บทฟื้นฟูวิชาการ • Review Article

พลาสมาไมโครอาร์เอ็นเอ: ตัวบ่งชี้ชีวภาพในการวินิจฉัยโรคมะเร็ง

รุ่งลาวัณย์ ศิลากิจ, นิษณา นามวาท
ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

Plama MicroRNAs: a Biomarker for Cancer Diagnosis

Runglawan Silakit, Nisana Namwat
Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Khon Kaen University

ไมโครอาร์เอ็นเอ (micro RNA) เป็นโมเลกุลอาร์เอ็นเอสายเดี่ยว (single-stranded RNA) ขนาดประมาณ 22 นิวคลีโอไทด์ (mucleotide) พบว่ามีบทบาทสำคัญต่อพัฒนาการของสิ่งมีชีวิตและการควบคุมการทำงานของเซลล์ ในด้านการศึกษาโรคมะเร็งได้ มีการจำแนกไมโครอาร์เอ็นเอออกเป็น 2 ชนิดตามหน้าที่คือ ไมโครอาร์เอ็นเอที่เป็นปัจจัยก่อมะเร็ง และไมโครอาร์เอ็นเอที่เป็นปัจจัยต้านมะเร็ง การศึกษาการแสดงออกของไมโครอาร์เอ็นเอในเซลล์มะเร็งพบว่า ไมโครอาร์เอ็นเอที่เป็นปัจจัยก่อมะเร็งมีระดับสูงขึ้น ในขณะที่ไมโครอาร์เอ็นเอที่เป็นปัจจัยต้านมะเร็งมีระดับลดลง ดังนั้นไมโครอาร์เอ็นเออาจเป็นตัวบ่งชี้ชีวภาพ (biomarker) ในการตรวจวินิจฉัยโรคมะเร็งได้ เช่น การศึกษาการแสดงออกของไมโครอาร์เอ็นเอ ชนิด miR-21 ในเนื้อเยื่อมะเร็งท่อน้ำดี พบว่ามีระดับสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับเนื้อเยื่อของเซลล์เยื่อบุท่อน้ำดีปกติ นอกจากนี้มีหลายการศึกษาที่พบว่าไมโครอาร์เอ็นเอสามารถหลั่งออกจากเซลล์และตรวจพบได้ในกระแสเลือด เช่น การศึกษาในมะเร็งกระเพาะอาหาร พบว่าระดับไมโครอาร์เอ็นเอชนิด miR-106b ในพลาสมาของกลุ่มผู้ป่วยมีระดับสูงกว่ากลุ่มคนปกติอย่างมีนัยสำคัญ ไมโครอาร์เอ็นเอที่ตรวจพบในกระแสเลือดคงทนต่อการย่อยสลาย ในการศึกษามะเร็งต่อมลูกหมาก พบว่าไมโครอาร์เอ็นเอชนิด miR-141 สามารถคัดแยกกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งต่อมลูกหมากในระยะแพร่กระจายไปยังอวัยวะอื่นจากกลุ่มคนปกติได้ ดังนั้นการตรวจวัดไมโครอาร์เอ็นเอที่สร้างจากเซลล์มะเร็งในซีรั่มหรือพลาสมา อาจเป็นแนวทางใหม่ในการใช้เป็นตัวบ่งชี้ชีวภาพเพื่อวินิจฉัยโรคมะเร็งชนิดต่างๆ ได้ในอนาคต

MicroRNA is a single-stranded RNA, consisting of about 22 nucleotides in length. It has been found that microRNAs play roles in development and cellular processes. It can be classified as oncogenic and tumor suppressor factors. For microRNA expression in cancer, it has been found that the expression levels of oncogenic microRNAs are increased, whereas tumor suppressor microRNAs are decreased. Therefore, microRNAs can possibly be a potential biomarker for cancer diagnosis. In cholangiocarcinoma (CCA), it was shown that miR-21 expression level was significantly increased in CCA tissues when compared to normal bile ducts. Moreover, there are many reports that microRNAs can be secreted from cells and found in blood circulation. In gastric cancer, the concentration of miR-106b was analyzed in plasma. It was found that the concentration of miR-106b was significantly higher in plasma taken from gastric cancer patients than that of healthy controls. Plasma microRNAs are resistant to RNase activity. In prostate cancer, it was found that serum levels of miR-141 could be differentiated patients with metastatic prostate cancer from healthy controls. The measurement of tumor derived microRNAs in serum or plasma may be a new approach for the biomarker in blood-based diagnosis of human cancer.

ศรีนครินทร์เวชสาร 2555; 27(3): 310-6 • Srinagarind Med J 2012: 27(3): 310-6

บทนำ

โรคมะเร็งเป็นโรคที่เป็นสาเหตุการเสียชีวิตอันดับ 1 ของโลก โดยมีผู้เสียชีวิตจากโรคมะเร็งถึง 7 ล้านคนต่อปี หรือประมาณร้อยละ 13 ของสาเหตุการเสียชีวิตทั้งหมดทั่วโลก และจะมีแนวโน้มมากขึ้นเรื่อยๆ ซึ่งส่วนใหญ่เป็นผลมาจากความล้มเหลวในการตรวจพบมะเร็งในระยะเริ่มต้นของโรค ดังนั้นการตรวจพบมะเร็งตั้งแต่เนิ่นๆ จึงเป็นอีกทางหนึ่งในการลดอัตราการเสียชีวิต ซึ่งวิธีการตรวจคัดกรองผู้ป่วยโรคมะเร็งที่ดีนั้นควรจะมีความไวและความจำเพาะสูง รวมทั้งปลอดภัยต่อผู้ป่วยด้วย[1] การเจาะเลือดตรวจหาโรคมะเร็งหรือที่เรียกว่า การตรวจ tumor marker นั้น จึงเป็นอีกวิธีหนึ่งที่แพร่หลาย มะเร็งแต่ละชนิดมีตัวบ่งชี้ (marker) ที่แตกต่างกัน ตัวบ่งชี้ที่ดีนั้นต้องมีความไวและความจำเพาะสูงซึ่งจำเป็นต่อการวินิจฉัยและป้องกันโรคในระยะแรกๆ[2] การศึกษาเมื่อเร็วๆ นี้ ได้แสดงให้เห็นว่า ไมโครอาร์เอ็นเอ (microRNA หรือ miRNA) มีส่วนร่วมในการควบคุมกระบวนการก่อมะเร็ง ในการบ่งชี้ระดับความรุนแรง การแพร่กระจาย การพยากรณ์โรค และการตอบสนองต่อการรักษาโรคมะเร็ง[3] หลักฐานแรกที่บ่งบอกว่า miRNA มีส่วนร่วมในการก่อมะเร็งมาจากการค้นพบว่า ในผู้ป่วยที่เป็นมะเร็งเม็ดเลือดขาวแบบเรื้อรัง (chronic lymphocytic leukemia) มักพบระดับ miR-15 และ miR-16 ต่ำลงหรือหายไป[4] จากการศึกษานี้ทำให้งานวิจัยหลายกลุ่ม มุ่งศึกษาแบบแผนการแสดงออกของ microRNA ในผู้ป่วยมะเร็งหลายๆ ชนิด โดยพบว่าการแสดงออกของ microRNA นอกจากจะแตกต่างกันในเนื้อเยื่อมะเร็งและเนื้อเยื่อปกติแล้ว ยังมีระดับแตกต่างกันในมะเร็งระยะเริ่มแรกและมะเร็งระยะแพร่กระจายอีกด้วย[5, 6] นอกจากนี้ยังมีการศึกษาในมะเร็งเต้านมที่พบว่า microR-21 มีส่วนร่วมในการแพร่กระจายของมะเร็งโดยมีเป้าหมายคือยับยั้งยีนที่เป็นปัจจัยต้านมะเร็ง (tumor suppressor gene) คือ programmed cell death 4 (PDCD4) และ maspin[7] ดังนั้น microRNA น่าจะเป็นตัวบ่งชี้ชีวภาพ (biomarker) สำหรับการวินิจฉัยโรคมะเร็งได้ เพราะนอกจากจะมีลักษณะการแสดงออกเป็นแบบจำเพาะต่อเนื้อเยื่อแล้ว[8] ยังพบว่ามีความคงตัวสูงในเนื้อเยื่อที่ตรึงในฟอร์มาลิน[9, 10] ดังนั้น microRNA ที่หลั่งออกมาในกระแสเลือดก็น่าจะมีความคงตัวเช่นกัน โดยมีการศึกษาที่แสดงให้เห็นว่า microRNA ถูกหลั่งออกมาในกระแสเลือดในรูปที่ทนต่อการย่อยของเอนไซม์อาร์เอ็นเอส (RNase) และสามารถตรวจพบได้ทั้งในซีรั่มและพลาสมา[11] ดังนั้น microRNA ในกระแสเลือดจึงเป็นแนวทางใหม่ในการตรวจวินิจฉัยโรคมะเร็งชนิดต่างๆ ในมนุษย์

ไมโครอาร์เอ็นเอ (microRNA)

microRNA เป็นโมเลกุลอาร์เอ็นเอสายสั้นๆ ขนาดประมาณ 22 นิวคลีโอไทด์ มีโครงสร้างเป็นอาร์เอ็นเอสายเดี่ยว สร้างจากยีนกำหนดการสร้าง (microRNA gene) หรือบริเวณที่ไม่แปลรหัสเป็นโปรตีน (intron) ทำหน้าที่สำคัญในการควบคุมการแสดงออกของยีนโดยจับกับ mRNA เป้าหมายทางด้านปลาย 3′ หรือ 5′ ตรงบริเวณที่ไม่กำหนดการสร้างโปรตีน[12] เป็นผลทำให้เกิดการยับยั้งการสร้างโปรตีนหรือทำให้ mRNA เป้าหมายถูกย่อยสลายไป[13] microRNA ทำหน้าที่ควบคุมการแสดงออกของยีนที่กำหนดการสร้างโปรตีนประมาณร้อยละ 30 ของจีโนมทั้งหมด[14] microRNA หนึ่งชนิดสามารถจับกับ mRNA หลายชนิดอย่างจำเพาะ[15]

กระบวนการสังเคราะห์ของ microRNA (รูปที่ 1)

การสังเคราะห์ microRNA (รูปที่ 1) เริ่มต้นในนิวเคลียสโดยเอนไซม์ RNA polymerase II ทำการสร้าง primary miRNA (pri-miRNA) มีรูปร่างคล้ายกิ๊บติดผม (hairpin-shaped) ประกอบไปด้วย cap ที่ปลายด้าน 5′ และ poly A ที่ปลายด้าน 3′ ต่อมา pri-miRNA จะถูกตัดโดยเอนไซม์ Drosha ซึ่งเป็น dsRNA-specific RNase III endonuclease ซึ่งทำงานร่วมกับโปรตีนชนิดหนึ่งคือ DiGeorge syndrome critical region gene 8 (DGCR8) ได้เป็น precursor miRNA (pre-miRNA) ที่มีความยาวประมาณ 60-100 นิวคลีโอไทด์ จากนั้น pre-miRNA จะถูกขนส่งออกมายังไซโทพลาสซึมโดยโปรตีน exportin-5 ต่อมาเอนไซม์ในกลุ่ม RNase III ที่ชื่อว่า Dicer ซึ่งเป็นเอนไซม์ nuclease ในไซโทพลาสซึมจะทำหน้าที่ตัด pre-miRNA โดยทำงานร่วมกับโปรตีน TRBP (TAR-RNA binding protein) ซึ่งเป็นโปรตีนที่สามารถจับกับ RNA สายคู่ ทำให้ได้ microRNA สายคู่ที่มีการเข้าคู่กันแบบไม่สมบูรณ์ (imperfect complementary) มีความยาวประมาณ 20-25 นิวคลีโอไทด์ double-strand RNA สายสั้นๆ นี้จะแยกออกจากกันโดยเอนไซม์ RNA helicase สาย RNA เส้นที่มีปลายด้าน 5′ เสถียรต่ำกว่าจะไปรวมกับโปรตีนชนิดหนึ่งชื่อว่า Argonaute (Ago) อยู่ในรูป RNA-induce silencing complex (RISC) ในขณะที่อีกสายหนึ่งจะถูกย่อยสลายไป แต่ก็มีการศึกษาที่พบว่า บางกรณี microRNA สามารถทำหน้าที่ได้ทั้งสองเส้น[16] ซึ่ง RISC-associated miRNA complex คือรูปที่พร้อมจะทำหน้าที่ในการยับยั้งการทำงานของ mRNA ต่อไป[17, 18]

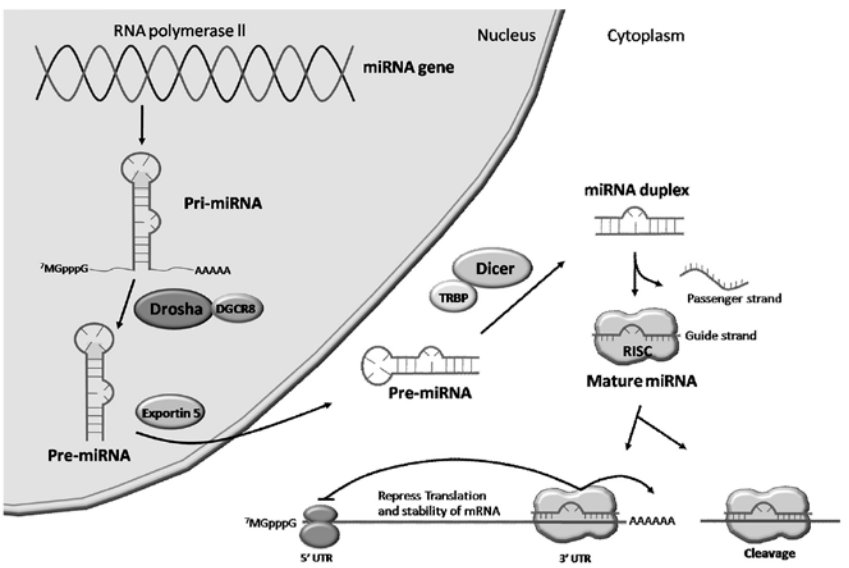
กลไกการทำงานของ microRNA

microRNA จะสามารถยับยั้งการสร้างโปรตีนหรือทำให้ mRNA เป้าหมายถูกย่อยสลายไปนั้นขึ้นอยู่กับความ

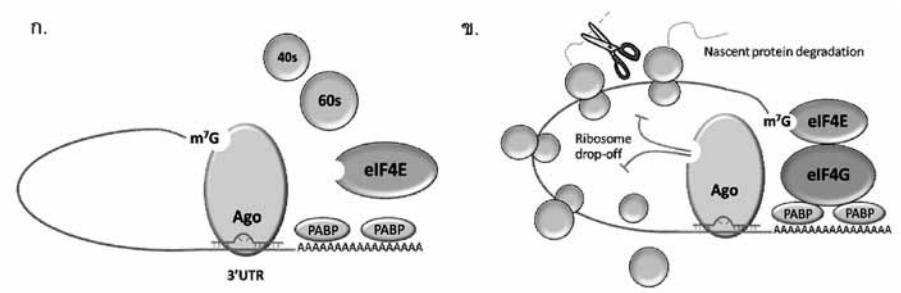
สามารถในการจับกันของเบสคู่สมบน microRNA กับ mRNA เป้าหมายซึ่งอยู่ทางด้านปลายทางด้าน 3′ UTR (รูปที่ 2) หากมีการเข้าคู่กันอย่างสมบูรณ์แบบ (perfect or near-perfect complementary) จะทำให้ mRNA เป้าหมายถูกสลายไป ซึ่งเป็นกลไกที่พบได้บ่อยในพืช แต่ถ้าจับกันได้เพียงบางส่วน (imperfect complementary) จะเป็นผลให้เกิดการยับยั้งการสร้างโปรตีน โดยไปยับยั้งกระบวนการแปลรหัสของ mRNA เป้าหมาย ซึ่ง microRNA-mRNA complex นี้จะถูกเก็บสะสมไว้ในบริเวณที่เรียกว่า P body (processing body) ที่อยู่ในไซโทพลาสซึมของเซลล์ ภายใน P body มีเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลาย mRNA ได้ แต่การยับยั้งการสร้างโปรตีนไม่ได้เกิดโดยการที่ mRNA ถูกย่อยสลายเสมอไป[20] เพราะถ้ามีการกระตุ้นที่เหมาะสม mRNA ใน P body จะถูกปล่อยออกมาในไซโทพลาสซึมและเกิดการแปลรหัสต่อไปได้ ดังนั้นจะเห็นได้ว่ากลไกการทำงานนี้สามารถผันกลับได้[21] พบกลไกนี้ในสัตว์แต่ไม่พบในพืช

microRNA กับบทบาทการเป็นตัวบ่งชี้ชีวภาพ

ปัจจุบันนอกจากจะพบว่า microRNA เกี่ยวข้องกับกระบวนการพื้นฐานต่างๆ ของเซลล์ ไม่ว่าจะเป็นการพัฒนาของตัวอ่อน (development) กระบวนการเมแทบอลิซึม (metabolism) การเปลี่ยนแปลงไปทำหน้าที่เฉพาะของเซลล์ (cell differentiation) การตายตามโปรแกรมเฉพาะของเซลล์ (apoptosis) รวมทั้งการหลั่งฮอร์โมนอินซูลิน (insulin secretion) แล้ว[23] microRNA ยังเกี่ยวข้องกับการเกิดโรคต่าง ๆ ในมนุษย์อีกด้วย อาทิเช่น Alzheimer, Parkinson, Myopathies และโรคมะเร็งโดยเฉพาะอย่างยิ่งโรคมะเร็ง ซึ่งมีการศึกษาที่พบว่า microRNA มีความเกี่ยวข้องกับกระบวนการเกิดมะเร็ง (tumorigenesis)[24]



รูปที่ 1 รูปแบบจำลองการสังเคราะห์และการทำงานของ microRNA ภายในเซลล์ (ดัดแปลงจาก Cheng และ Mendell)[19a]



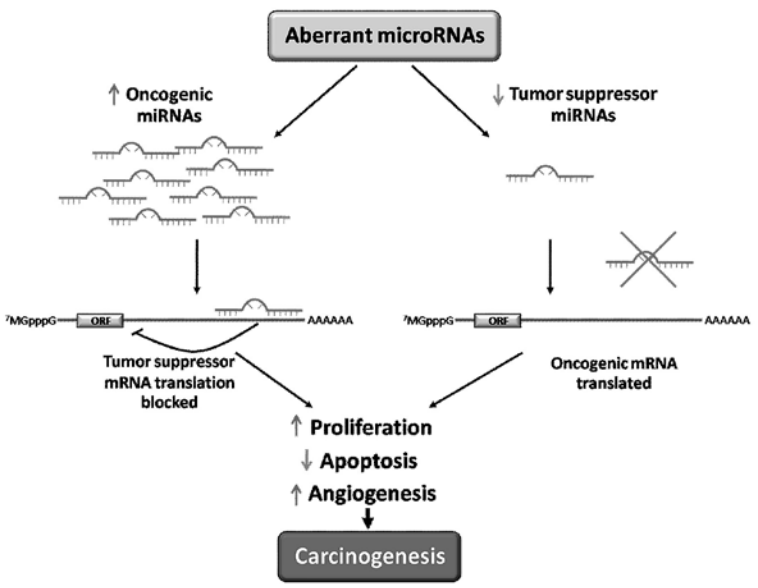
รูปที่ 2 รูปแบบจำลองแสดงการยับยั้งการสร้างโปรตีนในขั้นตอนเริ่มต้น (ภาพ ก.) และการยับยั้งการสร้างโปรตีนหลังจากเริ่มต้นการแปลรหัส (ภาพ ข.) (ดัดแปลงจาก Stefani และ Slack)[22]

การแสดงออกที่ผิดปกติของ microRNA (ตารางที่ 1) ทำให้เกิดมะเร็งโดยอาจไปยับยั้งการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการต้านมะเร็ง (tumor suppressor gene) จึงกล่าวได้ว่า microRNA นี้ทำหน้าที่เป็นปัจจัยก่อมะเร็ง (oncogenic factor) และยังพบว่าการแสดงออกที่น้อยกว่าปกติของ microRNA สนับสนุนการเกิดมะเร็งโดยไปมีผลต่อการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการแบ่งตัวและการรอดชีวิตของเซลล์มะเร็ง ดังนั้น microRNA ดังกล่าวจึงทำหน้าที่เป็นปัจจัยต้านมะเร็ง (tumor suppressor factor) (รูปที่ 3)

ในปี ค.ศ. 2010 นักวิจัยหลายกลุ่มค้นพบบทบาทสำคัญของ microRNA ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดมะเร็ง ดังนั้นลักษณะการแสดงออกของ microRNA จึงสามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ในการตรวจวินิจฉัยโรคมะเร็งได้ โดยเน้นไปที่ microRNA ที่ทำหน้าที่เป็นปัจจัยก่อมะเร็ง (oncogenic miRNAs)[25] หากเราสามารถตรวจลักษณะการแสดงออกของ microRNA ในเนื้อเยื่อได้จะเป็นประโยชน์อย่างมากในการช่วยวินิจฉัยโรคมะเร็ง สำหรับงานทางด้านจุลกายวิภาคศาสตร์ (histology) ที่ต้องอาศัยการดูชิ้นเนื้อในการวินิจฉัยโรคมะเร็งนั้น การตรึงเนื้อเยื่อในฟอร์มาลินเป็นการถนอมชิ้นเนื้อที่เป็นมาตรฐานและทำเป็นงานประจำในห้องปฏิบัติการ ซึ่งมีการศึกษาที่พบว่า เนื้อเยื่อที่ตรึงในฟอร์มาลินสามารถตรวจการแสดงออกของ microRNA ได้[26] เช่นการศึกษาของ Selaru และคณะ ที่ศึกษาการแสดงออกของ microRNA ชนิดหนึ่งชื่อ miR-21 ในมะเร็งท่อน้ำดี โดยพบว่าการแสดงออกของ miR-21 ในเนื้อเยื่อมะเร็งมีระดับสูงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับเนื้อเยื่อของท่อน้ำดีปกติ โดยให้ค่าความไว 95% และความจำเพาะถึง 100% [27]

ตารางที่ 1 การแสดงออกของ microRNA ที่ผิดปกติในโรคมะเร็งชนิดต่างๆ[18]

microRNA	ชนิดของมะเร็ง	หน้าที่
miR-15a, miR-16-1	เม็ดเลือดขาวแบบเรื้อรัง (chronic lymphocytic leukemia; CLL)	Tumor suppressor miR
Let-7 (a,-b,-c,-d)	ปอดและมะเร็งลำไส้ (lung and colorectal cancer)	Tumor suppressor miR
miR-21	ท่อน้ำดี (cholangiocarcinoma) ตับอ่อน (pancreatic cancer) เต้านม (breast cancer)	Oncogenic miR
miR-372, miR-373	อัณฑะ (testicular cancer)	Oncogenic miR
miR-155	เม็ดเลือดขาวแบบเรื้อรัง (CLL) ต่อมน้ำเหลือง (B-cell lymphoma)	Oncogenic miR
miR-17-92	ประสาท (glioma) กระเพาะปัสสาวะ (bladder cancer)	Oncogenic miR



รูปที่ 3 แสดง microRNA มีความเกี่ยวข้องกับการเกิดมะเร็งโดยทำหน้าที่เป็นได้ทั้งปัจจัยก่อมะเร็งและปัจจัยต้านมะเร็ง (ดัดแปลงจาก Zhang และคณะ)[28]

การศึกษาของ Mitchell และคณะ พบว่า microRNA สามารถหลั่งออกมาจากเซลล์มะเร็ง ซึ่งตรวจพบได้ในกระแสเลือดและอยู่ในรูปที่คงทนต่อการย่อยของเอนไซม์อาร์เอ็นเอส (RNase) เป็นที่น่าแปลกใจว่า กลไกใดที่ทำให้ microRNA ที่ถูกหลั่งออกมาอยู่ในรูปที่คงทนเช่นนี้ มีการศึกษาที่พบว่า microRNA ถูกบรรจุอยู่ในถุง multivesicular bodies และถูกหลั่งออกมานอกเซลล์ในรูปที่เรียกว่าเอ็กโซโซม (exosome)[29] ซึ่ง exosome คืออนุภาคขนาดเล็กมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 40-100 นาโนเมตร มีโครงสร้างเป็นลิพิดสองชั้น (lipid-bilayer) การหลั่งของ microRNA ออกสู่ภายนอกเซลล์นั้น เป็นกลไกที่เซลล์ใช้เพื่อเป็นการติดต่อสื่อสาร โดยมีการศึกษาที่พบว่า microRNA ที่ถูกบรรจุอยู่ใน exosome และถูกหลั่งออกมาภายนอกเซลล์นั้น สามารถเข้าสู่เซลล์ตัวรับได้ [30] กลไกการหลั่งของ microRNA นั้นถูกควบคุมโดยกระบวนการที่เรียกว่า ceramide-dependent secretory pathway กล่าวคือ การหลั่งของ microRNA จะถูกกระตุ้นให้เพิ่มขึ้นตามปริมาณของ ceramide ที่เพิ่มขึ้นในเซลล์ ซึ่งการสังเคราะห์ ceramide ถูกควบคุมโดยเอนไซม์ neutral sphingomyelinase 2 (nSMase2)[31]

microRNA ที่ถูกหลั่งออกมาภายนอกเซลล์โดยการนำพาของ exosome มีผลต่อการทำงานของเซลล์มะเร็ง โดยการศึกษาของ Kosaka และคณะได้นำน้ำเลี้ยงเซลล์ที่ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ชนิด COS-7 (donor cells) ที่ถูกเหนี่ยวนำให้รับ miR-146a เข้าไปในเซลล์ มาสกัดเอา exosome แล้วนำไปถ่ายโอนให้กับเซลล์ตัวรับ (PC-3M cells) ซึ่งเป็นเซลล์เพาะเลี้ยงมะเร็งต่อมลูกหมาก เมื่อตรวจวัดระดับโปรตีนของ mRNA เป้าหมายของ miR-146a คือ ROCK1 (Rho-activated protein kinase1) พบว่ามีระดับต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญ แสดงให้เห็นว่า miR-146a ที่ถูกหลั่งออกมาจาก donor cells โดยบรรจุอยู่ใน exosome สามารถผ่านเข้าไปในเซลล์ตัวรับและยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนของ mRNA เป้าหมายได้[32] มีหลายการศึกษาได้อธิบายเกี่ยวกับการหลั่งของ microRNA ที่ผิดปกติและมีผลต่อการเกิดโรคต่างๆ ในมนุษย์ โดยเฉพาะมะเร็ง จากการศึกษาของ Pigati และคณะ[33] ที่พบว่า การหลั่งของ microRNA เป็นกลไกที่มีการคัดเลือก ไม่ใช่ว่า microRNA ทุกชนิดจะสามารถถูกหลั่งออกมาจากเซลล์ได้ทุกเซลล์ ซึ่ง Pigati และคณะ[33] ได้ทำการศึกษาในเซลล์เนื้อเยื่อบุผิวของมะเร็งเต้านม (malignant mammary epithelial cells) พบว่ามีการหลั่งของ miR-451 และ miR-1246 จากเซลล์เนื้อเยื่อบุผิวของมะเร็งเต้านม ในขณะที่เซลล์เนื้อเยื่อบุผิวปกติไม่พบการหลั่งของ microRNA ดังกล่าว จึงเป็นที่น่าสนใจว่ากลไกการคัดเลือกการหลั่งของ microRNA อาจจะเป็นแนวทางในการใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพสำหรับการตรวจโรคต่างๆ รวมทั้งมะเร็งในมนุษย์ได้

มีการศึกษาที่ผ่านมาแสดงให้เห็นว่า microRNA ที่หลั่งออกมาในกระแสเลือดนั้นสามารถเป็นตัวบ่งชี้ชีวภาพในการตรวจมะเร็งได้ เช่น การศึกษาของ Mitchell และคณะ ซึ่งวิเคราะห์หา microRNA เพื่อเป็นตัวบ่งชี้ชีวภาพในซีรั่มในการตรวจวินิจฉัยมะเร็งต่อมลูกหมาก พบว่า miR-141 สามารถคัดแยกกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งต่อมลูกหมากจากกลุ่มคนปกติได้[11] จากการศึกษาดังกล่าวถือเป็นการบุกเบิกการตรวจวัดระดับของ microRNA ที่หลั่งออกมาในกระแสเลือดซึ่งสามารถตรวจได้ทั้งในซีรั่มและพลาสมา การศึกษาต่อๆ มาที่ตรวจวัดระดับความเข้มข้นของ microRNA ในกระแสเลือดเพื่อช่วยวินิจฉัยโรคมะเร็งชนิดต่างๆ เช่น การศึกษาของ Ng และคณะ[34] ที่ศึกษาในผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่และลำไส้ส่วนตรง (colorectal cancer) พบว่า miR-92 มีระดับการแสดงออกสูงในพลาสมาของผู้ป่วย โดยสามารถแยกผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่และลำไส้ส่วนตรงออกจากผู้ป่วยมะเร็งกระเพาะอาหาร (gastric cancer) ผู้ป่วยลำไส้อักเสบ (inflammatory bowel disease) และกลุ่มคนปกติได้อย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้น miR-92 จึงสามารถเป็นตัวบ่งชี้ชีวภาพในการตรวจคัดกรองสำหรับมะเร็งลำไส้ใหญ่และลำไส้ส่วนตรงได้ นอกจากนี้ยังมีการศึกษาของ Tsujiura และคณะ[35] ที่ศึกษาในผู้ป่วยมะเร็งกระเพาะอาหาร (gastric cancer) โดยตรวจวัดระดับ miR-106b และ let-7a ในพลาสมา พบว่าระดับการแสดงออกของ miR-106b ในพลาสมาของกลุ่มผู้ป่วยมีระดับสูงกว่ากลุ่มคนปกติอย่างมีนัยสำคัญ แต่ระดับการแสดงออกของ let-7a ในกลุ่มผู้ป่วยกลับมีระดับต่ำกว่าคนปกติ ดังนั้นจะเห็นได้ว่า microRNA ที่หลั่งออกมาในกระแสเลือดนั้นสามารถเป็นตัวบ่งชี้ชีวภาพในการตรวจวินิจฉัยมะเร็งชนิดต่างๆ ได้

จากการศึกษาที่กล่าวมาทั้งหมดข้างต้นนั้น บ่งชี้ว่า microRNA หลั่งมาจากเซลล์มะเร็ง โดยถูกบรรจุอยู่ใน exosome ซึ่งเป็นลิพิดสองชั้น จึงช่วยป้องกันมิให้ microRNA ถูกย่อยสลาย microRNA ซึ่งสามารถตรวจพบได้ในซีรั่มหรือพลาสมานี้ อาจเป็นแนวทางใหม่ในการตรวจคัดกรองและวินิจฉัยโรคมะเร็งชนิดต่างๆ ในมนุษย์ได้[36-38]

สรุป

microRNAs มีบทบาททั้งการพัฒนาของร่างกายและการเกิดโรคต่างๆ รวมทั้งโรคมะเร็ง microRNA ที่สร้างและหลั่งมาจากเซลล์มะเร็งอยู่ในรูปที่คงทนต่อการย่อยของเอนไซม์ ซึ่งสามารถตรวจพบได้ในซีรั่มหรือพลาสมา โดย

สามารถใช้บ่งบอกภาวะที่ผิดปกติได้ และอาจเป็นแนวทางใหม่ในการตรวจคัดกรองและวินิจฉัยโรคมะเร็งชนิดต่างๆ ในมนุษย์

เอกสารอ้างอิง

1. Huang Z, Huang D, Ni S, Peng Z, Sheng W, Du X. Plasma microRNAs are promising novel biomarkers for early detection of colorectal cancer. Int J Cancer 2010; 127:118-26.
2. Wang J, Chen J, Chang P, LeBlanc A, Li D, Abbruzzesse JL, et al. MicroRNAs in plasma of pancreatic ductal adenocarcinoma patients as novel blood-based biomarkers of disease. Cancer Prev Res (Phila) 2009; 2:807-13.
3. Calin GA, Croce CM. MicroRNA signatures in human cancers. Nat Rev Cancer 2006; 6:857-66.
4. Calin GA, Dumitru CD, Shimizu M, Bichi R, Zupo S, Noch E, et al. Frequent deletions and down- regulation of micro- RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. Proc Natl Acad Sci U S A 2002; 99:15524-9.
5. Tavazoie SF, Alarcon C, Oskarsson T, Padua D, Wang Q, Bos PD, et al. Endogenous human microRNAs that suppress breast cancer metastasis. Nature 2008; 451:147-52.
6. Huang Q, Gumireddy K, Schrier M, le Sage C, Nagel R, Nair S, et al. The microRNAs miR-373 and miR-520c promote tumour invasion and metastasis. Nat Cell Biol 2008; 10:202-10.
7. Zhu S, Wu H, Wu F, Nie D, Sheng S, Mo YY. MicroRNA-21 targets tumor suppressor genes in invasion and metastasis. Cell Res 2008; 18:350-9.
8. Lu J, Getz G, Miska EA, Alvarez-Saavedra E, Lamb J, Peck D, et al. MicroRNA expression profiles classify human cancers. Nature 2005; 435:834-8.
9. Li J, Smyth P, Flavin R, Cahill S, Denning K, Aherne S, et al. Comparison of miRNA expression patterns using total RNA extracted from matched samples of formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) cells and snap frozen cells. BMC Biotechnol 2007; 7:36.
10. Xi Y, Nakajima G, Gavin E, Morris CG, Kudo K, Hayashi K, et al. Systematic analysis of microRNA expression of RNA extracted from fresh frozen and formalin-fixed paraffin-embedded samples. Rna 2007; 13:1668-74.
11. Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, Fritz BR, Wyman SK, Pogosova-Agadjanyan EL, et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. Proc Natl Acad Sci U S A 2008; 105:10513-8.
12. Lee I, Ajay SS, Yook JI, Kim HS, Hong SH, Kim NH, et al. New class of microRNA targets containing simultaneous 5'-UTR and 3′-UTR interaction sites. Genome Res 2009; 19:1175-83.
13. He L, Hannon GJ. MicroRNAs: small RNAs with a big role in gene regulation. Nat Rev Genet 2004; 5:522-31.
14. Garofalo M, Condorelli G, Croce CM. MicroRNAs in diseases and drug response. Curr Opin Pharmacol 2008; 8:661-7.
15. Rajewsky N, Socci ND. Computational identification of microRNA targets. Dev Biol 2004; 267:529-35.
16. Hu HY, Yan Z, Xu Y, Hu H, Menzel C, Zhou YH, et al. Sequence features associated with microRNA strand selection in humans and flies. BMC Genomics 2009; 10:413.
17. Carthew RW, Sontheimer EJ. Origins and Mechanisms of miRNAs and siRNAs. Cell 2009; 136:642-55.
18. Wiemer EA. The role of microRNAs in cancer: no small matter. Eur J Cancer 2007; 43:1529-44.
19. Chang TC, Mendell JT. microRNAs in vertebrate physiology and human disease. Annu Rev Genomics Hum Genet 2007; 8:215-39.
20. Doench JG, Petersen CP, Sharp PA. siRNAs can function as miRNAs. Genes Dev 2003; 17:438-42.
21. Bhattacharyya SN, Habermacher R, Martine U, Closs EI, Filipowicz W. Relief of microRNA-mediated translational repression in human cells subjected to stress. Cell 2006; 125:1111-24.
22. Stefani G, Slack FJ. Small non-coding RNAs in animal development. Nat Rev Mol Cell Biol 2008; 9:219-30.
23. Alvarez-Garcia I, Miska EA. MicroRNA functions in animal development and human disease. Development 2005; 132:4653-62.
24. Yanaihara N, Caplen N, Bowman E, Seike M, Kumamoto K, Yi M, et al. Unique microRNA molecular profiles in lung cancer diagnosis and prognosis. Cancer Cell 2006; 9:189-98.
25. Cho WC. MicroRNAs: potential biomarkers for cancer diagnosis, prognosis and targets for therapy. Int J Biochem Cell Biol 2010; 42:1273-81.
26. Hui AB, Shi W, Boutros PC, Miller N, Pintilie M, Fyles T, et al. Robust global micro-RNA profiling with formalin-fixed paraffin-embedded breast cancer tissues. Lab Invest 2009; 89:597-606.
27. Selaru FM, Olaru AV, Kan T, David S, Cheng Y, Mori Y, et al. MicroRNA-21 is overexpressed in human cholangiocarcinoma and regulates programmed cell death 4 and tissue inhibitor of metalloproteinase 3. Hepatology 2009; 49:1595-601.

28. Zhang W, Dahlberg JE, Tam W. MicroRNAs in tumorigenesis: a primer. Am J Pathol 2007; 171:728-38.
29. Etheridge A, Lee I, Hood L, Galas D, Wang K. Extracellular microRNA: A new source of biomarkers. Mutat Res 2011.
30. Pegtel DM, Cosmopoulos K, Thorley-Lawson DA, van Eijndhoven MA, Hopmans ES, Lindenberg JL, et al. Functional delivery of viral miRNAs via exosomes. Proc Natl Acad Sci U S A 2010; 107:6328-33.
31. Iguchi H, Kosaka N, Ochiya T. Secretory microRNAs as a versatile communication tool. Commun Integr Biol 2010; 3:478-81.
32. Kosaka N, Iguchi H, Yoshioka Y, Takeshita F, Matsuki Y, Ochiya T. Secretory mechanisms and intercellular transfer of microRNAs in living cells. J Biol Chem 2010; 285:17442-52.
33. Pigati L, Yaddanapudi SC, Iyengar R, Kim DJ, Hearn SA, Danforth D, et al. Selective release of microRNA species from normal and malignant mammary epithelial cells. PLoS One 2010; 5:e13515.
34. Ng EK, Chong WW, Jin H, Lam EK, Shin VY, Yu J, et al. Differential expression of microRNAs in plasma of patients with colorectal cancer: a potential marker for colorectal cancer screening. Gut 2009; 58:1375-81.
35. Tsujiura M, Ichikawa D, Komatsu S, Shiozaki A, Takeshita H, Kosuga T, et al. Circulating microRNAs in plasma of patients with gastric cancers. Br J Cancer 2010; 102:1174-9.
36. Brase JC, Wuttig D, Kuner R, Sultmann H. Serum microRNAs as non-invasive biomarkers for cancer. Mol Cancer 2010; 9:306.
37. Wittmann J, Jack HM. Serum microRNAs as powerful cancer biomarkers. Biochim Biophys Acta 2010; 1806:200-7.
38. Kosaka N, Iguchi H, Ochiya T. Circulating microRNA in body fluid: a new potential biomarker for cancer diagnosis and prognosis. Cancer Sci 2010; 101:2087-92.