

ผลเสียต่อเซลล์เมื่อมีการปรับตัวที่ไม่สมดุลต่อภาวะเครียดที่เกิดกับยีน ภายหลังการติดเชื้อและการอักเสบ

ศศิธร คาศสนิท, ชฎามาศ ปินิจสุนทร, วัชรินทร์ ลอยลม, พวงรัตน์ ยงวนิชย์*

ภาควิชาชีวเคมี และศูนย์วิจัยพยาธิใบไม้ตับและมะเร็งท่อน้ำดี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

Adverse Effects Caused by Adaptive Imbalance to Genotoxic Stress After Infection and Inflammation

Sasithorn Kadsanit, Chadamas Pinitsoontorn, Watcharin Loilome, Puangrat Yongvanit*

Department of Biochemistry and Liver Fluke and Cholangiocarcinoma Research Centre, Faculty of Medicine, Khon Kaen University, Khon Kean, 40002, Thailand

มะเร็งเป็นผลที่เกิดตามมาจากความเสียหายต่อดีเอ็นเอ หรือการกลายพันธุ์ของยีนซึ่งมีสาเหตุได้มากมาย เช่น การติดเชื้อ การอักเสบ การสัมผัสรังสีหรือสารก่อมะเร็ง เป็นต้น ดังนั้นเพื่อป้องกันไม่ให้เกิดความผิดปกติหรือการกลายพันธุ์ เซลล์จึงมีกลไกการปรับตัวเพื่อตอบสนองต่อภาวะเครียดของยีนโดยการกระตุ้นกลไกการซ่อมแซมที่เหมาะสม แต่หากการซ่อมแซมนั้นไม่สำเร็จ ก็จะมีการเหนี่ยวนำให้เกิดการตายของเซลล์ กลไกปกป้องเซลล์จากอันตรายนี้ประกอบด้วย กลไกการกำจัดสารแปลกปลอม การต้านอนุมูลอิสระ การหยุดวงจรชีวิตของเซลล์ ระบบการซ่อมแซมดีเอ็นเอ และการตายของเซลล์แบบอะพอพโทซิส อย่างไรก็ตามได้มีหลักฐานบ่งบอกว่าการปรับตัวที่ไม่สมดุลต่อภาวะเครียดที่เกิดกับยีนอาจมีผลเสียต่อเซลล์และยิ่งเร่งให้เกิดเป็นมะเร็งได้เร็วขึ้น กล่าวคือ เมื่อเซลล์อยู่ในภาวะเครียดที่ส่งผลถึงความผิดปกติของยีนแบบไม่ต่อเนื่อง จะมีการกระตุ้นการสร้างโปรตีนและเอนไซม์ในการปรับตัวของเซลล์แบบขึ้นๆ ลงๆ ไม่ต่อเนื่องด้วยเช่นกัน ทำให้เซลล์เสียหายมากกว่าการอยู่ในภาวะเครียดของยีนแบบต่อเนื่องเรื้อรัง ดังตัวอย่างจากการศึกษาทางระบาดวิทยาพบว่าปัจจัยเสี่ยงในการเกิดมะเร็งผิวหนังเพิ่มมากขึ้นเมื่อได้รับแสงแดดอย่างไม่สม่ำเสมอหลายครั้งต่อปี นอกจากนี้ข้อมูลผลการศึกษารูปแบบในการแสดงออกของยีนที่ตอบสนองต่อภาวะเครียดในหนูที่สัมผัสควันบุหรี่พบว่า มีการแสดงออกของกลุ่มยีนดังกล่าวเพิ่มขึ้น และจะกลับสู่ภาวะปกติเมื่อหยุดให้

Cancer is a consequence of genomic damage and mutation, which can arise from various causative agents including infection, inflammation and exposure to genotoxic agents, i.e. ultraviolet light, carcinogens. To protect the genome against the abnormality or mutation, cells have evolved genotoxic stress responses to activate an appropriate repair pathway, or, in the case of irreparable, apoptosis would be induced. The defense mechanism consists of a set of different pathways that are xenobiotic mechanism, antioxidant process, cell cycle arrest, DNA repair system, and apoptosis. Nevertheless, numbers of evidence show that these responses may have adverse effects arising from the imbalanced action of the above-mentioned pathways which, in turn, may accelerate cancer development. It has been hypothesized that if the stress is not consistent with intermittent lapses in genotoxic stress, there will be the down-regulation of these adaptive proteins and enzymes, possibly leading to a greater amount of cellular damage than with chronic exposure. This hypothesis is supported by the epidemiological finding of significantly increased risk of skin cancer with multiple sunburns. Another supported data is the cigarette smoke in experimental animals causing an adaptive increase in gene expression patterns which return to normal when the exposure is interrupted. These findings suggested that the imbalance of adaptive responses to

*Correspondence to : Puangrat Yongvanit, Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Khon Kaen University, Khon Kaen, 40002, Thailand. Phone: 043-348386, E-mail: puangrat@kku.ac.th

ควินนุห์รี กล่าวโดยสรุปได้ว่า การปรับตัวเพื่อตอบสนองต่อภาวะเครียดของยีนที่เกิดขึ้นอย่างไม่สมดุลนั้นอาจผลักดันให้เซลล์เข้าสู่กระบวนการการก่อมะเร็งได้

genotoxic stress can drive cells to enter pro-carcinogenic stage.

Keywords: infection, inflammation, genotoxic stress, adaptive imbalance, pro-carcinogenic consequences

สรินกรินทร์เวชสาร 2554; 26(2): 127-35 • Srinagarind Med J 2011; 26(2): 127-35

บทนำ

การอักเสบเกิดขึ้นได้จากสาเหตุต่างๆ เช่น การติดเชื้อ การสูบบุหรี่ การได้รับรังสีหรือสารเคมี การอักเสบเกิดจากการตอบสนองทางระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย ทำให้เพิ่มการสร้างอนุมูลอิสระ (free radical) ซึ่งเป็นสารที่มีอิเล็กตรอนไม่คู่ ไม่มีเสถียร จึงสามารถแย่งจับกับอิเล็กตรอนในโมเลกุลอื่นๆ ก่อให้เกิดอนุมูลอิสระตัวใหม่เป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ได้ เมื่ออนุมูลอิสระมีปริมาณมากเกินการควบคุม จนเกิดการขาดสมดุลระหว่างสารอนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) จึงเกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) ส่งผลให้มีการทำลายสารชีวโมเลกุล เช่น ทำให้ดีเอ็นเอเกิดความเสียหาย (DNA damage) ทำให้เซลล์อยู่ในภาวะเครียดของยีน (genotoxic stress) หากดีเอ็นเอเกิดความเสียหายจนไม่สามารถซ่อมแซมได้ ก็จะเกิดการกลายพันธุ์ (mutation) และถูกถ่ายทอดสู่เซลล์รุ่นต่อไป หรืออาจทำให้เซลล์เกิดการแบ่งตัวที่ผิดปกติจนพัฒนาไปเป็นมะเร็งได้ในที่สุด ดังนั้น เพื่อให้เซลล์สามารถดำรงอยู่ได้อย่างปกติสุขมากที่สุด เซลล์จึงมีระบบการปรับตัวเพื่อตอบสนองต่อภาวะเครียดที่เกิดขึ้นโดยการกำจัดสารแปลกปลอม (xenobiotic metabolism) การต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant process) การหยุดวงจรชีวิตของเซลล์ (cell cycle arrest) เพื่อให้มีเวลาในการซ่อมแซมดีเอ็นเอที่ชำรุด (DNA repair) แต่หากดีเอ็นเอถูกทำลายจนแก้ไขไม่ได้ จะมีการกระตุ้นขบวนการตายของเซลล์แบบอะพอพโทซิส (apoptosis) ขึ้น ดังแสดงขั้นตอนการก่อมะเร็งและกลไกการปรับตัวของเซลล์ในรูปที่ 1 และตารางที่ 1 ได้แสดงตัวอย่างโปรตีนและเอนไซม์สำคัญๆ ที่ทำหน้าที่ในการปรับตัวของเซลล์เพื่อตอบสนองต่อภาวะเครียดของยีน

อย่างไรก็ตามกลไกการปกป้องเซลล์เหล่านี้เปรียบเสมือนกับดาบสองคม ซึ่งอาจทำให้เกิดทั้งผลดีและผลเสียต่อเซลล์ได้ หากความสามารถของกลไกการป้องกันมีขีดจำกัด หรือเกิดความไม่สมดุล ก็สามารถทำให้เกิดความเสียหายต่อเซลล์เอง และยังเพิ่มความเสี่ยงที่เซลล์จะพัฒนาไปเป็นมะเร็งอีกด้วย เช่น หากมีการสร้างโปรตีนและเอนไซม์ที่ใช้ในการปกป้องยีนผิดปกติ ดีเอ็นเอเสียหายมากขึ้น ก่อให้เกิดมะเร็งได้ (ตารางที่ 2)

กลไกการปรับตัวสำคัญที่เซลล์ใช้ตอบสนองต่อภาวะเครียดของยีน

ในบทความพื้นฐานวิชาการนี้จะกล่าวถึงรายละเอียดของกลไกการปรับตัวต่างๆ ของเซลล์ที่ใช้ตอบสนองต่อภาวะเครียดของยีน รวมถึงผลเสียต่อเซลล์เมื่อมีการปรับตัวที่ไม่สมดุลดังนี้

1. กลไกการกำจัดสารแปลกปลอม (Xenobiotic metabolism)

เมื่อเซลล์ได้รับสารแปลกปลอม (xenobiotics) เช่น ยา สารพิษ สารเคมี ร่างกายจะกำจัดสารแปลกปลอมออกไปโดยเอนไซม์กำจัดสารแปลกปลอม (xenobiotic-metabolizing enzyme) ซึ่งแบ่งปฏิกิริยาออกเป็น 2 ระยะคือ

1.1 ระยะที่ 1 จะเปลี่ยนแปลงสารแปลกปลอมให้หมดฤทธิ์ไป โดยเปลี่ยนให้เป็นสารที่มีขั้วมากขึ้น ปฏิกิริยาเคมีที่เกี่ยวข้องได้แก่ ออกซิเดชัน (oxidation) รีดักชัน (reduction) และการแยกสลายด้วยน้ำ (hydrolysis) โดยเอนไซม์ในกลุ่ม cytochrome P450 (CYP) ถ้าสารที่ได้จากกระบวนการนี้จะละลายน้ำได้ก็就会被ขับออกทางไต หากยังละลายน้ำไม่ได้ก็เข้าสู่ปฏิกิริยาในระยะที่สอง

1.2 ระยะที่ 2 เป็นปฏิกิริยาคอนจูเกชัน (conjugation) โดยมีการสร้างพันธะโควาเลนต์ระหว่างสารที่ได้จากกระบวนการกับสารประกอบอื่น เช่น กรดกลูคูโรนิก (glucuronic acid) ซัลเฟต (sulfate) กลูตาไธโอน (glutathione) แอซีเตต (acetate) และกรดอะมิโน (amino acid) เพื่อให้ขับออกทางไตได้ โดยเอนไซม์สำคัญหลายชนิด เช่น กลูตาไธโอน เอสทรานสเฟอเรส (glutathione-S-transferase) เป็นต้น

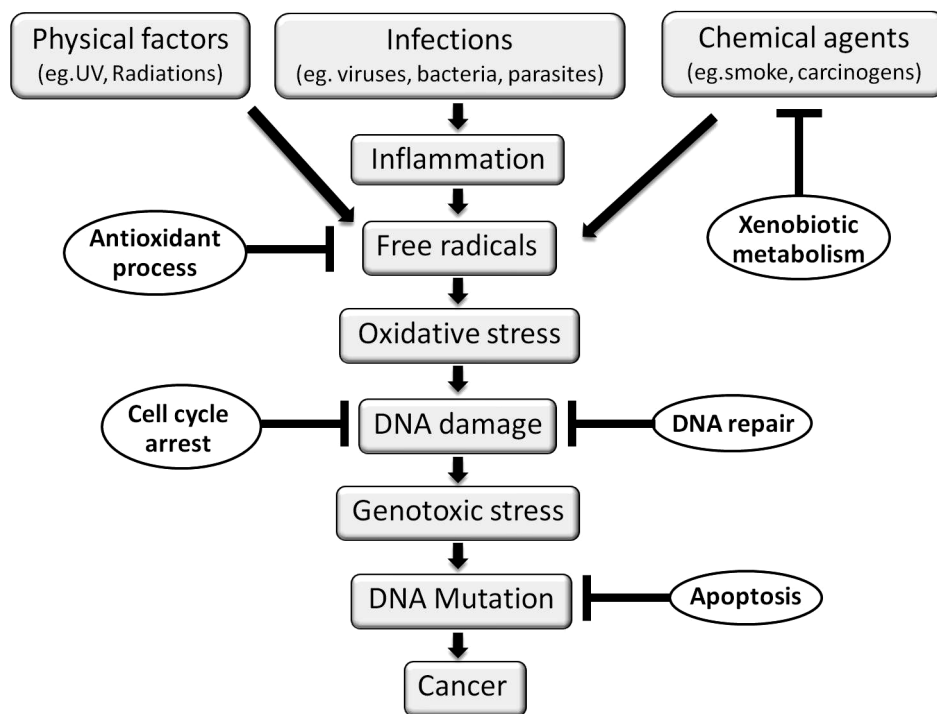
หากปฏิกิริยาทั้งสองระยะเกิดอย่างไม่สมดุลกัน มีปริมาณเอนไซม์บางชนิดเพิ่มขึ้นมากกว่าปกติ อาจส่งผลเสียต่อเซลล์ได้ เช่น หากปริมาณของ cytochrome P450 เพิ่มขึ้น จะทำให้สารก่อมะเร็ง (carcinogen) กลายเป็น ultimate carcinogen ซึ่งมีความไวในการทำปฏิกิริยากับดีเอ็นเอมากขึ้นและก่อให้เกิดมะเร็งได้

ตารางที่ 1 ตัวอย่างโปรตีนและเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในการปรับตัวของเซลล์เพื่อตอบสนองต่อภาวะเครียดของยีน

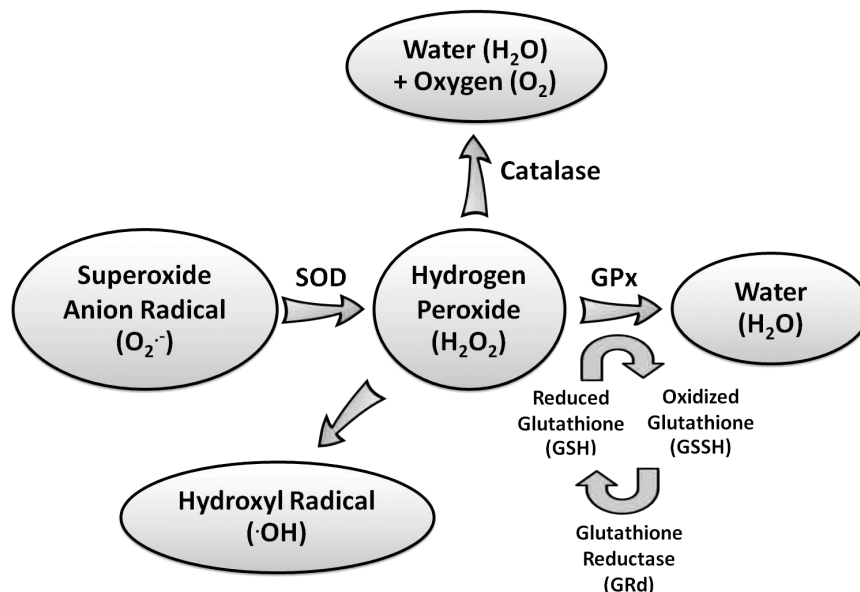
ชนิดของโปรตีนและเอนไซม์	หน้าที่
p53	Apoptosis, cell cycle checkpoint, DNA repair
Gadd45	Cell cycle checkpoint
p21Waf1/Cip1/Sdi1	Cell cycle checkpoint
hMSH2	DNA repair (Mismatch repair)
Alkyladenine DNA glycosylase (AAG)	DNA repair (Base excision repair)
8-oxoguanine glycosylase (OGG1)	DNA repair (Base excision repair)
Uracil DNA glycosylase (UNG)	DNA repair (Base excision repair)
Thymine DNA glycosylase (TDG)	DNA repair (Base excision repair)
Apurinic endonuclease (APE)	DNA repair (Base excision repair)
DNA polymerase delta (DNA Pol delta)	DNA repair (Base excision repair)
DNA polymerase beta (DNA Pol beta)	DNA repair (Base excision repair)
Flap endonuclease 1 (FEN 1)	DNA repair (Base excision repair)
XRCC1	DNA repair (Base excision repair)
DNA ligase 1 (Lig 1)	DNA repair (Base excision repair)
ERCC1	DNA repair (Base excision repair)
Mn-Superoxide dismutase (MnSOD)	Antioxidant process
Catalase (CAT)	Antioxidant process
Glutathione peroxidase (GPx)	Antioxidant process
Heme oxygenase-1 (HO-1)	Antioxidant process
Inductible nitric oxide synthase (iNOS)	Antioxidant process
BH3-only proteins	Apoptosis
Caspases	Apoptosis
Death receptors/ligands	Apoptosis
Kinases (e.g. p28, ATM, chk2)	Regulating genome protecting protein
Cytochrome p450s	Xenobiotic metabolism

ตารางที่ 2 การเปลี่ยนแปลงระดับของโปรตีนและเอนไซม์ในกระบวนการปรับตัวของเซลล์ที่ส่งผลให้เซลล์อยู่ในภาวะที่มีความเสี่ยงต่อการก่อมะเร็ง (pro-carcinogenic state)

โปรตีนและเอนไซม์	ผลเสียต่อเซลล์
P53	การแสดงออกที่สูงขึ้นของยีนกลายพันธุ์เร่งกระบวนการก่อมะเร็งในสัตว์ทดลอง
P21 ^{Waf1/Cip1/Sdi1}	การแสดงออกที่สูงขึ้นทำให้เกิดความไม่เสถียรของจีโนม (genome destabilization)
MLH1	การแสดงออกที่สูงขึ้นทำให้เกิดความไม่เสถียรของจีโนมในเซลล์ยีสต์
AAG/APE	การแสดงออกที่สูงขึ้นทำให้เกิดความไม่เสถียรของจีโนมในเซลล์ยีสต์และคน
DNA Polymerase beta	การแสดงออกที่สูงขึ้นทำให้เกิด microsatellite instability ในเซลล์คน
MnSOD/ Catalase/ GPx	ความไม่สมดุลในการทำงานทำให้เกิดความเสียหายแก่โครโมโซมในเซลล์คน
pRb	การแสดงออกที่สูงขึ้นในรูปที่มีหมู่ฟอสเฟตในระดับสูง (hyperphosphorylated form) จะปล่อยทรานสคริปชันโปรตีน E2F เซลล์จึงมีการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนโดยไม่สิ้นสุด



รูปที่ 1 ขั้นตอนการก่อมะเร็งที่เกิดจากสาเหตุต่างๆ และกลไกการปรับตัวของเซลล์เพื่อตอบสนองต่อภาวะเครียดของยีน (แสดงในวงรี) โดยอาศัยการทำงานร่วมกันของโปรตีนและเอนไซม์หลายชนิดในการกำจัดสารแปลกปลอม การต้านอนุมูลอิสระ การหยุดวงจรชีวิตของเซลล์ การซ่อมแซมดีเอ็นเอ และการตายของเซลล์แบบอะพอพโทซิส



รูปที่ 2 การเกิดอนุมูลอิสระและการกำจัดโดยเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (SOD) คีตาเลส และ กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส (GPx) (ดัดแปลงจาก Hofseth, 2004)

2. กระบวนการต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant process)

อนุมูลอิสระที่เกิดจากภาวะเครียด เช่น ในภาวะที่มีการอักเสบ มีความเป็นพิษต่อเซลล์และสามารถทำลายสารชีวโมเลกุลได้ เซลล์จึงต้องมีกลไกกำจัดอนุมูลอิสระ (รูปที่ 2) โดยอาศัยเอนไซม์สำคัญ ดังนี้

2.1 ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (superoxide dismutase) ทำหน้าที่เปลี่ยนอนุมูลซูเปอร์ออกไซด์ (superoxide anion radical, $\cdot\text{O}_2^-$) ให้กลายเป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide, H_2O_2)

2.2 คตาเลส (catalase) ทำหน้าที่เปลี่ยนไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ให้กลายเป็นน้ำและออกซิเจน

2.3 กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส (glutathione peroxidase) ทำหน้าที่เปลี่ยนไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ให้กลายเป็นน้ำ

หากระดับของเอนไซม์ดังกล่าวข้างต้นไม่สมดุล เช่น มีระดับของซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส และ กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดสเพิ่มมากขึ้น แต่ระดับของคตาเลสไม่มากขึ้นตาม ทำให้อนุมูลซูเปอร์ออกไซด์ เปลี่ยนเป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มากขึ้น และไม่สามารถกำจัดต่อได้ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จึงเปลี่ยนเป็นอนุมูลไฮดรอกซิล (hydroxyl radical, $\cdot\text{OH}$) ซึ่งมีความเป็นพิษต่อเซลล์มาก เกิดความเสียหายต่อสารชีวโมเลกุลโดยเฉพาะอย่างยิ่งดีเอ็นเอ ซึ่งเป็นเหตุให้เซลล์นั้นอาจพัฒนาไปเป็นมะเร็งได้²

3. การหยุดวงจรชีวิตของเซลล์ (Cell cycle arrest)

ในภาวะปกติวงจรชีวิตของเซลล์จะแบ่งออกได้เป็น 4 ระยะ คือ (1) G_1 phase เป็นระยะสร้างโปรตีนเพื่อเตรียมพร้อมสำหรับการแบ่งโครโมโซม (2) S phase เป็นระยะเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอขึ้นอีกชุด ได้โครโมโซม 2 ชุดอยู่ในเซลล์ (3) G_2 phase เป็นระยะสร้างโปรตีนอีกชุดหนึ่งเพื่อการแบ่งเซลล์ และ (4) M phase เป็นระยะแยกโครโมโซม 2 ชุดออกเป็น 2 เซลล์ ซึ่งเซลล์เข้าสู่ระยะต่างๆ ของวงจรชีวิตได้เพราะมีโปรตีนหรือเอนไซม์สำคัญในการควบคุมวงจรชีวิตของเซลล์ โดยการทำงานของโปรตีนไคเนส (protein kinase) ร่วมกับไซคลิน (cyclin) รวมเป็นโครงสร้างเชิงซ้อน (cyclin-cdk complex) เรียกว่า cyclin dependent kinase หรือ cdk ในแต่ละระยะก็จะมีไคเนสและไซคลินที่ควบคุมแตกต่างกัน ซึ่งในภาวะที่ดีเอ็นเอเกิดความเสียหายจากภาวะเครียดของยีน เซลล์จะถูกสั่งให้หยุดการแบ่งตัวเพื่อซ่อมแซมก่อน ซึ่งเซลล์จะสร้างโปรตีน p21 และ Gadd45 เพิ่มมากขึ้น โดย p21 จะเป็นโปรตีนสำคัญในการควบคุมระยะ G_1 ส่วน Gadd45 จะควบคุมในระยะ G_2 มีรายงานของ Smith

และคณะ^{3, 4} พบว่าการเพิ่มขึ้นของ p21 ส่งผลให้เกิดความเสี่ยงต่อการเกิดความไม่เสถียรของจีโนม (genome destabilization) และการเกิดมะเร็ง⁵ ส่วน Gadd45 จะทำให้เซลล์ทนต่อรังสีอัลตราไวโอเล็ต (ultraviolet; UV) มากขึ้น และเซลล์ตายน้อยลง ดังนั้นเมื่อมี Gadd45 เพิ่มขึ้น เซลล์จึงเข้าสู่กระบวนการซ่อมแซมได้ง่ายขึ้น

4. กระบวนการซ่อมแซมดีเอ็นเอ (DNA repair)

หลังจากเซลล์ถูกสั่งให้หยุดการแบ่งตัว ดีเอ็นเอที่เสียหายเมื่ออยู่ในภาวะเครียดจะถูกซ่อมแซมโดยเอนไซม์หลายชนิด เช่น เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในกระบวนการซ่อมแซมเบสที่ผิดปกติไปเพียงหนึ่งเบส (base excision repair; BER) ซึ่งอาศัยการทำงานร่วมกันของเอนไซม์ ดังนี้

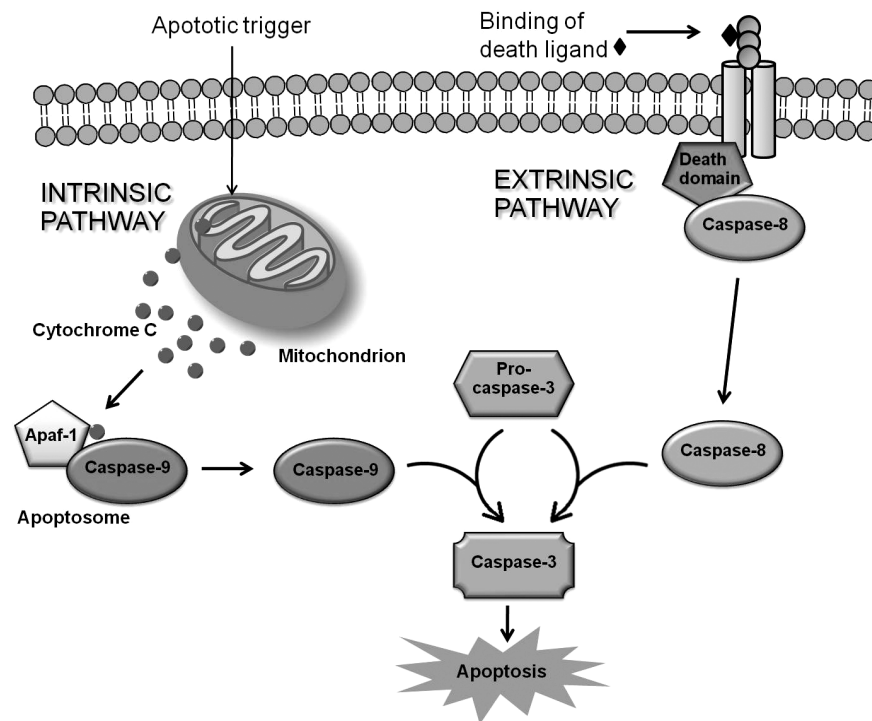
4.1 เอนไซม์ดีเอ็นเอไกลโคซิลเลส (DNA glycosylase) ทำหน้าที่สลายพันธะไกลโคไซด์ที่ยึดระหว่างเบสและโมเลกุลของน้ำตาล ทำให้ขาดเบสที่ตำแหน่งนั้น เกิดช่องว่างเรียกว่า บริเวณเอพี (AP site หรือ apyrimidinic/apurinic site)

4.2 เอนไซม์เอพีเอ็นโดนิวคลีเอส (AP endonuclease) สลายพันธะฟอสโฟไดเอสเทอร์ (phosphodiester bond) ใกล้กับบริเวณเอพีด้านปลาย⁵

4.3 เอนไซม์ดีเอ็นเอพอลิเมอเรส (DNA polymerase) ขั้นแรกทำหน้าที่ตัดเอาดีเอ็นเอส่วนที่มีความผิดปกติออกไป ต่อจากนั้นจะทำหน้าที่เติมนิวคลีโอไทด์ที่ถูกต้องเข้ามาแทนที่

4.4 เอนไซม์ดีเอ็นเอไลเกส (DNA ligase) เชื่อมสายดีเอ็นเอที่ซ่อมแซมขึ้นใหม่เข้ากับสายเดิม

เมื่อเซลล์ตรวจพบว่า มีความผิดปกติของเบสบนสายดีเอ็นเอ จะมีการสร้างเอนไซม์เหล่านี้ขึ้นมา แต่ถ้าหากมีการสร้างที่ไม่สมดุล กล่าวคือ บางเอนไซม์ถูกสร้างมาก ในขณะที่เดียวกันบางเอนไซม์ถูกสร้างไม่พอ จะทำให้กระบวนการซ่อมแซมนั้นเกิดขึ้นไม่สมบูรณ์ เช่น หากมีการสร้างเอนไซม์ดีเอ็นเอไกลโคซิลเลสมากขึ้น แต่เอนไซม์เอพีนิวคลีเอสไม่มากขึ้นตาม จะทำให้การซ่อมแซมนั้นไม่เสร็จสิ้นสมบูรณ์ ความผิดปกติของดีเอ็นเอยังคงอยู่ และอาจทำให้เซลล์นั้นพัฒนาไปเป็นมะเร็งได้⁶ นอกจากนี้ในขณะซ่อมแซมอาจเกิดความผิดพลาดได้ เพราะเบสในดีเอ็นเอต้องมีการเลือกจับคู่เบสของตน เช่น กวานีน (guanine) จะจับคู่กับไซโทซีน (cytosine) มากกว่าจับกับไทมีน (thymine) แต่เมื่อมีการซ่อมแซมดีเอ็นเอ เอนไซม์เมทิลทรานเฟอเรส (methyltransferase) จะเติมหมู่เมทิล (methyl) ให้กับกวานีนได้เมทิลกวานีนซึ่งในระหว่างการแบ่งตัวของเซลล์จะจับกับไทมีนได้ดีกว่า ส่งผลให้มีการจับกันของเบสที่ผิดไป นำไปสู่การกลายพันธุ์ของดีเอ็นเอและอาจทำให้เซลล์นั้นพัฒนาเป็นเซลล์มะเร็งได้



รูปที่ 3 กระบวนการตายของเซลล์ ทั้งวิถีภายในและวิถีภายนอก

5. กระบวนการตายของเซลล์ (Apoptosis)

ในกรณีที่ความผิดปกติของดีเอ็นเอไม่สามารถซ่อมแซมได้ เซลล์จะกระตุ้นกระบวนการที่ทำให้เซลล์ที่ยังคงมีความผิดปกติของดีเอ็นเอเกิดการตายที่เรียกว่า กระบวนการตายของเซลล์แบบอะพอพโทซิส (apoptosis) ซึ่งมี 2 วิธีหลักคือ

5.1 วิธีจากภายในที่กระตุ้นผ่านไมโทคอนเดรีย (Intrinsic mitochondrial-dependent pathway) เกิดเมื่อมีการกระตุ้นจากสิ่งเร้าต่างๆ เช่น สารเคมี รังสี ภาวะเครียดออกซิเดชัน ภาวะเครียดของยีน ซึ่งมีตัวควบคุม (regulator) อื่นอีกหลายตัว แบ่งได้ 2 กลุ่ม คือ ตัวควบคุมที่ทำให้เกิดการตาย (pro-apoptotic factor) ซึ่งได้แก่โปรตีน Apaf-1, cytochrome c (Cyt c), bax เป็นต้น และตัวควบคุมที่ยับยั้งการตาย (anti-apoptotic factor) ได้แก่ โปรตีน Bcl-2, Bcl-xl เป็นต้น ซึ่งหากการควบคุมเกิดไม่สมดุลอาจทำให้เกิดโรคต่างๆ ได้ เช่น หากมีการกระตุ้นตัวควบคุมที่ยับยั้งการตายมากเกินไปก็จะทำให้เซลล์มีเยื่อผิดปกติที่จะถ่ายทอดสู่เซลล์รุ่นต่อไป เป็นสาเหตุของการเกิดมะเร็งได้ เมื่อมีการกระตุ้นให้เกิดอะพอพโทซิสจะมีการปล่อย Cyt c จากไมโทคอนเดรียสู่ไซโทพลาซึม แล้วรวมกับ Apaf-1 และ procaspase-9

กลายเป็นอะพอพโทโซม (apoptosome) และก่อให้เกิดการตายของเซลล์

5.2 วิธีจากภายนอกที่เหนี่ยวนำโดย death receptor (Extrinsic death receptor-dependent pathway) เกิดจากการกระตุ้นของสาร เช่น Fas protein ที่จับกับ death receptor ทำให้ caspase-8 ที่จับกับตัวรับ ส่งสัญญาณกระตุ้น caspase-3 ให้เริ่มกระบวนการตายของเซลล์ (รูปที่ 3)

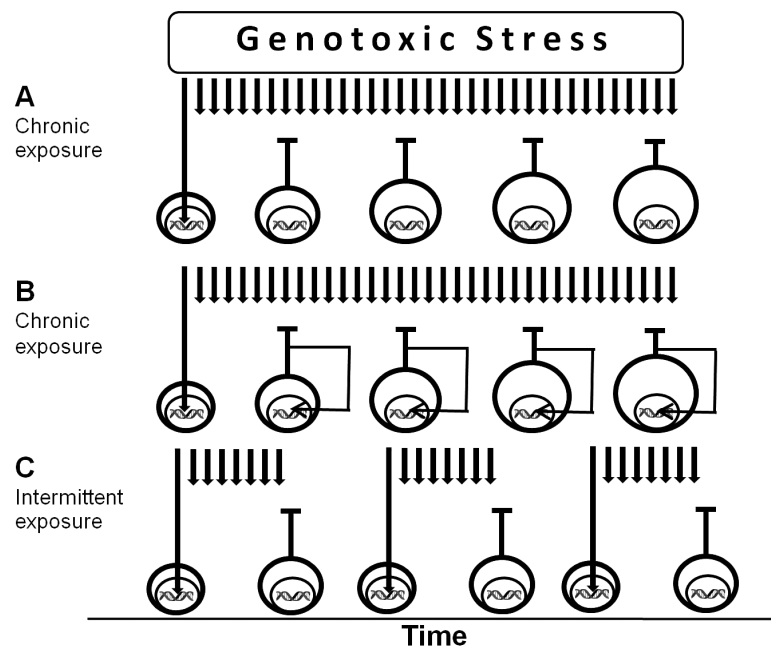
นอกจากนี้การตอบสนองต่อภาวะเครียดของยีนยังอาศัยการทำงานของโปรตีนสำคัญ คือ p53 และโปรตีนเรตินอบลาสโตมา (retinoblastoma protein; pRb หรือ Rb) โปรตีน p53 ซึ่งอยู่ในกลุ่มยีนต้านมะเร็ง (tumor suppressor gene) ทำหน้าที่เป็นสารส่งสัญญาณ (signal transducer) ซึ่งจะกระตุ้นการสังเคราะห์โปรตีน (transcription factor) ต่างๆ ในขั้นแรก p53 จะกระตุ้นเอนไซม์ซ่อมแซมดีเอ็นเอ ในกรณีที่ซ่อมแซมได้ ดีเอ็นเอนั้นจะกลับมาปกติ กรณีที่ซ่อมแซมไม่ได้ ก็จะนำเซลล์ไปสู่การตายแบบอะพอพโทซิส โปรตีนนี้ทำหน้าที่ปกป้องเซลล์จากภาวะเครียดของยีน แต่เมื่อมีการกลายพันธุ์ของ p53 อาจส่งผลเสียได้ ดังการทดลองที่มีการฉีดยีนสายพันธุ์กลายของ p53 (mutant p53) เข้าไปในหนูทดลองสามารถทำให้หนูเป็นมะเร็งได้⁸⁻¹² และยังมี การกระตุ้นให้มีการสร้าง p53 จะยังทำให้เกิดมะเร็งมากขึ้น¹³

ส่วนโปรตีนเรตินอบลาสโตมาทำหน้าที่เป็นสารสัญญาณคอยควบคุมให้แต่ละชั้นวงจรชีวิตของเซลล์ให้ดำเนินไปตามปกติ อย่างเช่น ชั้นเซลล์พักตัว ในระยะ G_0 หรือ G_1 โปรตีน Rb จะอยู่ในรูปที่มีหมู่ฟอสเฟตในระดับต่ำ (hypophosphorylated Rb) ทำให้จับกับทรานสคริปชันโปรตีน (transcription protein) E2F ไว้ไม่ให้เข้าจับกับโปรโมเตอร์ (promoter) หรือเอ็นแฮนเซอร์ (enhancer) ของยีนที่จะกระตุ้นให้เซลล์มีการแบ่งตัว แต่เมื่อเซลล์เข้าสู่ชั้นเจริญเติบโต โกรทแฟกเตอร์ (growth factor) หรือ ไซคลินอี (cyclin E) และ ไซคลินเอ (cyclin A) ที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นมา จะทำให้โปรตีน Rb ถูกเติมหมู่ฟอสเฟตในระดับที่สูงขึ้น (hyperphosphorylated Rb) จนไม่สามารถจับกับ E2F ไว้ได้ โปรตีน Rb จึงไปกระตุ้นการสังเคราะห์โปรตีนจากกลุ่มยีนที่จะส่งผลให้เซลล์มีการแบ่งตัวในขั้นไมโทซิส (mitosis) เมื่อพ้นระยะแบ่งตัวไปแล้ว เอนไซม์ฟอสฟาเทส (phosphatase) จะสลายหมู่ฟอสเฟตออกบางส่วนทำให้โปรตีน Rb กลับมาอยู่ในรูปที่มีหมู่ฟอสเฟตในระดับต่ำ (hypophosphorylated Rb) อีกครั้ง เป็นการยุติการแบ่งตัวของเซลล์ ดังนั้นเมื่อมีสภาวะที่ทำให้โปรตีน Rb มีหมู่ฟอสเฟตในระดับที่สูง จะทำให้เซลล์มีการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนโดยไม่สิ้นสุดและพัฒนาเป็นเซลล์มะเร็งได้¹⁴

ผลเสียต่อเซลล์เมื่อมีการปรับตัวที่ไม่สมดุลต่อภาวะเครียดที่เกิดขึ้น

เมื่ออยู่ในภาวะเครียดของยีน เซลล์จะมีกลไกการปรับตัวเพื่อป้องกันไม่ให้ดีเอ็นเอเสียหายหรือกลายพันธุ์ ซึ่งต้องอาศัยการทำงานร่วมกันของโปรตีนหรือเอนไซม์ที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น ดังนั้น หากมีการสัมผัสกับสิ่งเร้าแบบเรื้อรัง (chronic exposure) เซลล์จึงต้องมีการปรับตัวอย่างเต็มที่อยู่ตลอดเวลา และมีการกระตุ้นการแสดงออกของยีนเพื่อสร้างโปรตีนหรือเอนไซม์ในการปรับตัวตอบสนองของเซลล์มากขึ้น ดังแสดงการเพิ่มขนาดของเซลล์ด้วยวงกลม (รูปที่ 4A) แต่กรณีที่มีการแสดงออกของยีนปกป้องเซลล์มากเกินไป อาจทำให้เซลล์อยู่ในภาวะที่มีความเสี่ยงต่อการก่อมะเร็ง (pro-carcinogenic) มากขึ้น (รูปที่ 4B) อีกกรณีที่น่าสนใจคือ หากเซลล์อยู่ในภาวะเครียดของยีนแบบไม่ต่อเนื่อง (intermittent exposure) จะทำให้มีการสร้างโปรตีนหรือเอนไซม์ในการปรับตัวตอบสนองของเซลล์แบบขึ้นๆ ลงๆ ไม่ต่อเนื่องด้วย ซึ่งหากมีการกระตุ้นด้วยสิ่งเร้าถี่ขึ้นหรือหลายครั้งขึ้น การปรับตัวอาจเกิดไม่ทันการณ์ (รูปที่ 4C) ส่งผลให้ดีเอ็นเอถูกทำลายได้มากกว่ากรณีที่เซลล์เผชิญกับภาวะเครียดอย่างต่อเนื่องตลอดเวลา ซึ่งสมมุติฐานนี้สนับสนุนโดยข้อมูลทางระบาดวิทยา

ของปัจจัยเสี่ยงในการเกิดมะเร็งผิวหนัง¹⁵ ในผู้หญิงอายุระหว่าง 30-50 ปี จำนวน 106,379 ราย ในประเทศนอร์เวย์ และสวีเดน ในปี ค.ศ. 1991 หรือ 1992 และมีการติดตามผลจนถึงปี ค.ศ. 1999 ระยะเวลาเฉลี่ยในการศึกษา 8.1 ปี พบผู้ป่วยที่เป็นมะเร็งผิวหนัง 187 ราย โดยปัจจัยเสี่ยงสำคัญของการเป็นมะเร็งผิวหนัง คือ จำนวนครั้งของการถูกแสงแดดจนผิวหนังอักเสบในแต่ละปี การถูกแสงแดดหลายครั้งเป็นเวลาหลายปี เป็นการเผชิญภาวะความเครียดของยีนแบบไม่ต่อเนื่อง ทำให้มีความเสี่ยงของการเกิดมะเร็งผิวหนังมากขึ้น เช่นเดียวกับการสูบบุหรี่แบบไม่ต่อเนื่อง สูบบ้างหยุดบ้าง ก็เพิ่มความเสี่ยงในการเป็นมะเร็งปอดได้ ดังการศึกษา รูปแบบในการแสดงออกของยีน (gene expression profile) ที่เกี่ยวกับการปรับตัวของเซลล์เมื่ออยู่ในภาวะเครียดและยีนที่สร้างเอนไซม์กำจัดสารแปลกปลอม จำนวน 2,031 ยีน โดยเทคนิค cDNA microarray ในเนื้อเยื่อส่วนทางเดินหายใจ ส่วนต้นและปอดของหนูที่ได้รับควันบุหรี่¹⁶ ทั้งแบบเฉียบพลัน (acute) คือ ให้ครั้งเดียวเป็นเวลา 3 ชั่วโมง และแบบกึ่งเรื้อรัง (sub chronic) คือ ให้เป็นเวลา 3 ชั่วโมงต่อวัน 5 วันต่อสัปดาห์ ติดต่อกัน 3 สัปดาห์ ในแต่ละกลุ่มจะมีหนูที่ถูกฆ่าทันทีและปล่อยให้ฟื้นตัว 20 ชั่วโมง และหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับอากาศปกติ พบว่า หนูที่ได้รับควันบุหรี่แบบเฉียบพลัน หนูถูกฆ่าทันทีที่มีการแสดงออกของยีนมากกว่าหนูที่มีระยะฟื้นตัว 20 ชั่วโมง และเมื่อเปรียบเทียบการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องในการปรับตัวของเซลล์เพื่อตอบสนองต่อภาวะเครียดของยีนและยีนที่สร้างเอนไซม์กำจัดสารแปลกปลอม ในระยะที่ 2 ของหนูที่ไม่มีระยะฟื้นตัว หนูที่ได้รับควันบุหรี่แบบกึ่งเรื้อรังมีการแสดงออกของยีนน้อยกว่าแบบเฉียบพลัน แสดงให้เห็นว่าการที่เซลล์อยู่ในภาวะเครียดแบบกึ่งเรื้อรัง จะมีการกระตุ้นยีนที่เกี่ยวข้องและมีการปรับตัวน้อยกว่าแบบเฉียบพลัน นอกจากนี้ หนูที่ถูกฆ่าทันทีทั้งในกลุ่มเฉียบพลันและกลุ่มกึ่งเรื้อรังมีการแสดงออกของยีนที่สร้างเอนไซม์กำจัดสารแปลกปลอมในระยะที่ 1 สูงขึ้น แสดงให้เห็นว่าการได้รับควันบุหรี่แบบกึ่งเรื้อรัง ไม่ต่อเนื่องนั้นมีการแสดงออกของยีน เช่น *cyp1a1* ซึ่งเป็นยีนที่สร้างเอนไซม์ที่ทำให้สารก่อมะเร็งในควันบุหรี่เปลี่ยนเป็น ultimate carcinogen ที่ว่องไวสามารถทำปฏิกิริยากับดีเอ็นเอได้ทันที ทำให้ดีเอ็นเอเกิดความเสียหายและเกิดมะเร็งได้ จากการศึกษาข้างต้นสามารถสนับสนุนสมมุติฐานที่ว่า การที่ยีนเผชิญภาวะเครียดแบบไม่ต่อเนื่องจะทำให้โปรตีนหรือเอนไซม์ทำหน้าที่ปรับตัว ปกป้องเซลล์อย่างไม่มีประสิทธิภาพ



รูปที่ 4 แบบจำลองการปรับตัวตอบสนองของเซลล์ เมื่อมีการสัมผัสกับสิ่งเร้าอย่างเรื้อรัง (chronic exposure) เซลล์ต้องมีการปรับตัวเพื่อตอบสนองต่อภาวะเครียดของยีนอยู่ตลอดเวลาอย่างเต็มที่และเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ดังแสดงระดับของการตอบสนองด้วยขนาดของวงกลม (รูปที่ 4A) แต่ถ้าหากมีการแสดงออกของยีนมากเกินไปทำให้เซลล์อยู่ในสภาวะ procarcinogenic มากขึ้น เป็นผลเสียต่อเซลล์ได้ (รูปที่ 4B) นอกจากนี้ยังมีหลักฐานการศึกษาและการทดลองว่าการที่ได้รับ genotoxic stress แบบไม่ต่อเนื่อง (intermittent exposure) จะทำให้โปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการปรับตัวตอบสนองของเซลล์แบบขึ้นๆ ลงๆ ไม่ต่อเนื่องด้วยเช่นกันและกลับส่งผลให้มีการทำลายดีเอ็นเอมากกว่าการได้รับ genotoxic stress อยู่ตลอดเวลาเนื่องจากการปรับตัวนี้ไม่ทันการณ์ (รูปที่ 4C) (ดัดแปลงจาก Hofseth, 2004)

สรุป

การติดเชื้อ การอักเสบ รวมถึงการได้รับสารก่อมะเร็ง จะทำให้เซลล์อยู่ในภาวะเครียด และเกิดผลเสียต่อยีน ซึ่งเซลล์จะมีกลไกการปรับตัวในการปกป้องยีนเพื่อให้อยู่ในสภาวะปกติ ซึ่งอาศัยการทำงานของโปรตีนและเอนไซม์หลายชนิดในการกำจัดสารแปลกปลอม การต้านอนุมูลอิสระ การหยุดการแบ่งตัวของเซลล์ การซ่อมแซมดีเอ็นเอ การกระตุ้นกระบวนการตายของเซลล์ แต่หากเซลล์ได้รับสิ่งกระตุ้นแบบไม่ต่อเนื่อง เช่น การได้รับแสงแดดที่ไม่ต่อเนื่องเป็นระยะเวลานาน การได้รับควันบุหรี่อย่างไม่สม่ำเสมอ เซลล์ต้องมีการกระตุ้นยีนและมีการสร้างโปรตีนและเอนไซม์เพื่อใช้ในกลุ่มปกป้องปฏิกิริยาอย่างไม่ต่อเนื่องตลอดเวลา เปรียบเสมือนการถูกกระตุ้นให้ปรับตัวใหม่อยู่ทุกครั้งจากสิ่งเร้า เซลล์จึงปรับตัวไม่ทัน เกิดผลเสียต่อเซลล์และมีความเสี่ยงของการเกิดมะเร็งเพิ่มขึ้น

เอกสารอ้างอิง

1. Ingelman-Sundberg M. Pharmacogenetics of cytochrome P450 and its applications in drug therapy: the past, present and future. *Trends Pharmacol Sci* 2004; 25:193-200.
2. Policastro L, Molinari B, Larcher F, Blanco P, Podhajcer OL, Costa CS, et al. Imbalance of antioxidant enzymes in tumor cells and inhibition of proliferation and malignant features by scavenging hydrogen peroxide. *Mol Carcinog* 2004; 39:103-13.
3. Smith ML, Ford JM, Hollander MC, Bortnick RA, Amundson SA, Seo YR, et al. p53-mediated DNA repair responses to UV radiation: studies of mouse cells lacking p53, p21, and/or gadd45 genes. *Mol Cell Biol* 2000; 20:3705-14.
4. Smith ML, Kontny HU, Zhan Q, Sreenath A, O'Connor PM, Fornace AJ, Jr. Antisense GADD45 expression results in decreased DNA repair and sensitizes cells to u.v.-irradiation or cisplatin. *Oncogene* 1996; 13:2255-63.

5. Roninson IB. Oncogenic functions of tumour suppressor p21(Waf1/Cip1/Sdi1): association with cell senescence and tumour-promoting activities of stromal fibroblasts. *Cancer Lett* 2002; 179:1-14.
6. Hofseth LJ, Khan MA, Ambrose M, Nikolayeva O, Xu-Welliver M, Kartalou M, et al. The adaptive imbalance in base excision-repair enzymes generates microsatellite instability in chronic inflammation. *J Clin Invest* 2003; 112:1887-94.
7. Hofseth LJ. The adaptive imbalance to genotoxic stress: genome guardians rear their ugly heads. *Carcinogenesis* 2004; 25:1787-93.
8. De Flora S, Balansky RM, D'Agostini F, Izzotti A, Camoirano A, Bencicelli C, et al. Molecular alterations and lung tumors in p53 mutant mice exposed to cigarette smoke. *Cancer Res* 2003; 63:793-800.
9. Duan W, Ding H, Subler MA, Zhu WG, Zhang H, Stoner GD, et al. Lung-specific expression of human mutant p53-273H is associated with a high frequency of lung adenocarcinoma in transgenic mice. *Oncogene* 2002; 21:7831-8.
10. Harvey M, Vogel H, Morris D, Bradley A, Bernstein A, Donehower LA. A mutant p53 transgene accelerates tumour development in heterozygous but not nullizygous p53-deficient mice. *Nat Genet* 1995; 9:305-11.
11. Wang Y, Zhang Z, Kastens E, Lubet RA, You M. Mice with alterations in both p53 and Ink4a/Arf display a striking increase in lung tumor multiplicity and progression: differential chemopreventive effect of budesonide in wild-type and mutant A/J mice. *Cancer Res* 2003; 63:4389-95.
12. Zhang Z, Liu Q, Lantry LE, Wang Y, Kelloff GJ, Anderson MW, et al. A germ-line p53 mutation accelerates pulmonary tumorigenesis: p53-independent efficacy of chemopreventive agents green tea or dexamethasone/myo-inositol and chemotherapeutic agents taxol or adriamycin. *Cancer Res* 2000; 60:901-7.
13. Hussain SP, Raja K, Amstad PA, Sawyer M, Trudel LJ, Wogan GN, et al. Increased p53 mutation load in nontumorous human liver of wilson disease and hemochromatosis: oxyradical overload diseases. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97:12770-5.
14. Weinstein IB. Disorders in cell circuitry during multistage carcinogenesis: the role of homeostasis. *Carcinogenesis* 2000; 21:857-64.
15. Veierod MB, Weiderpass E, Thorn M, Hansson J, Lund E, Armstrong B, et al. A prospective study of pigmentation, sun exposure, and risk of cutaneous malignant melanoma in women. *J Natl Cancer Inst* 2003; 95:1530-8.
16. Gebel S, Gerstmayer B, Bosio A, Haussmann HJ, Van Miert E, Muller T. Gene expression profiling in respiratory tissues from rats exposed to mainstream cigarette smoke. *Carcinogenesis* 2004; 25:169-78.

