

การควบคุมเหนือพันธุกรรมในมะเร็งท่อน้ำดี

ฤทัยรัตน์ ศรีรักษา^{1,2}, เต็มดวง ลิ้มไพบูลย์^{1,2*}

¹ศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
จังหวัดขอนแก่น 40002

²ศูนย์วิจัยพยาธิใบไม้ตับและมะเร็งท่อน้ำดี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น 40002

Epigenetics in Cholangiocarcinoma

Ruethairat Sriraksa^{1,2}, Temduang Limpai boon^{1,2*}

¹Centre for Research and Development of Medical Diagnostic Laboratories, Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002, Thailand

²Liver Fluke and Cholangiocarcinoma Research Center, Faculty of Medicine, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002, Thailand

ถึงแม้ว่าความผิดปกติทางพันธุกรรม (genetics) ที่เกี่ยวข้องกับพยาธิสภาพของมะเร็งท่อน้ำดีจะมีรายงานกันอย่างกว้างขวาง แต่อย่างไรก็ตามในปัจจุบันความผิดปกติในระดับเหนือพันธุกรรม (epigenetics) ก็ได้รับความสนใจและมีการศึกษาเพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ เช่นเดียวกับที่พบรายงานในโรคมะเร็งชนิดอื่น โดยความผิดปกติดังกล่าวที่พบในมะเร็งท่อน้ำดี ได้แก่ โปรโมเตอร์ไฮเปอร์เมทิลเลชัน (promoter hypermethylation) โปรโมเตอร์ไฮโปเมทิลเลชัน (hypomethylation) ความผิดปกติของการดัดแปลงโปรตีนฮิสโตน (histone modification) และการแสดงออกของไมโครอาร์เอ็นเอ (microRNA) ในระดับสูงหรือต่ำกว่าเซลล์ปกติ ซึ่งในบทความปริทัศน์ฉบับนี้ คณะผู้เขียนได้แสดงให้เห็นถึงบทบาทของกระบวนการควบคุมเหนือพันธุกรรมในภาวะปกติและมะเร็ง โดยเฉพาะในมะเร็งท่อน้ำดี ทั้งนี้เพื่อชี้ให้เห็นความสำคัญของการศึกษาและพัฒนาหาตัวบ่งชี้มะเร็งที่สามารถวินิจฉัยในมะเร็งท่อน้ำดีในระยะแรก รวมทั้งตัวบ่งชี้มะเร็งที่สามารถใช้เพื่อพยากรณ์โรคและการตอบสนองต่อการรักษาทางเคมีบำบัดได้ นอกจากนี้คณะผู้เขียนยังได้ให้ข้อมูลเกี่ยวกับยาหรือสารที่ใช้ในการยับยั้งความผิดปกติของกระบวนการควบคุมเหนือพันธุกรรม เพื่อจะได้เป็นแนวทางในการพัฒนาเป็นยาเคมีบำบัดใหม่ๆ หรือใช้ร่วมกับยาเคมีบำบัดมาตรฐานสำหรับรักษาผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีต่อไป

Although genetic defects have been widely documented the association to pathogenesis of cholangiocarcinoma (CCA), epigenetic aberrations have also been focused in CCA. Those epigenetic deregulations include promoter hypermethylation, hypomethylation, histone modifications, and up- or down-regulation of microRNAs. In this review, we summarize the role of epigenetic mechanisms which regulate normal and cancer cells, especially in CCA. This information could indicate that the study and development of new epigenetic biomarkers for early detection and prediction are necessary in CCA. In addition, an application of widely-used demethylating agents and histone deacetylase inhibitors has been also discussed to provide a potential chemotherapeutic strategy and effectiveness for CCA.

Keywords: epigenetics, cholangiocarcinoma, DNA methylation, histone modifications, microRNAs, cancers

*Corresponding Author: temduang@kku.ac.th

คำสำคัญ: การควบคุมเหนือพันธุกรรม, มะเร็งท่อน้ำดี, ดีเอ็นเอเมทิลเลชัน, การดัดแปลงโปรตีนฮิสโตน, ไมโครอาร์เอ็นเอ, มะเร็ง

สรินกรินทร์เวชสาร 2555; 27 ฉบับพิเศษ (มะเร็งท่อน้ำดี): 381-8 • Srinagarind Med J 2012; 27 suppl (Cholangiocarcinoma): 381-8

บทนำ

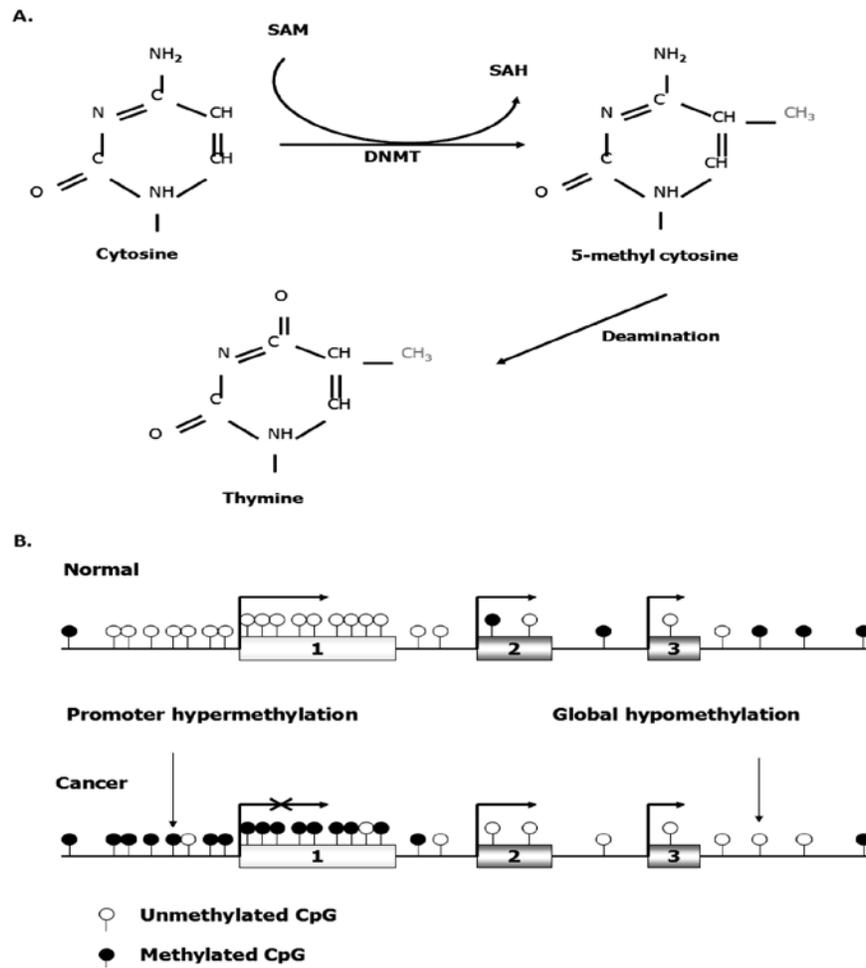
ดังเป็นที่ยอมรับกันอย่างแพร่หลายว่า มะเร็งเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของยีนที่อยู่ภายในเซลล์ (cancer genetics) แต่ในปัจจุบันพบว่า นอกเหนือจากความผิดปกติที่เกิดขึ้นกับยีนอันเนื่องมาจากการกลายพันธุ์ (mutation) การเคลื่อนย้ายโครโมโซม (chromosomal translocation) หรือการเปลี่ยนแปลงจำนวนยีน (gene amplification) แล้ว ยังพบว่าเซลล์มะเร็งถูกกำหนดโดยรูปแบบการแสดงออกของยีนต่างๆ โดยไม่จำเป็นต้องมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของยีน การควบคุมการแสดงออกของยีนดังกล่าวนี้ เรียกว่า “กระบวนการควบคุมเหนือพันธุกรรม” (epigenetic) ซึ่งเป็นกระบวนการที่สามารถถ่ายทอดไปสู่เซลล์ลูกหลานได้เช่นเดียวกับกระบวนการถ่ายทอดทางพันธุกรรมอื่นๆ กลไกการควบคุมเหนือพันธุกรรมที่สำคัญของเซลล์ ได้แก่ ดีเอ็นเอเมทิลเลชัน (DNA methylation) การดัดแปลงโปรตีนฮิสโตน (histone modifications) และ ไมโครอาร์เอ็นเอ (microRNAs หรือ miRNAs)¹⁻³

ดีเอ็นเอเมทิลเลชัน (DNA methylation)

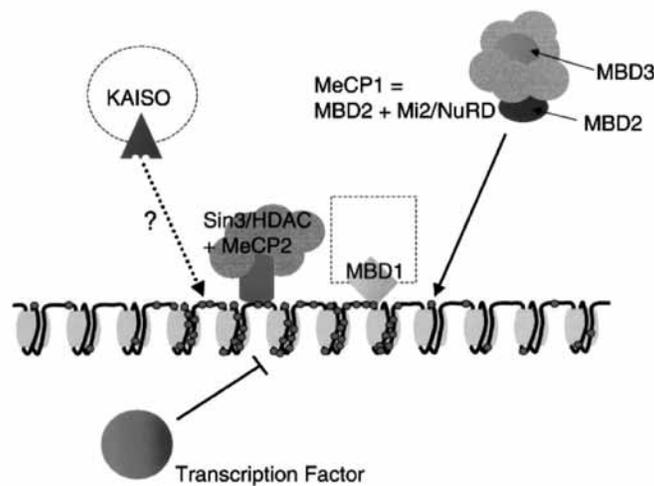
ดีเอ็นเอเมทิลเลชันถือว่าเป็นกระบวนการควบคุมเหนือพันธุกรรมที่มีการศึกษากันมากที่สุดในปัจจุบัน โดยดีเอ็นเอเมทิลเลชันเป็นการเติมหมู่เมทิล (-CH₃) ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 5 ของเบสไซโทซีน (cytosine; C) โดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ดีเอ็นเอเมทิลทรานสเฟอเรส (DNA methyltransferase; DNMT) ซึ่งจะเคลื่อนย้ายหมู่เมทิลจาก S-adenosyl-methionine (SAM) ได้เป็น 5-เมทิลไซโทซีน (5-methyl cytosine) และ S-adenosyl homocysteine (SAH)¹ (รูปที่ 1-A) ในเซลล์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม โดยส่วนใหญ่แล้ว ดีเอ็นเอเมทิลเลชันมักเกิดกับไซโทซีนที่ตามด้วยกวานีน (guanine; G) หรือที่เรียกว่า ‘CpG dinucleotides’ แต่อย่างไรก็ตามในปัจจุบันยังพบว่าดีเอ็นเอเมทิลเลชันของไซโทซีนที่ไม่ใช่ CpG dinucleotides ได้เช่นเดียวกัน ดังที่พบในลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เป็น CpHpG และ CpHpH (เมื่อ H = adenosine; A, thymine; T หรือ C) ซึ่งส่วนใหญ่จะพบได้ในเซลล์ต้นกำเนิดของตัวอ่อน (embryonic stem cell)⁴ ในมนุษย์มีเอนไซม์ DNMT ที่สำคัญแบ่งออกเป็น 3 ชนิด ได้แก่ DNMT1, DNMT3a และ DNMT3b ในขณะที่มีการถ่ายแบบของสายดีเอ็นเอ (DNA replication) DNMT1 จะทำหน้าที่รักษารูปแบบของ

ดีเอ็นเอเมทิลเลชันให้เหมือนกับของสายดีเอ็นเอแม่แบบ ดังนั้น DNMT1 จึงเป็น maintenance methyltransferase ในขณะที่ DNMT3a และ DNMT3b จะทำหน้าที่เติมหมู่เมทิลให้กับสายดีเอ็นเอที่สูญเสียหมู่เมทิลไปในระหว่างกระบวนการถ่ายแบบของสายดีเอ็นเอ ดังนั้น DNMT3a และ DNMT3b จึงจัดเป็น de-novo methyltransferase⁵ ในจีโนมของมนุษย์พบว่ามีจำนวนของ CpG dinucleotides ค่อนข้างน้อย ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากไซโทซีนที่ถูกเติมหมู่เมทิลที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 5 มักถูกกำจัดหมู่เอมีน (deamination) ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 4 ทำให้ได้เบสไทมีนแทน (รูปที่ 1-A) แต่มักพบ CpG dinucleotides ค่อนข้างหนาแน่นในบริเวณที่เรียกว่า ‘CpG-island’ ซึ่งมักเกี่ยวข้องกับโปรโมเตอร์ของยีน ในมนุษย์พบว่ามี CpG-island ประมาณร้อยละ 60 ในบริเวณโปรโมเตอร์ของยีนทั้งหมด ในเซลล์ปกติ CpG-island ของยีนไม่เกิดเมทิลเลชัน (unmethylation) แต่ CpG dinucleotides ในบริเวณอื่นในจีโนมจะถูกเมทิลเลชัน (global hypermethylation) ในทางตรงกันข้ามกับเซลล์มะเร็ง ซึ่งจะพบดีเอ็นเอเมทิลเลชันสูงบริเวณ CpG-island ที่อยู่ในโปรโมเตอร์ของยีน เรียกว่า ‘promoter hypermethylation’ แต่กลับพบว่าในจีโนมมีการลดลงหรือสูญเสียสถานะเมทิลเลชันไปเรียกว่า ‘global hypomethylation’¹ (รูปที่ 1-B)

ภาวะ promoter hypermethylation ของยีนมีบทบาทสำคัญเกี่ยวข้องกับการยับยั้งกระบวนการถอดรหัสของยีน (transcriptional silencing) ซึ่งมีผลทำให้ยีนดังกล่าวแสดงออก (gene silencing) ได้ เมื่อเกิดภาวะไฮเปอร์เมทิลเลชันบริเวณโปรโมเตอร์จะเป็นการกระตุ้นทำให้ตัวยับยั้งการถอดรหัสของยีนที่จำเพาะ (specific gene repressor) โดยเฉพาะอย่างยิ่ง methyl-CpG-binding proteins (MBD1, MBD2, MBD3, MeCP2 และ KAISO) เข้ามาจับกับ 5-methyl cytosine ซึ่งจะเป็นการขัดขวาง transcription factor ต่างๆ ไม่ให้เข้าไปจับกับบริเวณโปรโมเตอร์ของยีนดังกล่าวได้ นอกจากนี้ methyl-CpG-binding protein ที่เข้าจับกับโปรโมเตอร์ของยีน ยังสามารถกระตุ้นและชักนำให้เอนไซม์ histone deacetylase (HDAC) ซึ่งทำให้เกิดการดัดแปลงโปรตีนฮิสโตน รวมทั้งกลุ่มของโปรตีน NuRD และ Sin3a complex ที่ทำหน้าที่เกี่ยวกับการจัดโครงสร้างใหม่ของโครมาติน (chromatin remodeling) เข้ามาจับกับบริเวณดังกล่าว ส่งผลให้โครมาตินอยู่ในสถานะถูกยับยั้งกระบวนการถอดรหัส (transcriptional repressive status)^{6,7} (รูปที่ 2)



รูปที่ 1 (A) การเติมหมู่เมทิลที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 5 ของไซโทซีนโดยเอนไซม์ DNMT ได้เป็น 5-methyl cytosine และการกำจัดหมู่เอมีนที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 4 โดยกระบวนการ deamination ได้เป็นเบสไทมีน (B) ดีเอ็นเอเมทิลเลชันในเซลล์ปกติและเซลล์มะเร็ง¹



รูปที่ 2 กระบวนการยับยั้งการถอดรหัสของยีน (transcriptional silencing) ที่เกี่ยวข้องกับดีเอ็นเอเมทิลเลชัน (จุดวงกลมเล็ก คือ 5-methylcytosine)⁶

ออกฤทธิ์ยับยั้ง mRNA เป้าหมายได้ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความจับกันที่สมบูรณ์หรือไม่ ถ้าหากจับกันแบบคู่สมที่สมบูรณ์ (complete complementarity) จะทำให้มีการสลายของ mRNA เป้าหมาย แต่ถ้าหากจับกันแบบไม่สมบูรณ์โดยมักจับทางด้าน 3' UTR ของ mRNA เป้าหมาย จะทำให้มีการยับยั้งการแปลรหัสของยีนนั้น¹²⁻¹⁴ ในปัจจุบันค้นพบ mature miRNA ประมาณ 1,000 ชนิดที่สามารถทำงานได้ และน่าจะมีการค้นพบ miRNA ชนิดใหม่ๆ เพิ่มมากขึ้นอีกในอนาคต จากการคำนวณทางคอมพิวเตอร์คาดว่าในมนุษย์น่าจะมี miRNA อยู่มากกว่า 10,000 ชนิด¹⁵ นอกจากนี้ยังพบว่า miRNA มีส่วนเกี่ยวข้องกับมะเร็งโดยอาจทำหน้าที่เป็นยีนก่อมะเร็งหรือยีนต้านมะเร็งได้อีกด้วย จากการศึกษาทั้งจีโนมของ miRNA ในเนื้อเยื่อมะเร็งที่พบได้บ่อยในมนุษย์หลายๆ ชนิด ได้แก่ ปอด เต้านม ต่อมลูกหมาก ลำไส้ ตับ ตับอ่อน และไต พบว่ามีความผิดปกติที่พบได้มากใน miRNA 21 ชนิด ได้แก่ miR-21, -17-5p, -191, -29b-2, -223, -128b, -199a-1, -24-1, -24-2, -146, -155, -181b-1, -20a, -107, -32, -92-2, -214, -30c, -25, -221, และ -106a¹⁶

การควบคุมเหนือพันธุกรรมในเซลล์ปกติ (epigenetics in normal cell)

ในเซลล์ปกตินี้กระบวนการควบคุมเหนือพันธุกรรม ดังที่กล่าวข้างต้น จะทำงานร่วมกันอย่างเป็นระบบเพื่อควบคุมการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโครมาตินแบบไดนามิกในแต่ละตำแหน่งอย่างเฉพาะเจาะจง รวมทั้งควบคุมการคลายตัวและอัดตัวของโครมาตินดังกล่าวอีกด้วย การทำงานที่สอดคล้องกันของกระบวนการเหล่านี้ทำให้เกิดลักษณะหรือรูปแบบของกระบวนการควบคุมเหนือพันธุกรรม (epigenetic pattern) ที่จำเพาะและแตกต่างกันในเซลล์แต่ละชนิด ทั้งนี้ก็เพื่อควบคุมกระบวนการพัฒนาเพื่อจำแนกหน้าที่ของเซลล์ (cell differentiation) การพัฒนาของตัวอ่อน (embryogenesis) การงดการแสดงออกในอัลลีลเพียงข้างเดียวของยีน (gene imprinting) และการยับยั้งการทำงานของโครโมโซมเอ็กซ์ (X-chromosome inactivation)^{3,17}

การควบคุมเหนือพันธุกรรมในมะเร็งท่อน้ำดี (epigenetics in cholangiocarcinoma)

ในช่วงหลายปีที่ผ่านมา ความพยายามที่จะทำการศึกษาดังกล่าวการควบคุมเหนือพันธุกรรมและการเกิดโรคมะเร็ง ทำให้ความเข้าใจถึงความสัมพันธ์ของการควบคุมเหนือพันธุกรรมและมะเร็งมีเพิ่มมากขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งความผิดปกติของดีเอ็นเอเมทิลเลชัน และการดัดแปลงฮิสโตน

ซึ่งได้ทำการศึกษากันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน นอกจากนี้บทบาทของ miRNA ในโรคมะเร็งเป็นกลไกการควบคุมเหนือพันธุกรรมอีกอย่างหนึ่งที่เริ่มได้รับความสนใจศึกษากันมากขึ้นเช่นกัน เช่นเดียวกับการศึกษาทางด้านพยาธิวิทยาของมะเร็งท่อน้ำดีในระดับโมเลกุล นอกจากการศึกษาเกี่ยวกับความผิดปกติในระดับพันธุกรรมแล้ว ในปัจจุบันความผิดปกติของกลไกการควบคุมเหนือพันธุกรรมและความสัมพันธ์กับการเกิดมะเร็งท่อน้ำดีที่มีการศึกษากันมากที่สุดคือ promoter hypermethylation ดังที่กล่าวไปแล้วว่าการเกิดเมทิลเลชันสูงบริเวณ CpG-island ในโปรโมเตอร์ของยีนเกี่ยวข้องกับการงดการแสดงออกของยีนหรือแสดงออกน้อยลง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในยีนต้านมะเร็ง ซึ่งเป็นกลุ่มยีนสำคัญที่ทำหน้าที่ควบคุมวงจรของเซลล์ (cell cycle regulation) การตายของเซลล์ (apoptosis) การยึดเกาะกันของเซลล์ (cell adhesion) การซ่อมแซมดีเอ็นเอ และยีนที่เกี่ยวข้องกับเมแทบอลิซึมของสารก่อมะเร็งและยา (DNA repair gene and gene involved in carcinogen/drug metabolism)

1. Promoter hypermethylation ของยีนต้านมะเร็งในมะเร็งท่อน้ำดี

จากการศึกษาที่ผ่านมาได้รายงานอัตราสูงของ promoter hypermethylation อย่างน้อยหนึ่งยีน ในร้อยละ 78-91 ของตัวอย่างมะเร็งท่อน้ำดีที่ทำการศึกษา¹⁸⁻²⁰ นอกจากนี้จากการศึกษาในตัวอย่างมะเร็งท่อน้ำดีโดย Sriraksa และคณะพบว่าร้อยละ 62.8 (64/102 cases) ของตัวอย่างมะเร็งท่อน้ำดีมี promoter hypermethylation ของยีนตั้งแต่ 3 ยีนขึ้นไป แต่ไม่พบในเนื้อเยื่อตับปกติบริเวณใกล้เคียง²⁰ โดยกลุ่มยีนที่มักพบว่ามีความผิดปกติ ได้แก่ cell cycle and proliferation (เช่น *SFRP1*, *p16*, *14-3-3σ*, *RASSF1A*, *p73*, *p14*, *p15*), apoptosis (เช่น *DAPK*, *TMS1/ASC*, *SEMA3B*), cell adhesion (เช่น *APC*, *E-cadherin*, *TIMP3*, *THBS1*) และกลุ่มยีนซึ่งทำหน้าที่เกี่ยวกับ DNA repair genes and carcinogen/drug metabolism (เช่น *hMLH1*, *MGMT*, *GSTP1*)¹⁸⁻²³ (ตารางที่ 1) สำหรับการศึกษาความผิดปกติของดีเอ็นเอเมทิลเลชันในมะเร็งท่อน้ำดีแบบองค์รวมทั้งจีโนม (genome-wide) พบว่าตัวอย่างมะเร็งท่อน้ำดีมีความผิดปกติแบบ hypermethylation มากกว่า 700 CpG sites ทั้งที่อยู่ภายในและภายนอก CpG-islands เมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อเยื่อท่อน้ำดีปกติ โดย CpG sites ที่พบความผิดปกติของภาวะ hypermethylation ดังกล่าวมีความเกี่ยวข้องกับหน้าที่อย่างจำเพาะกับยีนในกลุ่ม *homeobox genes*, *EED target*, *PRC2_targets1*, *SUZ12 targets* และ *H3K27*

targets โดยที่รูปแบบความผิดปกติของกลุ่มยีนดังกล่าวข้างต้นมักพบรายงานในมะเร็งที่มีสมมุติฐานว่ามีต้นกำเนิดมาจากเซลล์ต้นกำเนิดของตัวอ่อน (embryonic stem cells; ES) ดังนั้นการศึกษาภาวะเมทิลเลชันในมะเร็งท่อน้ำดีในระดับ genome-wide ดังกล่าว แสดงให้เห็นว่าการเกิดมะเร็งท่อน้ำดี อาจมีเซลล์ต้นกำเนิดที่มาจาก embryonic stem cell นอกจากนี้ การศึกษาดังกล่าวยังเป็นการศึกษาแรกที่ได้รายงานความผิดปกติของภาวะเมทิลเลชันในมะเร็งท่อน้ำดีในระดับ genome-wide ที่น่าจะใช้เป็นแหล่งข้อมูลของ methylation biomarkers ที่จำเพาะกับมะเร็งท่อน้ำดี แต่อย่างไรก็ตาม หน้าทีของกลุ่มยีนที่สำคัญและการประยุกต์ใช้ในทางคลินิกก็เป็นสิ่งจำเป็นที่ต้องทำการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป²¹

ตารางที่ 1 ความผิดปกติแบบ promoter hypermethylation ในมะเร็งท่อน้ำดี¹⁸⁻²³

| Function | Gene | Incidence of methylation (%) |
|---|-------------------|------------------------------|
| Cell cycle and proliferation | <i>SFRP1</i> | 64 |
| | <i>RASSF1A</i> | 15-69 |
| | <i>14-3-3σ</i> | 60-81 |
| | <i>p14</i> | 25-38 |
| | <i>p15</i> | 50 |
| | <i>p16</i> | 16-83 |
| | <i>p73</i> | 1-36 |
| | <i>RARα2</i> | 14 |
| | <i>SOCS3</i> | 0-88 |
| | Apoptosis | <i>PTEN</i> |
| <i>DcR1</i> | | 28 |
| <i>DAPK</i> | | 3-32 |
| <i>TMS1/ASC</i> | | 0-5 |
| <i>SEMA3B</i> | | 100 |
| <i>RUNX3</i> | | 57 |
| <i>CHFR</i> | | 16 |
| Cell adhesion | <i>OPCML</i> | 73 |
| | <i>APC</i> | 27-46 |
| | <i>E-cadherin</i> | 22-43 |
| | <i>TIMP3</i> | 9 |
| | <i>THBS1</i> | 11 |
| DNA repair genes and carcinogen/drug metabolism | <i>hMLH1</i> | 0-46 |
| | <i>MGMT</i> | 1-49 |
| | <i>GSTP1</i> | 1-14 |
| Unknown | <i>HIC1</i> | 38 |
| | <i>BLU</i> | 11-20 |
| | <i>MINT1</i> | 41 |
| | <i>MINT12</i> | 51 |
| | <i>MINT25</i> | 15-16 |
| | <i>MINT32</i> | 35 |

2. Hypomethylation ในมะเร็งท่อน้ำดี

นอกจากความผิดปกติแบบ promoter hypermethylation ที่พบและมีการศึกษามากที่สุดในมะเร็งท่อน้ำดีแล้ว ยังมีบางการศึกษาที่รายงานว่าพบความผิดปกติแบบ hypomethylation ด้วยเช่นกัน ดังรายงานที่พบเมทิลเลชันของ repetitive DNA element ได้แก่ Long interspersed nucleotide element-1 (LINE-1) และ juxtacentromeric satellite 2 (SAT2) ในตัวอย่างมะเร็งท่อน้ำดีชนิดนอกตับ (extrahepatic cholangiocarcinoma) ลดต่ำกว่าที่พบในตัวอย่างท่อน้ำดีปกติและท่อน้ำดีที่มีภาวะก่อนมะเร็ง (pre-malignant lesion)²⁴ การศึกษาความผิดปกติของดีเอ็นเอเมทิลเลชันแบบ genome-wide ในตัวอย่างมะเร็งท่อน้ำดีพบภาวะ hypomethylation มากกว่า 800 CpG dinucleotides (ทั้งที่อยู่ในภายในและภายนอก CpG-islands) ซึ่ง hypomethylated CpG site เหล่านี้เกี่ยวข้องกับกลุ่มยีนเป้าหมายของ OCT4, PRC2 และ NOS โดยที่ OCT4 และ NOS ทำหน้าที่เป็น transcription factor ที่มีความสำคัญอย่างมากในกระบวนการพัฒนา และการรักษาคุณสมบัติของ ES cell ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่ากลุ่มยีนเหล่านี้ อาจมีส่วนเกี่ยวข้องกับเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็ง (cancer stem cell; CSC) ซึ่งอาจเป็นสาเหตุสำคัญของ การเกิดมะเร็งท่อน้ำดีได้เช่นเดียวกับความผิดปกติแบบ hypermethylation ของยีนต้านมะเร็งต่างๆ²¹ ซึ่งในขณะนี้ คณะผู้เขียนบทความกำลังทำการศึกษาดังกล่าวและความสำคัญของ hypermethylated gene เหล่านี้ในมะเร็งท่อน้ำดีเช่นเดียวกัน

3. Histone modification และ miRNA ในมะเร็งท่อน้ำดี

ในปัจจุบันการศึกษเกี่ยวกับความผิดปกติของ histone modification ในมะเร็งท่อน้ำดียังมีข้อมูลค่อนข้างน้อย แต่อย่างไรก็ตามการเกิดดีเอ็นเอเมทิลเลชัน และ histone modification มีกลไกการทำงานเกี่ยวเนื่องกันอย่างใกล้ชิดในการยับยั้งหรือกระตุ้นการแสดงออกของยีน ดังนั้นจึงมักพบความผิดปกติทั้งสองแบบร่วมกันในมะเร็ง จากการรายงานของ Sriraksa พบว่าภาวะ hypermethylation ในกลุ่มยีนเป้าหมายของ Polycomb group (PcG) protein (chromatin-modifying complex) ได้แก่ EED, PRC2, SUZ12 และ H3K27 target²¹ ซึ่งกลุ่มของโปรตีนหรือเอนไซม์ที่เป็น PcG เหล่านี้มักเกี่ยวข้องกับ histone modification เนื่องจากมีบางชนิดเป็นเอนไซม์ histone methyltransferases และสามารถจับกับเอนไซม์ histone deacetylase ได้ ซึ่งส่งเสริมให้เกิด histone modification และ transcriptional silencing ของยีนได้ จากหลักฐานการศึกษาข้างต้น น่าจะแสดงให้เห็นว่าความผิดปกติ

ของ histone modification เป็นกลไกทาง epigenetic อีกอย่างหนึ่งที่เกี่ยวข้องกับการเกิดมะเร็งท่อน้ำดี

การเปลี่ยนแปลงระดับการแสดงออกของ miRNA ทั้งเพิ่มขึ้นและลดลงในมะเร็งท่อน้ำดีจากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่ามีการแสดงออกของ miR-141, miR-200b, miR-21 และ let-7a เพิ่มมากขึ้นในมะเร็งท่อน้ำดี ซึ่งเป็น miRNA ที่สามารถยับยั้งยีนต้านมะเร็งเป้าหมายคือ CLOCK, PTPN12, PTEN และ NF2 ตามลำดับ ในขณะที่ miR-29b และ miR-370 มีระดับการแสดงออกลดต่ำลงในมะเร็งท่อน้ำดี ซึ่งจะทำหน้าที่ยับยั้งยีนมะเร็งคือ Mcl-1 และ MAP3K8 ความผิดปกติของยีนเหล่านี้จะมีผลทำให้เพิ่มการเจริญเติบโตและยับยั้งการตายของเซลล์มะเร็ง²³

การควบคุมเหนือพันธุกรรมและการรักษาโรคมะเร็งที่อาจพัฒนาไปสู่การรักษามะเร็งท่อน้ำดี

เนื่องจากคุณสมบัติพิเศษที่พบในกระบวนการควบคุมเหนือพันธุกรรมคือ ความสามารถที่จะทำให้ผันกลับได้ (reversibility) ทำให้ในปัจจุบันการประยุกต์ใช้สารหรือยา รวมทั้งการรักษาแบบมุ่งเป้า (targeted therapy) ที่มีผลเปลี่ยนแปลงความผิดปกติของยีนในระดับ epigenetic ให้กลับมาสอดออกได้เหมือนเดิมนั้นกำลังได้รับความสนใจเพิ่มมากขึ้น สำหรับยาหรือสารที่มีผลยับยั้งดีเอ็นเอเมทิลเลชัน (demethylating agent) ได้มีการศึกษากันอย่างกว้างขวางในโรคมะเร็ง เช่น 5-aza-2'-deoxycytidine (decitabine), zebularine และ 5-azacytidine (azacitidine) ซึ่งสารเหล่านี้สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ DNMT ในปัจจุบัน azacitidine และ decitabine ได้ผ่านการรับรองจาก Food and Drug Administration (FDA) ของสหรัฐอเมริกาให้ใช้ในการรักษาผู้ป่วย myelodysplastic syndrome ได้แล้ว ส่วนสารที่มีผลยับยั้งเอนไซม์ HDAC (HDAC inhibitor) เพื่อเปลี่ยนแปลง histone modification เช่น phenylbutyrate, valproic acid (VPA), trichostatin A (TSA) และ suberoylanilide hydroxamic acid (SAHA) ก็กำลังได้รับความสนใจศึกษาในมะเร็งด้วยเช่นกัน ขณะนี้ SAHA ได้ผ่านการรับรองจาก FDA ให้ใช้ในการรักษาผู้ป่วย T cell cutaneous lymphoma แล้ว³ สำหรับการศึกษาในมะเร็งท่อน้ำดีพบว่า 5-aza-2'-deoxycytidine มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตและเหนี่ยวนำให้เกิดการตายของเซลล์เพาะเลี้ยงมะเร็งท่อน้ำดี^{25, 26} นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า HDAC inhibitor เช่น TSA, MS-275, NVP-LAQ824 และ NVP-LBH589 ก็สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตและเหนี่ยวนำให้เกิดการตายของเซลล์เพาะเลี้ยงมะเร็งท่อน้ำดี รวมทั้งยับยั้งการเจริญของก้อนมะเร็งที่เกิดจากการปลูกถ่ายเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีในหนูทดลองได้อีกด้วย²⁷⁻²⁹

การใช้ demethylating agent และ HDAC inhibitor เหล่านี้ร่วมกับยาเคมีบำบัดมาตรฐานที่ใช้รักษาโรคมะเร็งท่อน้ำดี เช่น 5-fluorouracil (5-FU) อาจจะทำให้ผลในการรักษาดีขึ้น แต่อย่างไรก็ตามจำเป็นต้องมีการศึกษาถึงประสิทธิภาพและผลข้างเคียงของยาดังกล่าวเพิ่มเติมต่อไป

สรุป

ในมะเร็งท่อน้ำดีพบความผิดปกติของกระบวนการควบคุมเหนือพันธุกรรมได้มากเช่นเดียวกับความผิดปกติในระดับพันธุกรรม แต่อย่างไรก็ตามกระบวนการควบคุมเหนือพันธุกรรมนั้นไม่ได้ก่อให้เกิดความเปลี่ยนแปลงของลำดับนิวคลีโอไทด์ในจีโนม จึงเป็นจุดเด่นอย่างหนึ่งเนื่องจากสามารถทำให้ผันกลับไปสู่สภาวะปกติได้ โดยใช้ยาหรือสารที่ยับยั้งหรือเปลี่ยนแปลงกระบวนการดังกล่าว เช่น demethylating agent และ HDAC inhibitor เป็นต้น จากการศึกษาต่างๆ ที่ผ่านมามองเห็นว่าในมะเร็งท่อน้ำดีนั้น ความผิดปกติของกระบวนการควบคุมเหนือพันธุกรรมที่พบได้มากและมีการศึกษามากที่สุด คือ promoter hypermethylation ส่วนความผิดปกติของ histone modification และ miRNA ก็ถือว่ามีความสำคัญและกำลังได้รับความสนใจศึกษาเพิ่มมากขึ้น ดังนั้นการพัฒนาและประยุกต์ใช้ epigenetic biomarker เหล่านี้เพื่อให้สามารถตรวจหามะเร็งท่อน้ำดีในระยะแรก และมีลักษณะเป็น non-invasive เช่น การตรวจในซีรัมของผู้ป่วย จึงมีความจำเป็นอย่างมาก ทั้งนี้เพื่อให้การวินิจฉัยและรักษามีประสิทธิภาพ อันจะนำไปสู่การเพิ่มอัตราการรอดชีวิตและคุณภาพชีวิตที่ดีของผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

บทความปริทัศน์นี้ได้รับทุนสนับสนุนจากโครงการมหาวิทยาลัยแห่งชาติ (National Research University; NRU) มหาวิทยาลัยขอนแก่น ภายใต้กลุ่มวิจัยคลัสเตอร์วิจัยปัญหาสุขภาพเฉพาะในอนุภาคลุ่มน้ำโขง (Center of Excellence in Specific Health Problems in Greater Mekong Sub-region cluster; SHEP-GMS)

เอกสารอ้างอิง

1. เต็มดวง ล้อมไพบูลย์. การควบคุมเหนือพันธุกรรมของมะเร็ง. ใน: เต็มดวง ล้อมไพบูลย์, บรรณาธิการ. มะเร็งวิทยาาระดับโมเลกุล. พิมพ์ครั้งที่ 1. ขอนแก่น: ขอนแก่นการพิมพ์, 2554: 250-92.
2. Russo VEA, Martienssen RA, Riggs AD. Epigenetic mechanisms of gene regulation. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1996.

3. Sharma S, Kelly TK, Jones PA. Epigenetics in cancer. *Carcinogenesis* 2010; 31:27-36.
4. Lister R, Pelizzola M, Downen RH, Hawkins RD, Hon G, Tonti-Filippini J, et al. Human DNA methylomes at base resolution show widespread epigenomic differences. *Nature* 2009; 462:315-22.
5. Pradhan S, Esteve PO. Mammalian DNA (cytosine-5) methyltransferases and their expression. *Clin Immunol* 2003; 109:6-16.
6. Bird A. DNA methylation patterns and epigenetic memory. *Genes Dev* 2002; 16:6-21.
7. Strathdee G, Brown R. Aberrant DNA methylation in cancer: potential clinical interventions. *Expert Rev Mol Med* 2002; 4:1-17.
8. Luger K, Mader AW, Richmond RK, Sargent DF, Richmond TJ. Crystal structure of the nucleosome core particle at 2.8 Å resolution. *Nature* 1997; 389:251-60.
9. Bartova E, Krejci J, Hamcarova A, Galiova G, Kozubek S. Histone modifications and nuclear architecture: a review. *J Histochem Cytochem* 2008; 56:711-21.
10. Kouzarides T. Chromatin modifications and their function. *Cell* 2007; 128:693-705.
11. Li B, Carey M, Workman JL. The role of chromatin during transcription. *Cell* 2007; 128:707-19.
12. Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* 2004; 116:281-97.
13. Rouhi A, Mager DL, Humphries RK, Kuchenbauer F. MiRNAs, epigenetics, and cancer. *Mamm Genome* 2008; 19:517-25.
14. Chuang JC, Jones PA. Epigenetics and microRNAs. *Pediatr Res* 2007; 61:24R-9R.
15. Berezikov E, Guryev V, van de Belt J, Wienholds E, Plasterk RH, Cuppen E. Phylogenetic shadowing and computational identification of human microRNA genes. *Cell* 2005; 120:21-4.
16. Volinia S, Calin GA, Liu CG, Ambs S, Cimmino A, Petrocca F, et al. A microRNA expression signature of human solid tumors defines cancer gene targets. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103:2257-61.
17. Taby R, Issa, JPJ. Cancer epigenetics. *CA Cancer J Clin* 2010; 60:376-92.
18. Lee S, Kim WH, Jung HY, Yang MH, Kang GH. Aberrant CpG island methylation of multiple genes in intrahepatic cholangiocarcinoma. *Am J Pathol* 2002; 161:1015-22.
19. Yang B, House MG, Guo M, Herman JG, Clark DP. Promoter methylation profiles of tumor suppressor genes in intrahepatic and extrahepatic cholangiocarcinoma. *Mod Pathol* 2005; 18:412-20.
20. Sriraksa R, Zeller C, El-Bahrawy MA, Dai W, Daduang J, Jearanaikoon P, et al. CpG-island methylation study of liver fluke-related cholangiocarcinoma. *Br J Cancer* 2011; 104:1313-8.
21. Sriraksa R. CpG-island methylation profiling in cholangiocarcinoma [Ph.D. Thesis in Biomedical Sciences]. Khon Kaen: The Graduate School, Khon Kaen University; 2010.
22. Sandhu DS, Shire AM, Roberts LR. Epigenetic DNA hypermethylation in cholangiocarcinoma: potential roles in pathogenesis, diagnosis and identification of treatment targets. *Liver Int* 2008; 28:12-27.
23. Isomoto H. Epigenetic alterations associated with cholangiocarcinoma (review). *Oncol Rep* 2009; 22:227-32.
24. Kim BH, Cho NY, Shin SH, Kwon HJ, Jang JJ, Kang GH. CpG island hypermethylation and repetitive DNA hypomethylation in premalignant lesion of extrahepatic cholangiocarcinoma. *Virchows Arch* 2009; 455:343-51.
25. Wehbe H, Henson R, Meng F, Mize-Berge J, Patel T. Interleukin-6 contributes to growth in cholangiocarcinoma cells by aberrant promoter methylation and gene expression. *Cancer Res* 2006; 66:10517-24.
26. Liu XF, Jiang H, Zhang CS, Yu SP, Wang ZQ, Su HL. Targeted Drug Regulation on Methylation of p53-BAX Mitochondrial Apoptosis Pathway Affects the Growth of Cholangiocarcinoma Cells. *J Int Med Res* 2012; 40:67-75.
27. Xu LN, Wang X, Zou SQ. Effect of histone deacetylase inhibitor on proliferation of biliary tract cancer cell lines. *World J Gastroenterol* 2008; 14:2578-81.
28. Baradari V, Hopfner M, Huether A, Schuppan D, Scherubl H. Histone deacetylase inhibitor MS-275 alone or combined with bortezomib or sorafenib exhibits strong antiproliferative action in human cholangiocarcinoma cells. *World J Gastroenterol* 2007; 13:4458-66.
29. Bluethner T, Niederhagen M, Caca K, Serr F, Witzigmann H, Moebius C, et al. Inhibition of histone deacetylase for the treatment of biliary tract cancer: a new effective pharmacological approach. *World J Gastroenterol* 2007; 13:4761-70.

