การหาความสัมพันธ์ของยีนเด่นที่ทำให้เกิดโรคมะเร็งปอดและยาที่เกี่ยวข้อง

Discovering the Relevance of Gene Signature of Lung Cancer and Drugs

[1]เตือนจิต สุทธหลวง และ [2]นิลุบล คุรุบรรเจิดจิต

สำนักวิชาเทคโนโลยีสารสนเทศ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

[1]E-Mail: ternchit@mfu.ac.th [2]E-Mail: nilubon.kur@mfu.ac.th

บทคัดย่อ

มะเร็งปอดพบได้มากและเป็นสาเหตุการตายอันดับต้น ๆ ทั้งในระดับประเทศและทั่วโลก เป็นโรคที่เกิดจากยีนในเซลล์ปกติของปอดมีการทำงานผิดปกติจนทำให้เซลล์ปกติกลายเป็นเซลล์มะเร็ง การรักษามะเร็งปอดด้วยยาเคมีบำบัด (Chemotherapy) เป็นการควบคุม หรือยับยั้ง หรือหยุดการทำงานของยีนก่อมะเร็งในเซลล์มะเร็งนั้น การหาความสัมพันธ์ของลายเซ็นยีน (Gene Signature) ที่ทำให้เกิดโรคมะเร็งปอด และยาที่เกี่ยวข้อง จะทำให้สามารถยืนยันยาที่ใช้รักษาในปัจจุบัน และเกิดการค้นพบยาใหม่ ๆ ที่สามารถนำมารักษาผู้ป่วยมะเร็งปอดได้ บทความนี้จึงนำเสนอวิธีการหาความสัมพันธ์ของลายเซ็นยีนที่ทำให้เกิดโรคมะเร็งปอด และกระบวนการค้นหาสารประกอบทางยาที่มีผลควบคุม ยับยั้ง หรือหยุดการทำงานของยีนในเซลล์มะเร็งปอดเหล่านั้น จุดประสงค์ของบทความนี้ เพื่อนำเสนอตัวยาใหม่ ๆ ที่อาจยังไม่มีการค้นพบมาก่อนว่าสามารถรักษาโรคมะเร็งปอดได้ เพื่อเป็นข้อมูลที่ผู้ที่เกี่ยวข้องสามารถนำไปใช้ประโยชน์ต่อไปได้

คำสำคัญ: ยีน, มะเร็งปอด, ยา, ยีนก่อมะเร็ง, ลายเซ็นยีน, ตัวตรวจสอบ

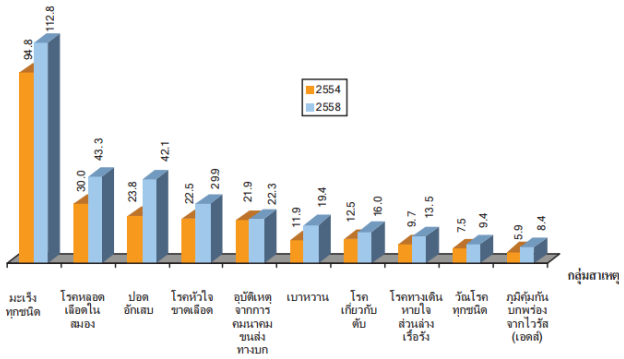
Abstract

Both nationally and globally, Lung cancer is one of the common and the leading cause of death. The disease is caused by the malfunction of genes in the normal lung cells. Chemotherapy is one type of treatment used to control or inhibit or stop the carcinogenic activity of cancer cells. The relevance of gene signature lung cancer and drug will make it possible to prescribe current medications and discover the new drugs. This article presents how to find gene signatures of lung cancer. Also, how to find drugs that can control gene expression in those lung cancer cells. The purpose of this article is to suggest new drugs of lung cancer that may not have been discovered before. This is the information that the relevant people can take advantage of.

Keyword: gene, lung cancer, drug, oncogene, gene signature, probe

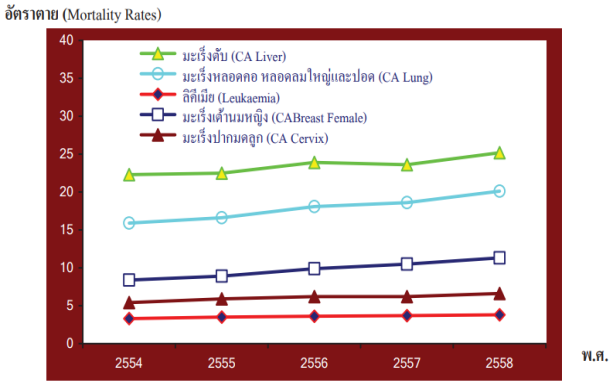
1. บทนำ

มะเร็งปอดเป็นสาเหตุการตายที่สำคัญของกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งทั่วโลก ในปี พ.ศ. 2557 ได้มีการเก็บสถิติจำนวนผู้ป่วยด้วยโรคมะเร็งปอดในประเทศสหรัฐอเมริกา พบว่า มีจำนวนผู้ป่วย 224,210 ราย และในจำนวนนี้ได้เสียชีวิตแล้วเป็นจำนวน 159,260 คน [6] เช่นเดียวกัน ในประเทศไทยมีผู้เสียชีวิตด้วยสาเหตุโรคมะเร็งเป็นจำนวนมาก จากผลสำรวจจำนวนการตาย จำแนกตามสาเหตุการตายทั่วราชอาณาจักร พ.ศ.2554 และ พ.ศ.2558 ของสำนักงานปลัดกระทรวงสาธารณสุข กระทรวงสาธารณสุข พบอัตราการเสียชีวิตจากโรคมะเร็งเฉลี่ย 207.6 คน ต่อประชากร 100,000 คน นับเป็นจำนวนมากที่สุดเมื่อเทียบกับโรคอื่น ๆ ดังแสดงในรูปที่ 1.1 [4]



รูปที่ 1.1 อัตราการตาย จำแนกตามสาเหตุที่สำคัญ ต่อประชากร 100,000 คน ประเทศไทย พ.ศ.2554 และ พ.ศ.2558 [4]

เมื่อสำรวจลึกลงไปเฉพาะในกลุ่มผู้ป่วยโรคมะเร็ง พบว่า มะเร็งปอด มีจำนวนผู้เสียชีวิตเป็นอันดับสองของกลุ่มโรคมะเร็ง ดังแสดงในรูปที่ 1.2 [4] สอดคล้องกันกับรายงานประจำปีของโรงพยาบาลรามาธิบดี ซึ่งทำการสำรวจผู้ป่วยของโรงพยาบาล พบว่า ในปีพ.ศ. 2557 มีผู้ป่วยมะเร็งปอดเข้ารับการรักษามากเป็นอันดับ 2 รองจากมะเร็งต่อมลูกหมากในเพศชาย และเป็นอันดับ 4 ในเพศหญิง รองจากมะเร็งเต้านม มะเร็งต่อมไทรอยด์ และมะเร็งปากมดลูก ตามลำดับ [5] ดังนั้นมะเร็งปอดจึงนับเป็นปัญหาสำคัญของโลก และของประเทศไทย ซึ่งต้องเร่งหาตัวยาที่มีผลต่อการรักษา



รูปที่ 1.2 อัตราตาย จำแนกตามกลุ่มโรคมะเร็ง ต่อประชากร 100,000 คน ประเทศไทย พ.ศ.2554-2558 [4]

มะเร็งปอดเกิดจากการที่ยีนในเซลล์ปอดทำงานผิดปกติ จนทำให้เซลล์ปกตินั้นกลายเป็นเซลล์มะเร็ง และในทางวิทยาศาสตร์ชีวภาพ ยีนที่มีลักษณะเฉพาะเหมือนกันจะถูกจัดกลุ่มไว้ในลายเซ็นยีนเดียวกัน

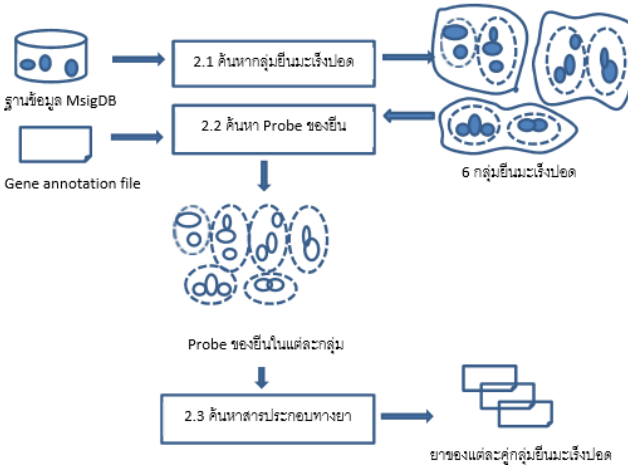
บทความนี้มีจุดมุ่งหมายที่จะนำเสนอวิธีการหาความสัมพันธ์ของลายเซ็นยีน (Gene Signature) ที่ทำให้เกิดโรคมะเร็งปอด และค้นหาสารประกอบทางยาที่มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งปอด โดยวิธีการอ้างอิงฐานข้อมูลการค้นพบชุดยีนที่ทำให้เกิดเซลล์มะเร็งปอด ฐานข้อมูลผลการทดลองทางการแพทย์เกี่ยวกับการทดสอบสารประกอบทางยาที่มีผลต่อการทำงานของยีนในเซลล์มะเร็งปอด รวมถึงโปรแกรมวิเคราะห์อัตราการยับยั้งการทำงานของยีนในเซลล์มะเร็งปอดที่เกิดจากการทำงานของสารประกอบทางยา ซึ่งเป็นโปรแกรมที่พัฒนาขึ้นมาเพื่อวงการแพทย์และนักวิจัยรวมถึงผู้ที่ต้องการใช้ประโยชน์ และได้รับสนับสนุนจากหน่วยงานการศึกษาชั้นนำระดับนานาชาติ [1] [2] [3]

2. รูปแบบวิธีการหาความสัมพันธ์

เป็นการค้นหาเชิงทดลองและเชิงวิเคราะห์ โดยอ้างอิงข้อมูลผลการทดลองและโปรแกรมวิเคราะห์ทางการแพทย์

ที่เปิดเผยต่อสาธารณชน และยอมรับทั่วโลกมาประมวลผลร่วมในบางขั้นตอน ดังรูปที่ 2.1

จากรูปที่ 2.1 การค้นหาเริ่มต้นจากศึกษาฐานข้อมูล Molecular Signatures (MSigDB v6.0) ซึ่งเป็นฐานข้อมูลกลุ่มยีนที่มีคำอธิบายประกอบ ฐานข้อมูลนี้ได้รับการสนับสนุนการจัดทำโดย 3 สถาบันทางการแพทย์ของประเทศสหรัฐอเมริกา ได้แก่ 1) สถาบันมะเร็งแห่งชาติ (National Cancer Institute) หรือ NCI ซึ่งมีที่ตั้งอยู่ที่เมืองร็อกวิลล์ (Rockville) ประเทศสหรัฐอเมริกา 2) สถาบันสุขภาพแห่งชาติ (National Institutes of Health) หรือ NIH ซึ่งมีที่ตั้งอยู่ที่ Bethesda เมืองแมริแลนด์ ซึ่งอยู่ทางตอนเหนือของวอชิงตัน ประเทศสหรัฐอเมริกา และ 3) สถาบันวิทยาศาสตร์การแพทย์แห่งชาติ (national institute of general medical sciences) หรือ NIGMS ซึ่งมีที่ตั้งอยู่ที่ Bethesda เมืองแมริแลนด์ ประเทศสหรัฐอเมริกาเช่นกัน [1] วัตถุประสงค์ของการสร้างฐานข้อมูลนี้เพื่อรวบรวมข้อมูลยีนทุกชนิดและใช้เป็นข้อมูลนำเข้าของโปรแกรม Gene Set Enrichment Analysis หรือ GSEA จึงเปิดเผยฐานข้อมูลและโปรแกรมนี้ สู่สาธารณชนเพื่อเป็นประโยชน์ต่อวงการแพทย์และนักวิจัยรวมถึงผู้ที่ต้องการใช้ประโยชน์ [1] ซึ่งในบทความนี้เลือกใช้ประโยชน์จากบางส่วนของฐานข้อมูลเท่านั้น

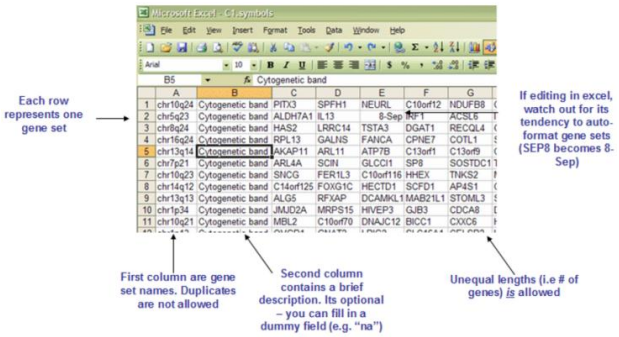


รูปที่ 2.1 รูปแบบวิธีการค้นหา

2.1 ค้นหา กลุ่มยีนมะเร็งปอด

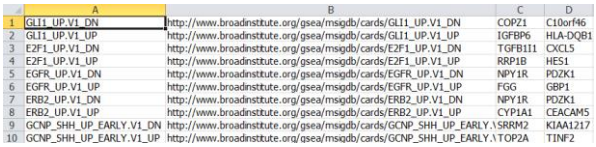
เนื่องจากฐานข้อมูล MSigDB v 6.0 ประกอบด้วยข้อมูลยีนทั้งหมด 8 ชุด (Collections) และบทความนี้เน้นศึกษาเฉพาะยีนที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคมะเร็งเท่านั้น จึงเลือกเฉพาะยีนชุดที่ 6 ซึ่งเป็นชุดข้อมูลที่ได้มาจากการทดสอบยีนในเซลล์มะเร็งของมนุษย์ที่เพาะเลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Microarray แล้วพบว่าทำให้เกิดโรคมะเร็งต่าง ๆ [1]

ยีนชุดที่ 6 มีชื่อเรียกว่า C6 Oncogenic Signatures หรือ Oncogenic Gene Sets เป็นชุดลายเซ็นยีน (Gene Signature) ประเภทยีนก่อมะเร็ง (Oncogene) [1][28] สามารถ ดาวน์โหลดในรูปแบบไฟล์นามสกุล .gmt ได้ในชื่อไฟล์ c6.all.v6.0.symbols.gmt ซึ่ง .gmt ย่อมาจาก Gene Matrix Transposed เป็นรูปแบบหนึ่งของฐานข้อมูลยีน [1] สามารถเปิดอ่านได้ด้วยโปรแกรม Microsoft Excel และมีโครงสร้างการเก็บข้อมูล ดังรูปที่ 2.2



รูปที่ 2.2 โครงสร้างไฟล์นามสกุล .gmt [1]

ภายในแฟ้มยีนชุดที่ 6 ประกอบด้วยข้อมูล 189 บรรทัด แต่ละบรรทัดเรียกว่าหนึ่งลายเซ็นของยีน (One Gene Signature) ซึ่งมีโครงสร้าง คอลัมน์ที่ 1 เป็นชื่อลายเซ็น (Gene Signature Name) ส่วนคอลัมน์ที่ 2 เป็นที่อยู่ของคำอธิบายเกี่ยวกับลายเซ็นนี้ (url) และตั้งแต่คอลัมน์ที่ 3 เป็นต้นไปคือชื่อของยีน (Gene Symbol) ที่อยู่ในลายเซ็นนี้ โดยแต่ละลายเซ็นสามารถมีจำนวนยีนที่แตกต่างกันได้ ข้อมูลที่ดาวน์โหลดมาแสดงดังรูปที่ 2.2a



	A	B	C	D
1	GLI1_UP.V1_DN	http://www.broadinstitute.org/gsea/msigdb/cards/GLI1_UP.V1_DN	COPZ1	C10orf46
2	GLI1_UP.V1_UP	http://www.broadinstitute.org/gsea/msigdb/cards/GLI1_UP.V1_UP	IGFBP6	HLA-DQB1
3	E2F1_UP.V1_DN	http://www.broadinstitute.org/gsea/msigdb/cards/E2F1_UP.V1_DN	TGFB111	CXCL5
4	E2F1_UP.V1_UP	http://www.broadinstitute.org/gsea/msigdb/cards/E2F1_UP.V1_UP	RRP1B	HES1
5	EGFR_UP.V1_DN	http://www.broadinstitute.org/gsea/msigdb/cards/EGFR_UP.V1_DN	NPY1R	PDZK1
6	EGFR_UP.V1_UP	http://www.broadinstitute.org/gsea/msigdb/cards/EGFR_UP.V1_UP	FGG	GBP1
7	ERB2_UP.V1_DN	http://www.broadinstitute.org/gsea/msigdb/cards/ERB2_UP.V1_DN	NPY1R	PDZK1
8	ERB2_UP.V1_UP	http://www.broadinstitute.org/gsea/msigdb/cards/ERB2_UP.V1_UP	CYP1A1	CEACAM5
9	GCNP_SHH_UP_EARLY.V1_DN	http://www.broadinstitute.org/gsea/msigdb/cards/GCNP_SHH_UP_EARLY.\	SRRM2	KIAA1217
10	GCNP_SHH_UP_EARLY.V1_UP	http://www.broadinstitute.org/gsea/msigdb/cards/GCNP_SHH_UP_EARLY.\	TOP2A	TINF2

…



	A	B	C	D
176	KRAS.600.LUNG.BREAST_UP.V1_I	http://www.broadinstitute.org/gsea/msigdb/cards/KRAS.600.LUNG.BREAS	LY6D	KRT13
177	KRAS.600.LUNG.BREAST_UP.V1_I	http://www.broadinstitute.org/gsea/msigdb/cards/KRAS.600.LUNG.BREAS	IL1RL1	IL13RA2
178	KRAS.BREAST_UP.V1_DN	http://www.broadinstitute.org/gsea/msigdb/cards/KRAS.BREAST_UP.V1_D	PAQR6	ABCB1
179	KRAS.BREAST_UP.V1_UP	http://www.broadinstitute.org/gsea/msigdb/cards/KRAS.BREAST_UP.V1_U	IL1RL1	IGFBP3
180	KRAS.KIDNEY_UP.V1_DN	http://www.broadinstitute.org/gsea/msigdb/cards/KRAS.KIDNEY_UP.V1_D	TREM2	NPPB
181	KRAS.KIDNEY_UP.V1_UP	http://www.broadinstitute.org/gsea/msigdb/cards/KRAS.KIDNEY_UP.V1_U	FGF9	CDR1
182	KRAS.LUNG_UP.V1_DN	http://www.broadinstitute.org/gsea/msigdb/cards/KRAS.LUNG_UP.V1_DN	LY6D	S100A7
183	KRAS.LUNG_UP.V1_UP	http://www.broadinstitute.org/gsea/msigdb/cards/KRAS.LUNG_UP.V1_UP	IL13RA2	CXCL5
184	KRAS.LUNG.BREAST_UP.V1_DN	http://www.broadinstitute.org/gsea/msigdb/cards/KRAS.LUNG.BREAST_UP	LY6D	KRT13
185	KRAS.LUNG.BREAST_UP.V1_UP	http://www.broadinstitute.org/gsea/msigdb/cards/KRAS.LUNG.BREAST_UP	IL1RL1	IL13RA2
186	KRAS.PROSTATE_UP.V1_DN	http://www.broadinstitute.org/gsea/msigdb/cards/KRAS.PROSTATE_UP.V1	RRAD	SPRR1A
187	KRAS.PROSTATE_UP.V1_UP	http://www.broadinstitute.org/gsea/msigdb/cards/KRAS.PROSTATE_UP.V1	APOBEC3C	NES
188	LEF1_UP.V1_DN	http://www.broadinstitute.org/gsea/msigdb/cards/LEF1_UP.V1_DN	AGR2	ID3
189	LEF1_UP.V1_UP	http://www.broadinstitute.org/gsea/msigdb/cards/LEF1_UP.V1_UP	RBP1	NELL2
190				

รูปที่ 2.2a ข้อมูล C6 oncogenic gene sets

ข้อมูลส่วนใหญ่ในแฟ้มข้อมูล c6.all.v6.0.symbols.gmt มาจากข้อมูล Microarray ของศูนย์ข้อมูลเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (National Center for Biotechnology Information) [1][7] ซึ่งเป็นแหล่งฐานข้อมูลทางชีวภาพและพันธุกรรมที่สำคัญของประเทศสหรัฐอเมริกา

เนื่องจากแฟ้มข้อมูล c6.all.v6.0.symbols.gmt นี้เป็นแฟ้มชุดยีนที่เก็บข้อมูลลายเซ็นของยีนในเซลล์ที่ไม่ปกติในมะเร็งหลากหลายชนิด แต่บทความนี้มุ่งเน้นเฉพาะมะเร็งปอด จึงได้ทำการสกัดเฉพาะลายเซ็นของยีนมะเร็งปอดออกมา โดยพบว่า มี 6 ลายเซ็น โดยมีชื่อลายเซ็นดังต่อไปนี้

KRAS.AMP.LUNG_UP.V1_DN,
KRAS.AMP.LUNG_UP.V1_UP,
KRAS.600.LUNG.BREAST_UP.V1_DN,
KRAS.600.LUNG.BREAST_UP.V1_UP,
KRAS.LUNG_UP.V1_DN, และ
KRAS.LUNG_UP.V1_UP ตามลำดับ ทั้งนี้การจัดกลุ่มลายเซ็นของยีน จัดตามการแสดงออกของยีน เมื่อถูกกระตุ้นด้วยการแสดงออกของยีน KRAS (Onco-Gene) ดังแสดงในตารางที่ 2.1 [1]

ตารางที่ 2.1 ความหมายและจำนวนยีน ในแต่ละลายเซ็นยีน

คู่ที่	ชื่อลายเซ็นยีน	คำอธิบาย	จำนวนยีน
1	KRAS.AMP.LUNG_UP.V1_UP	กลุ่มของยีนที่จะแสดงออกมาก (up-regulating) ในเซลล์มะเร็งปอดเป็นผลจากการแสดงออกมาก (over-regulating) ของยีน KRAS (Systematic Name:M2860)	144
	KRAS.AMP.LUNG_UP.V1_DN	กลุ่มของยีนที่จะแสดงออกน้อย (Down-Regulating) ในเซลล์มะเร็งปอดเป็นผลจากการแสดงออกมาก (Over-Regulating) ของยีน KRAS	146
2	KRAS.600.LUNG.BREAST_UP.V1_UP	กลุ่มของยีนที่จะแสดงออกมาก (Up-Regulating) ในเซลล์มะเร็งปอดและเต้านม ซึ่งเป็นผลจากการแสดงออกมากของยีน KRAS (Systematic Name:M2886)	288
	KRAS.600.LUNG.BREAST_UP.V1_DN	กลุ่มของยีนที่จะแสดงออกน้อย (Down-Regulating) ในเซลล์มะเร็งปอดและเต้านม ซึ่งเป็นผลจากการแสดงออกมากของยีน KRAS (Systematic Name:M2885)	288
3	KRAS.LUNG_UP.V1_UP	กลุ่มของยีนที่จะแสดงออกมาก (up-regulating) ในเซลล์มะเร็งปอด ซึ่งเป็นผลจากการแสดงออกมากของยีน KRAS (Systematic Name:M2897)	141
	KRAS.LUNG_UP.V1_DN	กลุ่มของยีนที่จะแสดงออกน้อย (Down-Regulating) ในเซลล์มะเร็งปอด ซึ่งเป็นผลจากการแสดงออกมากของยีน KRAS (Systematic Name:M2893)	145

จาก 6 รายการของข้อมูลในแฟ้ม c6.all.v6.0.symbols.gmt ได้สกัดทั้ง 6 รายการ และนำแต่ละรายการมาเก็บในรูปแบบแฟ้มข้อมูล โดยหนึ่งลายเซ็น คือ หนึ่งแฟ้มข้อมูล ทำให้ได้ผลลัพธ์ทั้งหมด 6 แฟ้มข้อมูล สามารถแสดงให้เห็นตัวอย่างชื่อยีนในแต่ละแฟ้มได้ดังตารางที่ 2.2 ทั้งนี้ หนึ่งคอลัมน์ในตารางหมายถึงหนึ่งแฟ้มลายเซ็น

ตารางที่ 2.2 ตัวอย่างชื่อยีน ในแต่ละ ลายเซ็นยีน

คู่ที่ 1		คู่ที่ 2		คู่ที่ 3	
1.1	1.2	2.1	2.2	3.1	3.2
DBF4B	GPR25	LY6D	IL1RL1	LY6D	IL13RA2
CBL	SPINK1	KRT13	IL13RA2	S100A7	CXCL5
SPAG11A	CD247	MAST3	HSD11B1	IVL	MMP1
ZNF480	NELL2	MEGF8	PPBP	KRT4	IL1RL1
RAG1	TDRD1	ATP6V1B1	SCG5	KLK12	HSD11B1
DGKQ	C8orf59	S100A7	CXCL5	KRT16	CSF3
CXCR2	PNMA3	TM4SF4	MMP10	CDH16	NELL2
FAM164C	NPHS1	EPHX2	MMP1	CALML5	NAV3
ZNF134	EFCAB6	CALML5	CSF3	SPRR3	NPHS1
GP1BA	ZNF835	SYNDIG1	NAV3	LGALS7	MAGEA6

หมายเหตุ 1.1, 1.2, 2.1, 2.2, 3.1, 3.2 หมายถึงลายเซ็นยีน
KRAS.AMP.LUNG_UP.V1_DN,
KRAS.AMP.LUNG_UP.V1_UP,
KRAS.600.LUNG.BREAST_UP.V1_DN,
KRAS.600.LUNG.BREAST_UP.V1_UP,
KRAS.LUNG_UP.V1_DN, และ
KRAS.LUNG_UP.V1_UP ตามลำดับ

เนื่องจากการค้นหาสารประกอบทางยาตามกระบวนการการทำงาน 2.2 ต้องนำเข้าข้อมูลกลุ่มยีนทีละคู่ โดยนำเข้าในรูปแบบ Probe ของยีน ดังนั้นจึงทำการแปลงชื่อยีนในแต่ละลายเซ็นเป็น Probe โดยมีวิธีดำเนินการดังแสดงในหัวข้อ 2.2

2.2 ค้นหา Probe ของแต่ละยีนในแต่ละลายเซ็น

เนื่องด้วย Probe เป็นตัวแทนของยีนในทางวิทยาศาสตร์ชีวภาพ ช่วยให้สามารถแยกแยะ (Identification) และแยกตัว (Isolation) ความเฉพาะเจาะจง (Specific) ของชิ้นส่วนสิ่งมีชีวิตได้ [8] โดย Probe เป็นโมเลกุลเล็ก ๆ เป็นชิ้นส่วนย่อยของ DNA ทำให้สามารถทราบลำดับที่เฉพาะเจาะจงในชิ้นส่วนของสิ่งมีชีวิตได้ [8] ในทางการทดสอบทดลองทางวิทยาศาสตร์จึงอ้างอิงการทดลองทางยีนด้วย Probe ตัวอย่างเช่น ในเว็บไซต์วิเคราะห์ข้อมูลทางชีวรูปที่ชื่อ Connectivity Map หรือเรียกย่อ ๆ ว่า CMap เก็บข้อมูลการถอดรหัสการแสดงออกของการทำงานของยีนจากเซลล์ของมนุษย์ทั่วโลกที่ถูกเพาะเลี้ยงแล้วนำมาทดลองรับการรักษาด้วยโมเลกุลเล็ก ๆ ที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพและผ่านอัลกอริทึมการจับคู่แล้วทำให้ค้นพบความสัมพันธ์ระหว่างยา ยีน และโรค ได้ [3][9][10] ก็ใช้ Probe

เพื่อให้บรรลุวัตถุประสงค์ในการค้นหาสารประกอบทางยาที่สามารถรักษาโรคมะเร็งปอดได้ จึงดำเนินการค้นหา Probe ของยีน ในทั้ง 6 ลายเซ็น เพื่อนำไปเป็นข้อมูลเข้า สำหรับการค้นหาสารประกอบทางยาจากเว็บไซต์ CMap ของสถาบัน MIT และ ฮาวาร์ด มีที่ตั้งอยู่ที่ Cambridge ในรัฐ Massachusetts ของประเทศสหรัฐอเมริกา โดยความดูแลของทีมนักวิจัยทางพันธุวิศวกรรมหลากหลายทีมงาน เช่นจาก MSigDB และอื่น ๆ [3][9]

กระบวนการแปลงชื่อยีนเป็น Probe ทำได้โดยอาศัยข้อมูล Gene Annotation ซึ่งเป็นแฟ้มมาตรฐานสากลที่อ้างอิงกันทั่วโลก สามารถดาวน์โหลดมาได้จากโครงการ Gene Ontology Consortium ซึ่งเป็นโครงการที่ได้รับการสนับสนุนจากสถาบันวิจัยจีโนมมนุษย์แห่งชาติ (National Human Genome Research Institute หรือ NHGRI) [2] ประเทศสหรัฐอเมริกาและAffymetrix (www.affymetrix.com); HG-U133-EA version.

ข้อมูลในแฟ้ม Gene Annotation ที่ดาวน์โหลดลงมา ประกอบด้วยชื่อยีนคู่กับหมายเลข Probe จึงสามารถใช้เป็นข้อมูลตั้งต้นในการดึงหมายเลข Probe ของแต่ละยีนในแต่ละลายเซ็นทั้ง 6 ลายเซ็นยีนมะเร็งปอดออกมาได้ ดังนั้นจากแฟ้มข้อมูลยีนทั้ง 6 ลายเซ็น ในตารางที่ 2.2 สามารถเปลี่ยนเป็นแฟ้มข้อมูล Probe ได้ดังตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 Probe ของยีน ในแต่ละลายเซ็นยีน

คู่ที่ 1		คู่ที่ 2		คู่ที่ 3	
1.1	1.2	2.1	2.2	3.1	3.2
203331_s_at 203332_s_at 203400_s_at 203722_at 204304_s_at 204392_at 204591_at 204683_at 204834_at 204993_at 205065_at	203331_s_at 203332_s_at 203400_s_at 203722_at 204304_s_at 204392_at 204591_at 204683_at 204834_at 204993_at 205065_at	201565_s_at 201566_x_at 201785_at 201909_at 202014_at 202507_s_at 202508_s_at 202643_s_at 202644_s_at 202947_s_at	200986_at 201058_s_at 202269_x_at 202270_at 202575_at 202687_s_at 202688_at 202718_at 202748_at 203045_at	201785_at 203129_s_at 203130_s_at 203413_at 203809_s_at 203821_at 203889_at 204118_at 204337_at 204338_s_at	1438_at 201141_at 202575_at 202687_s_at 202688_at 202718_at 203331_s_at 203332_s_at 203400_s_at 203859_s_at

โดย 1.1, 1.2, 2.1, 2.2, 3.1, 3.2 หมายถึงลายเซ็นยีน KRAS.AMP.LUNG_UP.V1_DN, KRAS.AMP.LUNG_UP.V1_UP, KRAS.600.LUNG.BREAST_UP.V1_DN, KRAS.600.LUNG.BREAST_UP.V1_UP, KRAS.LUNG_UP.V1_DN, และ KRAS.LUNG_UP.V1_UP ตามลำดับ

เมื่อทราบ probe ของยีนแล้วจึงนำเป็นข้อมูลเข้าของโปรแกรม CMAP ได้ โดยนำเข้าทีละคู่ของลายเซ็นยีน ดังแสดงในหัวข้อ2.3

2.3 ค้นหา สารประกอบทางยา

กระบวนการทำงานนี้มีจุดประสงค์เพื่อ ค้นหาสารประกอบทางยาที่มีผลต่อการแสดงออกของยีน ทำให้มีผลต่อการรักษาโรคมะเร็งปอด ด้วยวิธีการคำนวณหาค่าความเชื่อมโยง (Connectivity Score) ระหว่าง โรค ยีน และยา โดยวิธีการนำยีนที่สนใจศึกษา เข้าไปตรวจสอบในฐานข้อมูลการทดสอบทางยาของยีนมนุษย์ที่เพาะเลี้ยงไว้ในห้องทดลองของหน่วยงานทางพันธุกรรมของสหรัฐอเมริกา โดยการทดลองของนักวิจัยในมหาวิทยาลัยชั้นนำและหน่วยงานรัฐบาล ซึ่งได้ทำการทดลองและคำนวณค่าคะแนนความเชื่อมโยงดังกล่าวเก็บไว้เป็นฐานข้อมูลไว้ในอ้างอิงในเว็บไซต์ชื่อ CMap และมีโปรแกรมประยุกต์บนเว็บที่สามารถเรียกใช้ผ่านเครือข่ายระยะไกลได้ทันทีเมื่อต้องการ (Online Real Time Web Application) [3]

บทความนี้ใช้โปรแกรม Connectivity Map (CMap) เวอร์ชันล่าสุด (Build 02) เป็นเครื่องมือในการค้นหาสารประกอบทางยาที่คาดว่าจะสามารถรักษาโรคมะเร็งปอดในคนที่มีสาเหตุจากการทำงานผิดปกติของยีน โดยโปรแกรมนี้เป็นโปรแกรมออนไลน์ที่สามารถใช้ได้ฟรีบนเว็บไซต์ที่พัฒนาขึ้นโดยงานวิจัยของทีมนักวิจัยของสถาบัน MIT มีวัตถุประสงค์เพื่อเป็นเครื่องมือให้แก่นักชีววิทยา โปรแกรมนี้ประกอบด้วย 2 ส่วนหลัก ได้แก่ ส่วนแรกเก็บข้อมูลการแสดงออกของยีนมนุษย์เมื่อได้รับสารประกอบทางยา ซึ่งข้อมูลนี้ได้มาจากการทดลองทางวิทยาศาสตร์ ส่วนที่สองเป็นอัลกอริทึมจับคู่รูปแบบง่าย ๆ (Simple Pattern-Matching Algorithms) ซึ่งองค์ประกอบทั้งสองส่วนนี้เมื่อประมวลผลร่วมกัน จะทำให้ได้ผลลัพธ์เป็นการค้นพบความสัมพันธ์ ระหว่างยา ยีน และโรค โดยพิจารณาจาก การแสดงออกของยีนที่เปลี่ยนไปชั่วคราว [3][9][10]

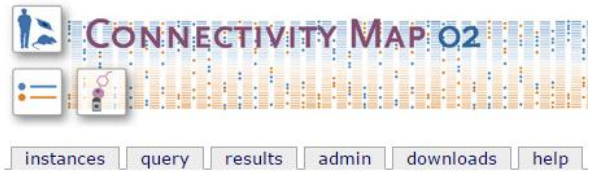
การค้นหาสารประกอบทางยาที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเป็นโรคมะเร็งปอด ทำได้โดย นำเข้าข้อมูลกลุ่มยีนที่มีการทำงานผิดปกติเนื่องจากยีน KRAS ไปกระตุ้นให้เกิดการทำงานที่ผิดปกติของยีนเหล่านี้ อันเป็นสาเหตุให้เซลล์ปกติกลายเป็นเซลล์มะเร็ง โดยนำเข้าทีละคู่ จากตาราง 2.3 โดยคู่แรกคือ KRAS.AMP.LUNG_UP.V1_DN และ KRAS.AMP.LUNG_UP.V1_UP โดยใช้โปรแกรม CMAP ตามรูปที่ 2.3a



รูปที่ 2.3a การนำเข้ากลุ่มยีนคู่ที่ 1

จากรูปที่ 2.3a เป็นการนำเข้าข้อมูลไฟล์ Up และไฟล์ Down ของกลุ่มยีนคู่ที่ 1 และกดปุ่ม Execute Query เพื่อให้โปรแกรมทำการประมวลผลอัลกอริทึมและจับคู่

Probe ของสองกลุ่มยีนที่ใส่เข้าไปกับข้อมูลในฐานข้อมูลของ CMAP หลังจากทำงานเสร็จโปรแกรมจะรายงานผลออกมาใน 2 รูปแบบ รูปแบบที่ 1 เรียกว่า Permuted Results รูปแบบที่ 2 เรียกว่า Detail Results ดังแสดงในรูปที่ 2.3b, 2.3c, 2.3d, 2.3e, 2.3f, และ 2.3g ตามลำดับ



รูปที่ 2.3b การแจ้งประมวลผลกลุ่มยีนคู่ที่ 1 เสร็จเรียบร้อย



รูปที่ 2.3c เมนูแสดงผลลัพธ์กลุ่มยีนคู่ที่ 1 สองรูปแบบ

permuted results

temporary [155274] (21-AUG-17)

total instances: 6100 , *signature:* temporary, *export:* Excel

search:

by name | by name and cell line | by ATC code

rank	cmap name	mean	n	enrichment	p	specificity	% non-null
1	pheneticillin	-0.370	4	-0.839	0.00119	0.0131	50
2	amantadine	-0.362	4	-0.813	0.00229	0.0196	50
3	leflunomide	-0.382	4	-0.807	0.00271	0.0074	50
4	simvastatin	0.290	4	0.722	0.01196	0.0370	50
5	ioversol	0.354	4	0.710	0.01436	0.0000	50
6	buspirone	0.341	4	0.695	0.01810	0.0000	50
7	dydrogesterone	0.305	4	0.686	0.02043	0.0130	50
8	aminophylline	0.308	4	0.657	0.03201	0.0484	50
9	isocarboxazid	0.451	5	0.552	0.05914	0.1065	60
10	TTNPB	-0.165	2	-0.771	0.10324	0.1192	50
11	bucladesine	-0.388	6	-0.465	0.10407	0.0786	50
12	securinine	0.355	4	0.557	0.10605	0.3117	50
13	arachidonic acid	-0.363	3	-0.623	0.11217	0.1603	66
14	dorzolamide	0.341	4	0.542	0.12334	0.0542	50
15	ketoconazole	0.170	4	0.538	0.12891	0.1523	50
16	tetrandrine	-0.333	4	-0.522	0.15324	0.2037	50

รูปที่ 2.3d ผลลัพธ์กลุ่มยีนคู่ที่ 1 แบบ Permuted เรียงลำดับตาม Name

permuted results

temporary [155274] (21-AUG-17)

total instances: 6100 , *signature:* temporary, *export:* Excel

search:

by name | by name and cell line | by ATC code

rank	name and cell line	mean	n	enrichment	p	specificity	% non-null
1	lynestrenol - PC3	-0.797	2	-0.982	0.00070	0.0000	100
2	sulfathiazole - PC3	-0.763	2	-0.976	0.00127	0.0168	100
3	pheneticillin - MCF7	-0.741	2	-0.972	0.00159	0.0000	100
4	wortmannin - PC3	-0.818	2	-0.968	0.00221	0.0753	100
5	pizotifen - MCF7	0.631	2	0.961	0.00262	0.0000	100
6	aminophylline - MCF7	0.615	2	0.961	0.00264	0.0132	100
7	heptaminol - PC3	-0.400	2	-0.949	0.00561	0.0000	50
8	flunixin - PC3	0.319	2	0.944	0.00590	0.0000	50
9	carteolol - MCF7	-0.282	2	-0.946	0.00632	0.0000	50
10	flumetasone - PC3	0.340	2	0.931	0.00891	0.0141	50
11	trimethoprim - MCF7	0.385	2	0.931	0.00915	0.0067	50
12	azacyclonol - MCF7	-0.350	2	-0.923	0.01201	0.0105	50
13	merbromin - MCF7	-0.414	2	-0.922	0.01223	0.0161	50

รูปที่ 2.3e ผลลัพธ์กลุ่มยีนคู่ที่ 1 แบบ permuted เรียงตาม name และ cell line

permuted results

temporary [155274] (21-AUG-17)

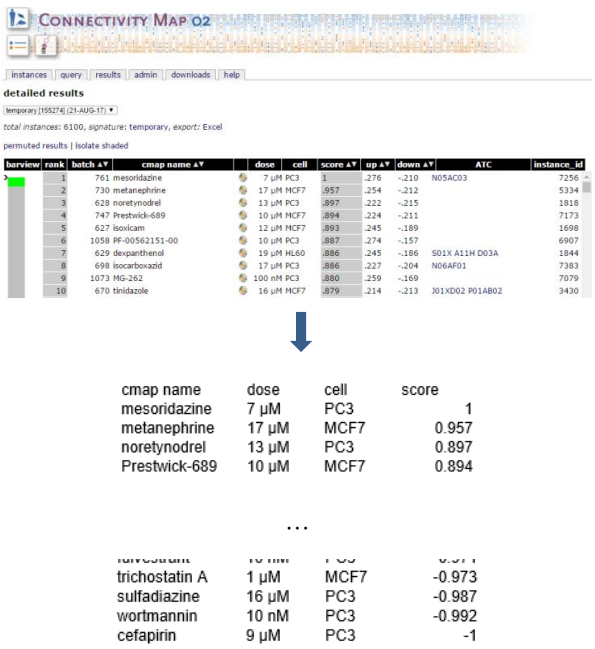
total instances: 6100 , *signature:* temporary, *export:* Excel

search:

by name | by name and cell line | by ATC code

rank	ATC code	mean	n	enrichment	p	specificity	% non-null
1	N04BB	-0.362	4	-0.813	0.00229	0.0196	50
2	N05BE	0.341	4	0.695	0.01810	0.0000	50
3	A04AA	0.326	4	0.470	0.23782	0.4134	50
4	V03AF	-0.120	5	-0.785	---	---	20
5	S01LA	0.000	3	0.768	---	---	0
6	B02BA	0.000	2	0.727	---	---	0
7	A10BX	0.000	4	0.714	---	---	0
8	J01XB	0.000	4	-0.706	---	---	0
9	M03AA	0.000	2	0.682	---	---	0
10	J01XA	0.000	4	-0.678	---	---	0

รูปที่ 2.3f ผลลัพธ์กลุ่มยีนคู่ที่ 1 แบบ Permuted เรียงลำดับตาม ATC Code

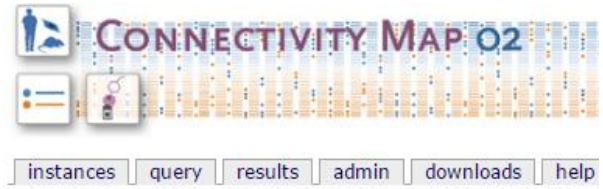


รูปที่ 2.3g ผลลัพธ์กลุ่มยีนคู่ที่ 1 แบบ detailed results

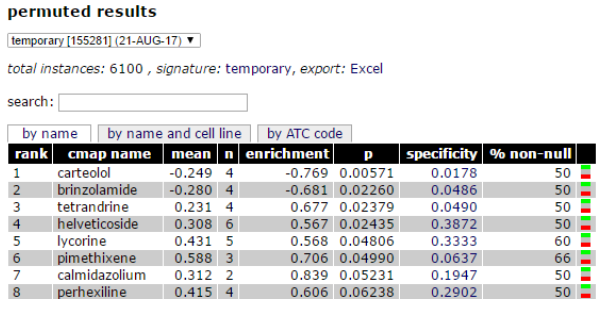
ต่อมาทำการทดลองกับกลุ่มยีนคู่ที่ 2 และกลุ่มยีนคู่ที่ 3 ได้ผลลัพธ์ดังแสดงในรูปที่ 3.1a ถึง 3.1f และ 3.2a ถึง 3.2f ตามลำดับ



รูปที่ 3.1a การนำเข้ากลุ่มยีนคู่ที่ 2



รูปที่ 3.1b การแจ้งประมวลผลกลุ่มยีนคู่ที่ 2 เสร็จเรียบร้อย



permuted results

temporary [155281] (21-AUG-17)

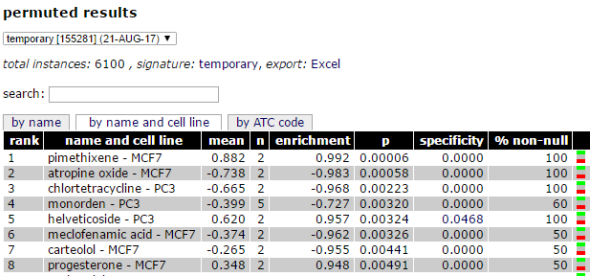
total instances: 6100 , *signature:* temporary, *export:* Excel

search:

by name | by name and cell line | by ATC code

rank	cmap name	mean	n	enrichment	p	specificity	% non-null
1	carteolol	-0.249	4	-0.769	0.00571	0.0178	50
2	brinzolamide	-0.280	4	-0.681	0.02260	0.0486	50
3	tetrandrine	0.231	4	0.677	0.02379	0.0490	50
4	helveticoside	0.308	6	0.567	0.02435	0.3872	50
5	lycorine	0.431	5	0.568	0.04806	0.3333	60
6	pimethixene	0.588	3	0.706	0.04990	0.0637	66
7	calmidazolium	0.312	2	0.839	0.05231	0.1947	50
8	perhexiline	0.415	4	0.606	0.06238	0.2902	50

รูปที่ 3.1c ผลลัพธ์กลุ่มยีนคู่ที่ 2 แบบ Permuted เรียงลำดับตาม Name



permuted results

temporary [155281] (21-AUG-17)

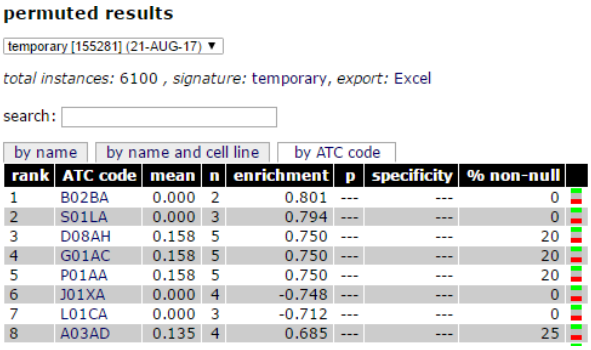
total instances: 6100 , *signature:* temporary, *export:* Excel

search:

by name | by name and cell line | by ATC code

rank	name and cell line	mean	n	enrichment	p	specificity	% non-null
1	pimethixene - MCF7	0.882	2	0.992	0.00006	0.0000	100
2	atropine oxide - MCF7	-0.738	2	-0.983	0.00058	0.0000	100
3	chlortetracycline - PC3	-0.665	2	-0.968	0.00223	0.0000	100
4	monorden - PC3	-0.399	5	-0.727	0.00320	0.0000	60
5	helveticoside - PC3	0.620	2	0.957	0.00324	0.0468	100
6	meclofenamic acid - MCF7	-0.374	2	-0.962	0.00326	0.0000	50
7	carteolol - MCF7	-0.265	2	-0.955	0.00441	0.0000	50
8	progesterone - MCF7	0.348	2	0.948	0.00491	0.0000	50

รูปที่ 3.1d ผลลัพธ์กลุ่มยีนคู่ที่ 2 แบบ Permuted เรียงตาม Name และ Cell line



permuted results

temporary [155281] (21-AUG-17)

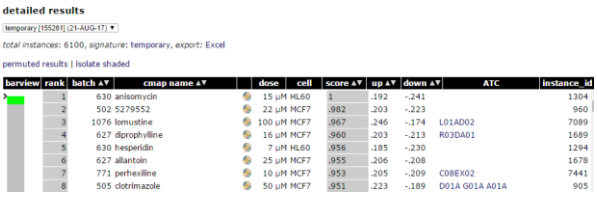
total instances: 6100 , *signature:* temporary, *export:* Excel

search:

by name | by name and cell line | by ATC code

rank	ATC code	mean	n	enrichment	p	specificity	% non-null
1	B02BA	0.000	2	0.801	---	---	0
2	S01LA	0.000	3	0.794	---	---	0
3	D08AH	0.158	5	0.750	---	---	20
4	G01AC	0.158	5	0.750	---	---	20
5	P01AA	0.158	5	0.750	---	---	20
6	J01XA	0.000	4	-0.748	---	---	0
7	L01CA	0.000	3	-0.712	---	---	0
8	A03AD	0.135	4	0.685	---	---	25

รูปที่ 3.1e ผลลัพธ์กลุ่มยีนคู่ที่ 2 แบบ Permuted เรียงลำดับตาม ATC Code



detailed results

temporary [155281] (21-AUG-17)

total instances: 6100, *signature:* temporary, *export:* Excel

permuted results | isolate shaded

barview	rank	batch	cmap name		dose	cell	score	up	down	ATC	instance_id
	1	630	anisomycin		15 µM	HL60	1	.192	-.241		1304
	2	502	5279552		22 µM	MCF7	.982	.203	-.223		960
	3	1076	lomustine		100 µM	MCF7	.967	.246	-.174	L01AD02	7089
	4	627	diprophylline		16 µM	MCF7	.960	.203	-.213	R03DA01	1689
	5	630	hesperidin		7 µM	HL60	.956	.185	-.230		1294
	6	627	allantoin		25 µM	MCF7	.955	.206	-.208		1678
	7	771	perhexiline		10 µM	MCF7	.953	.205	-.209	C08EX02	7441
	8	505	clotrimazole		50 µM	MCF7	.951	.223	-.189	D01A G01A A01A	905



cmap name	dose	cell	score
anisomycin	15 µM	HL60	1
5279552	22 µM	MCF7	0.982
lomustine	100 µM	MCF7	0.967
diprophylline	16 µM	MCF7	0.96
...			
trichostatin A	100 nM	MCF7	-0.986
bucladesine	2 µM	MCF7	-0.991
paclitaxel	5 µM	MCF7	-0.992
disopyramide	12 µM	MCF7	-1

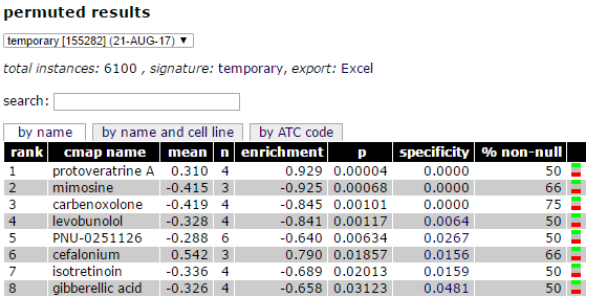
รูปที่ 3.1f ผลลัพธ์กลุ่มยีนคู่ที่ 2 แบบ Detailed Results



รูปที่ 3.2a การนำเข้ากลุ่มยีนคู่ที่ 3



รูปที่ 3.2b การแจ้งประมวลผลกลุ่มยีนคู่ที่ 3 เสร็จเรียบร้อย



permuted results

temporary [155282] (21-AUG-17)

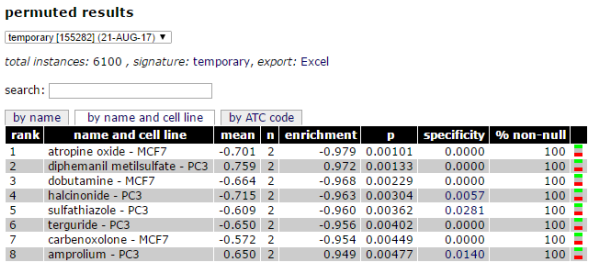
total instances: 6100 , *signature:* temporary, *export:* Excel

search:

by name | by name and cell line | by ATC code

rank	cmap name	mean	n	enrichment	p	specificity	% non-null
1	protoveratrine A	0.310	4	0.929	0.00004	0.0000	50
2	mimosine	-0.415	3	-0.925	0.00068	0.0000	66
3	carbenoxolone	-0.419	4	-0.845	0.00101	0.0000	75
4	levobunolol	-0.328	4	-0.841	0.00117	0.0064	50
5	PNU-0251126	-0.288	6	-0.640	0.00634	0.0267	50
6	cefalonium	0.542	3	0.790	0.01857	0.0156	66
7	isotretinoin	-0.336	4	-0.689	0.02013	0.0159	50
8	gibberellic acid	-0.326	4	-0.658	0.03123	0.0481	50

รูปที่ 3.2c ผลลัพธ์กลุ่มยีนคู่ที่ 3 แบบ Permuted เรียงลำดับตาม Name



permuted results

temporary [155282] (21-AUG-17)

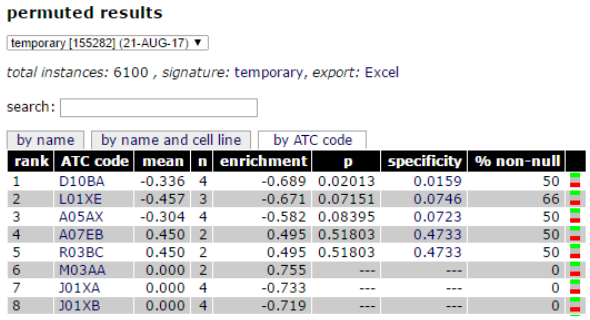
total instances: 6100 , *signature:* temporary, *export:* Excel

search:

by name | by name and cell line | by ATC code

rank	name and cell line	mean	n	enrichment	p	specificity	% non-null
1	atropine oxide - MCF7	-0.701	2	-0.979	0.00101	0.0000	100
2	diphemanil metilsulfate - PC3	0.759	2	0.972	0.00133	0.0000	100
3	dobutamine - MCF7	-0.664	2	-0.968	0.00229	0.0000	100
4	halcinonide - PC3	-0.715	2	-0.963	0.00304	0.0057	100
5	sulfathiazole - PC3	-0.609	2	-0.960	0.00362	0.0281	100
6	terguride - PC3	-0.650	2	-0.956	0.00402	0.0000	100
7	carbenoxolone - MCF7	-0.572	2	-0.954	0.00449	0.0000	100
8	amprolium - PC3	0.650	2	0.949	0.00477	0.0140	100

รูปที่ 3.2d ผลลัพธ์กลุ่มยีนคู่ที่ 3 แบบ Permuted เรียงตาม Name และ Cell line



permuted results

temporary [155282] (21-AUG-17)

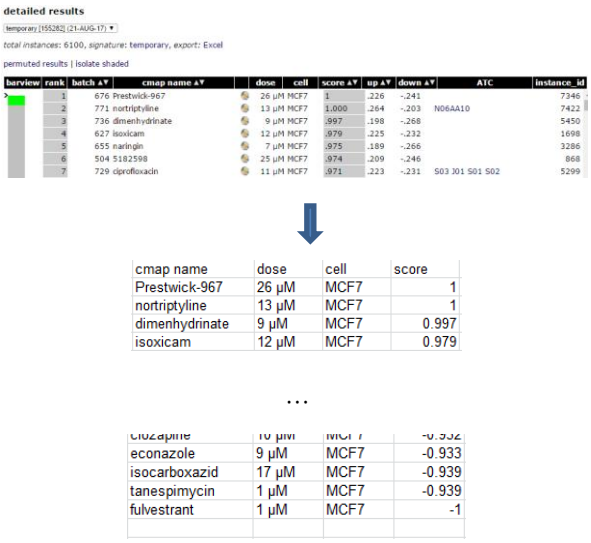
total instances: 6100 , *signature:* temporary, *export:* Excel

search:

by name | by name and cell line | by ATC code

rank	ATC code	mean	n	enrichment	p	specificity	% non-null
1	D10BA	-0.336	4	-0.689	0.02013	0.0159	50
2	L01XE	-0.457	3	-0.671	0.07151	0.0746	66
3	A05AX	-0.304	4	-0.582	0.08395	0.0723	50
4	A07EB	0.450	2	0.495	0.51803	0.4733	50
5	R03BC	0.450	2	0.495	0.51803	0.4733	50
6	M03AA	0.000	2	0.755	---	---	0
7	J01XA	0.000	4	-0.733	---	---	0
8	J01XB	0.000	4	-0.719	---	---	0

รูปที่ 3.2e ผลลัพธ์กลุ่มยีนคู่ที่ 3 แบบ Permuted เรียงลำดับตาม ATC Code



detailed results

temporary [155282] (21-AUG-17)

total instances: 6100, *signature:* temporary, *export:* Excel

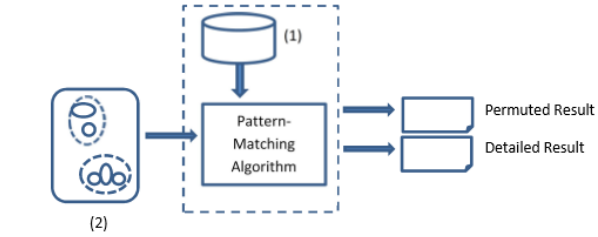
permuted results | isolate shaded

berview	rank	batch	cmap name		dose	cell	score	up	down	ATC	instance_id
	1	676	Prestwick-967		26 µM	MCF7	1	.226	-.241		7346
	2	771	nortriptyline		13 µM	MCF7	1.000	.264	-.203	N06AA10	7422
	3	736	dimenhydrinate		9 µM	MCF7	.997	.198	-.268		5450
	4	627	isoxicam		12 µM	MCF7	.979	.225	-.232		1698
	5	655	naringin		7 µM	MCF7	.975	.189	-.266		3286
	6	504	5182598		25 µM	MCF7	.974	.209	-.246		868
	7	729	ciprofloxacin		11 µM	MCF7	.971	.223	-.231	S03 J01 S01 S02	5299

cmap name	dose	cell	score
Prestwick-967	26 µM	MCF7	1
nortriptyline	13 µM	MCF7	1
dimenhydrinate	9 µM	MCF7	0.997
isoxicam	12 µM	MCF7	0.979
...			
econazole	9 µM	MCF7	-0.933
isocarboxazid	17 µM	MCF7	-0.939
tanespimycin	1 µM	MCF7	-0.939
fulvestrant	1 µM	MCF7	-1

รูปที่ 3.2f ผลลัพธ์กลุ่มยีนคู่ที่ 3 แบบ Detailed Results

กระบวนการทำงาน เพื่อให้ได้มาซึ่งผลลัพธ์ตามที่แสดงในรูปด้านบน สามารถแสดงได้ดังรูปที่ 3.3



Note : (1) a database of drug signatures (2) Probe of lung cancer gene signature

รูปที่ 3.3 กระบวนการทำงานภายในโปรแกรม CMap

จากรูปที่ 3.3 เมื่ออัลกอริทึม Pattern-Matching ได้รับ Probe ของชุดยีน Up และชุดยีน Down (หนึ่งคู่กลุ่มยีนมะเร็งปอด) จะทำการประมวลผลข้อมูลนี้ร่วมกับข้อมูลการแสดงออกของยีนต่อยาที่ได้รับ ซึ่งเป็นข้อมูลที่รวบรวมมาจากผลการทดลองทางห้องปฏิบัติการโดยใช้ตัวอย่างการทดลองจากเซลล์เนื้อเยื่อของมนุษย์ที่เพาะเลี้ยงไว้มาทำปฏิกิริยาทางเคมีกับสารประกอบทางยา และเก็บไว้ในฐานข้อมูลของโปรแกรม CMap การประมวลผลดังกล่าวใช้เทคนิคการจัดกลุ่มแบบลำดับชั้น (Hierarchical Clustering) ของวิธีการเหมืองข้อมูล (Data Mining) เพื่อให้ได้มาซึ่งค่าคะแนนความเชื่อมโยงการทำงาน (Functional Connectivity score) ระหว่าง ยา ยีน และโรค [3]

ค่าคะแนนความเชื่อมโยง (Connectivity Score) ที่คำนวณได้ มีค่าอยู่ระหว่าง +1 ถึง -1 เสมอ โดย ค่า +1 หมายถึง สารประกอบทางยานั้นมีผลส่งเสริมการทำงานของยีนในเซลล์มะเร็ง จึงทำให้ยานั้นยิ่งทำให้มะเร็งลุกลามมากขึ้นมากที่สุด ส่วนค่า -1 หมายถึง สารประกอบทางยานั้นมีผลยับยั้งการทำงานของยีนในเซลล์มะเร็ง ทำให้ยานั้นสามารถควบคุมเซลล์มะเร็งได้ดีที่สุด และค่า 0 หมายถึง สารประกอบทางยานั้น ไม่มีผลใด ๆ ต่อเซลล์มะเร็ง

จากผลการทดลองที่ได้นำเสนอไปตั้งแต่รูปที่ 2.1a จนถึง 3.2f เมื่อนำเข้าแต่ละคู่ของลายเซ็นยีนเซลล์มะเร็งปอด พบว่า ค่าคะแนนของความเชื่อมโยงระหว่าง ยา ยีน และโรค มีค่าเป็นไปได้ตั้งแต่ +1 จนถึง -1 ทุกลายเซ็น จึงคัดเลือกเฉพาะค่าคะแนนที่มีความสำคัญมาพิจารณา ได้แก่ ค่าคะแนนที่ลบมากที่สุด 3 ลำดับแรก (หมายถึงผู้ป่วยตอบสนองต่อยาในทางบวก โดยยามีผลควบคุมการทำงานของยีนที่ทำให้เกิดมะเร็งปอดได้ จึงมีความเป็นไปได้ที่จะใช้รักษาผู้ป่วยมะเร็งปอดได้ผลดี) และค่าคะแนนที่บวกมากที่สุด 3 ลำดับแรก (หมายถึงผู้ป่วยตอบสนองต่อยาในทางลบ โดยยาส่งเสริมให้ยีนที่ทำให้เกิดมะเร็งปอดยิ่งทำงานมากขึ้น ส่งผลให้ผู้ป่วยยิ่งเป็นโรครุนแรงขึ้น ดังนั้นควรหลีกเลี่ยงในการนำไปใช้กับผู้ป่วยมะเร็งปอด) ดังแสดงในตารางที่ 3.1 และตารางที่ 3.2 ตามลำดับ

ตารางที่ 3.1 คะแนนความเชื่อมโยงที่ลบมากที่สุด 3 ลำดับแรกของแต่ละลายเซ็น

Gene Signature	CMapScore	Up Score	Down Score	CMap Name	Dose	Cell
KRAS.AMP.LUNG_ UP.V1	-1	-0.241	0.222	Cefapirin	9 μM	PC3
	-0.992	-0.24	0.22	Wortmannin	10 nM	PC3
	-0.987	-0.299	0.159	Sulfadiazine	16 μM	PC3
KRAS.600. LUNG. BREAST_UP.V1	-1	-0.2	0.229	Disopyramide	12 μM	MCF7
	-0.992	-0.207	0.219	Paclitaxel	5 μM	MCF7
	-0.991	-0.195	0.231	Bucladesine	2 μM	MCF7
KRAS.LUNG_UP.V1	-1	-0.244	0.238	Fulvestrant	1 μM	MCF7
	-0.939	-0.243	0.211	Tanespimycin	1 μM	MCF7
	-0.939	-0.24	0.213	Isocarboxazid	17 μM	MCF7

จากผลการทดลองในตารางที่ 3.1 แสดงให้เห็นว่ายีนในทั้งสามลายเซ็นตอบสนองต่อการรักษาทางยาสามชนิดแรก อย่างมีนัยยะสำคัญในทางบวกต่อการรักษาทางยา โดยยาไปควบคุมให้ยีนในเซลล์ไม่ปกติของเซลล์มะเร็งปอดหยุดการทำงานหรือทำงานน้อยลงอย่างมีนัยยะสำคัญ ส่งผลให้สามารถควบคุมการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งได้ จึงมีความเป็นไปได้ที่จะรักษาผู้ป่วยมะเร็งปอดที่มียีนชนิดนี้ในเซลล์มะเร็งด้วยสารประกอบทางยาชนิดนี้ได้ อธิบายรายละเอียดได้ดังต่อไปนี้

- **ลายเซ็นยีนมะเร็งปอดที่มีชื่อว่า**

  KRAS.AMP.LUNG_UP.V1 ตอบสนองต่อ

  1) สารประกอบทางยาที่มีชื่อว่า Cefapirin ในปริมาณยา 9 μM โดยยามีผลต่อการทำงานของเซลล์ PC3 โดยควบคุมการทำงานของยีนได้มากที่สุดเป็นอันดับที่หนึ่งเมื่อเทียบกับสารประกอบทางยาชนิดอื่น โดยพิจารณาจากค่าคะแนนความเชื่อมโยงที่วัดได้เท่ากับ -1.0
  2) สารประกอบทางยาที่มีชื่อว่า Wortmannin ในปริมาณยา 10 nM โดยยามีผลต่อการทำงานของเซลล์ PC3 โดยควบคุมการทำงานของยีนได้มากที่สุดเป็นอันดับที่สองเมื่อเทียบกับสารประกอบทางยาชนิดอื่น โดยพิจารณาจากค่าคะแนนความเชื่อมโยงที่วัดได้เท่ากับ -0.992
  3) สารประกอบทางยาที่มีชื่อว่า Sulfadiazine ในปริมาณยา 16 μM โดยยามีผลต่อการทำงานของเซลล์ PC3 โดยควบคุมการทำงานของยีนได้มากที่สุดเป็นอันดับที่สามเมื่อเทียบกับสารประกอบทางยาชนิดอื่น โดยพิจารณาจากค่าคะแนนความเชื่อมโยงที่วัดได้เท่ากับ -0.987

- **ลายเซ็นยีนมะเร็งปอดที่มีชื่อว่า**

  KRAS.600.LUNG.BREAST_UP.V1 ตอบสนองต่อ

  1) สารประกอบทางยาที่มีชื่อว่า Disopyramide ในปริมาณยา 12 μM โดยยามีผลต่อการทำงานของเซลล์ MCF7 โดยควบคุมการทำงานของยีนได้มากที่สุดเป็นอันดับที่หนึ่งเมื่อเทียบกับสารประกอบทางยาชนิดอื่น โดยพิจารณาจากค่าคะแนนความเชื่อมโยงที่วัดได้เท่ากับ -1.0

2) สารประกอบทางยาที่มีชื่อว่า Paclitaxel ในปริมาณยา 5 μM โดยยามีผลต่อการทำงานของเซลล์ MCF7 โดยควบคุมการทำงานของยีนได้มากที่สุดเป็นอันดับที่สองเมื่อเทียบกับสารประกอบทางยาชนิดอื่น โดยพิจารณาจากค่าคะแนนความเชื่อมโยงที่วัดได้เท่ากับ -0.992

3) สารประกอบทางยาที่มีชื่อว่า Bucladesine ในปริมาณยา 2 μM โดยยามีผลต่อการทำงานของเซลล์ MCF7 โดยควบคุมการทำงานของยีนได้มากที่สุดเป็นอันดับที่สามเมื่อเทียบกับสารประกอบทางยาชนิดอื่น โดยพิจารณาจากค่าคะแนนความเชื่อมโยงที่วัดได้เท่ากับ -0.991

- **ลายเซ็นยีนมะเร็งปอดที่มีชื่อว่า KRAS.LUNG_UP.V1 ตอบสนองต่อ**

1) สารประกอบทางยาที่มีชื่อว่า Fulvestrant ในปริมาณยา 1 μM โดยยามีผลต่อการทำงานของเซลล์ MCF7 โดยควบคุมการทำงานของยีนได้มากที่สุดเป็นอันดับที่หนึ่งเมื่อเทียบกับสารประกอบทางยาชนิดอื่น โดยพิจารณาจากค่าคะแนนความเชื่อมโยงที่วัดได้เท่ากับ -1.0

2) สารประกอบทางยาที่มีชื่อว่า Tanespimycin ในปริมาณยา 1 μM โดยยามีผลต่อการทำงานของเซลล์ MCF7 โดยควบคุมการทำงานของยีนได้มากที่สุดเป็นอันดับที่สองเมื่อเทียบกับสารประกอบทางยาชนิดอื่น โดยพิจารณาจากค่าคะแนนความเชื่อมโยงที่วัดได้เท่ากับ -0.939

3) สารประกอบทางยาที่มีชื่อว่า Isocarboxazid ในปริมาณยา 17 μM โดยยามีผลต่อการทำงานของเซลล์ MCF7 โดยควบคุมการทำงานของยีนได้มากที่สุดเป็นอันดับที่สองเมื่อเทียบกับสารประกอบทางยาชนิดอื่น โดยพิจารณาจากค่าคะแนนความเชื่อมโยงที่วัดได้เท่ากับ -0.939

ตารางที่ 3.2 คะแนนความเชื่อมโยงที่บวกมากที่สุด 3 ลำดับแรกของแต่ละลายเซ็น

Gene Signature	CMapScore	Up Score	DownScore	CMap Name	Dose	Cell
KRAS.AMP.LUNG_ UP.V1	1	0.276	-0.210	Mesoridazine	7 μM	PC3
	0.957	0.254	-0.212	Metanephrine	17 μM	MCF7
	0.897	0.222	-0.215	Noretynodrel	13 μM	PC3
KRAS.600.LUNG. BREAST_UP.V1	1	0.192	-0.241	Anisomycin	15 μM	HL60
	0.982	0.203	-0.223	5279552	22 μM	MCF7
	0.967	0.246	-0.174	Lomustine	100 μM	MCF7
KRAS.LUNG_UP.V1	1	0.226	-0.241	Prestwick-967	26 μM	MCF7
	1	0.264	-0.203	Nortriptyline	13 μM	MCF7
	0.997	0.198	-0.268	Dimenhydrinate	9 μM	MCF7

จากผลการทดลองในตารางที่ 3.2 แสดงให้เห็นว่ายีนในทั้งสามลายเซ็นตอบสนองต่อการรักษาทางยาสามชนิดแรก อย่างมีนัยยะสำคัญในทางลบต่อการรักษาทางยา โดยยาไปกระตุ้นให้ยีนในเซลล์ไม่ปกติของเซลล์มะเร็งปอดยิ่งทำงานมากขึ้น โดยมีการเจริญเติบโตรวดเร็วมากขึ้น ซึ่งเป็นผลทางลบกับผู้ป่วย จึงมีความเป็นไปได้ว่าผู้ป่วยมะเร็งปอดที่มียีนเหล่านี้ในเซลล์มะเร็งควรหลีกเลี่ยงสารประกอบทางยาเหล่านี้ อธิบายรายละเอียดได้ดังต่อไปนี้

- **ลายเซ็นยีนมะเร็งปอดที่มีชื่อว่า**

  KRAS.AMP.LUNG_UP.V1 ตอบสนองต่อ

  1) สารประกอบทางยาที่มีชื่อว่า Mesoridazine ในปริมาณยา 7 μM โดยยามีผลต่อการทำงานของเซลล์ PC3 โดยทำให้ยิ่งเป็นมะเร็งมากขึ้นมากที่สุดเป็นอันดับที่หนึ่งเมื่อเทียบกับสารประกอบทางยาชนิดอื่น โดยพิจารณาจากค่าคะแนนความเชื่อมโยงที่วัดได้เท่ากับ +1
  2) สารประกอบทางยาที่มีชื่อว่า Metanephrine ในปริมาณยา 17 μM โดยยามีผลต่อการทำงานของเซลล์ MCF7 โดยทำให้ยิ่งเป็นมะเร็งมากขึ้นมากที่สุดเป็นอันดับที่สองเมื่อเทียบกับสารประกอบทางยาชนิดอื่น โดยพิจารณาจากค่าคะแนนความเชื่อมโยงที่วัดได้เท่ากับ 0.957
  3) สารประกอบทางยาที่มีชื่อว่า Noretynodrel ในปริมาณยา 13 μM โดยยามีผลต่อการทำงานของเซลล์ PC3 โดยทำให้ยิ่งเป็นมะเร็งมากขึ้นมากที่สุดเป็นอันดับที่สามเมื่อเทียบกับสารประกอบทางยาชนิดอื่น โดยพิจารณาจากค่าคะแนนความเชื่อมโยงที่วัดได้เท่ากับ 0.897

- **ลายเซ็นยีนมะเร็งปอดที่มีชื่อว่า**

  KRAS.600.LUNG.BREAST_UP.V1 ตอบสนองต่อ

  1) สารประกอบทางยาที่มีชื่อว่า Anisomycin ในปริมาณยา 15 μM โดยยามีผลต่อการทำงานของเซลล์ HL60 โดยทำให้ยิ่งเป็นมะเร็งมากขึ้นมากที่สุดเป็นอันดับที่หนึ่งเมื่อเทียบกับสารประกอบทางยาชนิดอื่น โดยพิจารณาจากค่าคะแนนความเชื่อมโยงที่วัดได้เท่ากับ +1
  2) สารประกอบทางยาที่มีชื่อว่า 5279552 ในปริมาณยา 22 μM โดยยามีผลต่อการทำงานของเซลล์ MCF7 โดยทำให้ยิ่งเป็นมะเร็งมากขึ้นมากที่สุดเป็นอันดับที่สองเมื่อเทียบกับสารประกอบทางยาชนิดอื่น โดยพิจารณาจากค่าคะแนนความเชื่อมโยงที่วัดได้เท่ากับ 0.982
  3) สารประกอบทางยาที่มีชื่อว่า Lomustine ในปริมาณยา 100 μM โดยยามีผลต่อการทำงานของเซลล์ MCF7 โดยทำให้ยิ่งเป็นมะเร็งมากขึ้นมากที่สุดเป็นอันดับที่สามเมื่อเทียบกับสารประกอบทางยาชนิดอื่น โดยพิจารณาจากค่าคะแนนความเชื่อมโยงที่วัดได้เท่ากับ 0.967

- **ลายเซ็นยีนมะเร็งปอดที่มีชื่อว่า KRAS.LUNG_UP.V1 ตอบสนองต่อ**

  1) สารประกอบทางยาที่มีชื่อว่า Prestwick-967 ในปริมาณยา 26 μM โดยยามีผลต่อการทำงานของเซลล์ MCF7 โดยทำให้ยิ่งเป็นมะเร็งมากขึ้นมากที่สุดเป็นอันดับที่หนึ่งเมื่อเทียบกับสารประกอบทางยาชนิดอื่น โดยพิจารณาจากค่าคะแนนความเชื่อมโยงที่วัดได้เท่ากับ +1
  2) สารประกอบทางยาที่มีชื่อว่า Nortriptyline ในปริมาณยา 13 μM โดยยามีผลต่อการทำงานของเซลล์ MCF7 โดยทำให้ยิ่งเป็นมะเร็งมากขึ้นมากที่สุดเป็นอันดับที่หนึ่งเมื่อเทียบกับสารประกอบทางยาชนิดอื่น โดยพิจารณาจากค่าคะแนนความเชื่อมโยงที่วัดได้เท่ากับ +1
  3) สารประกอบทางยาที่มีชื่อว่า Dimenhydrinate ในปริมาณยา 9 μM โดยยามีผลต่อการทำงานของเซลล์ MCF7 โดยทำให้ยิ่งเป็นมะเร็งมากขึ้นมากที่สุดเป็นอันดับที่สองเมื่อเทียบกับสารประกอบทางยาชนิดอื่น โดยพิจารณาจากค่าคะแนนความเชื่อมโยงที่วัดได้เท่ากับ 0.997

3. บทสรุป และทิศทางการพัฒนางานวิจัยในอนาคต

3.1 บทสรุป

โรคมะเร็งปอดเกิดจากสาเหตุที่ยีนก่อมะเร็ง (Oncogene) ถูกกระตุ้นให้ทำงานจึงมีผลให้เซลล์ปกติของปอดกลายเป็นเซลล์มะเร็ง ในบทความนี้ได้ค้นพบลายเซ็นของยีนก่อมะเร็ง (Oncogenic Signature) ที่ทำให้เกิดโรคมะเร็งปอด 3 กลุ่ม ได้แก่ลายเซ็นที่มีชื่อว่า KRAS.AMP.LUNG_UP.V1,KRAS.600.LUNG.BREAST_UP.V1 และ KRAS.LUNG_UP.V1 ตามลำดับ โดยมีสารประกอบทางยาที่คาดว่าสามารถนำมาควบคุมหรือยับยั้งการทำงานของยีนก่อมะเร็งในแต่ละลายเซ็น ดังนี้ (1) ยา cefapirin ในปริมาณยา 9 μM ยา Wortmannin ในปริมาณยา 10 μM และยา Sulfadiazine ในปริมาณยา 16 μM ในการรักษาผู้ป่วยกลุ่มที่มีลายเซ็นยีน KRAS.AMP.LUNG_UP.V1 (2) ยาDisopyramide ในปริมาณยา 12 μM ยา paclitaxel ในปริมาณยา 5 μM และยา Bucladesine ในปริมาณยา 2 μM ในการรักษาผู้ป่วยกลุ่มที่มีลายเซ็นยีน KRAS.600.LUNG.BREAST_UP.V1 (3) ยา Fulvestrant ในปริมาณยา 1 μM ยา Tanespimycin ในปริมาณยา 1 μM และยา Isocarboxazid ในปริมาณยา 17 μM ในการรักษาผู้ป่วยกลุ่มที่มีลายเซ็นยีน KRAS.LUNG_UP.V1 โดยมีข้อมูลสนับสนุนอ้างอิงจากผลการใช้ยาเหล่านี้ในปัจจุบัน ดังต่อไปนี้

สารประกอบทางยา Cefapirin มีชื่อระหว่างประเทศที่ไม่มีเจ้าของ (International Nonproprietary Name, INN) หรือชื่อสามัญทั่วไปที่ใช้เรียกสารประกอบเคมีทางเภสัชกรรม ที่กำหนดโดยองค์การอนามัยโลก (World Health Organization : WHO) ว่า Cephapirin และ Accession Number DB01139 (APRD00860) [11] วางตลาดภายใต้ชื่อทางการค้าว่า Cefadyl เป็นยาฉีดเพื่อต้านจุลชีพ จัดอยู่ในกลุ่มเซฟาโลสเปอริน (Csphalosporins) รุ่นที่ 1 ใช้รักษาโรคติดเชื้อในระบบต่างๆ ของร่างกายอย่างกว้างขวาง ในปัจจุบัน Cefarin ปัจจุบันได้ถูกระงับการผลิตเพื่อใช้ในมนุษย์แล้วที่ประเทศสหรัฐอเมริกา [11][12] และไม่ควรใช้ยา Cephapirin ในเด็กอายุน้อยกว่า 3 เดือน [12]

สารประกอบทางยา Wortmannin ในประเทศไทยมีการศึกษายาตัวนี้กับเซลล์มะเร็งทางเดินน้ำดีในตับ และผลการศึกษาในงานวิจัยของ จริญญาพร เนาวบุตร [13] พบว่า Wortmannin ในปริมาณ 100 นาโนโมลาร์ มีฤทธิ์ยับยั้งการนำน้ำตาลเข้าสู่เซลล์ในหนูขาวเบาหวาน ในขณะที่งานวิจัยของ Joseph M. Caster และคณะ [15] พบว่าสารประกอบทางยา Wortmannin มีผลต่อทั้งเซลล์มะเร็งและเซลล์ปกติ

สารประกอบทางยา Sulfadiazine มี Accession Number DB00359 (APRD00190) [11] เป็นยาในกลุ่ม Sulfonamide มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย ฆ่าเชื้อรา [16] ตัวอย่างเช่นยา 1% Silver Sulfadiazine เป็นยาในบัญชีรายการยา รพ.สต. (ยาใช้ภายนอก) จังหวัดขอนแก่น ลักษณะเป็นครีม บรรจุหลอดละ 50 กรัม ใช้รักษาอาการติดเชื้อที่ผิวหนัง [16] สามารถใช้เป็นยาป้องกันอย่างทุติยภูมิของไข้รูห์มาติค (Rheumatic Fever หรือ RF) ซึ่งเป็นโรคอักเสบที่มีผลต่อหัวใจ สมอง ข้อ ผิวหนัง และเนื้อเยื่อใต้ผิวหนัง [17] โดยกิน Sulfadiazine วันลด 1 ครั้งๆ ละ 1.0 กรัม [18] ศูนย์ข้อมูลข่าวสารด้านเวชภัณฑ์ กระทรวงสาธารณสุข ประกาศราคาอ้างอิงของยา Sulfadiazine Cream 1% ขนาดบรรจุ 20 กรัม, 25 กรัม, 250 กรัม, 450 กรัม และ 500 กรัม ซึ่งผลิตโดยบริษัท Pinyo Pharm, R.X Company, T.O.Chemical, Abic Israel และ Smith&Nephew โดยราคาอยู่ในช่วง 17 บาท ถึง 374.5 บาท เดือนเมษายน ถึง มิถุนายน 2557 โดยกำหนดรายการยา [19]

สารประกอบทางยา Disopyramide มี Accession Number DB00280 (APRD00507) [11] หรือ ไดโซไพราไมด์ เป็นยาที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของโซเดียมในกล้ามเนื้อหัวใจ ใช้รักษาอาการหัวใจเต้นผิดจังหวะ เนื่องจากยามีผลช่วยลดการหดตัวของกล้ามเนื้อหัวใจ มีทั้งชนิดยาทาและกิน

[11][20] Echizen H และคณะ [21] พบว่า Disopyramide มีผลในการรักษาผู้ป่วยมะเร็ง และผู้ป่วยอักเสบ มากกว่าผู้ที่มีสุขภาพดี โดยมมีผลในการรักษาผู้ป่วยมะเร็งมากกว่าผู้ป่วยอักเสบ [21]

สารประกอบทางยา Paclitaxel มี Accession Number DB01229 (APRD00259, DB05261, DB05927, DB05526) [11] เป็นสารที่ทำหน้าที่เป็นตัวยับยั้ง Mitotic ใช้ในการรักษามะเร็งด้วยวิธีเคมีบำบัด ค้นพบโดยสถาบันมะเร็งแห่งชาติของประเทศสหรัฐอเมริกาเมื่อปีพ.ศ.2510 โดย Monroe E. Wall และ Mansukh C. Wani [11] สกัดมาจากเปลือกและ ใบของต้น Pacific Yew [11][22] ในประเทศไทย กลุ่มงานเภสัชกรรม โรงพยาบาลราชวิถี ยืนยันว่า Paclitaxel เป็นยาที่ใช้รักษาโรคมะเร็งได้หลายชนิด และปัจจุบันสามารถสังเคราะห์ได้ในห้องปฏิบัติการ [22]

สารประกอบทางยา Bucladesine ใช้เป็นยากระตุ้นหัวใจ มีความสามารถในการซึมผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ [23]

สารประกอบทางยา Fulvestrant เป็นยารักษามะเร็งเต้านมระยะลุกลามหรือแพร่กระจายในสตรีวัยหมดประจำเดือน [24] [25]

สารประกอบทางยา Tanespimycin มี Accession Number DB05134 (DB06398) เป็นยารักษาโรคมะเร็งหลากหลายชนิด รักษาเนื้องอกที่มีลักษณะแข็ง ผู้ผลิตสารประกอบทางยานี้คือ Conforma Therapeutics ปัจจุบันอยู่ในระหว่างพัฒนาเป็น ฮีทช็อคโปรตีน 90 (HSP90) ซึ่งเป็นโปรตีนแชเพอโรน (Chaperone Protein) ซึ่งมีความสามารถในการควบคุมการจัดรูปร่างของโปรตีนอื่นๆ [11] [26]

สารประกอบทางยา Isocarboxazid มี Accession Number DB01247 (APRD00701) ใช้เป็นยารักษาภาวะซึมเศร้า ตื่นตระหนกและตื่นกลัว เป็นยาที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของสารสื่อประสาท กำลังมีการวิจัยต่อเนื่องเพื่อจะนำไปรักษาโรคพาร์กินสัน [11] [20] [27]

3.2 ทิศทางการพัฒนางานวิจัยในอนาคต

การเกิดโรคมะเร็งปอด อาจเกิดได้ทั้งจากการกระตุ้นของยีนก่อมะเร็ง (Oncogene) หรือ การยับยั้งการทำหน้าที่ของยีนต้านมะเร็ง (Tumor Suppressor Gene) บทความนี้นำเสนอเฉพาะลายเซ็นยีนที่ก่อมะเร็ง ดังนั้นในอนาคตจึงควรศึกษาความสัมพันธ์ของลายเซ็นยีนต้านมะเร็งด้วย เพื่อศึกษายาที่มีผลต่อการรักษาที่อาจพบเจอมากขึ้น หรือเปรียบเทียบตัวยาของทั้งสองกลุ่มดังกล่าว

4. เอกสารอ้างอิง

[1] Aravind Subramanian, Pablo Tamayo, Vamsi K. Mootha, Sayan Mukherjee, Benjamin L. Ebert, Michael Gillette, Amanda Paulovich, Scott L. Pomeroy, Todd R. Golub, Eric S. Lander, and Jill P. Mesirov. Gene set enrichment analysis: A knowledge-based approach for interpreting genome-wide expression profiles. PNAS, 102:15545-15550, 2005. [Online]. Available: http://software.broadinstitute.org/gsea/msigdb . [Accessed: July. 4, 2017].

[2] Ashbumer et al. Gene Ontology: tool for the unification of biology. The Gene Ontology Consortium. Nat Genet. The Gene Ontology Consortium, 25(1): 25-9, 2000. [Online]. Available: http://www.geneontology.org/page/download-annotations. [Accessed: October. 2, 2017].

[3] Justin Lamb, Emily D.Crawford, David Peck, Joshua W.Modell, Irene C. Blat, Matthew J.Wrobel, Jim Lerner, Jean-Philippe Brunet, Aravind Subramanian, Kenneth N. Ross, Michael Reich, Haley Hieronymus, Guo Wei, Scott A. Armstrong, Stephen J. Haggarty, Paul A. Clemons, Ru Wei, Steven A. Carr, Eric S. Lander and Todd R.Golub. The Connectivity Map:

Using Gene-Expression Signatures to Connect Small Molecules, Genes, and Disease. Science , 313:1929-1935, 2006.

[4] สำนักงานปลัดกระทรวงสาธารณสุข กระทรวงสาธารณสุข, สถิติสาธารณสุข พ.ศ.2558 , กรุงเทพมหานคร:กระทรวงสาธารณสุข, 2559. [Online]. Available: http://bps.moph.go.th/new_bps/sites/default/files/health_statistic2558.pdf [Accessed: October. 1, 2017].

[5] นางสาวพรสุดา จิตรกสิกร, นิลทิดา ศรีพบูลย์กิจ. สถิติผู้ป่วยโรคมะเร็งปอด. หน่วยทะเบียนมะเร็ง คณะแพทย์ศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี, กรุงเทพมหานคร: โรงพยาบาลรามาธิบดี, 2560. [Online]. Available: http://med.mahidol.ac.th/cancer_center/th/news/event/22082016-1833-th [Accessed: October. 2, 2017].

[6] Anne S. Tsao. Lung Carcinoma (Lung Cancer). Merck Manual Professional Version. USA:Merck Sharp & Dohme Corp., 2017. [Online]. Available: http://www.merckmanuals.com/professional/pulmonary-disorders/tumors-of-the-lungs/lung-carcinoma#sec05-ch062-ch062b-1405 [Accessed: October. 2, 2017].

[7] https://www.ncbi.nlm.nih.gov/

[8] Karri Vasavi RAMA, MOLECULAR PROBES AND THEIR APPLICATIONS. International Journal of Life Sciences Biotechnology and Pharma Research. 2(2): 32-42, 2013. [Online]. Available: http://new.ijlbpr.com/jlbpradmin/upload/ijlbpr_51835623c403f.pdf [Accessed: July. 6, 2017].

[9] https://portals.broadinstitute.org/cmap/signature

[10] Justin Lamb, Emily D. Crawford, David Peck, Joshua W Modell, Irene C. Blat, Matthew J. Wrobel, Jim Lerner, Jean-Philippe Brunet, Aravind Subramanian, Kenneth N. Ross, Michael Reich, Haley Hieronymus, Guo Wei, Scott A Armstrong, Stephen J. Haggarty, Paul A. Clemons, Ru Wei, Steven A. Carr, Eric S. Lander and Todd R Golub. The Connectivity Map: Using Gene-Expression Signatures to Connect Small Molecules, Genes, and Disease. Nature Reviews Cancer, 7:54-60, 2007.

[11] V.Law, C.Knox, Y.Djoumbou, T.Jewison, AC.Guo, Y.Liu, A.Maciejewski, D.Arndt, M.Wilson, V.Neveu, A.Tang, G.Gabriel, C.Ly, S.Adamjee, ZT. Dame, B.Han, Y.Zhou and DS.Wishart. DrugBank 4.0: shedding new light on drug metabolism. Nucleic Acids Research. 42(Database issue): D1091-7, 2014. doi: 10.1093/nar/gkt1068.

[12] ปรีชา มนทกานติกุล, สุทธิพร ภัทรชยากุล. ยาต้านจุลชีพกลุ่มเซฟาโลสปอริน (Therapeutic Review of Cephalosperinns). สมาคมเภสัชกรรมโรงพยาบาล(ประเทศไทย). กรุงเทพมหานคร:สมาคมเภสัชกรรมโรงพยาบาล(ประเทศไทย), 2006. [Online]. Available: http://www.thaihp.org/index.php?option=other_detail&lang=th&id=15&sub=26 [Accessed: July. 12, 2017].

[13] จริญญาพร เนาวบุตร. กลไกการออกฤทธิ์ของหม่อน (Morus alba Linn.) ในการต้านภาวะเบาหวานและป้องกันหลอดเลือดทำงานผิดปกติในหนูขาวที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานด้วยสาร streptozotocin. วิทยานิพนธ์ปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาเภสัชวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น ประเทศไทย, 2553.

[14] กวิญ ลีละวัฒน์. ผลของ Phosphorylation ของ signal transduction molecule ในการเพิ่มความไวของ oxaliplatin ในเซลล์มะเร็งทางเดินน้ำดี. งานศัลยศาสตร์ทั่วไป กลุ่มงานศัลยศาสตร์ โรงพยาบาลราชวิถี ประเทศไทย, 2551.

[15] M. Joseph Caster, Manish Sethi, Sonya Kowalczyk, Edina Wang, Xi Tian, Sayed Nabeel Hyder, Kyle T. Wagner, Ying-Ao Zhang, Chintan Kapadia, Kin Man Au, Andrew Z. Wang. Nanoparticle delivery of chemosensitizers improve chemotherapy efficacy without incurring additional toxicity. Nanoscale. 7(6): 2805–2811, 2015. doi: 10.1039/c4nr07102f

[16] กนกพร ธัญมณีสิน. บัญชีรายการยา รพ.สต. (ยาใช้ภายนอก) จ.ขอนแก่น. ในสภากาแฟเพื่อพัฒนาระบบยาชุมชนใน จ. ขอนแก่น, ขอนแก่น:โครงการพัฒนาระบบยาในหน่วยบริการปฐมภูมิและความปลอดภัยด้านยาในชุมชน, 2555.

[17] Valentin Fuster M.D., R. Wayne Alexander M.D., Robert A. O'Rourke. M.D. Hurst's The Heart. 10th International edition. USA. McGRAW- HILL Medical publishing division, 2001.

[18] สำนักพัฒนาวิชาการแพทย์ กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. แนวทางเวชปฏิบัติโรคลิ้นหัวใจพิการสำหรับโรงพยาบาลระดับปฐมภูมิ (Vulvular Heart Disease for Primary Medical Care). ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด. ISBN : 974-442-127-5.

[19] ศูนย์ข้อมูลข่าวสาร กระทรวงสาธารณสุข

[20] เภสัชกร อภัย ราษฎรวิจิตร. หาหมอ.คอม

[21] Echizen H, Saima S, Umeda N, Ishizaki T. Altered protein binding of disopyramide in plasma from patients with cancer and with inflammatory disease. Therapeutic drug monitoring, 9(3)272-8, 1997.

[22] กลุ่มงานเภสัชกรรม โรงพยาบาลราชวิถี. เอกสารแนะนำผู้ป่วย. กรุงเทพมหานคร:โรงพยาบาลราชวิถี, 2547.

[23] Susan Budavari. The Merck index: an encyclopedia of chemicals, drugs, and biological, 11th Edition. Rahway N.J. U.S.A.: Merck & Co., 1989.

[24] อรุณี เดชาพันธุ์กุล, มนัญยา ชาครานนท์, สลิล ชัยวิริยะวงศ์และ ภัทรพิมพ์ สรรพวีรวงศ์. การรักษามะเร็งเต้านมโดยใช้ยาต้านฮอร์โมน. สงขลานครินทร์เวชสาร, 29 (3):127-142, 2554. [Online]. Available: http://medinfo.psu.ac.th/smj2/29_3/04-arunee.pdfhttp://medinfo.psu.ac.th/smj2/29_3/04-arunee.pdf [Accessed: July. 29, 2017].

[25] เภสัชกร ศิวัสว์ ผุลลาภิวัฒน์. หาหมอ.คอม

[26] สริน ทัดทอง. ฮีทช็อคโปรตีน 90 เป้าหมายในการรักษามะเร็ง Heat Shock Protein 90: Target for Cancer Therapy. Thai Pharmaceutical and Health Science Journal – วารสารไทยเภสัชศาสตร์และวิทยาการสุขภาพ, 11(4), 2016.

[27] AMA, Drug Evaluations Annual: 311, 1994.

[28] เอื้อมแข สุขประเสริฐ. CANCER THERAPY. หน่วยมะเร็งวิทยา ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทย์ศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. การประชุมเชิงปฏิบัติการและการฝึกอบรมเทคนิคการผสมยาเคมีบำบัดที่ให้ทางหลอดเลือดสำหรับเภสัชกรสาขาโรคมะเร็ง ประจำปี 2554 Workshop and Traineeship for Oncology Pharmacy Practitioners 2011. 21-25 กุมภาพันธ์ 2554. กรุงเทพมหานคร: 25-39, 2554.