

การศึกษาความสัมพันธ์ของยีนบีราฟ และลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิกของมะเร็งต่อมธัยรอยด์
ชนิดแปปปีลารี ในผู้ป่วยชาวไทย



นางสาว อำไพ เข้มคำ

สถาบันวิทยบริการ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

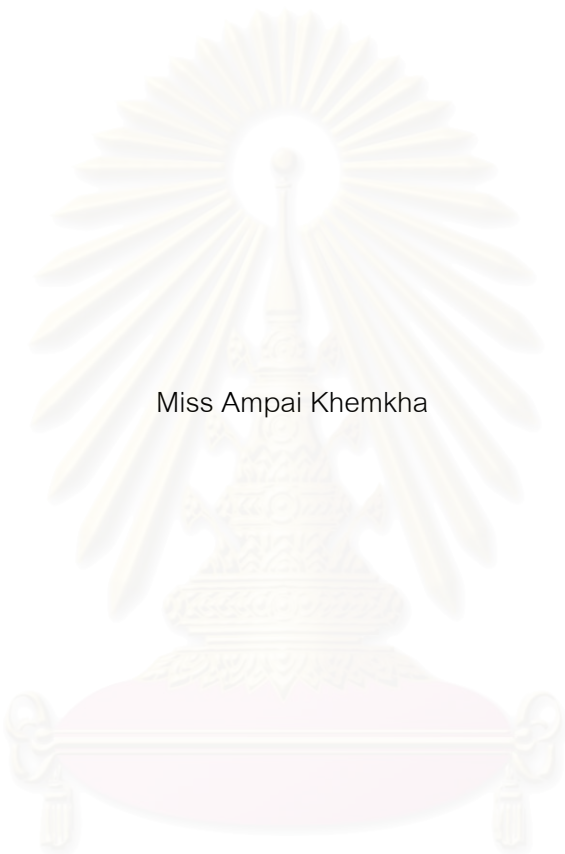
สาขาวิชาอายุศาสตร์ ภาควิชาอายุศาสตร์

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2551

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

CORRELATION BETWEEN *BRAF* MUTATION AND CLINICOPATHOLOGICAL
FEATURES OF PAPILLARY THYROID CANCER IN THAI PATIENTS



Miss Ampai Khemkha

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science Program in Medicine

Department of Medicine

Faculty of Medicine

Chulalongkorn University

Academic Year 2008

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์

การศึกษาความสัมพันธ์ของยีนบีราฟ และลักษณะทาง
พยาธิวิทยาคลินิกของมะเร็งต่อมธัยรอยด์ชนิด แอปป์ลาร์
ในผู้ป่วยชาวไทย

โดย

นางสาว อำไพ เข็มคำ

สาขาวิชา

อายุรศาสตร์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ ธิติ สนับบุญ

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ สมบูรณ์ ศีลาวัฒน์

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัย อนุมัติให้นำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่ง
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

.....
(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ อดิศร ภัทราดุลย์)

คณบดีคณะแพทยศาสตร์

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ แพทย์หญิง สมนพร บุญยะรัตเวช สองเมือง)

ประธานกรรมการ

.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ ธิติ สนับบุญ)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

.....
(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ สมบูรณ์ ศีลาวัฒน์)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

.....
(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ รัชสรรค์ ฤกษ์นิมิตร)

กรรมการ

.....
(นาวาอากาศโท แพทย์หญิง อุษณีย์ ริงคะนันทน์)

กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

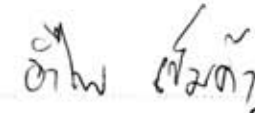
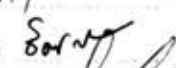

อำเภอ เข้มคำ : การศึกษาความสัมพันธ์ของยีนบีราฟ และลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิกของ
 มะเร็งต่อมไทรอยด์ชนิด แปปิลาารี ในผู้ป่วยชาวไทย. (CORRELATION BETWEEN BRAF
 MUTATION AND CLINICOPATHOLOGICAL FEATURES OF PAPILLARY THYROID
 CANCER IN THAI PATIENTS) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : ผศ. นพ.ธิตี จันบุญ,
 อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม : รศ. นพ. สมบูรณ์ ศีลาวัฒน์, 50 หน้า.

ที่มา มะเร็งไทรอยด์ชนิดแปปิลาารีเป็นมะเร็งไทรอยด์ที่พบมากที่สุด การใช้ลักษณะทาง
 พยาธิวิทยาคลินิกในการพยากรณ์โรคยังไม่มีประสิทธิภาพเพียงพอ การกลายพันธุ์ของยีนบีราฟ
 พบบ่อยที่สุดและจำเพาะมากสำหรับมะเร็งไทรอยด์ชนิดนี้ การตรวจยีนนี้เพื่อพยากรณ์โรคและ
 เพิ่มประสิทธิภาพการรักษายังไม่มีบทสรุปแน่ชัดในปัจจุบัน

วิธีการศึกษา ศึกษาผู้ป่วยมะเร็งไทรอยด์ชนิดแปปิลาารีจำนวน 86 คน โดยทบทวนเวช
 ระเบียบถึงลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิก และตรวจวิเคราะห์การกลายพันธุ์ของยีนบีราฟ ในชิ้น
 เนื้อพยาธิวิทยาโดยวิธีเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม และการหาลำดับเบส ตามลำดับ ต่อมาจึงหา
 ความสัมพันธ์ระหว่างยีนบีราฟและลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิกต่อไป

ผลการศึกษา พบอุบัติการณ์การกลายพันธุ์ของยีนบีราฟ 48 คนจากทั้งหมด 86 คน
 (55.8%) และพบความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในผู้ป่วยที่มีการกระจายของมะเร็งออก
 นอกต่อมไทรอยด์ (P=0.001) ระยะของมะเร็งไทรอยด์ขั้นที่3 และ4 (P=0.048) ปริมาณรวมสาร
 กัมมันตภาพรังสีไอโอดีนรักษา (P=0.032) ไม่พบความแตกต่างของการกลายพันธุ์ของยีนบีราฟ
 กับลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิกอื่น

สรุปผลการศึกษา พบอุบัติการณ์การกลายพันธุ์ของยีนบีราฟค่อนข้างสูง และม
 ความสัมพันธ์กับลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิกที่รุนแรง ดังนั้นการตรวจการกลายพันธุ์ของยีนบี
 ราฟน่าจะมีประโยชน์เพื่อใช้เป็นตัวพยากรณ์โรค และวางแผนการรักษา มะเร็งต่อมไทรอยด์ชนิด
 แปปิลาารีในผู้ป่วยชาวไทยได้

ภาควิชา	อายุรศาสตร์	ลายมือชื่อนิสิต	
สาขาวิชา	อายุรศาสตร์	ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	
ปีการศึกษา	2551	ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	

5074853630 : MAJOR ENDOCRINOLOGY

KEYWORDS : PAPILLARY / THYROID CANCER / BRAF / MUTATION /

CLINICOPATHOLOGICAL FEATURES

AMPAI KHEMKHA : CORRELATION BETWEEN BRAF MUTATION AND CLINICOPATHOLOGICAL FEATURES OF PAPILLARY THYROID CANCER IN THAI PATIENTS. ADVISOR : ASST. PROF. THITI SNABBOON, CO-ADVISOR : ASSOC. SOMBOON KEELAWAT, 50 pp.

Background Papillary thyroid carcinoma is the most common thyroid carcinoma. Clinicopathological features help in predict prognosis with limited value. The *BRAF*^{V600E} mutation is the most common oncogene rearrangement in papillary thyroid cancer (PTC). Using *BRAF*^{V600E} mutation to predict prognosis is controversial.

Method We analyzed 86 Thai PTC patients by medical record reviews. Pathological slides were retrieved for *BRAF*^{V600E} mutation analysis by direct sequencing method. The prevalence and correlation between mutation and clinicopathological features were evaluated.

Result *BRAF*^{V600E} mutation was presented 55.8% in Thai PTC patients and was significant associated with extrathyroid extension (p=0.001), in advanced stage (P=0.048) and the total dose of I-131 ablation >100mCi (p=0.032). No statistic significant correlation was found in the other clinicopathological features.

Conclusion *BRAF*^{V600E} mutation is high prevalence in Thai PTC patients. It correlates with worse clinicopathological features, so it may be useful in prediction prognosis and treatment planning.

Department : Medicine

Field of Study : Medicine

Academic Year : 2008

Student's Signature : Ampai Khemkhia

Advisor's Signature : Thiti Snaboon

Co-Advisor's Signature : Somboon Keelawat

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณทุกท่านที่มีส่วนร่วมทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงสมความมุ่งหมาย สาขาวิชาต่อมไร้ท่อและเมตะบอลิซึม ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1. ผศ.นพ.ธิตี สันบุญญา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์
2. นส. ณัฐนิชา ห่วงงาม นักวิจัยทำการตรวจวิเคราะห์การกลายพันธุ์ของยีน

ปีราฟ

ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1. รศ.นพ.สมบุญ คีลาวัฒน์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
2. นาง ชนิษฐา คีตะชีวะ นักวิทยาศาสตร์ให้ความเอื้อเฟื้อจัดหาชิ้นเนื้อพยาธิของ

โครงการวิจัยนี้



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฅ
สารบัญแผนภูมิ.....	ญ
สารบัญรูปภาพ.....	ฎ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ.....	ฏ
บทที่	
1. บทนำ.....	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย.....	1
1.2 คำถามของการวิจัย.....	2
1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	2
1.4 กรอบแนวความคิดในการวิจัย.....	3
1.5 ข้อตกลงเบื้องต้น.....	4
คำสำคัญ.....	4
ข้อจำกัดในการวิจัย.....	4
การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติที่จะใช้ในการวิจัย.....	4
ผลหรือประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย.....	5
2. เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	7
3. วิธีการดำเนินการวิจัย.....	15
รูปแบบการวิจัย.....	15
ประชากรศึกษาและตัวอย่าง.....	15
กฎเกณฑ์การคัดเลือกเข้ามาศึกษา.....	15
กฎเกณฑ์การตัดออกจากการศึกษา.....	15
การคำนวณขนาดตัวอย่าง.....	15
วิธีปฏิบัติ.....	16

การเก็บรวบรวมข้อมูล.....	18
การวิเคราะห์ข้อมูล.....	18
4.ผลการวิเคราะห์ข้อมูล.....	20
5.สรุปผลการวิจัย อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ.....	31
สรุปผลการวิจัย.....	31
อภิปรายผลการวิจัย.....	31
ข้อเสนอแนะ.....	35
รายการอ้างอิง.....	36
ภาคผนวก.....	41
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	44



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
ตารางที่ 1	22
แสดงลักษณะประชากรและ ความสัมพันธ์ระหว่างการกลายพันธุ์ของยีนบีราฟ และลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิก ของมะเร็งไทรอยด์ชนิดแปปปีลารี ในผู้ป่วยชาวไทย.....	
ตารางที่ 2.	24
แสดงการเปรียบเทียบการกระจายของมะเร็งออกนอกต่อมไทรอยด์กับลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิกต่างๆโดยการวิเคราะห์ตัวแปรเดียว.....	
ตารางที่ 3	25
แสดงการเปรียบเทียบการกระจายของมะเร็งออกนอกต่อมไทรอยด์กับลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิกต่างๆหลังจากควบคุมตัวแปรที่เกี่ยวข้องอื่นๆ การวิเคราะห์ถดถอยพหุโลจิสติกตัวแปรหลายตัว.....	
ตารางที่ 4	26
แสดงการเปรียบเทียบระยะของมะเร็งต่อมไทรอยด์ ชั้นที่ 3 และ 4 กับลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิกต่างๆโดยการวิเคราะห์ตัวแปรเดียว.....	
ตารางที่ 5	27
แสดงการเปรียบเทียบระยะของมะเร็งต่อมไทรอยด์ ชั้นที่ 3 และ 4 กับลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิกต่างๆหลังจากควบคุมตัวแปรที่เกี่ยวข้องอื่นๆ การวิเคราะห์ถดถอยพหุโลจิสติกตัวแปรหลายตัว.....	
ตารางที่ 6	28
แสดงการเปรียบเทียบปริมาณรวมสารกัมมันตภาพรังสี I131 ที่ได้รับทั้งหมด >100mCi (เฉพาะผู้ป่วยที่ติดตามการรักษามากกว่า 12 เดือน) กับลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิกต่างๆโดยการวิเคราะห์ตัวแปรเดียว.....	
ตารางที่ 7	29
แสดงการเปรียบเทียบปริมาณรวมสารกัมมันตภาพรังสี I131 ที่ได้รับทั้งหมด >100mCi (เฉพาะผู้ป่วยที่ติดตามการรักษามากกว่า 12 เดือน) กับลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิกต่างๆหลังจากควบคุมตัวแปรที่เกี่ยวข้องอื่นๆ การวิเคราะห์ถดถอยพหุโลจิสติกตัวแปรหลายตัว.....	
ตารางที่ 8	30
แสดงการเปรียบเทียบการกลับเป็นซ้ำหรือโรคไม่หายขาดหลังการรักษาตามมาตรฐานกับลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิกต่างๆโดยการวิเคราะห์ตัวแปรเดียว..	
ตารางที่ 9	30
แสดงการเปรียบเทียบการกลับเป็นซ้ำหรือโรคไม่หายขาดหลังการรักษาตามมาตรฐานกับลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิกต่างๆหลังจากควบคุมตัวแปรที่เกี่ยวข้องอื่นๆการวิเคราะห์ถดถอยพหุโลจิสติกตัวแปรหลายตัว	

สารบัญแผนภูมิ

แผนภูมิภาพที่ 1	หน้า
แผนภูมิภาพที่ 1	แสดงอุบัติการณ์การกลายพันธุ์ของยีนบีราฟ ในผู้ป่วยมะเร็งไทรอยด์ชนิดแปปิลารี ในผู้ป่วยชาวไทย.....21



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

มะเร็งต่อมธัยรอยด์เป็นมะเร็งที่พบบ่อยที่สุดของระบบต่อมไร้ท่อ โดยชนิดแบบ papillary เป็นชนิดที่พบบ่อยที่สุดคือประมาณ 80% ของมะเร็งธัยรอยด์ทั้งหมด (1) จากการศึกษาของ Louise และคณะ (2) สำรวจที่ประเทศอเมริกาในระหว่างปี ค.ศ.1973 – 2002 โดยพบผู้ป่วยมะเร็งธัยรอยด์ประมาณ 24,000 คนต่อปี ความอุบัติการณ์ของมะเร็งธัยรอยด์จาก 3.6 คนต่อประชากร 100,000 คน ในปี ค.ศ. 1973 เพิ่มขึ้น 2.4 เท่าเป็น 8.7 คนต่อประชากร 100,000 คน ในปี ค.ศ. 2002 และมะเร็งธัยรอยด์ชนิด papillary พบบ่อยที่สุด 88% ซึ่งมีการเพิ่มขึ้นของมะเร็งธัยรอยด์ชนิด papillary 2.9 เท่า คือ 2.7 คนต่อประชากร 100,000 คนในปี ค.ศ. 1973 เป็น 7.7 คนต่อประชากร 100,000 คน ในปี ค.ศ. 2002 อัตราตายจากมะเร็งธัยรอยด์ ประมาณ 0.5 ต่อประชากร 100,000 คน

วันชัย วัฒนศัพท์ และคณะ (3) ทำการศึกษา ในประเทศไทยโดยการสำรวจ ในช่วงระยะเวลา 4 ปี คือ ค.ศ. 1988-1991 พบความอุบัติการณ์ของมะเร็งธัยรอยด์ ในผู้หญิง 3.6 ต่อประชากร 100,000 คน ในผู้ชาย 1.2 ต่อประชากร 100,000 คน โดยมะเร็งธัยรอยด์ชนิด papillary พบบ่อยที่สุดและเป็น 2-3 เท่า ของมะเร็งธัยรอยด์ชนิด follicular

อัตราการรอดชีวิตที่ 10 ปีของผู้ป่วยมะเร็งธัยรอยด์ประมาณ 80-90 % และพบการกลับเป็นซ้ำ 5-20% และลักษณะของมะเร็งที่มีความรุนแรงเช่นการกระจายไปอวัยวะอื่นซึ่งพบ 10-15% ทำให้อัตราการรอดชีวิตที่ 10 ปีของผู้ป่วยมะเร็งธัยรอยด์ลดลง เหลือประมาณ 40 % ซึ่งสัมพันธ์กับการรักษาในระยะแรกไม่เหมาะสมในระยะเริ่มแรก ซึ่งใช้อายุผู้ป่วยเมื่อเริ่มวินิจฉัย เพศ ขนาดของก้อนเนื้องอก, การพบเนื้องอกหลายตำแหน่งในต่อมธัยรอยด์ การกระจายทางต่อมน้ำเหลือง การกระจายของมะเร็งไปอวัยวะอื่น ลักษณะเฉพาะบางประการทางพยาธิวิทยานำมาช่วยในการพยากรณ์โรคและวางแผนการรักษา (4) แต่ในปัจจุบันมีการค้นพบการกลายพันธุ์ของยีนหลายชนิดในมะเร็งธัยรอยด์ชนิด papillary คือ การกลายพันธุ์ของยีน BRAF ที่ตำแหน่ง V600E การกลายพันธุ์ของยีน RET/PTC rearrangement การกลายพันธุ์ของยีน RAS โดยเฉพาะในยีน BRAF พบว่ามีความสัมพันธ์กับการกดการแสดงออกของ tumor suppressor gene คือ TIMP3, DAPK, SLC5A8, RAR α 2 และมีความสัมพันธ์กับการกระตุ้นการแสดงออกของ tumor promoting molecule คือ VEGF, MMP3 NFkB-nuclear, c-MET (5) ซึ่งการกลายพันธุ์ของยีน BRAF พบบ่อยที่สุดถึง 29-83% ในหลายการศึกษาที่เกี่ยวข้องกับมะเร็งธัยรอยด์ชนิด papillary

(6) RAF kinase เป็นส่วนหนึ่งของ RAS-RAF-MEK-ERK signal pathway (ต่อมาถูกเรียกว่า MAPK pathway) ซึ่งเป็นตัวควบคุมหลักของกระบวนการแบ่งตัว การเปลี่ยนแปลงรูปร่าง และการตายของเซลล์ต่าง ๆ RAF ชนิด B (BRAF) เป็น isoform ของ RAF kinase ที่มีความสำคัญที่สุดในการกระตุ้นการเติมphosphate ในกระบวนการดังกล่าว ดังนั้นการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* จึงทำให้กระบวนการเหล่านี้ผิดปกติไป ซึ่งมีหลักฐานของการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* ในการเกิดมะเร็งหลายชนิดเช่น มะเร็งผิวหนังชนิด melanoma มะเร็งรังไข่ชนิด serous ovarian carcinoma มะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักมะเร็งปอดรวมถึงมะเร็งต่อมธัยรอยด์ชนิด papillary (7) นอกจากนี้ยังพบความสัมพันธ์ระหว่างการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* กับการกระจายของมะเร็งออกนอกต่อมธัยรอยด์ ระยะของมะเร็งต่อมธัยรอยด์ ขั้นที่ 3 และ 4 ก้อนเนื้ออกเฉลี่ยขนาดใหญ่ อายุมาก เมื่อเริ่มวินิจฉัย เพศชาย กับการกลับเป็นซ้ำหรือการไม่หายขาดของมะเร็งธัยรอยด์ชนิด papillary ในกลุ่มผู้ป่วยทั้งชาวมิซาวและชาวเอเชีย (5) ดังนั้นการศึกษานี้ในผู้ป่วยชาวไทยจึงน่าจะเป็นข้อมูลที่เป็นประโยชน์ในทางคลินิกต่อไป

คำถามการวิจัย

มีความสัมพันธ์ของยีน *BRAF* กับลักษณะทาง พยาธิวิทยาคลินิกของมะเร็งธัยรอยด์ชนิด papillary ในผู้ป่วยชาวไทยหรือไม่ และความชุกของการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* ในมะเร็งธัยรอยด์ชนิด papillary ของผู้ป่วยชาวไทยเป็นเท่าไร

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของยีน *BRAF* กับลักษณะทาง พยาธิวิทยาคลินิกของมะเร็งธัยรอยด์ชนิด papillary ในผู้ป่วยชาวไทย

เพื่อศึกษาความชุกของการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* ในมะเร็งธัยรอยด์ชนิด papillary ของผู้ป่วยชาวไทย

ขอบเขตของการวิจัย และกรอบแนวคิดในการวิจัย

มะเร็งอวัยวะชนิด papillary

อายุผู้ป่วยเมื่อเริ่มวินิจฉัยมากกว่า 45 ปี
 เพศชาย
 ขนาดของก้อนเนื้ออกที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางขนาดใหญ่
 มีประวัติได้รับสารกัมมันตภาพรังสีหรือได้รับการฉายรังสีจากภายนอกบริเวณศีรษะและคอ
 ประวัติครอบครัวญาติสายตรงเป็นมะเร็งอวัยวะ
 มีการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF*
 ■ ลักษณะเฉพาะบางประการทางพยาธิวิทยาของมะเร็ง

การกระจายของมะเร็งอกนอกต่อมอวัยวะ
 ระยะของมะเร็งอวัยวะขั้นที่ 3 และ 4
 การกลับเป็นซ้ำของมะเร็งต่อมอวัยวะ
 การกระจายทางต่อมน้ำเหลือง
 การพบเนื้ออกหลายตำแหน่งในต่อมอวัยวะ
 การกระจายของมะเร็งไปอวัยวะอื่น
 ปริมาณรวมสารกัมมันตภาพรังสี I-131ที่ได้รับ

ข้อตกลงเบื้องต้น

ไม่มี

คำสำคัญ

Papillary thyroid cancer

BRAF mutation

Clinicopathological features

ข้อจำกัดของการวิจัย

- การตรวจวิเคราะห์ยีน *BRAF* เป็นการตรวจที่ใช้งบประมาณค่อนข้างสูง ทำให้ค่าใช้จ่ายในการวิจัยสูงขึ้น

คำจำกัดความที่ใช้ในการวิจัย

การไม่หายขาดของมะเร็งธัยรอยด์ (persistent disease) คือการยังคงตรวจตรวจพบมะเร็งธัยรอยด์หลังจากการรักษาครบกระบวนการรักษามาตรฐานแล้วและยังคงพบมะเร็งธัยรอยด์ จากการตรวจร่างกายพบก้อนเนื้อมะเร็ง การตรวจสาร thyroglobulin thyroglobulin antibody สูงกว่าเกณฑ์ปกติ การตรวจ total body scan พบการ uptake เพิ่มขึ้นของ radiotracer บริเวณต่อมธัยรอยด์

การกลับเป็นซ้ำของมะเร็งธัยรอยด์ (tumor recurrence) คือ ตรวจตรวจพบมะเร็งธัยรอยด์หลังจากการรักษาครบกระบวนการรักษามาตรฐานแล้วและพบการหายขาดของมะเร็งธัยรอยด์แต่ในระยะเวลาต่อมาตรวจร่างกายพบก้อนเนื้อมะเร็ง ตรวจสาร thyroglobulin thyroglobulin antibody สูงกว่าเกณฑ์ปกติ การตรวจ total body scan พบการ uptake เพิ่มขึ้นของ radiotracer บริเวณต่อมธัยรอยด์

การหายขาดของมะเร็งธัยรอยด์ (cure disease or free of disease) คือตรวจร่างกายไม่พบก้อนเนื้อมะเร็ง การตรวจสาร thyroglobulin thyroglobulin antibody อยู่ในเกณฑ์ปกติ การตรวจ total body scan ไม่พบการ uptake เพิ่มขึ้นของ radiotracer บริเวณต่อมธัยรอยด์

ระยะเวลาการติดตามอาการ (total follow up) คือระยะเวลานับตั้งแต่การผ่าตัดรักษา มะเร็งไธรอยด์จนถึงช่วงเริ่มทำการวิจัย

การกระจายของมะเร็งออกนอกต่อมไธรอยด์ (extrathyroid extension) คือ พบมะเร็งนอกต่อมไธรอยด์จากการตรวจชิ้นเนื้อพยาธิวิทยา

การกระจายทางต่อมน้ำเหลือง (lymph node metastasis) คือการตรวจร่างกายหรือการตรวจทางรังสีวินิจฉัยพบต่อมน้ำเหลืองบริเวณคอและบริเวณอื่นของร่างกายและตรวจยืนยันโดยพบมะเร็งไธรอยด์จากชิ้นเนื้อพยาธิวิทยาของต่อมน้ำเหลือง หรือ การตรวจ total body scan พบการ uptake เพิ่มขึ้นของ radiotracer บริเวณต่อมน้ำเหลือง

การพบเนื้องอกหลายตำแหน่งในต่อมไธรอยด์ (multifocality) คือ การตรวจพบมะเร็งไธรอยด์หลายตำแหน่งในชิ้นเนื้อพยาธิวิทยาของต่อมไธรอยด์

ระยะของมะเร็งต่อมไธรอยด์ (tumor stage) คือ การประเมินระยะของมะเร็งไธรอยด์โดยใช้ AJCC/UICC 6th edition TNM staging system (8)

ขนาดของก้อนเนื้องอก (tumor size) คือขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางก้อนมะเร็งไธรอยด์ที่ยาวที่สุดจากการตรวจชิ้นเนื้อพยาธิวิทยา

การกระจายของมะเร็งไปอวัยวะอื่น (distant metastasis) คือการตรวจพบมะเร็งไธรอยด์จากการตรวจ ชิ้นเนื้อพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่ออวัยวะต่าง ๆ หรือ การตรวจ total body scan พบการ uptake เพิ่มขึ้นของ radiotracer บริเวณอวัยวะต่าง ๆ

ลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิก (clinicopathological feature) คือ ลักษณะอาการแสดงทางคลินิกและลักษณะของชิ้นเนื้อพยาธิวิทยาของมะเร็ง

ปริมาณรวมสารกัมมันตภาพรังสี I-131 ที่ได้รับทั้งหมดคือปริมาณสารกัมมันตภาพรังสี I-131 ที่ใช้ในการรักษาโรคมะเร็งไธรอยด์ซึ่งผู้ป่วยมีระยะการติดตามการรักษามากกว่า 12 เดือน

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ใช้ยีน *BRAF* เป็นตัวพยากรณ์โรคมะเร็งร้ายรอยด์ชนิด papillary ในคนไทยซึ่งถ้าสามารถตรวจพบยีนได้ในระยะแรกของโรค เช่น ตรวจพบในการทำ fine needle aspiration (FNA) หรือการตรวจชิ้นเนื้อระหว่างการผ่าตัด (fresh frozen section) ทำให้เราสามารถวางแผนการรักษาอย่างเหมาะสม และติดตามการรักษาได้ดีขึ้นเพื่อลดการกลับเป็นซ้ำ และลดอัตราการตายของโรคนี้ได้ นอกจากนี้ ยังเป็นจุดเริ่มต้นของการคิดค้นยาใหม่ เพื่อรักษามะเร็งร้ายรอยด์ชนิด papillary ต่อไป



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

มะเร็งธัยรอยด์เป็นมะเร็งที่พบมากที่สุดของมะเร็งระบบต่อมไร้ท่อ มะเร็งที่เกิดจากเซลล์ธัยรอยด์ประกอบด้วย papillary thyroid carcinoma ,follicular thyroid carcinoma, anaplastic thyroid carcinoma โดยพบ papillary thyroid carcinoma มากที่สุด 70-80 %(2)

ในปัจจุบันมีการค้นพบการกลายพันธุ์ของยีนหลายชนิดในมะเร็งธัยรอยด์ชนิด papillary คือ การกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* ที่ตำแหน่ง V600E พบ 29-83% การกลายพันธุ์ของยีน *RET/PTC* พบ 8-33%, การกลายพันธุ์ของยีน *Ras* พบ 0-21% ของมะเร็งธัยรอยด์ชนิด papillary โดยทั้ง 3 ยีนเป็นส่วนหนึ่งของ MAPK pathway(9) โดยเฉพาะในยีน *BRAF* พบว่ามีความสัมพันธ์กับการกดการแสดงออกของ tumor suppressor gene คือ TIMP3 (tissue inhibitor of matrix metalloproteinase -3), DAPK(death-associated protein kinase), SLC5A8, RAR α 2(retinoic acid receptor α 2) และมีความสัมพันธ์กับการกระตุ้นการแสดงออกของ tumor promoting molecule คือ VEGF(vascular endothelial growth factor), MMP3(matrix metalloproteinase-3) NFkB(nuclear transcription kB), c-Met(cell surface receptor tyrosine kinase) โดยการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* พบมากที่สุดของการกลายพันธุ์ของยีนในมะเร็งธัยรอยด์ชนิด papillary(10) (5)

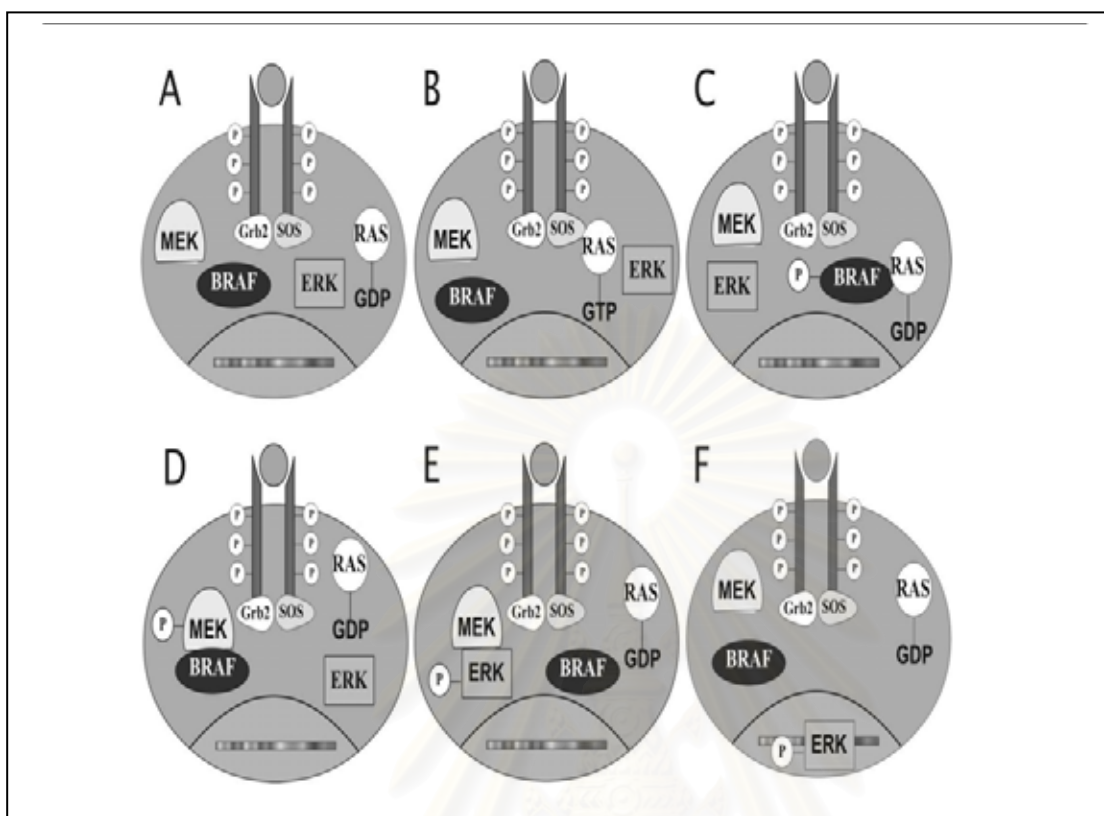
การกลายพันธุ์ของ *Ras* ที่ codon 61 และ codon 31 เกิดจาก loss of heterozygosity in the region บนโครโมโซมที่ 3 พบ 0-10% ในมะเร็งธัยรอยด์ชนิด papillary, พบ 30-50% ในมะเร็งธัยรอยด์ชนิด follicular และไม่พบในมะเร็งธัยรอยด์ชนิด papillary ชนิดย่อย non-follicular variant มักจะพบบ่อยในมะเร็งธัยรอยด์ชนิด follicular ในพื้นที่ขาดแคลนไอโอดีน การรายงานผลความชุกการกลายพันธุ์ของยีน *Ras* ขึ้นอยู่กับเทคนิคที่ใช้ในการวิเคราะห์

การกลายพันธุ์ของยีน *RET/PTC* เกิดจากการกลายพันธุ์บนโครโมโซมที่ 10 พบในมะเร็งธัยรอยด์ชนิด papillary ประมาณ 3-85% โดยพบ *RET/PTC1*, *RET/PTC2*, *RET/PTC3* พบบ่อยในเด็กอายุน้อยกว่า 15 ปี ซึ่งมีรายงานพบในเหตุการณ์การระเบิดของเตาปฏิกรณ์นิวเคลียร์ที่เชอโนบิว และพบในผู้ป่วยทั่วไปที่ไม่ได้โดนรังสีนิวเคลียร์ด้วยเช่นกัน นอกจากนี้ยังพบ

บ่อยในมะเร็งรอยยัดชนิด papillary ชนิดย่อย conventional และในผู้ป่วยเด็กที่ได้รับรังสีรักษา ซึ่งในเด็กพบว่าก้อนเนื้ออกมักมีขนาดใหญ่กว่าในผู้ใหญ่(9)

RAF kinase เป็นส่วนหนึ่งของ RAS-RAF-MEK-ERK signal pathway (ต่อมาถูกเรียกว่า MAPK pathway) ซึ่งเป็นตัวควบคุมหลักของกระบวนการแบ่งตัว การเปลี่ยนแปลงรูปร่าง และการตายของเซลล์ต่าง ๆ RAF ชนิด B (BRAF) เป็น isoform ของ RAF kinase ที่มีความสำคัญที่สุดในการกระตุ้นการเติม phosphate ในกระบวนการดังกล่าว ซึ่งการทำงานของ RAS-RAF-MEK-ERK signal pathway เริ่มต้นจากตัวกระตุ้นหลายชนิดเช่น growth factor, hormone , cytokines จับกับตัวรับ (receptor) tyrosine kinases ซึ่งอยู่บนเยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane) เมื่อเกิดการกระตุ้น receptor แล้วจะเกิดการกระตุ้น guanine exchange factors เช่น SOS (Son of Sevenless) ทำให้เกิดการกระตุ้นการเกิด RAS (RAS active conformation) แล้วจึงมีการรวบรวม RAF ชนิดต่างๆ คือ ARAF BRAF CRAF, มาที่เยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เกิดการเติม phosphate (tiger phosphorilatin) ให้กับ MEK(mitogen extracellular kinase) RAF ชนิด B เป็น isoform ของ RAF kinase ที่มีความสำคัญที่สุดในการเติม phosphate ทำให้ MEK ทำงานโดยกระตุ้นการเติม phosphate (tiger phosphorylation) ให้กับ ERK (extracellular signal-regulated protein kinase) เป็นขั้นตอนสุดท้ายของกระบวนการ RAS-RAF-MEK-ERK (RAS-RAF-MEK-ERK signal pathway) ทำให้เกิดการผลิตสารพันธุกรรมเพื่อควบคุมกระบวนการต่าง ๆ ของเซลล์ต่อไป(11) ดังรูปที่ 1

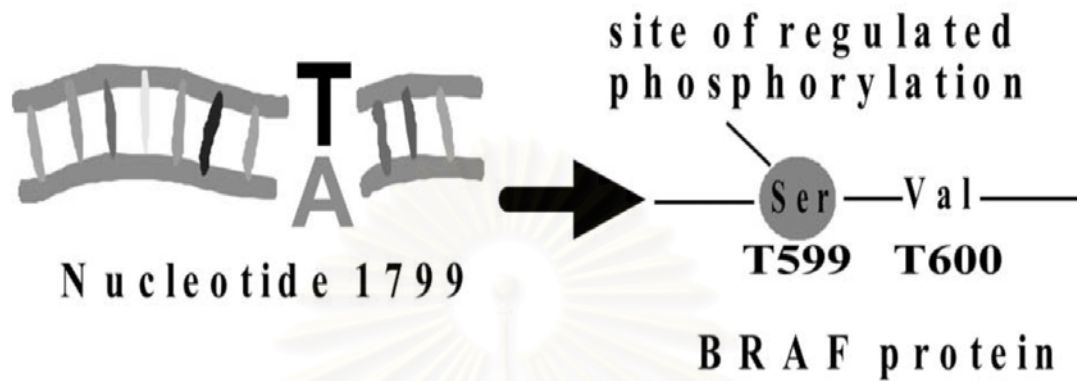
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



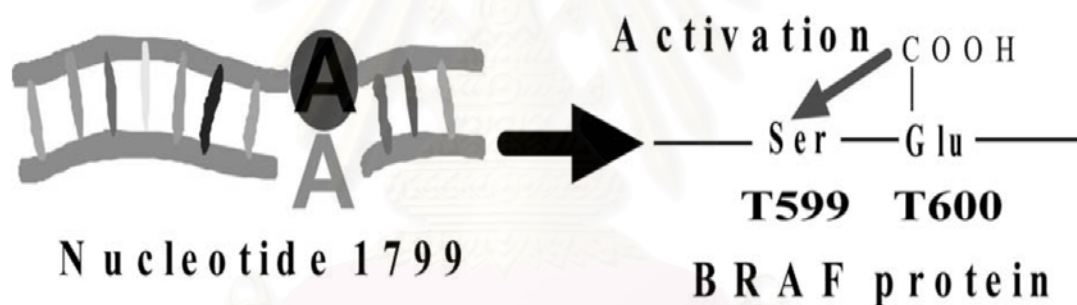
รูปที่ 1 กระบวนการ MAPK เริ่มเมื่อมีการกระตุ้นโดยตัวกระตุ้น (1.A) ทำให้เกิดการกระตุ้น RAS(1.B) ซึ่งจับกับ BRAF(1.C) ทำให้เกิดการกระตุ้น MEK(1.D) และ ERK(1.E) ตามลำดับ ผลลัพธ์ของการกระตุ้นกระบวนการ MAPK คือการสังเคราะห์ DNA(1.F)

การกลายพันธุ์ของ *RAF* kinase ชนิด B (*BRAF*) พบมากกว่า 40 ตำแหน่งบนยีน *BRAF* โดยจุดที่มีเกิดการกลายพันธุ์บน exon 15 เกิดจากการเปลี่ยนของ nucleotide จาก thymine มาเป็น adenine ที่ตำแหน่งเบสที่ 1799 พบมากที่สุด 80% ของการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวส่งผลให้มีการเปลี่ยนกรดอะมิโนจาก valine เป็น glutamic acid ที่ codon 600 จึงทำให้เกิดการกระตุ้นขบวนการ phosphorylation ของ serine ที่ codon 599 ใน kinase pathway ตลอดเวลา ทำให้ไม่สามารถควบคุม การแบ่งตัว การเปลี่ยนแปลงรูปร่าง และการตายของเซลล์ จนทำให้เกิดเป็นมะเร็งในที่สุด (11) ดังรูปที่ 2

Missense mutation



Transversion



รูปที่ 2 แสดงกลไกของการกลายพันธุ์ยีน *BRAF* ที่ตำแหน่ง V600E

การกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* ที่ตำแหน่งอื่นเช่น บน exon 15 ได้แก่ ตำแหน่ง L601 del ในต่อมน้ำเหลืองที่พบการกระจายของมะเร็งร้ายรอยด์ชนิด papillary , ตำแหน่ง K601E ในมะเร็งร้ายรอยด์ชนิด papillary ชนิดย่อย follicular variant , ตำแหน่ง VK600-IE ในมะเร็งร้ายรอยด์ชนิด papillary ชนิดย่อย solid variant , ตำแหน่ง L696V พบในมะเร็งปอดชนิด non small cell และยังพบการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* ที่ exon 11 ตำแหน่ง G468A ในมะเร็งปอดชนิด non small cell(5)

การกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* พบในมะเร็งหลายชนิดในคน เช่น melanoma (63%-66%), invasive micropapillary serous ovarian carcinoma (33%-40%), colorectal carcinoma (11%-20%) (2) แต่การกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* ที่ตำแหน่ง V600E พบเฉพาะในมะเร็งต่อมธัยรอยด์เท่านั้นและการกลายพันธุ์นี้พบเฉพาะในซันเนื้อ (somatic mutation) เท่านั้นไม่พบในเซลล์สืบพันธุ์ (germline mutation)(12)

จะเห็นว่า การกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* พบมากกว่าเมื่อเทียบกับการกลายพันธุ์ของยีน *Ras* และ *RET/PTC* ในมะเร็งธัยรอยด์ชนิด papillary และยังมีเฉพาะเจาะจงมากกว่า และ การกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* ที่ตำแหน่ง V600E เป็นตำแหน่งที่พบบ่อยที่สุด Xing และคณะ (9) ได้รวบรวม 29 การศึกษาที่วิเคราะห์การกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* ในมะเร็งธัยรอยด์และในเนื้อเยื่อต่อมธัยรอยด์ปกติหรือโตจากสาเหตุอื่น สรุปว่าไม่พบการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* ในเนื้อเยื่อต่อมธัยรอยด์ปกติหรือโตจากสาเหตุอื่น แต่พบ ความชุกของการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* 29%-83% ในมะเร็งธัยรอยด์ชนิด papillary โดยเฉลี่ยประมาณ 44%

Lee และคณะ (6) ได้รวบรวม 12 การศึกษาซึ่งทำการศึกษาประชากรในประเทศเกาหลี สเปน ไต้หวัน สหรัฐอเมริกา อิตาลี และญี่ปุ่น ที่ทำการวิเคราะห์การกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* ในมะเร็งธัยรอยด์ ชนิด papillary และลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิกพบว่า การกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* มีความสัมพันธ์กับการกระจายของมะเร็งออกนอกต่อมธัยรอยด์ ระยะที่ 3,4 ของมะเร็งต่อมธัยรอยด์ ชนิดย่อยของมะเร็งธัยรอยด์ชนิด papillary คือ conventional , tall cell variants แต่ไม่มีความสัมพันธ์กับอายุ เพศ เชื้อชาติ และขนาดของก้อนเนื้อออก และอีกหลายการศึกษาได้ผลการศึกษาเช่นเดียวกัน(13-19)

การศึกษาของ Nikiforova(13) ศึกษาประชากร 230 คนในสหรัฐอเมริกา พบว่าการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* มีความสัมพันธ์กับอายุที่มากขึ้น, มะเร็งธัยรอยด์ชนิด papillary ชนิดย่อย classic และ tall cell variant , การกระจายออกนอกต่อมธัยรอยด์ , มะเร็งชนิด papillary ระยะที่ 3 และ 4 และพบว่า การกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* พบเฉพาะในมะเร็งธัยรอยด์ชนิด papillary และมะเร็งธัยรอยด์ชนิด anaplastic ที่พัฒนามาจากมะเร็งธัยรอยด์ชนิด papillary เท่านั้น

การศึกษาของ Kim KH และคณะ (15) ทำการศึกษาประชากรเกาหลีจำนวน 70 คน พบความชุกของการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* 83% และพบว่า การกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* มี

ความสัมพันธ์กับการกระจายทางต่อมน้ำเหลืองของมะเร็งรอยดัดชนิด papillary โดยพบมากในชนิดย่อย conventional

การศึกษาของ M xing และคณะ (16) ศึกษาผู้ป่วยมะเร็งรอยดัดชนิด papillary จำนวน 219 คน ซึ่งรวบรวมจากศูนย์วิจัยชาวผิวขาวในหลายประเทศ พบว่าการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* มีความสัมพันธ์กับการกระจายออกนอกต่อมรอยดัด, การกระจายทางต่อมน้ำเหลือง, มะเร็งรอยดัดระยะที่ 3 และ 4 โดยใช้ระยะเวลาติดตามการศึกษา 15 เดือน พบความสัมพันธ์ของยีน *BRAF* และการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งรอยดัด (Odds ratio 4.0) การ uptake สารกัมมันตภาพรังสี I-131 ที่ลดลงของมะเร็งรอยดัดทำให้การรักษาไม่ได้ผล นอกจากนี้ยังพบว่ายีน *BRAF* มีความสัมพันธ์กับความรุนแรงของมะเร็งรอยดัดชนิด papillary โดยเรียงลำดับชนิดย่อย tall cell variant, conventional variant, follicular variant จากรุนแรงมากไปรุนแรงน้อย ตามลักษณะแสดงออกทางพยาธิวิทยาคลินิก

การศึกษาของ Riesco-Eizagairre และคณะ (18) ทำการศึกษาชนิด papillary ในประเทศสเปนจำนวน 67 คน พบว่าการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* มีความสัมพันธ์กับการกลับเป็นซ้ำในระยะเริ่มแรก (76% เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่มีการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* มีการกลับเป็นซ้ำ 32%) ในระยะเวลาติดตามการศึกษา 3 ปีในกลุ่มที่มีการกลับเป็นซ้ำพบว่ามี uptake สารกัมมันตภาพรังสี I-131 ลดลงจากการทำ total body scan จึงได้ทำการศึกษาขึ้นเนื้อมะเร็งรอยดัดชนิด papillary 60 ชิ้นในส่วนที่มีการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* พบว่าการลดลงของ NIS expression และ impair targeting to membrane อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยในส่วนที่มีการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* พบ 3.5% เทียบกับกลุ่มที่ไม่มีการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* พบ 30% การศึกษาของ Lupi และคณะ (20) ทำการศึกษาผู้ป่วยมะเร็งรอยดัดชนิด papillary จำนวน 500 คนในประเทศอิตาลี พบว่าการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* มีความสัมพันธ์กับการกระจายออกนอกต่อมรอยดัดของมะเร็ง, การกระจายทางต่อมน้ำเหลือง, ระยะของมะเร็งรอยดัดขั้นที่ 3 และ 4

การศึกษาของ Numba และคณะ (21) ทำการศึกษาผู้ป่วยมะเร็งรอยดัดชนิด papillary ในประชากรญี่ปุ่น พบว่าการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* มีความสัมพันธ์กับระยะของมะเร็งรอยดัดขั้นที่ 3 และ 4

ในขณะที่มีหลายการศึกษาที่ไม่พบความสัมพันธ์ของการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* และลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิกต่าง ๆ ซึ่งอาจขึ้นอยู่กับการรายงานผลพยาธิวิทยาที่ไม่ครอบคลุมเช่นไม่รายงานชนิดย่อยของมะเร็งรอยดัดชนิด papillary กฎเกณฑ์การตัดประชากรที่

เข้าและออกจากการศึกษารวมถึงวิธีการศึกษาวิจัยในแต่ละการศึกษาที่แตกต่างกัน เช่น Liu และคณะ(22)ทำการศึกษาผู้ป่วยมะเร็งระยะรยะชนิด papillary ในประชากรได้หวั่นพบกลายพันธุ์ของ ยีน *BRAF* 47% โดยทั้งหมดเป็นการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* ที่ตำแหน่ง V600E และไม่พบ ความสัมพันธ์ของการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* และ อายุ เพศ ขนาดของก้อนมะเร็ง ชนิดย่อยของ มะเร็งระยะรยะชนิด papillary การพบเนื้องอกหลายตำแหน่งในต่อมธัยรอยด์ การกระจายของ มะเร็งทางต่อมน้ำเหลือง การกระจายของมะเร็งไปอวัยวะอื่น และระยะของมะเร็งต่อมธัยรอยด์ และอีกการศึกษาโดย Kim และคณะ(23) ศึกษาประชากรผู้ป่วยมะเร็งระยะรยะชนิด papillary ที่มี ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางที่ยาวที่สุดของก้อนเนื้องอกน้อยกว่า 1 เซนติเมตร ในประเทศเกาหลี วิเคราะห์ยีนโดยวิธี direct sequencing พบความชุกการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* 52% ไม่พบ ความสัมพันธ์ของการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* และอายุ ขนาดของก้อนมะเร็ง การพบเนื้องอก หลายตำแหน่งในต่อมธัยรอยด์ การกระจายของมะเร็งออกนอกต่อมธัยรอยด์ การกระจายของ มะเร็งทางต่อมน้ำเหลือง การกระจายของมะเร็งไปอวัยวะอื่น และระยะของมะเร็งต่อมธัยรอยด์ นอกจากนี้ก็หลายการศึกษาพบแนวโน้มของการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* และลักษณะทางพยาธิ วิทยาคลินิกที่รุนแรงแต่ไม่ถึงนัยสำคัญทางสถิติ

หลายการศึกษาพบความสัมพันธ์ของการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* และการกลับ เป็นซ้ำของมะเร็งระยะรยะชนิด papillary เช่น การศึกษาของ Xing และคณะ(16) การศึกษาของ Kim และคณะ(24) ถึงแม้ว่าแต่ละการศึกษาระยะเวลาติดตามการรักษา ลักษณะสภาพแวดล้อม พื้นฐานทางพันธุกรรมที่แตกต่างกัน โดย overall odds ratio เป็น 2.65 เท่าของผู้ที่ไม่พบการกลาย พันธุ์ของยีน *BRAF* (5) นอกจากนี้ก็มีการศึกษาพบการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* ในมะเร็งระยะรยะ ชนิด papillary สัมพันธ์กับการกระจายของมะเร็งไปอวัยวะอื่น(21, 25)

เนื่องจากในหลายการศึกษากการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* มีความสัมพันธ์กับการ พยากรณ์โรคที่รุนแรง การกลับเป็นซ้ำ ดังนั้นการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* น่าจะมีความสัมพันธ์กับ morbidity ของมะเร็งระยะรยะชนิด papillary ซึ่งเกิดจากการแสดงออกของ tumor suppressor gene กระตุ้นการแสดงออกของ proangiogenesis molecule หรือ oncogene ต่าง ๆ การ uptake สารกัมมันตภาพรังสี I-131 ที่ลดลงของก้อนเนื้องอก ซึ่งในระยะยาวอาจมีข้อมูลเพียงพอ ในการหาความสัมพันธ์การกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* กับ mortality ต่อไป

การใช้ประโยชน์ จากการศึกษาการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* ในการตัดสินใจการ ผ่าตัดมะเร็งระยะรยะต้นในระยะเริ่มแรกให้ครอบคลุมมากยิ่งขึ้น การให้สารกัมมันตภาพรังสี I-131

ปริมาณสูงขึ้น การนัดผู้ป่วยติดตามอาการบ่อยขึ้น รวมถึงการใช้ positron emission tomography scan (PET scan) ในกรณีที่ใช้ I-131 total body scan ให้ผลลบและสงสัยการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งที่มีการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* อาจทำให้กระบวนการรักษามะเร็งอวัยวะสืบพันธุ์มีประสิทธิภาพดีขึ้นสามารถลดอัตราการเป็นซ้ำหรือลดอัตราการตายได้ต่อไป

ในผู้ป่วยที่มีการตรวจพบก้อนที่ต่อมธัยรอยด์ซึ่งมีโอกาสเป็นมะเร็ง 5-8% การเจาะชิ้นเนื้อมาตรวจโดยวิธี fine needle aspiration (FNA) อาจได้ผลเป็น indeterminate ประมาณ 1 ใน 3 ซึ่งวินิจฉัยไม่ได้ว่าเป็นมะเร็งหรือไม่ จากหลายการศึกษาพบว่า การตรวจชิ้นเนื้อโดยวิธี FNA ร่วมกับการตรวจวิเคราะห์การกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* นั้นความถูกต้องในการตรวจพบมะเร็งอวัยวะสืบพันธุ์ชนิด papillary ได้ถึง 100% ซึ่งความชุกการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* ที่ตรวจพบโดยวิธี FNA พบได้ประมาณ 44% การตรวจ FNA สามารถทำได้ง่ายและราคาถูก(9)

เนื่องจาก RET/PTC rearrangement Ras mutation *BRAF* mutation ทั้งหมดเป็นส่วนหนึ่งของกระบวนการ MAPK (MAPK pathway) และพบในมะเร็งอวัยวะสืบพันธุ์ชนิด papillary ดังนั้นการยับยั้ง MAPK pathway น่าจะมีประโยชน์ในการรักษามะเร็งอวัยวะสืบพันธุ์ชนิด papillary ได้ เคยมีการผลิตสารที่ยับยั้ง MAPK pathway โดยยับยั้งที่ RAF kinase คือ AAL-881 และ LBT-613 แต่มีพิษรุนแรงไม่สามารถนำมารักษาผู้ป่วยในทางคลินิกได้ BAY 43-9006 มีประสิทธิภาพดีในการรักษามะเร็งไตแต่ยังอยู่ในระหว่างการศึกษาขั้นที่ 2 และ 3 (phase 2 and phase 3 clinical trials) เท่านั้น ไม่มีผลในการรักษา melanoma เนื่องจาก BAY 43-9006 มีผลยับยั้ง RAF kinase หลายชนิด แต่จำเพาะกับ CRAF มากที่สุด มีความจำเพาะกับ BRAF น้อย จึงไม่มีผลในการรักษามะเร็งอวัยวะสืบพันธุ์ มีการค้นพบสารยับยั้ง MEK คือ CI-1040 สามารถยับยั้งการเติบโตของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ในหนูได้ แต่ยาใหม่เหล่านี้และอีกหลายชนิดในอนาคตคงต้องอาศัยการศึกษาอีกมากมายก่อนที่จะสามารถนำมาใช้รักษาโรคในทางคลินิกต่อไป(5)

จากข้อมูลดังกล่าวทั้งหมด ความชุกที่แตกต่างกันมากในแต่ละการศึกษาของการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* และความสัมพันธ์ของการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* และลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิกในการศึกษาต่าง ๆ แตกต่างกันไปซึ่งยังไม่เคยมีการศึกษาในคนไทยทำให้ไม่มีหลักฐานชัดเจนเพียงพอที่จะนำข้อมูลดังกล่าวมาใช้เป็น ตัวพยากรณ์โรค เพื่อวางแผนการรักษา มะเร็งต่อมธัยรอยด์ชนิด papillary ในชาวไทยได้

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

1. รูปแบบการวิจัย (Research design)

การวิจัย ณ จุดใดจุดหนึ่ง (cross-sectional analytic study)

ระเบียบวิธีวิจัย (Research methodology)

1.1 ประชากร (population) และตัวอย่าง (sample)

1.1.1 หลักเกณฑ์ในการคัดเลือกประชากรและตัวอย่าง

กฎเกณฑ์ในการคัดเลือกผู้เข้ามาศึกษา (inclusion criteria)

-มีประวัติเวทระเบียนสมบูรณ์ครบถ้วน

-ผู้ป่วยที่รักษามะเร็งอวัยวะชนิด papillary โดยวิธีการผ่าตัดและติดตามด้วย

การให้สารกัมมันตภาพรังสี I-131 ตามวิธีมาตรฐาน

-ติดตามการรักษาระหว่างปี พ.ศ. 2545-2550 ที่รพ.จุฬาลงกรณ์

-มีชิ้นเนื้อพยาธิของต่อมอวัยวะสมบูรณ์ในส่วนชิ้นเนื้อที่มีพยาธิสภาพ

สำหรับการวิเคราะห์ยีน *BRAF* ต่อไป

กฎเกณฑ์ในการคัดออกจากการศึกษา (exclusion criteria)

-ผู้ป่วยอายุน้อยกว่า 18 ปี

1.1.2 เทคนิคในการสุ่มตัวอย่าง (sampling technique)

การสุ่มตัวอย่างแบบเฉพาะเจาะจง (Purposive sampling)

1.1.3 การคำนวณขนาดตัวอย่าง (sampling size determination)

จากการศึกษาของ Xing และคณะ (16) พบว่ามีความสัมพันธ์การตรวจพบการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* และการกระจายออกนอกต่อมอวัยวะชนิด papillary โดย odd ratio = 3.647 จากนั้นจึงนำมาคำนวณหาขนาดตัวอย่างต่อไป ตามสูตรดังนี้

กำหนด $\alpha = 0.05$

$$\beta = 0.20$$

$$Z_{\alpha/2} = Z_{0.05/2} = 1.96 \text{ (two tail)}$$

$$Z_{\beta} = Z_{0.20} = 0.84$$

$$n/\text{group} = (Z_{\alpha/2} \sqrt{2PQ} + Z_{\beta} \sqrt{(P_1Q_1 + P_0Q_0)})^2 / (P_1 - P_0)^2$$

P_0 = โอกาสที่กลุ่มควบคุมจะมีปัจจัยเสี่ยง (พบการกระจายของมะเร็งร้ายรอยด์ชนิด papillary นอกต่อมร้ายรอยด์ ที่ไม่พบการกลายพันธุ์ของยีน BRAF) = 0.16

$$R = \text{odd ratio} = 3.647$$

$$P_1 = P_0R / (1 + P_0(R-1)) = 0.410$$

$$P = (P_1 + P_0) / 2 = 0.285$$

$$Q = 1 - P = 0.715$$

หลังจากแทนค่าในสูตร จะได้ $n = 40$ คนในแต่ละกลุ่มดังนั้นขนาดตัวอย่างที่ต้องการใช้การศึกษานี้คือ 80 คน

1.2 เครื่องมือที่ใช้ในการวัดตัวแปร

ใช้แบบบันทึก (record form)

1.3 วิธีปฏิบัติ

1.3.1 ผู้ป่วย

- ทบทวนเวชระเบียนผู้ป่วยมะเร็งร้ายรอยด์ชนิด papillary โดยรักษาและติดตามการรักษาที่ รพ.จุฬาลงกรณ์ ระหว่างปี พ.ศ. 2545-2550 ทั้งเวชระเบียนผู้ป่วยนอกของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ เวชระเบียนผู้ป่วยนอกของภาควิชารังสีวิทยาโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ และสอบถามผู้ป่วยทางโทรศัพท์ในกรณีข้อมูลของเวชระเบียนไม่ครบถ้วนหรือไม่ชัดเจน

- ใช้แบบบันทึกเพื่อทบทวนข้อมูลซึ่งประกอบด้วย

ข้อมูลทั่วไป (demographic characteristics) ประกอบด้วย อายุ เพศ ประวัติมะเร็งชนิดอื่น เช่น melanoma, ovarian carcinoma, colorectal carcinoma, head and neck

cancer ประวัติครอบครัวญาติสายตรง (first degree relation) เป็นมะเร็งระยะรยะรอด ประวัติการได้รับสารกัมมันตภาพรังสีหรือการได้รับการฉายรังสีจากภายนอกบริเวณศีรษะและคอ

การดำเนินโรค (clinical course) ประกอบด้วย การกระจายของมะเร็งออกนอกต่อมธัยรอยด์ การกระจายทางต่อมน้ำเหลือง การพบเนื้องอกหลายตำแหน่งในต่อมธัยรอยด์ ระยะของมะเร็งระยะรยะรอด การกลับเป็นซ้ำของมะเร็งระยะรยะรอด ปริมาณรวมสารกัมมันตภาพรังสี-131ที่ได้รับทั้งหมด ระยะเวลาติดตามการรักษา ระยะเวลาของโรคตั้งแต่เริ่มผ่าตัดจนถึงปัจจุบันซึ่งทำการวิจัย

1.3.2 ชิ้นเนื้อพยาธิจากผู้ป่วย 86 คน

1. ใช้ชิ้นเนื้อพยาธิที่ย้อมสี hematoxylin and eosin (H&E) เพื่อเป็นแนวทางในการหาตำแหน่งของมะเร็งระยะรยะรอดชนิด papillary จำนวน 80 ชิ้นที่แช่ใน paraffin
2. ละลาย paraffin ออกโดยแช่แผ่นสไลด์ที่มีชิ้นเนื้อใน xylene ประมาณ 15 นาที หลังจากนั้นย้ายแผ่นสไลด์มาแช่ใน 100% Ethanol อีกประมาณ 10 นาที
3. ชูดชิ้นเนื้อบนแผ่นสไลด์ใส่หลอดทดลองขนาด 1.5 ml โดยชูดอกเบา ๆ แล้วนำไป incubate ที่ 37°C เป็นเวลา 10-15 นาที เพื่อระเหย Ethanol
4. สกัด DNA โดยใช้ชุดสกัด DNA สำเร็จรูปของ QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN GmbH, Hilden, Germany)
5. วัดปริมาณ DNA ที่ได้ด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 260 นาโนเมตร
6. เพิ่มปริมาณ DNA ของยีน *BRAF* ที่ตำแหน่ง Exon 15 โดยวิธี Polymerase Chain Reaction (PCR) จำนวน 40 รอบ ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้ 1.) ขั้นตอน Denaturation : ใช้อุณหภูมิ 94°C เป็นเวลา 5 นาที 2.) ขั้นตอน Primer annealing : ใช้อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 1 นาที โดยใช้สาย DNA ขนาดสั้น (primer) คือ primer F = 5' TGCTTGCTCTGATAGGAAAATG 3' primer R : 5'AGCATCTCAGGGCCAAAAT 3' 3.) ขั้นตอน Primer extension : ใช้อุณหภูมิ 72°C เป็นเวลา 1.30 นาที
7. ตรวจสอบผลผลิตจากการทำ PCR ด้วยวิธี Gel Electrophoresis โดยใช้ 1% agarose gel
8. ตรวจหาลำดับเบส (Sequencing) ที่บริษัท Macrogen Inc. ประเทศเกาหลี

2.การรวบรวมข้อมูล

เก็บข้อมูลจากเวชระเบียน โดยผู้ทำการวิจัยบันทึกลงแบบบันทึกและจัดเก็บเข้าระบบคอมพิวเตอร์เพื่อนำข้อมูลทั้งหมดมาวิเคราะห์ต่อไป

เก็บรวบรวมข้อมูลการวิเคราะห์ยีน *BRAF* ที่ได้จากภาควิชาพยาธิวิทยาและห้องปฏิบัติการของหน่วยต่อมไร้ท่อและเมตะบอลิซึม คณะแพทยศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และผลการอ่านพยาธิวิทยาโดยพยาธิแพทย์ ซึ่งไม่ทราบผลการวิเคราะห์ยีน *BRAF*

3.การวิเคราะห์ข้อมูล (Data analysis)

3.1 การสรุปข้อมูล

ข้อมูลเชิงลักษณะ (categorical data) สรุปข้อมูลโดยการใส่ จำนวนและร้อยละ (percentage) และ ข้อมูลแบบต่อเนื่อง (continuous data) สรุปข้อมูลโดยใช้ ค่าเฉลี่ย (mean) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ข้อมูลและการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* โดยข้อมูลเชิงลักษณะ (categorical data) ใช้ ไคสแควร์ (chi square test) ข้อมูลแบบต่อเนื่อง (continuous data) ใช้ student *t* test ข้อมูลมีลำดับชั้น (ordinal scale) ใช้ Mann-Whitney U test

เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มที่มี การกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* และไม่มี การกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* โดย unpaired *t*-test หาความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาของการเกิดการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* กับปริมาณรวมการได้รับสารกัมมันตภาพรังสี-131 รักษาที่มากกว่า 100 mCi และน้อยกว่า 100 mCi ว่ามีความแตกต่างกันหรือไม่โดยใช้ Log-Rank Test รายงานผลเป็นค่า *p*-value และ median survival time

การวิเคราะห์ข้อมูลเพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* และลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิกของมะเร็งธัยรอยด์วิเคราะห์โดยใช้ multiple logistic regression analysis โดยจะเลือกตัวแปรที่มีค่า *p*-value น้อยกว่า 0.1 จากการวิเคราะห์แบบ univariate analysis เข้ามาสู่ขั้นตอนการวิเคราะห์แบบ multivariate analysis จากนั้นจะทำการฟิตโมเดล (fitting model) โดยใช้วิธีแบบ Back ward elimination จนในที่สุดได้โมเดลสุดท้ายที่ให้ทุกตัวแปรในโมเดลมีค่า *p*-value < 0.05 การวิเคราะห์ข้อมูลทั้งหมด ทำโดยใช้โปรแกรม SPSS version 16

3.2 การนำเสนอข้อมูล (data presentation)

ใช้ตาราง (table) แสดงความสัมพันธ์ของยีน *BRAF* และลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิก ของมะเร็งต่อมไทรอยด์ในผู้ป่วยชาวไทย

3.3 การทดสอบสมมติฐาน (hypothesis testing)

การทดสอบทางสถิติใช้ Binary logistic regression analysis หาความสัมพันธ์ระหว่าง การกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* และลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิกของมะเร็งไทรอยด์



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4

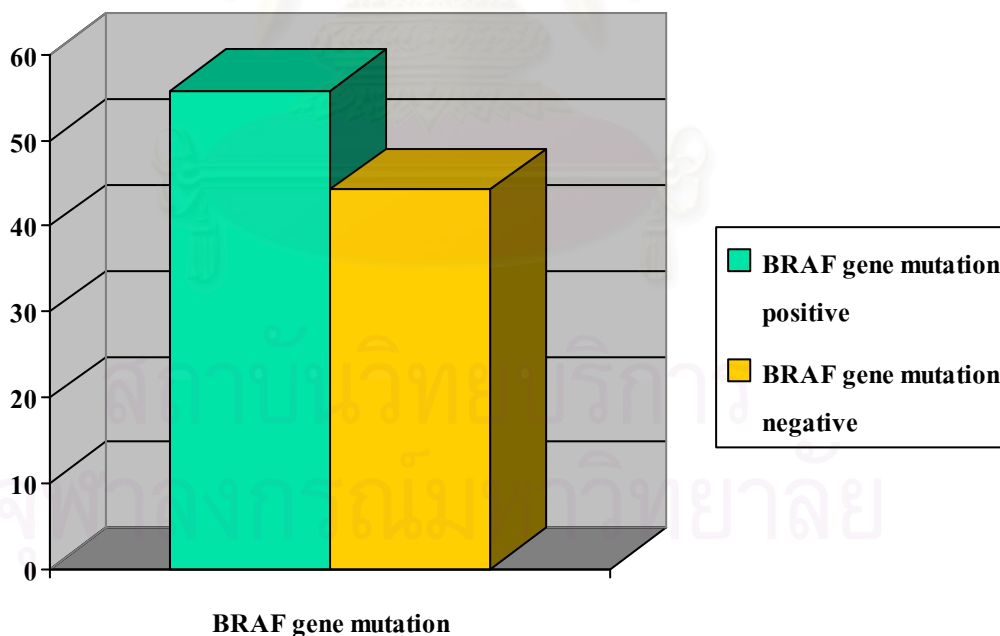
ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

ผลการวิเคราะห์

ประชากรทั้งหมด 86 คน ลักษณะประชากรแบ่งเป็นชาย 14 คน หญิง 72 คน คิดสัดส่วนชายต่อหญิง 1:5 อายุเฉลี่ยของประชากรทั้งหมดที่นำมาศึกษา 47.12 ปี สำหรับผู้มีอายุมากกว่า 45 ปี มีจำนวน 49 คน คิดเป็น 57% ระยะเวลาการติดตามการรักษาเฉลี่ย 30 ± 20 เดือน (อยู่ในช่วง 8-83เดือน) ประชากรที่มีก้อนมะเร็งขนาดมากกว่า 4 เซนติเมตรจำนวน 12 คนคิดเป็น 13.9% การพบเนื้องอกหลายตำแหน่งในต่อมธัยรอยด์คิดเป็นจำนวน 34 คนคิดเป็น 39.5% การกระจายของมะเร็งออกนอกต่อมธัยรอยด์จำนวน 46 คนคิดเป็น 53.5% การกระจายทางต่อมน้ำเหลืองจำนวน 28 คนคิดเป็น 32.6% การกระจายของมะเร็งไปอวัยวะอื่นจำนวน 6 คนคิดเป็น 7% ระยะของมะเร็งต่อมธัยรอยด์ระยะที่ 1,2,3,4 มีจำนวน 44,7,14,21 คนตามลำดับคิดเป็น 51.2%,8.1%,16.3%,24.4% ตามลำดับ ระยะของมะเร็งต่อมธัยรอยด์ระยะที่ 3 4 จำนวน 35 คนคิดเป็น 40.7% ปริมาณรวมการได้รับสารกัมมันตภาพรังสี-131 รักษาที่มากกว่า 100 mCiจำนวน 58 คนคิดเป็น 67.4% มีการกลับเป็นซ้ำหรือโรคไม่หายขาดหลังจากได้รับการรักษาตามมาตรฐานมีจำนวน 20 คนคิดเป็น 23.3% มีประวัติญาติสายตรงเป็นมะเร็งต่อมธัยรอยด์จำนวน 7 คนคิดเป็น 8.1% ดังแสดงในตารางที่ 1

เมื่อนำข้อมูลประชากรมาวิเคราะห์แบบ การวิเคราะห์ตัวแปรเดียว (univariate analysis) เปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* และลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิกในผู้ป่วยมะเร็งต่อมธัยรอยด์ชนิดpapillaryชาวไทย โดยแบ่งผู้ป่วยเป็น 2 กลุ่มโดยแบ่งตามการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* ที่พบในชิ้นเนื้อพยาธิวิทยา กลุ่มแรกมีการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* พบผู้ป่วย 48 คนในผู้ป่วยทั้งหมด 86 คน คิดเป็น 55.8%(ช่วงระดับความเชื่อมั่นที่ 95% 44.6%-66.5%) และกลุ่มที่สองไม่พบการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* พบผู้ป่วย 38 คน ในผู้ป่วยทั้งหมด 86 คน คิดเป็น 44.2% พบว่า มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* ในผู้ป่วยที่มีการกระจายของมะเร็งออกนอกต่อมธัยรอยด์ ($P=0.001$) โดยพบว่าผู้ป่วยที่มีการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* มีโอกาสตรวจพบการกระจายของมะเร็งออกนอกต่อมธัยรอยด์เป็น 4 เท่าของผู้ป่วยที่ไม่มีการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* ช่วงระดับความเชื่อมั่นที่ 95% 1.71-10.47, ระยะของมะเร็งต่อมธัยรอยด์ขั้นที่ 3 และ 4 ($P=0.048$) โดยพบว่าผู้ป่วยที่มีการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* มีโอกาสตรวจพบระยะของมะเร็งต่อมธัยรอยด์ขั้นที่ 3 และ 4 เป็น 2.4

เท่าของผู้ป่วยที่ไม่มีการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* ช่วงระดับความเชื่อมั่นที่ 95% 1.00-6.04, ปริมาณรวมสารกัมมันตภาพรังสี-131 ที่ใช้ในการรักษามากกว่า 100mCi เมื่อตัดผู้ป่วยที่มีระยะเวลาติดตามการรักษาน้อยกว่า 12 เดือนออก ($P=0.032$) โดยพบว่าผู้ป่วยที่ตรวจพบการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* มีโอกาสได้รับปริมาณรวมสารกัมมันตภาพรังสี-131 ที่ใช้ในการรักษามากกว่า 100mCi เป็น 3.2 เท่าของผู้ป่วยที่ตรวจไม่พบการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* ที่ ช่วงระดับความเชื่อมั่นที่ 95% 1.08-9.24 โดยระยะเวลาติดตามอาการ (median time) ในกลุ่มได้รับปริมาณรวมสารกัมมันตภาพรังสี-131 ที่ใช้ในการรักษามากกว่า 100mCi เป็น 36 เดือน ในกลุ่มได้รับปริมาณรวมสารกัมมันตภาพรังสี-131 ที่ใช้ในการรักษาน้อยกว่า 100mCi เป็น 79 เดือน ($p=0.01$) ในขณะที่ไม่พบความแตกต่างของการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* และอายุที่มากกว่า 45 ปี ($p=0.47$), เพศ ($p=0.63$), ขนาดของก้อนเนื้ออกที่มากกว่า 4 เซนติเมตร ($p=0.850$), การพบเนื้ออกหลายตำแหน่งในต่อมไทรอยด์ ($p=0.664$), การกระจายของมะเร็งทางต่อมน้ำเหลือง ($p=0.272$), การกระจายของมะเร็งไปอวัยวะอื่น ($p=0.999$), การกลับเป็นซ้ำของมะเร็งต่อมไทรอยด์ ($p=0.345$), ประวัติญาติสายตรงเป็นมะเร็งต่อมไทรอยด์ ($p=0.457$), ข้อมูลการเปรียบเทียบดังกล่าวแสดงไว้ใน แผนภูมิภาพที่ 1 และ ตารางที่ 1



แผนภูมิภาพที่ 1 แสดงความชุกการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* ในผู้ป่วยมะเร็งไทรอยด์ชนิด papillary ชาวไทย

ตารางที่ 1 แสดงลักษณะประชากรและ ความสัมพันธ์ระหว่างการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* และ ลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิก ของมะเร็งรภัยรอยดัดชนิดpapillary ในผู้ป่วยชาวไทย

ลักษณะทางพยาธิวิทยา คลินิก	จำนวนรวม จำนวน(%)	การกลายพันธุ์ของยีน <i>BRAF</i>		P value
		มีการกลายพันธุ์ จำนวน (%)	ไม่มีการกลายพันธุ์ จำนวน(%)	
ระยะเวลาเฉลี่ยการ ติดตาม อาการ \pm SD(median)	30 \pm 20(8.83)	25.71 \pm 16.6(22)	36.76 \pm 22.8(30)	0.025
อายุเฉลี่ย \pm SD(median)	47 \pm 16.8(47.0)	48.8 \pm 16.2(47.5)	44.92 \pm 17.4(45.0)	0.285
อายุ >45yr	49(57)	19(39.6)	18(47.4)	0.469
เพศชาย	14(19.44)	7(14.6)	7(18.4)	0.632
ขนาดก้อนเนื้อออกเฉลี่ย (cm) \pm SD(median)	2.97 \pm 1.43(3)	3.1 \pm 1.4(3)	2.7 \pm 1.4(2.5)	0.122
ขนาดก้อนเนื้อออก>4cm	12(14)	41(85.4)	33(86.8)	0.850

ตารางที่ 1 (ต่อ) แสดงลักษณะประชากรและ ความสัมพันธ์ระหว่างการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* และลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิก ของมะเร็งรภัยรอยดัดชนิดpapillary ในผู้ป่วยชาวไทย

ลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิก	จำนวนรวม จำนวน(%)	การกลายพันธุ์ของยีน <i>BRAF</i>		P value
		มีการกลายพันธุ์ จำนวน (%)	ไม่มีการกลาย พันธุ์ จำนวน(%)	
การพบเนื้องอกหลายตำแหน่งใน ต่อมธัยรอยด์	34(39.5)	18(37.5)	16(42.1)	0.664
การกระจายทางต่อมน้ำเหลือง	28(32.6)	18(37.5)	10(26.3)	0.272
การกระจายของมะเร็งออกนอก ต่อมธัยรอยด์	46(53.5)	33(68.8)	13(34.2)	0.001
การกระจายของมะเร็งไปอวัยวะ อื่น	6(7)	3(6.2)	3(7.9)	0.999
ระยะของมะเร็งต่อมธัยรอยด์ โดยวิธี TNM				0.113
1	44(51.2)	22(45.8)	22(57.9)	0.270
2	7(8.1)	2(4.2)	5(13.2)	0.130
3	14(16.3)	11(22.9)	3(7.9)	0.060
4	21(24.4)	13(27.1)	8(21.1)	0.520
3+4	35(40.7)	24(50.0)	11(28.9)	0.048
ปริมาณกัมมันตภาพรังสี I-131 ที่ ได้รับทั้งหมด				0.032
≤100mCi	21(30)	7(33.3)	14(66.7)	
>100mCi	49(70)	30(61.2)	19(38.8)	
การกลับเป็นซ้ำของมะเร็ง	20(23.3)	13(27.1)	7(18.4)	0.345
ประวัติครอบครัวการเป็นมะเร็ง ธัยรอยด์	7(8.1)	5(10.4)	2(5.3)	0.457

เมื่อทำการเปรียบเทียบการกระจายของมะเร็งออกนอกต่อมธัยรอยด์กับลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิกต่างๆหลังจากควบคุมตัวแปรที่เกี่ยวข้องอื่นๆ การวิเคราะห์ถดถอยพหุโลจิสติกตัวแปรหลายตัว (multivariate logistic regression analysis) ผู้ป่วยที่มีการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* มีโอกาสเกิดการกระจายของมะเร็งออกนอกต่อมธัยรอยด์เป็น 3.7 เท่าผู้ป่วยที่ไม่มีการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* ช่วงระดับความเชื่อมั่นที่ 95% 1.34-10.34 นอกจากนี้ยังพบว่าผู้ป่วยที่มีระยะของมะเร็งต่อมธัยรอยด์ขั้นที่ 3 และ 4 มีโอกาสเกิดการกระจายของมะเร็งออกนอกต่อมธัยรอยด์เป็น 8.7 เท่าผู้ป่วยที่มีระยะของมะเร็งต่อมธัยรอยด์ขั้นที่ 1 2 ช่วงระดับความเชื่อมั่นที่ 95% 2.90-26.56 ดังแสดงในตารางที่ 2. และ 3

ตารางที่ 2. แสดงการเปรียบเทียบการกระจายของมะเร็งออกนอกต่อมธัยรอยด์กับลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิกต่างๆโดยการวิเคราะห์ตัวแปรเดียว (univariate analysis)

ลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิก	การกระจายของมะเร็งออกนอกต่อมธัยรอยด์			
	มีจำนวน (%)	ไม่มีจำนวน (%)	Crude odds ratio	ช่วงระดับความเชื่อมั่นที่ 95%
การกระจายทางต่อมน้ำเหลือง	20(43.5)	8(20.0)	3.08	1.17-8.11
อายุ > 45ปี	32(69.6)	17(42.5)	3.09	1.27-7.55
ระยะของมะเร็งต่อมธัยรอยด์	29(63.0)	6(15.0)	9.67	3.37-27.74
การกลายพันธุ์ของยีน <i>BRAF</i>	33(71.1)	15(37.5)	4.23	1.70-10.47

ตารางที่ 3 แสดงการเปรียบเทียบการกระจายของมะเร็งออกนอกต่อมธัยรอยด์กับลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิกต่างๆหลังจากควบคุมตัวแปรที่เกี่ยวข้องอื่นๆ การวิเคราะห์ถดถอยพหุโลจิสติกตัวแปรหลายตัว(multivariate logistic regression analysis)

ลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิก	การกระจายของมะเร็งออกนอกต่อมธัยรอยด์	
	Crude odds ratio (ช่วงระดับความเชื่อมั่นที่ 95%)	Adjusted odds ratio (ช่วงระดับความเชื่อมั่นที่ 95%)
ระยะของมะเร็งต่อมธัยรอยด์	9.67(3.37-27.74)	8.87(2.90-26.56)
การกลายพันธุ์ของยีน <i>BRAF</i>	4.23(1.70-10.47)	3.72(1.34-10.34)

เมื่อทำการการเปรียบเทียบระยะของมะเร็งต่อมธัยรอยด์ ขั้นที่ 3 และ 4 กับลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิกต่างๆหลังจากควบคุมตัวแปรที่เกี่ยวข้องอื่นๆ การวิเคราะห์ถดถอยพหุโลจิสติกตัวแปรหลายตัว(multivariate logistic regression analysis) แล้วพบว่าผู้ป่วยที่มีการกระจายทางต่อมน้ำเหลืองมีโอกาสเกิดระยะของมะเร็งต่อมธัยรอยด์ ขั้นที่ 3 และ 4 เป็น 9.7 เท่าผู้ป่วยที่ไม่มีการกระจายทางต่อมน้ำเหลืองช่วงระดับความเชื่อมั่นที่ 95% 1.76-53.87 ผู้ป่วยที่มีอายุ > 45ปี มีโอกาสเกิดระยะของมะเร็งต่อมธัยรอยด์ ขั้นที่ 3 และ 4 เป็น 72.5 เท่าของผู้ป่วยที่มีอายุ < 45ปี ช่วงระดับความเชื่อมั่นที่ 95% 9.31-563.86 นอกจากนี้ยังพบผู้ป่วยที่มีการกระจายของมะเร็งออกนอกต่อมธัยรอยด์มีโอกาสเกิดระยะของมะเร็งต่อมธัยรอยด์ ขั้นที่ 3 และ 4 เป็น 10.6 เท่าผู้ป่วยที่ไม่มีการกระจายของมะเร็งออกนอกต่อมธัยรอยด์ช่วงระดับความเชื่อมั่นที่ 95% 2.47-45.35 แต่ไม่พบความสัมพันธ์ของการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* กับระยะของมะเร็งต่อมธัยรอยด์ ขั้นที่ 3 และ 4 ดังแสดงในตารางที่ 4 และ 5

ตารางที่ 4 แสดงการเปรียบเทียบระยะของมะเร็งต่อมธัยรอยด์ ขั้นที่ 3 และ 4 กับลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิกต่างๆโดยการวิเคราะห์ตัวแปรเดียว (univariate analysis)

ลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิก	ระยะของมะเร็งต่อมธัยรอยด์ ขั้นที่ 3 และ 4			
	มี จำนวน (%)	ไม่มี จำนวน (%)	Crude odds ratio	ช่วงระดับความ เชื่อมั่นที่ 95%
การกระจายทางต่อมน้ำเหลือง	19(54.3)	9(17.6)	5.54	2.08-14.77
การกลับเป็นซ้ำหรือการไม่หายขาดของ มะเร็งธัยรอยด์	12(34.3)	8(15.7)	2.80	1.00-7.84
การกระจายของมะเร็งไปอวัยวะอื่น	5(14.3)	1(2.0)	8.33	0.93-74.78
อายุ > 45ปี	33(94.3)	16(31.4)	36.09	7.70-169.20
ขนาดก้อนเนื้ออกเฉลี่ย >4cm	9(25.7)	3(5.9)	5.54	1.38-22.26
การกลายพันธุ์ของยีน <i>BRAF</i>	24(68.6)	24(47.1)	2.45	0.99-6.04
การกระจายของมะเร็งออกนอกต่อมธัย รอยด์	29(82.9)	17(33.3)	9.67	3.37-27.74

ตารางที่ 5 แสดงการเปรียบเทียบระยะของมะเร็งต่อมธัยรอยด์ ขั้นที่ 3 และ 4 กับลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิกต่างๆหลังจากควบคุมตัวแปรที่เกี่ยวข้องอื่นๆ การวิเคราะห์ถดถอยพหุโลจิสติกตัวแปรหลายตัว (multivariate logistic regression analysis)

ลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิก	ระยะของมะเร็งต่อมธัยรอยด์ ขั้นที่ 3 และ 4	
	Crude odds ratio (ช่วงระดับความเชื่อมั่นที่ 95%)	Adjusted odds ratio (ช่วงระดับความเชื่อมั่นที่ 95%)
การกระจายทางต่อมน้ำเหลือง	5.542(2.08-14.77)	9.73(1.76-53.87)
อายุ > 45ปี	36.0(7.7-169.20)	72.47(9.31-563.86)
การกระจายของมะเร็งออกนอกต่อมธัยรอยด์	9.67(3.37-27.74)	10.57(2.47-45.35)

เมื่อทำการเปรียบเทียบปริมาณรวมสารกัมมันตภาพรังสี I-131 ที่ได้รับทั้งหมด >100mCi (เฉพาะผู้ป่วยที่ติดตามการรักษามากกว่า 12 เดือน) กับลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิกต่างๆหลังจากควบคุมตัวแปรที่เกี่ยวข้องอื่นๆ การวิเคราะห์ถดถอยพหุโลจิสติกตัวแปรหลายตัว (multivariate logistic regression analysis) แล้วพบว่าผู้ป่วยที่มีระยะของมะเร็งต่อมธัยรอยด์ ขั้นที่ 3 และ 4 มีโอกาสมีปริมาณรวมสารกัมมันตภาพรังสี I-131 ที่ได้รับทั้งหมด >100mCi เป็น 6.8 เท่าของผู้ป่วยที่มีระยะของมะเร็งต่อมธัยรอยด์ ขั้นที่ 1 2 ช่วงระดับความเชื่อมั่นที่ 95% 1.77-26.03 แต่ไม่พบความสัมพันธ์ของการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* กับปริมาณรวมสารกัมมันตภาพรังสี I-131 ที่ได้รับทั้งหมด >100mCi ดังแสดงในตารางที่ 6 และ 7

ตารางที่ 6 แสดงการเปรียบเทียบปริมาณรวมสารกัมมันตภาพรังสี I-131 ที่ได้รับทั้งหมด >100mCi (เฉพาะผู้ป่วยที่ติดตามการรักษามากกว่า 12 เดือน) กับลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิกต่างๆโดยการวิเคราะห์ตัวแปรเดียว (univariate analysis)

ลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิก	ปริมาณรวมสารกัมมันตภาพรังสี I-131			
	มี จำนวน (%)	ไม่มี จำนวน (%)	Crude odds ratio	ช่วงระดับความ เชื่อมั่นที่ 95%
การกระจายทางต่อมน้ำเหลือง	21(42.9)	3(14.3)	4.50	1.17-17.30
การกลายพันธุ์ของยีน <i>BRAF</i> การกระจาย	30(61.2)	7(33.3)	3.16	1.08-9.24
ของมะเร็งออกนอกต่อมธัยรอยด์	29(59.2)	7(33.3)	2.90	1.00-8.46
ระยะของมะเร็งต่อมธัยรอยด์	26(53.1)	3(14.3)	6.78	1.77-26.03

ตารางที่ 7 แสดงการเปรียบเทียบปริมาณรวมสารกัมมันตภาพรังสี I-131 ที่ได้รับทั้งหมด >100mCi (เฉพาะผู้ป่วยที่ติดตามการรักษามากกว่า 12 เดือน) กับลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิกต่างๆหลังจากควบคุมตัวแปรที่เกี่ยวข้องอื่นๆ การวิเคราะห์ถดถอยพหุโลจิสติกตัวแปรหลายตัว (multivariate logistic regression analysis)

ลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิก	ปริมาณรวมสารกัมมันตภาพรังสี I-131	
	Crude odds ratio (ช่วงระดับความเชื่อมั่นที่ 95%)	Adjusted odds ratio (ช่วงระดับความเชื่อมั่นที่ 95%)
ระยะของมะเร็งต่อมธัยรอยด์	6.78 (1.77-26.03)	6.78(1.77-26.03)

เมื่อทำการเปรียบเทียบการกลับเป็นซ้ำหรือโรคไม่หายขาดหลังการรักษาตามมาตรฐาน กับลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิกต่างๆหลังจากควบคุมตัวแปรที่เกี่ยวข้องอื่นๆการวิเคราะห์ถดถอยพหุโลจิสติกตัวแปรหลายตัว (multivariate logistic regression analysis) แล้วพบว่าผู้ป่วยที่มีการการกระจายของมะเร็งไปอวัยวะอื่น มีโอกาสกลับเป็นซ้ำหรือโรคไม่หายขาดหลังการรักษาตามมาตรฐานเป็น 23.3 เท่าของผู้ป่วยที่ไม่มีการการกระจายของมะเร็งไปอวัยวะอื่นช่วงระดับความเชื่อมั่นที่ 95% 1.88-291.43แต่ไม่พบความสัมพันธ์ของการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* กับการกลับเป็นซ้ำหรือโรคไม่หายขาดหลังการรักษาตามมาตรฐาน ดังแสดงในตารางที่ 8 และ 9

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 8 แสดงการเปรียบเทียบการกลับเป็นซ้ำหรือโรคไม่หายขาดหลังการรักษาตามมาตรฐาน กับลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิกต่างๆโดยการวิเคราะห์ตัวแปรเดียว (univariate analysis)

ลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิก	การกลับเป็นซ้ำหรือโรคไม่หายขาด			
	มี จำนวน (%)	ไม่มี จำนวน (%)	Crude odds ratio	ช่วงระดับความ เชื่อมั่นที่ 95%
ขนาดก้อนเนื้อออกเฉลี่ย >4cm	14(70)	60(90.9)	4.38	1.20-15.29
การกระจายของมะเร็งไปอวัยวะอื่น	5(25)	1(1.51)	21.67	2.35-99.34
ระยะของมะเร็งต่อมธัยรอยด์ขั้นที่ 3 และ 4	12(60)	23(34.8)	2.80	1.00-7.84

ตารางที่ 9 แสดงการเปรียบเทียบการกลับเป็นซ้ำหรือโรคไม่หายขาดหลังการรักษาตามมาตรฐาน กับลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิกต่างๆหลังจากควบคุมตัวแปรที่เกี่ยวข้องอื่นๆการวิเคราะห์ถดถอยพหุโลจิสติกตัวแปรหลายตัว (multivariate logistic regression analysis)

ลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิก	การกลับเป็นซ้ำหรือโรคไม่หายขาด	
	Crude odds ratio (ช่วงระดับความเชื่อมั่นที่ 95%)	Adjusted odds ratio (ช่วงระดับความเชื่อมั่นที่ 95%)
การกระจายของมะเร็งไปอวัยวะอื่น	21.67 (2.35-99.34)	23.39(1.88-291.43)

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

สรุปผลการวิจัย

พบความชุกของการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* 48 คนในผู้ป่วย 86 คนคิดเป็น 55.8% (ช่วงระดับความเชื่อมั่นที่ 95% 44.6%-66.5%) พบความสัมพันธ์ของการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* กับการกระจายของมะเร็งนอกต่อมธัยรอยด์ ($P=0.001$), ระยะของมะเร็งขั้นที่ 3 และ 4 ($P=0.048$), ปริมาณกัมมันตภาพรังสี I-131 ที่ได้รับทั้งหมด $>100\text{mCi}$ ($P=0.032$) เฉพาะผู้ป่วยที่ติดตามการรักษามากกว่า 12 เดือน โดยไม่พบความแตกต่างของการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* และอายุที่มากกว่า 45 ปี, เพศ, ขนาดก้อนเนื้ออกเฉลี่ย $>4\text{cm}$, การพบเนื้องอกหลายตำแหน่งในต่อมธัยรอยด์, การกระจายทางต่อมน้ำเหลือง, การกระจายของมะเร็งไปอวัยวะอื่น, ประวัติครอบครัวการเป็นมะเร็งธัยรอยด์ เมื่อทำการวิเคราะห์ที่เปรียบเทียบ การวิเคราะห์ถดถอยพหุโลจิสติกตัวแปรหลายตัว (multivariate logistic regression analysis) การกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* ยังคงมีความสัมพันธ์กับการกระจายของมะเร็งออกนอกต่อมธัยรอยด์เท่ากันโดย Adjusted odds ratio = 3.723 ช่วงระดับความเชื่อมั่นที่ 95% 1.34-10.34 โดยไม่พบการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* ระยะของมะเร็งธัยรอยด์ขั้นที่ 3,4 ปริมาณกัมมันตภาพรังสี I-131 ที่ได้รับทั้งหมด $>100\text{mCi}$ เมื่อใช้การกลับเป็นซ้ำหรือการไม่หายขาดของมะเร็งธัยรอยด์เป็นการพยากรณ์โรคที่ไม่ดี ไม่พบความสัมพันธ์ของการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* และการพยากรณ์โรคที่ไม่ดีดังกล่าวหลังจากควบคุมตัวแปรทั้งหมดแล้ว เนื่องจากพบความชุกการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* ค่อนข้างสูงในคนไทย และมีลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิกที่รุนแรง ดังนั้นการตรวจการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* น่าจะมีประโยชน์เพื่อใช้เป็นแนวทางในการวางแผนการรักษา มะเร็งต่อมธัยรอยด์ชนิด papillary ต่อไป

อภิปรายผลการวิจัย

มะเร็งต่อมธัยรอยด์ชนิด papillary มีการดำเนินโรคที่ค่อนข้างช้า ผลการรักษา ค่อนข้างดีเมื่อได้รับการรักษาโดยวิธีมาตรฐานคือ การผ่าตัดต่อมธัยรอยด์และการให้สารกัมมันตภาพรังสี I-131 (26) พบว่ามีผู้ป่วย 10-15% ไม่สามารถรักษาให้หายขาดได้จากการรักษาเบื้องต้นและต้องการรักษาที่เข้มข้นกว่าเดิมซึ่งอาจเกิดภาวะแทรกซ้อนจากการรักษาได้มากขึ้น เพื่อให้หายขาดจากโรคดังกล่าว (27) และพบว่า 5-10% มีการกลับเป็นซ้ำและสัมพันธ์กับการรักษา ระยะแรกที่ไม่เหมาะสม (16) ซึ่งนำไปสู่อัตราการเสียชีวิตจากมะเร็งธัยรอยด์ชนิด papillary 0.5 คน

ต่อประชากรหนึ่งแสนคนต่อปี (2) เพื่อลดการกลับเป็นซ้ำและเพิ่มโอกาสการรอดชีวิตจึงจำเป็นต้องมีการวิเคราะห์ปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการพยากรณ์โรคและสามารถบริหารจัดการได้อย่างเหมาะสมสำหรับผู้ป่วยแต่ละคน

ในระยะเริ่มแรก มีการใช้อายุผู้ป่วยเมื่อเริ่มวินิจฉัย, เพศ, ขนาดของก้อนเนื้อออก, การพบเนื้ออกหลายตำแหน่งในต่อมธัยรอยด์, การกระจายทางต่อมน้ำเหลือง, การกระจายของมะเร็งไปอวัยวะอื่น, ลักษณะเฉพาะบางประการทางพยาธิวิทยา ซึ่งนำมาช่วยในการพยากรณ์โรคได้(4) แต่ในปัจจุบันมีการค้นพบการกลายพันธุ์ของยีนหลายชนิดในมะเร็งธัยรอยด์ชนิดpapillary คือ การกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* ที่ตำแหน่ง V600E, การกลายพันธุ์ของยีน *RET/PTC*, การ tumor suppressor gene คือ *TIMP3*, *DAPK*, *SLC5A8*, *RAR α 2* (5) ซึ่งการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* พบมากที่สุดถึง 29-83% ในหลายการศึกษาที่เกี่ยวข้องกับมะเร็งธัยรอยด์ชนิดpapillary (6) โดยในภูมิภาคเอเชียพบมากกว่าคนผิวขาว โดยเฉพาะในชาวเกาหลีพบความชุกสูงสุด 87.1% (28) ซึ่งอาจขึ้นอยู่กับความแตกต่างทางพันธุกรรมในแต่ละเชื้อชาติ ในการศึกษานี้พบมีการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* ในผู้ป่วยมะเร็งธัยรอยด์ชนิดpapillaryชาวไทย 55.8%(ช่วงระดับความเชื่อมั่นที่ 95% 44.6%-66.5%) ซึ่งใกล้เคียงกับความชุกของชาวเกาหลีในแต่ละการศึกษาดังนี้ Lee และคณะ(29)พบความชุก 58%, Jo และคณะ(30)พบความชุก 63%, Kim และคณะ (23)พบความชุก 52% ส่วนการศึกษาในประเทศไต้หวันโดย Liu และคณะ(22)พบความชุก 47% อาจเป็นเพราะคนไทยมีพื้นฐานทางพันธุกรรมที่คล้ายคลึงกันกับประชากรในประเทศเกาหลีและไต้หวัน ซึ่งผลการศึกษาที่แตกต่างจากผลของการทบทวนวรรณกรรมระบบเชิงปริมาณ (meta analysis) โดย Lee และคณะ(6)ในปี2007 โดยพบว่าพื้นฐานทางพันธุกรรมไม่ได้มีผลต่อความชุกการเกิดการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* แต่การศึกษาดังกล่าวไม่ได้รวมการศึกษาของ Kim และคณะ(24)ซึ่งพบความชุก 73%, การศึกษาของ Chung และคณะ(31)ซึ่งพบความชุก 86%, การศึกษาของ Kim และคณะ(32)พบความชุกถึง 87.1%

มีการศึกษาถึงความสัมพันธ์ของการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* และลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิก เพื่อที่จะใช้เป็นเครื่องมือในการวินิจฉัยโรคและตัวบ่งชี้การพยากรณ์โรคเพื่อใช้ในการวางแผนการรักษาเบื้องต้นและติดตามการรักษาเพื่อให้การรักษามะเร็งธัยรอยด์ชนิดpapillaryให้ได้ผลดีที่สุด ซึ่งการศึกษาทั้งหลายที่กล่าวมาไม่สามารถสรุปผลได้ในทางเดียวกัน เนื่องจากแต่ละการศึกษามีความแตกต่างกันทั้งด้านพื้นฐานทางพันธุกรรม, เชื้อชาติ, สิ่งแวดล้อม แต่ก็ยังพบว่ามีความสัมพันธ์ของลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิกต่างๆ กับการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* (5)

มีการศึกษาที่พบความสัมพันธ์ของการกลายพันธุ์ยีน *BRAF* กับการกระจายของมะเร็งออกนอกต่อมธัยรอยด์, ระยะของมะเร็งธัยรอยด์ขั้นที่ 3,4 ได้แก่ การศึกษาของ Nikiforova และคณะ (13) ในประชากรอเมริกัน 203 คน, การศึกษาของ Xing และคณะ (16) ทำการศึกษารวบรวมผลการวิจัยจากหลายสถาบันระดับประเทศในชาวผิวขาว ประชากร 219 คน, จากการศึกษาอีก 3 การศึกษาจากประเทศเกาหลี(14, 15, 33), การศึกษาจากประเทศอเมริกา สเปน (18) และการศึกษาจากประเทศอิตาลี ซึ่งการศึกษาจากประเทศอิตาลีมีจำนวนผู้ป่วยมะเร็งธัยรอยด์ชนิดpapillaryที่เข้าร่วมการวิจัยมากที่สุดจำนวน 500 คน พบความสัมพันธ์ของการกลายพันธุ์ยีน *BRAF* กับการกระจายของมะเร็งออกนอกต่อมธัยรอยด์, การกระจายทางต่อมน้ำเหลือง, การพบเนื้องอกหลายตำแหน่งในต่อมธัยรอยด์ (19)

จากการศึกษานี้ ซึ่งทำในผู้ป่วยชาวไทยพบว่า มีความสัมพันธ์ของการกลายพันธุ์ยีน *BRAF* กับการกระจายของมะเร็งออกนอกต่อมธัยรอยด์ ($P=0.001$) (odds ratio 4.23 ช่วงระดับความเชื่อมั่นที่ 95% =1.71-10.47) ผลเหมือนกันกับทั้งการวิจัยในเกาหลีและชาวผิวขาว และพบความสัมพันธ์ของการกลายพันธุ์ยีน *BRAF* กับระยะของมะเร็งธัยรอยด์ขั้นที่ 3,4 ($P=0.048$) (odds ratio 2.45 ช่วงระดับความเชื่อมั่นที่ 95% 1.000-6.043) ถึงแม้แต่ละการศึกษาจะมีจำนวนประชากรและพื้นฐานทางพันธุกรรมที่แตกต่างกัน แต่การศึกษานี้ไม่พบความสัมพันธ์ของการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* กับการกระจายทางต่อมน้ำเหลือง ($P=0.272$) เหมือนการศึกษาที่ประเทศเกาหลี ในการศึกษานี้ยังไม่ได้รายงานแยกชนิดย่อยของมะเร็งต่อมธัยรอยด์ชนิด papillary ซึ่งมีแต่ละชนิดย่อยมีความรุนแรงของโรคแตกต่างกัน โดยในชนิดย่อย tall cell variant, classic variant, follicular variant มีความสัมพันธ์กับการกระจายของมะเร็งออกนอกต่อมธัยรอยด์, การกระจายทางต่อมน้ำเหลือง และระยะของมะเร็งธัยรอยด์ขั้นที่ 3,4 มากกว่าชนิดย่อย conventional(9, 16)

การศึกษานี้พบความสัมพันธ์ของการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* กับการรักษาที่ได้รับปริมาณกัมมันตภาพรังสี I-131 ทั้งหมด $>100\text{mCi}$ ($P=0.032$, odds ratio 3.15 ช่วงระดับความเชื่อมั่นที่ 95% 1.08-9.24) เฉพาะผู้ป่วยที่ติดตามการรักษามากกว่า 12 เดือน ซึ่งหมายความว่าผู้ป่วยที่มีการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* ต้องใช้ปริมาณ I-131 มากกว่าผู้ที่ไม่มีการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* ในการรักษาจนหายขาด (แต่ปริมาณการให้สารกัมมันตภาพรังสี I-131 ยังขึ้นอยู่กับการตัดสินใจของแพทย์ผู้รักษาด้วย) มีการศึกษาที่สนับสนุนความสัมพันธ์ดังกล่าว จากการศึกษาของ Xing และคณะ (16) พบว่าการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* ในมะเร็งธัยรอยด์ชนิด papillary น่าจะเป็นสาเหตุทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการรับสารกัมมันตภาพรังสี I-131 ของเซลล์ธัยรอยด์ลดลง ทำให้พบความชุกการเป็นซ้ำค่อนข้างสูงในการศึกษาดังกล่าว (ใน

กลุ่มที่มีการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* พบการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งร้อยละ 25% ในขณะที่กลุ่มที่ไม่มีมีการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* พบการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งร้อยละเพียง 9% ในระยะเวลาติดตามการรักษา 15 เดือน) และยังต้องการวิธีการรักษาที่มีภาวะแทรกซ้อนมากขึ้น เช่นการผ่าตัดซ้ำ, การฉายรังสีรักษา ในขณะที่กลุ่มที่ไม่มีมีการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* เมื่อมีการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งร้อยละสามารถใช้การรักษาด้วยสารกัมมันตภาพรังสี I-131 ซ้ำก็เพียงพอที่จะทำให้โรคหายได้ จากการศึกษาของ Eizaguirre และคณะ (18)ศึกษาประชากรผู้ป่วยมะเร็งร้อยละชนิดเนื้องอกในสเปน 67 คนพบว่าในกลุ่มที่มีการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* พบการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งร้อยละ 32% ในขณะที่กลุ่มที่ไม่มีมีการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* พบการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งร้อยละเพียง 7.6% ในระยะเวลาติดตามการรักษา 3 ปี เมื่อเอากลุ่มที่มีการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งร้อยละมาศึกษาพบว่า การทำงานของ NIS ซึ่งเป็นตัวรับสาร I-131 บนเยื่อหุ้มเซลล์ร้อยละทำงานลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในผู้ป่วยที่มีการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* (significant low NIS expression and impaired targeting to membranes in *BRAF* positive samples 3.5% vs 30% P=0.005) และไม่เกี่ยวข้องกับ ระบบ MEK-ERK

การศึกษานี้ทำการวิเคราะห์ถดถอยพหุโลจิสติกตัวแปรหลายตัว (multivariate logistic regression analysis) เปรียบเทียบการกระจายของมะเร็งออกนอกต่อมธัยรอยด์ ระยะของมะเร็งต่อมธัยรอยด์ ขั้นที่ 3 และ 4 ปริมาณรวมสารกัมมันตภาพรังสี I-131 ที่ได้รับทั้งหมด >100mCi (เฉพาะผู้ป่วยที่ติดตามการรักษามากกว่า 12 เดือน) การกลับเป็นซ้ำหรือโรคไม่หายขาดหลังการรักษาตามมาตรฐาน กับลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิกต่างๆหลังจากควบคุมตัวแปรที่เกี่ยวข้องอื่นๆแล้วพบว่า การกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* ยังคงมีความสัมพันธ์กับการกระจายของมะเร็งออกนอกต่อมธัยรอยด์เท่านั้นโดย Adjusted odds ratio =3.723 ช่วงระดับความเชื่อมั่นที่ 95% 1.34-10.34ในขณะที่การกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* ไม่มีความสัมพันธ์กับระยะของมะเร็งต่อมธัยรอยด์ ขั้นที่ 3 และ 4 ปริมาณรวมสารกัมมันตภาพรังสี I-131 ที่ได้รับทั้งหมด >100mCi (เฉพาะผู้ป่วยที่ติดตามการรักษามากกว่า 12 เดือน) การกลับเป็นซ้ำหรือโรคไม่หายขาดหลังการรักษาตามมาตรฐาน โดยเฉพาะการกลับเป็นซ้ำหรือโรคไม่หายขาดหลังการรักษาตามมาตรฐาน ซึ่งแตกต่างจากหลายการศึกษา โดยต่างกันในระยะระยะเลียดั้งนี้ ระยะเวลาติดตามการรักษา 15-72 เดือน, ภูมิภาคที่ทำการศึกษา เชื้อชาติ เผ่าพันธุ์ (อิตาลี, อเมริกา, สเปน, เกาหลี), จำนวนประชากรที่ทำการศึกษา (47, 180, 203, 67, 209 คน) ซึ่งทั้งหมดพบว่าการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* เพิ่มความเสี่ยงต่อการกลับเป็นซ้ำและการไม่หายขาดของมะเร็งธัยรอยด์ชนิดpapillary (overall odds ratio 2.65, P<0.001 ช่วงระดับความเชื่อมั่นที่ 95% 1.77-3.96) (5) ซึ่งผู้วิจัยยังไม่สามารถให้

คำอธิบายถึงผลการศึกษานี้ได้เมื่อทำการศึกษาการวิเคราะห์ถดถอยพหุโลจิสติกตัวแปรหลายตัว (multivariate logistic regression analysis)

ข้อจำกัดของการศึกษานี้ คือ เป็นการศึกษาวิจัย ณ จุดเวลาใดเวลาหนึ่ง ซึ่งไม่สามารถบ่งชี้สาเหตุ และปัจจัยที่เป็นผลได้ชัดเจน บอกได้เพียงว่ามีความสัมพันธ์กันหรือไม่เท่านั้น, เทคนิคการสุ่มตัวอย่างใช้การสุ่มแบบเฉพาะเจาะจงอาจทำให้เกิดอคติได้ การศึกษานี้ต้องทำการทบทวนเวชระเบียนผู้ป่วยซึ่งเป็นการทบทวนข้อมูลย้อนหลัง ทำให้ได้ข้อมูลบางส่วนไม่ครบถ้วน, การรายงานผลมะเร็งต่อมธัยรอยด์ชนิดpapillaryยังไม่ได้รายงานแยกชนิดย่อยซึ่งมีผลต่อความรุนแรงของโรค, การศึกษานี้มีเวลาติดตามการรักษาเพียง 30 เดือนซึ่งอาจทำให้ยังไม่เห็นผลในระยะยาวที่ชัดเจน , นอกจากนี้ จำนวนประชากรที่ศึกษาจำกัดอยู่แต่ในสถาบันการศึกษาเดียว ซึ่งอาจไม่ครอบคลุมถึงเชื้อสายประชากรบางส่วนของประเทศ

ข้อเสนอแนะ

- ควรรายงานผลชนิดย่อยของมะเร็งธัยรอยด์ชนิดpapillary
- เพิ่มระยะเวลาการติดตามการรักษาให้ยาวนานขึ้น
- ศึกษาประชากรในสถาบันการศึกษาอื่นเพื่อเพิ่มความครอบคลุมของประชากรในประเทศไทย
- ขยายขอบเขตการศึกษากับการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* ที่ตำแหน่งexonอื่นๆ
- ประยุกต์ใช้การทดสอบการกลายพันธุ์ของยีน *BRAF* ในชิ้นเนื้อที่ได้จากการเจาะต่อมธัยรอยด์ (fine needle aspiration) เพื่อใช้ในการวางแผนการรักษาตั้งแต่ก่อนการผ่าตัดรวมทั้งปริมาณการให้สารกัมมันตภาพรังสี I-131
- ศึกษาการกลายพันธุ์ของยีน*BRAF*ในชิ้นเนื้อมะเร็งธัยรอยด์ชนิด micropapillary และผลต่อการวางแผนการรักษา

รายการอ้างอิง (References)

- [1.] Schlumberger MJ. Papillary and follicular thyroid carcinoma. *N Engl J Med*. 1998 Jan 29;338(5):297-306.
- [2.] Davies L, Welch HG. Increasing incidence of thyroid cancer in the United States, 1973-2002. *JAMA*. 2006 May 10;295(18):2164-7.
- [3.] Vatanasapt V, Sriamporn S, Vatanasapt P. Cancer control in Thailand. *Jpn J Clin Oncol*. 2002 Mar;32 Suppl:S82-91.
- [4.] DeGroot LJ, Kaplan EL, McCormick M, Straus FH. Natural history, treatment, and course of papillary thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab*. 1990 Aug;71(2):414-24.
- [5.] Xing M. BRAF mutation in papillary thyroid cancer: pathogenic role, molecular bases, and clinical implications. *Endocr Rev*. 2007 Dec;28(7):742-62.
- [6.] Lee JH, Lee ES, Kim YS. Clinicopathologic significance of BRAF V600E mutation in papillary carcinomas of the thyroid: a meta-analysis. *Cancer*. 2007 Jul 1;110(1):38-46.
- [7.] Trovisco V, Soares P, Sobrinho-Simoes M. B-RAF mutations in the etiopathogenesis, diagnosis, and prognosis of thyroid carcinomas. *Hum Pathol*. 2006 Jul;37(7):781-6.
- [8.] Lang BH, Lo CY, Chan WF, Lam KY, Wan KY. Staging systems for papillary thyroid carcinoma: a review and comparison. *Ann Surg*. 2007 Mar;245(3):366-78.
- [9.] Xing M. BRAF mutation in thyroid cancer. *Endocr Relat Cancer*. 2005 Jun;12(2):245-62.

- [10.] Hu S, Liu D, Tufano RP, Carson KA, Rosenbaum E, Cohen Y, et al. Association of aberrant methylation of tumor suppressor genes with tumor aggressiveness and BRAF mutation in papillary thyroid cancer. *Int J Cancer*. 2006 Nov 15;119(10):2322-9.
- [11.] Wojciechowska K, Lewinski A. BRAF mutations in papillary thyroid carcinoma. *Endocr Regul*. 2006 Dec;40(4):129-38.
- [12.] Xing M. The T1799A BRAF mutation is not a germline mutation in familial nonmedullary thyroid cancer. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2005 Sep;63(3):263-6.
- [13.] Nikiforova MN, Kimura ET, Gandhi M, Biddinger PW, Knauf JA, Basolo F, et al. BRAF mutations in thyroid tumors are restricted to papillary carcinomas and anaplastic or poorly differentiated carcinomas arising from papillary carcinomas. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003 Nov;88(11):5399-404.
- [14.] Kim J, Giuliano AE, Turner RR, Gaffney RE, Umetani N, Kitago M, et al. Lymphatic mapping establishes the role of BRAF gene mutation in papillary thyroid carcinoma. *Ann Surg*. 2006 Nov;244(5):799-804.
- [15.] Kim KH, Kang DW, Kim SH, Seong IO, Kang DY. Mutations of the BRAF gene in papillary thyroid carcinoma in a Korean population. *Yonsei Med J*. 2004 Oct 31;45(5):818-21.
- [16.] Xing M, Westra WH, Tufano RP, Cohen Y, Rosenbaum E, Rhoden KJ, et al. BRAF mutation predicts a poorer clinical prognosis for papillary thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005 Dec;90(12):6373-9.
- [17.] Adeniran AJ, Zhu Z, Gandhi M, Steward DL, Fidler JP, Giordano TJ, et al. Correlation between genetic alterations and microscopic features, clinical manifestations, and prognostic characteristics of thyroid papillary carcinomas. *Am J Surg Pathol*. 2006 Feb;30(2):216-22.
- [18.] Riesco-Eizaguirre G, Gutierrez-Martinez P, Garcia-Cabezas MA, Nistal M, Santisteban P. The oncogene BRAF V600E is associated with a high risk of

recurrence and less differentiated papillary thyroid carcinoma due to the impairment of Na⁺/I⁻ targeting to the membrane. *Endocr Relat Cancer*. 2006 Mar;13(1):257-69.

- [19.] Frasca F, Nucera C, Pellegriti G, Gangemi P, Attard M, Stella M, et al. BRAF(V600E) mutation and the biology of papillary thyroid cancer. *Endocr Relat Cancer*. 2008 Mar;15(1):191-205.
- [20.] Lupi C, Giannini R, Ugolini C, Proietti A, Berti P, Minuto M, et al. Association of BRAF V600E mutation with poor clinicopathological outcomes in 500 consecutive cases of papillary thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007 Nov;92(11):4085-90.
- [21.] Namba H, Nakashima M, Hayashi T, Hayashida N, Maeda S, Rogounovitch TI, et al. Clinical implication of hot spot BRAF mutation, V599E, in papillary thyroid cancers. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003 Sep;88(9):4393-7.
- [22.] Liu RT, Chen YJ, Chou FF, Li CL, Wu WL, Tsai PC, et al. No correlation between BRAFV600E mutation and clinicopathological features of papillary thyroid carcinomas in Taiwan. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2005 Oct;63(4):461-6.
- [23.] Kim TY, Kim WB, Song JY, Rhee YS, Gong G, Cho YM, et al. The BRAF mutation is not associated with poor prognostic factors in Korean patients with conventional papillary thyroid microcarcinoma. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2005 Nov;63(5):588-93.
- [24.] Kim TY, Kim WB, Rhee YS, Song JY, Kim JM, Gong G, et al. The BRAF mutation is useful for prediction of clinical recurrence in low-risk patients with conventional papillary thyroid carcinoma. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2006 Sep;65(3):364-8.
- [25.] Kebebew E, Weng J, Bauer J, Ranvier G, Clark OH, Duh QY, et al. The prevalence and prognostic value of BRAF mutation in thyroid cancer. *Ann Surg*. 2007 Sep;246(3):466-70; discussion 70-1.

- [26.] Cooper DS, Doherty GM, Haugen BR, Kloos RT, Lee SL, Mandel SJ, et al. Management guidelines for patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer. **Thyroid**. 2006 Feb;16(2):109-42.
- [27.] Schlumberger M, Lacroix L, Russo D, Filetti S, Bidart JM. Defects in iodide metabolism in thyroid cancer and implications for the follow-up and treatment of patients. **Nat Clin Pract Endocrinol Metab**. 2007 Mar;3(3):260-9.
- [28.] Kim SK, Song KH, Lim SD, Lim YC, Yoo YB, Kim JS, et al. Clinical and pathological features and the BRAFV600E mutation in patients with papillary thyroid carcinoma with and without concurrent Hashimoto thyroiditis. **Thyroid**. 2009 Feb;19(2):137-41.
- [29.] Kim SK, Song KH, Lim SD, Lim YC, Yoo YB, Kim JS, et al. Clinical and pathological features and the BRAF(V600E) mutation in patients with papillary thyroid carcinoma with and without concurrent Hashimoto thyroiditis. **Thyroid**. 2009 Feb;19(2):137-41.
- [30.] Jo YS, Li S, Song JH, Kwon KH, Lee JC, Rha SY, et al. Influence of the BRAF V600E mutation on expression of vascular endothelial growth factor in papillary thyroid cancer. **J Clin Endocrinol Metab**. 2006 Sep;91(9):3667-70.
- [31.] Chung KW, Yang SK, Lee GK, Kim EY, Kwon S, Lee SH, et al. Detection of BRAFV600E mutation on fine needle aspiration specimens of thyroid nodule refines cyto-pathology diagnosis, especially in BRAF600E mutation-prevalent area. **Clin Endocrinol (Oxf)**. 2006 Nov;65(5):660-6.
- [32.] Kang DY, Kim KH, Kim JM, Kim SH, Kim JY, Baik HW, et al. High prevalence of RET, RAS, and ERK expression in Hashimoto's thyroiditis and in papillary thyroid carcinoma in the Korean population. **Thyroid**. 2007 Nov;17(11):1031-8.
- [33.] Lee JH, Lee ES, Kim YS, Won NH, Chae YS. BRAF mutation and AKAP9 expression in sporadic papillary thyroid carcinomas. **Pathology**. 2006 Jun;38(3):201-4.



ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

ตารางแสดงความสัมพันธ์ของยีน BRAF และ ลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิกของมะเร็งต่อมธัยรอยด์ชนิดpapillary ในผู้ป่วยชาวไทย

ลำดับที่		
ชื่อ - นามสกุล		
Hospital number		
เพศ	1 ชาย 2 หญิง	
อายุเมื่อวินิจฉัยมะเร็งธัยรอยด์ (ปี)	1 18-30 2 31-40 3 41-50 4 51-60 5 61-70 6 71-80 7 > 81	
การกลายพันธุ์ของยีน BRAF	1 positive 2 negative	
Tumor size (cm) เส้นผ่าศูนย์กลางจากชิ้นเนื้อpatho		
Extrathyroidal extension	1 yes 2 no	
Lymph node metastasis	1 yes 2 no	
TNM staging	1 2 3 4	
multifocality	1 yes 2 no	
No of I-131 treatment	1 1 2 2 3 > 2 4 0	
Total I-131 dose(mCi)	1 <= 100 2 > 100	
Total follow-up(months)		
Tumor recurrence	1 yes 2 no	
Distant metastases	1 yes 1.1 lung 1.2 bone 1.3 other 2 no	
Family history of thyroid cancer	1 yes 2 no	
Additional finding	1 underlying disease	

ภาคผนวก ข

ใบยินยอมเข้ารับการตรวจชิ้นเนื้อพยาธิเพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของยีน *BRAF* และลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิก ของมะเร็งต่อมธัยรอยด์ในผู้ป่วยชาวไทย

1. คำชี้แจงเกี่ยวกับงานวิจัยและวัตถุประสงค์ของการวิจัย

มะเร็งต่อมธัยรอยด์เป็นมะเร็งที่พบบ่อยที่สุดของโรคมะเร็งระบบต่อมไร้ท่อ โดยชนิด papillary พบ 80% ของมะเร็งธัยรอยด์ถึงแม้โรคจะรักษาหายและมีการดำเนินโรคช้า แต่ก็พบ ผู้ป่วยกลับเป็นซ้ำ และเสียชีวิตจากโรคดังกล่าว

ดังนั้นการหาตัวชี้วัดเพื่อพยากรณ์โรคจึงมีความสำคัญต่อการรักษาลดการกลับเป็นซ้ำของโรค และลดอัตราการตายได้

มีหลายการศึกษาพบว่ายีน *BRAF* มีความสัมพันธ์กับการพยากรณ์โรค และการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งธัยรอยด์ชนิดpapillary

นอกจากนั้น ความชุกของยีน *BRAF* 30-83% ในการศึกษาของต่างประเทศ จึงยากต่อการนำข้อมูลมาใช้ประกอบการรักษาผู้ป่วยซึ่งเป็นคนไทย

ดังนั้นผู้วิจัยจึงต้องการศึกษาถึงความสัมพันธ์ของยีน *BRAF* และลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิกในผู้ป่วยชาวไทย เพื่อนำข้อมูลไปใช้ประโยชน์ในการรักษาต่อไป

2. คำชี้แจงเกี่ยวกับขั้นตอน วิธีการ ผลข้างเคียง และการปฏิบัติตัวในขณะที่เข้าร่วมการวิจัย

1. อาสาสมัครจะได้รับการอธิบายถึงวัตถุประสงค์ของการวิจัยโดยท่านจะได้รับเอกสารชุดนี้ และได้ลงนามในใบยินยอมก่อน
2. อาสาสมัครจะได้รับการซักประวัติ ตรวจร่างกาย ตรวจวิเคราะห์ชิ้นเนื้อพยาธิเพื่อ ศึกษา ยีน *BRAF* อาสาสมัครที่เข้าร่วมในโครงการนี้ จะไม่เสียค่าใช้จ่าย สำหรับการตรวจวิเคราะห์ชิ้นเนื้อ พยาธิวิทยาหรือการตรวจอื่นๆที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย

3. ประโยชน์ที่ผู้เข้าร่วมการวิจัยจะได้รับ

อาสาสมัครจะได้รับการซักประวัติการตรวจร่างกาย ประเมิน ลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิกของมะเร็งธัยรอยด์

อาสาสมัครจะได้รับการตรวจวิเคราะห์ชิ้นเนื้อพยาธิเพื่อศึกษา ยีน *BRAF*

4. คำชี้แจงเกี่ยวกับสิทธิของอาสาสมัคร

การตรวจชิ้นเนื้อพยาธิเพื่อนำไปใช้ในการวิจัยครั้งนี้ จะนำชิ้นเนื้อที่ได้ไปทำการ ทดสอบในห้องปฏิบัติการวิจัยของคณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ภายใต้การดูแล อย่างใกล้ชิดของผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ ธิติ สนับบุญ และแพทย์หญิงอำไพ เข็มคำ อาสาสมัครจะไม่เสียค่าใช้จ่ายในส่วนของการตรวจชิ้นเนื้อและการทดลองในห้องปฏิบัติการ แต่อย่างใด

นอกจากนี้อาสาสมัครมีสิทธิที่จะปฏิเสธการตรวจชิ้นเนื้อ เพื่อนำไปใช้ในการวิจัยดังกล่าว การเข้าร่วมในการศึกษาวิจัยครั้งนี้เป็นไปโดยสมัครใจ อาสาสมัครอาจจะปฏิเสธที่จะเข้าร่วม หรือถอนตัวออกจากการศึกษาวิจัยนี้ได้ทุกเมื่อ อนึ่ง ผลของการศึกษาวิจัยครั้งนี้จะใช้สำหรับวัตถุประสงค์ทางวิชาการเท่านั้น โดยที่ข้อมูลส่วนตัวของอาสาสมัครจะถูกเก็บเป็นความลับ ไม่มีการเปิดเผยชื่อ และไม่มีการเผยแพร่สู่สาธารณชน

หากท่านมีปัญหาหรือข้อสงสัยประการใด กรุณาติดต่อ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ ธิติ สนับบุญ และแพทย์หญิงอำไพ เข็มคำที่หน่วยต่อมไร้ท่อและเมตาบอลิซึม ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โทรศัพท์ 02-256-4296 และ 0897108115

5. คำยินยอมของอาสาสมัครในการเข้าร่วมโครงการวิจัย

ข้าพเจ้าได้อ่านและทำความเข้าใจทั้งหมดที่เกี่ยวกับโครงการวิจัยในใบยินยอมครบถ้วน ดีแล้ว ข้าพเจ้าเข้าใจถึงลักษณะ วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย พร้อมทั้งได้รับการอธิบาย เกี่ยวกับขั้นตอนและประโยชน์ที่จะได้จากการวิจัย ข้าพเจ้าเข้าใจว่าการเข้าร่วมในโครงการ วิจัยนี้เป็นไปด้วยความสมัครใจ ซึ่งข้าพเจ้าได้มีเวลาที่จะพิจารณาตัดสินใจในการเข้าร่วม โครงการวิจัยนี้ ข้าพเจ้ายินดีที่จะเข้าร่วมตามโครงการวิจัยนี้ จึงลงลายมือชื่อไว้เป็นหลักฐาน

ลงชื่อ (อาสาสมัคร)
(.....)

..... (แพทย์ผู้ทำการวิจัย)
(.....)

..... (พยาน)
(.....)

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

ชื่อ พญ. อัมไพ เหมคำ

วันเดือนปีเกิด 23 ตุลาคม พ.ศ. 2518 จังหวัดนครราชสีมา

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

นักศึกษาคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น	2537-2543
แพทย์เพิ่มพูนทักษะ โรงพยาบาลศูนย์ขอนแก่น	2543-2544
แพทย์ประจำโรงพยาบาลชนบท จังหวัดขอนแก่น	2544-2546
แพทย์ประจำบ้านอายุรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น	2546-2549
แพทย์ประจำโรงพยาบาลพล จังหวัดขอนแก่น	2549-2550

ปริญญาและประกาศนียบัตร

แพทยศาสตรบัณฑิต มหาวิทยาลัยขอนแก่น	2543
วุฒิปัตรแพทย์ผู้เชี่ยวชาญสาขาอายุรศาสตร์	2549

สมาชิกสมาคมวิชาชีพ

- สมาชิกราชวิทยาลัยอายุรแพทย์แห่งประเทศไทย
- สมาชิกสมาคมต่อมไร้ท่อแห่งประเทศไทย
- สมาชิกแพทยสภา

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย