การยับยั้งการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีด้วยออล-ทรานส์ เรติโนอิก แอซิด

Inhibition of Metastasis in Cholangiocarcinoma Cells by All-*trans*-retinoic Acid

ชณกานต์ พรชู (Chanakan Pornchoo)* ศิริวุฒิ บุตรศรี (Siriwoot Butsri)**
วีรพล คู่คงวิริยพันธุ์ (Veerapol Kukongviriyapan)*** ลัดดาวัลย์ เส็งกันไพร (Laddawan Senggunprai)****
ศริญญา คงเพชร (Sarinya Kongpetch)***** เอื้อมเดือน ประวาฬ (Auemduan Prawan)******

บทคัดย่อ

ออล-ทรานส์ เรติโนอิก แอซิด (all-*trans*-retinoic acid; atRA) เป็นสารอนุพันธ์ของวิตามินเอที่มีรายงานถึงฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งหลายชนิด แต่ยังไม่มีการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการแพร่กระจาย (anti-metastasis) ของออล-ทรานส์ เรติโนอิก แอซิดในมะเร็งท่อน้ำดี งานวิจัยครั้งนี้มุ่งศึกษาฤทธิ์ของออล-ทรานส์ เรติโนอิก แอซิดต่อการเคลื่อนที่ของเซลล์ (cell migration) และการยึดเกาะของเซลล์ (cell adhesion) ในเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีชนิด KKU-M156 ผลการศึกษาพบว่า ออล-ทรานส์ เรติโนอิก แอซิดมีความเป็นพิษต่อเซลล์ (cytotoxicity) โดยมีค่าความเข้มข้นของสารที่ทำให้เซลล์ตายร้อยละ 50 (IC50) ที่เวลา 48 ชั่วโมง เท่ากับ 11.52 μM นอกจากนี้การได้รับสัมผัสออล-ทรานส์ เรติโนอิก แอซิดที่ความเข้มข้น 2.5 μM สามารถลดการเคลื่อนที่ของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีได้ร้อยละ 61 ($p<0.05$) และยังลดการยึดเกาะของเซลล์ลงได้ถึงร้อยละ 63 ($p<0.05$)

ABSTRACT

All-*trans*-retinoic acid (atRA), an active metabolite of vitamin A, has been reported to have potential anti-cancer activities in several human cancer cells. However, the anti-metastasis effect of atRA in cholangiocarcinoma (CCA) has been unclear. The purpose of this study is to investigate the effect of atRA on cell migration and adhesion in human CCA KKU-M156 cells. The result showed that atRA was cytotoxic against CCA cells with half-maximal inhibitory concentration (IC50) as 11.52 μM at 48 h. Treatment with 2.5 μM atRA could suppress the cell migration (suppression rate 61%, $p<0.05$) and also inhibited the adhesion of CCA cells (inhibition rate 63%, $p<0.05$).

คำสำคัญ: ออล-ทรานส์ เรติโนอิก แอซิด การยับยั้งการแพร่กระจาย เซลล์มะเร็งท่อน้ำดี

Keywords: All-*trans* retinoic acid, Anti-metastasis, Cholangiocarcinoma

** นักศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น*
*** นักศึกษา หลักสูตรปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น*
**** ศาสตราจารย์ สาขาวิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น*
***** รองศาสตราจารย์ สาขาวิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น*
****** อาจารย์ สาขาวิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น*
******* ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สาขาวิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น*

บทนำ

มะเร็งท่อน้ำดี (cholangiocarcinoma; CCA) เกิดจากความผิดปกติของเซลล์เยื่อบุท่อทางเดินน้ำดี โดยมะเร็งท่อน้ำดีที่พบในประชากรไทยส่วนใหญ่เป็นชนิดที่เกิดภายในตับ (Intrahepatic cholangiocarcinoma; ICC) (Banales et al., 2016) มะเร็งท่อน้ำดีเป็นปัญหาสุขภาพที่สำคัญของประชากรไทยในภาคตะวันออกเฉียงเหนือเนื่องจากเป็นโรคที่มีอัตราตายสูง มีอุบัติการณ์และแนวโน้มของการเกิดโรคเพิ่มขึ้นทุกปี การรักษามะเร็งท่อน้ำดีที่เกิดภายในตับที่ให้ผลการรักษาดีที่สุด คือการรักษาโรคระยะเริ่มต้นด้วยการผ่าตัด ซึ่งมีอัตราการรอดชีวิตของผู้ป่วยในช่วงเวลา 5 ปี ประมาณร้อยละ 22-44 (Khan et al., 2012) แต่เนื่องจากผู้ป่วยส่วนใหญ่ได้รับการวินิจฉัยโรคมะเร็งท่อน้ำดีในระยะแพร่กระจาย (metastasis) ซึ่งมักมีการแพร่กระจายของโรคมะเร็งไปยังส่วนอื่นของร่างกาย ทำให้ผู้ป่วยไม่สามารถรับรักษาด้วยการผ่าตัดและ/หรือต้องรับการรักษาด้วยยาเคมีบำบัด ทำให้ผู้ป่วยมีอัตราการรอดชีวิตในช่วงเวลา 5 ปีที่ต่ำมาก ยาเคมีบำบัดหลักที่ใช้รักษามะเร็งท่อน้ำดี ได้แก่ เจมไซตาบีน (gemcitabine) ซึ่งเป็นยาที่เคมีบำบัดมีฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์เบสไพริมิดีน (จำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตของเซลล์) (anti-metabolite) (Plunkett et al., 1995) ในปัจจุบัน เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของการรักษามะเร็งท่อน้ำดี จึงนิยมใช้ยาเจมไซตาบีนร่วมกับยาซิสพลาติน (cisplatin) ซึ่งเป็นยาเคมีบำบัดในกลุ่มแอลคิเลทติ้งเอเจนท์ (alkylating agents) (Dasari et al., 2014; Ghouri et al., 2015) แม้ว่าการรักษาด้วยเจมไซตาบีนร่วมกับซิสพลาตินจะมีอัตราการรอดชีวิตโดยโรคสงบ (progression free survival; PFS) และอัตราการรอดชีวิตโดยรวม (overall survival; OS) ที่ดีกว่าการให้ยาเดี่ยว แต่ยังมีข้อจำกัดมากเกี่ยวกับอาการข้างเคียงของยา เช่น ผมร่วง แผลในปาก ความอยากอาหารลดลง เวียนศีรษะและอาเจียน ท้องเสีย เป็นต้น ปัญหาสำคัญอีกประการของการรักษามะเร็งท่อน้ำดีระยะแพร่กระจายคือมะเร็งท่อน้ำดีมีความต้านทานต่อยาเคมีบำบัด (chemoresistance) ผู้ป่วยส่วนใหญ่จึงตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดต่ำ ทำให้การรักษาไม่ได้ผลตามเป้าหมาย (Banales et al., 2016) ดังนั้นการค้นคว้าและพัฒนายาที่มีฤทธิ์ยับยั้งมะเร็งท่อน้ำดีระยะแพร่กระจายจึงเป็นแนวทางหรือกลยุทธ์ที่สำคัญและเร่งด่วนอย่างยิ่งสำหรับผู้ป่วยเหล่านี้

งานวิจัยครั้งนี้มีเป้าหมายที่จะค้นหาสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเคลื่อนที่ (migration) และการยึดเกาะ (adhesion) ของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี เนื่องจากขั้นตอนทั้งสองนับเป็นขั้นตอนที่สำคัญในกระบวนการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง โดยผู้วิจัยมีความสนใจศึกษาฤทธิ์ของออล-ทรานส์ เรติโนอิก แอซิด (all-trans-retinoic acid; atRA) ซึ่งเป็นสารอนุพันธ์ของวิตามินเอที่มีรายงานถึงฤทธิ์ต้านมะเร็งหลายชนิด อาทิเช่น การใช้ยาออล-ทรานส์ เรติโนอิก แอซิดเพื่อรักษามะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเฉียบพลันแบบไมอีลอยด์ (acute promyelocytic leukemia; APL) โดยออล-ทรานส์ เรติโนอิก แอซิดสามารถกระตุ้นกระบวนการเปลี่ยนแปลงเพื่อทำหน้าที่ของเซลล์ (cell differentiation) ทำให้เซลล์เม็ดเลือดขาวตัวอ่อนกลายเป็นเซลล์เม็ดเลือดขาวปกติและลดจำนวนของเซลล์มะเร็งลงได้ (Ryan, 2018) การศึกษาในโรคมะเร็งผิวหนังชนิดเมลาโนมา พบว่าการให้ออล-ทรานส์ เรติโนอิก แอซิดร่วมกับยากลุ่มยับยั้งการทำงานของตัวรับเอสโตรเจน (anti-estrogen receptor) ทำให้เกิดการเสริมฤทธิ์ยับยั้งกระบวนการแบ่งเซลล์และการเคลื่อนที่ของเซลล์ (Ribeiro et al., 2013) นอกจากนี้ในโรคมะเร็งสมองชนิดไกลโอบลาสโตมา มัลติฟอร์ม (glioblastoma multiforme) พบว่าออล-ทรานส์ เรติโนอิก แอซิดสามารถยับยั้งการบุกรุก (invasion) และลดการแบ่งตัว (anti-proliferation) รวมทั้งเหนี่ยวนำให้เกิดการตาย (apoptosis) ของเซลล์มะเร็งได้ (Liang et al., 2015) อย่างไรก็ตาม ยังมีรายงานการศึกษาจำนวนจำกัดที่แสดงถึงฤทธิ์ของออล-ทรานส์ เรติโนอิก แอซิดต่อการแพร่กระจายของมะเร็งท่อน้ำดี หากการศึกษานี้พบว่าออล-ทรานส์ เรติโนอิก แอซิดสามารถยับยั้งการเคลื่อนที่และการยึดเกาะของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี อาจสามารถพัฒนายานี้เพื่อรักษามะเร็งท่อน้ำดีระยะแพร่กระจายในอนาคตได้

วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อประเมินฤทธิ์ของออล-ทรานส์ เรติโนอิก แอซิด ในการยับยั้งกระบวนการแพร่กระจายของมะเร็งท่อน้ำดี โดยมุ่งเน้นศึกษาผลของออล-ทรานส์ เรติโนอิก แอซิด ต่อการเคลื่อนที่ของเซลล์ และการยึดเกาะของเซลล์ ในเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีชนิด KKU-M156

วิธีการวิจัย

การเลี้ยงเซลล์ (cell lines and cell culture conditions)

เซลล์มะเร็งท่อน้ำดีมนุษย์ชนิด KKU-M156 ได้รับความอนุเคราะห์จากศาสตราจารย์บรรจบ ศรีภา ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ทำการเลี้ยงเซลล์ด้วย Ham F'12 medium ที่มี 10 % fetal bovine serum 100 U/mL penicillin G และ 100 µg/mL streptomycin และเลี้ยงเซลล์ในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ภายใต้สภาวะที่มี 5% CO_2 และอุณหภูมิ 37 °C

ศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ของออล-ทรานส์ เรติโนอิก แอซิดด้วยเทคนิค sulforhodamine B (SRB) Assay

เพาะเลี้ยงเซลล์ KKU-M156 จำนวน 7.5×10^3 เซลล์ต่อมิลลิลิตรต่อหลุมใน 96-well plates และเลี้ยงเซลล์เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นเลี้ยงเซลล์ในสภาวะที่มีออล-ทรานส์ เรติโนอิก แอซิด ความเข้มข้น 1.25, 2.5, 5, 10 และ 20 µM เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลา ทำการล้างเซลล์ด้วย phosphate-buffered saline pH 7.4 และตรึงเซลล์ด้วย 10% trichloroacetic acid จากนั้นย้อมเซลล์ด้วยสี SRB reagent และล้างเซลล์ด้วย 1% acetic acid ในขั้นตอนสุดท้ายละลายสี SRB dye ด้วย tris base solution แล้วจึงวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 540nm ด้วยเครื่อง microplate reader

ศึกษาผลของออล-ทรานส์ เรติโนอิก แอซิดต่อการเคลื่อนที่ของเซลล์ด้วยเทคนิค wound healing assay

เพาะเลี้ยงเซลล์ KKU-M156 จำนวน 3×10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตรต่อหลุมใน 24-well plates และเลี้ยงเซลล์เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นทำการขูดเซลล์ให้เกิดช่องว่างด้วยปิเปตทิป ขนาด 200 µl และล้างเซลล์ด้วย phosphate-buffered saline pH 7.4 จากนั้นเลี้ยงเซลล์ในสภาวะที่มีสารออล-ทรานส์ เรติโนอิก แอซิด ความเข้มข้น 2.5, 5 และ10 µM และเก็บภาพการเคลื่อนที่ของเซลล์โดยการถ่ายรูปเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์ (Nikon Eclipse TS100 inverted microscope) กำลังขยาย 4X ที่เวลา 0, 12, 18 และ 24 ชั่วโมง และทำการวิเคราะห์ผลด้วย Image-Pro Plus software (Media Cybernetics, LP, USA)

ศึกษาผลของออล-ทรานส์ เรติโนอิก แอซิดต่อการยึดเกาะของเซลล์ด้วยเทคนิค adhesion assay

ทำการเคลือบ 96-well plates ด้วยไฟโบรเนกตินตามวิธีของ Barni และคณะ (Barni et al., 2012) จากนั้นเติมเซลล์ KKU-M156 จำนวน 3×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตรต่อหลุมลงใน fibronectin-coated 96-well plates โดยเซลล์แขวนลอยอยู่ในออล-ทรานส์ เรติโนอิก แอซิดที่ความเข้มข้น 1.25, 2.5 และ5 µM และเลี้ยงเซลล์ที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นทำการตรึงเซลล์ด้วยเมทานอล (methanol) และนำเซลล์ไปย้อมด้วยสี 0.5% crystal violet และล้างด้วย distilled water จากนั้นถ่ายรูปเซลล์ที่ยึดเกาะแล้วด้วยกล้องจุลทรรศน์ (Nikon Eclipse TS100 inverted microscope) กำลังขยาย 10X ในขั้นตอนสุดท้ายละลายสี crystal violet ด้วย 10% methanol in 5% glacial acetic acid solution แล้วจึงวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 540 nm ด้วยเครื่อง microplate reader

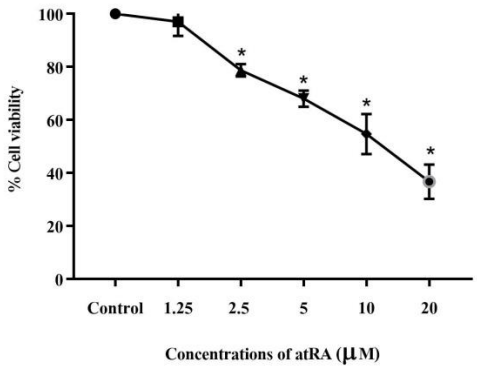
การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ข้อมูลการศึกษาถูกนำมาคำนวณด้วยโปรแกรมสถิติและแสดงผลในรูปค่าเฉลี่ย (mean) และค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานของการวัด (SD) (SigmaPlot Version 10.0; Systat Software, Inc., San Jose, CA, USA) นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์หาค่าความแปรปรวนแบบ Analysis of Variance (ANOVA) ตามแผนการทดลอง และเปรียบเทียบค่าความแตกต่างของกลุ่มทดลองด้วยวิธี Student's t-test โดยใช้โปรแกรมการวิเคราะห์ทางสถิติ (SigmaStat Version 3.11; Systat Software, Inc.) กำหนดค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ 0.05

ผลการวิจัย

ออล-ทรานส์ เรติโนอิก แอซิดมีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี

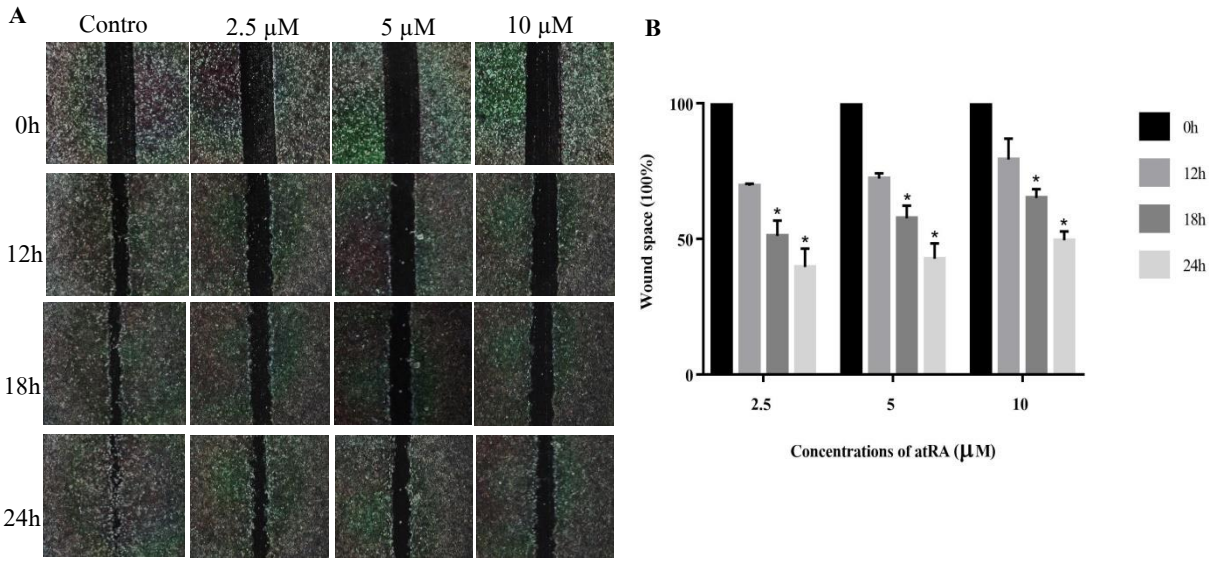
เมื่อทำการบ่มเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีด้วยออล-ทรานส์ เรติโนอิก แอซิดเป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่าอัตราการมีชีวิตรอดของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีลดลง เมื่อความเข้มข้นของออล-ทรานส์ เรติโนอิก แอซิดมากกว่าหรือเท่ากับ 2.5 μM เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ($p<0.05$) และฤทธิ์ดังกล่าวสัมพันธ์กับความเข้มข้นของออล-ทรานส์ เรติโนอิก แอซิด โดยความเข้มข้นของออล-ทรานส์ เรติโนอิก แอซิดที่ทำให้เซลล์มะเร็งท่อน้ำดีตายร้อยละ 50 (IC50) มีค่าเท่ากับ 11.52 μM



รูปที่ 1 ออล-ทรานส์ เรติโนอิก แอซิดลดการมีชีวิตรอดของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีชนิด KKU-M156 เป็นไปตามความเข้มข้นของสารที่ได้รับสัมผัส เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ($p<0.05$)

ออล-ทรานส์ เรติโนอิก แอซิดยับยั้งการเคลื่อนที่ของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี

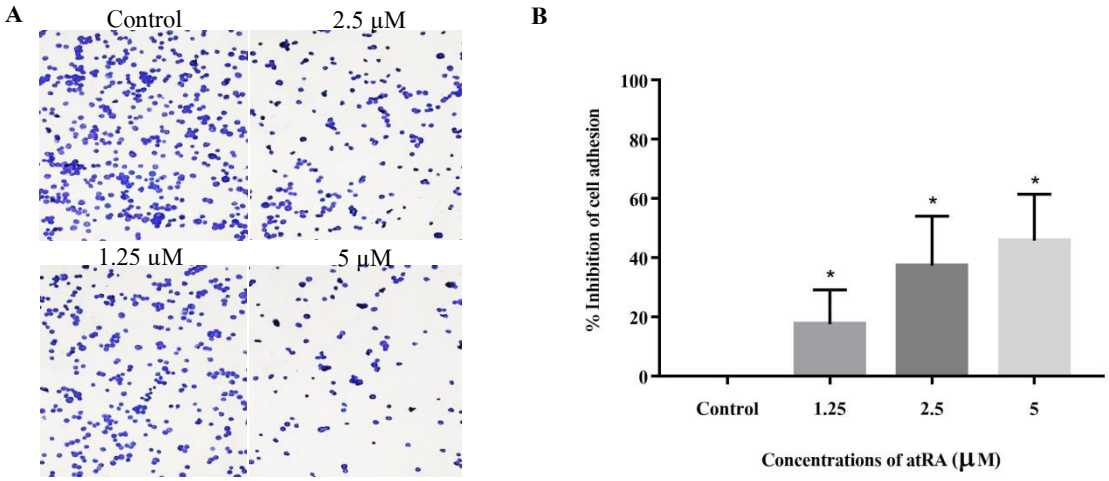
เมื่อทำการเลี้ยงเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีในสภาวะที่มีออล-ทรานส์ เรติโนอิก แอซิด พบว่าเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีมีอัตราการเคลื่อนที่ของเซลล์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ทุกความเข้มข้นที่ทำการทดสอบ (2.5, 5 และ10 μM) เมื่อได้รับออล-ทรานส์ เรติโนอิก แอซิด เป็นเวลา 18 และ 24 ชั่วโมง เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม เมื่อพิจารณาการเคลื่อนที่ของเซลล์ ที่เวลา 24 ชั่วโมง พบว่าออล-ทรานส์ เรติโนอิก แอซิดที่ความเข้มข้น 2.5 μM ทำให้เซลล์มะเร็งท่อน้ำดีมีอัตราการเคลื่อนที่ของเซลล์ลดลงเหลือร้อยละ 39



รูปที่ 2 ออล-ทรานส์ เรติโนอิก แอซิดลดการเคลื่อนที่ของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีชนิด KKU-M156 เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ($p<0.05$) (A) รูปการเคลื่อนที่ของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีที่เวลา 0 12 18 และ 24 ชั่วโมงของได้รับสัมผัสออล-ทรานส์ เรติโนอิก แอซิด (B) ข้อมูลการเคลื่อนที่ของเซลล์แสดงในรูปค่าเฉลี่ย (mean) และค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)

ออล-ทรานส์ เรติโนอิก แอซิดยับยั้งการยึดเกาะของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี

เมื่อทำการเลี้ยงเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีในสภาวะที่มีออล-ทรานส์ เรติโนอิก แอซิด เป็นเวลา 30 นาที พบว่าเซลล์มีอัตราการยึดเกาะของเซลล์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ที่ความเข้มข้น 2.5 และ 5 μM เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยออล-ทรานส์ เรติโนอิก แอซิดที่ความเข้มข้น 2.5 μM ทำให้เซลล์มะเร็งท่อน้ำดีมีอัตราการยึดเกาะของเซลล์ลดลงเหลือร้อยละ 37 และยังพบว่าในความเข้มข้นต่ำ (1.25 μM) ที่ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ ออล-ทรานส์ เรติโนอิก แอซิด สามารถยับยั้งการยึดเกาะของเซลล์อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม



รูปที่ 3 ออล-ทรานส์ เรติโนอิก แอซิดลดการยึดเกาะของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีชนิด KKU-M156 เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ($p<0.05$) (A) รูปการยึดเกาะของเซลล์เมื่อบ่มด้วยความเข้มข้นของออล-ทรานส์ เรติโนอิก แอซิดเป็นเวลา 30 นาที (B) ข้อมูลการยับยั้งการยึดเกาะของเซลล์แสดงในรูปค่าเฉลี่ย (mean) และค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

การค้นคว้าและพัฒนายาที่มีฤทธิ์ยับยั้งมะเร็งท่อน้ำดีระยะแพร่กระจายเป็นความจำเป็นที่สำคัญและเร่งด่วนอย่างยิ่งสำหรับผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดี โดยสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเคลื่อนที่และการยึดเกาะของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีจะสามารถนำไปสู่การพัฒนาเป็นยาเพื่อรักษา/หรือเสริมการรักษาผู้ป่วยมะเร็งระยะแพร่กระจาย ผลการศึกษาครั้งนี้พบว่าออล-ทรานส์ เรติโนอิก แอซิดมีฤทธิ์ยับยั้งการแพร่กระจาย (anti-metastasis) ของมะเร็งท่อน้ำดีโดยลดการเคลื่อนที่และลดการยึดเกาะของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีได้

รายงานผลการศึกษาก่อนหน้าแสดงให้เห็นว่าออล-ทรานส์ เรติโนอิก แอซิดสามารถยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์ (cell proliferation) ทำให้เกิดการตายของเซลล์ (apoptosis) ลดการเคลื่อนที่ของเซลล์ (cell migration) และลดความสามารถในการบุกรุกของเซลล์ (cell invasion) ในมะเร็งหลายชนิด อาทิเช่น มะเร็งเต้านม มะเร็งลำไส้ มะเร็งต่อมลูกหมาก เป็นต้น ผลการศึกษาเบื้องต้นในครั้งนี้พบว่าออล-ทรานส์ เรติโนอิก แอซิดมีความเป็นพิษต่อเซลล์ทำให้เกิดการตายของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีได้ เมื่อเปรียบเทียบค่า IC50 ของการศึกษานี้กับผลการศึกษาอื่นก่อนหน้า พบว่าเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีมีแนวโน้มที่จะตอบสนองต่อฤทธิ์ของออล-ทรานส์ เรติโนอิก แอซิดได้ดีกว่าเซลล์มะเร็งปอด (Akita et al., 2016) แต่ตอบสนองได้ต่ำกว่าเซลล์มะเร็งจอประสาทตา (Gupta et al., 2003) และเซลล์มะเร็งสมอง

(Liang et al., 2015) รวมทั้งมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเฉียบพลันแบบไมอีลอยด์ มีรายงานว่ากลไกการออกฤทธิ์ของออล-ทรานส์ เรติโนอิก แอซิดในการเหนี่ยวนำให้เกิดการตายของเซลล์นั้น สามารถแบ่งออกเป็น 2 กลไกหลัก ได้แก่ การออกฤทธิ์โดยตรงผ่านทางตัวรับเรติโนอิก แอซิด (dependent retinoic acid receptor signaling) (Dawson et al., 2012) และการออกฤทธิ์ที่ไม่ต้องอาศัยตัวรับเรติโนอิก แอซิด (non-dependent retinoic acid receptor signaling) แต่ผ่านการปรับเปลี่ยนสัญญาณอื่นของเซลล์ เช่น AMPK signaling (Ishijima et al., 2015) NFkB signaling (Rafa et al., 2017) PI3K signaling (Ben-Sasson et al., 2011) เป็นต้น จึงเป็นที่น่าสนใจศึกษาในอนาคตว่าฤทธิ์เหนี่ยวนำให้เกิดการตายของออล-ทรานส์ เรติโนอิก แอซิดในเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีจะผ่านกลไกหลักแบบใด

การศึกษาครั้งนี้ยังพบอีกว่าออล-ทรานส์ เรติโนอิก แอซิดสามารถยับยั้งการแพร่กระจายของมะเร็งท่อน้ำดีอย่างมีนัยสำคัญ ทั้งในด้านลดการเคลื่อนที่และลดการยึดเกาะของเซลล์มะเร็งได้ มีข้อสังเกตุว่าออล-ทรานส์ เรติโนอิก แอซิดที่ความเข้มข้น 2.5 μM ซึ่งมีความเป็นพิษต่อเซลล์ประมาณร้อยละ 20 สามารถยับยั้งการเคลื่อนที่ของเซลล์มะเร็งมะเร็งท่อน้ำดีได้มากถึงร้อยละ 61 เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการยับยั้งการเคลื่อนที่ของเซลล์ของออล-ทรานส์ เรติโนอิก แอซิดในการศึกษานี้กับผลการศึกษาอื่นก่อนหน้า พบว่าเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีมีแนวโน้มที่จะตอบสนองต่อฤทธิ์ของออล-ทรานส์ เรติโนอิก แอซิดได้ดีกว่าเซลล์มะเร็งสมองบางชนิด (Liang et al., 2015) ทั้งนี้โมเลกุลที่อาจจะเกี่ยวข้องกับฤทธิ์ยับยั้งการเคลื่อนที่ของออล-ทรานส์ เรติโนอิก แอซิด คือ matrix metalloproteinase 2 (MMP-2) และ matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) เนื่องจากมีรายงานก่อนหน้าพบว่าออล-ทรานส์ เรติโนอิก แอซิดสามารถลดการแสดงออกของยีนทั้งสองและส่งผลทำให้ความสามารถในการเคลื่อนที่ของเซลล์มะเร็งลดลง (Dutta et al., 2010; Liang et al., 2015) ผลการศึกษาอีกประเด็นที่น่าสนใจในครั้งนี้ คือยังไม่มีรายงานก่อนหน้าที่แสดงถึงฤทธิ์ยับยั้งการยึดเกาะของเซลล์มะเร็งของออล-ทรานส์ เรติโนอิก แอซิด ดังนั้นการศึกษานี้จึงเป็นรายงานแรกที่พบว่าออล-ทรานส์ เรติโนอิก แอซิดที่ความเข้มข้น 1.25 μM ซึ่งไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ สามารถยับยั้งการยึดเกาะของเซลล์ได้ร้อยละ 20 อย่างไรก็ตาม การศึกษาถึงกลไกการออกฤทธิ์ของออล-ทรานส์ เรติโนอิก แอซิดในการยับยั้งการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งนั้นยังมีจำนวนจำกัด จึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในอนาคตเพื่ออธิบายฤทธิ์ดังกล่าวในเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีว่าจะผ่านกลไกหลักหรือวิถีใดเป็นสำคัญ

กล่าวโดยสรุป ออล-ทรานส์ เรติโนอิก แอซิดมีคุณสมบัติต้านมะเร็งท่อน้ำดีและสามารถยับยั้งการแพร่กระจายของมะเร็งท่อน้ำดี จึงเป็นที่น่าสนใจที่จะทำการศึกษากลไกที่เกี่ยวข้องกับฤทธิ์ข้างต้น รวมทั้งพิสูจน์ความเป็นไปได้ของออล-ทรานส์ เรติโนอิก แอซิดในการรักษามะเร็งท่อน้ำดีระยะแพร่กระจายด้วยสัตว์ทดลองในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณการให้ความอนุเคราะห์ทุนวิจัยจากมหาวิทยาลัยขอนแก่น (Grant No.600901) และทุนการศึกษาจากสถาบันวิจัยมะเร็งท่อน้ำดี (Cholangiocarcinoma Research Institute; CARI) ตลอดจนห้องปฏิบัติการวิจัย อาคารเวชวิชชาคาร และภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

เอกสารอ้างอิง

Akita T, Horiguchi M, Ozawa C, Terada H, Yamashita C. The Effect of a Retinoic Acid Derivative on Cell-Growth Inhibition in a Pulmonary Carcinoma Cell Line. Biol Pharm Bull 2016; 39(3): 308-12.

Banales JM, Cardinale V, Carpino G, Marzioni M, Andersen JB, Invernizzi P, Lind GE, Folseraas T, Forbes SJ, Fouassier L. Cholangiocarcinoma: current knowledge and future perspectives consensus statement from the European Network for the Study of Cholangiocarcinoma (ENS-CCA). Nat Rev Gastroenterol Hepatol 2016; 13(5): 261-81.

Barni M, Carlini M, Cafferata E, Puricelli L, Moreno S. Carnosic acid inhibits the proliferation and migration capacity of human colorectal cancer cells. Oncol Rep 2012; 27(4): 1041-48.

Ben-Sasson H, Ben-Meir A, Shushan A, Karra L, Rojansky N, Klein BY, Levitzki R, Ben-Bassat H. All-trans-retinoic acid mediates changes in PI3K and retinoic acid signaling proteins of leiomyomas. Fertil Steril 2011; 95(6): 2080-86.

Dasari S, Tchounwou PB. Cisplatin in cancer therapy: molecular mechanisms of action. Eur J Pharmacol 2014; 740: 364-78.

Dawson MI, Xia Z. The retinoid X receptors and their ligands. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis 2012; 1821(1): 21-56.

Dutta A, Sen T, Chatterjee A. All-trans retinoic acid (ATRA) downregulated MMP-9 by modulating its regulatory molecules. Cell Adh Migr 2010; 4(3): 409-18.

Ghouri YA, Mian I, Blechacz B. Cancer review: cholangiocarcinoma. J Carcinog 2015; 14(1).

Gupta A, Van Quill K, Sharara N, O'Brien J. Effects of All-trans Retinoic Acid and 9-cis Retinoic Acid in Human Retinoblastoma Cell Lines. Investig Ophthalmol Vis Sci 2003; 44(13): 1580-89.

Hoyos S, Navas M-C, Restrepo J-C, Botero RC. Current controversies in cholangiocarcinoma. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis 2018; 1864(4): 1461-67.

Ishijima N, Kanki K, Shimizu H, Shiota G. Activation of AMP-activated protein kinase by retinoic acid sensitizes hepatocellular carcinoma cells to apoptosis induced by sorafenib. Cancer Sci 2015; 106(5): 567-75.

Khan SA, Davidson BR, Goldin RD, Heaton N, Karani J, Pereira SP, Rosenberg WM, Tait P, Taylor-Robinson SD, Thillainayagam AV. Guidelines for the diagnosis and treatment of cholangiocarcinoma: an update. Gut 2012; 61(12): 1657-69.

Liang C, Yang L, Guo S. All-trans retinoic acid inhibits migration, invasion and proliferation, and promotes apoptosis in glioma cells in vitro. Oncol Lett 2015; 9(6): 2833-38.

Plunkett W, Huang P, Xu Y-Z, Heinemann V, Grunewald R, Gandhi V. Gemcitabine: metabolism, mechanisms of action, and self-potentiation. Semin Oncol 1995; 11(4): 3-10.

Rafa H, Benkhelifa S, AitYounes S, Saoula H, Belhadef S, Belkhelfa M, Boukercha A, Toumi R, Soufli I, Moralès O. All-trans retinoic acid modulates TLR4/NF-κB signaling pathway targeting TNF-α and nitric oxide synthase 2 expression in colonic mucosa during ulcerative colitis and colitis associated cancer. Mediators Inflamm 2017; 10(3)1-16

Ribeiro MP, Silva FS, Paixão J, Santos AE, Custódio JB. The combination of the antiestrogen endoxifen with all-trans-retinoic acid has anti-proliferative and anti-migration effects on melanoma cells without inducing significant toxicity in non-neoplasic cells. Eur J Pharmacol 2013; 715(1-3): 354-62.

Ryan MM. Acute Promyelocytic Leukemia: A Summary. J Adv Pract Oncol 2018; 9(2): 178-87.