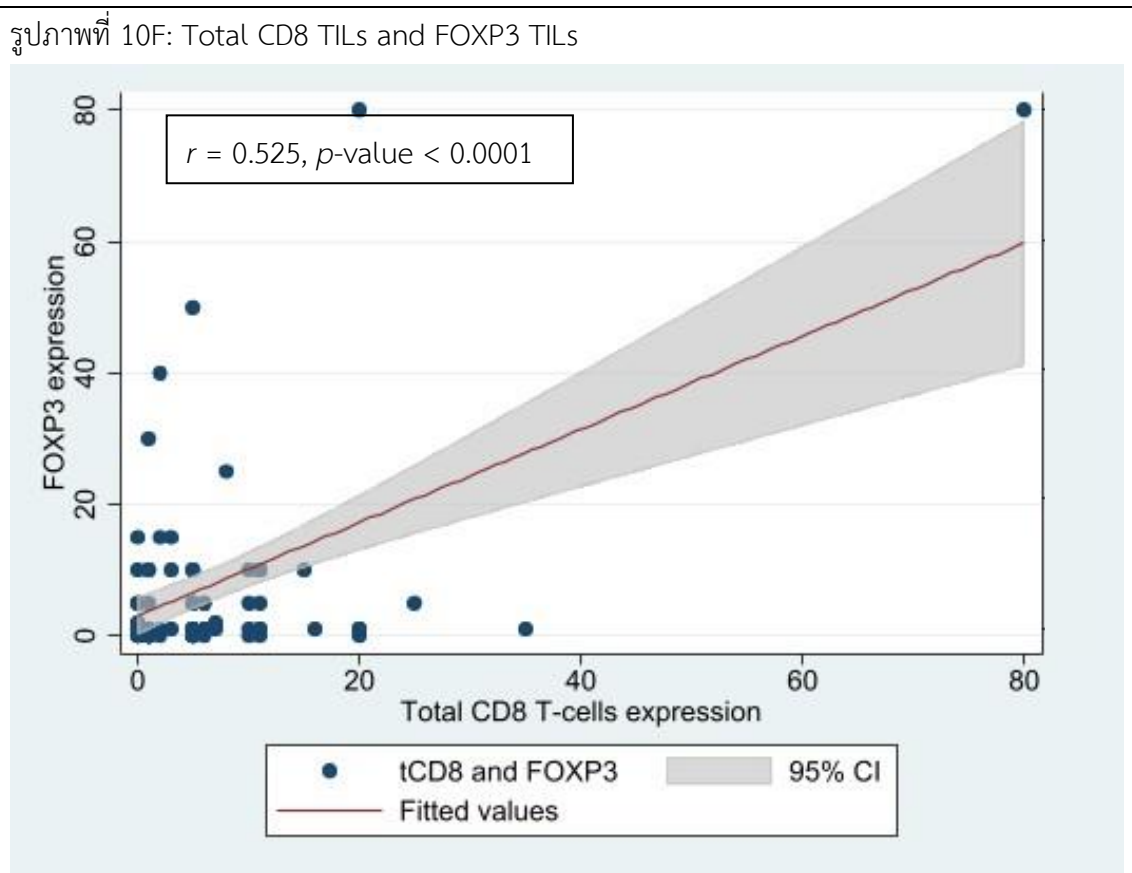


รูปภาพที่ 10D: PD-L1 and FOXP3 TILs



รูปภาพที่ 10E: Intratumoral CD8 TILs and FOXP3 TILs





4.4.2 ลักษณะสภาวะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็งกับอัตราการอยู่รอดโดยโรคสงบ (progression-free survival) และ อัตราการอยู่รอดโดยรวม (overall survival)

ผู้วิจัยได้ทำการวิเคราะห์ที่ลักษณะสภาวะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็งกับผลของการรักษาด้วยยามุ่งเป้าอีจีเอฟอาร์ พบว่าผู้ป่วยทั้งหมด 85 คน มีค่ามัธยฐานของอัตราการอยู่รอดโดยโรคสงบ (median progression-free survival) เท่ากับ 11.8 เดือน (ช่วงระยะ 0.1-35.1 เดือน) โดยพบว่าผู้ป่วยที่มีการอักเสบของสภาวะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็ง มีค่ามัธยฐานการอยู่รอดโดยโรคสงบ เท่ากับ 6.9 เดือน (ช่วงระยะ 0.6-19.1 เดือน) และผู้ป่วยที่ไม่มีการอักเสบของสภาวะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็ง เท่ากับ 12.6 เดือน (ช่วงระยะ 0.1-35.1 เดือน) (รูปภาพที่ 11)

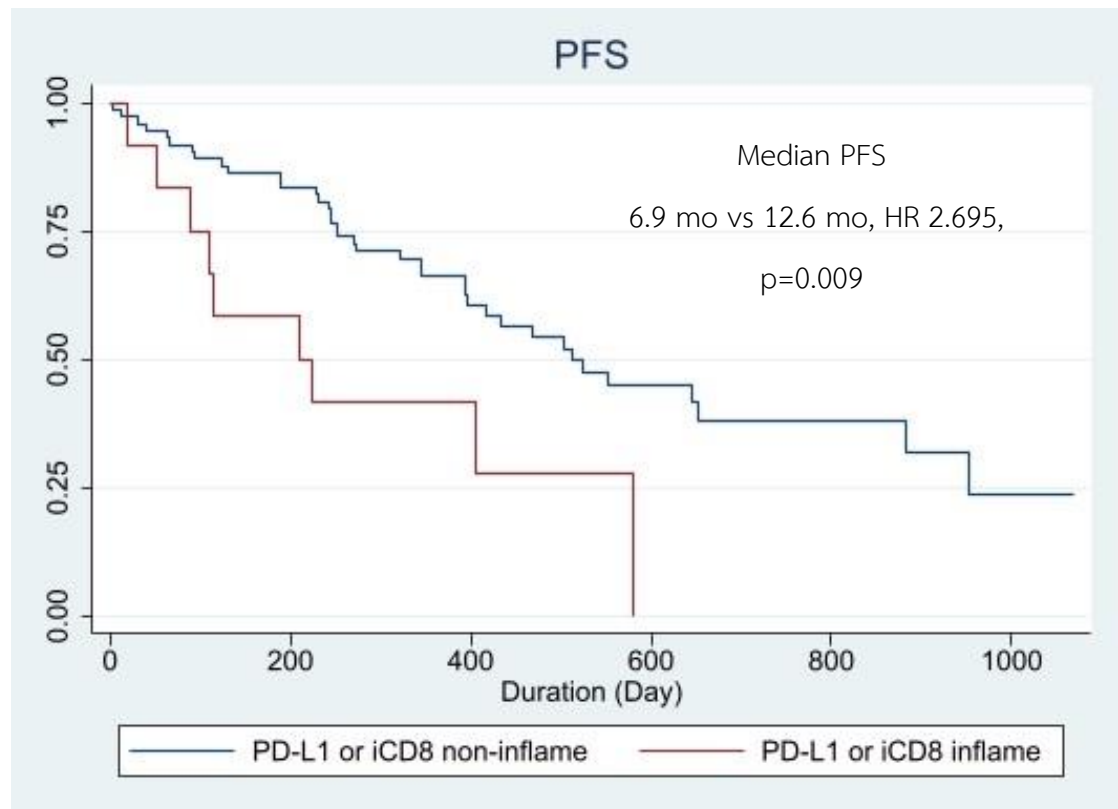
นอกจากนี้ผู้วิจัยได้ทำการวิเคราะห์โดยการเพิ่มการแสดงออกของ FOXP3 ไปในกลุ่มประชากรที่มีการอักเสบของสภาวะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็ง ค่ามัธยฐานของอัตราการอยู่รอดของโรคโดยสงบ เท่ากับ 11.8 เดือน (ช่วงระยะ 0.1-35.1 เดือน) โดยพบว่าผู้ป่วยที่มีการอักเสบของสภาวะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็ง มีค่ามัธยฐานของการอยู่รอดโดยโรคสงบ เท่ากับ 8.9 เดือน (ช่วงระยะ 0.1-

21.2 เดือน) และผู้ป่วยที่ไม่มีการอักเสบของสภาวะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็ง เท่ากับ 12.6 เดือน (ช่วงระยะ 0.4-35.1 เดือน) (รูปภาพที่ 12)

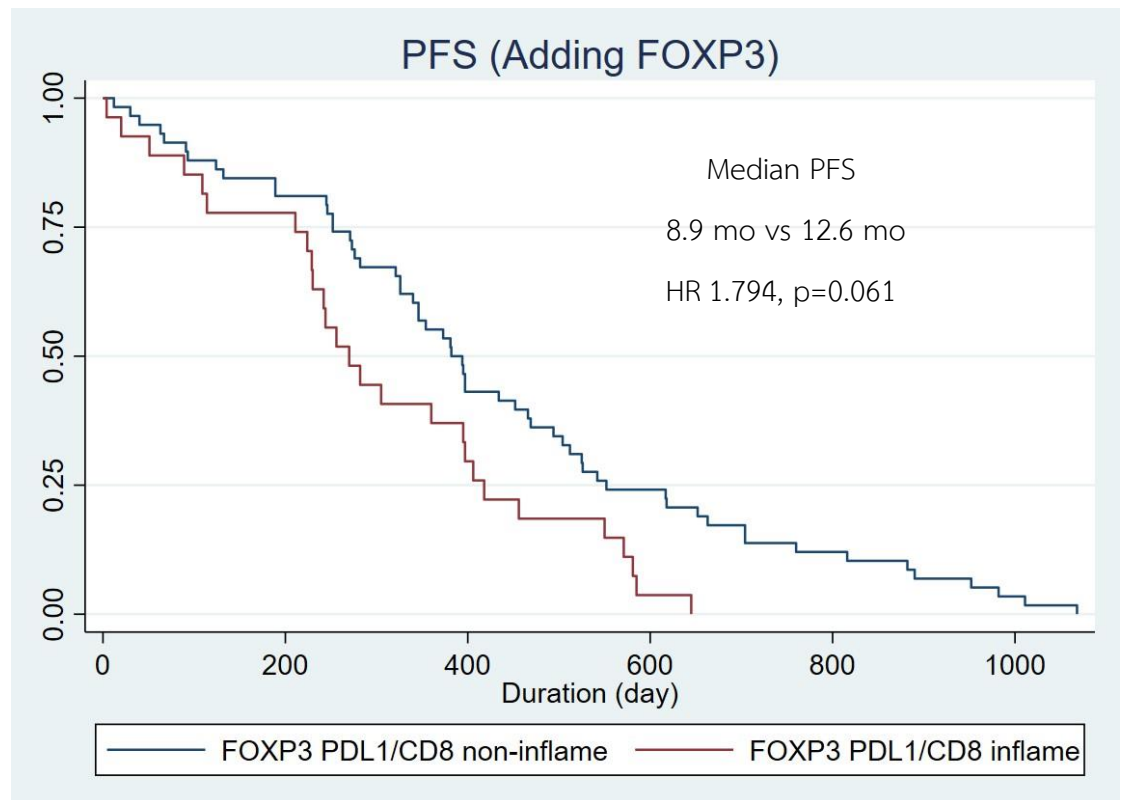
ผู้วิจัยได้ทำการวิเคราะห์ อัตราการอยู่รอดโดยรวม พบว่าผู้ป่วยทั้งหมด 85 คน มีค่ามัธยฐานของอัตราการอยู่รอดของโรคโดยรวม เท่ากับ 16.2 เดือน (ช่วงระยะ 0.1-35.1 เดือน) โดยพบว่าผู้ป่วยที่มีอาการอักเสบของสภาวะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็ง มีค่ามัธยฐานของการอยู่รอดโดยรวม เท่ากับ 10.4 เดือน (ช่วงระยะ 0.6-19.1 เดือน) และผู้ป่วยที่ไม่มีอาการอักเสบของสภาวะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็ง มีค่ามัธยฐานของการอยู่รอดโดยรวมเท่ากับ 18 เดือน (ช่วงระยะ 0.1-35.1 เดือน) (รูปภาพที่ 13)

นอกจากนี้ผู้วิจัยได้ทำการวิเคราะห์โดยการเพิ่มการแสดงออกของ FOXP3 ไปในกลุ่มประชากรที่มีการอักเสบของสภาวะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็ง ค่ามัธยฐานของอัตราการอยู่รอดของโรคโดยรวม เท่ากับ 16.2 เดือน (ช่วงระยะ 0.1-35.1 เดือน) โดยพบว่าผู้ป่วยที่มีการอักเสบของสภาวะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็ง มีค่ามัธยฐานของการอยู่รอดโดยรวม เท่ากับ 14.7 เดือน (ช่วงระยะ 0.1-21.2 เดือน) และผู้ป่วยที่ไม่มีการอักเสบของสภาวะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็ง เท่ากับ 18.1 เดือน (ช่วงระยะ 0.4-35.1 เดือน) (รูปภาพที่ 14)

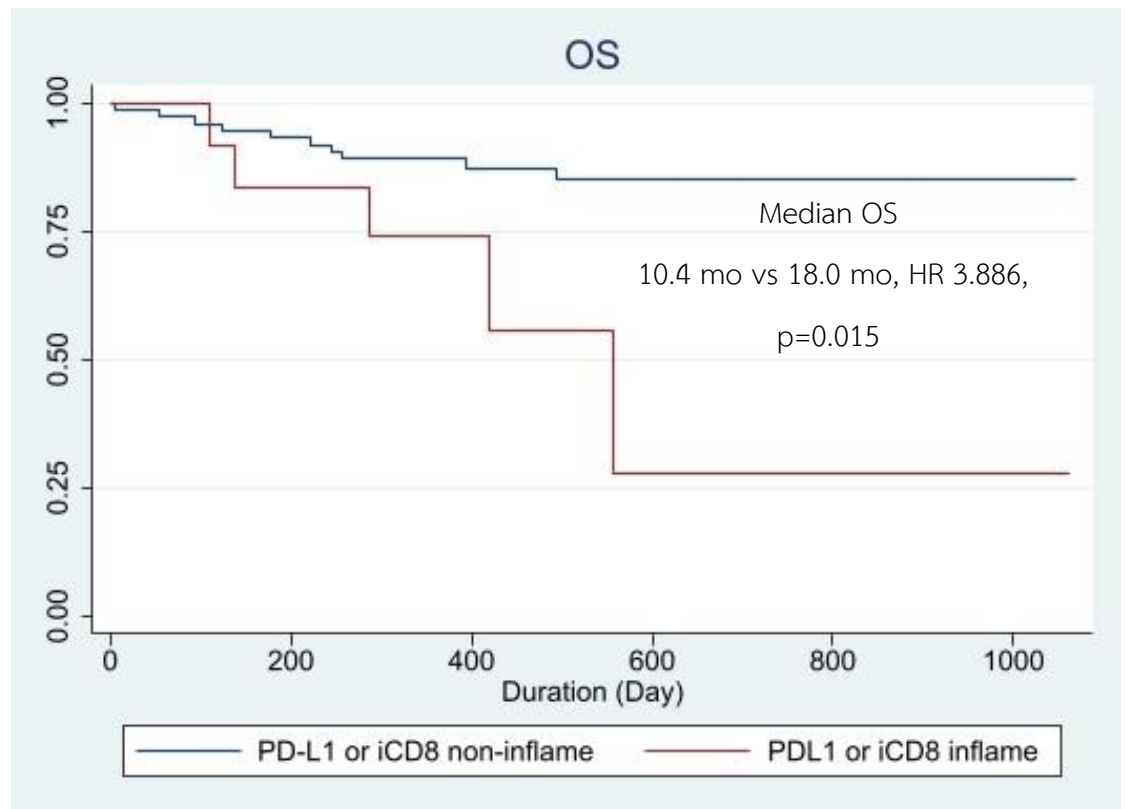
รูปภาพที่ 11 กราฟแสดงอัตราการอยู่รอดโดยโรคสงบ (progression-free survival) ของกลุ่มผู้ป่วยที่มีภาวะ inflamed tumor microenvironment และ non-inflamed tumor microenvironment



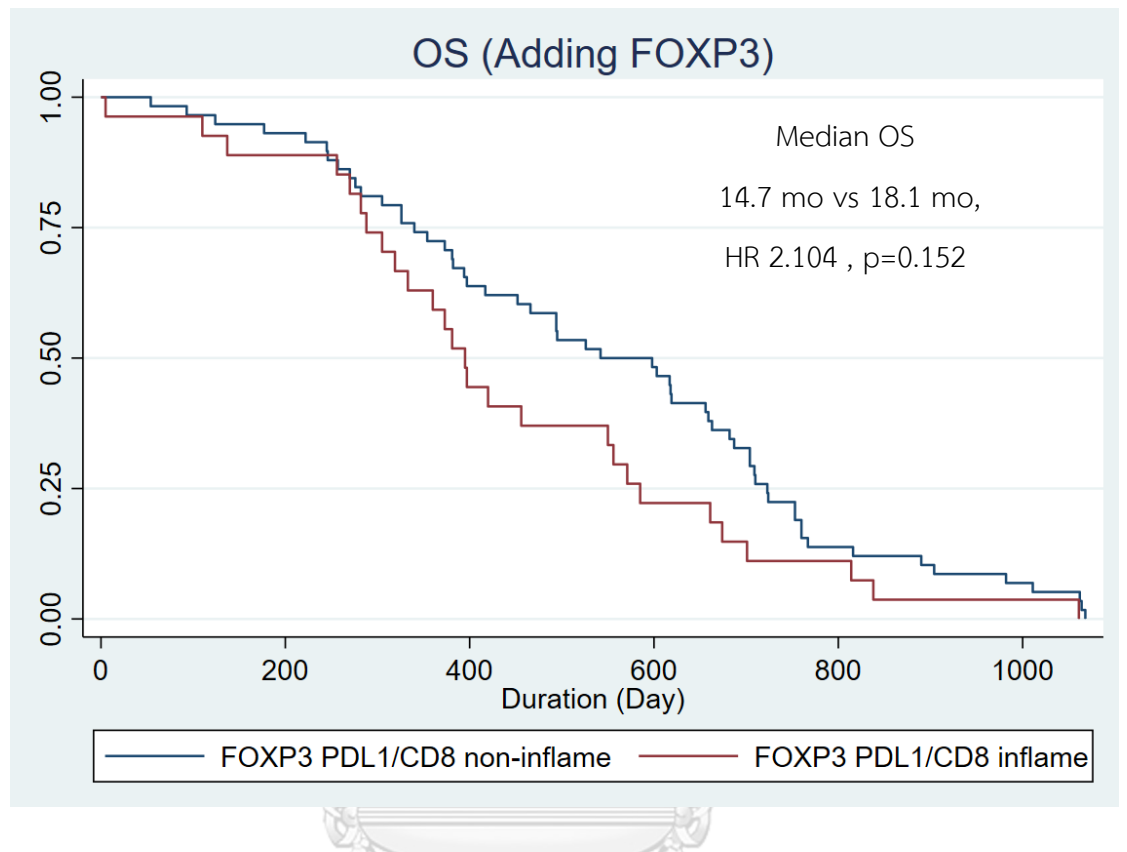
รูปภาพที่ 12 กราฟแสดงอัตราการอยู่รอดโดยโรคสงบ (progression-free survival) ของกลุ่มผู้ป่วยที่มีภาวะ inflamed tumor microenvironment และ non-inflamed tumor microenvironment เมื่อทำการเพิ่ม FOXP3 TILs ที่มีสถานะการอักเสบเข้าไป



รูปภาพที่ 13 กราฟแสดงอัตราการอยู่รอดโดยรวม (overall survival) ของกลุ่มผู้ป่วยที่มีภาวะ inflamed tumor microenvironment และ non-inflamed tumor microenvironment



รูปภาพที่ 14 กราฟแสดงอัตราการอยู่รอดโดยรวม (overall survival) ของกลุ่มผู้ป่วยที่มีภาวะ inflamed tumor microenvironment และ non-inflamed tumor microenvironment เมื่อทำการเพิ่ม FOXP3 TILs ที่มีสภาวะการอักเสบเข้าไป



4.4.3 การวิเคราะห์อัตราการพยากรณ์โรคของอัตราการอยู่รอดโดยโรคสงบและอัตราการอยู่รอดโดยรวมแบบตัวแปรเดียวและพหุตัวแปร (Univariate and multivariable analysis of prognostic parameters for progression-free survival and overall survival)

ผู้วิจัยได้นำข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วย (baseline characteristics) รวมถึง PD-L1 expression, intratumoral CD8 TILs และ FOXP3 TILs มาวิเคราะห์ โดยใช้ Cox proportional hazard regression models (ตารางที่ 4) สำหรับการวิเคราะห์ univariate analysis ของอัตราการอยู่รอดของโรคโดยสงบ (progression-free survival) พบว่ากลุ่มผู้ป่วยที่มีสภาวะการอักเสบของสภาวะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็ง (inflamed tumor microenvironment) พบว่ามี progression-free survival ที่สั้นกว่ากลุ่มผู้ป่วยที่ไม่มีสภาวะการอักเสบของสภาวะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็ง (non inflamed tumor microenvironment โดยมี Hazard ratio (HR) 2.695; 95% CI 1.281-5.668, p-value = 0.009 และเมื่อผู้วิจัยได้ทำการเพิ่มการแสดงออกของ FOXP3 เข้าไปในกลุ่มประชากรที่มี

การอักเสบของสภาวะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็ง พบว่ามี HR 1.794; 95% CI 0.972-3.309, p-value = 0.061, ระดับ ECOG performance status ≥ 2 สัมพันธ์กับ progression-free survival ที่สั้นกว่า ระดับ ECOG performance status 0-1 พบว่ามี HR 4.586; 95% CI 2.098-10.023. p=0.001

สำหรับการวิเคราะห์ multivariate analysis พบว่าปัจจัยที่มีผลต่อ progression-free survival ได้แก่ ระดับ ECOG performance status ≥ 2 และการได้รับยามุ่งเป้าอีจีเอพอาร์รุ่นที่ 3 โดยมี HR 4.221; 95% CI 1.849-9.635, p-value = 0.001 และ HR 0.168; 95% CI 0.039-0.713, p-value = 0.016 ตามลำดับ สำหรับการวิเคราะห์ multivariate analysis ปัจจัยอื่นๆ แสดงผลดังตารางที่ 4

นอกจากนี้ผู้วิจัยได้มีการวิเคราะห์ univariate analysis สำหรับอัตราการอยู่รอดโดยรวม (overall survival) พบว่าผู้ป่วยที่มี inflamed tumor microenvironment มี overall survival ที่สั้นกว่ากลุ่มผู้ป่วยที่มี non-inflamed tumor microenvironment HR 3.886; 95% CI 1.308-11.540, p-value = 0.015, กลุ่มผู้ป่วยที่เป็น non adenocarcinoma มี overall survival ที่น้อยกว่า adenocarcinoma HR 5.294; 95% CI 1.487-18.846, p-value = 0.010, กลุ่มผู้ป่วยที่มี ECOG performance status ≥ 2 มี overall survival ที่สั้นกว่า ECOG performance status 0-1 HR 1.721; 95% CI 2.158-18.649, p-value = 0.001

สำหรับการวิเคราะห์ multivariate analysis ที่มีผลต่อ overall survival ได้แก่ ภาวะ Inflamed tumor microenvironment, ECOG performance status ≥ 2 , มะเร็งปอดชนิด non-adenocarcinoma โดยมี HR 3.500; 95% CI 1.037-11.809, p-value = 0.043, HR 12.314; 95% CI 3.395-44.662, p-value < 0.001 และ HR 7.40; 95% CI 1.532-35.833, p-value = 0.013 ตามลำดับ สำหรับการวิเคราะห์ multivariate analysis ปัจจัยอื่นๆ แสดงผลดังตารางที่ 5

ตารางที่ 4 การวิเคราะห์ปัจจัยที่มีผลกับ progression-free survival แบบตัวแปรเดียวและพหุตัวแปร

PFS	Univariate analyses			Multivariate analyses			
	ตัวแปร	HR	95% CI	p-value	HR	95% CI	p-value
สถานะของสภาวะ แวดล้อมรอบเซลล์มะเร็ง (Inflamed vs. non- inflamed tumor)		2.695	1.281-5.668	0.009	2.110	0.968- 4.599	0.060
สถานะของสภาวะ แวดล้อมรอบเซลล์ มะเร็งเมื่อใช้ FOXP3+ TILs (FOXP3+TILs inflamed vs. FOXP3- TILs non-inflamed)		1.794	0.972-3.309	0.061	-	-	-
อายุ (≥ 60 ปี vs <60 ปี)		1.337	0.691-2.585	0.387	1.008	0.493- 2.058	0.983
ชนิดของมะเร็งปอดแบ่ง ตามพยาธิวิทยา (non- adenocarcinoma vs adenocarcinoma)		1.710	0.611-4.782	0.306	1.557	0.502- 4.826	0.443
ระดับสมรรถภาพทาง ร่างกาย (≥ 2 vs 0-1)		4.586	2.098- 10.023	0.001	4.221	1.849- 9.635	0.001
ชนิดของยามุ่งเป้า EGFR-TKIs (ยารุ่นที่ 3 vs ยารุ่นที่ 1)		0.139	0.033-0.577	0.007	0.168	0.039- 0.713	0.016
เพศ (หญิง vs ชาย)		0.900	0.464-1.746	0.757	1.229	0.515- 2.934	0.642
ประวัติการสูบบุหรี่ (เคย สูบบุหรี่หรือยังสูบบุหรี่ vs ไม่ เคยสูบบุหรี่)		1.085	0.501-2.352	0.834	1.270	0.464- 3.472	0.641

ตารางที่ 5 การวิเคราะห์ปัจจัยที่มีผลกับ overall survival แบบตัวแปรเดียวและพหุตัวแปร

OS Variables	Univariate			Multivariate		
	HR	95% CI	p-value	HR	95% CI	p-value
สถานะของสภาวะ แวดล้อมรอบ เซลล์มะเร็ง (Inflamed vs. non-inflamed tumor)	3.886	1.308- 11.540	0.015	3.500	1.037- 11.809	0.043
สถานะของสภาวะ แวดล้อมรอบเซลล์ มะเร็งเมื่อใช้ FOXP3+ TILs (FOXP3+TILs inflamed vs. FOXP3- TILs non-inflamed)	2.104	0.761- 5.818	0.152	-	-	-
อายุ (≥ 60 ปี vs <60 ปี)	1.721	0.484- 6.112	0.401	1.164	0.294- 4.612	0.828
ชนิดของมะเร็งปอดแบ่ง ตามพยาธิวิทยา (non- adenocarcinoma vs adenocarcinoma)	5.294	1.487- 18.846	0.010	7.410	1.532- 35.833	0.013
ระดับสมรรถภาพทาง ร่างกาย (≥ 2 vs 0-1)	6.345	2.158- 18.649	0.001	12.314	3.395- 44.662	<0.001
ชนิดของยามุ่งเป้า EGFR-TKIs (ยารุ่นที่ 3 vs ยารุ่นที่ 1)	0.693	0.156- 3.079	0.631	1.299	0.266- 6.334	0.746
เพศ (หญิง vs ชาย)	1.393	0.392- 4.941	0.608	3.013	0.553- 16.402	0.202
ประวัติการสูบบุหรี่ (เคยสูบบุหรี่หรือยังสูบบุหรี่ vs ไม่เคยสูบบุหรี่)	0.743	0.167- 3.307	0.697	0.939	0.123- 7.175	0.952

บทที่ 5

อภิปรายผล สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 อภิปรายผล

การศึกษานี้จัดทำขึ้นเพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของลักษณะสภาวะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็งของผู้ป่วยโรคมะเร็งปอดชนิดไม่ใช้เซลล์เล็กระยะลุกลามและได้รับการรักษาด้วยยามุ่งเป้าอีจีเอฟอาร์ โดยประเมินสภาวะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็งจากการย้อมอิมมูโนฮิสโตเคมีประเมินการแสดงออกของ PD-L1, CD8 TILs และ FOXP3 TILs โดยมีผู้ป่วยเข้าร่วมการศึกษาทั้งหมด 85 คน พบว่า PD-L1 expression มีสหสัมพันธ์ในเชิงบวกกับ intratumoral CD8 TILs ($r = 0.3034$, $p=0.005$) แต่ไม่มีสหสัมพันธ์กับ stromal TILs ซึ่งก่อนหน้านี้มีการศึกษาความสัมพันธ์ของ PD-L1 และ CD8 TILs ในผู้ป่วยโรคมะเร็งตับ (33) มะเร็งกระเพาะอาหาร (34) และมะเร็งท่อน้ำดี (35) โดยก่อนหน้านี้กลุ่มผู้ศึกษาวิจัยเคยทำวิจัยและได้ตีพิมพ์ผลงานวิจัยเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่าง intratumoral CD8 TILs และระดับ T-cell derived circulating DNA ซึ่งพบว่า intratumoral CD8 TILs เป็นตัวแทนของการแสดงออกของ active T-lymphocyte activity เพื่อที่จะกำจัดเซลล์มะเร็ง (28) ซึ่งการวิจัยนี้ก็พบสหสัมพันธ์ของ PD-L1 และ CD8 TILs ของผู้ป่วยโรคมะเร็งปอดชนิดไม่ใช้เซลล์เล็กระยะลุกลามที่มียื่นกลายพันธุ์อีจีเอฟอาร์และได้รับการรักษาด้วยยามุ่งเป้าอีจีเอฟอาร์

ในการศึกษานี้ ใช้การวัดระดับ intratumoral TILs แทนที่ใช้ stromal TILs ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาก่อนหน้านี้ที่มักจะนิยมใช้การวัด stromal TILs เนื่องจากวัด stromal TILs ทำได้ง่ายกว่า แต่จากการศึกษาในระยะหลัง พบว่า intratumoral TILs นั้นมีสหสัมพันธ์กับการทำงานของ T cell lymphocyte มากกว่า stromal TILs ในการศึกษานี้จึงพิจารณาใช้ intratumoral TILs ในการวัดผลค่าถามหลักของงานวิจัย

Regulatory T-cell ซึ่งเป็น T-cell ชนิดหนึ่งที่คอยกดภูมิคุ้มกันและสัมพันธ์กับอัตราการควบคุมโรคของมะเร็ง สำหรับผลการศึกษานี้ได้มีการวิเคราะห์ exploratory analysis โดยการดู FOXP3 TILs ซึ่งเป็นหนึ่งในตัวแทนการแสดงออกของ regulatory T-cells ซึ่งพบว่ามีสหสัมพันธ์กันในระดับน้อยกับการแสดงออกของ PD-L1 ($r = 0.2309$, $p=0.033$) อย่างไรก็ตาม ผู้วิจัยได้ทำการทดสอบโดยการเพิ่ม FOXP3 TILs เข้าไปในกลุ่มประชากร inflamed tumor microenvironment ไม่ได้ทำให้แยกความแตกต่างของ progression-free survival และ overall survival ได้ดีขึ้น ดังนั้น

การใช้ regulatory T-cell ไม่ได้เป็นสิ่งที่ทำให้แยกความแตกต่างของผู้ป่วยโรคมะเร็งปอดชนิดไม่ใช้เซลล์เล็กระยะลุกลามที่มีอินกลายพันธุจีเอพอาร์และได้รับการรักษาด้วยยามุ่งเป้าจีเอพอาร์

ชนิดของสภาวะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็งประกอบ ส่วนหนึ่งไปด้วยการหลบหลีกภูมิคุ้มกันที่ จะกำจัดเซลล์มะเร็งซึ่งเป็นปัจจัยที่ทำให้มะเร็งเจริญเติบโตมากขึ้น สำหรับ PD-L1 ที่มีการแสดงออก มากขึ้นบนเซลล์มะเร็งและการที่ T-cell ตอบสนองที่ลดลง ทำให้เกิดสภาวะภูมิคุ้มกันอ่อนล้าและ มักจะแสดงออกใน Tumor infiltrating lymphocyte ในขณะที่ CD8 T cells มักจะเป็นสิ่งที่ทำให้เกิดการกระตุ้นการกำจัดเซลล์มะเร็งโดยการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน อย่างไรก็ตาม ในผู้ป่วยที่เป็นมะเร็งปอด ชนิดไม่ใช้เซลล์เล็กที่เป็นชนิด adenocarcinoma ของผู้ป่วยที่ไม่สูบบุหรี่ มีการศึกษาว่าการที่ผู้ป่วยมี CD8 TILs ที่มีปริมาณมากนั้นจะเป็นตัวที่บ่งชี้ถึงพยากรณ์โรคที่ไม่ดี (36) ซึ่งการศึกษาวินิจฉัยนี้ ผู้วิจัยได้ ออกแบบการวิจัยมา เพื่อตอบคำถามดังกล่าว โดยจำเพาะไปในกลุ่มผู้ป่วยที่เป็นมะเร็งปอดชนิดไม่ใช้ เซลล์เล็กระยะลุกลามที่มีอินกลายพันธุจีเอพอาร์ ซึ่งส่วนใหญ่มักเป็นกลุ่มประชากรที่ไม่สูบบุหรี่

การศึกษานี้ได้ทำการศึกษาในกลุ่มประชากรที่เป็นมะเร็งปอดชนิดไม่ใช้เซลล์เล็กระยะลุกลาม ที่มีอินกลายพันธุจีเอพอาร์ โดยประชากรส่วนใหญ่ที่มีอินกลายพันธุจีเอพอาร์นั้น มักจะเป็นกลุ่ม ประชากรที่ไม่สูบบุหรี่ (37) โดยในการศึกษานี้ประชากรส่วนใหญ่ถึงร้อยละ 85 ก็เป็นกลุ่มประชากรที่ไม่เคยสูบบุหรี่มาก่อน ซึ่งประชากรที่ไม่สูบบุหรี่นั้นมักจะไม่มีการอักเสบของสภาวะแวดล้อมรอบ เซลล์มะเร็ง จะเห็นได้จากการกระจายของประชากรในการศึกษา ซึ่งส่วนใหญ่จะมี PD-L1, intratumoral CD8 TILs, stromal TILs, FOXP3 TILs ที่ต่ำ โดยมีค่ากลางที่ร้อยละ 0 อย่างไรก็ตาม ผลลัพธ์หลักของการวิจัย เป็นการประเมินสหสัมพันธ์ของสภาวะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็งพบว่าการ แสดงออกของ PD-L1 นั้นมีสหสัมพันธ์เชิงบวกกับ intratumoral CD8 TILs ซึ่งเป็นไปตามสมมติฐาน ที่ตั้งไว้ นอกจากนี้ผลการวิเคราะห์สหสัมพันธ์การแสดงออกของ PD-L1 และ stromal CD8 TILs นั้น ไม่ได้มีสหสัมพันธ์กับ PD-L1 ซึ่งผลการศึกษานี้ก็เป็นไปตามสมมติฐานที่ตั้งไว้เช่นเดียวกัน

สำหรับการศึกษานี้มีการประเมินสภาวะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็ง โดยอาศัยการประเมินการ แสดงออกของ PD-L1 และ intratumoral CD8 TILs พบว่า ผู้ป่วยที่มี inflamed tumor microenvironment สัมพันธ์กับอัตราการอยู่รอดโดยรวม (overall survival) ที่สั้นกว่า โดยมี HR 3.500, 95% CI: 1.037-11.809, p-value = 0.043 สำหรับการแยกกลุ่มผู้ป่วยที่มี inflamed tumor microenvironment และ non-inflamed tumor microenvironment ซึ่งกลุ่มผู้ป่วยที่มี inflamed tumor microenvironment ก็มีแนวโน้มที่จะมี progression-free survival ที่สั้นกว่า เช่นกัน โดยมี HR 2.111, 95% CI: 0.968-4.599, p-value = 0.06 ซึ่งผู้วิจัยได้มีการวิเคราะห์แบบ พหุตัวแปรทั้ง progression-free survival และ overall survival พบว่าผลการวิเคราะห์เป็นไปใน ทิศทางเดียวกัน โดยใน progression-free survival พบว่าปัจจัยที่เป็น independent factor ได้แก่ ระดับสมรรถภาพทางร่างกายที่มากกว่าเท่ากับ 2 (ECOG performance status ≥ 2) มักจะมี

progression-free survival ที่ไม่ดี โดยอธิบายได้จากการที่ผู้ป่วยมีสมรรถภาพทางร่างกายที่ไม่ดีอยู่เดิม จึงเป็นผลให้อัตราการควบคุมโรคได้ไม่ดี และอีกปัจจัยที่เป็ย independent factor สำหรับ progression-free survival คือ ชนิดของยามุ่งเป้ารุ่นที่ 3 ได้แก่ osimertinib มี progression-free survival ที่ดีกว่า ชนิดของยามุ่งเป้ารุ่นที่ 1 ได้แก่ erlotinib และ gefitinib ซึ่งก็เป็นไปตามผลการศึกษาก่อนหน้านี้ (38)

สำหรับในเรื่องของ overall survival ผู้วิจัยได้ทำการวิเคราะห์พหุตัวแปรเช่นเดียวกัน ซึ่งผลการวิเคราะห์ก็เป็นไปในทิศทางที่คล้ายกับการวิเคราะห์ progression-free survival แต่มีผลการวิเคราะห์ที่แตกต่างกัน ในเรื่องของการที่มีสภาวะการอักเสบของเซลล์มะเร็ง (tumor microenvironment inflammation) และระดับสมรรถภาพทางร่างกายที่มากกว่าเท่ากับ 2 (ECOG performance status ≥ 2) ซึ่งเป็นไปตามสมมติฐานที่คาดการณ์ไว้ว่าผู้ป่วยน่าจะมีอัตราการอยู่รอดโดยรวมที่ต่ำกว่า นอกจากนี้สิ่งที่เป็น independent factor ต่อ overall survival อีกอย่างหนึ่งได้แก่ ผู้ป่วยที่มีพยาธิวิทยาของมะเร็งปอดชนิดที่ไม่ใช่ adenocarcinoma มักจะมีอัตราการอยู่รอดโดยรวมที่ต่ำกว่าผู้ป่วยที่มีพยาธิวิทยาของมะเร็งปอดชนิด adenocarcinoma ซึ่งอธิบายได้จาก ผู้ป่วยที่เป็น non-adenocarcinoma มักจะมีพยากรณ์โรคที่แย่กว่าผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิด adenocarcinoma จึงทำให้อัตราการอยู่รอดของโรคต่ำกว่า แต่สำหรับผู้ป่วยที่ได้รับยามุ่งเป้ารุ่นที่ 3 เมื่อเทียบกับยามุ่งเป้ารุ่นที่ 1 พบว่า overall survival ไม่ได้มีความแตกต่างกัน สามารถอธิบายได้จากเรื่องของการรักษาเสริมหรือ subsequent therapy ที่ผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มได้รับ จึงเป็นสาเหตุที่ทำให้ไม่เห็นความแตกต่างของ overall survival ได้

ผลการวิจัยนี้น่าจะเป็นสิ่งที่ช่วยให้แพทย์ได้มีความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับสหสัมพันธ์และผลการรักษาของโรคมะเร็งปอดชนิดไม่ใช่เซลล์เล็กกระยะลุกลามที่มียีนกลายพันธุ์จีเอพอาร์และได้รับการรักษาด้วยยามุ่งเป้าจีเอพอาร์ได้ดีมากขึ้น

5.2 สรุปผล

การศึกษานี้แสดงให้เห็นถึงสหสัมพันธ์ของสภาวะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็ง (tumor microenvironment) ในผู้ป่วยโรคมะเร็งปอดชนิดไม่ใช่เซลล์เล็กกระยะลุกลามที่มียีนกลายพันธุ์จีเอพอาร์ (advanced adenocarcinoma with EGFR mutation) และได้รับการรักษาด้วยยามุ่งเป้าจีเอพอาร์ ซึ่งพบว่า PD-L1 และ intratumoral CD8 TILs นั้นมีสหสัมพันธ์เชิงบวกและมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติต่อกันและกัน และนอกจากนี้พบว่าผู้ป่วยที่มีการอักเสบของสภาวะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็งจากการประเมิน PD-L1 และ intratumoral CD8 TILs ส่งผลต่อ overall survival ที่สั้นกว่าอย่างมีนัยสำคัญ และมีแนวโน้มที่จะมี progression-free survival ที่สั้นกว่ากลุ่มที่ไม่มีการ

อีกเสบของสภาวะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็ง ซึ่งอาจเป็นทางเลือกให้แพทย์พิจารณาเรื่องการรักษาในรูปแบบต่างๆได้มากขึ้น

5.3 เปรียบเทียบกับการศึกษาก่อนหน้า

เนื่องจากไม่เคยมีการศึกษาก่อนหน้านี้ ที่ศึกษาความสัมพันธ์ของสภาวะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็งที่ประเมินเรื่องการแสดงออก PDL1 กับ intratumoral CD8 TILs ในผู้ป่วยโรคมะเร็งปอดชนิดไม่ใช่เซลล์เล็กระยะลุกลามที่มียีนกลายพันธุ์อีจีเอฟอาร์และได้รับการรักษาด้วยยามุ่งเป้าอีจีเอฟอาร์มาก่อน จึงไม่สามารถเปรียบเทียบได้ อย่างไรก็ตาม เคยมีการศึกษาที่ดูเรื่องสภาวะแวดล้อมเซลล์มะเร็งของผู้ป่วยโรคมะเร็งปอดชนิดไม่ใช่เซลล์เล็กในระยะแรกที่ได้รับการรักษาโดยการผ่าตัด โดยไม่ได้ประเมินเรื่องยีนกลายพันธุ์อีจีเอฟอาร์ ซึ่งในการศึกษานั้นพบว่าผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของ PD-L1 น้อย มักจะมีการพยากรณ์โรคที่ดีกว่ากลุ่มประชากรที่มีการแสดงออกของ PD-L1 ที่มาก ร่วมกับกลุ่มประชากรที่มีการแสดงออกของ CD8 ที่มาก มักจะมีการพยากรณ์โรคที่ดีกว่ากลุ่มที่มีการแสดงออกของ CD8 ที่น้อยเช่นกัน และอีกการศึกษาที่มีการประเมิน

5.4 ข้อดีของการศึกษานี้

การศึกษานี้เป็นการศึกษาแบบไปข้างหน้า (prospective cohort study) จึงสามารถควบคุมปัจจัยรบกวนที่จะส่งผลต่อผลการศึกษา นอกจากนี้การศึกษานี้ยังเป็นการศึกษาแรกที่แสดงถึงสหสัมพันธ์ของสภาวะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็งของการแสดงออกของ PDL1 และ intratumoral CD8 TILs ในผู้ป่วยโรคมะเร็งปอดชนิดไม่ใช่เซลล์เล็กระยะลุกลามที่มียีนกลายพันธุ์อีจีเอฟอาร์และได้รับการรักษาด้วยยามุ่งเป้าอีจีเอฟอาร์ ซึ่งไม่สัมพันธ์กับ stromal CD8 TILs และสัมพันธ์กับการศึกษาก่อนหน้านี้ของคณะผู้วิจัย นอกจากนี้ผลการศึกษานี้สนับสนุนแนวคิดเรื่องการอักเสบของสภาวะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็งน่าจะมีการอัตราการควบคุมโรคทั้ง progression-free survival และ overall survival ที่สั้นกว่ากลุ่มที่ไม่ได้มีการอักเสบของสภาวะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็ง ซึ่งอาจจะช่วยให้แพทย์มีความรู้ความเข้าใจในการรักษาผู้ป่วยหรือใช้ในการเลือกการรักษาได้มากขึ้น

5.5 ข้อด้อยของการศึกษานี้

ข้อด้อยของการศึกษานี้ อย่างที่หนึ่ง การศึกษานี้เป็นการศึกษาจากผู้ป่วยในโรงพยาบาลเดียวเท่านั้น ซึ่งอาจจะไม่สามารถทดแทนประชากรทั้งหมดได้ อย่างที่สอง การศึกษานี้มีการอ่านผลของสภาวะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็ง ซึ่งอาจจะต้องใช้พยาธิแพทย์ผู้เชี่ยวชาญในการแปลผล โดยเฉพาะอย่างยิ่งการอ่านผล Intratumoral CD8 TILs และ FOXP3 TILs เนื่องจากการแปลผลและการอ่านผลของพยาธิแพทย์แต่ละสถาบันอาจมีความแตกต่างกัน

5.6 ข้อเสนอแนะ

พิจารณาทำการศึกษาในกลุ่มประชากรที่ใหญ่ขึ้น โดยอาจคัดเลือกผู้ป่วยที่เป็นมะเร็งปอดในระยะต้นมากขึ้น และอาจพิจารณาดูสถานะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็งชนิดอื่นๆเพิ่มเติม นอกเหนือจาก PD-L1, CD8 TILs และ FOXP3 TILs



บรรณานุกรม

1. Reungwetwattana T, Oranratnachai S, Puataweepong P, Tangsujaritvijit V, Cherntanomwong P. Lung Cancer in Thailand. *J Thorac Oncol*. 2020;15(11):1714-21.
2. Duma N, Santana-Davila R, Molina JR. Non-Small Cell Lung Cancer: Epidemiology, Screening, Diagnosis, and Treatment. *Mayo Clin Proc*. 2019;94(8):1623-40.
3. Wiryaukaradecha K BC, Udomchaiprasertkul W , Sricharunrat T , Petchjorm S , Lamlerththon W , Sritana N. Frequency of EGFR Mutations among Thai Non-Small Cell Lung Cancer [NSCLC] Patients. *J Med Assoc Thai* 2018;101:131.
4. Han SW, Kim TY, Hwang PG, Jeong S, Kim J, Choi IS, et al. Predictive and prognostic impact of epidermal growth factor receptor mutation in non-small-cell lung cancer patients treated with gefitinib. *J Clin Oncol*. 2005;23(11):2493-501.
5. Lynch TJ, Bell DW, Sordella R, Gurubhagavatula S, Okimoto RA, Brannigan BW, et al. Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N Engl J Med*. 2004;350(21):2129-39.
6. Wu T, Dai Y. Tumor microenvironment and therapeutic response. *Cancer Lett*. 2017;387:61-8.
7. Graves EE, Maity A, Le QT. The tumor microenvironment in non-small-cell lung cancer. *Semin Radiat Oncol*. 2010;20(3):156-63.
8. Lababede O, Meziane MA. The Eighth Edition of TNM Staging of Lung Cancer: Reference Chart and Diagrams. *Oncologist*. 2018;23(7):844-8.
9. Schwartz LH, Litiere S, de Vries E, Ford R, Gwyther S, Mandrekar S, et al. RECIST 1.1-Update and clarification: From the RECIST committee. *Eur J Cancer*. 2016;62:132-7.
10. Jiang Y, Zhao J, Zhang Y, Li K, Li T, Chen X, et al. Establishment of lung cancer patient-derived xenograft models and primary cell lines for lung cancer study. *J Transl Med*. 2018;16(1):138.

11. Cancer in Thailand [Internet]. New Thammada Press (Thailand) Co., Ltd. 2015. Available from: https://www.nci.go.th/th/File_download/Nci%20Cancer%20Registry/Cancer%20in%20Thailand8.pdf.
12. Delbaldo C, Michiels S, Syz N, Soria JC, Le Chevalier T, Pignon JP. Benefits of adding a drug to a single-agent or a 2-agent chemotherapy regimen in advanced non-small-cell lung cancer: a meta-analysis. *JAMA*. 2004;292(4):470-84.
13. Group NM-AC. Chemotherapy in addition to supportive care improves survival in advanced non-small-cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis of individual patient data from 16 randomized controlled trials. *J Clin Oncol*. 2008;26(28):4617-25.
14. Smyth MJ, Dunn GP, Schreiber RD. Cancer immunosurveillance and immunoediting: the roles of immunity in suppressing tumor development and shaping tumor immunogenicity. *Adv Immunol*. 2006;90:1-50.
15. Sato T, Terai M, Tamura Y, Alexeev V, Mastrangelo MJ, Selvan SR. Interleukin 10 in the tumor microenvironment: a target for anticancer immunotherapy. *Immunol Res*. 2011;51(2-3):170-82.
16. Alshaker HA, Matalka KZ. IFN-gamma, IL-17 and TGF-beta involvement in shaping the tumor microenvironment: The significance of modulating such cytokines in treating malignant solid tumors. *Cancer Cell Int*. 2011;11:33.
17. Rabinovich GA, Gabrilovich D, Sotomayor EM. Immunosuppressive strategies that are mediated by tumor cells. *Annu Rev Immunol*. 2007;25:267-96.
18. Monu NR, Frey AB. Myeloid-derived suppressor cells and anti-tumor T cells: a complex relationship. *Immunol Invest*. 2012;41(6-7):595-613.
19. El Hage F, Abouzahr-Rifai S, Meslin F, Mami-Chouaib F, Chouaib S. [Immune response and cancer]. *Bull Cancer*. 2008;95(1):57-67.
20. Fridman WH, Pages F, Sautes-Fridman C, Galon J. The immune contexture in human tumours: impact on clinical outcome. *Nat Rev Cancer*. 2012;12(4):298-306.
21. Schalper KA, Brown J, Carvajal-Hausdorf D, McLaughlin J, Velcheti V, Syrigos KN, et al. Objective measurement and clinical significance of TILs in non-small cell lung cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2015;107(3).

22. Isomoto K, Haratani K, Hayashi H, Shimizu S, Tomida S, Niwa T, et al. Impact of EGFR-TKI Treatment on the Tumor Immune Microenvironment in EGFR Mutation-Positive Non-Small Cell Lung Cancer. *Clin Cancer Res.* 2020;26(8):2037-46.
23. Teng MW, Ngiew SF, Ribas A, Smyth MJ. Classifying Cancers Based on T-cell Infiltration and PD-L1. *Cancer Res.* 2015;75(11):2139-45.
24. Jia Y, Li X, Jiang T, Zhao S, Zhao C, Zhang L, et al. EGFR-targeted therapy alters the tumor microenvironment in EGFR-driven lung tumors: Implications for combination therapies. *Int J Cancer.* 2019;145(5):1432-44.
25. Azuma K, Ota K, Kawahara A, Hattori S, Iwama E, Harada T, et al. Association of PD-L1 overexpression with activating EGFR mutations in surgically resected nonsmall-cell lung cancer. *Ann Oncol.* 2014;25(10):1935-40.
26. Giatromanolaki A, Banham AH, Harris AL, Koukourakis MI. FOXP3 infiltrating lymphocyte density and PD-L1 expression in operable non-small cell lung carcinoma. *Exp Lung Res.* 2019;45(3-4):76-83.
27. Salgado R, Denkert C, Demaria S, Sirtaine N, Klauschen F, Pruneri G, et al. The evaluation of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in breast cancer: recommendations by an International TILs Working Group 2014. *Ann Oncol.* 2015;26(2):259-71.
28. Sitthideatphaiboon P, Santisukwongchote S, Khunsri S, Sathitruangsak C, Chantranuwat P, Vinayanuwattikun C, et al. Paradoxical prognostic phenomenon of plasma T-cell-derived circulating DNA level in advanced non-small cell lung cancer. *Clin Transl Oncol.* 2020;22(7):1117-25.
29. Forde PM, Chaft JE, Smith KN, Anagnostou V, Cottrell TR, Hellmann MD, et al. Neoadjuvant PD-1 Blockade in Resectable Lung Cancer. *N Engl J Med.* 2018;378(21):1976-86.
30. Cruz-Rico G, Aviles-Salas A, Popa-Navarro X, Lara-Mejia L, Catalan R, Sanchez-Reyes R, et al. Association of Lung Adenocarcinoma Subtypes According to the IASLC/ATS/ERS Classification and Programmed Cell Death Ligand 1 (PD-L1) Expression in Tumor Cells. *Pathol Oncol Res.* 2021;27:597499.
31. Hulley SB. *Designing clinical research.* 4th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins; 2013. p.381 p.

32. Wang Y, Zhu C, Song W, Li J, Zhao G, Cao H. PD-L1 Expression and CD8(+) T Cell Infiltration Predict a Favorable Prognosis in Advanced Gastric Cancer. *J Immunol Res.* 2018;2018:4180517.
33. Huang CY, Wang Y, Luo GY, Han F, Li YQ, Zhou ZG, et al. Relationship Between PD-L1 Expression and CD8+ T-cell Immune Responses in Hepatocellular Carcinoma. *J Immunother.* 2017;40(9):323-33.
34. Munari E, Marconi M, Querzoli G, Lunardi G, Bertoglio P, Ciompi F, et al. Impact of PD-L1 and PD-1 Expression on the Prognostic Significance of CD8(+) Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Non-Small Cell Lung Cancer. *Front Immunol.* 2021;12:680973.
35. Lan C, Kitano Y, Yamashita YI, Yamao T, Kajiyama K, Yoshizumi T, et al. Cancer-associated fibroblast senescence and its relation with tumour-infiltrating lymphocytes and PD-L1 expressions in intrahepatic cholangiocarcinoma. *Br J Cancer.* 2022;126(2):219-27.
36. Kinoshita T, Kudo-Saito C, Muramatsu R, Fujita T, Saito M, Nagumo H, et al. Determination of poor prognostic immune features of tumour microenvironment in non-smoking patients with lung adenocarcinoma. *Eur J Cancer.* 2017;86:15-27.
37. Mok TS, Wu YL, Thongprasert S, Yang CH, Chu DT, Saijo N, et al. Gefitinib or carboplatin-paclitaxel in pulmonary adenocarcinoma. *N Engl J Med.* 2009;361(10):947-57.
38. Soria JC, Ohe Y, Vansteenkiste J, Reungwetwattana T, Chewaskulyong B, Lee KH, et al. Osimertinib in Untreated EGFR-Mutated Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med.* 2018;378(2):113-25.



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

บรรณานุกรม



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ภาคผนวก

ตัวอย่าง Record Form

Subject No

Part A: Demographic characteristic at the first visit	
1. Age =	<input type="text"/> <input type="text"/>
2. Gender:	<input type="checkbox"/> 0. Male <input type="checkbox"/> 1. Female
3. Weight:	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> Kg. Height: <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> cm.
4. History of smoking exposure:	<input type="checkbox"/> 0. Never smoke <input type="checkbox"/> 1. Former smoker <input type="checkbox"/> 2. Current smoker
Comorbidity	
5. Diabetes Mellitus	<input type="checkbox"/> 0. No <input type="checkbox"/> 1. Yes
6. Hypertension	<input type="checkbox"/> 0. No <input type="checkbox"/> 1. Yes
7. Chronic lung disease	<input type="checkbox"/> 0. No <input type="checkbox"/> 1. Yes
8. Cardiovascular disease	<input type="checkbox"/> 0. No <input type="checkbox"/> 1. Yes
9. Chronic liver disease	<input type="checkbox"/> 0. No <input type="checkbox"/> 1. Yes
10. Chronic kidney disease	<input type="checkbox"/> 0. No <input type="checkbox"/> 1. Yes
11. Autoimmune disease	<input type="checkbox"/> 0. No <input type="checkbox"/> 1. Yes
12. HIV infection	<input type="checkbox"/> 0. No <input type="checkbox"/> 1. Yes
Part B: Diagnosis	
13. Date of first diagnosis lung cancer (1 st pathology date)	<input type="text"/> <input type="text"/> / <input type="text"/> <input type="text"/> / <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
14. Histologic subtype	<input type="checkbox"/> 0. Adenocarcinoma <input type="checkbox"/> 1. Squamous cell carcinoma <input type="checkbox"/> 2. Large cell carcinoma <input type="checkbox"/> 3. Other (specify)
15. EGFR mutation	<input type="checkbox"/> Exon 19 deletion <input type="checkbox"/> Exon 21 L858R <input type="checkbox"/> T790M mutation <input type="checkbox"/> Exon 21 L861Q <input type="checkbox"/> Exon 18 G719X <input type="checkbox"/> Other (specify)
16. ECOG PS before start treatment	<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4

Part C: Treatment								
17. EGFR-TKIs Therapy	<input type="checkbox"/>	Erlotinib	<input type="checkbox"/>	Gefitinib	<input type="checkbox"/>	Afatinib	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Osimertinib								
18. Date of start EGFR-TKIs	<input type="text"/>	<input type="text"/>	/	<input type="text"/>	<input type="text"/>	/	<input type="text"/>	<input type="text"/>

Part D: Immunohistochemistry				
19. PD-L1 expression	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	%
20. CD8+ T-cells	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	%
21. FOXP3+ Tregs	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	%

Part E: Clinical outcome								
22. Response of treatment	<input type="checkbox"/>	0. Partial response	<input type="checkbox"/>	1. Stable disease				
	<input type="checkbox"/>	2. Progressive disease						
23. Date of stop treatment	<input type="text"/>	<input type="text"/>	/	<input type="text"/>	<input type="text"/>	/	<input type="text"/>	<input type="text"/>
24. Reason of stop treatment	<input type="checkbox"/>	0. Progressive disease						
	<input type="checkbox"/>	1. Adverse events \geq grade 3						
	<input type="checkbox"/>	2. Death						

ภาคผนวก ข

ตัวอย่างเอกสารเชิญชวนเข้าร่วมงานวิจัย

เรียน ผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยทุกท่าน

ท่านได้รับเชิญให้เข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้เนื่องจากท่านเป็นโรคมะเร็งปอดชนิดไม่ใช้เซลล์เล็กระยะลุกลามที่มียีนกลายพันธุ์อีจีเอฟอาร์ ก่อนที่ท่านจะตัดสินใจเข้าร่วมในการศึกษาวิจัยดังกล่าว ขอให้ท่านอ่านเอกสารฉบับนี้อีกครั้ง เพื่อให้ท่านได้ทราบถึงเหตุผลและรายละเอียดของการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ หากท่านมีข้อสงสัยใด ๆ เพิ่มเติม กรุณาซักถามจากทีมงานของแพทย์ผู้ทำวิจัย หรือแพทย์ผู้ร่วมทำวิจัยซึ่งจะเป็นผู้สามารถตอบคำถามและให้ความกระจ่างแก่ท่านได้

ท่านสามารถขอคำแนะนำในการเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้จากครอบครัว เพื่อน หรือแพทย์ประจำตัวของท่านได้ ท่านมีเวลาอย่างเพียงพอในการตัดสินใจโดยอิสระ ถ้าท่านตัดสินใจแล้วว่า จะเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ ขอให้ท่านลงนามในเอกสารแสดงความยินยอมของโครงการวิจัยนี้

เหตุผลความเป็นมา

การรักษาของมะเร็งปอดชนิดไม่ใช้เซลล์เล็กระยะลุกลามในปัจจุบัน มีการรักษาที่มีความหลากหลายเพิ่มมากขึ้นนอกเหนือจากยาเคมีบำบัดที่เป็นการรักษาแบบดั้งเดิมแล้ว ในปัจจุบันยังมีการรักษาด้วยยามุ่งเป้า (Targeted therapy) และยาภูมิคุ้มกันบำบัด (Immunotherapy) โดยเฉพาะอย่างยิ่งการที่มียีนกลายพันธุ์อีจีเอฟอาร์นั้น (EGFR mutation) มีรักษาด้วยยามุ่งเป้าชนิดมุ่งเป้าอีจีเอฟอาร์ (EGFR-TKIs) ซึ่งมีผลการรักษาที่สามารถช่วยยืดระยะเวลาการกระจายของโรคมะเร็งปอดและยืดอายุของผู้ป่วย

ในปัจจุบันมีการศึกษาว่า สภาวะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็งที่แตกต่างกัน จะมีผลการตอบสนองของยามุ่งเป้าและระยะเวลาการตอบสนองที่แตกต่างกัน จึงเป็นที่มาของงานวิจัยนี้ซึ่งศึกษาสหสัมพันธ์ของสภาวะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็งในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดไม่ใช้เซลล์เล็กระยะลุกลาม

วัตถุประสงค์ของการศึกษา

วัตถุประสงค์หลักจากการศึกษาในครั้งนี้คือ ต้องการศึกษาสภาวะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็งถึงสหสัมพันธ์ระหว่างระดับการแสดงออกของพีดีแอล1 (PD-L1) กับระดับของอินทราทิวเมอร์ลชีดีเอท (intratumoral CD8+ T-cells) โดยมีจำนวนผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยทั้งหมด 85 คน โดยเป็นผู้ป่วยที่มีผลตรวจชิ้นเนื้อยืนยันการวินิจฉัยโรคมะเร็งปอดชนิดไม่ใช้เซลล์เล็กระยะลุกลามที่มียีนกลายพันธุ์อีจีเอฟอาร์ ได้รับยามุ่งเป้าอีจีเอฟอาร์และรับการรักษาในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

วิธีการที่เกี่ยวข้องกับการวิจัย

หลังจากท่านให้ความยินยอมที่จะเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ ผู้วิจัยจะนำชิ้นเนื้อของท่านซึ่งเป็นชิ้นเนื้อที่ได้รับการตรวจตั้งแต่วันที่ได้รับการวินิจฉัยครั้งแรก ไปตรวจวิเคราะห์สภาวะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็ง ซึ่งจะเป็นการย้อมชิ้นเนื้อของภาควิชาพยาธิวิทยา โดยจะวิเคราะห์ออกมาเป็นระดับการแสดงออกของพีดีแอลวัน (PD-L1) ระดับของอินทราทิวเมอร์อัลซีดีเอท (intratumoral CD8+ T-cells) และระดับของอินทราทิวเมอร์อัลฟ็อกซ์พีทีรี (intratumoral FOXP3 Tregs) ซึ่งจะนำมาวิเคราะห์ถึงความสัมพันธ์ของสิ่งเหล่านี้และจะมีการติดตามผลการรักษาด้วยยามุ่งเป้าอีจีเอฟอาร์ผ่านทางเวชระเบียน โดยที่จะไม่ได้มีการนัดตรวจท่านเพิ่มเติม

สิ่งที่อาสาสมัครพึงปฏิบัติเมื่อเข้าร่วมโครงการวิจัย

ทางผู้วิจัยไม่ได้มีการนัดตรวจติดตามเพิ่มเติมนอกเหนือจากการตรวจติดตามการรักษาตามปกติที่ท่านพึงได้รับตามการรักษาแบบมาตรฐาน โดยขอให้ท่านปฏิบัติตามคำแนะนำของแพทย์ผู้ทำการรักษาอย่างเคร่งครัด รวมทั้งแจ้งอาการผิดปกติต่างๆที่เกิดขึ้นกับท่านระหว่างที่ท่านเข้าร่วมในโครงการวิจัยให้แพทย์ผู้ทำการรักษาและผู้ทำวิจัยได้รับทราบ

ความเสี่ยงที่อาจได้รับ

ผู้เข้าร่วมวิจัยจะได้รับการดูแลรักษาตามมาตรฐาน โดยได้รับยามุ่งเป้าอีจีเอฟอาร์ทุกรายซึ่งเป็นการรักษามาตรฐานที่ใช้ในเวชปฏิบัติปัจจุบัน ท่านจึงไม่ได้มีความเสี่ยงเพิ่มขึ้นไปกว่าการรักษามาตรฐานทั่วไป และทางแพทย์ผู้วิจัย จะเก็บข้อมูลของท่านอยู่ในฐานข้อมูลของโรงพยาบาล

ความเสี่ยงที่ไม่ทราบแน่นอน

ท่านอาจเกิดอาการข้างเคียง หรือความไม่สบาย นอกเหนือจากที่ได้แสดงในเอกสารฉบับนี้ ซึ่งอาการข้างเคียงเหล่านี้เป็นอาการที่ไม่เคยพบมาก่อน เพื่อความปลอดภัยของท่าน ควรแจ้งผู้ทำวิจัยให้ทราบทันทีเมื่อเกิดความผิดปกติใด ๆ เกิดขึ้น

ผลของการวิจัยนี้ ทางผู้วิจัยจะไม่ได้มีการแจ้งผลการตรวจการย้อมชิ้นเนื้อ เพื่อวิเคราะห์สภาวะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็งให้ท่านทราบ เนื่องจากเป็นข้อมูลที่ต้องรอการวิเคราะห์และไม่ได้มีประโยชน์ใดๆต่อการดูแล ณ ปัจจุบัน ซึ่งเป็นการดูแลตามมาตรฐานการรักษา

หากท่านมีข้อสงสัยใด ๆ เกี่ยวกับความเสี่ยงที่อาจได้รับจากการเข้าร่วมในโครงการวิจัย ท่านสามารถสอบถามจากผู้ทำวิจัยได้ตลอดเวลา

การพบแพทย์นอกตารางนัดหมายในกรณีที่เกิดอาการข้างเคียง

หากมีอาการข้างเคียงใด ๆ เกิดขึ้นกับท่าน ขอให้ท่านรีบมาพบแพทย์ที่สถานพยาบาลทันที ถึงแม้ว่าจะอยู่นอกตารางการนัดหมาย เพื่อแพทย์จะได้ประเมินอาการข้างเคียงของท่าน และให้การรักษาที่เหมาะสมทันที หากอาการดังกล่าวเป็นผลจากการเข้าร่วมในโครงการวิจัย ท่านจะไม่เสียค่าใช้จ่าย

ประโยชน์ที่อาจได้รับ

ท่านจะไม่ได้รับประโยชน์ใดๆ จากการเข้าร่วมวิจัยในครั้งนี้ แต่ผลการศึกษาที่ได้จะเป็นประโยชน์ต่อการศึกษาความสัมพันธ์ของสภาวะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็งและผลการรักษา

ทางเลือกอื่นในกรณีที่อาสาสมัครไม่เข้าร่วมในการวิจัย

ท่านไม่จำเป็นต้องเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้เพื่อประโยชน์ในการรักษาโรคที่ท่านเป็นอยู่ เนื่องจากมีแนวทางการรักษาที่เป็นการรักษาตามมาตรฐานตามที่ท่านพึงได้รับ ดังนั้นท่านสามารถปรึกษาแนวทางการรักษาวิธีอื่น ๆ กับแพทย์ผู้ให้การรักษาท่านก่อนตัดสินใจเข้าร่วมในการวิจัย

ข้อปฏิบัติของท่านขณะที่ร่วมในโครงการวิจัย

ขอให้ท่านปฏิบัติดังนี้

- ขอให้ท่านให้ข้อมูลทางการแพทย์ของท่านทั้งในอดีต และปัจจุบัน แก่ผู้ทำวิจัยด้วยความสัตย์จริง
- ขอให้ท่านแจ้งให้ผู้ทำวิจัยทราบความผิดปกติที่เกิดขึ้นระหว่างที่ท่านร่วมในโครงการวิจัย
- ขอให้ท่านงดการใช้ยาอื่นนอกเหนือจากที่ผู้ทำวิจัยได้จัดให้ รวมถึงการรักษาอื่น ๆ เช่น การรักษาด้วยสมุนไพร การซื้อยาจากร้านขายยา
- ขอให้ท่านแจ้งให้ผู้ทำวิจัยทราบทันที หากท่านได้รับยาอื่นนอกเหนือจากยาที่ใช้ในการศึกษาตลอดระยะเวลาที่ท่านอยู่ในโครงการวิจัย

อันตรายที่อาจเกิดขึ้นจากการเข้าร่วมในโครงการวิจัยและความรับผิดชอบของผู้ทำวิจัย/ผู้สนับสนุนการวิจัย

โครงการวิจัยนี้ ไม่ได้เกี่ยวข้องกับการรักษาโดยตรง การรักษาที่ท่านได้รับ จะเป็นการรักษาตามมาตรฐานที่ท่านพึงได้รับจากแพทย์ผู้ดูแลตามปกติ จึงไม่มีอันตรายที่จะเกิดขึ้นต่อการเข้าร่วมการวิจัย

ค่าใช้จ่ายของท่านในการเข้าร่วมการวิจัย

ในการเข้าร่วมการวิจัย ท่านจะได้เข้าร่วมการวิจัยโดยไม่ต้องเสียค่าใช้จ่าย และได้รับการดูแลโดยโครงการวิจัย

ค่าตอบแทนสำหรับผู้เข้าร่วมวิจัย

ท่านจะไม่ได้รับเงินค่าตอบแทนจากการเข้าร่วมในการวิจัย หรือเงินชดเชยใด ๆ จากการเข้าร่วมการวิจัยครั้งนี้ เนื่องจากเป็นการตรวจชิ้นเนื้อเดิมตั้งแต่ได้รับการวินิจฉัยของท่าน

การเข้าร่วมและการสิ้นสุดการเข้าร่วมโครงการวิจัย

การเข้าร่วมในโครงการวิจัยครั้งนี้เป็นไปโดยความสมัครใจ หากท่านไม่สมัครใจจะเข้าร่วมการศึกษาแล้ว ท่านสามารถถอนตัวได้ตลอดเวลา การขอถอนตัวออกจากโครงการวิจัยจะไม่มีผลต่อการดูแลรักษาโรคของท่านแต่อย่างใด

ผู้ทำวิจัยอาจถอนท่านออกจากการเข้าร่วมการวิจัย เพื่อเหตุผลด้านความปลอดภัยของท่าน หรือเมื่อผู้สนับสนุนการวิจัยยุติการดำเนินงานวิจัย หรือ ในกรณีดังต่อไปนี้

- ท่านไม่สามารถปฏิบัติตามคำแนะนำของผู้ทำวิจัย
- ท่านรับประทานยาที่ไม่อนุญาตให้ใช้ในการศึกษา
- ท่านตั้งครุภะระหว่างที่เข้าร่วมโครงการวิจัย
- ท่านเกิดการข้างเคียง หรือความผิดปกติของผลทางห้องปฏิบัติการจากการได้รับยาที่ใช้ในการศึกษา
- ท่านแพ้ยาที่ใช้ในการศึกษา
- ท่านต้องการปรับเปลี่ยนการรักษาด้วยยาตัวที่ไม่ได้รับอนุญาตจากการวิจัยครั้งนี้

การปกป้องรักษาข้อมูลความลับของอาสาสมัคร

ข้อมูลนี้อาจนำไปสู่การเปิดเผยตัวท่าน จะได้รับการปกปิดและจะไม่เปิดเผยแก่สาธารณชน ในกรณีที่เกิดการวิจัยได้รับการตีพิมพ์ ชื่อและที่อยู่ของท่านจะต้องได้รับการปกปิดอยู่เสมอ โดยจะใช้เฉพาะรหัสประจำโครงการวิจัยของท่าน

จากการลงนามยินยอมของท่าน ผู้ทำวิจัย และผู้สนับสนุนการวิจัย คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย ผู้ตรวจสอบการวิจัย และหน่วยงานควบคุมระเบียบกฎหมาย สามารถเข้าไปตรวจสอบบันทึกข้อมูลทาง

การแพทย์ของท่านได้แม้จะสิ้นสุดโครงการวิจัยแล้วก็ตาม โดยไม่ละเมิดสิทธิของท่านในการรักษาความลับ
เกินขอบเขตที่กฎหมายและระเบียบกฎหมายอนุญาตไว้

จากการลงนามยินยอมของท่าน แพทย์ผู้ทำวิจัยสามารถบอกรายละเอียดที่เกี่ยวกับการเข้าร่วม
โครงการวิจัยนี้ของท่านให้แก่แพทย์ผู้รักษาท่านได้

การยกเลิกการให้ความยินยอม

หากท่านต้องการยกเลิกการให้ความยินยอมดังกล่าว ท่านสามารถแจ้ง หรือเขียนบันทึกขอยกเลิก
การให้คำยินยอม โดยส่งไปที่ นพ.ชัยพงศ์ งามโชควัฒนา หน่วยมะเร็งวิทยา ชั้น 6 ตึกภูมิสิริ มิ่งคลานุสรณ์
โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ 1873 ถนนพระราม 4 แขวงปทุมวัน เขตปทุมวัน กรุงเทพมหานคร 10330

หากท่านขอยกเลิกการให้คำยินยอมหลังจากที่ท่านได้เข้าร่วมโครงการวิจัยแล้ว ข้อมูลส่วนตัวของ
ท่านจะไม่ถูกบันทึกเพิ่มเติม อย่างไรก็ตามข้อมูลอื่น ๆ ของท่านอาจถูกนำมาใช้เพื่อประเมินผลการวิจัย และ
ท่านจะไม่สามารถกลับมาเข้าร่วมในโครงการนี้ได้อีก ทั้งนี้เนื่องจากข้อมูลของท่านที่จำเป็นสำหรับใช้เพื่อการ
วิจัยไม่ได้ถูกบันทึก

การจัดการกับตัวอย่างชีวภาพที่เหลือ

ตัวอย่างชีวภาพที่ได้จากอาสาสมัคร เช่น ชิ้นเนื้อที่เหลือจากการวิจัย ผู้วิจัยจะทำลายตามวิธี
มาตรฐานทันทีที่เสร็จสิ้นการวิจัย

สิทธิของผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย

ในฐานะที่ท่านเป็นผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย ท่านจะมีสิทธิดังต่อไปนี้

1. ท่านจะได้รับทราบถึงลักษณะและวัตถุประสงค์ของการวิจัยในครั้งนี้
2. ท่านจะได้รับการอธิบายเกี่ยวกับระเบียบวิธีการของการวิจัยทางการแพทย์ รวมทั้งยาและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้
3. ท่านจะได้รับการอธิบายถึงความเสี่ยงและความไม่สบายที่จะได้รับจากการวิจัย
4. ท่านจะได้รับการอธิบายถึงประโยชน์ที่ท่านอาจจะได้รับจากการวิจัย
5. ท่านจะได้รับการเปิดเผยถึงทางเลือกในการรักษาด้วยวิธีอื่น ยา หรืออุปกรณ์ซึ่งมีผลดีต่อท่านรวมทั้งประโยชน์และความเสี่ยงที่ท่านอาจได้รับ
6. ท่านจะได้รับทราบแนวทางในการรักษา ในกรณีที่พบโรคแทรกซ้อนภายหลังการเข้าร่วมในโครงการวิจัย
7. ท่านจะมีโอกาสได้ซักถามเกี่ยวกับงานวิจัยหรือขั้นตอนที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย

8. ท่านจะได้รับทราบว่าการยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ ท่านสามารถขอถอนตัวจากโครงการเมื่อไรก็ได้ โดยผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยสามารถขอถอนตัวจากโครงการโดยไม่ได้รับผลกระทบใด ๆ ทั้งสิ้น
9. ท่านจะได้รับเอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยและสำเนาเอกสารใบยินยอมที่มีทั้งลายเซ็นและวันที่
10. ท่านมีสิทธิ์ในการตัดสินใจว่าจะเข้าร่วมในโครงการวิจัยหรือไม่ก็ได้ โดยปราศจากการใช้อิทธิพล บังคับข่มขู่ หรือการหลอกลวง

หากท่านไม่ได้รับการชดเชยอันควรต่อการบาดเจ็บหรือเจ็บป่วยที่เกิดขึ้นโดยตรงจากการวิจัย หรือท่านไม่ได้รับการปฏิบัติตามที่ปรากฏในเอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในการวิจัย ท่านสามารถร้องเรียนได้ที่ สำนักงานคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ตึกอานันทมหิตลชั้น 3 โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ถนนพระราม 4 ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330 โทรศัพท์ 0-2256-4493 ในเวลาราชการ หรือ e-mail : medchulairb@chula.ac.th

การลงนามในเอกสารให้ความยินยอม ไม่ได้หมายความว่าท่านได้สละสิทธิ์ทางกฎหมายตามปกติที่ท่านพึงมี

ขอขอบคุณในการให้ความร่วมมือของท่านมา ณ ที่นี้

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY



COA No. 1489/2022

IRB No. 0624/65

INSTITUTIONAL REVIEW BOARD

Faculty of Medicine, Chulalongkorn University

1873 Rama 4 Road, Pathumwan, Bangkok 10330, Thailand, Tel 662-256-4493

Certificate of Expedited Review Approval

(COA No. 1489/2022)

The Institutional Review Board of the Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand, has approved the following study which is to be carried out in compliance with the International guidelines for human research protection as Declaration of Helsinki, The Belmont Report, CIOMS Guideline and International Conference on Harmonization in Good Clinical Practice (ICH-GCP)

Study Title : Correlation of tumor microenvironment signature in advanced stage non-small cell lung cancer with EGFR mutation who received EGFR-TKIs

Study Code : -

Principal Investigator : Chaipayong Ngamchokwathana, M.D.

Affiliation of PI : Department of Medicine,
Faculty of Medicine, Chulalongkorn University.

Review Method : Expedited

Continuing Report : At least once annually or submit the final report if finished.

Document Reviewed :

1. Research Proposal Version 2 Date 26/09/2022
2. Protocol Synopsis Version 2 Date 29/09/2022
3. Information sheet for research participant Version 4 Date 29/9/2022
4. Informed consent for participating volunteers Version 2 Date 29/9/2022
5. Record Form Version 2 Date 29/09/2022

Approval granted is subject to the following conditions: (see back of this Certificate)

All approved investigators must comply with the following conditions:

1. Strictly conduct the research as required by the protocol;
2. Use only the information sheet, consent form (and recruitment materials, if any), interview outlines and/or questionnaires bearing the Institutional Review Board's seal of approval ; and return one copy of such documents of the first subject recruited to the Institutional Review Board (IRB) for the record;
3. Report to the Institutional Review Board any serious adverse event or any changes in the research activity within five working days;
4. Provide reports to the Institutional Review Board concerning the progress of the research upon the specified period of time or when requested;
5. If the study cannot be finished within the expire date of the approval certificate, the investigator is obliged to reapply for approval at least one month before the date of expiration.
6. If the research project is completed, the researcher must send closing/final report using the closing/final report form of the Faculty of Medicine, Chulalongkorn University.

* A list of the Institutional Review Board members (names, positions and expertises) present at the meeting of Institutional Review Board on the date of approval of this study has been attached. All approved documents will be forwarded to the principal investigator.



6. Curriculum Vitae and GCP Training

- Chaiyapong Ngamchokwathana, M.D.
- Assoc.Prof. Chanida Vinayanuwattikun, M.D., Ph.D.
- Assoc.Prof. Poonchavist Chantranuwatana, M.D.

Signature *Tada Sueblinvong*
(Emeritus Professor Tada Sueblinvong MD)

Chairperson
The Institutional Review Board

Signature *Wannarasmi Ketchart*
(Associate Professor Wannarasmi Ketchart MD, PhD)

Member and Assistant Secretary, Acting Secretary
The Institutional Review Board

Date of Approval : October 28, 2022

Approval Expire Date : October 27, 2023

Approval granted is subject to the following conditions: (see back of this Certificate)



COA No. 1489/2022

IRB No. 0624/65

คณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัย
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
1873 ถ.พระราม 4 เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330 โทร. 0-2256-4493

เอกสารรับรองการพิจารณาจริยธรรมแบบเร่งด่วน

(COA No. 1489/2022)

คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ดำเนินการให้การรับรองโครงการวิจัยตามแนวทางหลักจริยธรรมการวิจัยในคนที่เป็นมาตรฐานสากลได้แก่ Declaration of Helsinki, The Belmont Report, CIOMS Guideline และ International Conference on Harmonization in Good Clinical Practice หรือ ICH-GCP

ชื่อโครงการ : สหสัมพันธ์ของลักษณะสภาวะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็งในผู้ป่วยโรคมะเร็งปอดชนิดไม่ใช้เซลล์เล็กระยะลุกลามที่มียื่นกลายพันธุ์อีจีเอฟอาร์และได้รับยามุ่งเป้าอีจีเอฟอาร์

เลขที่โครงการวิจัย : -

ผู้วิจัยหลัก : นพ.ชัยพงศ์ งามโชควัฒนา

สังกัดหน่วยงาน : ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิธีบทวน : แบบเร่งด่วน

รายงานความก้าวหน้า : ส่งรายงานความก้าวหน้าอย่างน้อย 1 ครั้ง/ปี หรือส่งรายงานฉบับสมบูรณ์หากดำเนินโครงการเสร็จสิ้นก่อน 1 ปี

เอกสารรับรอง :

1. โครงร่างการวิจัย Version 2 Date 26/09/2565
2. โครงการวิจัยฉบับย่อ Version 2 Date 29/09/2565
3. เอกสารชี้แจงข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย Version 4 Date 29/9/2565
4. เอกสารแสดงความยินยอมเข้าร่วมโครงการสำหรับอาสาสมัคร Version 2 Date 29/9/2565
5. Record Form Version 2 Date 29/09/2565

ทั้งนี้ การรับรองนี้มีเงื่อนไขดังที่ระบุไว้ด้านหลังทุกข้อ (ดูด้านหลังของเอกสารรับรองโครงการวิจัย)

นักวิจัยต้องปฏิบัติตามเงื่อนไขดังต่อไปนี้

1. ดำเนินการวิจัยตามที่ระบุไว้ในโครงร่างการวิจัยอย่างเคร่งครัด
2. ใช้เอกสารแนะนำอาสาสมัคร ใบยินยอม (และเอกสารเชิญเข้าร่วมวิจัยหรือใบโฆษณาถ้ามี) แบบสัมภาษณ์ และหรือ แบบสอบถาม เฉพาะที่มีตราประทับของคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมเท่านั้น และส่งสำเนาเอกสารดังกล่าวที่ใช้กับผู้เข้าร่วมวิจัยจริงรายแรกมาที่ฝ่ายวิจัย คณะแพทยศาสตร์ เพื่อเก็บไว้เป็นหลักฐาน
3. รายงานเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ร้ายแรงที่เกิดขึ้นหรือการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมวิจัยใดๆ ต่อคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัย ภายใน 5 วันทำการ
4. ส่งรายงานความก้าวหน้าต่อคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัย ตามเวลาที่กำหนดหรือเมื่อได้รับการร้องขอ
5. หากการวิจัยไม่สามารถดำเนินการเสร็จสิ้นภายในกำหนด ผู้วิจัยต้องยื่นขออนุมัติใหม่ก่อน อย่างน้อย 1 เดือน
6. หากการวิจัยเสร็จสมบูรณ์ ผู้วิจัยต้องแจ้งปิดโครงการตามแบบฟอร์มของคณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

* รายชื่อของคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน (ชื่อ ตำแหน่ง และความเชี่ยวชาญ) ที่อยู่ในที่ประชุมวันที่รับรองโครงการวิจัยได้แนบมาด้วย เอกสารที่รับรองทั้งหมดจะถูกส่งไปยังผู้วิจัยหลัก



6. Curriculum Vitae and GCP Training

- Chaiyapong Ngamchokwathana, M.D.
- Assoc.Prof. Chanida Vinayanuwattikun, M.D., Ph.D.
- Assoc.Prof. Poonchavist Chantranuwatana, M.D.

<p>ลงนาม <u>.....</u> (ศาสตราจารย์กิตติคุณแพทย์หญิงธาดา สืบหลินวงศ์) ประธาน คณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัย</p>	<p>ลงนาม <u>.....</u> (รองศาสตราจารย์ ดร.แพทย์หญิงวรรณรัศมี เกตุชาติ) กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการปฏิบัติหน้าที่แทนเลขานุการ คณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัย</p>
วันที่รับรอง	: 28 ตุลาคม 2565
วันหมดอายุ	: 27 ตุลาคม 2566

ทั้งนี้ การรับรองนี้มีเงื่อนไขดังที่ระบุไว้ด้านหลังทุกข้อ (ดูด้านหลังของเอกสารรับรองโครงการวิจัย)

นักวิจัยต้องปฏิบัติตามเงื่อนไขดังต่อไปนี้

1. ดำเนินการวิจัยตามที่ระบุไว้ในโครงร่างการวิจัยอย่างเคร่งครัด
2. ใช้เอกสารแนะนำอาสาสมัคร ใบยินยอม (และเอกสารเชิญเข้าร่วมวิจัยหรือใบโฆษณาถ้ามี) แบบสัมภาษณ์ และหรือ แบบสอบถาม เฉพาะที่มีตราประทับของคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมเท่านั้น และส่งสำเนาเอกสารดังกล่าวที่ให้กับผู้เข้าร่วมวิจัยจริงรายแรกมาที่ฝ่ายวิจัย คณะแพทยศาสตร์ เพื่อเก็บไว้เป็นหลักฐาน
3. รายงานเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ร้ายแรงที่เกิดขึ้นหรือการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมวิจัยใดๆ ต่อคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัย ภายใน 5 วันทำการ
4. ส่งรายงานความก้าวหน้าต่อคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัย ตามเวลาที่กำหนดหรือเมื่อได้รับการร้องขอ
5. หากการวิจัยไม่สามารถดำเนินการเสร็จสิ้นภายในกำหนด ผู้วิจัยต้องยื่นขออนุมัติใหม่ก่อน อย่างน้อย 1 เดือน
6. หากการวิจัยเสร็จสมบูรณ์ ผู้วิจัยต้องแจ้งปิดโครงการตามแบบฟอร์มของคณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

* รายชื่อของคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน (ชื่อ ตำแหน่ง และความเชี่ยวชาญ) ที่อยู่ในที่ประชุมวันที่รับรองโครงการวิจัยได้แนบมาด้วย เอกสารที่รับรองทั้งหมดจะถูกส่งไปยังผู้วิจัยหลัก



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

บรรณานุกรม



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	ชัยพงศ์ งามโชควัฒนา
วัน เดือน ปี เกิด	5 ตุลาคม 2533
สถานที่เกิด	กรุงเทพมหานคร
วุฒิการศึกษา	พ.ศ.2557 แพทยศาสตรบัณฑิต คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น พ.ศ.2561 ประกาศนียบัตรชั้นสูง สาขาวิทยาศาสตร์การแพทย์คลินิก คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล พ.ศ.2563 วุฒิบัตรผู้มีความรู้ความชำนาญประกอบวิชาชีพเวชกรรมสาขา อายุรศาสตร์
ที่อยู่ปัจจุบัน	296-298 ซอยแฮปปี้แลนด์2 ถนนลาดพร้าว แขวงคลองจั่น เขตบางกะปิ กรุงเทพมหานคร 10240
ผลงานตีพิมพ์	Ngamchokwathana C, Chongtrakool P, Waesamaae A, Chayakulkeeree M. Risk Factors and Outcomes of Non-albicans Candida Bloodstream Infection in Patients with Candidemia at Siriraj Hospital-Thailand's Largest National Tertiary Referral Hospital. J Fungi (Basel). 2021;7(4):269. Published 2021 Apr 1. doi:10.3390/jof7040269