

บทนำ: โรคตับชนิด cholestasis (cholestatic liver disease) อาจมีสาเหตุจากความผิดปกติของการสร้างน้ำดี (bile formation) โดยเซลล์ตับหรือความผิดปกติของ bile flow ผ่านท่อน้ำดีทั้งที่อยู่ภายในและภายนอกตับ วิลลินเป็นโปรตีนที่ใช้ในการรวมและตัดสาย actin ซึ่งจำเป็นในการ maintain structural integrity ของ canalicular microvilli ในตับ

วัตถุประสงค์: เพื่อศึกษาความผิดปกติของวิลลินในผู้ป่วยโรคท่อน้ำดีตีบตันและผู้ป่วยโรคตับชนิดที่มีน้ำดีคั่งจากสาเหตุอื่นๆ และเพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของวิลลินในผู้ป่วยเด็กโรคท่อน้ำดีตีบตันกับความรุนแรงของโรค

วิธีทดลอง: ทำการตรวจชิ้นเนื้อตับจากผู้ป่วยเด็กที่มีภาวะตัวเหลืองชนิดที่มีน้ำดีคั่งซึ่งแบ่งเป็นโรคท่อน้ำดีตีบตันจำนวน 20 คน, โรคตับชนิดที่มีน้ำดีคั่งจากสาเหตุอื่นๆ จำนวน 11 คน (neonatal hepatitis 5 คนและ choledochal cyst 6 คน) และกลุ่มควบคุมที่ได้จากผู้บริจาคตับหรือผู้เสียชีวิตที่มีตับปกติจำนวน 10 คน โดยย้อมด้วย monoclonal antibody ของวิลลินและวิเคราะห์ปริมาณ villin mRNA/GAPDH ในชิ้นเนื้อตับด้วยวิธี real time PCR รวมทั้งทำการเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์วิลลินกับความรุนแรงของโรคท่อน้ำดีตีบตัน โดยแบ่งผู้ป่วยเป็น 2 กลุ่ม คือ favorable outcome (ค่า total bilirubin < 2 mg/dl หลังจากผ่าตัดโดยวิธี Kasai's operation เป็นระยะเวลา 1 ปี) และ unfavorable outcome (ค่า total bilirubin \geq 2 mg/dl หลังจากผ่าตัดโดยวิธี Kasai's operation เป็นระยะเวลา 1 ปี หรือเสียชีวิต) ปริมาณ villin mRNA/GAPDH แสดงเป็น median และ interquartile range

ผลการทดลอง: ผลการย้อมวิลลินจากชิ้นเนื้อตับพบว่าผู้ป่วยโรคท่อน้ำดีตีบตันทั้ง 20 คน ผู้ป่วยโรคตับชนิดที่มีน้ำดีคั่งจากสาเหตุอื่นๆ ทั้ง 11 คนและกลุ่มควบคุม 6 คนจาก 10 คน มีผลการย้อมติดวิลลินเป็นบวก ค่า villin mRNA ต่อ GAPDH ในผู้ป่วยโรคตับชนิดที่มีน้ำดีคั่งจากสาเหตุอื่นๆ ต่ำกว่าในผู้ป่วยโรคท่อน้ำดีตีบตันและกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.0001$ และ $p = 0.03$ ตามลำดับ) แต่ค่า villin mRNA ต่อ GAPDH ในผู้ป่วยโรคท่อน้ำดีตีบตันไม่แตกต่างจากในกลุ่มควบคุม เมื่อวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ของความรุนแรงของโรคท่อน้ำดีตีบตันกับค่า villin mRNA ต่อ GAPDH พบว่ากลุ่มที่มี unfavorable outcome (จำนวน 10 คน) และ favorable outcome (จำนวน 10 คน) ไม่มีความแตกต่างกัน

สรุป: การย้อมวิลลินในชิ้นเนื้อตับไม่ช่วยในการวินิจฉัยแยกโรคท่อน้ำดีตีบตันจากโรคตับชนิดที่มีน้ำดีคั่งจากสาเหตุอื่นๆ ผู้ป่วยโรคท่อน้ำดีตีบตันมี villin expression มากกว่าผู้ป่วยโรคตับชนิดที่มีน้ำดีคั่งจากสาเหตุอื่นๆ อย่างไรก็ตามไม่พบความสัมพันธ์ของ villin expression กับ prognostic outcome ในผู้ป่วยโรคท่อน้ำดีตีบตัน

Introduction: Cholestatic liver disease may be caused by abnormality of bile formation by hepatocytes or of bile flow through both intrahepatic and extrahepatic bile ducts. Villin is an actin binding, bundling, and severing protein needed for maintenance of structural integrity of canalicular microvilli.

Objectives: To compare the abnormalities of villin in children with cholestatic liver diseases and to correlate the expression of villin with prognostic outcome of biliary atresia.

Methods: Stored liver specimens of 20 children with biliary atresia, 11 children with other cholestatic liver diseases (5 neonatal hepatitis and 6 choledochal cyst), and 10 donors of liver transplantation or persons with normal liver who underwent autopsy as the control group were stained with monoclonal antibody of villin. Villin mRNA analyses were undertaken on liver homogenates with real time PCR technique and were correlated with the severity of biliary atresia patients. The severity was classified into favorable outcome (total bilirubin < 2 mg/dl at 1 year post Kasai's operation) and unfavorable outcome (total bilirubin \geq 2 mg/dl at 1 year post Kasai's operation or death at enrollment). Amounts of villin PCR product (villin mRNA relative to concentrations of GAPDH product) were expressed as median and interquartile range.

Results: Villin staining of 20/20 biliary atresia patients, 11/11 patients with other cholestatic liver diseases, and 6/10 normal controls were positive. Villin mRNA to GAPDH ratio in patients with other cholestatic liver diseases were significantly lower than those in biliary atresia patients and normal controls ($p < 0.0001$ and $p = 0.03$, respectively). However, villin mRNA to GAPDH ratio in biliary atresia patients were not different from those in normal controls. In addition, there was no difference of villin mRNA expression in biliary atresia patients with unfavorable outcome ($n = 10$) and favorable outcome ($n = 10$).

Conclusion: Villin staining in liver tissue is not helpful in the differential diagnosis of biliary atresia from other cholestatic liver diseases. Patients with biliary atresia have higher villin expression than patients with other cholestatic liver diseases. Expression of villin does not correlate with prognostic outcome of biliary atresia.