บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

I. ขบวนการการเกิดโรคมะเร็ง

เป็นเวลานานมาแล้วที่มีการสังเกตพบว่ามะเร็งบางชนิดจะเกิดขึ้นในบริเวณที่มีการเปลี่ยนแปลงบางชนิดของเซลล์ในบริเวณนั้นๆนำมาก่อน ซึ่งการเปลี่ยนแปลงนั้นอาจจะเป็นความผิดปกติของเซลล์ชนิดที่มีโอกาสจะกลายเป็นมะเร็งสูงที่เรียกว่าระยะก่อนมะเร็ง (pre-malignant lesions) เช่น carcinoma in-situ ในมะเร็งปากมดลูก[48] หรือการเปลี่ยนแปลงชนิดไม่ร้าย เช่น การที่เซลล์บริเวณนั้นมีการแบ่งตัวเพิ่มมากขึ้น (hyperproliferation) หรือมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์บางอย่าง เช่น dysplastic change และ atypical hyperplasia ในมะเร็งเต้านม[49] หรือสัมพันธ์กับการเกิดเนื้องอกชนิดไม่ร้ายตรงตำแหน่งนั้น เช่น benign polyps กับมะเร็งลำไส้ใหญ่[50] เป็นต้น

ปรากฏการณ์ที่พบนี้แสดงให้เห็นว่าการเกิดมะเร็งน่าจะเป็นขบวนการที่มีหลายขั้นตอน (multistage carcinogenesis) และแต่ละขั้นตอนจะมีความผิดปกติระดับโมเลกุลซึ่งมีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงทางรูปลักษณะภายนอกของเซลล์ ระยะเวลาที่ใช้ในการสะสมความผิดปกติในระดับเซลล์นี้กินเวลานานเป็นปีหรือบางทีเป็นเวลาหลายปี แต่ในบางกรณีถ้ามีการกระตุ้นของสารบางชนิดอาจจะทำให้ระยะเวลาสั้นลงได้

จากการทดลองทำให้เกิดมะเร็งในสัตว์ทดลองโดยการใช้สารเคมีเป็นตัวกระตุ้น พบว่าขบวนการเกิดมะเร็งเป็นขบวนการที่มีหลายขั้นตอน เริ่มต้นจากการที่สัตว์ทดลองสัมผัสกับสารเคมีที่เป็นสารก่อมะเร็ง (mutagens or initiators) หลังจากได้รับสารก่อมะเร็งเข้าไปสารนั้นจะถูกเปลี่ยนแปลงโดยขบวนการทางเคมีในร่างกายซึ่งมีทั้งการกระตุ้นให้เป็นสารที่ทำหน้าที่มากขึ้น (active metabolites) หรือกลายเป็นสารที่หมดฤทธิ์ (inactive metabolites) ขึ้นอยู่กับขบวนการเมตาบอลิสซึมของร่างกายซึ่งมีความแตกต่างกันไป จากนั้นสารก่อมะเร็งนี้จะไปมีผลต่อโครงสร้างของ DNA ทำให้เกิดความผิดปกติชนิดที่ไม่สามารถเปลี่ยนแปลงกลับคืนได้[51]

multistage carcinogenesis (รูปที่ 3) ประกอบด้วยขั้นตอนที่สำคัญ 4 ขั้นตอน คือ

1. Tumor initiation เป็นขั้นตอนที่สารก่อมะเร็งไปก่อให้เกิดความผิดปกติ (mutation) แบบถาวรต่อโครงสร้างของ DNA ซึ่งเป็นสารพันธุกรรมในเซลล์ ความผิดปกตินี้เกิดจากการจับกันระหว่างสารก่อมะเร็งและเบสนิวคลีโอไทด์ซึ่งเป็นส่วนประกอบของสาย DNA[52] เซลล์ที่มีแนวโน้มที่จะเกิดความผิดปกติจะเป็นเซลล์ที่กำลังมีการแบ่งตัวหรือกำลังมีการเจริญเติบโต สารเคมีที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในขั้นตอนนี้เรียกว่า initiators ขั้นตอนนี้เป็นขั้นตอนที่เป็นหัวใจสำคัญในการก่อให้เกิดมะเร็งเพราะเป็นขั้นตอนที่ต้องเกิดในมะเร็งทุกชนิด แต่ขั้นตอนนี้เพียงขั้นตอนเดียวยังไม่เพียงพอในการทำให้เกิดโรค

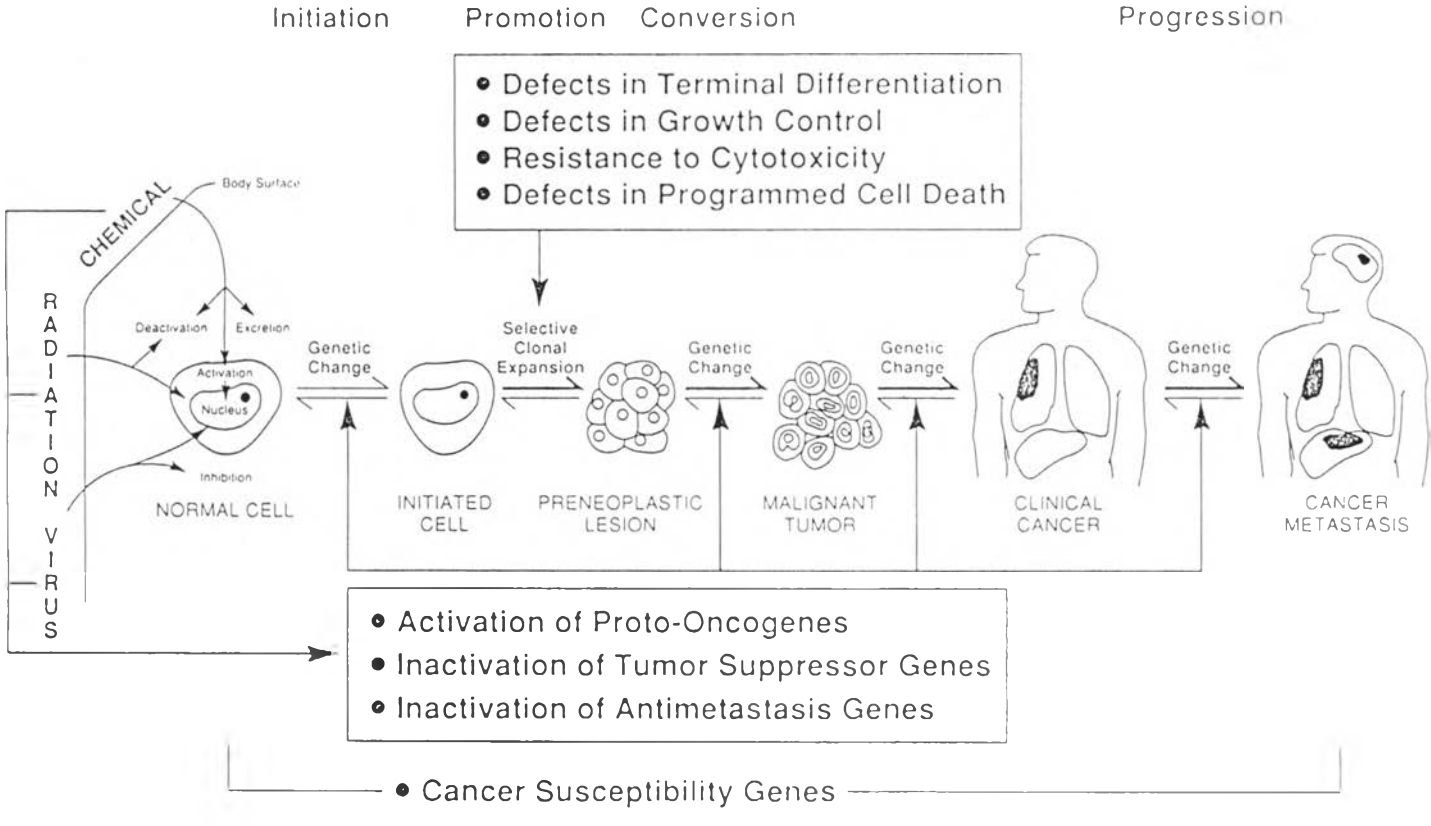
2. Tumor promotion ขั้นตอนนี้ประกอบด้วยขบวนการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนและเจริญเติบโตของเซลล์ที่มีความผิดปกติในขั้นตอนแรกและทุกครั้งที่มีการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนก็จะมีการสะสมความผิดปกติอื่นๆในระดับยีนมากขึ้นเรื่อยๆ[53] สารเคมีที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในขั้นตอนนี้เรียกว่า promotors ซึ่งจะมีคุณสมบัติที่แตกต่างจากสารที่เป็น initiators ที่ทำให้เกิดขั้นตอนแรก เพราะ promotors ไม่มีคุณสมบัติเป็น mutagenic คือถ้าให้สารที่เป็นเฉพาะ promotors ไปสัมผัสกับเซลล์จะไม่สามารถไปก่อให้เกิดความผิดปกติแบบถาวรต่อ DNA ได้ และไม่สามารถทำให้เซลล์ปกติกลายไปเป็นเซลล์มะเร็งได้ แต่สาร promotors นี้จะไปเร่งขบวนการเกิดมะเร็งให้เร็วขึ้นหลังจากที่เซลล์นั้นๆสัมผัสกับสารก่อมะเร็ง[54]

ความรู้เกี่ยวกับคุณสมบัติที่แตกต่างระหว่างสารที่มีคุณสมบัติเป็น initiators และ promotors ได้มาจากการศึกษา murine skin carcinogenesis model โดย Berenblum[55] ที่แสดงให้เห็นว่า initiators จะไปทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในเซลล์แบบถาวร ซึ่งอาจจะไม่สามารถมองเห็นความเปลี่ยนแปลงจากรูปร่างภายนอกของเซลล์ได้ จนกระทั่งได้รับสารที่เป็น promotors มากระตุ้นให้มีการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนมากขึ้น แต่ถ้าให้สารที่เป็น promotors เข้าไปก่อน initiators จะไม่สามารถทำให้เกิดความเปลี่ยนแปลงดังกล่าวข้างต้นได้

3. Malignant conversion เป็นขั้นตอนที่เกิดการเปลี่ยนแปลงของรูปร่างของเซลล์จากระยะก่อนเซลล์มะเร็งให้เป็นลักษณะของเซลล์มะเร็ง จะเกิดขั้นตอนนี้ได้ต้องมีการเปลี่ยนแปลงและมีความผิดปกติของยีนในร่างกายเพิ่มเติมโดยการกระตุ้นของสารที่เป็น promotors ทั้งการกระตุ้นยีนก่อมะเร็งและยับยั้งยีนต้านมะเร็ง[55] ปริมาณของ promotors ไม่สำคัญเท่ากับจำนวนครั้งหรือความถี่ที่เซลล์ผิดปกติได้รับ และถ้าหยุดการให้สาร tumor promotors ในช่วงระยะก่อนที่จะเป็นมะเร็ง (pre-malignant lesions) เซลล์จะสามารถเปลี่ยนกลับมาเป็นเซลล์ปกติได้ แต่ถ้าในระยะนี้ได้รับสารที่มีความสามารถในการทำลาย DNA (DNA-damaging agents) จะเร่งความผิดปกติในขั้นตอนนี้ให้เกิดเร็วขึ้น[57]

4. Tumor progression ขั้นตอนนี้ประกอบด้วยเซลล์ที่มีลักษณะรูปร่างเป็นเซลล์มะเร็งและแสดงคุณลักษณะต่างๆของมะเร็ง เช่นความสามารถในการลุกลามอวัยวะข้างเคียงโดยการสร้างและหลั่งสารที่สามารถย่อยสลายโปรตีนได้[58] นอกจากนั้นความผิดปกติของสารพันธุกรรมในเซลล์จะสะสมมากขึ้นทั้งความผิดปกติของยีนก่อมะเร็งและของยีนต้านมะเร็ง และทำให้เกิดการเจริญเติบโตที่อยู่นอกเหนือความควบคุมของร่างกาย

จะเห็นได้ว่ากว่าที่เซลล์หนึ่งๆจะกลายเป็นเซลล์มะเร็งได้นั้นต้องมีความผิดปกติต่อสารพันธุกรรมหลายชนิดเกิดขึ้นในเซลล์นั้นๆ จำนวนของความผิดปกติต่อสารพันธุกรรมมีความสำคัญในขบวนการเกิดมะเร็งมากกว่าลำดับของความผิดปกติ ตัวอย่างของ multistage carcinogenesis ที่เห็นได้ชัดในทางคลีนิคคือ รูปแบบของการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่ (colorectal cancer) เพราะเป็นที่ทราบกันดีว่ามะเร็งชนิดนี้มีระยะความเปลี่ยนแปลงที่เห็นได้เป็นรูปธรรมเป็นขั้นๆตั้งแต่ระยะเซลล์เยื่อบุลำไส้ใหญ่ปกติ เนื้องอกชนิดไม่ร้ายของลำไส้ (adenoma) เซลล์ระยะก่อนมะเร็ง (pre-malignant lesions) และเซลล์ที่มีการเปลี่ยนแปลงเป็นมะเร็งอย่างชัดเจน (colorectal cancer cell) และทราบว่ามะเร็งลำไส้ใหญ่จะเกิดขึ้นบนรอยโรคที่เคยเป็น

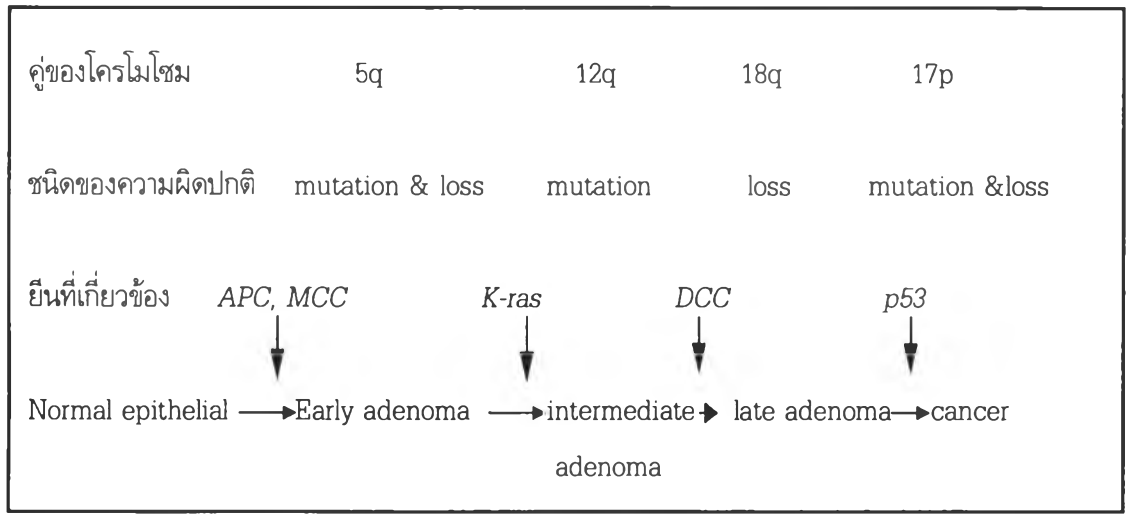


รูปที่ 3 ขั้นตอนการเกิดมะเร็ง (multistage carcinogeresis)

เนื้องอกแบบธรรมดา ทำให้สามารถศึกษาถึงความผิดปกติในระดับของ DNA ในเซลล์ระยะต่างๆได้[58] (รูปที่ 4) และพบว่าจะมีความผิดปกติในระดับพันธุกรรมเกิดสะสมขึ้นตามลำดับของการเปลี่ยนแปลง ซึ่งความผิดปกตินั้นมีทั้งการกระตุ้นยีนก่อมะเร็งและยับยั้งยีนต้านมะเร็ง จนในที่สุดกลายเป็นโรคมะเร็งลำไส้ใหญ่ขึ้นมา

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบระยะต่าง ๆ ของการเกิดมะเร็งกับ พยาธิสภาพของเซลล์ และลักษณะการเปลี่ยนแปลงในระดับโมเลกุล

ขบวนการเกิดมะเร็ง	พฤติกรรมของเซลล์	ความผิดปกติที่เห็นจากภายนอก
Initiation	Normal cell	Genetic aberation
Promotion	Premalignant	Hyperplastic/Dysplasic
Conversion	Cancer	Malignant transformation
Progression	Invasion/Metastasis	Invasion/spreading



รูปที่ 4 แสดงลำดับขั้นของความผิดปกติในระดับโมเลกุลในขั้นตอนของการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่

II. ยีนก่อมะเร็ง และยีนต้านมะเร็ง

ในภาวะปกติพฤติกรรมของเซลล์เช่นการแบ่งตัว การเจริญเติบโต การทำหน้าที่และการตายของเซลล์จะถูกกำหนดให้เป็นไปในรูปแบบปกติภายใต้การควบคุมของยีนซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของสาย DNA ที่สามารถถอดรหัสออกมาเป็นโปรตีนที่ควบคุมการทำหน้าที่ของเซลล์ รหัสนี้เกิดจากการเรียงลำดับของ nitrogeneous base คือ adenine (A), guanine (G), thymine (T) และ cytosine (C) บนแกน (backbone) ซึ่งประกอบด้วยน้ำตาล deoxyribose และ phosphate

มะเร็งเป็นโรคที่เกิดจากความผิดปกติในระดับยีน ความผิดปกตินี้อาจจะเกิดตั้งแต่ระดับเซลล์สืบพันธ์ (germ line mutation) หรือมาเกิดความผิดปกติภายหลังในระดับเซลล์ร่างกายธรรมดา (somatic cell mutation) ความผิดปกติที่เกิดขึ้นนี้จะทำให้ยีนที่ผิดปกติทำหน้าที่มากขึ้นหรือน้อยลงขึ้นอยู่กับชนิดของยีน ยีนที่เป็นสาเหตุของมะเร็ง (cancer genes) แบ่งออกได้เป็นสองกลุ่มใหญ่ ๆ คือ ยีนก่อมะเร็ง (oncogenes) และยีนต้านมะเร็ง (tumor suppressor genes) ซึ่งมีคุณสมบัติหลายชนิดที่แตกต่างกันดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 แสดงถึงคุณสมบัติของยีนก่อมะเร็งและยีนต้านมะเร็งที่แตกต่างกัน

คุณสมบัติ	ยีนก่อมะเร็ง	ยีนต้านมะเร็ง
ลักษณะพื้นฐานของยีน	ยีนเด่น (dominant genes)	ยีนด้อย (recessive genes)
จำนวนอัลลีลผิดปกติที่ทำให้ยีนเสียหน้าที่	เพียงหนึ่งอัลลีล	ต้องผิดปกติทั้งสองอัลลีล
ผลของความผิดปกติที่เกิดขึ้น	ทำหน้าที่มากขึ้น	ทำหน้าที่ลดลงหรือไม่ทำหน้าที่
หลักฐานที่แสดงว่าความผิดปกติของยีนเกิดในระดับเซลล์สืบพันธ์	มีในบางโรคแต่เป็นส่วนน้อย	พบเป็นส่วนมาก

1. ยีนก่อมะเร็ง (oncogenes) ยีนปกติที่ควบคุมการเจริญเติบโตของเซลล์ร่างกาย (proto-oncogenes) เมื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงในระดับของพันธุกรรมทำให้กลายเป็นยีนก่อมะเร็ง (oncogenes) ยีนก่อมะเร็งเป็นยีนที่ทำหน้าที่กระตุ้นการเจริญเติบโตแบบผิดปกติของเซลล์ทำให้เกิดเป็นมะเร็งขึ้นมา ความผิดปกติที่ทำให้ยีนปกติเปลี่ยนไปกลายเป็นยีนก่อมะเร็งมี 4 แบบใหญ่ ๆ คือ

1. Gene mutation คือความผิดปกติที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของลำดับ nitrogenous base บนสาย DNA ทำให้มีการสร้างสายโปรตีนที่แตกต่างไปจากปกติ gene mutation เกิดได้จาก 3 ขบวนการคือ การแทนที่ (substitution) คือการเปลี่ยนชนิดของเบส เช่นเปลี่ยนจากเบสอดีนีนเป็นเบสกวานีนเป็นต้น การขาดหาย (deletion) คือการขาดหายไปของเบสซึ่งอาจเกิดขึ้นได้ตั้งแต่หนึ่งเบสขึ้นไป การเติม (insertion) คือการเพิ่มขึ้นของเบสในตำแหน่งนั้น ผลจากความผิดปกตินี้ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงตามมาได้หลายชนิดแล้วแต่ลักษณะของความผิดปกติคือ

1.1 Missense mutation คือการเกิดขบวนการแทนที่ของลำดับเบสแล้วทำให้รหัสของยีนเปลี่ยนไปทำให้โปรตีนที่ผลิตออกมาจากยีนนั้นมีกรดอะมิโนที่แตกต่างไปจากที่ควรจะเป็นไปและไปกระตุ้นให้มีการเจริญเติบโตและการแบ่งตัวที่ผิดปกติของเซลล์ร่างกาย ตัวอย่างในทางคลีนิคเช่นยีนก่อมะเร็งในกลุ่ม *ras*[60]

1.2 Nonsense mutation คือการเปลี่ยนแปลงของลำดับ nitrogeneous base ที่เกิดขึ้นทำให้เกิดเป็นรหัสหยุด (stop codon) การสร้างสาย mRNA ซึ่งเป็นสายต้นแบบในการสร้างโปรตีน ทำให้ได้โปรตีนที่ไม่สมบูรณ์และทำให้โปรตีนนั้น ๆ ไม่ทำงานหรือทำงานผิดปกติ

1.3 Frameshift mutation คือการที่มีการขาด (deletion) หรือเกิน (insertion) ของลำดับเบส ทำให้รหัสของ codon หลังจากบริเวณที่มีความผิดปกติผิดไปหมด กรณีนี้จะได้โปรตีนที่มีความผิดปกติมาก

1.4 Chain termination mutation คือเกิดการกลายพันธุ์ที่ตำแหน่ง stop codon ทำให้โปรตีนที่ได้มีความยาวมากกว่าปกติ

2. Translocation คือมีการสลับชิ้นส่วนของโครโมโซมสองโครโมโซม และทำให้เกิดยีนใหม่ที่เกิดจากการต่อกันอย่างผิดตำแหน่งของโครโมโซมสองคู่นั้น (gene rearrangement) และทำให้มีการสร้างโปรตีนชนิดใหม่ที่เป็น oncoproteins ตัวอย่างเช่นโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเรื้อรัง (chronic myelogeneous leukemia, CML) ที่เกิดจากการสลับชิ้นส่วนของโครโมโซมที่ 9 และโครโมโซมที่ 22 t(9,22) ทำให้เกิดยีนก่อมะเร็งที่เป็นที่รู้จักกันดีคือ *bcr-abl* gene และผลิตโปรตีนที่ทำหน้าที่กระตุ้นการทำงานของ tyrosine kinase ทำให้เซลล์เม็ดเลือดขาวเจริญเติบโตและแบ่งตัวผิดปกติ โครโมโซมที่ผิดปกติในโรคนี้มีชื่อเรียกจำเพาะว่า Philadelphia chromosome[61]

3. Gene amplification โครโมโซมของคนปกติจะมีลักษณะเป็นคู่ที่เหมือนกัน (homologous chromosome) โดยแต่ละข้างของโครโมโซมในตำแหน่งเดียวกันจะมียีนที่มีลักษณะเหมือนกันที่ถูกถ่ายทอดมาจากบิดา 1 ยีนและจากมารดา 1 ยีน ในบางกรณียีนหนึ่งๆ อาจจะถูกทำให้มีจำนวนมากขึ้นซึ่งอาจจะถึงเป็นพันๆเท่า เรียกขบวนการนี้ว่า gene amplification และมีผลทำให้เกิดมะเร็งเพราะจะทำให้มีระดับ mRNA ที่ผลิตจากยีนนั้นเป็นจำนวนมาก และทำให้มีการสร้างโปรตีนมากผิดปกติ ยีนก่อมะเร็งกลุ่มนี้ได้แก่ *EGFR* (genes for growth factor receptors) ซึ่งทำให้เกิดมะเร็งสมองชนิด glioma[62] และ *erbB2* ในมะเร็งเต้านมเป็นต้น[63] ลักษณะของความผิดปกติชนิดนี้มักจะเกิดขึ้นในช่วงท้ายของขบวนการเกิดมะเร็งและในบางโรคอาจจะสัมพันธ์กับการดำเนินโรคที่รุนแรงและการพยากรณ์โรคที่ไม่ดี เช่น *c-Myc* oncogene ในมะเร็งปอดชนิดเซลล์เล็ก[64]

2. ยีนต้านมะเร็ง (tumor suppressor genes)

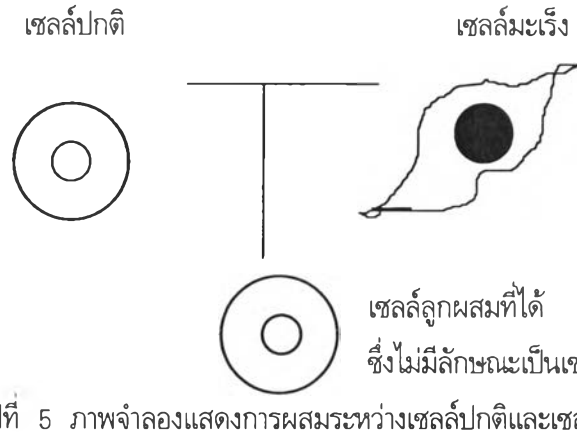
2.1 คุณลักษณะของยีนต้านมะเร็ง

ยีนต้านมะเร็งมีคุณลักษณะตรงข้ามกับยีนก่อมะเร็ง กล่าวคือ ในสภาวะปกติยีนต้านมะเร็งจะทำหน้าที่ยับยั้งการเจริญเติบโตและการแบ่งตัวของเซลล์ ดังนั้นมะเร็งจึงเกิดขึ้นเนื่องจากยีนต้านมะเร็งไม่ทำงานตามปกติ ลักษณะอีกอย่างหนึ่งซึ่งแตกต่างกันระหว่างยีนก่อมะเร็ง และยีนต้านมะเร็งคือ ยีนก่อมะเร็งมีคุณลักษณะเป็นยีนเด่น (dominant genes) คือ ความผิดปกติแค่หนึ่งอัลลีลก็สามารถกระตุ้นให้

ยีนก่อมะเร็งทำงานได้ แต่ยีนต้านมะเร็งเป็นยีนด้อย (recessive genes) กล่าวคือ ต้องเสียหน้าที่ไปทั้งสองอัลลีลบนโครโมโซมคู่นั้น จึงจะเกิดความผิดปกติขึ้นมา

หลักฐานที่สนับสนุนว่ายีนต้านมะเร็งเป็นยีนด้อย ได้แก่

1. การศึกษาของ Harris ในปี 1969 โดยการผสมเซลล์ปกติและเซลล์มะเร็งเข้าด้วยกัน และทำการศึกษาเซลล์ลูกผสมที่ได้ ปรากฏว่าจะได้ออกมาเป็นเซลล์ที่ไม่มีลักษณะของเซลล์มะเร็งอีกต่อไป แสดงว่าเซลล์ปกติจะต้องมียีนที่ทำหน้าที่ป้องกันการเกิดมะเร็งอย่างน้อยหนึ่งยีนที่สามารถถ่ายทอดไปสู่เซลล์ลูกได้ ทำให้สามารถยับยั้งความผิดปกติของเซลล์ลูกผสมได้ [65] ดังรูปที่ 5



รูปที่ 5 ภาพจำลองแสดงการผสมระหว่างเซลล์ปกติและเซลล์มะเร็ง

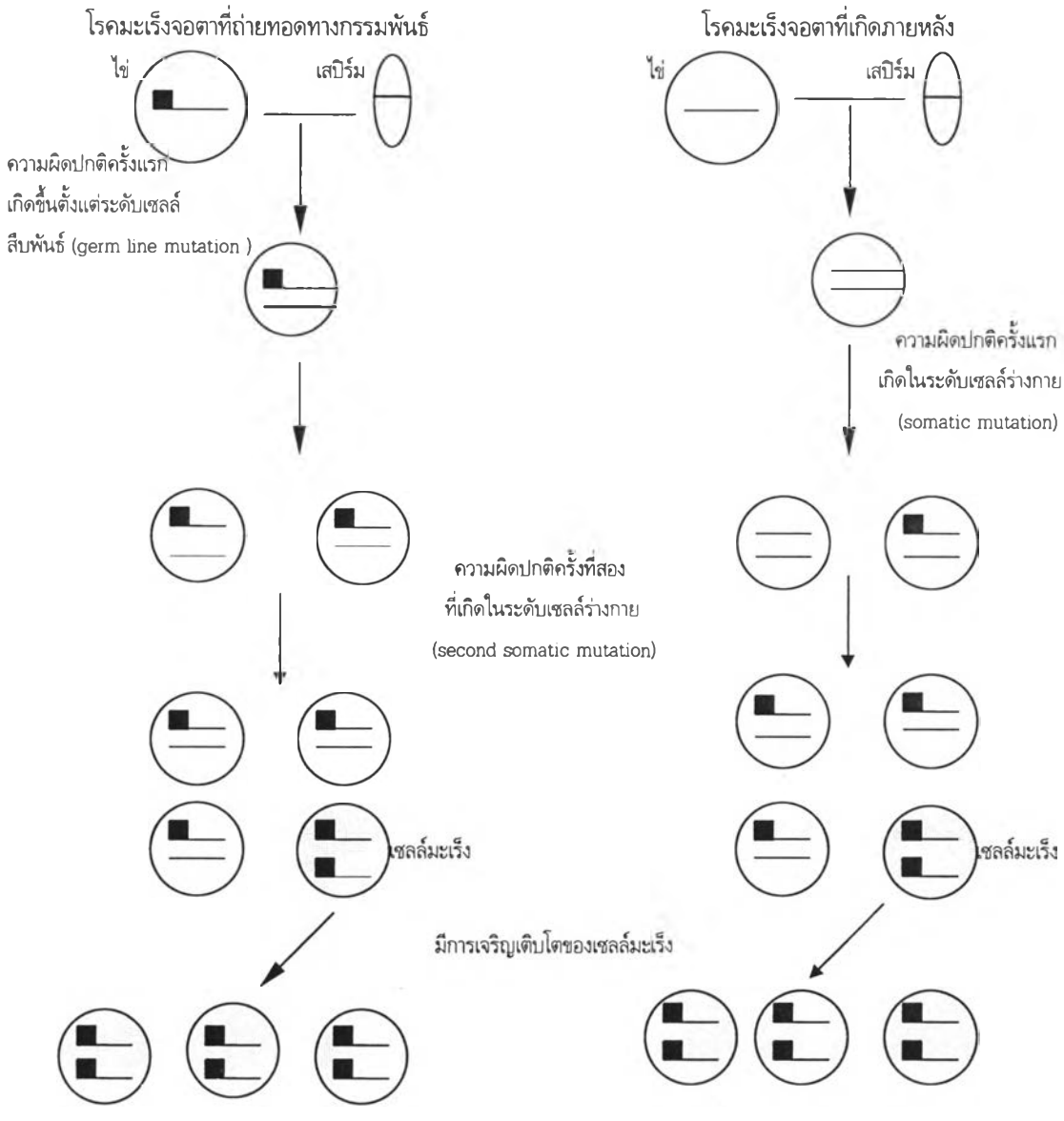
นอกจากนั้นเซลล์ลูกผสมจะสามารถกลายจากเซลล์ธรรมดาไปเป็นเซลล์มะเร็งได้ ถ้าเซลล์พ่อหรือเซลล์แม่ที่เป็นเซลล์ปกติมีการขาดหายไปของชิ้นส่วนของโครโมโซมบางคู่ ทำให้สามารถสรุปได้ว่า โครโมโซมของเซลล์ปกติมียีนซึ่งทำหน้าที่ยับยั้งการเกิดมะเร็ง ในขณะที่เซลล์มะเร็งไม่มี และยีนนี้ถูกถ่ายทอดต่อไปยังเซลล์ลูก ทำให้เซลล์ลูกเป็นเซลล์ที่มีลักษณะปกติ แต่ถ้าเซลล์พ่อแม่สูญเสียชิ้นส่วนของโครโมโซมที่บรรจุยีนนี้ เมื่อนำไปผสมกับเซลล์มะเร็ง จะได้เซลล์ลูกผสมที่มีลักษณะของมะเร็ง[66]

2. Two hit hypothesis โดย Knudson

โรคที่เป็นต้นแบบที่ทำให้มีความเข้าใจถึงคุณลักษณะของยีนต้านมะเร็ง คือ โรคมะเร็งจอตาในเด็ก (retinoblastoma) โรคนี้มีการแสดงออกทางคลีนิคที่แตกต่างกันอย่างชัดเจน 2 ชนิด คือ inherited และ sporadic form[67] โดยกลุ่มผู้ป่วยที่เป็น inherited form จะมีอาการตั้งแต่อายุน้อย และมักจะเป็นที่ตาทั้งสองข้าง ในขณะที่ sporadic form จะเป็นในผู้ป่วยที่มีอายุมากกว่ากลุ่มแรก และเป็นที่ตาเพียงข้างเดียว

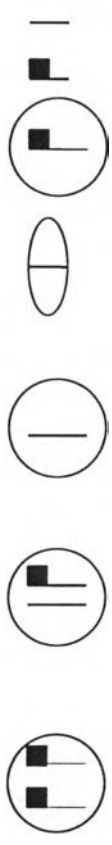
Knudson ตั้งสมมุติฐานว่า การที่คนคนหนึ่งจะเกิดมะเร็งจอตาได้นั้นจะต้องมีความผิดปกติระดับโมเลกุล คือ เกิดการผ่าเหล่าของยีนสองครั้งบนยีนในตำแหน่งเดียวกัน โดยในกลุ่มโรคชนิด inherited disease การผ่าเหล่าครั้งแรกเกิดตั้งแต่ก่อนกำเนิด (germline mutation) และถ่ายทอดมายังบุตร ดังนั้นบุคคลประเภทนี้ต้องการการผ่าเหล่าอีกเพียงครั้งเดียวก็จะทำให้กลายเป็นมะเร็งทันที ซึ่งทำให้สามารถอธิบาย

ได้ว่าทำไมผู้ป่วยกลุ่มนี้จึงเป็นโรคตั้งแต่อายุน้อยเทียบกับอีกกลุ่มหนึ่ง (sporadic form) การผ่าเหล่าต้องเกิดขึ้นในระดับเซลล์ร่างกาย (somatic cell) ถึงสองครั้งในเซลล์เดียวกัน ซึ่งมีโอกาสเกิดยากกว่าและต้องใช้เวลาในการเกิด ดังนั้นผู้ป่วยกลุ่มนี้จึงมีอายุมากกว่า[68] (รูปที่ 6)



รูปที่ 6 สมมุติฐานของการเกิดมะเร็งจอตาในเด็กเปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม inherited form และ sporadic form

คำอธิบายรูปที่ 6



= โครโมโซมที่มียีนต้านมะเร็งบรรจุอยู่ (*Rb* positive gene)

= โครโมโซมที่สูญเสียยีนต้านมะเร็ง (*Rb* negative gene)

= เซลล์สืบพันธุ์ที่มีการสูญเสียยีนต้านมะเร็งตั้งแต่กำเนิด (germ line mutation)

= เซลล์สืบพันธุ์ที่มียีนต้านมะเร็งบรรจุอยู่บนโครโมโซม

= เซลล์สืบพันธุ์ที่มียีนต้านมะเร็งบรรจุอยู่บนโครโมโซม

= เซลล์ร่างกาย (somatic cell) ที่มีลักษณะเป็นเฮทเทอร์โรไซโกท คือ โครโมโซมหนึ่งข้างมียีนต้านมะเร็งบรรจุอยู่ แต่โครโมโซมอีกข้างหนึ่งไม่มียีนต้านมะเร็ง เซลล์ลักษณะนี้ยังคงเป็นเซลล์ปกติอยู่

= เซลล์ร่างกายที่มีการขาดหายไปของยีนต้านมะเร็งทั้งสองตำแหน่งบนโครโมโซมคู่นั้น เซลล์ลักษณะนี้จะกลายเป็นเซลล์มะเร็ง

2.2 กลไกที่ทำให้ยีนต้านมะเร็งสูญเสียหน้าที่

ดังที่ได้กล่าวแล้วในตอนต้นว่า ยีนต้านมะเร็งเป็นยีนด้อย ดังนั้นจึงต้องมีการสูญเสียหน้าที่ของทั้งสองอัลลีลบนโครโมโซมคู่นั้น การสูญเสียหน้าที่ครั้งแรก อาจเกิดตั้งแต่ก่อนกำเนิด (germlime mutation) หรือเกิดภายหลัง (somatic mutation) ทำให้ได้เซลล์ที่มีหนึ่งอัลลีลที่กลายพันธุ์และอีกหนึ่งอัลลีลที่ปกติ หลังจากนั้นความผิดปกติครั้งที่สอง จะไปทำให้อัลลีลปกติที่ทำหน้าที่อยู่เพียงอัลลีลเดียวสูญเสียหน้าที่ไป ทำให้เกิดการสูญเสียหน้าที่ของทั้งสองอัลลีลไปโดยสมบูรณ์ ทำให้เกิดโรคมะเร็งขึ้น[69]

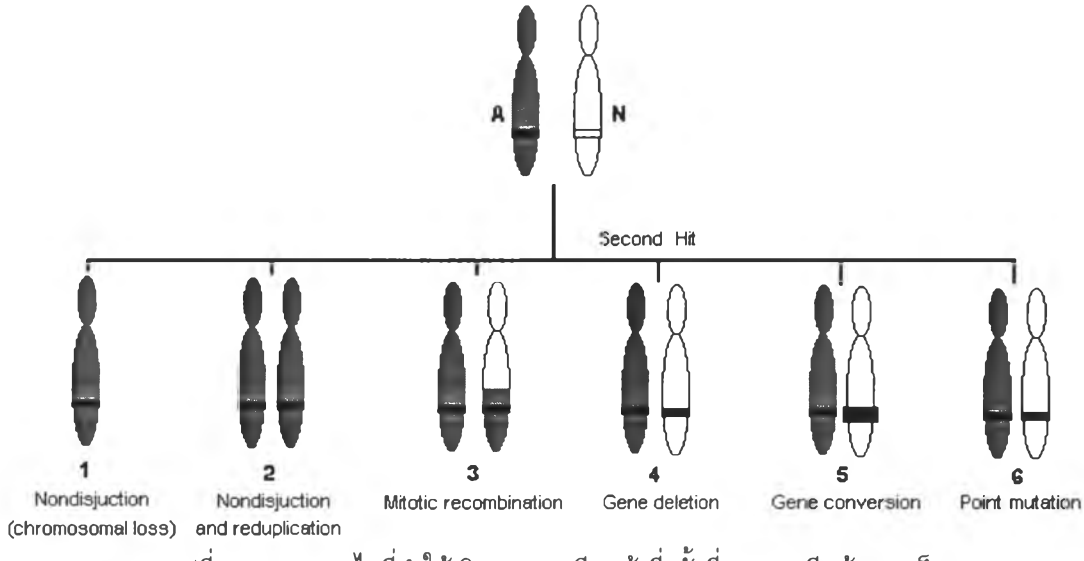
กลไกที่ทำให้ยีนต้านมะเร็งสูญเสียหน้าที่

1. ความผิดปกติครั้งแรก (first inactivating event) ของยีนต้านมะเร็งมักจะเป็นความเป็นความผิดปกติเล็กน้อย (small mutation) หมายความว่าความผิดปกติของอัลลีลแรกของยีนต้านมะเร็งจะเกิดขึ้นอย่างจำเพาะตรงบริเวณตำแหน่งของยีนนั้นหรือตรงตำแหน่งของ DNA ที่อยู่ข้างเคียงยีนนั้น ซึ่งกลไกของความผิดปกติครั้งแรกนี้อาจเกิดจากความผิดปกติระดับโมเลกุลได้หลายชนิด เช่น point mutation, gene deletions และ gene rearrangements

2. ความผิดปกติครั้งที่สอง (second inactivating event) ของยีนต้านมะเร็งมักจะเป็นความผิดปกติที่ใหญ่ (large mutation) มีจำนวนน้อยมากที่ความผิดปกติของอัลลีลที่สองจะเป็นลักษณะที่เหมือนกับความผิดปกติครั้งแรกที่จะเกี่ยวข้องเฉพาะยีนนั้น ในทางตรงข้ามมักจะเกี่ยวข้องกับการขาดหายไปของชิ้นส่วนของโครโมโซมหรือแม้กระทั่งโครโมโซมทั้งข้างซึ่งเป็นที่อยู่ของอัลลีลที่สองของยีนต้านมะเร็ง เนื่องจากความผิดปกติครั้งที่สองนี้โดยมากเกิดจากความผิดปกติของการแบ่งตัว (error of mitosis) ซึ่งปรากฏการณ์ของความผิดปกติครั้งที่สองนี้เองที่มีความสำคัญและนำมาซึ่งการค้นหาที่อยู่ของยีนต้านมะเร็ง ซึ่งสามารถใช้ polymorphic probes ค้นหาได้[70]

กลไกที่ทำให้เกิดการสูญเสียหน้าที่ครั้งที่สองอาจเกิดได้จากกลไกทั้งหมด 6 ประการ[71,72,73] (รูปที่ 7)

1. Non-disjunction and chromosomal loss คือมีการขาดหายไปของโครโมโซมที่บรรจุอัลลีลที่ทำหน้าที่ทั้งอัน
2. Non-disjunction and reduplication คือมีการขาดหายไปของโครโมโซมที่บรรจุอัลลีลที่ทำหน้าที่ทั้งข้างและโครโมโซมอีกข้างที่ไม่มีอัลลีลที่ทำหน้าที่มีการแบ่งตัวเพิ่มขึ้นมาแทน
3. Mitotic recombination คือมีการขาดหายไปของชิ้นส่วนของโครโมโซมบริเวณที่มียีนต้านมะเร็งทำหน้าที่บรรจุอยู่และมีชิ้นส่วนของโครโมโซมอีกข้างที่ไม่มีอัลลีลที่ทำหน้าที่เข้ามาแทนที่
4. Gene conversion
5. Chromosomal deletion คือมีการขาดหายไปเฉพาะส่วนของโครโมโซมที่บรรจุอัลลีลที่ทำหน้าที่
6. Point mutation ไม่ได้มีการขาดหายไปของชิ้นส่วนของโครโมโซมเลย แต่ตรงตำแหน่งของยีนต้านมะเร็งมีการผ่าเหล่าเฉพาะจุดเกิดขึ้นทำให้ยีนต้านมะเร็งไม่ทำงาน



รูปที่ 7 แสดงกลไกที่ทำให้เกิดการสูญเสียหน้าที่ครั้งที่สองของยีนต้านมะเร็ง

คำอธิบายรูปที่ 7

= โครโมโซมข้างที่มีอัลลีลของยีนต้านมะเร็งที่ผิดปกติ โดย ▬ **A** คืออัลลีลที่ผิดปกติ

= โครโมโซมข้างที่มีอัลลีลของยีนต้านมะเร็งที่ยังทำหน้าที่ปกติ โดย ▭ **N** คืออัลลีลที่ปกติ

2.3 การหาตำแหน่งของยีนต้านมะเร็งโดยการศึกษา LOH (lost of heterozygosity)

การศึกษา LOH เป็นวิธีการที่สำคัญในการค้นหาที่อยู่ของยีนต้านมะเร็ง โดยอาศัยหลักการที่สำคัญสองอย่างคือ

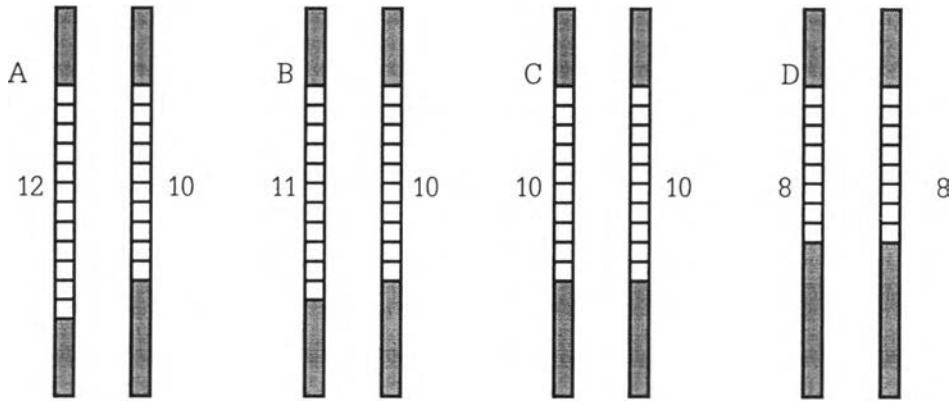
1. กลไกการสูญเสียหน้าที่ของยีนต้านมะเร็งครั้งที่สอง จะเกี่ยวข้องกับการขาดหายไปของชิ้นส่วนของโครโมโซมที่บรรจุยีนนั้น ซึ่งการขาดหายไปนี้อาจจะขาดหายไปทั้งโครโมโซม หรือ ขาดหายไปเฉพาะชิ้นส่วนของโครโมโซมก็ได้ [73]

2. หลักการของ DNA polymorphisms

ถึงแม้ว่าโครโมโซมที่เป็นที่อยู่ของยีนในคนคนหนึ่งจะมีลักษณะที่แทบจะเหมือนกันกับของคนอีกคนหนึ่งเกือบร้อยเปอร์เซนต์ แต่อย่างไรก็ตามจะมีความแตกต่างกันเล็กน้อยในรายละเอียดของการเรียงลำดับของเบสในแต่ละคน ซึ่งความแตกต่างนี้มักจะอยู่ในบริเวณที่เรียกว่า non-coding region เรียกลักษณะนี้ว่า DNA polymorphisms การที่มีความแตกต่างกันของ DNA ในลักษณะนี้ทำให้เราสามารถที่จะแยกความแตกต่างของโครโมโซมคู่เหมือน (homologous chromosome) ได้ ดังนั้นถ้าเราหา marker ที่อยู่บนโครโมโซมที่มีตำแหน่งใกล้กับตำแหน่งที่สงสัยว่าจะเป็นที่อยู่ของยีนต้านมะเร็ง และ marker นั้นมีความแตกต่างที่สามารถทำให้วินิจฉัยได้ว่ามาจากแต่ละข้างของโครโมโซมซึ่งเรียกว่ามีลักษณะของความเป็น heterozygote อยู่ และนำมาเปรียบเทียบกันระหว่าง DNA ที่ได้จากเซลล์มะเร็งและ DNA ของเซลล์ปกติในคนคนเดียวกันและพบว่าเซลล์มะเร็งมีการสูญเสียภาวะที่เป็น heterozygote (loss of heterozygosity) แสดงว่าเซลล์มะเร็งนั้นมีการขาดหายไปของชิ้นส่วนของโครโมโซมในตำแหน่งที่มี marker ที่ใช้และบริเวณนั้นน่าจะเป็นที่อยู่ของยีนต้านมะเร็ง[73]

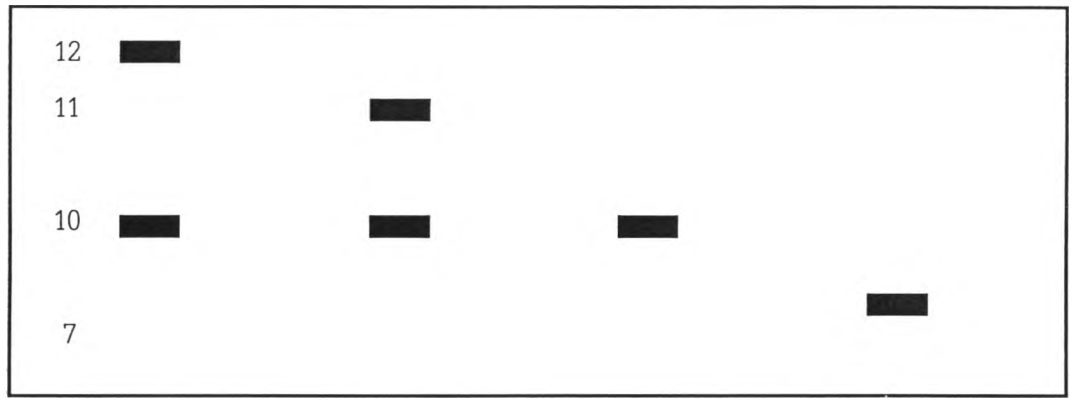
ปัจจุบันมีวิธีการหา LOH ที่ใช้ในการหาที่อยู่ของยีนต้านมะเร็งโดยใช้ microsatellites[75,76] หรือ STRPs (short tandem repeated polymorphic markers) โดย STRPs คือ ลักษณะการเรียงตัวของลำดับคู่เบสที่ซ้ำกันเป็นชุดๆ แต่ละชุดมีความยาวประมาณ 1-5 คู่เบส และอยู่กระจัดกระจายทั่วๆไปบน

โครโมโซมของร่างกาย STRPs นี้มีคุณสมบัติคือมีความหลากหลายและทำให้มีโอกาสที่จะมีความแตกต่างกันระหว่าง STRPs ในตำแหน่ง (loci) เดียวกันของโครโมโซมคู่เดียวกันแต่อยู่คนละอัลลีลกันคือมีความเป็น heterozygosity ถึงประมาณร้อยละ 60-90[77,78]



รูปที่ 8 แสดง DNA polymorphisms ที่อยู่ในรูปของ STRPs

▭▭▭ = STRP repeat block unit

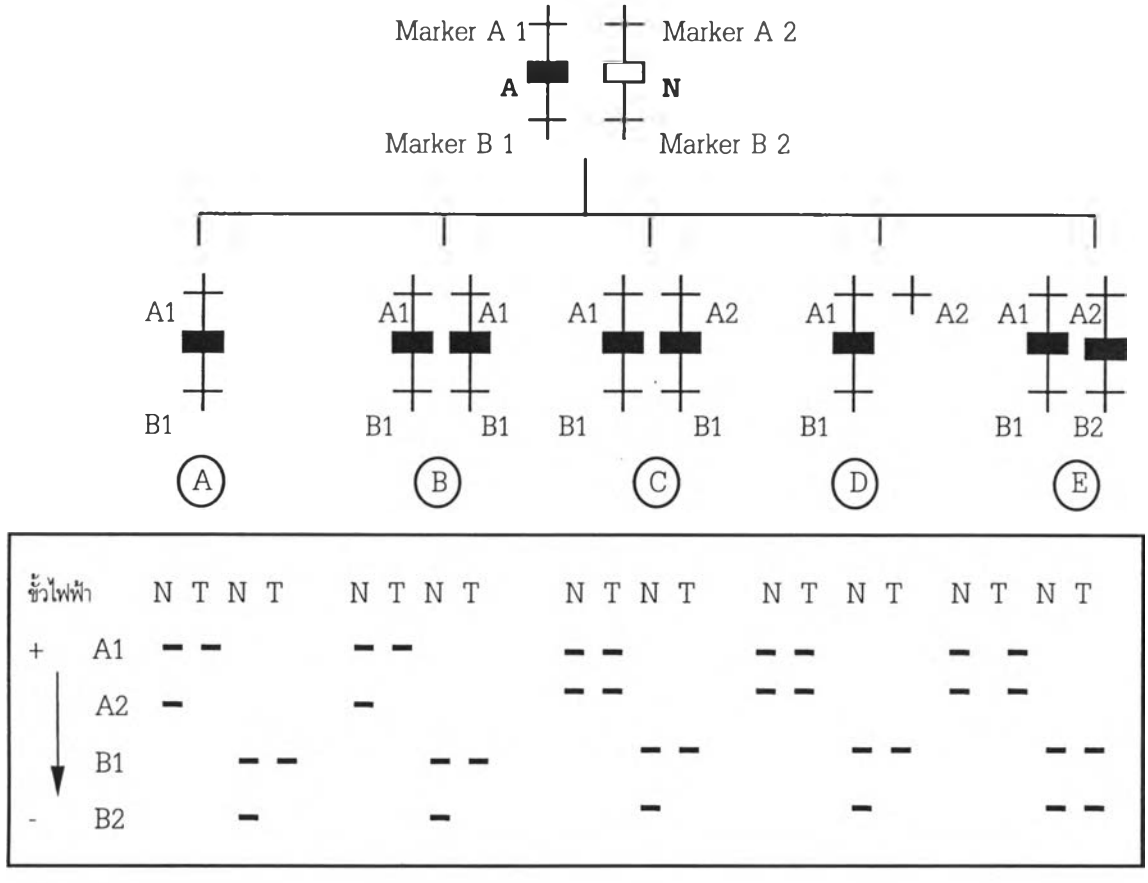


รูปที่ 9 แสดงลักษณะของแถบ (band) ที่เกิดขึ้นหลังจากการนำ polymorphic probes จับ DNA และทำอีเลคโตรโฟรีซิส (gel electrophoresis)

จากรูปที่ 8 จะเห็นว่า A และ B มีจำนวนชุดของ STRP ที่แตกต่างกันบนอัลลีลเดียวกันระหว่างโครโมโซมคู่เหมือน ดังนั้นจึงมีความยาวของ DNA แตกต่างกัน เมื่อนำไปทำอิเลคโตรโฟรีซิส DNA จะวิ่งตามกระแสไฟฟ้าได้ระยะทางซึ่งแปรผกผันกับขนาดของ DNA นั้น ดังนั้นเมื่อมีขนาดของ DNA ที่แตกต่างกันจึงเกิดเป็นสองแถบขึ้น ยิ่งถ้าขนาดของสองอัลลีลที่แตกต่างกันยิ่งมากก็จะเห็นระยะห่างของแถบมากขึ้น (ดังรูปที่ 9) แต่ถ้าขนาดของสองอัลลีลนั้นไม่มีความแตกต่างกันเลย ดังเช่นC และ D เมื่อนำมาทำอิเลคโตรโฟรีซิส

จะพบเพียงแค่แถบเดียว ซึ่งกรณีเช่นนี้เป็น uninformative case ดังนั้นจึงไม่สามารถที่จะใช้วิธีนี้ช่วยในการค้นหาที่อยู่ของยีนต้านมะเร็งได้

รูปที่ 10 แสดงการใช้ polymorphic probes เป็น marker ในการค้นหาตำแหน่งของยีนต้านมะเร็ง



รูปที่ 11 แสดงการหา LOH เปรียบเทียบระหว่างเซลล์มะเร็ง (T) และเซลล์ปกติ (N)

คำอธิบายรูปที่ 10

Marker A and B = polymorphic probes ที่อยู่ข้างเคียงกับยีนต้านมะเร็งที่ต้องการหาทั้งข้างบนและข้างล่าง

marker A1 = polymorphic probes ข้างเคียงยีนต้านมะเร็งที่อยู่ด้านบนของโครโมโซมข้างที่หนึ่ง

marker B1 = polymorphic probes ข้างเคียงยีนต้านมะเร็งที่อยู่ด้านล่างของโครโมโซมข้างที่หนึ่ง

marker A2 = polymorphic probes ข้างเคียงยีนต้านมะเร็งที่อยู่ด้านบนของโครโมโซมข้างที่สอง

marker B2 = polymorphic probes ข้างเคียงยีนต้านมะเร็งที่อยู่ด้านล่างของโครโมโซมข้างที่สอง

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A = ยีนต้านมะเร็งที่ผิดปกติ

N = ยีนต้านมะเร็งที่ปกติ

ขบวนการ A = มีการขาดหายไปของโครโมโซมที่บรรจุอัลลีลที่ทำหน้าที่ทั้งข้าง (loss of whole chromosome by mitotic nondisjuction)

ขบวนการ B = มีการขาดหายไปของโครโมโซมที่บรรจุอัลลีลที่ทำหน้าที่ทั้งข้าง และโครโมโซมอีกข้างที่ไม่มีอัลลีลที่ทำหน้าที่มีการแบ่งตัวเพิ่มขึ้นมาแทน (loss followed by reduplication)

ขบวนการ C = มีการขาดหายไปของชิ้นส่วนของโครโมโซมตรงตำแหน่งที่มีอัลลีลที่ทำหน้าที่บรรจุอยู่ และมีชิ้นส่วนของโครโมโซมอีกข้างที่ไม่มีอัลลีลที่ทำหน้าที่เข้ามาแทนที่ (mitotic recombination proximal to tumor suppressor gene locus)

ขบวนการ D = มีการขาดหายไปของโครโมโซมส่วนที่มียีนต้านมะเร็งบรรจุอยู่ (deletion of wild type alleles)

ขบวนการ E = ไม่ได้มีการขาดหายไปของชิ้นส่วนของโครโมโซมเลย แต่ตรงตำแหน่งของยีนต้านมะเร็งมีการผ่าเหล่าเฉพาะจุดเกิดขึ้น (point mutation) ทำให้ยีนต้านมะเร็งไม่ทำงาน โดยวิธีการนี้ทุกชิ้นส่วนของโครโมโซมจะยังอยู่ครบถ้วน (pathologic point mutation of the wild type alleles)

จากภาพจะเห็นได้ว่า ถ้าความผิดปกติครั้งที่สองของยีนต้านมะเร็งเกิดจากขบวนการ A, B, C และ D เราสามารถหาบริเวณที่อาจจะเป็นที่อยู่ของยีนต้านมะเร็งได้โดยวิธีการหา LOH แต่วิธีการนี้จะไม่สามารถบอกได้ในกรณีที่การสูญเสียหน้าที่ครั้งที่สองนี้เกิดจาก point mutation เท่านั้น