

กระบวนการก่อมะเร็งท่อน้ำดีในระดับโมเลกุล 2: ยีนที่สัมพันธ์กับการก่อมะเร็งท่อน้ำดี

นิสนา นามวาท^{1,2*}, วชรินทร์ ลอยลอม^{1,2}, พวงรัตน์ ยงวนิชย์^{1,2}

¹ภาควิชาชีวเคมี, ²ศูนย์วิจัยพยาธิใบไม้ตับและมะเร็งท่อน้ำดี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

Molecular Carcinogenesis of Cholangiocarcinoma II: Associated Genes in the Genesis of Cholangiocarcinoma

Nisana Namwat^{1,2*}, Watcharin Loilome^{1,2}, Puangrat Yongvanit^{1,2}

¹Department of Biochemistry, ²Liver Fluke and Cholangiocarcinoma Research Center, Faculty of Medicine, Khon Kaen University, Thailand

ในกระบวนการก่อมะเร็งท่อน้ำดีพบว่าการเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของยีนเป็นจำนวนมาก ซึ่งเป็นผลจากการกลายพันธุ์ของยีนสำคัญในกลุ่มที่เป็น oncogene และ tumor suppressor gene การวิจัยด้านมะเร็งท่อน้ำดีในช่วง 10 ปีที่ผ่านมา ได้มุ่งศึกษาเพื่อวิเคราะห์แบบแผนการแสดงออกของยีนในเนื้อเยื่อมะเร็งเปรียบเทียบกับเนื้อเยื่อปกติเพื่อที่จะค้นหาโมเลกุลสำคัญที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการก่อมะเร็งในปัจจุบัน ความรู้ความเข้าใจในกลไกระดับโมเลกุลของโรคมะเร็งท่อน้ำดีจึงเพิ่มขึ้นเป็นลำดับ วัตถุประสงค์ในเขียนบทความครั้งนี้เพื่อรวบรวมชนิดของยีนที่แสดงออกในกระบวนการก่อมะเร็งท่อน้ำดีที่สัมพันธ์กับการติดพยาธิใบไม้ตับ (*Opisthorchis viverrini*) ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการวิจัยด้านการป้องกัน วินิจฉัยและรักษาโรคมะเร็งท่อน้ำดีแบบมุ่งเป้า

In carcinogenesis of bile duct cancer, there are substantial changes in gene expression profile resulting from the mutations of the key oncogene and tumor suppressor genes. Much of cholangiocarcinoma research over the past 10 years has been committed to exploration of genes that are differently expressed in tumor tissues as compared with their normal counter parts in the process of carcinogenesis. To date, cumulative of understanding in cholangiocarcinoma (CCA) is expanded to advances in molecular basis in the genesis of CCA. The purpose of this review is to gather the recent in some expressed genes that involve in *Opisthorchis viverrini*-associated CCA carcinogenesis. The target molecules will provide tools for better prevention, diagnosis and targeted treatment of CCA.

สรินกรินทร์เวชสาร 2555; 27 ฉบับพิเศษ (มะเร็งท่อน้ำดี): 364-70 • Srinagarind Med J 2012; 27 suppl (Cholangiocarcinoma): 364-70

บทนำ

เป็นที่ทราบกันดีว่ากระบวนการก่อมะเร็งมะเร็งท่อน้ำดีมีความเกี่ยวข้องกับการอักเสบ ผลการศึกษาพบว่าในภูมิภาคตะวันออกเฉียงเหนือของไทย การติดพยาธิใบไม้ตับ (*Opisthorchis viverrini*, Ov) แบบเรื้อรังมีส่วนอย่างมากในการกระตุ้นกระบวนการอักเสบ ส่งผลกระทบต่อเนื้อเยื่อบริเวณท่อน้ำดี โดยกระตุ้นให้เกิดภาวะ fibrosis ขึ้นรอบๆ ท่อน้ำดี พบว่าประชากรกลุ่มที่ติดเชื้อ Ov นี้มีอุบัติการณ์เกิดโรคมะเร็งท่อน้ำดีค่อนข้างสูงกว่าภูมิภาคอื่นของประเทศไทย เชื่อว่าโรคมะเร็งท่อน้ำดีที่สัมพันธ์กับ

การติดพยาธิ Ov น่าจะใช้เวลาก่อมะเร็งนานประมาณ 20-30 ปี นอกจากจะมีการทำลายสารชีวโมเลกุลทั้งดีเอ็นเอ ลิพิด และโปรตีนแล้ว ยังมีการเปลี่ยนแปลงในระดับยีน¹ ส่งผลให้เซลล์เยื่อบุท่อน้ำดีเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์มะเร็งซึ่งมีลักษณะหน้าที่แตกต่างไปจากเซลล์ปกติ Hanahan และ Weinberg² ได้แบ่งลักษณะทั่วไปของเซลล์มะเร็งซึ่งมีทั้งหมด 6 ประการ ได้แก่ 1) การกระตุ้นสัญญาณการเจริญเติบโตอย่างต่อเนื่อง 2) การหลบหลีกตัวยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ 3) การต่อต้านการตายของเซลล์ 4) ความสามารถในการแบ่งตัวแบบไม่มีขีดจำกัด 5) การกระตุ้นกระบวนการ

*Corresponding Author: nisana@kku.ac.th

สร้างเส้นเลือดใหม่ และ 6) การกระตุ้นกระบวนการบุกรุกและแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง นอกจากนี้นักวิทยาศาสตร์เชื่อว่าเซลล์ชนิดต่างๆ เช่น macrophage และ fibroblast เป็นต้นที่อยู่รอบๆเซลล์ที่จะเปลี่ยนแปลงเป็นเซลล์มะเร็ง (tumor microenvironment) นั้นมีส่วนอย่างมากในการกระตุ้นกระบวนการก่อมะเร็ง บทความนี้รวบรวมการศึกษารูปแบบแผนการแสดงออกยีนในเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีโดยแบ่งกลุ่มตามลักษณะทั่วไปของเซลล์มะเร็ง

การกระตุ้นสัญญาณการเจริญเติบโตอย่างต่อเนื่อง (Sustaining proliferative signaling)

โดยปกติแล้ว การแบ่งตัวของเซลล์จะถูกระงับเมื่อมีการส่งสัญญาณโดย mediator ต่างๆ ได้แก่ growth factor และ cytokine พบว่าเซลล์เยื่อบุท่อน้ำดีมีการเพิ่มจำนวนมากมายและขยายขนาดในบริเวณที่มีพยาธิ Ov แสดงถึงการส่งสัญญาณกระตุ้นการเจริญเติบโตมากกว่าปกติ ตัวพยาธิสามารถขับโปรตีนบางชนิดเช่น granulin³ ที่มีฤทธิ์ในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของเซลล์ นอกจากนี้เซลล์รอบๆ ท่อน้ำดีที่ตอบสนองต่อกระบวนการอักเสบ มีการสร้าง mediator หลายชนิด อาจส่งผลกระตุ้นเซลล์เยื่อบุผิวท่อน้ำดีให้มีการแบ่งตัวอย่างต่อเนื่อง ร่วมกับการปล่อยอนุมูลอิสระจากการอักเสบที่มีผลโดยตรงต่อการทำลายดีเอ็นเอ^{4, 5} ซึ่งก่อให้เกิดกลายพันธุ์ได้ในที่สุด เซลล์ที่กลายพันธุ์จะมีการแสดงออกยีนที่ผิดปกติไป โดยมีการกระตุ้นยีนในกลุ่ม oncoprotein เช่น c-Ski⁶ และ กลุ่ม kinases ให้มีการแสดงออกมากขึ้น^{7, 8} เซลล์มะเร็งจะมีความสามารถในการแบ่งตัวมากกว่าเซลล์ปกติ โดยมีการสร้าง growth factor และ cytokine เอง มากระตุ้นผ่าน receptor บนผิวเซลล์ เช่น receptor tyrosine kinase (RTK)⁹ การกระตุ้นเป็นได้ทั้งแบบ autocrine และ paracrine เช่น วิถีของ Ras¹⁰, Protein kinase แบบต่างๆ^{7, 11}, PI3K/Akt¹², COX-2^{13, 14} และ Wnt/ β -catenin¹⁵ เป็นต้น นอกจากนี้เซลล์มะเร็งสามารถเจริญเติบโตได้โดยไม่ต้องอาศัยการกระตุ้นจาก mediator ใดๆ แต่มีการกระตุ้นการทำงานของ receptor บนผิวเซลล์ได้เอง เช่น วิถีของ ErbB-2¹⁴

การหลบหลีกตัวยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ (Evading growth suppression)

การทำงานของ tumor suppressor ในเซลล์มะเร็งพบว่ามักจะถูกยับยั้ง สาเหตุอาจเกิดจากการกลายพันธุ์หรือเกิด DNA methylation ผลก็คือไม่พบการแสดงออกของยีน พบว่าในมะเร็งท่อน้ำดีมียีนในกลุ่ม tumor suppressor ที่กลายพันธุ์ได้แก่ TP53¹⁶ และ กลุ่มยีนที่เกิด promoter methylation¹⁷ เช่น RASSF1A, p15INK4b, p16INK4a,

APC, E-cadherin/CDH1, p14(ARF), p73, MGMT, hMHL1, GSTP, RAR-beta และ DAPK เป็นต้น การศึกษาโดย Wu และคณะ¹⁸ ยังพบว่ากลุ่มยีนที่เป็น tumor suppressor จำนวนหลายชนิดมีระดับที่ลดลงในเนื้อเยื่อมะเร็งท่อน้ำดีของหนูแฮมสเตอร์ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นมะเร็งท่อน้ำดีด้วยพยาธิใบไม้ตับ Ov และสารก่อมะเร็ง N-nitrosodimethylamine เช่น inter-alpha trypsin inhibitor, heavy chain 1 (Ith1), Aminoacylase1 (Acy1), succinate dehydrogenase complex subunit B และ protein tyrosine phosphatase receptor type D (Ptpd) เป็นต้น

การต่อต้านการตายของเซลล์ (Resisting cell death)

การเพิ่มปริมาณของ anti-apoptotic protein พบได้ในเนื้อเยื่อมะเร็งท่อน้ำดี โดยพบว่ามี การสร้าง anti-apoptotic factors ได้แก่ Bcl-XL และ Mcl-1 มากขึ้น¹⁹ ทำให้กีดขวางการตายของเซลล์แบบ apoptosis นอกจากนี้ยังพบว่ากระบวนการตายแบบ autophagy มีบทบาททั้งการตายและการอยู่รอดของเซลล์มะเร็งปกติ เมื่อมีการกระตุ้นวิถี autophagy เช่น ภาวะขาดอาหาร ภาวะเครียด หรือสารเคมี หากตัวกระตุ้นแรงพอก็สามารถทำให้เซลล์มะเร็งตายด้วย autophagy โดยจะเกิดการย่อยออร์แกเนลล์ภายในเซลล์จนกระทั่งเซลล์ตาย แต่หากตัวกระตุ้นมีความแรงไม่พอ เซลล์ที่เข้าสู่กระบวนการ autophagy จะดำรงชีพได้ด้วยการผลิตพลังงานจากสารชีวโมเลกุลที่ถูกย่อยภายในเซลล์ ทำให้เซลล์มีชีวิตรอดอยู่และสามารถหลบหลีกการตายได้ ปกติในเซลล์มะเร็งที่มีการกระตุ้นเพื่ออยู่รอดในวิถี PI3K/mTOR จะสามารถยับยั้งการทำงานของวิถี autophagy แต่เมื่อไรก็ตามถ้าการทำงานของ PI3K/mTOR ลดระดับลง เช่น ถูกยับยั้งด้วยยากกลุ่ม mTOR inhibitor หรือ PI3K inhibitor กระบวนการ autophagy จะถูกกระตุ้นซึ่งอาจส่งผลให้เซลล์มะเร็งตายได้ การศึกษาโดย Dong และคณะ²⁰ พบว่าผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีที่มีระดับการแสดงออกของยีนในวิถี autophagy ได้แก่ Beclin-1 ลดลงในเนื้อเยื่อมะเร็งจะสัมพันธ์กับอัตราการรอดชีพที่สั้นลงและมีการแพร่กระจายสู่ต่อมน้ำเหลืองได้มากกว่าผู้ป่วยที่มีระดับของ Beclin-1 สูง

ความสามารถในการแบ่งตัวแบบไม่มีขีดจำกัด (Enabling replicative immortality)

เซลล์มะเร็งมีความสามารถในการแบ่งตัวแบบไม่มีขีดจำกัด สามารถหลบหลีกกระบวนการแก่หรือชรา (cellular senescence) และเข้าสู่วัฏจักรการแบ่งเซลล์ได้อย่างต่อเนื่องตลอดเวลา และพบว่าส่วนของ telomere ของโครโมโซมของเซลล์มะเร็งจะไม่หดสั้นลงซึ่งส่งผลให้เซลล์ไม่มีอายุขัยกลไกในระดับโมเลกุลที่ทำให้เซลล์มะเร็งแบ่งตัวได้ไม่หยุด

เกี่ยวข้องกับการทำงานของเอนไซม์ telomerase ที่ทำหน้าที่เติมปลายของโครโมโซมที่จำลองขึ้นใหม่ให้มีความยาวคงที่ ไม่มีการหดสั้นของทีโลเมียร์ การศึกษาของ Udomchaiprasertkul และคณะ²¹ ได้ตรวจพบเอนไซม์ telomerase reverse transcriptase (hTERT) ในเนื้อเยื่อมะเร็งท่อน้ำดีบ่งบอกว่าเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีสามารถแบ่งตัวโดยไม่มีขีดจำกัดได้

การกระตุ้นกระบวนการสร้างเส้นเลือดใหม่ (Inducing angiogenesis)

เนื้อเยื่อมะเร็งต้องการสารอาหารและออกซิเจน ทั้งยังต้องการกำจัดของเสียเช่นเดียวกับเนื้อเยื่อปกติ ก่อนมะเร็งเมื่อมีขนาดใหญ่ขึ้น มักแพร่กระจายไปยังเนื้อเยื่อข้างเคียง เซลล์มะเร็งจะมีการเพิ่มระดับการแสดงออกของยีน thymidine phosphorylase (TP)^{22, 23} และ ยีน vascular endothelial growth factor (VEGF)²⁴ ซึ่งเป็นโปรตีนกระตุ้นการสร้างเส้นเลือดใหม่ พบว่ากระบวนการสร้างเส้นเลือดใหม่สัมพันธ์กับระยะแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ยังพบว่าในเนื้อเยื่อมะเร็งท่อน้ำดีมีการแสดงออกของยีน HIF1-alpha เพิ่มขึ้นบ่งบอกว่ามีภาวะพร่องออกซิเจนซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งของการกระตุ้นการสร้างเส้นเลือดใหม่ได้

การกระตุ้นกระบวนการบุกรุกและแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง (Activating invasion and metastasis)

มีการศึกษาเป็นอย่างมากเกี่ยวกับกลไกการบุกรุกและแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี นักวิจัยพบว่าเซลล์มะเร็งสามารถสร้างโปรตีนที่ช่วยให้เซลล์มะเร็งสามารถบุกรุกและแพร่กระจายไปยังเนื้อเยื่อข้างเคียงโดยการย่อย extracellular matrix ได้หลายชนิด ได้แก่ เอนไซม์กลุ่ม matrix metalloproteinases (MMPs) เช่น MMP-2, MMP-9¹⁰ และ urokinase plasminogen activator (uPAR)²⁵ โดยพบว่ามีความสัมพันธ์กับระยะแพร่กระจายอย่างมีนัยสำคัญ ผลการศึกษาโดย นิษณา นามวาท และคณะ¹⁰ ยังพบว่าเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีมีการแสดงออกที่ลดลงของยีน reversion-inducing-cysteine-rich protein with Kazal motifs (RECK) ที่ทำหน้าที่ยับยั้งการทำงานของ MMP การศึกษาโดย Techasen และคณะ⁸ พบว่าโปรตีน myristoylated alanine-rich C kinase substrate (MARCKS) ซึ่งเกี่ยวข้องกับกระบวนการ actin depolymerization เมื่อถูกกระตุ้นผ่านทางวิถี protein kinase C จะเติมหมู่ฟอสเฟตกลายเป็น p-MARCKS ทำหน้าที่ช่วยให้เซลล์มะเร็งมีการบุกรุกและแพร่กระจายได้ดีขึ้น นอกจากนี้กระบวนการ epithelial-mesenchymal transition (EMT) เป็นกระบวนการที่เซลล์

เยื่อเนื้อมีรูปร่างและหน้าที่เปลี่ยนไป ทำให้มีความสามารถในการบุกรุกและแพร่กระจายได้ นักวิจัยพบว่าในมะเร็งท่อน้ำดีมีการแสดงออกของยีน Snail ซึ่งเป็น transcription factor ควบคุมกระบวนการ EMT ในระดับที่สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ^{26, 27} โดยทั่วไปพบว่าในเนื้อเยื่อมะเร็งมักกระตุ้นกระบวนการอักเสบอย่างต่อเนื่องได้ โดยเฉพาะในเนื้อเยื่อมะเร็งท่อน้ำดีพบว่าเซลล์มะเร็งสามารถสร้างปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการอักเสบ เช่น เอนไซม์ cyclooxygenase-2 (COX-2), iNOS, transcription factor NF- κ B²⁸ และ ไมโครอาร์เอ็นเอ miR-21²⁹ เป็นต้น ซึ่งปัจจัยเหล่านี้ส่งเสริมการเจริญเติบโตและการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีได้

สภาวะแวดล้อมของเซลล์มะเร็ง (The tumor environment)

องค์ประกอบที่เป็นบริบทของเซลล์ (microenvironment) ในเนื้อเยื่อต่างๆ เป็นระบบที่ซับซ้อนประกอบด้วยเซลล์หลายชนิดและองค์ประกอบที่ไม่ใช่เซลล์ โดยทำหน้าที่เป็นโครงสร้างค้ำจุน (structural supporting) และมีบทบาทในการติดต่อสื่อสารระหว่างเซลล์ (cell-cell communication) เพื่อรักษาสถิตของเนื้อเยื่อ (tissue homeostasis) รวมถึงมีส่วนเกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันอีกด้วย ดังนั้น หากเนื้อเยื่อใดๆ เกิดความผิดปกติโดยมีเซลล์ปกติเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์มะเร็ง เราจะเรียกองค์ประกอบในเนื้อเยื่อที่เป็นบริบทของเซลล์มะเร็งนั้นและมีอิทธิพลต่อเซลล์มะเร็งซึ่งอาจส่งเสริมหรือยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งว่า tumor microenvironment โดยเซลล์ที่อาศัยอยู่รอบๆ เซลล์มะเร็ง จะหลั่งสารพวก cytokine, chemokine, growth factor และ protease enzyme เป็นต้น ซึ่งมีบทบาทสำคัญในระยะก้าวหน้า (progression) และระยะแพร่กระจาย (metastasis) ของเซลล์มะเร็ง การวิจัยของ Subimerb และคณะ³⁰ แสดงให้เห็นว่า ในเนื้อเยื่อมะเร็งท่อน้ำดีของผู้ป่วยพบเซลล์แมโครฟาจชนิด M2 (M2 macrophage) ในระดับสูงและสัมพันธ์กับการพยากรณ์โรคที่ไม่ดีและจากผลการศึกษาของ Chuaysri และคณะ³¹ พบว่าในเนื้อเยื่อมะเร็งท่อน้ำดีมีการแสดงออกของยีน α -SMA ในระดับสูง ซึ่งแสดงถึงชนิดของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ที่มีการเปลี่ยนแปลงไปจากภาวะปกติซึ่งเราเรียกไฟโบรบลาสต์นี้ว่า cancer associated fibroblast (CAF) และสัมพันธ์กับการพยากรณ์โรคที่ไม่ดี นอกจากนี้พบว่าหากยับยั้งการทำงานของโปรตีน periostin ที่หลั่งโดยเซลล์ CAF สามารถยับยั้งการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งได้³² ดังนั้น tumor microenvironment จึงกลายมาเป็นเป้าหมายสำคัญในการรักษามะเร็ง³³ นอกจากนี้ยังมีข้อมูลชี้ให้เห็นว่า tumor microenvironment มีความเกี่ยวข้องกับกระบวนการก่อมะเร็งโดยเฉพาะมะเร็งที่มีความ

สัมพันธ์กับการอักเสบ (inflammation) กล่าวคือ เมื่อเซลล์ได้รับบาดเจ็บหรือติดเชื้อ เนื้อเยื่อบริเวณนั้นจะเกิดกระบวนการอักเสบและซ่อมแซมขึ้นเพื่อกำจัดสาเหตุของการอักเสบและกลับเข้าสู่ภาวะสมดุลได้ ซึ่งกระบวนการนี้เกิดขึ้นอย่างเป็นลำดับขั้นตอนและมีระเบียบ อย่างไรก็ตามหากกระบวนการดังกล่าวเกิดขึ้นอย่างไม่เป็นระเบียบโดยเฉพาะในระหว่างเกิดการกระบวนการอักเสบแบบเรื้อรัง และทำให้ไม่สามารถกลับเข้าสู่ภาวะสมดุลได้อีกก็จะนำไปสู่กระบวนการก่อมะเร็ง จึงอาจกล่าวได้ว่า “มะเร็งคือแผลที่รักษาไม่หาย - tumors are wounds that never heal”³⁴ ดังนั้น tumor microenvironment นอกจากมีบทบาทสำคัญในการพัฒนา และการแพร่กระจายของมะเร็งแล้ว ยังมีบทบาทสำคัญในกระบวนการก่อมะเร็งอีกด้วยและไม่ได้เป็นเพียงเป้าหมายสำคัญเฉพาะในการรักษามะเร็งเท่านั้น แต่ยังเป็นเป้าหมายสำคัญในการป้องกันมะเร็งอีกด้วย

บทบาทของไมโครอาร์เอ็นเอในมะเร็งท่อน้ำดี

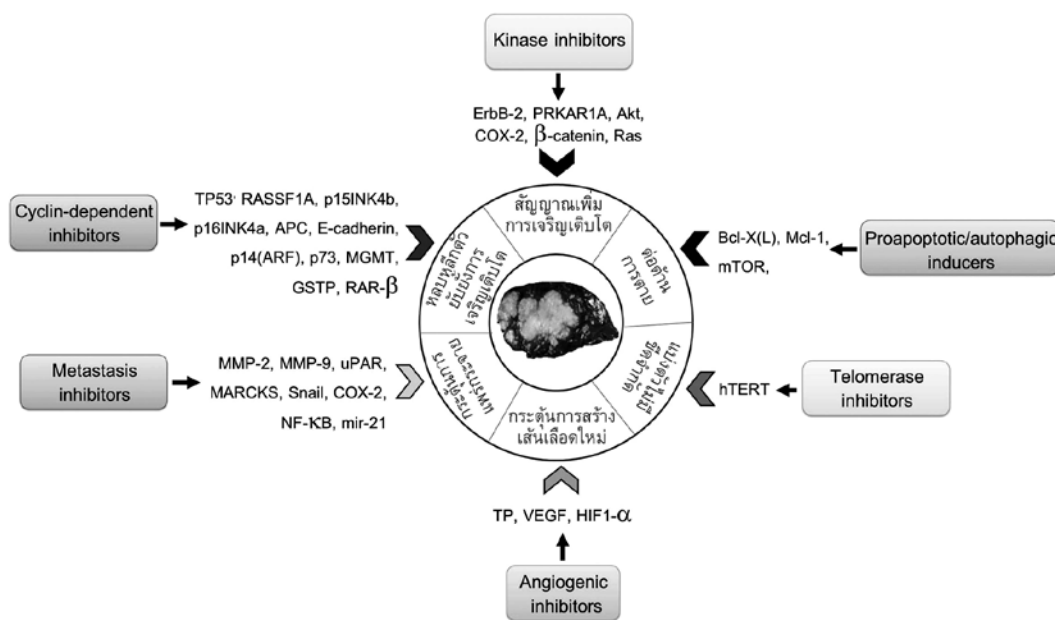
ไมโครอาร์เอ็นเอ (microRNA) เป็นโมเลกุลอาร์เอ็นเอสายสั้นๆ ขนาดประมาณ 22 นิวคลีโอไทด์ มีโครงสร้างเป็นอาร์เอ็นเอสายเดี่ยว สร้างจากยีนกำหนดการสร้าง (microRNA gene) หรือบริเวณที่ไม่แปลรหัสเป็นโปรตีน (intercalated region) ไมโครอาร์เอ็นเอทำหน้าที่สำคัญในการควบคุมการแสดงออกของยีนโดยจับกับ mRNA เป้าหมายทางด้านปลาย 3' หรือ 5' เป็นผลทำให้เกิด mRNA เป้าหมายถูกย่อยสลายไป³⁵ ส่งผลให้เกิดการยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน

ในปัจจุบันการค้นพบไมโครอาร์เอ็นเอในเซลล์มะเร็งหลายชนิด มีหน้าที่ควบคุมการสังเคราะห์โปรตีนภายในเซลล์มะเร็งซึ่งแตกต่างจากเซลล์ปกติ ทำให้นักวิทยาศาสตร์สนใจที่จะศึกษาแบบแผนการแสดงออกและการทำงานของไมโครอาร์เอ็นเอในโรคมะเร็ง ซึ่งทำให้ค้นพบไมโครอาร์เอ็นเอที่ใช้เป็นเป้าหมายในการป้องกัน รักษาและวินิจฉัยโรคได้ เช่น การศึกษาของ Selaru และคณะ²⁹พบว่า แบบแผนการแสดงออกของไมโครอาร์เอ็นเอในเนื้อเยื่อมะเร็งท่อน้ำดีของผู้ป่วยเปลี่ยนแปลงไปจากเนื้อเยื่อปกติโดยพบว่าไมโครอาร์เอ็นเอหลายชนิดที่เรียกว่า oncomir ได้แก่ miR-106a, miR106b, miR-107, miR-21, miR-93 และ miR-27a มีปริมาณเพิ่มขึ้นในเนื้อเยื่อมะเร็ง และยังพบว่า miR-21 มีการแสดงออกที่สูงในเนื้อเยื่อมะเร็งท่อน้ำดี โดย miR-21 มีบทบาทในกระบวนการเจริญเติบโตและการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งระดับของ miR-21 ที่เพิ่มสูงขึ้นมักสัมพันธ์กับกระบวนการอักเสบ ซึ่งพบทั่วไปในเนื้อเยื่อมะเร็งท่อน้ำดี นักวิจัยพบว่าการเหนี่ยวนำ anti-miR-21 เข้าไปในเซลล์เพาะเลี้ยงมะเร็ง

ท่อน้ำดีสามารถลดการเจริญเติบโตและการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งได้อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่ง miR-21 จะทำหน้าที่กดการสร้างโปรตีนที่ทำหน้าที่ยับยั้งการแพร่กระจาย (RECK) นอกจากนี้ยังพบว่า miR-21 มีบทบาทในกระบวนการดื้อยาเคมีบำบัดชนิด gemcitabine อีกด้วย³⁶ แต่กลไกยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด นอกจากนี้กลุ่มวิจัยของ Mott และคณะ³⁷ ได้พบว่าไมโครอาร์เอ็นเอชนิด miR-29 สามารถยับยั้งการทำงานของ Mcl-2 mRNA ซึ่งเป็น apoptotic protein ในเซลล์เพาะเลี้ยงมะเร็งท่อน้ำดีได้

การรักษาแบบมุ่งเป้า (Therapeutic targeting)

จากข้อมูลวิจัยที่รวบรวมได้ เห็นชัดว่าเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีมีการแสดงออกของยีนที่แตกต่างจากเซลล์ปกติ เมื่อทราบดังนี้แล้ว เราสามารถออกแบบโมเลกุลที่สามารถจับจำเพาะกับผลผลิตของยีนซึ่งได้แก่ โปรตีนหรือไมโครอาร์เอ็นเอเพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตและการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งได้ ในปัจจุบันยารักษาโรคมะเร็งที่จับจำเพาะกับ receptor tyrosine kinase (RTK) ได้ผลดีในการรักษาโรคมะเร็งหลายชนิด ซึ่งยาเหล่านี้จะนำมาใช้รักษาผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีได้ ข้อมูลจากการศึกษาของ Loilome และคณะ¹¹ พบว่ายีน protein kinase A regulatory subunit alpha (PRKAR1A) ซึ่งเป็น regulatory subunit ของ protein kinase A type I (PKAI) มีการแสดงออกที่เพิ่มสูงขึ้นในเนื้อเยื่อมะเร็งผู้ป่วยเมื่อเปรียบเทียบกับชิ้นเนื้อปกติ คณะผู้วิจัยได้แสดงให้เห็นถึงการยับยั้งการแสดงออกของยีน PRKAR1A โดยใช้ siRNA โดยมีผลทำให้ยับยั้งการเจริญเติบโตและกระตุ้นให้เกิดการตายของเซลล์เพาะเลี้ยงมะเร็งท่อน้ำดี นอกจากนี้การใช้ cAMP analogue หรือสารยับยั้งการทำงานของโปรตีน PKA ได้ส่งผลยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์เพาะเลี้ยงมะเร็งท่อน้ำดีในหลอดทดลองอย่างมีนัยสำคัญ และในปัจจุบันนี้คณะผู้วิจัยได้ศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับแบบแผนการกระตุ้นการทำงานของโปรตีนไคเนสชนิดต่างๆ ในเนื้อเยื่อและเซลล์เพาะเลี้ยงมะเร็งท่อน้ำดี รวมถึงการทดสอบฤทธิ์ของสารยับยั้งการทำงานของโปรตีนไคเนส มาใช้ในการรักษาโรคมะเร็งท่อน้ำดีโดยเน้นเฉพาะการทดสอบประสิทธิภาพของยาที่ได้รับการรับรองจากองค์การอาหารและยาให้นำมาใช้กับคนไข้โรคมะเร็ง และคาดหวังว่าจะสามารถนำยาที่ให้ผลดีในหลอดทดลองมาใช้กับคนไข้มะเร็งท่อน้ำดีได้จริงในอนาคตอันใกล้ การศึกษาดังกล่าวทั้งหมดจะเป็นการหาแนวทางใหม่ที่มีเป้าหมายเฉพาะในการรักษาซึ่งคาดว่าจะนำไปสู่การรักษามะเร็งท่อน้ำดีอย่างมีประสิทธิภาพรวมทั้งการป้องกันการเกิดซ้ำของผู้ป่วยได้ในอนาคต



รูปที่ 1 หน้าที่ของเซลล์มะเร็งที่ผิดปกติทั้งหมด 6 ประการชนิดของยีนที่ค้นพบในมะเร็งท่อน้ำดี และเป้าหมายในการรักษาแบบมุ่งเป้า

สรุป

ดังจะเห็นได้ว่า กระบวนการก่อมะเร็งท่อน้ำดีมีการแสดงออกของยีนที่มีบทบาทสำคัญในการช่วยให้เซลล์มะเร็งสามารถเพิ่มการเจริญเติบโต ต่อต้านการตาย แบ่งตัวแบบไม่มีขีดจำกัดกระตุ้นการสร้างเส้นเลือดใหม่ และกระตุ้นการบุกรุกและแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง (รูปที่ 1) องค์ความรู้ที่ได้จากการศึกษาเหล่านี้ ทำให้ทราบโมเลกุลสำคัญที่จะเป็นเป้าหมายของการรักษาแบบมุ่งเป้าได้ทั้งที่เป็นโมเลกุลของโปรตีนและไมโครอาร์เอ็นเอ การรักษาโรคมะเร็งด้วยยานอกจากจะสามารถฆ่าเซลล์มะเร็งให้ตายได้แล้ว ยังต้องมีฤทธิ์ในการยับยั้งการแพร่กระจาย และยังสามารถยับยั้งกระบวนการอักเสบและลดการทำงานของเซลล์ที่อาศัยอยู่รอบๆ เนื้อเยื่อมะเร็งอีกด้วย จึงจะมีประสิทธิภาพสูงสุดในการรักษาโรคมะเร็งท่อน้ำดีได้

เอกสารอ้างอิง

- Loilome W, Yongvanit P. Expression and function of candidate genes involved in cholangiocarcinoma. Srinagarind Med J 2005; 20:159-63
- Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. Cell 2011; 144:646-74.
- Smout MJ, Mulvenna JP, Jones MK, Loukas A. Expression, refolding and purification of Ov-GRN-1, a granulin-like growth factor from the carcinogenic liver fluke, that causes proliferation of mammalian host cells. Protein Expr Purif 2011; 79:263-70.
- Dechakhamphu S, Pinlaor S, Sithithaworn P, Bartsch H, Yongvanit P. Accumulation of miscoding etheno-DNA adducts and highly expressed DNA repair during liver fluke-induced cholangiocarcinogenesis in hamsters. Mut Res 2010; 691:9-16.
- Kawanishi S, Hiraku Y, Pinlaor S, Ma N. Oxidative and nitrate DNA damage in animals and patients with inflammatory diseases in relation to inflammation-related carcinogenesis. Biol Chem 2006; 387:365-72.
- Boonmars T, Wu Z, Boonjaruspinyo S, Puapairoj A, Kaewsamut B, Nagano I, et al. Involvement of c-Ski oncoprotein in carcinogenesis of cholangiocarcinoma induced by Opisthorchis viverrini and N-nitrosodimethylamine. Pathol Oncol Res 2011; 17:219-27.
- Loilome W, Yongvanit P, Wongkham C, Tepsiri N, Sripan B, Sithithaworn P, et al. Altered gene expression in Opisthorchis viverrini-associated cholangiocarcinoma in hamster model. Mol Carcinog 2006; 45:279-87.
- Techasen A, Loilome W, Namwat N, Takahashi E, Sugihara E, Puapairoj A, et al. Myristoylated alanine-rich C kinase substrate phosphorylation promotes cholangiocarcinoma cell migration and metastasis via the protein kinase C-dependent pathway. Cancer Sci 2010; 101:658-65.
- Sirica AE, Lai GH, Endo K, Zhang Z, Yoon BI. Cyclooxygenase-2 and ERBB-2 in cholangiocarcinoma: potential therapeutic targets. Semin Liver Dis 2002; 22:303-13.

10. Namwat N, Puetkasichonpasutha J, Loilome W, Yongvanit P, Techasen A, Puapairoj A, et al. Downregulation of reversion-inducing-cysteine-rich protein with Kazal motifs (RECK) is associated with enhanced expression of matrix metalloproteinases and cholangiocarcinoma metastases. *J Gastroenterol* 2011; 46:664-75.
11. Loilome W, Juntana S, Namwat N, Bhudhisawasdi V, Puapairoj A, Sripa B, et al. PRKAR1A is overexpressed and represents a possible therapeutic target in human cholangiocarcinoma. *Int J Cancer* 2011; 129:34-44.
12. Javle MM, Yu J, Khoury T, Chadha KS, Iyer RV, Foster J, et al. Akt expression may predict favorable prognosis in cholangiocarcinoma. *J Gastroenterol Hepatol* 2006; 21:1744-51.
13. Chariyalertsak S, Sirikulchayanonta V, Mayer D, Kopp-Schneider A, Furstenberger G, Marks F, et al. Aberrant cyclooxygenase isozyme expression in human intrahepatic cholangiocarcinoma. *Gut* 2001; 48:80-6.
14. Endo K, Yoon BI, Pairojkul C, Demetris AJ, Sirica AE. ERBB-2 overexpression and cyclooxygenase-2 up-regulation in human cholangiocarcinoma and risk conditions. *Hepatology* 2002; 36:439-50.
15. Lim K, Han C, Xu L, Isse K, Demetris AJ, Wu T. Cyclooxygenase-2-derived prostaglandin E2 activates beta-catenin in human cholangiocarcinoma cells: evidence for inhibition of these signaling pathways by omega 3 polyunsaturated fatty acids. *Cancer Res* 2008; 68:553-60.
16. Khan SA, Miras A, Pelling M, Taylor-Robinson SD. Cholangiocarcinoma and its management. *Gut* 2007; 56:1755-6.
17. Yang B, House MG, Guo M, Herman JG, Clark DP. Promoter methylation profiles of tumor suppressor genes in intrahepatic and extrahepatic cholangiocarcinoma. *Modern Pathol* 2005; 18:412-20.
18. Wu Z, Boonmars T, Boonjaraspinyo S, Nagano I, Pinlaor S, Puapairoj A, et al. Candidate genes involving in tumorigenesis of cholangiocarcinoma induced by *Opisthorchis viverrini* infection. *Parasitol Res* 2011; 109:657-73.
19. Okaro AC, Deery AR, Hutchins RR, Davidson BR. The expression of antiapoptotic proteins Bcl-2, Bcl-X(L), and Mcl-1 in benign, dysplastic, and malignant biliary epithelium. *J Clin Pathol* 2001; 54:927-32.
20. Dong LW, Hou YJ, Tan YX, Tang L, Pan YF, Wang M, et al. Prognostic significance of Beclin 1 in intrahepatic cholangiocellular carcinoma. *Autophagy* 2011; 7:1222-9.
21. Udomchaiprasertkul W, Narong S, Kongsema M, Leelawat K. Detection of hTERT mRNA in gastrointestinal tract cancer specimens. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2008; 39:324-7.
22. Aishima S, Taguchi K, Sugimachi K, Asayama Y, Nishi H, Shimada M, et al. The role of thymidine phosphorylase and thrombospondin-1 in angiogenesis and progression of intrahepatic cholangiocarcinoma. *Int J Surg Pathol* 2002; 10:47-56.
23. Thanasai J, Limpaboon T, Jearanaikoon P, Sripa B, Pairojkul C, Tantimavanich S, et al. Effects of thymidine phosphorylase on tumor aggressiveness and 5-fluorouracil sensitivity in cholangiocarcinoma. *World J Gastroenterol* 2010; 16:1631-8.
24. Yoshikawa D, Ojima H, Iwasaki M, Hiraoka N, Kosuge T, Kasai S, et al. Clinicopathological and prognostic significance of EGFR, VEGF, and HER2 expression in cholangiocarcinoma. *Br J Cancer* 2008; 98:418-25.
25. Thummarati P, Wijitburaphat S, Prasopthum A, Menakongka A, Sripa B, Tohtong R, et al. High level of urokinase plasminogen activator contributes to cholangiocarcinoma invasion and metastasis. *World J Gastroenterol* 2012; 18:244-50.
26. Sato Y, Harada K, Itatsu K, Ikeda H, Kakuda Y, Shimomura S, et al. Epithelial-mesenchymal transition induced by transforming growth factor-1/Snail activation aggravates invasive growth of cholangiocarcinoma. *Am J Pathol* 2010; 177:141-52.
27. Techasen A, Namwat N, Loilome W, Bungkanjana P, Khuntikeo N, Puapairoj A, et al. Tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) stimulates the epithelial-mesenchymal transition regulator Snail in cholangiocarcinoma. *Med Oncol* 2012.
28. Prakobwong S, Khoontawad J, Yongvanit P, Pairojkul C, Hiraku Y, Sithithaworn P, et al. Curcumin decreases cholangiocarcinogenesis in hamsters by suppressing inflammation-mediated molecular events related to multistep carcinogenesis. *Int J Cancer* 2011; 129:88-100.
29. Selaru FM, Olaru AV, Kan T, David S, Cheng Y, Mori Y, et al. MicroRNA-21 is overexpressed in human cholangiocarcinoma and regulates programmed cell death 4 and tissue inhibitor of metalloproteinase 3. *Hepatology* 2009; 49:1595-601.
30. Subimerb C, Pinlaor S, Khuntikeo N, Leelayuwat C, Morris A, McGrath MS, et al. Tissue invasive macrophage density is correlated with prognosis in cholangiocarcinoma. *Mol Med Report* 2010; 3:597-605.
31. Chuaysri C, Thuwajit P, Puapairoj A, Chau-In S, Suthiphongchai T, Thuwajit C. Alpha-smooth muscle actin-positive fibroblasts promote biliary cell proliferation and correlate with poor survival in cholangiocarcinoma. *Oncol Rep* 2009; 21:957-69.

32. Utispan K, Thuwajit P, Abiko Y, Charngkaew K, Paupairoj A, Chau-in S, et al. Gene expression profiling of cholangiocarcinoma-derived fibroblast reveals alterations related to tumor progression and indicates periostin as a poor prognostic marker. *Mol Cancer* 2010; 9:13.
33. Joyce JA. Therapeutic targeting of the tumor microenvironment. *Cancer Cell* 2005; 7:513-20.
34. Albini A, Sporn MB. The tumour microenvironment as a target for chemoprevention. *Nat Rev Cancer* 2007; 7:139-47.
35. He L, Hannon GJ. MicroRNAs: small RNAs with a big role in gene regulation. *Nat Rev Genet* 2004; 5:522-31.
36. Meng F, Henson R, Lang M, Wehbe H, Maheshwari S, Mendell JT, et al. Involvement of human micro-RNA in growth and response to chemotherapy in human cholangiocarcinoma cell lines. *Gastroenterology* 2006; 130:2113-29.
37. Mott JL, Kobayashi S, Bronk SF, Gores GJ. mir-29 regulates Mcl-1 protein expression and apoptosis. *Oncogene* 2007; 26:6133-40.

