การสื่อสัญญาณเซลล์ของกรดน้ำดี

Bile Acids as Signaling Molecules

ชัยสิทธิ์ สิทธิเวช*
คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม
Chaiyasit Sittiwet*
Faculty of Medicine, Mahasarakham University.

บทคัดย่อ

ปัจจุบันพบบทบาทของกรดน้ำดีที่นอกเหนือจากบทบาทที่เกี่ยวข้องกับการดูดซึมไขมันเข้าสู่ร่างกายแล้วนั้น กรดน้ำดี (Chenodeoxycholic acid, Deoxycholic acid และ Lithocholic acid) ยังมีผลต่อการขนส่ง Ca^{2+}/Na^{+} ผลต่อการสังเคราะห์ cAMP ผลต่อ insulin receptor ผลต่อ M3 muscarinic receptor ผลต่อการควบคุมการสลายและการสังเคราะห์ไกลโคเจน ผลต่อ receptor tyrosine kinase ผลต่อ nuclear receptor-mediated response ผลต่ออัตราการสังเคราะห์กรดน้ำดีผ่าน FXR (Fanosyl X receptor) ผลต่อการสื่อสัญญาณผ่าน inflammatory genes เช่น EGF, TGFβ1, TNFα, IL-1 และ ICAM-1 นอกจากนี้กลไกการสื่อสัญญาณของกรดน้ำดียังเกี่ยวข้องกับ glucose homeostasis ซึ่งสามารถเชื่อมโยงเมตาบอลิสมของโคเลสเตอรอลกับเมตาบอลิสมของกลูโคสเข้าด้วยกัน

คำสำคัญ : กรดน้ำดี การสื่อสัญญาณของกรดน้ำดี การสังเคราะห์กรดน้ำดี บทบาทของกรดน้ำดี

Abstract

There are the other roles of bile acid than lipid absorption which continuously reports. The recent reports show the effects of CDCA, DCA and LCA which controlled rate of Ca^{2+}/Na^{+} mobility, synthesis of cAMP, insulin receptor, M3 muscarinic receptor, rates of glycogenolysis and glycogensynthesis, receptor tyrosine kinase, nuclear receptor mediated responds, rate of bile acid synthesis on FXR (Fanosyl X receptor) and inflammatory genes expression such as EGF, TGF, TNFα, IL-1 and ICAM-1. In addition the role of bile acid as signaling molecules also act on glucose homeostasis which can be link to cholesterol metabolism.

Keywords : bile acids, bile acids signaling, bile acid synthesis, roles of bile acid

* E-mail: Cssittivat@hotmail.com

บทนำ

กรดน้ำดีคืออนุพันธ์ของโคเลสเตอรอลที่ร่างกายสังเคราะห์ขึ้นที่ตับเพื่อที่จะใช้ในกระบวนการดูดซึมไขมันและวิตามินที่ละลายในไขมัน โมเลกุลของกรดน้ำดีมีทั้งบริเวณที่มีขั้วและบริเวณที่ไม่มีขั้วในโมเลกุลเดียวกัน (Amphipathic molecules) เมื่อไขมันและวิตามินที่ละลายในไขมัน (วิตามิน A, E, D และ K) จับตัวกับกรดน้ำดีจะเกิดเป็นอนุภาคที่เรียกว่า ไมเซลล์ (micelle) ในมนุษย์กรดน้ำดีที่พบมากที่สุดคือ กรดคีโนดีออกซิโคลิก (Chenodeoxycholic acid; CDCA) และ กรดโคลิก (Cholic acid; CA) เมื่อกรดน้ำดีถูกหลั่งสู่ลำไส้เล็กแล้วจะถูกดูดซึมกลับมาประมาณ 95% โดยโปรตีนขนส่ง (active sodium-dependent apical bile acid transporter; ASBT) ซึ่งการดูดกลับกรดน้ำดีนั้นจะเกิดขึ้นในลำไส้เล็กบริเวณ Ileum กรดน้ำดีบางส่วนนั้นจะถูกจุลินทรีย์ในลำไส้เล็กเปลี่ยนเป็นกรดน้ำดีทุติยภูมิ (secondary bile acid) ซึ่ง CA จะถูกเปลี่ยนเป็น กรดดีออกซีโคลิก (Deoxycholic acid; DCA) และ CDCA จะถูกเปลี่ยนเป็น กรดลิโธโคลิก (Lithocolic acid: LCA) ซึ่งกรดน้ำดีทุติยภูมินี้ก็ถูกดูดซึมกลับโดยลำไส้ใหญ่ (Monte *et al*., 2009; Russell, 2003) โดยปริมาณการดูดซึมกลับของกรดน้ำดีจะมีผลต่ออัตราการสังเคราะห์กรดน้ำดีในตับ ดังนั้นในอุจจาระของมนุษย์นั้นจะพบกรดน้ำดีทั้งสี่ชนิดนี้ในประมาณมากกว่าชนิดอื่นๆ นอกจากนั้นยังมีกรดน้ำดีชนิดอื่นๆ ได้แก่ Ursodeocycholic acid (UDCA) Taurolithocholic acid, Isolithocholic acid และกรดน้ำดีที่มีหมู่คีโตน (ketone group) ซึ่งมีปริมาณน้อยเมื่อเทียบกับกรดน้ำดีทั้งสี่ชนิดที่กล่าวมาข้างต้น กรดน้ำดีบางส่วนไม่ถูกดูดซึมกลับจะถูกขับออกทางอุจจาระในปริมาณเฉลี่ย 500 มิลลิกรัมต่อวัน (Arrese *et al*., 2004; Ridlon *et al*., 2006) กรดน้ำดียังมีบทบาทในการกำจัดโคเลสเตอรอลออกจากร่างกายผ่านทางอุจจาระ

การสื่อสัญญาณของกรดน้ำดี

ในปัจจุบันพบว่าโมเลกุลของกรดน้ำดีมีบทบาทอื่นนอกเหนือจากที่กล่าวมาข้างต้น โดยมีรายงานว่า กรดน้ำดีมีบทบาทในการสื่อสัญญาณเซลล์ เช่น สัญญาณต่อสมดุลของแคลเซียม สัญญาณต่อการสังเคราะห์ cyclic AMP (cAMP) สัญญาณต่อการเคลื่อนตัวและกระตุ้นการทำงานของ Protein kinase C นอกจากนี้ยังพบว่ามี G protein-coupled receptor (GPCR) (Fiorucci *et al*., 2009) ที่มีกรดน้ำดีเป็นลิแกนด์ (ligand) คือ TGR5 (G protein-coupling receptor ชนิดหนึ่งซึ่งมีความจำเพาะต่อกรดน้ำดี) ซึ่งการจับของกรดน้ำดีกับ TGR 5 นั้น จะให้ผลต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของเซลล์ เช่น กระตุ้นการหลั่ง glucagon-like peptide-1 (GLP-1) ใน murine enteroendocrine cell line STC-1 ซึ่งเป็นเซลล์ของลำไส้เล็ก ซึ่ง GLP-1 มีหน้าที่ในการกระตุ้นการหลั่งอินสุลินที่ตับอ่อนและยับยั้งการหลั่งกลูคากอน (Katsuma *et al*., 2005) ในขณะที่เมื่อ CA จับกับ TGR 5 ที่ผิวเซลล์ brown adipose tissue จะเป็นการเพิ่มอัตรา energy expenditure (Watanabe, 2006) เป็นต้นทั้งนี้กรดน้ำดีต่อการสื่อสัญญาณในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตเป็นที่น่าสนใจและยังเป็นจุดเชื่อมโยงเมตาบอลิสมของไขมันและพยาธิสภาพของโรคบางชนิดได้อีกด้วย โดยการสื่อสัญญาณของกรดน้ำดีนั้นมีการสรุปออกมาตามการออกฤทธิ์ผ่านสารตัวกลางต่างๆ ดังนี้

1. กรดน้ำดีต่อไอออน Ca^{2+}/Na^{+}

พบว่าการสื่อสัญญาณของกรดน้ำดีต่อการเคลื่อนตัวของไอออน Ca^{2+} ในเซลล์ตับ และตับอ่อน (Ficher, *et al*., 2007) ผ่านกลไก IP_3 (Inosine triphosphate; ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยา hydrolysis ของ Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate (PIP_2) โดยเอนไซม์ Phospholipase C ซึ่ง PIP_2 เป็นองค์ประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์ซึ่ง IP_3 จะมีผลทำให้เอนโดพลาสมิคเรติคูลัมปล่อย Ca^{2+} ออกมาสู่ไซโตพลาสซึม) การสื่อสัญญาณในเซลล์อื่นๆ ที่เกี่ยวข้องกับ Ca^{2+} ยังไม่มีข้อสรุปแน่นอนในขณะนี้ แต่พบกว่าเมื่อการสังเคราะห์กรดน้ำดีเปลี่ยนแปลงไปจะมีผลต่อสมดุล Ca^{2+} ในร่างกายตามไปด้วย กรดน้ำดีสามารถกระตุ้นการเคลื่อนตัวของไอออน Ca^{2+} เข้าสู่เซลล์และ/หรือกระตุ้นการปล่อยไอออน Ca^{2+} ออกจากออร์กาเนลเข้าสู่ไซโตพลาสซึมและปลดปล่อยออกนอกเซลล์ โดยกรดน้ำดีแต่ละชนิดจะมีผลต่อการเคลื่อนตัวของ Ca^{2+} ไม่เท่ากัน โดยในสัตว์ทดลองพบว่า CDCA และ taurolithocholic acid (TLCA) นั้นสามารถกระตุ้นให้ไอออน Ca^{2+} นั้นถูกปลดปล่อยออกนอกเซลล์ ในขณะที่ UDCA และ taurodeoxylithocholic acid (TUDCA) ไม่ส่งผลต่อไอออน Ca^{2+} ในเซลล์ตับ (Combettes *et al*., 1990; Beuers *et al*., 1993; Thibault and Ballet, 1993; Beuers, 1997; Gerasimenko *et al*., 2006) ซึ่งผลของกรดน้ำดีในการสื่อสัญญาณผ่าน Ca^{2+} ต่อเซลล์ต่างๆ และความแรงของการสื่อสัญญาณแสดงในตารางที่ 1.

ผลของกรดน้ำดีต่อการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} นั้นสามารถอธิบายพยาธิสภาพของโรคที่เกี่ยวข้องกับกรดน้ำดีที่ทำให้เกิดภาวะตับอ่อนอักเสบเฉียบพลัน (acute pancreatitis) โดยเมื่อภาวะแคลเซียมเพิ่มขึ้นจะเหนี่ยวนำให้เกิดการกระตุ้น cholecystokinin

ตารางที่ 1. ผลของกรดน้ำดีต่อ Ca^{2+}

กรดน้ำดี	ความเข้มข้นที่มีผลสื่อสัญญาณ (μM)	ชนิดของเซลล์					รายการอ้างอิงลำดับที่
		Hamster or rat hepatocytes	Mouse pancreatic acinar cells	Baby hamster kidney cells	Human platelets	Human neuronal cells	
CDCA	≥50	++					[1,19]
DCA	≥50			++			[1,12]
UDCA	≥10	++					[3,4]
TUDCA	≥10	+++					[3,4]
TLCA	≥100	+++		++	++*	++*	[6,7,19]
TLCA-S	≥10		++				[20,21]
TCA	≥500	+	+				[19,21]
TCDCA	≥50	+++	+				[4,21]

หมายเหตุ: 1. CDCA คือ Chenodeoxycholic acid; DCA คือ Deoxycholic acid; UDCA คือ Ursodeoxycholic acid; TUDCA คือ Taurodeoxycholic acid; TLCA คือ Taurolithocholic acid; TLCA-S คือ Taurolithocholic acid 3-sulfate; TCA คือ Taurocholic acid; TCDCA คือ Taurodeoxycholic acid

(+) คือการเปรียบเทียบอิทธิพลความแรงของการสื่อสัญญาณที่มีผลต่อการเคลื่อนที่ของแคลเซียมไอออน

* ผลที่เกิดขึ้นนั้นเฉพาะที่กรดน้ำดีสามารถแพร่ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ได้โดยอาศัย saponin

(CCK) ใน pancreatic acinar cell ส่งผลให้เกิดการกระตุ้น trypsinogen ทำให้เซลล์ตับอ่อนถูกทำลายเนื่องจาก trypsin ไปย่อยโปรตีนซึ่งเป็นโครงสร้างของเซลล์ กลไกของการสื่อสัญญาณนี้จะเกิดผ่าน Phosphatidylinositol 3-kinase (PI_3K) และสัญญาณจากกรดน้ำดียังมีผลยับยั้งการเคลื่อนที่กลับของไอออน Ca^{2+} เข้าสู่เอนโดพลาสมิคเรติคูลัม จึงทำให้การสื่อสัญญาณนี้มีผลกระทบต่อเซลล์มากเนื่องจากผลของการเสริมฤทธิ์ของการส่งสัญญาณ (synergistic inhibition) นั่นคือ นอกจากจะมีผลในการเพิ่มระดับของแคลเซียมในไซโตพลาสซึมแล้วยังยับยั้งการดูดกลับของ Ca^{2+} สู่เอนโดพลาสมิคเรติคูลัมอีกด้วย (Voronina *et al*., 2002)

นอกจากผลโดยตรงจากการเพิ่มขึ้นของ Ca^{2+} ในไซโตพลาสซึมนั้นก็ยังพบว่าภาวะตับอ่อนอักเสบเฉียบพลันยังเกี่ยวข้องกับอัตราการเพิ่มขึ้นของ Na^+ ในไซโตพลาสซึมจากซึ่งเกิดจากการสื่อสัญญาณของกรดน้ำดี TCDC และ TCA เหนี่ยวนำให้เซลล์รับเอา Na^+ เข้าสู่เซลล์มากขึ้น (increase sodium permeability) เมื่อระดับของทั้ง Ca^{2+} และ Na^+ เพิ่มขึ้นในเซลล์จะทำให้เซลล์เกิดภาวะเครียด (Stress) จากความไม่สมดุลของไอออนในเซลล์ นอกจากนี้ภาวะที่เซลล์ตับอ่อนมี Na^+ เพิ่มขึ้นจะทำให้ไม่สามารถขับเอา Cl^- ออกจากเซลล์ได้ด้วยซึ่งมีผลต่อการขับเอนไซม์พวก digestive enzyme ออกจากตับอ่อน ภาวการณ์เพิ่มขึ้นของ Na^+ นี้เกิดได้ทั้งแบบ Ca^{2+} dependent และ Ca^{2+} independent พบว่าการเพิ่มของ Na^+ แบบ Ca^{2+} independent นั้นเกิดขึ้นได้กับกรดน้ำดีที่มีความเข้มข้นต่ำกว่าและจากการทดลองพบว่าความเข้มข้นของกรดน้ำดีที่มีผลทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของ Na^+ permeability นั้นมีความเข้มข้นใกล้เคียงกับความเข้มข้นของ Taurolithocholic acid -3- sulfate ในซีรั่มของผู้ป่วยตับอ่อนอักเสบเฉียบพลัน (Voronina *et al*., 2005)

2. Cyclic AMP (cAMP) synthesis regulation

การสื่อสัญญาณเซลล์ของกรดน้ำดีสามารถสื่อผ่านการสังเคราะห์ cAMP ซึ่งเป็นไปได้ทั้งการกระตุ้นการสร้าง cAMP และการยับยั้งการสร้าง cAMP ซึ่งกรดน้ำดีจะกระตุ้นการสร้าง cAMP ในเซลล์ลำไส้เล็ก เซลล์ลำไส้ใหญ่ เซลล์ liver sinusoidal endothelial cells เซลล์เยื่อบุท่อน้ำดี และเซลล์ cholangiocytes ในขณะที่ยับยั้งการสร้าง cAMP ในเซลล์ตับ เซลล์

dermal fibroblast เซลล์หลอดเลือด และเซลล์ของต่อมไธรอยด์ ซึ่งเมื่อมองภาพรวมจะพบว่า เซลล์ของเนื้อเยื่อต่างชนิดกัน มีการตอบสนองต่อการสื่อสัญญาณของกรดน้ำดีไม่เหมือนกัน หรืออีกนัยหนึ่งคือกรดน้ำดีมีความจำเพาะต่อการสื่อสัญญาณในเซลล์ชนิดต่างๆ

กลไกการยับยั้งการสร้าง cAMP ของกรดน้ำดียังไม่เป็นที่สรุปแน่ชัดแต่คาดว่ากลไกดังกล่าวจะสื่อสัญญาณผ่าน GPCR, G protein, และ adenylyl cyclase ยับยั้งโดยกรดน้ำดีชนิด UDCA และ TUDCA สามารถยับยั้ง cAMP โดยยับยั้ง glucagon-induced cAMP synthesis (Bouscarel *et al*., 1995) ในขณะที่ CDCA, murocholic acid และ TDCA นั้นมีประสิทธิภาพการยับยั้งน้อยกว่ากรดน้ำดี UDCA และ TUDCA พบว่าการศึกษาการยับยั้งการสร้าง cAMP ของกรดน้ำดีสามารถยับยั้งได้โดย staurosporine (เป็น antibiotic ที่ออกฤทธิ์โดยการยับยั้ง protein kinase แบบแข่งขัน) ซึ่งแสดงให้เห็นว่ากลไกการยับยั้งการสร้าง cAMP ของกรดน้ำดีน่าจะเกี่ยวของกับ PKC (Bouscarel *et al*., 1995; Kubitz *et al*., 2004)

จากการศึกษาพบว่าการยับยั้งการสร้าง cAMP ของกรดน้ำดีนั้นเป็นผลที่คงทน แม้ว่าในการทดลองจะล้างกรดน้ำดีออกจากเซลล์แล้ว สัญญาณยังคงอยู่ช่วงเวลาหนึ่งซึ่งผลการสื่อสัญญาณที่คงทนนี้ไม่เพียงพบในเซลล์ตับเท่านั้น แต่ยังพบในเซลล์ dermal fibroblast โดยพบว่าแม้จะล้างเอา CDCA ออกจากเนื้อเยื่อแล้ว ระดับ cAMP ในเซลล์ยังคงลดลงประมาณ 30% และเมื่อเพิ่ม phosphatase เข้ามาในระบบพบว่าสัญญาณของเซลล์หลังจากล้างกรดน้ำดีออกไปจะถูกยับยั้งลดลง แสดงว่ากลไกการกลับมาสังเคราะห์ cAMP หลังจากถูกยับยั้งโดยกรดน้ำดีน่าจะเกี่ยวข้องกับปฏิกิริยา phosphorylation/dephosphorylation (Bouscarel *et al*., 1995, Kubitz *et al*., 2004)

กรดน้ำดีชนิด TCDCA และ TUDCA สามารถกระตุ้นเซลล์เยื่อบุท่อน้ำดีการสร้าง forskolin-induced cAMP และทำให้มีการเคลื่อนตัวของ PKC-α และ PKC-δ จากไซโตพลาสซึมไปสู่เยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่งการกระตุ้นการสร้าง cAMP โดยกรดน้ำดีนั้นถูกยับยั้งโดยสารที่ยับยั้งการทำงานของ PKC ซึ่งแสดงว่ากลไกการกระตุ้นการสร้าง cAMP ของกรดน้ำดีเกิดผ่านการทำงานของ PKC

การเคลื่อนตัวจากไซโตพลาสซึมไปสู่เยื่อหุ้มเซลล์และการกระตุ้นการทำงานของ PKC โดยการสื่อสัญญาณของกรดน้ำดีนั้นได้มีรายงานใน เซลล์ Hepatocytes เซลล์ fibroblasts เซลล์เยื่อบุลำไส้ใหญ่ และเซลล์ไต ซึ่งการสื่อสัญญาณที่เกี่ยวข้องกับ PKC นั้นจะขึ้นอยู่กับ isoform ของเอนไซม์ตัวนี้ และชนิดของกรดน้ำดีดังแสดงในตารางที่ 2. (Beuers, 1997; Kubitz *et al*., 2004)

ตารางที่ 2. ผลของกรดน้ำดีต่อ isozyme ของ Protein kinase C ในเซลล์ตับ

	Tauro ursodeoxycholic acid	Taurocholic acid	Taurolithocholic acid
Isozyme ของ Protein kinase C:			
α-PKC	+	-/+	-
β II-PKC	-	-	-
δ-PKC	-	-/+	-
ε-PKC	-	-/+	+
ζ-PKC	-	-	-
DAG formation	+	+	+
Activation of membrane bound total PKC	+	+	+

ข้อมูลตารางจาก Beuers, U. (1997). Effects of Bile acids on Hepatocellular Signalling and Secretion. *Yale Journal of Biology and medicine*, 70, 341-346.

หมายเหตุ: - คือ มีผลยับยั้งการทำงานของ PKC; + คือ มีผลกระตุ้นการทำงานของ PKC; -/+ คือ มีผลกระตุ้นในบางรายงานและมีผลยับยั้งการทำงานของ PKC ในบางรายงานซึ่งอาจเป็นเพราะสภาวะของการทดลอง

3. Insulin receptor

ในหนูทดลองพบว่ากรดน้ำดีมีผลต่อประสิทธิภาพการทำงานเอนไซม์ glycogen synthase (GS) ในตับ ซึ่งสัญญาณดังกล่าวมี PI_3 kinase (PI_3K)/AKT/glycogen synthase kinase 3 (GSK3) เป็นตัวส่งสัญญาณทุติยภูมิ ซึ่งเอนไซม์ GS นี้เกี่ยวข้องกับการเก็บกลูโคสในรูปแบบไกลโคเจน โดยปกติแล้ว PI3K/AKT จะเป็นสัญญาณที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของอินสุลิน จากการทดลองพบว่า DCA, TDCA, และ TCA สามารถกระตุ้นการทำงานของ GS ได้ประมาณ 40% ซึ่งชี้ให้เห็นว่าไม่เพียงแค่อินสุลินเท่านั้นที่ทำหน้าที่ควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดแต่กรดน้ำดีก็ยังสามารถสื่อสัญญาณลักษณะเดียวกันได้ (Han, *et al*., 2004)

4. Muscarinic receptor

ได้มีรายงานวิจัยเกี่ยวกับการศึกษาการจับกันของ muscarinic receptors กับกรดน้ำดีซึ่งพบในเซลล์ลำไส้ใหญ่ gastric chief cells และ chinese hamster ovary โดยการจับตัวกันของกรดน้ำดีกับ muscarinic receptors ในเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ทำให้เกิดการแบ่งตัวของเซลล์มากขึ้น กรดน้ำดีนั้นจับกับ M3 muscarinic receptor แบบแข่งขันได้ดีกว่าชนิดอื่นๆ แต่การสื่อสัญญาณของกรดน้ำดีต่อ M3 muscarinic receptor จะมีประสิทธิภาพน้อยกว่า carbamylcholine และ acetylcholine และในเซลล์มะเร็งพบว่ากรดน้ำดีกระตุ้นการแบ่งเซลล์ได้เฉพาะในเซลล์ที่มี M3 muscarinic receptor เท่านั้นโดยมีการสื่อสัญญาณผ่านกลไกของ MAPK phosphorylation และยังเพิ่ม IP_3 (Hylemon *et al*., 2009)

5. Receptor tyrosine kinase (RTKs)

การสื่อสัญญาณของกรดน้ำดีผ่าน MAPK นั้น เกี่ยวข้องโดยตรงกับ oncogenesis ซึ่งเป็นการสื่อสัญญาณกันระหว่าง RTKs กับ epidermal growth factor receptor (EGFR) บทบาทของกรดน้ำดีต่อ RTKs นั้นเกี่ยวข้องกับสองเรื่องใหญ่ๆ คือ oncogenesis และ glucose homeostasis (Nguyen & Bouscarel, 2008)

กรดน้ำดีสามารถกระตุ้นการทำงานของวิถี RTKs ซึ่งจะส่งสัญญาณไปกระตุ้น EGFR อีกต่อหนึ่ง และยังพบว่ากรดน้ำดีสามารถกระตุ้นการทำงานของ MAP kinase (MEK/ERK) และ AKT ซึ่งสัญญาณทั้งหมดนี้มีผลต่อ gene expression, การแบ่งตัวของเซลล์ (cellular proliferation) และการตายของเซลล์แบบ apoptosis

โดยกรดน้ำดีจะไปกระตุ้น EGFR ผ่าน G protein coupling receptor TGR5 และ/หรือ Muscarinic receptors M3 ซึ่งจะส่งสัญญาณกระตุ้น Raf 1 (proto-oncogene serine/threonine-protein kinase) MAPK (Mitogen activated protein kinase) และ ERK1/2 (Extracellular signal-regulated kinase 1/2) ซึ่งสัญญาณในลักษณะนี้เป็น pro-survival signal แต่ถ้าหากกรดน้ำดีไปกระตุ้นสัญญาณ PKCα ซึ่งจะไปกระตุ้น p38 จะทำให้เกิดการยับยั้ง cell cycle เรียกว่า Pro-apoptotic ในทำนองเดียวกันกรดน้ำดีก็สามารถกระตุ้น PKCδ และ JNK1/2 (Jun-N-terminal kinase 1 and 2) ซึ่งก็มีผลเป็น pro-apoptotic ดังภาพที่ 1.

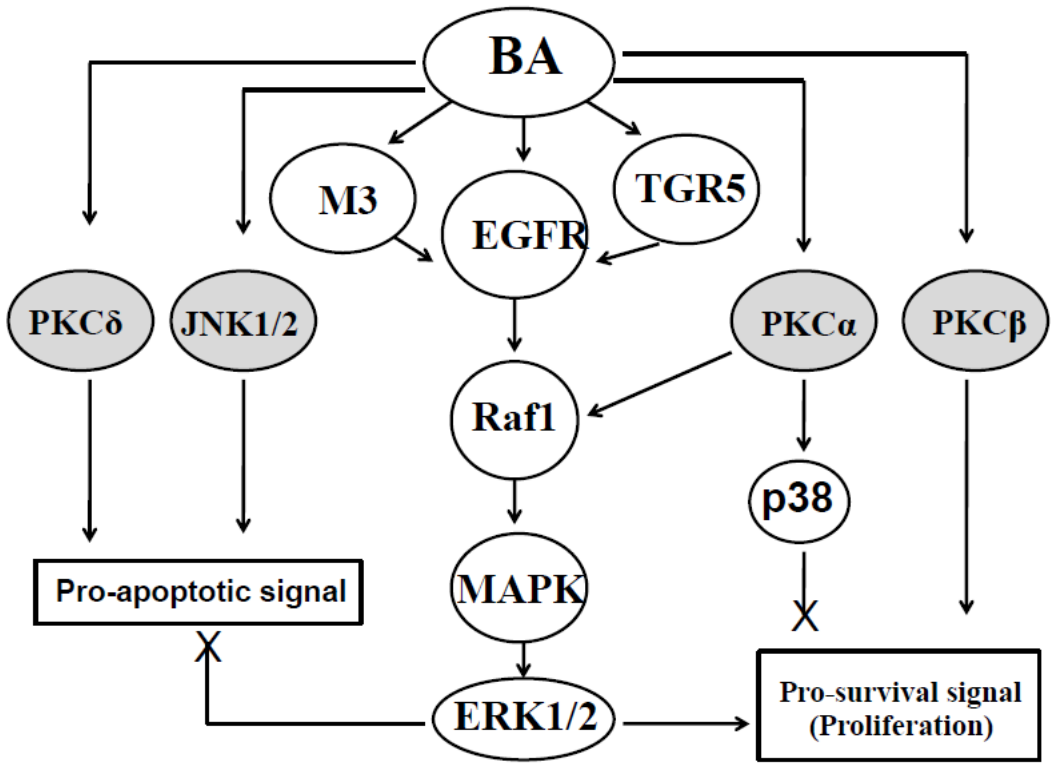
ในผู้ป่วย gastric adenocarcinoma พบว่า EGFR-ERK1/2 ถูกกระตุ้นโดย DCA การยับยั้งปฏิกิริยา phophorylation ของ EGFR ที่เกิดจาก DCA นั้นสามารถทำได้โดยใช้ Heparin-binding-EGF (HB-EGF) anti-sera หรือ CM197 ซึ่งจะยับยั้งสัญญาณจาก DCA ไม่ให้ไปกระตุ้นการแบ่งตัวของเซลล์มะเร็งโดยสัญญาณของ DCA ผ่าน EGFR-ERK1/2 (Yasuda *et al*., 2007) ในกรณีของ human cholangiocyte cell lines KMBC และ H-69 พบว่าการเจริญของเซลล์ถูกกระตุ้นได้โดย DCA โดยการ phophorylation ที่ EGFR และกระตุ้น transforming growth factor-α (TGF-α) อีกต่อหนึ่ง (Nguyen & Bouscarel, 2008)

กล่าวโดยสรุปจะพบว่าการสื่อสัญญาณเซลล์ของกรดน้ำดีมีผลต่อวงจรของเซลล์ (cell cycle) ทั้งการควบคุมการเจริญของเซลล์ (Cellular proliferation) หรือการตายของเซลล์แบบ apoptosis ผ่านกลไกหลายอย่างดังแสดงในภาพที่ 1. ซึ่งองค์ความรู้นี้สามารถใช้อธิบายกลไกยารักษามะเร็งบางชนิดหรือการเลือกใช้ยาในผู้ป่วยมะเร็งบางชนิดได้

Nuclear receptor-mediated response

พบว่ากรดน้ำดีสามารถสื่อสัญญาณผ่าน nuclear receptor หลายชนิด แต่ชนิดที่สำคัญและถูกกล่าวถึงบ่อยคือ farnesoid X receptor (FXR) ซึ่งจะส่งผลต่ออัตราการสังเคราะห์กรดน้ำดี (Fuchs, 2003) การแข็งตัวของเลือด การตอบสนองต่อการอักเสบ และการควบคุมเมตาบอลิสมของกลูโคส (Chiang, 2003)

FXR นั้นพบในเซลล์ตับ ลำไส้เล็ก ไต และต่อมหมวกไต ซึ่งเป็น nuclear receptor ของกรดน้ำดี CDCA DCA และ LCA โดย FXR จะจับตัวอยู่กับ retinoid X receptor (RXR) ซึ่งจะควบคุม transcription ของ DNA เมื่อ FXR ถูกกระตุ้นจะควบคุมการสังเคราะห์ cytochrome P450 (CYP7A1) ซึ่งเป็น rate-limiting enzyme ของการสังเคราะห์กรดน้ำดี



ภาพที่ 1. การสื่อสัญญาณของกรดน้ำดีผ่าน tyrosine kinase receptor โดยสัญญาณของกรดน้ำดีอาจสื่อผ่าน PKCδ, JNK1/2 ซึ่งจะมีผลการยับยั้งวงจรของเซลล์ (cell cycle) เรียกลักษณะการยับยั้งการเจริญของเซลล์ว่า pro-apoptotic signal ในขณะที่หากสัญญาณกระตุ้นผ่าน EGFR, PKCα, PKCβ จะกระตุ้นให้เซลล์แบ่งตัว (cellular proliferation) เรียกสัญญาณแบบนี้ว่า pro-survival signal (⟶ แสดงถึงการสื่อสัญญาณแบบกระตุ้น; ⟶✕ แสดงถึงการสื่อสัญญาณแบบยับยั้ง)

หมายเหตุ: BA = bile acid, M3 = muscarinic receptor M3, EGFR = epidermal growth factor receptor, TGR5 = membrane bile acid receptor, PKC = Protein kinase C, Raf1 = proto-oncogene serine/threonine-protein kinase, MAPK= Mitogen activated protein kinase, ERK1/2= extracellular-regulated kinase 1 and 2, JNK= Jun-N-terminal kinase 1 and 2, p38 = p38 = mitogen activated protein kinase

นอกจากนั้น FXR ยังควบคุมการแสดงออกของยีน CYP8B1 โดยเมื่อ FXR ถูกกระตุ้นจะทำให้การสังเคราะห์กรดน้ำดีลดลง ซึ่งการควบคุมนี้จะเกิดร่วมกับ α-fetoprotein transcription factor (FTF) และ short หรือ small heterodimer partner (SHP)

การกระตุ้น FXR/RXR นั้นทำให้เกิดการสังเคราะห์ SHP ซึ่งเป็นตัวยับยั้ง liver receptor homologue mLRH-1 ซึ่งจะเป็นตัวกระตุ้นการสังเคราะห์ CYP7A1 และยังไปยับยั้ง orphan receptors liver receptor homolog (LRH) และ LRH/hepatocyte nuclear factor-4 (HNR-4) ซึ่งเกี่ยวข้องกับการควบคุมการสังเคราะห์เอนไซม์ CYP7A1 และ CYP8B1

กรณีของ Intestinal bile acid binding protein (IBABP) นั้นพบว่าน่าจะเกี่ยวข้องกับการหลั่งกรดน้ำดีและการดูดกลับของกรดน้ำดีในลำไส้เล็กมากกว่า นอกจากนี้เมื่อ FXR ถูกกระตุ้นยังพบว่ามีการขับเอา conjugated bile acid ออกมากขึ้น อีกด้วย

การกระตุ้น FXR ยังมีผลต่อการแข็งตัวของเลือดโดย FXR ควบคุมการแสดงออกของยีน fibrinogen (FBF)-α, FBG-β, และ FBG-γ ซึ่งเป็นโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของ FBG protein ซึ่ง FBG จะถูกหลั่งออกมาจากเซลล์ตับแล้วเข้าสู่กระบวนการ coagulation และนอกจากนั้นการสื่อสัญญาณของกรดน้ำดียังสามารถสื่อสัญญาณกระตุ้นการอักเสบ (inflammation) ได้อีกด้วย

โดยควบคุมผ่าน inflammatory gene เช่น EGF, transforming growth factor-β1 (TGF-β1), TNF-α, IL-1 และ intracellular adhesion molecule-1 (ICAM-1)

Bile acids และ glucose homeostasis

ตับเป็นอวัยะศูนย์กลางของการควบคุมสมดุลของระดับน้ำตาลในร่างกาย ในปัจจุบันพบว่ากรดน้ำดีไม่ได้มีเพียงบทบาทต่อเมตาบอลิสมของโคเลสเตอรอลเท่านั้นแต่ยังมีบทบาทต่อเมตาบอลิสมของกลูโคสอีกด้วย (Keitel, 2008) พบว่าการให้ bile acid binding resins เช่น colestyramine, colesevelam hydrochloride และ colestilan นั้นทำให้ปริมาณกรดน้ำดีในร่างกายลดลง กระตุ้นการสังเคราะห์กรดน้ำดี ลดการสะสมไขมันในตับ และยังเป็นการลดระดับน้ำตาลในเลือดและระดับไขมันในเลือด ในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 (ชนิดไม่พึ่งพาอินสุลิน) (Houten, *et al*., 2006)

ในเบื้องต้นพบว่ากรดน้ำดีนั้นสามารถกระตุ้นเอนไซม์ glycogen phophorylase (GP) และส่งเสริมการสลายไกลโคเจนเป็น glucose-1-phosphate แต่ในทางตรงกันข้ามก็มีรายงานว่ากรดน้ำดีสามารถกระตุ้น GS ซึ่งเกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ไกลโคเจนอีก แสดงว่าโมเลกุลของกรดน้ำดีมีบทบาทต่อเมตาบอลิสมของไกลโคเจน ซึ่งความแตกต่างกันของการกระตุ้นการสร้างไกลโคเจนและการสลายไกลโคเจนคงเป็นความจำเพาะของชนิดของกรดน้ำดี

กรดน้ำดี UDCA, LCA, TLCA และ TUDCA สามารถกระตุ้น GP ในขณะที่ GUDCA ไม่สามารถกระตุ้น GP ได้ ส่วน TCA และ DCA นั้นสามารถกระตุ้น GS ได้ ซึ่งสรุปในเบื้องต้นได้ว่า CA, TCA และ DCA สามารถกระตุ้นการสังเคราะห์ไกลโคเจนได้ในขณะที่กรดน้ำดีตัวอื่นนั้นสามารถกระตุ้นการสลายไกลโคเจนได้ นอกจากนี้ FXR ยังมีบทบาทต่อเมตาบอลิสมของกลูโคส โดยการกระตุ้น FXR นั้นจะเป็นการเพิ่มการสังเคราะห์ phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK) และการขับน้ำตาลกลูโคสออกจากเซลล์ตับ (Nguyen and Bouscarel, 2008)

การศึกษากลไกการสื่อสัญญาณของกรดน้ำดีนั้นเป็นสิ่งหนึ่งที่เชื่อมโยงเมตาบอลิสมของโคเลสเตอรอลกับเมตาบอลิสมของกลูโคสเข้าด้วยกัน ทั้งนี้ยังสามารถเป็นกลไกหนึ่งที่อธิบายถึงภาวะ hyperglycemia ที่สัมพันธ์กับ dislipidemia ดังนั้นการใช้ bile acid binding agents สามารถลดระดับไขมันในตับได้จึงเป็นผลดีต่อภาวะต้านอินซูลินและยังช่วยปรับสมดุลของวิถี gluconeogenesis ในตับได้อีกด้วย พบว่าการปรับสมดุลของไขมันและน้ำตาลในผู้ป่วยเบาหวานนั้นเกี่ยวข้องกับระดับของ PEPCK (Phosphoenolpyruvate carboxy kinase) และ SREBP-1c (Sterol regulatory element binding protein-1c) (Fiorucci *et al*., 2010; Li and Chiang, 2009)

สรุป

กรดน้ำดีไม่ได้มีบทบาทเกี่ยวข้องกับการย่อยไขมัน การดูดซึมไขมัน เท่านั้นกรดน้ำดียังมีบทบาทต่อการเคลื่อนตัวของ Ca^{2+} และสามารถควบคุมการสังเคราะห์ cAMP โดยมีผลกระตุ้นการสังเคราะห์ cAMP ในเซลล์เยื่อบุถุงน้ำดี หรือยับยั้งการสร้าง cAMP ใน HEK293 cells และเซลล์ตับ ซึ่งสามารถสรุปในเบื้องต้นว่าการสื่อสัญญาณของกรดน้ำดีผ่าน cAMP นั้นมีความจำเพาะต่อเนื้อเยื่อแต่ละชนิด ซึ่งเซลล์ที่ตอบสนองต่อสัญญาณของกรดน้ำดีนั้นจะต้องมี GPCR ชนิด TGR5 แต่ก็ยังพบว่าในเซลล์บางชนิดที่ไม่มี TGR5 นั้นยังมีการสื่อสัญญาณยับยั้งการสร้าง cAMP ได้อยู่

กรดน้ำดีชนิด DCA สามารถกระตุ้นการเคลื่อนตัวของ PKC มาที่ผิวเซลล์ได้ในเซลล์ตับ เซลล์ fibroblasts เซลล์เยื่อบุลำไส้ใหญ่ และเซลล์ไต ซึ่งมีผลต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ (cellular proliferation) และการตายของเซลล์แบบ apoptosis นอกจากนี้กรดน้ำดียังสามารถจับกับ receptor ต่างๆ ได้อีกด้วย เช่น กลูคากอน อินสุลิน และ muscarinic receptor และยังสามารถกระตุ้น MAPK และ EGFR pathway

กรดน้ำดีมีผลต่อการควบคุมอัตราการสังเคราะห์กรดน้ำดีผ่าน RXR นอกจากนั้นกรดน้ำดียังถูกนำมาพัฒนาเป็นยาลดระดับน้ำตาลและไขมันในเลือด แต่ทว่ากลไกการออกฤทธิ์ของกรดน้ำดียังไม่เป็นที่แน่ชัด ซึ่งยังคงมีกลไกการสื่อสัญญาณของกรดน้ำดีที่ยังคงต้องศึกษาต่อเช่น การสื่อสัญญาณผ่าน glucagon receptor, muscarinic receptor และ RTKs ซึ่งจะช่วยอธิบายเปรียบเทียบการสื่อสัญญาณของกรดน้ำดีในสภาวะปกติและสภาวะที่เป็นโรค นอกจากนี้การศึกษาเชื่อมโยงการสื่อสัญญาณให้เป็นระบบกลไกกันทั่วร่างกายก็ยังคงต้องการหลักฐานมาพิสูจน์เพิ่มเติม

เอกสารอ้างอิง

Anwer, M.S., Engelking, L.R., Nolan, D., Sullivan, P.Z., & Lester, R. (1988). Hepatotoxic bile acids increase cytosolic Ca^{2+} activity of isolated rat hepatocytes. *Hepatology, 8*, 887-891.

Arrese, M., & Ananthanarayanan, M. (2004). The bile salt export pump: molecular properties, function and regulation. *European Journal of Physiology, 449*, 123-131.

Beuers, U., Nathanson, M.H., & Boyer, J.L. (1993). Effects of tauroursodeoxycholic acid on cytosolic Ca^{2+} signals in isolated rat hepatocytes. *Gastrenterology, 104*, 604-612.

Bouscarel, H., Fromm, H., & Nussbaum, R. (1993). Ursodeoxycholate mobilizes intracellular Ca^{2+} and activates phosphorylase a in isolated hepatocytes. *American Journal of Physiology, 264*, G243-G245.

Chiang, J.Y.L. (2003). Bile acid regulation of Hepatic physiology III. Bile acids and nuclear receptors. *American Journal of Physiology- Gastrointestinal and Liver Physiology, 284*, G349-G356.

Combettes, L., Berthon, E., Duucet, S., Erlinger, E., & Claret, M. (1990). Bile acids mobilise internal Ca^{2+} independently of external Ca^{2+} in rat hepatocytes. *European Journal of Biochemistry, 190*, 619-623.

Coquil, J.F., Berthon, B., Chomki, N., Combettes, L., Jourdon, P., & Schteingart, C. (1991). Effects of taurolithocholate, a Ca2(+)-mobilizing agent, on cell Ca2(+) in rat hepatocytes, human platelets and neuroblastoma NG108-15 cell line. *Biochemical Journal, 273*, 153-160.

Fiorucci, S., Mecarelli, A., Palladino, G., & Cipriani, S. (2009). Bile-acid-activated receptors: targeting TGR5 and farnesoid-X-receptor in lipid and glucose disorders. *Trend in Pharmacological Sciences, 30*, 570-580.

Fiorucci, S., Cipriani, S., Baldelli, F., & Mencarelli, A. (2010). Bile acid-activated receptors in the treatment of dyslipidemia and related disorders. *Progress in Lipid Research, 49*, 171-185.

Fischer, L., Gukovskaya, A.S., Penninger, J.M., Mareninova, O.A., Friess, H., Gukovsky, I., & Pandol, S.J. (2007). Phosphatidylinositol 3-kinase facilitates bile acid-induced Ca^{2+} responses in pancreatic acinar cells. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology, 292*, G875-G886.

Fuchs, M. (2003). Bile acid regulation of Hepatic physiology III. Regulation of bile acid synthesis: past progress and future challenges. *American Journal of Physiology- Gastrointestinal and Liver Physiology, 284*, G551-G557.

Han, S.I., Studer, E., Gupta, S., Fang, Y., Qiao, L., Li, W., Grant, S., Hylemon, P.B., & Dent, P. (2004). Bile acids enhance the activity of the insulin receptor and glycogen synthase in primary rodent hepatocytes. *Hepatology, 39*, 456-463.

Houten, S.M., Watanabe, M., & Auwerx, J. (2006). Endocrine functions of bile acids. *The EMBO Journal. 25*, 1419-1425.

Hylemon, P.B., Zhou, H., Pandak, W.M., Ren, S., Gil, G., & Dent, P. (2009). Bile acids as regulatory molecules. *Journal of Lipid research, 50*, 1590-1520.

Katsuma, S., Hirasawa, A., & Tsujimoto, G. (2005). Bile acids promote glucagon-like peptide-1 secretion through TGR5 in a murine enteroendocrine cell line STC-1. *Biochemistry and Biophysic Research Communication, 1*, 386-390.

Keitel, V., Kubitz, R., & Haussinger, D. (2008). Endocrine and paracrine role of bile acids. *World Journal of Gastronenterol, 37*, 5620-5629.

Kubitz, R., Saha, N., Kuhlkamp, T., Dutta, S., vom Dahl, S., Wettstein, M., & Haussinger, D. (2004). Ca^{2+}-dependent protein Kinase C Isoforms Induces Cholestasis in Rat Liver. *The Journal of Biological Chemistry, 279*, 10323-10330.

Lau, B.W., Colella, M., Ruder, W.C., Ranieri, M., Curci, S., & Hofer, A.M. (2005). Deoxycholic acid activates protein kinase C and phospholipase C via increased Ca^{2+} entry at plasma membrane. *Gastroenterology, 128*, 695-707.

Li, T., & Chiang, J.Y.L. (2009). Regulation of bile acid and cholesterol metabolism by PPARs. *American Journal of Physiology-.Gastrointestinal and Liver Physiology, 39*, 1-15.

Monte, J.M., Marin, J.J., Antero, A., & Vazquez-Tato, J. (2009). Bile acids: Chemistry, Physiology, and pathophysiology. *World Journal of Gastroenterology, 15*, 804-816.

Nguyen, A., & Bouscarel, B. (2008). Bile acids and signal transduction: Role in glucose homeostasis. *Cellular Signalling, 20*, 2180-2197.

Norlin, M., & Wikvall, K. (2007). Enzymes in the conversion of cholesterol into bile acids. *Current Molecular medicine, 7*, 199-218.

Ridlon, J.M., Kang, D., & Hylemon, P.B. (2006). Bile salt biotransformations by human intestinal bacteria. *Journal of Lipid Research, 47*, 241-259.

Russell, D.W. (2003). The enzyme, regulation, and genetics of bile acid synthesis. *Annual Review of Biochemistry, 72L*, 137-174.

Thibault, N., & Ballet, F. (1993). Effect of bile acids on intracellular calcium in isolated rat hepatocyte couplets. *Biochemical Pharmacology*, 45: 289-293.

Voronina, S., Longtottom, R., Sutton, R., Peterson, O.H., & Tepikin, A. (2002). Bile acids induce calcium signals in mouse pancreatic acinar cells: implications for bile-induced pancreatic pathology. *The Journal of Physiology, 540*, 49-55.

Voronina, S.G., Gryshchenko, O.V., Gerasimenko, O.V., Green, A.K., Peterson, O.H., & Tepikin, A.V. (2005). Bile acids induce a cationic current, depolarizing pancreatic acinar cells and increasing the intracellular Na^{+} concentration. *Journal of Biological Chemistry, 280*, 1764-1770.

Watanabe, M., Houten, S.M., Mataki, C., Christoffolete, M.A., Kim, B.W., Sato, H., Messaddeq, N., Harney, J.W., Ezaki, O., Kodama, T., Schoonjans, K., Bianco, A.C., & Auwerx, J. (2006). Bile acids induce energy expenditure by promoting intracellular thyroid hormone activation. *Nature, 7075*, 484-489.

Yasuda, H., Hirata, S., Inoue, H., Ohnishima, H., & Yoshiba, M., (2007). Involvement of membrane-type bile acid receptor M-BAR/TGR5 in bile acid-induced activation of epidermal growth factor receptor and mitogen-activated protein kinases in gastric carcinoma cells. *Biochemistry and Biophysic research and communication, 354*, 154-159.