

บทบาทของปริมาณการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ ต่อการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยามุ่งเป้าใน
ผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กที่มีการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาอายุรศาสตร์ ภาควิชาอายุรศาสตร์
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2564
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

The role of EGFR mutation abundance on response to EGFR TKIs in patients with
EGFR mutant Advanced NSCLC



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 2021

Copyright of Chulalongkorn University

| | |
|---------------------------------|--|
| หัวข้อวิทยานิพนธ์ | บทบาทของปริมาณการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ ต่อการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยามุ่งเป้าในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กที่มีการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ |
| โดย | น.ส.พรวิมล สิมสีแก้ว |
| สาขาวิชา | อายุรศาสตร์ |
| อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก | อาจารย์ แพทย์หญิงปิยะดา สิทธิเดชไพบูลย์ |

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

..... คณะบดีคณะแพทยศาสตร์
(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ฉันทชาย สิทธิพันธุ์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์พิสุทธิ กตเวทิน)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(อาจารย์ แพทย์หญิงปิยะดา สิทธิเดชไพบูลย์)

..... กรรมการ
(อาจารย์ นายแพทย์ธิตวิวัฒน์ ศรีประสาธน์)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ แพทย์หญิงกฤติยา กอไพศาล)

6370130230 : MAJOR MEDICINE

KEYWORD: Epidermal growth factor receptor mutation, Tyrosine kinase inhibitor, Circulating tumor DNA
 Pronwasun Simseekeaw : The role of EGFR mutation abundance on response to EGFR TKIs in patients with EGFR mutant Advanced NSCLC . Advisor: PIYADA SITTHIDEATPHAIBOON

Background: Epidermal growth factor receptor (EGFR) tyrosine kinase inhibitors (TKIs) are effective therapies for non-small cell lung cancer (NSCLC) patients with EGFR-activating mutations. However, responses vary with individuals. Intratumor heterogeneity and the relative abundance of EGFR mutations might be capable of predicting the benefit of EGFR-TKIs therapy in patients with advanced NSCLC.

Objective: The aim of this study was to explore the correlation between the abundance of EGFR mutations and response to EGFR TKIs in NSCLC patients with EGFR mutations.

Methods: A prospective cohort of patients with advanced NSCLC and EGFR-activating mutations treated with first-generation EGFR-TKIs at The King Chulalongkorn Memorial Hospital. Paired pre-and post-treatment samples of plasma will be obtained for determine the correlation between EGFR-mutant abundance and clinical response in patients with advanced NSCLC treated with EGFR-TKIs.

Result: A total of 83 patients with advanced EGFR mutated NSCLC who received EGFR TKIs and had baseline blood samples available for EGFR mutation testing using Idylla™ ctEGFR assay. Patients who had undetectable ctEGFR mutation at baseline had a significantly better PFS than patients who had detectable (median PFS was 13.9 and 9.4 months, respectively; $p=0.038$). For patients with ctEGFR mutations detected at baseline, the semi-quantitative EGFR mutation analysis using ΔCq with cutoff values of 4.31 demonstrated patients with high ΔCq revealed significantly better PFS (median PFS was 10.9 and 6.9 months, respectively; $p=0.035$) than the patients who had low ΔCq .

Conclusion: This study concluded that ctDNA detected at baseline was a worse prognostic factor than ctDNA not detected before treatment with first-generation EGFR TKIs in non-small cell lung cancer patients with EGFR mutations. The ΔCq value may be a predictive factor for treatment response to first-generation EGFR TKIs.

Field of Study: Medicine

Student's Signature

Academic Year: 2021

Advisor's Signature

กิตติกรรมประกาศ

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณทุกท่านที่มีส่วนเกี่ยวข้องที่ทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี โดยเฉพาะ อาจารย์ พญ.ปิยะดา สิทธิเดชไพบูลย์ อาจารย์ที่ปรึกษาหลักวิทยานิพนธ์ ผู้ให้ความช่วยเหลือในการทำวิจัย ตั้งแต่เริ่มต้นแนวคิดเกี่ยวกับหัวข้อวิจัย การหาข้อมูล การจัดการข้อมูล การแปลผล การวิเคราะห์ สรุปผลงานวิจัย และยังคงคอยให้คำปรึกษาและแนวทางการแก้ไขปัญหาเมื่อเจอกับอุปสรรคตลอดการทำกรวิจัยครั้งนี้ ขอขอบพระคุณคณาจารย์หน่วยมะเร็งวิทยา ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยที่ให้โอกาส และให้การสนับสนุนในการทำวิจัยมาโดยตลอด

ขอบพระคุณเจ้าหน้าที่หน่วยมะเร็งวิทยา อาจารย์และเจ้าหน้าที่ศูนย์จุฬายีนโพร ที่ให้ความช่วยเหลือในการเก็บข้อมูลและการแปลผล ทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จได้

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณเพื่อนแพทย์ประจำบ้านต่อยอด สาขามะเร็งวิทยาและครอบครัวที่ช่วยเป็นกำลังใจ และขอบคุณอาสาสมัครและญาติของอาสาสมัครทุกท่าน ที่ให้ข้อมูลต่างๆ สำหรับงานวิจัย ทำให้งานวิจัยสามารถสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

พรวิสันต์ สิมสีแก้ว

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

สารบัญ

| | หน้า |
|--|------|
| | ค |
| บทคัดย่อภาษาไทย..... | ค |
| | ง |
| บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... | ง |
| กิตติกรรมประกาศ..... | จ |
| สารบัญ..... | ฉ |
| สารบัญตาราง..... | ฅ |
| สารบัญรูปภาพ..... | ญ |
| บทที่ 1 | 1 |
| บทนำ..... | 1 |
| 1.2 คำถามของการวิจัย (Research question)..... | 2 |
| 1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย (Objectives)..... | 2 |
| 1.4 สมมุติฐาน (Hypothesis)..... | 3 |
| 1.5 กรอบความคิดในงานวิจัย (Conceptual framework) | 3 |
| 1.6 ข้อตกลงเบื้องต้น (ASSUMPTION) | 4 |
| 1.7 การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติที่ใช้ในการวิจัย (OPERATIONAL DEFINITION)..... | 4 |
| 1.8 รูปแบบงานวิจัย (Research design)..... | 7 |
| 1.9 วิธีดำเนินการวิจัยโดยย่อ | 7 |
| 1.10 ปัญหาทางจริยธรรม..... | 7 |
| 1.12 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับการวิจัย..... | 8 |
| 1.13 อุปสรรคที่อาจเกิดขึ้นและมาตรการแก้ไข..... | 9 |

| | |
|---|----|
| บทที่ 2 | 10 |
| ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง | 10 |
| บทที่ 3 | 18 |
| วิธีดำเนินการวิจัย | 18 |
| 3.1 ระเบียบวิธีการวิจัย (Research methodology)..... | 18 |
| ประชากรเป้าหมาย (Target population) | 18 |
| ประชากรตัวอย่าง (Sample Population) | 18 |
| วิธีการเข้าถึงอาสาสมัคร (Approach to participant) | 18 |
| เกณฑ์การคัดเลือกอาสาสมัครเข้าร่วมโครงการวิจัย (Inclusion criteria)..... | 18 |
| เกณฑ์การคัดเลือกอาสาสมัครออกจากโครงการวิจัย (Exclusion criteria) | 19 |
| กระบวนการขอความยินยอม (Informed consent process) | 19 |
| การคำนวณขนาดตัวอย่าง (Sample size calculation) | 19 |
| 3.2 การรวบรวมข้อมูล (Data Collection)..... | 20 |
| 3.3 การวิเคราะห์ข้อมูลและสถิติที่ใช้วิเคราะห์ (Data analytic and statistics)..... | 22 |
| 3.4 ระยะเวลาที่ใช้ในการวิจัยตั้งแต่เริ่มต้นจนถึงสิ้นสุดโครงการ (Timeline) | 23 |
| 3.5 สถานที่ทำวิจัย (Venue of the study)..... | 23 |
| 3.6 งบประมาณ (Budget) | 24 |
| บทที่ 4 | 25 |
| ผลการวิจัย | 25 |
| 4.1 ข้อมูลพื้นฐาน (Baseline characteristics)..... | 25 |
| 4.2 ผลของการตรวจการกลายพันธุ์ของยีนอีจีแอฟอาร์ในเลือดต่อการตอบสนองต่อ EGFR TKIs | 27 |
| 4.3 ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการตรวจพบการกลายพันธุ์ของยีนอีจีแอฟอาร์ในเลือดก่อนเริ่มการรักษา | 27 |
| | 27 |
| 4.4 การติดตามการเปลี่ยนแปลงของการกลายพันธุ์ในเลือด | 31 |

| | |
|--|----|
| บทที่ 5 | 33 |
| อภิปราย สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ | 33 |
| ภาคผนวก..... | 37 |
| แบบบันทึกข้อมูลผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย (case record form)..... | 37 |
| เอกสารชี้แจงข้อมูลและคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมวิจัย (information)..... | 44 |
| หนังสือแสดงความยินยอมเข้าร่วมวิจัย (inform consent) | 51 |
| บรรณานุกรม..... | 55 |
| ประวัติผู้เขียน..... | 60 |



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

สารบัญตาราง

| | หน้า |
|---|------|
| ตารางที่ 1 สรุปผลการศึกษาของการตรวจปริมาณการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ (EGFR abundance) ต่อการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยา EGFR TKIs | 15 |
| ตารางที่ 2 การบริหารงานวิจัยและตารางการปฏิบัติงาน (Tabulation of Research Activities and Timeline)..... | 23 |
| ตารางที่ 3 ตารางแจกแจงงบประมาณ | 24 |
| ตารางที่ 4 ลักษณะพื้นฐาน..... | 26 |
| ตารางที่ 5 Univariate and multivariate Cox-regression analysis of PFS | 27 |
| ตารางที่ 6 ตารางลักษณะพื้นฐานของเนื้องอกทั้งในกลุ่มที่ตรวจพบและตรวจไม่พบการกลายพันธุ์ในเลือด | 28 |
| ตารางที่ 7 Demographic data for EGFR mutation detected by ctDNA | 29 |
| ตารางที่ 8 Multivariate Cox-regression analysis clinical factor revealed ΔCq for PFS... 31 | 31 |

สารบัญรูปภาพ

| | หน้า |
|--|------|
| รูปภาพที่ 1 แสดงกรอบความคิดงานวิจัย | 3 |
| รูปภาพที่ 2 แสดงตำแหน่งที่มีการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์..... | 4 |
| รูปภาพที่ 3 แสดงการคำนวณปริมาณการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ | 5 |
| รูปภาพที่ 4 แสดงการคำนวณค่า deltaCq..... | 5 |
| รูปภาพที่ 5 exponential curve แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง fluorescence unit กับจำนวนรอบการทำ PCR..... | 6 |
| รูปภาพที่ 6 exponential curve ความสัมพันธ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ปกติและยีนอีจีเอฟอาร์ที่มีการกลายพันธุ์ที่ตรวจด้วยวิธี IdyllaTM | 6 |
| รูปภาพที่ 7 ภาพแสดงลักษณะของตัวรับอีจีเอฟอาร์..... | 11 |
| รูปภาพที่ 8 แสดงหลักการของสารพันธุกรรมมะเร็งในเลือด..... | 16 |
| รูปภาพที่ 9 แสดงการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ที่สามารถตรวจได้ | 17 |
| รูปภาพที่ 10 แสดงแนวทางการดำเนินการวิจัย..... | 22 |
| รูปภาพที่ 11 Flowchart of the study..... | 25 |
| รูปภาพที่ 12 ROC curve of ΔCq | 31 |
| รูปภาพที่ 13 Kaplan-Meier curve of PFS used ΔCq cut-off..... | 31 |

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา (Rational)

โรคมะเร็งปอดเป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญ เนื่องจากเป็นมะเร็งที่พบได้บ่อยและเป็นสาเหตุการเสียชีวิตจากมะเร็งมากที่สุดในโลก รวมทั้งในประเทศไทย[1, 2] มากกว่าร้อยละ 70 ของผู้ป่วย มักได้รับการวินิจฉัยในระยะที่ไม่สามารถรักษาโรคให้หายขาดได้ และมีอัตราการรอดชีวิตที่ 5 ปีเพียงร้อยละ 15 หลังได้รับการวินิจฉัยแล้วเท่านั้น ส่วนใหญ่ประมาณร้อยละ 80-85 เป็นมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็ก หรือ non-small cell lung cancer (NSCLC) ซึ่งในการรักษามะเร็งชนิดนี้ได้มีการค้นพบยีนก่อมะเร็ง โดยเฉพาะการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ (epidermal growth factor receptor, EGFR) และยีนเอแอลเค (anaplastic lymphoma kinase, ALK) ทำให้เกิดการพัฒนารักษาโรคมะเร็งปอดเป็นอย่างมาก ต่อมาได้มีการพัฒนายาพุ่งเป้าเพื่อรักษามะเร็งชนิดนี้ เรียกว่ายาพุ่งเป้า (EGFR TKIs) จากการศึกษาในทางคลินิกเพื่อทดสอบประสิทธิภาพของยา EGFR TKIs ในการศึกษาพบว่าพบมีอุบัติการณ์การกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ในประเทศเอเชียรวมทั้งประเทศไทยมากถึงร้อยละ 50-70[3, 4] เมื่อเปรียบเทียบกับประเทศทางตะวันตก ซึ่งพบเพียงร้อยละ 10-20[5-7] และจากการศึกษาวิจัยในทางคลินิกในคนไข้มะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กที่มีการกลายพันธุ์ของยีน EGFR ศึกษาเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ได้รับยา กลุ่มแรกของ EGFR TKIs และยาเคมีบำบัดมาตรฐาน แสดงให้เห็นว่าการใช้ยาพุ่งเป้ากลุ่ม EGFR tyrosine kinase inhibitors (TKIs) ทำให้มีผลการรักษาที่มีประสิทธิภาพกว่าการใช้ยาเคมีบำบัด ในด้านการเพิ่มขึ้นของการตอบสนองของโรคโดยรวมหรือ overall response rate (ORR) ประมาณร้อยละ 70, เพิ่มระยะเวลาการรอดชีวิตโดยโรคสงบหรือ progression free survival (PFS) 10-13 เดือน รวมทั้งเพิ่มคุณภาพชีวิต ในการรักษามะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กระยะที่ 4 ที่มีการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์[8-14] ถึงแม้ว่าการรักษาด้วยยา EGFR TKIs จะมีประสิทธิภาพดีดังกล่าวข้างต้น แต่มักจะมีการดื้อยาตามมาและเป็นปัญหาที่สำคัญในการรักษา [15] โดยกลไกการดื้อต่อยา EGFR TKIs ที่พบมากที่สุดคือการเกิดการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์แบบ T790M คือเกิดการกลายพันธุ์ที่ทำให้กรดจาก Threonine (T) เป็น Methionine (M) ที่ตำแหน่ง 790 ของ exon20 [16, 17] นำมาซึ่งการค้นพบยาพุ่งเป้ากลุ่ม EGFR TKIs รุ่นที่ 3 ที่ออกฤทธิ์ต่อการกลายพันธุ์ของยีน EGFR แบบ T790M ได้[18, 19] อย่างไรก็ตาม เกือบครึ่งหนึ่งของการดื้อยา EGFR TKIs เป็นแบบอื่น ๆ ที่ยังไม่มีการรักษาเฉพาะ การศึกษาวิจัยถึงสาเหตุของการดื้อยาแบบอื่น ๆ ที่ไม่ใช่การกลายพันธุ์ของยีน EGFR แบบ T790M จึงเป็นประโยชน์

ในการพัฒนาการรักษาในผู้ป่วยกลุ่มนี้ให้มีประสิทธิภาพดีขึ้น ซึ่งปัจจุบันยังไม่มีตัวชี้วัดทางชีวภาพ (biomarker) ที่สามารถใช้ในการทำนายโอกาสของการเกิดการดื้อยาแบบการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์แบบ T790M หรือแบบอื่น ๆ และยังไม่มิตัวชี้วัดทางชีวภาพที่สามารถบ่งบอกกลุ่มผู้ป่วยที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยา EGFR TKIs เลยทั้ง ๆ ที่มีการกลายพันธุ์ของยีนนี้

จึงเป็นที่มาของงานวิจัยนี้เพื่อศึกษาตัวชี้วัดทางชีวภาพต่อการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยามุ่งเป้ากลุ่ม EGFR TKIs ในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กที่มีการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์

1.2 คำถามของการวิจัย (Research question)

คำถามหลัก (Primary research questions)

- ปริมาณการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ (EGFR mutation abundance) มีผลต่อการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยามุ่งเป้าในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กที่มีการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์หรือไม่

คำถามรอง (SECONDARY RESEARCH QUESTION)

- ปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับปริมาณการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ (EGFR mutation abundance) ที่สูง ได้แก่ ขนาดของก้อนมะเร็ง, การมีโรคแพร่กระจายหลายตำแหน่ง และ ความลึกของการตอบสนอง (depth of response) ต่อการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยามุ่งเป้าในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กที่มีการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์หรือไม่

1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย (Objectives)

วัตถุประสงค์หลัก (Primary objective)

- เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ (EGFR mutation abundance) ต่อการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยามุ่งเป้าในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กที่มีการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์

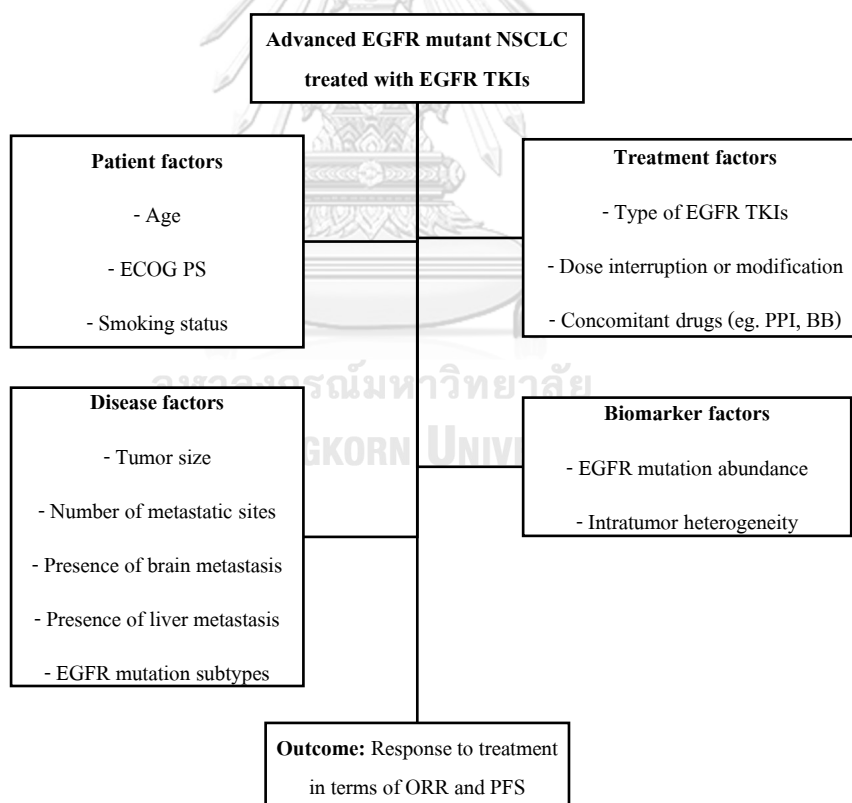
วัตถุประสงค์รอง (Secondary objective)

- เพื่อหาค่าจุดตัดของปริมาณการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ (EGFR mutation abundance) ต่อการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยามุ่งเป้าในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กที่มีการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์
- เพื่อหาปัจจัยที่สัมพันธ์กันกับการมีปริมาณการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ (EGFR mutation abundance) ที่มาก ได้แก่ ขนาดของก้อนมะเร็ง, การมีโรคแพร่กระจายหลายตำแหน่ง, และความลึกของการตอบสนอง (depth of response)

1.4 สมมุติฐาน (Hypothesis)

ปริมาณการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ (EGFR mutation abundance) ไม่มีผลต่อการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยามุ่งเป้าในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กที่มีการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์

1.5 กรอบความคิดในงานวิจัย (Conceptual framework)



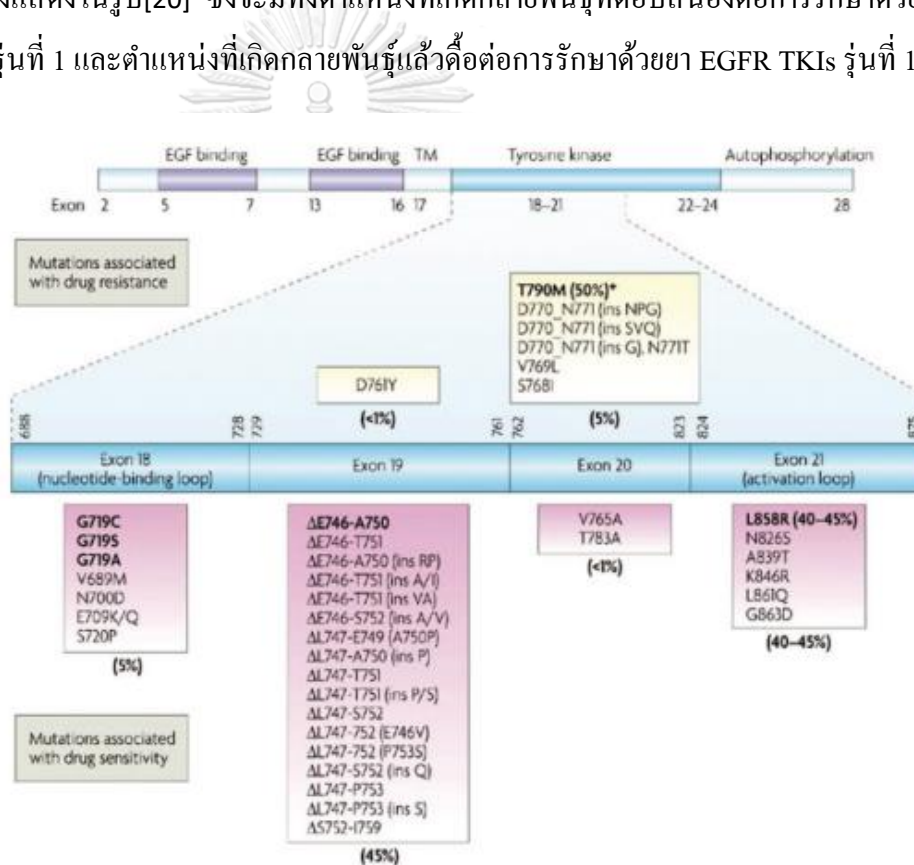
รูปภาพที่ 1 แสดงกรอบความคิดงานวิจัย

1.6 ข้อตกลงเบื้องต้น (ASSUMPTION)

- ไม่มี

1.7 การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติที่ใช้ในการวิจัย (OPERATIONAL DEFINITION)

1.7.1 EGFR mutation คือการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ ซึ่งอยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 7 โดยการกลายพันธุ์ของยีนนี้ จะสามารถพบได้ตั้งแต่ตำแหน่ง (exon) ที่ 18 ถึง 21 ชนิดของการกลายพันธุ์ที่พบได้บ่อยที่สุด คือการหายไปของ exon 19 (exon 19 deletion) รองลงมาคือ มีการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนจาก Leucine (L) เป็น Arginine (R) ที่ตำแหน่ง 858 ของ exon 21 (L858R) และตำแหน่งอื่น ๆ ดังแสดงในรูป[20] ซึ่งจะมีทั้งตำแหน่งที่เกิดกลายพันธุ์ที่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยา EGFR TKIs รุ่นที่ 1 และตำแหน่งที่เกิดกลายพันธุ์แล้วคือต่อการรักษาด้วยยา EGFR TKIs รุ่นที่ 1



รูปภาพที่ 2 แสดงตำแหน่งที่มีการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์

1.7.2 EGFR tyrosine kinase inhibitors (EGFR TKIs) เป็นยามุ่งเป้า (targeted therapy) ที่ยับยั้งการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ โดยจะไปจับตรงตำแหน่งของ tyrosine kinase ทำให้ยับยั้งปฏิกิริยา phosphorylation จึงยับยั้งการส่งสัญญาณลงภายในเซลล์ และมีผลต่อการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งได้ ปัจจุบันมียากลุ่มนี้ทั้งหมด 3 รุ่น ได้แก่ first-generation EGFR TKIs (ได้แก่

gefitinib, erlotinib และ icotinib) ซึ่งจะจับตรงตำแหน่งของ tyrosine kinase แบบ reversible, second-generation EGFR TKIs (ได้แก่ afatinib และ dacomitinib) จะจับตรงตำแหน่งของ tyrosine kinase แบบ irreversible, และ third-generation EGFR TKIs (ได้แก่ osimertinib) จะจับตรงตำแหน่งของ tyrosine kinase แบบ irreversible และมีผลต่อการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ชนิดที่ถือต่อการรักษาด้วยยา EGFR TKIs รุ่นที่ 1 และ 2 คือการกลายพันธุ์ที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนจาก Threonine (T) เป็น Methionine (M) ที่ตำแหน่ง 790 ของ exon 20 (T790M)

1.7.3 EGFR mutation abundance คือปริมาณการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ โดยคำนวณจาก

$$\text{EGFR mutation abundance} = \frac{\text{Copy number of EGFR mutation}}{(\text{Copy number of EGFR mutation} + \text{EGFR wild type})} \times 100$$

รูปภาพที่ 3 แสดงการคำนวณปริมาณการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์

1.7.4 deltaCq คือ ความแตกต่างของค่า cycle of threshold ระหว่างกลุ่มที่มีการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์และควบคุมคือกลุ่มที่มีการแสดงออกปกติของยีนอีจีเอฟอาร์ โดยการตรวจด้วยวิธี Idylla™ ctEGFR assay ซึ่งตรวจหา EGFR mutation ด้วยวิธีการ fluorescent amplification real time PCR

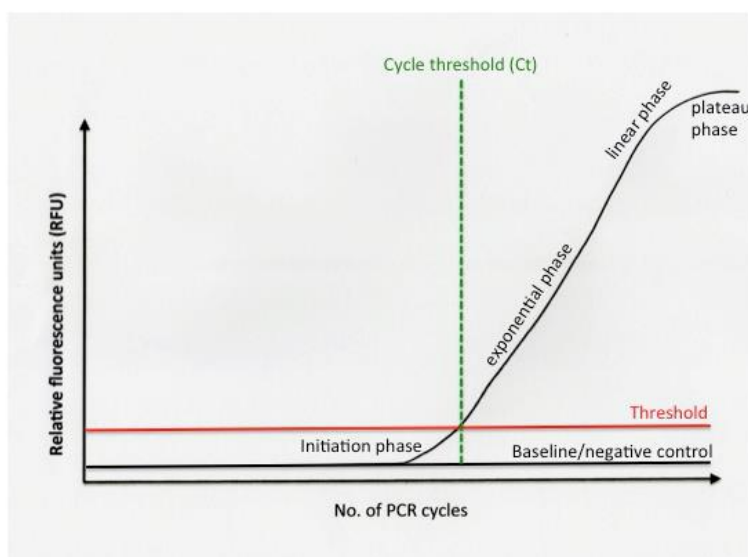
$$\Delta Cq = \text{mt-EGFR } Cq - \text{wt-EGFR } Cq$$

รูปภาพที่ 4 แสดงการคำนวณค่า deltaCq โดยที่ค่า cycle of threshold คือ จุดที่เปลี่ยนจาก initial phase เป็น exponential phase ของ exponential curve ของการตรวจ real time fluorescent PCR ซึ่งแสดงถึงความสัมพันธ์ของ fluorescence unit กับจำนวนรอบของการทำ PCR โดยมีทั้งหมด 3 phase ดังนี้ (รูปภาพที่ 5)

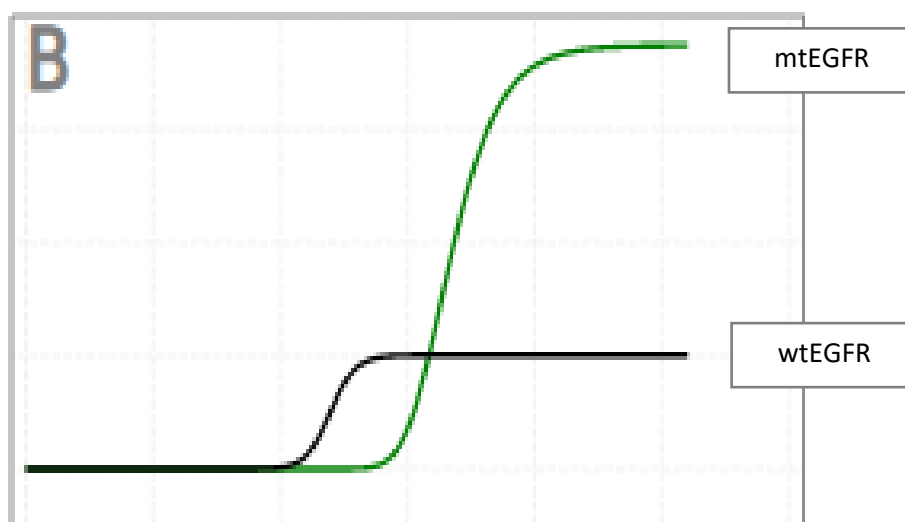
1. Initial phase คือช่วงที่แสง fluorescence ต่ำกว่าที่เครื่องจะตรวจวัดได้
2. Exponential phase เป็นช่วงที่ fluorescence เพิ่มขึ้นแบบ exponential curve

3. Plateau phase คือเป็นช่วงที่ fluorescence เริ่มคงที่

ซึ่งการแปลผลการตรวจ Idylla™ (รูปภาพที่ 6) หากพลาสมาที่มีปริมาณ EGFR mutation มีปริมาณมาก ค่า Cq ของ mtEGFR จะใกล้เคียงกับ Cq ของ wtEGFR ทำให้ ΔCq ต่ำ



รูปภาพที่ 5 exponential curve แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง fluorescence unit กับจำนวนรอบการทำ PCR



รูปภาพที่ 6 exponential curve ความสัมพันธ์ของยีนอีจีแอฟอาร์ปกติและยีนอีจีแอฟอาร์ที่มีการกลายพันธุ์ที่ตรวจด้วยวิธี Idylla™

1.7.5 Circulating tumor DNA (ctDNA) คือ ชิ้นส่วนของสารพันธุกรรมของมะเร็งที่อยู่ในกระแสเลือด

1.8 รูปแบบงานวิจัย (Research design)

เป็นการศึกษาจากเหตุไปหาผลแบบ ไปข้างหน้า (Prospective cohort study)

1.9 วิธีดำเนินการวิจัยโดยย่อ

อาสาสมัครที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นมะเร็งปอดชนิดต่อมเซลล์ไม่เล็ก ระยะที่ 4 และได้รับการรักษาด้วยยามุ่งเป้า EGFR TKIs รุ่นที่ 1 หลังจากอาสาสมัครให้ความยินยอมที่จะเข้าร่วมในโครงการวิจัย ก่อนรับประทานยา ผู้วิจัยจะเก็บตัวอย่างเลือดของผู้ป่วย 8 มิลลิลิตร เพื่อส่งตรวจหาปริมาณ EGFR mutation ในเลือดและการตรวจเลือดพื้นฐาน จากนั้นจะตรวจติดตามการตอบสนองของโรคต่อยา EGFR TKIs ด้วยการเอ็กซเรย์คอมพิวเตอร์ ทุก 2-3 เดือน จนกว่าจะไม่ได้รับประทานยาเนื่องจากโรคกำเริบหรือรอยโรคเพิ่มมากขึ้น ผู้วิจัยเก็บข้อมูลพื้นฐานของผู้เข้าร่วมงานวิจัยจากเวชระเบียน การวัดผล โดยการแบ่งกลุ่มอาสาสมัครเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มตอบสนองดีต่อการรักษาด้วยยา EGFR TKIs รุ่นที่ 1 และกลุ่มที่ไม่ตอบสนองโดยใช้ระยะเวลาในการรับประทานยา EGFR TKIs รุ่นที่ 1 และยังคงควบคุมโรคได้เป็นระยะเวลา มากกว่าเท่ากับ 6 เดือน หรือน้อยกว่า 6 เดือน เป็นตัวกำหนด จากนั้นจึงหาความสัมพันธ์ของปริมาณยีนกลายพันธุ์และ ปัจจัยอื่น ๆ กับการตอบสนองต่อยา EGFR TKIs

1.10 ปัญหาทางจริยธรรม

หลักความเคารพในบุคคล (Respect for person)

ผู้วิจัยขอความยินยอมจากอาสาสมัครและญาติที่เข้าร่วมในการวิจัย ผู้วิจัยจะเคารพในการเก็บรักษาความลับของอาสาสมัคร โดยการศึกษาครั้งนี้จะไม่ระบุ Hospital Number (HN) ในการเชื่อมโยงข้อมูลของผู้ป่วย และข้อมูลที่ได้จากการศึกษารวมทั้งประวัติของผู้ป่วยจะถูกเก็บรักษาเป็นความลับโดยคำนึงถึงสิทธิผู้ป่วยเป็นสำคัญ และการนำเสนอผลการศึกษาก็จะเป็นภาพรวมของการศึกษาทั้งหมด ซึ่งจะไม่นำเสนอข้อมูลรายบุคคล โดยอาสาสมัครจะได้รับข้อมูลรายละเอียดเกี่ยวกับงานวิจัย วัตถุประสงค์และประโยชน์ที่ได้รับจากการเข้าร่วมงานวิจัย อาสาสมัครและญาติได้ตัดสินใจด้วยตนเองในการเข้าร่วมโครงการวิจัย ซึ่งตรงกับหลักความเคารพในบุคคล

หลักการให้ประโยชน์ไม่ก่อให้เกิดอันตราย (Beneficence/Non-maleficence)

การวิจัยนี้มีความเสี่ยงเพียงเล็กน้อยกับอาสาสมัคร อาสาสมัครจะได้รับประโยชน์ในการตรวจทางห้องปฏิบัติการ โดยไม่มีค่าใช้จ่ายใด ๆ ทั้งสิ้น การเจาะเลือดมีอันตรายที่จะเกิดขึ้นน้อยมาก ถ้าใช้วิธีปลอดเชื้อ และจะกระทำพร้อมกับการตรวจทางห้องปฏิบัติการ พื้นฐานที่อาสาสมัครต้องได้รับการตรวจเป็นมาตรฐานการรักษาอยู่แล้ว เพื่อเป็นพื้นฐานก่อนได้รับการรักษาด้วยยามุ่งเป้า อาสาสมัครจะได้รับการอธิบายให้ทราบและมีโอกาสในการตัดสินใจ อาสาสมัครสามารถปฏิเสธการตรวจได้

หลักความยุติธรรม (Justice)

คือมีเกณฑ์การคัดเข้าและออกที่ชัดเจนซึ่งได้กล่าวแล้วข้างต้น มีการพิจารณาถึงความเสี่ยงและประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากโครงการวิจัย

1.11 ข้อจำกัดทางการวิจัย

- จากการรวบรวมข้อมูลของผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาด้วยยามุ่งเป้า EGFR TKIs ที่มีการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ที่ได้รับการรักษา ณ หน่วยอายุรศาสตร์มะเร็งวิทยา โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ พบว่า มีเพียงร้อยละ 10 ของผู้ป่วย จะไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาในกลุ่ม EGFR TKI ตั้งแต่แรก (Primary resistance) อาจจะทำให้มีผู้ป่วยในกลุ่มนี้เข้าร่วมในการศึกษาเป็นจำนวนน้อย จึงอาจไม่เห็นความแตกต่างของปริมาณการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ (EGFR mutation abundance) ที่ตรวจวัดได้ระหว่างกลุ่มที่ตอบสนองและไม่ตอบสนองต่อการรักษา
- โครงการวิจัยนี้เป็นการศึกษาเกี่ยวกับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยามุ่งเป้า อาจจะมีปัจจัยหลายอย่างที่อาจมีผลต่อการตอบสนองดังกล่าว ตัวอย่างเช่น การมีโรคแพร่กระจายไปที่สมองแต่ไม่มีอาการ จึงไม่ได้รับการตรวจวินิจฉัยก่อนได้รับการรักษา , เกิดผลข้างเคียงต่อการรักษาด้วยยามุ่งเป้า ทำให้มีการปรับขนาดยาหรือหยุดยาชั่วคราว เป็นต้น

1.12 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

สามารถนำความสัมพันธ์ของข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้ เพื่อเลือกการรักษาด้วยยามุ่งเป้า ในการรักษาผู้ป่วยโรคมะเร็งปอดระยะแพร่กระจายชนิดเซลล์ไม่เล็กที่มีการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ เพื่อให้เกิดประโยชน์สูงสุด

1.13 อุปสรรคที่อาจเกิดขึ้นและมาตรการแก้ไข

เนื่องจากยา EGFR TKIs รุ่นที่ 1 ที่เบิกจ่ายได้ มีผลข้างเคียงบางประการ อาจมีผู้ป่วยจำนวนหนึ่งหยุดการรักษาด้วยสาเหตุต่าง ๆ เช่น เกิดผลข้างเคียงต่อการรักษา ก่อนการประเมินการตอบสนองต่อการรักษา และมีคนไข้บางส่วนที่มีโอกาสเข้าถึงยาได้มากกว่าจึงเลือกใช้ EGFR TKIs ชนิดที่ 3 ซึ่งมีผลข้างเคียงน้อยกว่าแต่ไม่สามารถเบิกจ่ายได้ ทำให้จำนวนผู้เข้าร่วมงานวิจัยไม่เพียงพอตามที่กำหนด

แนวทางการแก้ไข คือ ขยายระยะเวลาการศึกษาวิจัยออกไป

การตรวจปริมาณการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ (EGFR mutation abundance) โดยใช้ Idylla™ ctEGFR assay มีข้อจำกัดในกรณีที่มีปริมาณดีเอ็นเอของการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ในเลือดน้อยกว่าร้อยละ 1-4 ต่อ 10,000 WT cps/ml of plasma

แนวทางการแก้ไข คือ ตรวจปริมาณการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์โดยใช้วิธี Droplet Digital Polymerase Chain Reaction (ddPCR) ซึ่งมีความไวในกรณีที่มีปริมาณดีเอ็นเอของการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ในเลือดน้อยกว่าร้อยละ 0.04 ต่อ 10,000 WT cps/ml of plasma เพิ่มเติม

บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

ทบทวนวรรณกรรมงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

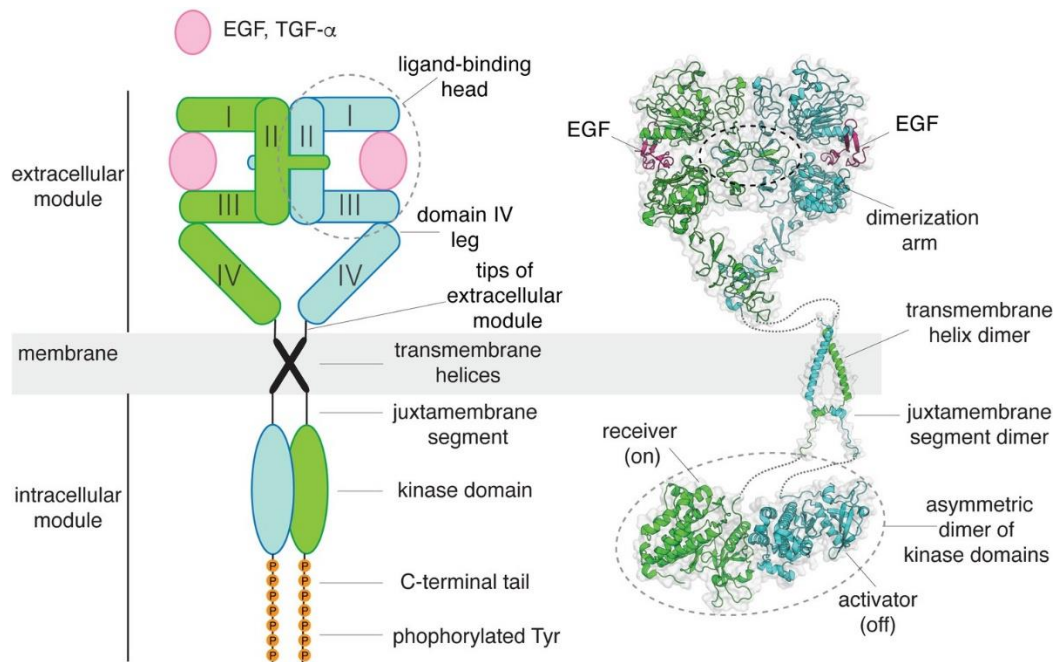
2.1 ระบาดวิทยาของมะเร็งปอด

มะเร็งปอดเป็นมะเร็งที่พบมากเป็นลำดับต้นๆ และเป็นสาเหตุการตายเป็นลำดับแรกจากทั่วโลก และส่วนมากมะเร็งปอดมักเป็นชนิดเซลล์ไม่เล็กประมาณ 85% ของมะเร็งปอดทั้งหมด ซึ่งมีทั้งชนิดสแควมัสเซลล์ซึ่งสัมพันธ์กับการสูบบุหรี่ และชนิดที่พบมากที่สุดคือชนิดเซลล์ต่อมที่พบได้ทั้งในผู้ที่สูบบุหรี่หรือไม่สูบบุหรี่ ซึ่งเชื่อว่าเกิดจากความผิดปกติในการควบคุมการเพิ่มจำนวนของเซลล์และเกิดความเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมในหลายขั้นตอนจนพัฒนากลายเป็นมะเร็งในที่สุด[21] และสืบเนื่องมาจากความเข้าใจเกี่ยวกับโรค และชีววิทยาการเกิดโรคเพิ่มมากขึ้น จึงนำไปสู่ความก้าวหน้าในการตรวจรักษาและเปลี่ยนแปลงผลลัพธ์ในการรักษามะเร็งปอดเป็นอย่างมาก ซึ่งมะเร็งปอดส่วนมากตรวจพบโรคในระยะลุกลามประมาณ 70% ซึ่งการรักษาไม่สามารถหวังผลให้หายขาดได้ [22]

2.2 การกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์

อีจีเอฟอาร์เป็นตัวรับผิวเซลล์ที่อยู่ในกลุ่ม ErbB2 ที่มีตัวรับทั้งหมด 4 ชนิด อีจีเอฟอาร์เป็นรุ่นที่ 1 ซึ่งส่วนประกอบของตัวรับผิวเซลล์ชนิดนี้มีทั้งส่วนที่อยู่ภายนอกเซลล์ (Extracellular domain) ส่วนที่อยู่ระหว่างชั้นเยื่อหุ้มเซลล์ (transmembrane domain) และส่วนที่อยู่ภายในเซลล์ (Intracellular domain) ซึ่งในการทำงานภาวะปกติจะเกิดขึ้นผ่านการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างและฟอสโฟรีเลชันของโดเมนภายในเซลล์รวมถึงการถูกกระตุ้นจากปัจจัยส่งเสริมการเจริญเติบโตที่ผิวเซลล์ (Growth factor) ซึ่งนำไปสู่การส่งสัญญาณกระตุ้นการแบ่งตัวของเซลล์ภายในเซลล์ (RAS/RAF, PI3K/mTOR pathway) ซึ่งการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์สามารถเกิดได้ทั้งส่วนที่อยู่ภายนอกเซลล์และในเซลล์ ซึ่งพบว่าการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ในมะเร็งปอดชนิดไม่เล็ก มักเกิดขึ้นที่ส่วนที่อยู่ภายในเซลล์เรียกว่าไคเนสโดเมน[23] ซึ่งการเกิดการกลายพันธุ์ทำให้เกิดการส่งสัญญาณกระตุ้นการเจริญเติบโตภายในเซลล์ และเซลล์เกิดการเจริญเติบโตอย่างไม่หยุดยั้ง ซึ่งการตรวจการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์สามารถตรวจได้หลายวิธี เช่น fluorescence in situ hybridization (FISH), real time polymerase chain reaction methods and next-

generation sequencing gene methods ซึ่งการตรวจมาตรฐานในปัจจุบันคือ real time polymerase chain reaction[20, 24]



รูปภาพที่ 7 ภาพแสดงลักษณะของตัวรับอีจีเอฟอาร์

2.3 การรักษามะเร็งปอดชนิดเซลล์ที่ขนาดเล็กที่มีการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์

ตั้งแต่ ปี 2545 การรักษามะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กกระยะลุกลามหากได้รับการวินิจฉัยและคนไข้แข็งแรงพอจะได้รับการรักษาเคมีบำบัดในกลุ่มแพลตตินัม ผู้ป่วยมีอัตราการรอดชีวิตที่ 1 ปีประมาณ 30% ค่ากลางการรอดชีวิตโดยโรคสงบ (PFS) ประมาณ 6 เดือน [25] หลังจากนั้น 10 ต่อมาได้มีการค้นพบยามุ่งเป้า และศึกษาจนพบว่าคนที่มีการกลายพันธุ์ของยีนบางชนิด ได้รับการตอบสนองที่ดีต่อการรักษาด้วยยามุ่งเป้า โดยผลของการรักษาด้วยยามุ่งเป้าพบว่าผู้ป่วยมีอัตราการรอดชีวิตโดยปราศจากโรคดีขึ้นกว่าการให้ยาเคมีบำบัด โดยมีอัตราการรอดชีวิตโดยปราศจากโรค 10-13 เดือนซึ่งจากศึกษาการใช้ยา EGFR TKIs รุ่นแรก ในการรักษาผู้ป่วยโรคมะเร็งปอดชนิดไม่เล็กในระยะลุกลามพบอัตราการตอบสนอง 50-70% และมีผู้ที่ไม่ตอบสนองต่อยาน้อยกว่า 10% [8-14] และหลังจากได้รับการรักษาด้วย EGFR TKIs รุ่นแรก พบว่ามีผู้ป่วย 50% เกิดการดื้อยาจากกลไกการเปลี่ยนแปลงของตัวรับ

ผิวเซลล์หรือที่เรียกว่า T790M mutation [26] ซึ่งการเกิดการเปลี่ยนแปลงที่ตัวรับผิวเซลล์แบบ T790M นี้พบตั้งแต่เริ่มต้นน้อยกว่า 0.5% ซึ่งหากเกิดการกลายพันธุ์ของตัวรับผิวเซลล์ชนิดนี้ จะได้รับผลการตอบสนองที่ดีจากยา EGFR TKIs รุ่นที่ 3 ซึ่งพบว่ามียาอัตราการตอบสนองประมาณ 70% และมีค่ากลางช่วงเวลาการรอดชีวิตโดยโรคสงบ 8-10 เดือน [27] ซึ่งหลังจากการรักษาด้วยยา รุ่นที่ 3 นี้ หากไม่ได้รับการตอบสนอง อาจเกิดการกลายของตัวรับผิวเซลล์ของยีนอีจีเอฟอาร์ หรืออาจเกิดการกลายพันธุ์ชนิดใหม่ [28] ซึ่งการที่จะทราบได้ว่าเป็นกลไกใด ยังคงต้องการการตรวจชิ้นเนื้อจากชีววิทยาเพิ่มเติม

2.3 ความสัมพันธ์ของปริมาณ EGFR mutation และการตอบสนองต่อ EGFR TKIs

การรักษาด้วยยามุ่งเป้ากลุ่ม EGFR TKIs พบมีประสิทธิผลการรักษาดีในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กที่มีการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ แต่อย่างไรก็ตามจากการเก็บข้อมูลพบว่าผลการรักษาของมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กที่มีการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ มีผู้ป่วยบางกลุ่มพบมีการตอบสนองต่อการรักษาค่อนข้างยาวนาน มีระยะเวลาการรอดชีพโดยปราศจากโรค (PFS) มากถึง 15 เดือน แต่จะมีกลุ่มผู้ป่วยบางกลุ่มที่ได้รับการรักษาด้วยยารักษาชนิดเดียวกันนี้ กลับมีระยะเวลาการตอบสนองต่อยา เพียงแค่ 3-5 เดือนเท่านั้น ดังนั้นการมีตัวชี้วัดทางชีวภาพต่อการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยามุ่งเป้ากลุ่ม EGFR TKIs ในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กที่มีการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ จึงมีความสำคัญในการเลือกผู้ป่วยที่น่าจะได้ประโยชน์ต่อการรักษาด้วยยาในกลุ่มนี้ โดยการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่า การกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ในเซลล์มะเร็ง จะเกิดขึ้นเป็นลักษณะของ heterozygous โดยผู้ที่ทำการศึกษาทำการศึกษาในกลุ่มประชากรที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็ก และสามารถผ่าตัดได้ หลังจากนั้นนำชิ้นเนื้อทางพยาธิมาตัด และตรวจการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ 50-60 ตำแหน่งจากชิ้นเนื้อทางพยาธิ เพื่อดูว่ามีตำแหน่งที่มีการกลายพันธุ์และไม่มีการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์เป็นสัดส่วนเท่าไร หลังจากนั้นติดตามดูระยะเวลาหลังจากผ่าตัดจนถึงเริ่มรับยา EGFR TKIs และ ดูการตอบสนองต่อยา EGFR TKIs ของทั้งสองกลุ่ม พบว่ากลุ่มที่มีตำแหน่งการกลายพันธุ์บนชิ้นเนื้อปริมาณมากมีระยะเวลาในการเริ่มยา EGFR TKIs หลังผ่าตัดและระยะเวลาในการตอบสนองต่อยายาวนานกว่ากลุ่มที่มีตำแหน่งของการกลายพันธุ์น้อย [29, 30] จากการศึกษาชิ้นนี้เชื่อว่าถ้าในเซลล์มะเร็งมีตำแหน่งของการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ที่มาก

จะตอบสนองต่อยา EGFR TKIs ดีกว่า ดังนั้นการตรวจปริมาณการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ในเซลล์มะเร็ง (EGFR mutation abundance) จึงน่าจะสามารถทำนายการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยา EGFR TKIs ได้ดีกว่าการตรวจเฉพาะว่ามีการกลายพันธุ์ของยีนนี้เท่านั้น ดังมีการศึกษาที่ผ่านมา ดังต่อไปนี้

การศึกษาของ Zhou Q[31] และคณะ ทำการรวบรวมข้อมูลผู้ป่วยจำนวน 100 ราย และตรวจการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ ในชิ้นเนื้อพยาธิวิทยา โดยใช้วิธี direct DNA sequencing ซึ่งมีความไวในการตรวจพบ ถ้ามีการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ อย่างน้อยร้อยละ 10 ในชิ้นเนื้อพยาธิวิทยา และวิธี amplification refractory mutation system (ARMS) ซึ่งจะมีความไวในการตรวจพบ หากมีการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ เพียงร้อยละ 1 ในชิ้นเนื้อพยาธิวิทยาเท่านั้น โดยกำหนดว่า หากสามารถตรวจพบการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ จากทั้ง 2 วิธีการ จะจัดเป็นกลุ่มที่มีปริมาณการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ สูง (high abundance of EGFR mutation) และถ้าหากตรวจพบการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ จากวิธี ARMS เพียงวิธีการเดียว จะจัดเป็นกลุ่มที่มีปริมาณการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ ต่ำ (low abundance of EGFR mutation) และสุดท้ายถ้าไม่สามารถตรวจพบการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ จากทั้งสองวิธี จะจัดเป็นกลุ่มที่ไม่มีการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ (wild-type EGFR) ซึ่งผลการศึกษานี้ พบว่ากลุ่มที่มีปริมาณการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์สูง ซึ่งพบมีจำนวน 51 ราย จะมีค่ากลางการรอดชีวิตโดยโรคสงบอยู่ที่ 11.3 เดือน กลุ่มที่มีปริมาณการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ต่ำ (จำนวน 18 ราย) จะมีค่ากลางการรอดชีวิตโดยโรคสงบที่ 6.9 เดือน และกลุ่มที่ไม่มีการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ (จำนวน 31 ราย) จะมีค่ากลางการรอดชีวิตโดยโรคสงบเพียง 2.1 เดือน, ตามลำดับ โดยพบมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.001$) อย่างไรก็ตาม การศึกษาของ Zhou Q และคณะ ไม่ได้ตรวจวัดเป็นปริมาณของการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์

การศึกษาของ Wang H และคณะ[32] ทำการรวบรวมข้อมูลผู้ป่วยจำนวน 194 ราย และได้รับการตรวจการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ ด้วยวิธีการ ARMS จากชิ้นเนื้อพยาธิวิทยา โดยวัด EGFR mutation abundance จากการคำนวณ $EGFR\ mutation\ abundance = mutant\ gene / (mutant\ gene + wild\ type\ gene) \times 100\%$ พบว่า EGFR mutation abundance ตั้งแต่ร้อยละ 30 ขึ้นไป จะพบมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ มากที่สุด โดยมีค่า

กลางการรอดชีวิตโดยโรคสงบที่ 10.8 เดือน ในกลุ่มที่มี EGFR mutation abundance สูง เปรียบเทียบกับ 8.2 เดือนในกลุ่มที่มี EGFR mutation abundance ต่ำ

การศึกษาของ Li X และคณะ[33] ทำการรวบรวมข้อมูลผู้ป่วยจำนวน 201 ราย และได้รับการตรวจการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ ด้วยวิธีการ ARMS จากชิ้นเนื้อพยาธิวิทยา โดยวัด EGFR mutation abundance จากการคำนวณ $EGFR\ mutation\ abundance = \frac{copies\ of\ EGFR\ mutants}{copies\ of\ EGFR\ locus} \times 100\%$ นอกจากนั้นในการศึกษานี้ ยังได้มีการตรวจการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์จากตัวอย่างในเลือดร่วมด้วย เป็นจำนวน 42 ราย ผลการศึกษาพบว่า EGFR mutation abundance จากชิ้นเนื้อพยาธิวิทยา มีความสัมพันธ์กับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยา EGFR TKIs อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่าจุดตัดจากการวิเคราะห์ด้วยวิธี ROC (receiver operating characteristic) curve อยู่ที่ร้อยละ 4.9 สำหรับการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์แบบ exon 19 deletion และร้อยละ 9.5 สำหรับการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์แบบ L858R โดยมีค่ากลางการรอดชีวิตโดยโรคสงบที่ 15 เดือน ในกลุ่มที่มี EGFR mutation abundance สูง เปรียบเทียบกับ 4 เดือนในกลุ่มที่มี EGFR mutation abundance ต่ำ สำหรับการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์แบบ exon 19 deletion และมีค่ากลางการรอดชีวิตโดยโรคสงบที่ 12 เดือน ในกลุ่มที่มี EGFR mutation abundance สูง เปรียบเทียบกับ 2 เดือนในกลุ่มที่มี EGFR mutation abundance ต่ำ สำหรับการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์แบบ L858R นอกจากนี้ยังพบว่าในผู้ป่วยที่มีการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์จากตัวอย่างในเลือด จะมีความสัมพันธ์กับการตรวจพบการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์จากชิ้นเนื้อพยาธิวิทยาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมี correlation coefficient อยู่ที่ 0.468 แต่ไม่ได้มีการวิเคราะห์หา EGFR mutation abundance จากตัวอย่างในเลือดจากการศึกษานี้

จะเห็นได้ว่าการศึกษาที่ผ่านมาส่วนใหญ่นั้น เป็นการศึกษาระบบย้อนหลัง ประชากรที่นำมาศึกษามีความแตกต่างกัน รวมทั้งวิธีที่ใช้ในการตรวจหาการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ที่มีความไวในการตรวจพบที่แตกต่างกัน รวมทั้งคำนิยามและค่าจุดตัดที่ใช้สำหรับ EGFR mutation abundance ที่มีความแตกต่างกัน นำมาซึ่งผลการศึกษาในแต่ละการศึกษา ที่ยังไม่มีข้อสรุปที่ชัดเจน ดังแสดงดังตารางที่ 1 จึงเป็นที่มาของงานวิจัยนี้ที่จะเป็นการศึกษาแบบไปข้างหน้า ใช้วิธีการตรวจหาการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ที่มีความ

ไวสูง โดยใช้ตัวอย่างในการตรวจจากเลือด ซึ่งสามารถทำได้ง่าย และตรวจวัดการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ได้จากทุก ๆ ตำแหน่งของเซลล์มะเร็งที่มีในร่างกาย ทำให้สามารถวัดความหลากหลายในระดับชีวโมเลกุลของเซลล์มะเร็งได้ (Intratumor heterogeneity) ดีกว่าการตรวจวัดจากชิ้นเนื้อพยาธิวิทยาเพียงอย่างเดียว ที่มีข้อจำกัดในการตรวจจากชิ้นเนื้อที่มีขนาดเล็ก และได้มาจากเพียงตำแหน่งเดียวจากเซลล์มะเร็งที่มีในร่างกายเท่านั้น

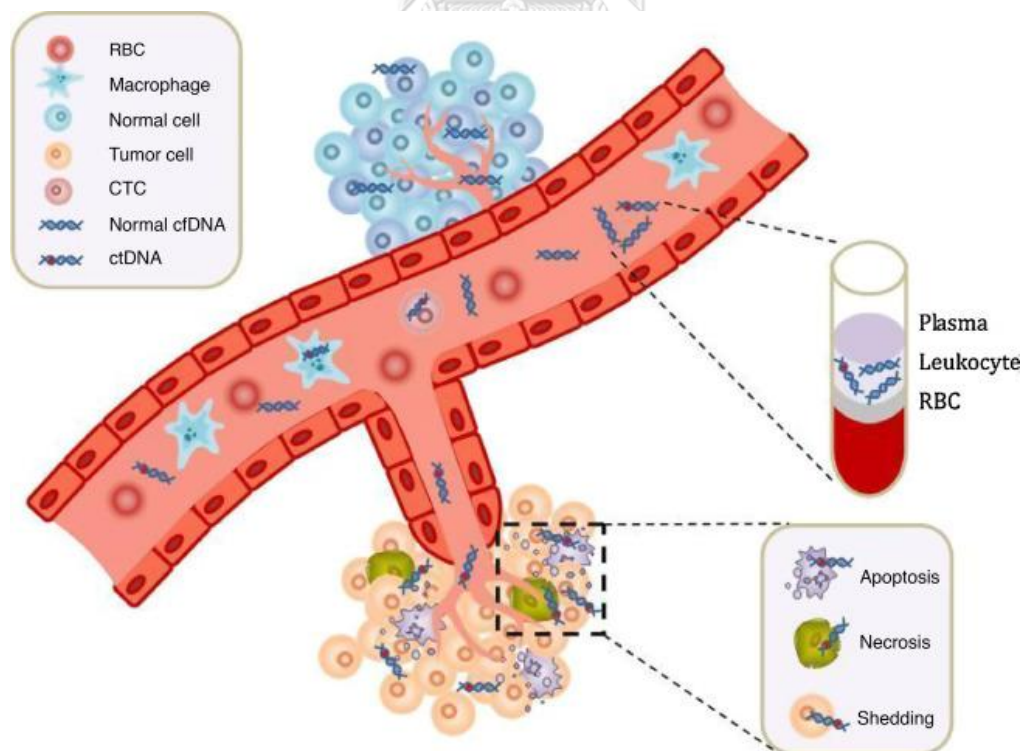
ตารางที่ 1 สรุปผลการศึกษาของการตรวจปริมาณการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ (EGFR abundance) ต่อการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยา EGFR TKIs

| การศึกษา | จำนวน | ตัวอย่างที่ใช้ตรวจ | วิธีตรวจการกลายพันธุ์ | EGFR TKIs | นิยามของ EGFR abundance สูง | ร้อยละของ EGFR abundance สูง | Median PFS (เดือน) | |
|---|-------|--------------------|-------------------------|--------------------------------|--|------------------------------|--------------------|--------------------|
| | | | | | | | EGFR abundance สูง | EGFR abundance ต่ำ |
| Zhou Q, et al. 2011 การศึกษา ย้อนหลัง[31] | 100 | ชิ้นเนื้อ | PCR และ ARMS Exon 18-21 | Gefitinib | ตรวจพบการกลายพันธุ์ของยีน EGFR จากทั้ง PCR และ ARMS | 74 | 11.3 | 6.9 |
| Li X, et al. 2017 การศึกษา ย้อนหลัง[33] | 201 | ชิ้นเนื้อ | ARMS Del19, L858R | Gefitinib, erlotinib | copies of EGFR mutants/copies of EGFR locus *100% = 4.9% (Del19), 9.5% (L858R) | 79 | Del19 | 15 |
| | | | | | | | L858R | 12 |
| Wang H, et al. 2018 การศึกษา ย้อนหลัง[32] | 194 | ชิ้นเนื้อ | ARMS Del19 or L858R | Gefitinib, erlotinib, icotinib | copies of EGFR mutants/copies of EGFR (mutant + wild type) *100% = 30% | 43 | 10.8 | 8.2 |

คำย่อ: ARMS: amplification refractory mutation system, PCR: polymerase chain reaction, PFS: progression free survival

2.4 การตรวจหายีนกลายพันธุ์ในพลาสมา (ctDNA)

มะเร็งเกิดจากการการที่มีสารพันธุกรรมที่ผิดปกติเรียกว่าการกลายพันธุ์ (gene mutation) ก่อให้เกิดการเจริญเติบโตที่ผิดปกติของเนื้อเยื่อทำให้เนื้อเยื่อปกติกลายเป็นเนื้อมะเร็งและเนื้อมะเร็งนี้มีความสามารถในการเบียดแทรกและทำลายเนื้อเยื่อหรืออวัยวะข้างเคียง และของเหลวที่ไหลผ่านเซลล์มะเร็งทุกชนิดคือเลือด เชื่อว่าสารพันธุกรรมมะเร็งมีการหลุดลอกของออกมาอยู่ในกระแสเลือด จึงได้มีการค้นพบการตรวจหาสารพันธุกรรมในเลือดขึ้น (circulating tumor DNA, ctDNA) ซึ่งมีสมมุติฐานหลากหลายที่อธิบายการหลุดลอกของสารพันธุกรรมมะเร็งในกระแสเลือด เช่น เกิดจากการตายของเซลล์มะเร็งทำให้เศษชิ้นส่วนทางพันธุกรรมหลุดออกมาอยู่ในกระแสเลือด หรืออาจเกิดจากระบบภูมิคุ้มกันในร่างกาย ซึ่งการตรวจ ctDNA ค้นพบตั้งแต่ปี 1979 โดย Dr.Leon AS [34] โดยและปี 1983 Dr.Shapiro DM [35] ได้ทำการวัดปริมาณ DNA ในน้ำเหลืองของคนที่เป็นมะเร็งเปรียบเทียบกับคนที่ไม่ได้เป็นมะเร็งพบว่ากลุ่มที่เป็นมะเร็งมี DNA ในซีรัมมากกว่ากลุ่มที่ไม่ได้เป็นมะเร็งและจะพบ DNA ในซีรัมมากขึ้นในกลุ่มคนที่เป็นโรคระยะแพร่กระจาย



รูปภาพที่ 8 แสดงหลักการของสารพันธุกรรมมะเร็งในเลือด

2.5 การตรวจหาสารพันธุกรรมของมะเร็งในพลาสมาด้วยวิธี Idylla

เป็นการตรวจหาสารพันธุกรรมมะเร็งในเซรั่มโดยใช้การตรวจ fluorescence real-time PCR amplification ซึ่งสามารถตรวจหาการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์บน exon 18, 19, 20 and 21 รวมการกลายพันธุ์ทั้งหมด 49 ชนิด ซึ่งมีความไว 86.7% ความจำเพาะ 100% เมื่อเทียบกับการตรวจด้วยวิธี next-generation sequencing หรือ การตรวจด้วยวิธีการ Cobas EGFR mutation test V2 ซึ่งได้รับการรับรองจากองค์การอาหารและยาประเทศสหรัฐอเมริกา ใช้เวลาในการตรวจ 160 นาที

| ctEGFR mutation detection - Gene EGFR | | | | | |
|--|-----------------------|-----------------------------|---|----------------------|---------------------|
| Exon 18 | G719A | p.Gly719Ala | c.2156G>C | G719A/C/S | |
| | G719C | p.Gly719Cys | c.2155G>T | | |
| | G719C | p.Gly719Cys(2) | c.2154_2155delinsTT | | |
| | G719S | p.Gly719Ser | c.2155G>A | | |
| Exon 19 | Del9 | p.Leu747_Ala750delinsPro | c.2238_2248delinsGC | Exon 19 deletion | |
| | | p.Leu747_Ala750delinsSer | c.2239_2248delinsC | | |
| | | p.Leu747_Glu749del | c.2239_2247del | | |
| | Del12 | p.Leu747_Thr751delinsPro | c.2239_2251delinsC | | |
| | | p.Leu747_Thr751delinsSer | c.2240_2251del | | |
| | Del15 | p.Glu746_Ala750del | c.2235_2249del | | Exon 19 deletion |
| | | | c.2236_2250del | | |
| | | p.Leu747_Thr751del | c.2239_2253del | | |
| | | | c.2240_2254del | | |
| | | p.Glu746_Thr751delinsAla | c.2238_2252del | | |
| | | | c.2237_2251del | | |
| | | | c.2235_2252delinsAAT | | |
| c.2237_2252delinsT | | | | | |
| c.2234_2248del | | | | | |
| c.2236_2253delinsCTA | | | | | |
| p.Glu746_Thr751delinsVal | c.2237_2253delinsTA | | | | |
| | c.2237_2253delinsVal | | | | |
| | c.2235_2251delinsAG | | | | |
| | c.2236_2253delinsCAA | | | | |
| Exon 19 | Del18 | p.Leu747_Pro753delinsSer | c.2240_2257del | Exon 19 deletion | |
| | | p.Glu746_Ser752delinsVal | c.2237_2255delinsT | | |
| | | p.Leu747_Ser752del | c.2239_2256del | | |
| | | p.Glu746_Thr751del | c.2236_2253del | | |
| | | p.Leu747_Pro753delinsGln | c.2239_2258delinsCA | | |
| | | p.Glu746_Ser752delinsAla | c.2237_2254del | | |
| | | p.Glu746_Ser752delinsAsp | c.2238_2255del | | |
| | | p.Glu746_Ser752delinsIle | c.2236_2256delinsATC | | |
| | | p.Glu746_Ser752delinsVal | c.2237_2256delinsTT | | |
| | | | c.2237_2256delinsTC | | |
| | c.2235_2255delinsGGT | | | | |
| | Del21 | | p.Leu747_Pro753del | | c.2238_2258del |
| | | p.Glu746_Ser752del | c.2236_2256del | | |
| | Del24 | p.Ser752_Ile759del | c.2253_2276del | | |
| Exon 20 | T790M | p.Thr790Met | c.2369C>T | T790M | |
| | S768I | p.Ser768Ile | c.2303G>T | S768I | |
| | InsG | p.Asp770_Asn771insGly | c.2310_2311insGGT | Exon 20 insertion | |
| | InsASV9 | p.Val769_Asp770insAlaSerVal | c.2307_2308insGCCAGCGTG | | |
| | InsASV11 | p.Val769_Asp770insAlaSerVal | c.2309_2310delinsCCAGCGTGAT | | |
| | InsSVD | p.Asp770_Asn771insSerValAsp | c.2311_2312insGCGTGGACA | | |
| InsH | p.His773_Val774insHis | c.2319_2320insCAC | | | |
| Exon 21 | L858R | p.Leu858Arg | c.2573T>G c.2573_2574delinsGT c.2573_2574delinsGA | L858R | |
| | L861Q | p.Leu861Gln | c.2582T>A | L861Q | |
| EGFR Total (acting as Sample Processing Control) | | | | | |

รูปภาพที่ 9 แสดงการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ที่สามารถตรวจได้

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 ระเบียบวิธีการวิจัย (Research methodology)

ประชากรเป้าหมาย (Target population)

คือผู้ป่วยมะเร็งเรื้อรังปอดชนิดเซลล์ไม่เล็ก (NSCLC) ที่มีการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ (EGFR mutation) และได้รับการรักษาด้วยยามุ่งเป้ากลุ่ม EGFR TKIs

ประชากรตัวอย่าง (Sample Population)

คือผู้ป่วยมะเร็งเรื้อรังปอดชนิดเซลล์ไม่เล็ก (NSCLC) ที่มีการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ และได้รับการรักษาด้วยยามุ่งเป้ากลุ่ม EGFR TKIs ที่ได้รับการวินิจฉัยและรักษาที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ในช่วงเวลาที่ทำการศึกษา

วิธีการเข้าถึงอาสาสมัคร (Approach to participant)

ศึกษาในกลุ่มตัวอย่างซึ่งเป็นผู้ป่วยในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ หลังจากได้รับการรับรองจากคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมวิจัย ผู้ดำเนินงานวิจัยจะติดต่อแพทย์และพยาบาลที่ปฏิบัติหน้าที่ในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ เมื่อมีผู้ป่วยที่มีคุณสมบัติเข้าได้กับงานวิจัยเข้ามารับการตรวจรักษาให้ติดต่อผู้ทำวิจัย จากนั้นผู้วิจัยดำเนินการติดต่อแพทย์เจ้าของผู้ป่วย และผู้ป่วย รวมถึงญาติผู้ป่วยเพื่อขออนุญาตทำวิจัย โดยจะมีการแนะนำตัวผู้วิจัยให้ผู้ป่วยที่เข้าร่วมโครงการวิจัยได้ทราบถึงวัตถุประสงค์ของการทำวิจัย ความเสี่ยงที่อาจเกิดขึ้นตลอดการวิจัย ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย เพื่อให้ผู้ป่วยได้ตัดสินใจด้วยตนเองก่อนเข้าร่วมโครงการวิจัยดังกล่าว

เกณฑ์การคัดเลือกอาสาสมัครเข้าร่วมโครงการวิจัย (Inclusion criteria)

- ผู้ป่วยที่มีอายุมากกว่าหรือเท่ากับ 18 ปี
- ผู้ป่วยรายใหม่หรือผู้ป่วยกลับเป็นซ้ำของมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กระยะที่ 4 โดยใช้เกณฑ์ของ American Joint Committee on Cancer classification, 8th edition (AJCC8)
- มีผลชิ้นเนื้อทางพยาธิวิทยายืนยันว่าเป็นมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็ก และตรวจพบมีการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์
- ไม่เคยได้รับการรักษามาก่อน และได้รับการรักษาด้วยยามุ่งเป้า EGFR TKIs เป็นการรักษาแรก (first-line treatment)

- ใช้ยามุ่งเป้า EGFR TKIs รุ่นที่ 1
- สามารถปฏิบัติตามระเบียบวิธีวิจัยได้ และสามารถมาตรวจติดตามได้อย่างต่อเนื่อง

เกณฑ์การคัดเลือกอสาสมัครออกจากโครงการวิจัย (Exclusion criteria)

- เป็นมะเร็งปอดชนิดเซลล์เล็กผสมกับเซลล์ไม่เล็ก
- มีการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ ชนิด T790M หรือ exon 20 insertions
- มีการกลายพันธุ์ของยีนอื่น ๆ เช่น ALK ร่วมด้วย
- ผู้ป่วยที่มีมะเร็งแพร่กระจายไปที่สมอง โดยที่ยังไม่ได้รับการรักษาหรือไม่สามารถควบคุมได้แม้ได้รับการรักษาแล้ว และ/หรือมะเร็งแพร่กระจายไปที่เยื่อหุ้มสมองร่วมด้วย
- ผู้ป่วยที่มีมะเร็งชนิดอื่น ๆ ร่วมด้วยภายในระยะเวลา 5 ปีก่อนได้รับการรักษาด้วยยา EGFR TKIs ยกเว้นมะเร็งผิวหนังชนิด basal หรือ squamous cell carcinoma หรือ มะเร็งปากมดลูกระยะที่ศูนย์ ที่ได้รับการรักษาแล้ว
- หยุดการรักษาด้วยสาเหตุต่าง ๆ เช่น เกิดผลข้างเคียงต่อการรักษาด้วยยามุ่งเป้า ก่อนการประเมินการตอบสนองต่อการรักษา

กระบวนการขอความยินยอม (Informed consent process)

ทีมแพทย์ผู้ทำการวิจัยอธิบายข้อมูลให้กับผู้ป่วยและญาติ ถึงขั้นตอนการเก็บข้อมูล ถ้าผู้ป่วยหรือญาติยินยอมเข้าร่วมโครงการจึงจะแจกแบบขอความยินยอมให้ผู้ป่วยได้อ่านพิจารณาอีกครั้งและลงลายมือชื่อกำกับ หากอาสาสมัครไม่สามารถให้คำยินยอมด้วยตนเองได้ ให้ขอคำยินยอมจากผู้แทนโดยชอบธรรม และขอความยินยอมจากอาสาสมัครเมื่ออาสาสมัครสามารถให้ความยินยอมเองได้ ทั้งนี้ผู้วิจัยจะดำเนินการขอความยินยอมหลังจากได้รับการรับรองจากคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัย

การคำนวณขนาดตัวอย่าง (Sample size calculation)

เนื่องจากยังไม่มีการศึกษาปริมาณการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ (EGFR mutation abundance) ต่อการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยามุ่งเป้าในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กที่มีการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ในประเทศไทยมาก่อน จึงอาศัยข้อมูลการศึกษาวิจัยย้อนหลังจากการศึกษาของ ซึ่งพบว่าผู้ป่วยที่มีปริมาณการกลายพันธุ์ของยีนอีจี

เอฟอาร์ที่สูง จะพบมีระยะเวลาการรอดชีวิตโดยโรคสงบ (PFS) อยู่ที่ 12 เดือน
เปรียบเทียบกับผู้ป่วยที่มีปริมาณการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ที่ต่ำ อยู่ที่ 5.7 เดือน ใน
ผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กระยะแพร่กระจาย ที่ได้รับการรักษาด้วยยามุ่งเป้า

โดยคำนวณ sample size calculation จาก survival analysis ใช้โปรแกรม PS power
and sample size ในการคำนวณ กำหนดให้

- กลุ่มตัวอย่างที่ทำวิจัยเป็น 1:1 ในกลุ่มควบคุมและกลุ่มเปรียบเทียบ
- Median PFS time for control = 12 เดือน
- Median PFS time for treatment = 5.7 เดือน
- The time from starting patient enrollment to completing patient enrollment = 6 เดือน
- The additional follow-up time after accrual completes = 14 เดือน
- กำหนดให้ความเชื่อมั่นที่ 95% (ค่า $\alpha = 0.05$) และอำนาจการทดสอบ (Power) ที่ 80% (ค่า $\beta = 0.2$)
- คำนวณหาขนาดตัวอย่างจากสูตร

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

$$p = 1 - p_a \exp(-\ln(2)F/m)$$

$$p_a = 1 - \frac{\exp(-\ln(2)A/m)}{\ln(2)A/m}$$

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

จึงได้ขนาดตัวอย่าง $N = 77$

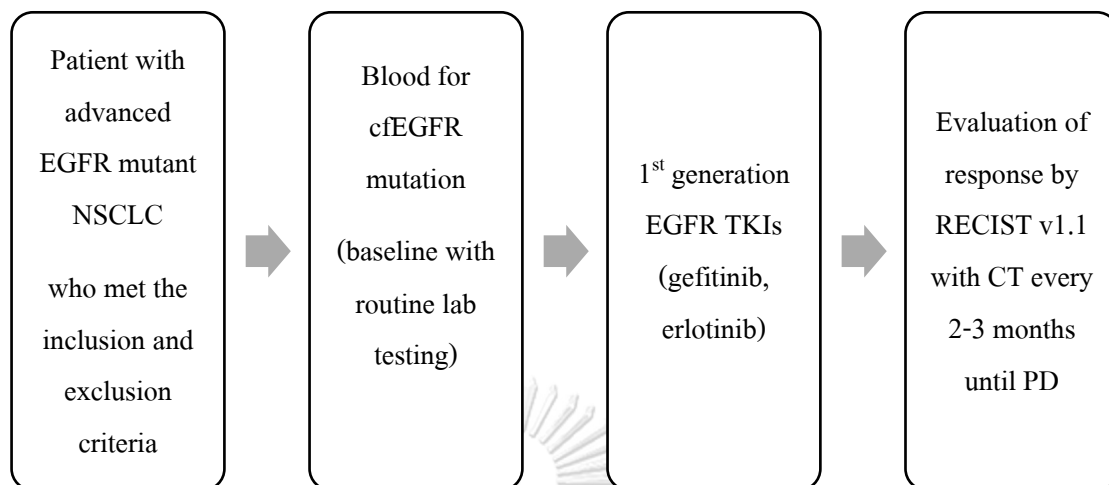
กำหนดอัตราการที่อาสาสมัครออกจากโครงการวิจัยกลางคัน (dropout rate) ร้อยละ 10
และอัตราความผิดพลาดจากการตรวจปริมาณการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ ร้อยละ 15
ดังนั้นขนาดตัวอย่างในการศึกษาวิจัยนี้ คือ 100 ราย

3.2 การรวบรวมข้อมูล (Data Collection)

- ชั้นเตรียมการ
 - ทบทวนวรรณกรรมเกี่ยวข้อง
 - เสนอโครงร่างงานวิจัย และขอความเห็นชอบจากคณะกรรมการจริยธรรม คณะ
แพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

- ขออนุญาตใช้ตัวอย่างจาก Biobank จากผู้อำนวยการโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ก่อนเริ่มดำเนินการ
- ขั้นตอนดำเนินการ
 - ผู้ทำการวิจัยจะรวบรวมรายชื่อผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กที่มีการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ และได้รับการรักษาด้วยยามุ่งเป้ากลุ่ม EGFR TKIs ในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ตามเกณฑ์ในการคัดเลือกอาสาสมัครเข้าร่วมโครงการวิจัย (Inclusion criteria) และเกณฑ์ในการคัดเลือกอาสาสมัครออกจากโครงการวิจัย (Exclusion criteria) ดังกล่าวข้างต้น
 - ผู้ทำการวิจัย จะทำการเก็บรวบรวมข้อมูลตามแบบบันทึกข้อมูล (case record form)
 - ขออนุญาตใช้ตัวอย่างจาก Biobank ส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อหาปริมาณการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ (EGFR mutation abundance) โดยใช้ IdyllaTM ctEGFR assay (Biocartis)
 - เก็บตัวอย่างเลือดจากผู้ป่วยหลังจากได้รับการรักษาด้วยยา EGFR-TKIs รุ่นที่ 1 ที่ 8-12 สัปดาห์หลังจากการรักษา
 - ติดตามการตอบสนองต่อการรักษาด้วยภาพถ่ายรังสีคอมพิวเตอร์ทุก ๆ 2-3 เดือน ตามมาตรฐานของการรักษาที่มีอยู่เดิม
 - ข้อมูลทั้งหมดของผู้เข้ารับการศึกษาจะถูกบันทึกลงในแบบบันทึกข้อมูล (case record form) และจัดเก็บเข้าสู่ระบบคอมพิวเตอร์เพื่อจะนำข้อมูลไปวิเคราะห์ข้อมูลต่อไป โดยผู้ทำการวิจัยจะเป็นผู้รวบรวม
 - แผนผังแสดงวิธีการดำเนินงานวิจัย (Study flow chart) ดังแสดง

รูปภาพที่ 10 แสดงแนวทางการดำเนินการวิจัย



3.3 การวิเคราะห์ข้อมูลและสถิติที่ใช้วิเคราะห์ (Data analytic and statistics)

- ข้อมูลที่เป็นตัวแปร continuous จะทำการสรุปข้อมูลในรูปของ median และ interquartile (IQ) range และทดสอบความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปร continuous โดยวิธี t test หรือ Mann-Whitney U test แล้วแต่ความเหมาะสม
- ข้อมูลที่เป็นตัวแปร categorical จะทำการสรุปข้อมูลในรูปของ proportion หรือ percent และทดสอบความสัมพันธ์ตัวแปร categorical โดยวิธี Chi-square หรือ Fisher exact แล้วแต่ความเหมาะสม
- ผลการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยามุ่งเป้า จะประเมินตามเกณฑ์ Response Evaluation Criteria in Solid Tumors version 1.1 (RECIST v1.1) โดยแบ่งการตอบสนองเป็น progressive disease (PD), complete response (CR), a partial response (PR), หรือ stable disease (SD) และวัดความลึกของการตอบสนอง (depth of response)
- ระยะเวลารอดชีพโดยปราศจากโรค (progression free survival, PFS) และ ระยะเวลารอดชีพโดยรวม (overall survival, OS) จะวิเคราะห์โดยใช้ survival analyses ด้วยวิธี Kaplan-Meier และ log-rank test คำนวณความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรแต่ละตัวกับ outcome (multivariate analysis) ด้วย Cox proportional hazards
- กำหนดค่าความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95 จะถือว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อค่า $p < 0.05$ วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรม SPSS version 22

3.4 ระยะเวลาที่ใช้ในการวิจัยตั้งแต่เริ่มต้นจนถึงสิ้นสุดโครงการ (Timeline)

ระยะเวลาที่ทำการวิจัยตั้งแต่เดือนมกราคม พ.ศ. 2564 ถึงเดือนเมษายน พ.ศ. 2565

3.5 สถานที่ทำวิจัย (Venue of the study)

สถานที่เก็บและวิเคราะห์ข้อมูล: สาขาวิชาโรคมะเร็งวิทยา ภาควิชาอายุรศาสตร์
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สถานที่ตรวจปริมาณการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ (EGFR mutation
abundance): ศูนย์จุฬาฯ GenePro ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์
มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 2 การบริหารงานวิจัยและตารางการปฏิบัติงาน (Tabulation of Research Activities and Timeline)

| วัตถุประสงค์ | แผนงานวิจัย | ระยะเวลา | | | ชื่อนักวิจัย ที่รับผิดชอบ |
|--|---|-----------------|------------------|-------------------|--|
| | | เดือนที่ 1-3 | เดือนที่ 4-10 | เดือนที่ 10-24 | |
| 1. ศึกษาเตรียมงาน และขอจริยธรรมการ วิจัย | 1.1 ทบทวนวรรณกรรม ที่เกี่ยวข้อง 1.2 พัฒนาแบบบันทึกข้อมูล 1.3 รวบรวมเอกสารที่ใช้ ในการขอจริยธรรมการวิจัย | ↔ | | | ผู้วิจัยหลัก |
| 2. ดำเนินการ คัดเลือกอาสาสมัคร | 2.1 รวบรวมและบันทึก ข้อมูลพื้นฐานของ อาสาสมัคร | | ↔ | | ผู้วิจัยหลัก/ ผู้ช่วยวิจัย ทุกท่าน |
| 3. เก็บข้อมูลและ ติดตามผล | 3.1 ติดตามผลการรักษา อาสาสมัครแต่ละราย 3.2 รวบรวมข้อมูลการ รักษาขออาสาสมัครแต่ละ | | | ↔ | |

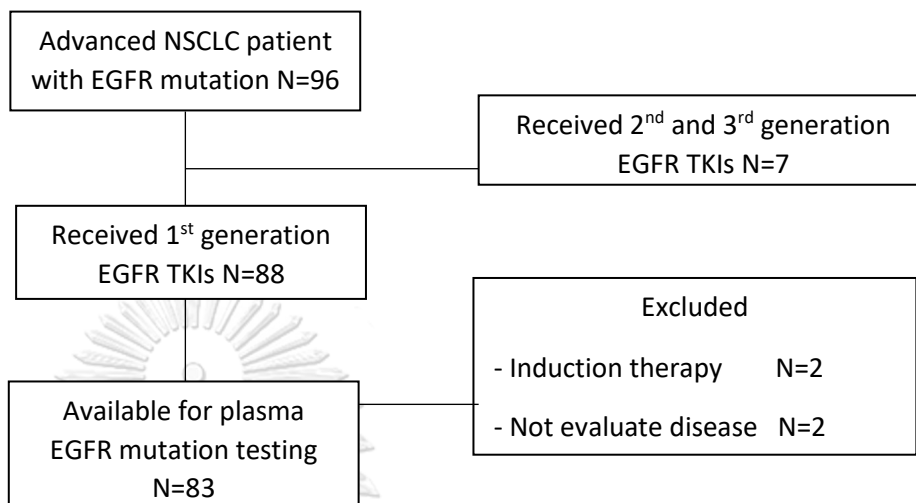
| | | | | | |
|----------------|--|--|--|---|--------------|
| | ราย | | | | |
| 4. แปลผลข้อมูล | 4.1 นำข้อมูลลงในโปรแกรมทางสถิติ 4.2 แปลผลข้อมูลที่ได้จากการลงข้อมูลทางสถิติ | | | ↔ | ผู้วิจัยหลัก |

3.6 งบประมาณ (Budget)

ตารางที่ 3 ตารางแจกแจงงบประมาณ

| รายการ | จำนวนเงิน (บาท) |
|--|--|
| <ul style="list-style-type: none"> • หมวดค่าใช้สอย <ul style="list-style-type: none"> ค่าตรวจ EGFR mutation abundance โดยใช้ Idylla™ ctEGFR assay (Biocartis) ได้รับการสนับสนุนจากทาง Biocartis ค่าอุปกรณ์เจาะเลือด • ค่าวัสดุสำนักงาน <ul style="list-style-type: none"> ค่ากระดาษ ค่าพิมพ์และค่าถ่ายเอกสาร ค่าจัดทำรายการ | 0 บาท 12,000 บาท 4,000 บาท 3,000 บาท 3,000 บาท |
| รวมเงินทั้งสิ้น | 22,000 บาท |

บทที่ 4 ผลการวิจัย



รูปภาพที่ 11 Flowchart of the study

4.1 ข้อมูลพื้นฐาน (Baseline characteristics)

จากผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์สภากาชาดไทยตั้งแต่วันที่ 1 มกราคม พุทธศักราช 2563 จนถึง 31 ธันวาคม พุทธศักราช 2564 มีผู้ป่วยทั้งหมด 96 คน ที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กระยะที่ไม่สามารถรักษาให้หายได้ที่มีการกลายพันธุ์ของยีนอีจีแอฟอาร์และอสาสมัคร 83 คน ที่ตรงกับเกณฑ์ในการคัดเลือกเข้า (Inclusion criteria) โดยในวันสิ้นสุดการเก็บข้อมูล วันที่ 31 มีนาคม พุทธศักราช 2565 มีระยะเวลาการติดตามการรักษา 26 เดือน (95% CI, 10.3-13.3) และอสาสมัคร 58 คน (69.9%) โรคลุกลามมากขึ้น 31 คน(37.31%) เสียชีวิต ค่ากลางการรอดชีวิตและค่ากลางการรอดชีวิตโดยปราศจากโรคของอสาสมัครทั้งหมดคือ 13.5 เดือน (95% CI, 13.2-16.2) และ 10.3 เดือน (95% CI, 10.2-13.2) และมีอสาสมัคร 25 คน (30.1%) ยังได้รับการรักษาด้วยยามุ่งเป้าต่อยีนอีจีแอฟอาร์รุ่นที่ 1 อยู่

ข้อมูลพื้นฐานของผู้เข้าร่วมงานวิจัยดังแสดงในตารางที่ 4 โดยค่ากลางอายุของอสาสมัคร อยู่ที่ 68 ปี ([IQR] 59-74) โดยมีอสาสมัครเพศหญิง 66.3%, ECOG performance status ที่ 0 to 1 84.3% เป็นกลุ่มที่ไม่สูบบุหรี่ 77.1% โดยมากเป็นโรคระยะแพร่กระจายตั้งแต่เริ่มวินิจฉัย 95.2% มี

ตำแหน่งที่แพร่กระจายของโรค 1-2 ตำแหน่ง 71.1% ลักษณะทางพยาธิส่วนมากเป็นชนิดต่อม 92.8% และ 60.2% พบการกลายพันธุ์ของยีนอีจีแอฟอาร์แบบ deletion 19 อาสาสมัคร 41 คน (49.4%) ตรวจไม่พบการกลายพันธุ์ของยีนอีจีแอฟอาร์ในเลือดก่อนเริ่มรักษา

ตารางที่ 4 ลักษณะพื้นฐาน

| ลักษณะ | กลุ่มประชากร (N=83) | ลักษณะ | กลุ่มประชากร (N=83) |
|----------------------|------------------------|----------------------|------------------------|
| เพศ | | T Stage | |
| • หญิง | 55 (66.3%) | • T 1-2 | 38 (45.8%) |
| • ชาย | 28 (33.7%) | • T 3-4 | 45 (54.2%) |
| อายุ | | N Stage | |
| • <60 | 22 (26.5%) | • N 0-1 | 12 (14.5%) |
| • ≥60 | 61 (73.5%) | • N 2-3 | 71 (85.5%) |
| ECOG | | ตำแหน่งการแพร่กระจาย | |
| • 0-1 | 70 (84.3%) | • 1-2 อวัยวะ | 59 (71.1%) |
| • ≥ 2 | 13 (15.7%) | • ≥3 อวัยวะ | 24 (28.9%) |
| ประวัติการสูบบุหรี่ | | มีการกระจายไปที่สมอง | |
| ไม่เคยสูบบุหรี่ | 64 (77.1%) | • ไม่มี | 20 (24.1%) |
| เคยและหยุดสูบแล้ว | 14 (16.9%) | • มี | 63 (75.9%) |
| ยังสูบบุหรี่อยู่ | 5 (6%) | | |
| ชนิดของมะเร็ง | | มีการกระจายไปที่ตับ | |
| Adenocarcinoma | 77 (92.8%) | • ไม่มี | 19 (22.9%) |
| NSCLC NOS | 4 (4.8%) | • มี | 64 (77.1%) |
| Adeno-Squamous | 2 (2.4%) | | |
| ชนิดของการกลายพันธุ์ | | การตอบสนองของโรค | |
| Exon 19 deletion | 50 (60.2%) | PR | 67 (80.7%) |
| L858R | 30 (36.1%) | SD | 11 (13.3%) |
| Other | 3 (3.6%) | PD | 5 (6%) |
| ระของโรค | | การกลายพันธุ์ในเลือด | |
| แพร่กระจาย | 79 (95.2%) | ตรวจพบ | 41 (49.4%) |
| ระยะโรคกลับ | 4 (4.8%) | ตรวจไม่พบ | 37 (44.6%) |
| | | การตรวจไม่สมบูรณ์ | 5 (6%) |

EGFR: epidermal growth factor receptor, TKIs; tyrosine kinase inhibitor, PR: partial response, SD: stable disease, PD: progressive disease

4.2 ผลของการตรวจการกลายพันธุ์ของยีนอีจีแอฟอาร์ในเลือดต่อการตอบสนองต่อ EGFR TKIs

ในวันสิ้นสุดการวิจัยอาสาสมัครที่ตรวจไม่พบการกลายพันธุ์ของยีนอีจีแอฟอาร์ในเลือดตั้งแต่ก่อนนเริ่มการรักษา มีระยะเวลาการรอดชีวิตโดยโรคสงบ (PFS) ยาวนานกว่ากลุ่มที่ตรวจพบการกลายพันธุ์ของยีนอีจีแอฟอาร์ในเลือดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ค่ากลางระยะเวลาการรอดชีวิตโดยโรคสงบ (mPFS) 12.8 เดือน [95% CI 10.8-16.0], และ 9.0 เดือน [95% CI 8.5-12.4], $p = 0.04$, HR 0.57). อาสาสมัครที่มีการกระจายของโรค 1-2 ตำแหน่งมีระยะเวลาการรอดชีวิตโดยโรคสงบดีกว่าอาสาสมัครกลุ่มที่มีการแพร่กระจายของโรค ≥ 3 ตำแหน่งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ mPFS 11.4 เดือน [95% CI 10.9-14.8] และ 9.4 เดือน [95% CI 6.9-11.0]; $p = 0.002$, HR 0.52) จากตาราง แสดง remained as independent prognostic factors for PFS. ตารางที่ 5

ตารางที่ 5 Univariate and multivariate Cox-regression analysis of PFS

| Factors | Univariate HR (95%CI) | P-value | Factors | Multivariate HR (95%CI) | P-value |
|---------------------------------------|--------------------------|---------|---------------------------------------|----------------------------|---------|
| Female vs Male | 1.16 (0.67-2.01) | 0.57 | | | |
| Age <60 vs ≥ 60 | 0.86 (0.48-1.53) | 0.6 | | | |
| ECOG 0-1 vs ECOG ≥ 2 | 0.65 (0.33-1.26) | 0.21 | | | |
| Smoker vs non-smoker | 1.11 (0.59-2.07) | 0.73 | | | |
| T 1-2 vs T3-4 | 0.69 (0.41-1.18) | 0.18 | | | |
| N1-2 vs N3-4 | 0.42 (0.18-1.00) | 0.05 | N1-2 vs N3-4 | 0.55 (0.21-1.48) | 0.21 |
| Metastasis 1-2 site vs ≥ 3 sites | 0.41 (0.24-0.71) | 0.002 | Metastasis 1-2 site vs ≥ 3 sites | 0.52 (0.28-0.95) | 0.034 |
| No Liver metastasis vs present | 0.52 (0.29-0.94) | 0.03 | No Liver metastasis vs present | 0.64 (0.02-18.3) | 0.79 |
| No Brain metastasis vs present | 0.48 (0.27-0.86) | 0.014 | No Brain metastasis vs present | 1.23 (0.42-35.6) | 0.9 |
| L858R vs Del19 | 1.11 (0.64-1.94) | 0.71 | | | |
| CtDNA undetected vs detected | 0.57 (0.34-0.97) | 0.04 | CtDNA undetected vs detected | 0.74 (0.42-1.32) | 0.31 |

EGFR: epidermal growth factor receptor, ctDNA: circulating tumor DNA

4.3 ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการตรวจพบการกลายพันธุ์ของยีนอีจีแอฟอาร์ในเลือดก่อนเริ่มการรักษา

เมื่อเปรียบเทียบข้อมูลพื้นฐานของอาสาสมัครกลุ่มที่ตรวจพบและตรวจไม่พบการกลายพันธุ์ของยีนอีจีแอฟอาร์ในเลือดก่อนการรักษา ดังแสดงในตารางที่ 6 พบว่าการตรวจพบการกลายพันธุ์ของยีนอีจีแอฟอาร์ในเลือดก่อนเริ่มการรักษาสัมพันธ์กับระยะของต่อมน้ำเหลืองเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ตรวจไม่พบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 6 ตารางลักษณะพื้นฐานของเนื้องอกทั้งในกลุ่มที่ตรวจพบและตรวจไม่พบการกลายพันธุ์ใน
เลือด

| ลักษณะ | ctDNA not detected(N=37) | ctDNA detected (N=41) | Total (N=78) | p-value |
|----------------------|--------------------------|-----------------------|--------------|---------|
| เพศ | | | | |
| หญิง | 26 (50.9%) | 25 (49.1%) | 51 (65.4%) | 0.39 |
| ชาย | 11 (40.7%) | 16 (59.3%) | 27 (34.6%) | |
| อายุ | | | | |
| <60 | 8 (38%) | 13 (61.9%) | 21 (26.9%) | 0.32 |
| ≥60 | 29 (50.8%) | 28 (49.2%) | 57 (73.1%) | |
| ECOG | | | | |
| 0-1 | 31 (47.6%) | 34 (52.3%) | 65 (83.3%) | 0.91 |
| ≥ 2 | 6 (46.1%) | 7 (53.9%) | 13 (16.7%) | |
| ชนิดของมะเร็ง | | | | |
| Adenocarcinoma | 36 (36.7%) | 38 (63.3%) | 60 (76.9%) | 0.55 |
| NSCLC NOS | 1 (33.3%) | 2 (66.7%) | 13 (16.7%) | |
| Adeno-Squamus | 0 (0%) | 1 (100%) | 5 (6.4%) | |
| ประวัติการสูบบุหรี่ | | | | |
| ไม่เคยสูบบุหรี่ | 29 (48.33%) | 31 (51.67%) | 60 (76.9%) | 0.68 |
| เคยและหยุดสูบแล้ว | 5 (38.46%) | 8 (61.54%) | 13 (16.7%) | |
| ยังสูบบุหรี่อยู่ | 3 (60%) | 2 (40%) | 5 (6.4%) | |
| ชนิดของการกลายพันธุ์ | | | | |
| L858R | 15 (53.6%) | 13 (46.4%) | 28 (35.9%) | 0.51 |
| Exon 19 deletion | 20 (42.5%) | 27 (57.5%) | 47 (60.3%) | |
| Other | 2 (66.67%) | 1 (33.33%) | 3 (3.8%) | |
| ตำแหน่งการแพร่กระจาย | | | | |
| 1-2 อวัยวะ | 30 (52.63%) | 27 (47.37%) | 57 (73%) | 0.13 |
| ≥3 อวัยวะ | 7 (33.3%) | 14 (66.7%) | 21 (27%) | |
| มีการกระจายไปที่สมอง | | | | |
| ไม่มี | 31 (50.8%) | 30 (49.2%) | 61 (78.2%) | 0.25 |
| มี | 6 (35.3%) | 11 (64.7%) | 17 (21.8%) | |
| มีการกระจายไปที่ตับ | | | | |
| ไม่มี | 32 (47.5%) | 29 (52.5%) | 61 (78.2%) | 0.09 |
| มี | 5 (29.4%) | 12 (70.6%) | 17 (21.8%) | |
| T stage | | | | |
| T 1-2 | 18 (48.65%) | 19 (51.35%) | 37 (47.4%) | 0.8 |
| T 3-4 | | | | |

| | | | | |
|-----------------------|-------------|-------------|------------|-------|
| | 19 (46.35%) | 22 (53.65%) | 41 (52.6%) | |
| N Stage | | | | |
| N 0-1 | 9 (75%) | 3 (25%) | 12 (15.4%) | 0.038 |
| N 2-3 | 28 (42.4) | 38 (57.6) | 66 (84.6%) | |
| การตอบสนองต่อการรักษา | | | | |
| PR | 28 (79.5%) | 34 (20.5%) | 62 (79.5%) | 0.49 |
| SD | 7 (63.6%) | 4 (39.3%) | 11 (14.1%) | |
| PD | 2 (40%) | 3 (60%) | 5 (6.4%) | |

Impact of plasma semi-quantitative EGFR mutation using delta Cq on response to EGFR-TKIs

ตารางที่ 7 Demographic data for EGFR mutation detected by ctDNA

| | High ΔCq (N=26) | Low ΔCq (N=15) | Total population (N=41) | p-value |
|----------------------|-------------------------|------------------------|-------------------------|---------|
| เพศ | | | | |
| หญิง | 14 (56%) | 11 (44%) | 25 (61%) | 0.22 |
| ชาย | 12 (75%) | 4 (25%) | 16 (39%) | |
| อายุ | | | | |
| <60 | 10 (76.9%) | 3 (23.1%) | 13 (31.7%) | 0.22 |
| ≥60 | 16 (57.1%) | 12 (42.9%) | 28 (68.3%) | |
| ECOG | | | | |
| 0-1 | 23 (67.6%) | 11 (32.4%) | 34 (82.9%) | 0.21 |
| ≥ 2 | 3 (85.7%) | 4 (14.3%) | 7 (17.1%) | |
| ประวัติการสูบบุหรี่ | | | | |
| ไม่เคยสูบบุหรี่ | 16 (51.6%) | 15 (48.4%) | 31 (75.6%) | 0.02 |
| เคยและหยุดสูบแล้ว | 8 (100%) | 0 (0%) | 8 (19.5%) | |
| ยังสูบบุหรี่อยู่ | 2 (100%) | 0 (0%) | 2 (4.9%) | |
| ชนิดของการกลายพันธุ์ | | | | |
| L858R | 6 (46.2%) | 7 (53.8%) | 13 (31.7%) | 0.25 |
| Exon 19 deletion | 19 (70.3%) | 8 (29.7%) | 27 (65.9%) | |
| Other | 1 (100%) | 0 (0%) | 1 (2.4%) | |
| ตำแหน่งการแพร่กระจาย | | | | |
| • 1-2 อวัยวะ | 21 (77.78%) | 6 (22.22%) | 27 (65.9%) | 0.008 |
| • ≥3 อวัยวะ | 5 (35.72%) | 9 (64.28%) | 14 (34.1%) | |
| มีการกระจายไปที่สมอง | | | | 0.45 |

| | | | | |
|--|-------------|-------------|------------|-------|
| <ul style="list-style-type: none"> • ไม่มี • มี มีการกระจายไปที่ตับ | 18 (60%) | 12 (40%) | 30 (73.2%) | 0.78 |
| <ul style="list-style-type: none"> • ไม่มี • มี | 8 (72.7%) | 3 (27.3%) | 11 (26.8%) | |
| <ul style="list-style-type: none"> • ไม่มี • มี | 18 (62%) | 11 (37.9%) | 29 (70.7%) | |
| <ul style="list-style-type: none"> • ไม่มี • มี | 8 (66.67%) | 4 (33.33%) | 12 (29.3%) | |
| T stage | | | | 0.055 |
| <ul style="list-style-type: none"> • T1-2 • T3-4 | 15 (78.9%) | 4 (21.1%) | 19 (46.3%) | |
| N stage | | | | 0.9 |
| <ul style="list-style-type: none"> • N0-1 • N2-3 | 11 (50%) | 11 (50%) | 22 (53.7%) | |
| <ul style="list-style-type: none"> • N0-1 • N2-3 | 2 (66.67%) | 1 (33.33%) | 3 (7.3%) | |
| <ul style="list-style-type: none"> • N0-1 • N2-3 | 24 (63.1%) | 14 (36.9%) | 38 (92.7%) | |
| การตอบสนองต่อการรักษา | | | | 0.45 |
| Partial response | 23 (67.65%) | 11 (32.35%) | 34 (82.9%) | |
| Stable disease | 2 (50%) | 2 (50%) | 4 (9.8%) | |
| Progressive disease | 1 (33.33%) | 2 (66.67%) | 3 (7.3%) | |

EGFR: epidermal growth factor receptor, TKIs; tyrosine kinase inhibitor, NSCLC: non-small cell lung cancer

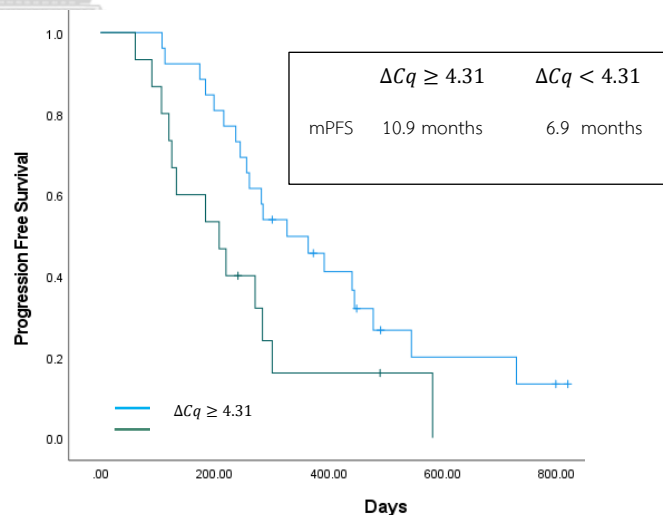
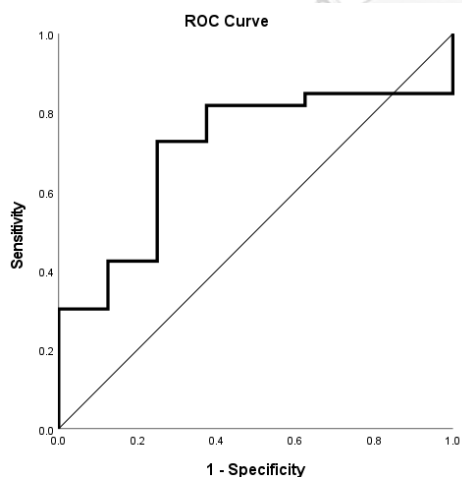
เนื่องจากการตรวจการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ในการวิจัยนี้เป็นแบบกึ่งเชิงปริมาณ ผู้วิจัยจึงใช้ค่า ΔCq เพื่อแสดงปริมาณสัมพันธ์ของการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ในเลือดเทียบกับการแสดงออกปกติของยีนอีจีเอฟอาร์ โดยใช้การแสดงออกปกติของยีนอีจีเอฟอาร์เป็นยีนอ้างอิง และจากการวิเคราะห์การเปรียบเทียบพื้นที่ใต้เส้นโค้ง (ROC curve) เพื่อกำหนดค่าจุดตัดที่เหมาะสมที่สุดของ ΔCq คำนวณพื้นที่ใต้เส้นโค้ง (AUC) เท่ากับ 70.5 (95% CI, 0.52-0.88) ค่าตัดของ ΔCq เพื่อคาดการณ์การตอบสนองต่อยามุ่งเป้าอีจีเอฟอาร์ชนิดที่ 1 โดยใช้ค่าตัดที่ 4.31 จะมีความไวและความจำเพาะเท่ากับ 72.7% และ 75% ตามลำดับ **รูปภาพที่ 9**

หลังจากกำหนดค่าจุดตัดของ ΔCq แล้ว ผู้ป่วยจะถูกแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่มที่มีค่า ΔCq สูงคือมากกว่าหรือเท่ากับ 4.31 และกลุ่มที่มีค่า ΔCq ต่ำ คือมีค่า ΔCq น้อยกว่า 4.32 ซึ่งการใช้จุดตัดค่า ΔCq ที่ 4.31 จากข้อมูลพื้นฐานทั้ง 2 กลุ่มมีความแตกต่างกันในเรื่องจำนวนของอวัยวะที่มีการแพร่กระจายของโรค ซึ่งในที่มีค่า ΔCq ต่ำ มีการแพร่กระจายของมะเร็งมากกว่าเท่ากับ 3 อวัยวะ มากกว่ากลุ่ม ΔCq สูงอย่างมีนัยสำคัญ และในกลุ่มที่มีค่า ΔCq สูง มีค่ากลางระยะเวลาการ

รอดชีพโดยโรคสงบยาวนานกว่ากลุ่ม ΔCq ต่ำ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ 10.4 เดือน [95% CI 6.9-14.7] เทียบกับ 6.9 เดือน [95% CI 4.8-10.2, $p=0.035$, HR 2.1) **รูปภาพที่ 10** จากการวิเคราะห์ข้อมูลพหุตัวแปรไม่พบว่ามีการวิจัยพยากรณ์โรคทางคลินิกที่สัมพันธ์ต่อการรอดชีพโดยปราศจากโรคอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ รวมถึงค่า ΔCq (HR 2.05; 95% CI, 0.93-4.51, $P = 0.07$) **ตารางที่ 8**.

ตารางที่ 8 *Multivariate Cox-regression analysis clinical factor revealed ΔCq for PFS*

| Factors | Univariate HR (95%CI) | P-value | Factors | Multivariate HR (95%CI) | P-value |
|--|--------------------------|---------|--|----------------------------|---------|
| Smoker vs non-smoker | 1.0 (0.45-2.28) | 0.9 | | | |
| T 3-4 vs T1-2 | 1.73 (0.8 -3.35) | 0.12 | | | |
| N2-3 vs N1-2 | 1.20 (0.28-5.2) | 0.79 | | | |
| Metastasis ≥ 3 sites vs 1-2 site | 1.89 (0.9- 3.8) | 0.07 | Metastasis 1-2 site vs ≥ 3 sites | 1.37 (0.65-2.92) | 0.41 |
| Liver metastasis vs None | 1.93 (0.9- 3.99) | 0.07 | Liver metastasis vs None | 4.1 (0.46-36.9) | 0.20 |
| Brain metastasis vs none | 1.73 (0.85-3.63) | 0.15 | Brain metastasis vs none | 0.49 (0.05-4.44) | 0.51 |
| L858R vs Del 19 | 1.84 (0.85-4.0) | 0.12 | | | |
| ΔCq -low and ΔCq -high | 2.12 (1.03-4.3) | 0.04 | ΔCq -low and ΔCq -high | 2.05 (0.93-4.51) | 0.07 |



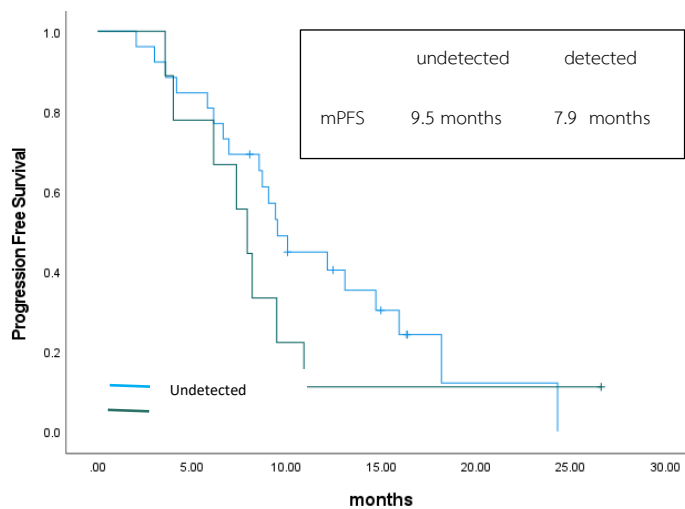
รูปภาพที่ 12 *ROC curve of ΔCq*

รูปภาพที่ 13 *Kaplan-Meier curve of PFS used ΔCq cut-off*

4.4 การติดตามการเปลี่ยนแปลงของการกลายพันธุ์ในเลือด

จากผู้ป่วยทั้งหมด 41 คนที่ตรวจพบการกลายพันธุ์ในเลือดก่อนเริ่มการรักษา มีผู้ป่วยทั้งหมด 37 คนได้รับการตรวจติดตามการกลายพันธุ์ในเลือดหลังจากได้รับการรักษาที่ 8-12 สัปดาห์ คิดเป็นร้อยละ

90.2 และมีผู้ป่วย 29 คนที่ตรวจไม่พบการกลายพันธุ์ในเลือดหลังจากเริ่มรักษา และมีผู้ป่วย 8 คนที่ยังตรวจพบการกลายพันธุ์ของเลือดอยู่หลังจากที่ได้รับการรักษาด้วยยามุ่งเป้ารุ่นที่ 1 และเมื่อเปรียบเทียบผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มพบว่าผู้ป่วยที่ตรวจไม่พบการกลายพันธุ์หลังจากได้รับการรักษามีแนวโน้มที่มีค่ากลางระยะเวลาการรอดชีพโดยโรคสงบที่ยาวนานกว่ากลุ่มที่ยังตรวจพบการกลายพันธุ์ในเลือดโดยมีค่ากลางระยะเวลาการรอดชีพโดยโรคสงบ 9.5 เดือน [95% CI 7.9-11.0] และ 7.9 เดือน [95% CI 6.2-9.5] ตามลำดับ $p=0.33$ แต่ยังไม่มีความสำคัญทางสถิติ **รูปภาพที่ 11**



รูปภาพที่ 11 Kaplan-Meier curve of PFS in ctDNA follow up group

บทที่ 5

อภิปราย สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

การศึกษานี้เป็นการศึกษาแบบไปข้างหน้าเพื่อหาความสัมพันธ์ของการตรวจพบการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ในเลือดต่อการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยามุ่งเป้าอีจีเอฟอาร์รุ่นที่ 1 ในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดไม่เล็กระยะแพร่กระจาย โดยผู้ป่วยที่เข้าการศึกษาทุกคนมีผลชิ้นเนื้อยืนยันว่าเป็นมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กที่มีการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ในชิ้นเนื้อพยาธิโดยวิธีมาตรฐาน (Cobas PCR methods) และผู้ป่วยที่เข้าร่วมการศึกษาทุกคนจะได้รับการเจาะเลือดเพื่อหาการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ในเลือด โดยในการศึกษาพบว่าผู้ป่วยที่ตรวจไม่พบการกลายพันธุ์ในเลือดก่อนการเริ่มรักษามีอัตราการรอดชีพโดยโรคสงบที่ยาวนานกว่าผู้ป่วยที่ตรวจพบการกลายพันธุ์ของอีจีเอฟอาร์ตั้งแต่ก่อนเริ่มการรักษา และพบว่าผู้ป่วยที่ตรวจพบการกลายพันธุ์ในเลือดก่อนเริ่มการรักษามีระยะของการกระจายไปที่ต่อมน้ำเหลืองที่มากกว่า มีปริมาณอวัยวะที่โรคแพร่กระจายมากกว่าเท่ากับ 3 อวัยวะมากกว่า มีการแพร่กระจายไปที่ตับและสมองตั้งแต่เริ่มวินิจฉัยมากกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับผู้ป่วยที่ตรวจไม่พบการกลายพันธุ์ในเลือดตั้งแต่ก่อนเริ่มรักษา ซึ่งอาจสรุปได้ว่าผู้ป่วยที่ตรวจพบการกลายพันธุ์ในเลือดตั้งแต่ต้นมีความรุนแรงของโรคมมากกว่ากลุ่มที่ตรวจไม่พบการกลายพันธุ์ในเลือด

ในกลุ่มที่ตรวจพบการกลายพันธุ์ตั้งแต่ก่อนเริ่มการรักษา จากการศึกษาพบว่ากลุ่มที่มีค่า ΔCq ที่สูงมีอัตราการรอดชีพโดยโรคสงบที่ยาวนานกว่าผู้ป่วยที่มีค่า ΔCq ต่ำ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งจากการตรวจหาจุดตัดของค่า ΔCq โดยใช้การวิเคราะห์การเปรียบเทียบพื้นที่ใต้เส้นโค้ง (ROC curve) ที่จุดตัด 4.31 โดยในกลุ่มที่มี ΔCq สูงมีค่ากลางระยะเวลาการรอดชีพโดยโรคสงบ 10.9 เดือน เทียบกับ 6.9 เดือน [95% CI 4.8-10.2, $p=0.035$] อย่างไรก็ตามเนื่องจากการตรวจการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ในการศึกษาไม่ได้ใช้วิธีการตรวจที่สามารถบอกปริมาณการกลายพันธุ์ต่อปริมาณพลาสมาได้ แต่เป็นการตรวจกึ่งเชิงปริมาณ ที่ค่า ΔCq มาจากความแตกต่างของการตรวจพบสัญญาณของยีนอีจีเอฟอาร์ที่กลายพันธุ์เทียบกับการแสดงออกปกติของยีนอีจีเอฟอาร์ในสิ่งส่งตรวจที่ตรวจในครั้งนั้น ค่า ΔCq ในการศึกษาจึงนี้ไม่สามารถเทียบเท่าได้กับปริมาณการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ (EGFR abundance)

ในการศึกษาก่อนหน้าพบว่าในกลุ่มที่มีปริมาณการกลายพันธุ์ที่สูงในชิ้นเนื้อสัมพันธ์กับการมีค่ากลางระยะเวลาการรอดชีพโดยโรคสงบที่ยาวนานขึ้นเทียบกับกลุ่มที่มีปริมาณการกลายพันธุ์ในชิ้นเนื้อต่ำอย่างมีความสำคัญทางสถิติ การศึกษาก่อนหน้าเป็นการตรวจหาปริมาณการกลายพันธุ์ในชิ้น

เนื้อ วิธีการตรวจและการกำหนดค่าจุดตัดของปริมาณการกลายพันธุ์น้อยหรือมากแตกต่างกันในแต่ละการศึกษา

เช่นการศึกษาของ Zhou Q, et al, ในกลุ่มที่มีปริมาณการกลายพันธุ์สูงมีค่ากลางระยะเวลาการรอดชีพโดยโรคสงบที่ 11.3 เดือนเทียบกับ 6.9 เดือนในกลุ่มที่มีปริมาณการกลายพันธุ์ต่ำ และการศึกษาของ Li X, et al. กลุ่มที่มีปริมาณการกลายพันธุ์สูงมีค่ากลางระยะเวลาการรอดชีพโดยโรคสงบที่ 10.8 เดือนเทียบกับ 8.2 เดือนในกลุ่มที่มีปริมาณการกลายพันธุ์ต่ำ.[31-33, 36] ส่วนการศึกษาของคุณ Xiaohong Wang, การศึกษาตรวจหาปริมาณการกลายพันธุ์ทั้งจากในเลือดและในชิ้นเนื้อ โดยใช้ค่าจุดตัดปริมาณการกลายพันธุ์ของยีนอีจีแอฟอาร์ที่ 0.1% (ปริมาณการกลายพันธุ์ที่สูงคือ >0.1% และต่ำคือ $\leq 0.1\%$) ค่ากลางระยะเวลาการรอดชีพโดยโรคสงบที่ในกลุ่มที่มีปริมาณการกลายพันธุ์ในเลือดที่สูงเทียบกับกลุ่มที่มีปริมาณการกลายพันธุ์ในเลือดต่ำ คือ 9.5 เดือน และ 5 เดือน ตามลำดับ $p < 0.0001$ [37] และเมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาของเราพบว่าในคนไข้มะเร็งปอดชนิดไม่เล็กที่ตรวจพบหรือตรวจไม่พบการกลายพันธุ์ของยีนอีจีแอฟอาร์ในเลือด มีความสัมพันธ์กับระยะเวลาการรอดชีพโดยโรคสงบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และในกลุ่มที่ตรวจพบการกลายพันธุ์ของยีนอีจีแอฟอาร์ในเลือด ค่า ΔCq มีความสัมพันธ์กับระยะเวลาการรอดชีพโดยโรคสงบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งดูเหมือนว่าผลการศึกษาอาจเป็นไปได้ในทิศทางตรงกันข้าม แต่การศึกษาของเรายังไม่สามารถบอกความสัมพันธ์ของค่า ΔCq และปริมาณการกลายพันธุ์ได้ อาจจะไม่สามารถสรุปความสัมพันธ์กับการศึกษาก่อนหน้าได้อย่างชัดเจน อย่างไรก็ตามก่อนหน้านี้มีการศึกษาที่ศึกษาความสัมพันธ์ของการเปลี่ยนแปลงปริมาณการกลายพันธุ์ของยีนอีจีแอฟอาร์ในเลือดก่อนและหลังการรักษาพบว่าในคนไข้มะเร็งปอดชนิดไม่เล็กที่ตรวจพบการกลายพันธุ์ของยีนอีจีแอฟอาร์ในเลือดตั้งแต่ก่อนเริ่มการรักษามีค่ากลางระยะเวลาการรอดชีพโดยโรคสงบที่สั้นกว่ากลุ่มที่ตรวจไม่พบการกลายพันธุ์ของยีนอีจีแอฟอาร์ในเลือดก่อนเริ่มการรักษา และในกลุ่มที่ตรวจพบการกลายพันธุ์ในเลือดตั้งแต่ก่อนเริ่มการรักษาสัมพันธ์กับการมีการกระจายของโรคนอกช่องอก [38-40]. และเมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาของเราพบว่ามีผลการศึกษาไปในทิศทางเดียวกันคือ กลุ่มที่ตรวจพบการกลายพันธุ์ของยีนอีจีแอฟอาร์ในเลือดก่อนเริ่มการรักษามีอัตราการรอดชีพโดยโรคสงบสั้นกว่ากลุ่มที่ตรวจไม่พบและในกลุ่มที่ตรวจพบการกลายพันธุ์ในเลือดก่อนเริ่มการรักษามีระยะของโรคที่มากกว่ากลุ่มที่ตรวจไม่พบ ซึ่งจากการศึกษานี้ อาจบ่งบอกได้ว่ากลุ่มที่ตรวจพบปริมาณการกลายพันธุ์ในเลือดตั้งแต่ก่อนเริ่มการรักษามีปริมาณการกระจายของโรคที่มากกว่ากลุ่มที่ตรวจไม่พบซึ่งเป็นลักษณะการพยากรณ์โรคที่ไม่ดี ซึ่งการศึกษาก่อนหน้าการตรวจหาปริมาณการกลายพันธุ์ในชิ้นเนื้อหากมีปริมาณการกลายพันธุ์ที่มากสัมพันธ์กับ

ระยะเวลาการรอดชีพโดยโรคสงบที่ยาวนานกว่า แต่การศึกษาของเราเป็นการตรวจในเลือด การตรวจพบการกลายพันธุ์ในเลือด มักพบในกลุ่มที่มีการกระจายของโรคที่มาก ซึ่งอาจเป็นเหตุผลว่าทำไมผลการศึกษาของเราจึงแตกต่างจากการศึกษาก่อนหน้าที่ทำในชิ้นเนื้อ

และถึงแม้ว่าการตรวจพบยีนกลายพันธุ์ในเลือด(ctDNA) ในการศึกษาของเรายังไม่สามารถบอกปริมาณการกลายพันธุ์(abundance)ที่ชัดเจนได้เนื่องจากข้อจำกัดในวิธีการตรวจ แต่ก็พบความสัมพันธ์ของการตรวจยีนกลายพันธุ์ในเลือดกับการตอบสนองต่อการรักษาและการตรวจ ctDNA ยังสามารถตรวจได้ง่ายและใช้เวลาในการตรวจที่สั้นกว่าสามารถรายงานผลได้ใน 160 นาที ซึ่งสั้นกว่าการตรวจด้วยวิธี NGS ซึ่งต้องใช้เวลาในการตรวจสอบสองสัปดาห์ และเนื่องด้วยเหตุผลนี้การตรวจ ctDNA ก่อนการรักษาอาจช่วยพยากรณ์การตอบสนองต่อการรักษาด้วยยามุ่งเป้ารุ่นที่1 ในผู้ป่วยโรคมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กที่มีการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ได้ และในอนาคตหากต้องการหาความสัมพันธ์ของค่า ΔCq กับปริมาณการกลายพันธุ์อาจต้องใช้การตรวจเพิ่มเติมที่สามารถบอกปริมาณการกลายพันธุ์ที่ชัดเจนได้ เช่น ddPCR และการศึกษาของเราซึ่งเป็นการศึกษาแบบไปข้างหน้าซึ่งสามารถกำหนดปัจจัยที่มีผลต่อผลการรักษาเช่น ชนิดของยา EGFR TKIs, ระยะเวลาการตรวจติดตามการตอบสนองด้วยภาพรังสีวินิจฉัย และระยะเวลาในการตรวจติดตาม ctDNA หลังการรักษาทำให้ข้อมูลที่ได้มีการเจือปนของข้อมูลน้อย

ในการศึกษานี้มีข้อจำกัดบางประการ ประการแรกการศึกษาของเราผู้ป่วยเพียง 41 รายที่ตรวจพบการกลายพันธุ์ในเลือดซึ่งคิดเป็นร้อยละ 49.4 จากประชากรทั้งหมดซึ่งอาจมีผลต่อกำลังในการบอกความแตกต่างของกลุ่มที่ใช้ ΔCq ในการบอกความสัมพันธ์กับอัตราการรอดชีพโดยโรคสงบ ประการที่สองดังที่กล่าวไปแล้วข้างต้นการศึกษาของเราใช้วิธีการตรวจหาปริมาณการกลายพันธุ์แบบกึ่งเชิงปริมาณทำให้ยังไม่สามารถบอกการกลายพันธุ์ที่แน่ชัดได้ ต้องอาศัยการตรวจต่อไป ประการที่สามการศึกษาของเราผู้ป่วยที่เข้าร่วมโครงการไม่ได้ทำการตรวจภาพรังสีวินิจฉัยทางสมองในทุกราย โดยเฉพาะในผู้ป่วยที่มีอาการสงสัยรอยโรคที่แพร่กระจายไปที่สมองเท่านั้น ซึ่งทำให้กลุ่มที่มีรอยโรคแพร่กระจายไปที่สมองแบบไม่มีอาการจะถูกจัดอยู่ในกลุ่มที่ไม่พบการกระจาย จึงอาจทำให้มีผลต่อการแปรผลเรื่องข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาเล็กน้อยในกลุ่มนี้ ซึ่งในกลุ่มการศึกษานี้ติดตามหลังการรักษาพบว่า มีคนไข้ที่มีโรคกระจายมาที่สมอง ทั้งหมด 4 ราย มีเพียง 1 รายที่มีภาพรังสีวินิจฉัยก่อนได้รับการรักษา ผู้ป่วย 3 รายที่มีรอยโรคกระจายมาที่สมองหลังได้รับการรักษา อยู่ในกลุ่มที่มีค่า

deltaCq ต่ำ แต่อาจสรุปไม่ได้ว่าค่า deltaCq ที่ต่ำสัมพันธ์กับการแพร่กระจายไปที่สมอง ประการสุดท้ายการศึกษาของเรามีผู้ป่วยที่ยังได้รับการรักษาอยู่ 25 คนคิดเป็นร้อยละ 30.1 ซึ่งอาจทำให้ข้อมูลอัตราการรอดชีพโดยโรคสงบ ยังไม่สมบูรณ์ และผู้ป่วย 52 รายยังอยู่ในระหว่างการตรวจติดตามการรักษาทำให้ข้อมูลอัตราการรอดชีพของการศึกษาโดยรวมยังไม่สมบูรณ์

การนำไปใช้เนื่องจากตอนนี้ยังข้อมูลที่ชัดเจนในการรักษาคนไข้ในกลุ่มที่ตอบสนองไม่ดีต่อการให้ยามุ่งเป้ารุ่นที่ 1 ในอนาคตการตรวจ ctDNA อาจมาช่วยในการเลือกว่าในผู้ป่วยที่ตรวจพบ ctDNA ก่อนเริ่มการรักษาและมีค่า ΔCq ที่ต่ำ อาจพิจารณาให้การรักษาด้วยยามุ่งเป้ารุ่นที่ 1 ร่วมกับยาชนิดอื่น เช่นยากลุ่มที่ต้านการสร้างหลอดเลือด

สรุปผลการศึกษา

จากการศึกษานี้อาจสรุปได้ว่าการตรวจพบการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ในเลือดก่อนเริ่มการรักษาเป็นปัจจัยการพยากรณ์โรคที่แยกว่ากลุ่มที่ตรวจไม่พบการกลายพันธุ์ในเลือดก่อนเริ่มการรักษาด้วยยามุ่งเป้ารุ่นที่ 1 ในผู้ป่วยโรคมะเร็งปอดชนิดไม่เล็กที่มีการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ และการตรวจการกลายพันธุ์ในเลือดแบบกึ่งปริมาณ ค่า ΔCq สามารถเป็นปัจจัยทำนายการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยามุ่งเป้ารุ่นที่ 1 ได้ แต่ยังคงต้องรอยืนยันการศึกษาอีกครั้งในอนาคต

ภาคผนวก

แบบบันทึกข้อมูลผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย (case record form)

The role of EGFR mutation abundance on response to EGFR TKIs in patients with
EGFR mutant Advanced NSCL

1. Personal information

Date of enrollment:..... EGFR ID :

Date of birth: Age: Gender: () Male ()
Female

Age of Diagnosis lung cancer:

Nationality :..... Religion:.....

Reimburse system:

() universal coverage () Social security () Government officer () State enterprises

() Private insurance () Self-pay () Unknown

2. Demographic data

Heightcm Weightkg Weight before illnesskg Weight
loss %

Smoking status () Never smoker () Former smoker () Current smoker () Unknown

Duration of smoking:..... year Duration after last smoking:..... year Average
smoke:..... Pack/year

Family history of malignancy :.....

Co-morbid disease:.....

3. Diagnosis

Date of diagnosis NSCLC :..... ECOG:.....

Pathologic type : () Histology () Cytology () Not done

Patho-number

Tumor histology :..... Histologic subtype :.....

AJCC 8th edition staging :..... T stage:..... N stage:..... M stage:.....

Modality of imaging at diagnosis

() CT chest/abdomen () PET scan () Bone scan () CT/MRI brain () CXR

4. Molecular Characteristic

How many EGFR mutations had been testing:.....Date of first EGFR examination:
.....

First EGFR mutation material: EGFR mutation material: () Tissue () Plasma

EGFR mutation subtype
:.....

Date of EGFR mutation testing after 1st generation EGFR TKIs :.....How many
Test:.....

EGFR mutation material: () Tissue () Plasma

EGFR mutation subtype:.....

Date of ALK testing:.....

Material: () Tissue () Plasma **Technique:** () IHC () FISH () NGS **Result:** () Positive () Negative

Date of ROS1 fusion gene testing:.....

Material: () Tissue () Plasma **Technique:** () IHC () FISH () NGS **Result:** () Positive () Negative

Date of PD-L1 testing:.....

Antibody staining : () SP142 () Dako22C3 () Dako22-8 () SP263

Result PD-L1 score :.....%

Date of BRAF mutation testing:.....

Material: () Tissue () Plasma **Result:** () V600E () non V600E () Negative

5. Primary Treatment Localized stage

Surgical treatment: Type of surgery :.....

Date of surgery :..... surgical patho-number :.....

Maximum diameter of tumor:..... Nodal status:.....

Histology:..... histologic subtype :.....

Margin status:..... Visceral pleural invasion:.....

Adjuvant treatment:.....

Date of stop adjuvant treatment:..... Reason for stop treatment:.....

Total cycle of treatment:..... Any dose reduction and interruption:.....

Radiotherapy _____ for _____ localized
disease:.....

First date of radiation:..... Last date of radiation
:.....

Dose of radiation :..... Technique
:.....

Response of treatment
:.....

6. Recurrence or Metastasis Disease

Patient status : Recurrence Disease Metastasis Disease

Site of metastasis : Lung Adrenal Bone Liver Brain Pleura
Pericardium

Distant lymph node Leptomeninges

Method of investigation : Clinical CT chest/abdomen PET scan Bone scan (
 CT/MRI brain CXR Cytology/pathology

ECOG at recurrent or metastasis

7. Systemic therapy for Recurrence or metastasis

Total regimen for recurrence or metastasis
:.....

first-line systemic therapy

EGFR TKIs:..... not EGFR TKIs
 :.....

Total cycle:..... cycles Last date of treatment:..... Response of
 treatment:.....

First date of EGFR TKIs:.....Last date of EGFR
 TKIs:.....

Dose reduction and interruption: Reason to stop EGFR TKIs
 :.....

Response of first-line EGFR TKIs
 :.....

Date of disease progression after 1st line EGFR TKIs
 :.....

Patient received radiation:..... Dose:.....
 location:.....

2nd line treatment : () EGFR TKIs () Other systemic
 treatment:.....

EGFR TKIs:..... First date of EGFR TKIs:.....First date of EGFR
 TKIs:.....

Total cycle:..... cycles Last date of treatment:..... Response of
 treatment:.....

Dose reduction and interruption: Reason to stop
 treatment:.....

Date of disease progression after 2st line therapy
:.....

Patient received radiation:..... Dose:.....
location:.....

8. Secondary malignancy

Patient had secondary malignancy : () Yes () NO

Date of diagnosis:site of second primary CA
:.....

Stage of second primary CA
:.....

9. Last Visit

Most recent status (last visit)
:.....

Status :

Alive : () Alive with disease () Alive with out disease () Loss follow up () Unknown

Death : () Cancer related () Other () Unknown

10. EGFR TKIs treatment

Date of baseline imaging before start 1st generation EGFR TKIs
:.....

Method of baseline imaging before start 1st generation EGFR TKIs
:.....

Date of follow-up imaging maximum response of 1st generation EGFR TKIs
:.....

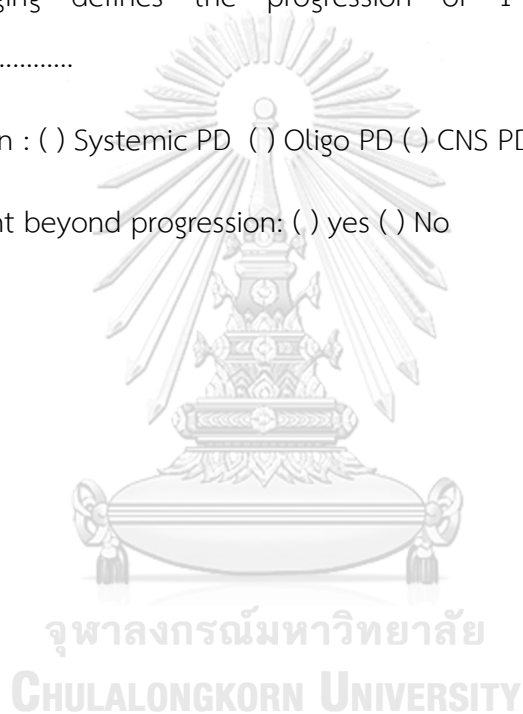
Method of imaging define maximum response of 1st generation EGFR TKIs
:.....

Date of follow-up imaging define the progression of 1st generation EGFR TKIs
:.....

Method of imaging defines the progression of 1st generation EGFR TKIs
:.....

Type of progression : () Systemic PD () Oligo PD () CNS PD

Continue treatment beyond progression: () yes () No



เอกสารชี้แจงข้อมูลและคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมวิจัย (information)

ชื่อโครงการวิจัย บทบาทของปริมาณการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ต่อการตอบสนองต่อการรักษา ด้วยยามุ่งเป้าใน ผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กที่มีการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์

ผู้สนับสนุนการวิจัยบริษัทไปโอคาริส.....

ผู้วิจัยหลัก พญ.พรพรรณ สิมสีแก้ว

ที่อยู่ทำงานหรือสถานศึกษาของผู้วิจัย อาคารภูมิสิริชั้น 6 โซน C หน่วยมะเร็งวิทยา โรงพยาบาล จุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย หมายเลขโทรศัพท์ที่ทำงาน02-2564533..... หมายเลข โทรศัพท์ติดต่อ 24 ชั่วโมง094-466-4645.....

ผู้วิจัยร่วม พญ.ปิยะดา สิทธิเดชไพบูลย์.....

ที่อยู่ทำงานหรือสถานศึกษาของผู้วิจัย อาคารภูมิสิริชั้น 6 โซน C หน่วยมะเร็งวิทยา โรงพยาบาล จุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย หมายเลขโทรศัพท์ที่ทำงาน 02-2564533..... หมายเลขโทรศัพท์ติดต่อ 24 ชั่วโมง 081-817-8198.....

เรียน ผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยทุกท่าน

ท่านได้รับเชิญให้เข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้เนื่องจากท่านได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นมะเร็งปอด ระยะแพร่กระจายและมี การกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ก่อนที่ท่านจะตัดสินใจเข้าร่วมในการศึกษาวิจัยดังกล่าว ขอให้ท่านอ่านเอกสารฉบับนี้อย่าง ถี่ถ้วน เพื่อให้ท่านได้ทราบถึงเหตุผลและ รายละเอียดของการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ หากท่านมีข้อสงสัยใด ๆ เพิ่มเติม กรุณา ชักถามจากทีมงาน ของแพทย์ผู้ทำวิจัย หรือแพทย์ผู้ร่วมทำวิจัยซึ่งจะเป็นผู้สามารถตอบคำถามและให้ความกระจ่างแก่ ท่านได้ ท่านสามารถขอคำแนะนำในการเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้จากครอบครัว เพื่อน หรือแพทย์ ประจำตัวของท่านได้ ท่านมี เวลาอย่างเพียงพอในการตัดสินใจโดยอิสระ ถ้าท่านตัดสินใจแล้วว่าจะ เข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ ขอให้ท่านลงนามในเอกสาร แสดงความยินยอมของโครงการวิจัยนี้

เหตุผลความเป็นมา

มะเร็งปอดเป็นสาเหตุการเสียชีวิตเป็นอันดับหนึ่งของประชากรโลก และมะเร็งปอดส่วนมาก เป็นชนิดเซลล์ไม่เล็กซึ่ง หากมีการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ จากการศึกษาในทางคลินิกเพื่อ ทดสอบประสิทธิภาพของยาพบว่าหากรับการ รักษาด้วยยามุ่งเป้าชนิด EGFR TKIs สามารถเพิ่มการ

ตอบสนองของโรคโดยรวมและอัตราการรอดชีพโดยปราศจากโรคเมื่อเทียบกับยาเคมีบำบัด ค่ากลาง ระยะเวลาการรอดชีพโดยปราศจากโรครออยู่ที่ 10-13 เดือน สาเหตุสำคัญที่ทำให้ไม่ตอบสนองต่อยา คือ เกิดการกลายพันธุ์ชนิดใหม่ขึ้น แต่ก็ยังมีคนไข้ เกือบครึ่งหนึ่งของการดื้อยา EGFR TKIs เป็นแบบอื่น ๆ ที่ยังไม่มีการ รักษาเฉพาะ และยังไม่มิตัวบ่งชี้ที่ชัดเจน จึงเป็นที่มาของงานวิจัยนี้เพื่อศึกษาตัวชี้วัด ทางชีวภาพต่อการตอบสนองต่อ การรักษาด้วยยามุ่งเป้ากลุ่ม EGFR TKIs ในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิด เซลล์ไม่เล็กที่มีการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์

วัตถุประสงค์ของการศึกษา

วัตถุประสงค์หลักจากการศึกษาในครั้งนี้คือหาความสัมพันธ์ของปริมาณการกลายพันธุ์ของ ยีนอีจีเอฟอาร์ในเลือด กับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยามุ่งเป้า EGFR TKIs ชนิดที่ 1 จำนวน ผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย คือ ...100... คน วิธีการที่เกี่ยวข้องกับการวิจัย หลังจากท่านให้ความยินยอม ที่จะเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ ผู้วิจัยจะขอตรวจเจาะเลือด 8 มิลลิลิตรเพื่อตรวจการ ปริมาณการกลาย พันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ก่อนเริ่มการรักษาด้วยยามุ่งเป้า EGFR TKIs ชนิดที่ 1 ซึ่งเป็นการรักษาตาม มาตรฐานที่อาสาสมัครจะได้รับ ในวันก่อนเริ่มรับยามุ่งเป้าและขอตรวจติดตามหลังจากรับประทานยา ไปแล้ว 8-12 สัปดาห์ ในระหว่างนี้ท่านจะได้รับการรักษาตามมาตรฐานทุกประการ และทางผู้วิจัยขอ จะขอใช้ข้อมูลประวัติการรักษาในเวชระเบียน รวมถึงข้อมูลการตรวจติดตามการตอบสนองของโรค จากภาพรังสีวินิจฉัยซึ่งผู้เข้าร่วมวิจัยจะต้องเข้ารับการตรวจทุก 2-3 เดือน ตามมาตรฐานการรักษา โดยตลอดระยะเวลาที่ท่านอยู่ในโครงการวิจัย คือ ช่วงที่ท่านรับประทานยามุ่งเป้าจนถึงวันที่หยุดยา มุ่งเป้าหรือวันสิ้นสุดการวิจัยคือ 30 กรกฎาคม พ.ศ.2565 สิ่งทีอาสาสมัครพึงปฏิบัติเมื่อเข้าร่วม โครงการวิจัย เพื่อให้งานวิจัยนี้ประสบความสำเร็จ ผู้ทำวิจัยใครขอความความร่วมมือจากท่าน โดยจะ ขอให้ท่านปฏิบัติตาม คำแนะนำของผู้ทำวิจัยอย่างเคร่งครัด รวมทั้งแจ้งอาการผิดปกติต่าง ๆ ที่เกิด ขึ้นกับท่านระหว่างที่ท่านเข้าร่วมในโครงการวิจัย ให้ผู้ทำวิจัยได้รับทราบ เพื่อความปลอดภัย ท่านไม่ ควรใช้วัคซีน หรือรับประทานยาอื่น จากการจ่ายยาโดยแพทย์อื่นหรือซื้อยาจากร้านขาย ยา ขอให้ ท่านปรึกษาผู้ทำวิจัย ทั้งนี้เนื่องจากวัคซีน หรือยาดังกล่าวอาจมีผลต่อยาที่ท่านรับประทาน ดังนั้น ขอให้ท่านแจ้ง แพทย์ที่ทำการรักษาเกี่ยวกับยาที่ท่านได้รับในระหว่างที่ท่านอยู่ในระหว่างการรักษา

ความเสี่ยงที่อาจได้รับ

ความเสี่ยงจากการเจาะเลือด ท่านมีโอกาสที่จะเกิดอาการเจ็บ เลือดออก ข้าจากการเจาะ เลือด อาการบวมบริเวณที่ เจาะเลือดหรือหน้ามืด และ ความเสี่ยงจากการหัตถการใด ๆ กรุณาแจ้ง

พญ.พรวิมล สิมสีแก้ว ผู้ทำการวิจัย หรือติดต่อทางโทรศัพท์ที่เบอร์ 0944664645 ตลอด 24 ชั่วโมง ในกรณีที่พบ อาการดังกล่าวข้างต้น หรืออาการอื่น ๆ ที่พบร่วมด้วย ระหว่างที่อยู่ในโครงการวิจัย ถ้ามีการเปลี่ยนแปลงเกี่ยวกับสุขภาพของท่าน ขอให้ท่านรายงานให้ผู้ทำวิจัยทราบโดยเร็ว

ความเสี่ยงที่ไม่ทราบแน่นอน ท่านอาจเกิดอาการข้างเคียง จากยาที่ท่านรับประทานเพื่อรักษาโรคขอให้ท่านแจ้งต่อแพทย์ผู้ทำการรักษาและผู้วิจัย หากท่านมีข้อสงสัยใด ๆ เกี่ยวกับความเสี่ยงที่อาจได้รับจากการเข้าร่วมในโครงการวิจัย ท่านสามารถสอบถามจาก ผู้ทำวิจัยได้ตลอดเวลา หากมีการค้นพบข้อมูลใหม่ ๆ ที่อาจมีผลต่อความปลอดภัยของท่านในระหว่างที่ท่านเข้าร่วมในโครงการวิจัย ผู้ทำวิจัยจะแจ้งให้ท่านทราบทันที เพื่อให้ท่านตัดสินใจว่าจะอยู่ในโครงการวิจัยต่อไป หรือจะขออนุญาตออกจากโครงการวิจัย การพบแพทย์นอกตารางนัดหมายในกรณีที่เกิดอาการข้างเคียง หากมีอาการข้างเคียงใด ๆ เกิดขึ้นกับท่าน ขอให้ท่านรีบมาพบแพทย์ที่สถานพยาบาลทันที ถึงแม้ว่าจะอยู่นอกตาราง การนัดหมาย เพื่อแพทย์จะได้ประเมินอาการข้างเคียงของท่าน และให้การรักษาที่เหมาะสมทันที หากอาการดังกล่าวเป็นผล จากการเข้าร่วมในโครงการวิจัย ท่านจะไม่เสียค่าใช้จ่าย

ประโยชน์ที่อาจได้รับ

ท่านอาจจะไม่ได้รับประโยชน์ใด ๆ จากการเข้าร่วมในการวิจัยครั้งนี้แต่ผลการศึกษาที่ได้จะนำไปสู่แนวทางการรักษา โรคมะเร็งปอดชนิดเล็กที่มีการกลายพันธุ์ชนิดอีจีเอฟอาร์ต่อไป ทางเลือกอื่นในกรณีที่ว่าสาสมัครไม่เข้าร่วมในการวิจัย ท่านไม่จำเป็นต้องเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้เพื่อประโยชน์ในการรักษาโรคที่ท่านเป็นอยู่ เนื่องจากมีแนวทางการรักษา อื่น ๆ หลายแบบสำหรับรักษาโรคของท่านได้ ดังนั้นจึงควรปรึกษาแนวทางการรักษาวิธีอื่น ๆ กับแพทย์ผู้ให้การรักษาท่าน ก่อนตัดสินใจเข้าร่วมในการวิจัย

ข้อปฏิบัติของท่านขณะที่ร่วมในโครงการวิจัย ขอให้ท่านปฏิบัติดังนี้

- ขอให้ท่านให้ข้อมูลทางการแพทย์ของท่านทั้งในอดีต และปัจจุบัน แก่ผู้ทำวิจัยด้วยความสัตย์จริง - ขอให้ท่านแจ้งให้ผู้ทำวิจัยทราบความผิดปกติที่เกิดขึ้นระหว่างที่ท่านร่วมในโครงการวิจัย
- ขอให้ท่านงดการใ้ยาอื่นนอกเหนือจากที่ผู้ทำวิจัยได้จัดให้ รวมถึงการรักษาอื่น ๆ เช่น การรักษาด้วยสมุนไพร การซื้อยาจากร้านขายยา
- ขอให้ท่านแจ้งให้ผู้ทำวิจัยทราบทันที หากท่านได้รับยาอื่นนอกเหนือจากยาที่ใช้ในการศึกษาตลอดระยะเวลาที่ ท่านอยู่ในโครงการวิจัย

- ขอให้ท่านนำยาที่ใช้ในการศึกษาของท่านทั้งหมดที่เหลือจากการรับประทานมาให้ผู้ทำวิจัย ทุกครั้งที่นัดหมายให้ มาพบ

อันตรายที่อาจเกิดขึ้นจากการเข้าร่วมในการวิจัยและความรับผิดชอบของผู้ทำวิจัย/ผู้สนับสนุน การวิจัย

หากพบอันตรายที่เกิดขึ้นจากการเข้าร่วมการวิจัย ท่านจะได้รับการรักษาอย่างเหมาะสมทันที หากท่านปฏิบัติตาม คำแนะนำของทีมผู้ทำวิจัยแล้ว ผู้ทำวิจัย/ผู้สนับสนุนการวิจัยยินดีจะรับผิดชอบ ค่าใช้จ่ายในการรักษาพยาบาลของท่าน อีกทั้ง จะได้รับการชดเชยการสูญเสียเวลา เสียรายได้ตาม ความเหมาะสม

ในกรณีที่ท่านได้รับอันตรายใด ๆ หรือต้องการข้อมูลเพิ่มเติมที่เกี่ยวข้องกับโครงการวิจัย ท่านสามารถ ติดต่อกับผู้ทำวิจัยคือ พญ.พรวิมล สิมสีแก้ว ผู้ทำการวิจัย หรือติดต่อทางโทรศัพท์ที่ เบอร์ 0944664645 ได้ตลอด 24 ชั่วโมง

ค่าใช้จ่ายของท่านในการเข้าร่วมการวิจัย

ท่านจะไม่มีค่าใช้จ่ายเพิ่มเติมใดๆในการรักษา ค่าตอบแทนสำหรับผู้เข้าร่วมวิจัย ท่านจะไม่ได้ รับเงินค่าตอบแทนจากการเข้าร่วมในการวิจัย หรือเงินชดเชยใด ๆ จากการเข้าร่วมการวิจัยครั้งนี้ เนื่องจากท่านไม่มีความจำเป็นต้องเดินทางมาให้ข้อมูลหรือตรวจเพิ่มเติมนอกเหนือจากที่ตรวจติดตาม การรักษาตามปกติ

การประกันภัยเพื่อคุ้มครองผู้เข้าร่วมวิจัย

- ไม่มี

การเข้าร่วมและการสิ้นสุดการเข้าร่วมโครงการวิจัย

การเข้าร่วมในโครงการวิจัยครั้งนี้เป็นไปโดยความสมัครใจ หากท่านไม่สมัครใจจะเข้าร่วม การศึกษาแล้ว ท่าน สามารถถอนตัวได้ตลอดเวลา การขอถอนตัวออกจากโครงการวิจัยจะไม่มีผลต่อ การดูแลรักษาโรคของท่านแต่อย่างใด

ผู้ทำวิจัยอาจถอนท่านออกจากการเข้าร่วมการวิจัย เพื่อเหตุผลด้านความปลอดภัยของท่าน หรือเมื่อผู้สนับสนุนการ วิจัยยุติการดำเนินงานวิจัย หรือ ในกรณีดังต่อไปนี้

- ท่านไม่สามารถปฏิบัติตามคำแนะนำของผู้ทำวิจัย

- ท่านรับประทานยาที่ไม่อนุญาตให้ใช้ในการศึกษา
- ท่านตั้งครุภัณฑ์ระหว่างที่เข้าร่วมโครงการวิจัย
- ท่านเกิดอาการข้างเคียงหรือความผิดปกติของผลทางห้องปฏิบัติการจากการได้รับยาที่ใช้ในการศึกษา
- ท่านแพ้ยาที่ใช้ในการศึกษา
- ท่านต้องการปรับเปลี่ยนการรักษาด้วยยาตัวที่ไม่ได้รับอนุญาตจากการวิจัยครั้งนี้

การปกป้องรักษาข้อมูลความลับของอาสาสมัคร

ข้อมูลนี้อาจนำไปสู่การเปิดเผยตัวท่าน จะได้รับการปกปิดและจะไม่เปิดเผยแก่สาธารณชน ในกรณีที่ผลการวิจัย ได้รับการตีพิมพ์ ชื่อและที่อยู่ของท่านจะต้องได้รับการปกปิดอยู่เสมอ โดยจะใช้เฉพาะรหัสประจำโครงการวิจัยของท่าน จากการลงนามยินยอมของท่าน ผู้ทำวิจัย และผู้สนับสนุนการวิจัย คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย ผู้ตรวจสอบการวิจัย และหน่วยงานควบคุมระเบียบกฎหมาย สามารถเข้าไปตรวจสอบบันทึกข้อมูลทางการแพทย์ของท่านได้แม้จะสิ้นสุด โครงการวิจัยแล้วก็ตาม โดยไม่ละเมิดสิทธิของท่านในการรักษาความลับเกินขอบเขตที่กฎหมายและระเบียบกฎหมายอนุญาตไว้

จากการลงนามยินยอมของท่าน แพทย์ผู้ทำวิจัยสามารถบอกรายละเอียดที่เกี่ยวกับการเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้ของ ท่านให้แก่แพทย์ผู้รักษาท่านได้

การยกเลิกการให้ความยินยอม

หากท่านต้องการยกเลิกการให้ความยินยอมดังกล่าว ท่านสามารถแจ้ง หรือเขียนบันทึกขอยกเลิกการให้คำยินยอม โดยส่งไปที่ หน่วยมะเร็งวิทยาโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์สภากาชาดไทย 1873 ถนนพระราม4 เขตพระทุมวัน กรุงเทพฯ 10330 ระบุถึง พญ.พรวิมล สิมสีแก้ว ผู้ทำการวิจัย

หากท่านขอยกเลิกการให้คำยินยอมหลังจากที่ท่านได้เข้าร่วมโครงการวิจัยแล้ว ข้อมูลส่วนตัวของท่านจะไม่ถูกบันทึก เพิ่มเติม อย่างไรก็ตาม ข้อมูลอื่น ๆ ของท่านอาจถูกนำมาใช้เพื่อประเมินผลการวิจัย และท่านจะไม่สามารถกลับมาเข้าร่วมใน โครงการนี้ได้อีก ทั้งนี้เนื่องจากข้อมูลของท่านที่จำเป็นสำหรับใช้เพื่อการวิจัยไม่ได้ถูกบันทึก

การจัดการกับตัวอย่างชีวภาพที่เหลือ

ตัวอย่างชีวภาพที่ได้จากอาสาสมัคร เช่น เลือดที่เหลือจากการวิจัย ผู้วิจัยจะทำลายตามวิธีมาตรฐานทันทีที่เสร็จสิ้นการวิจัย

สิทธิ์ของผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย

ในฐานะที่ท่านเป็นผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย ท่านจะมีสิทธิ์ดังต่อไปนี้

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. ท่านจะได้รับเอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยและสำเนาเอกสารใบยินยอมที่มีทั้งลายเซ็นและ วันที่
10. ท่านมีสิทธิ์ในการตัดสินใจว่าจะเข้าร่วมในโครงการวิจัยหรือไม่ก็ได้ โดยปราศจากการใช้อิทธิพลบังคับข่มขู่ หรือการ หลอกลวง

หากท่านไม่ได้รับการชดเชยอันควรต่อการบาดเจ็บหรือเจ็บป่วยที่เกิดขึ้นโดยตรงจากการวิจัย หรือท่านไม่ได้รับการ ปฏิบัติตามที่ปรากฏในเอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในการวิจัย ท่านสามารถร้องเรียนได้ที่ สำนักงาน คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์

มหาวิทยาลัย ตึกอำนวยการชั้น 3 โรงพยาบาล จุฬาลงกรณ์ ถนนพระราม 4 ปทุมวัน กรุงเทพฯ
10330 โทรศัพท์ 0-2256-4493 ในเวลาราชการ หรือ e-mail : medchulairb@chula.ac.th

การลงนามในเอกสารให้ความยินยอม ไม่ได้หมายความว่าท่านได้สละสิทธิ์ทางกฎหมาย
ตามปกติที่ท่านพึงมี ขอขอบคุณในการให้ความร่วมมือของท่านมา ณ ที่นี้



หนังสือแสดงความยินยอมเข้าร่วมวิจัย (inform consent)

การวิจัยเรื่อง บทบาทของปริมาณการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ต่อการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยามุ่งเป้าใน ผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กที่มีการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์

วันให้คำยินยอม วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

ข้าพเจ้า นาย/นาง/นางสาว
.....ที่ อยู่
.....ได้อ่าน

รายละเอียดจาก เอกสารข้อมูลสำหรับผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยวิจัยที่แนบมาฉบับวันที่
..... และข้าพเจ้ายินยอมเข้าร่วม โครงการวิจัยโดยสมัครใจ

ข้าพเจ้าได้รับสำเนาเอกสารแสดงความยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัยที่ข้าพเจ้าได้ลงนาม และ วันที่ พร้อมด้วย เอกสารข้อมูลสำหรับผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย ทั้งนี้ก่อนที่จะลงนามในใบยินยอมให้ทำการวิจัยนี้ ข้าพเจ้าได้รับการอธิบายจาก ผู้วิจัยถึงวัตถุประสงค์ของการวิจัย ระยะเวลาของการทำวิจัย วิธีการวิจัย อันตราย หรืออาการที่อาจเกิดขึ้นจากการวิจัย หรือ จากยาที่ใช้ รวมทั้งประโยชน์ที่จะเกิดขึ้นจากการวิจัย และแนวทางการรักษาโดยวิธีอื่นอย่างละเอียด ข้าพเจ้ามีเวลาและโอกาสเพียงพอในการซักถามข้อสงสัยจนมีความเข้าใจอย่างดีแล้ว โดยผู้วิจัยได้ตอบคำถามต่าง ๆ ด้วยความเต็มใจไม่ปิดบังซ่อนเร้น จนข้าพเจ้าพอใจ

ข้าพเจ้ารับทราบจากผู้วิจัยว่าหากเกิดอันตรายใด ๆ จากการวิจัยดังกล่าว ข้าพเจ้าจะได้รับการรักษาพยาบาลโดยไม่ เสียค่าใช้จ่ายแต่ไม่ได้รับค่าชดเชยใดๆ

ข้าพเจ้ามีสิทธิที่จะบอกเลิกเข้าร่วมในโครงการวิจัยเมื่อใดก็ได้ โดยไม่จำเป็นต้องแจ้งเหตุผล และการบอกเลิกการเข้าร่วมการวิจัยนี้ จะไม่มีผลต่อการรักษาโรคหรือสิทธิอื่น ๆ ที่ข้าพเจ้าจะพึงได้รับต่อไป

ผู้วิจัยรับรองว่าจะเก็บข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าเป็นความลับ และจะเปิดเผยได้เฉพาะเมื่อได้รับการยินยอมจาก ข้าพเจ้าเท่านั้น บุคคลอื่นในนามของบริษัทผู้สนับสนุนการวิจัย คณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในคน สำนักงาน คณะกรรมการอาหารและยาอาจได้รับอนุญาตให้เข้ามาตรวจสอบและประมวลผลข้อมูลของข้าพเจ้า ทั้งนี้จะต้องกระทำไปเพื่อ วัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบความถูกต้องของข้อมูลเท่านั้น โดยการตกลงที่จะเข้าร่วมการศึกษานี้ข้าพเจ้าได้ให้คำยินยอมที่จะ ให้มีการตรวจสอบข้อมูลประวัติทางการแพทย์ของข้าพเจ้าได้

ผู้วิจัยรับรองว่าจะไม่มีการเก็บข้อมูลใดๆเพิ่มเติม หลังจากที่ข้าพเจ้าขอยกเลิกการเข้าร่วมโครงการวิจัยและต้องการ ให้ทำลายเอกสารและ/หรือ ตัวอย่างที่ใช้ตรวจสอบทั้งหมดที่สามารถสืบค้นถึงตัวข้าพเจ้าได้

ข้าพเจ้าเข้าใจว่า ข้าพเจ้ามีสิทธิ์ที่จะตรวจสอบหรือแก้ไขข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าและสามารถยกเลิกการให้สิทธิในการใช้ข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าได้ โดยต้องแจ้งให้ผู้วิจัยรับทราบ ข้าพเจ้าได้ตระหนักว่าข้อมูลในการวิจัยรวมถึงข้อมูลทางการแพทย์ของข้าพเจ้าที่ไม่มีการเปิดเผยชื่อ จะผ่าน กระบวนการต่าง ๆ เช่น การเก็บข้อมูล การบันทึกข้อมูลในแบบบันทึกและในคอมพิวเตอร์ การตรวจสอบ การวิเคราะห์ และการรายงานข้อมูลเพื่อวัตถุประสงค์ทางวิชาการ รวมทั้งการใช้ข้อมูลทางการแพทย์ในอนาคตหรือการวิจัยทางด้านเภสัชภัณฑ์ เท่านั้น

ข้าพเจ้าได้อ่านข้อความข้างต้นและมีความเข้าใจดีทุกประการแล้ว ยินดีเข้าร่วมในการวิจัยด้วยความเต็มใจ จึงได้ลง นามในเอกสารแสดงความยินยอมนี้

.....ลงนามผู้ให้ความยินยอม

(.....) ชื่อผู้ยินยอมตัวบรรจง

วันที่เดือน.....พ.ศ.....

ข้าพเจ้าได้อธิบายถึงวัตถุประสงค์ของการวิจัย วิธีการวิจัย อันตราย หรืออาการไม่พึงประสงค์ หรือความเสี่ยงที่อาจ เกิดขึ้นจากการวิจัย หรือจากยาที่ใช้ รวมทั้งประโยชน์ที่จะเกิดขึ้นจากการวิจัยอย่างละเอียด ให้ผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยตาม นามข้างต้นได้ทราบและมีความเข้าใจดีแล้ว พร้อมลงนามลงในเอกสารแสดงความยินยอมด้วยความเต็มใจ

.....ลงนามผู้ทำวิจัย

(.....) ชื่อผู้ทำวิจัย ตัวบรรจง

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

.....ลงนามพยาน

(.....) ชื่อพยาน ตัวบรรจง

วันที่เดือน.....พ.ศ.....

เอกสารแสดงความยินยอมแบบเปิดกว้างเพื่อเก็บรักษาข้อมูลและตัวอย่างชีวภาพไว้ สำหรับการวิจัยในอนาคต

การวิจัยเรื่อง บทบาทของปริมาณการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์ต่อการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยามุ่งเป้าใน ผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กที่มีการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟอาร์

วันที่ให้คำยินยอม วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

ข้าพเจ้า (นาย/นาง/น.ส.....) ตัดสินใจเข้าร่วม / อนุญาตให้บุตรของข้าพเจ้า (ด.ช./ ด.ญ./นาย/น.ส.....) เข้าร่วม โครงการวิจัยเรื่อง บทบาทของปริมาณการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟ อาร์ต่อการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยามุ่งเป้าใน ผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กที่มีการกลายพันธุ์ของยีนอีจีเอฟ อาร์ซึ่งจะมีการเก็บรักษาข้อมูลเกี่ยวกับการตรวจรักษาไว้เพื่อการวิจัยในอนาคต

ข้าพเจ้าได้รับข้อมูลและคำอธิบายเกี่ยวกับการเก็บรักษาดังกล่าวแล้ว และข้าพเจ้าได้มีโอกาสซักถามและได้รับคำตอบเป็นที่พอใจแล้ว ข้าพเจ้ามีเวลาเพียงพอในการอ่านและทำความเข้าใจข้อมูลในเอกสารข้อมูลอย่างถี่ถ้วนและได้รับเวลาเพียงพอในการตัดสินใจยินยอม ให้ผู้วิจัยเก็บรักษาข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับการรักษาไว้เพื่อการวิจัยในอนาคต

ข้าพเจ้ารับทราบว่าข้าพเจ้าสามารถปฏิเสธการให้มีการเก็บรักษาข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับการรักษาได้โดยอิสระ โดยไม่มีผลกระทบต่อ การดูแลรักษา สิทธิที่ข้าพเจ้า / สิทธิที่บุตรของข้าพเจ้า พึ่งมีหรือการเข้าร่วมการวิจัยทางคลินิกแต่อย่างใด อีกทั้งข้าพเจ้ายังสามารถ เปลี่ยนการตัดสินใจได้ในภายหลัง

โดยการลงนามนี้ ข้าพเจ้าไม่ได้สละสิทธิใดๆที่ข้าพเจ้าหรือบุตรของข้าพเจ้าพึงมีตามกฎหมาย และหลังจากลงนามแล้วข้าพเจ้าจะได้รับ เอกสารข้อมูลและขอความยินยอมไว้จำนวน 1 ชุด

.....ลงนามผู้ให้ความยินยอม

(.....) ชื่อผู้ยินยอมตัวบรรจง

วันที่เดือน.....พ.ศ.....

.....ลงนามผู้ขอความยินยอม

(.....) ชื่อผู้ขอความยินยอม ตัวบรรจง

วันที่เดือน.....พ.ศ.....

คำรับรองของพยานผู้ไม่มีส่วนได้ส่วนเสียกับการวิจัย

ข้าพเจ้าได้อยู่ร่วมในกระบวนการขอความยินยอมและยืนยันว่า ผู้ขอความยินยอมได้อ่าน/อธิบายนเอกสารข้อมูลให้แก่ ซึ่งผู้มีชื่อข้างต้นมีโอกาสดักถามข้อสงสัยต่างๆ และได้ให้ความยินยอมโดย อิสระในการให้ผู้วิจัยเก็บรักษา ข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับการรักษาไว้สำหรับการวิจัยอื่นในอนาคต หลังจากรับทราบข้อมูลที่มีอยู่ตรงตามที่ปรากฏในเอกสารนี้แล้ว ลงนามพยาน
(.....) ชื่อพยาน ตัวบรรจง

วันที่ เดือน.....



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

บรรณานุกรม

1. Bray, F., et al., *Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries*. CA Cancer J Clin, 2018. **68**(6): p. 394-424.
2. Siegel, R.L., K.D. Miller, and A. Jemal, *Cancer statistics, 2020*. CA Cancer J Clin, 2020. **70**(1): p. 7-30.
3. Shi, Y., et al., *A prospective, molecular epidemiology study of EGFR mutations in Asian patients with advanced non-small-cell lung cancer of adenocarcinoma histology (PIONEER)*. J Thorac Oncol, 2014. **9**(2): p. 154-62.
4. Sriuranpong, V., et al., *High frequency of mutation of epidermal growth factor receptor in lung adenocarcinoma in Thailand*. Cancer Lett, 2006. **239**(2): p. 292-7.
5. Lynch, T.J., 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): p. 2129-39.
6. Paez, J.G., et al., *EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy*. Science, 2004. **304**(5676): p. 1497-500.
7. Pao, W., et al., *EGF receptor gene mutations are common in lung cancers from "never smokers" and are associated with sensitivity of tumors to gefitinib and erlotinib*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2004. **101**(36): p. 13306-11.
8. Maemondo, M., et al., *Gefitinib or chemotherapy for non-small-cell lung cancer with mutated EGFR*. N Engl J Med, 2010. **362**(25): p. 2380-8.
9. Mitsudomi, T., et al., *Gefitinib versus cisplatin plus docetaxel in patients with non-small-cell lung cancer harbouring mutations of the epidermal growth factor receptor (WJTOG3405): an open label, randomised phase 3 trial*. Lancet Oncol, 2010. **11**(2): p. 121-8.
10. Mok, T.S., et al., *Gefitinib or carboplatin-paclitaxel in pulmonary adenocarcinoma*. N Engl J Med, 2009. **361**(10): p. 947-57.
11. Rosell, R., et al., *Erlotinib versus standard chemotherapy as first-line treatment*

- for European patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (EURTAC): a multicentre, open-label, randomised phase 3 trial.* Lancet Oncol, 2012. **13**(3): p. 239-46.
12. Sequist, L.V., et al., *Phase III study of afatinib or cisplatin plus pemetrexed in patients with metastatic lung adenocarcinoma with EGFR mutations.* J Clin Oncol, 2013. **31**(27): p. 3327-34.
 13. Wu, Y.L., et al., *Afatinib versus cisplatin plus gemcitabine for first-line treatment of Asian patients with advanced non-small-cell lung cancer harbouring EGFR mutations (LUX-Lung 6): an open-label, randomised phase 3 trial.* Lancet Oncol, 2014. **15**(2): p. 213-22.
 14. Zhou, C., et al., *Erlotinib versus chemotherapy as first-line treatment for patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (OPTIMAL, CTONG-0802): a multicentre, open-label, randomised, phase 3 study.* Lancet Oncol, 2011. **12**(8): p. 735-42.
 15. Engelman, J.A. and P.A. Janne, *Mechanisms of acquired resistance to epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors in non-small cell lung cancer.* Clin Cancer Res, 2008. **14**(10): p. 2895-9.
 16. Kobayashi, S., et al., *EGFR mutation and resistance of non-small-cell lung cancer to gefitinib.* N Engl J Med, 2005. **352**(8): p. 786-92.
 17. Pao, W., et al., *Acquired resistance of lung adenocarcinomas to gefitinib or erlotinib is associated with a second mutation in the EGFR kinase domain.* PLoS Med, 2005. **2**(3): p. e73.
 18. Cross, D.A., et al., *AZD9291, an irreversible EGFR TKI, overcomes T790M-mediated resistance to EGFR inhibitors in lung cancer.* Cancer Discov, 2014. **4**(9): p. 1046-61.
 19. Janne, P.A., et al., *AZD9291 in EGFR inhibitor-resistant non-small-cell lung cancer.* N Engl J Med, 2015. **372**(18): p. 1689-99.
 20. Sharma, S.V., et al., *Epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer.* Nat Rev Cancer, 2007. **7**(3): p. 169-81.
 21. Thai, A.A., et al., *Lung cancer.* Lancet, 2021. **398**(10299): p. 535-554.
 22. Lemjabbar-Alaoui, H., et al., *Lung cancer: Biology and treatment options.*

- Biochim Biophys Acta, 2015. **1856**(2): p. 189-210.
23. Inamura, K., et al., *Is the epidermal growth factor receptor status in lung cancers reflected in clinicopathologic features?* Arch Pathol Lab Med, 2010. **134**(1): p. 66-72.
 24. Bethune, G., et al., *Epidermal growth factor receptor (EGFR) in lung cancer: an overview and update.* J Thorac Dis, 2010. **2**(1): p. 48-51.
 25. Schiller, J.H., et al., *Comparison of four chemotherapy regimens for advanced non-small-cell lung cancer.* N Engl J Med, 2002. **346**(2): p. 92-8.
 26. Li, W., et al., *Primary and acquired EGFR T790M-mutant NSCLC patients identified by routine mutation testing show different characteristics but may both respond to osimertinib treatment.* Cancer Lett, 2018. **423**: p. 9-15.
 27. Mok, T.S., et al., *Osimertinib or Platinum-Pemetrexed in EGFR T790M-Positive Lung Cancer.* N Engl J Med, 2017. **376**(7): p. 629-640.
 28. Leonetti, A., et al., *Resistance mechanisms to osimertinib in EGFR-mutated non-small cell lung cancer.* Br J Cancer, 2019. **121**(9): p. 725-737.
 29. Bai, H., et al., *Detection and clinical significance of intratumoral EGFR mutational heterogeneity in Chinese patients with advanced non-small cell lung cancer.* PLoS One, 2013. **8**(2): p. e54170.
 30. Taniguchi, K., et al., *Intratumor heterogeneity of epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer and its correlation to the response to gefitinib.* Cancer Sci, 2008. **99**(5): p. 929-35.
 31. Zhou, Q., et al., *Relative abundance of EGFR mutations predicts benefit from gefitinib treatment for advanced non-small-cell lung cancer.* J Clin Oncol, 2011. **29**(24): p. 3316-21.
 32. Wang, H., et al., *Mutation abundance affects the therapeutic efficacy of EGFR-TKI in patients with advanced lung adenocarcinoma: A retrospective analysis.* Cancer Biol Ther, 2018. **19**(8): p. 687-694.
 33. Li, X., et al., *Comprehensive Analysis of EGFR-Mutant Abundance and Its Effect on Efficacy of EGFR TKIs in Advanced NSCLC with EGFR Mutations.* J Thorac Oncol, 2017. **12**(9): p. 1388-1397.
 34. Leon, S.A., et al., *Free DNA in the serum of cancer patients and the effect of*

- therapy*. *Cancer Res*, 1977. **37**(3): p. 646-50.
35. Shapiro, B., et al., *Determination of circulating DNA levels in patients with benign or malignant gastrointestinal disease*. *Cancer*, 1983. **51**(11): p. 2116-20.
36. Zhao, Z.R., et al., *Mutation abundance affects the efficacy of EGFR tyrosine kinase inhibitor readministration in non-small-cell lung cancer with acquired resistance*. *Med Oncol*, 2014. **31**(1): p. 810.
37. Wang, X., et al., *Plasma EGFR mutation abundance affects clinical response to first-line EGFR-TKIs in patients with advanced non-small cell lung cancer*. *Ann Transl Med*, 2021. **9**(8): p. 635.
38. Ebert, E.B.F., et al., *Clearing of circulating tumour DNA predicts clinical response to first line tyrosine kinase inhibitors in advanced epidermal growth factor receptor mutated non-small cell lung cancer*. *Lung Cancer*, 2020. **141**: p. 37-43.
39. Tseng, J.S., et al., *Dynamic plasma EGFR mutation status as a predictor of EGFR-TKI efficacy in patients with EGFR-mutant lung adenocarcinoma*. *J Thorac Oncol*, 2015. **10**(4): p. 603-10.
40. Moiseenko, F.V., et al., *Monitoring of the presence of EGFR-mutated DNA during EGFR-targeted therapy may assist in the prediction of treatment outcome*. *Cancer Treat Res Commun*, 2022. **31**: p. 100524.



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ประวัติผู้เขียน

| | |
|-------------------|--|
| ชื่อ-สกุล | พรวิสันต์ สิมสีแก้ว |
| วัน เดือน ปี เกิด | 1 ตุลาคม 2533 |
| สถานที่เกิด | ประเทศไทย |
| วุฒิการศึกษา | division of medical oncology faculty of medicine king chulalongkorn memoril hospital |
| ที่อยู่ปัจจุบัน | 772/566 udelight riverfront residence RAMA III , Bangpongpan , Yanawa, Bangkok 10120 |
| ผลงานตีพิมพ์ | แพทยศาสตรบัณฑิต คณะแพทยศาสตร์มหาวิทยาลัยมหาสารคาม พ.ศ. 2558 แพทย์เพิ่มพูนทักษะปี 1 โรงพยาบาลร้อยเอ็ด พ.ศ. 2558-2559 นายแพทย์แพทย์ปฏิบัติการโรงพยาบาลพนมไพร พ.ศ.2559-2561 แพทย์ประจำบ้าน สาขามะเร็งวิทยา ภาควิชาอายุรศาสตร์ จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย พ.ศ.2561 - ปัจจุบัน |
| รางวัลที่ได้รับ | ปริญญาแพทยศาสตรบัณฑิต พ.ศ.2558 ประกาศนียบัตรแพทย์เพิ่มพูนทักษะ พ.ศ.2559 |