

**ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์** การวิเคราะห์การกลายพันธุ์บริเวณไทโรซีนไคเนสโดเมนของยีนอีจีเอฟอาร์ของผู้ป่วยมะเร็งปอดในภาคเหนือตอนบนของประเทศไทย

**ผู้เขียน** นายเอกพงศ์ ฐู๋ทำนอง

**ปริญญา** วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีววิทยา)

**คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์**

รองศาสตราจารย์ ดร.ดาวรุ่ง กังวานพงศ์ อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก  
อาจารย์ ดร. วรรณาทองนพคุณ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

### บทคัดย่อ

โรคมะเร็งปอดเป็นปัญหาด้านสาธารณสุขที่สำคัญมากในปัจจุบัน โดยเฉพาะทางภาคเหนือตอนบนของไทยซึ่งมีอุบัติการณ์ของมะเร็งปอดสูงที่สุด อีกทั้งการเสียชีวิตของผู้ป่วยมะเร็งปอดในแต่ละปียังมีอัตราสูงอีกด้วย จากการศึกษาเซลล์มะเร็งที่มีต้นกำเนิดจากเซลล์เยื่อหุ้มหัวใจหลายชนิด รวมถึงมะเร็งปอดชนิด non-small cell lung cancer พบว่ามีการแสดงออกของยีน *EGFR* ในระดับสูงกว่าปกติ ทำให้มีการพัฒนาายที่มีคุณสมบัติยับยั้ง tyrosine kinase activity ของโปรตีน *EGFR* (*EGFR*-TKIs) เพื่อใช้ในการรักษาแบบมุ่งเป้า ผลการศึกษาจากงานวิจัยหลายชิ้นพบว่าผู้ป่วยมะเร็งปอดที่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาในกลุ่ม *EGFR*-TKIs มักมีการกลายพันธุ์ของยีน *EGFR* บริเวณ tyrosine kinase domain ที่เอ็กซอน 18, 19 และ 21

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาอุบัติการณ์การกลายพันธุ์ของยีน *EGFR* บริเวณ tyrosine kinase domain ที่เอ็กซอน 18, 19 และ 21 ในผู้ป่วยมะเร็งปอดซึ่งอาศัยอยู่ในเขตภาคเหนือตอนบนของไทย โดยสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างเนื้อเยื่อมะเร็งปอดชนิด non-small-cell lung cancer (NSCLC) จำนวน 100 ตัวอย่าง เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของเอ็กซอนทั้งสามด้วยเทคนิค PCR จากนั้นนำไปหาลำดับเบสเพื่อวิเคราะห์การกลายพันธุ์ของยีน

ผลการศึกษาพบว่าสามารถสกัดดีเอ็นเอได้ทั้งหมด 92 ตัวอย่าง และเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ครบทั้ง 3 เอ็กซอนจำนวน เพียง 84 ตัวอย่าง (ร้อยละ 91.30) พบการกลายพันธุ์ของยีน *EGFR*

จำนวน 8 ชนิด ในผู้ป่วย 16 รายคิดเป็นร้อยละ 19.05 (16/84) โดยพบการกลายพันธุ์ชนิด delE746-A750 และ L858R ในผู้ป่วยชนิดละ 5 รายที่ไม่ซ้ำกัน ซึ่งมีรายงานว่ามีความสัมพันธ์กับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาในกลุ่ม EGFR-TKIs และพบการกลายพันธุ์ที่เคยมีรายงานมาก่อนแล้ว คือ G719A, G721D, delE746-S752insV และ delL747-S752insQ นอกจากนี้ยังพบการกลายพันธุ์ชนิดใหม่ 2 ชนิด ได้แก่ delL747-S752insF และ P848S การกลายพันธุ์ของยีน *EGFR* มีความสัมพันธ์กับผู้ป่วยเพศหญิง ( $P=0.005$ ) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และสัมพันธ์กับผู้ป่วยที่มีพยาธิสภาพชิ้นเนื้อแบบ adenocarcinoma ( $P=0.056$ )

การศึกษาครั้งนี้ทำให้ทราบถึงอุบัติการณ์การกลายพันธุ์ของยีน *EGFR* ในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งปอดที่อาศัยอยู่ทางภาคเหนือของไทย ซึ่งจะเป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญสำหรับการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการกลายพันธุ์กับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาในกลุ่ม EGFR-TKIs ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการรักษาและการพยากรณ์โรคต่อไป

<b>Thesis Title</b>	Mutation Analysis at Tyrosine Kinase Domain of <i>EGFR</i> Gene of Lung Cancer Patients in the Upper Northern Thailand	
<b>Author</b>	Mr. Ekkapong Roothumnong	
<b>Degree</b>	Master of Science (Biology)	
<b>Thesis Advisory Committee</b>	Assoc. Prof. Dr. Daoroonng Kangwanpong	Advisor
	Lect. Dr. Wanna Thongnoppakhun	Co-advisor

## ABSTRACT

Lung cancer is the very important public health problem nowadays, especially in the upper northern Thailand, which has both the highest incidence and high yearly death rate of lung cancer. From the study of cancer cells originated from many types of the epithelial lining cells, including the non-small cell lung cancers (NSCLC), the high level of *EGFR* gene expression was observed. Therefore, the drugs which have the EGFR–tyrosine kinase inhibitors (EGFR-TKIs) property have been developed for targeted therapy. Many research works also reported that the lung cancer patients with *EGFR* gene mutations in exons 18, 19 and 21 of the tyrosine kinase domain, had a good response to EGFR-TKIs drugs.

The objective of this study is to investigate the incidence of *EGFR* gene mutation in exons 18, 19 and 21 of the tyrosine kinase domain among the upper northern Thai lung cancer patients. Cancerous tissues obtained from 100 NSCLC patients were subjected to DNA extraction. Polymerase chain reaction (PCR) was used to amplify DNA regions encompassing the three *EGFR* exons of interest, followed by direct sequencing in order to identify the mutations.

DNA extraction was successful in 92 out of 100 samples, and all 3 exons of interest were able to be completely amplified only in 84 samples (91.3%). Eight types of *EGFR* gene mutations were found in 16 out of 84 (19.05%) patients. The previously reported mutations found in EGFR-TKIs responder, delE746–A750 and L858R, each of which was identified in 5 patients. Other reported mutations, G719A, G721D, delE746–S752insV and delL747–S752insQ were identified in only one patient for each type. In addition, two novel mutations, delL747–S752insF and P848S were identified in this study. When the association study was performed, *EGFR* mutation was found statistically significant associated with female ( $P=0.005$ ). The association was also found in adenocarcinoma subtype ( $P=0.056$ ).

This study, which reports the incidence of *EGFR* gene mutations in the upper northern Thai lung cancer patients, provides the useful information for the future study of the correlation between *EGFR* gene mutations and EGFR-TKIs drug response in lung cancer patients, as well as for disease prognosis.