

บทสรุปสำหรับผู้บริหาร

“ดีเอ็นเอเมทิลเลชันในการเป็นตัวบ่งชี้ทำนายการตอบสนองต่อการรักษาในผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดี”

มะเร็งท่อน้ำดีเป็นมะเร็งตับที่เป็นปัญหาสำคัญในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยมีสาเหตุมาจากการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับชนิด *Opisthorchis viverrini* (Sripa and Pairajkul, 2008) ในปัจจุบันยังไม่มีวิธีที่จะวินิจฉัยมะเร็งท่อน้ำดีอย่างจำเพาะ รวมทั้งวิธีการรักษาที่ให้ผลการรักษาที่มีประสิทธิภาพ ทำให้ผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีมีอัตราการรอดชีวิตค่อนข้างต่ำ โดยแนวทางที่ใช้ในการรักษามะเร็งท่อน้ำดีได้แก่ การผ่าตัดตับเพื่อเอาก้อนมะเร็งออก การให้เคมีบำบัดร่วมกับการผ่าตัด หรือการให้เฉพาะเคมีบำบัดในรายที่ไม่สามารถผ่าตัดได้ ซึ่งพบราว 2 ใน 3 ของผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดี (Khan et al, 2002)

ดีเอ็นเอเมทิลเลชัน (DNA methylation) เป็นการดัดแปลงจีโนมที่ไม่ทำให้ลำดับเบสมีการเปลี่ยนแปลง และสามารถถ่ายทอดไปยังรุ่นลูกได้ โดยเป็นการเติมหมู่เมทิลที่ได้จาก S-adenosylmethionine (SAM) ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 5 ของเบสไซโทซีนที่เป็น CpG dinucleotides โดยเอนไซม์ DNA methyltransferase (DNMT) CpG dinucleotides กระจายตัวอยู่ทั่วจีโนมโดยเรียกบริเวณที่มี CpG dinucleotides อยู่หนาแน่นว่า CpG island ซึ่งพบมากบริเวณโปรโมเตอร์ของยีน ในเซลล์ปกติจะไม่พบเมทิลเลชันของ CpG island ที่บริเวณโปรโมเตอร์ แต่ในเซลล์มะเร็งกลับพบเมทิลเลชันที่บริเวณโปรโมเตอร์ (promoter hypermethylation) การพบดีเอ็นเอเมทิลเลชันที่บริเวณโปรโมเตอร์ในเซลล์มะเร็ง ทำให้ลดการแสดงออกของยีนต้านมะเร็ง ยีนซ่อมแซมดีเอ็นเอ ยีนที่เกี่ยวข้องกับอะพอพโทซิส (apoptosis related genes) ยีนที่ควบคุมการรุกรานและแพร่กระจาย ยีนที่ควบคุมการสร้างหลอดเลือดใหม่ (anti-angiogenesis) ส่งผลให้เกิด Loss of imprinting (LOI) ความไม่เสถียรของจีโนม (genome instability) และการเพิ่มการแสดงออกของยีนมะเร็ง (oncogenes) (Baylin, 2005; Esteller, 2006) ความผิดปกติที่เกิดขึ้นกับยีนดังกล่าวเป็นผลให้เซลล์มีการพัฒนาไปเป็นมะเร็ง และส่งเสริมการดำเนินของโรคมะเร็ง รวมทั้งเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้ผู้ป่วยมะเร็งต้องยาเคมีบำบัด

Sriraksa และ คณะ (2011) ทำการศึกษาดีเอ็นเอเมทิลเลชันใน 26 ยีนด้วยวิธี methylation specific PCR (MSP) ในชิ้นเนื้อตับผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีจำนวน 102 รายเปรียบเทียบกับชิ้นเนื้อตับบริเวณปกติ (normal adjacent) จำนวน 29 ราย โดยศึกษาในยีนที่เกี่ยวข้องกับอะพอพโทซิส ยีนที่ควบคุมวงจรเซลล์และการเจริญเติบโตของเซลล์ ยีนซ่อมแซมดีเอ็นเอ และยีนที่ควบคุมการรุกรานและแพร่กระจาย ตรวจสอบยืนยันผลดีเอ็นเอเมทิลเลชันของ selected candidate genes ด้วยวิธี COBRA (Combine bisulfite restriction analysis) และ Pyrosequencing หลังจากนั้นวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางสถิติระหว่างดีเอ็นเอเมทิลเลชันของยีนกับลักษณะทางคลินิกของผู้ป่วย ผลการวิเคราะห์ข้อมูลพบยีนที่น่าจะนำมาเพื่อประเมินในการทำหน้าที่เป็นตัวบ่งชี้ ดังนี้คือ *OPCML*, *SFRP-1*, *HIC1*, *PTEN* และ *DcR1* โดยพบความถี่ของดีเอ็นเอเมทิลเลชันในตัวอย่างชิ้นเนื้อมะเร็งค่อนข้างสูง และแตกต่างจาก normal adjacent อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงทำการศึกษาความสามารถของดีเอ็นเอเมทิลเลชันในการเป็นตัวบ่งชี้สำหรับทำนายการตอบสนองต่อการรักษาผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีด้วยเคมีบำบัด ซึ่งจะช่วยให้แพทย์วางแผนในการรักษาผู้ป่วยอย่างมีประสิทธิภาพ อันจะช่วยเพิ่มอัตราการรอดชีวิต และคุณภาพชีวิตของผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดี

วัตถุประสงค์ของการวิจัย ศึกษาดีเอ็นเอเมทิลเลชันของยีน *OPCML*, *SFRP-1*, *HIC1*, *PTEN* และ *DcR1* ในชั้นเนื้อตับของผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีที่ตอบสนองต่อการรักษา และไม่ตอบสนองต่อการรักษา ทำการวิเคราะห์เปรียบเทียบผลของดีเอ็นเอเมทิลเลชันระหว่างผู้ป่วยทั้งสองกลุ่ม เพื่อประเมินว่าเมทิลเลชันของยีนใดเหมาะสมสำหรับนำมาใช้เป็นตัวบ่งชี้ทำนายการตอบสนองต่อการรักษาของผู้ป่วย

วิธีการดำเนินการวิจัย ศึกษาดีเอ็นเอเมทิลเลชันของยีน *OPCML*, *SFRP-1*, *HIC1*, *PTEN* และ *DcR1* โดยวิธี Methylation-sensitive high resolution melting (MS-HRM) ในชั้นเนื้อตับของผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีที่ตอบสนองต่อการรักษา จำนวน 35 ราย และไม่ตอบสนองต่อการรักษาจำนวน 38 ราย และตัวอย่างชิ้นเนื้อปกติบริเวณใกล้เคียง (normal adjacent tissue) จำนวน 10 ราย และวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ผลการวิจัย พบว่าร้อยละความถี่ของผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีที่พบ hypermethylation ในยีน *OPCML*, *SFRP1* และ *HIC* เท่ากับ 89.0, 83.6 และ 28.8 ตามลำดับ และร้อยละความถี่ที่พบ hypomethylation ในยีน *DcR1* เท่ากับ 68.5 โดยไม่พบความผิดปกติของดีเอ็นเอเมทิลเลชันในยีน *PTEN* เมื่อเปรียบเทียบความถี่ของการพบความผิดปกติของดีเอ็นเอเมทิลเลชันในผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีกับตัวอย่างชิ้นเนื้อปกติบริเวณใกล้เคียง พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในยีน *OPCML*, *SFRP1* และ *DcR1* โดยที่ระดับเมทิลเลชันของ *OPCML* และ *SFRP1* ในมะเร็งท่อน้ำดีมีค่าสูงกว่า ขณะที่ระดับเมทิลเลชันของ *DcR1* ในมะเร็งท่อน้ำดีมีค่าต่ำกว่าในตัวอย่างชิ้นเนื้อปกติบริเวณใกล้เคียง ผลการวิเคราะห์ชี้ให้เห็นว่าดีเอ็นเอเมทิลเลชันของ *OPCML* และ *SFRP1* มีความเหมาะสมในการเป็นตัวบ่งชี้ในการวินิจฉัยมะเร็งท่อน้ำดี อย่างไรก็ตามไม่พบความแตกต่างของระดับดีเอ็นเอเมทิลเลชันของยีน *OPCML*, *SFRP1*, *HIC* และ *DcR1* ระหว่างกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีที่ตอบสนอง และไม่ตอบสนองต่อการรักษา สาเหตุอาจเนื่องมาจากการคัดเลือกกลุ่มผู้ป่วยที่ตอบสนอง และไม่ตอบสนองต่อการรักษา ซึ่งใช้คำมัธยฐานของอัตราการรอดชีวิตของผู้ป่วยในการแบ่งกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีที่เข้ารับการผ่าตัด และได้รับเคมีบำบัด 5-fluorouracil (5-FU) โดยอาจได้รับแบบเดี่ยว หรือร่วมกับเคมีบำบัดชนิดอื่น ซึ่งการรักษาด้วยเคมีบำบัดที่หลากหลายนี้อาจมีผลต่ออัตราการรอดชีวิตของผู้ป่วย ปัจจัยที่มีผลต่อการตอบสนองต่อการรักษา นอกเหนือจากการตอบสนองต่อเคมีบำบัดแล้ว การผ่าตัดเพื่อเอาก้อนมะเร็งออกก็มีความสำคัญเป็นอย่างมาก หากทำได้ไม่สมบูรณ์จะส่งผลให้มีเซลล์มะเร็งหลงเหลืออยู่บริเวณเนื้อเยื่อปกติใกล้เคียง และมีโอกาสการกลับเป็นซ้ำ (recurrence) หรือมีการกระจายของเซลล์มะเร็งไปสู่อวัยวะอื่น ซึ่งป็นสาเหตุที่ทำให้ผู้ป่วยเสียชีวิตและมีอัตราการรอดชีวิตที่สั้น

ข้อเสนอแนะการวิจัย เทคนิค MS-HRM เป็นเทคนิคใหม่ที่มีความน่าเชื่อถือ ทำได้ง่ายไม่ต้องอาศัยเครื่องมือราคาแพง จึงทำให้ประหยัดค่าใช้จ่าย และสามารถทำในตัวอย่างคราวละจำนวนมาก จึงเหมาะที่จะนำมาเพื่อหา ระดับดีเอ็นเอเมทิลเลชันในยีนชนิดอื่นๆ ที่สนใจ นอกจากนี้สามารถนำดีเอ็นเอเมทิลเลชันของ *OPCML* และ *SFRP1* มาใช้สำหรับเป็นตัวบ่งชี้วินิจฉัยสำหรับมะเร็งท่อน้ำดี เนื่องจากไม่พบเมทิลเลชันในเนื้อเยื่อปกติ โดยประยุกต์การตรวจวัดในดีเอ็นเอที่สกัดจากซีรัมของผู้ป่วย ซึ่งการตรวจวัดดีเอ็นเอเมทิลเลชันในซีรัมเป็นวิธีที่น่าสนใจ เนื่องจากเป็นวิธี invasive สามารถใช้ติดตามการรักษาผู้ป่วย หรือใช้สำหรับประเมินประสิทธิภาพการรักษา