บทที่ 5
สรุป อภิปราย และวิจารณ์ผลการทดลอง

สรุปผลการทดลอง

ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของลำดับเบสในส่วนความหลากหลายของยีน SERT ชนิด 5-HTTLPR ในการศึกษาครั้งนี้นั้นพบว่า ทั้งสองอัลลีลมีลำดับเบสที่แตกต่างกันอยู่ 42 คู่เบสจากดีเอ็นเอของอาสาสมัครเชื้อชาติไทย ซึ่งแตกต่างจากในเชื้อชาติ Caucasian ที่เคยมีรายงานไว้ก่อนหน้านี้ว่าทั้งสองอัลลีลมีลำดับเบสที่แตกต่างกันอยู่ 44 คู่เบส แต่เมื่อทำการเปรียบเทียบลำดับเบสทั้งสองด้วยวิธี Jotan Hein Method โดยใช้โปรแกรม MegAlign (DNASTAR, สหรัฐอเมริกา) แล้วพบว่ามีความคล้ายกันของลำดับเบสอยู่ถึงประมาณ 87.8 % อีกทั้งพบว่ามี Transcription Factor ของมนุษย์ที่จำเพาะกับส่วนลำดับเบสที่แตกต่างกันของเชื้อชาติไทยนี้อยู่ 2 ชนิดด้วย ได้แก่ GATA-2 และ MZF1

ผลการตรวจสอบการแสดงออกของยีนในเซลล์เพาะเลี้ยงชนิดต่างๆ นั้นพบว่า ทุกเซลล์มีการแสดงออกของยีน Serotonin transporter (SERT) และส่วนใหญ่ก็มีการแสดงออกของยีน Estrogen receptor (ER) ชนิด α กับ Glucocorticoid receptor (GR) ชนิด α ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ด้วย ยกเว้นเซลล์ HeLa (Human Cervix carcinoma cell line) กับเซลล์ HaCaT (Human Keratinocyte cell line) ที่ไม่มีการแสดงออกของยีน ERα และเซลล์ HT-29 (Human colon adenocarcinoma cell line) ที่ไม่มีการแสดงออกของยีน GRα ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงเลือกที่จะใช้เซลล์ SW480 (Human colon adenocarcinoma cell line) ซึ่งเป็นเซลล์จากระบบทางเดินอาหารมาเป็นตัวแทนของเซลล์ที่มีการแสดงออกของยีน SERT (positive) และเหมาะสมในการศึกษาทดลองครั้งนี้ อย่างไรก็ตาม เป็นที่น่าเสียดายอย่างยิ่งว่าคณะผู้วิจัยไม่สามารถจะหาตัวแทนของเซลล์ที่ไม่มีการแสดงออกของยีน SERT (negative) ได้

ผลการศึกษา promoter activity ของยีน SERT ที่มีความหลากหลายชนิด 5-HTTLPR ในเซลล์ SW480 นั้นพบว่าค่าเฉลี่ยจำนวนเท่าของ control (Fold over pGL3-Basic) ของ L อัลลีลมากกว่าของ S อัลลีลประมาณ 2 เท่า และสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P = 0.00005) สอดคล้องกับผลการศึกษาในเซลล์ HT-29 ที่พบว่าค่าเฉลี่ยของ L อัลลีลมากกว่าของ S อัลลีลประมาณ 2.5 เท่า และสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P = 0.004) เช่นกัน แต่เมื่อศึกษาถึงผลของสเตียรอยด์ฮอร์โมนต่างๆ ได้แก่ ฮอร์โมนกลูโคคอร์ติคอยด์ (dexamethasone) และฮอร์โมน

เอสโทรเจน (β-estradiol) ที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อ promoter activity ของยีน SERT แล้ว กลับไม่พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญแต่อย่างใดทั้งความหลากหลายชนิด 5-HTTLPR แบบ L อัลลีลและ S อัลลีล แสดงว่าฮอร์โมนทั้งสองชนิดนั้นไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของยีน SERT ในเซลล์ SW480 และเซลล์ HT-29 ไม่ว่าจะเป็นความหลากหลายของยีนชนิด 5-HTTLPR อัลลีลใดก็ตาม

อภิปรายและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของลำดับเบสในส่วนความหลากหลายของยีน SERT ชนิด 5-HTTLPR ที่พบว่าทั้งสองอัลลีลมีลำดับเบสที่แตกต่างกันอยู่ 42 คู่เบสจากดีเอ็นเอของอาสาสมัครเชื้อชาติไทยนั้นแตกต่างจากในเชื้อชาติ Caucasian ที่เคยมีรายงานไว้ก่อนหน้านี้ว่าทั้งสองอัลลีลมีลำดับเบสที่แตกต่างกันอยู่ 44 คู่เบส (9, 21) อาจเนื่องจากความแตกต่างทางด้านเชื้อชาติ อีกทั้งในแต่ละชุด (repeat elements) ของความหลากหลายของยีนชนิด 5-HTTLPR ที่มีขนาดประมาณ 20-23 คู่เบสนั้น ยังสามารถแตกต่างด้วยความหลากหลายเกิดขึ้นภายในชุด (repeat elements) ได้เช่นกัน (3) อย่างไรก็ตาม ลำดับเบสของทั้งสองเชื้อชาตินี้มีความคล้ายกันของลำดับเบสอยู่ถึงประมาณ 87.8 % เมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี Jotan Hein Method ในโปรแกรม MegAlign (DNASTAR, สหรัฐอเมริกา) นอกจากนี้หากนำลำดับเบสที่แตกต่างกันอยู่ 42 คู่เบสนั้น มาเปรียบเทียบกับลำดับเบสที่ได้จากการเทียบกันระหว่างลำดับเบสของ S อัลลีลในการศึกษาครั้งนี้กับลำดับเบสของ L อัลลีลจากลำดับเบสในฐานข้อมูล GenBank accession No. AF117826 และ No. X76753 พบว่ามีความแตกต่างกันของลำดับเบส รวมถึงความยาวหรือขนาดของลำดับเบส อย่างไรก็ตาม ลำดับเบสที่ได้จากฐานข้อมูล GenBank ทั้งสองหมายเลขนั้นเป็นลำดับเบสของเชื้อชาติ Caucasian

ผลการวิเคราะห์ Transcription Factor ของมนุษย์ที่จำเพาะกับส่วนลำดับเบส 42 คู่เบสที่แตกต่างกันของทั้งสองอัลลีลในเชื้อชาติไทยจากโปรแกรม TFSEARCH นั้นพบอยู่ด้วยกันทั้งหมด 2 ตัว ได้แก่ GATA-2 หรือ Endothelial transcription factor GATA-2 (GATA-binding protein2) และ MZF1 หรือ Myeloid zinc finger1 ซึ่งบทบาทหรือความสำคัญของ Transcription Factor ทั้งสองนี้ยังคงต้องศึกษาต่อไป โดยอาจใช้เทคนิค Electrophoretic mobility shift assay (EMSA) ในการตรวจสอบว่ามีการจับกันของ Transcription Factor เหล่านี้ในบริเวณลำดับเบสของดีเอ็นเอหรือไม่ อย่างไร

ในการศึกษาครั้งนี้ คณะผู้วิจัยได้พบตัวอย่างดีเอ็นเอของอาสาสมัครที่มีความหลากหลายของยีนชนิด 5-HTTLPR แบบ XL อัลลีล ซึ่งส่วนใหญ่แล้ว XL อัลลีลมักพบเฉพาะในเชื้อชาติแอฟริกา (96) และพบได้บ้างในเชื้อชาติญี่ปุ่น (66) ซึ่งการที่สามารถพบ XL อัลลีลได้ในเชื้อชาติไทยด้วยนั้น อาจเป็นการบ่งบอกถึงความสำคัญของการศึกษาการกระจายของอัลลีลนี้ในกลุ่มประชากรไทย รวมถึงความสัมพันธ์กับโรคต่างๆ โดยเมื่อไม่นานมานี้ได้มีการศึกษานำร่องถึงการกระจายของอัลลีลในประชากรไทย พบว่าความถี่ของ XL อัลลีลเท่ากับร้อยละ 3.1 โดยมีความถี่ของ S และ L อัลลีลเท่ากับร้อยละ 62.5 และ 34.4 ตามลำดับ (61) อย่างไรก็ตาม กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ยังมีขนาดเล็กและควรทำการศึกษาต่อไปโดยเพิ่มจำนวนตัวอย่างให้มากขึ้น

สำหรับลำดับเบสที่แตกต่างกันในส่วนความหลากหลายของยีน SERT ชนิด 5-HTTLPR ระหว่าง S และ L อัลลีลในงานวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยไม่สามารถที่จะระบุตำแหน่งของลำดับเบสดังกล่าวได้ เนื่องจากปัจจุบันยังไม่มีการทำฐานข้อมูลลำดับเบสทั้งหมด (Whole Genome) ในเชื้อชาติไทย ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงใช้การอ้างอิงจากลำดับเบสในฐานข้อมูล GenBank accession No. X76753 ในการระบุตำแหน่งของชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้แทน ถึงแม้ว่าลำดับเบสดังกล่าวจะเป็นของเชื้อชาติ Caucasian ก็ตาม แต่คาดได้ว่าลำดับเบสที่แตกต่างกันในส่วนความหลากหลายชนิด 5-HTTLPR นี้น่าจะอยู่ที่ตำแหน่งประมาณ -1630 ของยีน SERT ในปี 1996 Heils และคณะ (9) ได้รายงานลำดับเบสที่แตกต่างกันของ 5-HTTLPR ชนิด S และ L อัลลีล ดังนี้

5'- CCCCC CAGCA TCCCC CCTGC AGCCC CCCCA GCATC TCCCC TGCA -3'

โดยลำดับเบสดังกล่าวมีการรายงานว่าอยู่ที่ตำแหน่ง -1255 ถึง -1212 ซึ่งไม่ตรงกับที่คาดไว้ อย่างไรก็ตาม คณะผู้วิจัยได้ทำการเปรียบเทียบใหม่อีกครั้งกับลำดับเบสในฐานข้อมูล GenBank accession No. X76753 กลับพบว่าเป็นตำแหน่ง -1638 ถึง -1595 ซึ่งใกล้เคียงกับตำแหน่งที่คาดไว้จากผลการทดลองในครั้งนี้ โดยภายหลังมีรายงานเพิ่มเติมว่ามีลำดับเบส (novel sequence) ขนาดประมาณ 380 คู่เบส อยู่ระหว่างความหลากหลายชนิด 5-HTTLPR กับจุดเริ่มต้นของการถอดรหัสซึ่งไม่ถูกรายงานไว้ในการศึกษาก่อนหน้า และเมื่อเพิ่มเติมส่วนลำดับเบสที่ขาดหายนี้เข้าไปจะพบว่ามีตำแหน่งใกล้เคียงกับที่คาดไว้เช่นเดียวกัน (12, 282)

ผลการตรวจสอบการแสดงออกของยีนในเซลล์เพาะเลี้ยงชนิดต่างๆ นั้นพบว่า นอกจากที่เคยมีการรายงานการแสดงออกของ SERT ในเซลล์ชนิดต่างๆ เช่น เซลล์ประสาท เซลล์รก เซลล์ enterochromaffin เซลล์ lymphocyte เซลล์ macrophage เซลล์ osteoclast เซลล์ osteoblast หรือ osteocyte หัวใจ หลอดเลือด เกล็ดเลือด และต่อมหมวกไต เป็นต้นแล้ว จากการศึกษาครั้งนี้

ยังพบว่ามีการแสดงออกของ SERT ในเซลล์จากบริเวณลำไส้ใหญ่ (เซลล์ HT-29 และเซลล์ SW480) เซลล์ผิวหนัง (เซลล์ HaCaT) เซลล์ตับ (เซลล์ HepG2) เซลล์กล่องเสียง (เซลล์ HEp2) เซลล์ปากมดลูก (HeLa) ด้วย ซึ่งในการศึกษาวิจัยครั้งนี้คณะผู้วิจัยจึงเลือกที่จะใช้เซลล์ SW480 และเซลล์ HT-29 ซึ่งเป็นเซลล์ที่มีลักษณะคล้าย epithelial (epithelial-like) ของลำไส้ใหญ่ในระบบทางเดินอาหารมาเป็นตัวแทนของเซลล์ที่มีการแสดงออกของยีน SERT (positive) และเหมาะสมในการศึกษา promoter activity ของยีน SERT ที่มีความหลากหลายชนิด 5-HTTLPR รวมถึงผลของสเตียรอยด์ฮอร์โมนกลูโคคอร์ติคอยด์กับฮอร์โมนเอสโทรเจนด้วย แต่เนื่องจากผู้วิจัยยังไม่สามารถหาสภาวะที่เหมาะสมที่สุด สำหรับการศึกษาถึงผลของสเตียรอยด์ฮอร์โมนเหล่านี้ในเซลล์ HT-29 ได้ รวมถึงการที่เซลล์นี้ไม่มีการแสดงออกของยีน GRα แล้วนั้น ผู้วิจัยจึงได้ทำการศึกษาผลของสเตียรอยด์ฮอร์โมนเฉพาะแต่ในเซลล์ SW480 อย่างไรก็ตาม เป็นที่น่าเสียดายอย่างยิ่งที่ไม่สามารถจะหาตัวแทนของเซลล์ที่ไม่มีการแสดงออกของยีน SERT (negative) มาใช้ในการศึกษาครั้งนี้ได้ ทำให้ไม่ทราบว่าผลที่เกิดขึ้นจำเพาะกับเซลล์ที่มีการแสดงออกของยีน SERT เท่านั้นหรือไม่ อย่างไร ในความจริงแล้วเซลล์ HepG2 กับเซลล์ HaCaT ก็มีความเหมาะสมและน่าสนใจศึกษาเช่นกัน โดยมีรายงานถึงบทบาทสำคัญของซีโรโทนินในการงอกใหม่ของเซลล์ตับ (liver regeneration) (283, 284) และบทบาทในเซลล์ผิวหนังของโรคสะเก็ดเงิน (psoriasis) ด้วย เพียงแต่มีอุปสรรคในการทำการทดลองนั่นคือเซลล์ HepG2 ค่อนข้างที่จะเพาะเลี้ยงยากและเซลล์ HaCaT ที่ทำการถ่ายโอนดีเอ็นเอเข้าเซลล์ได้ยากกว่าเซลล์ชนิดอื่นๆ

โดยส่วนใหญ่แล้ว จากการศึกษาที่ผ่านมามักมุ่งเน้นไปที่การศึกษาในเซลล์ประสาท (12) เซลล์เม็ดเลือดขาว (11) และเซลล์รก (9, 21) เป็นต้นแบบ (model) หลัก เพื่อศึกษาถึง promoter activity ของความหลากหลายของยีน SERT ชนิด 5-HTTLPR หากแต่ยังไม่เคยมีการรายงานถึงเซลล์ในระบบทางเดินอาหาร ซึ่งเซลล์ลำไส้นั้นยังมีการศึกษาอยู่ค่อนข้างน้อย โดยเฉพาะในเรื่องของความหลากหลายชนิด 5-HTTLPR ถึงแม้ว่าซีโรโทนินจะมีบทบาทสำคัญในการทำงานของระบบทางเดินอาหาร รวมถึงเป็นแหล่งหลักของการสร้างและเก็บสะสมซีโรโทนินในร่างกายของมนุษย์ก็ตาม ทำให้คณะผู้วิจัยเลือกที่จะใช้เซลล์จากระบบทางเดินอาหารในการศึกษาครั้งนี้

ผลการศึกษา promoter activity ของยีน SERT ที่มีความหลากหลายชนิด 5-HTTLPR ในเซลล์ SW480 และเซลล์ HT-29 นั้นพบว่า basal activity ของ L อัลลีลมากกว่าของ S อัลลีลประมาณ 2-3 เท่า ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาในเซลล์ชนิดอื่น ได้แก่ การศึกษาของ Heils และคณะในปี 1996 ที่รายงานว่า basal activity ของ L อัลลีลมากกว่าของ S อัลลีลประมาณ 3 เท่าใน

เซลล์รก (9) การศึกษาของ Lesch และคณะในปี 1996 รายงานว่า basal activity ของ L อัลลีลมากกว่าของ S อัลลีลประมาณ 2 เท่าในเซลล์เม็ดเลือดขาว (11) และการศึกษาของ Mortensen และคณะในปี 1999 ที่รายงานว่า basal activity ของ L อัลลีลมากกว่าของ S อัลลีลประมาณ 2 เท่าในเซลล์ประสาทของหนู (12) แต่ยังไม่สามารถสรุปได้ว่าผลการศึกษาที่ได้นี้มีความจำเพาะกับเซลล์ที่มีการแสดงออกของ SERT เท่านั้นหรือไม่ ถึงแม้ว่าจะเคยมีการศึกษาในเซลล์ COS-1 (Kidney monkey cell line) ที่ไม่มีการแสดงออกของยีน SERT ด้วย (12) อย่างไรก็ตาม เซลล์ COS-1 ซึ่งเป็นเซลล์จากลิง รวมถึงเซลล์ RN64A (Immortalized serotonergic raphe neurons) ที่เป็นเซลล์ประสาทของหนูนั้นไม่เหมาะที่จะใช้เป็นตัวแทนในการศึกษา promoter activity ในยีนของมนุษย์ เนื่องจากลำดับเบสในส่วน promoter ของยีนดังกล่าว อาจไม่จำเพาะกับ Transcription factor ในเซลล์ของสัตว์ทดลอง และทำให้ผลการทดลองที่ได้ผิดพลาดไป

ในการศึกษา promoter activity ของยีน SERT ของงานวิจัยครั้งนี้ ได้ทำการตรวจวัด promoter activity ด้วยเทคนิคที่เรียกว่า luciferase reporter gene assay โดยตรวจวัด promoter activity จากการแสดงออกของยีน luciferase reporter ซึ่งค่าที่ได้จะบ่งบอกถึง activity ของความหลากหลายชนิด 5-HTTLPR แต่ละอัลลีลในการแสดงออกของยีน อย่างไรก็ตาม การตรวจสอบด้วยเทคนิคนี้อาจจะคลาดเคลื่อนจากความเป็นจริงได้ เพราะไม่ได้ครอบคลุมถึงวงจรของการควบคุม (gene regulation) ในร่างกายมนุษย์ เช่น กลไกการควบคุมย้อนกลับ (negative feedback) ทำให้ค่าที่วัดได้นั้นมากกว่าความเป็นจริง แต่การจะตรวจสอบปริมาณของซีโรโทนินหรือ SERT ที่สร้างขึ้นจริงภายในเซลล์โดยที่มีกลไกการควบคุมย้อนกลับด้วยนั้น จำเป็นที่จะต้องเกี่ยวข้องกับการใช้สารกัมมันตภาพรังสี จึงไม่สามารถที่จะทำได้ในห้องปฏิบัติการในขณะนี้ ทำให้เป็นข้อจำกัดของงานวิจัย

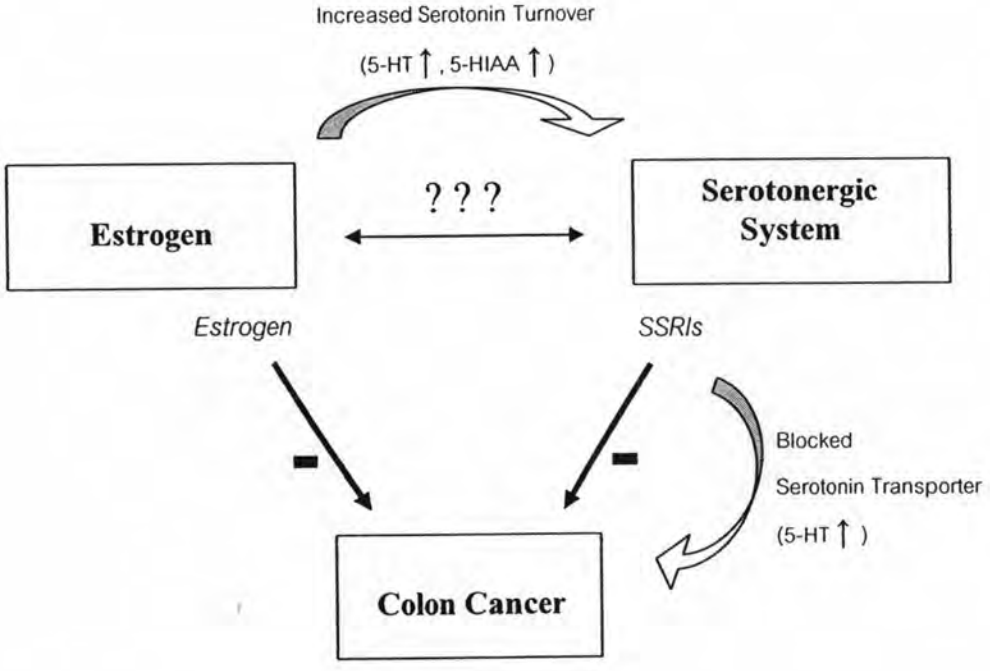
การศึกษาผลของสเตียรอยด์ฮอร์โมนต่อการแสดงออกของยีน พบว่าทั้งกลูโคคอร์ติคอยด์ (dexamethasone) และเอสโทรเจน (β-estradiol) ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของยีน SERT ไม่ว่าจะมีความหลากหลายของยีนชนิด 5-HTTLPR อัลลีลใดก็ตาม ซึ่งผลการศึกษาที่ได้นี้ขัดแย้งกับการศึกษาของ Glatz และคณะที่พบว่า กลูโคคอร์ติคอยด์มีผลต่อการแสดงออกของยีน SERT ผ่านทางความหลากหลายของยีนชนิด 5-HTTLPR ในการศึกษาในเซลล์รก (21) อาจเป็นไปได้ว่าลำดับเบสในส่วนของ 5-HTTLPR ที่เป็นตำแหน่งซึ่งจับกับ Transcription Factor นั้นมีความจำเพาะต่อชนิดของเซลล์ (cell-specific) รวมถึงชนิดของฮอร์โมน (hormone-specific) ด้วยในการควบคุมการแสดงออกของยีน SERT

นอกจากฮอร์โมนกลูโคคอร์ติคอยด์แล้ว เอสโทรเจนยังเป็นสเตียรอยด์ฮอร์โมนอีกตัวหนึ่งที่มีความสำคัญและน่าจะมีบทบาทเกี่ยวข้องกับซีโรโทนินด้วย ซึ่งปฏิสัมพันธ์ระหว่างเอสโทรเจนกับซีโรโทนินนั้น ได้มีการศึกษากันมานานในเรื่องของอารมณ์ (mood) และความจำ (cognition) โดยพบว่าเอสโทรเจนสามารถเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบต่างๆ ในกลไกการออกฤทธิ์ของซีโรโทนิน เช่น ซีโรโทนิน ตัวรับสัญญาณซีโรโทนิน (serotonin receptor) ตัวดูดกลับซีโรโทนิน (SERT) รวมไปถึงเอนไซม์ที่ใช้ในกระบวนการสลายซีโรโทนินด้วย (285) ในปี 2001 มีรายงานว่าพบการแสดงออกของ ERβ บนเซลล์ประสาทซีโรโทนิน ทั้งในระดับอาร์เอนเอขนส่งและระดับโปรตีน (286, 287) สอดคล้องกับผลการศึกษาทาง Immunocytochemical localization ในสมองของหนู (rat และ mouse) (288, 289) นอกจากนี้ยังพบการเพิ่มขึ้นของซีโรโทนิน และสารเมแทบอไลท์ (5-HIAA) บริเวณต่างๆของสมองหลังจากได้รับฮอร์โมนเอสโทรเจนในหนูซึ่งถูกตัดรังไข่ออกแล้ว (ovariectomized rats) ได้แก่บริเวณ dorsal raphe และ striatum เป็นต้น (290, 291) บ่งบอกถึงการหมุนเวียนของสารซีโรโทนินที่มากขึ้น ซึ่งอาจเกี่ยวข้องกับการกระตุ้นการแสดงออกของเอนไซม์ tryptophan hydroxylase (292) ได้ เช่นเดียวกันนี้ยังมีรายงานถึงความสัมพันธ์ของเอสโทรเจนกับ SERT ด้วย แต่ผลการศึกษาที่ได้ไม่สอดคล้องกัน บางการศึกษาสนับสนุนว่าการได้รับเอสโทรเจนสามารถเพิ่มระดับของ SERT (27, 28) บางการศึกษากลับรายงานว่ามีการลดลงของระดับ SERT (22-26) การได้รับเอสโทรเจนนั้นยังสามารถลด activity ของเอนไซม์ monoamine oxidase (MAO) ในสมองของหนู (293) ระดับอาร์เอนเอขนส่งของเอนไซม์ MAO ชนิด A ในบริเวณ dorsal raphe ของลิง (294) รวมถึงเพิ่มการแสดงออกของยีน serotonin receptor ชนิด 2A ในหนูด้วย (295, 296) จากการศึกษาที่ผ่านมาล้วนสนับสนุนความสำคัญของชนิด β ต่อซีโรโทนินมากกว่าชนิด α เนื่องจาก ER ส่วนใหญ่ที่แสดงออกบนเซลล์ประสาทซีโรโทนินนั้นเป็นชนิด β (286, 287) อีกทั้งยา Tamoxifen ที่เป็น ERβ antagonist สามารถยับยั้งผลของเอสโทรเจนต่อซีโรโทนิน (297) ด้วย อย่างไรก็ตาม ในการศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยไม่ได้ตรวจสอบการแสดงออกของ ERβ ซึ่งอาจเป็นสาเหตุของการที่ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างเอสโทรเจนกับ SERT หากผลของฮอร์โมนเอสโทรเจนจำเป็นต้องอาศัย ERβ แต่ทว่าเซลล์เพาะเลี้ยงที่ใช้ในการศึกษานี้เป็นเซลล์มะเร็งจากลำไส้ใหญ่ (colon) ของระบบทางเดินอาหาร ที่มีลักษณะคล้ายเซลล์ epithelial (epithelial-like) ซึ่งพบว่ามีรายงานการแสดงออกของ ERβ ในเซลล์มะเร็งชนิดนี้และในเนื้อเยื่อปกติของลำไส้ใหญ่ด้วย (298-300) ดังนั้นผู้วิจัยจึงเลือกใช้ β-estradiol ในการทดลองครั้งนี้ สารตัวนี้มีคุณสมบัติที่สามารถออกฤทธิ์ได้ทั้งทาง ERα และ ERβ ซึ่งผลการทดลองนี้พบการแสดงออกของ ERα ในเซลล์ SW480 กับ HT-29 ด้วย นอกจากการศึกษาในสัตว์ทดลองดังที่กล่าวมาแล้วนั้น ยังมีการศึกษาในมนุษย์ซึ่งสนับสนุนบทบาทของเอสโทรเจนต่อซีโรโทนินด้วย เช่นพบว่าในผู้หญิงหลัง

วัยหมดประจำเดือนที่ได้รับเอสโทรเจนทางผิวหนังและการรับประทานนั้น จะมีการขับ 5-HIAA ทางปัสสาวะมากขึ้น (301) บ่งบอกถึงการหมุนเวียนซีโรโทนินที่เพิ่มขึ้น รวมถึงช่วยปรับสภาวะของอารมณ์และเพิ่มการจับกับ imipramine บนเกล็ดเลือด (302) แม้ว่าการจับกับ paroxetine นั้นจะไม่เปลี่ยนแปลง (303)

ไม่เพียงแต่ระบบประสาทเท่านั้น ฮอร์โมนเอสโทรเจนยังมีบทบาทในระบบทางเดินอาหารด้วย โดยเฉพาะเรื่องของมะเร็งลำไส้ใหญ่ (colon cancer) ซึ่งโรคนี้พบว่ามีอุบัติการณ์เกิดในเพศชายสูงกว่าเพศหญิงเกือบ 50 % บ่งบอกถึงความเกี่ยวข้องกับเรื่องของฮอร์โมนเพศ ซึ่งยังพบด้วยว่าอุบัติการณ์เกิดโรคมะเร็งลำไส้ใหญ่ในผู้หญิงหลังวัยหมดประจำเดือนนั้น จะสูงกว่าผู้หญิงก่อนวัยหมดประจำเดือน (304) แต่จะลดลงในผู้หญิงหลังวัยหมดประจำเดือนที่รักษาด้วยฮอร์โมนเอสโทรเจน (305, 306) อีกทั้งจากหลักฐานการศึกษาที่ผ่านมาส่วนใหญ่ทั้งแบบ case-control และ cohort ล้วนสนับสนุนว่า เอสโทรเจนสามารถลดความเสี่ยงของการเกิดโรคมะเร็งลำไส้ใหญ่ได้ (307) ตัวอย่างเช่นการศึกษาแบบ cohort ของ Calle และคณะพบว่าการรักษาด้วยฮอร์โมนเอสโทรเจน ในผู้หญิงหลังวัยหมดประจำเดือนจะสัมพันธ์กับความเสี่ยงของโรคมะเร็งลำไส้ที่ลดลง โดยเฉพาะอย่างยิ่งหากใช้มาเป็นระยะเวลานาน (long-term) (308) และล่าสุดมีการรายงานถึงความสำคัญของ ERβ ในระบบทางเดินอาหาร โดยที่ศึกษาเปรียบเทียบทางสัณฐานวิทยา (morphology) วิทยาเนื้อเยื่อ (histology) การเจริญ (proliferation) และการเปลี่ยนแปลง (differentiation) ของเซลล์ epithelium ในลำไส้ใหญ่ของหนูที่ถูกยับยั้งการแสดงออกของยีน ERβ กับหนูปกติ (wild-type) พบว่าหนูที่ขาด ERβ จะมีการเพิ่มขึ้นของจำนวนเซลล์มากกว่าหนูปกติ และมีการตายของเซลล์ลดลงด้วย สนับสนุนว่า ERβ มีบทบาทในการเจริญ รวมถึงการจัดโครงสร้าง (organization) และรักษาสภาพ (maintenance) ของเนื้อเยื่อบริเวณ crypt-villus ในลำไส้ใหญ่ปกติ (309) ดังนั้นอาจสรุปได้ว่า เอสโทรเจนน่าจะมีบทบาทในระบบทางเดินอาหารโดยเฉพาะที่ลำไส้ใหญ่ อย่างไรก็ตาม ยังคงไม่ทราบกลไกในระดับโมเลกุล (molecular mechanism) ที่ชัดเจน แต่คณะผู้วิจัยคาดว่าอาจจะมีความเกี่ยวข้องกับซีโรโทนินเช่นเดียวกันกับในระบบประสาท โดยเฉพาะ SERT เนื่องจากเมื่อเร็วๆนี้เองมีรายงานพบว่าการใช้ยาต้านโรคซึมเศร้า (antidepressants) ชนิด SSRIs ในปริมาณที่สูงมาก (>6.0x10^{-6} โมลต่อวัน) ทุกวันเป็นระยะเวลาตั้งแต่ 0 ถึง 5 ปีนั้นสามารถลดความเสี่ยงของการเกิดโรคมะเร็งลำไส้ใหญ่ได้โดยอาจไปยับยั้งการเจริญของเซลล์ (310) อย่างไรก็ตาม ยังคงต้องการการศึกษาเพิ่มเติมมากถึงผลของ SSRIs รวมไปถึงการทดสอบยา (trial) ก่อนที่จะนำไปใช้รักษาจริง (311) จากการศึกษาที่ผ่านมาทำให้ผู้วิจัยคาดว่าอาจจะมีความเป็นไปได้ ที่ความสัมพันธ์ระหว่างฮอร์โมนเอสโทรเจนกับโรคมะเร็งลำไส้ใหญ่นั้น

จะเกี่ยวข้องกับกลไกการออกฤทธิ์ของซีโรโทนิน และการที่เอสโทรเจนสามารถป้องกันหรือลดความเสี่ยงของการเกิดโรคได้นั้นไม่ได้เป็นผลโดยตรงของมัน แต่เป็นผลทางอ้อมที่ผ่านกลไกของซีโรโทนินแทน ซึ่งไม่ว่าจะเป็นการใช้ฮอร์โมนเอสโทรเจนหรือ SSRIs ก็ตามล้วนมีผลทำให้ปริมาณของซีโรโทนินเพิ่มมากขึ้น โดยการเพิ่มขึ้นของซีโรโทนินนี้อาจเป็นกลไกหนึ่งในการลดความเสี่ยงของโรคได้ ดังแสดงในรูปที่ 4.10



รูปที่ 4.10 แสดงแผนภาพกลไกที่เป็นไปได้ (proposed mechanism) ของความสัมพันธ์ระหว่างฮอร์โมนเอสโทรเจนและซีโรโทนินกับโรคมะเร็งลำไส้ใหญ่

แต่จากผลการศึกษาในครั้งนี้พบว่า ฮอร์โมนเอสโทรเจนไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของยีน SERT ไม่ว่าจะมีความหลากหลายของยีนชนิด 5-HTTLPR อัลลีลใดก็ตาม แสดงว่าการเพิ่มขึ้นของปริมาณซีโรโทนินไม่ได้เกิดจากผลโดยตรงของเอสโทรเจนต่อ SERT เป็นไปได้ว่าการเปลี่ยนแปลงของ SERT หลังจากได้รับเอสโทรเจนนั้น เป็นผลทางอ้อมจากผลของเอสโทรเจนต่อองค์ประกอบอื่นๆ ในกลไกของซีโรโทนิน เช่นมีผลต่อการสร้างซีโรโทนินโดยตรง และเมื่อได้รับสารไปเป็นระยะเวลาหนึ่งก็อาจส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของ SERT ตามมาได้ อย่างไรก็ดี การศึกษาผลของฮอร์โมนเอสโทรเจนต่อการแสดงออกของยีน SERT ที่ผ่านมามักทำในสัตว์ทดลอง เช่น ลิง (22, 23, 27) หรือสัตว์ที่ใช้ฟันกัดแทะ (rodents) เช่น หนู (rat) (24, 25, 28)

และหนู (mouse) (26) เป็นต้น แต่ความหลากหลายของยีนชนิด 5-HTTLPR นี้สามารถพบได้เฉพาะในมนุษย์และในสัตว์ไพรเมท (primates) ที่ไม่ใช่มนุษย์ เช่น ลิง (rhesus monkey) ที่มีความหลากหลายของยีนในบริเวณ 5'-flanking region เป็น 21 bp insertion or deletion (rh5-HTTLPR) ขณะที่ในพวก prosimians และสัตว์ที่ใช้ฟันกัดแทะ (rodents) ไม่พบว่ามีความหลากหลายดังกล่าว (21)

การศึกษาปฏิสัมพันธ์ระหว่างฮอร์โมนเอสโทรเจนกับซีโรโทนิน ถือเป็นเรื่องที่มีความสำคัญ ไม่ว่าจะเป็นในระบบประสาทหรือระบบทางเดินอาหารก็ตาม เอสโทรเจนในเพศหญิงจัดเป็นสเตียรอยด์ฮอร์โมนตัวหนึ่งที่ใช้ในการรักษา (hormone therapy) เพื่อทดแทนฮอร์โมนที่ขาดไป (replacement) หรือบรรเทาอาการจากการหมดประจำเดือน เช่น อาการร้อนวูบวาบ (hot flashes) รวมถึงช่วยลดความเสี่ยงของภาวะกระดูกพรุน (osteoporosis) ในผู้หญิงหลังวัยหมดประจำเดือน (postmenopause) รวมถึงผู้หญิงก่อนวัยหมดประจำเดือนที่ขาดเอสโทรเจนเนื่องจากการผ่าตัด (surgical menopause) ด้วย อย่างไรก็ตาม หากได้รับเป็นระยะเวลานานหรือในปริมาณที่มากเกินก็สามารถทำให้เกิดผลข้างเคียงได้ เช่น โรคมะเร็งเต้านม โรคหัวใจ เป็นต้น ดังนั้น การเข้าใจความสัมพันธ์ระหว่างฮอร์โมนเอสโทรเจนกับซีโรโทนินถึงกลไกในระดับโมเลกุลจะเป็นแนวทางในการผลิตคิดค้นยาหรือวิธีการรักษาใหม่ๆ เพื่อให้สามารถรักษาโรคได้อย่างมีประสิทธิ ภาพมากขึ้นโดยลดความเสี่ยงที่จะเกิดผลข้างเคียงลง และยังช่วยในการป้องกันรวมถึงการเลือกใช้วิธีการรักษาด้วยฮอร์โมนเอสโทรเจนได้อย่างถูกต้องและเหมาะสมกับแต่ละบุคคลด้วย

ในการศึกษาครั้งนี้ ผู้วิจัยพบองค์ความรู้ใหม่ที่แสดงว่าความหลากหลายของยีน SERT ชนิด 5-HTTLPR นั้นมีบทบาทในเซลล์จากระบบทางเดินอาหาร เช่นเดียวกันกับในเซลล์รก เซลล์เม็ดเลือดขาว และเซลล์ประสาท อย่างไรก็ตาม ควรทำการศึกษาในเซลล์ที่ไม่มีการแสดงออกของยีน SERT ในการศึกษาต่อไปด้วย เพื่อให้สามารถสรุปได้ว่าผลการศึกษาที่ได้นี้มีความจำเพาะกับเซลล์ที่มีการแสดงออกของ SERT เท่านั้นหรือไม่ นอกจากนี้ควรทำการศึกษาปริมาณของซีโรโทนินหรือ SERT ที่สร้างขึ้นจริงภายในเซลล์โดยที่มีกลไกการควบคุมย้อนกลับด้วย เพื่อยืนยันผลการทดลอง ส่วนผลการศึกษาฮอร์โมนกลูโคคอร์ติคอยด์ และ เอสโทรเจนนั้นไม่พบว่ามีบทบาทต่อการแสดงออกของยีน SERT ไม่ว่าจะเป็นความหลากหลายของยีนชนิด 5-HTTLPR อัลลีลใดก็ตาม อย่างไรก็ตาม การศึกษากลไกในระดับโมเลกุลของปฏิสัมพันธ์ระหว่าง เอสโทรเจนกับซีโรโทนินยังคงไม่ทราบแน่ชัดและน่าสนใจที่จะศึกษาต่อถึงกลไกที่แท้จริง แม้ว่าจากการศึกษาครั้งนี้จะไม่พบบทบาทของเอสโทรเจนต่อ SERT สำหรับลำดับเบส 42 คู่เบสที่ได้จากการศึกษาในส่วน

ความหลากหลายชนิด 5-HTTLPR นั้นแตกต่างจากที่เคยมีการศึกษาไว้ในเชื้อชาติ Caucasian ซึ่งคณะผู้วิจัยเสนอว่าควรจะมีการทำฐานข้อมูลลำดับเบสทั้งหมด (whole genome) ในเชื้อชาติไทย เพื่อเป็นประโยชน์ในการศึกษาถึงยีนที่ก่อให้เกิดโรค และการศึกษาทางด้านเภสัชพันธุศาสตร์ (pharmacogenomics) ต่อไปในอนาคต