DNA microarrays; การประยุกต์ใช้ในการวิจัยโรคมะเร็ง

■ **ธรรมรัตน์ ก้าวสมบัติ วท.ม.**
หน่วยรังสีรักษาและมะเร็งวิทยา ภาควิชารังสีวิทยา
คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

■ **นิสา ชวพันธุ์ Ph.D.**
หน่วยรังสีรักษาและมะเร็งวิทยา ภาควิชารังสีวิทยา
คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

บทคัดย่อ

DNA microarrays หรือ gene chip เป็นเทคโนโลยีใหม่ที่กำลังมีบทบาทมากในการศึกษาด้านอณูชีววิทยาจากโครงการ Human Genome ทำให้เทคนิคนี้มีการพัฒนาไปอย่างรวดเร็ว มีการนำมาประยุกต์ใช้ศึกษาในสาขาต่าง ๆ รวมทั้งงานด้านเทคโนโลยีชีวภาพ การเกษตร และวิทยาศาสตร์สุขภาพ รายงานนี้จึงได้นำเสนอหลักการพื้นฐานของ DNA microarrays และการประยุกต์ใช้ในการวิจัยทางด้านชีววิทยาโรคมะเร็งในแง่ต่าง ๆ ทั้งการตรวจวินิจฉัย การศึกษา path way ที่เกี่ยวข้องกับโรคมะเร็ง การทำนายผลการรักษาและการพยากรณ์โรค รวมไปถึงสารก่อมะเร็ง

บทนำ

ในปัจจุบันเทคโนโลยีทางรังสีรักษาได้มีการพัฒนาไปอย่างรวดเร็วมีการนำเอาเครื่องมือและเทคนิคต่าง ๆ มาใช้เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของการรักษา เทคโนโลยีด้านอณูชีววิทยาก็เช่นกันมีการคิดค้นเทคโนโลยีใหม่ ๆ ขึ้นมาเพื่อใช้ในการศึกษาทางด้านนี้เป็นจำนวนมาก เครื่องมือที่ใช้ในการศึกษาทางด้าน genetic ได้มีการพัฒนาไปอย่างรวดเร็ว หนึ่งในนั้นคือ DNA microarray หรือ DNA chip หรือ Gene chip ด้วยศักยภาพที่เหนือกว่าวิธีการเดิมจึงทำให้มีการนำเอาเทคนิคนี้มาใช้อย่างแพร่หลายในงานด้านต่างๆรวมไปถึงการศึกษาวิจัยโรคมะเร็ง

DNA microarrays คืออะไร

DNA microarray [1,2] เป็นเทคนิคที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์การแสดงออกของยีนจำนวนมากในคราวเดียวกัน การทำงานของ DNA microarray ใช้หลักการพื้นฐานเหมือนการศึกษาทางด้าน genomic ทั่วไป นั่นคืออาศัยคุณสมบัติพื้นฐานของ DNA ในการจับกันได้ (hybridize) ของสาย DNA ที่เป็นเบสคู่สมกัน โดยจะทำการตรึงสาย DNA ที่เป็นเบสคู่สมกับยีนที่ต้องการศึกษา (DNA probe) ไว้บนพื้นผิวของแผ่นค้ำจุน DNA ที่นำมาตรึงนี้อาจเป็นสาย Genomic DNA, cDNA หรือ สาย Oligonucleotide ของยีนที่ต้องการจะศึกษาก็ได้ จากนั้นจะทำการ hybridize ยีนที่อยู่บนแผ่นค้ำจุนด้วย DNA หรือ cDNA ของตัวอย่างที่ต้องการศึกษาที่ติดสลากด้วยสารเรืองแสง (fluorescence) แล้วทำการอ่าน (scan) แผ่นสไลด์ DNA microarray ด้วยเครื่อง DNA microarray scanner เพื่อนำผลที่ได้ไปวิเคราะห์ต่อไป

การศึกษาทาง Genetic ด้วย DNA microarray สามารถแบ่งลักษณะการศึกษาได้เป็น 2 แบบคือ

1. ศึกษาความผิดปกติของตัวยีนเอง เช่น การเกิด mutation, deletion, SNPs และการเกิด Polymorphism ต่าง ๆ เป็นต้น ซึ่งความผิดปกติเหล่านี้ บางอย่างสามารถนำมาใช้เป็นตัวบ่งชี้ (marker) ในการวินิจฉัยโรคต่างๆ ได้

2. ศึกษาการแสดงออกของยีน (gene expression) เพื่อดูแบบแผนการแสดงออกของยีนที่สนใจ โดยเปรียบเทียบการแสดงออกของยีนในสภาวะที่แตกต่างกัน เช่น สภาวะปกติเทียบกับสภาวะที่เป็นโรค เปรียบเทียบผลของยาที่ใช้ในการรักษาโรคต่อการแสดงออกของยีนในตัวอย่างที่ต้องการศึกษา เป็นต้น ทำให้เข้าใจถึงกลไกการเกิดโรคต่าง ๆ ในสิ่งมีชีวิต และนำความรู้ที่ได้ไปใช้ในการวางแผนการรักษาหรือคิดค้นยาที่มีประสิทธิภาพในการรักษามากขึ้น

ขั้นตอนในการศึกษาด้วยเทคนิค DNA Microarray แบ่งออกได้เป็น 3 ขั้นตอนใหญ่ ๆ ดังแสดงในรูปที่ 1 คือ

1. การเตรียมสไลด์ DNA microarray
2. การเตรียมตัวอย่างที่ต้องการตรวจ
3. การอ่านผลและวิเคราะห์

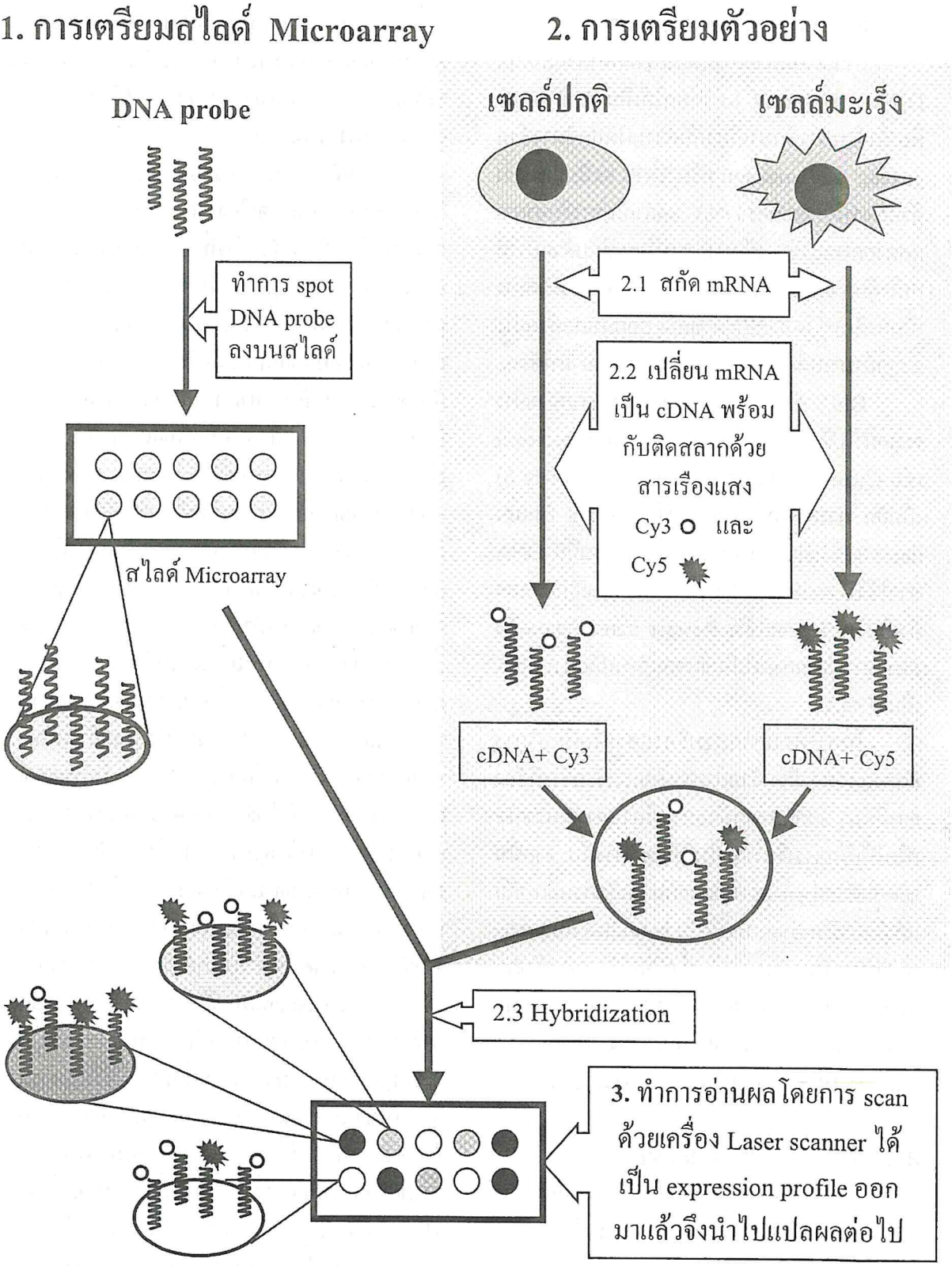
1. การเตรียมสไลด์ DNA microarray

เป็นการเตรียม DNA probe เพื่อนำไปตรึงไว้บนผิวแผ่นค้ำจุน ซึ่งปกติทั่วไปนิยมใช้เป็นแผ่นสไลด์แก้ว แต่ก็มีชนิดที่เป็นแผ่นไนลอน แผ่น nitrocellulose หรือแผ่นพลาสติก ฯลฯ ดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้นว่า DNA ที่นำมาทำเป็น probe อาจใช้ DNA, cDNA หรือ oligonucleotide ขึ้นอยู่กับความเหมาะสมและลักษณะของงานที่นำไปประยุกต์ใช้ โดยรวมแล้ว probe เหล่านี้จะเป็นชิ้นส่วนของยีนต่าง ๆ ในกลุ่มของยีนที่ต้องการจะศึกษา หรือมีความสัมพันธ์กับยีนที่ต้องการจะศึกษา

วิธีการตรึง DNA probe เหล่านี้ลงบนแผ่นค้ำจุนทำได้หลายวิธี แต่ละวิธีก็จะให้ประสิทธิภาพในการตรึงไม่เท่ากัน สามารถแบ่งเป็นวิธีใหญ่ ๆ ได้ 2 วิธี คือ

1. วิธีสังเคราะห์สาย DNA ลงบนแผ่นสไลด์โดยตรง ได้แก่ การใช้เทคนิค Photolithography และวิธีทางเคมีทำการสังเคราะห์สาย DNA probe ลงไปบนแผ่นสไลด์โดยตรง วิธีนี้สามารถตรึงสาย DNA ลงไปบนแผ่นสไลด์ได้เป็นจำนวนมาก เป็นหมื่นจุดขึ้นไป สไลด์ที่ได้มีคุณภาพสูง แต่วิธีนี้มีขั้นตอนการทำที่ยุ่งยากและมีค่าใช้จ่ายสูง

2. วิธีหยด DNA probe ที่ทำการสังเคราะห์ไว้แล้วลงบนแผ่นสไลด์ ซึ่งสามารถแบ่งได้เป็น 2 แบบ คือ แบบที่มีการจุ่ม DNA probe ที่สังเคราะห์ไว้แล้วลงบนแผ่นสไลด์ ตัวเข็มที่บรรจุ DNA probe จะแตะลงไปบนผิวของแผ่นสไลด์โดยตรง อีกแบบคือการฉีด DNA probe จากปลายเข็มลงไปบนแผ่นสไลด์ โดยไม่มีการสัมผัสกันระหว่างตัวเข็มกับแผ่นสไลด์ วิธีตรึง DNA probe ด้วย 2 วิธีนี้มีข้อดีข้อเสียแตกต่างกันแต่ทำได้ง่ายกว่าวิธีสังเคราะห์ DNA probe ลงไปบนแผ่นสไลด์โดยตรง และมีค่าใช้จ่ายน้อยกว่าวิธีแรก



รูปที่ 1 ผังแสดงขั้นตอนการทำงานของ DNA Microarray

2. การเตรียมตัวอย่างที่ต้องการตรวจ

การเตรียมตัวอย่างที่ต้องการศึกษาด้วยเทคนิค DNA microarray แบ่งออกได้เป็น 2 ลักษณะ คือ ถ้าเป็นการศึกษาเกี่ยวกับความผิดปกติทางด้าน genetic เช่น mutaion หรือ SNPs จะนิยมเตรียมตัวอย่างที่ใช้ในรูปของ DNA แต่ถ้าเป็นการศึกษาการแสดงออกของยีน เพื่อทำการเปรียบเทียบตัวอย่างที่สนใจกับตัวอย่างอ้างอิง ก็จะใช้ mRNA ของตัวอย่างเป็นตัวศึกษา โดย mRNA ที่สกัดออกมาจากตัวอย่างจะถูกนำมาเปลี่ยนเป็น cDNA ก่อนที่จะนำมาใช้งาน

DNA หรือ mRNA ที่สกัดออกมาจากตัวอย่างจะถูกนำไปติดสลากด้วยสารเรืองแสง (fluorescence) เช่น Cyanine 3 (Cy 3) และ Cyanine 5 (Cy 5) เป็นต้น การติดสลากสามารถทำได้หลายวิธี ทั้งแบบ direct และ indirect labelling ถ้าตัวอย่างเป็น DNA อาจใช้วิธี Nick translation, PCR labelling ฯลฯ ถ้าเป็น mRNA จะใช้วิธี Reverse transcription ติดสลากสารเรืองแสงลงไปในขั้นตอนการเปลี่ยน mRNA เป็น cDNA

ในการติดสลากสารเรืองแสงเพื่อศึกษาการแสดงออกของยีน ตัวอย่างอ้างอิงและตัวอย่างที่ต้องการศึกษา จะติดสลากด้วยสารเรืองแสงคนละชนิด เพื่อให้เกิดการเรืองแสงในสีที่แตกต่างกัน จากนั้นจะผสมตัวอย่างทั้งสองเข้าด้วยกัน ในสัดส่วนที่เท่ากัน แล้วจึงนำตัวอย่างผสมที่ได้ไป hybridize กับ probe บนแผ่น microarray slide ที่เตรียมไว้ ภายหลังจากขบวนการ Hybridization เสร็จสิ้นลง microarray slide ที่ได้จะถูกนำไปอ่านด้วยเครื่อง Microarray scanner เพื่ออ่านผลแล้วนำไปวิเคราะห์ต่อไป

3. การอ่านและการวิเคราะห์ผล

DNA microarray slide ที่ผ่านขบวนการ Hybridization แล้ว จะถูกนำมาอ่านด้วยเครื่อง confocal laser scanner เพื่อตรวจดูการเรืองแสงของสารเรืองแสงในแต่ละจุดบนแผ่นสไลด์ โดยทั่วไปเครื่อง scanner จะมีแหล่งกำเนิดเลเซอร์อยู่ 2 ชุด คือ green laser และ red laser ซึ่งมีช่วงความยาวคลื่นที่เหมาะสมกับสารเรืองแสง Cy 3 (สีเขียว) และ Cy 5 (สีแดง) ตามลำดับ

ผลที่ได้จากการอ่าน จะอยู่ในรูปของ Expression profile แสดงจุดเรืองแสงบนแผ่นสไลด์ โดยแต่ละจุดคือ DNA ตัวอย่างที่จับกับ probe บนแผ่นสไลด์ สีของแต่ละจุดที่มองเห็น แสดงถึงสัดส่วนปริมาณของตัวอย่างที่จับกับ probe ชนิดนั้นบนแผ่นสไลด์ ถ้าตัวอย่างชนิดไหนมีปริมาณมากกว่าก็จะจับกับ probe ชนิดนั้นได้มากกว่าอีกตัวอย่างหนึ่ง ซึ่งปริมาณของตัวอย่างมีความสัมพันธ์โดยตรงกับระดับการแสดงออกของตัวอย่างนั้น ๆ ตัวอย่างเช่น ทำการติดสลากตัวอย่างอ้างอิงด้วยสารเรืองแสงสีเขียว และตัวอย่างที่จะศึกษาด้วยสารเรืองแสงสีแดง เมื่อนำตัวอย่างทั้งสองมาผ่านขบวนการต่าง ๆ จนได้ expression profile ออกมา แล้วได้จุดเรืองแสงบนแผ่นสไลด์ที่เป็นสีเขียวหรือออกไปในทางเป็นสีเขียว แสดงว่าการแสดงออกของยีนชนิดนั้นในตัวอย่างที่จะศึกษามีน้อยกว่าตัวอย่างอ้างอิง ในทางตรงกันข้าม ถ้าจุดเรืองแสงเป็นสีแดงหรือออกไปทางสีแดง แสดงว่าการแสดงออกของยีนชนิดนั้นในตัวอย่างที่จะศึกษามีมากกว่าตัวอย่างอ้างอิง แต่ถ้าจุดเรืองแสงเป็นสีเหลืองซึ่งเกิดจากการรวมกันของแสงสีเขียวและสีแดงในอัตราส่วนที่เท่ากัน แสดงว่ามีการแสดงออกของยีนในตัวอย่างที่จะศึกษากับตัวอย่างอ้างอิงใกล้เคียงกันหรือเท่ากัน

expression profile ที่ได้จะถูกนำไปวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมวิเคราะห์ต่าง ๆ ในลำดับต่อไป เพื่อให้ได้ข้อมูลการแสดงออกของยีนที่แท้จริง ซึ่งโปรแกรมที่นำมาใช้วิเคราะห์มีหลายรูปแบบด้วยกัน ขึ้นอยู่กับว่าต้องการทราบข้อมูลและนำข้อมูลที่ได้ไปใช้ในการศึกษาเกี่ยวกับอะไร โปรแกรมที่สำคัญอันหนึ่งคือ Microarray Informatics เป็นโปรแกรมที่ช่วยในการจัดการข้อมูลที่มีจำนวนมาก สามารถวิเคราะห์โดยเชื่อมจากฐานข้อมูลภายนอกได้

การประยุกต์ใช้เทคนิค DNA Microarray ในการศึกษาทางด้าน Cancer Biology

จากความสามารถในการตรวจสอบการแสดงออกของยีนได้คราวละมาก ๆ ของเทคนิค DNA microarray จึงมีผู้สนใจที่จะนำเทคนิคนี้มาศึกษาเกี่ยวกับโรคมะเร็งในด้านต่าง ๆ เป็นจำนวนมาก [3,4,5] ทั้งนี้เพราะเป็นที่ทราบกันดีว่า โรคมะเร็งเกิดจากความผิดปกติบนจีโนมของมนุษย์ ทำให้ยีนต่าง ๆ มีการแสดงออกที่ผิดปกติไป การศึกษาเกี่ยวกับยีนที่ผิดปกติในสมัยก่อนทำได้ค่อนข้างจำกัด ทำได้ครั้งละไม่กี่ยีน ต่อมาภายหลังจากการศึกษาต่าง ๆ ทำให้เกิดสมมุติฐานที่ว่า การเกิดโรคมะเร็งไม่ได้เกิดมาจากความผิดปกติของยีนใดยีนหนึ่งเพียงอย่างเดียว แต่เป็นผลมาจากการทำงานที่ผิดปกติของทั้งระบบที่เกี่ยวข้อง ซึ่งประกอบด้วยยีนหลายยีนที่ทำงานสัมพันธ์กัน ดังนั้นเทคนิคทางด้าน microarray จึงมีความเหมาะสมกับการศึกษาเกี่ยวกับโรคมะเร็งเป็นอย่างมาก ทำให้เห็นรูปแบบการทำงานของยีนทั้งระบบ อันนำไปสู่ความเข้าใจรูปแบบกลไกการทำงานของยีนต่าง ๆ ที่ผิดปกติไป ซึ่งเป็นผลทำให้เกิดเป็นเซลล์มะเร็งขึ้น

ตัวอย่างการประยุกต์ใช้เทคนิค microarray ในการศึกษาเกี่ยวกับโรคมะเร็ง ได้แก่

การวิเคราะห์หา Mutation, Polymorphism และ Tumor marker

การศึกษา mutation และ polymorphism ต่าง ๆ ในสมัยก่อนนิยมใช้วิธี Single-strand conformation polymorphysm (SSCP) และ Denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) ซึ่งมีวิธีการทำค่อนข้างยุ่งยาก แต่ในปัจจุบันเทคโนโลยีต่าง ๆ ได้มีการพัฒนาสูงขึ้น เทคนิค DNA microarray จึงเป็นอีกทางหนึ่งที่นำมาใช้ในการศึกษาทางด้านนี้ อันเป็นผลเนื่องมาจากความสามารถในการศึกษายีนได้ครั้งละมาก ๆ นั่นเอง ตัวอย่างของการศึกษานี้ได้แก่ การศึกษาของ Wang และคณะ [6] ใช้ oligonucleotide microarray ตรวจหา SNPs ในบริเวณ 5' untranslated region ของยีน RAD 51 ในกลุ่มตัวอย่างที่มี mutation ของยีน BRCA1/2 การเกิด SNPs ในบริเวณนี้มีความเกี่ยวข้องกับการเพิ่มความเสี่ยงในการเป็นมะเร็งเต้านม และพบว่าความเสี่ยงของการเป็นมะเร็งรังไข่ในกลุ่มตัวอย่างที่มี mutation ของยีน BRCA2 จะน้อยกว่า นอกจากนี้ Hacia และคณะ [7] ได้ทำการศึกษา mutation ของยีน BRCA1 โดยใช้ oligonucleotide microarray และพบว่ามี mutaion เกิดขึ้นบน exon 11 ของยีนนี้ จะเห็นได้ว่าเทคนิค microarray สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการตรวจหาความผิดปกติต่าง ๆ ของยีนได้เหมือนกับเทคนิคอื่น ๆ

Nishizuka และคณะ [8] ทำการศึกษาเกี่ยวกับ marker gene ที่จะใช้ในการแยก colon cancer ออกจาก ovarian cancer ใน ovarian mass และ ใน peritoneal carcinomatosis ซึ่งทำการแยกออกจากกันได้ค่อนข้างยาก โดยทำการทดลองหา marker gene ของ colon cancer และ ovarian cancer ซึ่งคัดเลือกมาจากยีนที่สนใจจำนวน 9,706 ยีน ด้วยวิธี cDNA microarray พบว่า โปรตีน villin และ moesin มีแนวโน้มว่าจะใช้เป็น tumor marker ของ colon cancer และ ovarian cancer ได้ ตามลำดับ และจากการทดสอบสมมุติฐานนี้ด้วยเทคนิค Protein lysate array และ Tissue microarray พบว่า สามารถใช้ villin เป็น protein marker สำหรับ colorectal carcinoma ได้ดีในระดับหนึ่ง ส่วน moesin ยังมีข้อจำกัดในการใช้เป็น marker สำหรับ ovarian adenocarcinoma

Tanwar และคณะ [9] ทำการศึกษา gene expression profile ของ glioblastoma multiforme (GBM) ในตัวอย่าง 19 ราย เทียบกับเนื้อสมองปกติโดยใช้เทคนิค cDNA microarray พบว่า

สามารถใช้ระดับการแสดงออกของโปรตีน YKL-40 เป็น marker ในการตรวจสอบการเกิด glioma และใช้แบ่ง grade ได้อีกด้วย นอกจากนี้ยังมีอีกหลายงานวิจัยที่ใช้เทคนิค miroarray ในการตรวจหา tumor marker ต่าง ๆ เช่น คณะของ Mok [10] และ Dhanasekaran [11] ซึ่งทำการตรวจหาใน ovarian cancer และ prostate cancer ตามลำดับ

การหา Pathway และ Metastasis ของโรคมะเร็ง

นอกจากจะใช้เทคนิค microarray ในการหา polymorphysm แล้ว ยังมีการนำเทคนิคนี้มาใช้ในการศึกษากลไก และ pathway ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคมะเร็ง เช่น การศึกษา tumor suppressor gene หรือ transcription factor ของเซลล์มะเร็งต่าง ๆ ตัวอย่างการศึกษา ได้แก่ การศึกษาการตอบสนองของยีน p53 เมื่อเซลล์ได้รับการกระตุ้นจากรังสีและสารเคมีเพื่อดูการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นกับยีน p53 และยีนที่เกี่ยวข้อง โดย Zhao และคณะ [12] หรือการศึกษาของ Louro และคณะ [13] ที่ทำการศึกษาเปรียบเทียบการแสดงออกของยีน GLI และ c-MYC ในกลไกการควบคุมยีนที่เกี่ยวข้องใน epithelial model ของการเกิด malignant transformation เป็นต้น

Metastasis ของโรคมะเร็งเป็นอีกหัวข้อหนึ่งที่มีผู้สนใจใช้เทคนิค microarray ทำการศึกษาเป็นจำนวนมากอีกด้วย เช่น การศึกษา expression profile ของ nonmetastatic และ metastatic medulloblastoma โดย MacDonald และคณะ [14] พบว่ามีการแสดงออกของยีนที่แตกต่างกันจำนวน 85 ยีน ซึ่งยีน platelet-derived growth factor receptor alpha (PDGFRA) และยีนในกลุ่ม RAS/mitogen-activated protein kinase (MAPK) ที่พบใน metastatic medulloblastoma มีการทำงานที่สูงขึ้น และจากการตรวจสอบด้วยเทคนิค Immunohistochemistry ได้ผลยืนยันว่ามีการแสดงออกที่เพิ่มมากขึ้นจริง และจากการศึกษาทาง In vitro ของ PDGFRA และ MAPK พบว่า PDGFRA และ MAPK ทำให้เกิดการ migration ของ medulloblastoma มากขึ้น

Schmelz และคณะ [15] ได้ทำการศึกษากลไกที่เกี่ยวข้องกับการเกิด metastasis ของ testicular germ cell tumor โดยใช้เทคนิค microarray ทำการเปรียบเทียบการแสดงออกของยีนที่ได้จาก testicular tumor tissue เทียบกับในเนื้อเยื่อปกติ โดยแบ่ง testicular tumor ออกเป็น seminomas และ non-seminomas พบว่า ใน testicular tumor tissue ทั้งสองชนิดมีการแสดงออกของยีนที่คล้ายกัน มีทั้งแบบที่เป็น downregulation และ upregulation โดยยีนที่เกิด downregulation เป็นยีนที่เกี่ยวข้องกับการเกิด apoptosis, protein turnover, chemokines, hormones และการเกิด detoxification ส่วนยีนที่เกิด upregulation จะเกี่ยวข้องกับขบวนการ cell cycle regulation และ chromatin organization เป็นต้น

การจำแนกชนิดของโรคมะเร็ง (Classification)

ประโยชน์อีกประการหนึ่งของเทคนิค DNA microarray ที่นำมาใช้ คือ การจำแนกมะเร็งชนิดต่าง ๆ เช่น การศึกษาของ Golub และคณะ [16] ซึ่งใช้ oligonucleotide microarray ศึกษาการแสดงออกของยีนจำนวน 6,817 ยีนในผู้ป่วย acute leukemia จากผลของ expression profile ที่ได้สามารถแยกผู้ป่วยโดยดูจากการแสดงออกของยีนออกมาได้เป็น 2 กลุ่ม คือ acute myelogenous leukemia (AML) และ acute lymphocytic leukemia (ALL) จากผลที่ได้ Golub และคณะจึงใช้ข้อมูลที่ได้เป็นตัวช่วยในการจำแนกชนิด acute leukemia ที่ไม่ทราบชนิดได้ Perou และคณะ [17] ใช้เทคนิค microarray ในการจำแนกชนิด breast cancer เป็น subtype ต่าง ๆ โดยอาศัย expression profile เป็นตัวช่วย นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยที่ใช้

เทคนิค microarray ในการจำแนกมะเร็งชนิดต่าง ๆ ไม่ว่าจะเป็น bladder cancer, breast cancer, lung cancer, leukemia และ lymphoma ซึ่ง Dyrskjot และคณะ [18] ได้รวบรวมไว้ แสดงให้เห็นว่าเทคนิค microarray สามารถนำมาใช้ในการจำแนกมะเร็งชนิดต่าง ๆ ได้ดี

การทำนายผลการรักษาและพยากรณ์โรค

ตัวอย่างการศึกษา การตอบสนองต่อการรักษาโรคมะเร็งโดยใช้เทคนิค DNA microarray เช่น Li และคณะ [19] ทำการศึกษายีน 12,558 ยีนเพื่อดูการแสดงออกของยีนที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อได้รับยา genistein ในการรักษา prostate cancer พบว่า มียีนเกิดการแสดงออกที่เปลี่ยนแปลงไปจำนวน 832 ยีน โดย 11 ยีน เป็นการเปลี่ยนแปลงแบบ down regulation ได้แก่ MMP-9, Protease M, uPAR, VEGF, Neuropilin, TSP, BPGF, LPA, TGF-b2, TSP-1 และ PAR-2 และพบว่ามีสองยีนที่เกิดการเปลี่ยนแปลงแบบ up regulation ได้แก่ connective tissue growth factor และ connective tissue activation peptide ซึ่งยีนต่าง ๆ เหล่านี้เกี่ยวข้องกับการเกิด angiogenesis, tumor cell invasion และ metastasis เมื่อนำผลที่ได้จากการตรวจพบไปศึกษาด้วยวิธี RT-PCR, Western blot และ Zymographic analysis ก็ได้ผลสอดคล้องกับการศึกษาด้วยเทคนิค microarray นั่นคือ genistein ทำให้เกิด down regulation ต่อการเกิด transcription และ translation ของยีนที่ควบคุมการเกิด angiogenesis, tumor cell invasion และ metastasis ของ prostate cancer

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาถึง drug sensitivity และ drug resistance ในมะเร็งต่าง ๆ อีกด้วย เช่น การศึกษาการดื้อยา doxorubicin ในเซลล์มะเร็งของ Kudoh และคณะ [20] และการศึกษาการดื้อยา cisplatin ในผู้ป่วย ovarian cancer ของ Sakamoto และคณะ [21] เป็นต้น

ตัวอย่างการศึกษาการพยากรณ์โรค ได้แก่ การศึกษาของ Alzadeh และคณะ [22] ทำการศึกษา diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) ซึ่งเป็น subtype หนึ่งของ non – Hodgkin's lymphoma จากการศึกษาด้วยเทคนิค microarray พบว่า จาก expression profile ของ DLBCL สามารถแบ่ง DLBCL ออกไปเป็น phenotype ใหม่ได้ 2 ชนิด คือ activated peripheral-blood B-cell (AB) และ germinal center B-cell (GCB) และเมื่อดูอัตราการรอดชีวิตที่เวลา 5 ปี ของผู้ป่วยที่เป็น DLBCL พบว่ามีค่าประมาณ 52% โดยคิดเป็น subtype GCB-DLBCL ประมาณ 76% และ subtype AB-DLBCL ประมาณ 16% ซึ่งผู้ป่วย DLBCL ชนิด AB-DLBCL จะมีความเสี่ยงในการเสียชีวิตสูงกว่าผู้ป่วยที่เป็น GCB-DLBCL นอกจากนี้ Beer และคณะ [23] ได้ใช้ expression profile ของ lung adenocarcinoma ที่ได้จากเทคนิค microarray มาใช้ในการทำนายอัตราการรอดชีวิตของผู้ป่วยในระยะต้นด้วยเช่นกัน

การพิสูจน์หาสารก่อมะเร็ง

นอกจากจะใช้เทคนิค microarray ในการศึกษาต่าง ๆ ข้างต้นแล้ว ยังได้มีการนำมาประยุกต์ใช้กับการศึกษาเกี่ยวกับการหาสารก่อมะเร็ง [24] และใช้ตรวจสอบการได้รับสารก่อมะเร็งในร่างกาย [25] อีกด้วย

สรุป

จากตัวอย่างการประยุกต์ใช้เทคนิค microarray ในการศึกษาโรคมะเร็งดังที่กล่าวมา จะเห็นได้ว่า เทคนิคนี้สามารถตอบคำถามและมีศักยภาพในการนำมาใช้ในการศึกษาเกี่ยวกับโรคมะเร็งในด้านต่าง ๆ ได้อย่างมีประสิทธิภาพ หน่วยรังสีรักษาและมะเร็งวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่จึงได้นำเอาเทคนิคนี้มาใช้ในห้องปฏิบัติการ Radiation Biology แต่เนื่องจากค่าใช้จ่ายในการปฏิบัติการยังมีราคาค่อนข้างสูง และข้อมูลการศึกษา

ต่าง ๆ ยังมีน้อย เทคนิคนี้จึงยังคงถูกจำกัดอยู่ในการวิจัยเป็นส่วนใหญ่ ในอนาคตถ้ามีการศึกษาทางด้านนี้มากขึ้น และเทคนิคต่าง ๆ ได้รับการพิสูจน์ถึงประสิทธิภาพแล้ว เชื่อว่าเทคนิค microarray นี้ จะเป็นประโยชน์อย่างมากในการนำมาใช้ในการวินิจฉัยและวางแผนการรักษาโรคมะเร็งต่าง ๆ ได้เป็นอย่างดี เพื่อประโยชน์สูงสุดต่อผู้ป่วยมะเร็ง

เอกสารอ้างอิง

1. วีระพงศ์ ลุลิตานนท์. DNA microarray and expression bioinformatics: วสันต์ จันทราทิตย์ และ วีระพงศ์ ลุลิตานนท์. ชีวสารสนเทศศาสตร์. สถาบันบัณฑิตวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีไทย. สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ. (2544) หน้า 45-55
2. Friend SH, Stoughton RB, The magic of microarrays. Scientific American. February 2002:46-53
3. Somasundaram K, Mungamuri SK, Wajapeyee N. DNA microarray technology and its applications in cancer biology. Appl Geno Prot. 2002;1(4):209-218
4. Ramaswamy S, Golub TR. DNA microarrays in clinical oncology. J Clin Oncol. 2002;20(7):1932-1941
5. Pusztai L, Ayers M, Stec J, et al. Clinical application of cDNA microarrays in oncology. The Oncologist. 2003;8:252-258
6. Wang WW, Spurdle AB, Kolachana P, et al. A single nucleotide polymorphism in the 5'untranslated region of RAD51 and risk of cancer among BRCA1/2 mutation carriers. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2001;10:955-60
7. Hacia JG, Brody LC, Chee MS, et al. Detection of heterozygous mutations in BRCA1 using high-density oligonucleotide arrays and two-color fluorescence analysis. Nat Genet. 1996;14:441-7
8. Nishizuka S, Chen ST, Gwadry FG, et al. Diagnostic markers that distinguish colon and ovarian adenocarcinomas: identification by genomic, proteomic, and tissue array profiling. Cancer Res. 2003;63:5243-5250
9. Tanwar MK, Gilbert MR, Holland EC. Gene expression microarray analysis reveals YKL-40 to be a potential serum marker for malignant character in human glioma. Cancer Res. 2002;62:4364-8
10. Mok SC, Chao J, Skates S, et al. Prostasin, a potential serum marker for ovarian cancer: identification through microarray technology. J Natl Cancer Inst. 2001;93:1458-64
11. Dhanasekaran SM, Barrette TR, Ghosh D, et al. Delineation of prognostic biomarkers in prostate cancer. Nature. 2001;412:822-6
12. Zhao R, Gish K, Murphy M, et al. Analysis of p53-regulated gene expression patterns using oligonucleotide arrays. Genes Dev. 2000;14:981-93
13. Louro ID, Bailey EC, Li X, et al. Comparative gene expression profile analysis of GLI and c-MYC in an epithelial model of malignant transformation. Cancer Res. 2002;62:5867-5873
14. MacDonald TJ, Brown KM, LaFleur B, et al. Expression profiling of medulloblastoma: PDGFRA and the RAS/MAPK pathway as therapeutic targets for metastatic disease. Nat Genet. 2001;29:143-152
15. Schmelz HU, Port M, Albers P, et al. Differential gene expression in testicular carcinoma – preliminary results. Proc Am Soc Clin Oncol. 2003;22:900
16. Golub TR, Slonim DK, Tamayo P, et al. Molecular classification of cancer. Science. 1999;286:531-7
17. Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, et al. Molecular portraits of human breast tumours. Nature. 2000;406:747-52
18. Dyrskjot L. Classification of bladder cancer by microarray expression profile: towards a general clinical use of microarrays in cancer diagnostics. Expert Rev Mol Diagn. 2003;3(5):635-647
19. Li Y, Sarker FH. Down-regulation of invasion and angiogenesis-related genes identified by cDNA microarray analysis of PC3 prostate cancer cells treated with genistein. Cancer Letters. 2002;186:157-164
20. Kudoh K, Ramanna M, Ravatn R, et al. Monitoring the expression profiles of Doxorubicin-induced and Doxorubicin-resistant cancer cells by cDNA microarray. Cancer Res. 2000;60:4161-6
21. Sakamoto M, Kondo A, Kawasaki K, et al. Analysis of gene expression profiles associated with cisplatin resistance in human ovarian cancer cell lines and tissues using cDNA microarray. Hum Cell. 2001;14:305-15

22. Alizadeh AA, Eisen MB, Davis Re, et al. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. Nature. 2000;403:503-511
23. Beer DG, Kardia SL, Huang CC, et al. Gene-expression profiles predict survival of patients with lung adenocarcinoma. Nat Med. 2002;8(8):816-24
24. Afshari CA, Nuwaysir EF, Barrett JC. Application of complementary DNA microarray technology to carcinogen identification, toxicology, and drug safety evaluation. Cancer Res. 1999;59:4759-4760
25. Lampe JW, Stepaniants SB, Mao M, et al. Signatures of environmental exposures using peripheral leukocyte gene expression: tobacco smoke. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2004;13(3):445-453