

อุบัติเหตุการณ์และปัจจัยที่ส่งผลต่อการกระจายของมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กไปสมองในคนไข้ที่มีการ
กลายพันธุ์ของอีจีเอฟอาร์



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาอายุรศาสตร์ ภาควิชาอายุรศาสตร์
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2562
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Prevalence and Clinicopathological Factors of Brain Metastasis in *EGFR*-mutant Non-Small Cell Lung Cancer



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 2019

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	อุบัติการณ์และปัจจัยที่ส่งผลต่อการกระจายของมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กไปสมองในคนไข้ที่มีการกลายพันธุ์ของอีจีเอฟอาร์
โดย	น.ส.รัตนาวดี เตียวเจริญ
สาขาวิชา	อายุรศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	แพทย์หญิงปิยะดา สิทธิเดชไพบูลย์

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

..... คณะบดีคณะแพทยศาสตร์
(ศาสตราจารย์ นายแพทย์สุทธิพงศ์ วัชรสินธุ)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์กมล แก้วกิติณรงค์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(แพทย์หญิงปิยะดา สิทธิเดชไพบูลย์)

..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์พิเศษ แพทย์หญิงสติมัย อนิวรรณ)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(พันโท นายแพทย์ไฉนรัฐ ประสงค์สุข)

รัตนาวดี เตียวเจริญ : อุบัติการณ์และปัจจัยที่ส่งผลต่อการกระจายของมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กไป
สมองในคนไข้ที่มีการกลายพันธุ์ของอีจีเอฟอาร์. (Prevalence and Clinicopathological Factors
of Brain Metastasis in *EGFR*-mutant Non-Small Cell Lung Cancer) อ.ที่ปรึกษาหลัก : พญ.ปิ
ยะดา สิทธิเดชไพบูลย์

ที่มา: การกระจายของมะเร็งไปสมองยังคงเป็นปัญหาสำคัญของผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กที่มี
การกลายพันธุ์ของ Epidermal Growth Factor Receptor (*EGFR*)

วัตถุประสงค์: เพื่อหาอุบัติการณ์และปัจจัยที่ส่งผลต่อการกระจายของมะเร็งไปสมองในผู้ป่วยกลุ่มนี้

วิธีการศึกษา: การศึกษาแบบย้อนหลัง หาปัจจัยทางคลินิก พยาธิวิทยา และตรวจหาตัวบ่งชี้ทาง
ชีวภาพ (E-cadherin และ vimentin) จากชิ้นเนื้อของผู้ป่วย วิเคราะห์หาปัจจัยที่สัมพันธ์ต่อการเกิดมะเร็ง
กระจายไปสมอง

ผลการศึกษา: จากผู้ป่วย 449 ราย ตรวจพบ *EGFR* mutation 67.7% และตรวจพบมะเร็งกระจาย
ไปสมอง 49% ผลจาก multivariate analysis พบว่าอายุน้อยกว่า 60 ปี และมีอวัยวะที่โรคกระจายไป ≥ 3
ตำแหน่งเป็นปัจจัยที่สัมพันธ์กับการเกิดมะเร็งกระจายไปสมองตั้งแต่แรก ในขณะที่อายุน้อย เป็นเพียงปัจจัยเดียว
ที่สัมพันธ์กับการเกิดมะเร็งกระจายไปสมองในภายหลัง vimentin ย้อมติดในกลุ่มผู้ป่วยที่มีมะเร็งกระจายไปสมอง
มากกว่าผู้ป่วยที่ไม่มีมะเร็งกระจายไปสมอง (67.4% และ 32.6% ตามลำดับ, OR 2.88, 95% CI 1.35 – 6.16;
p= 0.006) และบอกการพยากรณ์โรคที่แย่กว่าในผู้ป่วยที่มี *EGFR* mutation

สรุปผลการศึกษา: อุตบัติการณ์ของมะเร็งกระจายไปสมองในผู้ป่วยมะเร็งปอดที่มี *EGFR* mutation
เท่ากับ 49% ผู้ป่วยอายุน้อยและมีโรคกระจายไปหลายอวัยวะมีโอกาสเกิดมะเร็งกระจายไปสมองได้สูง vimentin
สามารถเอามาใช้คาดการณ์การเกิดมะเร็งกระจายไปสมองรวมทั้งแสดงให้เห็นถึงการพยากรณ์โรคที่แย่กว่า

สาขาวิชา อายุรศาสตร์
ปีการศึกษา 2562

ลายมือชื่อนิสิต
ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก

6174069330 : MAJOR MEDICINE

KEYWORD: lung cancer, brain metastasis, EGFR mutation, EMT, vimentin

Rattanawadee Teocharoen : Prevalence and Clinicopathological Factors of Brain Metastasis in *EGFR*-mutant Non-Small Cell Lung Cancer. Advisor: PIYADA SITTHIDEATPHAIBOON

Background: Despite improvements in survival for advanced *EGFR*-mutant non-small cell lung cancer, brain metastasis (BM) remains a major problem and poor outcome.

Objectives: To determine prevalence of BM and factors predicting BM in these patients

Methods: We retrospectively analyzed the clinicopathologic factors and vimentin or E-cadherin expression in correlation with BM.

Results: A total of 449 patients were enrolled and 67.7% mutated-*EGFRs* patients were found. Of these, 49% experience BM. In multivariate analysis, patients who had initial BM were associated with aged <60 years and ≥ 3 metastatic sites whereas only age <60 years was associated with subsequent BM. Moreover, high vimentin expression also predicted overall BM development (67.4% in BM vs. 32.6% in no BM, respectively, OR 2.88, 95% CI, 1.35 – 6.16; $p=0.006$) and conferred worse survival in *EGFR* mutation patients.

Conclusion: Incidence of BM in *EGFR*-mutant NSCLC was 49%. Younger patients who had high disease burden were more likely to develop BM. Vimentin served as biomarker predicting BM and poor prognostic factor in these patients.

Field of Study: Medicine

Student's Signature

Academic Year: 2019

Advisor's Signature

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ อ.พญ.ปิยะดา สิทธิเดชไพบูลย์ อาจารย์ที่ปรึกษาหลักของผู้วิจัย รวมทั้งคณาจารย์และเจ้าหน้าที่ทุกท่านในหน่วยมะเร็งวิทยาและภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ขอบพระคุณ อ.นพ.คมกฤต เรืองฤทธิ์ชาญกุล และเจ้าหน้าที่หน่วยพยาธิวิทยา สำหรับคำปรึกษาด้านพยาธิวิทยา

ขอบพระคุณ Prof. Stephen Kerr สำหรับคำปรึกษาด้านสถิติ

ขอบพระคุณ ทนุรัชดาภิเษกสมโภช ที่กรุณาสนับสนุนเงินทุนในการวิจัย

และขอบพระคุณครอบครัวและเพื่อนแพทย์ที่ให้การสนับสนุนการเรียนมาโดยตลอด

รัตนาวดี เตียวเจริญ



สารบัญ

	หน้า
.....	ค
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ค
.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ง
กิตติกรรมประกาศ.....	จ
สารบัญ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ฅ
สารบัญรูปภาพ.....	ญ
บทที่ 1	1
บทนำ.....	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย.....	1
1.2 คำถามของการวิจัย	2
1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	2
1.4 สมมติฐาน.....	2
1.5 ข้อตกลงเบื้องต้น.....	3
1.6 กรอบแนวความคิดในการวิจัย.....	3
1.7 การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติที่จะใช้ในการวิจัย.....	3
1.8 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย.....	6
1.9 อุปสรรคที่อาจเกิดขึ้นและแนวทางการแก้ไข	7
บทที่ 2	8
ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง	8

บทที่ 3	18
วิธีดำเนินการวิจัย	18
3.1 รูปแบบการวิจัย	18
3.2 ระเบียบวิธีการวิจัย.....	18
3.3 ขนาดตัวอย่าง	19
3.4 วิธีดำเนินการวิจัย.....	20
3.5 การรวบรวมข้อมูล.....	23
3.6 ข้อจำกัดในการวิจัย	23
3.7 การเปิดเผยข้อมูลแสดงตัวตนของผู้ป่วย.....	23
3.8 การวิเคราะห์ข้อมูลและสถิติที่ใช้วิเคราะห์	24
บทที่ 4	27
ผลการวิเคราะห์ข้อมูล	27
4.1 ประชากรที่นำมาศึกษาและอุบัติการณ์มะเร็งปอดกระจายไปสมอง	27
4.2 ข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วย	28
4.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดมะเร็งกระจายไปสมองในผู้ป่วยทั้งหมดที่ศึกษา (N=449).....	31
4.4 ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดมะเร็งกระจายไปสมองในผู้ป่วยที่มีการกลายพันธุ์ของ <i>EGFR</i> (N=304)	32
4.5 การรักษาที่ผู้ป่วยได้รับและผลต่อการเกิด subsequent BM (N=231).....	34
4.6 ผลการวิเคราะห์ตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ EMT กับการเกิดมะเร็งกระจายไปสมอง (N=190).....	36
4.7 ข้อมูลการรอดชีวิตของผู้ป่วยที่มีมะเร็งกระจายไปสมอง	39
4.8 การตรวจพบ Vimentin และผลต่ออัตราการรอดชีวิตของผู้ป่วย	40
บทที่ 5	42
อภิปราย สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ	42
5.1 อภิปรายผล.....	42

5.2 สรุปผลการวิจัย.....	45
5.3 ข้อเด่นของการศึกษา.....	46
5.4 ข้อด้อยของการศึกษา.....	46
5.5 ข้อเสนอแนะ	47
ภาคผนวก ก.....	48
แบบบันทึกข้อมูล.....	48
ภาคผนวก ข.....	54
ตารางผนวกที่ 1 ข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยมะเร็งปอดที่มีการกลายพันธุ์ของ <i>EGFR</i> เมื่อเปรียบเทียบระหว่างไม่มีBM, initial BM และ subsequent BM (N=304).....	54
ตารางผนวกที่ 2 Univariate and multivariate regression analysis ของปัจจัยที่ส่งผลต่อการเกิดมะเร็งกระจายไปสมองในผู้ป่วยทั้งหมด (N=449).....	56
ตารางผนวกที่ 3 Univariate and multivariate regression analysis ของปัจจัยที่ทำให้เกิดมะเร็งกระจายไปสมองตั้งแต่เริ่มแรก และเกิดขึ้นภายหลัง ในผู้ป่วยทั้งหมด (N=449).....	57
บรรณานุกรม.....	58
ประวัติผู้เขียน.....	66

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1	ระยะของก้อนมะเร็งปฐมภูมิ (T) จำนวนต่อมน้ำเหลือง (N) และการกระจายไปอวัยวะอื่น (M) ตาม American Joint Committee on Cancer version 8 (AJCC 8 th edition).....	4
ตารางที่ 2	ระดับความสามารถในการใช้ชีวิตประจำวัน ตาม Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status (ECOG PS)	5
ตารางที่ 3	ตัวแปรที่ใช้คำนวณหาขนาดตัวอย่างของคำถามรอง.....	20
ตารางที่ 4	ข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยมะเร็งปอดทั้งหมดในการศึกษา เมื่อเปรียบเทียบระหว่างไม่มีBM, initial BM และ subsequent BM (N=449).....	28
ตารางที่ 5	ปัจจัยที่มีผลต่อการกระจายของมะเร็งปอดไปสมองในผู้ป่วยที่มีการกลายพันธุ์ของEGFR เมื่อวิเคราะห์ถดถอยเชิงเส้นเดียว (Regression analysis) ของตัวแปรเดียว (univariate) และหลายตัวแปร (multivariate) (N=304).....	33
ตารางที่ 6	ปัจจัยที่มีผลต่อการกระจายของมะเร็งปอดไปสมองในผู้ป่วยที่มีการกลายพันธุ์ของEGFR เมื่อวิเคราะห์แยกตามระยะเวลาการเกิดมะเร็งกระจายไปสมอง	33
ตารางที่ 7	ความสัมพันธ์ระหว่างการรักษาที่ผู้ป่วยได้รับกับการเกิด subsequent BM ในผู้ป่วยที่มีการกลายพันธุ์ของ EGFR (เมื่อตัดผู้ป่วย initial BM ออกไป) (N=231).....	35
ตารางที่ 8	ผลการตรวจ Vimentin จำแนกตาม EGFR status และ BM status	37
ตารางที่ 9	ความสัมพันธ์ระหว่างการตรวจพบ Vimentin และการเกิดมะเร็งกระจายไปสมองในผู้ป่วยที่มีการกลายพันธุ์ของ EGFR (N=121).....	37

สารบัญรูปภาพ

	หน้า
รูปที่ 1 กรอบความคิดในการวิจัย	3
รูปที่ 2 กลไกการส่งสัญญาณและผลที่เกิดขึ้นหลังจากมีการกระตุ้น <i>EGFR</i>	9
รูปที่ 3 อุบัติการณ์การกลายพันธุ์ของ <i>EGFR</i> ในแต่ละ exon.....	10
รูปที่ 4 กระบวนการเกิด Epithelial-Mesenchymal Transition(EMT).....	15
รูปที่ 5 ตัวอย่างการประเมินผลการยับยั้ง E-cadherin และ Vimentin	26
รูปที่ 6 แผนผังผู้ป่วยที่อยู่ในการศึกษา (Flow of the study).....	27
รูปที่ 7 อุบัติการณ์ของมะเร็งกระจายไปสมอง ตาม <i>EGFR</i> status.....	30
รูปที่ 8 กราฟแสดงอุบัติการณ์สะสมของ subsequent BM เมื่อให้การตาย (death) เป็น competing risk ระหว่างผู้ป่วย <i>EGFR</i> mutation และ <i>EGFR</i> wild type.....	31
รูปที่ 9 กราฟ Kaplan-Meier แสดงอัตราการรอดชีวิตของผู้ป่วย แบ่งตามลักษณะการกลายพันธุ์ของ <i>EGFR</i> และลักษณะของมะเร็งกระจายไปสมอง (A-E) และตามการยับยั้ง vimentin (F-H).....	41

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย

มะเร็งปอดเป็นสาเหตุการเสียชีวิตอันดับหนึ่งในบรรดาผู้ป่วยมะเร็งทั้งหมดของประชากรไทยและระดับโลก[1] ในปี พ.ศ. 2561 พบอุบัติการณ์ผู้ป่วยมะเร็งปอดรายใหม่ทั่วโลก 2.1 ล้านคน[2] สำหรับประเทศไทยพบอุบัติการณ์โรคมะเร็งปอดบ่อยเป็นอันดับ 2 ในเพศชายรองจากโรคมะเร็งตับ มีอุบัติการณ์เป็น 22.7 คนต่อประชากร 100,000 คน และพบบ่อยเป็นอันดับ 4 ในเพศหญิงรองจากมะเร็งเต้านม มะเร็งปากมดลูก และมะเร็งตับ โดยพบอุบัติการณ์เป็น 10.1 คนต่อประชากร 100,000 คน

ความก้าวหน้าทางการแพทย์ในปัจจุบันทำให้สามารถตรวจพบผู้ป่วยมะเร็งปอดตั้งแต่ระยะเริ่มแรกได้เพิ่มขึ้น แต่ผู้ป่วยส่วนใหญ่มักวินิจฉัยได้เมื่อโรคเป็นระยะลุกลามซึ่งไม่สามารถรักษาให้หายขาดได้ มะเร็งปอดจึงยังคงเป็นสาเหตุการเสียชีวิตที่สำคัญ ในปี พ.ศ.2555 มีผู้เสียชีวิตจากมะเร็งปอดประมาณ 1.6 ล้านคนทั่วโลก หรือคิดเป็น 19.4% ของการเสียชีวิตจากมะเร็งทั้งหมด

มะเร็งปอดแบ่งได้เป็นสองชนิด คือ ชนิดเซลล์เล็ก (small cell lung cancer) และชนิดเซลล์ไม่เล็ก (non-small cell lung cancer, NSCLC) ซึ่งคิดเป็น 85% ของมะเร็งปอดทั้งหมด [3-5] เมื่อแบ่งตามระยะของโรค สามารถแบ่งได้เป็นระยะที่ยังไม่มีการแพร่กระจายไปที่อวัยวะอื่น ผู้ป่วยจึงมีโอกาสรักษาหายขาดได้ ต่างจากระยะที่โรคมีการแพร่กระจายไปยังอวัยวะอื่นแล้ว จึงไม่สามารถรักษาให้หายขาด การรักษาผู้ป่วยมะเร็งปอดระยะแพร่กระจายจึงมีเป้าหมายเพื่อยืดอายุของผู้ป่วยให้นานที่สุด จากค่าเฉลี่ยพบว่าในระยะแพร่กระจาย ผู้ป่วยมีอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยประมาณ 10 ถึง 12 เดือน [6, 7] และอาจสูงขึ้นไปเป็น 21 ถึง 38 เดือน [8, 9] ในกลุ่มที่มีการกลายพันธุ์ของอีจีเอฟอาร์ (EGFR-mutant NSCLC) เพราะสามารถรักษาด้วยยามุ่งเป้าที่ให้ผลการรักษาดีกว่ายาเคมีบำบัด ในผู้ป่วยเอเชียรวมทั้งไทยตรวจพบการกลายพันธุ์ของ EGFR ประมาณ 50-60% [8, 10] ซึ่งสูงกว่ายุโรปที่พบเพียงประมาณ 20% [11]

ปัจจุบันการกระจายของมะเร็งปอดไปสมองพบได้มากขึ้น ประมาณ 40% ของผู้ป่วยที่มีการกลายพันธุ์ของ EGFR ต่างจากผู้ป่วยที่ไม่มีการกลายพันธุ์ของ EGFR (EGFR wild type) ที่พบมะเร็งกระจายไปสมองเพียงประมาณ 20% [12-14] ผู้ป่วยที่มีมะเร็งกระจายไปสมองมีอัตราการรอดชีวิตและคุณภาพชีวิตที่แย่ลงจากความผิดปกติของระบบประสาทซึ่งเป็นผลทั้งจากตัวโรคและจากผลข้างเคียงของการรักษา เช่น การผ่าตัด หรือฉายแสง การมีมะเร็งกระจายไปสมองจึงเป็นปัญหาสำคัญในผู้ป่วยมะเร็งปอดที่มีการกลายพันธุ์ของ EGFR

ปัจจัยที่พยากรณ์การเกิดมะเร็งกระจายไปสมองยังมีข้อมูลน้อยและแต่ละงานวิจัยก่อนหน้านี้ ข้อมูลยังไม่สอดคล้องกัน การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อหาอุบัติการณ์และปัจจัยที่มีผลต่อการ

กระจายของมะเร็งปอดไปสมองในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กที่มีการกลายพันธุ์ของ *EGFR* รวมทั้งหาตัวชี้วัดทางชีวภาพซึ่งอาจจะช่วยในการคัดกรองและรักษาผู้ป่วยได้ดีขึ้น

1.2 คำถามของการวิจัย

คำถาม (หลัก): อุบัติการณ์ของมะเร็งปอดกระจายไปสมองคือเท่าไร และชนิดของการกลายพันธุ์ของ *EGFR*, เพศ, อายุ, ระยะของโรค, ขนาดของก้อนมะเร็งที่ปอด (T stage), การกระจายไปต่อมน้ำเหลือง (N stage), และเนื้องอกชนิด adenocarcinoma เป็นปัจจัยที่มีผลต่อการกระจายของมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กไปสมองหรือไม่ ในคนไข้มะเร็งปอดที่มีการกลายพันธุ์ของ *EGFR*

คำถาม (รอง): การเพิ่มขึ้นของ vimentin หรือการลดลงของ E-cadherin สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ของการเกิดมะเร็งกระจายไปสมองในผู้ป่วยที่มีการกลายพันธุ์ของ *EGFR* ได้หรือไม่

1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

วัตถุประสงค์ (หลัก): ศึกษาอุบัติการณ์ของมะเร็งปอดกระจายไปสมอง และหาปัจจัยที่มีผลต่อการกระจายของมะเร็งไปสมองในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กที่มีการกลายพันธุ์ของ *EGFR*

วัตถุประสงค์ (รอง): หาความสัมพันธ์ระหว่างการตรวจพบ E-cadherin ลดลง หรือตรวจพบ vimentin เพิ่มขึ้น ต่อการเกิดมะเร็งกระจายไปสมองในผู้ป่วยมะเร็งปอดที่มีการกลายพันธุ์ของ *EGFR*

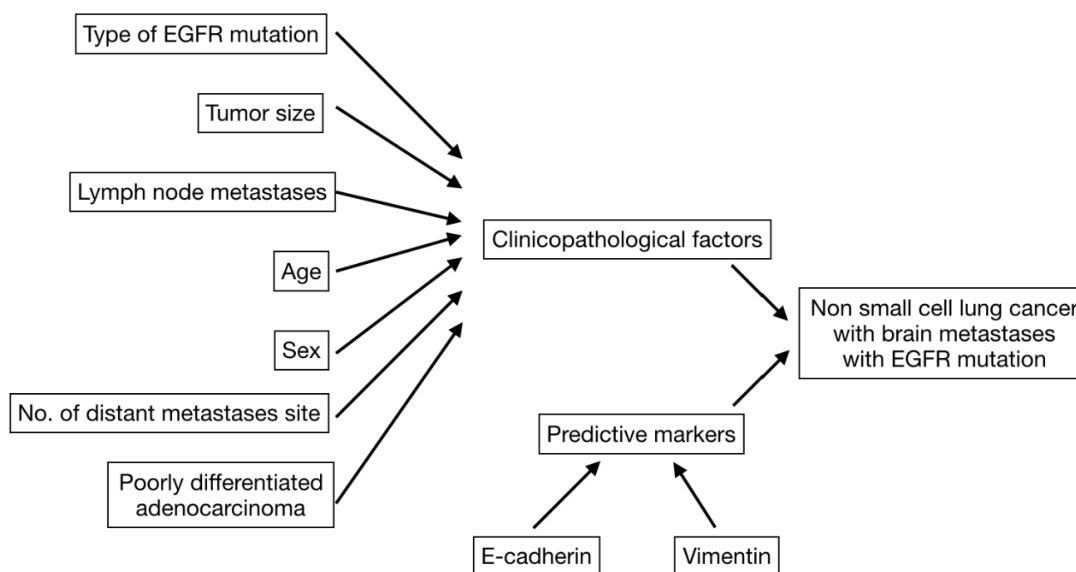
1.4 สมมติฐาน

- ผู้ป่วยมะเร็งปอดที่มีการกลายพันธุ์ของ *EGFR* มีอุบัติการณ์มะเร็งกระจายไปสมองมากกว่าในผู้ป่วย *EGFR* wild type
- เพศ, อายุ, ขนาดของก้อนเนื้องอก (T stage), จำนวนต่อมน้ำเหลือง (N stage), ชนิดของการกลายพันธุ์ของ *EGFR* และลักษณะทาง histology (adenocarcinoma and non-adenocarcinoma) เป็นปัจจัยที่มีผลต่อการกระจายของมะเร็งปอดไปสมองในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กที่มีการกลายพันธุ์ของ *EGFR*
- ขึ้นเนื่องจากผู้ป่วยมะเร็งปอดที่มีมะเร็งกระจายไปสมอง เมื่อนำมาย้อมอิมมูโนพยาธิวิทยาจะพบลักษณะการติด Vimentin เพิ่มขึ้น หรือติด E-cadherin ลดลง เมื่อเทียบกับผู้ป่วยที่ไม่มีมะเร็งกระจายไปสมองในผู้ป่วยที่มีการกลายพันธุ์ของ *EGFR*

1.5 ข้อตกลงเบื้องต้น

ผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กที่มีการกลับเป็นซ้ำหรืออยู่ในระยะแพร่กระจาย และได้รับการรักษาในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

1.6 กรอบแนวคิดในการวิจัย



รูปที่ 1 กรอบแนวคิดในการวิจัย

1.7 การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติที่จะใช้ในการวิจัย

Brain metastasis (BM) คือ มะเร็งกระจายไปที่เนื้อสมองหรือบริเวณเยื่อหุ้มสมอง ที่ได้รับการตรวจยืนยันด้วยการทำเอ็กซเรย์คอมพิวเตอร์สมอง (Computed Tomography, CT) หรือด้วยคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า (Magnetic Resonance Imaging, MRI) ในการศึกษาข้อเรียกทั้งสองการตรวจรวมกันว่า “การทำเอ็กซเรย์สมอง” โดยผู้ป่วยอาจจะมีอาการหรือยังไม่มีอาการก็ได้ และแนวทางการรักษาผู้ป่วยปัจจุบันยังไม่ได้กำหนดให้ต้องทำเอ็กซเรย์สมองในผู้ป่วยทุกรายถ้ายังไม่มีอาการ แบ่งเป็น

- No brain metastasis (no BM) คือผู้ป่วยที่ไม่มีมะเร็งกระจายไปสมอง โดยอาจจะเคยทำเอ็กซเรย์สมองเพื่อยืนยันหรือไม่ก็ได้ จึงมีความเป็นไปได้ที่ผู้ป่วยกลุ่มนี้ส่วนหนึ่งอาจมีมะเร็งกระจายไปสมองแล้วเพียงแต่ยังไม่แสดงอาการจึงยังไม่เคยตรวจเอ็กซเรย์สมอง
- Initial brain metastasis (inBM) คือ BM ที่ตรวจพบด้วยการเอ็กซเรย์สมอง ตั้งแต่ก่อนเริ่มให้การรักษาด้วย systemic treatment
- Subsequent brain metastasis (subBM) คือ BM ที่ตรวจพบด้วยการเอ็กซเรย์สมอง ในระหว่างหรือหลังจากเริ่มให้การรักษาด้วย systemic treatment ไปแล้ว

Staging คือการระบุระยะของโรคมะเร็ง ใช้ตามเกณฑ์ของ American Joint Committee on Cancer version 8 (AJCC 8th edition)[15] ประกอบไปด้วยระยะของก้อนมะเร็งปฐมภูมิ (T) จำนวนต่อมน้ำเหลือง (N) และการกระจายไปอวัยวะอื่น (M) ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ระยะของก้อนมะเร็งปฐมภูมิ (T) จำนวนต่อมน้ำเหลือง (N) และการกระจายไปอวัยวะอื่น (M) ตาม American Joint Committee on Cancer version 8 (AJCC 8th edition)

TNM	คำจำกัดความ
Tx	ไม่สามารถระบุขนาดของก้อนมะเร็งปฐมภูมิได้
T0	ไม่พบก้อนมะเร็งปฐมภูมิ
T1	ก้อนมะเร็งปฐมภูมิมีขนาด ≤ 3 เซนติเมตร
T2	ก้อนมะเร็งปฐมภูมิมีขนาด > 3 เซนติเมตร แต่ไม่เกิน 5 เซนติเมตร หรือก้อนลุกลามเข้าไปที่หลอดลม main bronchus, visceral pleura หรือทำให้ปอดแฟบ (atelectasis)
T3	ก้อนมะเร็งปฐมภูมิมีขนาด > 5 เซนติเมตร แต่ไม่เกิน 7 เซนติเมตร หรือก้อนลุกลามไปถึง parietal pleura, chest wall, phrenic nerve, parietal pericardium หรือมีอีกก้อนมะเร็งในปอดกลีบเดียวกัน (separate tumor nodule in the same lobe)
T4	ก้อนมะเร็งปฐมภูมิมีขนาด > 7 เซนติเมตร หรือก้อนลุกลามไปที่กระบังลม หัวใจ หลอดลม เส้นเลือดใหญ่ หลอดอาหาร กระดูกสันหลัง หรือมีก้อนมะเร็งในปอดกลีบอื่นแต่ยังอยู่ฝั่งเดียวกัน (separate tumor nodule in an ipsilateral lobe)
Nx	ไม่สามารถระบุต่อมน้ำเหลืองได้
N0	ไม่มีการกระจายของมะเร็งไปต่อมน้ำเหลือง
N1	มีการกระจายของมะเร็งไปต่อมน้ำเหลืองบริเวณ intrapulmonary, peribronchial หรือ hilar ข้างเดียวกัน
N2	มีการกระจายของมะเร็งไปต่อมน้ำเหลืองบริเวณ mediastinal หรือ subcarinal ข้างเดียวกัน
N3	มีการกระจายของมะเร็งไปต่อมน้ำเหลืองบริเวณ mediastinal หรือ hilar ด้านตรงข้าม หรือไปที่ supraclavicular ข้างเดียวกัน
M0	ไม่พบการกระจายไปยังอวัยวะอื่น
M1	มะเร็งกระจายไปอวัยวะอื่น

Disease status

- Recurrent disease หมายถึงผู้ป่วยมะเร็งปอดในระยะแรก ที่ได้รับการรักษาหายแล้ว ต่อมาตรวจพบว่ามีอาการกลับเป็นซ้ำของโรค ซึ่งผู้ป่วยกลุ่มนี้จะมี AJCC staging เป็น M0
- M1 disease หมายถึงผู้ป่วยที่ตรวจพบว่าเป็นโรคระยะแพร่กระจายไปอวัยวะอื่นตั้งแต่แรกวินิจฉัย จะมี AJCC staging เป็น M1

ความสามารถในการใช้ชีวิตประจำวัน (ECOG PS) ประเมินด้วย Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status [16] ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ระดับความสามารถในการใช้ชีวิตประจำวัน ตาม Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status (ECOG PS)

ระดับ	คำจำกัดความ
0	ไม่มีข้อจำกัดในการใช้ชีวิตประจำวัน และสามารถทำกิจกรรมที่ต้องออกแรงเยอะได้
1	ไม่มีข้อจำกัดในการใช้ชีวิตประจำวัน แต่ไม่สามารถทำกิจกรรมที่ต้องออกแรงเยอะได้
2	สามารถช่วยเหลือตนเองได้ แต่ไม่สามารถทำงานได้ ต้องพักบนเตียงหรือนั่ง <50% ของเวลาตื่น
3	สามารถช่วยเหลือตนเองได้ ต้องอยู่บนเตียงหรือนั่ง >50% ของเวลาตื่น
4	ไม่สามารถช่วยเหลือตนเองได้เลย ต้องอยู่บนเตียงตลอดวัน
5	เสียชีวิต

การสูบบุหรี่ (smoking) นับรวมบุหรี่และยาสูบอื่น ๆ จากวันที่เริ่มสูบจนกระทั่งถึงวันที่วินิจฉัยมะเร็งปอด แบ่งออกเป็น

- ไม่เคยสูบบุหรี่ (never smoke) คือ ไม่เคยสูบบุหรี่เลยหรือสูบน้อยกว่า 100 มวนตลอดชีวิต
- เคยสูบหรือกำลังสูบอยู่ (current or former smoke) คือ เคยสูบตั้งแต่ 100 มวนขึ้นไปในชีวิตไม่ว่าจะหยุดสูบแล้วหรือไม่ก็ตาม

ชนิดของมะเร็งปอด (Histology subtype) คือการแบ่งกลุ่มตามพยาธิวิทยาของมะเร็งปอด ได้เป็นสองกลุ่มใหญ่คือ Small Cell Lung Cancer (SCLC) และ Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) สำหรับกลุ่ม NSCLC ยังแบ่งย่อยได้เป็น

- มะเร็งปอดอะดีโน (Adenocarcinoma)
- มะเร็งปอดที่ไม่ใช่อะดีโน (Non-adenocarcinoma) เช่น Squamous cell carcinoma, Large cell carcinoma เป็นต้น

อีจีเอฟอาร์ (EGFR status) แบ่งออกเป็นกลุ่มที่ตรวจไม่พบการกลายพันธุ์ของ *EGFR* (*EGFR* wild type) และกลุ่มที่พบการกลายพันธุ์ (*EGFR* mutation) ในกลุ่ม *EGFR* mutation ยังแบ่งย่อยออกได้เป็น

- การกลายพันธุ์ชนิดที่พบบ่อย (common *EGFR* mutation) ประกอบไปด้วย exon 19 deletion และ exon 21 L858R
- การกลายพันธุ์ชนิดที่พบบ่อย (uncommon *EGFR* mutation) ประกอบไปด้วยการกลายพันธุ์ที่ไม่ใช่สองตัวที่กล่าวถึงด้านบน คือ G719X, S768I, T790M, exon 20 insertion และ L861Q

คำนิยามเกี่ยวกับระยะเวลาที่ใช้ในการวิจัย

- ผู้ป่วยไม่ได้มาติดตามการรักษา (loss to follow up) หมายถึงผู้ป่วยที่ไม่พบประวัติการเข้ารับการรักษาที่รพ.จุฬาลงกรณ์เป็นระยะเวลามากกว่า 6 เดือนนับตั้งแต่วันที่เข้ารับการรักษาจนถึงวันที่ 31 ธันวาคม 2562 ซึ่งเป็นวันสุดท้ายที่ตามเก็บข้อมูลผู้ป่วย (data cutoff date)
- การรอดชีวิต (overall survival) นับจากวันที่เริ่มวินิจฉัยว่าเป็นมะเร็งปอดกลับซ้ำ (recurrent of disease) หรือเป็นมะเร็งปอดระยะแพร่กระจาย (M1 disease) จนถึงวันที่ผู้ป่วยเสียชีวิต ไม่ว่าจะเสียชีวิตด้วยสาเหตุใดก็ตาม

1.8 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

ทราบอุบัติการณ์ของมะเร็งกระจายไปสมองในผู้ป่วยมะเร็งปอดที่มีการกลายพันธุ์ของ *EGFR* และพบปัจจัยทางคลินิก พยาธิวิทยา และตัวชี้วัดที่สัมพันธ์กับการเกิดมะเร็งกระจายไปสมอง เพื่อช่วยในการคัดกรองและทำให้การรักษามีประสิทธิภาพมากขึ้น

1.9 อุปสรรคที่อาจเกิดขึ้นและแนวทางการแก้ไข

- ความครบถ้วนของข้อมูลที่เก็บย้อนหลัง แนวทางการแก้ไขคือพยายามเลือกผู้ป่วยที่มีความครบถ้วนของเวชระเบียนเข้ามาในการศึกษา และสอบถามข้อมูลวันที่เสียชีวิตของผู้ป่วยจากระบบทะเบียนราษฎร
- คุณภาพและปริมาณชิ้นเนื้อไม่เพียงพอต่อการส่งย้อมทางอิมมูโนพยาธิวิทยา แนวทางแก้ไขคือให้พยาธิแพทย์เป็นผู้คัดเลือกชิ้นเนื้อที่มีคุณภาพเหมาะสมต่อการส่งย้อม และสามารถใช้ชิ้นเนื้อได้จากทั้งก้อนมะเร็งที่ปอด หรือบริเวณที่โรคกระจายไปเพื่อนำมาย้อม
- ความแตกต่างด้านวิธีการแปลผลย้อมอิมมูโนพยาธิวิทยา แนวทางแก้ไขคือใช้อุปกรณ์การย้อมเดียวกัน และย้อมด้วยเครื่องย้อมที่มีมาตรฐานเดียวกัน มีพยาธิแพทย์อ่านผลเพียงคนเดียวและต้องไม่รู้ว่าผู้ป่วยอยู่กลุ่มไหน สุ่มเลือกสไลด์ที่ย้อมแล้วมาทำ Immunohistochemistry image analysis เพื่อประเมินความแม่นยำในการอ่านผลด้วยตาผ่านกล้องจุลทรรศน์ (light microscopy)

บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

มะเร็งปอดเป็นสาเหตุการตายอันดับสองของโรคมะเร็งในประเทศไทยรองจากมะเร็งตับ พบว่า 85% ของมะเร็งปอดเป็นชนิดเซลล์ไม่เล็ก (Non-Small Cell Lung Cancer, NSCLC) [3, 5]

แบ่งระยะของมะเร็งปอดใหญ่ ๆ ได้เป็น ระยะเริ่มต้น (M0 disease) และระยะแพร่กระจาย (M1 disease) การผ่าตัดหรือการรักษาด้วยการฉายแสงพร้อมเคมีบำบัดถือเป็นการรักษามาตรฐาน ในผู้ป่วยระยะเริ่มต้นที่สามารถหวังผลหายขาดจากโรคได้ แต่ก็สามารถพบการกลับเป็นซ้ำได้ประมาณ ครึ่งหนึ่ง

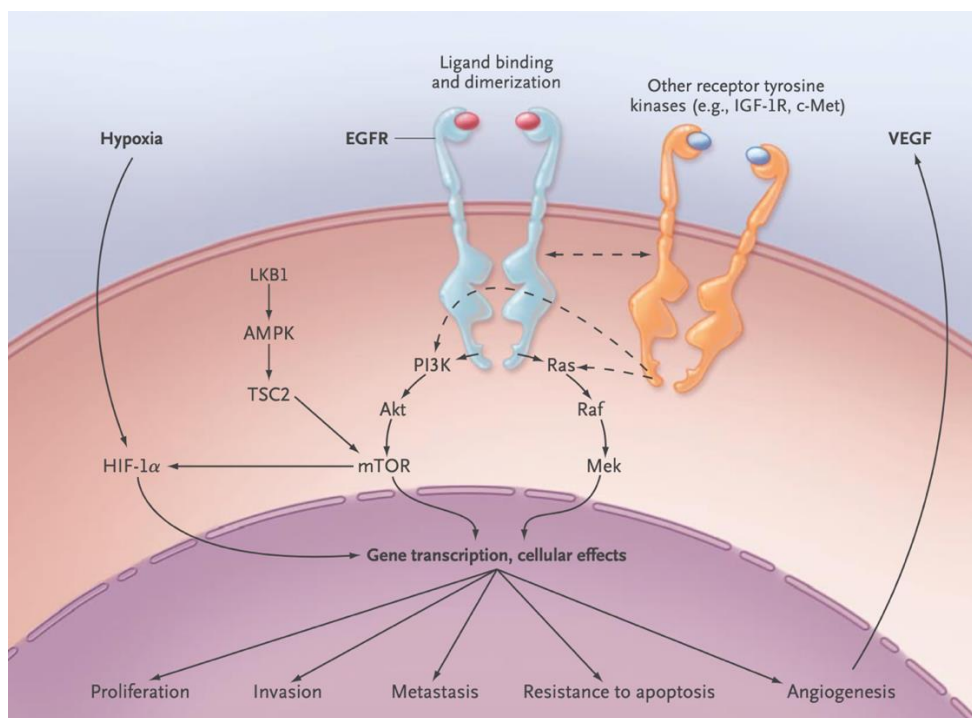
ผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กส่วนใหญ่ มักตรวจพบเมื่อโรครอคอยู่ในระยะแพร่กระจายแล้ว การรักษาหลักในผู้ป่วยกลุ่มนี้มีเป้าหมายเพื่อยืดอายุให้นานขึ้น อวัยวะที่พบการแพร่กระจายของ มะเร็งปอดไปบ่อย ได้แก่ ปอด ตับ เยื่อหุ้มปอด กระดูก และสมอง[17]

มะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กยังสามารถแบ่งกลุ่มตามลักษณะการกลายพันธุ์ได้เป็นกลุ่มที่ตรวจพบการกลายพันธุ์ที่สัมพันธ์กับการเกิดมะเร็ง (Driver mutation) และกลุ่มที่ไม่มีการกลายพันธุ์ (No driver mutation) ในปัจจุบันการกลายพันธุ์ที่พบบ่อย และมียามุ่งเป้าในการรักษาประกอบไปด้วย[5, 17]

1. การกลายพันธุ์ของ *EGFR* (*EGFR* mutation) พบอุบัติการณ์ในคนผิวขาวประมาณ 10-20% แต่ในคนเอเชียพบได้มากขึ้นเป็น 50-70% [8, 18] ส่วนใหญ่พบในผู้หญิงที่ไม่สูบบุหรี่หรือเลิกบุหรี่มานานมากกว่า 10 ปีขึ้นไป มียามุ่งเป้าที่ใช้ในการรักษาคือ *EGFR* Tyrosine Kinase Inhibitor (*EGFR*-TKIs)
2. การเรียงตัวที่ผิดปกติของ *ALK* (*ALK* rearrangement) พบประมาณ 5-15%
3. การกลายพันธุ์ของ *BRAF* (*BRAF* mutation) พบประมาณ 5%
4. การเรียงตัวที่ผิดปกติของ *ROS-1* (*ROS-1* fusion gene) พบน้อยกว่า 5%
5. การกลายพันธุ์อื่น ๆ ซึ่งพบน้อยมาก เช่น *NTRK*-fusion gene, *MET* exon 14 skipping, *RET*-fusion gene, *HER2* mutation เป็นต้น

EGFR เป็น receptor ในตระกูล Receptor Tyrosine Protein Kinase (RTK) เมื่อมีการกระตุ้นผ่าน *EGFR* ที่อยู่บนผิวเซลล์ จะทำให้มีการส่งสัญญาณลงมาภายในเซลล์ แล้วไปมีผลต่อ การควบคุมการเจริญเติบโต (cell growth), การแบ่งตัวและพัฒนาการของเซลล์ (differentiation), การเปลี่ยนแปลงรูป (transformation), การสร้างหลอดเลือดใหม่ (angiogenesis), การเคลื่อนที่ (migration) และการอยู่รอด (survival)(รูปที่ 2) [19, 20] มะเร็งปอดที่มีการกลายพันธุ์ของ *EGFR* จึงมี

กระบวนการเหล่านี้เพิ่มขึ้นสูงมาก ทำให้เซลล์เติบโต แพร่กระจาย และดื้อต่อยาเคมีบำบัดและการฉายรังสี แต่จะตอบสนองค่อนข้างดีต่อยาพุ่งเป้า *EGFR* -TKIs ที่ออกแบบมาเพื่อยับยั้งบริเวณนี้ โดยเฉพาะ ทำให้มีโอกาสดีก่อนจะยุบลง (objective response rate) ถึง 50-80%[8, 21, 22]

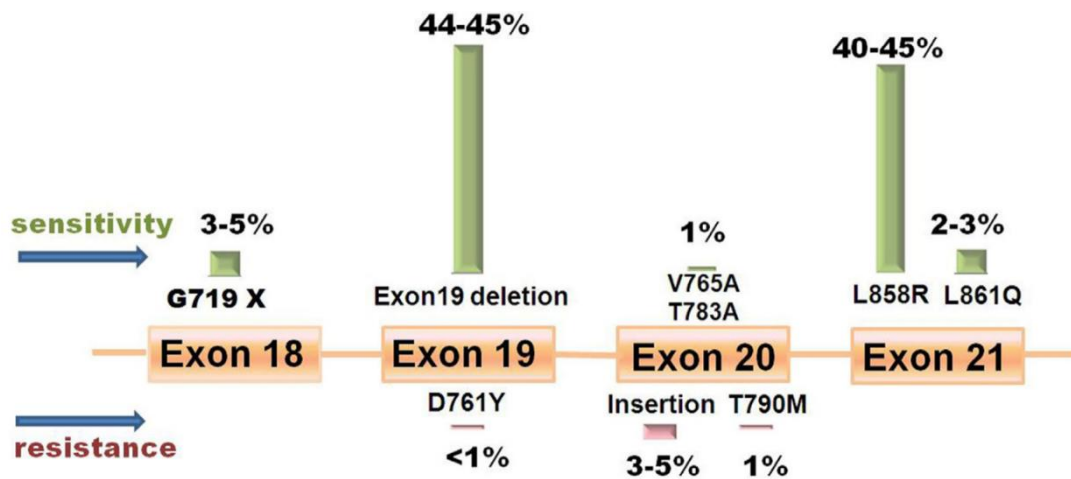


รูปที่ 2 กลไกการส่งสัญญาณและผลที่เกิดขึ้นหลังจากมีการกระตุ้น *EGFR* [5]

ยีน *EGFR* อยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 7 การกลายพันธุ์ของยีนนี้พบได้ที่ตำแหน่ง (exon) 18 ถึง 21 สามารถแบ่งกลุ่มการกลายพันธุ์ของ *EGFR* ได้เป็นสองกลุ่มหลัก ๆ คือ[23]

1. แบ่งตามอุบัติการณ์การกลายพันธุ์ที่พบบ่อย ได้เป็น
 - การกลายพันธุ์ที่พบบ่อย (common mutation, พบได้ 85-90%) ประกอบไปด้วย Exon 19 deletion และ Exon 21 L858R
 - การกลายพันธุ์ที่พบบ่อย (uncommon mutation, พบได้ 10-15%) คือการกลายพันธุ์อื่น ๆ ที่เหลือ เช่น Exon 18 G719X, Exon 20 insertion, Exon 20 S768I, Exon 21 L861Q เป็นต้น
2. แบ่งตามการตอบสนองต่อยา *EGFR*-TKIs ได้เป็น (รูปที่ 3)
 - ตอบสนองดี (Sensitive mutation) ประกอบไปด้วย common mutations ทั้ง 2 ตำแหน่งข้างต้น, G719X, L861Q, และอื่น ๆ ตามรูปที่ 3

- ตอบสนองน้อยหรือไม่ตอบสนอง (Resistant mutation) เช่น Exon 20 insertion, Exon 19 D761Y เป็นต้น



รูปที่ 3 อุบัติการณ์การกลายพันธุ์ของ EGFR ในแต่ละ exon [24]

Sensitivity คือ ตำแหน่งการกลายพันธุ์ที่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยา EGFR-TKIs

Resistance คือ ตำแหน่งการกลายพันธุ์ที่ดื้อต่อการรักษาด้วยยา EGFR-TKIs

ผู้ป่วยที่มีการกลายพันธุ์ของ EGFR มักพบการกระจายของมะเร็งไปสมองประมาณ 30-50% ซึ่งมากกว่า EGFR wild type ที่พบได้ 20-30% [18, 25]

วรรณกรรมที่เคยมีผู้ศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่างการกลายพันธุ์ของ EGFR กับการเกิดมะเร็งกระจายไปสมอง มีดังนี้

1. การศึกษาของ Robert C. Doebele และคณะ ในปี 2012 เป็นการศึกษาแบบย้อนหลัง (retrospective) เก็บข้อมูลของผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กทั้งสิ้น 209 ราย แบ่งเป็น EGFR mutation 39 ราย, KRAS mutation 49 ราย, ALK gene rearrangement 41 ราย, และไม่พบการกลายพันธุ์ 80 ราย เพื่อหาปัจจัยที่สัมพันธ์กับการกระจายของมะเร็งไปยังอวัยวะต่าง ๆ ผลพบว่าไม่มีการกลายพันธุ์ใดที่ส่งผลต่อการกระจายของมะเร็งไปที่ปอด ต่อมทหวนไต กระดูก หรือสมอง อย่างมีนัยยะสำคัญทางสถิติ แต่ผู้ป่วยที่มี EGFR mutation และ ALK rearrangement สัมพันธ์กับการเกิดมะเร็งกระจายไปตับอย่างมีนัยยะสำคัญทางสถิติ[18]

2. การศึกษาของ Min Young Baek และคณะ ในปี 2018 เก็บข้อมูลแบบย้อนหลังของผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กทั้งสิ้น 259 ราย ประกอบไปด้วย *EGFR* mutation 73 ราย และไม่มีการกลายพันธุ์ 186 ราย พบว่าผู้ป่วยที่มี *EGFR* mutation มีอุบัติการณ์ของ initial BM มากกว่า *EGFR* wild type (27.4% และ 14.5% ตามลำดับ, $p < 0.009$) และ subsequent BM ก็พบมากกว่าใน *EGFR* mutation เช่นกัน แต่ไม่ได้ต่างกันอย่างมีนัยยะสำคัญทางสถิติ (9.6% และ 7.0% ตามลำดับ, $p = 0.578$) ศึกษานี้ไม่ได้ศึกษาถึงปัจจัยทางคลินิกที่ส่งผลต่อการเกิดมะเร็งกระจายไปสมอง[26]
3. การศึกษาของ Dong-Yeop Shin และคณะ ในปี 2014 เป็นการศึกษาแบบย้อนหลังเก็บข้อมูลเฉพาะผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กจำนวนทั้งสิ้น 314 ราย ประกอบไปด้วย *EGFR* mutation 138 ราย พบการกระจายของมะเร็งไปอวัยวะอื่นมากขึ้นในผู้ป่วย *EGFR* mutation เมื่อเทียบกับ *EGFR* wild type (53.6% และ 44.8% ตามลำดับ, $p = 0.005$) ในอวัยวะที่โรคมะเร็งกระจายไปทั้งหมด พบมะเร็งกระจายไปสมอง 44.5% ใน *EGFR* mutation และ 22.7% ใน *EGFR* wild type (แต่ไม่ได้คิด p-value มาให้) ในการวิเคราะห์กลุ่มย่อย (subgroup analysis) พบว่าในผู้ป่วยที่มี *EGFR* mutation ลักษณะของมะเร็งกระจายไปสมองมักพบหลายก้อน (≥ 2 ก้อน) เมื่อเทียบกับ *EGFR* wild type (78.6% และ 47.8% ตามลำดับ, $p = 0.022$) และในผู้ป่วยที่เคยรักษามะเร็งกระจายไปสมองด้วยการผ่าตัด พบว่าโรคกลับเป็นซ้ำในผู้ป่วยที่มี *EGFR* mutation มากกว่า *EGFR* wild type (HR 4.49, 95% CI, 1.20-16.80, $p = 0.026$) อย่างไรก็ตามการศึกษานี้ไม่ได้กล่าวถึงปัจจัยทางคลินิกที่ส่งผลต่อการเกิดมะเร็งกระจายไปสมอง[27]
4. การศึกษาของ Guang Han และคณะ ในปี 2016 เป็นการศึกษาแบบย้อนหลังจากผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็ก 234 ราย ประกอบไปด้วย *EGFR* mutation 76 ราย พบว่าการมี *EGFR* mutation สัมพันธ์กับการเกิดมะเร็งกระจายไปสมอง ทั้ง initial BM ($p = 0.014$) และ subsequent BM ($p < 0.001$) เมื่อเทียบกับ *EGFR* wild type และเมื่อวิเคราะห์ univariate และ multivariate พบว่า *EGFR* mutation เป็นเพียงปัจจัยเดียวที่สัมพันธ์ต่อการเกิดทั้ง initial BM ($p = 0.022$) และ subsequent BM ($p = 0.001$) [28]

จึงเห็นได้ว่าการมี *EGFR* mutation สัมพันธ์กับการเกิดมะเร็งกระจายไปสมองมากกว่า *EGFR* wild type สำหรับปัจจัยที่ส่งผลต่อการเกิดมะเร็งปอดกระจายไปสมอง เคยมีผู้ศึกษาไว้ดังนี้

1. การศึกษาของ Shih-Hsin Hsiao และคณะ ในปี 2017 เป็นการศึกษาแบบย้อนหลัง เก็บข้อมูลจากโรงพยาบาลสองแห่งในประเทศไต้หวัน ศึกษาผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กในทุกระยะจำนวนทั้งสิ้น 384 ราย ประกอบไปด้วย *EGFR* wild type 198 คน และ *EGFR* mutation 186 ราย (เฉพาะการกลายพันธุ์แบบ exon 19 deletion และ exon 21 L858R) พบปัจจัยที่สัมพันธ์กับการกระจายของมะเร็งปอดไปสมอง (no BM เทียบกับ BM) เมื่อคิดด้วย multivariate analysis คือ อายุ <60 ปี, โรคระยะ III-IV, และการมี *EGFR* mutation อีกทั้งยังพบปัจจัยที่ทำให้เกิด subsequent BM คือ *EGFR* mutation และ อายุ <60 ปี แต่การศึกษานี้เป็นการเทียบระหว่าง *EGFR* mutation กับ *EGFR* wild type ไม่ได้เทียบภายในกลุ่ม *EGFR* mutation ด้วยกัน เพื่อบอกปัจจัยระหว่างกลุ่มที่มีและไม่มีมะเร็งกระจายไปสมอง [25]
2. การศึกษาของ Deepa Rangachari และคณะ ในปี 2015 เป็นการศึกษาแบบย้อนหลัง จากข้อมูลของผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็ก 381 ราย ประกอบไปด้วย *EGFR* mutation 86 ราย, *ALK* rearrangement 23 ราย และที่เหลือไม่พบการกลายพันธุ์ เมื่อดูเฉพาะ *EGFR* mutation cohort พบอุบัติการณ์การเกิด subsequent BM เพิ่มขึ้นทุกปี คิดเป็น 34.2% ในปีที่ 1, 38.4% ในปีที่ 2, 46.7% ในปีที่ 3, 48.7% ในปีที่ 4 และ 52.9% ในปีที่ 5 ในวิจัยนี้คิดว่าอุบัติการณ์ของมะเร็งกระจายไปสมองที่เพิ่มมากขึ้นน่าจะสัมพันธ์กับอายุผู้ป่วยที่นานขึ้นจากการได้รับการรักษาด้วย *EGFR*-TKIs[12]
3. การศึกษาของ Lizza E.L. Hendriks และคณะ ในปี 2014 เป็นการศึกษาแบบย้อนหลัง เก็บข้อมูลของผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็ก 189 ราย ประกอบไปด้วย *EGFR* mutation (เฉพาะ Exon 19 deletion และ Exon 21 L858R) 62 ราย, *KRAS* mutation 65 ราย, และ wild type 62 ราย พบว่าอุบัติการณ์การเกิดมะเร็งกระจายไปสมองระหว่างสามกลุ่มนี้ไม่ต่างกัน และเมื่อดูเฉพาะ *EGFR* mutation พบว่าระยะเวลาการเกิดมะเร็งกระจายไปสมองก็ไม่ต่างกันเมื่อได้รับการรักษาด้วย *EGFR*-TKIs เป็นยาตัวแรก (first line) หรือให้เป็นยาตัวหลัง (later line) (median time to BM 21.3 +/-12.9 เดือน ในกลุ่ม first line และ 18.8 +/-9.2 เดือน ในกลุ่ม later line, $p=0.760$) และไม่ต่างกันเมื่อเทียบระหว่างการรักษาด้วย *EGFR* -TKIs กับ ยาเคมีบำบัด

(median time to BM 21.4 +/-12.4 เดือน ในกลุ่ม *EGFR* -TKIs และ 17.3 +/-12.5 เดือน ในกลุ่มยาเคมีบำบัด, $p=0.675$)[29]

4. การศึกษาของ Hiroko Watanabe และคณะ ในปี 2019 เป็นการศึกษาแบบย้อนหลัง เก็บข้อมูลเฉพาะผู้ป่วยที่มี *EGFR* mutation ทั้งสิ้น 64 ราย และหาปัจจัยที่สัมพันธ์กับการเกิดมะเร็งกระจายไปยังอวัยวะต่าง ๆ ผลการศึกษาพบว่า “การมีมะเร็งกระจายไปปอด” เป็นเพียงปัจจัยเดียวที่สัมพันธ์กับการเกิดมะเร็งกระจายไปสมองอย่างมีนัยยะสำคัญทางสถิติ[30]
5. การศึกษาของ Jung Soo Lee และคณะ ในปี 2019 เก็บข้อมูลของผู้ป่วยมะเร็งปอดทั้งประเทศ (nationwide population-based cohort study) จำนวนทั้งสิ้น 29,174 ราย เพื่อหาอุบัติการณ์การเกิดมะเร็งกระจายไปสมองเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ได้รับการรักษาด้วยยามุ่งเป้า (เฉพาะผู้ป่วยที่มี *EGFR* mutation) และ ยาเคมีบำบัด (มีทั้ง *EGFR* mutation และ *EGFR* wild type รวมกัน) พบว่าในกลุ่มที่ได้รับยามุ่งเป้า มีอุบัติการณ์ของมะเร็งกระจายไปสมองมากกว่ากลุ่มที่ได้ยาเคมีบำบัด (1-year cumulative incidence 8.7% และ 3.8%, 3-year 17.2% และ 5.0% ตามลำดับ, $p<0.001$) และพบปัจจัยที่ส่งผลต่อการเกิด subsequent BM คือ อายุน้อย เพศหญิง และได้ยามุ่งเป้าเป็นการรักษาแรก (first line) อย่างไรก็ตามผู้ป่วยในกลุ่มควบคุม (control group) ของการศึกษานี้มีทั้ง *EGFR* wild type และ *EGFR* mutation ปนกัน[31]
6. การศึกษาของ Zhe Ji และคณะ ในปี 2014 เป็นการศึกษาแบบย้อนหลัง ในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กระยะ III ที่ได้รับการรักษาด้วยการฉายแสง (definitive radiation therapy) จำนวน 346 ราย หลังจากติดตามผู้ป่วยไปเป็นระยะเวลาเฉลี่ย 48.3 เดือน พบว่ามีผู้ป่วย 74 ราย (21.4%) ที่มีโรคมะเร็งกระจายไปสมอง ปัจจัยที่สัมพันธ์กับการเกิดมะเร็งกระจายไปสมองจาก multivariate analysis ประกอบไปด้วย อายุ ≤ 60 ปี, มะเร็งที่ไม่ใช่ Squamous cell carcinoma, และค่า CA125 ≥ 35 U/mL [32] แต่การศึกษานี้ไม่ได้นำการกลายพันธุ์ของ *EGFR* มาคำนวณร่วมด้วย
7. การศึกษาของ Ceresoli, G.L และคณะ ในปี 2002 เป็นการศึกษาแบบย้อนหลัง ในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กระยะ IIB-IIIB จำนวน 112 ราย ที่ได้รับการรักษาแบบ definitive multimodality treatment ครบแล้ว เพื่อดูลักษณะการกลับเป็นซ้ำของโรคหลังจากติดตามไปเฉลี่ย 63 เดือน พบว่าผู้ป่วย 85 ราย (75%) มีโรคกลับเป็นซ้ำ ใน

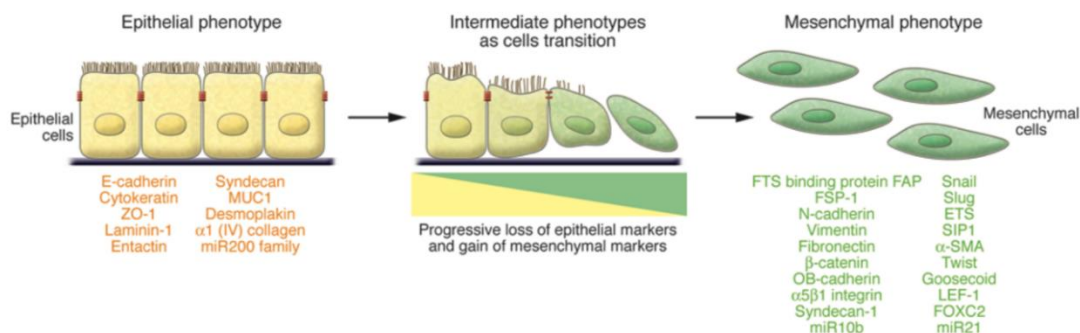
จำนวนนี้ 25 ราย (22%) เกิดมะเร็งกระจายไปสมอง จาก univariate analysis พบปัจจัยที่สัมพันธ์กับมะเร็งกระจายไปสมอง คือ อายุ <60 ปี และ bulky mediastinal lymph node เมื่อคำนวณ multivariate analysis พบว่ามีเพียงอายุ <60 ปี ที่ยังคงมีนัยยะสำคัญทางสถิติ [33] อย่างไรก็ตามการศึกษานี้ไม่ได้นำการกลายพันธุ์ของ *EGFR* มาคำนวณร่วมด้วย

จากการทบทวนวรรณกรรมพบว่าการศึกษาเกี่ยวกับปัจจัยที่สัมพันธ์กับการเกิดมะเร็งกระจายไปสมองที่เลือกเฉพาะผู้ป่วยที่มีการกลายพันธุ์ของ *EGFR* ยังมีค่อนข้างน้อย และข้อมูลก็ยังมี ความขัดแย้งกันอยู่บ้าง รวมทั้งอุบัติการณ์การเกิด *EGFR* mutation ในแต่ละภูมิภาคมีความต่างกัน ปัจจัยที่สัมพันธ์กับการเกิดมะเร็งกระจายไปสมองจึงอาจต่างกันไปด้วย

การศึกษาในระดับก่อนคลินิก พบว่าการกลายพันธุ์ของ *EGFR* สัมพันธ์กับลักษณะของเซลล์ที่เปลี่ยนรูปร่างจาก epithelial ไปเป็นแบบ spindle-like/mesenchymal การเปลี่ยนรูปร่างของเซลล์มะเร็งนี้ทำให้เซลล์นั้นมีความสามารถในการลุกลามไปยังเซลล์ข้างเคียงและกระจายไปอวัยวะอื่น ๆ ได้ [25, 34, 35]

Epithelial-Mesenchymal Transition (EMT) คือ กระบวนการที่เซลล์เปลี่ยนจาก epithelial phenotype ไปเป็น mesenchymal phenotype (รูปที่ 4) เป็นกลไกที่เซลล์มะเร็ง เปลี่ยนรูปร่างเพื่อให้สามารถกระจายไปยังอวัยวะอื่นได้ โดยลักษณะของ epithelial phenotype คือ เซลล์อยู่ติดกันเป็น tight junction มี membrane ล้อมรอบ และไม่มีความสามารถในการเคลื่อนที่ กระบวนการ EMT ประกอบไปด้วยการทำให้ junction หลวมออก, reorganization of the actin cytoskeleton, การสูญเสีย apical basal polarity, การเหนี่ยวนำให้เกิดการแสดงออกของยีนส์เพื่อ แสดงความเป็น mesenchymal แล้วจึงทำให้เซลล์นี้เคลื่อนผ่านจาก cell membrane ออกไป บริเวณอื่น [36] พบการเกิด EMT ในมะเร็งหลายชนิด เช่น มะเร็งเต้านม มะเร็งลำไส้ มะเร็งช่องปาก มะเร็งอวัยวะเพศชาย รวมทั้งมะเร็งปอด [37-39]

สามารถระบุลักษณะ epithelial phenotype ได้จากการตรวจพบตัวบ่งชี้ของ epithelium เช่น E-cadherin, cytokeratin, Syndecan เป็นต้น ส่วน mesenchymal phenotype มีตัวบ่งชี้ คือ Vimentin, N-cadherin, fibronectin เป็นต้น (รูปที่ 4)



รูปที่ 4 กระบวนการเกิด Epithelial-Mesenchymal Transition(EMT) และตัวบ่งชี้ของ epithelium และ mesenchymal [40]

วรรณกรรมที่เคยมีผู้ศึกษาวิจัยถึงกระบวนการ EMT ในมะเร็งปอด มีดังนี้

1. การศึกษาเดิมของ Shih-Hsin Hsiao และคณะ ในปี 2017 ที่กล่าวถึงข้างต้น ยังได้ทำการศึกษาใน Human cell lines พบว่าเซลล์ที่มีการกลายพันธุ์ของ *EGFR* จะมีลักษณะเปลี่ยนจาก epithelial ไปเป็น mesenchymal บอกได้จากตรวจพบ vimentin เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับ *EGFR* wild type (75.3% และ 51.2% ตามลำดับ, $p=0.007$) และจาก wound healing assay ยังแสดงให้เห็นว่าเซลล์ที่มี *EGFR* mutation สามารถเคลื่อนที่ได้ (cell migration) มากกว่า *EGFR* wild type[25]
2. การศึกษาของ Nicholaos Tsoukalas และคณะ ในปี 2017 เก็บชิ้นเนื้อของผู้ป่วยมะเร็งปอดในตอนเพิ่งได้รับการวินิจฉัยทั้งสิ้น 112 ราย นำมาย้อม E-cadherin และ vimentin ด้วยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมี (IHC) เพื่อดูความสัมพันธ์ระหว่างการย้อมติดปัจจัยด้านคลินิกและพยาธิวิทยา (clinicopathological variables) และการรอดชีวิต ผลพบว่า E-cadherin ที่ลดลงสัมพันธ์กับการเกิด tumor necrosis ($p=0.019$) และมีแนวโน้มว่า E-cadherin ที่สูงขึ้นสัมพันธ์กับอัตราการรอดชีวิตที่มากกว่า (HR 1.02, 95% CI, 0.45-1.87, $p=0.091$) ในขณะที่การเพิ่มขึ้นของ vimentin ส่งผลกับอัตราการรอดชีวิตที่ลดลง (HR 1.13, 95% CI, 0.78-1.65, $p=0.026$) แต่การศึกษานี้ไม่ได้แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง *EGFR* mutation กับ EMT marker[41]
3. การศึกษาของ Alessandra M. Richardson และคณะ ในปี 2017 เป็นการศึกษาจาก cell lines และจากชิ้นเนื้อของผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดอะดีโน พบว่า vimentin ไม่ได้เกี่ยวข้องกับการโตขึ้นของก้อนมะเร็งปฐมภูมิ (primary tumor) แต่สัมพันธ์กับ

กระบวนการกระจายไปยังอวัยวะอื่น และยังพบว่าก้อนมะเร็งที่ย้อมติด E-cadherin แต่ไม่ติด vimentin เซลล์เหล่านี้จะไม่มีกระบวนการ EMT[42]

4. การศึกษาของ C.R. Lindsay และคณะ ในปี 2017 เป็นการศึกษาแบบไปข้างหน้า จากเลือดของผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดอะดีโนระยะ IIIB-IV เพื่อดูความสัมพันธ์ระหว่างการตรวจพบ vimentin จากเซลล์มะเร็งที่ลอยอยู่ในเลือด (vimentin circulating tumor) กับลักษณะทางคลินิกของผู้ป่วยและอัตราการรอดชีวิต ผลการศึกษานี้ พบว่าอัตราการรอดชีวิตไม่ต่างกันไม่ว่าจะตรวจพบ vimentin ในเลือดหรือไม่ แต่จากการศึกษาในกลุ่มย่อย (subgroup analysis) พบ vimentin มากกว่าอย่างมีนัยยะสำคัญทางสถิติในผู้ป่วยที่มี *EGFR* mutation เมื่อเทียบกับ *EGFR* wild type (42.8% และ 15.0% ตามลำดับ, $p=0.013$)[34]
5. การศึกษาของ Hui-Wen Lo และคณะ ในปี 2007 ศึกษาจาก cancer cell line ที่มีการแสดงออกของ *EGFR* แสดงให้เห็นว่าเซลล์มะเร็งมีการส่งสัญญาณผ่านทาง *EGFR* มากขึ้น และเหนี่ยวนำให้เกิดกระบวนการ EMT[35]
6. การศึกษาของ Gab-Yong Bae และคณะ ในปี 2013 เป็นการศึกษาในระดับก่อนคลินิกจาก cell lines ของมะเร็งปอด เพื่อดูความสัมพันธ์ระหว่าง E-cadherin ที่ลดลง กับความสามารถในการกระจายไปยังอวัยวะอื่นของเซลล์มะเร็ง แสดงให้เห็นว่า E-cadherin มักหายไป (loss of E-cadherin) พร้อมกับที่มีการกระตุ้นผ่าน *EGFR* signaling pathway เพิ่มมากขึ้น[43]
7. การศึกษาของ Kerstin W. และคณะ ในปี 2018 เป็นการศึกษาในระดับก่อนคลินิกจาก cell lines ของมะเร็งปอดชนิดอะดีโนที่ดัดแปลงให้ E-cadherin หายไป (deleted E-cadherin) แล้วเอาเซลล์ไปปลูกถ่ายให้หนูทดลอง พบว่าก้อนมะเร็งโตเร็วขึ้นและใช้เวลาในการกระจายไปที่อวัยวะอื่นสั้นลง[44]
8. การศึกษาของ Shibanuma และคณะ ในปี 1998 เก็บข้อมูลย้อนหลังของผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดอะดีโนระยะเริ่มต้นจำนวน 81 ราย ที่ได้รับการรักษาด้วยการผ่าตัด แล้วดูความสัมพันธ์ของปัจจัยทางคลินิกและการทำงานที่ผิดปกติของ E-cadherin (ในวิจัยนี้ดู E-cadherin ที่มาจับกับ catenin เกิดเป็น cadherin-catenin complex) ต่อความรุนแรงของโรคมะเร็งปอด พบว่าการมี cadherin-catenin complex เป็นปัจจัยที่สัมพันธ์ต่อการกระจายของมะเร็งปอดไปต่อมน้ำเหลือง ($p=0.016$) และสัมพันธ์กับระยะมะเร็งที่รุนแรงกว่าจากผลพยาวิวิทยา ($p=0.006$)[45]

9. การศึกษาของ Zhihua Ye และคณะ ในปี 2016 เป็นการวิเคราะห์อภิมาน (meta-analysis) รวมข้อมูลจากการศึกษาแบบสังเกต (observational studies) ทั้งหมด 32 การศึกษา คิดเป็นจำนวนผู้ป่วยรวม 4,118 ราย เพื่อดูความสัมพันธ์ระหว่างการตรวจพบ vimentin และลักษณะทางคลินิกของผู้ป่วยมะเร็งปอด พบว่าการตรวจพบ vimentin สัมพันธ์กับอายุขัยที่สั้นลง (pooled HR 1.83, 95% CI, 1.31-2.55, $p < 0.001$) และพบ vimentin เพิ่มขึ้นในผู้ป่วยที่สูบบุหรี่, โรคมะเร็งระยะกระจาย, โรคลูกลามเข้าหลอดเลือด (vascular invasion), โรคลูกลามไปต่อมน้ำเหลือง, โรคลับเป็นซ้ำ และการลูกลามไปที่เยื่อหุ้มปอด อย่างมีนัยยะสำคัญทางสถิติ [46]
10. การศึกษาของ Yan-Long Yang และคณะ ในปี 2014 เป็นการวิเคราะห์อภิมาน (meta-analysis) รวมการศึกษา 29 ฉบับ คิดเป็นจำนวนผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กทั้งสิ้น 4,010 ราย เพื่อดูความสัมพันธ์ระหว่างการลดลงของ E-cadherin ตรวจด้วยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมีกับการพยากรณ์โรคของผู้ป่วย ผลการศึกษาพบว่าการลดลงของ E-cadherin สัมพันธ์ต่ออัตราการรอดชีวิตที่ลดลงอย่างมีนัยยะสำคัญทางสถิติ (overall survival, HR 1.59, 95% CI, 1.39-1.80, $p < 0.001$)[47]

ข้อมูลจากงานวิจัยก่อนหน้าหลายฉบับทำให้ทราบว่ากระบวนการ EMT มีผลต่อการกระจายของมะเร็งปอดไปอวัยวะอื่น และทำให้มะเร็งร้ายคือยา EGFR-TKIs พิสูจน์ได้จากการตรวจพบ vimentin มากขึ้น และ E-cadherin ลดลง ในขณะเดียวกันก็เจอการกระตุ้นผ่าน tyrosine kinase receptor (รวมทั้ง EGFR) เพิ่มขึ้น [36, 48] จึงเป็นที่มาของวัตถุประสงค์รองของการศึกษานี้เพื่อดูว่า vimentin และ E-cadherin สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้การเกิดมะเร็งปอดกระจายไปสมองในผู้ป่วยที่มีการกลายพันธุ์ของ EGFR ได้หรือไม่ เพื่อนำไปสู่การพัฒนาการรักษาต่อไป [49, 50]

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 รูปแบบการวิจัย

การศึกษานี้เป็นแบบ Retrospective cohort study

3.2 ระเบียบวิธีการวิจัย

ประชากรเป้าหมาย (Target population): ผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็ก (non-small cell lung cancer)

ประชากรตัวอย่าง (Sample population): ผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กที่ได้รับการวินิจฉัยและรักษาที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ตั้งแต่ 1 มกราคม 2556 ถึง 31 ธันวาคม 2560

เกณฑ์การคัดเลือกเข้าร่วมโครงการวิจัย (Inclusion criteria):

1. ผู้ป่วยที่อายุมากกว่าหรือเท่ากับ 18 ปี
2. ผู้ป่วยกลับเป็นซ้ำหรือผู้ป่วยรายใหม่ของมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กระยะแพร่กระจาย โดยใช้เกณฑ์ของ American Joint Committee on Cancer classification, 8th edition
3. มีผลชิ้นเนื้อทางพยาธิวิทยายืนยันว่าเป็นมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็ก
4. มีผลการส่งตรวจการกลายพันธุ์ของ *EGFR*
5. มีข้อมูลการตรวจติดตามการรักษา และ/หรือประเมินการตอบสนองต่อการรักษาอย่างต่อเนื่อง

เกณฑ์การคัดเลือกอาสาสมัครออกจากโครงการวิจัย (Exclusion criteria)

1. ผู้ป่วยที่มีประวัติที่สำคัญบางส่วนหายไป เช่น เวชระเบียนเก่าตามไม่ได้
2. ผู้ป่วยที่เป็น second primary cancer
3. ผู้ป่วยที่ตรวจพบการกลายพันธุ์ชนิดอื่นร่วมด้วย เช่น Anaplastic Lymphoma Kinase (ALK)

ตัวชี้วัดการศึกษาวิจัย (Research outcomes)

1. ตัวชี้วัดปฐมภูมิ (Primary outcome): อุบัติการณ์ของมะเร็งปอดกระจายไปสมอง และ ปัจจัยที่มีผลต่อการกระจายของมะเร็งปอดไปสมองในคนไข้มะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กที่มีการกลายพันธุ์ของ *EGFR*
2. ตัวชี้วัดทุติยภูมิ (Secondary outcome): สัดส่วนการย้อมติด vimentin เพิ่มขึ้น และ/ หรือ E-cadherin ลดลง เมื่อเทียบระหว่างผู้ป่วยที่มีและไม่มีมะเร็งกระจายไปสมอง และ เทียบระหว่างมีและไม่มี การกลายพันธุ์ของ *EGFR*

3.3 ขนาดตัวอย่าง

ขนาดตัวอย่างของคำถามหลัก เนื่องจากการศึกษาแบบ retrospective study จึงใช้ เวลาเป็นตัวกำหนดขนาดตัวอย่าง ตั้งแต่ 1 มกราคม 2556 ถึง 31 ธันวาคม 2560

ขนาดตัวอย่างของคำถามรอง เนื่องจากยังไม่มีการศึกษาสัดส่วนการตรวจพบ vimentin และ E-cadherin ในกลุ่มที่มีมะเร็งปอดกระจายไปสมองมาก่อน จึงอาศัยข้อมูลจากสัดส่วนการตรวจพบ vimentin ที่ต่างกันระหว่างผู้ป่วยที่มีการกลายพันธุ์ของ *EGFR* กับ wild type [14] และ ตั้งสมมติฐานของสัดส่วนการตรวจพบ vimentin ระหว่างผู้ป่วยที่มีและไม่มีมะเร็งกระจายไปสมองขึ้นเอง คำนวณหาขนาดตัวอย่างของคำถามรองโดยใช้ Two independent proportion formula [51] กำหนดให้ความผิดพลาดของการทดสอบ (α) = 0.05, อำนาจการทดสอบ (power) = 0.80, Type II error (β) = 0.20, สัดส่วน (ratio = r) = 1

$$n_1 = \left[\frac{z_{1-\frac{\alpha}{2}} \sqrt{\bar{p}\bar{q}(1+\frac{1}{r})} + z_{1-\beta} \sqrt{p_1 q_1 + \frac{p_2 q_2}{r}}}{\Delta} \right]^2$$

$$r = \frac{n_2}{n_1}, q_1 = 1 - p_1, q_2 = 1 - p_2$$

$$\bar{p} = \frac{p_1 + p_2 r}{1+r}, \bar{q} = 1 - \bar{p}$$

ขนาดตัวอย่างเมื่อใช้ continuity correction

$$m_1 = \frac{n_1}{4} \left(1 + \sqrt{1 + \frac{2(r+1)}{n_1 r |p_2 - p_1|}} \right)^2$$

ตารางที่ 3 ตัวแปรที่ใช้คำนวณหาขนาดตัวอย่างของคำถามรอง

	EGFR mutation		EGFR wild type	
สัดส่วน vimentin จากการศึกษาทบทวนวรรณกรรม [25]	0.75		0.50	
สัดส่วน vimentin ที่ตั้งสมมติฐานขึ้นเอง (p)	BM	No BM	BM	No BM
	p1 = 0.85	p2 = 0.65	p3 = 0.50	p4 = 0.50
กำหนดขนาดตัวอย่าง (n)	n1	n2	n3	n4
ขนาดตัวอย่างที่ใช้ continuity correction (m)	m1	m2	m3	m4

ต้องคำนวณทั้งหมด 3 ครั้ง ด้วยสูตรเดียวกัน คือ

- ใช้ p1 และ p2 จะได้สัดส่วนต่างกัน (δ) = 0.20 เพื่อหา m1 และ m2
- ใช้ p1 และ p3 จะได้สัดส่วนต่างกัน (δ) = 0.35 เพื่อหา m3
- ใช้ p1 และ p4 จะได้สัดส่วนต่างกัน (δ) = 0.35 เพื่อหา m4

จึงได้ขนาดตัวอย่างของคำถามรอง ดังนี้

ขนาดตัวอย่างกลุ่มที่มี EGFR mutation และมี brain metastasis (m1) = 83

ขนาดตัวอย่างกลุ่มที่มี EGFR mutation แต่ไม่มี brain metastasis (m2) = 83

ขนาดตัวอย่างกลุ่มที่ไม่มี EGFR mutation แต่มี brain metastasis (m3) = 33

ขนาดตัวอย่างกลุ่มที่ไม่มี EGFR mutation และไม่มี brain metastasis (m4) = 33

รวมขนาดตัวอย่างทั้งหมด 232 ราย

3.4 วิธีดำเนินการวิจัย

1. ขอใบรับรองจริยธรรม จากคณะกรรมการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
2. ขออนุญาตทำวิจัยในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย จากผู้อำนวยการโรงพยาบาล
3. รวบรวมรายชื่อผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยเป็นมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็ก ที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ในช่วงระยะเวลาที่กำหนด เก็บข้อมูลจากเวชระเบียน โดยใช้แบบบันทึกข้อมูล (ภาคผนวก ก data record form) ประกอบไปด้วย
 - 3.1. ข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วย: อายุ เพศ การสูบบุหรี่ ระดับความสามารถในการใช้ชีวิตประจำวัน (ECOG PS)

- 3.2. ข้อมูลทางพยาธิวิทยา: ชนิดของมะเร็ง ขนาดของก้อนมะเร็ง (T stage) การกระจายไปต่อมน้ำเหลือง (N stage) การกระจายไปยังอวัยวะอื่น (M stage) จำนวนอวัยวะที่มีมะเร็งกระจายไป ผลการตรวจการกลายพันธุ์ของ *EGFR* และผลการตรวจอิมมูโนพยาธิวิทยาของ vimentin และ E-cadherin (อธิบายเพิ่มในข้อ 5)
- 3.3. ข้อมูลการรักษา: วิธีการรักษาที่ได้รับ ระยะเวลาในการรักษา และผลการรักษา
4. ขอข้อมูลเพิ่มเติมดังนี้
- 4.1. ข้อมูลย้อนหลังของผู้ป่วยที่เคยส่งตรวจการกลายพันธุ์ของ *EGFR* จากหน่วยพยาธิวิทยาโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ในช่วงเวลาที่กำหนด เป็นการตรวจด้วย Cobas® *EGFR* mutation test V2 kit ของ Chula Genepro ซึ่งใช้การทำ PCR เพื่อดู DNA ของชิ้นเนื้อเฉพาะเจาะจงที่บริเวณ exon 18 ถึง 21 ลักษณะการกลายพันธุ์ที่ตรวจพบได้ทั้งหมดมีดังนี้
- No *EGFR* mutation detected คือตรวจไม่พบการกลายพันธุ์ของ *EGFR* (*EGFR* wild type)
 - *EGFR* mutation detected คือตรวจพบการกลายพันธุ์ของ *EGFR* จะมีได้ทั้งหมด 9 แบบตามตำแหน่ง exon ดังนี้
 - Exon 18: G719X (คือมีการเปลี่ยนกรดอะมิโนที่ตำแหน่ง 719 จาก Glycine เป็น Alanine, Cysteine หรือ Serine)
 - Exon 19: Exon 19 deletion
 - Exon 20: S768I (เปลี่ยนกรดอะมิโนที่ตำแหน่ง 768 จาก Serine เป็น Isoleucine), T790M (เปลี่ยนกรดอะมิโนที่ตำแหน่ง 790 จาก Threonine เป็น Methionine) และ Exon 20 insertion
 - Exon 21: L858R (เปลี่ยนกรดอะมิโนที่ตำแหน่ง 858 จาก Leucine เป็น Arginine), L861Q (เปลี่ยนกรดอะมิโนที่ตำแหน่ง 861 จาก Leucine เป็น Glutamine)
- 4.2. ขอข้อมูลย้อนหลังของผู้ป่วยที่เป็นมะเร็งปอดและเคยรักษาโดยการฉายแสง จากภาควิชารังสีรักษา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เพื่อเก็บข้อมูลเพิ่มเติมเกี่ยวกับการรักษามะเร็งปอดที่กระจายไปสมอง

5. เลือกชิ้นเนื้อของผู้ป่วยจำนวน 232 ตัวอย่างที่ตรงกลุ่มตามลักษณะของคำถามรอง โดยต้องเป็นชิ้นเนื้อที่เก็บไว้ที่ภาควิชาพยาธิวิทยา โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์อยู่แล้ว เพื่อส่งย้อมอิมมูโนพยาธิวิทยาของ vimentin และ E-cadherin โดยมีวิธีการดังนี้
 - 5.1. ส่งรายชื้อรหัสชิ้นเนื้อที่เก็บไว้โดยการตรึงด้วยฟอร์มาลินและฝังไว้ในพาราฟิน FFPE (Formalin-Fixed Paraffin Embedded tissue block) ให้พยาธิแพทย์
 - 5.2. พยาธิแพทย์ตรวจสอบและเลือกชิ้นเนื้อที่มีส่วนของเซลล์มะเร็งเหมาะสมต่อการส่งย้อมแล้วส่งตัดชิ้นเนื้อออกจาก block ลงสู่แผ่นสไลด์
 - 5.3. ทำการย้อมด้วยวิธี Hematoxylin and eosin staining (H&E staining) และตรวจสอบคุณภาพชิ้นเนื้ออีกทีว่ามีปริมาณเซลล์มะเร็งเพียงพอต่อการนำไปย้อมอิมมูโนพยาธิวิทยาต่อ
 - 5.4. ตัดชิ้นเนื้อความหนา 2 ไมครอนลงบนสไลด์ นำไปอบค้ำคินที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส แล้วส่งย้อมอิมมูโนพยาธิวิทยาในวันถัดไป
 - 5.5. Deparaffinization, Rehydration และ Antigen retriever ด้วยเครื่อง PT Link system โดยใช้ using EnVision FLEX Target Retrieval Solution, high pH, Dako Denmark
 - 5.6. ทำการย้อมโปรตีน vimentin และ E-cadherin ด้วยวิธีทางอิมมูโนพยาธิวิทยา ตามวิธีมาตรฐานที่ได้มีการกำหนดไว้แล้ว ด้วยเครื่อง Link 48, Dako, Denmark ใช้ Antibody สองชนิดคือ
 - Monoclonal Mouse anti-Human Vimentin, clone V9, RTU, Cat no; IR630, Dako Denmark
 - Monoclonal Mouse anti-Human E-cadherin, clone NCH-38, RTU, Cat no; IR059, Dako Denmark
 - 5.7. แปลผลการย้อมอิมมูโนพยาธิวิทยาด้วยพยาธิแพทย์เพียงคนเดียว มีขั้นตอนการแปลผลดังนี้
 - ประเมินสไลด์ที่เป็น H&E staining เพื่อดูตำแหน่งของชิ้นเนื้อที่พบว่ามีเซลล์มะเร็งอยู่ และจะแปลผลการย้อมติด vimentin และ E-cadherin จากบริเวณที่มีเซลล์มะเร็งเท่านั้น
 - ดูสไลด์ที่ย้อมอิมมูโนพยาธิวิทยา แปลผลเซลล์มะเร็งที่ย้อมติดสีน้ำตาล ในบริเวณ membrane staining สำหรับ E-cadherin และบริเวณ cytoplasmic staining สำหรับ vimentin การอ่านผลแบ่งเป็นสองส่วน คือ

- ความเข้มของการติดสีน้ำตาล (Intensity of staining) แบ่งระดับเป็น ไม่ติดสี (0) ติดจาง(1+) ติดปานกลาง (2+) และ ติดเข้ม (3+)
- ร้อยละของเซลล์มะเร็งที่ติดสีน้ำตาล (Percentage of staining) ในแต่ละความเข้ม
- แปลผลด้วยวิธี semiquantitative รายงานผลเป็น ผลย้อมเป็นบวก (positive) หรือลบ (negative) ซึ่งมีเกณฑ์ดังนี้ (รูปที่ 5) [25, 52]
- สำหรับ Vimentin ผลย้อมเป็นบวกเมื่อรวมจำนวนร้อยละของการติดสีน้ำตาลในทุกความเข้ม มีผลรวม $\geq 10\%$
- สำหรับ E-cadherin ผลย้อมเป็นบวกเมื่อรวมจำนวนร้อยละของการติดสีน้ำตาลเฉพาะความเข้ม 2+ และ 3+ มีผลรวม $\geq 40\%$
- กรณีที่มีการติดสีแต่ละบริเวณไม่เท่ากัน จะมีการบันทึกเป็นข้อสังเกตไว้ด้วย

3.5 การรวบรวมข้อมูล

- ข้อมูลทั้งหมดของผู้เข้ารับการศึกษาจะถูกบันทึกลงบนแบบบันทึกข้อมูลและจัดเก็บเข้าสู่ระบบคอมพิวเตอร์เพื่อจะนำไปวิเคราะห์ข้อมูลต่อ โดยผู้ทำการวิจัยจะเป็นผู้รวบรวม
- สรุปผลการวิจัย, วิจารณ์ผล และนำเสนอต่อคณะกรรมการวิจัย

3.6 ข้อจำกัดในการวิจัย

- เป็นการศึกษาแบบย้อนหลัง จึงมีปัญหาด้านความไม่ครบถ้วนของข้อมูล (missing data) เช่น ผู้ป่วยไม่ได้มาตรวจตามนัดหรือเวชระเบียนบางส่วนตามไม่ได้
- ปริมาณชิ้นเนื้ออาจไม่เพียงพอต่อการส่งย้อม Vimentin และ E-cadherin เช่น ชิ้นเนื้ออาจถูกนำไปใช้ตรวจอย่างอื่นหมดแล้ว ผู้ป่วยบางคนขอชิ้นเนื้อคืน หรือชิ้นเนื้อไม่มีเซลล์มะเร็งไม่เหมาะสมต่อการส่งย้อม

3.7 การเปิดเผยข้อมูลแสดงตัวตนของผู้ป่วย

การศึกษานี้วิเคราะห์ตามหลักของจริยธรรมการวิจัยในคน 3 ข้อ กล่าวคือ

1. Respect of person การเคารพความเป็นส่วนตัวและการเก็บรักษาความลับของข้อมูลของผู้เข้าร่วมวิจัย การวิจัยนี้เป็นการศึกษาจากเวชระเบียนและไม่มีติดต่อกับผู้เก็บข้อมูลโดยตรงจากผู้ป่วย ใช้รหัสแทนชื่อสกุลจริงซึ่งทำให้ไม่สามารถระบุได้ว่าข้อมูลที่ได้มาจากผู้ป่วย

คนไหน ข้อมูลจะถูกบันทึกในคอมพิวเตอร์ที่มีรหัสสำหรับเปิดเครื่อง สำหรับการวิเคราะห์ และนำเสนอข้อมูลจะใช้เป็นการแสดงผลแบบกลุ่ม ไม่เจาะจงผู้ป่วยเฉพาะราย

2. Beneficence and non-maleficence หลักการให้ประโยชน์และไม่ก่อให้เกิดอันตราย โดยผู้ป่วยจะไม่ได้รับประโยชน์โดยตรงจากวิจัยนี้ แต่เชื่อว่าข้อมูลที่ได้จะเป็นประโยชน์ในผู้ป่วยโรคมะเร็งปอดคนอื่นในอนาคต ข้อมูลจากวิจัยนี้อาจก่อให้เกิดความเสี่ยงต่อตัวผู้ป่วยเพียงเล็กน้อยคือความลับของผู้ป่วยอาจถูกเปิดเผยกับผู้ทำวิจัย แต่จะไม่เปิดเผยข้อมูลต่อผู้อื่นที่ไม่เกี่ยวข้อง
3. Justice หลักความยุติธรรม คือมีเกณฑ์ในการคัดเลือกและออกชัดเจน

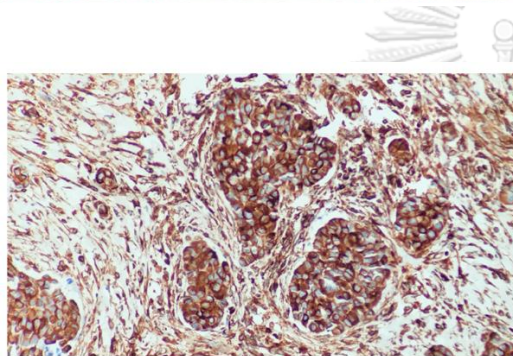
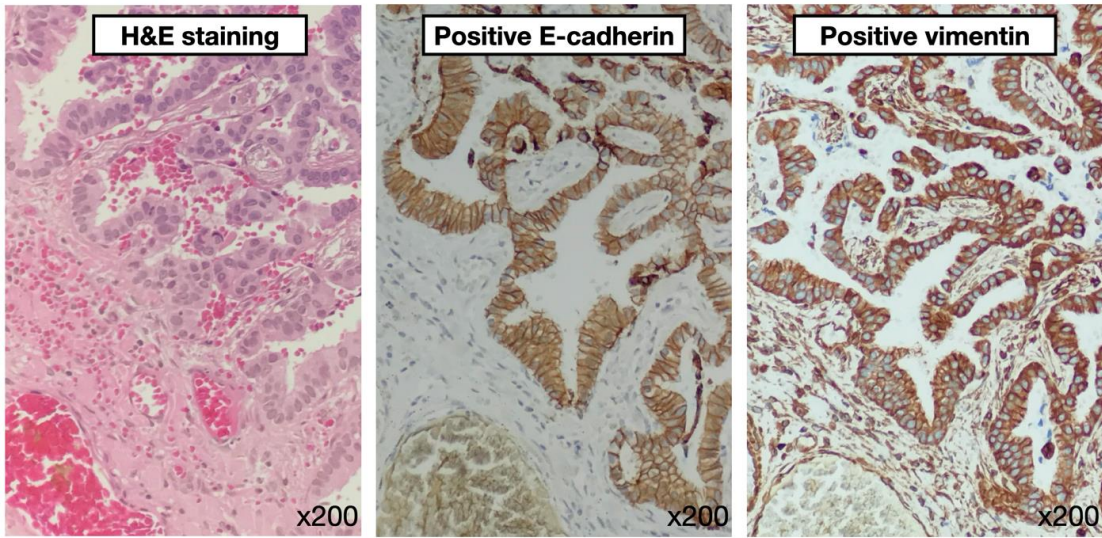
เมื่อพิจารณาถึงความเสี่ยงและประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ ผู้วิจัยจึงขอยกเว้นการขอความยินยอมจากผู้ป่วย ทั้งนี้ผู้วิจัยได้ขออนุญาตจากผู้อำนวยการโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์เพื่อใช้เวชระเบียนและเข้าถึงข้อมูลทางพยาธิวิทยา และได้ส่งให้คณะกรรมการจริยธรรมของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์เห็นชอบเป็นที่เรียบร้อยแล้ว (IRB No. 267/62)

3.8 การวิเคราะห์ข้อมูลและสถิติที่ใช้วิเคราะห์

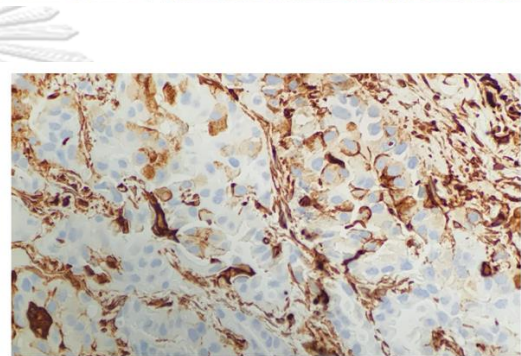
- ข้อมูลเชิงคุณภาพ (categorical variables) เช่น เพศ การสูบบุหรี่ ขนาดของก้อนมะเร็ง รายงานเป็นร้อยละหรือความถี่
- ข้อมูลเชิงปริมาณ (continuous variables) เช่น อายุ จำนวนต่อมน้ำเหลือง จำนวนอวัยวะที่มีโรคระบายไป แสดงผลเป็นค่าเฉลี่ย (mean) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation) สำหรับข้อมูลที่มีการกระจายแบบปกติ (normal distribution) ส่วนข้อมูลที่มีการกระจายไม่ปกติ รายงานผลเป็นค่ามัธยฐาน (median) และพิสัยควอไทล์ (interquartile range)
- ความแตกต่างของข้อมูลพื้นฐานผู้ป่วย (baseline characteristics) และความแตกต่างของการตรวจพบ vimentin และ e-cadherin ระหว่างกลุ่ม ใช้สถิติ Chi-square หรือ Fisher exact test สำหรับข้อมูลเชิงคุณภาพ และใช้ student T-test สำหรับข้อมูลเชิงปริมาณ
- ปัจจัยที่ส่งผลต่อการเกิดมะเร็งลุกลามไปสมอง ด้วยการวิเคราะห์การถดถอยเชิงเส้นเดี่ยว (Regression analysis) ของตัวแปรเดี่ยว (univariate) และหลายตัวแปร (multivariate) รายงานผลเป็น Odds ratio (OR) และ 95% confident interval (95% CI)

- การวิเคราะห์ระยะปลอดเหตุการณ์ (survival analysis) ใช้ two-sided log-rank test รายงานผลเป็น Hazard ratio (HR) และ 95% confident interval (95% CI) และแสดงกราฟด้วย Kaplan-Meier methods
- อุบัติการณ์การเกิดมะเร็งลุกลามไปสมองสะสม (cumulative incidence of BM) ในช่วงเวลาที่ผ่านไป เมื่อให้การตาย (death) เป็นปัจจัยแข่งขัน (competing risk) คำนวณโดยใช้สถิติ Competing risk regression analysis ด้วย Fine and Gray's sub-distribution hazard model
- กำหนดให้ p-value น้อยกว่า 0.05 ถือว่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
- ใช้โปรแกรม SPSS version 23.0 (SPSS Inc, Chicago, Illinois, USA) ในการประมวลผลข้อมูล ยกเว้น Cumulative incidence of BM และ Survival curves ใช้โปรแกรม Stata version 15.1 (StataCorp LLC, Texas, USA)

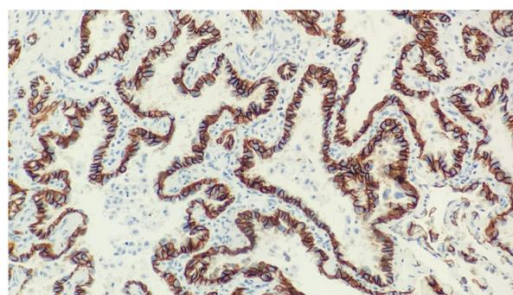




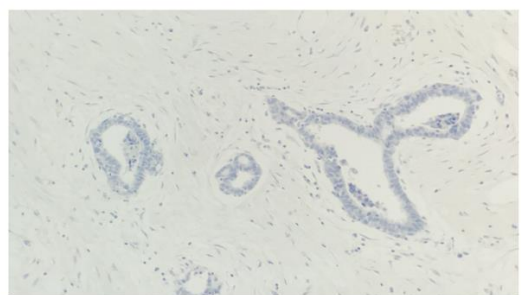
Vimentin					
ความเข้มของการติดสี				% รวม	แปลผล
0	1+	2+	3+		
0	5%	30%	65%	100%	Positive



Vimentin					
Staining intensity				% รวม	แปลผล
0	1+	2+	3+		
90%	5%	3%	2%	10%	Positive



E-cadherin					
ความเข้มของการติดสี				% รวมของ 2+, 3+	แปลผล
0	1+	2+	3+		
0	0%	0%	100%	100%	Positive



E-cadherin					
ความเข้มของการติดสี				% รวมของ 2+, 3+	แปลผล
0	1+	2+	3+		
100%	0%	0%	0%	0%	Negative

รูปที่ 5 ตัวอย่างการประเมินผลการย้อมติด E-cadherin และ Vimentin

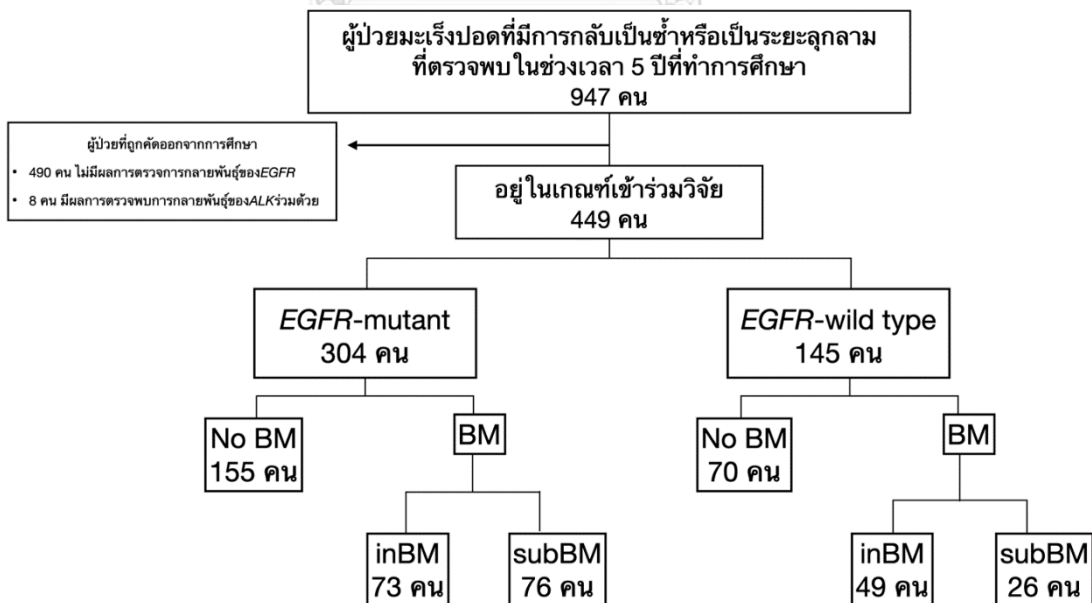
บทที่ 4

ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

4.1 ประชากรที่นำมาศึกษาและอุบัติการณ์มะเร็งปอดกระจายไปสมอง

ตั้งแต่วันที่ 1 มกราคม 2556 ถึง 31 ธันวาคม 2560 มีผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยเป็นมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กแบบกลับเป็นซ้ำ (recurrent) และระยะลุกลาม (M1) ที่เข้ารับการรักษาที่รพ. จุฬาลงกรณ์ทั้งสิ้น 947 ราย ถูกคัดออกจากการศึกษาเพราะไม่มีผลการตรวจการกลายพันธุ์ของ *EGFR* 490 ราย และคัดออก 8 รายเพราะมีการกลายพันธุ์ของ *ALK* ร่วมด้วย เหลือผู้ป่วยอยู่ในเกณฑ์การเข้าร่วมวิจัยจำนวนทั้งหมด 449 ราย ในจำนวนนี้ตรวจพบผู้ป่วยที่มีการกลายพันธุ์ของ *EGFR* 304 ราย (67.7%) และไม่พบการกลายพันธุ์ (*EGFR* wild type) 145 ราย (29.1%) พบการกระจายของมะเร็งปอดไปสมองใกล้เคียงกันในทั้งสองกลุ่ม (*EGFR* mutation 149 ราย, 49.0% และ *EGFR* wild type 75 ราย, 51.7%) (รูปที่ 6)

เก็บข้อมูลสิ้นสุดวันที่ 31 ธันวาคม 2562 คิระยะเวลาเฉลี่ยในการติดตามผู้ป่วยเท่ากับ 22.7 เดือน (95% CI, 21.19 - 24.32) เมื่อสิ้นสุดการติดตามพบว่าผู้ป่วยที่ยังมีชีวิตอยู่ทั้งหมด 98 ราย (21.8%) ในจำนวนผู้ป่วยทั้ง 449 รายที่ศึกษา พบว่า 122 ราย (27.2%) มีมะเร็งกระจายไปสมอง ตั้งแต่แรกวินิจฉัย (initial BM) และ 102 ราย (22.7%) เกิดมะเร็งกระจายไปสมองในภายหลัง (subsequent BM) (รูปที่ 7)



รูปที่ 6 แผนผังผู้ป่วยที่อยู่ในการวิจัย (Flow of the study)

4.2 ข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วย

ข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยทั้ง 449 ราย แสดงในตารางที่ 4 ผู้ป่วยมีอายุเฉลี่ย 62.5 ปี (ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 11.7 ปี) ส่วนใหญ่เป็นเพศหญิง (55.7%) มีความสามารถในการใช้ชีวิตประจำวัน ระดับ 0 ถึง 1 (86.8%) ไม่เคยสูบบุหรี่ (64.5%) เป็นมะเร็งปอดชนิดอะดีโน (90.6%) ตรวจพบเป็นโรคระยะแพร่กระจาย (76.2%) มีจำนวนอวัยวะที่โรคกระจายไป 1-2 แห่ง (78.9%) และผู้ป่วย 72% ได้รับการรักษาด้วยยา (systemic treatment) 1-2 สูตร

ผู้ป่วย 304 รายที่มีการกลายพันธุ์ของ *EGFR* พบว่า 91.1% เป็นการกลายพันธุ์ชนิดที่พบบ่อย (exon 19 deletion และ exon 21 L858R) และผู้ป่วยส่วนใหญ่ (88.2%) ได้รับการรักษาด้วยยามุ่งเป้า *EGFR*-TKIs (ไม่ว่าจะได้รับเป็นยาสูตรแรกหรือสูตรหลัง) (ตารางที่ 4, ภาคผนวก ข ตารางผนวกที่ 1)

ตารางที่ 4 ข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยมะเร็งปอดทั้งหมดในการศึกษา เมื่อเปรียบเทียบระหว่างไม่มีBM, initial BM และ subsequent BM (N=449)

ลักษณะทางคลินิกและพยาธิวิทยา	ทั้งหมด (N = 449)	No BM (N = 225)	inBM (N = 122)	subBM (N = 102)	P values
อายุ, n (%)					0.003*
Mean +/-SD	62.5 +/-11.7	64.9 +/-11.4	60.0 +/-11.7	60.5 +/-11.5	
<60 years	177 (39.4%)	71 (40.1%)	58 (32.8%)	48 (27.1%)	
≥60 years	272 (60.6%)	154 (56.6%)	64 (23.5%)	54 (19.9%)	
เพศ, n (%)					0.213
Male	199 (44.3%)	91 (45.7%)	61 (30.7%)	47 (23.6%)	
Female	250 (55.7%)	134 (53.6%)	61 (24.4%)	55 (22.0%)	
ECOG PS, n (%)					0.004*
0-1	363 (86.8%)	190 (52.3%)	95 (26.2%)	78 (21.5%)	
≥2	55 (13.2%)	26 (47.3%)	20 (36.4%)	9 (16.4%)	
missing	31	9	7	15	
สูบบุหรี่, n (%)					0.054
Never	247 (64.5%)	135 (54.7%)	63 (25.5%)	49 (19.8%)	
Current/former	136 (35.5%)	60 (44.1%)	45 (33.1%)	31 (22.8%)	
missing	66	30	14	22	
Histology, n (%)					0.055
ADC	407 (90.6%)	209 (51.4%)	104 (25.6%)	94 (23.1%)	
Non ADC	42 (9.4%)	16 (38.1%)	18 (42.9%)	8 (19.0%)	

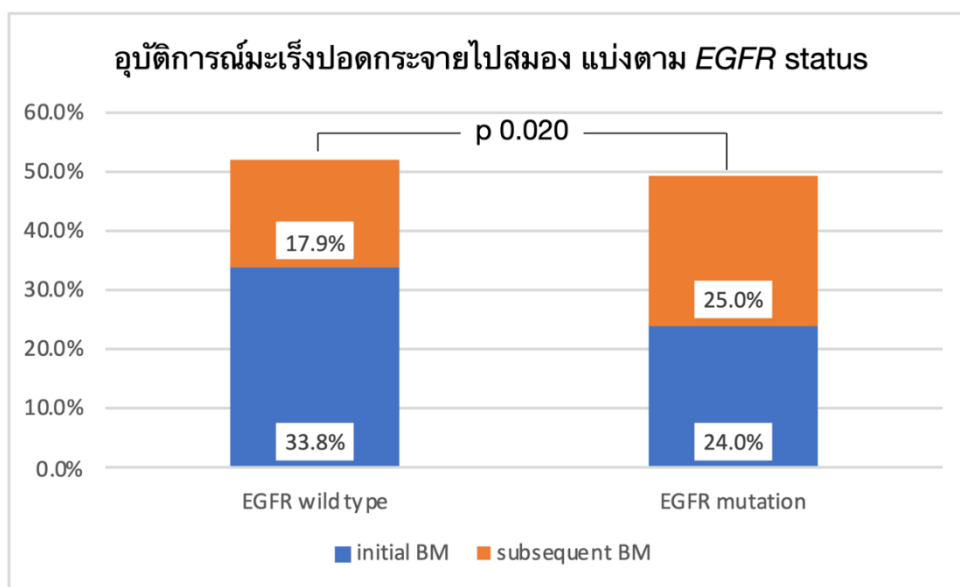
ลักษณะทางคลินิกและ พยาธิวิทยา	ทั้งหมด (N = 449)	No BM (N = 225)	inBM (N = 122)	subBM (N = 102)	P values
Stage at diagnosis, n (%)					0.334
Recurrent	107 (23.8%)	60 (56.1%)	27 (25.2%)	20 (18.7%)	
M1	342 (76.2%)	165 (48.2%)	95 (27.8%)	82 (24.0%)	
T stage, n (%)					0.712
T1-2	214 (55.0%)	103 (48.1%)	61 (28.5%)	50 (23.4%)	
T3-4	175 (45.0%)	88 (50.3%)	49 (28.0%)	38 (21.7%)	
missing	60	34	12	14	
N stage					0.245
N0-1	134 (36.8%)	69 (51.5%)	41 (30.6%)	24 (17.9%)	
N2-3	230 (63.2%)	108 (47.0%)	64 (27.8%)	58 (25.2%)	
missing	85	48	17	20	
จำนวนอวัยวะที่โรคกระจาย ไป, n (%)					<0.001*
1-2 sites	351 (78.9%)	184 (52.4%)	80 (22.8%)	87 (24.8%)	
≥3 sites	94 (21.1%)	41 (43.6%)	38 (40.4%)	15 (16.0%)	
missing	4	0	4	0	
EGFR status, n (%)					0.056
Wild type	145 (32.3%)	70 (48.3%)	49 (33.8%)	26 (17.9%)	
Mutation	304 (67.7%)	155 (51.0%)	73 (24.0%)	76 (25.0%)	
EGFR subtypes, n (%)					0.029*
Common	277 (91.1%)	146 (52.7%)	61 (22.0%)	70 (25.3%)	
Uncommon	27 (8.9%)	9 (33.3%)	12 (44.4%)	6 (22.2%)	
TKI treatment, n (%)					0.462
No	36 (11.8%)	20 (55.6%)	10 (27.8%)	6 (16.7%)	
Yes	268 (88.2%)	135 (50.4%)	63 (23.5%)	70 (26.1%)	

BM = brain metastasis, inBM = initial BM, subBM = subsequent BM,

ADC = Adenocarcinoma

แม้ว่าในภาพรวมอุบัติการณ์ของการเกิดมะเร็งกระจายไปสมองไม่ต่างกันระหว่างผู้ป่วย
EGFR mutation และ EGFR wild type (49% และ 51.7% ตามลำดับ; OR 0.89, 95% CI, 0.60-
1.33, $p=0.59$) แต่ผู้ป่วย EGFR mutation มีแนวโน้มเกิดมะเร็งกระจายไปสมองในภายหลัง
(subsequent BM) มากกว่า EGFR wild type (25% และ 17.9% ตามลำดับ; OR 1.32, 95% CI,

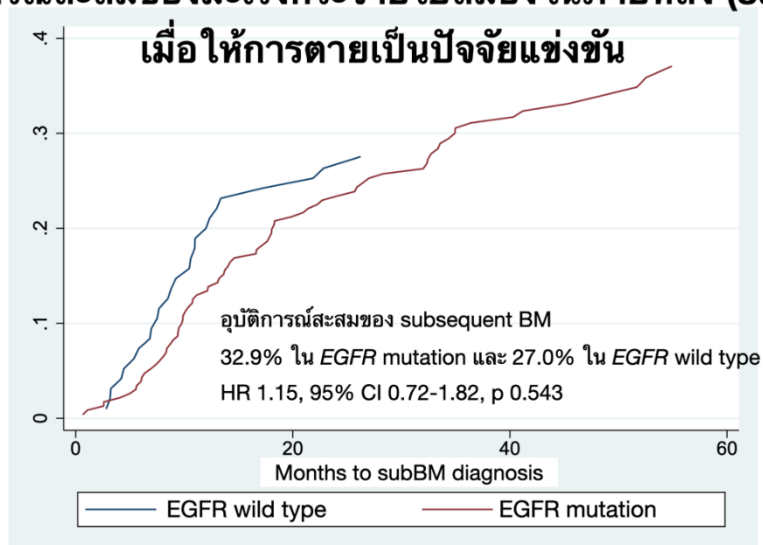
0.77-2.23, $p=0.302$) และมีแนวโน้มว่าผู้ป่วย *EGFR* mutation เกิดมะเร็งกระจายไปสมองตั้งแต่แรก (initial BM) น้อยกว่า *EGFR* wild type (24% และ 33.8% ตามลำดับ; OR 0.67; 95% CI, 0.42-1.06) ($p=0.091$) (รูปที่ 7, ภาคผนวก ข ตารางผนวกที่ 2-3)



รูปที่ 7 อุบัติการณ์ของมะเร็งกระจายไปสมอง ตาม *EGFR* status

อย่างไรก็ตาม มีข้อมูลมาก่อนหน้านี้แล้วว่าผู้ป่วย *EGFR* mutation มีอายุที่ยืนยาวกว่า *EGFR* wild type เพื่อเปรียบเทียบว่าการเกิด subsequent BM เป็นผลจากการมีชีวิตอยู่ยาวนานกว่าหรือไม่ จึงได้คำนวณโดยใช้ time-to-event analysis เพื่อหาอุบัติการณ์สะสมของการเกิด subsequent BM เมื่อให้การตาย (death) เป็นปัจจัยแข่งขัน (competing risk) ด้วยวิธี Fine and Gray's sub-distribution hazard model ผลพบว่าอุบัติการณ์สะสมของการเกิด subsequent BM ใน *EGFR* mutation ยังคงสูงกว่า *EGFR* wild type (32.9% และ 27.0% ตามลำดับ, HR 1.15; 95% CI, 0.72-1.82, $p=0.543$), (รูปที่ 8)

อุบัติการณ์สะสมของมะเร็งกระจายไปสมองในภายหลัง (subBM)



รูปที่ 8 กราฟแสดงอุบัติการณ์สะสมของ subsequent BM เมื่อให้การตาย (death) เป็น competing risk ระหว่างผู้ป่วย EGFR mutation และ EGFR wild type

4.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดมะเร็งกระจายไปสมองในผู้ป่วยทั้งหมดที่ศึกษา (N=449)

เมื่อนำปัจจัยทางคลินิกและพยาธิวิทยาของผู้ป่วย (clinicopathological factors) มาหาความสัมพันธ์ในการเกิดมะเร็งกระจายไปสมองด้วยการวิเคราะห์การถดถอยเชิงเส้นเดียว (Regression analysis) จากการวิเคราะห์ตัวแปรเดียว (univariate analysis) พบปัจจัยที่สัมพันธ์คือ อายุ <60 ปี และการสูบบุหรี่ (current and/or former smoker) (OR 1.94; 95% CI, 1.32-2.86, $p=0.001$ และ OR 1.52, 95% CI, 1.00-2.32, $p=0.049$, ตามลำดับ) จึงนำมาวิเคราะห์แบบหลายตัวแปร (multivariate analysis) พบว่าเฉพาะ อายุ <60 ปี (OR 1.89, 95% CI, 1.24-2.86) มีความสัมพันธ์ต่อการเกิดมะเร็งกระจายไปสมองอย่างมีนัยยะสำคัญทางสถิติ ($p=0.003$) (ภาคผนวก ข ตารางผนวกที่ 2)

เนื่องจากโรคมะเร็งปอดมีความหลากหลายระหว่างผู้ป่วยซึ่งอาจส่งผลต่อการเกิดมะเร็งกระจายไปสมองได้ต่างกัน และอุบัติการณ์ subsequent BM ก็ต่างกันระหว่างกลุ่มที่มีและไม่มีการกลายพันธุ์ของ EGFR เราจึงได้วิเคราะห์หาความสัมพันธ์ของการเกิด initial BM (inBM เทียบกับ no BM) และ subsequent BM (subBM เทียบกับ no BM) แยกกัน และพบว่าปัจจัยที่สัมพันธ์กับการเกิด initial BM ประกอบไปด้วย อายุ <60 ปี (OR 1.96, 95% CI, 1.24-3.09, $p=0.003$) มะเร็งชนิดไม่ใช่อะดีโน (OR 2.26, 95% CI, 1.10-4.61, $p=0.025$) และมีโรคกระจายไปหลายอวัยวะ (≥ 3

อวัยวะ) (OR 2.13, 95% CI, 1.27-3.56, $p=0.004$) ในขณะที่พบเพียงปัจจัยเดียวที่สัมพันธ์ต่อการเกิด subsequent BM คือ อายุ <60 ปี (ภาคผนวก ข ตารางผนวกที่ 3)

4.4 ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดมะเร็งกระจายไปสมองในผู้ป่วยที่มีการกลายพันธุ์ของ *EGFR* (N=304)

หลังจากติดตามผู้ป่วยที่มีการกลายพันธุ์ของ *EGFR* เป็นระยะเวลาเฉลี่ย 22.53 เดือน (95% CI, 23.78 – 27.48) พบว่ามี initial BM 73 ราย (24%) และ subsequent BM 76 ราย (25%)

ในการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ถดถอยแบบตัวแปรเดียวพบว่าปัจจัยที่สัมพันธ์ต่อการเกิดมะเร็งกระจายไปสมอง ประกอบไปด้วย อายุ <60 ปี (OR 2.74, 95% CI, 1.69-4.43, $p<0.001$) เป็นโรคในระยะแพร่กระจาย (M1) (OR 1.91, 95% CI, 1.05-3.45, $p=0.032$) และมีโรคกระจายไป ≥ 3 อวัยวะ (OR 1.69, 95% CI, 0.99-2.87, $p=0.05$) แต่เมื่อนำไปวิเคราะห์หลายตัวแปร พบว่า อายุ <60 ปี เป็นเพียงปัจจัยเดียวที่สัมพันธ์ต่อการเกิด มะเร็งกระจายไปสมองอย่างมีนัยยะสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 5, ภาคผนวก ข ตารางผนวกที่ 1)

ผู้ป่วยมะเร็งปอดที่มีการกลายพันธุ์ของ *EGFR* มีลักษณะทางคลินิกและพยาธิวิทยาหลายอย่างที่ต่างกันระหว่าง initial BM และ subsequent BM (ภาคผนวก ข ตารางผนวกที่ 1) การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรเดียวแสดงให้เห็นปัจจัยที่สัมพันธ์ต่อ initial BM คือ อายุ <60 ปี (OR 2.85, 95% CI, 1.59-5.11, $p<0.001$), มะเร็งที่ไม่ใช่อะดีโน (OR 3.49, 95% CI, 1.19-10.21, $p=0.022$) มีการกระจายของโรค ≥ 3 อวัยวะ (OR 3.02, 95% CI, 1.64-5.56, $p<0.001$) และเป็นการกลายพันธุ์ของ *EGFR* ชนิดที่พบไม่บ่อย (uncommon mutation) (OR 3.19, 95% CI, 1.27-7.96, $p=0.013$) เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์หลายตัวแปร พบว่า ผู้ป่วยอายุน้อย (<60 ปี) และ โรคกระจายไปหลายอวัยวะ (≥ 3 อวัยวะ) ยังคงเป็นปัจจัยที่สัมพันธ์ต่อการเกิด initial BM อย่างมีนัยยะสำคัญทางสถิติ ในขณะที่พบเพียงปัจจัยเดียวที่สัมพันธ์ต่อ subsequent BM นั่นคือ อายุ <60 ปี (OR 2.63, 95% CI, 1.47-4.69, $p=0.001$) (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 5 ปัจจัยที่มีผลต่อการกระจายของมะเร็งปอดไปสมองในผู้ป่วยที่มีการกลายพันธุ์ของ *EGFR* เมื่อวิเคราะห์ถดถอยเชิงเส้นเดียว (Regression analysis) ของตัวแปรเดียว (univariate) และหลายตัวแปร (multivariate) (N=304)

Covariate#	Univariate		Multivariate	
	OR (95% CI)	P value	OR (95% CI)	P value
อายุ (<60/ ≥60)	2.74 (1.69 – 4.43)	<0.001*	2.74 (1.67 – 4.49)	<0.001*
เพศ (ชาย/ หญิง)	1.26 (0.78 – 2.03)	0.331		
ECOG PS (≥2/ 0-1)	1.44 (0.72 – 2.86)	0.295		
สูบบุหรี่ (current-former/ never)	1.20 (0.67 – 2.15)	0.522		
Histology (Non-ADC/ ADC)	2.37 (0.87 – 6.42)	0.089	1.99 (0.69 – 5.70)	0.199
ระยะของโรค (M1/ M0)	1.91 (1.05 – 3.45)	0.032*	1.83 (0.98 – 3.41)	0.058
T stage (T3-4/ T1-2)	1.03 (0.62 – 1.70)	0.899		
N stage (N2-3/ N0-1)	1.32 (0.77 – 2.24)	0.305		
จำนวนอวัยวะที่โรคกระจายไป (≥3/<3)	1.69 (0.99 – 2.87)	0.050*	1.65 (0.95 – 2.87)	0.075
<i>EGFR</i> subtypes (uncommon/common)	2.22 (0.96 – 5.13)	0.060	1.95 (0.80 – 4.73)	0.137

#ปัจจัยที่อยู่ด้านหลังเครื่องหมาย slash (/) คือปัจจัยที่ไว้เป็นตัวเปรียบเทียบ,

ADC = Adenocarcinoma

ตารางที่ 6 ปัจจัยที่มีผลต่อการกระจายของมะเร็งปอดไปสมองในผู้ป่วยที่มีการกลายพันธุ์ของ *EGFR* เมื่อวิเคราะห์แยกตามระยะเวลาการเกิดมะเร็งกระจายไปสมอง

Covariate#	inBM เทียบกับ No BM		subBM เทียบกับ No BM	
	Univariate	Multivariate	Univariate	Multivariate
อายุ (<60/ ≥60)	OR 2.85 (1.59-5.11) P<0.001*	OR 2.81 (1.51-5.24) P 0.001*	OR 2.63 (1.48-4.68) P 0.001*	OR 2.63 (1.47-4.69) P 0.001*
เพศ (ชาย/ หญิง)	OR 1.27 (0.70-2.27) P 0.422		OR 0.79 (0.44-1.41) P 0.429	
ECOG PS (≥2/ 0-1)	OR 1.80 (0.82-3.95) P 0.142		OR 1.09 (0.44-2.66) P 0.851	

Covariate#	inBM เทียบกับ No BM		subBM เทียบกับ No BM	
	Univariate	Multivariate	Univariate	Multivariate
สูบบุหรี่ (current-former/ never)	OR 1.12 (0.55-2.28) P 0.753		OR 1.30 (0.64-2.63) P 0.460	
Histology (Non-ADC/ ADC)	OR 3.49 (1.19-10.21) P 0.022*	OR 2.55 (0.76-8.49) P 0.127	OR 1.38 (0.37-5.04) P 0.626	
ระยะของโรค (M1/ M0)	OR 1.97 (0.92-4.23) P 0.080	OR 2.03 (0.87-4.72) P 0.1	OR 1.85 (0.88-4.87) P 0.101	OR 1.84 (0.86-3.92) P 0.111
T stage (T3-4/ T1-2)	OR 0.96 (0.52-1.78) P 0.917		OR 1.10 (0.59-2.02) P 0.755	
N stage (N2-3/ N0-1)	OR 1.20 (0.63-2.31) P 0.568		OR 1.44 (0.78-2.78) P 0.274	
จำนวนอวัยวะที่โรค กระจายไป (≥ 3 / < 3)	OR 3.02 (1.64-5.56) P <0.001*	OR 3.00 (1.57-5.74) P 0.001*	OR 0.82 (0.40-1.68) P 0.599	
<i>EGFR</i> subtypes (uncommon/common)	OR 3.19 (1.27-7.96) P 0.013*	OR 2.36 (0.85-6.57) P 0.098	OR 1.39 (0.47-4.06) P 0.547	

#ปัจจัยที่อยู่ด้านหลังเครื่องหมาย slash (/) คือปัจจัยที่ไว้เป็นตัวเปรียบเทียบ,

ADC = Adenocarcinoma

4.5 การรักษาที่ผู้ป่วยได้รับและผลต่อการเกิด subsequent BM (N=231)

จากผลการศึกษาข้อ 4.4 จะเห็นได้ว่ามีเพียงปัจจัยอายุน้อย (<60ปี) ที่สัมพันธ์กับการเกิด subsequent BM ในผู้ป่วยที่มี *EGFR* mutation เพื่อวิเคราะห์เพิ่มเติมว่าการเกิด subsequent BM เป็นผลมาจากการมี *EGFR* mutation หรือเป็นจากผู้ป่วยกลุ่มนี้มีอายุชั้ยยาวนานกว่า จึงมีโอกาสเกิด subsequent BM ได้มากกว่า เราจึงได้นำปัจจัยด้านการรักษาที่ผู้ป่วยได้รับมารวมวิเคราะห์ด้วย และ คัดผู้ป่วยที่เป็น initial BM ออกไป เหลือผู้ป่วยทั้งหมด 231 ราย

จากผู้ป่วย 231 ราย พบว่ามีผู้ป่วยจำนวน 222 ราย (96%) ที่ได้รับการรักษาด้วยยา (systemic treatment) ในจำนวนนี้มีผู้ป่วยที่ได้รับยามุ่งเป้า *EGFR*-TKIs 205 ราย (92.3%)

ประกอบไปด้วย 141 ราย (68.7%) ที่ได้รับยามุ่งเป้า *EGFR*-TKIs เป็นยาแรกในการรักษา (first line systemic treatment)

หลังจากที่โรคไม่ตอบสนองต่อ *EGFR*-TKIs ตัวแรกที่ได้รับ การรักษาที่มีข้อมูลดีที่สุดคือการตรวจหาการกลายพันธุ์ของ T790M เพื่อดูความเหมาะสมในการใช้ *EGFR*-TKIs ตัวต่อไป[53] ในการศึกษาพบว่ามีผู้ป่วย 125 ราย (41.1%) ที่ไม่ตอบสนองต่อยามุ่งเป้าตัวแรกแล้วได้รับการตรวจเพื่อหาการกลายพันธุ์ของ T790M และตรวจพบการกลายพันธุ์นี้ในผู้ป่วย 63 ราย (50.4%) และมีผู้ป่วยทั้งสิ้น 65 รายที่ได้รับการรักษาด้วย osimertinib (3rd generation of *EGFR* TKIs) หลังจากไม่ตอบสนองต่อ *EGFR*-TKIs ตัวแรก (ภาคผนวก ข ตารางผนวกที่ 1)

จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ถดถอยตัวแปรเดียว โดยเอาปัจจัยด้านการรักษาที่ผู้ป่วยได้รับไปคิดร่วมด้วย พบปัจจัยที่สัมพันธ์กับการเกิด subsequent BM คือ อายุ <60 ปี (OR 2.63, 95% CI, 1.48-4.68, $p=0.001$), การได้รับการรักษา ≥ 3 สูตรยา (OR 2.84, 95% CI 1.58-5.12, $p<0.001$) และการไม่ได้รับ *EGFR*-TKIs เป็นยาสูตรแรก (OR 2.30, 95% CI, 1.25-4.23, $p=0.007$) เมื่อนำมาวิเคราะห์หลายตัวแปร พบว่า อายุ ≥ 60 ปี ยังคงเป็นปัจจัยที่สัมพันธ์ต่อการเกิด subsequent BM (OR 3.22, 95% CI, 1.68-6.15, $p<0.001$) (ตารางที่ 7)

ตารางที่ 7 ความสัมพันธ์ระหว่างการรักษาที่ผู้ป่วยได้รับกับการเกิด subsequent BM ในผู้ป่วยที่มีการกลายพันธุ์ของ *EGFR* (เมื่อคัดผู้ป่วย initial BM ออกไป) (N=231)

Covariate#	Univariate		Multivariate	
	OR (95% CI)	P value	OR (95% CI)	P value
อายุ (<60/ ≥ 60)	2.63 (1.48 – 4.68)	0.001*	3.22 (1.68-6.15)	<0.001*
เพศ (ชาย/ หญิง)	0.79 (0.44 – 1.41)	0.429		
ECOG PS (≥ 2 / 0-1)	1.09 (0.44 – 2.66)	0.851		
สูบบุหรี่ (current-former/ never)	1.30 (0.64 – 2.63)	0.460		
Histology (Non-ADC/ ADC)	1.38 (0.37 – 5.04)	0.626		
ระยะของโรค (M1/ M0)	1.85 (0.88 – 4.87)	0.101	1.58 (0.71-3.53)	0.257
T stage (T3-4/ T1-2)	1.10 (0.59 – 2.02)	0.755		
N stage (N2-3/ N0-1)	1.44 (0.78 – 2.78)	0.274		
จำนวนอวัยวะที่โรคกระจายไป(≥ 3 / <3)	0.82 (0.40 – 1.68)	0.599		
<i>EGFR</i> subtypes (uncommon/common)	1.39 (0.47 – 4.06)	0.547		
จำนวนการรักษาที่ได้ (≥ 3 /1-2)	2.84 (1.58 – 5.12)	<0.001*	1.82 (0.89-3.73)	0.101
TKIs (yes/no)	1.72 (0.66 – 4.50)	0.262		
ได้ TKIs เป็นการรักษาแรก (no/yes)	2.30 (1.25 – 4.23)	0.007*	1.77 (0.86-3.67)	0.119

4.6 ผลการวิเคราะห์ตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ EMT กับการเกิดมะเร็งกระจายไปสมอง (N=190)

ได้ทำการวิเคราะห์หาตัวบ่งชี้ EMT โดยการย้อมอิมมูโนพยาธิวิทยาของ E-cadherin และ vimentin จากที่คำนวณขนาดตัวอย่างไว้ทั้งหมด 232 ราย พบว่ามีขึ้นเนื้อจากผู้ป่วยทั้งหมด 190 ราย (79%) ที่สามารถนำมาวิเคราะห์ต่อได้ สาเหตุที่ขึ้นเนื้อไม่ครบประกอบไปด้วย ไม่ได้เก็บชิ้นเนื้อไว้ที่รพ.จุฬาลงกรณ์ตั้งแต่แรก มีการยืมชิ้นเนื้อออกไปจากหน่วยพยาธิวิทยา และบางรายเกิดจากชิ้นเนื้อ มีปริมาณเซลล์มะเร็งไม่เพียงพอต่อการแปลผลย้อม

ตำแหน่งของชิ้นเนื้อจากผู้ป่วยทั้ง 190 ราย มาจาก ปอด 113 ราย (60%) สมอง 11 ราย (6%) และตำแหน่งอื่น ๆ 66 ราย (34%) ประกอบไปด้วยชิ้นเนื้อจากผู้ป่วย *EGFR* mutation 121 ราย (72% จากที่คำนวณไว้) และ *EGFR* wild type 69 ราย (ครบ 100% ตามที่คำนวณไว้)

ผลการวิเคราะห์พบว่า จากชิ้นเนื้อที่ส่งตรวจทั้งหมด ตรวจพบการย้อมติด vimentin จำนวน 83 ราย (43.6%) และผู้ป่วยที่มีมะเร็งกระจายไปสมอง พบ vimentin มากกว่าผู้ป่วยที่ไม่มีมะเร็งกระจายไปสมอง (52 ราย, 53.6% และ 31 ราย, 33.3% ตามลำดับ) ในขณะที่ตรวจพบ vimentin ได้ใกล้เคียงกันเมื่อแบ่งตามการกลายพันธุ์ของ *EGFR* (49 ราย, 40.5% ในกลุ่ม *EGFR* mutation และ 34 ราย, 49.3% ในกลุ่ม *EGFR* wild type) ผู้ป่วย *EGFR* mutation และมีมะเร็งกระจายไปสมองพบการย้อมติด vimentin มากกว่าผู้ป่วยที่ไม่มีมะเร็งกระจายไปสมอง (33 ราย, 67.4% และ 16 ราย, 32.6% ตามลำดับ, $p=0.006$) แต่ความสัมพันธ์ระหว่างการย้อมติด vimentin และการมีมะเร็งกระจายไปสมองไม่ต่างกันในกลุ่มผู้ป่วย *EGFR* wild type (ตารางที่ 8)

ในการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์แบบถดถอย (regression analysis) ของการเกิดมะเร็งกระจายไปสมอง ได้เอาการย้อมติด vimentin ไปคำนวณร่วมกับปัจจัยทางคลินิกและพยาธิวิทยา ลักษณะพื้นฐานของผู้ป่วยทั้ง 190 รายนี้ใกล้เคียงกับลักษณะพื้นฐานของประชากรทั้งหมดที่อยู่ในการศึกษา

ในผู้ป่วยที่มีการกลายพันธุ์ของ *EGFR* และมีผลตรวจ vimentin จำนวน 121 ราย พบว่าการย้อมติด vimentin สัมพันธ์กับการเกิดมะเร็งกระจายไปสมอง (OR 2.88, 95% CI, 1.35-6.16; $p=0.006$) ทั้งแบบ initial BM (OR 3.00, 95% CI, 1.19-7.52, $p=0.019$) และ subsequent BM (OR 2.78, 95% CI, 1.14-6.81, $p=0.024$) (ตารางที่ 9) เมื่อนำปัจจัยทางคลินิกและพยาธิวิทยา มาร่วมวิเคราะห์ใน multivariate analysis ยังคงพบว่า vimentin สัมพันธ์กับการเกิดมะเร็งกระจายไปสมองอย่างมีนัยยะสำคัญทางสถิติ (OR 2.79, 95% CI, 1.12-6.95, $p=0.027$) (ตารางที่ 9) การแสดงออกของ vimentin จึงเป็นตัวบ่งชี้ที่สำคัญต่อการเกิดมะเร็งกระจายไปสมองในผู้ป่วยที่มีการกลายพันธุ์ของ *EGFR* และอาจนำ vimentin มาเป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ (biomarker) ในการพยากรณ์การเกิดมะเร็งกระจายไปสมองในผู้ป่วยกลุ่มนี้ได้

สำหรับ E-cadherin พบว่ามีผู้ป่วยเพียง 3 ราย (2%) เท่านั้นที่ย้อมไม่ติด และในผู้ป่วยที่ต่อมติด E-cadherin ทั้ง 187 ราย (98%) ย้อมติดที่ความเข้ม 3+ ทั้ง 100% ของเซลล์มะเร็ง จึงไม่นำผลมาคำนวณต่อ

ตารางที่ 8 ผลการตรวจ Vimentin จำแนกตาม EGFR status และ BM status

Vimentin expression, n (%)	All (N = 190)	EGFR mutation (N=121)		EGFR wild type (N=69)	
		BM (N=63)	No BM (N=58)	BM (N=34)	No BM (N=35)
Positive	83 (47.9)	33/49 (67.4)	16/49 (32.6)	19/34 (55.9)	15/34 (44.1)
Negative	107 (52.1)	30/72 (41.6)	42/72 (58.4)	15/35 (42.9)	20/35 (57.1)
P value		P = 0.006*		P = 0.279	

BM: Brain metastases

ตารางที่ 9 ความสัมพันธ์ระหว่างการตรวจพบ Vimentin และการเกิดมะเร็งกระจายไปสมองในผู้ป่วยที่มีการกลายพันธุ์ของ EGFR (N=121)

Overall BM occurrence Covariate#	Univariate		Multivariate	
	OR (95% CI)	P value	OR (95% CI)	P value
อายุ (<60/ ≥60)	2.51 (1.15-5.48)	0.021*	2.71 (1.16-6.30)	0.020*
เพศ (ชาย/ หญิง)	1.68 (0.76-3.73)	0.197		
ECOG PS (≥2/ 0-1)	2.03 (0.77-5.31)	0.147		
สูบบุหรี่ (current-former/ never)	1.46 (0.55-3.84)	0.436		
Histology (Non-ADC/ ADC)	2.85 (0.28-28.20)	0.370		
ระยะของโรค (M1/ M0)	2.48 (1.06-5.80)	0.035*	1.65 (0.65-4.16)	0.283
T stage (T3-4/ T1-2)	1.29 (0.59-2.83)	0.519		
N stage (N2-3/ N0-1)	1.41 (0.63-3.16)	0.396		
จำนวนอวัยวะที่โรคกระจายไป (≥3/<3)	3.12 (1.25-7.77)	0.014*	3.27 (1.21-8.77)	0.019*
EGFR subtypes (uncommon/common)	1.16 (0.29-4.56)	0.828		
Vimentin (+/-)	2.88 (1.35-6.16)	0.006*	2.53 (1.11-5.77)	0.027*

Initial BM occurrence Covariate#	Univariate		Multivariate	
	OR (95% CI)	P value	OR (95% CI)	P value
อายุ (<60/ ≥60)	2.75 (1.07-7.01)	0.034*	3.06 (1.02-9.18)	0.045*
เพศ (ชาย/ หญิง)	2.09 (0.81-5.39)	0.125		
ECOG PS (≥2/ 0-1)	1.90 (0.61-5.87)	0.264		
สูบบุหรี่ (current-former/ never)	1.46 (0.46-4.68)	0.518		
Histology (Non-ADC/ ADC)	4.07 (0.35-46.83)	0.260		
ระยะของโรค (M1/ M0)	2.63 (0.87-7.92)	0.085	1.40 (0.39-5.07)	0.600
T stage (T3-4/ T1-2)	1.34 (0.52-3.46)	0.538		
N stage (N2-3/ N0-1)	1.33 (0.49-3.60)	0.570		
จำนวนอวัยวะที่โรคกระจายไป (≥3/<3)	6.25 (2.22-17.57)	0.001*	7.56 (2.35-24.27)	0.001*
EGFR subtypes (uncommon/common)	2.07 (0.48-8.96)	0.327		
Vimentin (+/-)	3.00 (1.19-7.52)	0.019*	2.69 (0.88-8.17)	0.080
Subsequent BM occurrence Covariate#	Univariate		Multivariate	
	OR (95% CI)	P value	OR (95% CI)	P value
อายุ (<60/ ≥60)	2.31 (0.92-5.78)	0.072	2.32 (0.90-5.98)	0.080
เพศ (ชาย/ หญิง)	1.36 (0.52-3.55)	0.522		
ECOG PS (≥2/ 0-1)	2.18 (0.70-6.83)	0.178		
สูบบุหรี่ (current-former/ never)	1.46 (0.46-4.68)	0.518		
Histology (Non-ADC/ ADC)	1.78 (0.10-29.45)	0.687		
ระยะของโรค (M1/ M0)	2.36 (0.84-6.68)	0.103		
T stage (T3-4/ T1-2)	1.24 (0.47-3.24)	0.657		
N stage (N2-3/ N0-1)	1.50 (0.56-3.99)	0.417		
จำนวนอวัยวะที่โรคกระจายไป (≥3/<3)	1.38 (0.43-4.41)	0.578		
EGFR subtypes (uncommon/common)	0.42 (0.045-3.94)	0.449		
Vimentin (+/-)	2.78 (1.14-6.81)	0.024*	2.79 (1.12-6.95)	0.027*

ปัจจัยที่อยู่ด้านหลังเครื่องหมาย slash (/) คือปัจจัยที่ไว้เป็นตัวเปรียบเทียบ,

ADC = Adenocarcinoma

4.7 ข้อมูลการรอดชีวิตของผู้ป่วยที่มีมะเร็งกระจายไปสมอง

กำหนดให้ 31 ธันวาคม 2562 เป็นวันสุดท้ายที่ติดตามผู้ป่วย คิดเป็นระยะเวลาเฉลี่ยในการติดตาม 22.7 เดือน (95% CI, 21.19 - 24.32) เมื่อสิ้นสุดการติดตาม พบว่ามีผู้ป่วย 98 ราย (21.8%) ที่ยังมีชีวิตอยู่ พบว่าอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยของประชากรที่ศึกษาทั้งหมดเท่ากับ 19.61 เดือน (95% CI, 17.63 - 21.59) แต่การรอดชีวิตจะต่างกันออกไปเมื่อแบ่งกลุ่มผู้ป่วยโดยใช้ลักษณะการกลายพันธุ์ของ *EGFR* และการเกิดมะเร็งกระจายไปสมอง

ผู้ป่วยที่มีการกลายพันธุ์ของ *EGFR* มีชีวิตยาวนานกว่าผู้ป่วย *EGFR* wild type (อัตราการรอดชีวิตเฉลี่ย 22.96 เดือน, 95% CI, 20.98 - 24.94 และ 13.27 เดือน 95% CI, 11.16 - 15.38 ตามลำดับ; HR 1.97, $p < 0.001$) (รูปที่ 9A) และผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาด้วย *EGFR*-TKIs มีชีวิตรอดนานกว่าผู้ป่วยที่ไม่ได้รับยา (อัตราการรอดชีวิตเฉลี่ย 23.75 เดือน, 95% CI, 21.28 - 26.22 และ 14.39 เดือน 95% CI, 9.18 - 19.59 ตามลำดับ; HR 1.81, $p = 0.003$) (รูปที่ 9D)

ผู้ป่วยที่มีมะเร็งกระจายไปสมองมีชีวิตสั้นกว่าผู้ป่วยที่ไม่มีมะเร็งกระจายไปสมอง (ค่าเฉลี่ยอัตราการรอดชีวิต 19.22 เดือน 95% CI, 17.22 - 21.21 และ 20.46 เดือน 95% CI, 17.62 - 23.31 ตามลำดับ; HR 1.29; $p = 0.016$) และเมื่อดูเฉพาะในกลุ่มผู้ป่วยที่มีการกลายพันธุ์ของ *EGFR* พบว่าผู้ป่วยที่ไม่มีมะเร็งกระจายไปสมองมีอัตราการรอดชีวิตสูงกว่าผู้ป่วยที่มี subsequent BM และ initial BM ตามลำดับ (รูปที่ 9B)

ผู้ป่วย *EGFR* mutation ที่ไม่มีมะเร็งกระจายไปสมอง (*EGFR*+, BM-) มีอัตราการรอดชีวิตที่ยาวนานกว่า (ค่าเฉลี่ยอัตราการรอดชีวิต 24.18 เดือน, 95% CI, 20.41 - 27.95) เมื่อเทียบกับผู้ป่วย *EGFR* mutation ที่มีมะเร็งกระจายไปสมอง (*EGFR*+, BM+) (อัตราการรอดชีวิตเฉลี่ย 22.43 เดือน, 95% CI, 19.75 - 25.12; HR 1.47, $p = 0.003$), ผู้ป่วย *EGFR* wild type ที่ไม่มีมะเร็งกระจายไปสมอง (*EGFR*-, BM-) (อัตราการรอดชีวิตเฉลี่ย 12.12 เดือน, 95% CI, 10.69 - 13.55; HR 1.52, $p < 0.001$), และผู้ป่วย *EGFR* wild type ที่มีมะเร็งกระจายไปสมอง (*EGFR*-, BM+) (อัตราการรอดชีวิตเฉลี่ย 14.85 เดือน, 95% CI, 12.37 - 17.32; HR 2.24, $p < 0.001$) (รูปที่ 9C)

ในผู้ป่วยทั้ง 304 รายที่มี *EGFR* mutation พบว่า 268 ราย (88.2%) ได้รับการรักษาด้วยยามุ่งเป้า *EGFR* TKIs และมี 36 ราย (11.8%) ไม่ได้รับยามุ่งเป้า ผู้ป่วยที่ไม่มีมะเร็งกระจายไปสมองและได้รับ *EGFR* TKIs มีอัตราการรอดชีวิตนานกว่าผู้ป่วยที่มีมะเร็งกระจายไปสมองและได้รับ *EGFR* TKIs, ผู้ป่วยที่มีมะเร็งกระจายไปสมองแต่ไม่ได้รับ *EGFR* TKIs, และผู้ป่วยที่ไม่มีมะเร็งกระจายไปสมองและไม่ได้รับ *EGFR* TKIs ตามลำดับ (อัตราการรอดชีวิตเฉลี่ย 25.13, 22.96, 12.22 และ 14.39 เดือนตามลำดับ; $p < 0.001$) (รูปที่ 9E)

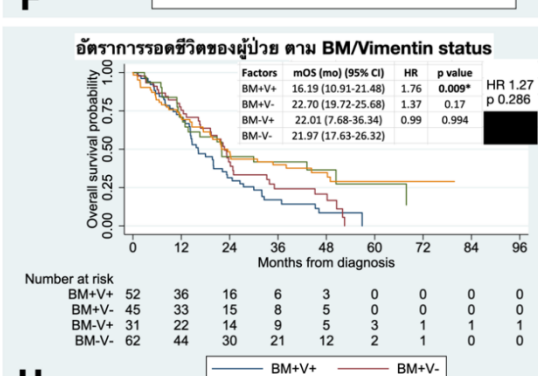
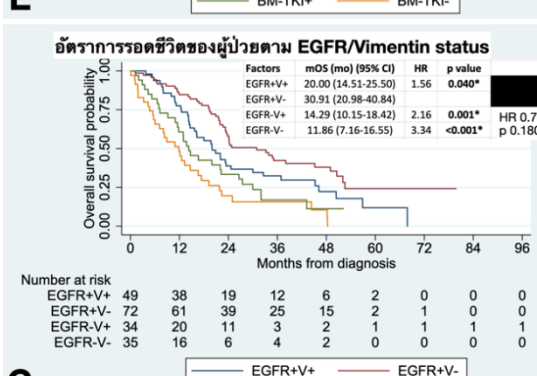
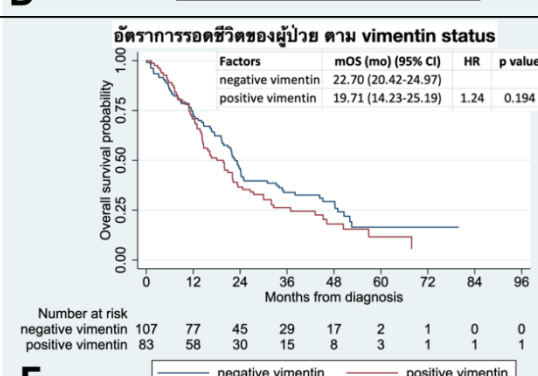
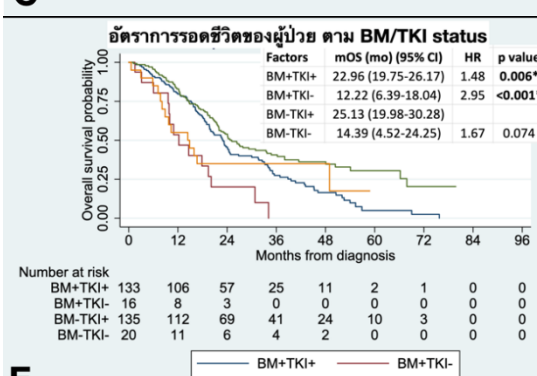
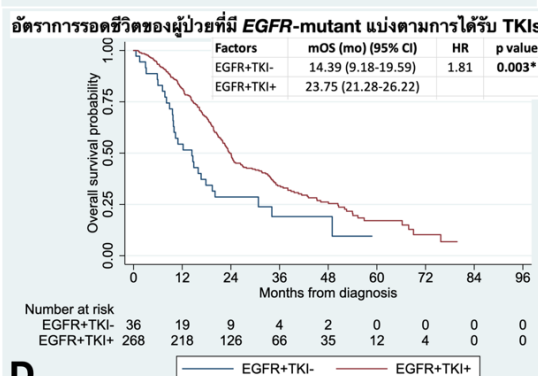
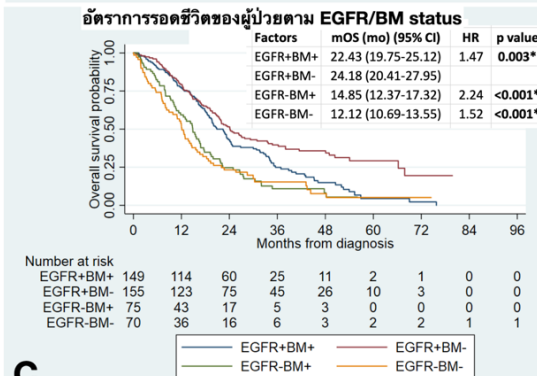
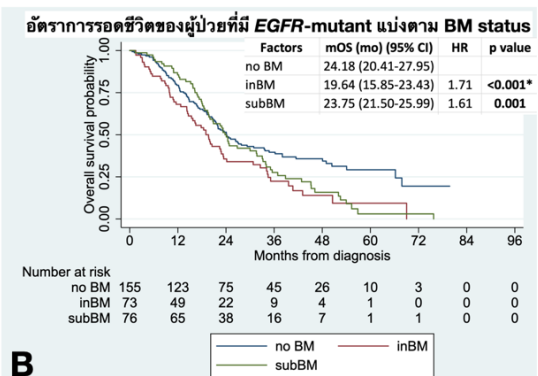
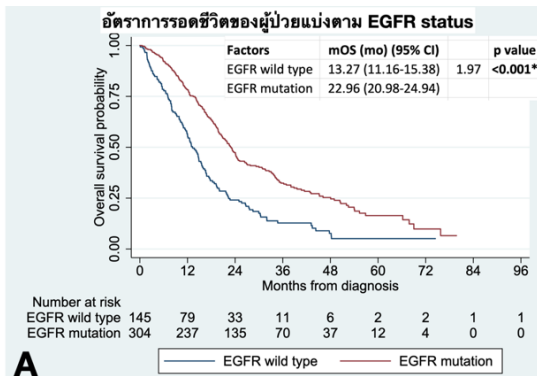
4.8 การตรวจพบ Vimentin และผลต่ออัตราการรอดชีวิตของผู้ป่วย

เพื่อพิสูจน์ว่า vimentin สามารถใช้พยากรณ์โรคได้ เราจึงได้วิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างการย้อมติด vimentin และอัตราการรอดชีวิตของผู้ป่วยทั้ง 190 ราย เมื่อแบ่งตามลักษณะการกลายพันธุ์ของ *EGFR* และการมีมะเร็งกระจายไปสมอง

ในประชากร 190 ราย การย้อมติด vimentin สัมพันธ์กับอัตราการรอดชีวิตที่สั้นลงเมื่อเทียบกับผู้ป่วยที่ย้อมไม่ติด vimentin (อัตราการรอดชีวิตเฉลี่ย 19.71 เดือน, 95% CI, 14.23 – 25.19 และ 22.70 เดือน, 95% CI, 20.42–24.97 ตามลำดับ; HR 1.24; $p=0.194$) (รูปที่ 9F)

เมื่อวิเคราะห์อัตราการรอดชีวิตตามลักษณะของ *EGFR* และ vimentin พบว่าผู้ป่วย *EGFR* mutation ที่ย้อมติด vimentin มีอัตราการรอดชีวิตที่ต่ำลงอย่างมีนัยยะสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับผู้ป่วยที่ย้อมไม่ติด vimentin (อัตราการรอดชีวิตเฉลี่ย 20.00 เดือน, 95% CI, 14.51–25.50 และ 30.91 เดือน, 95% CI, 20.98–40.84 ตามลำดับ; HR 1.56; $p=0.040$) (รูปที่ 9G) ในขณะที่อัตราการรอดชีวิตใกล้เคียงกันเมื่อเปรียบเทียบระหว่างการย้อมติดและไม่ติด vimentin ในผู้ป่วย *EGFR* wild type (อัตราการรอดชีวิตเฉลี่ย 14.29 เดือน, 95% CI, 10.15–18.42 และ 11.86 เดือน, 95% CI, 7.16–16.55 ตามลำดับ; HR 0.70; $p=0.180$) (รูปที่ 9G)

เมื่อไม่ดู *EGFR* status อัตราการรอดชีวิตของผู้ป่วยที่มีมะเร็งกระจายไปสมองและย้อมติด vimentin สั้นกว่าผู้ป่วยที่มีมะเร็งกระจายไปสมองแต่ย้อมไม่ติด vimentin (ค่าเฉลี่ยอัตราการรอดชีวิต 16.19 เดือน, 95% CI, 10.91-21.48 และ 22.70 เดือน, 95% CI, 19.72-25.68 ตามลำดับ; HR 1.27; $p=0.286$) (รูปที่ 9H)



รูปที่ 9 กราฟ Kaplan-Meier แสดงอัตราการรอดชีวิตของผู้ป่วย แบ่งตามลักษณะการกลายพันธุ์ของ EGFR และลักษณะของมะเร็งกระจายไปสมอง (A-E) และตามการย้อมติด vimentin (F-H)

บทที่ 5

อภิปราย สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

5.1 อภิปรายผล

การศึกษานี้เก็บข้อมูลจากผู้ป่วยทั้งสิ้น 449 ราย นับเป็นจำนวนประชากรที่ค่อนข้างสูงเมื่อเทียบกับการศึกษาบางฉบับก่อนหน้า[18, 26-28] และพบอุบัติการณ์ของการเกิด *EGFR* mutation 67.7% ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้าในผู้ป่วยเอเชีย[10, 11]

การศึกษานี้พบอุบัติการณ์ของมะเร็งปอดกระจายไปสมองใกล้เคียงกันระหว่างผู้ป่วย *EGFR* mutation และ *EGFR* wild type (49% และ 51.7% ตามลำดับ) ซึ่งค่อนข้างสูงกว่าการศึกษาก่อนหน้าที่ทำในผู้ป่วยเอเชีย เช่น ไต้หวัน (พบอุบัติการณ์มะเร็งกระจายไปสมอง 39% และ 27% ตามลำดับ) [27] หรือ ญี่ปุ่น (พบอุบัติการณ์ 31% และ 19% ตามลำดับ) [54] หรือเมื่อเทียบกับการศึกษาที่ทำเอ็กซเรย์สมองในผู้ป่วยทุกราย เช่น การศึกษาของ Min Young Baek ในผู้ป่วยชาวเกาหลีใต้[26] และการศึกษาของ Deepa Rangachari ในผู้ป่วยชาวอเมริกัน[12] ก็พบอุบัติการณ์ของมะเร็งกระจายไปสมองในผู้ป่วยที่มีการกลายพันธุ์ของ *EGFR* น้อยกว่าในการศึกษาของเรา (25.9% และ 24.4% ตามลำดับ) ความแตกต่างนี้อาจเป็นผลมาจากผู้ป่วยในการศึกษาของเราเข้ารับการตรวจรักษาค่อนข้างช้าทำให้โรคมะเร็งกระจายไปได้มากและอาจทำให้ผู้ป่วยมีอาการแสดงที่ทำให้สงสัยมะเร็งกระจายไปสมองจึงได้รับการตรวจและเจออุบัติการณ์ของมะเร็งกระจายไปสมองมากขึ้นไปด้วย เพราะปัจจุบันการทำเอ็กซเรย์สมองในผู้ป่วยมะเร็งปอดระยะแพร่กระจายไม่ได้กำหนดให้ทำทุกราย แต่จะตรวจในกรณีผู้ป่วยที่มีอาการน่าสงสัย ส่งผลให้การศึกษานี้ไม่พบความแตกต่างระหว่าง *EGFR* mutation status และอุบัติการณ์การเกิดมะเร็งกระจายไปสมอง ต่างจากการศึกษาก่อนหน้านี้[26, 27, 55] สาเหตุอื่น ๆ ที่น่าจะมีส่วนทำให้เราพบอุบัติการณ์มะเร็งกระจายไปสมองต่างจากการศึกษาอื่น คือ ความแตกต่างของลักษณะพื้นฐานของผู้ป่วยที่คัดเลือกเข้ามาศึกษา ค่าแนะนำและขั้นตอนในการตรวจหามะเร็งกระจายไปสมองในแต่ละสถาบัน สถิติที่ชั่วครู่ ระยะเวลาในการติดตามผู้ป่วย และการรักษาที่ผู้ป่วยได้รับ อย่างไรก็ตาม การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าการมี *EGFR* mutation มีแนวโน้มทำให้เกิด subsequent BM มากกว่า *EGFR* wild type ซึ่งสอดคล้องกับหลายการศึกษาก่อนหน้า [25, 27, 55]

มีการศึกษาหลายฉบับก่อนหน้าที่ศึกษาเกี่ยวกับปัจจัยที่ส่งผลต่อการเกิดมะเร็งปอดกระจายไปสมอง [12, 18, 25-27, 29, 32, 33, 54, 56-58] แต่ประชากรที่เลือกเข้ามาในการศึกษาเหล่านั้นค่อนข้างหลากหลาย เช่น การศึกษาที่เลือกผู้ป่วยมะเร็งปอดที่มีการกลายพันธุ์หลายชนิดเข้ามาในการศึกษา และการกลายพันธุ์บางอย่าง เช่น *ALK* rearrangement ก็สัมพันธ์กับการเกิดมะเร็งกระจายไปสมอง[12, 18, 29] บางการศึกษาเลือกผู้ป่วยมะเร็งปอดที่อยู่ในระยะต้น (ระยะที่ 2-3 ซึ่งเป็นระยะที่โรคมะเร็งยังไม่มีการแพร่กระจาย) และติดตามการกลับเป็นซ้ำของโรค ทำให้อาจใช้เวลาในการ

ติดตามผู้ป่วยไม่มากพอที่จะเกิด subsequent BM[32, 33] บางการศึกษาที่มีการตรวจเอ็กซเรย์สมอง ในผู้ป่วยทุกรายแม้จะยังไม่มีอาการ[12, 26] บางการศึกษาดูปัจจัยการเกิดมะเร็งกระจายไปที่อวัยวะ ไตก็ได้ และการมีมะเร็งกระจายไปสมองเป็นเพียงกลุ่มย่อย (subset) ของการศึกษานั้นอีกที่[18, 29] หรือบางการศึกษาที่ดูผลของการได้รับ *EGFR*-TKIs เทียบกับเคมีบำบัดต่ออุบัติการณ์การเกิด subsequent BM แต่ผู้ป่วยในฝั่งที่ได้รับเคมีบำบัดมีทั้ง *EGFR* mutation และ *EGFR* wild type ปน กัน[31] การศึกษาของเรามีวัตถุประสงค์เพื่อค้นหาปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งกระจายไปสมองใน ผู้ป่วย *EGFR* mutation โดยเฉพาะ จึงค่อนข้างจำเพาะต่อผู้ป่วยกลุ่มนี้มากกว่าหลายการศึกษา ก่อน หน้า

ผลของการศึกษาพบปัจจัยของการเกิดมะเร็งกระจายไปสมองต่างกันออกไปตามระยะเวลา ในกลุ่มผู้ป่วย *EGFR* mutation ที่มี initial BM จะมีอายุค่อนข้างน้อย (<60 ปี), เป็นมะเร็งชนิดที่ไม่ใช่อะดีโน, มีโรครกระจายหลายตำแหน่ง (≥ 3 อวัยวะ) and และเป็นการกลายพันธุ์ของ *EGFR* ชนิดที่พบไม่บ่อย (uncommon mutation) ในขณะที่ อายุค่อนข้างน้อย (<60 ปี) เป็นเพียงปัจจัยเดียวที่สัมพันธ์กับการเกิด subsequent BM และเมื่อนำเอาปัจจัยด้านการรักษาที่ผู้ป่วยได้รับมารวมคำนวณด้วย พบว่าผู้ป่วยที่ได้รับยาในการรักษาหลายสูตรและไม่ได้รับยามุ่งเป้า *EGFR*-TKIs ตั้งแต่แรกเป็นปัจจัยที่ทำให้ผู้ป่วยเกิด subsequent BM มากขึ้น จึงอาจสรุปได้ว่าผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อการรักษาดีและ ได้รับยารักษาหลายสูตร จึงมีชีวิตรยาวนานกว่า และมีโอกาสเกิด subsequent BM มากกว่าไปด้วย

การได้รับยา *EGFR*-TKIs เป็นยาสูตรแรก มีผลต่อ subsequent BM เพราะยาเคมีบำบัดไม่สามารถผ่าน Blood brain barrier เพื่อไปออกฤทธิ์ควบคุมโรคในสมองได้ ในขณะที่ยา *EGFR*-TKIs บางตัวสามารถออกฤทธิ์ในสมองได้ [21-23] จึงมีผลควบคุมโรคมะเร็งที่กระจายไปสมองแต่อาจจะยังไม่แสดงอาการได้นานขึ้น พร้อมกับควบคุมโรคในบริเวณอื่นของร่างกายไปด้วย ผู้ป่วยจึงมีอายุชียนานขึ้น และทำให้ตรวจเจอ subsequent BM ได้มากขึ้นตามไปด้วย ในการศึกษาที่พบว่าผู้ป่วยได้รับการรักษาด้วย *EGFR*-TKIs 268 ราย (88.2%) (ไม่ว่าจะได้รับเป็นยาสูตรที่เท่าไรก็ตาม) ซึ่งใกล้เคียงกับ ข้อมูลทั่วโลกที่มีค่าเฉลี่ยการเข้าถึงยา *EGFR*-TKIs ประมาณ 75-80% [59, 60] อย่างไรก็ตาม การศึกษาของเราพบว่ามีผู้ป่วยเพียง 190 ราย (70.9%) ที่ได้รับยานี้เป็นยาสูตรแรก (ภาคผนวก ข ตารางผนวกที่ 1)

ลำดับของยาที่ใช้ในการรักษาผู้ป่วยก็น่าจะมีผลต่อ subsequent BM เช่นกัน กล่าวคือ เมื่อผู้ป่วยไม่ตอบสนองต่อยามุ่งเป้า *EGFR*-TKIs ตัวแรก มาตรฐานในการรักษาผู้ป่วยคือการส่งตรวจเพื่อดู การกลายพันธุ์ของ T790M [17, 61] หากพบการกลายพันธุ์นี้ก็จะมีข้อมูลของการใช้ยา Osimertinib ซึ่งเป็นยา *EGFR*-TKIs รุ่นที่ 3 ยานี้ให้ผลในการรักษาดีกว่าการใช้ยาเคมีบำบัด และยังมีผลควบคุม มะเร็งที่กระจายเข้าไปอยู่ในสมองได้ค่อนข้างดี[53, 62] แต่ด้วยปัจจัยด้านค่าใช้จ่ายและบริบทการ สาธารณสุขของประเทศไทย ทำให้ไม่ใช่ผู้ป่วยทุกรายที่จะได้รับการตรวจเพิ่มเติมนี้ ในศึกษานี้มี

ผู้ป่วยทั้งสิ้น 125 ราย (41.1%) ที่ได้รับการตรวจ T790M และตรวจพบ 63 ราย (50.4%) (ภาคผนวก ข ตารางผนวกที่ 1) ใกล้เคียงกับอุบัติการณ์การตรวจพบ T790M ในการศึกษาก่อนหน้านี้ [53, 63, 64] ปัจจัยด้านการเข้าถึงยาในการรักษานี้จึงน่าจะเป็นอีกส่วนหนึ่งที่ทำให้อัตราการตรวจเจอ มะเร็งกระจายไปสมองแตกต่างจากการศึกษาในประเทศอื่น

ข้อมูลด้านอัตราการรอดชีวิตของผู้ป่วยในการศึกษานี้สอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้า ผู้ป่วย *EGFR* mutation รอดชีวิตนานกว่าผู้ป่วย *EGFR* wild type [6, 8, 65] และผู้ป่วยที่ไม่มีมะเร็งกระจายไปสมอง มีการรอดชีวิตนานกว่าผู้ป่วยที่มีมะเร็งกระจายไปสมอง [53, 66] อย่างไรก็ตาม ผู้ป่วยมีโอกาสที่จะมีอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยสูงกว่านี้หากสามารถควบคุมการเกิดมะเร็งกระจายไปสมองได้ดีขึ้น ในปัจจุบันมีข้อมูลว่าการใช้ยามุ่งเป้า *EGFR* TKI รุ่นที่ 3 (osimertinib) เป็นยาตัวแรกในการรักษา สามารถควบคุมโรคในสมองและบริเวณอื่นของร่างกายได้ดีกว่ายา TKIs รุ่นเก่า และผู้ป่วยมีอัตราการรอดชีวิตที่ดีขึ้นกว่าเดิม [9, 62] ซึ่งในการศึกษานี้พบว่ามีผู้ป่วยเพียง 6 ราย (1%) ที่ได้รับ osimertinib เป็นยาตัวแรก

ในเรื่องกระบวนการ EMT กับการเกิดมะเร็งกระจายไปสมอง ข้อมูลในปัจจุบันยังไม่ชัดเจนว่า มะเร็งที่กลไกผ่าน *EGFR* mutation สัมพันธ์กับการกระจายของมะเร็งไปที่ระบบประสาทและสมองอย่างไร แต่พบหลักฐานจากหลายการศึกษาที่ชี้ว่ามะเร็งที่มีการแสดงออกของ vimentin เกี่ยวข้องกับการกระจายของโรคไปที่อวัยวะอื่นและนำไปใช้เป็นตัวพยากรณ์โรคได้ [25, 41, 42, 46] หลาย การศึกษาระดับก่อนคลินิกแสดงให้เห็นว่า *EGFR* mutation ส่งผลต่อกระบวนการ EMT ใน cell lines ของหลายมะเร็งที่นำมาศึกษา รวมทั้งมะเร็งปอดด้วย [25, 35] ผลการศึกษาของเราช่วยสนับสนุนความสัมพันธ์ระหว่างการตรวจพบ vimentin และการเกิดมะเร็งกระจายไปสมองในผู้ป่วย *EGFR* mutation ทั้ง initial BM และ subsequent BM และการตรวจพบ vimentin ยังส่งผลให้อัตราการรอดชีวิตของผู้ป่วยลดลง นี่จึงเป็นการศึกษาแรกที่ชี้ให้เห็นว่าการแสดงออกของ vimentin สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ (predictive biomarker) ของการเกิดมะเร็งกระจายไปสมองในผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กที่มี *EGFR* mutation และยังใช้เป็นตัวพยากรณ์โรค (prognostic marker) ได้ด้วย อีกทั้งการตรวจ vimentin เป็นการตรวจที่มีใช้อยู่แล้วในทางคลินิกด้วยการ ย้อมอิมมูโนพยาธิวิทยาในราคาที่ไม่สูงมาก จึงมีความเป็นไปได้ที่จะนำผลการศึกษาไปปรับใช้ในการ รักษาผู้ป่วยในชีวิตจริง เช่น พิจารณาตรวจเอ็กซเรย์สมองในผู้ป่วยที่ตรวจพบ vimentin และมีปัจจัยทางคลินิกที่มีความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งกระจายไปสมองดังที่รายงานผลไปข้างต้น รวมทั้งอาจนำไป พัฒนายาที่มุ่งเป้ามาที่กลไกนี้เพื่อใช้รักษาผู้ป่วยต่อไป [49, 50]

วิธีการแปลผลย้อม vimentin มีหลายแบบ และเนื่องจากปัจจุบันยังไม่มีวิธีมาตรฐานกลางในการแปลผล ทำให้แต่ละการศึกษาใช้วิธีที่ต่างกันออกไป วิธีแปลผลหลัก ๆ ประกอบไปด้วย การดู เฉพาะสัดส่วนของการย้อมติดสีน้ำตาล (qualitative method), ดูทั้งสัดส่วนการย้อมติดและความ

เข้มของการติดสี (semi-quantitative method), การใช้คะแนนถ่วงน้ำหนักแต่ละความเข้มในการติดสี (immunoreactive score หรือ H-score), และการถ่ายรูปแล้วใช้โปรแกรมช่วยในการแปลผล (image analysis)[25, 35, 52, 67-69] สำหรับการเลือกจุดตัด (cut point) ว่า positive ของแต่ละการศึกษาที่ต่างกัน การศึกษานี้เลือกใช้วิธี semi-quantitative method และใช้จุดตัดที่ vimentin $\geq 10\%$ เพราะเป็นวิธีที่การศึกษาก่อนหน้าส่วนใหญ่เลือกใช้ มีข้อมูลว่าการแปลผลด้วยวิธีนี้สัมพันธ์กับอัตราการเกิดมะเร็งปอดกระจายไปสมองและการรอดชีวิตของผู้ป่วย และการศึกษาที่เอามาอ้างอิงเพื่อใช้ในการคำนวณขนาดตัวอย่างก็มาจากการแปลผล vimentin ด้วยวิธีนี้เช่นกัน[25, 52] รวมทั้งในชีวิตจริง พยาธิแพทย์ส่วนใหญ่ใช้วิธีนี้ในการแปลผลเพราะค่อนข้างแม่นยำ ใช้เวลาไม่นาน ค่าใช้จ่ายไม่สูงมาก และไม่ต้องใช้อุปกรณ์ซับซ้อน อย่างไรก็ตาม จำนวนประชากรที่นำมาตรวจหา vimentin ไม่ครบตามเป้าหมายที่คำนวณไว้ การเปรียบเทียบผลของการศึกษานี้กับการศึกษาอื่นจึงควรด้วยความระมัดระวัง

E-cadherin เป็นโปรตีนอยู่บริเวณผิวเซลล์ทำหน้าที่เป็นตัวเชื่อมระหว่างเซลล์ (cell junction) และมีข้อมูลในระดับก่อนคลินิกว่าการลดลงของ E-cadherin สัมพันธ์กับกระบวนการ EMT ของมะเร็งปอด[41, 43-45, 47] แต่ข้อมูลยังค่อนข้างน้อยเมื่อเทียบกับ vimentin และในการศึกษานี้พบว่าผู้ป่วยส่วนใหญ่ (98%) ยังคงยึดติด E-cadherin อยู่ ไม่ว่าจะย้อมจากชิ้นเนื้อก้อนมะเร็งปฐมภูมิ (primary tumor) หรือจากตำแหน่งที่โรคกระจายไป และไม่ขึ้นกับ *EGFR* status และ BM status แบบใด ซึ่งสอดคล้องกับบางการศึกษาก่อนหน้า[70] คิดว่าอาจจะอธิบายได้จากกระบวนการ EMT นี้ อาจจะไปผ่านโปรตีนชนิดอื่นที่อยู่บริเวณผิวเซลล์หรืออาจผ่าน E-cadherin แต่กลไกไม่ได้มีผลตรงบริเวณ cell junction โดยตรง[45, 71-73] ทำให้ยังคงยึดติด E-cadherin ได้ จึงอาจกล่าวได้ว่า E-cadherin ยังไม่ใช่ตัวบ่งชี้ที่เหมาะสมในการเอามาคาดการณ์การเกิดมะเร็งปอดกระจายไปสมองในเวลานี้ และคงต้องรอการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป

5.2 สรุปผลการวิจัย

อุบัติการณ์ของ *EGFR* mutation ในประชากรที่ศึกษาเท่ากับ 67.7% และอุบัติการณ์ของมะเร็งกระจายไปสมองในผู้ป่วยกลุ่มนี้เท่ากับ 49.0%

ผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กที่มี *EGFR* mutation ที่มีอายุน้อย (<60 ปี) และมีโรคกระจายไปหลายตำแหน่ง เป็นกลุ่มที่มีโอกาสเกิดมะเร็งกระจายไปสมองได้สูง

vimentin เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพที่สามารถเอามาใช้คาดการณ์การเกิดมะเร็งกระจายไปสมอง (predictive marker) และแสดงให้เห็นถึงการพยากรณ์โรคที่แยกว่า (prognostic marker) ข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการรักษาและติดตามผู้ป่วยที่มีลักษณะดังกล่าว

ข้างต้น และในอนาคตอาจนำข้อมูลที่ได้นี้ไปพัฒนาการรักษามุ่งเป้าหมายที่ vimentin เพื่อรักษามะเร็งที่กระจายไปในสมองของผู้ป่วยมะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กที่มี *EGFR* mutation

5.3 ข้อเด่นของการศึกษา

- ผู้ป่วยมะเร็งปอดมีกลไกการเกิดโรคและวิธีการรักษาหลากหลาย หลายการศึกษาเกี่ยวกับปัจจัยในการเกิดมะเร็งกระจายไปสมองก่อนหน้านี้ เป็นการเก็บข้อมูลรวมของผู้ป่วยมะเร็งปอดทั้งหมด ต่างจากการศึกษานี้ที่มุ่งศึกษาเฉพาะในผู้ป่วย *EGFR* mutation ซึ่งคิดเป็น 60% ของผู้ป่วยมะเร็งปอดทั้งหมดในประเทศไทย ข้อมูลที่ได้จึงมีความจำเพาะและมีโอกาสสูงที่จะนำไปประยุกต์ใช้ในการรักษาผู้ป่วยได้จริง
- ปัจจัยในการเกิดมะเร็งปอดกระจายไปสมองต่างกันออกไปในผู้ป่วยที่มี initial BM และ subsequent BM งานวิจัยนี้จึงได้วิเคราะห์ข้อมูลแยกกลุ่มผู้ป่วยตามระยะเวลาที่ตรวจเจอมะเร็งกระจายไปสมอง ต่างจากหลายงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่ไม่ได้แบ่งกลุ่มผู้ป่วยตามนี้
- เหตุการณ์บางอย่าง เช่น การเกิด subsequent BM จำนวนการรักษาที่ผู้ป่วยได้รับ และการเสียชีวิต จำเป็นต้องอาศัยระยะเวลาในการติดตามผู้ป่วยจึงสามารถประเมินได้ งานวิจัยนี้มีระยะเวลาการติดตามผู้ป่วยเฉลี่ย 22 เดือน ข้อมูลส่วนนี้จึงค่อนข้างสมบูรณ์เพราะระยะเวลาเฉลี่ยของผู้ป่วยมะเร็งปอดตั้งแต่วินิจฉัยจนเสียชีวิตประมาณ 2 ปี
- การตรวจหาตัวบ่งชี้ทาง EMT ในงานวิจัยนี้เลือกใช้ E-cadherin และ vimentin ซึ่งตรวจด้วยวิธีทางอิมมูโนพยาธิวิทยา (IHC) และเป็นการตรวจที่มีใช้ในทางคลินิกอยู่แล้วในราคาที่ไม่สูงมาก ทำให้สามารถนำข้อมูลไปประยุกต์ใช้ได้ง่าย
- ขั้นตอนการย้อมและแปลผล E-cadherin และ vimentin ทำด้วยเครื่องอัตโนมัติที่มีขั้นตอนเป็นมาตรฐาน และแปลผลโดยพยาธิแพทย์เพียงคนเดียวที่ไม่รู้จักลักษณะพื้นฐานของผู้ป่วย และได้มีการสุ่มตัวอย่างสไลด์ที่อ่านด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา (light microscopy) ไปเทียบกับผลอ่านจาก image analysis แล้วพบว่าผลไปในทางเดียวกันทั้งหมด

5.4 ข้อด้อยของการศึกษา

- เป็นการเก็บข้อมูลแบบย้อนหลังและทำในสถาบันเดียว ข้อมูลบางส่วนอาจไม่ครบสมบูรณ์ และลักษณะผู้ป่วยในแต่ละสถาบันอาจมีความต่างกัน
- การให้นิยามในการแบ่งกลุ่มของมะเร็งกระจายไปสมองในแต่ละการศึกษามีความต่างกัน ร่วมกับไม่ได้มีข้อกำหนดให้ทำเอ็กซเรย์สมองในผู้ป่วยที่ไม่ได้มีอาการที่สงสัย จึงอาจทำให้การ

วินิจฉัยมะเร็งกระจายไปสมองในแต่ละการศึกษาต่างกัน และต้องใช้ความระวังในการเปรียบเทียบข้อมูลระหว่างการศึกษาระดับ

- ผู้ป่วยที่มี *EGFR* wild type อาจมีการกลายพันธุ์แบบอื่นที่มีอิทธิพลต่อการเกิดมะเร็งกระจายไปสมองได้ แต่งานวิจัยนี้ไม่ได้ตรวจหาการกลายพันธุ์เหล่านั้น
- ขึ้นเนื้อที่นำมาย้อม E-cadherin และ vimentin ไม่ครบตามจำนวนตัวอย่างที่คำนวณไว้ อีกทั้งผลการย้อมติด vimentin อาจมีความต่างกันระหว่างชิ้นเนื้อจากก้อนมะเร็งปฐมภูมิ (primary tumor) และบริเวณที่โรคระบายไป (metastatic site) รวมทั้งการแปลผลย้อมมีหลายวิธี ซึ่งแต่ละการศึกษาใช้วิธีการแปลผลต่างกัน การเปรียบเทียบผลของการศึกษานี้กับการศึกษาอื่นจึงควรทำด้วยความระมัดระวัง
- การนำ vimentin มาวิเคราะห์ความสัมพันธ์แบบถดถอยในการเกิดมะเร็งกระจายไปสมองร่วมกับปัจจัยทางคลินิกและพยาธิวิทยาของผู้ป่วย *EGFR* mutation ทำในผู้ป่วยค่อนข้างน้อย คือ 121 ราย เมื่อเทียบกับจำนวนประชากร *EGFR* mutation ในการศึกษาทั้งหมด 304 ราย ความน่าเชื่อถือของข้อมูลส่วนนี้จึงลดลง

5.5 ข้อเสนอแนะ

ปัจจุบันไม่ได้มีข้อกำหนดให้ทำเอกซเรย์สมองในผู้ป่วยมะเร็งปอดทุกรายและด้วยข้อจำกัดบริบทการสาธารณสุขของประเทศไทย เราจึงไม่ได้ตรวจคัดกรองเพื่อหามะเร็งกระจายไปสมองในผู้ป่วยทุกราย แต่ผลจากการศึกษาพบอุบัติการณ์การเกิดมะเร็งกระจายไปสมองในผู้ป่วย *EGFR* mutation ค่อนข้างสูงเมื่อเทียบกับการศึกษาก่อนหน้า เพื่อให้เราใช้ทรัพยากรที่มีจำกัดได้อย่างเหมาะสม การพิจารณาตรวจเอกซเรย์สมองในผู้ป่วยกลุ่มเสี่ยง คือ อายุyoungและมีมีการกระจายของโรคไปหลายอวัยวะหรือผลย้อมชิ้นเนื้อพบ vimentin จะทำให้ตรวจพบเร็วขึ้นและการรักษามีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น และแม้จะตรวจไม่พบมะเร็งกระจายไปสมองในตอนแรก แต่ผู้ป่วยที่อายุน้อยได้รับการรักษาด้วยยาหลายสูตร และไม่ได้รับยามุ่งเป้า *EGFR*-TKIs ตั้งแต่แรก ยังคงมีความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งกระจายไปสมองในภายหลังซึ่งเราควรติดตามอย่างใกล้ชิด

Vimentin เป็นได้ทั้ง predictive marker และ prognostic marker ในอนาคตถ้ามีการนำข้อมูลนี้ไปศึกษาเพิ่มเติมโดยออกแบบการวิจัยให้หาเชื่อถือมากขึ้น เช่น เปรียบเทียบการแสดงออกของ vimentin จาก primary tumor และ metastatic site ผลที่ได้อาจนำมาประยุกต์ใช้ทางคลินิกได้ดียิ่งขึ้น และถ้า vimentin พบมากขึ้นในก้อนมะเร็งที่กระจายเข้ามาในสมอง อาจนำไปสู่การวิจัยยาเพื่อมุ่งเป้ามาที่จุดนี้ได้ต่อไป

ภาคผนวก ก
แบบบันทึกข้อมูล

Case No _____

Data record form

Prevalence and clinicopathological factors of brain metastasis in *EGFR*-mutant NSCLC

1. Inclusion and exclusion criteria

	yes	No
Inclusions		
a. Age \geq 18 years old		
b. New case of recurrent or metastasis NSCLC		
c. Have pathology or histology confirmed of NSCLC		
d. Have report of <i>EGFR</i> mutation testing		
e. Have IPD or OPD data record		
exclusions		
a. Insufficient data		
b. Second primary cancer		
c. Has other driven mutation		

2. Personal information

- a. Lung cancer subject ID _____
- b. Age at diagnosis _____
- c. Gender Male Female

3. Baseline characteristics

- a. Height at diagnosis _____
- b. Weight at diagnosis _____
- c. Smoking status Never Former Current Unknown
- i. Duration of smoking _____ years
- ii. Duration of the last smoking _____ years

- iii. Average of smoking _____pack/day
- d. ECOG at diagnosis 0 1 2 3 4 Unknown
- e. Family history of malignancy Yes No Unknown
- i. If yes, please specify _____
- f. Comorbid disease Yes No Unknown
- i. If yes, please specify _____
4. Diagnosis
- a. Date of diagnosis of NSCLC _____
- b. Pathologic type Histology Cytology Not done
- i. Pathology number _____
- ii. Tumor histology Adenocarcinoma
Squamous cell carcinoma
Large cell carcinoma
NSCLC NOS
- c. Initial staging by AJCC 8th edition
- i. T stage Tx/T0 Tis T1mi T1a T1b T1c
T2a T2b T3 T4 Unknown
- ii. N stage N0 N1 N2 N3 Unknown
- iii. M stage M0 M1a M1b M1c Unknown
- d. Modality of imaging at diagnosis (check all that apply)
- CT chest PET scan Bone scan CT/MRI brain Chest X-ray
5. Molecular characteristic
- a. First *EGFR* mutation testing Done only
- i. Date of first *EGFR* examination _____
- ii. First *EGFR* material Tissue Plasma Other

- iii. First *EGFR* mutation status Wild type Exon 19 deletion
 L858R G719X T790M Exon 20 insertion
 Others _____
- b. Second *EGFR* mutation testing Done Not done
- i. Date of second *EGFR* examination _____
- ii. Second *EGFR* material Tissue Plasma Other
- iii. Second *EGFR* mutation status Wild type Exon 19 deletion
 L858R G719X T790M Exon 20 insertion
 Others _____
- c. Other molecular testing _____
6. Laboratory investigation
- a. Hemoglobin _____ g/dl
- b. WBC count _____
- c. %PMN _____
- d. %Lymphocyte _____
- e. Platelet count _____
- f. BUN _____ g/dl
- g. Creatinine _____ g/dl
- h. Total bilirubin _____ g/dl
- i. Direct bilirubin _____ g/dl
- j. AST _____ U/L
- k. ALT _____ U/L
- l. ALP _____ U/L
- m. Albumin _____ g/dl
- n. Globulin _____ g/dl

7. Status of metastasis

- a. Site of metastasis Lung Adrenal Bone Liver Brain
Pleura Pericardium Skin lymph node Peritoneum
Other _____

8. Systemic treatment for metastasis

- a. Total regimen of systemic treatment Only supportive treatment
1 2 3 4 More than 4 regimens
- b. First line systemic treatment _____
- i. Date of first line systemic treatment _____
- ii. First date of last cycle of first line treatment _____
- iii. Maximum response of first line of systemic treatment
- Complete response
- Partial response
- Stable disease
- Progression disease
- N/A
- iv. Total cycle of first line systemic treatment _____
- v. Reason to stop first line systemic treatment _____
- vi. Date of disease progression first line systemic treatment _____
- c. Second line systemic treatment _____
- i. Date of second line systemic treatment _____
- ii. First date of last cycle of second line treatment _____
- iii. Maximum response of second line of systemic treatment
- Complete response
- Partial response
- Stable disease
- Progression disease

N/A

iv. Total cycle of second line systemic treatment _____

v. Reason to stop second line systemic treatment _____

vi. Date of disease progression second line systemic treatment _____

d. Third line systemic treatment _____

i. Date of third line systemic treatment _____

ii. First date of last cycle of third line treatment _____

iii. Maximum response of third line of systemic treatment

Complete response

Partial response

Stable disease

Progression disease

N/A

iv. Total cycle of third line systemic treatment _____

v. Reason to stop third line systemic treatment _____

vi. Date of disease progression third line systemic treatment _____

e. Fourth line systemic treatment _____

i. Date of fourth line systemic treatment _____

ii. First date of last cycle of fourth line treatment _____

iii. Maximum response of fourth line of systemic treatment

Complete response

Partial response

Stable disease

Progression disease

N/A

iv. Total cycle of fourth line systemic treatment _____

v. Reason to stop fourth line systemic treatment _____

vi. Date of disease progression fourth line systemic treatment _____

f. Addition information beyond fourth line systemic treatment _____

9. Brain metastasis status

a. Time of brain metastasis initial BM subsequent BM

b. Number of brain metastasis 1-3 >3

c. Largest size of brain metastasis _____ cm

d. Treatment of brain metastasis surgery, date _____

WBRT, start date _____

SRT, start date _____

observe

e. Outcome of treatment of brain metastasis

complete response partial response

stable disease progression disease N/A

10. EMT status

a. Vimentin, e-cadherin testing yes no

i. If yes, results are Vimentin positive negative

E-cadherin positive negative

11. Last visit

a. The most recent status, date assessed _____

b. Status death? yes, date _____

cause of death cancer-related not cancer related

not dead

12. Additional information _____

ภาคผนวก ข

ตารางผนวก

ตารางผนวกที่ 1 ข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยมะเร็งปอดที่มีการกลายพันธุ์ของ *EGFR* เมื่อเปรียบเทียบระหว่างไม่มีBM, initial BM และ subsequent BM (N=304)

ลักษณะของผู้ป่วย	ทั้งหมด (N = 304)	no BM (N = 155)	inBM (N = 73)	subBM (N = 76)	P values
อายุ, n (%)					<0.001*
Mean +/-SD	63.1 +/-11.9	66.1 +/-11.0	59.3 +/-12.0	60.8 +/-12.0	
<60 years	115 (37.8%)	41 (35.7%)	37 (32.2%)	37 (32.2%)	
≥60 years	189 (62.2%)	114 (60.3%)	36 (19.0%)	39 (20.6%)	
เพศ, n (%)					0.622
ชาย	104 (34.2%)	49 (47.1%)	27 (26.0%)	28 (26.9%)	
หญิง	200 (65.8%)	106 (53.0%)	46 (23.0%)	48 (24.0%)	
ECOG PS, n (%)					0.021*
0-1	245 (86.6%)	132 (53.9%)	56 (22.9%)	57 (23.3%)	
≥2	38 (13.4%)	17 (44.7%)	13 (34.2%)	8 (21.1%)	
Missing	21	6 (28.6%)	4 (19.0%)	11 (52.4%)	
สูบบุหรี่, n (%)					0.617
Never	196 (76.6%)	104 (53.1%)	48 (24.5%)	44 (22.4%)	
Current/former	60 (23.4%)	29 (48.3%)	15 (25.0%)	16 (26.7%)	
Missing	48	22	10	16	
Histology, n (%)					0.044*
Adenocarcinoma	285 (93.8%)	149 (52.3%)	64 (22.5%)	72 (25.3%)	
Non adenocarcinoma	19 (6.2%)	6 (31.6%)	9 (47.4%)	4 (21.1%)	
ระยะของโรค, n (%)					0.095
Recurrent	58 (19.1%)	37 (63.8%)	10 (17.2%)	11 (19.0%)	
M1	246 (80.9%)	118 (48.0%)	63 (25.6%)	65 (26.4%)	
T stage, n (%)					0.906
T1-2	145 (57.5%)	73 (50.3%)	37 (25.5%)	35 (24.1%)	
T3-4	107 (42.4%)	53 (49.5%)	26 (24.3%)	28 (26.2%)	
Missing	52	29	10	13	
N stage					0.814
N0-1	88 (37.4%)	48 (54.5%)	21 (23.9%)	19 (21.6%)	

N2-3	147 (62.6%)	70 (47.6%)	37 (25.2%)	40 (27.2%)	
Missing	69	37	15	17	
จำนวนอวัยวะที่มีโรคกระจาย ไป, n (%)					<0.001*
1-2 sites	228 (75.2%)	124 (54.4%)	41 (18.0%)	63 (27.6%)	
≥3 sites	75 (24.8%)	31 (41.3%)	31 (41.3%)	13 (17.3%)	
Missing	1	0	1	0	
<i>EGFR</i> mutation subtypes, n (%)					0.110
Del19	154 (50.7%)	84 (54.5%)	33 (21.4%)	37 (24.0%)	
L858R	123 (40.4%)	62 (50.4%)	28 (22.8%)	33 (26.8%)	
Others	27 (8.9%)	9 (33.3%)	12 (44.4%)	6 (22.2%)	
Number of systemic treatments, n (%)					0.007*
Only supportive care	10 (100%)	6 (60.0%)	3 (30.0%)	1 (10.0%)	
1-2 lines	203 (100%)	111 (54.7%)	53 (26.1%)	3 (19.2%)	
≥3 lines	88 (100%)	36 (40.9%)	16 (18.2%)	36 (40.9%)	
missing	3	2	1	0	
TKI treatment, n (%)					0.462
Not receive TKI	36 (100%)	20 (55.6%)	10 (27.8%)	6 (16.7%)	
Receive TKI	268 (100%)	135 (50.4%)	63 (23.5%)	70 (26.1%)	
missing	0	0	0	0	
TKI line, n (%)					0.014*
1 st line	190 (100%)	101 (53.2%)	49 (25.8%)	40 (21.1%)	
Later line	79 (100%)	34 (43.0%)	14 (17.7%)	31 (39.2%)	
missing	35	20	10	5	
TKI generation at first treatment, n (%)					0.008*
1 st gen	246 (100%)	130 (52.8%)	52 (21.1%)	64 (26.0%)	
2 nd gen	17 (100%)	3 (17.6%)	7 (41.2%)	7 (41.2%)	
3 rd gen	6 (100%)	2 (33.3%)	4 (66.7%)	0	
missing	35	20	10	5	
TKIs duration, n (%)					0.346
Mean +/-SD	12.2 +/-8.3	12.7 +/-8.4	10.4 +/-7.9	12.4 +/-8.6	
<10 months	110 (100%)	48 (43.6%)	32 (29.1%)	30 (27.3%)	

≥10 months missing	134 (100%) 9	69 (51.5%)	29 (21.6%)	36 (26.9%)	
T790M, n (%)					0.275
Negative	62 (100%)	30 (48.4%)	13 (21.0%)	19 (30.6%)	
Positive	63 (100%)	36 (57.1%)	10 (15.9%)	17 (27.0%)	
missing	179	89	50	40	
3 rd gen after fail 1 st gen TKIs, n (%)					0.022*
Not receive 3 rd gen	176 (100%)	81 (46.0%)	48 (27.3%)	47 (26.7%)	
Receive 3 rd gen	65 (100%)	35 (53.8%)	9 (13.8%)	21 (32.3%)	
missing	63	39	16	8	

BM: Brain metastases, inBM: initial brain metastases, subBM: subsequent brain metastases, TKIs: Tyrosine kinase inhibitors

ตารางผนวกที่ 2 Univariate and multivariate regression analysis ของปัจจัยที่ส่งผลต่อการเกิดมะเร็งกระจายไปสมองในผู้ป่วยทั้งหมด (N=449)

Covariate#	Univariate		Multivariate	
	OR (95% CI)	P value	OR (95% CI)	P value
อายุ (<60/ ≥60)	1.94 (1.32-2.86)	0.001*	1.89 (1.24 – 2.86)	0.003*
เพศ (ชาย/ หญิง)	1.37 (0.94-1.99)	0.098	1.02 (0.56 – 1.83)	0.941
ECOG PS (≥2/ 0-1)	1.22 (0.69-2.16)	0.484		
สูบบุหรี่ (current-former/ never)	1.52 (1.00-2.32)	0.049*	1.52 (0.82 – 2.80)	0.177
Histology (Non-ADC/ ADC)	1.71 (0.89-3.92)	0.105		
ระยะของโรค (M1/ M0)	1.36 (0.88-2.11)	0.158		
T stage (T3-4/ T1-2)	0.91 (0.61 – 1.36)	0.672		
N stage (N2-3/ N0-1)	1.19 (0.78 – 1.83)	0.404		
No. metastatic site (≥3/<3)	1.42 (0.90 – 2.25)	0.130		
EGFR status (MT/WT)	0.89 (0.60-1.33)	0.591		

#ปัจจัยที่อยู่ด้านหลังเครื่องหมาย slash (/) คือปัจจัยที่ไว้เป็นตัวเปรียบเทียบ, ADC:

Adenocarcinoma, MT: mutation, WT: wild type

ตารางผนวกที่ 3 Univariate and multivariate regression analysis ของปัจจัยที่ทำให้เกิด
มะเร็งกระจายไปสมองตั้งแต่เริ่มแรก และเกิดขึ้นภายหลัง ในผู้ป่วยทั้งหมด (N=449)

Covariate#	inBM เทียบกับ No BM		subBM เทียบกับ No BM	
	Univariate	Multivariate	Univariate	Multivariate
อายุ (<60/ ≥60)	OR 1.96 (1.24-3.09) P 0.003*	OR 1.55 (0.94-2.57) P 0.083	OR 1.92 (1.19 – 3.11) P 0.007*	OR 1.74 (1.01-3.00) P 0.045*
เพศ (ชาย/ หญิง)	OR 1.47 (0.94-2.29) P 0.087	OR 1.17 (0.56-2.46) P 0.670	OR 1.25 (0.78 – 2.01) P 0.340	
ECOG PS (≥2/ 0-1)	OR 0.65 (0.34-1.22) P 0.182		OR 0.84 (0.37 – 1.88) P 0.677	
สูบบุหรี่ (current-former/ never)	OR 1.60 (0.98-2.62) P 0.057	OR 1.37 (0.63-2.97) 0.423	OR 1.42 (0.82 – 2.45) P 0.202	
Histology (Non-ADC/ ADC)	OR 2.26 (1.10-4.61) P 0.025*	OR 2.33 (0.99-5.48) P 0.051	OR 1.11 (0.46 – 2.68) P 0.814	
ระยะของโรค (M1/ M0)	OR 1.27 (0.76-2.15) 0.353		OR 1.49 (0.84 – 2.63) P 0.171	OR 1.40 (0.75-2.61) P 0.286
T stage (T3-4/ T1-2)	OR 0.94 (0.58-1.50) P 0.798		OR 0.89 (0.53 – 1.48) P 0.652	
N stage (N2-3/ N0-1)	OR 1.00 (0.61-1.64) P 0.991		OR 1.54 (0.87 – 2.71) P 0.131	OR 1.45 (0.81-2.61) P 0.204
No. metastatic site(≥3/<3)	OR 2.13 (1.27-3.56) P 0.004*	OR 2.13 (1.17-3.86) P 0.013*	OR 0.77 (0.40 – 1.47) P 0.435	
EGFR status (MT/WT)	OR 0.67 (0.42-1.06) P 0.091	OR 1.22 (0.69-2.15) P 0.479	OR 1.32 (0.77-2.23) P 0.302	

#Category after the slash (/) was set as reference category. BM: Brain metastases,
inBM: initial brain metastases, subBM: subsequent brain metastases,
ADC: Adenocarcinoma, MT: mutation, WT: wild type

บรรณานุกรม

1. คณะกรรมการจัดทำแผนการป้องกันและควบคุมโรคมะเร็งแห่งชาติ. แผนการป้องกันและควบคุมโรคมะเร็งแห่งชาติ, *National Cancer Control Programmes*, 2556-2560. 2556.
กรุงเทพฯ: สถาบันมะเร็งแห่งชาติ.
2. World Health Organization, International Agency for Research on Cancer. *Estimate number of new cases in 2018, Thailand, all cancers, both sexes, all ages*. [cited 1 July 2019; Available from: <http://gco.iarc.fr>.
3. Travis, W.D., et al., *The 2015 World Health Organization Classification of Lung Tumors: Impact of Genetic, Clinical and Radiologic Advances Since the 2004 Classification*. *J Thorac Oncol*, 2015. **10**(9): p. 1243-1260.
4. Siegel, R., D. Naishadham, and A. Jemal, *Cancer statistics, 2013*. *CA Cancer J Clin*, 2013. **63**(1): p. 11-30.
5. Herbst, R.S., J.V. Heymach, and S.M. Lippman, *Lung Cancer*. *N Engl J Med*, 2008. **359**: p. 1367-80.
6. 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. 92-98.
7. Stewart, L.A. and J.P. Pignon, *Chemotherapy in non-small cell lung cancer: a meta-analysis using updated data on individual patients from 52 randomised clinical trials*. *Bmj*, 1995. **311**(7010): p. 899-909.
8. Tony S. Mok, M.D., Yi-Long Wu, M.D., F.A.C.S., Sumitra Thongprasert, M.D., Chih-Hsin Yang, M.D., Ph.D., et al., *Gefitinib or Carboplatin–Paclitaxel in Pulmonary Adenocarcinoma*. *N Engl J Med*, september 3, 2009. **361**(10): p. 947-57.
9. Ramalingam, S.S., et al., *Overall Survival with Osimertinib in Untreated, EGFR-Mutated Advanced NSCLC*. *N Engl J Med*, 2020. **382**(1): p. 41-50.
10. 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.
11. Dogan, S., et al., *Molecular epidemiology of EGFR and KRAS mutations in 3,026 lung adenocarcinomas: higher susceptibility of women to smoking-related KRAS-mutant cancers*. *Clin Cancer Res*, 2012. **18**(22): p. 6169-77.

12. Rangachari, D., et al., *Brain metastases in patients with EGFR-mutated or ALK-rearranged non-small-cell lung cancers*. *Lung Cancer*, 2015. **88**(1): p. 108-11.
13. Hsu, F., et al., *Patterns of spread and prognostic implications of lung cancer metastasis in an era of driver mutations*. *Curr Oncol*, 2017. **24**(4): p. 228-233.
14. Stanic, K., et al., *Brain metastases in lung adenocarcinoma: impact of EGFR mutation status on incidence and survival*. *Radiol Oncol*, 2014. **48**(2): p. 173-83.
15. *AJCC Cancer Staging Manual, Eighth Edition*. American College of Surgeons, 2018.
16. MM, O., et al., *Toxicity and Response Criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group*. *American Journal of Clinical Oncology*, 1982. **5**: p. 649-55.
17. *NCCN Clinical Practice Guideline in Oncology: Non Small Cell Lung Cancer Version 3.2020*. February 11, 2020; Available from: <http://www.nccn.org>.
18. Doebele, R.C., et al., *Oncogene status predicts patterns of metastatic spread in treatment-naive nonsmall cell lung cancer*. *Cancer*, 2012. **118**(18): p. 4502-11.
19. Prasad, S. *Epidermal growth factor receptor and EGFR signaling cascade*. 2018; Available from: <http://easylifescienceworld.com>.
20. Salomon, D.S. and i. Perroteau, *Basic Science Review: Growth Factors in Cancer and Their Relationship to Oncogenes*. *Cancer Investigation*, 1986. **4**(1): p. 43-60.
21. Yi-Long Wu, e.a., *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*. *Journal of Clinical Oncology*, January 15, 2014.
22. Soria, J.C., et al., *Osimertinib in Untreated EGFR-Mutated Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer*. *N Engl J Med*, 2018. **378**(2): p. 113-125.
23. Yang, J.C.-H., et al., *Clinical activity of afatinib in patients with advanced non-small-cell lung cancer harboring uncommon EGFR mutations: a combined post-hoc analysis of LUX-Lung 2, LUX-Lung 3, and LUX-Lung 6*. *Lancet Oncol*, 2015. **16**: p. 830-38.
24. Wu, K., et al., *Personalized targeted therapy for lung cancer*. *Int J Mol Sci*, 2012. **13**(9): p. 11471-96.

25. Hsiao, S.-H., et al., *Brain metastases in patients with non-small cell lung cancer: the role of mutated-EGFRs with an exon 19 deletion or L858R point mutation in cancer cell dissemination*. *Oncotarget*, 2017. **8 (No. 32)**.
26. Baek, M.Y., et al., *Epidermal growth factor receptor mutation and pattern of brain metastasis in patients with non-small cell lung cancer*. *Korean J Intern Med*, 2018. **33**: p. 168-175.
27. Shin, D.Y., et al., *EGFR mutation and brain metastasis in pulmonary adenocarcinomas*. *J Thorac Oncol*, 2014. **9(2)**: p. 195-9.
28. Han, G., et al., *A retrospective analysis in patients with EGFR-mutant lung adenocarcinoma: is EGFR mutation associated with a higher incidence of brain metastasis?* *Oncotarget*, 2016. **7(35)**: p. 56998-57010.
29. Hendrick, L.E.L., et al., *EGFR-mutated non-small cell lung cancer patients: more prone to development of bone and brain metastases*. *Lung Cancer*, 2014. **84**: p. 86-91.
30. Watanabe, H., et al., *Factors Associated With Distant Metastasis in EGFR-mutated Non-small Cell Lung Patients: Logistic Analysis*. *In Vivo*, 2019. **33**: p. 1369-1372.
31. Lee, J.S., et al., *The impact of systemic treatment on brain metastasis in patients with non-small-cell lung cancer: A retrospective nationwide population-based cohort study*. *Scientific Reports: nature research*, 2019. **9(18689)**: p. 55150-6.
32. Ji, Z., et al., *Risk Factors for Brain Metastases in Locally Advanced Non-Small Cell Lung Cancer With Definitive Chest Radiation*. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2014. **89(2)**: p. 330-7.
33. Ceresoli, G.L., et al., *Brain Metastases in Locally Advanced Nonsmall Cell Lung Carcinoma after Multimodality Treatment: Risk Factors Analysis*. *Cancer*, 2002. **95**: p. 605-12.
34. Lindsay, C.R., et al., *A prospective examination of circulating tumor cell profiles in non-small-cell lung cancer molecular subgroups*. *Annals of Oncology*, 2017. **28**: p. 1523-1531.
35. Lo, H.-W., et al., *Epidermal Growth Factor Receptor Cooperates with Signal Transducer and Activator of Transcription 3 to Induce Epithelial-Mesenchymal*

Transition in Cancer Cells via Up-regulation of TWIST Gene Expression. Cancer Res, 2007. **67**(19): p. 9066-76.

36. Dasari, V., et al., *Epithelial-mesenchymal transition in lung cancer: is tobacco the "smoking gun"?* Am J Respir Cell Mol Biol, 2006. **35**(1): p. 3-9.

37. Tulchinsky, E., et al., *EMT: A mechanism for escape from EGFR-targeted therapy in lung cancer.* Biochim Biophys Acta Rev Cancer, 2019. **1871**(1): p. 29-39.

38. Dongre, A. and R.A. Weinberg, *New insights into the mechanisms of epithelial-mesenchymal transition and implications for cancer.* Nature Reviews: Molecular Cell Biology, 2019. **20**: p. 69-84.

39. Santamaria, P.G., et al., *EMT: Present and future in clinical oncology.* Molecular Oncology, 2017: p. 718-738.

40. Kalluri, R. and R.A. Weinberg, *The basics of epithelial-mesenchymal transition.* J Clin Invest, 2009. **119**(6): p. 1420-8.

41. Tsoukalas, N., et al., *Epithelial-Mesenchymal Transition in Non Small-cell Lung Cancer.* Anticancer Res, 2017. **37**(4): p. 1773-1778.

42. Richardson, A.M., et al., *Vimentin Is Required for Lung Adenocarcinoma Metastasis via Heterotypic Tumor Cell-Cancer-Associated Fibroblast Interactions during Collective Invasion.* Clin Cancer Res, 2018. **24**(2).

43. Bae, G.-Y., et al., *Loss of E-cadherin activates EGFR-MEK/ERK signaling, which promotes invasion via the XEB1/MMP2 axis in non-small cell lung cancer.* Oncotarget, 2013. **4**(12): p. 2512-2522.

44. Sinkevicius, K.W., et al., *E-Cadherin Loss Accelerates Tumor Progression and Metastasis in a Mouse Model of Lung Adenocarcinoma.* Am J Respir Cell Mol Biol, 2018. **59**: p. 237-45.

45. Shibanuma, H., et al., *Influence of E-cadherin dysfunction upon local invasion and metastasis in non-small cell lung cancer.* Lung Cancer, 1998. **22**(2): p. 85-95.

46. Ye, Z., et al., *Prognostic Values of Vimentin Expression and It's Clinicopathological Significance in Non-Small Cell Lung Cancer: A Meta-Analysis of Observational Studies with 4119 Cases.* PLoS ONE, 2016. **11**(9).

47. Yang, Y.-L., M.-W. Chen, and L. Xian, *Prognostic and Clinicopathological Significance of Downregulated E-Cadherin Expression in Patients with Non- Small Cell Lung Cancer (NSCLC): A Meta-Analysis*. PLoS ONE, 2014. **9**(6): p. e99763.
48. Weng, C.-H., et al., *Epithelial-mesenchymal transition (EMT) beyond EGFR mutations per se is a common mechanism for acquired resistance to EGFR TKI*. Oncogene, 2018. **38**: p. 455-468.
49. Chockley, P.J., et al., *Epithelial-mesenchymal transition leads to NK cell-mediated metastasis-specific immunosurveillance in lung cancer*. J Clin Invest, 2018. **128**(4): p. 1384-1396.
50. Li, T., et al., *Genotyping and genomic profiling of non-small-cell lung cancer: implications for current and future therapies*. J Clin Oncol, 2013. **31**(8): p. 1039-49.
51. Bernard, R., *Fundamentals of biostatistics (5th ed.)*. Duxbury: Thomson learning. 2000. 384-385.
52. Richardson, F., et al., *The Evaluation of E-cadherin and Vimentin as Biomarkers of Clinical Outcomes Among patients with Non-small Cell Lung Cancer Treated with Erlotinib as Second- or Third-line Therapy*. Anticancer Research, 2012. **32**: p. 537-552.
53. Mok, T.S., et al., *Osimertinib or Platinum-Pemetrexed in EGFR T790M-Positive Lung Cancer AURA3*. N Engl J Med, 2017. **376**: p. 629-40.
54. T, I., et al., *Frequency of brain metastases in non- small-cell lung cancer, and their association with epidermal growth factor receptor mutations*. Int J Clin Oncol, 2015. **20**: p. 674-679.
55. Li, L., et al., *Correlation between EGFR mutation status and the incidence of brain metastases in patients with non-small cell lung cancer*. J Thorac Dis, 2017. **9**(8): p. 2510-2520.
56. Bajard, A., et al., *Multivariate analysis of factors predictive of brain metastases in localised non-small cell lung carcinoma*. Lung Cancer, 2004. **45**(3).
57. A, M., et al., *Clinical predictors of metastatic disease to the brain from non-small cell lung carcinoma; primary tumor size, cell type, and lymph node metastases*. radiology, 2007. **242**: p. 882-888.
58. B, L., et al., *The correlation between EGFR mutation status and the risk of brain metastasis in patients with lung adenocarcinoma*. J Neuro-oncol, 2015. **124**: p. 79-85.

59. Carbonnaux, M., et al., *Inequalities in lung cancer: a world of EGFR*. Eur Respir J, 2016. **47**(5): p. 1502-9.
60. Ramlau, R., et al., *Epidermal Growth Factor Receptor Mutation-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer in the Real-World Setting in Central Europe: The INSIGHT Study*. J Thorac Oncol, 2015. **10**(9): p. 1370-1374.
61. Y.-L.Wu, et al., *Pan-Asian adapted Clinical Practice Guidelines for the management of patients with metastatic non-small-cell lung cancer: a CSCO–ESMO initiative endorsed by JSMO, KSMO, MOS, SSO and TOS*. Annals of Oncology, 2019. **30**: p. 171-210.
62. Goss, G., et al., *CNS response to osimertinib in patients with T790M-positive advanced NSCLC: pooled data from two phase II trials*. Annals of Oncology, 2018. **29**: p. 687-693.
63. Kobayashi, S., et al., *EGFR mutation and Resistance of Non-Small-Cell Lung Cancer to Gefitinib*. N Engl J Med, 2005. **352**: p. 786-92.
64. Sequist, L.V., et al., *Genotypic and Histological Evolution of Lung Cancers Acquiring Resistance to EGFR Inhibitors*. Sci Transl Med, 2011. **3**(75ra26).
65. James Chih-Hsin Yang, e.a., *LUX-Lung 3: A randomized, open-label, phase III study of afatinib versus pemetrexed and cisplatin as first-line treatment for patients with advanced adenocarcinoma of the lung harboring EGFR-activating mutations*. Journal of Clinical Oncology, Published online January 31, 2017.
66. Eichler, A.F. and J.S. Loeffler, *Multidisciplinary management of brain metastases*. Oncologist, 2007. **12**(7): p. 884-98.
67. Lin, F. and Z. Chen, *Standardization of Diagnostic Immunohistochemistry: Literature Review and Geisinger Experience*. Arch Pathol Lab Med, 2014. **138**: p. 1564-1577.
68. Al-Saad, S., et al., *The prognostic impact of NF- κ B p105, vimentin, E-cadherin and Par6 expression in epithelial and stromal compartment in non-small-cell lung cancer*. British Journal of Cancer, 2008. **99**: p. 1476-1483.
69. Pelosi, G., et al., *Immunohistochemistry by Means of Widely Agreed-Upon Markers (Cytokeratins 5/6 and 7, p63, Thyroid Transcription Factor-1, and Vimentin) on Small Biopsies of Non-small Cell Lung Cancer Effectively Parallels the Corresponding*

Profiling and Eventual Diagnoses on Surgical Specimens. J Thorac Oncol, 2011. **6**: p. 1039-1049.

70. Liu, X., et al., *Loss of E-cadherin and epithelial to mesenchymal transition is not required for cell motility in tissues or for metastasis.* Tissue Barriers, 2014. **2**(4): p. e9691112-1-5.

71. Petrovaa, Y.I., L. Schectersonb, and B.M. Gumbiner, *Roles for E-cadherin cell surface regulation in cancer.* Molecular Biology of the Cell, 2016. **27**: p. 3233-3244.

72. David, J.M. and A.K. Rajasekaran, *Dishonorable Discharge: The Oncogenic Roles of Cleaved E-Cadherin Fragments.* Cancer Res, 2012. **72**(12).

73. Chen, A., et al., *E-cadherin loss alters cytoskeletal organization and adhesion in non-malignant breast cells but is insufficient to induce an epithelial-mesenchymal transition.* BMC Cancer, 2014. **14**: p. 552.





จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	รัตนาวดี เทียวเจริญ
วัน เดือน ปี เกิด	30 กรกฎาคม 2530
สถานที่เกิด	หนองคาย
วุฒิการศึกษา	พ.ศ. 2559 นิสิตปริญญาโท แพทย์ประจำบ้านสาขาอายุรศาสตร์มะเร็งวิทยา ภาควิชาอายุรศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย พ.ศ. 2555 แพทยศาสตรบัณฑิต มหาวิทยาลัยขอนแก่น
ที่อยู่ปัจจุบัน	89/312 ต.บางรักพัฒนา อ.บางบัวทอง จ.นนทบุรี 11110



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY