Chula Med J Vol. 45 No. 3 March 2001

DNA ที่ไหลเวียนในกระแสโลหิต กับการวินิจฉัยโรคมะเร็งในอนาคต

อภิวัฒน์ มุทิรางกูร *

Mutirangura A, Circulating DNA and cancer diagnosis in the future. Chula Med J 2001 Mar; 45(3): 199 - 205

Cancer development is driven by the accumulation of genetic changes. It is possible to develop a non-invasive diagnostic method by detecting genetic alterations in DNA isolated from bodily fluid in direct contact with, draining or bathing the tumor lesion. Blood is the most attractive choice since it contacts all bodily organs. Circulating free DNA in cancer patients has been proved to derive mainly from the malignancy itself. Since mutations in cancers are heterogeneous, detection methods require several targets, including single copy gene mutations, microsatellite alterations, and promoter hypermethylation. However, in viral-associated cancer, which is frequently found in Thailand and includes malignancies such as hepatoma, nasopharyngeal cancer and cervical carcinoma, almost all tumors have been reported to contain viral genomes, (hepatitis B, C, G and TT virus, Epstein-Barr virus, and Human Papillomavirus, respectively). Thus, in these cases, viral DNA or RNA can be studied as a surrogate marker for cancers' nucleic acid. Researches in Chulalongkorn university hospital showed a high frequency of detectable hepatitis viral genome in patients with hepatoma and discovered Epstein Barr viral DNA in the serum of patients with nasopharyngeal cancer. In addition, our further study has proved that the Epstein Barr viral DNA was not only derived from the nasopharyngeal cancer itself but was also an invaluable tumor marker for monitoring treatment outcome or follow-up. Continuing basic and clinical research will improve the understanding the of mechanism by which tumors release DNA and the usefulness of these techniques for future clinical practice.

Key words: *Serum/plasma DNA, Circulating free DNA, Molecular genetic diagnosis, Tumor markers.*

Reprint request: Mutirangura A, Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand.

Received for publication. September 29, 2000.

* ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ความสำคัญ

การค้นพบ DNA ของมะเร็งที่ไหลเวียนในกระแสโลหิต (circulating DNA) เป็นความรู้ที่ ค่อนข้างใหม่แต่จะเป็นแนวทางที่สำคัญต่อการวินิจฉัยมะเร็งในอนาคต[1] บทความนี้รวบรวมการศึกษาที่มีมาถึงความรู้ในเรื่องนี้ในปัจจุบันเพื่อเป็นแนวทางการศึกษาต่อเนื่องต่อไป

กลไกของการเกิดมะเร็งคือการสะสมของการกลายพันธุ์ (mutation) ในเซลล์ทั่ว ๆ ไป (somatic cell) จากเซลล์ตั้งต้นเพียงเซลล์เดียว (clonal in origin) ซึ่งการสะสมของการกลายพันธุ์นี้จะมีผลทำให้มีการเจริญเติบโตที่ผิดปกติของเนื้อเยื่อเป็นขั้นเป็นตอน (multisteps) จากเนื้อเยื่อก่อนเกิดมะเร็งจนกลายเป็นเนื้อมะเร็งที่มีการเบียดแทรกทำลาย (invasion) เนื้อเยื่อและอวัยวะข้างเคียง การศึกษาทางอณูพันธุศาสตร์ของการเกิดมะเร็งในส่วนหนึ่งคือการศึกษาถึงการกลายพันธุ์ดังกล่าวในมะเร็งแต่ละชนิด โดยส่วนใหญ่จะเป็นการศึกษากลุ่มยีนมะเร็ง (oncogenes) และกลุ่มยีนต้านมะเร็ง (tumor suppressor genes) มะเร็งแต่ละชนิดและแต่ละขั้น (stage) ก็จะมีการ กลายพันธุ์ของยีนต่างชนิดกัน โดยที่มะเร็งระยะท้ายจะมีการกลายพันธุ์มากกว่า[2] การศึกษาถึงการกลายพันธุ์ของยีนดังกล่าวมีวัตถุประสงค์สำคัญ 2 ข้อ คือ เป็นแนวทางในการศึกษาต่อเนื่องถึงชีววิทยาของขบวนการเกิดและพัฒนาของมะเร็งแต่ละชนิดในระดับโมเลกุลเพื่อการพัฒนายามารักษาให้ถูกต้องกับสาเหตุ และ เพื่อพัฒนาการวินิจฉัยทางพยาธิวิทยา เช่น การวินิจฉัย stage ของมะเร็งลำไส้ใหญ่ด้วยการศึกษาภาวะ loss of heterozygosity (LOH) ของโครโมโซมที่ 17 และ 18[3] หรือ การศึกษาหาการกลายพันธุ์ของยีนมะเร็ง *RAS* ในอุจจาระเพื่อการวินิจฉัยสืบหามะเร็ง (cancer screening)[4] แนวทางหนึ่งในการศึกษาวิจัยเพื่อการวินิจฉัยดังกล่าวคือการศึกษาการกลายพันธุ์ของ DNA จากเซลล์มะเร็งที่ถูกล้างหรือหลุดลอกมาจากก้อนมะเร็ง เช่น การตรวจหา DNA ของไวรัสเอ็ปสไตน์บาร์ (Epstein-Barr virus, EBV) และ telomerase จากการป้ายเพื่อเก็บเซลล์มะเร็งโพรงหลังจมูก (nasopharyngeal cancer)[5] หรือการตรวจหา telomerase จากน้ำในช่องท้อง[6] ฯลฯ จากแนวคิดดังกล่าว ของเหลวที่ไหลผ่านเซลล์มะเร็งทุกชนิดในทางธรรมชาติคือเลือด ดังนั้นการตรวจหา circulating DNA จึงน่าจะเป็นแนวทางต่อการวินิจฉัยมะเร็งที่สำคัญ เพราะซีรั่มหรือพลาสมาเป็นของเหลวที่ไหลผ่านมะเร็งทุกชนิด และ การตรวจเลือดเพื่อวินิจฉัยทำได้โดยการเก็บตัวอย่างโดยวิธีที่ไม่เป็นอันตราย (non-invasive)[1]

ประวัติการศึกษา

ถึงแม้ว่าการค้นพบ circulating cancer DNA จะได้รับความสนใจอย่างสูงจากการศึกษา microsatellite ในซีรั่มและพลาสมาของมะเร็งปอดแบบเซลล์ขนาดเล็ก[7] และมะเร็งศีรษะและคอ[8] อย่างไรก็ดีการศึกษา circulating DNA มีมามากกว่า 30 ปี แล้ว ในปี 1979 และ 1983 Leon AS, Shapiro DM และคณะได้ศึกษาวัดปริมาณของ DNA ในน้ำเหลืองโดยเปรียบเทียบระหว่างผู้ป่วยมะเร็งกับผู้ป่วยที่ไม่เป็นมะเร็ง พบว่าสามารถตรวจพบ DNA ในซีรั่มจากผู้ป่วยมะเร็งได้มากกว่ากลุ่มอื่น นอกจากนี้ DNA จะพบเพิ่มมากขึ้นในผู้ป่วยมะเร็งที่มีการแพร่กระจายเกิดขึ้น DNA ในซีรั่มที่ตรวจพบนี้ตรวจพบได้ในปริมาณที่สูงถึงขนาดไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งเป็นขนาดที่พอ ๆ กับ DNA จากเม็ดเลือดขาว อย่างไรก็ดีการวัดปริมาณ DNA ไม่สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการวินิจฉัยมะเร็งเนื่องจากสามารถพบ circulating DNA ในปริมาณที่สูงในสภาวะอื่น ๆ เช่น ภาวะ autoimmune[9, 10] ประมาณ 10 ปี ก่อน Stroun และ Anker ได้พิสูจน์ว่า circulating DNA ที่เพิ่มขึ้นในผู้ป่วยมะเร็งนี้มาจากมะเร็งนี้มาจากมะเร็งโดยวิธี strand stability assay[11]

ในปี 1994 Sorenson และคณะได้พิสูจน์ยืนยันเพิ่มเติมโดยการตรวจพิสูจน์เปรียบเทียบหาการกลายพันธุ์ของยีนมะเร็ง *RAS* โดยสามารถพบยีน *RAS* ที่มีการกลายพันธุ์ในลักษณะเดียวกันทั้งจากมะเร็งและซีรั่ม แสดงว่า DNA ในน้ำเหลืองมีส่วนมาจากเนื้อมะเร็ง[12] ในปี 1996 Nature Medicine จึงได้ตีพิมพ์การศึกษา microsatellite ในซีรั่มและพลาสมาจากคนไข้มะเร็งศีรษะและคอ[8] และมะเร็งปอด[7] ตามลำดับ เป็นการแสดงถึงความสามารถในการตรวจ DNA ของมะเร็งในน้ำเหลืองของผู้ป่วยมะเร็งได้หลายชนิดรวมทั้ง

พบการกลายพันธุ์ได้หลายแบบอีกด้วย

ลักษณะทั่วไปของ circulating DNA

การศึกษาเปรียบเทียบการกลายพันธุ์ระหว่างเนื้อมะเร็งและ DNA ในซีรั่มหรือพลาสมาพบว่า circulating DNA ที่ตรวจพบในผู้ป่วยมะเร็งมาจากสองแหล่งได้แก่ เซลล์ทั่วไปและเซลล์มะเร็ง โดยความถี่ในการตรวจพบ DNA ของเซลล์มะเร็งในซีรั่มจะไม่พบในผู้ป่วยมะเร็งทุกราย เช่น บางรายตรวจพบ *K-RAS* กลายพันธุ์ในเซลล์มะเร็งแต่ไม่พบ DNA ที่กลายพันธุ์ดังกล่าวในซีรั่ม ซึ่งความถี่ที่แตกต่างในการตรวจพบ circulating DNA นั้นยังไม่เป็นที่แน่ชัดว่าเกิดจากเทคนิคการเก็บตัวอย่าง สกัด DNA และการตรวจหาการกลายพันธุ์ที่ต่างกัน หรือ เกิดจากธรรมชาติของเซลล์มะเร็งในแต่ละคนต่างกัน[13] อย่างไรก็ดีพบว่าสามารถตรวจพบ circulating DNA ได้ในทุก ๆ stage ของมะเร็งแม้กระทั่ง carcinoma in situ[14]

วิธีการที่มะเร็งทำให้เกิด circulating DNA ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด มีสมมุติฐานที่หลากหลายได้แก่ การตายของเซลล์มะเร็งทำให้เศษ DNA หลุดมาในกระแสโลหิต มีขบวนการจำเพาะในการขับ DNA ออกมา หรือ เกิดจากระบบภูมิคุ้มกัน เนื่องจากการตรวจ DNA ดังกล่าวอาจเป็นวิธีการที่สำคัญสำหรับการวินิจฉัยในอนาคต ดังนั้นการเข้าใจถึงวิธีการเกิด circulating DNA จึงมีความสำคัญ เช่น อาจมีวิธีการเพิ่ม circulating DNA ก่อนการเจาะเลือดเพื่อการวินิจฉัยที่มีความไวสูง เป็นต้น

คุณสมบัติอีกประการหนึ่งของ circulating DNA คือ DNA ดังกล่าวมีอายุสั้น จากการศึกษา DNA ของทารกในเลือดแม่พบว่า DNA ดังกล่าวสามารถตรวจพบในระหว่างตั้งครรภ์แต่จะหายไปภายใน 2 ชั่วโมงหลังคลอด[15] และ การตรวจหา EBV DNA ในมะเร็งโพรงหลังจมูกพบว่า DNA จากน้ำเหลืองของผู้ป่วยส่วนใหญ่สามารถหายไปได้ภายในสัปดาห์แรกของการรักษาด้วยการฉายแสง[16] ดังนั้นการที่จะมี circulating DNA จากเซลล์มะเร็งได้เซลล์มะเร็งจะต้องปล่อย DNA มาในกระแสโลหิตตลอดเวลา ที่สำคัญคุณสมบัติดังกล่าวทำให้สามารถนำมาศึกษาติดตามการรักษาได้อย่างดี เพราะถ้ามะเร็งหายอย่างสมบูรณ์จากการรักษาก็จะพบว่าการตรวจไม่พบ DNA ของมะเร็งในกระแสโลหิตหลังการรักษา

วิธีการตรวจ

การศึกษาเปรียบเทียบการกลายพันธุ์ระหว่าง DNA ในซีรั่มหรือพลาสมากับ DNA ในเซลล์มะเร็งพบว่า DNA ในกระแสโลหิตส่วนหนึ่งมาจากมะเร็งและอีกส่วนมาจากเซลล์ทั่วไป ดังนั้นเทคนิคที่ใช้ตรวจหาการกลายพันธุ์ของ DNA ในมะเร็งจึงสามารถนำมาใช้ตรวจหา DNA ของมะเร็งในกระแสโลหิตเช่นกัน แต่ต้องคำนึงถึง DNA จากเซลล์ปกติที่ปนเปื้อนด้วย วิธีการตรวจ DNA ที่ใช้บ่อย คือ การตรวจ point mutation ของยีนมะเร็งและยีนต้านมะเร็ง[12] การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของ microsatellite[7,8] และ การตรวจหา promoter hypermethylation[14]

การตรวจหา point mutation ของยีนมะเร็งหรือยีนต้านมะเร็งเป็นวิธีที่มีความไวสูงเพราะการตรวจหาการกลายพันธุ์ดังกล่าวอาศัยปฏิกิริยาจับติดจาก probe ของ DNA ที่กลายพันธุ์เป็นพื้นฐาน ดังนั้นไม่ว่าจะมี DNA ปกติปนเปื้อนอยู่ในอัตราส่วนเท่าไรก็สามารถตรวจหา DNA ของมะเร็งในกระแสโลหิตได้ ตัวอย่างของยีนมะเร็งที่มีการศึกษาการกลายพันธุ์ของยีนมะเร็งในซีรั่มได้แก่ *K-RAS* พบมีการกลายพันธุ์ของ *K-RAS* ได้บ่อยในมะเร็งของทางเดินอาหารและยังพบได้อีกถึง 1 ใน 3 ของ adenocarcinoma ของปอด[17]

การตรวจการกลายพันธุ์อีกวิธีหนึ่งที่สามารถตรวจ DNA ของมะเร็งคือการตรวจการเปลี่ยนแปลงของ microsatellite ซึ่งสามารถตรวจการกลายพันธุ์ของมะเร็งได้ 2 ชนิดคือ LOH และ microsatellite instability (MSI). Microsatellite หรืออีกชื่อหนึ่งคือ short tandem repeat sequences เป็น DNA ที่มีลำดับเบสเป็นหน่วยย่อย ๆ 1 ถึง 5 เบสเรียงตัวซ้ำกันหลาย ๆ ครั้ง เช่น CACACACA โดยพบ microsatellite ได้ทุก ๆ 50 kb ในจีโนมมนุษย์ ลักษณะพิเศษของ microsatellite คือมีคุณสมบัติเป็น length polymorphism หมายความว่าในแต่ละตำแหน่งบน

โครโมโซม (โลคัส) จะพบว่าในแต่ละอัลลีลของแต่ละคนมีความยาวไม่เท่ากัน (เฮทเทอร์โรไซโกต)ได้บ่อย การศึกษาเปรียบเทียบความยาวของ microsatellite ในแต่ละตำแหน่งเปรียบเทียบระหว่างมะเร็งและเซลล์ปกติจะพบการเปลี่ยนแปลงได้ 2 แบบได้แก่ LOH และ MSI โดยที่ LOH จะตรวจพบถ้า microsatellite ของ เซลล์ปกติเป็นเฮทเทอร์โรไซโกต (มี 2 ขนาด) และ ใน DNA ของมะเร็งมีขนาดเดียว (homozygote หรือ hemizygote) การตรวจพบ LOH แสดงถึงการกลายพันธุ์ของยีนต้านมะเร็งโดยมีการสูญเสียส่วนของโครโมโซมที่มีอัลลีลที่ปกติของยีนต้านมะเร็งอยู่ ภาวะ LOH เป็นภาวะที่พบได้ในมะเร็งทุกราย แต่พบมีความถี่ที่ต่างกันของโครโมโซมที่เกิด LOH ในมะเร็งแต่ละชนิด เช่น มะเร็งโพรงหลังจมูกจะพบ LOH บนโครโมโซม 3,9,11,13 และ 14 ได้บ่อย[18] ขณะที่มะเร็งลำไส้ใหญ่พบที่โครโมโซม 17 และ 18[3] อย่างไรก็ดีการตรวจหา LOH มีข้อจำกัดในการนำมาใช้ตรวจหา circulating DNA เพราะมีการปนเปื้อนของ DNA จากเซลล์ปกติได้ ทำให้ไม่สามารถตรวจพบ LOH ถ้าในน้ำเหลืองของผู้ป่วยมี DNA จากเซลล์ปกติปนเปื้อนในอัตราส่วนที่สูง ส่วนการตรวจ MSI คือการตรวจหา microsatellite ที่มีขนาดผิดปกติจากเดิม พบ MSI ได้บ่อยในมะเร็งที่มีการกลายพันธุ์ของยีนในขบวนการตรวจทานการสร้างสาย DNA (DNA mismatch repair genes) เช่น ในมะเร็งลำไส้ใหญ่ เนื่องจากภาวะ MSI ทำให้เกิดอัลลีลที่ผิดปกติ การปนเปื้อนของ DNA ปกติจึงมีอิทธิพลน้อย ดังนั้นการตรวจหา MSI จึงมีความไวสูงถึง 1 ใน 100 เท่า อย่างไรก็ดีมะเร็งบางชนิดไม่มี MSI หรือพบในความถี่ที่ต่ำ เช่น มะเร็งโพรงหลังจมูก[18] การตรวจหา MSI ในน้ำเหลืองของผู้ป่วยมะเร็งในกลุ่มนี้จึงมีประโยชน์น้อย

การตรวจ promoter hypermethylation ไม่ใช่การตรวจหาการกลายพันธุ์ แต่สภาวะ DNA methylation เป็นวิธีการควบคุมการทำงานของยีนอย่างหนึ่งในบางยีน เช่น *VHL* และ *P16* ซึ่งเป็นยีนต้านมะเร็งพบว่ามี DNA methylation ที่ promoter ได้บ่อยในมะเร็งบางชนิดแต่ไม่พบในเซลล์ปกติ[19] นอกจากนี้ภาวะดังกล่าวสามารถพัฒนาใช้การตรวจโดยทำ PCR ได้ ทำให้ใช้ DNA น้อยและนำวิธีการดังกล่าวมาศึกษา DNA ในซีรั่มได้

ข้อจำกัดของการศึกษาอณูพันธุศาสตร์ของมะเร็งคือความหลากหลายทางพันธุกรรม (genetic heterogeneity) มะเร็งชนิดเดียวกันมีพันธุกรรมต่างกัน เช่น ถึงแม้ *K-RAS* จะมีการกลายพันธุ์ที่พบบ่อยในมะเร็งลำไส้ใหญ่แต่ก็มีบางรายที่ไม่พบมียีนนี้กลายพันธุ์ (locus heterogeneity) หรือ การกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นในยีนเดียวกันก็พบมีความแตกต่างกันที่ตำแหน่งของการกลายพันธุ์บนยีนนั้นในแต่ละราย (allelic heterogeneity) ข้อจำกัดนี้ทำให้การวินิจฉัย DNA เพื่อวินิจฉัยมะเร็งทำไม่ได้อย่างมีประสิทธิภาพ อย่างไรก็ดี การพัฒนาเทคนิคการตรวจ DNA แบบ microarray เช่น การใช้ DNA chip อาจทำให้สามารถตรวจการกลายพันธุ์หรือ DNA methylation ในหลาย ๆ ตำแหน่งพร้อมกันได้[20] ทำให้มีความเป็นไปได้มากขึ้นในการวินิจฉัย DNA ของมะเร็งในทางปฏิบัติในอนาคต

DNA ของไวรัส

ในประเทศไทยไวรัสเป็นสาเหตุสำคัญของมะเร็งที่พบบ่อย ได้แก่ ไวรัสตับอักเสบ ฮิ่วแมนแปบปิโลมา (Human Papillomavirus, HPV) และ EBV เป็นสาเหตุของมะเร็งตับ ปากมดลูก และโพรงหลังจมูกตามลำดับ เนื่องจากไวรัสเหล่านี้มักจะทำให้เกิดมะเร็งโดยการอาศัยอยู่ในเซลล์ในลักษณะ latent phase และบางครั้งจีโนมของไวรัส เช่น HPV จะสอดแทรกเข้าในจีโนมของมนุษย์ ดังนั้นการตรวจหาจีโนมของไวรัสในน้ำเหลืองของผู้ป่วยมะเร็งจึงน่าจะเปรียบได้กับการตรวจหา circulating DNA ของมะเร็ง การศึกษาหาจีโนมของไวรัสตับอักเสบและ EBV ในเลือดพบว่าสามารถตรวจพบได้ในมะเร็งตับและมะเร็งโพรงหลังจมูกตามลำดับ การศึกษามะเร็งตับจากคณะผู้วิจัยของ ศ.นพ.ยง ภู่วรวรรณ พบว่าสามารถตรวจพบจีโนมของไวรัสได้ในผู้ที่เป็นมะเร็งตับที่มีหลักฐานทางอิมมูโนวิทยาว่าเกิดจากเชื้อไวรัส โดยพบจีโนมของไวรัสตับอักเสบ ชนิด B, C, G และ TT ในน้ำเหลืองของผู้ป่วยมะเร็งตับในอัตราส่วน 53, 19, 6, 9 % ตามลำดับ[21]

ในกรณีมะเร็งโพรงหลังจมูกผู้เขียนและคณะได้

รายงานการตรวจพบ EBV DNA ในซีรั่มของผู้ป่วยมะเร็งหลังโพรงจมูก ในขณะที่ซีรั่มของคนปกติที่มาบริจาคเลือดไม่พบ (การศึกษาต่อเนื่องพบได้ในปริมาณต่ำประมาณ 7 %) นอกจากนี้ยังพิสูจน์ว่าชนิดของจีโนม EBV เปรียบเทียบจากเนื้อเยื่อและซีรั่มเป็นชนิดเดียวกัน ดังนั้น EBV DNA ในการแสโลหิตจึงมีที่มาจากเนื้อมะเร็งนั้นเอง[22]

การศึกษาต่อเนื่องในปี 2000 พบว่าสามารถตรวจพบ EBV DNA ในกระแสโลหิตของผู้ป่วยในอัตราส่วนที่ต่างกันในระยะเวลาของการรักษาด้วยการฉายแสงและขึ้นกับผลการรักษาด้วย โดยที่ก่อนการรักษาสามารถตรวจพบ EBV DNA ได้ประมาณ 60 %[16] (การศึกษาเพิ่มเติมจากคณะวิจัยในฮ่องกงพบสูงถึงกว่า 90 %)[23] เมื่อรับการรักษาพบว่า EBV DNA ดังกล่าวหายไปในผู้ป่วยที่ตรวจไม่พบมะเร็ง 37 ราย จากการตรวจ 52 ครั้ง แต่ในกลุ่มที่มีมะเร็งหลงเหลืออยู่ 5 ราย สามารถตรวจพบได้ 3 รายหรือประมาณ 60 % นอกจากนี้ในผู้ป่วยส่วนใหญ่พบว่า EBV DNA ในกระแสโลหิตหายไปตั้งแต่สัปดาห์แรก ๆ ของการรักษา ในขณะที่บางรายพบว่ามีการคงอยู่ของ EBV DNA ตลอดช่วงของการรักษา ดังนั้นการตรวจหา circulating EBV DNA น่าจะนำมาใช้วัดผลและติดตามการรักษาได้ (หลังจากมีการศึกษาเพิ่มเติม) ข้อมูลดังกล่าวได้รับการยืนยันจากการศึกษาเพิ่มเติมในเวลาที่ใกล้เคียงกันจาก คณะผู้วิจัยในฮ่องกง[23-25]

การศึกษาหา DNA ของไวรัสในซีรั่มยังให้แนวทางต่อการศึกษาวงจรชีวิตของไวรัสดังกล่าวในมะเร็งโพรงหลังจมูก การศึกษาของคณะของผู้เขียนได้ทำการศึกษาเพิ่มเติมถึงธรรมชาติของ DNA พบว่าส่วนหนึ่งของ EBV DNA ที่พบน่าจะเป็นตัวไวรัสเองมากกว่าที่จะเป็น naked DNA (DNA ที่ไม่มีอะไรห่อหุ้ม) ดังนั้นอาจเป็นการทำลายความเชื่อเดิมที่ว่าไวรัสในมะเร็งพบเฉพาะ latent phase แต่อาจจะมีบางเซลล์ที่มีการแบ่งตัวแบบ lytic เกิดขึ้น[16]

การประยุกต์ใช้เพื่อการวินิจฉัยโรค

ข้อบ่งชี้ในอนาคตในการนำการตรวจหา circulating DNA มาใช้ในการวินิจฉัยมะเร็ง น่าจะคล้ายกับข้อบ่งชี้ในการตรวจทางพยาธิวิทยาและพยาธิวิทยาคลินิก ได้แก่ การตรวจ

1. เพื่อสืบหามะเร็ง (cancer screening)
2. ยืนยันการวินิจฉัยโรค
3. ทราบถึงชนิดของมะเร็งและบ่งบอกพยากรณ์โรค
4. หารอยโรคหลังการรักษา เช่น การผ่าตัดหรือฉายแสง
5. ติดตามผลการรักษาในระยะยาว สำหรับตรวจหาการกลับเป็นใหม่ของมะเร็ง

การที่จะพัฒนาเพื่อนำมาใช้ศึกษาเพื่อวินิจฉัยในกรณีดังกล่าวนี้จำเป็นต้องมีการวิจัยเพิ่มเติมเพื่อให้ทราบถึงธรรมชาติในระดับขบวนการเกิดโรคของมะเร็ง เช่น ถ้าจะใช้ในการสืบหามะเร็งควรจะมีความไวของการตรวจพบสูงใกล้ 100 % และมีความจำเพาะที่ยอมรับได้ หรือ ถ้าจะใช้เพื่อวินิจฉัยแยกโรค เช่น ต้องการแยกระหว่างมะเร็งปอดที่มีเซลล์ขนาดใหญ่กับขนาดเล็กก็ต้องทราบถึงชุดของการกลายพันธุ์ของยีนมะเร็งและยีนต้านมะเร็งดังกล่าวว่ามีความแตกต่างกันอย่างไร นอกจากนี้การศึกษาถึงขบวนการเกิดโรคอาจทำให้มาประยุกต์ใช้ได้อีก เช่น ถ้าวิธีการเกิด circulating EBV DNA เกิดจาก lytic replication ดังนั้นอาจกระตุ้น lytic replication ด้วยยาบางอย่างแล้วจึงตรวจหา EBV DNA ในกระแสเลือด เป็นต้น

สรุป

การศึกษา circulating DNA เป็นองค์ความรู้ใหม่ที่สำคัญในการวินิจฉัยโรคโดยเฉพาะมะเร็ง การศึกษาวิจัยทั้งในระดับพื้นฐานและผสมผสานกับทางคลินิกจะช่วยพัฒนาสู่การนำไปใช้จริง งานวิจัยดังกล่าวจะเกิดประโยชน์แก่ผู้ป่วยในอนาคตและสามารถทำได้ในประเทศไทย

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยในประเทศไทยที่อ้างอิงในบทความนี้ได้รับทุนวิจัยจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว) และ โครงการชีวโมเลกุล คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

อ้างอิง

1. Sidransky D Circulating DNA. What we know and what we need to learn. Ann N Y Acad Sci 2000 Apr; 906: 1 - 4
2. Vogelstein B, Kinzler KW. The multistep nature of cancer. Trends Genet 1993 Apr; 9(4): 138 - 41
3. Allen JI. Molecular biology of colon polyps and colon cancer. Semin Surg Oncol 1995 Nov-Dec; 11 (6): 399 - 405
4. Sidransky D, Tokino T, Hamilton SR, Kinzler KW, Levin B, Frost P, Vogelstein B. Identification of ras oncogene mutations in the stool of patients with curable colorectal tumors. Science 1992 Apr 3; 256(5053): 102 - 5
5. Kerekhanjanarong V, Sitawarin S, Sakdikul S, Saengpanich S, Chindavijak S, Supiyaphun P, Voravud N, Mutirangura A. Telomerase assay and nested polymerase chain reaction from nasopharyngeal swabs for early noninvasive detection of nasopharyngeal carcinoma. Otolaryng-Head Neck 2000 Nov; 123(5):624-9
6. Tangkijvanich P, Tresukosol D, Sampatanukul P, Sakdikul S, Voravud N, Mahachai V, Mutirangura A. Telomerase assay for differentiating between malignancy-related and nonmalignant ascites. Clin Cancer Res 1999 Sep; 5(9): 2470 - 5
7. Chen XQ, Stroun M, Magnenat JL, Nicod LP, Kurt AM, Lyautey J, Lederrey C, Anker P. Microsatellite alterations in plasma DNA of small cell lung cancer patients. Nat Med 1996 Sep; 2(9): 1033 - 5
8. Nawroz H, Koch W, Anker P, Stroun M, Sidransky D. Microsatellite alterations in serum DNA of head and neck cancer patients. Nat Med 1996 Sep; 2(9): 1035 - 7
9. Leon SA, Shapiro B, Sklaroff DM, Yaros MJ. Free DNA in the serum of cancer patients and the effect of therapy. Cancer Res 1977 Mar; 37 (3): 646 - 50
10. Shapiro B, Chakrabarty M, Cohn EM, Leon SA. Determination of circulating DNA levels in patients with benign or malignant gastrointestinal disease. Cancer 1983 Jun1; 51(11): 2116 - 20
11. Stroun M, Anker P, Maurice P, Lyautey J, Lederrey C, Beljanski M. Neoplastic characteristics of the DNA found in the plasma of cancer patients. Oncology 1989; 46(5): 318 - 22
12. Sorenson GD, Pribish DM, Valone FH, Memoli VA, Bzik DJ, Yao SL. Soluble normal and mutated DNA sequences from single-copy genes in human blood. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 1994 Jan-Feb; 3(1): 67 - 71
13. Stroun M, Maurice P, Vasioukhin V, Lyautey J, Lederrey C, Lefort F, Rossier A, Chen XQ, Anker P. The origin and mechanism of circulating DNA. Ann N Y Acad Sci 2000 Apr; 906: 161 - 8
14. Sanchez-Cespedes M, Esteller M, Wu L, Nawroz-Danish H, Yoo GH, Koch WM, Jen J, Herman JG, Sidransky D. Gene promoter hypermethylation in tumors and serum of head and neck cancer patients. Cancer Res 2000 Feb 15; 60(4): 892 - 5
15. Thomas MR, Tutschek B, Frost A, Rodeck CH, Yazdani N, Craft I, Williamson R. The time of appearance and disappearance of fetal DNA from the maternal circulation. Prenat Diagn 1995 Jul; 15(7): 641 - 6

16. Shotelersuk K, Khorprasert C, Sakdikul S, Pornthanakasem W, Voravud N, Mutirangura A. Epstein-Barr virus DNA in serum/plasma as a tumor marker for nasopharyngeal cancer. Clin Cancer Res 2000 Mar; 6(3): 1046 - 51

17. Roth JA. Molecular surgery for cancer. Arch Surg 1992 Nov; 127(11): 1298 - 302

18. Mutirangura A, Tanunyutthawongese C, Pornthanakasem W, Kerekhanjanarong V, Sriuranpong V, Yenrudi S, Supiyaphun P, Voravud N. Genomic alterations in nasopharyngeal carcinoma: loss of heterozygosity and Epstein-Barr virus infection. Br J Cancer 1997; 76(6): 770 - 6

19. Baylin SB, Herman JG, Graff JR, Vertino PM, Issa JP. Alterations in DNA methylation: a fundamental aspect of neoplasia. Adv Cancer Res 1998; 72: 141 - 96

20. Brazma A, Robinson A, Cameron G, Ashburner M. One-stop shop for microarray data. Nature 2000 Feb 17; 403(6771): 699 - 700

21. Tangkijvanich P, Hirsch P, Theamboonlers A, Nuchprayoon I, Poovorawan Y. Association of hepatitis viruses with hepatocellular carcinoma in Thailand. J Gastroenterol 1999 Apr; 34(2): 227 - 33

22. Mutirangura A, Pornthanakasem W, Theamboonlers A, Sriuranpong V, Lertsanguansinchi P, Yenrudi S, Voravud N, Supiyaphun P, Poovorawan Y. Epstein-Barr viral DNA in serum of patients with nasopharyngeal carcinoma. Clin Cancer Res 1998 Mar; 4(3): 665 - 9

23. Lo YM, Chan LY, Lo KW, Leung SF, Zhang J, Chan AT, Lee JC, Hjelm NM, Johnson PJ, Huang DP. Quantitative analysis of cell-free Epstein-Barr virus DNA in plasma of patients with nasopharyngeal carcinoma. Cancer Res 1999 Mar 15; 59(6): 1188 - 91

24. Lo YM, Chan LY, Chan AT, Leung SF, Lo KW, Zhang J, Lee JC, Hjelm NM, Johnson PJ, Huang DP. Quantitative and temporal correlation between circulating cell-free Epstein-Barr virus DNA and tumor recurrence in nasopharyngeal carcinoma. Cancer Res 1999 Nov 1; 59(21): 5452 - 5

25. Lo YM, Leung SF, Chan LY, Chan AT, Lo KW, Johnson PJ, Huang DP Kinetics of plasma Epstein-Barr virus DNA during radiation therapy for nasopharyngeal carcinoma. Cancer Res 2000 May 1; 60(9): 2351 - 5