ไมโครอาร์เอ็นเอกับโรคตับคั่งไขมัน

พุทธ เมืองไพศาล*
สมบัติ ตรีประเสริฐสุข*

Maungpaisarn P, Treeprasetsuk S. MicroRNA and Non-alcoholic fatty liver disease. Chula Med J 2015 Mar – Apr;59(2): 165 - 80

Nowadays, non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) has become a worldwide health concerned because its prevalence is rising and it is closely associated with metabolic syndrome and cardiovascular disease. NAFLD can be divided into two groups: non-alcoholic fatty liver (steatosis) and non-alcoholic steatohepatitis (NASH). In particular, NASH increases the risk of death compared with general population, and can progress to cirrhosis and hepatocellular carcinoma. MicroRNAs (miR) have been discovered as the crucial in regulating both mRNA and protein expressions which involve diverse physiological and pathological processes such as cell proliferation, inflammation and apoptosis. Numerous microRNAs have been contributed to the pathogenesis of many liver diseases, especially NAFLD. Several studies present that miR-122 plays the major role in hepatic lipid metabolism. Antagomirs of miR-122 are expected to novel treatment strategy for lowering circulating cholesterol but the data are still controversial. Additionally, miR-33 is crucial in cholesterol and fatty acid homeostasis. Interestingly, miR-34a is emerging microRNA for explaining inflammatory process in NAFLD via miR-34a/SIRT1/p53/apoptosis pathway and plays as the regulator of HMGCoA reductase. These pathological mechanisms can be confirmed by studies in both animals and human models. Liver fibrosis is regulated by microRNAs that affect several mechanisms such as hepatic stellate cell activation. For clinical applications, serum microRNAs are studied and developed for noninvasive tool or biomarker for evaluating liver inflammation and fibrosis. MicroRNA-based therapeutics may be the new hope for NAFLD treatment in the future.

Keywords: *MicroRNA, non-alcoholic fatty liver disease.*

Reprint request: Maungpaisarn P. Department of Medicine, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand.
Received for publication. February 11, 2014.

*ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พุทธ เมืองไพศาล, สมบัติ ตรีประเสริฐสุข. ไมโครอาร์เอ็นเอกับโรคตับคั่งไขมัน. จุฬาลงกรณ์เวชสาร 2558 มี.ค – เม.ย; 59(2): 165 – 80

โรคตับคั่งไขมันเป็นโรคที่พบบ่อยมากขึ้นในปัจจุบัน โดยโรคนี้มีความสัมพันธ์กับโรคอ้วนลงพุง และโรคหัวใจ โรคตับคั่งไขมันสามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มย่อยคือ กลุ่มที่มีตับคั่งไขมันอย่างเดียว และกลุ่มที่มีการอักเสบร่วมด้วย ซึ่งในกลุ่มนี้จะอัตราตายที่เพิ่มขึ้นรวมทั้งสามารถพัฒนากลายเป็นโรคตับแข็งและมะเร็งตับได้ สำหรับไมโครอาร์เอ็นเอนั้นมีส่วนสำคัญในการกระบวนการต่าง ๆ ของเซลล์ ทั้งในแง่สรีรวิทยาและพยาธิวิทยาเช่น การแบ่งตัว การอักเสบ หรือการตายของเซลล์ ไมโครอาร์เอ็นเอหลายชนิดถูกแสดงว่ามีส่วนเกี่ยวข้องกับพยาธิกำเนิดของโรคตับหลายชนิดโดยเฉพาะโรคตับคั่งไขมัน ข้อมูลหลายการศึกษาแสดงให้เห็นว่า miR-122 มีบทบาทสำคัญในการควบคุมเมตาบอลิสมของไขมันในตับ การให้สารยับยั้งต่อ miR-122 ถูกคาดหวังว่าจะใช้ในการรักษาเพื่อลดระดับคลอเลสเตอรอลในเลือด แต่ข้อมูลยังคงมีความขัดแย้งกันอยู่ นอกจากนี้ miR-33 ยังเป็นไมโครอาร์เอ็นเอที่ควบคุมสมดุลของคลอเลสเตอรอลและกรดไขมันอีกด้วย ส่วน miR-34a เป็นไมโครอาร์เอ็นเอที่ได้รับความสนใจว่าอาจมีบทบาทสำคัญต่อการอักเสบของตับผ่านทาง miR-34a/SIRT1/p53/ apoptosis pathway และควบคุมการทำงานของ HMGCoA reductase ซึ่งกลไกเหล่านี้ได้มีการศึกษายืนยันในสัตว์และมนุษย์ ไมโครอาร์เอ็นเอยังมีผลต่อการเกิดพังผืดในตับผ่านทางกลไกต่าง ๆ เช่นการกระตุ้น hepatic stellate cell ในแง่การประยุกต์ใช้ทางคลินิกนั้น ไมโครอาร์เอ็นเอในซีรั่มกำลังถูกศึกษาเพื่อนำมาใช้เป็นเครื่องมือในการประเมินการอักเสบและพังผืดในตับ รวมทั้งในอนาคตอาจมีการนำไมโครอาร์เอ็นเอมาใช้เป็นการรักษาใหม่สำหรับโรคตับคั่งไขมัน

คำสำคัญ: *ไมโครอาร์เอ็นเอ, โรคตับคั่งไขมัน.*

โรคตับคั่งไขมันหรือ Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) จัดเป็นโรคที่พบได้บ่อยทั่วโลก รวมถึงในประเทศไทย และเป็นโรคตับที่กำลังเป็นปัญหาที่สำคัญมากขึ้นเรื่อย ๆ ซึ่งจากข้อมูลที่มีการสำรวจพบว่ามีความชุกในประชากรทั่วไปสูงถึงร้อยละ 20 – 40 [1, 2] โดยคาดว่าในประชากรทั่วไปนั้นมีตับอักเสบเรื้อรังจากตับคั่งไขมัน (Non-alcoholic steatohepatitis) สูงถึงร้อยละ 3[3] สำหรับในประเทศไทยนั้น พบว่าโรคตับคั่งไขมันยังเป็นสาเหตุของตับอักเสบเรื้อรังที่ไม่ใช่ไวรัสตับอักเสบบี ซี และแอลกอฮอลล์ถึงร้อยละ 70[4] นอกจากนั้นโรคนี้ยังเป็นสาเหตุหลักของที่ทำให้ผู้ป่วยกลายเป็นโรคตับแข็งที่ไม่ทราบสาเหตุในอดีต (cryptogenic cirrhosis) [5 - 7] โดยโรคนี้พบว่ามีความสัมพันธ์โดยตรงกับโรคอ้วน โรคอ้วนลงพุง (metabolic syndrome) โรคเบาหวานและโรคไขมันในเลือดสูง และโรคหลอดเลือดหัวใจขาดเลือด (Ischemic heart disease) [8]

พยาธิกำเนิดของโรคตับคั่งไขมันเกิดขึ้นนั้น เชื่อว่าเกิดขึ้นในรูปแบบ Multiple – hit hypothesis[9] โดยเริ่มต้นจากการที่ฮอร์โมนอินซูลินที่ทำงานในเนื้อเยื่อต่าง ๆ ในร่างกาย ทำงานไม่ได้ประสิทธิภาพ เกิดภาวะที่เรียกว่าดื้อต่ออินซูลิน (Insulin resistance) ทำให้มีการปลดปล่อยกรดไขมันอิสระจากเนื้อเยื่อไขมันเข้าสู่กระแสเลือด และส่งผลให้การควบคุมกระบวนการเมตาบอลิสมของไขมันในตับมีความผิดปกติไป คือลดการสลายไขมันในเซลล์ตับและเพิ่มการสร้างไขมันในเซลล์ตับ[10] และผู้ป่วยบางรายก็มีการกระตุ้นกระบวนการอักเสบของเซลตับที่มีไขมันสะสมอยู่โดยผ่านทาง cytokines หรือ Oxidative stress ต่าง ๆ ทำให้เกิดการอักเสบ ซึ่งเมื่อการอักเสบดำเนินไปอย่างเรื้อรัง ก็จะกระตุ้นกระบวนการสร้างพังผืดในตับและนำไปสู่ภาวะตับแข็งได้ ซึ่งจากพยาธิกำเนิดที่กล่าวมา สามารถแยกผู้ป่วยในกลุ่มโรคนี้เป็น 2 กลุ่มย่อยคือ กลุ่มที่มีตับคั่งไขมันอย่างเดียว (Non-alcoholic fatty liver) และกลุ่มที่มีการอักเสบร่วมด้วย (Non-alcoholic steatohepatitis, NASH) [11] ซึ่งการแยกกลุ่มผู้ป่วยมีความสำคัญมาก เนื่องมีการดำเนินโรคที่แตกต่างกัน กล่าวคือในกลุ่มที่มีตับคั่งไขมันอย่างเดียวมักมีการดำเนินโรคที่ช้า แต่ในกลุ่มที่มีการอักเสบร่วมด้วย สามารถมีการพัฒนาไปสู่ตับแข็งได้ รวมทั้งเฉพาะในกลุ่มที่มีการอักเสบร่วมด้วยเท่านั้นที่จะมีอัตราการตายจากโรคตับเพิ่มสูงขึ้น ส่วนการกลายเป็นมะเร็งตับนั้น พบว่าผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันมีความในการเป็นมะเร็งตับเพิ่มขึ้น แต่มักจะอยู่ในกลุ่มที่มีพังผืดในตับและมีตับแข็งแล้ว[12]

ปัจจุบันไมโครอาร์เอ็นเอกำลังถูกกล่าวถึงมากขึ้นในเรื่องของการอธิบายการควบคุมการทำงานหรือการเจริญของเซลล์ต่าง ๆ รวมทั้งเป็นตัวอธิบายกลไกพยาธิกำเนิดในมะเร็งหลายชนิด ซึ่งข้อมูลเกี่ยวกับไมโครอาร์เอ็นเอกับโรคตับคั่งไขมันมีมากขึ้นเรื่อย ๆ ทั้งการศึกษาในเซลล์ทดลอง สัตว์ทดลองหรือผู้ป่วยที่เป็นโรคตับคั่งไขมัน ซึ่งข้อมูลเหล่านี้จะนำไปสู่ความเข้าใจในพยาธิกำเนิดของโรคตับคั่งไขมันมากขึ้น รวมทั้งสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในทางคลินิก เช่น เป็นเครื่องมือในการวินิจฉัยในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมัน และการสร้างยาที่ออกฤทธิ์ต่อไมโครอาร์เอ็นเอแต่ละชนิดเพื่อใช้ในการรักษาโรคตับคั่งไขมันในอนาคตได้

ไมโครอาร์เอ็นเอ (MicroRNA, miRNA, miR)

ไมโครอาร์เอ็นเอ (microRNA, miR) เป็นโมเลกุลของอาร์เอ็นเอขนาดเล็กซึ่งประกอบด้วยนิวคลีโอไทด์ประมาณ 22 - 25 นิวคลีโอไทด์ขึ้นกับชนิดของไมโครอาร์เอ็นเอ ซึ่งไมโครอาร์เอ็นเอนั้นมีความแตกต่างจากอาร์เอ็นเอปกติ (messenger RNA, mRNA) คือจะไม่ถูกถอดรหัสเป็นโปรตีน (Translation) ไมโครอาร์เอ็นเอถูกค้นพบครั้งแรกในปีค.ศ. 1993 โดยค้นพบในพยาธิตัวกลมที่ชื่อว่า *Caenorhabditis elegans* หลังจากนั้นก็มีการค้นพบไมโครอาร์เอ็นเอทั้งในสัตว์และพืช ซึ่งในมนุษย์มีไมโครอาร์เอ็นเอที่ถูกค้นพบแล้ว 1,773 ชนิด ซึ่งมาจากตัวตั้งต้น (precursor) 1,424 ชนิด โดยไมโครอาร์เอ็นเอของมนุษย์อาจจะเขียนโดยว่า hsa-miR ซึ่ง hsa ย่อมาจาก *Homosapiens sapiens* [13, 14] มีการค้นพบว่าประมาณร้อยละ1 - 5 ของยีนของสัตว์จะถอดรหัส มาเป็นไมโครอาร์เอ็นเอ และร้อยละ 10 - 30 ของยีนควบคุม

การสร้างโปรตีนถูกคาดหมายว่าเป็นเป้าหมายของไมโครอาร์เอ็นเอ[15]

ขั้นตอนในการสร้างไมโครอาร์เอ็นเอโดยสังเขปมีดังนี้ [13] (รูปที่ 1)

1. Transcription ไมโครอาร์เอ็นเอถูกสร้างโดยทาง Canonical biogenesis pathway ซึ่งถูกถอดรหัส (transcription) จาก precursor RNAs จาก intergenic, intronic หรือ polycistronic genomic loci โดยเอนไซม์ RNA polymerse II (Pol II) ซึ่งจะได้ primary miRNA (Pri-miRNA) โดยตัวของ Pri-miRNA จะมีลักษณะเป็น stem loop structure

2. Cleavage Pri-miRNA ที่ถูกสร้างขึ้นมาจาก Canonical pathway จะถูก recognize และเปลี่ยนแปลง โดย Dosha และ DGCR 8 RNase III complex หรือ spliceosome ในนิวเคลียสของเซลล์ นอกจาก Canonical pathway แล้วไมโครอาร์เอ็นเอยังสามารถสร้างจากระบวนการอื่นได้ (non-canonical pathway) ซึ่งไมโครอาร์เอ็นเอสามารถถูกถอดรหัสได้จาก endogenous short hairpin RNAs (endo-shRNAs) หรือสร้างมาผ่านทางการ splicing ของ intron โดยตรง ซึ่งจะได้เป็น mirtrons ซึ่งบางทีกระบวนการนี้เรียกว่า Mitronic pathway โดยผลลัพธ์ของทั้ง 2 pathway จะได้เป็น Precursor microRNA (Pre-miRNA) ซึ่งมีขนาดประมาณ 60 – 70 nt

3. Exporting Pre-miRNA จะถูกส่งออกนอกนิวเคลียสผ่านทาง exportin-5 และ RAN-GTP-dependent process เข้าสู่ไซโตพลาสม

4. Dicing Pre-miRNA ที่ออกมาสู่ไซโตพลาสม จะถูกผ่านกระบวนการสร้างเป็น Mature double strand miRNA โดยอาศัย Dicer และ transactivation-response RNA-binding protein (TRBP) RNase III enzyme complex

5. Strand selection หลังจากนั้น Argonate (AGO) proteins จะแยก miRNA duplex ได้เป็น miRNA-targeting strand หรือ guided strand และเข้าสู่ AGO-containing RNA-induced silencing complex (RISC)

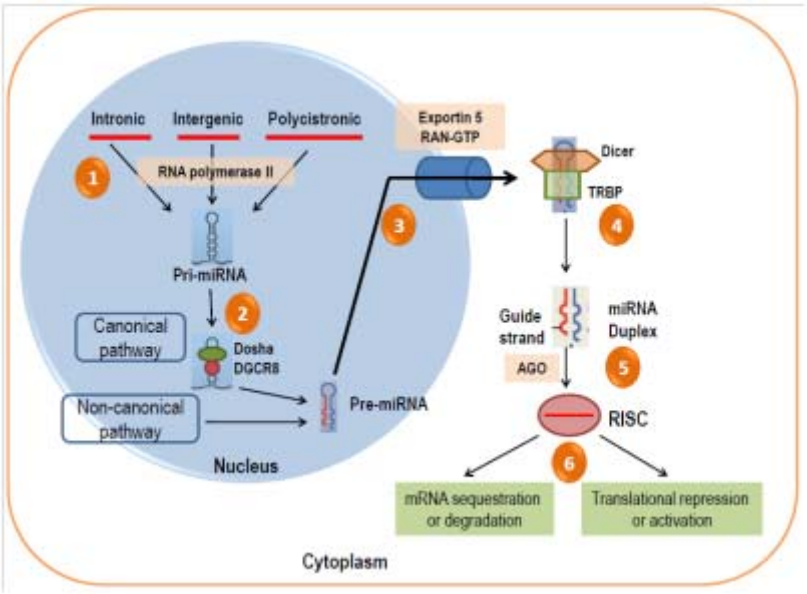
6. Gene targeting หลังจากนั้น RISC-miRNA complex จะเข้าไปจับ sequence เป้าหมายของ messenger RNA ที่จำเพาะต่อไมโครอาร์เอ็นเอนั้น ๆ ซึ่งมักอยู่ที่ตำแหน่ง 3' untranslated region (3'UTR) หลังจากนั้นไมโครอาร์เอ็นเอจะควบคุมการแสดงออกของ messenger RNA โดยมีหลายกลไก เช่น mRNA sequestration หรือ degradation, translational repression หรือactivation นอกจากนี้ยังควบคุมในระดับ transcription ด้วยเช่น histone modification หรือ DNA methylation รวมทั้งยังมีอีกหลายกลไกที่ยังไม่ถูกค้นพบ

ไมโครอาร์เอ็นเอเป็นตัวควบคุมการทำงานของเซลล์ในด้านต่าง ๆ เช่น การแบ่งตัวของเซลล์ การพัฒนาของเซลล์ การส่งสัญญาณภายในเซลล์ กระบวนการแก่ของเซลล์โดยควบคุมผ่านทาง messenger RNA (mRNA) ที่จำเพาะต่อไมโครอาร์เอ็นเอชนิดนั้น ซึ่งจะทำให้เซลล์สามารถทำงานได้เป็นปกติ แต่ละไมโครอาร์เอ็นเอสามารถถูกสร้างและถูกควบคุมอย่างเป็นอิสระต่อกัน โดยถูกควบคุมทั้งที่ระดับ transcription ที่ระดับ epigenetic จะควบคุมผ่านทาง DNA methylation การเปลี่ยนแปลงใด ๆ ในกระบวนการเหล่านี้สามารถนำไปสู่ความผิดปกติ เช่น เกิดโรค หรือเกิดเนื้องอกได้ แต่อย่างไรก็ตามบางครั้งการควบคุมโดยไมโครอาร์เอ็นเอก็มีความซับซ้อนจนอาจเป็นการยากที่จะบอกว่าไมโครอาร์เอ็นเอที่จำเพาะคือไมโครอาร์เอ็นเอชนิดใด[14, 16]

วิธีที่ใช้ในการวิเคราะห์การแสดงออกของไมโครอาร์เอ็นเอจะเริ่มต้นด้วยวิธี Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) ซึ่งเป็นการเปลี่ยนไมโครอาร์เอ็นเอให้เป็นดีเอ็นเอ ซึ่งหลังจากนั้นก็จะไปวิเคาะห์ด้วยวิธีการต่าง ๆ โดยขึ้นกับวัตถุประสงค์ของการศึกษา โดยมีวิธีวิเคราะห์ดังต่อไปนี้[16]

1. Quantitative real-time PCR ซึ่งดีเอ็นเอที่ถูกเปลี่ยนมาจากไมโครอาร์เอ็นเอ จะถูกเพิ่มจำนวน (Amplification) โดย PCR และได้เป็นปริมาณออกมา โดยแบ่งเป็น

- การวัดปริมาณเชิงเปรียบเทียบ (Relative quantitation) ซึ่งเป็นวิธีการคำนวณหาปริมาณของดีเอ็นเอของตัวอย่าง



รูปที่ 1. ขั้นตอนการสร้างไมโครอาร์เอ็นเอโดยสังเขป โดยแต่ละขั้นตอนคือ 1.Transcription, 2.Cleavage, 3.Exporting, 4. Dicing, 5. Strand selection, 6. Gene targeting

ที่สนใจเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม โดยผลจะแสดงออกมาในรูปของจำนวนเท่า

- การวัดปริมาณสัมบูรณ์ (Absolute quantitation) ซึ่งเป็นวิธีการคำนวณหาปริมาณดีเอ็นเอของตัวอย่างที่สนใจเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐานที่ทราบปริมาณแน่นอนแล้ว

ซึ่งการตรวจโดยวิธี Quantitative real-time PCR ถือเป็นวิธีที่ไวที่สุดในการตรวจไมโครอาร์เอ็นเอที่เราทราบอยู่แล้ว แต่ข้อด้อยของการวิธีนี้คือ ไม่สามารถที่จะตรวจพบไมโครอาร์เอ็นเอตัวใหม่ได้และไม่สามารถวิเคราะห์ไมโครอาร์เอ็นเอหลายชนิดพร้อมกันได้

2. **Microarray** เป็นวิธีที่สร้างขึ้นมาเพื่อดูการแสดงออกของไมโครอาร์เอ็นเอที่เราทราบอยู่แล้วได้หลาย ๆ ชนิดในเวลาเดียวกัน โดยตรวจได้ทั้งภาวะที่ปกติและภาวะที่มีการเปลี่ยนแปลงของระดับไมโครอาร์เอ็นเอ โดยตัวอย่างไมโครอาร์เอ็นเอจะถูกจับกับ probe บนไมโครชิป ซึ่งมีความจำเพาะต่อไมโครอาร์เอ็นเอแต่ละชนิด และไมโครอาร์เอ็นเอจะถูกจับกับสารฟลูออเรสเซนซ์ และถูกตรวจโดยเครื่องมือได้ ถึงแม้วิธีนี้จะมีข้อดีตรงที่สามารถตรวจไมโครอาร์เอ็นเอได้หลายชนิดพร้อมกัน แต่มีข้อด้อยคือมีความไวและความจำเพาะน้อยกว่าสองวิธีที่เหลือ และไม่สามารถบอกปริมาณเชิงสัมบูรณ์ของไมโครอาร์เอ็นเอที่ตรวจพบได้ (บอกได้แค่ปริมาณเชิงสัมพัทธ์เมื่อเทียบกับตัวอย่างควบคุม)

3. **RNA Sequencing** เป็นวิธีใหม่ที่ใช้การวิเคราะห์โดยการทำคลังข้อมูลของดีเอ็นเอที่ถูก reverse transcription จากไมโครอาร์เอ็นเอ และและนำตัวอย่างที่ต้องการมา sequencing เทียบกับคลังข้อมูล โดยวิธีนี้มีความมีความแม่นยำมาก สามารถได้ไมโครอาร์เอ็นเอชนิดใหม่ และทราบปริมาณเชิงสัมพัทธ์ของไมโครอาร์เอ็นเอ แต่ข้อด้อยคือค่าใช้จ่ายสูง และต้องใช้ข้อมูลทาง bioinformations มาก

ไมโครอาร์เอ็นเอจัดเป็นตัว biomarker ที่ดีตัวหนึ่ง เนื่องจากตัวไมโครอาร์เอ็นเอ มีโครงสร้างที่จำเพาะในแต่ละชนิดมีความเสถียรเมื่ออยู่ในเซลล์หรืออยู่ในกระแสเลือดหรืออยู่ในสารน้ำของร่างกาย โดยไมโครอาร์เอ็นเอจะอยู่ใน Exosome แต่บางชนิดจะไม่อยู่ใน Exosome แต่จะจับกับโปรตีน (ส่วนมากเป็น AGO-2) หรือ Lipoprotein โดยที่ไมโครอาร์เอ็นเอจะสามารถออกมานอกเซลล์ได้ 3 วิธี คือ หลั่งออกจากเซลล์ (Secretion), เอ็กโซซัยโตซิส (Exocytosis), เซลล์ตาย (Apoptosis)[14]

ดังนั้นจะเห็นว่า ปริมาณไมโครอาร์เอ็นเอสัมพันธ์กับการทำงานของเซลล์ รวมทั้งบ่งบอกถึงการตายหรือการถูกทำลายของเซลล์ได้อีกด้วย นอกจากที่แสดงถึงการควบคุมการทำงานของยีนเพียงอย่างเดียว การตรวจวิเคราะห์ระดับไมโครอาร์เอ็นเอในซีรั่มหรือพลาสมานั้นมีความคงตัวอยู่ที่ 48 ชั่วโมงหลังจากเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง แต่ถ้าเก็บที่อุณหภูมิ -70 องศาเซลเซียสก็จะเก็บได้ไปตลอด แต่อย่างไรก็ตามความแม่นยำของการวัดระดับไมโครอาร์เอ็นเอในสารน้ำต่าง ๆ ของร่างกายขึ้นอยู่กับหลาย ๆ ปัจจัย เช่นขนาดของไมโครอาร์เอ็นเอ ความแตกต่างของไมโครอาร์เอ็นเอแต่ละชนิดปริมาณไมโครอาร์เอ็นเอและกระบวนการในการตรวจซึ่งมีหลากหลายวิธี[17]

บทบาทของไมโครอาร์เอ็นเอในโรคตับ

ในช่วงสิบปีที่ผ่านมาได้มีการค้นพบไมโครอาร์เอ็นเอที่เกี่ยวข้องการควบคุมการทำงานของตับมากขึ้น โดยไมโครอาร์เอ็นเอหลายชนิดมีส่วนในการเจริญและพัฒนาของตับ รวมทั้งควบคุมการเมตาบอลิสมของตับ รวมทั้งโรคตับหลายโรคทั้งไวรัสตับอักเสบ โรคตับอักเสบจากแอลกอฮอล์ ตับแข็งรวมทั้งมะเร็งตับก็มีส่วนเกี่ยวข้องกับไมโครอาร์เอ็นเอ ชนิดของไมโครอาร์เอ็นเอที่เกี่ยวข้องกับโรคตับได้สรุปไว้ในตารางที่ 1[15]

ไมโครอาร์เอ็นเอกับโรคตับคั่งไขมัน

เนื่องจากความรู้เกี่ยวกับโรคตับคั่งไขมันในปัจจุบันมีมากขึ้น โดยพยาธิกำเนิดของโรคเกิดขึ้นในรูปแบบ Multiple-hit hypothesis ซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับเมตาบอลิสมของไขมัน ภาวะดื้ออินซูลิน การเกิดการอักเสบและพังผืดในตับ ซึ่งไมโครอาร์เอ็นเอหลายชนิดก็มีส่วนเกี่ยวข้องกับกระบวนการเหล่านี้ ทำให้มีการศึกษาเพื่อค้นหาว่าไมโครอาร์เอ็นเอชนิดไหนที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับพยาธิกำเนิดของโรคตับคั่งไขมัน ซึ่งการศึกษาในช่วงแรกจะศึกษาในหนูทดลอง โดยการศึกษาของ Jin และคณะพบว่าในกลุ่มของหนูที่มีภาวะตับคั่งไขมัน มีไมโครอาร์เอ็นเอที่มีระดับเพิ่มขึ้น 34 ชนิด และมีไมโครอาร์เอ็นเอที่มีระดับลดลง 29 ชนิดเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม [18] เช่นเดียวกับการศึกษาของ Progribny และคณะที่พบว่าในตับของหนูที่ถูกเลี้ยงด้วยอาหารที่กระตุ้นให้เกิดภาวะตับคั่งไขมัน มีไมโครอาร์เอ็นเอที่แสดงออกมาขึ้นคือ miR-34a, miR-155, miR-220b และ miR-221 ในขณะที่ miR-29c, miR-122, miR-192 และ miR-203 มีการแสดงออกลดลง[19]

ตารางที่ 1. แสดงชนิดของไมโครอาร์เอ็นเอกับโรคตับอื่น ๆ นอกจากโรคตับคั่งไขมัน[15]

Liver disease	Upregulated	Downregulated
Hepatitis C virus	miR-125, miR-16, miR-109, miR-155, miR-146	mir-122, miR-320, miR-191
Hepatitis B virus	miR-181a, miR-200b, miR-146a	miR-15a
Alcoholic liver disease	miR-212, miR-320, miR-486, miR-705, miR-1224	miR-27b, miR-214, miR-199a-3p, miR-182, miR-183, miR-200a, miR-322
Primary biliary cirrhosis	miR-328, miR-299	miR-122a, miR-26a
Hepatocellular carcinoma	miR-18, miR-21, miR-221, miR-222, miR-224, miR-373, miR-301	miR-122, miR-125, miR-130a, miR-150, miR-199, miR-200, let-7 family members

เนื่องจากข้อมูลของไมโครอาร์เอ็นเอที่ทำการศึกษาในภาวะตับคั่งไขมันมีหลายชนิด ในบทความนี้จะขอกล่าวถึงไมโครอาร์เอ็นเอบางชนิดที่มีความสำคัญและมีข้อมูลในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมัน โดยจะแบ่งเป็นไมโครอาร์เอ็นเอที่เกี่ยวข้องกับการเมตาบอลิสมของไขมันในตับ ไมโครอาร์เอ็นเอที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบของตับในโรคตับคั่งไขมัน และไมโครอาร์เอ็นเอที่เกี่ยวกับการเกิดพังผืดในตับ และกล่าวถึงการศึกษาที่สำคัญที่ทำการศึกษาในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมัน ซึ่งจะเป็นข้อมูลที่จะนำไปสู่การนำไมโครอาร์เอ็นเอไปใช้ทางคลินิกได้

ไมโครอาร์เอ็นเอกับการควบคุมเมตาบอลิสมไขมันในตับ

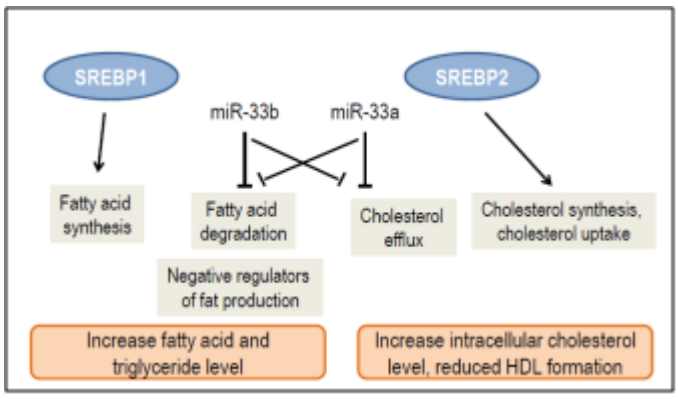
miR-122 เป็น Liver specific miR ซึ่งมีอยู่ในเซลล์ตับประมาณ 50,000 ก๊อปปี้/เซลล์ และเป็นไมโครอาร์เอ็นเอที่แสดงออกในตับถึงร้อยละ 70 ของไมโครอาร์เอ็นเอทั้งหมดในตับ miR-122 มีความสำคัญคือมีส่วนในการควบคุม hepatocyte differentiation และการพัฒนาของตับ[20] นอกจากนี้ยังเป็นไมโครอาร์เอ็นเอชนิดแรกที่ถูกค้นพบว่ามีส่วนในการควบคุมเมตาบอลิสมของไขมัน แต่กลไกทางด้านโมเลกุลที่จะอธิบายการควบคุมการเมตาบอลิสมของไขมันผ่านทาง miR-122 ยังคงไม่ชัดเจนและต้องการการศึกษาเพิ่มเติม โดยยีนเป้าหมายที่ miR-122 มาควบคุมก็ยังไม่ทราบชัดเจน แต่มีข้อมูลจากการศึกษาของ Norman and Sarnow ว่า miR-122 อาจยับยั้ง Mevalonate pathway ซึ่งมีหน้าที่สังเคราะห์คลอเลสเตอรอลและ isoprenoid intermediates[21] นอกจากนี้ miR-122 ยังมีส่วนเกี่ยวกับการแบ่งตัวของไวรัสตับอักเสบบีและซี รวมทั้งการเกิดมะเร็งตับด้วย[20] ซึ่งจะไม่ขอกล่าวรายละเอียดในบทความนี้

ความสำคัญของ miR-122 ที่อาจจะนำมาประยุกต์ใช้ในทางคลินิกได้คือ การพัฒนาสารหรือยามาเพื่อยับยั้งการแสดงออกของ miR-122 ซึ่งน่าจะส่งผลต่อการลดลงของคลอเลสเตอรอลในร่างกาย ซึ่งได้มีการศึกษาในสัตว์ทดลองพบว่าการให้ miR-122 antagomirs สามารถเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของยีนที่ควบคุมการสังเคราะห์คลอเลสเตอรอลในตับ[22] สามารถลดการสังเคราะห์คลอเลสเตอรอลและกรดไขมันในตับ[23] และลดระดับคลอเลสเตอรอลในกระแสเลือดได้[22, 23] แต่อย่างไรก็ตามมีหลายการศึกษามีข้อมูลที่ขัดแย้งกัน เช่น พบว่าการได้รับ miR-122 antagomir ไม่เพียงลดระดับ LDL เท่านั้นแต่ยังลดระดับ HDL อีกด้วย[24] หรือมีการสะสมของไตรกลีเซอไรด์ในตับเพิ่มขึ้น[25] รวมทั้งมีข้อมูลว่าในหนูที่มีการกลายพันธุ์โดยมีการสูญเสียการทำงานของ miR-122 พบว่าหนูเหล่านี้มีการเกิด NASH, พังผืด และมะเร็งตับได้ในช่วงวัยผู้ใหญ่[26] ทำให้การใช้ miR-122 antagomirs ในทางคลินิก อาจต้องรอการศึกษามากกว่านี้

ส่วนการศึกษาเกี่ยวกับ miR-122 ในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันจะกล่าวต่อไปภายหลัง

นอกจาก miR-122 ที่เกี่ยวข้องกับการเมตาบอลิสมของไขมันแล้ว ยังมีไมโครอาร์เอ็นเอที่น่าสนใจอีกชนิดหนึ่ง คือ miR-33a และ miR-33b ซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับ Sterol regulatory element binding protein (SREBP) ซึ่งเป็นโปรตีนที่สำคัญในการควบคุมสมดุลของไขมันอีกชนิดหนึ่ง โดยยีน SREBF1ของมนุษย์สามารถถอดรหัสเป็น SREBP1 ซึ่งควบคุม lipogenic gene เช่น fatty acid synthase (FASN), actetyl-CoA carboxylase (ACC) และ stearoly-CoA desaturase (SCD) ส่วน SREBP2 ที่สร้างมาจากยีน SREBF2 จะควบคุมการแสดงออกของ cholesterogenic gene เช่น HMGCR, LDLR โดยยีนของ miR-33a อยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 22 เช่นเดียวกับยีน SREBF2 และยีนของ miR-33b อยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 17 เช่นเดียวกับยีน SREBF1[27]

miR-33 มีความเกี่ยวข้องกับ SREBP ตามรูปที่ 2 โดยทั้ง miR-33a และ miR-33b ถูกค้นพบว่าเป็น ตัวสำคัญในลดการแสดงออกของ ATP-binding cassette transporter subfamily A member 1 (ABCA1) ซึ่งเป็นตัวส่งเสริมให้มีการขับคลอเลสเตอรอลอิสระจากเซลล์ต่าง ๆ เข้าสู่ Apolipoprotein A1 (APOA1) ซึ่งมีความสำคัญในการสร้าง HDL[28] ดังนั้นจึงมีแนวความคิดว่า



รูปที่ 2. แสดงการควบคุมการเมตาบอลิสมของคลอเลสเตอรอลและกรดไขมันโดย SREBP และ miR-33

การให้ miR-33 targeting antisense จะกระตุ้นการขับคลอเลสเตอรอลจาก atherogenic macrophage ซึ่งน่าจะทำให้ลดภาวะ atherosclerosis ได้ ในการศึกษาในหนู พบว่าการยับยั้งหรือ knockout ablation ต่อ miR-33a พบว่ามีการแสดงออกของ ABCA1 ในตับและแมคโครฟาจเพิ่มมากขึ้น[29] และมีข้อมูลว่าในหนูทดลองที่ได้ antisense inhibition of miR-33a มีการลดลงของขนาด atherosclerotic plaque[30]

ในภาวะที่มีอินซูลินในกระแสเลือดมาก เช่นภาวะดื้ออินซูลิน การเพิ่มขึ้นของระดับ SREBP1C และ miR-33b ในตับจะส่งผลให้มี VLDL เพิ่มขึ้น และHDL ที่ลดต่ำลง[31] การศึกษาล่าสุดใน non-human primate ที่ได้อาหารที่มีคาร์โบไฮเดรต จะมีระดับ miR-33b ในตับเพิ่มขึ้นและการให้ antisense ต่อ miR-33a และ miR-33b สามารถเพิ่มระดับ HDL และลดระดับไตรกลีเซอไรด์ได้[32] นอกจากนี้ ABCA1 ยังเป็นเป้าหมายของการงานของไมโครอาร์เอ็นเอชนิดอื่นๆอีกเช่น miR-758[33] และ miR-106b[34] ซึ่งบ่งชี้ว่าการควบคุม ABCA1 และ HDL โดยไมโครอาร์เอ็นเอน่าจะมีความซับซ้อนมากกว่าที่เราทราบ

นอกจากนี้ยังพบว่า miR-33a และ miR-33b สามารถยับยั้งการแสดงออกของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับ β-oxidation ได้โดยตรง ซึ่งเป็นการย่อยสลายกรดไขมัน โดยกระบวนการนี้จะได้พลังงาน ซึ่งโปรตีนเหล่านี้ได้แก่ carnitine *O* octanoyltransferase (CROT), carnitine palmitoyltransferase 1A (CPT1A), hydroxyacyl-CoA dehydrogenase– 3-ketoacyl-CoA thiolase–enoyl-CoA hydratase β-subunit (HADHB) ยับยั้งโปรตีนที่เป็น Negative regulator ของการสร้างไขมันเช่น IRS2, AMPK, SIRT6[13]

มีการศึกษาเกี่ยวกับ miR-10b โดยศึกษาในเซลล์ตับ L02 ซึ่งเป็นเซลล์ตับที่ถูกเพาะเลี้ยงในกรดไขมันอิสระที่มีความเข้มข้นมาก แล้ววิเคราะห์ดูระดับไมโครอาร์เอ็นเอ ซึ่งการศึกษานี้ค้นพบว่า miR-10b เป็นตัวควบคุมการสะสมของไขมัน และระดับไตรกลีเซอไรด์ได้ และสามารถลดการแสดงออกของโปรตีน Peroxisome proliferator-activated receptor-alpha (PPAR-a) ซึ่งน่าจะเป็นอีกกลไกหนึ่งที่ทำให้เกิดภาวะคั่งไขมัน และโรคตับคั่งไขมัน โดยการศึกษานี้ได้ให้ anti-miR-10b ใน L02 cell พบว่ามีระดับไขมันและไตรกลีเซอไรด์ในเซลล์ที่ลดลง[35]

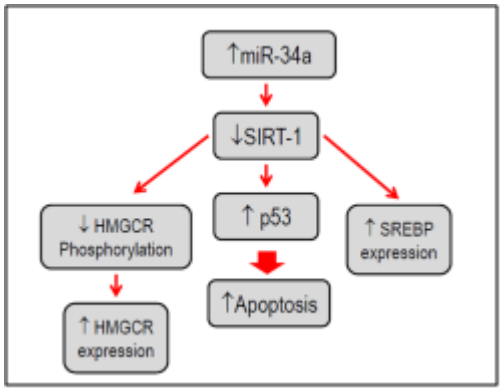
ไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอกับการอักเสบของตับในโรคตับคั่งไขมัน

ไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอ (miR-34a) ถูกถอดรหัสจากโครโมโซม 1p36[36, 37] โดย miR-34a กำลังเป็นไมโครอาร์เอ็นเอที่ได้รับความสนใจในโรคตับคั่งไขมัน เนื่องจากมีกลไกที่สามารถอธิบายการเกิดการอักเสบของตับได้อย่างชัดเจนกว่าไมโครอาร์เอ็นเอชนิดอื่น ๆ โดยกลไกแรกคือ miR-34a/Sirtuin-1/p53 apoptosis pathway โดยที่ miR-34a จะยับยั้ง Sirtuin-1 (SIRT1) ซึ่ง SIRT1 จะมี

หน้าที่กระตุ้นการทำงานของเอนไซม์หลายชนิดเช่น peroxisome proliferator activated receptor α (PPAR- α), PPAR coactivator 1 (PGC1) หรือยับยั้งการทำงานของ SREBP ซึ่งมีผลต่อการเมตาบอลิสมของไขมัน นอกจากนี้ SIRT1 ยังยับยั้งการ deacetylation ของ p53 ทำให้ p53 มีระดับลดลง[13] ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงของระดับ miR-34a ย่อมมีผลต่อระดับ SIRT1, p53 และเอนไซม์ที่เกี่ยวข้อง ดังรูปที่ 3 ซึ่งกลไกนี้สนับสนุนโดยการศึกษาของ Castro และคณะซึ่งวัดระดับ Sirtuin-1 และระดับ p53 ในตับจากผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันที่เข้ารับการผ่าตัดโรคอ้วน พบว่าระดับการแสดงของ miR-34a ในตับสูงขึ้นตามระดับการอักเสบของตับ (Steatohepatitis) อย่างมีนัยสำคัญ และมีระดับ Sirtuin-1 ในตับลดลงตามระดับการอักเสบของตับ เช่นเดียวกับระดับ p53 และการเกิด Apoptosis ที่เพิ่มขึ้นตามระดับการอักเสบของตับ[38]

นอกจาก miR-34a/Sirtuin-1/p53 apoptosis pathway แล้ว ยังมีการศึกษาที่แสดงให้เห็นว่า miR-34a มีความสัมพันธ์กับเอนไซม์ HMGCoA reductase โดย Min และคณะ ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับความสัมพันธ์ของ miR-34a กับ เอนไซม์ HMGCoA Reductase (HMGCR) ในเซลล์ตับที่ได้จากการเจาะตับในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมัน พบว่าในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันมีการแสดงออกของ HMGCR เพิ่มมากขึ้น โดยมีการลดลงของการ phosphorylation ของ HMGCR โดยที่การแสดงออกของ HMGCR มีสหสัมพันธ์กับคลอเลสเตอรอลอิสระและความรุนแรงของพยาธิวิทยา นอกจากนี้ยังมีการเพิ่มขึ้นของ SREBP-2 mutation และมีการลดระดับของ SIRT1[39]

นอกจากนี้ยังมีข้อมูลของปัจจัยที่อาจส่งผลต่อระดับ miR-34a ซึ่งแสดงในตารางที่ 2



รูปที่ 3. แสดงความสัมพันธ์ของ miR-34a และกระบวนการที่เกี่ยวข้อง

ตารางที่ 2. แสดงข้อมูลของปัจจัยที่อาจส่งผลต่อระดับ miR-34a

ปัจจัยที่อาจมีผลต่อระดับ miR-34	ข้อมูล
อายุ[40]	- มีการเพิ่มขึ้นของระดับ miR-34a ในตับของหนูที่อายุมากขึ้น
มะเร็ง[36]	- มีการลดลงของการแดงออกของ miR-34a ในมะเร็งหลายชนิด
โรคอ้วน[41]	- ไม่มีการเพิ่มของระดับ miR-34a ในซีรั่มอย่างมีนัยสำคัญ
เบาหวาน[42, 43]	- ไม่มีสหสัมพันธ์ระหว่างระดับน้ำตาลในเลือดและระดับ miR-34a
โรคหลอดเลือดหัวใจ[44]	- ระดับ miR-34a ใน EPC ของกลุ่มที่เป็น CAD มีระดับมากกว่ากลุ่มที่ไม่ได้เป็น CAD
	- ระดับ miR-34a ใน EPC มีค่าลดลงในกลุ่มที่ได้รับ atorvastatin

จากการศึกษาที่กล่าวมา ทำให้ miR-34a ได้รับความสนใจมากขึ้นที่จะนำมาใช้ในทางคลินิก เช่นเป็นเครื่องมือที่ช่วยในการวินิจฉัยภาวะตับอักเสบในโรคตับคั่งไขมัน หรือการสร้างยาเพื่อยับยั้ง miR-34a ซึ่งข้อมูลในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันจะกล่าวในภายหลัง

ไมโครอาร์เอ็นเอกับพังผืดในตับ

พังผืดในตับ (Hepatic fibrosis) เป็นปฏิกิริยาที่ตับตอบสนองต่อการอักเสบเรื้อรัง ซึ่งสาเหตุเป็นได้จากการติดเชื้อเรื้อรัง เช่น ไวรัสตับอักเสบบีและซี แอลกอฮอลล์ หรือจากโรคตับคั่งไขมันที่มีการอักเสบของตับ (NASH) เป็นต้น[45] โดยเป็นผลทำให้มีการสะสมของสารองค์ประกอบนอกเซลล์ (Extracellular matrix, ECM) เพิ่มมากขึ้น และนำไปสู่การเกิดตับแข็งและมะเร็งตับได้ โดยแนวคิดในปัจจุบันเชื่อว่ากลไกการเกิดพังผืดในตับเกิดจากการทำลายของเซลล์ตับ และมีการหลั่งสารต่าง ๆ จากเซลล์ที่ถูกทำลาย ซึ่งกระตุ้นให้เกิดการปฏิกิริยาตอบสนองต่อการอักเสบ รวมทั้งมีการกระตุ้นเซลล์จำพวก fibroblasts หรือ myofibroblasts ให้สร้างคอลลาเจนและเนื้อเยื่อเกี่ยวพันต่าง ๆ และเมื่อมีการสร้างและสะสมของ ECM มากกว่าสลายก็ทำให้เกิดเป็นพังผืดขึ้นมา โดย myofibroblast ที่อยู่ในตับมากกว่าร้อยละ 70 มาจาก Hepatic stellate cell (HSC) ที่ถูกกระตุ้น (activated HSC) จากภาวะปกติ (quiescent HSC) โดย Tumor growth factor (TGF-β) เป็นตัวที่สำคัญที่สุดในการกระตุ้นการเปลี่ยนสภาพของ HSC รวมทั้งยับยั้งการสลาย ECM และ Apoptosis ของ HSC แต่กระตุ้น Apoptosis ของเซลล์ตับ[46] ดังนั้นการศึกษาเกี่ยวกับพังผืดในตับจึงได้รับความสนใจไปที่ HSC และ TGF-β เป็นหลัก

การศึกษาในสัตว์ทดลองแสดงว่ามีไมโครอาร์เอ็นเอหลายชนิดที่แสดงออกเพิ่มขึ้นและแสดงออกลดลงในตับที่ถูกกระตุ้นให้เกิดพังผืดด้วยวิธีต่าง ๆ โดยมีการศึกษาของ Rodenberg และคณะพบว่าในตับที่ถูกกระตุ้นให้เกิดพังผืด มี miR-29 family ที่มีการลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับตับที่ไม่มีพังผืด ทั้งในสัตว์ทดลองและตับของมนุษย์ที่มีพังผืด และมีระดับ miR-29 ในเลือดในกลุ่มที่มีตับแข็ง น้อยกว่ากลุ่มที่มีพังผืดในระยะเริ่มต้น[47] นอกจากนี้ยังมีข้อมูลของ miR-214-5p ว่าเพิ่มการเกิดพังผืดในโรคไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรัง และโรคตับอักเสบจากตับคั่งไขมัน และยังมีการศึกษาในเซลล์ HSC ที่ถูกกระตุ้น พบว่ามีการแสดงออกของ mir-214-5p มากเกินไป จะเพิ่มการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องการเกิดพังผืด เช่น metalloproteinase, a-SMA, transforming growth factor (TGF-β)[48]

นอกจากนี้ยังมีข้อมูลว่าไมโครอาร์เอ็นเอมีส่วนในการควบคุมการกระตุ้น HSC รวมถึงควบคุมการแบ่งตัวและการตาย (apoptosis) ของ HSC พบว่าการลดลงของ miR-27a และ miR-27 b สามารถส่งเสริมให้ HSC ที่ถูกกระตุ้นของหนูกลับมาเป็น quiescent phenotype ได้ การศึกษานี้ยังสามารถยืนยันได้ว่า retinoid X receptor a (RXRa) ซึ่งมีส่วนเกี่ยวข้องการแบ่งตัวของเซลล์ การเปลี่ยนแปลงของเซลล์ (differentiation) และ adipogenesis เป็นเป้าหมายของการทำงานของ miR-27a และ miR-27b[49] ส่วนข้อมูลของไมโครอาร์เอ็นเออื่น ๆ เช่น miR-150, mir-194 และ mir-29b มีส่วนเกี่ยวข้องกับ HSCs trans-differentiation[50, 51] นอกจากนี้มี ข้อมูลว่า miR-15, miR-16 และ miR-181b มีส่วนชักนำให้เกิดการตายของ HSC ซึ่งอาจส่งผลต่อการลดลงของพังผืด[52, 53]

HSC สามารถถูกกระตุ้นด้วย TGF-β ได้ การศึกษาพบว่าการแสดงออกที่มากขึ้นของ miR-146a สามารถยับยั้งการแบ่งตัวของ HSC ที่ถูกชักนำโดย TGF-β และสามารถเพิ่ม apoptosis ได้ด้วย[54] นอกจากนี้ miR-146a overexpression สามารถ upregulate tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMP) -3 ซึ่งเป็นตัวสำคัญของการควบคุม inflammatory cytokine[55] ทำให้ miR-146 กำลังเป็นที่สนใจในการค้นหากลไกที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมการเกิดพังผืดในตับ

การศึกษาไมโครอาร์เอ็นเอในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมัน

เนื่องจากวัตถุประสงค์หนึ่งของการศึกษาเรื่อง

ไมโครอาร์เอ็นเอในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมัน นอกจากเพื่อให้เข้าใจพยาธิกำเนิดของโรคตับคั่งไขมันแล้ว ยังต้องการใช้ไมโครอาร์เอ็นเอเพื่อนำไปใช้ทางคลินิก เช่น การตรวจไมโครอาร์เอ็นเอในเลือดเพื่อนำมาช่วยในการแยกว่าผู้ป่วยรายนั้นมีการอักเสบของตับหรือไม่ ซึ่งอาจจะนำไปใช้ทดแทนการเจาะตับเพื่อตรวจทางพยาธิวิทยา ซึ่งถึงแม้จะเป็นการวินิจฉัยมาตรฐานแต่ก็มีข้อเสียคือ เป็นหัตถการที่ invasive และอาจมี sampling error จากการเจาะตับได้ ดังนั้นจึงได้รวบรวมการศึกษาที่วัดระดับไมโครอาร์เอ็นเอจากกระแสเลือดในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมัน ซึ่งข้อมูลที่ได้มาอาจนำไปใช้ในการพัฒนาในการใช้เป็นเครื่องมือในการวินิจฉัยได้

Yamada และคณะได้ศึกษาระดับความสัมพันธ์ของไมโครอาร์เอ็นเอในกระแสเลือดกับโรคตับคั่งไขมัน ซึ่งการศึกษานี้ได้วินิจฉัยและแบ่งระดับความรุนแรงของโรคตับคั่งไขมัน โดยการตรวจตับโดยคลื่นความถี่สูง (Ultrasounography) พบว่าระดับ miR-34a และ 122 ในผู้ป่วยตับคั่งไขมันสูงกว่าตัวอย่างปกติทั้งเพศชายและหญิง และพบว่า ระดับ miR-122 สูงมากขึ้นตามความรุนแรงของตับคั่งไขมัน ส่วน miR-34a นั้นพบว่าในเพศชาย ในกลุ่มที่มีตับคั่งไขมันรุนแรงมีระดับ miR-34a สูงกว่ากลุ่มที่ไม่รุนแรงเท่านั้น แต่เพศหญิง ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างตับคั่งไขมันที่รุนแรงและไม่รุนแรง [56]

Cermelli และคณะได้ทำการศึกษาระดับไมโครอาร์เอ็นเอในพลาสม่ากับโรคไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรังและโรคตับคั่งไขมัน โดยได้มีการเจาะตับเพื่อประเมินพยาธิสภาพในด้านต่าง ๆ ในส่วนของโรคตับคั่งไขมัน พบว่า miR-34a ไม่พบในกลุ่มควบคุม แต่ในกลุ่มที่มีการอักเสบของตับ (steatohepatitis) พบว่ามีระดับ miR-34a และ miR-122 ในพลาสมา มีค่าสูงกว่าในกลุ่มที่มีเพียงตับคั่งไขมันอย่างเดียว (simple steatosis) โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างระดับ miR-34a ในพลาสมากับ NAFLD activity score (NAS) ที่แบ่งเป็น ≤ 4 และ ≥ 5 มีค่าเท่ากับ 0.46 ซึ่งดีกว่า miR-122 ที่มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.38 รวมทั้งซึ่งหมายความว่า miR-34a น่าจะมีความสัมพันธ์กับการอักเสบของตับในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมัน ส่วนค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่าง ระดับ miR-34a ในพลาสมากับระยะของพังผืดเท่ากับ 0.41 ส่วนใน miR-122 เท่ากับ 0.33[43]

การศึกษาของ Miyaaki และคณะ ทำในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันที่ได้รับการวินิจฉัยจากการตรวจชิ้นเนื้อตับทางพยาธิวิทยาจำนวน 67 ราย โดยมีการตรวจระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 122 ทั้งในเนื้อตับและในซีรั่ม โดยการศึกษานี้พบว่า ระดับ miR-122 ในเลือดกับระดับ miR-122 ในตับ มีค่าสหสัมพันธ์เท่ากับ 0.461 ($P = 0.0005$) ซึ่งอาจแปลความได้ว่าระดับ miR-122 ในเลือดน่าจะเป็นค่าที่แสดงระดับ miR-122 ในตับได้ แต่อย่างไรก็ตามระดับ miR-122 ทั้งในตับและซีรั่ม ไม่มีสหสัมพันธ์กับข้อมูลทางคลินิกเลย เช่น อายุ น้ำหนัก ดัชนีมวลกาย ค่า LFT หรือค่าไขมันในเลือด สำหรับความสัมพันธ์กับข้อมูลทางพยาธิวิทยาพบว่า ระดับ miR-122 ในตับของกลุ่มที่มีไขมันน้อย (steatosis น้อยกว่าร้อยละ 33) มีค่าน้อยกว่าในกลุ่มที่มีไขมันมาก (steatosis มากกว่าร้อยละ 33) แต่สำหรับการประเมินโดยใช้ NAFLD activity score (NAS) พบว่า ระดับ miR-122 ในซีรั่มและในตับไม่มีสหสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับ NAS ซึ่งต่างจากการศึกษาก่อน ซึ่งอาจเป็นจากการที่การศึกษานี้ ผู้ป่วยส่วนใหญ่มีการอักเสบของตับน้อย ซึ่งอาจส่งผลต่อการหาความสัมพันธ์ได้ สำหรับปริมาณพังผืดในตับนั้น พบว่าระดับ miR-122 ทั้งในตับและซีรั่มของกลุ่มที่มีพังผืดน้อย (F0-F1) มีค่ามากกว่ากลุ่มที่มีพังผืดมาก (F2-F4) อย่างมีนัยสำคัญ และระดับmiR-122 ทั้งในตับและซีรั่มยังมีสหสัมพันธ์ที่มีนัยสำคัญกับระดับพังผืดใน นอกจากนี้การศึกษานี้ยังพบว่าค่า miR-122 ในซีรั่ม มี AUROC ในการแบ่งระยะของพังผืดในตับเท่ากับ 0.82 ซึ่งเป็นข้อมูลที่อาจนำไปใช้เป็นเครื่องมือที่ช่วยในการประเมินระดับพังผืดของตับในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันได้[57]

miR-15b จัดอยู่ใน miR-15 superfamily ซึ่งเป็นที่ชัดเจนแล้วว่า miR-15b เป็นตัวควบคุมกระบวนการต่าง ๆ ในเซลล์เช่นการแบ่งตัว หรือเมตาบอลิสม โดย

การศึกษาของ Zhang และคณะได้ตรวจเลือดจากผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันจำนวน 69 รายและคนที่แข็งแรงดีจำนวน 42 ราย พบว่าระดับ miR-15b ในซีรั่มผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันสูงกว่าคนสุขภาพแข็งแรงอย่างมีนัยสำคัญ[58]

สรุป

การค้นพบและการศึกษาไมโครอาร์เอ็นเอที่มากขึ้นในปัจจุบันทำให้เราเข้าใจพยาธิกำเนิดของโรคต่าง ๆ มากขึ้น โดยเฉพาะโรคตับคั่งไขมัน ซึ่งไมโครอาร์เอ็นเอมีส่วนในการก่อให้เกิดพยาธิสภาพต่าง ๆ เช่น การสะสมและการเมตาบอลิสมของไขมันในตับที่ผิดปกติ การเกิดการอักเสบหรือการตายของเซลล์ตับ หรือการเกิดพังผืดในตับ นอกจากนี้ข้อมูลของไมโครอาร์เอ็นเอแต่ละชนิดอาจสามารถนำมาต่อยอดเพื่อนำมาใช้ในทางคลินิกได้เช่น การใช้เป็นเครื่องมือในการวินิจฉัยการอักเสบหรือพังผืดในตับเป็นต้น รวมทั้งพัฒนาการรักษาโรคตับคั่งไขมันด้วย ซึ่งคงต้องรอการศึกษาต่าง ๆ ในอนาคตต่อไป

อ้างอิง

1. Lewis JR, Mohanty SR. Nonalcoholic fatty liver disease: a review and update. Dig Dis Sci 2010 Mar; 55(3): 560 - 78
2. Reid AE. Nonalcoholic steatohepatitis. Gastroenterology 2001 Sep ;121(3): 710 - 23
3. Neuschwander-Tetri BA, Caldwell SH. Nonalcoholic steatohepatitis: summary of an AASLD Single Topic Conference. Hepatology 2003 May; 37(5): 1202 - 19
4. Kladchareon N, Treeprasertsuk S, Mahachai V, Wilairatana P, Kullavanijaya P. The prevalence of nonalcoholic steatohepatitis in Thai patients with non-HBV, non-HCV chronic hepatitis. J Med Assoc Thai 2004 Sep;87 Suppl 2: S29 - 34
5. Bugianesi E, Leone N, Vanni E, Marchesini G, Brunello F, Carucci P, Musso A, De Paolis P, Capussotti L, Salizzoni M, et al. Expanding the natural history of nonalcoholic steatohepatitis: from cryptogenic cirrhosis to hepatocellular carcinoma. Gastroenterology 2002 Jul; 123(1): 134 - 40
6. Caldwell SH, Crespo DM. The spectrum expanded: cryptogenic cirrhosis and the natural history of non-alcoholic fatty liver disease. J Hepatol 2004 Apr; 40(4): 578 - 84
7. Vernon G, Baranova A, Younossi ZM. Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults. Aliment Pharmacol Ther 2011 Aug; 34(3): 274 - 85
8. Musso G. The Finnish Diabetes Risk Score (FINDRISC) and other non-invasive scores for screening of hepatic steatosis and associated cardiometabolic risk. Ann Med 2011; 43(6): 413 -7
9. Edmison J, McCullough AJ. Pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis: human data. Clin Liver Dis 2007 Feb; 11(1): 75 - 104
10. Utzschneider KM, Kahn SE. Review: The role of insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease. J Clin Endocrinol Metab 2006 Dec; 91(12): 4753 - 61
11. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Diehl AM, Brunt EM, Cusi K, Charlton M, Sanyal AJ. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: practice guideline by the American Gastroenterological Association, American Association for the Study of Liver Diseases, and American College of Gastroenterology. Gastroenterology

2012 Jun; 142(7): 1592 - 609

12. Yasui K, Hashimoto E, Komorizono Y, Koike K, Arii S, Imai Y, Shima T, Kanbara Y, Saibara T, Mori T, et al. Characteristics of patients with nonalcoholic steatohepatitis who develop hepatocellular carcinoma. Clin Gastroenterol Hepatol 2011 May; 9(5): 428 - 33
13. Rottiers V, Naar AM. MicroRNAs in metabolism and metabolic disorders. Nat Rev Mol Cell Biol 2012 Apr; 13(4): 239 - 50
14. Wang XW, Heegaard NH, Orum H. MicroRNAs in liver disease. Gastroenterology 2012 Jun; 142(7): 1431 - 43
15. Bala S, Marcos M, Szabo G. Emerging role of microRNAs in liver diseases. World J Gastroenterol 2009 Dec; 15(45): 5633 - 40
16. Ceccarelli S, Panera N, Gnani D, Nobili V. Dual Role of MicroRNAs in NAFLD. Int J MolSci 2013; 14(4): 8437 - 55
17. Blondal T, Jensby NS, Baker A, Andreasen D, Mouritzen P, Wrang TM, Dahlsveen IK. Assessing sample and miRNA profile quality in serum and plasma or other biofluids. Methods 2013 Jan;59(1):S1-S6
18. Jin X, Ye YF, Chen SH, Yu CH, Liu J, Li YM. MicroRNA expression pattern in different stages of nonalcoholic fatty liver disease. Dig Liver Dis 2009 Apr; 41(4): 289 - 97
19. Pogribny IP, Starlard-Davenport A, Tryndyak VP, Han T, Ross SA, Rusyn I, Beland FA. Difference in expression of hepatic micro RNAs miR-29c, miR-34a, miR-155, and miR-200b is associated with strain-specific susceptibility to dietary nonalcoholic steatohepatitis in mice. Lab Invest 2010 Oct; 90(10): 1437 - 46
20. Hu J, Xu Y, Hao J, Wang S, Li C, Meng S. MiR-122 in hepatic function and liver diseases. Protein Cell 2012 May;3(5):364-71
21. Norman KL, Sarnow P. Modulation of hepatitis C virus RNA abundance and the isoprenoid biosynthesis pathway by microRNA miR-122 involves distinct mechanisms. J Virol 2010 Jan; 84(1): 666 - 70
22. Krutzfeldt J, Rajewsky N, Braich R, Rajeev KG, Tuschl T, Manoharan M, Stoffel M. Silencing of microRNAs in vivo with 'antagomirs'. Nature 2005 Dec;438(7068):685-9
23. Esau C, Davis S, Murray SF, Yu XX, Pandey SK, Pear M, Watts L, Booten SL, Graham M, McKay R, et al. miR-122 regulation of lipid metabolism revealed by in vivo antisense targeting. Cell Metab 2006 Feb; 3(2): 87 - 98
24. Elmen J, Lindow M, Silahtaroglu A, Bak M, Christensen M, Lind-Thomsen A, Hedtjarn M, Hansen JB, Hansen HF, Straarup EM, et al. Antagonism of microRNA-122 in mice by systemically administered LNA-antimiR leads to up-regulation of a large set of predicted target mRNAs in the liver. Nucleic Acids Res 2008 Mar; 36(4): 1153 - 62
25. Hsu SH, Wang B, Kota J, Yu J, Costinean S, Kutay H, Yu L, Bai S, La Perle K, Chivukula RR, et al. Essential metabolic, anti-inflammatory, and anti-tumorigenic functions of miR-122 in liver. J Clin Invest 2012 Aug; 122(8): 2871 - 83
26. Tsai WC, Hsu SD, Hsu CS, Lai TC, Chen SJ, Shen R, Huang Y, Chen HC, Lee CH, Tsai TF, et al. MicroRNA-122 plays a critical role

in liver homeostasis and hepatocarcinogenesis. J Clin Invest 2012 Aug; 122(8): 2884 - 97

27. Horton JD, Goldstein JL, Brown MS. SREBPs: activators of the complete program of cholesterol and fatty acid synthesis in the liver. J Clin Invest 2002 May; 109(9): 1125 - 31
28. Tang C, Oram JF. The cell cholesterol exporter ABCA1 as a protector from cardiovascular disease and diabetes. Biochim Biophys Acta 2009 Jul; 1791(7): 563-72
29. Rayner KJ, Suarez Y, Davalos A, Parathath S, Fitzgerald ML, Tamehiro N, Fisher EA, Moore KJ, Fernandez-Hernando C. MiR-33 contributes to the regulation of cholesterol homeostasis. Science 2010 Jun; 328(5985): 1570 - 3
30. Rayner KJ, Sheedy FJ, Esau CC, Hussain FN, Temel RE, Parathath S, van Gils JM, Rayner AJ, Chang AN, Suarez Y, et al. Antagonism of miR-33 in mice promotes reverse cholesterol transport and regression of atherosclerosis. J Clin Invest 2011 Jul; 121(7): 2921 - 31
31. Brown MS, Ye J, Goldstein JL. Medicine. HDL miR-ed down by SREBP introns. Science 2010 Jun; 328(5985): 1495 - 6
32. Rayner KJ, Esau CC, Hussain FN, McDaniel AL, Marshall SM, van Gils JM, Ray TD, Sheedy FJ, Goedeke L, Liu X, et al. Inhibition of miR-33a/b in non-human primates raises plasma HDL and lowers VLDL triglycerides. Nature 2011 Oct; 478(7369): 404 - 7
33. Ramirez CM, Davalos A, Goedeke L, Salerno AG, Warrier N, Cirera-Salinas D, Suarez Y, Fernandez-Hernando C. MicroRNA-758 regulates cholesterol efflux through posttranscriptional repression of ATP-binding cassette transporter A1. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2011 Nov; 31(11): 2707 - 14
34. Kim J, Yoon H, Ramirez CM, Lee SM, Hoe HS, Fernandez-Hernando C, Kim J. MiR-106b impairs cholesterol efflux and increases Abeta levels by repressing ABCA1 expression. Exp Neurol 2012 Jun; 235(2): 476 - 83
35. Zheng L, Lv GC, Sheng J, Yang YD. Effect of miRNA-10b in regulating cellular steatosis level by targeting PPAR-alpha expression, a novel mechanism for the pathogenesis of NAFLD. J Gastroenterol Hepatol 2010 Jan; 25(1): 156 - 63
36. Wong MY, Yu Y, Walsh WR, Yang JL. microRNA-34 family and treatment of cancers with mutant or wild-type p53 (Review). Int J Oncol 2011 May; 38(5): 1189 - 95
37. Chen F, Hu SJ. Effect of microRNA-34a in cell cycle, differentiation, and apoptosis: a review. J Biochem Mol Toxicol 2012 Feb; 26(2): 79 - 86
38. Castro RE, Ferreira DM, Afonso MB, Borralho PM, Machado MV, Cortez-Pinto H, Rodrigues CM. miR-34a/SIRT1/p53 is suppressed by ursodeoxycholic acid in the rat liver and activated by disease severity in human non-alcoholic fatty liver disease. J Hepatol 2013 Jan; 58(1): 119-25
39. Min HK, Kapoor A, Fuchs M, Mirshahi F, Zhou H, Maher J, Kellum J, Warnick R, Contos MJ,

Sanyal AJ. Increased hepatic synthesis and dysregulation of cholesterol metabolism is associated with the severity of nonalcoholic fatty liver disease. Cell Metab 2012 May; 15(5): 665 - 74

40. Li N, Muthusamy S, Liang R, Sarojini H, Wang E. Increased expression of miR-34a and miR-93 in rat liver during aging, and their impact on the expression of Mgst1 and Sirt1. Mech Ageing Dev 2011 Mar; 132(3): 75 - 85
41. Ortega FJ, Mercader JM, Catalan V, Moreno-Navarrete JM, Pueyo N, Sabater M, Gomez-Ambrosi J, Anglada R, Fernandez-Formoso JA, Ricart W, et al. Targeting the circulating microRNA signature of obesity. Clin Chem 2013 May; 59(5): 781 - 92
42. Kong L, Zhu J, Han W, Jiang X, Xu M, Zhao Y, Dong Q, Pang Z, Guan Q, Gao L, et al. Significance of serum microRNAs in pre-diabetes and newly diagnosed type 2 diabetes: a clinical study. Acta Diabetol 2011 Mar; 48(1): 61 - 9
43. Cermelli S, Ruggieri A, Marrero JA, Ioannou GN, Beretta L. Circulating microRNAs in patients with chronic hepatitis C and non-alcoholic fatty liver disease. PLoS One 2011;6(8): e23937
44. Potente M, Dimmeler S. Emerging roles of SIRT1 in vascular endothelial homeostasis. Cell Cycle 2008 Jul; 7(14): 2117 - 22
45. Tangkijvanich P, Yee HF Jr. Cirrhosis—can we reverse hepatic fibrosis? Eur J Surg Suppl 2002; (587):100 - 12
46. Friedman SL. Mechanisms of hepatic fibrogenesis. Gastroenterology 2008 May; 134(6): 1655 -69
47. Roderburg C, Urban GW, Bettermann K, Vucur M, Zimmermann H, Schmidt S, Janssen J, Koppe C, Knolle P, Castoldi M, et al. Micro-RNA profiling reveals a role for miR-29 in human and murine liver fibrosis. Hepatology 2011 Jan; 53(1): 209 - 18
48. Iizuka M, Ogawa T, Enomoto M, Motoyama H, Yoshizato K, Ikeda K, Kawada N. Induction of microRNA-214-5p in human and rodent liver fibrosis. Fibrogenesis Tissue Repair 2012; 5(1): 12
49. Ji J, Zhang J, Huang G, Qian J, Wang X, Mei S. Over-expressed microRNA-27a and 27b influence fat accumulation and cell proliferation during rat hepatic stellate cell activation. FEBS Lett 2009 Feb; 583(4): 759-66
50. Venugopal SK, Jiang J, Kim TH, Li Y, Wang SS, Torok NJ, Wu J, Zern MA. Liver fibrosis causes downregulation of miRNA-150 and miRNA-194 in hepatic stellate cells, and their overexpression causes decreased stellate cell activation. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 2010 Jan; 298(1): G101 - 6
51. Ogawa T, Iizuka M, Sekiya Y, Yoshizato K, Ikeda K, Kawada N. Suppression of type I collagen production by microRNA-29b in cultured human stellate cells. BiochemBiophys Res Commun 2010 Jan; 391(1): 316-21
52. Guo CJ, Pan Q, Jiang B, Chen GY, Li DG. Effects of upregulated expression of microRNA-16 on biological properties of culture-activated hepatic stellate cells. Apoptosis 2009 Nov;

14(11):1331-40

53. Guo CJ, Pan Q, Cheng T, Jiang B, Chen GY, Li DG. Changes in microRNAs associated with hepatic stellate cell activation status identify signaling pathways. FEBS J 2009 Sep; 276(18): 5163 - 76
54. He Y, Huang C, Sun X, Long XR, Lv XW, Li J. MicroRNA-146a modulates TGF-beta1-induced hepatic stellate cell proliferation by targeting SMAD4. Cell Signal 2012 Oct; 24(10):1923-30
55. Maubach G, Lim MC, Chen J, Yang H, Zhuo L. miRNA studies in in vitro and in vivo activated hepatic stellate cells. World J Gastroenterol 2011 Jun;17(22):2748-73
56. Yamada H, Suzuki K, Ichino N, Ando Y, Sawada A, Osakabe K, Sugimoto K, Ohashi K, Teradaira R, Inoue T, et al. Associations between circulating microRNAs (miR-21, miR-34a, miR-122 and miR-451) and non-alcoholic fatty liver. Clin Chim Acta 2013 Sep; 424: 99 - 103
57. Miyaaki H, Ichikawa T, Kamo Y, Taura N, Honda T, Shibata H, Milazzo M, Fornari F, Gramantieri L, Bolondi L, et al. Significance of serum and hepatic microRNA-122 levels in patients with non-alcoholic fatty liver disease. Liver Int 2013 Dec 7. doi: 10.1111/liv.12429
58. Zhang Y, Cheng X, Lu Z, Wang J, Chen H, Fan W, Gao X, Lu D. Upregulation of miR-15b in NAFLD models and in the serum of patients with fatty liver disease. Diabetes Res Clin Pract 2013 Mar; 99(3):327-34