บทคัดย่อ

Cyclin D1 เป็นโปรตีนที่พบในปริมาณสูงผิดปกติในมะเร็งหลายชนิด ความผิดปกตินี้ส่วนใหญ่เกิดจากการกลายพันธุ์ของ Cyclin D1 ยีน ทำให้เป็นไปได้ว่า ความผิดปกติของระดับ Cyclin D1 นี้ไม่ใช่เรื่องบังเอิญ แต่น่าจะมีส่วนในการก่อมะเร็ง ดังนั้นการวิจัยหน้าที่ของโปรตีนชนิดนี้ในมะเร็ง จึงมีความสำคัญอย่างยิ่ง ต่อการหาหนทางรักษาผู้ป่วยโรคมะเร็งชนิดที่มี Cyclin D1 ในปริมาณสูง เช่น มะเร็งเต้านม และมะเร็งเยื่อบุผิว

ด้วยการใช้เทคนิควิเคราะห์ Immunoaffinity protein purification coupled with LC/MS/MS ในมะเร็งหลายชนิดพบว่า Cyclin D1 จับกับโปรตีนหลายชนิดที่ ไม่มีการรายงานมาก่อน ในจำนวนนี้ รวมถึงโปรตีนที่มีหน้าที่ซ่อมสารพันธุกรรม (DNA) ที่แตกหัก อาทิ โปรตีนชื่อ RAD5, และเมื่อกำจัด Cyclin D1 จากเซลล์มะเร็งโดยใช้ short-interfering RNA (siRNA) พบว่าเซลล์มะเร็งนั้น ๆ จะถูกฆ่าจากสารหรือรังสีที่ใช้ในการรักษามะเร็งได้ง่ายขึ้นเมื่อเทียบกับ control, เป็นข้อมูลที่ยืนยันว่า Cyclin D1 มีหน้าที่ในการปกป้อง DNA ของเซลล์มะเร็ง และอาจทำให้มะเร็งดื้อต่อรังสีและเคมีรักษา หน้าที่ใหม่ของ Cyclin D1นี้ไม่มีส่วนเกี่ยวข้องกับหน้าที่ทราบกันดีของ Cyclin D1 ในขบวนการควบคุมการแบ่งตัวของเซลล์ (cell cycle regulation) เนื่องจากหน้าที่ใหม่ของ Cyclin D1นี้ สามารถพบได้ในเซลล์ที่ไม่ต้องพึ่งพา Cyclin D1 ในการแบ่งตัว เช่น เซลล์ที่ไม่มี retinoblastoma protein (pRb-negative cell), และหน้าที่ใหม่ของ Cyclin D1 นี้ไม่เกี่ยวข้องกับฤทธิ์ของ CDK4 เนื่องจากการให้สารที่ยับยั้งฤทธิ์ของ CDK4, PD 0332991, ไม่มีผลใด ๆ กับการซ่อม DNA ที่แตกหัก นอกจากนี้ยังพบว่า Cyclin D1 จับกับ RAD51 โดยตรง และ Cyclin D1 ยังรวมตัวกันอยู่ในบริเวณที่ DNA เกิดความเสียหายโดยอาศัยโปรตีนอีกชนิดชื่อ BRCA2

RAD51เป็นโปรตีนหลักในการซ่อม DNA ในขบวนการ Homologous recombination, การลดระดับของ Cyclin D1 รบกวนการทำงานของ RAD51 โดยจะทำให้การรวมตัวของ RAD51ในบริเวณ DNA ลดลงส่งผลให้การซ่อม DNA บกพร่อง

การลดปริมาณของ Cyclin D1 ในเซลล์มะเร็งนี้ มีผลทำให้เซลล์มะเร็งมีความไวต่อการรักษาโดยใช้รังสีรักษาทั้งในระดับหลอดทดลอง (in vitro) และในสัตว์ทดลอง (in vivo) โครงการวิจัยนี้ช่วยค้นพบหน้าที่ใหม่ของโปรตีนที่สงสัยกันมานานว่ามีส่วนในการก่อมะเร็ง โดยเป็นหน้าที่ในการซ่อม DNA, จากความรู้นี้ทำให้ Cyclin D1 เป็นเป้าที่สำคัญในการรักษามะเร็ง, ทั้งชนิดที่มี และที่ปราศจาก retinoblastoma protein

Keyword: Cyclin D1, CDK4, RAD51, BRCA2, DNA damage, cell cycle, cancer

Abstract

Cyclin D1 is a cell cycle protein that often overexpresses in several type of human malignancy. A large fraction of overexpressing Cyclin D1 from human cancers is a result of genetic mutation such as translocation, or amplification of Cyclin D1 gene, suggesting that overexpression of Cyclin D1 is not merely a result of highly proliferative stage of cancer cells, but is a major contributor of tumor formation. However, the precise role of Cyclin D1 in cancer formation is still unclear.

Immunoaffinity-protein purification coupled with LC/MS/MS analysis has shown that Cyclin D1 purified from several types of human tumors interacts with several novel interacting proteins that work in the DNA-damage response (DDR), including RAD51. We found that depletion of Cyclin D1 by short-interfering RNA (siRNA) confers DNA damage hypersensitivity to cancer cells after treatment with DNA damage agents. This finding suggests that Cyclin D1 may contribute to the cancer formation by protecting the cancer cell from DNA damage agents. This finding was seen in cancer cells lacking the retinoblastoma protein, which do not require D-cyclins for proliferation and it was found to be independent of cyclin D1-CDK kinase activity, because treatment with a CDK4-specific inhibitor PD 0332991 has no effect on DNA damage sensitivity.

We found that cyclin D1 directly binds RAD51, and that cyclin D1-RAD51 interaction is induced by DNA damage. Like RAD51, cyclin D1 is recruited to DNA damage sites following radiation in a BRCA2-dependent fashion. Interfering with cyclin D1 function impairs recruitment of RAD51 to damaged DNA and impedes the homologous recombination-mediated DNA repair. Reduction of cyclin D1 levels in human cancer cells increased sensitivity to radiation *in vitro* and *in vivo*, in solid tumors. These findings reveal an unexpected function of a core cell cycle protein in DNA repair and suggest that targeting cyclin D1 may be beneficial also in retinoblastoma-negative cancers which are currently thought to be oblivious to cyclin D1 inhibition.

Keyword: Cyclin D1, CDK4, RAD51, BRCA2, DNA damage, cell cycle, cancer