



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการวิจัย

บทบาทของจำนวนชุดดีเอ็นเอของยีน *MDR1* และ *ABCG2* ต่อการพยากรณ์โรค  
ในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมชาวไทยที่รักษาด้วยเคมีบำบัด

Role of *MDR1* and *ABCG2* Copy Number Variation on the Prognosis of  
Thai Breast Cancer Patients Treated with Chemotherapy

โดย

ธเนศ โสภณนิธิประเสริฐ

สนับสนุนโดย

สถาบันวิจัย มหาวิทยาลัยรังสิต

2563



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการวิจัย

บทบาทของจำนวนชุดดีเอ็นเอของยีน *MDR1* และ *ABCG2* ต่อการพยากรณ์โรคใน  
ผู้ป่วยมะเร็งเต้านมชาวไทยที่รักษาด้วยเคมีบำบัด

Role of *MDR1* and *ABCG2* Copy Number Variation on the Prognosis of  
Thai Breast Cancer Patients Treated with Chemotherapy

โดย

ธเนศ โสภณนิธิประเสริฐ

สนับสนุนโดย

สถาบันวิจัย มหาวิทยาลัยรังสิต

2563

ชื่อเรื่อง : บทบาทของจำนวนชุดดีเอ็นเอของยีน *MDR1* และ *ABCG2* ต่อการพยากรณ์โรค  
ในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมชาวไทยที่รักษาด้วยเคมีบำบัด

ผู้วิจัย : ธเนศ โสภณนิธิประเสริฐ

สถาบัน : คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรังสิต

ปีที่พิมพ์ : 2565

สถานที่พิมพ์ : มหาวิทยาลัยรังสิต

แหล่งที่เก็บรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ : มหาวิทยาลัยรังสิต

จำนวนหน้างานวิจัย : 45 หน้า

คำสำคัญ : ยีน *MDR1*, ยีน *ABCG2*, ความหลากหลายจำนวนชุดของยีน, มะเร็งเต้านม

ลิขสิทธิ์ : มหาวิทยาลัยรังสิต

#### บทคัดย่อ

ยีน *MDR1* และ *ABCG2* มีบทบาทเกี่ยวข้องกับการขนส่งสิ่งแปลกปลอมออกนอกเซลล์ รวมไปถึงยาเคมีบำบัดสำหรับโรคมะเร็งเต้านม งานวิจัยนี้สนใจความหลากหลายจำนวนชุดของยีน *MDR1* และ *ABCG2* ที่เกี่ยวข้องต่อการเกิดโรคและพยาธิสภาพทางคลินิกของโรคมะเร็งเต้านม ทำการศึกษาจากตัวอย่างดีเอ็นเอในกลุ่มควบคุมและกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งเต้านมจำนวน 162 ราย และ 126 ราย ตามลำดับ ทดสอบจำนวนชุดของยีนด้วยเทคนิค realtime PCR วิเคราะห์จำนวนชุดของยีนด้วยวิธี  $\Delta C_t$  ทำการวิเคราะห์ทางสถิติเปรียบเทียบความแปรผันกับพยาธิสภาพทางคลินิกของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมโดยใช้สถิติทดสอบ Chi-square และหาความสัมพันธ์ต่ออัตราการรอดชีวิตของผู้ป่วยโดยใช้สถิติทดสอบ Kaplan-Meier survival ผลการทดสอบความหลากหลายจำนวนชุดของยีนพบว่า ความหลากหลายของยีน *ABCG2* แบบ  $>1/1$  ในกลุ่มควบคุม เป็นปัจจัยป้องกันในการเกิดโรคมะเร็งเต้านม ( $OR = 0.32$ ;  $P \text{ value} = 0.000$ ) โดยที่ความหลากหลายของยีน *MDR1* ไม่มีความสัมพันธ์แบบมีนัยสำคัญทางสถิติ ในกลุ่มผู้ป่วยโรคมะเร็งเต้านม พบว่าความหลากหลายยีน *MDR1* แบบ  $>1/1$  มีความสัมพันธ์ต่อขนาดก้อนมะเร็งที่มากกว่า 3 เซนติเมตร และสัมพันธ์ต่อการแพร่กระจายของมะเร็ง ในขณะที่ความหลากหลายยีน *ABCG2* แบบ  $>1/1$  มีความสัมพันธ์ต่อชนิดตัวรับฮอร์โมนโปรเจสโตโรนบนเซลล์มะเร็ง และสัมพันธ์ต่อการแพร่กระจายของมะเร็งด้วย การวิเคราะห์อัตราการรอดชีวิตชี้ให้เห็นว่าความหลากหลายยีน *MDR1* แบบ  $>1/1$  ไม่มีผลต่ออัตราการรอดชีวิต ในขณะที่ความหลากหลายยีน *ABCG2* แบบ  $>1/1$  สัมพันธ์ต่ออัตราการรอดชีวิตที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ด้วยเหตุนี้ การตรวจความหลากหลายจำนวนชุดของยีน *MDR1* และ *ABCG2* จึงสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการพยากรณ์ความเสี่ยงในการเกิดโรคมะเร็งเต้านม และพยากรณ์ลักษณะทางพยาธิสภาพทางคลินิก รวมถึงอัตราการรอดชีวิตของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมได้

Title : Role of *MDR1* and *ABCG2* Copy Number Variation on the Prognosis of Thai Breast Cancer Patients Treated with Chemotherapy

Researcher : Thanet Sophonnithiprasert

Institution : Faculty of Science, Rangsit University

Year of Publication : 2022

Publisher : Rangsit University

Sources : Rangsit University

No. of pages : 45 pages

Keywords : *MDR1*, *ABCG2*, copy number variation, breast cancer

Copyrights : Rangsit University

#### Abstract

Role of *MDR1* and *ABCG2* gene is control the efflux of xenobiotics, include chemotherapeutic drug for breast cancer. So, the copy number variation of *MDR1* and *ABCG2* which correlated to pathogenesis and clinicopathological parameter of breast cancer were focused in this research. Total 162 DNA sample of control and 126 DNA sample of breast cancer patient were collected. The copy number of gene was observed using realtime PCR, then analyse the variation by  $\Delta C_t$  method. The correlations between *MDR1* and *ABCG2* patients' copy number variations, the control group, and clinicopathological parameters were determined using Chi-square test. The Kaplan-Meier survival test was used for analyse the correlation between survival rate of patients and copy number variation of both genes. The results indicated that the >1/1 genotype of *ABCG2* copy number variation is a protective factor of breast cancer carcinogenesis (OR = 0.32; P value = 0.000), but *MDR1* was not. In breast cancer patients, >1/1 genotype of *MDR1* is associated with over 3 cm of tumor size and distant metastasis while >1/1 genotype of *ABCG2* is associated with progesterone receptor positive and distant metastasis. Survival analysis's results indicated that >1/1 genotype of *ABCG2* was associated with shorter overall survival significantly, while >1/1 genotype of *MDR1* was not. Thus, the determination of *MDR1* and *ABCG2* copy number variations can use as a prognosis factor for breast cancer pathogenesis, clinicopathological parameter, and survival rate of breast cancer patients potentially.

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ขอแสดงความขอบคุณสถาบันวิจัย มหาวิทยาลัยรังสิต ที่ให้ความอนุเคราะห์และอำนวยความสะดวกทุนวิจัยในการศึกษา ทำให้สามารถทำงานวิจัยได้อย่างต่อเนื่อง ส่งผลให้เกิดความสำเร็จลุล่วงตามวัตถุประสงค์ของงานวิจัยเป็นไปอย่างดี

ขอแสดงความขอบคุณ ศาสตราจารย์ ดร. ทรงศักดิ์ เพ็ชรมิตร คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล ที่ได้สละเวลาเป็นที่ปรึกษาโครงการ รองศาสตราจารย์ ดร. ธเนศ พงศ์ธีรรัตน์ หมวดยาชีวเคมี ภาควิชาวิทยาศาสตร์การแพทย์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรังสิต และ ดร. เพ็ญศรี แซ่หลี สถาบันมะเร็งแห่งชาติ ที่สละเวลาร่วมทำวิจัย ตลอดจนคอยให้คำปรึกษาด้านวิชาการตลอดงานวิจัย ทำให้งานวิจัยในโครงการมีความชัดเจนและถูกต้อง จนสำเร็จลุล่วงไปเป็นอย่างดี

ขอแสดงความขอบคุณ ห้องปฏิบัติการอนุชีววิทยา หมวดยาชีวเคมี ภาควิชาวิทยาศาสตร์การแพทย์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรังสิต ที่ได้อำนวยความสะดวกพื้นที่วิจัยและการใช้เครื่องมือเพื่องานวิจัย ทำให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

สุดท้ายนี้ ประโยชน์อันพึงพอใจที่ได้รับงานวิจัยนี้ ขอมอบความดีให้ทุกท่านที่มีส่วนสำคัญต่อความสำเร็จของงานวิจัยในครั้งนี้ด้วย

ธเนศ โสภณนิธิประเสริฐ

หัวหน้าโครงการวิจัย

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

## สารบัญ

|  | หน้า |
|--|------|
| บทคัดย่อภาษาไทย  | ก    |
| บทคัดย่อภาษาอังกฤษ   | ข    |
| กิตติกรรมประกาศ  | ค    |
| สารบัญ   | ง    |
| สารบัญตาราง  | ฉ    |
| สารบัญรูป  | ช    |
| <b>บทที่ 1</b>   |      |
| บทนำ   |      |
| ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา   | 1    |
| วัตถุประสงค์ของการวิจัย  | 2    |
| ขอบเขตของการวิจัย  | 2    |
| กรอบแนวคิดการวิจัย   | 3    |
| ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ  | 3    |
| <b>บทที่ 2</b>   |      |
| เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง   |      |
| มะเร็งเต้านม   | 4    |
| โปรตีน P-glycoprotein1 และยีน <i>MDR1</i>                                    | 9    |
| โปรตีน breast cancer resistance protein และยีน <i>ABCG2</i>                  | 11   |
| <b>บทที่ 3</b>   |      |
| ระเบียบวิธีวิจัย   |      |
| การเก็บตัวอย่างดีเอ็นเอ  | 12   |
| การตรวจสอบความผิดปกติจำนวนชุดของยีน <i>MDR1</i> และยีน <i>ABCG2</i>          | 13   |
| การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ   | 14   |
| <b>บทที่ 4</b>   |      |
| ผลการวิจัย   |      |
| ผลการตรวจจำนวนชุดของยีน <i>MDR1</i> และ <i>ABCG2</i>                         | 15   |
| ความสัมพันธ์ระหว่างกลุ่มความถี่จำนวนชุดของยีน <i>MDR1</i> และ <i>ABCG2</i>   | 16   |
| ในกลุ่มควบคุมและกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งเต้านม                                     |      |
| การวิเคราะห์ทางสถิติของจำนวนชุดของยีน <i>MDR1</i> และ <i>ABCG2</i> ต่อตัวแปร | 17   |
| ที่มีผลทางพยาธิสภาพคลินิกในผู้ป่วยมะเร็งเต้านม                               |      |
| การวิเคราะห์อัตราการรอดชีวิตของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมต่อจำนวนชุดของยีน          | 20   |
| <i>MDR1</i> และ <i>ABCG2</i>   |      |

## สารบัญ (ต่อ)

|   | หน้า |
|---|------|
| บทที่ 5   สรุป อภิปราย และข้อเสนอแนะ  | 22   |
| เอกสารอ้างอิง   | 25   |
| ภาคผนวก   |      |
| ภาคผนวก 1: ตารางแสดงองค์ประกอบทางเคมีและสภาวะอุณหภูมิที่ใช้ในปฏิกิริยาลูโกโซ<br>พอลิเมอเรส                | 32   |
| ภาคผนวก 2: ตารางแสดงข้อมูลค่า Ct และ $\Delta Ct$ ของกลุ่มควบคุมและกลุ่มผู้ป่วยโรคมะเร็ง<br>เต้านมแต่ละราย | 33   |



## สารบัญตาราง

| ตารางที่ |   | หน้า |
|----------|---|------|
| 1        | แสดงค่า CNV ของยีน <i>MDR1</i> และ <i>ABCG2</i> ในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งเต้านม และกลุ่มควบคุม           | 17   |
| 2        | แสดงความหลากหลายจำนวนชุดของยีน <i>MDR1</i> และตัวแปรที่มีผลทางพยาธิสภาพคลินิกในผู้ป่วยมะเร็งเต้านม  | 18   |
| 3        | แสดงความหลากหลายจำนวนชุดของยีน <i>ABCG2</i> และตัวแปรที่มีผลทางพยาธิสภาพคลินิกในผู้ป่วยมะเร็งเต้านม | 19   |





สารบัญรูป

| รูปที่ |  | หน้า |
|--------|--|------|
| 1      | กราฟแสดงผลการวัดแสงฟลูออเรสเซนซ์ในปฏิกิริยา realtime PCR   | 15   |
| 2      | Kaplan-Meier survival curve ของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่มี genotype แสดงความหลากหลายของยีน <i>MDR1</i>  | 20   |
| 3      | Kaplan-Meier survival curve ของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่มี genotype แสดงความหลากหลายของยีน <i>ABCG2</i> | 20   |



## บทที่ 1

### บทนำ

#### ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

มะเร็งเต้านมเป็นสาเหตุการตายอันดับหนึ่งจากโรคมะเร็งของผู้หญิงทั่วโลก โดยเฉพาะทางประเทศตะวันตกมีอัตราการเกิดโรคมะเร็งเต้านมในระดับสูงคือมีอัตราการเกิดโรคมะเร็งเต้านม 99.4 คนต่อประชากรสตรี 100,000 คนและมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง

สำหรับสถานการณ์โรคมะเร็งของประเทศไทยในปัจจุบันตามรายงานในทะเบียนมะเร็งระดับโรงพยาบาล พ.ศ. 2564 ของสถาบันมะเร็งแห่งชาติ กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข พบว่าโรคมะเร็งเต้านมเป็นโรคมะเร็งที่พบมากเป็นอันดับหนึ่งของผู้ป่วยมะเร็งรายใหม่ในสถาบันมะเร็งแห่งชาติ พ.ศ. 2564 ในเพศหญิง โดยคิดเป็นสัดส่วนร้อยละ 37.9 นับเป็นจำนวน 616 รายจากผู้ป่วยโรคมะเร็งเพศหญิงรายใหม่ทั้งหมดใน ปี พ.ศ. 2564 จำนวน 1,625 ราย ในสถาบันมะเร็งแห่งชาติ

สาเหตุของการเกิดมะเร็งเต้านมมีหลายสาเหตุและมีสาเหตุที่สำคัญคือเกิดจากการใช้ชีวิตประจำวัน เช่น การบริโภคอาหารที่มีสารก่อมะเร็งหรือสารที่มีไขมันสูง, การออกกำลังกาย, การอยู่ในสิ่งแวดล้อมที่เป็นพิษ, ความผันแปรของฮอร์โมนเพศและประมาณ 30% เกิดจากภาวะทางพันธุกรรมหรือความผิดปกติของยีน

กระบวนการรักษาโรคมะเร็งเต้านมโดยวิธีเคมีบำบัด พบว่าผู้ป่วยมะเร็งเต้านมบางรายมีภาวะดื้อยาเคมีบำบัด ด้วยเหตุนี้งานวิจัยที่เกี่ยวกับการวิเคราะห์สาเหตุของภาวะดื้อยาเคมีเพื่อหาวิธีที่จะลดภาวะดื้อยาเคมีบำบัดหรือวางแผนการให้ยาเคมีบำบัดของผู้ป่วยโรคมะเร็งเต้านมจึงเป็นสิ่งสำคัญอย่างยิ่งต่อวงการแพทย์ในปัจจุบัน โดยเฉพาะผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของยีน *MDR1* และ *ABCG2* ที่แตกต่างกัน ส่งผลให้เกิดภาวะดื้อยาเคมีบำบัดได้แตกต่างกัน ทำให้มีผลต่อการรักษาด้วยเคมีบำบัดที่แตกต่างกันออกไป และปัจจุบันยังไม่มีรายงานที่เกี่ยวกับอุบัติการณ์การแสดงออกของยีน *MDR1* และ *ABCG2* จากการมีจำนวนชุดของยีน (gene copy number) ที่มีจำนวนเกินกว่าปกติ ต่อภาวะการดื้อยาของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมชาวไทยที่ได้รับยาเคมีบำบัด

การประเมินบทบาทของความแปรผันของจำนวนชุดของยีน *MDR1* และ *ABCG2* ที่นำไปสู่ความเชื่อมโยงกับอัตราการอยู่รอดผู้ป่วยและการดื้อยาเคมีบำบัดของผู้ป่วยมะเร็งเต้านม จะถูก

นำมาใช้ประโยชน์ในการพยากรณ์โรคเพื่อประเมินการรักษา การวางแผนการให้ยาเคมีบำบัด และการให้คำปรึกษาทางพันธุศาสตร์ต่อผู้ป่วยมะเร็งเต้านม

### วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาความแปรผันของจำนวนชุดดีเอ็นเอของยีน *MDR1* และ *ABCG2* ในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมชาวไทย
2. เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างความแปรผันของจำนวนชุดของยีน *MDR1* และ *ABCG2* กับการอยู่รอดของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมชาวไทย

### ขอบเขตของการวิจัย

1. รับตัวอย่างดีเอ็นเอที่สกัดจากชิ้นเนื้อมะเร็งเต้านมตัวอย่างฝังพาราฟิล์มจากสถาบันมะเร็งแห่งชาติ มาทำการตรวจสอบคุณภาพและปริมาณของดีเอ็นเอ
2. ออกแบบไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อยีน *MDR1* และ *ABCG2* สำหรับการตรวจหาความหลากหลายจำนวนชุดของยีนด้วยวิธี quantitative polymerase chain reaction หรือ realtime PCR โดยใช้ยีน *GAPDH* เป็นยีนอ้างอิง
3. ตรวจหาความหลากหลายจำนวนชุดของยีน *MDR1* และ *ABCG2* ด้วยเทคนิค realtime PCR และคำนวณความหลากหลายของยีนด้วยวิธี  $\Delta Ct$  โดยใช้ยีน *GAPDH* เป็นยีนอ้างอิงกับตัวอย่างดีเอ็นเอของกลุ่มควบคุมและกลุ่มผู้ป่วยโรคมะเร็งเต้านม จัดกลุ่มวิเคราะห์เป็น genotype แบบ 1/0, 1/1, และ >1/1 ตามค่า  $\Delta Ct$
4. วิเคราะห์บทบาทของความหลากหลายจำนวนชุดของยีน *MDR1* และ *ABCG2* ในตัวอย่างดีเอ็นเอแต่ละราย และหาความสัมพันธ์ระหว่างความแปรผันของจำนวนชุดของยีนกับพยาธิสภาพทางคลินิกของผู้ป่วยมะเร็งเต้านม ได้แก่ อายุ, ขนาดของก้อนมะเร็ง, ระยะของโรคมะเร็ง จำนวนต่อมน้ำเหลือง ตัวรับทางชีวภาพ และชนิดของยาเคมีที่ใช้รักษา ด้วยการทดสอบ Chi-square และปัจจัยเรื่องจำนวนชุดของยีนต่ออัตราการอยู่รอดของผู้ป่วย ด้วยการทดสอบ Kaplan-Meier วิเคราะห์ด้วยโปรแกรมทางสถิติ SPSS เพื่อวิเคราะห์หาปัจจัยที่สัมพันธ์ต่อพยาธิสภาพทางคลินิกและอัตราการรอดชีวิตในการพยากรณ์โรคมะเร็งเต้านมต่อไป

### กรอบแนวคิดการวิจัย

ยีน *MDR1* และ *ABCG2* จัดเป็นยีนที่มีบทบาทเกี่ยวข้องกับต่อกระบวนการขับยาออกจากเซลล์ ซึ่งจะมีผลต่อการรักษาโรคมะเร็ง หากยาที่ให้ไม่สามารถเข้าไปออกฤทธิ์ได้ภายในเซลล์ โดยปกติจำนวนชุดของยีนที่พบ จะสัมพันธ์กับระดับการแสดงออกของยีน หากมีจำนวนชุดของยีน *MDR1* และ *ABCG2* มาก การแสดงออกของยีนจะเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ระดับของยาถูกขับออกมากขึ้น มีระดับของยาภายในเซลล์จะต่ำกว่าช่วงระดับความเข้มข้นของยาที่ใช้ในการรักษา (therapeutic window) ไปตามทฤษฎี ซึ่งอาจส่งผลให้อัตราการรอดชีวิตของผู้ป่วยลดลง ด้วยเหตุนี้ การทดสอบความสัมพันธ์ของอัตราการรอดชีวิตในผู้ป่วยโรคมะเร็งเต้านมโดยใช้ความหลากหลายจำนวนชุดของยีน *MDR1* และ *ABCG2* จึงมีความสำคัญต่อการจัดการแนวทางการให้ยาหรือการวางแผนการรักษาโรคมะเร็ง

### ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ผลการประเมินบทบาทความแปรผันจำนวนชุดของยีน *MDR1* และ *ABCG2* ที่นำไปสู่ความเชื่อมโยงกับการเกิดมะเร็งเต้านม และความเกี่ยวข้องของพยาธิสภาพทางคลินิกของมะเร็งเต้านม ซึ่งจะมีผลต่อการพยากรณ์การเกิดโรค การประเมินพยาธิสภาพทางคลินิก อัตราการอยู่รอดผู้ป่วย และการให้คำปรึกษาทางพันธุศาสตร์ต่อผู้ที่เป็นมะเร็งเต้านม
2. การต่อยอดผลงานวิจัยที่ได้ ในการพัฒนากระบวนการตรวจความหลากหลายของจำนวนชุดของยีน *MDR1* และ *ABCG2* เพื่อใช้ในการพยากรณ์โรคมะเร็งเต้านม

## บทที่ 2

### เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

องค์การอนามัยโลก (World Health Organization; WHO) รายงานว่ามะเร็งเต้านม เป็นมะเร็งที่พบบ่อยที่สุดในหญิงชาวตะวันตก ไม่ว่าจะอยู่ในยุโรป หรือสหรัฐอเมริกา ขณะนี้โรคมะเร็งเต้านม เป็นสาเหตุการป่วยและเสียชีวิตอันดับ 1 ของผู้หญิงทั่วโลก ปัจจุบันพบผู้ป่วยรายใหม่ปีละ 910,000 ราย เสียชีวิตปีละ 502,000 ราย เฉลี่ยนาทีละประมาณ 1 คน สำหรับในประเทศไทย มะเร็งเต้านม เป็นหนึ่งในสาเหตุการเสียชีวิตที่พบบ่อยที่สุดเมื่อเทียบกับโรคมะเร็งชนิดอื่น ตามอุบัติการณ์ของมะเร็งเต้านมในผู้หญิงไทย เมื่อเทียบกับประเทศตะวันตกแล้วยังถือว่าน้อยกว่ามาก โดยประเทศในอเมริกาเหนือ สหราชอาณาจักร ออสเตรเลีย และไทย มีผู้ป่วยมะเร็งเต้านม 82.5, 62.5 และ 69.2 ต่อประชากร 100,000 คน ตามลำดับ (Parkin, 1998) สำหรับในประเทศไทยตามรายงานของสถาบันมะเร็งรอบปีที่ผ่านมาพบว่า โรคมะเร็งเต้านมเป็นโรคมะเร็งที่พบมากเป็นอันดับหนึ่งของผู้ป่วยมะเร็งรายใหม่ในสถาบันมะเร็งแห่งชาติ พ.ศ. 2564 ในเพศหญิง โดยคิดเป็นสัดส่วนร้อยละ 37.9 นับเป็นจำนวน 616 รายจากผู้ป่วยโรคมะเร็งเพศหญิงรายใหม่ทั้งหมดในปี พ.ศ. 2564 จำนวน 1,625 ราย ในสถาบันมะเร็งแห่งชาติ (ทะเบียนมะเร็งระดับโรงพยาบาล พ.ศ. 2564, 2564)

#### มะเร็งเต้านม

มะเร็งเต้านม (Breast cancer) เป็นมะเร็งที่พบบ่อยในหญิงไทย ผู้หญิงทุกคนมีความเสี่ยงต่อการเป็นมะเร็งเต้านม มักเกิดในเพศหญิงอายุ 50 ปีขึ้นไป อายุที่ตรวจพบเป็นมะเร็งมากที่สุดคือช่วงระหว่าง 45-50 ปี ผู้ที่มีอายุสูงขึ้นจะมีอัตราเสี่ยงสูงขึ้น ปัจจุบันยังไม่มีการศึกษาวิจัยใดที่สรุปแน่ชัดถึงสาเหตุของมะเร็งเต้านม จึงยังไม่สามารถคิดค้นหาวิธีป้องกันได้ แต่การตรวจพบมะเร็งเต้านมในระยะแรกและยังไม่แพร่กระจายทำให้โอกาสในการรักษาหายขาดจากโรคได้ (Parkin, 1998)

มะเร็งเต้านมจัดเป็นมะเร็งที่สามารถแพร่กระจายได้ (metastatic cancer) โดยปกติจะกระจายไปยังกระดูก ตับ ปอด และสมอง ซึ่งมักเป็นสาเหตุของการไม่สามารถรักษาให้หายเป็นปกติได้<sup>(ref301)</sup> การตรวจวินิจฉัยที่รวดเร็วหรือทราบในระยะแรกของการเกิดโรคมะเร็งเต้านม จะส่งผลให้เกิดการพยากรณ์การดำเนินไปของโรคได้ดี และช่วยให้มีอัตราการรอดชีวิตที่สูงขึ้นได้ โดยการตรวจวินิจฉัยโรคมะเร็งเต้านม ทำได้โดยการคัดกรองด้วยการทำแมมโมแกรม (Mammography) ในการตรวจคัดกรอง

มะเร็งเต้านมและมีส่วนช่วยในการลดอัตราการเสียชีวิตจากมะเร็งเต้านมได้อย่างมีประสิทธิภาพ นอกเหนือจากการคัดกรองด้วยแมมโมแกรมแล้ว ยังมีการคัดกรองด้วยการสร้างภาพด้วยคลื่นแม่เหล็ก (Magnetic Resonance Imaging; MRI) ที่มีความไวมากกว่าแมมโมแกรมอีกด้วย (Sun, 2017)

ถึงแม้ว่าสาเหตุของการเกิดมะเร็งเต้านม ณ ปัจจุบันยังไม่ทราบแน่ชัด แต่พบว่าปัจจัยเสี่ยง (Risk Factors) หลายปัจจัย ที่เชื่อว่าเป็นสาเหตุของมะเร็งเต้านม ได้แก่:

1. เพศ: ตามสถิติพบว่า มะเร็งเต้านมพบในเพศหญิงมากกว่าเพศชาย จากรายงานของ Diana Ly และคณะ (2013) ได้ทำการเปรียบเทียบอัตราการเกิดอุบัติการณ์ (incidence rate) ของการเกิดโรคมะเร็งเต้านมในเพศชายและเพศหญิงในระดับนานาชาติ พบว่าเพศชายจะมีอุบัติการณ์เกิดโรคมะเร็งเต้านมในอัตราน้อยกว่า 1 ต่อประชากร 100,000 คน ในขณะที่เพศหญิงจะมีอุบัติการณ์เกิดโรคมะเร็งเต้านมสูงกว่านั้น ทำให้คำนวณเป็นสัดส่วน female-to-male incidence rate ratios (FMIRRs) โดยรวมสูงถึง 122 โดยอุบัติการณ์เกิดโรคมะเร็งเต้านมในเพศชายสูงสุดพบที่ประเทศอิสราเอล โดยมีอุบัติการณ์ 1.24 ต่อประชากรชาย 100,000 คนต่อปี และอุบัติการณ์เกิดโรคมะเร็งเต้านมในเพศหญิงสูงสุดพบที่ประเทศสหรัฐอเมริกา โดยมีอุบัติการณ์ 90.7 ต่อประชากรหญิง 100,000 คนต่อปี ส่วนประเทศที่มีอุบัติการณ์เกิดโรคมะเร็งต่ำที่สุด พบที่ประเทศไทย โดยมีอุบัติการณ์เกิดโรคมะเร็งในเพศชาย 0.16 ต่อประชากรชาย 100,000 คนต่อปีและในเพศหญิง 18.0 ต่อประชากรหญิง 100,000 คนต่อปี (Ly, 2013)

2. อายุ: กระบวนการแก่ตัวของเซลล์เป็นปัจจัยเสี่ยงสำคัญอย่างหนึ่งของการเกิดโรคมะเร็งเต้านม เนื่องจากอายุที่เพิ่มมากขึ้น กระบวนการแก่ตัวของเซลล์จะทำให้มีโอกาสในการเกิดความเสียหายทางพันธุกรรมหรือการกลายพันธุ์มากขึ้นในร่างกาย เนื่องจากความสามารถในการซ่อมแซมส่วนที่เสียหายทางพันธุกรรมลดลงเมื่ออายุมากขึ้น ส่งผลให้มีความเสี่ยงในการเกิดโรคมะเร็งเต้านมเพิ่มขึ้นด้วยเช่นกัน (Center of Disease Control and Prevention, 2022) สำหรับในประเทศไทย ตามข้อมูลที่สถาบันมะเร็งแห่งชาติ กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ได้รายงานถึงจำนวนของผู้ป่วยโรคมะเร็งเต้านมรายใหม่ในเพศหญิงแยกตามช่วงอายุในสถาบันมะเร็งแห่งชาติ พ.ศ. 2564 พบว่า ผู้ป่วยโรคมะเร็งเต้านมรายใหม่ในเพศหญิงมีอายุตั้งแต่ 25 ปีไปจนถึงอายุมากกว่า 75 ปี โดยช่วงอายุที่พบจำนวนของผู้ป่วยโรคมะเร็งเต้านมรายใหม่น้อยที่สุดอยู่ที่ 25 ปี จำนวน 10 ราย และมีจำนวน

เพิ่มขึ้นเมื่อช่วงอายุมากขึ้นเรื่อยๆ โดยช่วงอายุที่พบจำนวนของผู้ป่วยโรคมะเร็งเต้านมรายใหม่สูงที่สุด อยู่ที่ 50 ปี (ทะเบียนมะเร็งระดับโรงพยาบาล พ.ศ. 2564, 2564)

3. ระดับฮอร์โมนเพศ: ระดับของฮอร์โมนเพศที่ผลิตขึ้นจากรังไข่มีความสัมพันธ์ต่อการเกิดโรคมะเร็งเต้านม ทั้งในภาวะก่อนและหลังวัยหมดประจำเดือน โดยระดับของฮอร์โมน estrogen และ androgen ที่สูงมีความสัมพันธ์ต่อการเกิดมะเร็งเต้านมในวัยก่อนหมดประจำเดือน<sup>(ref309)</sup> ในขณะที่ระดับของฮอร์โมน testosterone ที่สูงมีความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งเต้านมในวัยหลังหมดประจำเดือน โดยในวัยหลังหมดประจำเดือนเซลล์มะเร็งเต้านมที่เกิดขึ้นมักเป็นประเภทตรวจพบตัวรับ estrogen (estrogen receptor positive) อย่างไรก็ตามส่วนของเซลล์มะเร็งเต้านมประเภทตรวจพบและไม่พบตัวรับ Human epidermal growth factor (HER2<sup>+</sup> และ HER2<sup>-</sup> ตามลำดับ) ก็พบความสัมพันธ์กับระดับของฮอร์โมน testosterone ที่สูงเช่นเดียวกัน และสัมพันธ์กับระดับฮอร์โมน estrogen ที่ต่ำด้วย (Sieri, 2009)

4. ประวัติครอบครัว: จากการศึกษาในกลุ่มประชากรตามรุ่น (Cohort study) ในกลุ่มประชากรประเทศอังกฤษเพศหญิงมากกว่า 113,000 ราย พบว่าความเสี่ยงในการเกิดโรคมะเร็งเต้านมมีความสัมพันธ์กับประวัติครอบครัว โดยการใช้ระดับคะแนน family history score (FHS) เป็นตัวชี้วัด (Brewer, 2017) จัดเป็นปัจจัยเสี่ยงสำคัญที่นำมาใช้ในการทำนายโอกาสการเกิดมะเร็งเต้านมในบุคคลที่มีผู้ป่วยโรคมะเร็งเต้านมอยู่ในประวัติครอบครัวได้ ด้วยเหตุนี้จึงมีการแนะนำให้ตรวจคัดกรองในบุคคลที่มีประวัติครอบครัวเป็นโรคมะเร็งเต้านม

5. การกลายพันธุ์ของยีน: ปัจจุบันพบว่ามียีนหลากหลายยีนที่เป็นสาเหตุของความเสี่ยงในการเกิดโรคมะเร็งเต้านม โดยยีนที่กลายพันธุ์ส่วนใหญ่มีความสัมพันธ์ต่อการถ่ายทอดจากบรรพบุรุษ ซึ่งทำให้ประวัติครอบครัวจึงเป็นหนึ่งในปัจจัยเสี่ยงดังที่กล่าวมา โดยประมาณ 25% ของกรณีที่เกิดขึ้นจากการถ่ายทอดทางพันธุกรรม มาจากการกลายพันธุ์ของยีนกลุ่ม highly penetrance genes ได้แก่ *BRCA1*, *BRCA2*, *PTEN*, *TP53*, *CDH1*, และ *STK11* ที่ทำให้เกิดความเสี่ยงในการเป็นมะเร็งเต้านมได้สูงถึง 80% และอีก 2-3% จะมาจากการกลายพันธุ์ของยีน moderate penetrance genes ได้แก่

CHEK2, BRIP1, ATM, และ PALB2 ที่ทำให้เกิดความเสี่ยงในการเป็นมะเร็งเต้านมเพิ่มขึ้นเป็นสองเท่า (Shiovitz, 2015; Sheikh, 2015)

6. การดำเนินชีวิตที่ไม่ใส่ใจสุขภาพ: งานวิจัยจำนวนมากได้แสดงให้เห็นถึงรูปแบบการดำเนินชีวิต (lifestyle) มีผลต่อการเกิดปัญหาทางสุขภาพ รวมไปถึงการเกิดมะเร็งเต้านมด้วย ซึ่งโดยมากแล้ว การปรับเปลี่ยนรูปแบบการดำเนินชีวิตให้มีความใส่ใจต่อสุขภาพจะส่งผลในการป้องกันการเกิดโรคมะเร็งเต้านมได้ ไม่ว่าจะเป็น การเลือกรับประทานอาหาร การออกกำลังกาย การสูบบุหรี่หรือดื่มสุรา การรับประทานวิตามินหรือเกลือแร่ เป็นต้น ต่างพบว่าเป็นผลทำให้เกิดความแตกต่างในการเกิดโรคมะเร็งในกลุ่มคนที่มีการดำเนินชีวิตแตกต่างกัน และถึงแม้ว่าจะเป็นผู้ป่วยโรคมะเร็งเต้านมแล้วก็ตาม พบว่า การไม่สูบบุหรี่และควบคุมน้ำหนัก สามารถเพิ่มโอกาสการรอดชีวิตในระยะยาวได้ (long term survival chance) เพิ่มคุณภาพชีวิตให้กับผู้ป่วยโรคมะเร็งเต้านมได้ ด้วยเหตุนี้ การปรับเปลี่ยนรูปแบบการดำเนินชีวิตให้ใส่ใจต่อสุขภาพ จึงเป็นวิธีที่ง่าย ได้ประสิทธิภาพ และประหยัดในการป้องกันการเกิดโรคมะเร็งเต้านม หรือเพิ่มคุณภาพชีวิตให้กับผู้ป่วยมะเร็งเต้านมได้เป็นอย่างดี (Hashemi, 2014; Dieterich, 2014)

สำหรับในประเทศไทย สถาบันมะเร็งแห่งชาติ ภายใต้การกำกับของกรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ได้ออกเอกสารแนวทางการตรวจคัดกรองวินิจฉัยและการรักษาโรคมะเร็งเต้านม เผยแพร่ให้ประชาชนและบุคลากรทางการแพทย์ได้ใช้เป็นแนวปฏิบัติในการคัดกรองวินิจฉัยโรคมะเร็งเต้านม และได้มีแนวปฏิบัติเพื่อการรักษามะเร็งเต้านมในผู้ป่วยด้วยวิธีการต่างๆ ได้แก่ แนวทางรังสีรักษาในผู้ป่วยมะเร็งเต้านม แนวทางการรักษามะเร็งเต้านมโดยการผ่าตัด แนวทางการรักษาเสริมหลังผ่าตัดในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะแรก และแนวทางการรักษามะเร็งเต้านมระยะแพร่กระจาย เป็นต้น ซึ่งแนวทางการรักษาเสริมหลังผ่าตัดในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะแรกและแนวทางการรักษามะเร็งเต้านมระยะแพร่กระจาย จะเป็นการรักษาด้วยการให้ยาเคมีบำบัด ยาต้านฮอร์โมน หรือยาออกฤทธิ์ตรงเป้าหมาย (Targeted therapeutic drug) โดยในแนวปฏิบัติจะให้ข้อมูลว่า ผู้ป่วยที่มีการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาเคมีบำบัด จะมีชีวิตยืนยาวกว่าผู้ป่วยที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษา (วีรุฒิ อิมสารานู, 2560) ซึ่งปัจจัยที่ส่งผลทำให้ผู้ป่วยไม่ตอบสนองต่อการรักษาประการหนึ่ง คือ ความสามารถในการดูดซึมยาเคมีบำบัดเข้าสู่



เซลล์มะเร็งหรือความสามารถในการขับยาเคมีบำบัดออกนอกเซลล์มะเร็ง รวมไปถึงการรบกวนกระบวนการเมแทบอลิซึมของยาเคมีบำบัดภายในเซลล์มะเร็งด้วย โดยปัจจัยดังกล่าวเป็นผลสืบเนื่องมาจากความผิดปกติของยีนที่เกี่ยวข้อง ส่งผลให้มีโปรตีนที่เกี่ยวข้องต่อกระบวนการเมแทบอลิซึมของยาเคมีบำบัดเปลี่ยนไป จนไม่สามารถออกฤทธิ์ ทำให้ผู้ป่วยไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาเคมีบำบัดดังที่กล่าวมา

การรักษาโดยยาเคมีบำบัดและปัญหาการดื้อยา พบว่าในปัจจุบันการใช้ยาเคมีบำบัด (chemotherapeutic drug) มีบทบาทสำคัญมากในการรักษาโรคมะเร็งหลายชนิด โดยเฉพาะในปัจจุบันได้มีการพัฒนายาต้านมะเร็งให้มีประสิทธิภาพในการรักษาโรคมะเร็งได้ดียิ่งขึ้น ยาเคมีที่นิยมให้ ได้แก่ Colchicine, Adriamycin, Epirubicin และ 5-fluorouracil โดยที่ Colchicine มีฤทธิ์ยับยั้ง microtubule polymerization (Parness, 1981), Adriamycin (หรือ Doxorubicin) จะรบกวนวัฏจักรของเซลล์โดยยับยั้งการสร้างสารชีวโมเลกุล ส่งผลให้วัฏจักรของเซลล์มะเร็งเต้านมเข้าสู่ระยะพัก (cell cycle arrest) เซลล์ไม่สามารถแบ่งตัวได้จนเข้าสู่ภาวะการตายของเซลล์แบบ apoptosis (Bar-On, 2007), Epirubicin (หรือ anthracycline analogue) มีโครงสร้างเป็น epimer ของ doxorubicin จึงออกฤทธิ์คล้ายกัน แต่มีระดับความเป็นพิษ (toxicity) แตกต่างกัน นิยมใช้ร่วมกับยาเคมีอื่น (combination) เพื่อการรักษามะเร็งเต้านมในระยะแพร่กระจาย (Conte, 2000), และ 5-fluorouracil มีโครงสร้างเป็น nucleoside analogue ของเบส pyrimidine uracil ทำให้เกิดการเข้าคู่กันแบบไม่ถูกต้องของดีเอ็นเอและอาร์เอ็นเอ ส่งผลให้เซลล์มะเร็งเข้าสู่กระบวนการตาย (Zhang, 2008) โดยแพทย์จะใช้การรักษาแบบใดนั้นขึ้นอยู่กับสภาพของผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาโดยจะให้การรักษาด้วยยาดังกล่าวแก่ผู้ป่วยเป็นระยะเวลาอย่างน้อยประมาณ 6 เดือนติดต่อกัน ผลการรักษาผู้ป่วยที่มีเพศเดียวกันและเป็นมะเร็งในระยะเดียวกัน มีอายุใกล้เคียงกัน มักจะไม่เหมือนกัน รายหนึ่งอาจสามารถหายขาดได้ แต่อีกรายหนึ่งการรักษาแบบเดียวกันอาจไม่ได้ผลเลย เนื่องจากมะเร็งนั้นประกอบไปด้วยเซลล์มะเร็งที่หลากหลาย เซลล์บางส่วนอาจมีความไวต่อยาเคมีบำบัด ในขณะที่เซลล์บางส่วนมีคุณสมบัติที่ทนทานต่อยาเคมีบำบัดได้ โดยสามารถกำจัดยาเคมีบำบัดออกจากเซลล์ได้เอง ส่งผลให้เกิดการดื้อยาเคมีบำบัด และถึงแม้ว่าจะมียาเคมีบำบัดจะถูกพัฒนาเพิ่มขึ้นมาหลายชนิด แต่เพียงไม่กี่ชนิดที่ได้ผลดี ทั้งนี้เนื่องจากการพัฒนากลไกการดื้อยาเกิดขึ้นในเซลล์มะเร็ง ปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลทำให้เซลล์มะเร็งเกิดการดื้อยา คือ การทำงานของโปรตีนที่ผลักยาออกจากเซลล์มะเร็ง ที่เรียกว่า “efflux transporter” โดยเฉพาะโปรตีน efflux transporter ในกลุ่ม ATP-binding

cassette transporter (ABC transporter) ที่มีความสามารถในการขับยาต้านมะเร็งออกนอกเซลล์ โดยอาศัยพลังงานจาก ATP (Choi, 2005)

ABC transporters ที่เกี่ยวข้องต่อการดื้อยาเคมีบำบัดในเซลล์มะเร็งเต้านม ประกอบไปด้วย โปรตีนสามชนิด ได้แก่ โปรตีน P-glycoprotein 1 (P-gp1) ซึ่งควบคุมการสังเคราะห์ด้วยยีน *MDR1* (หรือ *ABCB1*), โปรตีน breast cancer resistance protein (BCRP) ซึ่งควบคุมการสังเคราะห์ด้วยยีน *ABCG2* และโปรตีน multidrug resistance-associated protein 1 (MRP1) ซึ่งควบคุมการสังเคราะห์ด้วยยีน *ABCC1* (Allen, 2002; Nakanishi, 2012; El Biali, 2021) โดยชุดของยีนที่กล่าวมาเกี่ยวข้องต่อการสังเคราะห์โปรตีน efflux transporter หากมีการแสดงออกของยีนที่เพิ่มมากขึ้น ก็จะส่งผลให้เซลล์มะเร็งมีการดื้อยาเคมี ซึ่งปัจจัยหนึ่งที่ทำให้เซลล์มีการแสดงออกของยีนเพิ่มมากขึ้น คือ การตรวจพบจำนวนชุดของยีน (gene copy number) ที่เพิ่มมากขึ้น จากความผิดปกติของกระบวนการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ โดยสามารถตรวจสอบจำนวนชุดของยีนได้ด้วยเทคนิค Realtime-PCR ซึ่งเป็นวิธีที่สามารถติดตามดูปฏิกิริยาได้ทุกระยะระหว่างที่กำลังดำเนินอยู่ และสามารถกำหนดจุดที่จะเก็บข้อมูลเพื่อนำมาวิเคราะห์ในภายหลังได้<sup>(15)</sup> โดยงานวิจัยนี้ ได้ทำการศึกษานับจำนวนชุดของยีน *MDR1* และ *ABCG2* ในผู้ป่วยโรคมะเร็งเต้านมชาวไทยที่ได้รับยาเคมีบำบัด เพื่อดูความสัมพันธ์ของจำนวนชุดของยีนที่มีผลต่อความสำเร็จในการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดสำหรับการพยากรณ์โรค และการให้ยาเคมีบำบัดเพื่อการรักษาต่อไป

### โปรตีน P-glycoprotein 1 และยีน *MDR1*

โปรตีน P-glycoprotein 1 (P-gp1) ซึ่งเป็นหนึ่งใน ATP-binding cassette superfamily ของโปรตีนที่ทำหน้าที่ขนส่งสารภายในเซลล์ ถูกควบคุมการสังเคราะห์ด้วยยีน *ABCB1* (ATP Binding Cassette Subfamily B Member 1) หรือในอีกชื่อหนึ่ง คือ ยีน *MDR1* (multidrug resistance) โดย P-glycoprotein จะมีการแสดงออกอยู่ในเนื้อเยื่ออวัยวะที่เชื่อมทั่วร่างกาย ได้แก่ ลำไส้ ไต blood-brain barrier และรกของเด็ก (Kimura, 2007; Yang, 2008) มีบทบาทเป็นโปรตีนขนส่ง (transporter) ที่มีคุณสมบัติเป็นไกลโคโปรตีน (glycoprotein) สร้างสภาพรูบนเซลล์เพื่อทำการขนส่งยาและสารพิษ (xenobiotics) ออกนอกเซลล์ (efflux pump) และ เป็นชนิดที่พบมากที่สุดที่เกี่ยวข้องกับกลไกการดื้อยาทางคลินิก สามารถขนส่งยาต้านมะเร็งได้หลายชนิด (Lin, 2003) มีการศึกษาพบว่าลักษณะที่สำคัญของเซลล์มะเร็งที่ดื้อยา คือ มีการแสดงออกของยีน *MDR1* โดยมีการสังเคราะห์โปรตีน P-gp1 เมื่อ

ได้รับยาต้านมะเร็ง ซึ่งสามารถพบได้ในมะเร็งหลายๆ ชนิดด้วยกัน เช่น มะเร็งเต้านม มะเร็งปอด มะเร็งเม็ดเลือดขาว สำหรับรายงานเกี่ยวกับการแสดงออกของยีน *MDR1* ในผู้ป่วยมะเร็งเต้านม พบว่าการแสดงออกของยีน *MDR1* ไม่ได้มีการแสดงออกแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และอาจไม่ได้มีบทบาทสำคัญต่อการดื้อยาของมะเร็งเต้านม (Yang, 1999)

การศึกษาจำนวนหนึ่งได้แสดงให้เห็นว่า การเปลี่ยนแปลงลำดับเบสบนยีน *MDR1* หรือ *MDR1* gene polymorphism มีความสัมพันธ์ต่อการเกิดมะเร็งเต้านม เช่น การศึกษาความแปรผันตำแหน่ง C3435T polymorphism ของยีน *MDR1* ในกลุ่มประชากร Mexico ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ พบว่า genotype แบบ heterozygous CT และ homozygous TT มีความสัมพันธ์ต่อการเกิดโรคมะเร็งเต้านมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่า odd ratio อยู่ที่ 1.88 และ 2.91 ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าการเกิดความแปรผันของยีน *MDR1* ณ ตำแหน่งดังกล่าว ส่งผลให้มีความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งเต้านมได้มากกว่าปกติประมาณ 2-3 เท่า (Jaramillo-Rangel, 2018)

อย่างไรก็ตาม เนื่องจากยีน *MDR1* ที่ควบคุมการสังเคราะห์เป็นโปรตีน P-gp1 มีบทบาทเกี่ยวข้องกับ pharmacokinetic ในส่วนการขับยาออกจากเซลล์ ดังนั้น หากมีการแปรผันของยีน *MDR1* จึงอาจส่งผลต่อความสามารถในการใช้ยาในการรักษาโรคได้ เช่น การแปรผันของยีน *MDR1* ตำแหน่ง C1236T polymorphism ที่ส่งผลต่อการใช้ยา cyclosporine (Chen, 2017) ในผู้ป่วยที่แพทย์ต้องการควบคุมปริมาณและเป็นหนึ่งในยารักษาโรคมะเร็ง, ตำแหน่ง C3435T และ C1236T polymorphism ที่ส่งผลต่อการใช้ยา clopidogrel (Chen, 2021; Zhang, 2022) ในผู้ป่วยโรคหัวใจและหลอดเลือด, ตำแหน่ง C1236T G2677T/A และ C3435T polymorphism ที่ส่งผลต่อการใช้ยา epirubicin (Wei, 2021) ในผู้ป่วยมะเร็งเต้านม เป็นต้น

นอกจากนั้น ยังพบว่าการแสดงออกของระดับโปรตีน P-gp1 ที่มากกว่าปกติสามารถตรวจพบได้ในเซลล์จำนวนมากที่เป็นเซลล์มะเร็ง (Hodges, 2011) และพบว่าระดับการแสดงออกของ P-gp1 มีระดับสูงขึ้นในกลุ่มที่ไม่มีการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มทั่วไป (Takara, 2006) แสดงให้เห็นว่าระดับของโปรตีน P-gp1 ส่งผลต่อการตอบสนองของยาในการรักษา อย่างไรก็ตาม ระดับของโปรตีน P-gp1 เป็นผลมาจากการแสดงออกของยีน *MDR1* และความแตกต่างในการแสดงออกของยีน อาจเป็นผลจากความหลากหลายจำนวนชุดของยีนที่แปรผัน (copy number variation; CNV) งานวิจัยนี้จึงได้ทดสอบดูความสัมพันธ์ของ CNV ในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมดังที่กล่าวมา

## โปรตีน breast cancer resistance protein และยีน *ABCG2*

โปรตีน transporters ชนิด breast cancer resistance protein (BCRP) ถูกควบคุมการสังเคราะห์ผ่านยีน *ABCG2* มีคุณสมบัติสามารถขนส่งยารักษามะเร็งได้หลายชนิด เช่น topotecan, methotrexate, mitoxantrone และ imatinib อย่างไรก็ตาม โดยปกติแล้วโปรตีน BCRP จะเป็นกลไกหนึ่งในการปกป้องเซลล์ โดยสามารถขนส่งยาและสารพิษอื่น เช่น ยา prazosin, 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine เป็นต้น การศึกษาโปรตีน BCRP ในเซลล์มะเร็ง พบว่าความแปรผันของกรดอะมิโนในโปรตีน BCRP ตำแหน่ง R482T หรือ R482G พบได้ในเซลล์มะเร็งที่ดื้อต่อยา mitoxantrone และ doxorubicin และพบการแสดงออกของยีน *ABCG2* และระดับของโปรตีน BCRP ที่สูงกว่าปกติ (overexpression) ในเซลล์มะเร็งที่ดื้อต่อยากลุ่ม Anthracycline ด้วย (Noguchi, 2014)

การเกิดความแปรผันของยีน *ABCG2* จะมีความสัมพันธ์ต่อการดื้อยาต่างๆ ในเซลล์มะเร็ง เช่น การแปรผันของยีน *ABCG2* ตำแหน่ง G34A polymorphism ทำให้เกิดการขับออกของยา erlotinib (Svedberg, 2020) และ imatinib (Park, 2021) ออกจากเซลล์มากขึ้น นอกจากนี้ ไม่เพียงเฉพาะต่อยาต้านมะเร็ง การแปรผันของยีน *ABCG2* ตำแหน่ง C421A ยังมีความสัมพันธ์ต่อการรักษาระดับยา rosuvastatin (Song, 2022) ที่ใช้ลดคอเลสเตอรอลในผู้ป่วยอีกด้วย

ด้วยเหตุนี้ งานวิจัยนี้จึงสนใจศึกษาความสัมพันธ์ของยีนที่เกี่ยวข้องกับความสำเร็จในการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดของผู้ป่วยที่ได้รับยาเคมีบำบัด โดยสนใจส่วนของยีนที่ทำหน้าที่ในการขับยาเคมีบำบัดออกนอกเซลล์มะเร็ง ได้แก่ ยีน *MDR1* ที่เกิดกระบวนการแสดงออกมาเป็นโปรตีน P-glycoprotein1 ที่มีบทบาทในการขับยาเคมีบำบัดออกนอกเซลล์ และยีน *ABCG2* ที่เกิดกระบวนการแสดงออกมาเป็นโปรตีน breast cancer resistance protein (BCRP) ที่มีรายงานว่ามียาที่มีบทบาทในการขับยาเคมีบำบัดหลายชนิดออกนอกเซลล์มะเร็งเต้านม ส่งผลให้การรักษามะเร็งเต้านมด้วยยาเคมีบำบัดไม่ประสบความสำเร็จ ซึ่งหากผู้ป่วยมีความผิดปกติในระดับยีนทั้งสอง จะส่งผลให้ระดับการแสดงออกของยีนทั้งสองเปลี่ยนไป และส่งผลให้ระดับของยาเคมีบำบัดภายในเซลล์มะเร็งเปลี่ยนไปจนประสิทธิภาพลดลง หากมีความสัมพันธ์ดังนี้ จะสามารถใช้การตรวจความผิดปกติของยีนทั้งสองเป็นตัวชี้วัดในการพยากรณ์การดำเนินไปของโรคมะเร็งเต้านมในผู้ป่วยที่ได้รับยาเคมีบำบัดได้ และช่วยให้แพทย์สามารถวางแผนทางการปฏิบัติการให้การรักษาแก่ผู้ป่วยในกลุ่มนี้ได้เหมาะสมขึ้น

### บทที่ 3 ระเบียบวิธีวิจัย

#### การเก็บตัวอย่างตีเอ็นเอ

ใช้ชิ้นเนื้อที่ฝังพาราฟินของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมของสถาบันมะเร็งแห่งชาติที่มารับการรักษาอย่างต่อเนื่องตั้งแต่ปี 2552-2556 และชิ้นเนื้อที่ฝังพาราฟินที่ได้รับการวินิจฉัยว่าไม่ได้เป็นมะเร็งเต้านมเพื่อใช้เป็นกลุ่มควบคุม รวมจำนวนประมาณ 333 ราย โดยคำนวณจากสูตรของการคำนวณขนาดตัวอย่างอาศัยหลักการทางสถิติด้วยโปรแกรม Power and Sample Size Calculation program จาก application n4Studies: For estimating the finite population proportion โดยกำหนดค่าพารามิเตอร์ไว้ดังนี้:

Proportion ( $p$ ) = 0.55, Error ( $d$ ) = 0.05

Alpha ( $\alpha$ ) = 0.05,  $Z(0.975) = 1.959964$

Sample size ( $n$ ) = 333

โปรแกรมทำการคำนวณผ่านสมการ:

$$n = \frac{Np(1-p)z_{1-\frac{\alpha}{2}}^2}{d^2(N-1) + p(1-p)z_{1-\frac{\alpha}{2}}^2}$$

เมื่อ

$n$  = จำนวนกลุ่มตัวอย่าง

$N$  = จำนวนประชากรทั้งหมด (ผู้ป่วยมะเร็งเต้านมตั้งแต่ปี 2554-2556)

โดยตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ฝังพาราฟินที่นำมาสกัดตีเอ็นเอ ดำเนินการภายใต้กรอบจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ตามเอกสารรับรองเลขที่ DEP.No.RSUEB2020-079 รับรองโดยคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน มหาวิทยาลัยรังสิต และเอกสารรับรองเลขที่ 031/2563 รับรองโดยคณะกรรมการทบทวนวิจัยจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ สถาบันมะเร็งแห่งชาติ โดยข้อมูลทางพยาธิสภาพของผู้ป่วยที่ต้องใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล ได้แก่ อายุ, ขนาดของก้อนมะเร็ง, ระดับความรุนแรงของโรคมะเร็งและอัตราการอยู่รอดของผู้ป่วย การรักษาด้วยยาเคมี โดยข้อมูลทั้งหมดของผู้ป่วย ผู้วิจัยได้ปิดเป็นความลับและไม่นำไปใช้ในโครงการอื่นอีก

ตัวอย่างที่ได้จะนำมาทำการวิเคราะห์ปริมาณของยีน *GAPDH* ซึ่งใช้เป็นยีนอ้างอิง (reference gene) ด้วยวิธี realtime-PCR โดยใช้ค่า Cycle threshold (Ct value) ที่มากกว่า 35 เป็นเกณฑ์ใน

การคัดตัวอย่างออก เนื่องจากค่า Ct ที่มากกว่า 35 จะแสดงให้เห็นว่ามีปริมาณดีเอ็นเอตัวอย่างที่น้อยเกินไป ไม่เหมาะสมต่อการนำมาวิเคราะห์จำนวนชุดของยีนในขั้นตอนถัดไป โดยผลการทดสอบค่า Ct ของตัวอย่างที่ได้รับมา จึงได้ตัวอย่างดีเอ็นเอเพื่อการวิเคราะห์ในลำดับถัดไปเป็นตัวอย่างดีเอ็นเอของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมจำนวน 126 ราย และตัวอย่างกลุ่มควบคุมจำนวน 162 ราย

### การตรวจสอบความผิดปกติของยีน *MDR1* และยีน *ABCG2*

การตรวจสอบความผิดปกติของยีน *MDR1* และ *ABCG2* ใช้เทคนิค Realtime-PCR เพื่อผลิตผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ของยีน *MDR1* และ *ABCG2* โดยมียีน *GAPDH* เป็นยีนอ้างอิง ด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป Luna<sup>®</sup> Universal qPCR Master mix kit (Bio-Rad Laboratories, USA) ทำปฏิกิริยาภายในเครื่อง BioRad CFX connect qPCR system (Bio-Rad Laboratories, USA) โดยมีลำดับเบสของคู่สายดีเอ็นเอตั้งต้น (primer pair) ในส่วน forward primer และ reverse primer ตามลำดับ ดังนี้ ยีน *MDR1*: 5'- TTG ATG GCA AAG AAA TAA AGC-3' และ 5'- CTT ACA TTA GGC AGT GAC TCG-3', ยีน *ABCG2*: 5'- GCT ACA CCA CCT CCT TCT GT-3' และ 5'- GGA AGA AGA GAA CCC CAG CT-3', และยีน *GAPDH*: 5'- AGG TCG GAG TCA ACG GAT TT-3' และ 5'- TAG TTG AGG TCA ATG AAG GG-3'

กำหนดปริมาณสารในปฏิกิริยาปริมาตร 10 ไมโครลิตร ประกอบด้วย 1x Luna<sup>®</sup> Universal qPCR Master mix, ดีเอ็นเอตัวอย่างปริมาณ 25 นาโนกรัม และดีเอ็นเอตั้งต้นแต่ละสายปริมาณ 0.5 ไมโครโมลาร์ ทำปฏิกิริยาในเครื่อง BioRad CFX connect qPCR system กำหนดสภาวะตามขั้นตอนในปฏิกิริยาถูกโซ่พอลิเมอไรส (PCR reaction) ดังนี้: initial denaturation ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที, จากนั้นเข้าสู่ปฏิกิริยาถูกโซ่พอลิเมอไรส จำนวน 40 รอบปฏิกิริยา ที่สภาวะ denaturation ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วินาที, primer annealing/extension ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที หลังเสร็จสิ้นปฏิกิริยา กำหนดค่า Threshold อัตโนมัติด้วยโปรแกรม CFX Manager<sup>™</sup> Software (Bio-Rad Laboratories, USA) บันทึกค่า Cycle threshold (Ct value) เพื่อใช้ในการคำนวณจำนวนชุดของยีนในลำดับถัดไป

นอกจากนี้ หลังเสร็จสิ้นปฏิกิริยา realtime PCR ได้ทำการวิเคราะห์ Melting curve analysis ของ PCR product ที่เกิดขึ้นในปฏิกิริยาด้วยโปรแกรม CFX Manager<sup>™</sup> Software (Bio-Rad Laboratories, USA) เพื่อเป็นการพิสูจน์เอกลักษณ์ของ PCR product ที่เกิดขึ้นจากการทดสอบแต่ละยีนอีกด้วย

ข้อมูลค่า Ct value ของแต่ละยีนที่ได้จากตัวอย่าง จะนำมาคำนวณค่า  $\Delta Ct$  โดยเปรียบเทียบระหว่างยีน *MDR1* และ *ABCG2* ที่ทดสอบกับยีน *GAPDH* ที่เป็นยีนอ้างอิงตามสมการ (Nørskov, 2009):

$$\Delta Ct = Ct_{\text{target gene}} - Ct_{\text{GAPDH reference gene}}$$

ผลของ  $\Delta Ct$  ที่ได้ในแต่ละตัวอย่างจะจัดออกเป็นกลุ่ม genotype ตามความหลากหลายของจำนวนชุดของยีนที่ทดสอบโดยพิจารณาจากค่า  $\Delta Ct$  ที่คำนวณได้ เพื่อทำการวิเคราะห์ทางสถิติต่อไป โดยกำหนดให้ ค่า  $\Delta Ct = \text{cannot detected}$  เป็นกลุ่ม “0/0”,  $\Delta Ct = -2.0$  ถึง  $0.5$  เป็นกลุ่ม “1/0”,  $\Delta Ct = 0.5$  ถึง  $1.9$  เป็นกลุ่ม “1/1” และ  $\Delta Ct = >2.0$  เป็นกลุ่ม “>1/1” ตามลำดับ ทำการวิเคราะห์ข้อมูล หาความสัมพันธ์กับพยาธิสภาพของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมเป็นลำดับถัดไป

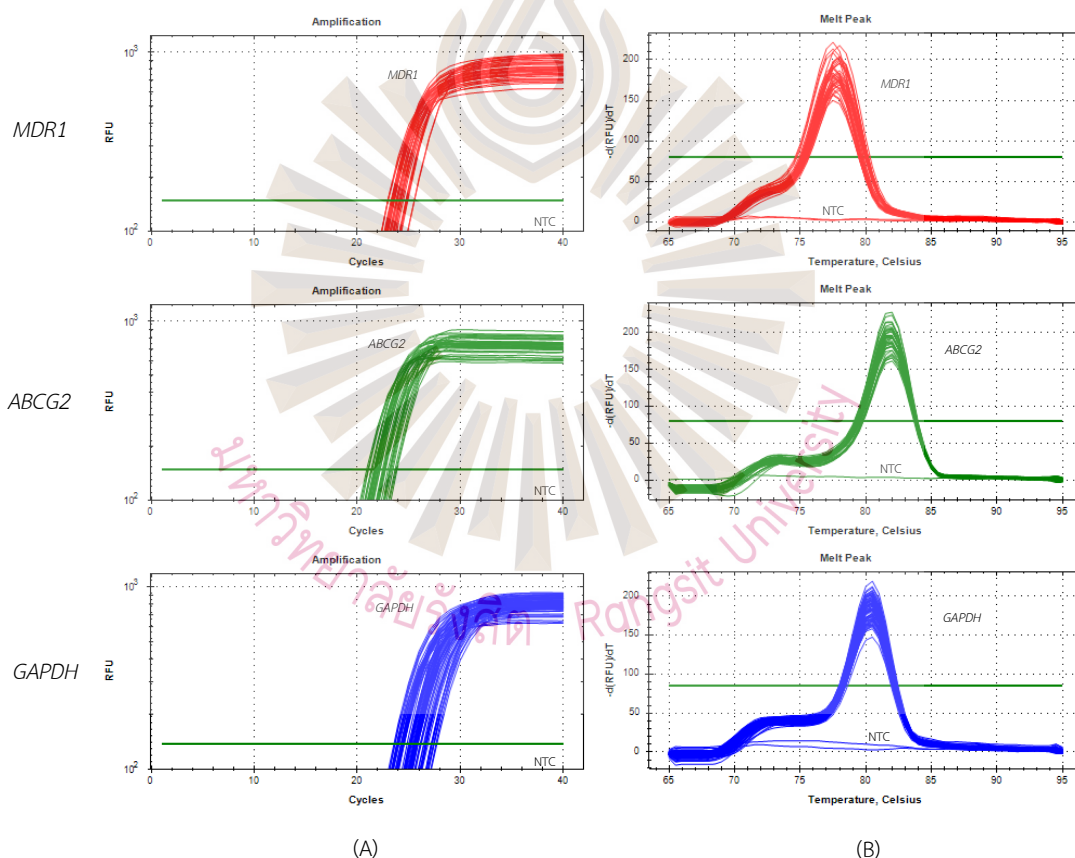
#### การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ทำการหาความสัมพันธ์ระหว่างความแปรผันของจำนวนชุดดีเอ็นเอของยีนกับพยาธิสภาพทางคลินิกของผู้ป่วยมะเร็งเต้านม ได้แก่ อายุ, ขนาดของก้อนมะเร็ง และระดับความรุนแรงของโรคมะเร็ง โดยใช้สถิติ Chi-square test และการหาความสัมพันธ์ระหว่างความแปรผันของจำนวนชุดดีเอ็นเอของยีนในผู้ป่วย กับอัตราการอยู่รอดของผู้ป่วยที่มีจำนวนชุดของยีน *MDR1* และ *ABCG2* ในกลุ่มต่างๆ โดยใช้สถิติ Kaplan-Meier survival โดยกำหนดค่า  $p$ -value น้อยกว่า 0.05 จึงจะถือว่ามีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญ

## บทที่ 4 ผลการวิจัย

### ผลการตรวจจำนวนชุดของยีน *MDR1* และ *ABCG2*

ผลการตรวจจำนวนชุดของยีน *MDR1* และ *ABCG2* ในตัวอย่างดีเอ็นเอของผู้ป่วยโรคมะเร็งเต้านมที่เข้ารับการตรวจในสถาบันมะเร็งแห่งชาติจำนวน 126 ราย และกลุ่มควบคุมจำนวน 162 ราย ด้วยวิธี realtime PCR แสดงตัวอย่างข้อมูลผลการวัดแสงฟลูออเรสเซนซ์ในปฏิกิริยา realtime PCR ในรูปแบบ amplification plot และพิสูจน์เอกลักษณ์ของ PCR product ของยีน *MDR1* *ABCG2* และ *GAPDH* ด้วยการวิเคราะห์ melting curve ดังแสดงในรูปที่ 1



รูปที่ 1 กราฟแสดงผลการวัดแสงฟลูออเรสเซนซ์ในปฏิกิริยา realtime PCR: (A) แสดง amplification plot แสดงค่า Ct value ของ *MDR1* *ABCG2* และ *GAPDH*, (B) แสดงผลวิเคราะห์ Melting curve เพื่อพิสูจน์เอกลักษณ์ของ PCR product ของยีน *MDR1* *ABCG2* และ *GAPDH* ตามลำดับ (NTC; no template control)



นำข้อมูล Ct ที่ได้มาคำนวณความหลากหลายจำนวนชุดของยีนเมื่อเทียบกับยีนอ้างอิงโดยคำนวณแสดงเป็นค่า  $\Delta Ct$  และจัดเป็นกลุ่มความหลากหลายของจำนวนชุดของยีน โดยผู้ป่วยมะเร็งเต้านมพบยีน *MDR1* แสดง genotype ความหลากหลายของจำนวนชุดของยีนแบบ 1/0 รวมกับ 1/1 (1/0 + 1/1) จำนวน 88.10% และ >1/1 จำนวน 11.90% ในขณะที่ยีน *ABCG2* จะแสดง genotype ความหลากหลายของจำนวนชุดของยีนแบบ 1/0 + 1/1 จำนวน 58.70% และ >1/1 จำนวน 41.30% และกลุ่มควบคุมพบยีน *MDR1* มี genotype แบบ 1/0 + 1/1 จำนวน 92.00% และ >1/1 จำนวน 8.00% ในขณะที่ยีน *ABCG2* จะมี genotype แบบ 1/0 + 1/1 จำนวน 31.50% และ >1/1 จำนวน 68.50% ทั้งนี้ การวิเคราะห์โดยรวมความหลากหลายจำนวนชุดของยีนแบบ 1/0 และ 1/1 เข้าด้วยกัน เนื่องจากผลการทดสอบพบตัวอย่างที่มี genotype แบบ 1/0 ในยีน *ABCG2* เพียง 1 ราย และไม่พบ genotype แบบ 1/0 ในยีน *MDR1* เลย ทั้งในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งเต้านมและกลุ่มควบคุม

#### ความสัมพันธ์ระหว่างกลุ่มความถี่จำนวนชุดของยีน *MDR1* และ *ABCG2* ในกลุ่มควบคุมและกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งเต้านม

ผลการวิเคราะห์จำนวนชุดของยีน *MDR1* และ *ABCG2* เมื่อเทียบกับยีนอ้างอิง *GAPDH* ในกลุ่มควบคุมและกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งเต้านม พบว่ายีน *MDR1* ไม่มีความแตกต่างในทั้งสองกลุ่ม แต่ยีน *ABCG2* กลับมีความแตกต่างในทั้งสองกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญ (P value  $\leq 0.05$ ) โดยแสดงค่า Odds ratio (95% CI) เท่ากับ 0.32 (0.19-0.525) แสดงว่ากลุ่ม genotype >1/1 ของยีน *ABCG2* ยีนเป็นลักษณะของการป้องกันการเกิดมะเร็งเต้านม กล่าวคือหากมีจำนวนชุดของยีน *ABCG2* มากในกลุ่มปกติมีแนวโน้มในการป้องกันไม่ให้เกิดมะเร็งเต้านม จัดเป็นปัจจัยเสี่ยงสามารถปกป้องไม่ให้เกิดโรคได้ (protective factor) อย่างไรก็ตาม จำนวนชุดของยีน *MDR1* ที่แสดงค่า Odds ratio (95% CI) เท่ากับ 1.55 (0.71-3.39) อาจแปลผลได้ว่า genotype >1/1 ของยีน *MDR1* มีแนวโน้มจะเกิดความเสี่ยงที่มากขึ้นต่อการเกิดมะเร็งเต้านม แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงค่า CNV ของยีน *MDR1* และ *ABCG2* ในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งเต้านมและกลุ่มควบคุม

| CNV status         | MDR1             |           | ABCG2             |          |
|--------------------|------------------|-----------|-------------------|----------|
|                    | Control          | Case      | Control           | Case     |
| 1/0 + 1/1          | 149(92)          | 111(88.1) | 51(31.5)          | 74(58.7) |
| >1/1               | 13(8)            | 15(11.9)  | 111(68.5)         | 52(41.3) |
| Total              | 162              | 126       | 162               | 126      |
| Odds ratio (95%CI) | 1.55 (0.71-3.39) |           | 0.32 (0.19-0.525) |          |
| P value            | 0.270            |           | 0.000*            |          |

CNV: Copy number variants, CI: confidence interval

### การวิเคราะห์ทางสถิติของจำนวนชุดของยีน *MDR1* และ *ABCG2* ต่อตัวแปรที่มีผลทางพยาธิสภาพคลินิกในผู้ป่วยมะเร็งเต้านม

ความสัมพันธ์ระหว่างผลตัวแปรทางพยาธิสภาพคลินิก (clinicopathological parameter) และความหลากหลายจำนวนชุดของยีน *MDR1* และ *ABCG2* ในผู้ป่วยมะเร็งเต้านม ได้ทำการวิเคราะห์และแสดงในตารางที่ 2 และตารางที่ 3 ตามลำดับ จากผลการวิเคราะห์แสดงให้เห็นว่าความหลากหลายจำนวนชุดของยีน *MDR1* มีความสัมพันธ์ต่อขนาดของมะเร็งเต้านมในผู้ป่วย (P value = 0.037) และมีความสัมพันธ์ต่อการแพร่กระจายของมะเร็งไปยังอวัยวะอื่นในผู้ป่วย (P value = 0.008) ในส่วนของปัจจัยด้านอายุ ระดับความแตกต่างทางจุลกายวิภาคและระยะของเซลล์มะเร็ง จำนวนต่อมน้ำเหลือง การตรวจตัวบ่งชี้ทางชีวภาพด้วยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมี และการได้รับยาเคมีบำบัด ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

การวิเคราะห์ความหลากหลายจำนวนชุดของยีน *ABCG2* พบว่ามีความสัมพันธ์ต่อตัวบ่งชี้ทางชีวภาพที่เป็นตัวรับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (progesterone receptor; PgR) ในผู้ป่วยที่เป็น PgR negative และ PgR positive (P value = 0.005) และมีความสัมพันธ์ต่อการแพร่กระจายของมะเร็งไปยังอวัยวะอื่นในผู้ป่วย (P value = 0.046) ในส่วนของปัจจัยด้านอายุ ขนาดของมะเร็ง ระดับความแตกต่างทางจุลกายวิภาคและระยะของเซลล์มะเร็ง จำนวนต่อมน้ำเหลือง การตรวจตัวบ่งชี้ทางชีวภาพด้วยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมี และการได้รับยาเคมีบำบัด ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ 2 แสดงความหลากหลายจำนวนชุดของยีน *MDR1* และตัวแปรที่มีผลทางพยาธิสภาพ  
คลินิกในผู้ป่วยมะเร็งเต้านม

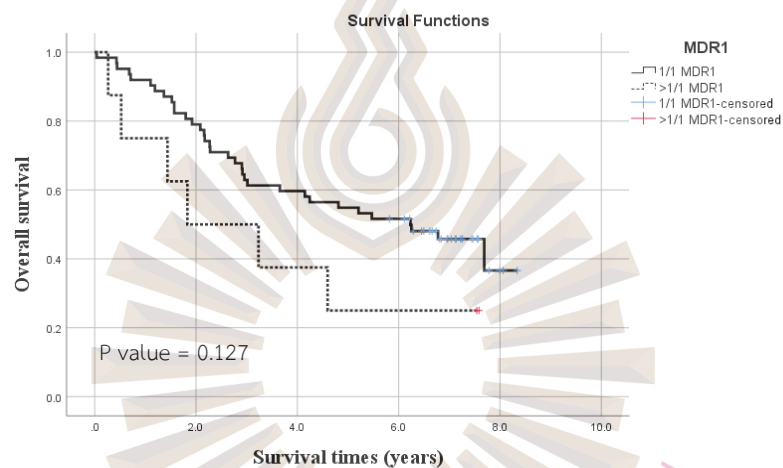
| Parameter              | Number<br>of case | CNV status of <i>MDR1</i> |             | Odds ratio<br>(95%CI) | P value |
|------------------------|-------------------|---------------------------|-------------|-----------------------|---------|
|                        |                   | 1/0 + 1/1; n (%)          | >1/1; n (%) |                       |         |
| Age                    |                   |                           |             |                       |         |
| ≤50                    | 67                | 57(85.1)                  | 10(14.9)    | 0.53, (0.17-1.64)     | 0.287   |
| >50                    | 59                | 54(91.5)                  | 5(8.5)      |                       |         |
| Tumor size(cm)         |                   |                           |             |                       |         |
| ≤3                     | 101               | 92(91.1)                  | 9(8.9)      | 3.23,(1.03-10.14)     | 0.037*  |
| >3                     | 25                | 19(76.0)                  | 6(24.0)     |                       |         |
| Histologic grade       |                   |                           |             |                       |         |
| I                      | 11                | 11(100)                   | 0           | -                     | 0.402   |
| II                     | 48                | 41(85.4)                  | 7(14.6)     |                       |         |
| III                    | 35                | 30(85.7)                  | 5(14.3)     |                       |         |
| Tumor stage            |                   |                           |             |                       |         |
| I, IIA, IIB            | 58                | 51(87.9)                  | 7(12.1)     | 1.75,(0.53-5.75)      | 0.354   |
| IIIA, IIIB             | 31                | 25(80.6)                  | 6(19.4)     |                       |         |
| Lymph-node status      |                   |                           |             |                       |         |
| Negative               | 55                | 50(90.9)                  | 5(9.1)      | 2.06,(0.60-7.03)      | 0.242   |
| Positive               | 41                | 34(82.9)                  | 7(17.1)     |                       |         |
| Lymph Nodes (no.)      |                   |                           |             |                       |         |
| 0-3 positive           | 75                | 68(90.7)                  | 7(9.3)      | 3.04,(0.85-10.81)     | 0.760   |
| >3 positive            | 21                | 16(76.2)                  | 5(23.8)     |                       |         |
| Immunohistochemical    |                   |                           |             |                       |         |
| ER status              |                   |                           |             |                       |         |
| Negative               | 42                | 39(92.9)                  | 3(7.1)      | 2.36,(0.628-8.89)     | 0.193   |
| Positive (1+,2+,3+)    | 78                | 66(84.6)                  | 12(15.4)    |                       |         |
| PgR status             |                   |                           |             |                       |         |
| Negative               | 55                | 51(92.7)                  | 4(7.3)      | 2.56,(0.78-8.68)      | 0.111   |
| Positive (1+,2+,3+)    | 65                | 54(83.1)                  | 11(16.9)    |                       |         |
| HER2 status            |                   |                           |             |                       |         |
| Negative               | 76                | 69(90.8)                  | 7(9.2)      | 1.92,(0.62-5.89)      | 0.250   |
| Positive (1+,2+,3+)    | 43                | 36(83.7)                  | 7(16.3)     |                       |         |
| Triple negative tumor  |                   |                           |             |                       |         |
| ER, PR, HER2 positive  | 106               | 92(86.8)                  | 14(13.2)    | 0.55,(0.67-4.54)      | 1.000   |
| ER, PR, HER2 negative  | 13                | 12(92.3)                  | 1(7.7)      |                       |         |
| Chemotherapy treatment |                   |                           |             |                       |         |
| Antracycline           | 36                | 29(80.6)                  | 7(19.4)     | 0.59,(0.17-2.06)      | 0.532   |
| Antracycline+taxane    | 40                | 35(87.5)                  | 5(12.5)     |                       |         |
| Distant metastasis     |                   |                           |             |                       |         |
| No                     | 72                | 65(90.3)                  | 7(9.7)      | 7.74,(1.87-32.01)     | 0.008*  |
| Yes                    | 11                | 6(54.5)                   | 5(45.5)     |                       |         |

ตารางที่ 3 แสดงความหลากหลายจำนวนชุดของยีน *ABCG2* และตัวแปรที่มีผลทางพยาธิสภาพ  
คลินิกในผู้ป่วยมะเร็งเต้านม

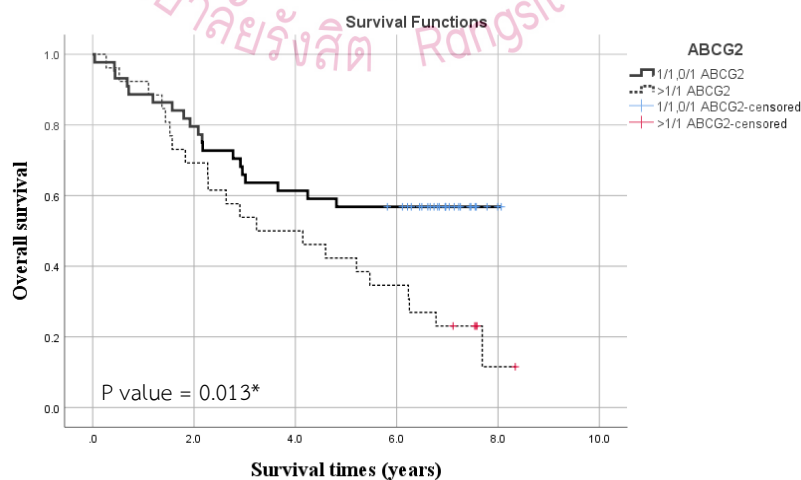
| Parameter              | Number<br>of case | CNV status of <i>ABCG2</i> |             | Odds ratio<br>(95%CI) | P value |
|------------------------|-------------------|----------------------------|-------------|-----------------------|---------|
|                        |                   | 1/0 + 1/1; n (%)           | >1/1; n (%) |                       |         |
| Age                    |                   |                            |             |                       |         |
| ≤50                    | 67                | 41(61.2)                   | 26(38.8)    | 1.24,(0.61-2.53)      | 0.549   |
| >50                    | 59                | 33(55.9)                   | 26(44.1)    |                       |         |
| Tumor size(cm)         |                   |                            |             |                       |         |
| ≤3                     | 101               | 61(60.4)                   | 40(39.6)    | 1.41,(0.58-3.39)      | 0.445   |
| >3                     | 25                | 13(52.0)                   | 12(48.0)    |                       |         |
| Histologic grade       |                   |                            |             |                       |         |
| I                      | 11                | 7(63.6)                    | 4(36.4)     | -                     | 0.276   |
| II                     | 48                | 26(54.2)                   | 22(45.8)    |                       |         |
| III                    | 35                | 25(71.4)                   | 10(28.6)    |                       |         |
| Tumor stage            |                   |                            |             |                       |         |
| I, IIA, IIB            | 58                | 36(62.1)                   | 22(37.9)    | 1.98,(0.82-4.81)      | 0.126   |
| IIIA, IIIB             | 31                | 14(45.2)                   | 17(54.8)    |                       |         |
| Lymph-node status      |                   |                            |             |                       |         |
| Negative               | 55                | 33(60.0)                   | 22(40.0)    | 1.29,(0.57-2.93)      | 0.534   |
| Positive               | 41                | 22(53.7)                   | 19(46.3)    |                       |         |
| Lymph Nodes (no.)      |                   |                            |             |                       |         |
| 0-3 positive           | 75                | 45(60.0)                   | 30(40.0)    | 1.65,(0.62-4.37)      | 0.311   |
| >3 positive            | 21                | 10(47.6)                   | 11(52.4)    |                       |         |
| Immunohistochemical    |                   |                            |             |                       |         |
| ER status              |                   |                            |             |                       |         |
| Negative               | 42                | 28(66.7)                   | 14(33.3)    | 1.63,(0.75-3.56)      | 0.220   |
| Positive (1+,2+,3+)    | 78                | 43(55.1)                   | 35(44.9)    |                       |         |
| PgR status             |                   |                            |             |                       |         |
| Negative               | 55                | 40(72.7)                   | 15(27.3)    | 2.93,(1.36-6.03)      | 0.005*  |
| Positive (1+,2+,3+)    | 65                | 31(47.7)                   | 34(52.3)    |                       |         |
| HER2 status            |                   |                            |             |                       |         |
| Negative               | 76                | 46(60.5)                   | 30(39.5)    | 1.10,(0.52-2.36)      | 0.799   |
| Positive (1+,2+,3+)    | 43                | 25(58.1)                   | 18(41.9)    |                       |         |
| Triple negative tumor  |                   |                            |             |                       |         |
| ER, PR, HER2 positive  | 106               | 62(58.5)                   | 44(41.5)    | 0.63,(0.18-2.16)      | 0.456   |
| ER, PR, HER2 negative  | 13                | 9(69.2)                    | 4(30.8)     |                       |         |
| Chemotherapy treatment |                   |                            |             |                       |         |
| Antracycline           | 36                | 19(52.8)                   | 17(47.2)    | 0.83,(0.33-2.04)      | 0.678   |
| Antracycline+taxane    | 40                | 23(57.5)                   | 17(42.5)    |                       |         |
| Distant metastasis     |                   |                            |             |                       |         |
| No                     | 72                | 45(62.5)                   | 27(37.5)    | 4.44,(1.08-18.21)     | 0.046*  |
| Yes                    | 11                | 3(27.3)                    | 8(72.7)     |                       |         |

### การวิเคราะห์หัตถการรอดชีวิตของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมต่อจำนวนชุดของยีน *MDR1* และ *ABCG2*

การวิเคราะห์หัตถการรอดชีวิตของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมต่อตัวแปรความหลากหลายจำนวนชุดของยีน *MDR1* และ *ABCG2* โดยวิธี Kaplan-Meier และใช้ Log Rank เปรียบเทียบ แสดงในรูปที่ 2 และ 3 ตามลำดับ พบว่า ความหลากหลายจำนวนชุดของยีน *MDR1* ไม่พบความสัมพันธ์ต่ออัตราการรอดชีวิตของผู้ป่วยมะเร็งเต้านม (P value = 0.127) แต่ความหลากหลายจำนวนชุดของยีน *ABCG2* มีความสัมพันธ์ต่ออัตราการรอดชีวิตของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมอย่างมีนัยสำคัญ (P value = 0.013) โดยกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่ได้รับยาเคมีบำบัดที่มี genotype แสดงความหลากหลายของยีน *ABCG2* เป็น  $>1/1$  จะมีอัตราการรอดชีวิตสั้นกว่ากลุ่ม genotype ที่เป็น  $1/0$ ,  $1/1$



รูปที่ 2 Kaplan-Meier survival curve ของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่มี genotype แสดงความหลากหลายของยีน *MDR1*



รูปที่ 3 Kaplan-Meier survival curve ของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่มี genotype แสดงความหลากหลายของยีน *ABCG2*

## บทที่ 5

### สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

โรคมะเร็งเต้านม เป็นมะเร็งที่พบได้มากเป็นอันดับต้นของการเกิดโรคมะเร็งในเพศหญิงทั่วโลก โดยมีปัจจัยเสี่ยงที่เกี่ยวข้องต่อการเกิดโรคมะเร็งเต้านมหลากหลายปัจจัย และปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญ คือ การกลายพันธุ์ของยีนที่เกี่ยวข้องต่อการเกิดโรคมะเร็งเต้านม โดยเมื่อแพทย์ทำการวินิจฉัยว่าเป็นโรคมะเร็งเต้านมแล้ว จะทำการรักษาโดยมีการใช้ยาเคมีบำบัดร่วมด้วย ซึ่งการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดในผู้ป่วยแต่ละรายอาจมีความแตกต่างกัน โดยการตอบสนองของยาเคมีบำบัดที่แตกต่างกัน เป็นผลมาจากยีนที่เกี่ยวข้องต่อกระบวนการเมแทบอลิซึมของยาแตกต่างกัน โดยเฉพาะยีนที่ควบคุมการผลิตโปรตีน ABC transporter ที่มีความเกี่ยวข้องต่อกระบวนการขับออกของยา ได้แก่ โปรตีน P-gp1 ซึ่งควบคุมการส่งเคราะห์ด้วยยีน MDR1, โปรตีน BCRP ซึ่งควบคุมการส่งเคราะห์ด้วยยีน ABCG2 และโปรตีน MRP1 ซึ่งควบคุมการส่งเคราะห์ด้วยยีน ABCC1 (Rungsardthong, 2014) ด้วยเหตุผลดังกล่าว งานวิจัยนี้จึงได้ทดสอบดูความหลากหลายจำนวนชุดของยีน MDR1 และ ABCG2 ที่เป็นปัจจัยส่งผลให้เกิดการแสดงออกของยีนที่มากขึ้น เพื่อดูความสัมพันธ์ของผู้ป่วยที่ได้รับยาต้านมะเร็งและการตอบสนองต่อยาต้านมะเร็ง รวมถึงพยาธิสภาพทางคลินิกอื่นๆ ด้วย นอกจากนี้ ยังทำการทดสอบเทียบกับกลุ่มปกติ เพื่อดูแนวโน้มการใช้ความหลากหลายจำนวนชุดของยีนในการพยากรณ์การเกิดโรคมะเร็งเต้านมด้วย

จากผลการทดสอบแสดงให้เห็นความหลากหลายของจำนวนชุดของยีน MDR1 ในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งเต้านมและกลุ่มควบคุมไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ แต่ความหลากหลายจำนวนชุดของยีน ABCG2 ในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งและกลุ่มควบคุมพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีค่า Odd ratio (95%CI) อยู่ที่ 0.32 (0.19-0.525) แสดงให้เห็นว่าลักษณะความหลากหลายจำนวนชุดของยีน ABCG2 แบบ genotype >1/1 เป็นปัจจัยป้องกันในการเกิดโรคมะเร็งเต้านม สามารถใช้จำนวนชุดของยีน ABCG2 ในการพยากรณ์โอกาสการเกิดโรคมะเร็งเต้านมได้ อย่างไรก็ตาม การทดสอบความสัมพันธ์ของความหลากหลายจำนวนชุดของยีน MDR1 และ ABCG2 ในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมและพยาธิสภาพทางคลินิกและอัตราการรอดชีวิตของผู้ป่วยมะเร็งเต้านม พบว่า การมีจำนวนชุดของยีน MDR1 แบบ genotype >1/1 เป็นปัจจัยเสี่ยงสัมพันธ์ต่อขนาดของมะเร็งเต้านมที่ > 3 เซนติเมตร และสัมพันธ์ต่อการแพร่กระจายของมะเร็งไปยังบริเวณอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P value = 0.037 และ 0.008 ตามลำดับ) และไม่มีความสัมพันธ์ต่ออัตราการรอดชีวิตของผู้ป่วย (P value = 0.127) ในขณะที่การมีจำนวนชุดของยีน ABCG2 แบบ genotype >1/1 เป็นปัจจัยเสี่ยงที่มีความสัมพันธ์ต่อสถานะตัวรับฮอร์โมนโปรเจสโตโรน และสัมพันธ์ต่อการแพร่กระจายของมะเร็งไปยัง

บริเวณอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P$  value = 0.005 และ 0.046 ตามลำดับ) และสัมพันธ์ต่ออัตราการรอดชีวิตของผู้ป่วยโรคมะเร็งเต้านมที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $P$  value = 0.013)

ทั้งยีน *MDR1* และ *ABCG2* ที่ควบคุมการแสดงออกเป็นโปรตีน Pgp-1 และ BCRP ตามลำดับ มีบทบาทสำคัญในกระบวนการขับยาและสารพิษออกจากเซลล์ (efflux pump) (Doyle, 2003) ที่ส่งผลต่อการได้รับยาเคมีบำบัดของเซลล์มะเร็งเต้านม อย่างไรก็ตามผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าความหลากหลายของจำนวนชุดของยีน *MDR1* และ *ABCG2* ไม่มีความสัมพันธ์ต่อการตอบสนองของยาเคมีบำบัดที่ผู้ป่วยโรคมะเร็งเต้านมได้รับ แต่การพบจำนวนชุดของยีน *ABCG2* แบบ genotype >1/1 พบเป็นปัจจัยป้องกันในการเกิดโรคมะเร็งเต้านมได้ ทั้งนี้อาจเนื่องจากในภาวะเซลล์เต้านมปกติ ยีน *ABCG2* ที่แสดงออกมาเป็นโปรตีน BCRP จะมีบทบาทในการช่วยขับสารแปลกปลอม (xenobiotics) ออกจากเซลล์ด้วย เป็นการป้องกันไม่ให้เซลล์ได้รับสารแปลกปลอมบางชนิดที่อาจเป็นสารก่อมะเร็งได้ (Doyle, 2003; Nakanishi, 2012; Mao, 2015) จึงเป็นปัจจัยป้องกันอย่างหนึ่ง อย่างไรก็ตามกลับพบว่าในผู้ป่วยมะเร็งเต้านม กลุ่มตัวอย่างที่มีความหลากหลายของยีน *ABCG2* แบบ genotype >1/1 มีอัตราการรอดชีวิตสั้นกว่ากลุ่มตัวอย่าง genotype แบบ 1/0 และ 1/1 ทั้งนี้เนื่องจากโปรตีน BCRP มีบทบาทในการขับสารแปลกปลอมออกนอกเซลล์ ซึ่งรวมไปถึงยาเคมีบำบัดสำหรับโรคมะเร็งด้วย เช่น mitoxantrone และ topotecan เป็นต้น (Mao, 2015) ส่งผลให้ประสิทธิภาพในการรักษาด้วยยาเคมีบำบัดไม่เป็นไปตามที่วางแผน และอาจเป็นสาเหตุทำให้ผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่มี genotype ของยีน *ABCG2* แบบ >1/1 มีอัตราการรอดชีวิตที่สั้นลงดังกล่าว สอดคล้องกับงานวิจัยของ Robey และคณะ (Robey, 2001) ที่ได้รายงานถึงการแสดงออกที่มากกว่าปกติของยีน *ABCG2* ในเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 ที่ดื้อต่อยาเคมีบำบัด Flovopiridol พบว่าในเซลล์ที่มีการแสดงออกของยีน *ABCG2* มากกว่าปกติ จะมีการขับยา Flovopiridol ในระดับสูง และเป็นบทบาทสำคัญในการดื้อต่อยาเคมีบำบัดของเซลล์มะเร็งดังกล่าว นอกจากนี้ รายงานของ Yin และคณะ (Yin, 2021) แสดงให้เห็นว่า หากยีน *MDR1* และ *ABCG2* ในเซลล์มะเร็งปอดได้ จะส่งผลให้สามารถกำจัดเซลล์มะเร็งปอดได้ด้วยยาเคมีบำบัด doxorubicin ได้อย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้ ผลของความสัมพันธ์ของพยาธิสภาพทางคลินิกกับความหลากหลายจำนวนชุดของยีน แสดงให้เห็นว่าการมีความหลากหลายของยีน genotype แบบ >1/1 ของยีน *MDR1* จะมีความเสี่ยงต่อการเจริญและขนาดของก้อนมะเร็งเต้านมที่สูงขึ้น และของยีน *ABCG2* มักจะพบสัมพันธ์กับการตรวจพบตัวรับฮอร์โมนโปรเจสโตโรน (PgR positive) ซึ่งส่งผลต่อการใช้ยาเคมีบำบัดกลุ่มที่จับกับตัวรับฮอร์โมนด้วย และ genotype แบบ >1/1 ของทั้งสองยีน จะมีความเสี่ยงต่อการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งไปยังอวัยวะอื่นด้วย

โดยสรุป ผลจากการทดสอบแสดงให้เห็นว่าการตรวจความหลากหลายจำนวนชุดของยีน *ABCG2* สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการพยากรณ์โรคมะเร็งเต้านมได้ โดยการมี genotype แบบ

>1/1 จะเป็นปัจจัยช่วยป้องกันการเกิดมะเร็งเต้านม แต่ในทางกลับกัน หากเป็นผู้ป่วยโรคมะเร็งเต้านม ที่มี genotype แบบ >1/1 อาจส่งผลทำให้อัตราการรอดชีวิตสั้นลงได้ และใช้พยากรณ์ถึงสถานะตัวรับฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนและโอกาสการแพร่กระจายของมะเร็งได้ ลักษณะเดียวกันกับความหลากหลายของจำนวนชุดของยีน *MDR1* ที่มี genotype แบบ >1/1 ที่ใช้พยากรณ์เป็นความเสี่ยงที่มีโอกาสการขยายขนาดของก้อนมะเร็งและโอกาสการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งได้ อย่างไรก็ตาม ไม่มีความสัมพันธ์ของความหลากหลายจำนวนชุดของยีนทั้งสองต่อการได้รับยาเคมีบำบัดในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่ได้ทำการทดสอบ





### เอกสารอ้างอิง

- Allen, J. D., & Schinkel, A. H. (2002). Multidrug resistance and pharmacological protection mediated by the breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2). *Molecular cancer therapeutics*, 1(6), 427–434.
- Bar-On, O., Shapira, M., & Hershko, D. D. (2007). Differential effects of doxorubicin treatment on cell cycle arrest and Skp2 expression in breast cancer cells. *Anti-cancer drugs*, 18(10), 1113–1121. <https://doi.org/10.1097/CAD.0b013e3282ef4571>
- Brewer, H. R., Jones, M. E., Schoemaker, M. J., Ashworth, A., & Swerdlow, A. J. (2017). Family history and risk of breast cancer: an analysis accounting for family structure. *Breast cancer research and treatment*, 165(1), 193–200. <https://doi.org/10.1007/s10549-017-4325-2>
- Center of Disease Control and Prevention (2022) What Are the Risk Factors for Breast Cancer? September 2022  
<[https://www.cdc.gov/cancer/breast/basic\\_info/risk\\_factors.htm](https://www.cdc.gov/cancer/breast/basic_info/risk_factors.htm)> (search on December 2022)
- Chen, F., Zhang, J., Bian, C. X., Zhang, J., Xin, X. B., Pan, Y. Y., & Zhang, X. (2021). A Study on the Correlation Between MDR1 Polymorphism and Clopidogrel Resistance in Hui Patients Treated with Percutaneous Coronary Intervention. *International journal of general medicine*, 14, 665–671. <https://doi.org/10.2147/IJGM.S293947>
- Chen, Z., Zhang, L., Yang, C., Jiang, Z., Shen, H., & Gui, G. (2017). Effect of MDR1 C1236T polymorphism on cyclosporine pharmacokinetics: A systematic review and meta-analysis. *Medicine*, 96(47), e8700. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000008700>
- Choi C. H. (2005). ABC transporters as multidrug resistance mechanisms and the development of chemosensitizers for their reversal. *Cancer cell international*, 5, 30. <https://doi.org/10.1186/1475-2867-5-30>

- Conte, P. F., Gennari, A., Landucci, E., & Orlandini, C. (2000). Role of epirubicin in advanced breast cancer. *Clinical breast cancer*, 1 Suppl 1, S46–S51. <https://doi.org/10.3816/cbc.2000.s.009>
- Dieterich, M., Stubert, J., Reimer, T., Erickson, N., & Berling, A. (2014). Influence of lifestyle factors on breast cancer risk. *Breast care (Basel, Switzerland)*, 9(6), 407–414. <https://doi.org/10.1159/000369571>
- Doyle, L., & Ross, D. D. (2003). Multidrug resistance mediated by the breast cancer resistance protein BCRP (ABCG2). *Oncogene*, 22(47), 7340–7358. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1206938>
- El Biali, M., Karch, R., Philippe, C., Haslacher, H., Tournier, N., Hacker, M., Zeitlinger, M., Schmidl, D., Langer, O., & Bauer, M. (2021). ABCB1 and ABCG2 Together Limit the Distribution of ABCB1/ABCG2 Substrates to the Human Retina and the ABCG2 Single Nucleotide Polymorphism Q141K (c.421C> A) May Lead to Increased Drug Exposure. *Frontiers in pharmacology*, 12, 698966. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.698966>
- Hashemi, S.H.B., Karimi, S., & Mahboobi, H. (2014). Lifestyle changes for prevention of breast cancer. *Electronic physician*, 6(3), 894–905. <https://doi.org/10.14661/2014.894-905>
- Hodges, L. M., Markova, S. M., Chinn, L. W., Gow, J. M., Kroetz, D. L., Klein, T. E., & Altman, R. B. (2011). Very important pharmacogene summary: ABCB1 (MDR1, P-glycoprotein). *Pharmacogenetics and genomics*, 21(3), 152–161. <https://doi.org/10.1097/FPC.0b013e3283385a1c>
- Jaramillo-Rangel, G., Ortega-Martínez, M., Cerda-Flores, R. M., & Barrera-Saldaña, H. A. (2018). C3435T polymorphism in the MDR1 gene and breast cancer risk in northeastern Mexico. *International journal of clinical and experimental pathology*, 11(2), 904–909.

- Kimura, Y., Morita, S. Y., Matsuo, M., & Ueda, K. (2007). Mechanism of multidrug recognition by MDR1/ABCB1. *Cancer science*, 98(9), 1303–1310. <https://doi.org/10.1111/j.1349-7006.2007.00538.x>
- Lin, J. H., & Yamazaki, M. (2003). Role of P-glycoprotein in pharmacokinetics: clinical implications. *Clinical pharmacokinetics*, 42(1), 59–98. <https://doi.org/10.2165/00003088-200342010-00003>
- Ly, D., Forman, D., Ferlay, J., Brinton, L. A., & Cook, M. B. (2013). An international comparison of male and female breast cancer incidence rates. *International journal of cancer*, 132(8), 1918–1926. <https://doi.org/10.1002/ijc.27841>
- Mao, Q., & Unadkat, J. D. (2015). Role of the breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2) in drug transport--an update. *The AAPS journal*, 17(1), 65–82. <https://doi.org/10.1208/s12248-014-9668-6>
- Nakanishi, T., & Ross, D. D. (2012). Breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2): its role in multidrug resistance and regulation of its gene expression. *Chinese journal of cancer*, 31(2), 73–99. <https://doi.org/10.5732/cjc.011.10320>
- Noguchi, K., Katayama, K., & Sugimoto, Y. (2014). Human ABC transporter ABCG2/BCRP expression in chemoresistance: basic and clinical perspectives for molecular cancer therapeutics. *Pharmacogenomics and personalized medicine*, 7, 53–64. <https://doi.org/10.2147/PGPM.S38295>
- Nørskov, M. S., Frikke-Schmidt, R., Loft, S., & Tybjaerg-Hansen, A. (2009). High-throughput genotyping of copy number variation in glutathione S-transferases M1 and T1 using real-time PCR in 20,687 individuals. *Clinical biochemistry*, 42(3), 201–209. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2008.10.020>
- Park, J. W., Chung, H., Kim, K. A., Kim, J. M., Park, I. H., Lee, S., & Park, J. Y. (2021). ABCG2 Single Nucleotide Polymorphism Affects Imatinib Pharmacokinetics in Lower Alpha-1-Acid Glycoprotein Levels in Humans. *Frontiers in pharmacology*, 12, 658039. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.658039>

- Parkin, D.M. (1998). Epidemiology of cancer: global patterns and trends. *Toxicology Letters*, 102–103, 227–234. [https://doi.org/10.1016/S0378-4274\(98\)00311-7](https://doi.org/10.1016/S0378-4274(98)00311-7).
- Parness, J., & Horwitz, S. B. (1981). Taxol binds to polymerized tubulin in vitro. *The Journal of cell biology*, 91(2 Pt 1), 479–487. <https://doi.org/10.1083/jcb.91.2.479>
- Robey, R. W., Medina-Pérez, W. Y., Nishiyama, K., Lahusen, T., Miyake, K., Litman, T., Senderowicz, A. M., Ross, D. D., & Bates, S. E. (2001). Overexpression of the ATP-binding cassette half-transporter, ABCG2 (Mxr/BCrp/ABCP1), in flavopiridol-resistant human breast cancer cells. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*, 7(1), 145–152.
- Rungsardthong, K. (2014). ABC transporter protein and cancer drug resistance. *Thammasat Medical Journal*, 14(3), 431–442.
- Sheikh, A., Hussain, S. A., Ghori, Q., Naeem, N., Fazil, A., Giri, S., Sathian, B., Mainali, P., & Al Tamimi, D. M. (2015). The spectrum of genetic mutations in breast cancer. *Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP*, 16(6), 2177–2185. <https://doi.org/10.7314/apjcp.2015.16.6.2177>
- Shiovitz, S., & Korde, L. A. (2015). Genetics of breast cancer: a topic in evolution. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology*, 26(7), 1291–1299. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdv022>
- Sieri, S., Krogh, V., Bolelli, G., Abagnato, C. A., Grioni, S., Pala, V., Evangelista, A., Allemani, C., Micheli, A., Tagliabue, G., Schunemann, H. J., Menard, S., Berrino, F., & Muti, P. (2009). Sex hormone levels, breast cancer risk, and cancer receptor status in postmenopausal women: the ORDET cohort. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*, 18(1), 169–176. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-08-0808>
- Song, Y., Lim, H. H., Yee, J., Yoon, H. Y., & Gwak, H. S. (2022). The Association between ABCG2 421C>A (rs2231142) Polymorphism and Rosuvastatin Pharmacokinetics: A

- Systematic Review and Meta-Analysis. *Pharmaceutics*, 14(3), 501.  
<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14030501>
- Sun, Y. S., Zhao, Z., Yang, Z. N., Xu, F., Lu, H. J., Zhu, Z. Y., Shi, W., Jiang, J., Yao, P. P., & Zhu, H. P. (2017). Risk Factors and Preventions of Breast Cancer. *International journal of biological sciences*, 13(11), 1387–1397.  
<https://doi.org/10.7150/ijbs.21635>
- Svedberg, A., Jacobs, L., Vikingsson, S., & Gr en, H. (2020). The influence of ABCG2 polymorphism on erlotinib efflux in the K562 cell line. *Pharmacology research & perspectives*, 8(2), e00581. <https://doi.org/10.1002/prp2.581>
- Takara, K., Sakaeda, T., & Okumura, K. (2006). An update on overcoming MDR1-mediated multidrug resistance in cancer chemotherapy. *Current pharmaceutical design*, 12(3), 273–286. <https://doi.org/10.2174/138161206775201965>
- Wei, Q., Zhong, X., Zhu, W., Fan, Q., Wu, Z., Xu, C., Li, M., Zhang, C., Liu, Y., Zhao, J., & Huang, Y. (2021). Effects of MDR1 Gene Polymorphism on Efficacy and Hematotoxicity of Epirubicin-Based Regimen in Patients with Breast Cancer in Southwest China. *Clinical Oncology and Research*, 4(4), 2-8.  
<https://doi.org/10.31487/j.COR.2021.04.04>
- Yang, X., Uziely, B., Groshen, S., Lukas, J., Israel, V., Russell, C., Dunnington, G., Formenti, S., Muggia, F., & Press, M. F. (1999). MDR1 gene expression in primary and advanced breast cancer. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*, 79(3), 271–280.
- Yang, Z., Wu, D., Bui, T., & Ho, R. J. (2008). A novel human multidrug resistance gene MDR1 variant G571A (G191R) modulates cancer drug resistance and efflux transport. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 327(2), 474–481. <https://doi.org/10.1124/jpet.108.138313>
- Yin, W., Xiang, D., Wang, T., Zhang, Y., Pham, C. V., Zhou, S., Jiang, G., Hou, Y., Zhu, Y., Han, Y., Qiao, L., Tran, P. H., & Duan, W. (2021). The inhibition of ABCB1/MDR1 or

ABCG2/BCRP enables doxorubicin to eliminate liver cancer stem cells. *Scientific reports*, 11(1), 10791. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-89931-9>

Zhang, J., Dong, Z. F., Bian, C. X., Zhang, X., Xin, X. B., & Chen, F. (2022). The Correlation Between MDR1 Gene Polymorphism and Clopidogrel Resistance in People of the Hui and Han Nationalities. *Clinical and applied thrombosis/hemostasis : official journal of the International Academy of Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*, 28, 10760296211073272. <https://doi.org/10.1177/10760296211073272>

Zhang, N., Yin, Y., Xu, S. J., & Chen, W. S. (2008). 5-Fluorouracil: mechanisms of resistance and reversal strategies. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 13(8), 1551–1569. <https://doi.org/10.3390/molecules13081551>

ทะเบียนมะเร็งระดับโรงพยาบาล พ.ศ. 2564 (2564) สถาบันมะเร็งแห่งชาติ กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. <[https://www.nci.go.th/e\\_book/hosbased\\_2564/index.html](https://www.nci.go.th/e_book/hosbased_2564/index.html)>

วีรุฒิ อิมสำราญ, อาคม ชัยวีระวัฒน์, ดนัย มโนรมณ์, และ สมชาย ณะสิทธิชัย (2560) แนวทางการตรวจคัดกรองวินิจฉัยและรักษาโรคมะเร็งเต้านม. พิมพ์ครั้งที่ 1. สถาบันมะเร็งแห่งชาติ กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. ISBN 978-616-11-4142-4

ภาคผนวก



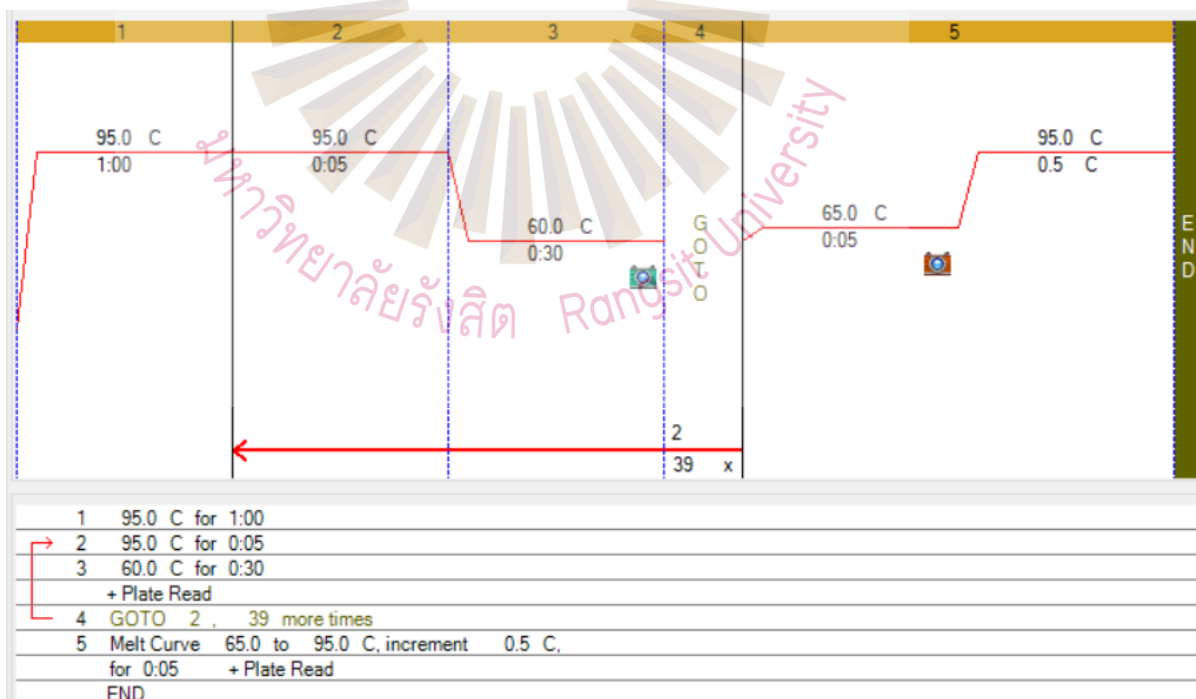
## ภาคผนวก 1

ตารางแสดงองค์ประกอบทางเคมีและสภาวะอุณหภูมิที่ใช้ในปฏิกิริยาลูคิโซพอลิเมอเรส

องค์ประกอบการเกิดปฏิกิริยา realtime-PCR ในหลอดทดลอง

| สารเคมี                        | ปริมาตร ( $\mu\text{l}$ / reaction) | ความเข้มข้นสุดท้าย |
|--------------------------------|-------------------------------------|--------------------|
| Sterile dH <sub>2</sub> O      | 1                                   |                    |
| 2x Luna™ DNA polymerase        | 5                                   | 1x                 |
| 2 $\mu\text{M}$ Forward primer | 1                                   | 0.2 $\mu\text{M}$  |
| 2 $\mu\text{M}$ Reverse primer | 1                                   | 0.2 $\mu\text{M}$  |
| DNA template                   | 2                                   |                    |
| Total volume:                  |                                     | 10                 |

การตั้งค่าอุณหภูมิในการเกิดปฏิกิริยา realtime-PCR





## ภาคผนวก 2

ตารางแสดงข้อมูลค่า Ct และ  $\Delta Ct$  ของกลุ่มควบคุมและกลุ่มผู้ป่วยโรคมาเร็งเต้านมแต่ละราย

ตัวอย่างกลุ่มควบคุม:

| Sample | Ct<br>[GAPDH] | Ct<br>[MDR1] | Ct<br>[ABCG2] | $\Delta Ct$<br>[MDR1-GAPDH] | $\Delta Ct$<br>[ABCG2-GAPDH] | Copy No. of MDR1:<br>0/0 คือ cannot<br>detected<br>1/0 คือ -2.0 ถึง 0.5<br>1/1 คือ 0.5 ถึง 1.9<br>>1/1 คือ 2.0 เป็นต้นไป | Copy No. of ABCG2:<br>0/0 คือ cannot<br>detected<br>1/0 คือ -2.0 ถึง 0.5<br>1/1 คือ 0.5 ถึง 1.9<br>>1/1 คือ 2.0 เป็นต้นไป |
|--------|---------------|--------------|---------------|-----------------------------|------------------------------|--|---|
| c093   | 24.11         | 26.05        | 26.59         | 1.94                        | 2.47                         | 1/1  | >1/1  |
| c094   | 26.88         | 28.91        | 29.54         | 2.04                        | 2.67                         | >1/1   | >1/1  |
| c095   | 21.30         | 23.11        | 23.84         | 1.81                        | 2.54                         | 1/1  | >1/1  |
| c096   | 25.11         | 26.93        | 27.68         | 1.82                        | 2.58                         | 1/1  | >1/1  |
| c097   | 23.88         | 25.42        | 26.10         | 1.54                        | 2.22                         | 1/1  | >1/1  |
| c098   | 24.26         | 26.14        | 26.50         | 1.88                        | 2.24                         | 1/1  | >1/1  |
| c107   | 24.64         | 26.54        | 27.26         | 1.90                        | 2.61                         | 1/1  | >1/1  |
| c108   | 22.90         | 24.50        | 25.46         | 1.59                        | 2.56                         | 1/1  | >1/1  |
| c109   | 21.77         | 23.74        | 24.32         | 1.97                        | 2.55                         | 1/1  | >1/1  |
| c110   | 23.23         | 24.91        | 25.42         | 1.68                        | 2.19                         | 1/1  | >1/1  |
| c112   | 22.85         | 24.33        | 25.11         | 1.48                        | 2.26                         | 1/1  | >1/1  |
| c113   | 22.95         | 24.40        | 25.12         | 1.45                        | 2.17                         | 1/1  | >1/1  |
| c114   | 22.18         | 23.88        | 24.38         | 1.70                        | 2.20                         | 1/1  | >1/1  |
| c115   | 22.92         | 25.04        | 25.65         | 2.11                        | 2.72                         | >1/1   | >1/1  |
| c116   | 23.27         | 25.18        | 25.64         | 1.92                        | 2.38                         | 1/1  | >1/1  |
| c117   | 21.39         | 23.91        | 24.32         | 2.52                        | 2.93                         | >1/1   | >1/1  |
| c118   | 24.55         | 26.53        | 27.15         | 1.97                        | 2.60                         | 1/1  | >1/1  |
| c119   | 23.13         | 25.00        | 25.45         | 1.87                        | 2.32                         | 1/1  | >1/1  |
| c120   | 24.78         | 26.77        | 27.22         | 1.99                        | 2.44                         | 1/1  | >1/1  |
| c121   | 21.45         | 23.26        | 23.52         | 1.81                        | 2.07                         | 1/1  | >1/1  |
| c122   | 22.43         | 24.05        | 24.40         | 1.62                        | 1.97                         | 1/1  | 1/1   |
| c123   | 22.80         | 24.56        | 25.06         | 1.76                        | 2.26                         | 1/1  | >1/1  |
| c124   | 22.12         | 23.62        | 24.64         | 1.51                        | 2.52                         | 1/1  | >1/1  |
| c126   | 21.41         | 23.20        | 23.90         | 1.79                        | 2.49                         | 1/1  | >1/1  |

| Sample | Ct<br>[GAPDH] | Ct<br>[MDR1] | Ct<br>[ABCG2] | $\Delta$ Ct<br>[MDR1-GAPDH] | $\Delta$ Ct<br>[ABCG2-GAPDH] | Copy No. of MDR1:<br>0/0 คือ cannot<br>detected<br>1/0 คือ -2.0 ถึง 0.5<br>1/1 คือ 0.5 ถึง 1.9<br>>1/1 คือ 2.0 เป็นต้นไป | Copy No. of ABCG2:<br>0/0 คือ cannot<br>detected<br>1/0 คือ -2.0 ถึง 0.5<br>1/1 คือ 0.5 ถึง 1.9<br>>1/1 คือ 2.0 เป็นต้นไป |
|--------|---------------|--------------|---------------|-----------------------------|------------------------------|--|---|
| c127   | 22.71         | 24.41        | 24.93         | 1.69                        | 2.22                         | 1/1  | >1/1  |
| c128   | 24.04         | 25.52        | 26.60         | 1.48                        | 2.56                         | 1/1  | >1/1  |
| c129   | 22.05         | 23.69        | 24.31         | 1.64                        | 2.26                         | 1/1  | >1/1  |
| c130   | 21.79         | 23.44        | 23.89         | 1.65                        | 2.09                         | 1/1  | >1/1  |
| c131   | 23.56         | 25.28        | 25.74         | 1.72                        | 2.18                         | 1/1  | >1/1  |
| c132   | 23.22         | 25.04        | 25.55         | 1.82                        | 2.33                         | 1/1  | >1/1  |
| c133   | 23.04         | 24.88        | 25.16         | 1.84                        | 2.12                         | 1/1  | >1/1  |
| c134   | 22.89         | 24.72        | 25.20         | 1.83                        | 2.31                         | 1/1  | >1/1  |
| c135   | 22.28         | 24.14        | 24.62         | 1.86                        | 2.34                         | 1/1  | >1/1  |
| c136   | 22.27         | 24.29        | 24.64         | 2.02                        | 2.37                         | >1/1   | >1/1  |
| c137   | 22.14         | 23.86        | 24.09         | 1.72                        | 1.95                         | 1/1  | 1/1   |
| c138   | 22.44         | 24.13        | 24.43         | 1.70                        | 1.99                         | 1/1  | 1/1   |
| c139   | 23.19         | 24.94        | 25.46         | 1.75                        | 2.27                         | 1/1  | >1/1  |
| c140   | 23.61         | 25.32        | 25.79         | 1.70                        | 2.18                         | 1/1  | >1/1  |
| c141   | 22.22         | 23.65        | 23.92         | 1.43                        | 1.70                         | 1/1  | 1/1   |
| c142   | 22.37         | 24.00        | 24.33         | 1.63                        | 1.96                         | 1/1  | 1/1   |
| c143   | 23.01         | 24.64        | 25.17         | 1.62                        | 2.16                         | 1/1  | >1/1  |
| c144   | 21.29         | 23.10        | 23.21         | 1.82                        | 1.92                         | 1/1  | 1/1   |
| c145   | 21.66         | 23.54        | 23.64         | 1.88                        | 1.98                         | 1/1  | 1/1   |
| c146   | 22.50         | 24.33        | 24.83         | 1.83                        | 2.33                         | 1/1  | >1/1  |
| c147   | 22.30         | 24.18        | 24.66         | 1.87                        | 2.35                         | 1/1  | >1/1  |
| c148   | 22.39         | 24.22        | 24.55         | 1.83                        | 2.17                         | 1/1  | >1/1  |
| c149   | 25.25         | 27.16        | 27.43         | 1.91                        | 2.18                         | 1/1  | >1/1  |
| c150   | 22.48         | 24.32        | 24.36         | 1.84                        | 1.88                         | 1/1  | 1/1   |
| c151   | 22.05         | 24.05        | 24.25         | 2.00                        | 2.20                         | >1/1   | >1/1  |
| c152   | 22.76         | 24.54        | 24.96         | 1.78                        | 2.20                         | 1/1  | >1/1  |
| c153   | 22.95         | 24.53        | 24.89         | 1.57                        | 1.94                         | 1/1  | 1/1   |
| c154   | 22.00         | 23.83        | 24.25         | 1.83                        | 2.24                         | 1/1  | >1/1  |
| c155   | 21.93         | 23.56        | 23.96         | 1.63                        | 2.03                         | 1/1  | >1/1  |

| Sample | Ct<br>[GAPDH] | Ct<br>[MDR1] | Ct<br>[ABCG2] | $\Delta$ Ct<br>[MDR1-GAPDH] | $\Delta$ Ct<br>[ABCG2-GAPDH] | Copy No. of MDR1:<br>0/0 คือ cannot<br>detected<br>1/0 คือ -2.0 ถึง 0.5<br>1/1 คือ 0.5 ถึง 1.9<br>>1/1 คือ 2.0 เป็นต้นไป | Copy No. of ABCG2:<br>0/0 คือ cannot<br>detected<br>1/0 คือ -2.0 ถึง 0.5<br>1/1 คือ 0.5 ถึง 1.9<br>>1/1 คือ 2.0 เป็นต้นไป |
|--------|---------------|--------------|---------------|-----------------------------|------------------------------|--|---|
| c156   | 22.43         | 24.03        | 24.43         | 1.60                        | 2.00                         | 1/1  | >1/1  |
| c157   | 22.92         | 24.52        | 25.10         | 1.59                        | 2.18                         | 1/1  | >1/1  |
| c158   | 22.24         | 24.16        | 24.47         | 1.92                        | 2.23                         | 1/1  | >1/1  |
| c159   | 21.47         | 23.55        | 23.84         | 2.08                        | 2.37                         | >1/1   | >1/1  |
| c160   | 26.33         | 28.18        | 28.80         | 1.85                        | 2.47                         | 1/1  | >1/1  |
| c161   | 21.93         | 24.04        | 24.02         | 2.11                        | 2.09                         | >1/1   | >1/1  |
| c162   | 24.51         | 26.28        | 26.29         | 1.77                        | 1.78                         | 1/1  | 1/1   |
| c163   | 22.18         | 23.98        | 24.25         | 1.80                        | 2.07                         | 1/1  | >1/1  |
| c164   | 22.99         | 24.82        | 25.23         | 1.83                        | 2.25                         | 1/1  | >1/1  |
| c165   | 24.04         | 25.81        | 26.28         | 1.77                        | 2.24                         | 1/1  | >1/1  |
| c166   | 22.26         | 24.00        | 24.54         | 1.75                        | 2.28                         | 1/1  | >1/1  |
| c167   | 21.96         | 23.70        | 24.46         | 1.74                        | 2.50                         | 1/1  | >1/1  |
| c168   | 23.11         | 24.92        | 25.54         | 1.80                        | 2.43                         | 1/1  | >1/1  |
| c169   | 23.20         | 24.99        | 25.55         | 1.78                        | 2.34                         | 1/1  | >1/1  |
| C170   | 23.44         | 25.62        | 26.25         | 2.18                        | 2.81                         | >1/1   | >1/1  |
| C171   | 23.58         | 25.69        | 26.02         | 2.11                        | 2.44                         | >1/1   | >1/1  |
| C172   | 26.06         | 27.72        | 28.11         | 1.66                        | 2.05                         | 1/1  | >1/1  |
| C173   | 23.12         | 25.04        | 25.29         | 1.91                        | 2.17                         | 1/1  | >1/1  |
| C174   | 23.42         | 25.24        | 25.42         | 1.82                        | 2.00                         | 1/1  | >1/1  |
| C175   | 23.80         | 25.45        | 25.91         | 1.66                        | 2.12                         | 1/1  | >1/1  |
| C176   | 24.57         | 26.19        | 26.53         | 1.62                        | 1.96                         | 1/1  | 1/1   |
| C177   | 23.38         | 24.97        | 25.17         | 1.59                        | 1.79                         | 1/1  | 1/1   |
| C178   | 22.98         | 25.19        | 25.80         | 2.21                        | 2.81                         | >1/1   | >1/1  |
| C179   | 23.93         | 25.36        | 25.73         | 1.44                        | 1.80                         | 1/1  | 1/1   |
| C180   | 23.80         | 25.17        | 25.66         | 1.38                        | 1.86                         | 1/1  | 1/1   |
| C181   | 21.72         | 23.23        | 23.84         | 1.51                        | 2.12                         | 1/1  | >1/1  |
| C182   | 22.25         | 23.99        | 24.25         | 1.75                        | 2.00                         | 1/1  | >1/1  |
| C183   | 21.87         | 23.50        | 23.98         | 1.62                        | 2.11                         | 1/1  | >1/1  |
| C184   | 23.07         | 24.81        | 25.10         | 1.74                        | 2.02                         | 1/1  | >1/1  |

| Sample | Ct<br>[GAPDH] | Ct<br>[MDR1] | Ct<br>[ABCG2] | $\Delta$ Ct<br>[MDR1-GAPDH] | $\Delta$ Ct<br>[ABCG2-GAPDH] | Copy No. of MDR1:<br>0/0 คือ cannot<br>detected<br>1/0 คือ -2.0 ถึง 0.5<br>1/1 คือ 0.5 ถึง 1.9<br>>1/1 คือ 2.0 เป็นต้นไป | Copy No. of ABCG2:<br>0/0 คือ cannot<br>detected<br>1/0 คือ -2.0 ถึง 0.5<br>1/1 คือ 0.5 ถึง 1.9<br>>1/1 คือ 2.0 เป็นต้นไป |
|--------|---------------|--------------|---------------|-----------------------------|------------------------------|--|---|
| C185   | 25.16         | 26.67        | 26.95         | 1.52                        | 1.79                         | 1/1  | 1/1   |
| C186   | 24.77         | 26.47        | 26.80         | 1.70                        | 2.03                         | 1/1  | >1/1  |
| C187   | 23.99         | 25.38        | 25.80         | 1.39                        | 1.81                         | 1/1  | 1/1   |
| C188   | 24.19         | 25.54        | 26.09         | 1.36                        | 1.90                         | 1/1  | 1/1   |
| C189   | 24.45         | 26.10        | 26.60         | 1.65                        | 2.15                         | 1/1  | >1/1  |
| C190   | 23.60         | 25.60        | 25.86         | 2.00                        | 2.27                         | >1/1   | >1/1  |
| C191   | 22.74         | 24.56        | 24.88         | 1.82                        | 2.14                         | 1/1  | >1/1  |
| C192   | 22.47         | 24.02        | 24.62         | 1.55                        | 2.15                         | 1/1  | >1/1  |
| C193   | 23.03         | 24.49        | 24.99         | 1.46                        | 1.96                         | 1/1  | 1/1   |
| C194   | 23.41         | 24.90        | 25.71         | 1.49                        | 2.30                         | 1/1  | >1/1  |
| C195   | 23.70         | 25.22        | 26.24         | 1.52                        | 2.55                         | 1/1  | >1/1  |
| C196   | 23.79         | 25.33        | 26.28         | 1.54                        | 2.48                         | 1/1  | >1/1  |
| C197   | 21.63         | 22.96        | 23.75         | 1.33                        | 2.11                         | 1/1  | >1/1  |
| C198   | 23.17         | 24.68        | 25.25         | 1.51                        | 2.08                         | 1/1  | >1/1  |
| C199   | 23.76         | 25.78        | 26.66         | 2.02                        | 2.90                         | >1/1   | >1/1  |
| C200   | 23.80         | 25.36        | 26.05         | 1.56                        | 2.25                         | 1/1  | >1/1  |
| C201   | 21.52         | 23.20        | 23.24         | 1.69                        | 1.73                         | 1/1  | 1/1   |
| C202   | 20.87         | 22.80        | 22.87         | 1.93                        | 1.99                         | 1/1  | 1/1   |
| C203   | 21.52         | 23.26        | 23.38         | 1.74                        | 1.87                         | 1/1  | 1/1   |
| C204   | 21.63         | 23.38        | 23.36         | 1.74                        | 1.73                         | 1/1  | 1/1   |
| C205   | 21.79         | 23.38        | 23.28         | 1.59                        | 1.49                         | 1/1  | 1/1   |
| C206   | 21.35         | 22.90        | 23.08         | 1.55                        | 1.73                         | 1/1  | 1/1   |
| C207   | 21.21         | 22.65        | 22.82         | 1.44                        | 1.61                         | 1/1  | 1/1   |
| C208   | 21.16         | 22.55        | 22.74         | 1.39                        | 1.59                         | 1/1  | 1/1   |
| C209   | 22.46         | 23.93        | 24.22         | 1.47                        | 1.76                         | 1/1  | 1/1   |
| C210   | 21.81         | 23.53        | 23.92         | 1.72                        | 2.11                         | 1/1  | >1/1  |
| C211   | 22.31         | 23.96        | 24.10         | 1.66                        | 1.80                         | 1/1  | 1/1   |
| C212   | 21.76         | 23.34        | 23.49         | 1.58                        | 1.73                         | 1/1  | 1/1   |
| C213   | 21.67         | 23.32        | 23.33         | 1.64                        | 1.66                         | 1/1  | 1/1   |

| Sample | Ct<br>[GAPDH] | Ct<br>[MDR1] | Ct<br>[ABCG2] | $\Delta$ Ct<br>[MDR1-GAPDH] | $\Delta$ Ct<br>[ABCG2-GAPDH] | Copy No. of MDR1:<br>0/0 คือ cannot<br>detected<br>1/0 คือ -2.0 ถึง 0.5<br>1/1 คือ 0.5 ถึง 1.9<br>>1/1 คือ 2.0 เป็นต้นไป | Copy No. of ABCG2:<br>0/0 คือ cannot<br>detected<br>1/0 คือ -2.0 ถึง 0.5<br>1/1 คือ 0.5 ถึง 1.9<br>>1/1 คือ 2.0 เป็นต้นไป |
|--------|---------------|--------------|---------------|-----------------------------|------------------------------|--|---|
| C214   | 25.17         | 26.95        | 27.16         | 1.78                        | 1.99                         | 1/1  | 1/1   |
| C215   | 22.12         | 23.82        | 24.18         | 1.70                        | 2.06                         | 1/1  | >1/1  |
| C216   | 21.34         | 23.36        | 23.63         | 2.02                        | 2.28                         | >1/1   | >1/1  |
| C217   | 22.05         | 23.56        | 23.97         | 1.50                        | 1.92                         | 1/1  | 1/1   |
| C218   | 22.51         | 24.18        | 24.44         | 1.67                        | 1.93                         | 1/1  | 1/1   |
| C219   | 22.57         | 24.28        | 24.36         | 1.71                        | 1.79                         | 1/1  | 1/1   |
| C220   | 21.76         | 23.33        | 23.51         | 1.56                        | 1.75                         | 1/1  | 1/1   |
| C221   | 22.74         | 24.11        | 24.49         | 1.37                        | 1.75                         | 1/1  | 1/1   |
| C222   | 21.61         | 23.49        | 24.03         | 1.88                        | 2.43                         | 1/1  | >1/1  |
| C223   | 23.29         | 24.70        | 25.65         | 1.41                        | 2.36                         | 1/1  | >1/1  |
| C224   | 23.74         | 25.50        | 26.40         | 1.76                        | 2.66                         | 1/1  | >1/1  |
| C225   | 23.15         | 24.85        | 25.74         | 1.70                        | 2.59                         | 1/1  | >1/1  |
| C226   | 24.31         | 26.03        | 26.44         | 1.72                        | 2.13                         | 1/1  | >1/1  |
| C227   | 22.13         | 23.93        | 24.14         | 1.80                        | 2.02                         | 1/1  | >1/1  |
| C228   | 23.10         | 24.82        | 25.34         | 1.71                        | 2.24                         | 1/1  | >1/1  |
| C229   | 23.64         | 25.38        | 26.00         | 1.74                        | 2.36                         | 1/1  | >1/1  |
| C230   | 22.87         | 24.50        | 25.22         | 1.63                        | 2.35                         | 1/1  | >1/1  |
| C231   | 22.38         | 24.03        | 24.49         | 1.65                        | 2.11                         | 1/1  | >1/1  |
| C232   | 21.70         | 23.32        | 23.63         | 1.62                        | 1.94                         | 1/1  | 1/1   |
| C233   | 22.49         | 24.06        | 24.25         | 1.57                        | 1.76                         | 1/1  | 1/1   |
| C234   | 22.95         | 24.44        | 24.95         | 1.49                        | 2.00                         | 1/1  | >1/1  |
| C235   | 23.16         | 24.93        | 25.45         | 1.77                        | 2.29                         | 1/1  | >1/1  |
| C236   | 22.43         | 23.90        | 24.40         | 1.47                        | 1.97                         | 1/1  | 1/1   |
| C237   | 21.05         | 22.30        | 22.95         | 1.24                        | 1.89                         | 1/1  | 1/1   |
| C238   | 23.31         | 24.65        | 25.25         | 1.34                        | 1.94                         | 1/1  | 1/1   |
| C239   | 22.95         | 24.44        | 24.83         | 1.49                        | 1.88                         | 1/1  | 1/1   |
| C241   | 23.69         | 25.39        | 25.69         | 1.70                        | 1.99                         | 1/1  | 1/1   |
| C242   | 22.07         | 23.70        | 24.23         | 1.63                        | 2.16                         | 1/1  | >1/1  |
| C243   | 21.36         | 23.08        | 23.43         | 1.71                        | 2.06                         | 1/1  | >1/1  |

| Sample | Ct<br>[GAPDH] | Ct<br>[MDR1] | Ct<br>[ABCG2] | $\Delta$ Ct<br>[MDR1-GAPDH] | $\Delta$ Ct<br>[ABCG2-GAPDH] | Copy No. of MDR1:<br>0/0 คือ cannot<br>detected<br>1/0 คือ -2.0 ถึง 0.5<br>1/1 คือ 0.5 ถึง 1.9<br>>1/1 คือ 2.0 เป็นต้นไป | Copy No. of ABCG2:<br>0/0 คือ cannot<br>detected<br>1/0 คือ -2.0 ถึง 0.5<br>1/1 คือ 0.5 ถึง 1.9<br>>1/1 คือ 2.0 เป็นต้นไป |
|--------|---------------|--------------|---------------|-----------------------------|------------------------------|--|---|
| C244   | 23.22         | 24.91        | 25.44         | 1.69                        | 2.22                         | 1/1  | >1/1  |
| C245   | 23.17         | 25.07        | 25.86         | 1.89                        | 2.69                         | 1/1  | >1/1  |
| C246   | 21.33         | 23.26        | 23.35         | 1.93                        | 2.02                         | 1/1  | >1/1  |
| C247   | 23.16         | 24.66        | 25.04         | 1.50                        | 1.89                         | 1/1  | 1/1   |
| C248   | 24.22         | 25.83        | 26.24         | 1.62                        | 2.02                         | 1/1  | >1/1  |
| C249   | 26.91         | 28.25        | 29.42         | 1.34                        | 2.51                         | 1/1  | >1/1  |
| C250   | 23.92         | 25.50        | 26.23         | 1.58                        | 2.30                         | 1/1  | >1/1  |
| C251   | 22.60         | 24.31        | 24.75         | 1.71                        | 2.15                         | 1/1  | >1/1  |
| C252   | 22.76         | 24.55        | 24.86         | 1.79                        | 2.10                         | 1/1  | >1/1  |
| C253   | 21.43         | 22.83        | 23.17         | 1.39                        | 1.73                         | 1/1  | 1/1   |
| C254   | 23.00         | 24.70        | 24.70         | 1.70                        | 1.71                         | 1/1  | 1/1   |
| C255   | 22.50         | 24.23        | 24.45         | 1.73                        | 1.95                         | 1/1  | 1/1   |
| C256   | 22.03         | 23.67        | 24.02         | 1.64                        | 2.00                         | 1/1  | >1/1  |
| C257   | 21.38         | 23.00        | 23.14         | 1.62                        | 1.76                         | 1/1  | 1/1   |
| C258   | 21.19         | 22.84        | 23.09         | 1.65                        | 1.90                         | 1/1  | 1/1   |
| C259   | 25.27         | 26.82        | 27.59         | 1.54                        | 2.32                         | 1/1  | >1/1  |
| C260   | 22.24         | 24.09        | 24.30         | 1.84                        | 2.06                         | 1/1  | >1/1  |
| C261   | 26.57         | 27.91        | 29.13         | 1.33                        | 2.56                         | 1/1  | >1/1  |
| C262   | 24.13         | 25.61        | 26.00         | 1.48                        | 1.87                         | 1/1  | 1/1   |
| C263   | 26.25         | 27.71        | 28.49         | 1.46                        | 2.24                         | 1/1  | >1/1  |
| C264   | 25.42         | 26.84        | 27.38         | 1.42                        | 1.96                         | 1/1  | 1/1   |
| C265   | 24.34         | 26.04        | 26.59         | 1.69                        | 2.24                         | 1/1  | >1/1  |

\* ค่า Ct ที่ใช้ในการคำนวณ มาจากการค่าเฉลี่ยการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ

ตัวอย่างกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งเต้านม:

| Sample | Ct<br>[GAPDH] | Ct<br>[MDR1] | Ct<br>[ABCG2] | $\Delta$ Ct<br>[MDR1-GAPDH] | $\Delta$ Ct<br>[ABCG2-GAPDH] | Copy No. of <u>MDR1</u> :<br>0/0 คือ cannot<br>detected<br>1/0 คือ -2.0 ถึง 0.5<br>1/1 คือ 0.5 ถึง 1.9<br>>1/1 คือ 2.0 เป็นต้นไป | Copy No. of <u>ABCG2</u> :<br>0/0 คือ cannot<br>detected<br>1/0 คือ -2.0 ถึง 0.5<br>1/1 คือ 0.5 ถึง 1.9<br>>1/1 คือ 2.0 เป็นต้นไป |
|--------|---------------|--------------|---------------|-----------------------------|------------------------------|--|---|
| B001   | 22.26         | 24.12        | 24.67         | 1.86                        | 2.41                         | 1/1  | >1/1  |
| B004   | 20.55         | 22.76        | 23.41         | 2.21                        | 2.86                         | >1/1   | >1/1  |
| B006   | 25.34         | 27.30        | 28.00         | 1.96                        | 2.66                         | 1/1  | >1/1  |
| B010   | 20.94         | 22.85        | 23.21         | 1.91                        | 2.28                         | 1/1  | >1/1  |
| B012   | 22.38         | 24.61        | 25.23         | 2.22                        | 2.84                         | >1/1   | >1/1  |
| B014   | 20.63         | 22.72        | 23.31         | 2.09                        | 2.67                         | >1/1   | >1/1  |
| B015   | 21.91         | 23.71        | 24.25         | 1.80                        | 2.35                         | 1/1  | >1/1  |
| B017   | 21.05         | 22.99        | 23.42         | 1.93                        | 2.36                         | 1/1  | >1/1  |
| B021   | 21.25         | 23.11        | 23.91         | 1.86                        | 2.66                         | 1/1  | >1/1  |
| B022   | 20.46         | 22.32        | 23.10         | 1.86                        | 2.64                         | 1/1  | >1/1  |
| B028   | 20.60         | 22.19        | 22.80         | 1.58                        | 2.20                         | 1/1  | >1/1  |
| B040   | 21.61         | 23.72        | 24.12         | 2.11                        | 2.51                         | >1/1   | >1/1  |
| B044   | 20.57         | 22.43        | 22.95         | 1.86                        | 2.37                         | 1/1  | >1/1  |
| B045   | 21.03         | 22.87        | 23.26         | 1.84                        | 2.22                         | 1/1  | >1/1  |
| B046   | 20.65         | 22.48        | 23.11         | 1.84                        | 2.47                         | 1/1  | >1/1  |
| B047   | 20.62         | 22.22        | 22.85         | 1.60                        | 2.23                         | 1/1  | >1/1  |
| B048   | 20.33         | 22.12        | 22.37         | 1.79                        | 2.04                         | 1/1  | >1/1  |
| B050   | 20.56         | 22.41        | 22.72         | 1.85                        | 2.16                         | 1/1  | >1/1  |
| B051   | 20.10         | 21.95        | 22.22         | 1.86                        | 2.12                         | 1/1  | >1/1  |
| B052   | 20.73         | 22.57        | 23.05         | 1.84                        | 2.32                         | 1/1  | >1/1  |
| B053   | 21.47         | 23.27        | 23.84         | 1.80                        | 2.37                         | 1/1  | >1/1  |
| B054   | 21.06         | 22.42        | 23.42         | 1.36                        | 2.36                         | 1/1  | >1/1  |
| B056   | 21.65         | 23.33        | 24.04         | 1.68                        | 2.39                         | 1/1  | >1/1  |
| B058   | 21.24         | 22.77        | 23.67         | 1.53                        | 2.43                         | 1/1  | >1/1  |

| Sample | Ct<br>[GAPDH] | Ct<br>[MDR1] | Ct<br>[ABCG2] | $\Delta$ Ct<br>[MDR1-GAPDH] | $\Delta$ Ct<br>[ABCG2-GAPDH] | Copy No. of MDR1:<br>0/0 คือ cannot<br>detected<br>1/0 คือ -2.0 ถึง 0.5<br>1/1 คือ 0.5 ถึง 1.9<br>>1/1 คือ 2.0 เป็นต้นไป | Copy No. of ABCG2:<br>0/0 คือ cannot<br>detected<br>1/0 คือ -2.0 ถึง 0.5<br>1/1 คือ 0.5 ถึง 1.9<br>>1/1 คือ 2.0 เป็นต้นไป |
|--------|---------------|--------------|---------------|-----------------------------|------------------------------|--|---|
| B059   | 22.59         | 24.28        | 25.05         | 1.69                        | 2.46                         | 1/1  | >1/1  |
| B060   | 21.09         | 22.68        | 23.44         | 1.59                        | 2.35                         | 1/1  | >1/1  |
| B072   | 21.17         | 23.04        | 23.06         | 1.87                        | 1.88                         | 1/1  | 1/1   |
| B074   | 22.13         | 23.97        | 24.04         | 1.84                        | 1.90                         | 1/1  | 1/1   |
| B076   | 21.22         | 23.13        | 23.13         | 1.92                        | 1.92                         | 1/1  | 1/1   |
| B081   | 22.09         | 24.02        | 24.15         | 1.93                        | 2.06                         | 1/1  | >1/1  |
| B082   | 22.61         | 24.91        | 24.61         | 2.30                        | 2.00                         | >1/1   | >1/1  |
| B083   | 21.84         | 23.69        | 23.61         | 1.85                        | 1.77                         | 1/1  | 1/1   |
| B084   | 21.82         | 23.78        | 23.75         | 1.96                        | 1.93                         | 1/1  | 1/1   |
| B088   | 22.29         | 24.23        | 24.21         | 1.95                        | 1.92                         | 1/1  | 1/1   |
| B089   | 20.50         | 21.96        | 21.67         | 1.46                        | 1.17                         | 1/1  | 1/1   |
| B092   | 21.25         | 22.84        | 22.72         | 1.60                        | 1.47                         | 1/1  | 1/1   |
| B099   | 20.65         | 22.49        | 22.33         | 1.85                        | 1.69                         | 1/1  | 1/1   |
| B100   | 21.42         | 23.09        | 23.06         | 1.67                        | 1.64                         | 1/1  | 1/1   |
| B114   | 21.65         | 23.35        | 23.31         | 1.70                        | 1.66                         | 1/1  | 1/1   |
| B115   | 21.28         | 23.27        | 23.31         | 1.99                        | 2.03                         | 1/1  | >1/1  |
| B118   | 22.16         | 24.11        | 24.00         | 1.95                        | 1.84                         | 1/1  | 1/1   |
| B119   | 21.66         | 23.55        | 23.49         | 1.89                        | 1.83                         | 1/1  | 1/1   |
| B120   | 20.53         | 22.63        | 22.63         | 2.10                        | 2.10                         | >1/1   | >1/1  |
| B122   | 21.53         | 23.41        | 23.86         | 1.88                        | 2.33                         | 1/1  | >1/1  |
| B123   | 21.35         | 23.21        | 23.34         | 1.86                        | 1.99                         | 1/1  | 1/1   |
| B124   | 20.90         | 22.96        | 22.83         | 2.06                        | 1.93                         | >1/1   | 1/1   |
| B125   | 21.16         | 22.75        | 23.12         | 1.58                        | 1.96                         | 1/1  | 1/1   |
| B126   | 22.06         | 23.79        | 24.08         | 1.73                        | 2.02                         | 1/1  | >1/1  |
| B127   | 21.31         | 23.49        | 23.80         | 2.18                        | 2.49                         | >1/1   | >1/1  |



| Sample | Ct<br>[GAPDH] | Ct<br>[MDR1] | Ct<br>[ABCG2] | $\Delta$ Ct<br>[MDR1-GAPDH] | $\Delta$ Ct<br>[ABCG2-GAPDH] | Copy No. of MDR1:<br>0/0 คือ cannot<br>detected<br>1/0 คือ -2.0 ถึง 0.5<br>1/1 คือ 0.5 ถึง 1.9<br>>1/1 คือ 2.0 เป็นต้นไป | Copy No. of ABCG2:<br>0/0 คือ cannot<br>detected<br>1/0 คือ -2.0 ถึง 0.5<br>1/1 คือ 0.5 ถึง 1.9<br>>1/1 คือ 2.0 เป็นต้นไป |
|--------|---------------|--------------|---------------|-----------------------------|------------------------------|--|---|
| B128   | 22.44         | 24.50        | 25.14         | 2.06                        | 2.70                         | >1/1   | >1/1  |
| B132   | 22.53         | 24.43        | 24.85         | 1.90                        | 2.32                         | 1/1  | >1/1  |
| B133   | 21.02         | 22.83        | 22.98         | 1.81                        | 1.95                         | 1/1  | 1/1   |
| B135   | 20.99         | 22.82        | 22.86         | 1.83                        | 1.87                         | 1/1  | 1/1   |
| B137   | 20.53         | 22.74        | 22.73         | 2.22                        | 2.20                         | >1/1   | >1/1  |
| B143   | 23.95         | 25.76        | 26.03         | 1.81                        | 2.08                         | 1/1  | >1/1  |
| B144   | 23.16         | 25.24        | 25.44         | 2.08                        | 2.28                         | >1/1   | >1/1  |
| B148   | 22.40         | 24.32        | 24.45         | 1.92                        | 2.05                         | 1/1  | >1/1  |
| B155   | 23.02         | 24.79        | 25.11         | 1.77                        | 2.09                         | 1/1  | >1/1  |
| B162   | 24.05         | 26.06        | 26.42         | 2.01                        | 2.37                         | >1/1   | >1/1  |
| B165   | 22.81         | 24.55        | 24.45         | 1.74                        | 1.64                         | 1/1  | 1/1   |
| B167   | 24.96         | 26.97        | 27.20         | 2.01                        | 2.24                         | >1/1   | >1/1  |
| B169   | 25.30         | 27.20        | 27.35         | 1.90                        | 2.04                         | 1/1  | >1/1  |
| B170   | 23.26         | 25.04        | 25.10         | 1.77                        | 1.83                         | 1/1  | 1/1   |
| B177   | 23.47         | 25.46        | 25.74         | 1.99                        | 2.27                         | 1/1  | >1/1  |
| B178   | 23.03         | 24.77        | 25.09         | 1.74                        | 2.06                         | 1/1  | >1/1  |
| B181   | 23.00         | 24.45        | 24.85         | 1.45                        | 1.85                         | 1/1  | 1/1   |
| B182   | 25.20         | 26.73        | 27.16         | 1.53                        | 1.96                         | 1/1  | 1/1   |
| B184   | 23.01         | 24.61        | 24.80         | 1.60                        | 1.79                         | 1/1  | 1/1   |
| B190   | 23.16         | 24.74        | 25.11         | 1.58                        | 1.94                         | 1/1  | 1/1   |
| B192   | 21.80         | 23.41        | 23.69         | 1.61                        | 1.89                         | 1/1  | 1/1   |
| B197   | 24.26         | 26.06        | 26.65         | 1.80                        | 2.39                         | 1/1  | >1/1  |
| B198   | 22.95         | 24.64        | 25.70         | 1.69                        | 2.75                         | 1/1  | >1/1  |
| B199   | 22.85         | 24.80        | 25.46         | 1.95                        | 2.60                         | 1/1  | >1/1  |
| B200   | 22.18         | 23.85        | 24.10         | 1.67                        | 1.92                         | 1/1  | 1/1   |

| Sample | Ct<br>[GAPDH] | Ct<br>[MDR1] | Ct<br>[ABCG2] | $\Delta$ Ct<br>[MDR1-GAPDH] | $\Delta$ Ct<br>[ABCG2-GAPDH] | Copy No. of MDR1:<br>0/0 คือ cannot<br>detected<br>1/0 คือ -2.0 ถึง 0.5<br>1/1 คือ 0.5 ถึง 1.9<br>>1/1 คือ 2.0 เป็นต้นไป | Copy No. of ABCG2:<br>0/0 คือ cannot<br>detected<br>1/0 คือ -2.0 ถึง 0.5<br>1/1 คือ 0.5 ถึง 1.9<br>>1/1 คือ 2.0 เป็นต้นไป |
|--------|---------------|--------------|---------------|-----------------------------|------------------------------|--|---|
| B201   | 22.64         | 24.47        | 25.18         | 1.83                        | 2.54                         | 1/1  | >1/1  |
| B205   | 23.75         | 25.17        | 25.16         | 1.42                        | 1.40                         | 1/1  | 1/1   |
| B206   | 25.40         | 26.89        | 27.22         | 1.49                        | 1.82                         | 1/1  | 1/1   |
| B207   | 26.52         | 28.32        | 28.10         | 1.80                        | 1.58                         | 1/1  | 1/1   |
| B209   | 24.58         | 26.36        | 26.53         | 1.78                        | 1.95                         | 1/1  | 1/1   |
| B212   | 23.97         | 26.03        | 26.00         | 2.06                        | 2.02                         | >1/1   | >1/1  |
| B214   | 24.09         | 25.73        | 25.72         | 1.64                        | 1.62                         | 1/1  | 1/1   |
| B216   | 25.85         | 27.52        | 27.56         | 1.67                        | 1.71                         | 1/1  | 1/1   |
| B217   | 26.05         | 27.94        | 27.84         | 1.89                        | 1.79                         | 1/1  | 1/1   |
| B218   | 23.13         | 24.84        | 25.13         | 1.71                        | 1.99                         | 1/1  | 1/1   |
| B219   | 22.09         | 23.82        | 24.26         | 1.73                        | 2.17                         | 1/1  | >1/1  |
| B220   | 23.46         | 25.34        | 25.60         | 1.88                        | 2.14                         | 1/1  | >1/1  |
| B221   | 22.99         | 24.82        | 25.01         | 1.82                        | 2.02                         | 1/1  | >1/1  |
| B223   | 28.33         | 29.95        | 30.01         | 1.62                        | 1.68                         | 1/1  | 1/1   |
| B225   | 25.70         | 27.14        | 27.44         | 1.44                        | 1.74                         | 1/1  | 1/1   |
| B226   | 23.35         | 25.10        | 24.98         | 1.75                        | 1.63                         | 1/1  | 1/1   |
| B229   | 23.99         | 25.61        | 26.19         | 1.63                        | 2.20                         | 1/1  | >1/1  |
| B230   | 24.87         | 26.53        | 27.47         | 1.66                        | 2.60                         | 1/1  | >1/1  |
| B233   | 27.41         | 29.09        | 29.36         | 1.68                        | 1.94                         | 1/1  | 1/1   |
| B234   | 25.06         | 26.82        | 27.16         | 1.75                        | 2.10                         | 1/1  | >1/1  |
| B236   | 24.30         | 26.14        | 26.17         | 1.83                        | 1.87                         | 1/1  | 1/1   |
| B237   | 26.58         | 28.53        | 28.72         | 1.95                        | 2.14                         | 1/1  | >1/1  |
| B238   | 23.47         | 25.27        | 25.71         | 1.80                        | 2.24                         | 1/1  | >1/1  |
| B240   | 22.70         | 24.50        | 24.65         | 1.80                        | 1.95                         | 1/1  | 1/1   |
| B241   | 21.26         | 23.06        | 23.92         | 1.79                        | 2.65                         | 1/1  | >1/1  |

| Sample | Ct<br>[GAPDH] | Ct<br>[MDR1] | Ct<br>[ABCG2] | $\Delta$ Ct<br>[MDR1-GAPDH] | $\Delta$ Ct<br>[ABCG2-GAPDH] | Copy No. of MDR1:<br>0/0 คือ cannot<br>detected<br>1/0 คือ -2.0 ถึง 0.5<br>1/1 คือ 0.5 ถึง 1.9<br>>1/1 คือ 2.0 เป็นต้นไป | Copy No. of ABCG2:<br>0/0 คือ cannot<br>detected<br>1/0 คือ -2.0 ถึง 0.5<br>1/1 คือ 0.5 ถึง 1.9<br>>1/1 คือ 2.0 เป็นต้นไป |
|--------|---------------|--------------|---------------|-----------------------------|------------------------------|--|---|
| B242   | 27.18         | 28.69        | 27.94         | 1.52                        | 0.77                         | 1/1  | 1/1   |
| B246   | 22.96         | 24.54        | 25.13         | 1.58                        | 2.17                         | 1/1  | >1/1  |
| B247   | 23.42         | 24.81        | 25.03         | 1.40                        | 1.61                         | 1/1  | 1/1   |
| B248   | 25.84         | 27.24        | 26.93         | 1.40                        | 1.09                         | 1/1  | 1/1   |
| B249   | 23.93         | 25.25        | 25.93         | 1.32                        | 2.01                         | 1/1  | >1/1  |
| B250   | 23.35         | 25.33        | 24.77         | 1.98                        | 1.42                         | 1/1  | 1/1   |
| B251   | 23.97         | 25.54        | 25.93         | 1.57                        | 1.96                         | 1/1  | 1/1   |
| B252   | 28.07         | 30.03        | 29.33         | 1.96                        | 1.26                         | 1/1  | 1/1   |
| B253   | 22.67         | 24.68        | 24.81         | 2.01                        | 2.14                         | >1/1   | >1/1  |
| B254   | 22.46         | 24.20        | 24.29         | 1.74                        | 1.83                         | 1/1  | 1/1   |
| B255   | 22.94         | 24.42        | 24.31         | 1.48                        | 1.38                         | 1/1  | 1/1   |
| B257   | 23.31         | 24.95        | 24.50         | 1.64                        | 1.19                         | 1/1  | 1/1   |
| B258   | 25.16         | 26.58        | 26.44         | 1.42                        | 1.28                         | 1/1  | 1/1   |
| B259   | 23.31         | 24.99        | 24.98         | 1.68                        | 1.66                         | 1/1  | 1/1   |
| B260   | 23.89         | 25.66        | 25.49         | 1.77                        | 1.60                         | 1/1  | 1/1   |
| B261   | 24.35         | 25.66        | 25.73         | 1.32                        | 1.38                         | 1/1  | 1/1   |
| B263   | 24.77         | 26.15        | 26.04         | 1.38                        | 1.27                         | 1/1  | 1/1   |
| B264   | 23.06         | 24.36        | 24.56         | 1.30                        | 1.50                         | 1/1  | 1/1   |
| B266   | 23.62         | 25.44        | 25.61         | 1.82                        | 1.98                         | 1/1  | 1/1   |
| B267   | 23.00         | 24.74        | 24.43         | 1.74                        | 1.43                         | 1/1  | 1/1   |
| B269   | 22.35         | 24.29        | 24.07         | 1.95                        | 1.72                         | 1/1  | 1/1   |
| B271   | 24.26         | 26.02        | 25.65         | 1.76                        | 1.39                         | 1/1  | 1/1   |
| B272   | 23.53         | 25.01        | 24.82         | 1.48                        | 1.29                         | 1/1  | 1/1   |
| B273   | 24.06         | 25.77        | 25.13         | 1.72                        | 1.08                         | 1/1  | 1/1   |
| B275   | 24.48         | 26.17        | 25.67         | 1.69                        | 1.19                         | 1/1  | 1/1   |

| Sample | Ct<br>[GAPDH] | Ct<br>[MDR1] | Ct<br>[ABCG2] | $\Delta$ Ct<br>[MDR1-GAPDH] | $\Delta$ Ct<br>[ABCG2-GAPDH] | Copy No. of MDR1:<br>0/0 คือ cannot<br>detected<br>1/0 คือ -2.0 ถึง 0.5<br>1/1 คือ 0.5 ถึง 1.9<br>>1/1 คือ 2.0 เป็นต้นไป | Copy No. of ABCG2:<br>0/0 คือ cannot<br>detected<br>1/0 คือ -2.0 ถึง 0.5<br>1/1 คือ 0.5 ถึง 1.9<br>>1/1 คือ 2.0 เป็นต้นไป |
|--------|---------------|--------------|---------------|-----------------------------|------------------------------|--|---|
| B276   | 23.44         | 25.05        | 24.61         | 1.61                        | 1.17                         | 1/1  | 1/1   |
| B277   | 21.89         | 23.72        | 23.27         | 1.83                        | 1.37                         | 1/1  | 1/1   |
| B278   | 23.76         | 25.26        | 25.02         | 1.49                        | 1.26                         | 1/1  | 1/1   |
| B279   | 21.65         | 23.50        | 23.24         | 1.85                        | 1.59                         | 1/1  | 1/1   |
| B281   | 21.01         | 22.47        | 22.17         | 1.45                        | 1.15                         | 1/1  | 1/1   |
| B283   | 23.64         | 24.62        | 24.48         | 0.98                        | 0.84                         | 1/1  | 1/1   |
| B284   | 20.81         | 22.45        | 22.34         | 1.64                        | 1.53                         | 1/1  | 1/1   |
| B286   | 22.54         | 24.03        | 23.83         | 1.48                        | 1.28                         | 1/1  | 1/1   |
| B288   | 20.43         | 22.42        | 22.40         | 1.99                        | 1.97                         | 1/1  | 1/1   |
| B289   | 21.16         | 23.26        | 23.25         | 2.10                        | 2.09                         | >1/1   | >1/1  |
| B290   | 22.11         | 23.80        | 23.79         | 1.69                        | 1.67                         | 1/1  | 1/1   |
| B291   | 22.28         | 24.11        | 24.10         | 1.83                        | 1.83                         | 1/1  | 1/1   |
| B293   | 22.88         | 24.52        | 24.28         | 1.64                        | 1.39                         | 1/1  | 1/1   |
| B294   | 23.07         | 24.86        | 24.63         | 1.80                        | 1.56                         | 1/1  | 1/1   |
| B295   | 23.39         | 25.28        | 25.02         | 1.89                        | 1.63                         | 1/1  | 1/1   |
| B299   | 22.37         | 24.08        | 23.98         | 1.70                        | 1.60                         | 1/1  | 1/1   |
| B300   | 22.35         | 23.30        | 23.26         | 0.96                        | 0.91                         | 1/1  | 1/1   |
| B301   | 21.78         | 23.20        | 23.27         | 1.42                        | 1.49                         | 1/1  | 1/1   |
| B302   | 21.44         | 23.00        | 22.74         | 1.57                        | 1.31                         | 1/1  | 1/1   |
| B304   | 22.58         | 24.19        | 24.02         | 1.61                        | 1.44                         | 1/1  | 1/1   |
| B306   | 22.99         | 24.84        | 24.63         | 1.86                        | 1.65                         | 1/1  | 1/1   |
| B307   | 24.01         | 25.66        | 25.58         | 1.64                        | 1.56                         | 1/1  | 1/1   |
| B310   | 24.77         | 26.33        | 26.31         | 1.57                        | 1.54                         | 1/1  | 1/1   |
| B314   | 25.31         | 27.00        | 26.35         | 1.69                        | 1.04                         | 1/1  | 1/1   |
| B315   | 29.95         | 31.38        | 30.06         | 1.43                        | 0.11                         | 1/1  | 0/1   |

| Sample | Ct<br>[GAPDH] | Ct<br>[MDR1] | Ct<br>[ABCG2] | $\Delta$ Ct<br>[MDR1-GAPDH] | $\Delta$ Ct<br>[ABCG2-GAPDH] | Copy No. of MDR1:<br>0/0 คือ cannot<br>detected<br>1/0 คือ -2.0 ถึง 0.5<br>1/1 คือ 0.5 ถึง 1.9<br>>1/1 คือ 2.0 เป็นต้นไป | Copy No. of ABCG2:<br>0/0 คือ cannot<br>detected<br>1/0 คือ -2.0 ถึง 0.5<br>1/1 คือ 0.5 ถึง 1.9<br>>1/1 คือ 2.0 เป็นต้นไป |
|--------|---------------|--------------|---------------|-----------------------------|------------------------------|--|---|
| B316   | 23.46         | 24.92        | 24.52         | 1.46                        | 1.06                         | 1/1  | 1/1   |
| B318   | 25.66         | 27.04        | 27.19         | 1.38                        | 1.53                         | 1/1  | 1/1   |
| B319   | 24.27         | 25.65        | 25.74         | 1.37                        | 1.46                         | 1/1  | 1/1   |

\* ค่า Ct ที่ใช้ในการคำนวณ มาจากการค่าเฉลี่ยการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ

