

การตรวจโปรตีน พี53 ในน้ำเลือด เพื่อใช้เป็นปัจจัยทำนายการตอบสนองที่ไม่ดีต่อการรักษาผู้ป่วยไทยที่เป็นโรคมะเร็งตับด้วยวิธี ทีไอซีอี

นายธีรยุทธ นัมคณิสสรณ์



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต

สาขาวิชาอายุรศาสตร์ ภาควิชาอายุรศาสตร์

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2542

ISBN 974-334-667-8

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

SERUM P53 PROTEIN AS A PREDICTIVE FACTOR FOR UNFAVORABLE RESPONSE TO
TRANSARTERIAL OILY CHEMOEMBOLIZATION (TOCE) IN THAI PATIENTS WITH
HEPATOCELLULAR CARCINOMA

Mr. Teerayuth Namkanisorn

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

Department of Medicine

Faculty of Medicine

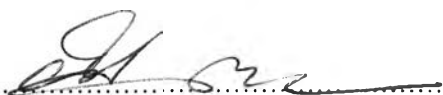
Chulalongkorn University

Academic Year 1999

ISBN 974-334-667-8

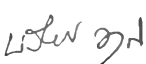
หัวข้อวิทยานิพนธ์ การตรวจโปรตีน พี53 ในน้ำเลือด เพื่อให้เป็นปัจจัยทำนายการตอบสนอง
 ที่ไม่ดีต่อการรักษาผู้ป่วยไทยที่เป็นโรคมะเร็งตับด้วยวิธี ทีไอซีอี
 โดย นาย ธีรยุทธ นัมคณิสสรณ์
 ภาควิชา อายุรศาสตร์
 อาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ นรินทร์ วรวิวัฒน์
 อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม รองศาสตราจารย์ แพทย์หญิง นวพรรณ จารุรักษ์

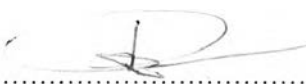
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยรับนี้เป็นส่วนหนึ่ง
 ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

.....  คณบดีคณะแพทยศาสตร์
 (ศาสตราจารย์ นายแพทย์ ภิรมย์ กมลรัตนกุล)

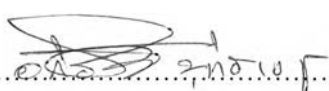
คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....  ประธานกรรมการ
 (ศาสตราจารย์ นายแพทย์ กัมมันต์ พันธุมจินดา)

.....  อาจารย์ที่ปรึกษา
 (รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ นรินทร์ วรวิวัฒน์)

.....  อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
 (รองศาสตราจารย์ แพทย์หญิง นวพรรณ จารุรักษ์)

.....  กรรมการ
 (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ สมพงษ์ สุวรรณวลัยกร)

.....  กรรมการ
 (รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ อภิวัฒน์ มุทธีรางกูร)

ธีรยุทธ นัมคณิศรณ : การตรวจโปรตีน p53 ในน้ำเลือด เพื่อใช้เป็นปัจจัยทำนายการตอบสนองที่ไม่ดีต่อการรักษาผู้ป่วยไทยที่เป็นโรคมะเร็งตับด้วยวิธี ที่ไอซีอี (SERUM P53 PROTEIN AS A PREDICTIVE FACTOR FOR UNFAVORABLE RESPONSE TO TRANSARTERIAL OILY CHEMOEMBOLIZATION (TOCE) IN THAI PATIENTS WITH HEPATOCELLULAR CARCINOMA) อ.ที่ปรึกษา : รศ. นพ. นรินทร์ วรวิมล, อ. ที่ปรึกษาร่วม : รศ. พญ. นวพรรณ จารุรักษ์. 72 หน้า. ISBN 974-334-667-8 .

วัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาโปรตีน p53 จากน้ำเลือด ในการทำนายการตอบสนองต่อการรักษาของผู้ป่วยมะเร็งตับที่ได้รับการรักษาด้วยวิธี ที่ไอซีอี

วิธีดำเนินการ ประชากรที่ศึกษา คือ ผู้ป่วยไทยที่เป็นโรคมะเร็งตับที่ได้รับการรักษาด้วยวิธี ที่ไอซีอีที่มารับการรักษาที่หน่วยเอ็กซ์เรย์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ระหว่างวันที่ 1 มกราคม พ.ศ.2542 ถึง 31 ธันวาคม พ.ศ. 2542 ใช้ขนาดตัวอย่าง 38 ราย จากการคาดหวังว่าการทดสอบมีความไวอย่างน้อย 90% และมีความคาดเคลื่อนไม่เกิน 15% เก็บข้อมูลโดยการเจาะน้ำเลือดจากผู้ป่วยมะเร็งตับที่ได้รับการทำการรักษาด้วยวิธี ที่ไอซีอี ไปทำการตรวจหาโปรตีน p53 โดยวิธี ELISA โดยรายงานผลเป็นหน่วยฟิโคกรัมต่อมิลลิลิตร แล้วนำไปวิเคราะห์ข้อมูลทางคลินิกในการการตอบสนองต่อการรักษาด้วยวิธี ที่ไอซีอี การตรวจโปรตีน p53 จากน้ำเลือดทำโดยผู้ที่ไม่ทราบผลการวินิจฉัยโรค แล้วนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติ โดยนำข้อมูลที่ได้มาค่าความไว (sensitivity) ความจำเพาะ (specificity) ค่าทำนายผลบวก (positive predictive value) และค่าทำนายผลลบ (negative predictive value) และเปรียบเทียบหาความแตกต่างในกลุ่มที่พบและไม่พบโปรตีน p53 ในน้ำเลือด

ผลการศึกษา ผู้ป่วยมะเร็งตับจำนวน 45 ราย แบ่งเป็นชาย 32 ราย หญิง 13 ราย อัตราส่วนระหว่างชายต่อหญิงเท่ากับ 2.45 ต่อ 1 มีค่ามัธยฐานของอายุเท่ากับ 59 ปี ค่าเฉลี่ยของอายุเท่ากับ 56.42 ปี สปีชของอายุ 31-74 ปี ปัจจัยเสี่ยงที่พบประกอบด้วย การติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี 24 ราย (ร้อยละ 53.3) ไวรัสตับอักเสเบซี 6 ราย (ร้อยละ 13.3) และประวัติดื่มแอลกอฮอล์ 12 ราย (ร้อยละ 26.7) และพบภาวะตับแข็งร่วมด้วย 45 ราย (ร้อยละ 62.2) ระยะของโรคมะเร็งตับแบ่งตามระบบ TNM ประกอบด้วยระยะ 2 ร้อยละ 4.4 ระยะ 3A ร้อยละ 42.2 และระยะ 4A ร้อยละ 53.3 คิดเป็นระยะ Okuda 1, 2, 3 เท่ากับร้อยละ 40, 55.6, 4.4 ตามลำดับ ค่ามัธยฐาน alpha-fetoprotein เท่ากับ 351.95 IU/ml ฟิสัย 1.6 ถึง 400,000 IU/ml การตรวจหาโปรตีน p53 ในน้ำเลือดก่อนทำการรักษาด้วยวิธีที่ไอซีอี สามารถเก็บและตรวจหาโปรตีน p53 ในน้ำเลือดได้จำนวน 41 ราย พบว่ามีโปรตีน p53 ในน้ำเลือดจำนวน 10 ราย คิดเป็นร้อยละ 24.4 ค่าที่ตรวจพบอยู่ระหว่าง 5 - 1147 pg/ml และได้ทำการวัดการตอบสนองของการรักษาด้วยวิธีที่ไอซีอีจำนวน 41 ราย พบมีการตอบสนองร้อยละ 46.3 และไม่ตอบสนองร้อยละ 53.7 และเมื่อได้ประเมินผลการศึกษาพบมีผู้ป่วยจำนวน 37 ราย ได้รับการตรวจโปรตีน p53 ในน้ำเลือดและมีการวัดการตอบสนองต่อการรักษาด้วยที่ไอซีอี พบว่าผู้ป่วยที่ตรวจพบโปรตีน p53 ในน้ำเลือดจะมีการตอบสนองต่อการรักษา ร้อยละ 33.3 ซึ่งน้อยกว่าผู้ป่วยที่ตรวจไม่พบโปรตีน p53 ในน้ำเลือดมีการตอบสนองร้อยละ 50 อย่างไรก็ตามเมื่อทำการทดสอบด้วยวิธี Fisher's Exact พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p = 0.462) โดยการตรวจหาโปรตีน p53 เพื่อบอกการตอบสนองต่อการรักษาด้วยที่ไอซีอี พบว่ามีความไว (sensitivity) ร้อยละ 30.0 ความจำเพาะ (specificity) ร้อยละ 82.3 และค่าทำนายผลบวก (positive predictive value) ร้อยละ 66.7 และค่าทำนายผลลบ (negative predictive value) ร้อยละ 50)

สรุป 1.การตรวจหาโปรตีน p53 ในน้ำเลือดด้วยวิธี ELISA พบว่ามีความสามารถในการบอกการตอบสนองต่อการรักษาผู้ป่วยมะเร็งตับด้วยวิธีที่ไอซีอี โดยมีความไว (sensitivity) ร้อยละ 30 ความจำเพาะ (specificity) ร้อยละ 82.3 ค่าทำนายผลบวก (positive predictive value) ร้อยละ 66.7 และค่าทำนายผลลบ (negative predictive value) ร้อยละ 50

2.การใช้การตรวจโปรตีน p53 ในน้ำเลือดด้วยวิธี ELISA ยังไม่สามารถบอกได้ว่าเป็นตัวทำนายการตอบสนองที่ไม่ดีต่อการรักษา มะเร็งตับด้วยวิธีที่ไอซีอี อย่างไรก็ตามตีความได้ว่าผู้ป่วยที่โปรตีน p53 ในน้ำเลือดจะพบการตอบสนองที่น้อยกว่ากลุ่มที่ตรวจไม่พบโปรตีน p53 ในน้ำเลือด

ภาควิชา...อายุรศาสตร์..... ลายมือชื่อนิสิต.....
สาขาวิชา...อายุรศาสตร์..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....
ปีการศึกษา.....2542..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

4175220330 : MAJOR MEDICINE (ONCOLOGY)

KEY WORD : HEPATOCELLULAR CARCINOMA / HCC / SERUM P53 PROTEIN / CHEMOEMBOLIZATION / TOCE

TEERAYUTH NAMKANISORN : SERUM P53 PROTEIN AS A PREDICTIVE FACTOR FOR UNFAVORABLE RESPONSE TO TRANSARTERIAL OILY CHEMOEMBOLIZATION (TOCE) IN THAI PATIENTS WITH HEPATOCELLULAR CARCINOMA. THESIS ADVISOR : ASSO. PROF. NARIN VORAVUD, M.D., THESIS COADVISOR : ASSO. PROF. NAVAPUN CHARURUKS, M.D 72 PP. ISBN 974-334-667-8 .

Objective To study serum p53 protein as a predictive for unfavorable response to transarterial oily chemoembolization (TOCE) in patients with hepatocellular carcinoma

Methods The populations consisted of new cases of hepatocellular carcinoma who were treated with transarterial oily chemoembolization at Radiology Intervention Unit, Department of Radiology, King Chulalongkorn Memorial Hospital during the 1st January 1999 and the 31st December 1999. With the expectation that the test would have sensitivity of at least 90 % and on least than 15 % error, the sample size was 38. Serum was kept prior the chemoembolization. Serum p53 protein was blindly measured by ELISA method in picogram per milliliter. Data was analysed by statistical methodology to calculate sensitivity, specificity, positive and negative predictive values.

Results : There were 45 hepatocellular carcinoma patients enrolled into this study. Thirty-two were male and thirteen were female. Male per female ratio was 2.45: 1 .The median of age was 59 years and mean of age was 56.42 years.(Range 31-74 years). Risk factors consisted of hepatitis B virus in 24 cases (53.3%), hepatitis C 6 cases (13.3%) and history of alcoholic consumption 12 cases (26.7%). Twenty-eight cases (62.2%) were associated with cirrhosis. TNM stagings were stage II 4.4%, stage IIIA 42.2 %, and stage IVA 53.3%. Okuda stagings were stage I 40%, stage II 55.6%, and stage III 4.4%. Median serum alpha-fetoprotein level was 351.95 IU/ml. (range 1.6-400000 IU/ml). Forty-one of pre-chemoembolization p53 serum were kept and serum p53 protein was detected in10 cases (24.4%). The ranges of p53 protein were 5-1147 pg/ml. Forty-one cases were evaluable for tumor response to TOCE and achieved a partial response of 41.46%. Thirty-seven patients had information both serum p53 and the response of the treatment. Patients who had a positive p53 test had a response rate only 33.3% whereas the patients with negative p53 test had a response rate of 50%. How ever, the p-value was 0.462 by Fisher's exact test. The serum p53 protein test has sensitivity of 30.0%, specificity of 82.3%. positive predictive value of 66.7 % and negative predictive value 50%.

Conclusions

1.The serum p53 protein by ELISA test to determine the response of chemoembolization has 30.0 % of sensitivity, 82.3 % of specificity, 66.7 % of positive predictive value and 50 % negative predictive value.

2.Serum p53 protein, which is measured by ELISA, cannot be used as a predictive factor for unfavorable response to transarterial oily chemoembolization. However, there is a trend of lower response rate to chemoembolization if the serum p53 test is positive.

ภาควิชา...อายุรศาสตร์.....
สาขาวิชา...อายุรศาสตร์.....
ปีการศึกษา.....๒๕๔๒.....

ลายมือชื่อนิสิต.....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....



กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณผู้มีรายนามดังต่อไปนี้ที่ได้ช่วยเหลือให้การวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

1. รองศาสตราจารย์นายแพทย์นรินทร์ วรวุฒิ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ให้ความรู้และแนะนำแก่ผู้วิจัยมาตลอด
2. รองศาสตราจารย์แพทย์หญิงนพพรณ จารุรักษ์อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ได้ให้คำแนะนำและข้อคิดเห็นในการวิจัย และช่วยเหลือในการตรวจหาโปรตีน p53 ในน้ำเลือด
3. อาจารย์นายแพทย์อรรควัชร จันทร์ฉาย อาจารย์ประจำภาควิชารังสีวิทยาที่ช่วยให้คำแนะนำและข้อคิดเห็นต่าง ๆ อีกทั้งช่วยในการอ่านผลเอกซเรย์ในการรักษาผู้ป่วยมะเร็งตับด้วยวิธีที่ไอซีอี
4. อาจารย์นายแพทย์พิสิฐ ตั้งกิจวานิชย์ ที่ช่วยในการเก็บรวบรวมน้ำเลือดและข้อมูลทางด้านคลินิกจากหน่วยทางเดินอาหาร ภาควิชาอายุรศาสตร์
5. รองศาสตราจารย์นายแพทย์อภิวัฒน์ มุทิรางกูร ที่ให้คำแนะนำและทบทวนความรู้ด้านอนุชีวะวิทยา
6. นางสาวรัตนา ฉัตรศานติกุล ที่ช่วยในการตรวจวัดระดับ p53 ด้วยวิธี ELISA
7. แพทย์ประจำบ้านและแพทย์ประจำบ้านต่อยอดสาขาอายุรกรรมมะเร็งทุกท่าน
8. นายธนกฤต ตะนูลานนท์ ที่ช่วยในการจัดพิมพ์รูปภาพและเจ้าหน้าที่ในหน่วยอายุรกรรมมะเร็งทุกท่านที่ช่วยในการให้ความร่วมมือในการเก็บรวบรวมข้อมูล
9. ผู้ป่วยทุกท่านที่อนุญาตให้ใช้ตัวอย่างในการวิจัย
10. สาขาวิชาระบบทางเดินอาหาร ภาควิชาอายุรศาสตร์ที่อนุญาตให้ใช้ตู้เย็น -70 องศาเซลเซียส
11. คณะกรรมการทุนวิจัยรัชดาภิเษกสมโภช คณะแพทยศาสตร์ สนับสนุนทุนวิจัยในการตรวจหาโปรตีน p53 ในน้ำเลือด

ท้ายสุดผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณบิดา-มารดา และขอบคุณภรรยา ที่เป็นผู้ที่สนับสนุนช่วยเหลือและให้กำลังใจแก่ผู้วิจัย เสมอมาจนสำเร็จการศึกษา

สารบัญ

| | หน้า |
|--------------------------------------|------|
| บทคัดย่อภาษาไทย | ง |
| บทคัดย่อภาษาอังกฤษ | จ |
| กิตติกรรมประกาศ | ฉ |
| สารบัญ | ช |
| สารบัญตาราง | ซ |
| สารบัญรูปภาพ | ฌ |
| คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ | ญ |
| บทที่ | |
| 1. บทนำ | 1 |
| 2. ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง | 7. |
| 3. วิธีดำเนินการ | 22 |
| 4. ผลการศึกษา | 29 |
| 5. อภิปรายผลการศึกษา | 41 |
| 6. สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ | 44 |
| รายการอ้างอิง | 46 |
| ภาคผนวก | 54 |
| ประวัติผู้ทำวิทยานิพนธ์ | 72 |

สารบัญตาราง

| | หน้า |
|-------------|---|
| ตารางที่ 1 | แสดงร้อยละของความผิดปกติของโปรตีน p53 ในมะเร็งตับ HCC..... 3 |
| ตารางที่ 2 | แสดงหน้าที่ทางด้าน Biochemical และ biology ของโปรตีน p53.....11 |
| ตารางที่ 3 | แสดงภาวะแทรกซ้อนที่เกิดขึ้นหลังการรักษาด้วยวิธีที่ไอซีอี.....19 |
| ตารางที่ 4 | แสดงการแบ่งระยะของของโรคมะเร็งตับชนิด HCC อาศัยการแบ่งตามระบบของ TNM.....26 |
| ตารางที่ 5 | แสดงการแบ่งระยะตาม Okuda.....27 |
| ตารางที่ 6 | แสดงจำนวนผู้ป่วยแยกตามเกณฑ์ในการวินิจฉัยมะเร็งตับชนิด HCC.....30 |
| ตารางที่ 7 | แสดงจำนวนผู้ป่วยแยกตามกลุ่มอายุ.....31 |
| ตารางที่ 8 | แสดงลักษณะต่าง ๆ ของผู้ป่วยมะเร็งตับชนิด HCC (n = 45).....31 |
| ตารางที่ 9 | แสดงปัจจัยเสี่ยงที่ตรวจพบผู้ป่วยมะเร็งตับชนิด HCC จำนวน 45 ราย.....32 |
| ตารางที่ 10 | แสดงลักษณะทางเอ็กซ์เรย์ช่องท้องของผู้ป่วยมะเร็งตับชนิด HCC..... 33 |
| ตารางที่ 11 | แสดงจำนวนผู้ป่วยแยกตามระยะ TNM.....34 |
| ตารางที่ 12 | แสดงจำนวนผู้ป่วยแยกตามระยะ Okuda.....34 |
| ตารางที่ 13 | แสดงจำนวนผู้ป่วยแยกตามระดับของอัลฟาฟีโตโปรตีนก่อนการรักษา.....35 |
| ตารางที่ 14 | แสดงจำนวนผู้ป่วยแยกตามการตรวจหาโปรตีนที่ตรวจพบในน้ำเลือดด้วยวิธี ELISA.....36 |
| ตารางที่ 15 | แสดงรายละเอียดของผู้ป่วยที่ตรวจพบโปรตีน p53 ในน้ำเลือด.....37 |
| ตารางที่ 16 | แสดงจำนวนผู้ป่วยแยกตามการตอบสนองต่อการรักษาแยกตาม criteria ในการวินิจฉัย จำนวน และร้อยละของผู้ป่วย.....38 |
| ตารางที่ 17 | แสดงผลการรักษาผู้ป่วยมะเร็งตับด้วยวิธีที่ไอซีอี.....39 |
| ตารางที่ 18 | แสดงค่าสถิติที่ Fisher's Exact ที่ใช้คำนวณ.....40 |

สารบัญรูปภาพ

| | หน้า |
|----------|--|
| รูปที่ 1 | แสดงยีน p53 บนแกนสั้นของโครโมโซมคู่ที่ 17.....13 |
| รูปที่ 2 | แสดงยีน p53 แบ่งเป็น 11 exons13 |
| รูปที่ 3 | แสดง p53 ประกอบด้วย domain ที่สำคัญ 5 domain.....14 |
| รูปที่ 4 | แสดงตำแหน่งที่กลายพันธุ์ของยีน p53.....14 |
| รูปที่ 5 | แสดงหน้าที่ของ p53.....15 |
| รูปที่ 6 | แสดง DNA damage เริ่มนำสัญญาณเป็นจากการกระตุ้นโปรตีน p53.....16 |
| รูปที่ 7 | แสดง Test principle ของการตรวจหาโปรตีน p53 ด้วยวิธี ELISA.....64 |

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

| | |
|------------|---|
| C | Degree Celsius |
| CT scan | Computer tomography scan |
| ELISA | Enzyme linked immunosorbent assay |
| g | gram |
| HBV | Hepatitis B virus |
| HCC | Hepatocellular carcinoma |
| HCV | Hepatitis C virus |
| m-p53 | mutant-p53 |
| mg/dl | milligram per deciliter |
| IU/ml | International unit per per milliliter |
| MRI | Magnetic resonance imaging |
| pg | picogram |
| PV+ | Positive predictive value |
| PV - | Negative predictive value |
| <i>P53</i> | Gene <i>p53</i> |
| p53 | Protein p53 |
| TNM | Tumor Node Metastasis |
| TOCE | Transarterial oily chemoembolization |
| UICC | The Union Internationale Control Cancer |
| VEGF | Vascular endothelial growth factor |
| wt-p53 | wild type p53 |