

ตัวบ่งชี้ชีวภาพของมะเร็งท่อน้ำดี

โสพิศ วงศ์คำ

ภาควิชาชีวเคมี และศูนย์วิจัยพยาธิใบไม้ตับและมะเร็งท่อน้ำดี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

Tumor Marker in Cholangiocarcinoma

Sopiy Wongkham

Department of Biochemistry, Faculty of Medicine; Liver Fluke and Cholangiocarcinoma Research Center, Khon Kaen University

Tumor marker หรือตัวบ่งชี้ชีวภาพของภาวะมะเร็งมีประโยชน์ในการตรวจคัดกรอง (screening) ผู้ที่มีความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งหรือผู้ที่สงสัยว่าเป็นมะเร็ง และใช้เป็นตัวสนับสนุนหรือเสริมการวินิจฉัย ช่วยทำนายหรือพยากรณ์การดำเนินโรค รวมทั้งช่วยในการตัดสินใจเลือกวิธีการรักษาที่เหมาะสมกับการดำเนินโรคของผู้ป่วย แม้ว่าปัจจุบันการศึกษาวิจัยเพื่อค้นหา tumor marker จะก้าวรุดหน้าอย่างมาก แต่ tumor marker ส่วนใหญ่ยังไม่สามารถใช้ในการตรวจคัดกรองหรือบ่งชี้การเป็นมะเร็งในระยะแรกได้ อย่างไรก็ตาม tumor marker ก็ยังมีประโยชน์อย่างมากทางคลินิก โดยเฉพาะในการเฝ้าระวังการเกิดซ้ำและบ่งชี้การแพร่กระจายของมะเร็ง รวมทั้งใช้เป็นข้อมูลประกอบสำหรับแพทย์ในการเลือกการรักษาเฉพาะราย

การวิจัย tumor marker ในระยะหลังจากรายละเอียดของจีโนมมนุษย์ (post-genome era) มีความก้าวหน้าอย่างมาก โดยเฉพาะการใช้เทคนิค high throughput ซึ่งสามารถให้ข้อมูลจำนวนมากในหลักพันถึงหมื่นในการศึกษาแต่ละครั้ง มีรายงานการศึกษาเปรียบเทียบการแสดงออกของจีนในมะเร็งท่อน้ำดีโดยใช้เทคนิค Serial Analysis of Gene Expression (SAGE) (<http://cgap.nci.nih.gov/SAGE>) และ cDNA Microarray¹ เพื่อค้นหาจีนที่เกี่ยวข้องหรือมีบทบาทสำคัญในการก่อมะเร็ง หรือมีความจำเพาะต่อมะเร็งท่อน้ำดีเพื่อนำมาใช้เป็น tumor marker ต่อไป แม้ว่ามะเร็งท่อน้ำดีจะมีอุบัติการณ์สูงในประเทศแถบเอเชียและเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และพบน้อยมากในประเทศตะวันตก แต่ในระยะสิบปีที่ผ่านมาพบว่าอุบัติการณ์ของมะเร็งท่อน้ำดีในประเทศต่าง ๆ ทั่วโลกมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นเป็นลำดับยกเว้นประเทศญี่ปุ่น² และรายงานการศึกษามะเร็งท่อน้ำดีในวารสารนานาชาติก็เพิ่ม

มากขึ้นเช่นกัน อย่างไรก็ตามจากการทบทวนวรรณกรรมเกี่ยวกับ tumor marker ของมะเร็งท่อน้ำดีพบว่ามีข้อมูลใหม่น้อยมาก ดังนั้นข้อมูลส่วนใหญ่ในรายงานนี้จึงมาจากการศึกษาผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีในประเทศไทยและเน้นเฉพาะ tumor marker ที่ตรวจพบได้ในซีรัมเท่านั้น

Carcinoembryonic antigen (CEA) และ carbohydrate antigen (CA) 19-9 เป็น tumor marker ที่ใช้มากในการเสริมการวินิจฉัย ติดตาม และพยากรณ์การดำเนินโรคของมะเร็งหลายชนิดรวมทั้งมะเร็งท่อน้ำดี แต่ tumor marker ทั้งสองไม่ใช่ marker ที่จำเพาะต่อมะเร็งท่อน้ำดี เพราะนอกจากสามารถตรวจพบได้ในซีรัมของผู้ป่วยมะเร็งชนิดอื่นแล้วยังพบมากในผู้ป่วยอื่นที่มีภาวะอักเสบหรือพยาธิสภาพของระบบท่อทางเดินน้ำดี ถุงน้ำดีและตับอ่อน

CEA เป็นไกลโคโปรตีนขนาด 200 กิโลดาลตัน ตรวจพบได้ในซีรัมของผู้ป่วยที่มีการอักเสบของท่อน้ำดี ผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่ มะเร็งตับอ่อนและมะเร็งท่อน้ำดี ส่วน CA19-9 เป็น Lewis blood group epitope ของ glycosphingolipid ในเนื้อเยื่อ โดยเฉพาะเซลล์เยื่อบุของระบบทางเดินอาหาร แต่ในซีรัมพบ epitope นี้ในโมเลกุลของมิวซินซึ่งเป็นไกลโคโปรตีนของเยื่อเมือก CA19-9 ไม่ใช่แอนติเจนของมะเร็งแต่เป็นแอนติเจนที่สัมพันธ์กับการเกิดมะเร็ง เนื่องจากพบได้ในเซลล์ปกติของเซลล์เยื่อบุหลายชนิด เช่น กระเพาะอาหาร ลำไส้ใหญ่ ท่อน้ำดี ตับอ่อนและต่อมน้ำลาย เนื้อเยื่อเหล่านี้มีการสร้าง epitope นี้มากขึ้นเมื่อเป็นมะเร็ง จึงนิยมใช้ CA19-9 เป็น marker ของมะเร็งกระเพาะอาหาร-ลำไส้ มะเร็งท่อน้ำดีและมะเร็งตับอ่อน

สำหรับมะเร็งท่อน้ำดี CEA และ CA19-9 เป็น tumor marker ที่มีการศึกษามากที่สุด ความจำเพาะและค่าความไวของ marker ทั้งสองในการบ่งชี้มะเร็งท่อน้ำดีแตกต่างกันมากใน

แต่ละรายงานทั้งนี้ขึ้นอยู่กับกลุ่มควบคุมที่ใช้ในการศึกษาของรายงานนั้น กลุ่มควบคุมที่เหมาะสมในการศึกษา tumor marker ของมะเร็งท่อน้ำดีนอกจากกลุ่มคนปกติที่ไม่เป็นโรคแล้ว ควรเป็นกลุ่มที่มีอาการทางคลินิกคล้ายกับผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดี คือมีอาการปวดแน่นท้อง ท้องอืด หรือมีอาการตัวเหลือง-ตาเหลืองร่วมด้วย ผู้ป่วยที่เป็นกลุ่มเสี่ยงต่อการเป็นมะเร็งท่อน้ำดี เช่น ผู้ป่วยที่มีพยาธิสภาพของท่อน้ำดี ได้แก่ ผู้ติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ ผู้ป่วยที่มีการอักเสบในระบบท่อน้ำดี เช่น นิ่วในท่อนหรือถุงน้ำดี หรือมีการอุดตันของท่อน้ำดี และกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งในระบบทางเดินอาหาร เป็นต้น

การใช้ระดับซีรัม CA19-9 ในการวินิจฉัยมะเร็งท่อน้ำดี ให้ค่าความไวแตกต่างกันในแต่ละรายงานตั้งแต่ 57.1%³, 73%⁴, และ 86%⁵ เนื่องจากระดับ CA19-9 ในเลือดจะสูงขึ้นในผู้ป่วยที่มีพยาธิสภาพของตับอ่อน ตับและท่อน้ำดี เช่น นิ่วในท่อน้ำดี (CA1), ท่อน้ำดีอักเสบ⁶ และภาวะท่อน้ำดีอักเสบเฉียบพลัน⁷ ดังนั้นการใช้ CA19-9 เป็นตัวบ่งชี้ภาวะมะเร็งท่อน้ำดีจึงมีความจำเพาะค่อนข้างต่ำ อย่างไรก็ตามในรายที่ผู้ป่วยมีระดับ CA19-9 ในซีรัมสูงมากและเป็นระยะเวลาเวลานาน ร่วมกับประวัติและลักษณะทางคลินิกที่บ่งชี้การเป็นมะเร็งท่อน้ำดี CA19-9 ก็ยังคงเป็น marker ที่ดีในการสนับสนุนการวินิจฉัยมะเร็งท่อน้ำดีได้

รายงานวิจัยการใช้ CEA และ CA19-9 ในการวินิจฉัยผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีในประเทศจีนจำนวน 35 ราย เปรียบเทียบกับผู้ป่วยที่มีพยาธิสภาพของท่อน้ำดี 92 รายและคนปกติ 15 ราย พบว่าระดับซีรัม CEA และ CA19-9 สามารถใช้จำแนกผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีโดยให้ค่าความไว 68% และ 66% ค่าความจำเพาะ 81% และ 88% ตามลำดับ และถ้าใช้ marker ทั้งสองร่วมกันจะให้ค่าความไว 62% และความจำเพาะ 86%⁸

Pungpak และคณะ[3] รายงานการใช้ซีรัม CA19-9 ในการวินิจฉัยมะเร็งท่อน้ำดีในผู้ป่วยไทย พบว่า 57% ของผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีมีระดับซีรัม CA19-9 สูงกว่า 3SD ของค่าปกติ การศึกษา CA19-9 ในเนื้อเยื่อมะเร็งโดยวิธี immunohistochemistry พบว่า 60% ของผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีมี CA19-9 เพิ่มขึ้นและสัมพันธ์กับการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งทางหลอดเลือดและสามารถใช้พยากรณ์โรคได้⁹

คณะผู้วิจัยจากศูนย์วิจัยพยาธิใบไม้ตับและมะเร็งท่อน้ำดี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ได้วิจัยเพื่อหา tumor marker ในผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีในคนไทย โดยใช้หลักการที่แตกต่างกัน ดังนี้

Soybean agglutinin specific biliary glycoprotein (SBG) เป็นไกลโคโปรตีนที่ตรวจพบได้ในซีรัม มีน้ำหนักโมเลกุล 57 กิโลดาลตัน มีหมู่น้ำตาล galactose และ N-acetylgalactosamine เป็นองค์ประกอบ ทำให้สามารถจับ

จำเพาะกับ soybean agglutinin (SBA) ได้ การใช้วิธี western blotting ร่วมกับ SBA ในตรวจพบ SBG ในซีรัมผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีเปรียบเทียบกับซีรัมคนปกติและกลุ่มควบคุมอื่น ๆ พบว่าการใช้ SBG เป็น marker ให้ค่าความจำเพาะต่อการเกิดพยาธิสภาพของท่อน้ำดีถึง 100%¹⁰ โดยให้ค่าความไวในการบ่งชี้มะเร็งท่อน้ำดีสูงถึง 93% อย่างไรก็ตาม SBG ไม่ใช่ marker ที่ดีของมะเร็งท่อน้ำดีเพราะสามารถตรวจพบในซีรัมผู้ป่วยที่มีการอักเสบของท่อน้ำดีถึง 84% ดังนั้นจึงอาจพิจารณาการใช้ marker นี้ในการคัดกรองเพื่อหากกลุ่มคนที่มีพยาธิสภาพของท่อน้ำดีซึ่งเป็นกลุ่มเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งท่อน้ำดีได้

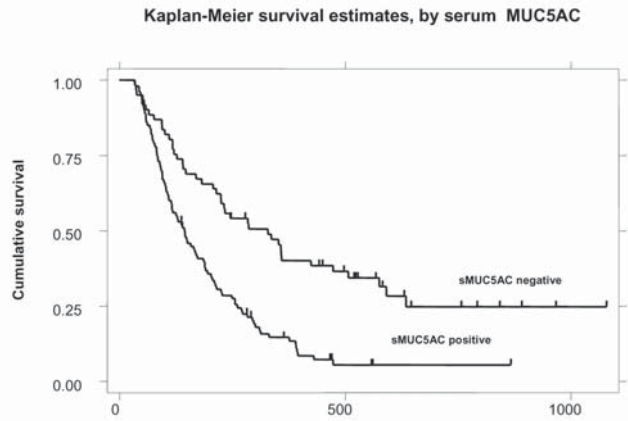
Total sialic acid sialic acid เป็นหมู่ น้ำตาลที่พบใน ส่วนปลายของสายโมเลกุล มีรายงานการเพิ่มสูงขึ้นของระดับ sialic acid ในซีรัมของผู้ป่วยมะเร็งหลายชนิด การวัดปริมาณ sialic acid โดยวิธีเคมีในซีรัมผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีเปรียบเทียบกับซีรัมคนปกติและกลุ่มควบคุมอื่น ๆ โดยใช้ค่า cut-off ที่ 2.33 mmol/L สามารถจำแนกผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีออกจากคนปกติ และผู้ป่วยที่มีพยาธิสภาพของท่อน้ำดีได้ด้วยค่าความไว 71.9% และค่าทำนายผลบวกสูงถึง 89%¹¹ ค่าระดับ Total sialic acid ในซีรัมมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับระดับมิวซินชนิด MUC5AC, alkaline phosphatase และ CA19-9 ในซีรัมของผู้ป่วย¹² Kongtawelert และคณะ¹³ ใช้ระดับ total sialic acid ในซีรัม (1.75 mmol/L) ในการแยกผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีจากผู้ป่วยมะเร็งตับและผู้ป่วยโรคตับอื่น ๆ โดยให้ค่าความไวและความจำเพาะ 82% และ 83% ตามลำดับ การวัดระดับ sialic acid ในซีรัมเป็นวิธีที่ง่าย ๆ ไม่ต้องอาศัยเครื่องมือหรือน้ำยาที่มีราคาแพง จึงอาจใช้เป็นตัวคัดกรองเบื้องต้นในสถานพยาบาลที่ยังไม่มีเครื่องมือหรืองบประมาณรองรับ

มิวซิน (mucin) MUC5AC มิวซินเป็นไกลโคโปรตีนที่พบในเมือก (mucous) ซึ่งสร้างจากเซลล์เยื่อของระบบหายใจ ระบบย่อยอาหาร และระบบท่อน้ำดี มิวซินมีหลายชนิด ชนิดที่สัมพันธ์กับมะเร็งท่อน้ำดีคือ MUC1 และ MUC5AC การศึกษามิวซินชนิด MUC5AC โดย immunohistochemistry ไม่พบมิวซินชนิดนี้ในเยื่อท่อน้ำดีปกติแต่พบปริมาณมากในเนื้อเยื่อมะเร็งท่อน้ำดี การตรวจหามิวซิน MUC5AC โดยวิธี agarose gel electrophoresis และ immunoblotting ในซีรัมผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดี เปรียบเทียบกับซีรัมคนปกติและกลุ่มควบคุมอื่น ๆ บ่งชี้ว่า การตรวจหามิวซินดังกล่าวสามารถใช้เป็น marker ของมะเร็งท่อน้ำดีได้ โดยให้ค่าความจำเพาะสูงถึง 97% และค่าความไว 63% ตรวจพบมิวซินชนิดนี้ในผู้ป่วยที่มีพยาธิสภาพของท่อน้ำดีและผู้ป่วยมะเร็งอื่นเพียง 6% และตรวจไม่พบเลยในคนปกติและคนที่ติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ¹⁴ นอกจากนี้ยังพบว่าการตรวจพบมิวซิน MUC5AC ในซีรัมมี

ความสัมพันธ์กับขนาดของก้อนมะเร็ง ระยะท้ายของมะเร็ง และใช้พยากรณ์โรคได้ (รูปที่ 1)¹⁵ ดังนั้นซีรัม MUC5AC จึงเป็น marker ของมะเร็งท่อน้ำดีที่เป็นความหวังใหม่ในการเสริมการวินิจฉัยมะเร็งท่อน้ำดีได้เป็นอย่างดี นอกจากนี้วีซูด้าและคณะได้พัฒนาการตรวจซีรัม MUC5AC โดยวิธี Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) ให้ง่ายและสะดวกต่อการปฏิบัติในห้องปฏิบัติการพื้นฐานทั่วไปแต่ต้องใช้ monoclonal antibody จำเพาะที่ผลิตได้ในห้องปฏิบัติการ ซึ่งหากมีการพัฒนาต่อไปเพื่อให้สามารถใช้แพร่หลาย การตรวจซีรัม MUC5AC โดยหลักการดังกล่าวจะเป็นตัวบ่งชี้มะเร็งท่อน้ำดีที่มีศักยภาพมากในอนาคตอันใกล้ โดยเฉพาะในสถานพยาบาลที่ยังขาดเครื่องมือหรืออุปกรณ์ราคาแพงในการวินิจฉัยมะเร็งท่อน้ำดี

Biliary alkaline phosphatase ผู้ป่วยที่มีพยาธิสภาพที่ตับและท่อน้ำดีมักมี alkaline phosphatase ในซีรัมสูงกว่าปกติ แต่ระดับของเอนไซม์ดังกล่าวไม่สามารถใช้วินิจฉัยแยกกลุ่มผู้ป่วยทั้งสองได้ การตรวจ isoform ของเอนไซม์ดังกล่าวโดยวิธี cellulose acetate electrophoresis¹⁶ พบว่า isoform ที่มีขนาดใหญ่และเคลื่อนที่ได้ไกลกว่า liver isoform ที่เรียกว่า Biliary alkaline phosphatase พบมากในผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีถึง 65% โดยไม่ขึ้นกับระดับบิลิรูบิน และให้ค่าความไวในผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีที่ไม่มีการแพร่กระจายถึง 85% ความจำเพาะ 79% การวิเคราะห์ทำได้ง่ายและราคาถูกกว่าการตรวจ CEA หรือ CA19-9 การตรวจ Biliary alkaline phosphatase จึงเป็น marker ที่น่าสนใจในการใช้สนับสนุนการวินิจฉัยมะเร็งท่อน้ำดีเช่นกัน

โดยสรุป tumor marker ที่ใช้สนับสนุนการวินิจฉัยมะเร็งท่อน้ำดีในปัจจุบัน ให้ค่าความไวที่ใกล้เคียงกันคือประมาณ 55-70% และความจำเพาะ 70-95% โดยการตรวจระดับซีรัม MUC5AC ให้ค่าความจำเพาะสูงสุด อย่างไรก็ตามยังไม่มี tumor marker ใดที่สามารถใช้บ่งชี้การเป็นมะเร็งท่อน้ำดีในระยะแรกได้ ทั้งนี้อาจเนื่องจากผู้ป่วยไม่มีอาการแสดงที่จำเพาะในการบ่งชี้การเป็นมะเร็งในระยะแรก ผู้ป่วยส่วนใหญ่จึงมาพบแพทย์เมื่อมะเร็งได้พัฒนาเข้าสู่ระยะท้ายของโรคแล้ว ทำให้โอกาสในการศึกษาวิจัยเพื่อหา tumor marker ของมะเร็งในระยะแรกจากตัวอย่างส่งตรวจของผู้ป่วยเป็นไปได้ยาก อย่างไรก็ตามนักวิจัยมีความเชื่อว่า การศึกษากลไกการเกิดมะเร็งท่อน้ำดีในระดับโมเลกุลในผู้ป่วยไทย จะช่วยเพิ่มโอกาสการพบ tumor marker ที่บ่งชี้ภาวะมะเร็งท่อน้ำดีในระยะแรกได้ในอนาคต



รูปที่ 1 การใช้ซีรัมมิวซิน MUC5AC เป็นตัวพยากรณ์โรคในผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดี พบว่าผู้ป่วยที่ตรวจพบมิวซิน MUC5AC ในซีรัมมีระยะปลอดโรคสั้นกว่าผู้ป่วยที่ตรวจไม่พบ¹⁵

เอกสารอ้างอิง

- Hansel DE, Rahman A, Hidalgo M, Thuluvath PJ, Lillemoe KD, Shulick R, Ku JL, Park JG, Miyazaki K, Ashfaq R, Wistuba, II, Varma R, Hawthorne L, Geradts J, Argani P, Maitra A: Identification of novel cellular targets in biliary tract cancers using global gene expression technology. *Am J Pathol* 2003;163:217-29.
- Khan SA, Taylor-Robinson SD, Toledano MB, Beck A, Elliott P, Thomas HC: Changing international trends in mortality rates for liver, biliary and pancreatic tumours. *J Hepatol* 2002;37:806-13.
- Pungpak S, Akai PS, Longenecker BM, Ho M, Befus AD, Bunnag D: Tumour markers in the detection of opisthorchiasis-associated cholangiocarcinoma. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1991;85:277-9.
- Jalanko H, Kuusela P, Roberts P, Sipponen P, Haglund CA, Makela O: Comparison of a new tumour marker, CA 19-9, with alpha-fetoprotein and carcinoembryonic antigen in patients with upper gastrointestinal diseases. *J Clin Pathol* 1984;37:218-22.
- Carpelan-Holmstrom M, Louhimo J, Stenman UH, Alfthan H, Haglund C: CEA, CA 19-9 and CA 72-4 improve the diagnostic accuracy in gastrointestinal cancers. *Anticancer Res* 2002;22:2311-6.
- Katsanos KH, Kitsanou M, Christodoulou DK, Tsianos EV: High CA 19-9 levels in benign biliary tract diseases. Report of four cases and review of the literature. 2002;13:132-5.

7. Albert MB, Steinberg WM, Henry JP: Elevated serum levels of tumor marker CA19-9 in acute cholangitis. *Dig Dis Sci* 1988;33:1223-5.
8. Qin XL, Wang ZR, Shi JS, Lu M, Wang L, He QR: Utility of serum CA19-9 in diagnosis of cholangiocarcinoma: in comparison with CEA. *World J Gastroenterol* 2004;10:427-32.
9. Juntavee A, Sripa B, Pugkhem A, Khuntikeo N, Wongkham S: Expression of sialyl Lewis(a) relates to poor prognosis in cholangiocarcinoma. *World J Gastroenterol* 2005;11: 249-54.
10. Luengpailin S, Wongkham S, Wongkham C, Sripa B, Sirijaichingkul S, Chauin S, Prongvitaya T, Chokkanapitak J: Demonstration of a biliary-associated glycoprotein in human serum. *Clin Chim Acta* 1996;244:237-40.
11. Wongkham S, Boonla C, Kongkham S, Wongkham C, Bhudhisawasdi V, Sripa B: Serum total sialic acid in cholangiocarcinoma patients: an ROC curve analysis. *Clin Biochem* 2001;34:537-41.
12. Wongkham S, Bhudhisawasdi V, Chau-in S, Boonla C, Muisuk K, Kongkham S, Wongkham C, Boonsiri P, Thuwajit P: Clinical significance of serum total sialic acid in cholangiocarcinoma. *Clin Chim Acta* 2003;327:139-47.
13. Kongtawelert P, Tangkijvanich P, Ong-Chai S, Poovorawan Y: Role of serum total sialic acid in differentiating cholangiocarcinoma from hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2003;9:2178-81.
14. Wongkham S, Sheehan JK, Boonla C, Patrakittomjorn S, Howard M, Kirkham S, Sripa B, Wongkham C, Bhudhisawasdi V: Serum MUC5AC mucin as a potential marker for cholangiocarcinoma. *Cancer Lett* 2003;195: 93-9.
15. Boonla C, Wongkham S, Sheehan JK, Wongkham C, Bhudhisawasdi V, Tepsiri N, Pairojkul C: Prognostic value of serum MUC5AC mucin in patients with cholangiocarcinoma. *Cancer* 2003;98:1438-43.
16. Bhudhisawasdi V, Muisuk K, Areejitranusorn P, Kularbkaew C, Khampitak T, Saeseow OT, Wongkham S: Clinical value of biliary alkaline phosphatase in non-jaundiced cholangiocarcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2004;130: 87-92.

