ยุทธวิธีใหม่ของยาเคมีบำบัดในการรักษามะเร็ง

วีรพล คู่คงวิริยพันธุ์, เบญจพร บุราณรัตน์
ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ และศูนย์วิจัยพยาธิใบไม้ตับและมะเร็งท่อน้ำดี มหาวิทยาลัยขอนแก่น

New Strategy of Cancer Targeting Chemotherapy

Veerapol Kukongviriyapan, Benjaporn Buranrat
Department of Pharmacology, Faculty of Medicine and Liver Fluke & Cholangiocarcinoma Research Center Khon Kaen University

บทคัดย่อ

มะเร็งเป็นโรคที่บั่นทอนชีวิตและสังคมของครอบครัว การใช้ยาเคมีบำบัดเป็นวิธีทางรักษาแบบหนึ่งในการรักษามะเร็งบางชนิดและมะเร็งในบางระยะ ความก้าวหน้าของการใช้ยาเคมีบำบัดในปัจจุบันเกี่ยวข้องกับยาที่กำหนดเป้าหมาย ซึ่งแตกต่างจากยา cytotoxic ส่วนใหญ่ที่จะทำลายเซลล์ที่แบ่งตัวอย่างรวดเร็วรวมทั้งเซลล์ปกติ การศึกษาเป้าหมายของยาเหล่านี้ได้แก่โมเลกุลในวิถีที่เซลล์มะเร็งใช้เพื่อเพิ่มความสามารถในการเจริญเติบโต อยู่รอด แพร่กระจาย และป้องกันการตายจากสัญญาณส่งจากเซลล์หรือเนื้อเยื่อปกติหรือจากยาเคมี โมเลกุลเป้าหมายที่อยู่ในความสนใจและพัฒนาเป็นยามีจำนวนมาก ได้แก่ protein tyrosine kinases ต่างๆ เช่น epidermal growth factor family, รวมทั้ง vascular epidermal growth factor receptor และ mitogen-activated protein kinases รวมทั้งโมเลกุลที่ทำงานในวิถีเมแทโบลิซึมที่กว้างขวาง เช่น proteasome, histone deacetylase และ transcription factor nuclear factor kappa B โมเลกุลเป้าหมายเหล่านี้ได้จากข้อมูลการศึกษาพื้นฐานของมะเร็งต่างๆ และได้พัฒนากลายเป็นยาขึ้น ยาเหล่านี้จึงเป็นความหวังทางเลือกอีกทางของเคมีบำบัด และยังใช้เป็นเครื่องมือวิจัยศึกษาถึงชีววิทยาของมะเร็งอีกโสต

Cancer is the disease that mutilates patient life and family. Cancer chemotherapy is one of treatment modalities for some cancers and cancers in some stages. Current advances in chemotherapeutic drugs involve with the targeted drug therapy where it is distinct from the classical cytotoxic drugs which damage rapidly dividing cancer as well as normal cells. Target molecules of the new drugs include molecules in signaling pathways which confer advantages for growth, survival, metastasis, and resistance to dead signals from normal tissues or chemotherapeutic drugs. The target molecules of interest which undergo new drug development pipelines comprise various protein tyrosine kinases, i.e. epidermal growth factor family and vascular epidermal growth factor receptors; mitogen-activated protein kinases, and molecules involving in broad metabolic pathways, such as proteasomes, histone deacetylase and transcription factor proteins such as nuclear factor kappa B. The target molecules are derived from basic studies of cancer and evolved to be potential anticancer drugs. This new generation of targeting drugs offers an alternative of cancer chemotherapy and is also employed as potential research tools in cancer biology.

Abbreviation: ALL: acute lymphoblastic leukemia, AP-1: activator protein-1, CCA: cholangiocarcinoma, CML: chronic myelogenous leukemia, COX: cyclooxygenase, EGFR: epidermal growth factor receptor, GIST: gastrointestinal stromal tumor, HDAC : histone deacetylase, HSP: heat shock protein, IHC: immunohistochemistry, IκB: inhibitor of NF-κB, IKK: IκB kinase, MAPK: mitogen-activated protein kinase, NF-kB: nuclear factor-kappa B, NSAID: non-steroidal anti-inflammatory drug, NSCLC: non-small cell lung cancer, PDGFR: platelet derived growth factor receptor, PI3K/Akt: phosphoinositide 3-kinase/protein kinase B, RTK: receptor tyrosine kinase, SCC: squamous cell carcinoma, SNP: single nucleotide polymorphism, TKI: Small-molecule tyrosine kinase inhibitors, TGF: transforming growth factor, VEGFR: vascular endothelial growth factor receptor

บทนำ

กลไกสำคัญที่ทำให้เซลล์มะเร็งอยู่รอด ไม่ถูกทำลายโดยกลไกร่างกายหรือด้วยยาเคมีบำบัดอาจเกิดจากกลไกหลายประการ เช่น เซลล์มะเร็งเพิ่มสัญญาณเกี่ยวกับการอยู่รอดภายในเซลล์ (survival signal) หรือยับยั้งการตอบสนองต่อสัญญาณ apoptosis ทำให้เซลล์มะเร็งไม่ตายแม้ในสิ่งแวดล้อมที่ไม่อำนวย เช่น ในภาวะออกซิเจนต่ำ มีความเครียดออกซิเดชันสูง มีสัญญาณจากเซลล์ปกติให้ยับยั้งการแบ่งตัวหรือให้เกิด apoptosis การเพิ่มการลำเลียงของยาออกจากเซลล์มะเร็งด้วย p-glycoprotein (Pgp) หรือ multidrug resistance associated-protein (MRP) การเปลี่ยนแปลงหรือเพิ่มจำนวนโมเลกุลเป้าหมายของยา[1] กลไกบางอย่างอยู่ในความสนใจอย่างมากของนักวิทยาศาสตร์ที่ต้องการพัฒนายาที่มีความจำเพาะและกำหนดเป้าหมายที่ยาไปยับยั้ง (targeting drugs) ตัวอย่างเช่น กลไกที่เกี่ยวข้องกับการเพิ่มสัญญาณการอยู่รอดและยับยั้งการตายของเซลล์มะเร็ง โดยสัญญาณดังกล่าวเกิดขึ้นจากการเปลี่ยนแปลงในวิถีต่างๆ ซึ่งในที่สุดจะเกี่ยวข้องกับการผ่าเหล่าในจีโนมของเซลล์ การยับยั้งสัญญาณเหล่านี้จึงอาจมีผลทำให้เซลล์มะเร็งหยุดการเจริญเติบโตและนำไปสู่การตายของเซลล์มะเร็งในที่สุด ยาใหม่จึงเป็นยาที่กำหนดเป้าหมายโดยการยับยั้งการส่งสัญญาณอยู่รอดและเพิ่มสัญญาณชักนำการตาย ดังนั้นกลไกจึงแตกต่างจากเคมีบำบัดเดิมที่ยังใช้ในปัจจุบันซึ่งจะยับยั้งการแบ่งเซลล์แบบไม่เลือกทั้งเซลล์มะเร็งและเซลล์ปกติ จึงก่อปัญหาความเป็นพิษจากยาที่รุนแรง เนื่องจากเซลล์มะเร็งอยู่รอดได้เกิดจากการแสดงออกที่มากเกินไปหรือน้อยเกินไปของยีนหลายประเภท โดยธรรมชาติการยับยั้งการแสดงออกที่มากเกินไปของเอนไซม์หรือยีนสามารถนำไปสู่แนวปฏิบัติด้วยการสร้างยาไปยับยั้งในขณะที่การชักนำให้เพิ่มสัญญาณบางอย่างที่มีในเซลล์มะเร็งที่มีน้อยเกินไปนั้นทำได้ยากกว่า

การส่งสัญญาณภายในเซลล์มะเร็งมักมีความผิดปกติมีการแสดงออกที่มากเกินไปของยีนและของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการอยู่รอดและเพิ่มจำนวน ดังนั้นการยับยั้งจึงเป็นเป้าหมายการออกฤทธิ์ของยา ที่จะอภิปรายต่อไป ได้แก่ (1) receptor tyrosine kinases (RTKs) และ non-receptor tyrosine kinases (2) proteasomes (3) heat shock proteins (4) histone deacetylases (5) cyclooxygenase-2 และ (6) transcription factor: nuclear factor-kappa B (NF-κB), activator protein-1 (AP1) สารออกฤทธิ์ยับยั้งต่อวิถีเฉพาะเหล่านี้ถูกค้นพบจากการตรวจกรองสารเคมีจากธรรมชาติ และอนุกรมของสารสังเคราะห์จำนวนมากที่ได้จากการออกแบบด้วย quantitative structure-activity-relationship (QSAR) สารเหล่านี้ได้นำมาศึกษาเพื่อพิสูจน์ความสำคัญของวิถีทางส่งสัญญาณภายในเซลล์และเป็นการพิสูจน์ว่าตำแหน่งเหล่านี้เป็นที่ยาออกฤทธิ์แล้วจะได้ผลตอบสนองที่ต้องการหรือไม่ (drugable) สารเคมีหลายชนิดได้พัฒนาเป็นยา ได้นำเข้าศึกษาในมนุษย์ทางคลินิก นอกจากนี้ยาหลายชนิดได้รับอนุมัติให้ใช้ในผู้ป่วยในข้อบ่งใช้ที่กำหนดไว้ (ตารางที่ 1)

เคมีบำบัดในมะเร็งท่อน้ำดี เป็นทางเลือกของผู้ป่วยที่ไม่สามารถรับการผ่าตัด แต่ปัจจุบันยังไม่มีสูตรยาที่ใช้และเป็นที่ใช้กันทั่วไป มะเร็งท่อน้ำดีเป็นมะเร็งที่มีอุบัติการณ์สูงในประเทศไทย โดยเฉพาะภาคตะวันออกเฉียงเหนือ สาเหตุในการเกิดโรคยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด แต่มีหลักฐานพบว่าสัมพันธ์กับการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับและอาจร่วมกับปัจจัยอื่นๆ อีก[2, 3] โรคมะเร็งท่อน้ำดีมีการดำเนินของโรคค่อนข้างช้ามีพยากรณ์ของโรคไม่ดี ผู้ป่วยมักไม่มีอาการแสดงออกที่จำเพาะ ทำให้ผู้ป่วยที่มารับการรักษาที่โรงพยาบาลมักเป็นมะเร็งในระยะที่ลุกลามมากแล้ว[4] การรักษาหลักคือการผ่าตัดและคนไข้บางรายจะได้รับการผ่าตัดร่วมกับการรักษาด้วยยาเคมีบำบัด แต่ผลการรักษายังไม่เป็นที่น่าพอใจนัก เนื่องจากคนไข้มีอัตราการรอดชีวิตต่ำมีอัตราการรอดชีวิตภายในระยะเวลา 3 ปีเพียงร้อยละ 0-16 เท่านั้น[4] การใช้ยาเคมีบำบัดทั้งที่รายงานในประเทศไทยและจากต่างประเทศยังไม่ได้ผลดีเช่นเดียวกัน เนื่องจากมะเร็งท่อน้ำดีไม่ตอบสนองต่อยาเคมีบำบัด ในปัจจุบันจึงมีการศึกษาถึงยาที่กำหนดเป้าหมาย เพื่อนำไปสู่การพัฒนาการรักษาโรคมะเร็งท่อน้ำดีที่ได้ผล ในบทความนี้จะกล่าวถึงการทดลองยาในมะเร็งท่อน้ำดีที่มีรายงานไว้

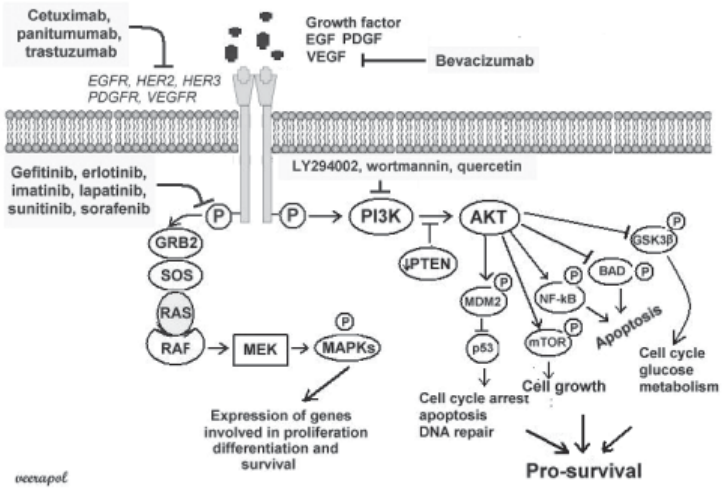
การยับยั้ง Epidermal growth factor receptor family

Epidermal growth factor receptor (EGFR) เป็น receptor ในตระกูล receptor tyrosine protein kinase (RTK) ที่มีความสำคัญในการควบคุมการเจริญเติบโต (cell growth), ดีฟเฟอเรนชิเอชัน (differentiation), การแปรรูป (transformation), การสร้างหลอดเลือดใหม่ (angiogenesis), การเคลื่อนที่ (migration), การอยู่รอด (survival) การดื้อต่อยาเคมีบำบัดและการฉายรังสี[5] EGFR เป็นตัวรับกลุ่ม ErbB ประกอบด้วย EGFR หรือ ErbB1 หรือ Her-1, ErbB2 (Her-2), ErbB3 (Her-3) และ ErbB4 (Her-4)[6] EGFR สามารถถูกกระตุ้นได้ด้วยตัวกระตุ้นหลายชนิดคือ epidermal growth factor (EGF), transforming growth factor-α (TGF-α), heparin-binding EGF, amphiregulin, betacellulin, epiregulin และ neuregulin G2b สารหรือฮอร์โมนเหล่านี้กระตุ้นการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งผ่านทางหลายวิถีสัญญาณเช่น phosphoinositide 3-kinase (PI3K)-Akt, mitogen-activated protein kinase (MAPK), phospholipase Cγ (PLC-γ) (รูปที่ 1) และยังผ่านวิถี Janus kinase- STAT

ตารางที่ 1 ยาเคมีบำบัดออกฤทธิ์ต่อโมเลกุลเป้าหมายจำเพาะ โมเลกุลเป้าหมายเหล่านั้นจะเกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของมะเร็งชนิดต่างๆ ยาใหม่เหล่านี้มีทั้งที่ผ่านการรับรองจากสำนักงานอาหารและยา สหรัฐ (US-FDA) หรืออยู่ในระหว่างการศึกษาทางคลินิก

Drugs	Trade name	Target	Status	Indication
Gefitinib ZD1839	Iressa (AstraZeneca)	EGFR (ErbB1)	FDA approved Phase III Phase II	NSCLC (conditional). NSCLC (in Asia). Breast cancer, head & neck.
Erlotinib OSI-774	Tarceva (Genetech-OSI)	EGFR (ErbB1)	FDA approved Phase I	NSCLC, pancreatic cancer. Breast cancer.
Vandetanib ZD6474	Zactima (AstraZeneca)	EGFR, HER2, VEGFR	Phase III	NSCLC, medullary thyroid carcinoma.
Lapatinib GW572016	Tykerb (GSK)	EGFR, HER2	FDA approved Phase III	Breast cancer. Advanced renal cell carcinoma
Imatinib STI-571	Gleevec /Glivec (Novatis)	BCR-ABL	FDA approved	Chronic myelogenous leukemia (CML), GIST
Nilotinib AMN107	Tasigna (Novaris)	BCR-ABL	FDA approved Phase III	CML. GIST.
Dasatinib BMS-354825	Sprycel (Bristol- Myers-Squibb)	BCR/ABL, Src	FDA approved Phase II Phase I	CML, ALL. Advanced breast cancer. NSCLC, Solid tumors.
Sunitinib SU11248	Sutent (Pfizer)	PDGFR, VEGFR, c-Kit, RET, CSF-1R	FDA approved Phase II	Renal cell carcinoma, GIST. Breast, NSCLC
Sorafenib BAY 43-9006	Nexavar (Bayer)	VEGFR1/2, Raf, PDGFR, c-Kit	FDA approved Phase I/II	Renal cell carcinoma, hepatoma. Soft tissue sarcoma, bladder cancer, solid tumors.
Trastuzumab	Herceptin (Genetech)	HER2/neu (erbB2), humanized monoclonal antibody	FDA approved Phase III Phase II	Breast cancer with her2/neu overexpression. Metastatic breast cancer. Advanced urothelial cancer.
Cetuximab	Erbitux (Imclone, Bristol-Myers-Squibb)	EGFR : human-mouse chimeric monoclonal antibody	FDA approved Phase II	Head & neck, colorectal cancer. Prostate, advanced cervical, endometrial cancers.
Bortezomib PS-341	Velcade (Millennium)	26S proteasome	FDA approved Phase II	Multiple myeloma, Mantle cell lymphoma. Non-Hodgkin's lymphoma, NSCLC, breast, prostate cancer
Temsirolimus CCI-779	Torisel (Wyeth)	mTOR kinase	FDA approved Phase II	Advanced renal cell carcinoma. Breast cancer, melanoma
Arsenic trioxide	Trisenox (Cephalon)	IKK	FDA approved Phase II	Acute promyelocytic leukaemia. NSCLC, liver, multiple myeloma, chronic lymphocytic leukemia
Thalidomide	Thalomid (Celgene)	IKK	FDA approved Phase I	Multiple myeloma. Chronic lymphocytic leukemia
Tanespimycin 17-AAG, KOS-953	Telatinib, (Kosan Biosciences)	HSP-90	Phase II/III Phase II Phase I	Multiple myeloma. Melanoma, breast cancer. GIST, prostate, CML, soft tissue sarcoma
Retaspimycin hydrochloride, IPI-504	(AstraZeneca)	HSP-90	Phase III Phase I/II Phase I	GIST. NSCLC, prostate cancer. Advanced solid tumors
Enzastaurin, LY317615	(Eli Lilly)	Ser/Thr kinase, PKC-β, PKB/Akt inhibitors	Phase III Phase II Phase I/II	Non-Hodgkin,s lymphoma. Mantle-cell lymphoma. NSCLC, prostate, breast, gliomas
Vorinostat, M344, SAHA	Zolinza (Merk)	Inhibitor of histone deacetylases	FDA approved Phase II Phase I	Cutaneous T-cell lymphoma. Myelodysplastic syndrome. Advanced solid tumors.
Romidepsin	Gloucester- Janssen-Cilag	Inhibitor of histone deacetylases	Phase II Phase I/II	Cutaneous T-cell lymphoma, SCC of head & neck. Pancreatic, multiple myeloma

ข้อมูลรวบรวมจากฐานข้อมูลสาธารณะ http://www.cancer.gov/clinicaltrials, www.accessdata.fda.gov



รูปที่ 1 กลไกการทำงานของ EGFR และ PDGFR เมื่อ agonist เช่น EGF จับกับรีเซพเตอร์จะเกิด dimerization ตามด้วย autophosporylation ของส่วนเอนไซม์ใน cytoplasm เอนไซม์จะทำการ phosphorylation เอนไซม์เป้าหมายที่มีโครงสร้าง SH-2 domain ในลำดับต่อไป ได้แก่ phosphoinositide-3-kinase (PI3K) และ protein kinase-B (Akt) หรือไปวิถีอื่น ได้แก่ mitogen-activated kinase (MAPK) คือ Ras-Raf-Mek-MAPK นำไปสู่การควบคุมการแสดงออกของยีนจำนวนมากที่เกี่ยวข้องกับการอยู่รอดและแบ่งตัว

ยีน EGFR หรือ ErbB1 มีการแสดงออกสูงในเซลล์มะเร็งหลายชนิด เช่น head and neck, lung, colon, breast, and kidney ผู้ป่วยมะเร็งที่มีการแสดงออกของ EGFR มากมักจะมีการพยากรณ์ของโรคที่ไม่ดีนัก ส่งผลให้เกิด metastasis ได้ตั้งแต่ระยะแรกๆ นอกจากนี้ยังพบว่าการที่ EGFR-2 หรือ Her-2 มีการแสดงออกของยีนสูงจะสัมพันธ์กับการลุกลามของมะเร็ง (advanced tumor stage) และการดื้อต่อยาเคมีบำบัดและรังสีรักษา ดังนั้น EGFR/Her-2 อาจเป็นตัวชี้วัดที่สำคัญในมะเร็งหลายชนิด เช่น มะเร็งเต้านมที่มีการแสดงออกของยีน HER2 สูง[7] เนื่องจาก EGFR มีความสำคัญต่อการอยู่รอดของเซลล์มะเร็ง การยับยั้งการทำงานของ (1) รีเซพเตอร์ที่ผิวเซลล์เมมเบรน (2) การทำงานของเอนไซม์ tyrosine protein kinase ภายในเซลล์ หรือ (3) เอนไซม์ที่อยู่ในวิถีทางที่ถูกกระตุ้นด้วย EGFR ซึ่งประกอบด้วยวิถีเอนไซม์ที่สำคัญ 2 วิถีคือ Ras/Raf/MAPK และ PI3K/Akt[6, 8] จึงมีความสำคัญที่จะนำไปสู่การพัฒนาเป็นยาเคมีบำบัด ในทางคลินิกได้มีการนำยากลุ่มนี้มาใช้บ้างแล้ว โดยแบ่งยากลุ่มนี้เป็น 2 ชนิดคือ

1. Monoclonal antibodies เช่น cetuximab (Erbitux®: Bristol-Myers Squibb), panitumumab (Vectibix®: Amgen) ยาทำหน้าที่เป็น antibody IgG ที่จำเพาะต่อรีเซพเตอร์ EGFR ที่แสดงอยู่บนผิวเซลล์ เมื่อยาจับรีเซพเตอร์จะยับยั้งไม่ให้ ligands เข้ามาจับที่ตัวรีเซพเตอร์ ทำให้ลดการทำงานของรีเซพเตอร์และลดการแสดงออกของยีนที่ชักนำให้เซลล์มะเร็งเจริญเติบโต นอกจากนี้ cetuximab ที่เป็น IgG1 เมื่อรวมตัวก่อ antibody-EGFR complex จะชักนำให้เกิดการกระตุ้น complement และให้เกิด antibody-dependent cellular cytotoxicity (ADCC) ทำให้เซลล์มะเร็งถูกทำลาย ยา cetuximab ได้รับอนุมัติจาก FDA สหรัฐเพื่อใช้รักษา head and neck cancer โดยใช้ร่วมกับการฉายรังสีบำบัด หรือใช้เดี่ยวๆ ในผู้ป่วยที่เคยใช้ยากลุ่ม platinum มาก่อน นอกจากนี้ได้นำมาใช้ร่วมกับยาเคมีบำบัด เช่น irinotecan ใน มะเร็งลำไส้ระยะลุกลาม (metastatic colon cancer)

2. Small-molecule tyrosine kinase inhibitors (TKI)

ยาสังเคราะห์นี้เป็นโมเลกุลขนาดเล็ก (เมื่อเปรียบเทียบกับ monoclonal antibody ข้างต้น) ในการออกฤทธิ์ยาจะต้องเข้าไปในเซลล์และจับกับตัวรับภายในเซลล์ที่มักเป็น tyrosine kinase domain เป็นส่วนอุ้งที่ ATP ไปจับ ทำให้ป้องกันการจับของ ATP และยับยั้งปฏิกิริยา phosphorylation ของ tyrosine kinase ของ EGFR ยา gefitinib (Iressa®), ได้รับการอนุมัติจาก FDA สหรัฐอย่างรวดเร็วเมื่อผลการทดลองเบื้องต้นในมนุษย์ระยะที่ 2 (phase II) ในมะเร็ง NSCLC ให้ผลการรักษาที่น่าสนใจ ผู้ป่วยมี median survival time 7.6-8 เดือน[9] อย่างไรก็ตาม การศึกษาทางคลินิก phase III พบว่าการใช้ gefitinib ร่วมกับยาเคมีบำบัด ให้ผลไม่แตกต่างกันระหว่างการมี gefitinib ร่วมด้วยหรือไม่[10, 11] ทำให้ FDA สหรัฐเปลี่ยนแปลงข้อบ่งใช้ยา gefitinib ให้ใช้เฉพาะผู้ป่วยที่เคยตอบสนองต่อ gefitinib มาก่อน สำหรับ erlotinib (Tarceva®) นั้นปัจจุบันยังได้รับอนุมัติในข้อบ่งใช้ในผู้ป่วยมะเร็งปอดอยู่ เนื่องจากพบว่าการใช้ยานี้

ในผู้ป่วยที่ดื้อต่อยายาเคมีบำบัดแล้วสามารถเพิ่มการอยู่รอดได้อย่างมีนัยสำคัญ[12]

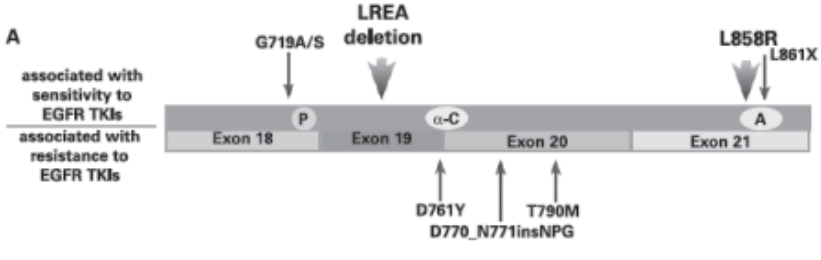
อย่างไรก็ตามผลการรักษาของยาทั้ง 2 เกิดขึ้นน้อยกว่าที่ได้คาดหวังไว้ การวิเคราะห์ในผู้ที่ตอบสนองต่อยาพบว่าคนไข้ที่ไม่เคยสูบบุหรี่ เพศหญิง ประชากรเชื้อชาติเอเชียและพยาธิวิทยาของมะเร็งเป็นแบบ adenocarcinoma จะตอบสนองต่อยาได้ดี และที่สำคัญคือ ผู้ที่มี mutation ของ EGFR ในบางตำแหน่ง เช่น deletion exon 19, mutation ที่ G719A/S, L858R และ L861Q หรือมีการเพิ่มจำนวนชุดของยีนนี้จะมีผลให้ตอบสนองต่อยาได้ดีขึ้น[13, 14] (รูปที่ 2) กลุ่มผู้ที่ตอบสนองต่อยาพบ EGFR mutation ตั้งแต่ร้อยละ 55-80 ในขณะที่ผู้ที่ไม่ตอบสนองมี mutation เพียงร้อยละ 16-26 ผู้ที่มี mutation มี overall survival เฉลี่ยยาวกว่าผู้ที่ไม่มี mutation 14-30 เดือน เปรียบเทียบกับ 5-8 เดือน ผลของการเกิด mutation พบว่าทำให้ยาทั้ง 2 สามารถจับกับ ATP binding pocket ด้วย affinity ที่สูงขึ้นมาก ขณะเดียวกันมี Km ต่อ ATP เพิ่มขึ้น[13] หมายถึงความสามารถในการจับกับ ATP ลดลง

อย่างไรก็ตามผู้ป่วยมะเร็งปอดที่ตอบสนองต่อยาในระยะแรกมักจะเปลี่ยนเป็นไม่ตอบสนองในที่สุด โดยพบว่าเกิด mutation ขึ้นที่ยีน EGFR ที่สัมพันธ์กับการดื้อยาพบที่ตำแหน่ง T790M รูปที่ 2 แสดงตำแหน่งที่พบ single nucleotide polymorphism (SNP) แสดงในแถวล่างในรูปที่ 2 พบมีความสัมพันธ์กับการดื้อยาทั้ง 2 ชนิด การเกิด mutation นี้จะได้กรดอะมิโนที่มีขนาดใหญ่กว่าทำให้ gefitinib และ erlotinib ไม่สามารถเข้าไปในตำแหน่งอุ้งของเอนไซม์ที่ปกติยาเข้าไปจับ ทำให้ไม่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ kinase

การรักษามะเร็งปอดชนิด non-small cell lung cancer (NSCLC) ที่ยา gefitinib และ erlotinib ได้ตั้งใจนำมาใช้ตั้งแต่แรก แม้ยาทั้ง 2 จะให้ response rate ที่ดีกว่ายาหลอกแต่ระยะเวลาการมีชีวิตอยู่รอดโดยรวมๆ ไม่เพิ่มขึ้นเท่าไร ถึงแม้จะใช้ร่วมกับยาเคมีบำบัดมาตรฐานต่างๆ ในทำนองเดียวกับการนำ cetuximab ไปรักษามะเร็งลำไส้ใหญ่ (ตารางที่ 2) แต่ที่น่าสนใจ

ตารางที่ 2 ยามุ่งเป้าหมาย EGFR กับผลการทดลองทางคลินิก แบ่งตามการเปรียบเทียบกับ placebo หรือตามผลการตรวจการเกิด mutation/IHC (ข้อมูลรวบรวมจากจากรายงานต่างๆ[13, 15-17])

Agent & comparison	Tumor (type of study)	Response(%)	Median overall survival
Gefitinib vs placebo	NSCLC (ISEL, phase III)	8% vs 1%	5.6 vs 5.1 mo (ns)
Erlotinib vs placebo	NSCLC (BR.21, phase III)		6.7 vs 4.7 mo (p<0.05)
Gefitinib: Mutation vs wild type	NSCLC (IDEAL, phase II)	46% vs 10%	
Erlotinib: Mutation vs wild type	NSCLC (BR.21)	30% vs 8%	
Gem + cisplatin ± gefitinib (500 and 250mg)	NSCLC (INTACT1 & II, phase III)	49.7% vs 50.3% vs 44.8%	9.9 vs 9.9 vs 10.9 mo (placebo vs 500mg vs 250mg)
Gefitinib ± chemotherapy: mutation vs wild type	NSCLC (INTACT)	72% vs 55%	19.4 -14.6 vs 9.2-9.3 mo
Gem + cisplatin ± erlotinib	NSCLC (TALENT, phase III)	31.5% vs 29.9%	43 vs 44.1 wk
Irinotecan ± cetuximab	Colorectal cancer, phase III	22.9 vs 10.8	8.6 vs 6.9 mo



รูปที่ 2 ตำแหน่งที่เกิด mutation บนยีน EGFR ที่ตรวจพบในเนื้อเยื่อมะเร็งจากผู้ป่วย ตำแหน่ง mutation ที่แถวบนมีความสัมพันธ์กับการตอบสนองต่อยา gefitinib และ erlotinib ขนาดลูกศรแทนความถี่ของ mutation ที่พบในประชากร โดยที่ deletion ที่ exon 19 และ mutation L858R มีความถี่สูงสุดรวมเป็นร้อยละ 86 ของ mutation ที่พบ นอกจากนี้ยังมี mutation ที่ตำแหน่งอื่นๆ อีกมากบนยีน EGFR แต่ความสัมพันธ์กับลักษณะปรากฏยังไม่ชัดแจ้ง (ภาพจาก Riely และคณะ[13])

มากคือในผู้ป่วยที่ใช้ยา gefitinib หรือ erlotinib เมื่อจัดกลุ่มตามการปรากฏ mutation ของ EGFR พบว่าผู้ป่วยที่มี mutation มีการตอบสนองที่สูงกว่ามาก และเมื่อใช้ร่วมกับยาเคมีบำบัด ผู้ที่มี mutation จะเพิ่มระยะเวลามีชีวิตมากขึ้น (ตารางที่ 2) อย่างไรก็ตามการตรวจ mutation นี้เป็นการตรวจย้อนหลัง ยังคงต้องรอผลการศึกษาแบบไปข้างหน้า (prospective study) ต่อไปว่าการตรวจทางพันธุกรรมจะให้ผลการรักษาที่เพิ่มอัตราการอยู่รอดขึ้นอย่างมีความหมายหรือไม่

สำหรับ Her-2 /neu เป็นยีนในตระกูล EGFR หรือ Her เช่นกันแต่เป็นรีเซพเตอร์ที่ไม่พบว่ามี ligand ใดที่จำเพาะ อย่างไรก็ตาม Her-2 สามารถถูกกระตุ้นได้ด้วยการรวมกับ EGFR อื่นๆ เมื่อ EGFR นั้นถูก ligand จำเพาะกระตุ้น เช่น EGFR หรือ Her-3 เกิด herterodimerization กับ Her-2 ทำให้สามารถส่งสัญญาณได้แรงกว่าการเดิมที่ไม่ใช้ Her-2 ในมะเร็งเต้านมพบว่ามีร้อยละ 10-34 ที่มีการแสดงออกของโปรตีน หรือจำนวนสำเนาของยีน Her-2 มากผิดปกติ และที่สำคัญพบว่ามีความสัมพันธ์กับความรุนแรงของโรค การบุกรุก แพร่กระจาย การมีชีวิตอยู่รอดของผู้ป่วยและการรักษาที่ไม่ได้ผลของมะเร็งเต้านมนี้[18] ดังนั้นผู้ป่วยจึงได้รับการแนะนำให้ตรวจสถานะภาพของ Her-2 ก่อนที่จะใช้ยา trastuzumab (Herceptin®) ซึ่งเป็น monoclonal antibody ต่อ Her-2 เทคนิคการตรวจประกอบด้วยการตรวจชิ้นเนื้อด้วยวิธี immunohistochemistry (IHC) เป็นการย้อมเซลล์มะเร็งด้วย antibody ต่อโปรตีน Her-2 เป็นการหาการแสดงออกของโปรตีน Her-2 โดยผู้ที่ได้ผลตรวจบวกระดับ 3+จึงสมควรใช้ยานี้ นอกจากนี้ยังสามารถตรวจจำนวนสำเนาของยีน Her-2 ที่เพิ่มขึ้นด้วยวิธีเทคนิค fluorescent in situ hybridization (FISH) มีสัดส่วน Her-2 ต่อ chromosome 17 มากกว่า 2 ซึ่งบ่งถึงการเกิดเพิ่มจำนวนก๊อปปี้ของ Her2 (gene duplication) จึงสมควรใช้ยานี้[18] นอกจาก trastuzumab แล้ว ยา TKI ที่ยับยั้ง tyrosine kinase ที่ยับยั้งทั้ง EGFR ร่วมกับ Her-2 เช่น lapatinib และ vandetanib โดยยาตัวแรกได้การรับรองให้ใช้ในมะเร็งเต้านม และยาทั้งคู่กำลังศึกษาในมะเร็งปอด (ตารางที่ 1)

สำหรับมะเร็งท่อน้ำดี การแสดงออกของ EGFR ในคนเอเชียมีรายงานไว้ตั้งแต่ร้อยละ 13.6 ถึงร้อยละ 27.4[19] สำหรับใน intrahepatic cholangiocarcinoma และร้อยละ 19.2 ใน extrahepatic cholangiocarcinoma[20] ด้วยวิธี IHC นอกจากนี้การวิเคราะห์ activating mutation ที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อยา มีรายงานในผู้ป่วยมะเร็งปอดในคนไทยพบว่ามี deletion ที่ exon 19 และ point mutation ที่ exon 21 ร้อยละ 48.3 และ 9.3 ตามลำดับ รวมที่มี mutation ร้อยละ 57.4 จากประชากรวิเคราะห์ทั้งหมด 61 คน[21] ซึ่งนับว่ามีสูงมาก ทำให้ผู้ป่วยไทยมีโอกาสที่จะได้รับประโยชน์จากยา TKI ดังนั้นจึงเป็นที่น่าสนใจว่าผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีจะมีอุบัติการณ์ mutation เป็นอย่างไร และจะมีการตอบสนองต่อยากลุ่มนี้เช่นไร

ในขณะที่การแสดงออกของ Her-2 ในผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีมีรายงานที่แตกต่างกัน กล่าวคือ Suzuki และคณะรายงานโดยการย้อมชิ้นเนื้อด้วย IHC พบร้อยละ 26.3 (จาก 29 คน) ในผู้ป่วยไทยซึ่งมีพอๆ กับผู้ป่วยญี่ปุ่น[22] ในอีกรายงานในผู้ป่วยไทยที่เป็นมะเร็งท่อน้ำดีโดยวิธี IHC พบร้อยละ 32.3 (จาก 31 คน) ในขณะที่รายงานใหม่ตรวจด้วยวิธีเดียวกันนี้ในผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีชาวญี่ปุ่นมีเพียงร้อยละ 5 (จาก 236 คน) เท่านั้น[20] ความแตกต่างกันในรายงานเหล่านี้อาจขึ้นกับเทคนิคการประเมินด้วยวิธี IHC ซึ่งได้ปรับให้มีมาตรฐานเดียวกันเมื่อไม่นานมานี้เอง

การใช้ยา TKI ที่ถือว่าออกฤทธิ์แบบมุ่งเป้า หรือ targeted drug therapy ได้เริ่มนำมาทดลองเร็วๆนี้ ผลรายงานเบื้องต้นการใช้ erlotinib ในผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดี 42 คน พบ response rate ร้อยละ 8 และ median survival 7.5 เดือน[23] ในขณะที่การใช้ lapatinib ที่ยับยั้งทั้ง EGFR และ Her-2 พบ response rate เป็นศูนย์ ในผู้ป่วย 19 รายและ median survival 1.8 เดือน[24] นอกจากนี้ยาที่ออกฤทธิ์หลายตำแหน่ง (multi-targeting drug) เช่น sorafenib (ตารางที่ 1) รายงานในปีที่แล้ว 2007 ให้ผลไม่แตกต่างกันมากนัก กล่าวคือพบ response rate ร้อยละ 6 และ median survival 6 เดือน[25] อย่างไรก็ตามการศึกษาเหล่าไม่ได้ระบุว่าได้ทำการตรวจหา mutation เพื่อคัดเลือกผู้ป่วย ผลการรักษาอาจจะดีกว่านี้ถ้ามีการตรวจกรองผู้ป่วยถึงการแสดงออกของ EGFR และ Her-2

การยับยั้ง Tyrosine kinase อื่นๆ

เอนไซม์ tyrosine kinase ที่อยู่ในความสนใจในปัจจุบันได้แก่ Bcr-Abl และ vascular endothelial growth factor (VEGF) receptor การแสดงออกมากผิดปกติของ Bcr-Abl พบในผู้ป่วย CML โดยเกิดจากการแตกหักและต่อกันใหม่ของโครโมโซมคู่ที่ 9 และ 22 เกิดเป็นโครโมโซมใหม่เรียก Philadelphia chromosome ก่อให้เกิดยีนลูกผสมที่เกิดจากยีน Bcr และ Abl มาต่อกันเกิดเป็น Bcr-Abl ที่มีการทำงานมากผิดปกติที่นำไปสู่การแบ่งตัวและเป็นมะเร็ง ยาตัวใหม่ที่มีประสิทธิภาพในการรักษา chronic myelogenous leukemia (CML) ดีมาก คือ imatinib เป็น TKI ยับยั้งเอนไซม์ Bcr-Abl[26] ปัจจุบันถือว่า imatinib (Gleevec®) เป็นยามาตรฐานในการรักษา CML และ gastrointestinal stromal tumors (GIST) ซึ่งมีการแสดงออกมากผิดปกติของ c-Kit oncogene โดยเฉพาะการรักษาใน CML ถือว่ามีประสิทธิภาพมาก เนื่องจากยา

สามารถทำให้เกิด complete hematological (blood) response สูงถึงร้อยละ 96.8 มี major cytogenetic (cellular) response ได้สูงถึงร้อยละ 87.1 และ major molecular response ร้อยละ 39 ทั้งหมดนี้ทำการประเมินเมื่อรักษาได้ 12 เดือน[27] ยา "Imatinib" ถือเป็นยาตัวแรกของกลุ่ม "targeted drug therapy" ที่ประสบความสำเร็จสูงมากอย่างที่ไม่เคยมียาใดๆ ในพวกยาเคมีบำบัดเคยทำได้ ทำให้ก่อกระแสการค้นคว้ายา TKI ตามมาจำนวนมาก

การอยู่รอดและการแพร่กระจายของมะเร็งมักอาศัย growth factor เช่น VEGF เพื่อเพิ่มการสร้างหลอดเลือดใหม่ให้มีเลือดไปเลี้ยงเนื้อมะเร็งมิฉะนั้นเนื้อมะเร็งจะขาดออกซิเจนและตาย ในผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีชาวญี่ปุ่นพบมีการแสดงออกของ VEGF สูงถึงร้อยละ 56.8[20] และพบ c-Met ในผู้ป่วยไทยและญี่ปุ่นร้อยละ 43.5 มีรายงานเบื้องต้นของการใช้ยาที่เป็น monoclonal antibody ต่อ VEGF คือ bevacizumab ที่ใช้ร่วมกับเคมีบำบัดคือ gemcitabine และ oxaliplatin ในการศึกษา phase II ในผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีและถุงน้ำดีจำนวน 19 ราย ที่ผ่าตัดไม่ได้หรือโรคแพร่ลุกลามแล้ว พบผลตอบสนองที่น่าสนใจยิ่งถึงร้อยละ 57.9[28] อย่างไรก็ตามยังคงต้องรอผลรายงานฉบับเต็มของการศึกษานี้

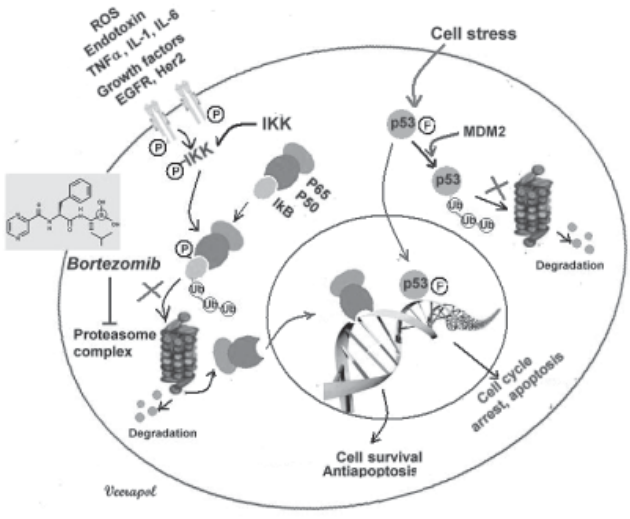
ยาตระกูล TKI ที่ออกฤทธิ์ยับยั้ง kinase หลายชนิด หรือ muti-target kinase inhibitor ได้พัฒนาขึ้นมาจำนวนมาก (ตารางที่ 1) โดยหวังว่ากลไกการออฤทธิ์จะร่วมกันส่งเสริมการทำงาน อย่างไรก็ตามยา TKI แต่ละชนิดมีแบบแผนการยับยั้ง kinome ที่ไม่เหมือนกันอยู่แล้ว[29] ตัวอย่างเช่น sunitinib (Sutent®), sorafenib (Nexavar®) หรือ vandetanib (Zactima®) แม้แต่ single-target เช่น gefitinib ก็แตกต่างจาก erlotinib ผลของยา muti-target ในการศึกษาเซลล์เพาะเลี้ยงหรือสัตว์ทดลองที่ปลูกถ่ายเซลล์มะเร็งให้ผลที่น่าสนใจมาก การศึกษาทางคลินิก เช่น sorafenib ร่วมกับ bevacizumab ในมะเร็งรังไข่ หรือร่วมกับ cytotoxic ใน melanoma ก็ให้ผลรักษาที่น่าสนใจเช่นเดียวกับผลการรักษาด้วย sunitinib ในมะเร็งเต้านมหรือมะเร็งปอดที่ดื้อยาอื่นแล้ว ยุทธศาสตร์การใช้ยา muti-target kinase เหล่านี้จะดูเข้ากับชีววิทยาของมะเร็งที่มีการเปลี่ยนแปลงหลากหลายในระบบส่งสัญญาณ สาร staurosporine ที่มีฤทธิ์แรงมากที่สุด สามารถยับยั้งเอนไซม์ kinase ได้แทบทุกชนิด แต่ยังไม่สามารถนำมาใช้เป็นยาเนื่องจากมีพิษสูงมาก นอกจากนี้ความหวังที่ยา muti-target kinase จะสามารถออกฤทธิ์แบบ broad spectrum ได้ก็พบว่าไม่เป็นจริงเสมอไปเมื่อทดลองใช้ทางคลินิก[30] ดังนั้นยังต้องมีการศึกษาอีกมากในการกำหนดบทบาทของยา multi-target kinase เหล่านี้ในการใช้ทางคลินิก

การยับยั้ง Proteasome

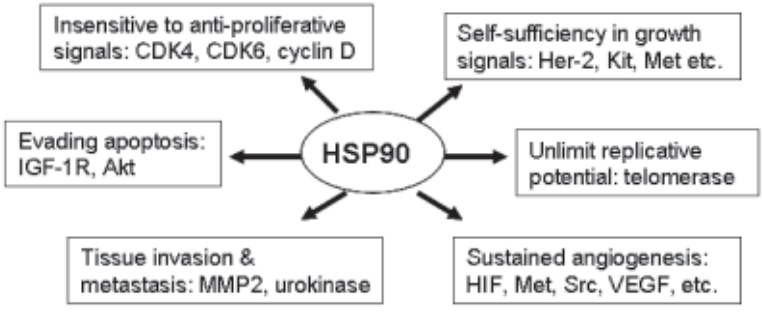
Proteasome เป็น multisubunit enzyme มีหน้าที่ในการกำจัดโปรตีนที่เหลือใช้หรือไม่ต้องการภายในเซลล์หรือเป็นโปรตีนที่มีอายุใช้งานสั้นๆ (short-lived functional proteins) โปรตีนที่จะถูกทำลายโดย proteasome จะต้องถูกติดสลากด้วยโปรตีน ubiquitin (ubiquitin เป็นโปรตีนขนาดเล็กขนาด 8.6 kDa พบจำนวนมากใน eukaryote) หลังจากนั้นโปรตีนที่ติดสลากจะถูกนำเข้าไปย่อยในเอนไซม์ proteasome complex โปรตีนที่เป็นซับสเตรทส่วนใหญ่จะเป็นโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการแบ่งตัว เติบโตและ apoptosis และรวมทั้งโปรตีนที่เกิดบาดเจ็บ โปรตีนเสียธรรมชาติจากกระบวนการ oxidative damage หรืออื่นๆ Proteasome มีหน้าที่ควบคุมระดับของโปรตีนสำคัญภายในเซลล์และรักษาสมดุลของการทำงานภายในเซลล์ให้เหมาะสม (รูปที่ 3) เช่น ควบคุม cyclin A, B, D, E, tumor suppressor protein p53, pro-apoptotic protein Bax, cyclin-dependent kinase inhibitor p27, และ NF-κB inhibitor (IκB) การยับยั้งวิถี ubiquitin-proteasome ในเซลล์มะเร็งจะส่งผลให้มีการลดการทำลายโปรตีนกลุ่ม tumor suppressor และ pro-apoptotic proteins จึงส่งเสริมการตายของเซลล์มะเร็ง ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ในการนำ proteasome inhibitor มาใช้ในการรักษามะเร็ง ยาตัวแรกที่มีใช้คือ "Bortezomib" (Velcade®)

การยับยั้งการทำงานของ proteasome จะมีผลทำให้ยับยั้ง cell cycle ที่ G1/S และ G2/M phases มีการสะสมของ pro-apoptotic mediators เช่น Bim จะนำไปสู่การตายของเซลล์เนื่องจาก Bim ทำให้ mitochondria เสียหน้าที่การทำงาน มีการกระตุ้น caspase3 และ caspase8 นำไปสู่การตายแบบ apoptosis Proteasome inhibitor มีผลยับยั้งต่อกระบวนการ pro-survival transcription factor เช่น NF-κB โดยการยับยั้ง proteasome จะลดการทำลาย IκB ที่เป็นโปรตีนทำหน้าที่จับและยับยั้งการทำงานของ NF-κB (รูปที่ 3) ทำให้ลดการเคลื่อนที่ของ NF-kB เข้าสู่นิวเคลียสและชักนำให้เกิดการแสดงของยีนที่ส่งเสริมการอยู่รอด การลดการกระตุ้นการอยู่รอดทำให้เซลล์มะเร็งตายในที่สุด พบว่าเซลล์มะเร็งบางชนิด เช่น myeloma cells จะมีความไวต่อ proteasome inhibitor มากกว่าเซลล์ปกติ[17]

ปัจจุบัน 26 S proteasome inhibitor เช่น bortezomib เป็นพวก dipeptide boronic acid analogue สามารถชักนำทำให้เกิดการตายของเซลล์มะเร็งหลายชนิด เช่น prostate, ovarian, lung, colorectal, breast, และ non-Hodgkins lymphoma ซึ่งกลไกที่คาดไว้คือการที่ bortezomib ลดการทำลาย IκB ได้มีการนำยานี้มาใช้ทางคลินิกและที่ได้ผลดีมากคือ multiple myeloma และมีการศึกษาในผู้ป่วยมะเร็งปอดอีกด้วย (ตารางที่ 1)



รูปที่ 3 การทำลายโปรตีนโดย proteasome complex เมื่อเซลล์ถูกกระตุ้นด้วยสัญญาณอักเสบ เช่น cytokine. IkB ที่รวมอยู่กับ NF-kB และยับยั้งการทำงานของ NF-kB จะถูก ubiquitination และถูกนำไปทำลายด้วย proteasome ทำให้ NF-kB เป็นอิสระที่จะเข้าไปกระตุ้นการแสดงออกของยีนต่างๆ ทำนองเดียวกัน สัญญาณเซลล์บาดเจ็บ DNA เสียหายจะกระตุ้น p53 ให้ทำงานโดยยับยั้งการแบ่งเซลล์และชักนำให้เซลล์ตาย แต่ในเซลล์มะเร็ง p53 ถูก ทำลายอย่างรวดเร็วโดยวิถี ubiquitin-proteasome Bortezomib สามารถยับยั้ง 26S proteasome ทำให้ยับยั้งการกระตุ้น NF-κB และยับยั้งการทำลาย p53



รูปที่ 4 คุณลักษณะของเซลล์มะเร็งที่อาศัยสารสัญญาณที่ได้รับหรือสร้างขึ้นเองเพื่อให้มีความสามารถอยู่รอดได้อิสระ ไม่ตอบสนองสัญญาณยับยั้งจากเนื้อเยื่อปกติ สามารถเพิ่มจำนวน สร้างหลอดเลือด บุกรุก โปรตีนสารสัญญาณเหล่านี้ถูกกำกับให้สามารถทำงานได้ด้วย HSP90

การยับยั้ง Heat shock protein 90

โปรตีน Heat shock protein 90 (HSP90) มีภายในเซลล์คิดเป็นร้อยละ 1-2 ของ cytosolic protein มีหน้าที่หลักเป็นพี่เลี้ยงแก่โปรตีนต่างๆ ที่สังเคราะห์ขึ้น (chaperone protein) เพื่อให้โปรตีนเหล่านั้นสามารถม้วน ขดตัวให้มีโครงสร้างทุติยภูมิและตติยภูมิที่ถูกต้อง ทำให้สามารถทำงานได้ ดังนั้นการทำงานของ HSP90 จึงเกี่ยวข้องกับการส่งสัญญาณภายในเซลล์ การแบ่งตัว ของเซลล์ปกติ และรวมทั้งการกระตุ้น oncoprotein ให้ทำงานด้วย เช่น mutant p-53, Her-2 และ Bcr-Abl ให้ทำงาน การยับยั้ง HSP90 จึงเป็นกลยุทธที่สามารถยับยั้งการเติบโตของเซลล์มะเร็ง เนื่องจากการออกฤทธิ์ยับยั้ง HSP90 ไม่ได้มีผลต่อกับโมเลกุลเป้าหมายโมเลกุลเดียว แต่อาจเกี่ยวข้องกับเอนไซม์ โปรตีนวิถีทางหลายแบบที่นำไปสู่การเติบโต แพร่กระจายของมะเร็ง เนื่องจากเซลล์มะเร็งอาจต้องการสัญญาณจากภายนอกเซลล์ รวมทั้งมีความสามารถผลิตสัญญาณเองได้เพื่อให้เอื้อการอยู่รอด ดังนั้นการยับยั้งการทำงานของโปรตีนที่มีการทำงานมากผิดปกติจึงอาจยับยั้งคุณลักษณะต่างๆ ของมะเร็งลงได้[31] (รูปที่ 4)

โปรตีนเช่น CDK4, IGF-1R, Akt มีการทำงานมากผิดปกติในมะเร็งบางชนิด การยับยั้ง HSP90 ทำให้โปรตีนเหล่านี้ถูกทำลายเพิ่มขึ้น และยับยั้งการแสดงของยีนเหล่านี้อีกด้วย สารเคมีจากธรรมชาติ เช่น geldanamycin และอนุพันธ์ที่มีคุณสมบัติเป็นยาได้คือ tanespimycin (17-AAG) และ retaspimycin และได้นำไปใช้ศึกษาในผู้ป่วยมะเร็ง multiple

myeloma, GIST และ NSCLC เป็นต้น[32]

การยับยั้ง Histone deacetylase

เอนไซม์ histone deacetylase (HDAC) เป็นเอนไซม์สำคัญที่ทำงานร่วมกับ histone acetylase (HAT) ในการควบคุมการขดตัวและคลายเกลียวของสายโครมาติน โดย HAT จะ acetylation ยังหมู่ lysine ของ histone โปรตีนที่จับกับ DNA และโปรตีนอื่นที่ไม่ใช่ฮีสโตน (non-histone protein) ทำให้สาย DNA คลายเกลียวออกทำให้ RNA-polymerase สามารถชักนำกระบวนการ transcription ได้ ในทางตรงข้าม HDAC จะนำหมู่ acetyl ออก (deacetylation) ของโปรตีน histone และ non-histone proteins ทำให้สาย DNA ขดเป็นเกลียวแน่นและหยุดกระบวนการ transcription การเปลี่ยนแปลงการทำงานของ histone จัดเป็นกลไกแบบ epigenetic ในการควบคุมการแสดงออกของยีน การยับยั้ง HDAC ทำให้ histone และ non-histone protein มีภาวะถูก acetylation มากขึ้นส่งผลต่อการแสดงออกของยีน ยาที่มีฤทธิ์ยับยั้ง HDAC หรือ HDI มีใช้มานานแล้วในการรักษาทางจิตเวช เช่น เป็น mood stabilizer และยากันชัก ได้แก่ valproate sodium ปัจจุบันได้สนใจนำมาใช้ใน neurodegenerative disease และ โรคมะเร็ง ในระหว่างการเกิดมะเร็ง tumor suppressor gene อาจถูกกดการทำงานโดยกลไก histone deacetylation มีการทำงานผิดปกติ ดังนั้นจึงพบว่า HDI เช่น vorinostat: suberoylanilide hydroxamic acid: (SAHA) (Zolinza®) สามารถชักนำเพิ่มการแสดงออกของยีน p21(WAF1)[33] ซึ่งควบคุมการแสดงออกของ p53 ทำให้ยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็ง Vorinostat ได้รับการรับรองจาก FDA สหรัฐในการใช้รักษา cutaneous T-cell lymphoma (ตารางที่ 1) ซึ่งเป็น non-Hodgkin's lymphoma แบบหนึ่งโดยมีกลไกเกี่ยวข้องกับการแสดงออกของ p21(WAF1), Bax และ STAT6 นำไปสู่การตายของ T-cell[34] มะเร็งบางชนิดที่มีความผิดปกติของ acetylation ได้แก่ leukemia, lymphoma, gastric, prostate, colon cancers การศึกษาในสัตว์ทดลอง vorinostat สามารถยับยั้งมะเร็ง prostate, acute promyelocytic leukemia, mantle lymphoma และ glioma ปัจจุบัน vorinostat และ romidepsin ได้นำไปศึกษาทางคลินิกในผู้ป่วยมะเร็งหลายชนิด

การยับยั้ง Cyclooxygenase-2 (COX-2)

เอนไซม์ COX เป็นเอนไซม์ที่มีหน้าที่ในการสังเคราะห์ prostaglandin (PGs) ภายในร่างกายจำนวนมากทั้งในปกติและพยาธิสภาพ โดยที่ PGs มีฤทธิ์กระตุ้นให้มีการแบ่งเซลล์ การศึกษาจำนวนมากพบความเกี่ยวโยงของ PGs กับการกระตุ้นการเจริญเติบโตของมะเร็งหลายชนิด เช่น มะเร็งลำไส้ใหญ่[35] มะเร็งเต้านม[36] และมะเร็งท่อน้ำดี[37] โดยมีความสัมพันธ์กับการเพิ่มการแสดงออกของยีนและเอนไซม์ COX-2[38-40] PGs สร้างได้ด้วยเอนไซม์ 2 ชนิดคือ COX-1 และ COX-2 ยีน COX-2 จะแสดงออกเมื่อถูกกระตุ้นได้ด้วยสภาวะต่างๆ เช่น การอักเสบ รวมทั้งสารสื่อต่างๆ เช่น cytokines, chemokines, growth factors สารสื่อเหล่านี้จะชักนำการสร้าง PGs

การศึกษาในเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีพบว่ามีการเพิ่มการแสดงออกของเอนไซม์ COX-2 การเพิ่ม PGE2 และนำไปสู่การส่งเสริมการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีและลดการตายแบบ apoptosis ยายับยั้งการทำงานของเอนไซม์ COX-2 เช่น ยากลุ่ม non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งหลายชนิดทั้งใน *in vitro* และ *in vivo* การศึกษาฤทธิ์ของ NSAIDs ในผู้ป่วยที่เป็น adenomatous polyposis พบว่ายา NSAIDs มีผลช่วยลดการลุกลามของมะเร็งและกระตุ้นการเกิด apoptosis การใช้ยายับยั้งแบบจำเพาะต่อ COX-2 เช่น celecoxib (SC-58635) สามารถลดการลุกลามของโรคมะเร็งลำไส้ได้ทั้งในการศึกษาในมนุษย์และสัตว์ทดลอง[41, 42] ข้อดีของยายับยั้ง COX-2 คือมีอาการข้างเคียงต่ำกว่าตัวยับยั้งแบบไม่เจาะจง เช่นยา aspirin หรือ sulindac นอกจากนี้ celecoxib ยังสามารถลดกระบวนการ phosphorylation ต่อ Akt มีผลในการลดการอยู่รอดของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีได้และนำไปสู่การตายแบบ apoptosis โดยจะมีผลเพิ่มกระตุ้นการหลั่ง cytochrome c, caspase-9 และ caspase-3 นอกจากนี้ celecoxib ยังมีผลยับยั้ง cyclin-dependent kinase inhibitors คือ $p21^{waf1/cip1}$ และ $p27^{kip1}$ นำไปสู่การเกิด cell cycle arrest ที่ G1/S checkpoint[43]

แม้จะพิสูจน์แล้วว่า NSAID สามารถป้องกันโดยลดอุบัติการณ์มะเร็งลำไส้ใหญ่ในมนุษย์ แต่การศึกษาใช้ยา celecoxib ร่วมกับเคมีบำบัดสูตรต่างๆ เช่น irinoctecan, 5-FU และ leucovorin[44] หรือ oxaliplatin, 5-FU และ folinic acid (FOLFOX7)[45] และรวมทั้งรายงานการศึกษาอื่นๆ ให้ผลสรุปที่สอดคล้องกันว่า การเพิ่ม celecoxib ไม่ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของยาเคมีที่ใช้อยู่ ไม่ว่าผู้ป่วยจะอยู่ในระยะใดของโรค และในบางรายงานการใช้ celecoxib กลับทำให้ประสิทธิภาพของยาเดิมลดลงด้วย จึงเป็นเรื่องที่น่าผิดหวังเกี่ยวกับยาที่มีภูมิหลังการศึกษาที่ดี ผู้เชี่ยวชาญให้ความเห็นว่าในการใช้ในการรักษามะเร็งอาจไม่ได้เกี่ยวกับการยับยั้ง COX เช่นที่เห็นเมื่อใช้ในการป้องกันมะเร็ง

การยับยั้งการกระตุ้น Transcription factor: AP-1, NF-κB

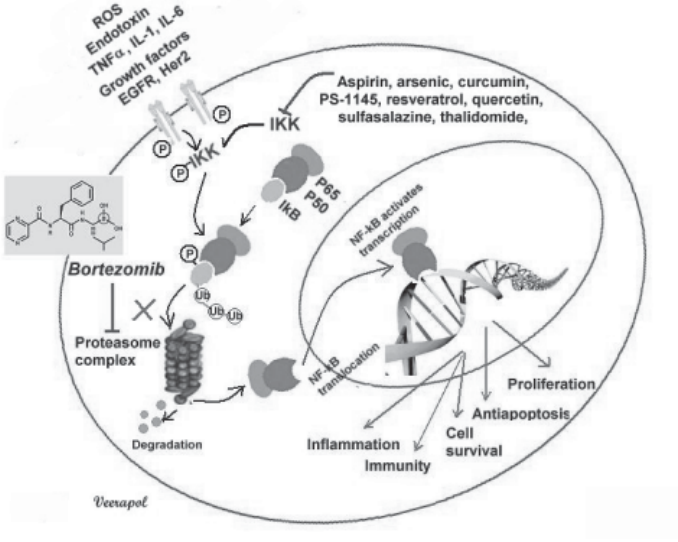
กลไกการดื้อยาเคมีบำบัดมีหลายกลไกด้วยกัน กลไกหนึ่งที่มีความสำคัญและกำลังเป็นที่น่าสนใจก็คือ กลไกที่ควบคุม transcription factors ที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของเซลล์

เช่น AP-1 และ NF-κB NF-κB มีบทบาทมากมายทั้งการอยู่รอดปกติ เช่น การทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน ปฏิกิริยาอักเสบและการกำจัดเซลล์ผิดปกติ อีกทั้งมีบทบาทในการก่อโรคต่าง เช่น อักเสบของข้อ โรคเสื่อมของระบบประสาท HIV, เบาหวาน หัวใจล้มเหลว และมะเร็ง Transcription factors เหล่านี้ถูกกระตุ้นด้วยภาวะเครียดออกซิเดชันและสัญญาณอักเสบ เช่น TNF-α, IL-1β, phorbol ester, รังสี ultraviolet หรือ endotoxin ทำให้มีการกระตุ้น kinase เช่น PI3K และ MAPK นำไปสู่ปฏิกิริยา phosphorylation กับ repressor protein ของ transcription factors ดังกล่าว ทำให้ transcription factors สามารถเคลื่อนตัวเข้าไปในนิวเคลียสและชักนำทำให้เกิดการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการแบ่งตัวเติบโต และชักนำให้เซลล์อยู่รอดและยับยั้งการตายของเซลล์ เนื่องจากการกระตุ้น antiapoptotic genes ของเซลล์มะเร็งบางชนิดอาศัยสัญญาณจากการทำงานของ NF-κB (รูปที่ 5) ยุทธวิธีการยับยั้งเซลล์มะเร็งที่สำคัญจึงได้แก่การยับยั้งการกระตุ้น transcription factor เหล่านั้นในเซลล์มะเร็ง[46] การศึกษาสารธรรมชาติที่มีฤทธิ์ในการยับยั้ง NF-κB และ AP-1 มาใช้ได้แก่ กลุ่ม flavonoids เช่น EGCG, genistein, curcumin, resveratol และ isothiocyanates[47] ทำให้การเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งถูกยับยั้งได้ นอกจากนี้ยีนที่อยู่ในวิถีของ NF-κB ได้แก่ เอนไซม์ที่มีฤทธิ์ป้องกันเซลล์บาดเจ็บ เช่น heme oxygenase1, γ-glutamylcyteine ligase และ NADPH quinine oxidoreductase-1 การศึกษาต่างๆ พบว่าเอนไซม์เหล่านี้มีผลป้องกันเซลล์บาดเจ็บ การแสดงออกที่มากในเซลล์มะเร็งอาจเกี่ยวข้องกับอยู่รอดและการดื้อต่อยาเคมีบำบัด ทำให้การใช้ยาเคมีบำบัดมีประสิทธิภาพลดลง

สารที่สามารถยับยั้งการกระตุ้น NF-κB มีการศึกษากันอย่างกว้างขวางประกอบด้วย

- ยากลุ่ม NSAIDs ได้แก่ aspirin, sulfasalazine จะมีการยับยั้ง phosphorylation ของ IKK และยับยั้งการเคลื่อนของ p65 subunits เข้าไปในนิวเคลียส
- Glucocorticoids กระตุ้นการสร้าง IκB ที่เป็น repressor protein ของ NF-κB
- PPAR-γ ligands เพิ่มการแสดงออกของ IκB และยับยั้ง IKK
- Immunosupressants เช่น thalidomide/lenalidomide และ macrolides
- proteasome inhibitors เช่น bortezomib และ NPI-0052 ลดการทำลาย IκB
- IKK inhibitors เช่น arsenic trioxide, manumycin A, PS-1145, BMS-345541, CHS-828, ACHP, AS602868, blocking peptides

ยาหลายชนิดได้นำมาใช้แล้วหรืออยู่ในระหว่างการศึกษา



รูปที่ 5 NF-κB ถูกกระตุ้นด้วยการอักเสบ ติดเชื้อแบคทีเรีย ไวรัส growth factor และสารออกซิแดนซ์ทำให้เกิดปฏิกิริยา phosphorylation ต่อ IKK ซึ่ง IKK จะทำการ phosphorylation IκB ทำให้ IκB จะถูกสลายโดยวิถี ubiquitin-proteasome ทำให้ NF-κB สามารถจะเคลื่อนเข้านิวเคลียสไปชักนำการแสดงออกของยีนต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ การเติบโต การอยู่รอด และแพร่กระจาย ยาต่างๆ และสารจากธรรมชาติหลายชนิดสามารถยับยั้ง phosphorylation ของ IKK จะลดการกระตุ้นการทำงานของ NF-kB

ทางคลินิก อย่างไรก็ตามยาส่วนใหญ่มีกลไกการออกฤทธิ์หลายแบบ การยับยั้ง NF-κB หรือ AP-1 จัดเป็นกลไกหนึ่งที่อาจมีส่วนสำคัญ

บทส่งท้าย

การรักษามะเร็งในปัจจุบันแม้จะมีความก้าวหน้าไปอย่างมาก มีการพัฒนายาใหม่ๆ จำนวนมากเกิดขึ้นตลอดเวลา แต่การเสียชีวิตของผู้ป่วยมะเร็งที่ลดลงนั้น ส่วนใหญ่เกิดจากเทคโนโลยีที่ดีขึ้น ในการตรวจพบโรคตั้งแต่ระยะแรกๆ และมาตราการป้องกันที่ดีขึ้นมากกว่า ในขณะที่การรักษามะเร็งในระยะสุดท้ายไม่มีความก้าวหน้าที่แท้จริงในตลอดระยะเวลาที่ผ่านมาหลายทศวรรษ ยาใหม่ๆ จำนวนมากที่แสดงผลถึงการเพิ่มอัตราการตอบสนอง แต่การเพิ่มอัตราการตอบสนองไม่สามารถแปลเป็นระยะเวลาการอยู่มีชีวิตรอดให้ยาวนานขึ้นอย่างมีความหมาย ค่าใช้จ่ายการใช้ยาที่เพิ่มขึ้นหลายแสนถึงหลายล้านบาทนั้นมักแลกได้ด้วยระยะเวลาเพิ่มขึ้นเพียงไม่กี่เดือนก่อนที่โรคจะกำเริบใหม่ นับเป็นภาระหนักแก่สังคมและต่อรัฐในการกำหนดนโยบายการรักษาผู้ป่วยมะเร็ง

แนวทางใหม่ในการรักษาที่กำหนดเป้าหมายโมเลกุลในเซลล์มะเร็งสร้างความหวังแก่นักวิทยาศาสตร์ ยา เช่น imatinib ที่ประสบความสำเร็จอย่างที่ไม่เคยเกิดขึ้นมาก่อน ปัจจุบันเริ่มตระหนักกันว่าการค้นพบนี้เป็นข้อยกเว้นมากกว่าเป็นกฎทั่วไปของยาใหม่เหล่านี้ เซลล์มะเร็งมีการพัฒนาต่อเนื่องตลอดเวลาซึ่งสามารถใช้กฎของชาลส์ ดาวินมาอ้างอิง นั่นคือการปรับตัวเพื่อการอยู่รอดของสิ่งมีชีวิต ดังนั้นการอยู่รอดมักเกิดจากการปรับตัวในเซลล์มะเร็งในหลายๆ ด้าน เพื่อให้มีทางเลือกหลายวิถีทางที่ให้เซลล์สามารถอยู่รอดได้และแพร่กระจาย การกำหนดเป้าหมายหนึ่งเดียวในการยับยั้งจึงอาจไม่ตอบข้อปัญหาในสถานะการณ์ของเซลล์มะเร็งที่ซับซ้อนการศึกษาให้เป็นระบบเพื่อเข้าใจถึงกระบวนการปรับตัวที่หลากหลายในมะเร็งแต่ละชนิดอาจนำไปสู่วิธีการเอาชนะการอยู่รอดของเซลล์มะเร็งได้ ยากำหนดเป้าหมายที่พัฒนาขึ้นในปัจจุบันบ่งชี้ว่ายาเหล่านี้ไม่สามารถเป็นยาครอบจักรวาลเพื่อรักษามะเร็งทุกๆ ชนิดได้ ในทางตรงข้ามยาเหล่านี้แสดงถึงวิถีทางที่มะเร็งสามารถหลีกเลี่ยงเอาชนะการถูกทำลาย ดังนั้นการต่อสู้กับมะเร็งยังถือว่าอยู่ในขั้นเริ่มต้น

เอกสารอ้างอิง

1. Sukhai M, Piquette-Miller M. Regulation of the multidrug resistance genes by stress signals. J Pharm Pharm Sci 2000; 3:268-80.
2. Kurathong S, Lerdverasirikul P, Wongpaitoon V, Pramoolsinsap C, Kanjanapitak A, Varavithya W, et al. Opisthorchis viverrini infection and cholangiocarcinoma. A prospective, case-controlled study. Gastroenterology 1985; 89:151-6.
3. Srivatanakul P, Ohshima H, Khlat M, Parkin M, Sukarayodhin S, Brouet I, et al. Endogenous nitrosamines and liver fluke as risk factors for cholangiocarcinoma in Thailand. IARC Sci Publ 1991:88-95.
4. Uttaravichien T, Bhudhisawasdi V, Pairojkul C, Pugkhem A. Intrahepatic cholangiocarcinoma in Thailand. J Hepatobiliary Pancreat Surg 1999; 6:128-35.
5. Salomon DS, Brandt R, Ciardiello F, Normanno N. Epidermal growth factor-related peptides and their receptors in human malignancies. Crit Rev Oncol Hematol 1995;19:183-232.
6. Yarden Y, Sliwkowski MX. Untangling the ErbB signalling network. Nat Rev Mol Cell Biol 2001; 2:127-37.
7. Slamon DJ, Godolphin W, Jones LA, Holt JA, Wong SG, Keith DE, et al. Studies of the HER-2/neu proto-oncogene in human breast and ovarian cancer. Science 1989;244:707-12.
8. Muthuswamy SK, Gilman M, Brugge JS. Controlled dimerization of ErbB receptors provides evidence for differential signaling by homo- and heterodimers. Mol Cell Biol 1999; 19:6845-57.
9. Fukuoka M, Yano S, Giaccone G, Tamura T, Nakagawa K, Douillard JY, et al. Multi-institutional randomized phase II trial of gefitinib for previously treated patients with advanced non-small-cell lung cancer (The IDEAL 1 Trial) [corrected]. J Clin Oncol 2003; 21:2237-46.
10. Giaccone G, Herbst RS, Manegold C, Scagliotti G, Rosell R, Miller V, et al. Gefitinib in combination with gemcitabine and cisplatin in advanced non-small-cell lung cancer: a phase III trial'INTACT 1. J Clin Oncol 2004; 22:777-84.
11. Herbst RS, Giaccone G, Schiller JH, Natale RB, Miller V, Manegold C, et al. Gefitinib in combination with paclitaxel and carboplatin in advanced non-small-cell lung cancer: a phase III trial--INTACT 2. J Clin Oncol 2004; 22:785-94.
12. Shepherd FA, Rodrigues Pereira J, Ciuleanu T, Tan EH, Hirsh V, Thongprasert S, et al. Erlotinib in previously treated non-small-cell lung cancer. N Engl J Med 2005; 353:123-32.
13. Riely GJ, Politi KA, Miller VA, Pao W. Update on epidermal growth factor receptor mutations in non-small cell lung cancer. Clin Cancer Res 2006; 12:7232-41.

14. Sequist LV, Bell DW, Lynch TJ, Haber DA. Molecular predictors of response to epidermal growth factor receptor antagonists in non-small-cell lung cancer. J Clin Oncol 2007; 25:587-95.
15. Bell DW, Lynch TJ, Haserlat SM, Harris PL, Okimoto RA, Brannigan BW, et al. Epidermal growth factor receptor mutations and gene amplification in non-small-cell lung cancer: molecular analysis of the IDEAL/INTACT gefitinib trials. J Clin Oncol 2005; 23:8081-92.
16. Rosell R, Taron M, Reguart N, Isla D, Moran T. Epidermal growth factor receptor activation: how exon 19 and 21 mutations changed our understanding of the pathway. Clin Cancer Res 2006; 12:7222-31.
17. Tsao MS, Sakurada A, Cutz JC, Zhu CQ, Kamel-Reid S, Squire J, et al. Erlotinib in lung cancer - molecular and clinical predictors of outcome. N Engl J Med 2005; 353:133-44.
18. Ross JS, Fletcher JA, Bloom KJ, Linette GP, Stec J, Symmans WF, et al. Targeted therapy in breast cancer: the HER-2/neu gene and protein. Mol Cell Proteomics 2004; 3:379-98.
19. Gwak GY, Yoon JH, Shin CM, Ahn YJ, Chung JK, Kim YA, et al. Detection of response-predicting mutations in the kinase domain of the epidermal growth factor receptor gene in cholangiocarcinomas. J Cancer Res Clin Oncol 2005; 131:649-52.
20. 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.
21. Sriuranpong V, Chantranuwat C, Huapai N, Chalermchai T, Leungtaweeboon K, Lertsanguansinchai P, et al. High frequency of mutation of epidermal growth factor receptor in lung adenocarcinoma in Thailand. Cancer Lett 2006; 239:292-7.
22. Suzuki H, Isaji S, Pairojkul C, Uttaravichien T. Comparative clinicopathological study of resected intrahepatic cholangiocarcinoma in northeast Thailand and Japan. J Hepatobiliary Pancreat Surg 2000; 7:206-11.
23. Philip PA, Mahoney MR, Allmer C, Thomas J, Pitot HC, Kim G, et al. Phase II study of erlotinib in patients with advanced biliary cancer. J Clin Oncol 2006; 24:3069-74.
24. Ramanathan RK, Belani CP, Singh DA, Tanaka M, Lenz HJ, Yen Y, et al. Phase II study of lapatinib, a dual inhibitor of epidermal growth factor receptor (EGFR) tyrosine kinase 1 and 2 (Her2/Neu) in patients (pts) with advanced biliary tree cancer (BTC) or hepatocellular cancer (HCC). A California Consortium (CCC-P) Trial. Journal of Clinical Oncology 2006; 24:181s-s.
25. El-Khoueiry AB, Rankin C, Lenz HJ, Philip P, Rivkin SE, Blanke CD. A phase II study of sorafenib (BAY 43-9006) as single agent in patients (pts) with unresectable or metastatic gallbladder cancer or cholangiocarcinomas. J Clin Oncol 2007; 25:4639.
26. Nowell PC, Hungerford DA. Chromosome studies on normal and leukemic human leukocytes. J Natl Cancer Inst 1960; 25:85-109.
27. O'Brien SG, Guilhot F, Larson RA, Gathmann I, Baccarani M, Cervantes F, et al. Imatinib compared with interferon and low-dose cytarabine for newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia. N Engl J Med 2003; 348:994-1004.
28. Clark JW, Meyerhardt DV, Sahani S, Namasivayam S, Abrams TA, Stuart K, et al. Phase II study of gemcitabine, oxaliplatin in combination with bevacizumab (GEMOX-B) in patients with unresectable or metastatic biliary tract and gallbladder cancers. J Clin Oncol 2007; 25:462s.
29. Karaman MW, Herrgard S, Treiber DK, Gallant P, Atteridge CE, Campbell BT, et al. A quantitative analysis of kinase inhibitor selectivity. Nat Biotechnol 2008; 26:127-32.
30. El-Maraghi RH, Eisenhauer EA. Review of phase II trial designs used in studies of molecular targeted agents: outcomes and predictors of success in phase III. J Clin Oncol 2008; 26:1346-54.
31. Xu W, Neckers L. Targeting the molecular chaperone heat shock protein 90 provides a multifaceted effect on diverse cell signaling pathways of cancer cells. Clin Cancer Res 2007; 13:1625-9.
32. Ramanathan RK, Egorin MJ, Eiseman JL, Ramalingam S, Friedland D, Agarwala SS, et al. Phase I and pharmacodynamic study of 17-(allylamino)-17-demethoxygeldanamycin in adult patients with refractory advanced cancers. Clin Cancer Res 2007; 13:1769-74.

33. Gui CY, Ngo L, Xu WS, Richon VM, Marks PA. Histone deacetylase (HDAC) inhibitor activation of p21WAF1 involves changes in promoter-associated proteins, including HDAC1. Proc Natl Acad Sci U S A 2004; 101:1241-6.
34. Zhang C, Richon V, Ni X, Talpur R, Duvic M. Selective induction of apoptosis by histone deacetylase inhibitor SAHA in cutaneous T-cell lymphoma cells: relevance to mechanism of therapeutic action. J Invest Dermatol 2005; 125:1045-52.
35. Eberhart CE, Coffey RJ, Radhika A, Giardiello FM, Ferrenbach S, DuBois RN. Up-regulation of cyclooxygenase 2 gene expression in human colorectal adenomas and adenocarcinomas. Gastroenterology 1994; 107:1183-8.
36. Gilhooly EM, Rose DP. The association between a mutated ras gene and cyclooxygenase-2 expression in human breast cancer cell lines. Int J Oncol 1999; 15:267-70.
37. Yoon JH, Higuchi H, Werneburg NW, Kaufmann SH, Gores GJ. Bile acids induce cyclooxygenase-2 expression via the epidermal growth factor receptor in a human cholangiocarcinoma cell line. Gastroenterology 2002; 122:985-93.
38. Hayashi N, Yamamoto H, Hiraoka N, Dono K, Ito Y, Okami J, et al. Differential expression of cyclooxygenase-2 (COX-2) in human bile duct epithelial cells and bile duct neoplasm. Hepatology 2001; 34:638-50.
39. 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.
40. 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.
41. Williams CS, Watson AJ, Sheng H, Helou R, Shao J, DuBois RN. Celecoxib prevents tumor growth in vivo without toxicity to normal gut: lack of correlation between in vitro and in vivo models. Cancer Res 2000; 60:6045-51.
42. Wu GS, Zou SQ, Liu ZR, Tang ZH, Wang JH. Celecoxib inhibits proliferation and induces apoptosis via prostaglandin E2 pathway in human cholangiocarcinoma cell lines. World J Gastroenterol 2003; 9:1302-6.
43. Han C, Leng J, Demetris AJ, Wu T. Cyclooxygenase-2 promotes human cholangiocarcinoma growth: evidence for cyclooxygenase-2-independent mechanism in celecoxib-mediated induction of p21waf1/cip1 and p27kip1 and cell cycle arrest. Cancer Res 2004; 64:1369-76.
44. Pan CX, Loehrer P, Seitz D, Helft P, Juliar B, Ansari R, et al. A phase II trial of irinotecan, 5-fluorouracil and leucovorin combined with celecoxib and glutamine as first-line therapy for advanced colorectal cancer. Oncology 2005; 69:63-70.
45. Andre T, Tournigand C, Mineur L, Fellague-Chebra R, Flesch M, Mabro M, et al. Phase II study of an optimized 5-fluorouracil-oxaliplatin strategy (OPTIMOX2) with celecoxib in metastatic colorectal cancer: a GERCOR study. Ann Oncol 2007; 18:77-81.
46. Li JJ, Westergaard C, Ghosh P, Colburn NH. Inhibitors of both nuclear factor-kappaB and activator protein-1 activation block the neoplastic transformation response. Cancer Res 1997; 57:3569-76.
47. Na HK, Surh YJ. Transcriptional regulation via cysteine thiol modification: a novel molecular strategy for chemoprevention and cytoprotection. Mol Carcinog 2006; 45:368-80.