บทฟื้นฟูวิชาการ • Review Article

เคมีป้องกันมะเร็ง: กลไกการป้องกันของยาและสารจากธรรมชาติ

วีรพล คู่คงวิริยพันธุ์
ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ และศูนย์วิจัยพยาธิใบไม้ตับและมะเร็งท่อน้ำดี มหาวิทยาลัยขอนแก่น

Cancer Chemoprevention from Dietary Phytochemicals

Veerapol Kukongviriyapan
Department of Pharmacology Faculty of Medicine and Liver Fluke and Cholangiocarcinoma Research Center, Khon Kaen University

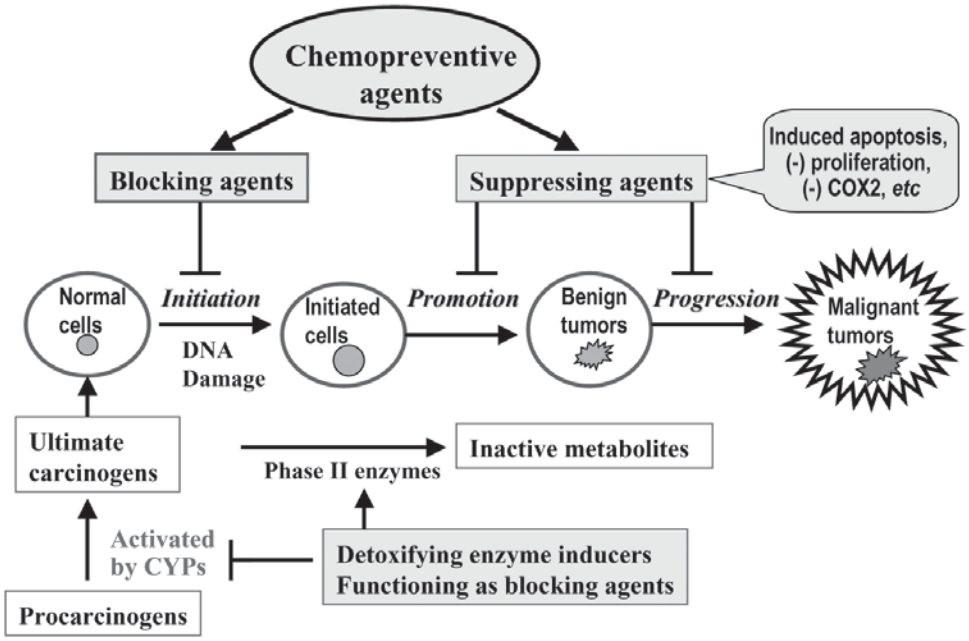
ความสำคัญ และปัญหา

การป้องกันการเกิดมะเร็งโดยการใช้ยาเคมีป้องกัน (cancer chemoprevention) เป็นหัวข้อที่ได้รับความสนใจอย่างมากในปัจจุบัน ทั้งนี้เนื่องจากสาเหตุการเสียชีวิตของประชากรในปัจจุบันเนื่องจากการเป็นมะเร็งมีเพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ ที่พบได้บ่อยได้แก่มะเร็งจากเซลล์บุผิวเช่น มะเร็งลำไส้ รังไข่ ปอด เต้านม ต่อมลูกหมาก ตับอ่อน และที่พบมากที่สุดในประชากรภาคตะวันออกเฉียงเหนือคือมะเร็งตับชนิดที่เกิดกับท่อทางเดินน้ำดี โดยมีสถิติที่พบอุบัติการณ์สูงสุดของโลก [1] การใช้ยาเคมีป้องกัน (มะเร็ง) เป็นการใช้วิธีทางเภสัชวิทยาเพื่อที่จะหยุดยั้งกระบวนการก่อมะเร็งต่อเซลล์ปกติ หรือทำให้เซลล์ผิดปกติหวนกลับมาเป็นปกติ หรือตายไป ก่อนเซลล์มะเร็งจะบุกรุกและแพร่กระจายออกไป การศึกษาถึงประสิทธิผลและความเป็นไปได้ในการใช้ในมนุษย์มักเริ่มต้นในสัตว์ทดลองและเซลล์เพาะเลี้ยงที่เป็นแบบจำลองของมะเร็งชนิดต่างๆ การศึกษาในมนุษย์ที่เป็น clinical trial ขนาดใหญ่ได้ผลลัพธ์ออกมาทั้งได้และไม่ได้ผลในการป้องกัน และที่น่าวิตกกว่านั้นคือการศึกษาที่พบว่าการให้ยาเคมีป้องกันทำให้เพิ่มอุบัติการณ์ของมะเร็งมากกว่าปกติ เช่นกรณีของการศึกษา Alpha-Tocopherol Beta Carotene Cancer Prevention (ATBC)Trial[2], beta Carotene and Retinol Efficacy Trial (CARET)[3] และ Alpha-tocopherol ในการป้องกัน second primary head and neck cancer[4]. ผลการศึกษาที่แตกต่างกันเช่นนี้ทำให้ความจำเป็นที่ต้องทำความเข้าใจในกระบวนการก่อมะเร็งที่ถ่องแท้เสียก่อน ทั้งนี้เพื่อที่จะได้สามารถพิสูจน์หาเป้าหมายของยาที่เหมาะสมในระดับโมเลกุลและระดับเซลล์ เพื่อให้ได้ยาที่มีประสิทธิภาพและปลอดภัยในการใช้เป็นยาเคมีป้องกัน

การเกิดมะเร็งเป็นกระบวนการเชิงซ้อนที่อาศัยปัจจัยจำนวนมากร่วมกันชักนำให้เกิดผลสุดท้ายขึ้น ไม่ได้เกิดขึ้นจากความผิดปกติเพียงจุดใดจุดหนึ่ง และในช่วงเวลาที่เซลล์ผิดปกติเหล่านี้พัฒนาไป ความผิดปกติก็มีมากหลากหลายแบบยิ่งขึ้น เซลล์ต่างชนิดกันความผิดปกติก็อาจไม่เหมือนกัน ดังนั้นจึงมีโอกาสน้อยมากที่จะได้ยามหัศจรรย์ที่จะได้ผลต่อมะเร็งทุกชนิด หรือแม้มะเร็งชนิดเดียวกันแต่อยู่ในต่างระยะของโรคที่ต่างกัน ประสิทธิภาพของยาก็อาจแตกต่างกันได้ ดังนั้นการกำหนดขอบเขตว่าประชากรกลุ่มใดที่เหมาะสมในการใช้ยาเคมีป้องกันจึงอาจจำเป็นรายงานจำนวนมากใช้กลุ่มประชากรที่มีความเสี่ยงสูง เช่น ในการศึกษา ATBC trial และ CARET [2, 3] ใช้กลุ่มคนที่สูบบุหรี่ และกลุ่มคนที่สูบบุหรี่และทำงานเกี่ยวข้องกับแอสเบสตอส ซึ่งเป็นปัจจัยเสี่ยงสำคัญต่อมะเร็งปอด หรือการศึกษาบางครั้งใช้ผู้ป่วยที่เป็นมะเร็งซึ่งรับการรักษาแล้ว จะป้องกันการ เป็นซ้ำ (second primary cancer)[4] ทั้งนี้เพราะกลุ่มประชากรนี้มีความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งสูงกว่าประชากรทั่วไปมาก จึงทำให้สามารถประเมินประสิทธิผลของยาเคมีป้องกันได้ชัดเจนมากยิ่งขึ้นโดยใช้จำนวนอาสาสมัครที่ไม่มากนัก แม้กระนั้นปัจจุบันยังเชื่อว่าการเลือกประชากรโดยพิจารณาจาก ปัจจัยเสี่ยงที่เป็นปัจจัยแวดล้อมอย่างเดียวน่าจะไม่เพียงพอ[5] เนื่องจากมะเร็งมีความหลากหลายอย่างมากแม้เป็นมะเร็งที่ตำแหน่งเดียวกันก็ตาม ชนิดของเซลล์อาจแตกต่างตามจุลกายวิภาค ระยะการพัฒนา และการแสดงออกของจีนบางชนิด ซึ่งอาจมีความสำคัญต่อประสิทธิภาพของยาเคมีป้องกันที่จะใช้ [5] ดังนั้นการคัดเลือกอาสาสมัครอาจจำเป็นต้องพิจารณาจัดชั้น (stratification) ตามชนิดเนื้อเยื่อ โดยใช้เทคนิค tissue array ร่วมกับใช้โมเลกุลบ่งชี้ (biomarker) หรือลักษณะทางพันธุกรรมของผู้ป่วยและของเนื้อเยื่อมะเร็งประกอบ

การก่อมะเร็ง (Carcinogenesis)

เนื่องจากมะเร็งส่วนใหญ่เกิดขึ้นจากการเหนี่ยวนำด้วยสารเคมีที่ได้รับ สารเคมีเหล่านั้นอาจได้โดยการบริโภคเป็นอาหาร หรือจากการปนเปื้อน และจากสิ่งแวดล้อม สารเคมีเกือบทั้งหมด ยกเว้นบางชนิด เช่นสารหนู ใยหิน ยารักษามะเร็งบางชนิด และสารกัมมันตรังสี เป็นต้น สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดกระบวนการก่อมะเร็งได้โดยตรง สารเคมีอื่นๆ มักต้องถูกเปลี่ยนแปลงให้อยู่ในรูปที่ว่องไวทำปฏิกิริยาก่อน จึงจะสามารถทำปฏิกิริยากับโมเลกุลร่างกาย[6] การเปลี่ยนแปลงโมเลกุลของสารก่อมะเร็งที่ยังไม่มีฤทธิ์ (procarcinogen) มักอาศัยเอนไซม์ในกลุ่มเอนไซม์เปลี่ยนแปลงยา (drug metabolizing enzyme) ที่สำคัญคือ cytochrome P450 (CYP)[7,8] เนื่องจากการก่อมะเร็งเป็นการเปลี่ยนแปลงที่มีความซับซ้อนมาก จากการศึกษาในสัตว์ทดลองทำให้สามารถแบ่งระยะการเกิดมะเร็งเป็นอย่างน้อย 3 ระยะ ได้แก่ ระยะเริ่มก่อตัว (Initiation) ระยะส่งเสริม (Promotion) และระยะก้าวหน้า (Progression)[9] แต่ละระยะมีคุณลักษณะ มีการเปลี่ยนแปลงที่แตกต่างกัน เช่นมีการผ่าเหล่า (mutation) มีการเปลี่ยนแปลงวิถีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ (signal transduction) การแสดงออกของจีนและความว่องไวต่อปัจจัยสนับสนุนหรือยับยั้งแตกต่างกัน ในระยะเริ่มก่อตัว สารก่อมะเร็งมักถูกเปลี่ยนแปลงโดยกลุ่มเอนไซม์เปลี่ยนแปลงยาให้ได้สารว่องไวปฏิกิริยา (reactive metabolite) ก่อนที่จะทำปฏิกิริยากับชีวโมเลกุลสำคัญในเซลล์ ซึ่งนำไปสู่การผ่าเหล่าของ DNA ในขั้นตอนต่อไปเซลล์ที่มีสารพันธุกรรมที่ผิดปกตินั้น จะได้รับการซ่อมแซมถ้าให้เวลาเพียงพอที่ระบบเอนไซม์ซ่อมแซม DNA จะแก้ไขได้[10] ในขั้นตอนนี้ถ้าร่างกายได้รับสารเคมีที่ส่งเสริม (promoter) ให้เซลล์ผิดปกติเหล่านี้คงอยู่ต่อไปหรือเพิ่มจำนวนขึ้น (promoter) จะทำให้เซลล์มีโอกาสทวีความผิดปกติในการผ่าเหล่าเพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ (progression) จนถึงขีดหนึ่งที่เซลล์ผิดปกตินั้นสามารถดำรงอยู่ได้อิสระหลุดพ้นจากการควบคุมของเซลล์ข้างเคียงหรือของร่างกาย การยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์ผิดปกติ การยับยั้งการออกฤทธิ์ของสาร promoter หรือแม้กระทั่งการชักนำให้เซลล์ผิดปกติที่ซ่อมแซมไม่ได้ให้ตายไปเอง (Apoptosis) จัดเป็นตำแหน่งหรือเป้าหมายของยาเคมีป้องกันที่สามารถออกฤทธิ์ได้ผล ดูรูปที่ 1



รูปที่ 1. การพัฒนาของเซลล์สู่ในระยะต่างๆ ก่อนที่จะเกิดเป็นมะเร็ง ยาเคมีป้องกันอาจออกฤทธิ์โดยมีกลไกยับยั้งการก่อสารก่อมะเร็ง ด้วยการยับยั้งเอนไซม์เปลี่ยนแปลงยา phase I เปลี่ยนแปลงสาร procarcinogen เป็นสารมีฤทธิ์ (reactive metabolite) ในอีกด้านการกระตุ้นเอนไซม์เปลี่ยนแปลงยา phase II ให้ทำงานมากขึ้นเพื่อเปลี่ยนแปลงให้หมดฤทธิ์ ในระยะ promotion และ progression สารกลุ่ม suppressing agent ออกฤทธิ์โดยยับยั้งการแบ่งเซลล์ กระตุ้นให้เซลล์ผิดปกติตายเอง (apoptosis) และการยับยั้งการทำงานของ COX2 เป็นต้น (ดัดแปลงจาก Chen & Kong 2004)

กลยุทธของยาเคมีป้องกัน

การออกฤทธิ์ของยาเคมีป้องกันอาจแบ่งกว้างๆ ได้เป็นกลุ่มที่ยับยั้งการก่อหรือกระตุ้นให้สารก่อมะเร็งให้ทำปฏิกิริยากับชีวโมเลกุลร่างกาย (Blocking agents) และกลุ่มที่ยับยั้งกดการพัฒนาเซลล์มะเร็ง (Suppressing agents)[11, 12] ยาในกลุ่มแรกออกฤทธิ์โดยการยับยั้งการสร้างการเปลี่ยนแปลงสารก่อมะเร็งที่ยังไม่มีฤทธิ์ (procarcinogen) ให้มีฤทธิ์หรือว่องไวต่อปฏิกิริยามากขึ้น ด้วยการ 1. ยับยั้งเอนไซม์เปลี่ยนแปลงยาเหล่านี้โดยเฉพาะอย่างยิ่งเอนไซม์ตระกูล CYP หรือ 2. เหนี่ยวนำให้เพิ่มการทำลายฤทธิ์หรือลดความว่องไวต่อปฏิกิริยาของสารก่อมะเร็งลงโดยการ conjugation ด้วยเอนไซม์เปลี่ยนแปลงยาระยะที่ 2 (phase II enzyme) ได้สารที่ถูกขับออกได้เร็วขึ้นหรือ 3. เร่งทำลายฤทธิ์ของอนุมูลอิสระหรือสาร electrophile ที่มาจากสาร procarcinogen โดยเอนไซม์ของระบบต้านอนุมูลอิสระ (รูปที่ 1) กลไกในขั้นนี้จะยับยั้งไม่ให้สารว่องไวปฏิกิริยามีโอกาสทำโจมตีปฏิกิริยากับชีวโมเลกุลสำคัญของเซลล์ ซึ่งเป็นการยับยั้งขั้นตอน initiation

ในกลุ่มยาที่กดยับยั้งการพัฒนาเซลล์มะเร็งได้แก่ ยาที่สามารถยับยั้งกระบวนการ promotion และ progression ด้วยการยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์ ยับยั้งการ differentiation เช่น การยับยั้งการออกฤทธิ์ของสารก่อมะเร็งที่มีฤทธิ์เป็น mitogen ยับยั้งกระบวนการใน cell cycle ในเซลล์มะเร็ง ตลอดจนการชักนำให้เซลล์ผิดปกติดังกล่าวตายลงเอง (apoptosis) และอาจสามารถให้เซลล์ผ่าเหล่านั้นหวนคืนกลับเป็นปกติ นอกจากนั้นอาจทำการหยุดยั้ง หรือชลอกระบวนการ progression ของเนื้อเยื่อมะเร็งให้ช้าลง

ยายับยั้งการสร้างก่อสารก่อมะเร็ง (Blocking agents)

ยาในกลุ่มนี้จะป้องกันเซลล์ไม่ให้ได้รับบาดเจ็บจากสารว่องไวปฏิกิริยาที่สร้างขึ้นโดยฤทธิ์เอนไซม์เปลี่ยนแปลงยา เอนไซม์ที่สามารถสร้างอนุมูลว่องไวปฏิกิริยาประกอบด้วยทั้งเอนไซม์ phase I ได้แก่ CYP1A1, CYP1A2, CYP2A6, และ CYP2A13 เป็นต้น [8, 13, 14] และเอนไซม์เปลี่ยนแปลงยา phase II บางชนิด เช่น เอนไซม์ arylamine N-acetyltransferase-1 (NAT1) และ NAT-2 [15] เอนไซม์พวกนี้จะเปลี่ยนแปลงสารและมีความสัมพันธ์กับมะเร็งบางชนิด เช่น แสดงในตารางที่ 1 ดังนั้นการยับยั้งการทำงานเอนไซม์กลุ่มนี้จึงเป็นการยับยั้งการสร้างสารก่อมะเร็งในร่างกาย ในขณะที่เอนไซม์เปลี่ยน แปลงยา Phase II มักมีบทบาทในการกำจัดฤทธิ์ (detoxification) ของสารหรืออนุมูลว่องไวปฏิกิริยาให้หมดฤทธิ์และช่วยการขับออกจากร่างกาย ตัวอย่างเช่น glutathione S-transferase (GST), UDP-glucuronosyltransferase (UGT), sulfotransferase (SULT), epoxide hydrolase และ NADPH-quinone oxidoreductase (NQO1) โดยทำปฏิกิริยาชนิด conjugation กับสารตัวรับเช่น glutathione, glucuronate, sulfate, มีการเติมโมเลกุลของน้ำ (trans-addition) และการรีดิวซ์สาร quinones ด้วย 2 อิเล็คตรอน ตามลำดับ เป็นต้น การเพิ่มการทำงานของเอนไซม์เหล่านี้จะลดโอกาสการทำปฏิกิริยาของสารก่อมะเร็งพวกนี้[12, 16] นอกจากนี้ยังเพิ่มคุณสมบัติการละลายน้ำและเร่งการกำจัดออกจากร่างกาย การยับยั้งสารก่อมะเร็งยังอาจทำได้ด้วยการเพิ่มการทำงานของระบบต้านอนุมูลอิสระ เช่น เอนไซม์ต่อต้านออกซิเดชัน (antioxidant enzyme) ได้แก่ glutathione S-transferase (GST), superoxide dismutase (SOD), glutathione reductase, glutamy-cystein ligase (GCL), heme oxygenase-1 (HO-1) และที่ไม่ใช่เอนไซม์ เช่น ferritin และ bilirubin เป็นต้น

สารเคมีจำนวนมากโดยเฉพาะอย่างยิ่งสารจากธรรมชาติกลุ่ม polyphenol, coumarin, และสารที่มีอะตอม sulfur อยู่ภายในโมเลกุล เช่น isothiocyanate สาร 2 กลุ่มนี้สามารถกระตุ้นเพิ่มการแสดงออกและการทำงานของเอนไซม์เปลี่ยนแปลงยา phase II และเอนไซม์ต้านออกซิเดชัน สารเคมีดังกล่าวพบในอาหารประเภทผักและผลไม้ต่างๆ จำนวนมาก สารที่มีการศึกษากันมากได้แก่ curcumin ที่พบในขมิ้นชัน epigallo-catechin gallate (EGCG) และสาร catechin อื่นๆ ซึ่งเป็นสารกลุ่ม flavanol ในชาเขียว Quercetin และ rutin [12, 17] พบในพืชผลไม้แทบทุกชนิดเช่น กลุ่ม citrus (ส้ม มะนาว) และยังพบในใบหม่อน ใบฝรั่ง สารในกลุ่มที่เข้า sulfur ได้แก่ sulforaphane, phenethyl isothiocyanate (PEITC) พบในผักบรอคคอรี่ ผักกะหล่ำ และผักอื่นๆ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 1 บทบาท drug metabolizing enzyme ในการเปลี่ยนสารก่อมะเร็งให้มีฤทธิ์และตำแหน่งของมะเร็งที่เกิด

CYP	Procarcinogen/ substrate	Cancer site
CYP1A1	Polycyclic aromatic hydrocarbon	Lung, larynx
CYP1A2	Aflatoxin	Liver
CYP2A6, CYP2A13	NNN, NNK	Lung
CYP2E1	Dimethylnitrosamine,	Liver
NAT1, NAT2	Heterocyclic amines (IQ, MeIQ), benzidine, 2-AF	Colon, bladder

ตารางที่ 2 ตัวอย่างสารเคมีมีฤทธิ์เคมีป้องกันพบในพืชผักที่มีฤทธิ์กระตุ้นเอนไซม์กำจัดพิษ (จาก Chen & Kong 2004)

Class of chemicals		Representatives	Source
Phenolic	Phenols	Ferulic acid	Rice, fruits,
		Curcumin	Ginger, curry
		EGCG, EGC, EC, ECG	Green tea (Camellia sinensis)
		Resveratrol	Grape
	Flavonoids	Quercetin	Citrus fruits
		Genistein	Soy bean
		Silymarin	Milk thristle
Sulfur-containing	Isothiocyanates	Allyl isothiocyanate	Brussel sprouts
		Benzyl isothiocyanate	Garden cress
		Phenethyl isothiocyanate	Turnips, watercress
		Sulforaphane	Broccoli
	Organosulfur	Allicin	Garlic, onion
		Diallyl trisulfide, S-allyl cysteine	Garlic, garlic oil
Miscellaneous	Indoles	Brassinin, indole-3-carbinol	Cruciferous vegetables
	Diterpenes	Cafestol, kahweol	Green coffee bean
	Coumarins & lactones	Coumarins	Leguminosae species
		Auraptene	Citrus species
	Inorganic	Selenium	Meat, wheat, dairy & fish

กลไกการออกฤทธิ์ของสารเหล่านี้มีลักษณะร่วมกันหลายประการ ได้แก่การมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันโดยตรง เนื่องจากการมีกลุ่ม polyphenolic หรือเป็น metal chelator ยับยั้งปฏิกิริยา Fenton ในการสร้างอนุมูลอิสระ[18,19] มีฤทธิ์กระตุ้นเอนไซม์ phase II ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ phase I[20] และฤทธิ์กระตุ้นเอนไซม์ต้านออกซิเดชันที่กล่าวข้างต้น ให้ทำงานเพิ่มขึ้น นักวิทยาศาสตร์[12, 16] เรียกสารมีฤทธิ์กระตุ้นเพิ่มการทำงานของเอนไซม์ phase II เรียกว่า "Monofunctional inducer" ในขณะที่สารบางชนิดนอกจากกระตุ้นเอนไซม์ดังกล่าวข้างต้นยังกระตุ้นการทำงานของ CYP อีกด้วย เรียกว่า "Bifunctional inducer" สาร bifunctional inducer ได้แก่ β-naphthoflavone และ indole-3-carbinol แม้คิดว่าการกระตุ้น CYP1A1 อาจจะเกิดผลเสียเพราะมีการเปลี่ยนแปลงสารก่อมะเร็งให้มีฤทธิ์เพิ่มขึ้นแต่เนื่องจากเพิ่มการทำงานของเอนไซม์ phase 2 และเอนไซม์ต้านออกซิเดชันมีมากกว่าทำให้สารเคมีพวกนี้มีผลเป็นเคมีป้องกัน สารเคมีหลายชนิดได้แสดงฤทธิ์ป้องกันมะเร็งแบบต่างๆ ในสัตว์ทดลอง เช่น EGCG ป้องกันมะเร็งผิวหนัง ตับ ลำไส้ใหญ่ และ forestomach ในหนู[21] Sulforaphane ยับยั้งมะเร็งเต้านม มะเร็งผิวหนัง[22] Curcumin ยับยั้งมะเร็งตับ[23] Genistein ยับยั้งมะเร็งเต้านม ต่อมลูกหมาก ผิวหนัง[24, 25] ยาเคมีป้องกันที่น่าสนใจอีกชนิดคือ Oltipraz เป็นสารสังเคราะห์มีฤทธิ์ยับยั้ง CYP1A และยังมีฤทธิ์ กระตุ้นเอนไซม์แบบ monofunctional inducer โดยกระตุ้นเอนไซม์ระยะที่ 2 โดยเฉพาะอย่างยิ่ง GST, NQO1 และ GCL[26]. Oltipraz เป็นยาเคมีป้องกันที่ได้ทดลอง clinical trial ในกลุ่มประชากรจีนตอนใต้ป้องกันมะเร็งตับ โดยประชากรกลุ่ม นี้มีโอกาสได้รับสาร aflatoxin สูง การศึกษาพบว่า aflatoxin-albumin adduct ในพลาสมาลดลง สารเมแทโบไลท์ aflatoxin M1 ที่เกิดจากปฏิกิริยา phase 1 โดย CYP1A2 มีระดับลดลง พร้อมกันนั้นระดับ aflatoxin-mercapturic acid derivative สารเมแทโบไลท์จากปฏิกิริยา phase 2 เพิ่มขึ้นในปัสสาวะ[27]

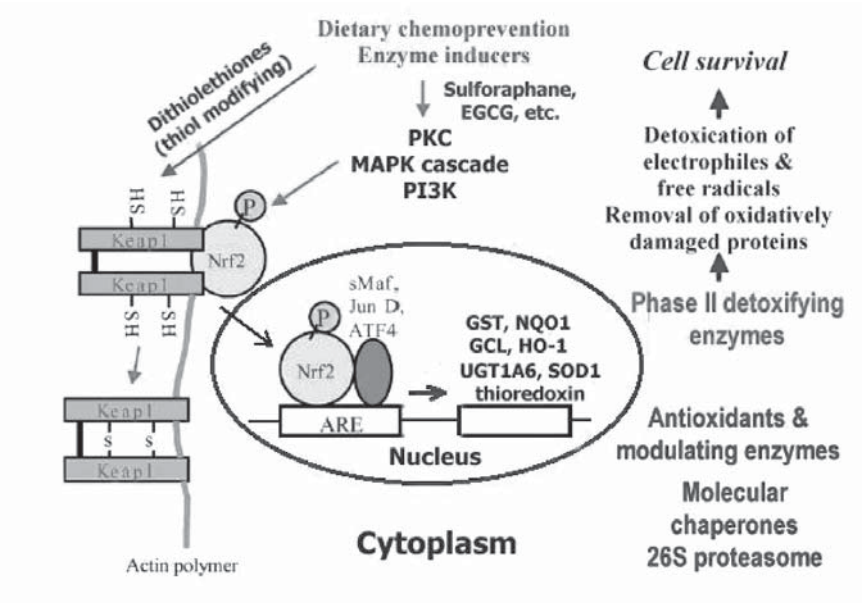
กลไกระดับโมเลกุลของยาเคมีป้องกัน: สารเหล่านี้มักออกฤทธิ์โดยการเหนี่ยวนำเพิ่มการแสดงออกของจีนเอนไซม์ phase 2 และเอนไซม์ต้านออกซิเดชัน โดยช่วง promoter ของจีนเหล่านี้มีลำดับเบสสำคัญที่เป็น enhancer sequence ที่เรียกว่า "Antioxidant response element หรือ electrophile response element (ARE /EpRE)[12, 16] มีผลเพิ่มการแสดงออกของจีนที่อยู่ถัดลงไป Transcription factor ที่

สำคัญที่สามารถจับและกระตุ้น ARE/EpRE คือ nuclear factor erythroid 2p45-related factors 2 (Nrf2) สารเคมีที่เป็น mono-functional inducer มักสามารถกระตุ้น Nrf2 ให้ทำงาน ปกติ Nrf2 จะจับกับโปรตีน Keap 1 ใน cytoplasm ทำให้ไม่ทำงาน สารกระตุ้นเหล่านี้จะมีผลให้ Keap 1 ถูกออกซิไดซ์ ทำให้ Nrf2 เป็นอิสระสามารถเข้าจับกับ ARE/EpRE การกระตุ้น Nrf2 อาจเกิดขึ้นได้อีกวิถีทางหนึ่งคือถูกเติมหมู่ฟอสเฟต ด้วยเอนไซม์ phosphatidyl inositol 3-kinase (PI3K), protein kinase C (PKC) หรือกลุ่มเอนไซม์ mitogen activated protein kinase (MAPK) ที่ทำงานเป็นเครือข่าย cascade ซึ่งประกอบด้วยวิถีย่อยต่างๆ เช่น วิถี c-Jun N-terminal kinase (JNK) หรือ extracellular signal-regulated protein kinase (ERK) ทำให้ Nrf2 หลุดเป็นอิสระ[16, 28] สามารถจับกับ ARE/EpRE และกระตุ้นการแสดงออกจีน phase 2 และจีนต้านออกซิเดชัน GSTA, NQO1 และ HO-1 สารเคมีจากพืชหลายชนิด เช่น EGCG, sulforaphane และ PITC สามารถกระตุ้น JNK, ERK และ p38 MAPK ใน HepG2 และ HT-29 cell แล้วนำไปสู่การกระตุ้นเอนไซม์ระยะที่ 2

ยากดการพัฒนาเซลล์มะเร็ง (Suppressing agents)

การป้องกันขั้นตอน tumor promotion ประกอบด้วยการชักนำให้วัฏจักรของเซลล์หยุด (cell cycle arrest) ทำให้เซลล์ตายเอง (apoptosis) และยับยั้งการส่งสัญญาณภายในเซลล์ที่ทำให้เพิ่มจำนวนเซลล์ กลไกการออกฤทธิ์ที่สำคัญในการยับยั้งขั้นนี้ได้แก่ การยับยั้งการทำงานของ cyclooxygenase 2 (COX-2)[29-31], ยับยั้งการกระตุ้นของ transcription factor: activator protein-1 (AP-1) หรือ nuclear factor-kappa B (NF-κB)[17, 30, 32] สารเคมีในอาหาร เครื่องดื่ม ที่พบในชีวิตประจำวันจำนวนมากมีฤทธิ์ยับยั้ง tumor promotion จึงอาจสามารถใช้เป็นยาเคมีป้องกัน

สารก่อมะเร็งออกฤทธิ์เป็น tumor promoter อาจทำงานโดยกระตุ้นผ่านวิถีที่หลากหลายของ MAPK เช่น ERKs, JNKs และ p38 kinases[17, 30, 32] สาร phorbol ester (PMA) สารออกฤทธิ์คล้าย epidermal growth factor (EGF) และ platelet-derived growth factor (PDGF), ultraviolet (UV), okadaic acid และสารหนู สารก่อมะเร็งเหล่านี้และสารอื่นๆ อาจใช้วิถีการ



รูปที่ 2. แสดงวิถีทางการชักนำ cytoprotective gene (phase 2 enzymes & antioxidative enzymes) โดยยาเคมีป้องกัน สารเหล่านี้ออกฤทธิ์โดย oxidize หมู่ sulfhydryl ของ Keap1 ทำให้ Nrf2 ถูกปล่อยเป็นอิสระไปสะสมในนิวเคลียส Nrf2 สามารถถูกกระตุ้นด้วยการ phosphorylation ด้วย PKC, MAPK หรือ PI3K Nrf2 สามารถเข้าสู่นิวเคลียสรวมกับ small Maf protein ได้ complex ที่สามารถจับกับ ARE เพิ่มการแสดงออกของจีน cytoprotective ทั้งหลายรวมทั้ง 26S proteosome มีผลให้ช่วยกำจัดพิษของสารก่อมะเร็ง เพิ่มการเปลี่ยนแปลง เร่งการขับถ่าย เพิ่มการทำงานของระบบต่อต้านออกซิเดชัน (จาก Kwak et al 2004)

ส่งสัญญาณภายในเซลล์ที่จำเพาะและแตกต่างกันได้ การนำสัญญาณขั้นสุดท้ายจะกระตุ้น transcription factor ที่สำคัญได้แก่ AP-1 หรือ NF-κB สาร tumor promoter อาจกระตุ้นให้เกิดการเปลี่ยนแปลง (transformation) ของเซลล์ เพิ่มจำนวนและยับยั้ง apoptosis ของเซลล์ผิดปกติ ยาเคมีป้องกัน resveratrol, EGCG, caffeic acid หรือ gingerol และ paradol (สารเคมีจากขิง) มีรายงานว่าสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตและชักนำให้เซลล์มะเร็งเพาะเลี้ยงเกิด apoptosis [33]

การยับยั้ง Cyclooxygenase-2 เป็นกลไกของยาเคมีป้องกัน: เอนไซม์ COX ทำหน้าที่สังเคราะห์ prostaglandin (PGs) จาก arachidonic acid ซึ่งมีหน้าที่ภายในเซลล์มากมาย เอนไซม์มี 2 รูปแบบคือ COX-1 ซึ่งจีนจะแสดงออกและมีการทำงานตลอดเวลาเพื่อสังเคราะห์ PGs และมักเกี่ยวข้องกับการทำงานปกติของร่างกาย ในขณะที่ COX-2 เป็นจีนที่ถูกเหนี่ยวนำให้เพิ่มการทำงาน (inducible) ด้วยสัญญาณจากภาวะอักเสบและเซลล์บาดเจ็บต่างๆ เช่น cytokines สาร mitogen และโปรตีนจากจีน oncogene[29] มีรายงานมากมายที่พบว่าในเนื้อเยื่อมะเร็งมีการทำงานของ COX-2 เพิ่มมากขึ้น เช่น มะเร็งของ head and neck, breast, esophagus, colon, bladder, liver และรวมทั้งมะเร็งท่อทางเดินน้ำดี (cholangio-carcinoma)[31, 34, 35] การเพิ่มการแสดงออกของ COX-2 เป็นผลจากความผิดปกติการควบคุมผิดปกติทั้งระดับ transcriptional และ post-transcriptional และมักสัมพันธ์กับการเกิด mutation ของจีน p53[36] ดังนั้น การเสียการควบคุมของ tumor suppressor gene และเพิ่มการกระตุ้น oncogene มีผลเพิ่มการทำงานของ COX-2 ซึ่งมีผลให้สร้าง PGs ออกมาจำนวนมาก เนื่องจาก PGs เหล่านี้มีฤทธิ์มากมายและเกี่ยวข้องกับการก่อมะเร็ง เช่น การกระตุ้นให้แบ่งเซลล์ ทำให้เซลล์เคลื่อนที่ [29] แต่ยับยั้งการทำงานของเซลล์ในระบบอิมมูนโดยลดการหลั่ง cytokine และการทำงานของ NK cell [37] ยับยั้ง apoptosis โดยการเพิ่มการทำงานของจีนที่ช่วยการอยู่รอด Bcl2 และ Akt และยังกระตุ้นการสร้างหลอดเลือดใหม่ (angiogenesis) โดยเพิ่ม VEGF, bFGF และ PDGF[38, 39] ดังนั้นการยับยั้งการทำงานของ COX-2 จึงเป็นวิธีการสำคัญในการยับยั้งกระบวนการ tumor promotion

การยับยั้ง COX-2 อาจทำได้โดยการยับยั้งที่เอนไซม์ COX-2 โดยตรง เช่นการใช้ Non-steroidal antiinflammatory drugs (NSAIDs) ซึ่งมีรายงานจำนวนมากที่พบว่าการใช้ NSAIDs ที่แม้แบบไม่จำเพาะต่อ COX เช่น aspirin หรือ sulindac ก็สามารถป้องกันมะเร็งลำไส้ใหญ่กลุ่ม familial adenomatous polyposis[40, 41] ยาได้ผลยับยั้งมะเร็งในสัตว์ทดลองอีกหลายประเภท การยับยั้ง COX-2 อาจสามารถทำได้โดยการยับยั้งการส่งสัญญาณภายในเซลล์ที่นำไปสู่การเพิ่มการแสดงออกของจีน COX-2 ในส่วนของ promoter ของจีน COX-2 มีตำแหน่งที่จับของ transcription factor: NF-κB และ cAMP response element (CRE) สัญญาณกระตุ้นจาก oncogne (growth factor) หรือการอักเสบ (cytokine) จะกระตุ้น COX-2 ผ่านวิถีสัญญาณสำคัญคือ protein kinase C (PKC) และ Ras-MAPK การยับยั้งการส่งสัญญาณ MAPK, PKC รวมทั้งการยับยั้งการกระตุ้น NF-κB และ AP-1 จะมีผลยับยั้งการกระตุ้น COX-2 ได้ [17, 30, 32] สารเคมีที่มีผลยับยั้งการกระตุ้น NF-κB มีผลยับยั้งการแสดงออกของ COX-2 และมีผลลดการอักเสบ เช่น curcumin, vitamin E, quercetin, resveratrol, capsaicin, caffeic acid phenethyl ester, sulforaphane เป็นต้น[17, 30] สารเคมีสังเคราะห์ออกแบบมาเพื่อยับยั้งเอนไซม์ kinase อย่างจำเพาะในวิถี เช่น ERKs ตัวอย่างเช่น MEK1/2 inhibitor PD98059 สารใหม่เหล่านี้มีโอกาสในการพัฒนาต่อไปเป็นยาเคมีป้องกัน

การยับยั้งสัญญาณในวิถี epideramal growth factor (EGF) เป็นกลไกของเคมีป้องกัน: ตัวรับตระกูล ErbB เช่น ErbB2 (HER2), ErbB3 (HER3) และ ErbB4 (HER4) เป็น receptor tyrosine protein kinase (RTK) การส่งสัญญาณในวิถีนี้มีความสำคัญมากสำหรับการส่งสัญญาณให้เซลล์แบ่งตัว เกิด differentiation, transformation, angiogenesis และ migration[30, 31] กลไกการกระตุ้นในวิถี ErbB receptor ได้แก่ 1. การทำงานของ receptor ที่มากเกินไป (overexpression) เนื่องจากการผ่าเหล่าของ receptor oncogene 2. การผ่าเหล่าที่ทำให้ receptor เกิด activation ได้เอง (ไม่ต้องการ ligand) 3. การสังเคราะห์ ligand มากผิดปกติโดยการกระตุ้น oncogene 4. การกระตุ้นผ่านจาก receptor อื่นๆ เซลล์มะเร็งหลายประเภทเช่นมะเร็งลำไส้ใหญ่มีการแสดงออกของจีนเหล่านี้มากผิดปกติ การยับยั้งที่ EGF receptor หรือการทำงานของเอนไซม์ของมัน tyrosine protein kinase (PTK) หรือเอนไซม์ในวิถีที่อยู่ใต้จากนั้นเช่น วิถี Ras, Raf และ MAPK หรือวิถี PI3K และ Akt มีผลเป็นยาเคมีป้องกัน เช่น การใช้ยา EKB-569 ซึ่งเป็น EGFR inhibitor ในการป้องกันมะเร็งช่องปาก

การยับยั้งการกระตุ้น transcription factor : AP-1 และ NF-κB

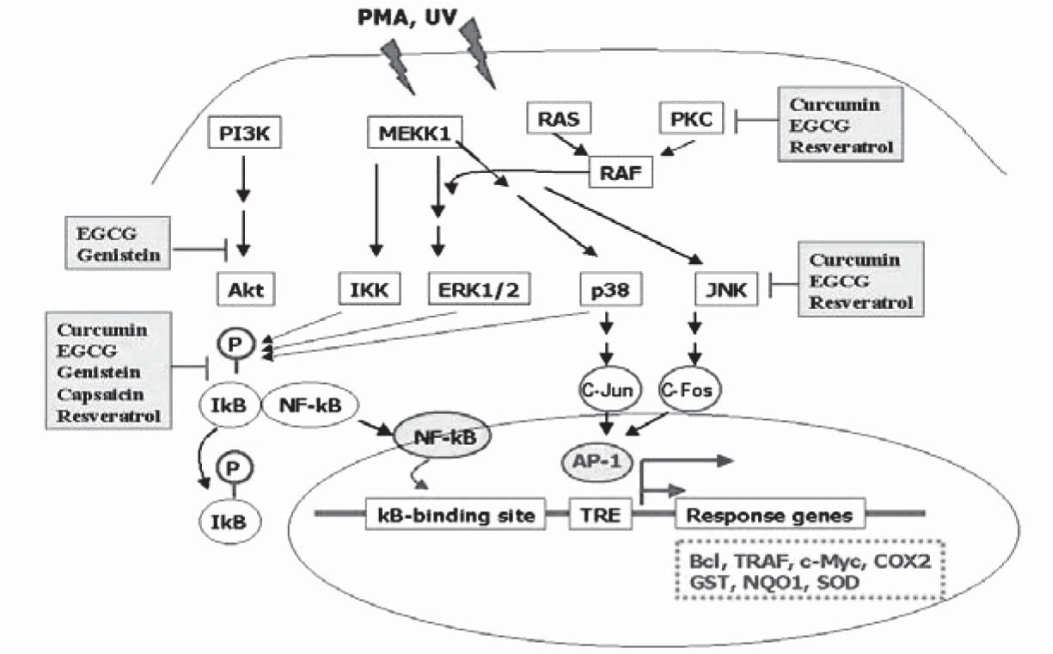
สารก่อมะเร็งหลายชนิดชักนำให้เซลล์เกิดเปลี่ยนแปลงใช้วิถีต่างๆ โดยสุดท้ายด้วยการกระตุ้น transcription factor : AP-1 หรือ NF-κB. AP-1 เป็น transcription factor ประกอบด้วย subunit ที่เป็น homodimer หรือ heterodimer ของโปรตีนตระกูล Jun, Fos, ATF และ MAF. AP-1 ควบคุมกระบวนการภายในเซลล์ ได้แก่การแบ่งตัว และ apoptosis และมีความสัมพันธ์กับการก่อมะเร็งในช่วง tumor promotion/

progression การยับยั้งการกระตุ้น AP-1 ทำให้การพัฒนามะเร็งถูกยับยั้งลง ในทำนองเดียวกัน การกระตุ้น NF-κB อย่างผิดปกติจะนำไปสู่การเพิ่มการแสดงของจีน เช่น COX-2 เพิ่มการแสดงออกของจีน antiapototic เช่น Bcl2-2, Bcl-xL, TNF receptor-associated factor (TRAF), MnSOD, Cyclin D1, GCL, c-Myc และจีนอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการก่อมะเร็ง EGFR, iNOS, VEGF, matrix metalloproteinase-9 เป็นต้น [17, 32] สารที่เป็น tumor promoter ที่กระตุ้น NF-κB ได้แก่ phorbol ester และ tumor necrosis factor-α AP-1 และ NF-κB เป็น transcription factor ที่ปรากฏมากมายในเซลล์ร่างกาย ชักนำให้เซลล์มีการตอบสนองต่างๆ หลากหลายจากการกระตุ้นด้วยสัญญาณทั้งจากภายในและภายนอกเซลล์ ดังนั้น transcription factor นี้จึงเป็นเป้าหมายสำคัญของยาเคมีป้องกันมะเร็ง (รูปที่ 3)

สารธรรมชาติที่มีฤทธิ์เคมีป้องกันที่สามารถออกฤทธิ์ต่อ AP-1 และ NF-κB ได้แก่ curcumin, EGCG, gingerol และ capsaicin สารข้างต้นสามารถยับยั้ง tumor promotion ในการทดสอบกับมะเร็งผิวหนัง การทา curcumin ยับยั้ง PMA ชักนำการกระตุ้น AP-1 และ NF-κB ที่ผิวหนัง[42] โดยการยับยั้งการ phosphorylation ของ IκB (subunit ที่เป็น inhibitor ของ NF-κB) ซึ่งจะทำให้ NF-κB เป็นอิสระออกฤทธิ์ได้ โดยการยับยั้ง IKK, ERK1/2 และ p38 MAPK ที่จะไป phosphorylation ต่อ IκB Gingerol สารในขิงยับยั้ง AP-1 activation ด้วย PMA และ TNF-α ในขณะที่ capsaicin ยับยั้งการกระตุ้น NF-κB ด้วยกลไกคล้ายคลึงกับ curcumin[42] นอกจากนี้สารธรรมชาติเช่น EGCG สาร polyphenol จากชาเขียว และ genistein จากถั่วเหลืองสามารถยับยั้งการกระตุ้น NF-κB จากการเหนี่ยวนำด้วย PMA, UV-B ต่อผิวหนัง รวมทั้งสามารถยับยั้งการกระตุ้น AP-1 ด้วย[30, 43] นอกจากนี้ EGCG และ genistein ยังยับยั้ง cell cycle และชักนำ apoptosis ใน human epidermoid carcinoma cell[30, 44]

เคมีป้องกันในมะเร็งท่อน้ำดี

มะเร็งท่อน้ำดีในประเทศไทยเชื่อกันว่ามีสาเหตุหลักจากการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *Opisthorchis viverrini*[45] และร่วมกับสารก่อมะเร็งอื่นที่มีฤทธิ์เป็น tumor promoter การศึกษาในสัตว์ทดลอง สาร nitrosoamine ร่วมกับการติดพยาธิ มีผลชักนำให้ก่อมะเร็งท่อน้ำดีได้อย่างสม่ำเสมอ [46] อย่างไรก็ตามสารเคมีอื่นอาจมีส่วนเกี่ยวข้องได้ด้วย โดยเฉพาะอย่างยิ่งการสูบบุหรี่ อย่างไรก็ตามหลักฐานทางระบาดวิทยา ไม่พบ



รูปที่ 3 การออกฤทธิ์ของสารเคมีป้องกันจากพืชต่อ NF-κB และ AP-1. การกระตุ้น NF-κB เกิดเมื่อ inhibitory subunit IκB ถูก phosphorylation ทำให้ NF-κB หลุดเป็นอิสระสามารถชักนำการแสดงออกของจีน โดยเฉพาะอย่างยิ่ง antiapoptosis genes. IκB ถูก phosphorylation ด้วยเอนไซม์ในวิถี IKK และ MAPK ได้แก่ Erk และ p38 และยังผ่านวิถี PI3K ส่วน c-Fos และ c-Jun ที่ประกอบเป็น AP-1 ถูกกระตุ้นด้วย p38 และ JNK. AP-1 สามารถชักนำการแสดงออกของจีน antipoptosis เช่นกัน สารเคมีป้องกันจะยับยั้งเอนไซม์ kinase เหล่านี้โดยขึ้นอยู่กับความเข้มข้นและชนิดของเซลล์ สิ่งกระตุ้นการทำงานของ NF-κB และ AP-1 ได้แก่ PMAphorbol ester และ UV เป็นต้น

ความสัมพันธ์ของมะเร็งชนิดนี้กับการสูบบุหรี่หรือดื่มแอลกอฮอล์ [47, 48] นอกจากนี้ภาวะติดเชื้อเรื้อรังและการเกิด endogenous nitrosation ได้รับเสนอขึ้นมา[49] บทบาทของอนุมูลอิสระ nitrogen และ oxygen ในภาวะที่มีการอักเสบเรื้อรังเนื่องจากการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับได้แสดงในหนูทดลอง[50] (อ่านเพิ่มบทความเรื่อง กลไกการเกิดมะเร็งท่อน้ำดีที่สัมพันธ์กับการติดพยาธิใบไม้ตับโดยผ่านทางอนุมูลอิสระ ในฉบับเดียวกันนี้) นอกจากนี้เนื้อเยื่อมะเร็งในผู้ป่วยพบ over-expression ของ COX-2[34, 35] นอกจากนี้ยังพบ over-expression ของ EGFR ทั้งในเนื้อเยื่อและเซลล์มะเร็งเพาะเลี้ยง[34] การวิเคราะห์ในเนื้อเยื่อมะเร็งจากผู้ป่วยในคนไทย ญี่ปุ่นและสหรัฐพบว่ามีความสัมพันธ์เชิงบวกระหว่างการแสดงออกของ COX-2 และ ErbB2 โดยไม่ขึ้นกับเชื้อชาติและถิ่นฐานของผู้ป่วย การแสดงออกของ COX-2 และ ErbB2 สัมพันธ์กับระยะของ differentiation[34, 51] โดยเนื้อเยื่อคนปกติมีการแสดงออกของจีนดังกล่าวน้อยกว่ามาก เช่นเดียวกับเนื้อเยื่อผู้ป่วย bile duct hyperplasia และ primary sclerosing cholangitis ซึ่งเป็นปัจจัยเสี่ยงต่อมะเร็งท่อน้ำดีมีการแสดงออกของ COX-2 และ ErbB2 สูงกว่าคนปกติมาก[51] การทดลองในเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีเพาะเลี้ยงพบว่า NSAIDs ชักนำให้เซลล์เกิด apoptosis ได้[40] ดังนั้น COX-2 และ ErbB2 จึงดูเหมือนเป็นเป้าหมายที่สำคัญของยาเคมีป้องกันที่อาจยับยั้งการพัฒนาของเซลล์ผิดปกติไม่ให้พัฒนาต่อไปเป็นมะเร็ง อย่างไรก็ตามการ ใช้ NSAID ในประชากรจริงยังต้องพิจารณา ปัจจัยอื่นๆ เช่น ความคุ้มค่าของประสิทธิผลและผลข้างเคียง จากยาและค่าใช้จ่ายที่เกิดขึ้น ดังเช่นกรณีของ NSAID ในการป้องกันมะเร็งลำไส้ใหญ่ที่มีการศึกษาที่ดีกว่ามาก และมีหลักฐานทางระบาดวิทยาในประชากรที่ใช้ยามีความเสี่ยงต่อมะเร็งลดลงอย่างชัดเจน[41, 52, 53] แต่กระนั้นทางการสหรัฐยังไม่ได้แนะนำให้ใช้ยาดังกล่าวป้องกัน ทั้งนี้เนื่องจากปัญหาผลข้างเคียงจากยา ประสิทธิผลในการรักษาประชากรจำนวนมากยังไม่อาจทัดเทียมการตรวจด้วยกล้องและผ่าตัดออกเมื่อตรวจพบ ในกรณีของมะเร็งท่อน้ำดี ยังคงต้องการหลักฐานของการป้องกันโรคโดย NSAID ในคน นอกจากนี้ตัวชี้วัดเบื้องต้นทางชีวภาพ (biomarker) หรือการตรวจด้วยวิธีอื่นที่มีประสิทธิภาพและปฏิบัติได้จริงเพื่อบ่งชี้ประสิทธิภาพการป้องกัน แม้ serum MUC5AC จะมีความไวและความจำเพาะในมะเร็งท่อน้ำดี[54] แต่ปัจจุบันยังไม่ปรากฏว่ามีตัวบ่งชี้หรือ biomarker ที่น่าพอใจโดยเฉพาะอย่างยิ่งผู้ป่วยในระยะแรก สิ่งบ่งชี้เบื้องต้นมีความจำเป็นอย่างยิ่งเพื่อประเมินประสิทธิผล และเพื่อคัดเลือกประชากรในกลุ่มเสี่ยงสูง (อ่านเพิ่มเติมบทความเรื่อง Tumor marker in Cholangio-carcinoma ในฉบับเดียวกันนี้)

วิถีการป้องกันที่เห็นเด่นชัดแต่ยังไม่สัมฤทธิ์ ผลที่ชัดเจนในทางปฏิบัติคือการป้องป้องกันการติดเชื้อพยาธิ ใบไม้ตับ อุบัติการณ์การติดเชื้อดังกล่าวแม้ว่าจะลดลงเนื่องจากการใช้ยาถ่ายขับพยาธิ์ [55] แต่สถิติอุบัติการณ์ของมะเร็งยังอาจต้องรอคอย และที่น่าวิตกยิ่งขึ้นคือการลดการติดเชื้อนั้นเป็นการลดอย่างแท้จริงหรือเพียงเป็นการติดเชื้อซ้ำซากใหม่หลังการรับประทานยาขับพยาธิ หลักฐานทางระบาดวิทยาวิเคราะห์ได้ว่าปัจจัยที่ป้องกันมะเร็งท่อน้ำดีได้ดีที่สุดคือการบริโภคพืชผัก และผลไม้ ผู้ที่รับประทานผักมาก (3-4 ส่วน/วัน) จะเสี่ยงน้อยกว่าผู้ที่รับประทานน้อยกว่าหรือเท่า กับ 1 ส่วนต่อวันกว่า 10 เท่า[48] รายงานดังกล่าวสอดคล้องและยืนยันผลการศึกษาอื่นๆ ที่ผ่านมาที่ศึกษาในประชากรเชื้อชาติต่างๆ และในการป้องกันมะเร็งอย่างไม่จำเพาะกับการบริโภคผักรวมๆ[41] แม้จะเชื่อว่าสารสำคัญในผักที่ออกฤทธิ์เป็นสาร phenolic, วิตามิน และธาตุบางชนิดที่มีฤทธิ์ antioxidants แต่การศึกษาโดยใช้สาร antioxidants หรือวิตามินเดี่ยวๆ หรือวิตามินผสมมักได้ผลลัพธ์ที่น่าผิดหวังมากกว่า[2-4] ดังนั้นจึงยังมีสิ่งที่ต้องเรียนรู้อีกมากในบทบาทของสารเคมีจากธรรมชาติและสารเคมีอื่นๆในการป้องกันมะเร็งก่อนที่จะมาใช้ทางคลินิกอย่างแท้จริง

เอกสารอ้างอิง

1. Vatanasapt V, Tangvoraphonkchai V, Titapant V, Pipitgool V, Viriyapap D, Sriamporn S: A high incidence of liver cancer in Khon Kaen Province, Thailand. Southeast Asian J Trop Med Public Health 1990;21:489-94.
2. The effect of vitamin E and beta carotene on the incidence of lung cancer and other cancers in male smokers. The Alpha-Tocopherol, Beta Carotene Cancer Prevention Study Group. N Engl J Med 1994;330:1029-35.
3. Omenn GS, Goodman GE, Thornquist MD, Balmes J, Cullen MR, Glass A, et al.: Effects of a combination of beta carotene and vitamin A on lung cancer and cardiovascular disease. N Engl J Med 1996;334:1150-5.
4. Bairati I, Meyer F, Gelinas M, Fortin A, Nabid A, Brochet F, et al.: A randomized trial of antioxidant vitamins to prevent second primary cancers in head and neck cancer patients. J Natl Cancer Inst 2005;97:481-8.
5. Kim ES, Hong WK: An apple a day...does it really keep the doctor away? The current state of cancer chemoprevention. J Natl Cancer Inst 2005;97:468-70.
6. Guengerich FP: Metabolic activation of carcinogens. Pharmacol Ther 1992;54:17-61.
7. Gonzalez FJ, Kimura S: Role of gene knockout mice in understanding the mechanisms of chemical toxicity and carcinogenesis. Cancer Lett 1999;143:199-204.

8. Guengerich FP: Common and uncommon cytochrome P450 reactions related to metabolism and chemical toxicity. Chem Res Toxicol 2001;14:611-50.
9. Pitot HC: The molecular biology of carcinogenesis. Cancer 1993;72:962-70.
10. Harris CC: p53 tumor suppressor gene: at the crossroads of molecular carcinogenesis, molecular epidemiology, and cancer risk assessment. Environ Health Perspect 1996;104 Suppl 3:435-9.
11. Prevention of cancer in the next millennium: Report of the Chemoprevention Working Group to the American Association for Cancer Research. Cancer Res 1999;59:4743-58.
12. Chen C, Kong AN: Dietary chemopreventive compounds and ARE/EpRE signaling. Free Radic Biol Med 2004;36: 1505-16.
13. Jalas JR, Ding X, Murphy SE: Comparative metabolism of the tobacco-specific nitrosamines 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone and 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanol by rat cytochrome P450 2A3 and human cytochrome P450 2A13. Drug Metab Dispos 2003; 31:1199-202.
14. Park BK, Kitteringham NR, Maggs JL, Pirmohamed M, Williams DP: The role of metabolic activation in drug-induced hepatotoxicity. Annu Rev Pharmacol Toxicol 2005;45: 177-202.
15. Hein DW, Rustan TD, Doll MA, Bucher KD, Ferguson RJ, Feng Y, et al.: Acetyltransferases and susceptibility to chemicals. Toxicol Lett 1992;64-65:123-130.
16. Kwak MK, Wakabayashi N, Kensler TW: Chemoprevention through the Keap1-Nrf2 signaling pathway by phase 2 enzyme inducers. Mutat Res 2004;555:133-48.
17. Surh YJ: Cancer chemoprevention with dietary phytochemicals. Nat Rev Cancer 2003;3:768-80.
18. Middleton E, Jr., Kandaswami C, Theoharides TC: The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. Pharmacol Rev 2000;52:673-751.
19. Lopes GK, Schulman HM, Hermes-Lima M: Polyphenol tannic acid inhibits hydroxyl radical formation from Fenton reaction by complexing ferrous ions. Biochim Biophys Acta 1999;1472:142-52.
20. Muto S, Fujita K, Yamazaki Y, Kamataki T: Inhibition by green tea catechins of metabolic activation of procarcinogens by human cytochrome P450. Mutat Res 2001;479:197-206.
21. Park OJ, Surh YJ: Chemopreventive potential of epigallocatechin gallate and genistein: evidence from epidemiological and laboratory studies. Toxicol Lett 2004;150:43-56.
22. Tseng E, Scott-Ramsay EA, Morris ME: Dietary organic isothiocyanates are cytotoxic in human breast cancer MCF-7 and mammary epithelial MCF-12A cell lines. Exp Biol Med (Maywood) 2004;229:835-42.
23. Chuang SE, Kuo ML, Hsu CH, Chen CR, Lin JK, Lai GM, et al.: Curcumin-containing diet inhibits diethylnitrosamine-induced murine hepatocarcinogenesis. Carcinogenesis 2000;21:331-5.
24. Wei H, Saladi R, Lu Y, Wang Y, Palep SR, Moore J, et al.: Isoflavone genistein: photoprotection and clinical implications in dermatology. J Nutr 2003;133:3811S-3819S.
25. Lambert JD, Hong J, Yang GY, Liao J, Yang CS: Inhibition of carcinogenesis by polyphenols: evidence from laboratory investigations. Am J Clin Nutr 2005;81:284S-291S.
26. Kwak MK, Egner PA, Dolan PM, Ramos-Gomez M, Groopman JD, Itoh K, et al.: Role of phase 2 enzyme induction in chemoprotection by dithiolethiones. Mutat Res 2001;480-481:305-15.
27. Wang JS, Shen X, He X, Zhu YR, Zhang BC, Wang JB, et al.: Protective alterations in phase 1 and 2 metabolism of aflatoxin B1 by oltipraz in residents of Qidong, People's Republic of China. J Natl Cancer Inst 1999;91:347-54.
28. Nguyen T, Yang CS, Pickett CB: The pathways and molecular mechanisms regulating Nrf2 activation in response to chemical stress. Free Radic Biol Med 2004;37:433-41.
29. Chun KS, Surh YJ: Signal transduction pathways regulating cyclooxygenase-2 expression: potential molecular targets for chemoprevention. Biochem Pharmacol 2004;68:1089-100.
30. Bode AM, Dong Z: Targeting signal transduction pathways by chemopreventive agents. Mutat Res 2004;555:33-51.
31. Dannenberg AJ, Lippman SM, Mann JR, Subbaramaiah K, DuBois RN: Cyclooxygenase-2 and epidermal growth factor receptor: pharmacologic targets for chemoprevention. J Clin Oncol 2005;23:254-66.
32. Bharti AC, Aggarwal BB: Nuclear factor-kappa B and cancer: its role in prevention and therapy. Biochem Pharmacol 2002;64:883-8.
33. Shimizu M, Deguchi A, Lim JT, Moriwaki H, Kopelovich L, Weinstein IB: (-)-Epigallocatechin gallate and polyphenon E inhibit growth and activation of the epidermal growth factor receptor and human epidermal growth factor receptor-2 signaling pathways in human colon cancer cells. Clin Cancer Res 2005;11:2735-46.
34. Han C, Wu T: Cyclooxygenase-2-derived prostaglandin E2 promotes human cholangiocarcinoma cell growth and invation through EP1 receptor-mediated activation of epidermal growth factor receptor and AKT. J Biol Chem 2005.
35. Kim HJ, Lee KT, Kim EK, Sohn TS, Heo JS, Choi SH, et al.: Expression of cyclooxygenase-2 in cholangiocarcinoma: correlation with clinicopathological features and prognosis. J Gastroenterol Hepatol 2004;19:582-8.
36. Leung WK, To KF, Ng YP, Lee TL, Lau JY, Chan FK, et al.:

Association between cyclo-oxygenase-2 overexpression and missense p53 mutations in gastric cancer. Br J Cancer 2001;84:335-9.

37. Joshi PC, Zhou X, Cuchens M, Jones Q: Prostaglandin E2 suppressed IL-15-mediated human NK cell function through down-regulation of common gamma-chain. J Immunol 2001; 166:885-91.
38. Gately S, Li WW: Multiple roles of COX-2 in tumor angiogenesis: a target for antiangiogenic therapy. Semin Oncol 2004;31:2-11.
39. Lim SC, Park SY, Do NY: Correlation of cyclooxygenase-2 pathway and VEGF expression in head and neck squamous cell carcinoma. Oncol Rep 2003;10:1073-9.
40. Wu GS, Zou SQ, Liu ZR, Tang ZH, Wang JH: Celecoxib inhibits proliferation and induces apoptosis via prostaglandin E2 pathway in human cholangiocarcinoma cell lines. World J Gastroenterol 2003;9:1302-6.
41. Umar A, Viner JL, Richmond E, Anderson WF, Hawk ET: Chemoprevention of colorectal carcinogenesis. Int J Clin Oncol 2002;7:2-26.
42. Surh YJ, Han SS, Keum YS, Seo HJ, Lee SS: Inhibitory effects of curcumin and capsaicin on phorbol ester-induced activation of eukaryotic transcription factors, NF-kappaB and AP-1. Biofactors 2000;12:107-12.
43. Chen YC, Liang YC, Lin-Shiau SY, Ho CT, Lin JK: Inhibition of TPA-induced protein kinase C and transcription activator protein-1 binding activities by theaflavin-3,3'-digallate from black tea in NIH3T3 cells. J Agric Food Chem 1999;47:1416-21.
44. Valachovicova T, Slivova V, Bergman H, Shuherk J, Sliva D: Soy isoflavones suppress invasiveness of breast cancer cells by the inhibition of NF-kappaB/AP-1-dependent and -independent pathways. Int J Oncol 2004;25:1389-95.
45. Kurathong S, Lerdverasirikul P, Wongpaitoon V, Pramoolsinsap C, Kanjanapitak A, Varavithya W, et al.: Opisthorchis viverrini infection and cholangiocarcinoma. A prospective, case-controlled study. Gastroenterology 1985;89:151-6.
46. Thamavit W, Pairojkul C, Tiwawech D, Shirai T, Ito N: Strong promoting effect of Opisthorchis viverrini infection on dimethylnitrosamine-initiated hamster liver. Cancer Lett 1994;78:121-5.
47. Prawan A, Kukongviriyapan V, Tassaneeyakul W, Pairojkul C, Bhudhisawasdi V: Association between genetic polymorphisms of CYP1A2, arylamine N-acetyltransferase 1 and 2 and susceptibility to cholangiocarcinoma. Eur J Cancer Prev 2005;14:245-50.
48. Chernrungroj G: Risk factors for cholangiocarcinoma: A case-control study [Dissertation for the degree of Ph.D.]: Yale University; 2000.
49. Ohshima H, Bandaletova TY, Brouet I, Bartsch H, Kirby G, Ogunbiyi F, et al.: Increased nitrosamine and nitrate biosynthesis mediated by nitric oxide synthase induced in hamsters infected with liver fluke (Opisthorchis viverrini). Carcinogenesis 1994;15:271-5.
50. Pinlaor S, Ma N, Hiraku Y, Yongvanit P, Semba R, Oikawa S, et al.: Repeated infection with Opisthorchis viverrini induces accumulation of 8-nitroguanine and 8-oxo-7, 8-dihydro-2'-deoxyguanine in the bile duct of hamsters via inducible nitric oxide synthase. Carcinogenesis 2004; 25:1535-42.
51. Endo K, Yoon BI, Pairojkul C, Demetris AJ, Sirica AE: ERBB-2 overexpression and cyclooxygenase-2 up-regulation in human cholangiocarcinoma and risk conditions. Hepatology 2002;36:439-50.
52. Hallak A, Alon-Baron L, Shamir R, Moshkowitz M, Bulvik B, Brazowski E, et al.: Rofecoxib reduces polyp recurrence in familial polyposis. Dig Dis Sci 2003;48:1998-2002.
53. Ishikawa H: Chemoprevention of carcinogenesis in familial tumors. Int J Clin Oncol 2004;9:299-303.
54. Boonla C, Wongkham S, Sheehan JK, Wongkham C, Bhudhisawasdi V, Tepsiri N, et al.: Prognostic value of serum MUC5AC mucin in patients with cholangiocarcinoma. Cancer 2003;98:1438-43.
55. Sriamporn S, Pisani P, Pipitgool V, Suwanrungruang K, Kamsa-ard S, Parkin DM: Prevalence of Opisthorchis viverrini infection and incidence of cholangiocarcinoma in Khon Kaen, Northeast Thailand. Trop Med Int Health 2004;9:588-94.