บทฟื้นฟูวิชาการ

วัฏจักรของเซลล์และการเกิดโรคมะเร็ง

นวพรรณ จารุรักษ์*
จุฑารัตน์ สุธีโสภณ * นรินทร์ วรวุฒิ**

Charuruks N, Sutheesophon J, Voravud N. Cell cycle and tumorigenesis. Chula Med J 1998 Nov; 42(11): 1035-48

The hallmark of cancer is uncontrolled cell proliferation. The cell cycle is a complex reaction cascade comprising positive and negative protein regulators. Its fundamental task is to ensure the production of a pair of genetically identical daughter cell. To achieve this, DNA is faithfully replicated once during the S phase and the identical chromosomal copies are distributed equally to two daughter cells during the M phase. For malignant development to manifest, acquired damage to genes associated with the cell cycles must occur.

This article reviews the information currently available on the roles of cell cycle regulatory proteins in normal cells, and the abnormalities encountered in human cancer.

Key words : *Cell cycle, Tumorigenesis.*

Reprint request: Charuruks N. Department of Laboratory Medicine, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand.

Received for publication. September 15, 1998.

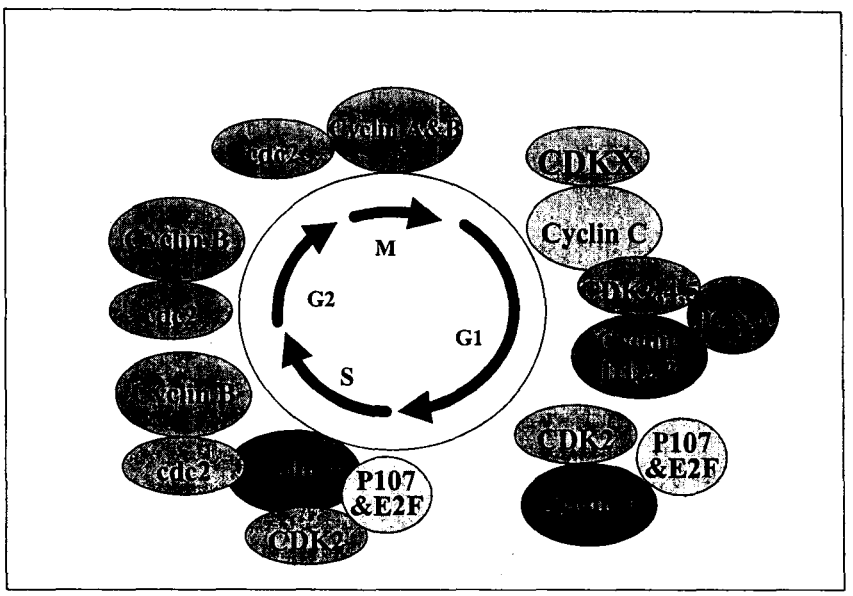
*ภาควิชาเวชศาสตร์ชันสูตร คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
**ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

โรคมะเร็งเป็นโรคที่มีการเพิ่มขยายจำนวนเซลล์ที่มีความผิดปกติ ทั้งในระดับสารพันธุกรรมและรูปร่างลักษณะของเซลล์ โดยมีการเพิ่มขยายจำนวนเซลล์สูงขึ้นอย่างผิดปกติร่วมด้วย ขบวนการสำคัญที่นำไปสู่การเพิ่มขยายจำนวนเซลล์นั่นคือ "วงจรชีวิตของเซลล์" หรือ "วัฏจักรของเซลล์" (cell cycle)[1] (รูปที่ 1) วัฏจักรของเซลล์แบ่งเป็นระยะต่าง ๆ 4 ระยะ คือ 1) Pre-synthetic phase หรือ G1 phase คือระยะที่เริ่มมีการเตรียมการสร้าง DNA และสารต่าง ๆ ที่จำเป็นสำหรับการแบ่งตัวที่จะเกิดขึ้น 2) DNA synthetic phase หรือ S phase คือระยะที่มีการสร้าง DNA และสารต่าง ๆ ที่จำเป็นสำหรับการแบ่งตัว 3) Pre-mitotic phase หรือ G2 phase คือระยะก่อนที่จะเข้าสู่ระยะแบ่งตัว 4) Mitotic phase คือ M phase คือ ระยะที่เกิดมีการแบ่งตัวเกิดขึ้น ระยะต่าง ๆ ทั้ง 4 ระยะนี้จะต้องเกิดขึ้นตามลำดับ และเกิดขึ้นจนครบทุกระยะอย่างสมบูรณ์ เซลล์จึงจะเกิดการเพิ่มขยายจำนวนได้โดยไม่เกิดความผิดปกติ[2]

กลไกของวัฏจักรของเซลล์ (Cell Cycle Mechanism)

ปัจจุบันเป็นที่ทราบกันแล้วว่าวัฏจักรของเซลล์นั้นเกิดจากการทำงานของโปรตีนสำคัญ 2 ชนิด คือโปรตีน cyclin dependent kinase (CDK) ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นเอ็นไซม์ CDK นี้จะทำงานได้ก็ต่อเมื่อมีการรวมตัวเป็นสารประกอบกับโปรตีนอีกชนิดหนึ่งคือ cyclin ปัจจุบันพบว่ามี CDK ถึง 6 ชนิด คือ CDK1 (cell division cycle 2 หรือ CDC2 หรือ $p34^{cdc2}$), CDK2, CDK3, CDK4, CDK5 และ CDK6 ส่วนโปรตีน cyclin นั้น พบว่ามีหลายชนิดเช่นกัน คือ cyclin A, cyclin B, cyclin C, cyclin D (ซึ่งแบ่งเป็นชนิดย่อยอีก 3 ชนิด คือ Cyclin D1, Cyclin D2 และ Cyclin D3), Cyclin E, Cyclin F และ Cyclin G

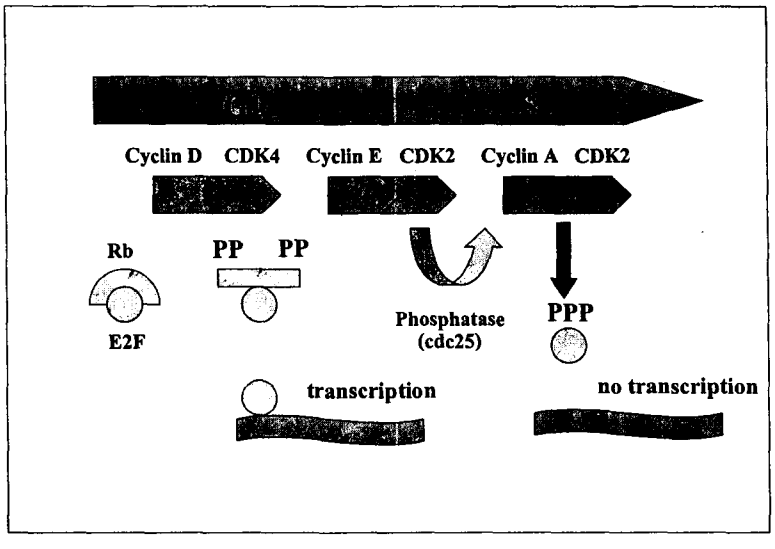
ในปัจจุบันเชื่อว่า วัฏจักรของเซลล์ในระยะ G1 นั้นเริ่มต้นจากการทำงานของcyclin C จับกับ CDK X[4-5] (เนื่องจากยังไม่ทราบชนิดของ CDK ชนิดนี้ จึงเรียกว่า CDKX) จนกระทั่งเข้าสู่จุด R (restriction point หรือ R point) ซึ่งเป็นจุดที่วัฏจักรเซลล์ไม่ถูกควบคุมด้วย growth factors ต่าง ๆ



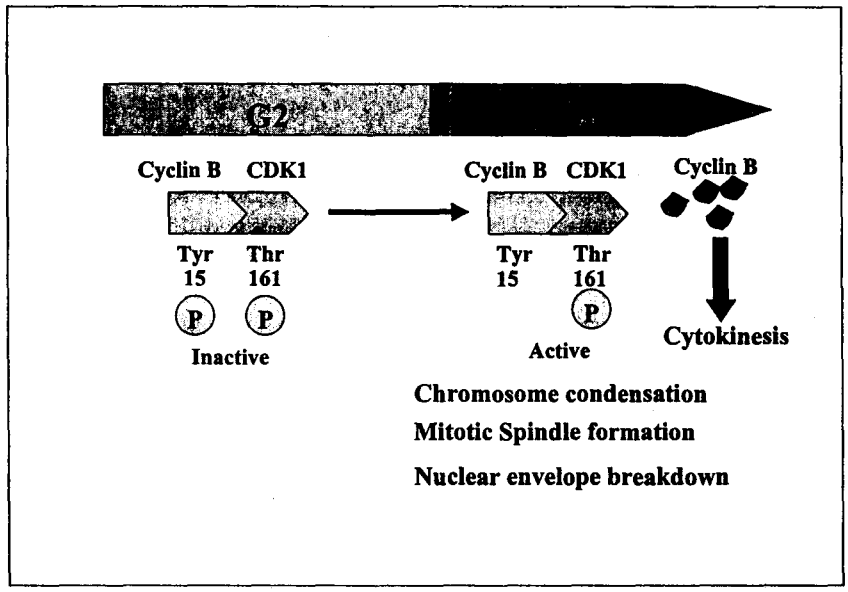
รูปที่ 1. วัฏจักรของเซลล์มี 4 ระยะ เริ่มจากระยะ G1 สู่ระยะ S ระยะ G2 และสิ้นสุดที่ระยะ M การที่วัฏจักรของเซลล์ดำเนินไปได้นั้นเกิดจากการทำงานของโปรตีนสำคัญ 2 ชนิด คือ cyclin และ cyclin - dependent kinase (CDK) โดย cyclin และ CDK จะรวมกันเป็นสารประกอบ และเกิดมีคุณสมบัติไปกระตุ้นการทำงานของสารจำเป็นอื่น ๆ cyclin และ CDK มีหลายชนิด แต่ละชนิดจะมีความสำคัญในแต่ละระยะของวัฏจักรของเซลล์ เช่น ระยะ G1 มี cyclin D1, 2, 3 ซึ่งจะรวมเป็นสารประกอบกับ CDK 2, 4, 5 เป็นต้น

ในเลือด จากนั้น cyclin D1, cyclin D2 และ cyclin D3 จะจับกับ CDK2, CDK4 และ CDK5 และกระตุ้นการทำงานของ proliferating cell nuclear antigen (PCNA) ซึ่งควบคุมการเกิด DNA replication ต่อไป (รูปที่ 2) Cyclin E จะจับกับ CDK2 และกระตุ้นให้เกิด phosphorylation กับโปรตีน pRb-like molecules[6] เช่น โปรตีน pRb, p107 และ p130 ทำให้โปรตีนกลุ่มนี้ปลดปล่อย E2F ซึ่งเป็น transcription factor ทำหน้าที่กระตุ้นการทำงานของสารพันธุกรรมที่มีความจำเป็นต่อการเปลี่ยนจากระยะ G1 สู่ระยะ S ในระยะ S cyclin A จะจับกับ CDK2 และทำหน้าที่เช่นเดียวกับ Cyclin E ที่จับกับ CDK2 จากนั้น cyclin B จะจับกับ CDK1 เพื่อกระตุ้นเซลล์ให้เข้าสู่ระยะ G2 (รูปที่ 3) ในระยะ M Cyclin A และ B จะจับกับ CDK1 Cyclin A-CDK1 และ cyclin B-CDK1 นี้จะทำหน้าที่เป็น maturation promoting factor หรือ M-phase promoting factor หรือที่เรียกกันสั้น ๆ ว่า MPF[7] MPF เป็นสารที่พบว่าทำหน้าที่สำคัญในระยะ M เช่น ทำให้เกิด Chromosome condensation, ทำให้เกิดการสร้าง mitotic spindle และการสลายของผนังนิวเคลียส เป็นต้น

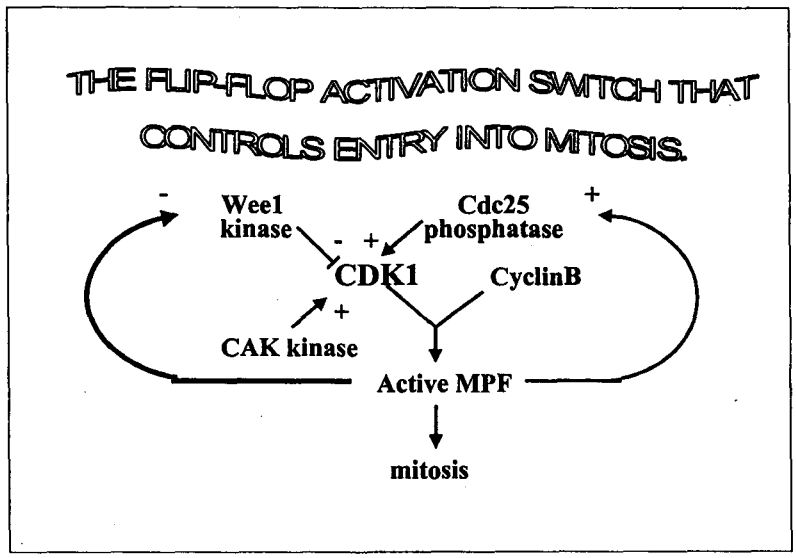
ปัจจุบันเชื่อว่าการกระตุ้น MPF นั้นมีลักษณะจำเพาะ เรียกว่า "The Flip-Flop Activation"[8] ทั้งนี้เพื่อช่วยให้เซลล์ที่เข้าสู่ระยะ M-phase สามารถผ่านระยะนี้ไปได้อย่างรวดเร็วและไม่เกิดการสะดุด กล่าวคือ โปรตีน $p34^{cdc2}$ หรือโปรตีน CDC2 หรือ CDK1 นั้นพบว่ามีระดับคงที่อยู่ตลอดวัฏจักรของเซลล์ ส่วน cyclin B ก็พบได้ในหลายระยะของวัฏจักรของเซลล์ ฉะนั้นเพื่อให้สารประกอบที่เกิดขึ้นจากการจับกันของ CDK1 และ cyclin B มีคุณสมบัติเป็น MPF เฉพาะในระยะ M จึงต้องมีกลไกพิเศษ กล่าวคือ มีการเพิ่มและดึงฟอสเฟตออกจากโปรตีน CDK1 โดย CDC2 activating kinase (CAK) จะทำหน้าที่เติมฟอสเฟตที่ตำแหน่ง threonine 161 ของ CDK1 ส่วนตำแหน่งที่ tyrosine 15 ของ CDK1 นั้น จะถูกดึงฟอสเฟตออกโดย CDC25 phosphatase[9] เพื่อให้ CDK1 ทำงานได้ แต่ถ้าถูกเติมฟอสเฟตโดย Wee1 kinase[10] จะทำให้ CDK1 ทำงานไม่ได้ การทำงานของ CDC25 phosphatase และ Wee1 kinase นั้นถูกควบคุมโดย MPF โดย MPF ที่เพิ่มขึ้นจะกระตุ้นการทำงานของ CDC25 phosphatase ในขณะที่กดการทำงานของ Wee1 kinase (รูปที่ 4)



รูปที่ 2. ในระยะ G1 เมื่อ cyclin จับกับ CDK เป็นสารประกอบแล้ว จะสามารถเพิ่ม phosphate ให้กับโปรตีน pRb ทำให้โปรตีน pRb ปลดปล่อย E2F E2F ที่ถูกปลดปล่อยนี้ จะไปกระตุ้นให้เกิด transcription เพื่อช่วยให้เซลล์เข้าสู่ระยะ S นอกจากนี้สารประกอบนี้ยังกระตุ้น cdc25 ซึ่งไปกระตุ้นการจับกันของ cyclin A และ CDK2 สารประกอบคู่ใหม่นี้จะทำหน้าที่เติม phosphate ให้กับ E2F ทำให้หยุดการเกิดการ transcription



รูปที่ 3. จากระยะ G2 เข้าสู่ระยะ M cyclin B จับกับ CDK1 เกิดเป็นสารประกอบที่มีคุณสมบัติพิเศษ คือคุณสมบัติของ maturation promoting factor (MPF) โดยต้องมีการดึง phosphate ออกจากกรดอะมิโนตำแหน่งที่ 15 ซึ่งคือ tyrosine เพื่อให้อยู่ในสภาพ active MPF ทำให้เกิด chromosome condensation, mitotic spindle formation, nuclear envelope brakdown เป็นต้น ส่วนการสลายตัวของ cyclin B เชื่อว่าจะกระตุ้นให้เกิด cytokinesis

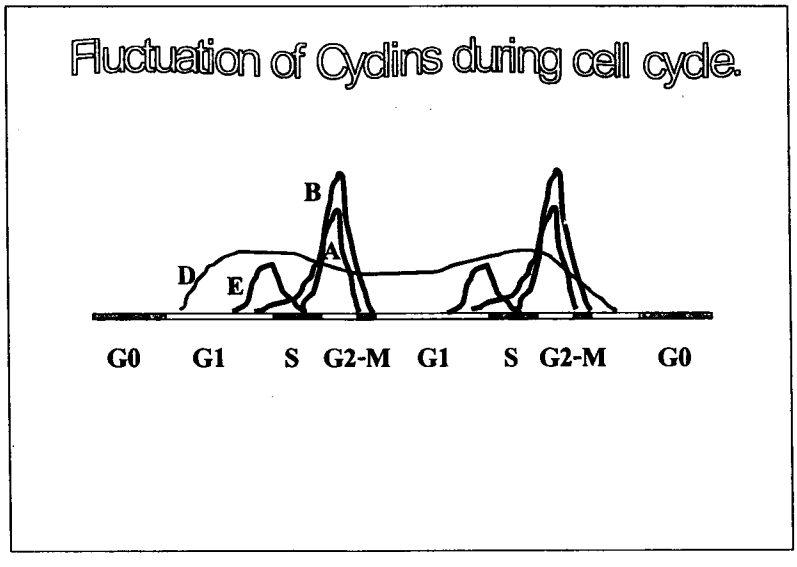


รูปที่ 4. CDK1 จะต้องถูกกระตุ้นให้อยู่ในรูป active from โดยเติม phosphate ที่ตำแหน่ง threonine 161 โดย CAK kinase และการดึง phosphate ออกจากตำแหน่ง tyrosine 15 โดย Cdc25 ซึ่งจะต้องทำงานต้านกับ Weel kinase ซึ่งทำหน้าที่เติม phosphate ที่ตำแหน่งดังกล่าว ฉะนั้นเพื่อให้ CDK1 เมื่อจับกับ cyclin B แล้วเป็น active MPF และมีจำนวนมากเพียงพอที่จะให้การเกิด mitosis เป็นไปอย่างสมบูรณ์โดยรวดเร็ว active MPF จะช่วยกระตุ้นการทำงานของ cdc25 ในขณะที่ไปกดการทำงานของ Weel ขบวนการที่เกิดขึ้นนี้เรียกว่า "Flip - Flop Activation Switch" (Modified from Hunt J. The cell cycle. In: The Encyclopedia of Molecular Biology. 1994: p161-6)

นอกจากนี้ในปัจจุบันเชื่อว่าการที่สารประกอบของโปรตีน CDK และ cyclin นั้น จะหมดความสามารถในการทำงานได้ จะต้องมีการทำลายหรือสลายไปของโปรตีน cyclin[11] จึงมีผู้ทำการศึกษาและพิสูจน์หาระดับโปรตีน cyclin ที่เกิดขึ้น ในวัฏจักรของเซลล์ (รูปที่ 5) และพบว่าระดับของ cyclin นั้น มีการเพิ่มขึ้นและลดลง สอดคล้องกับความเชื่อดังกล่าว กล่าวคือพบว่า cyclin B มีระดับสูงมากในระยะ M และลดลงอย่างรวดเร็วเมื่อออกจากระยะ M เป็นต้น

The p53 dependent G1/S checkpoint

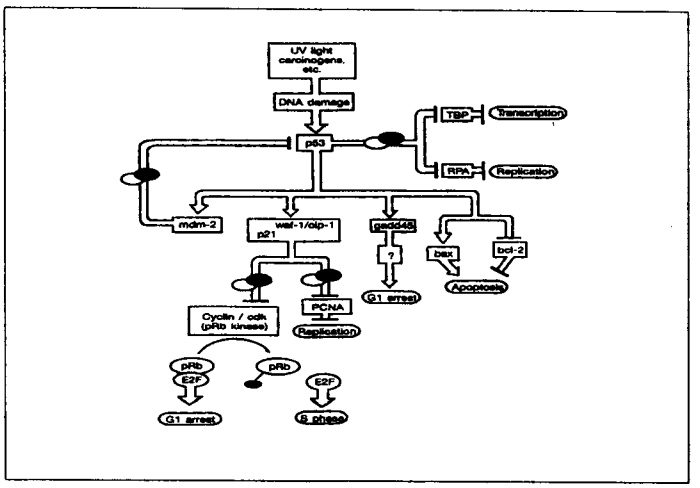
G1/S checkpoint ที่เป็นที่ทราบกัน คือ *P53*[14] ซึ่งเป็น tumor suppressor gene (TSG) ที่สำคัญตัวหนึ่ง อันตรายจากสารหรือภาวะต่าง ๆ ที่ทำให้เกิดอันตรายกับสารพันธุกรรมที่อยู่ภายในเซลล์ (genotoxic stress) เช่น รังสี ultraviolet, สารกัมมันตภาพรังสี, รังสี X-ray, alfatoxin เป็นต้น จะกระตุ้นให้ยีน *P53* ทำงานและสร้างโปรตีน p53 โปรตีน p53 นี้จะทำหน้าที่ต่าง ๆ (รูปที่ 6) คือ 1) กระตุ้นการสร้างโปรตีน $p21^{WAF-1/CIP-1}$ ซึ่งจะทำหน้าที่จับ และหยุดยั้ง



รูปที่ 5. ระดับของโปรตีน cyclin ในระยะต่าง ๆ ของวัฏจักรของเซลล์ระดับ cyclin D จะสูงอยู่อย่างค่อนข้างสม่ำเสมอตลอดวัฏจักรของเซลล์ ในขณะที่ cyclin E สูงขึ้นระหว่างระยะ G1/2 cyclin A สูงขึ้นในระยะ S และสูงมากในระยะ G2/M ส่วน cyclin B นั้นสูงมากในระยะ G2/M (Modified from Sherr CJ.: Science 1996; 27: 1672 - 7)

การควบคุมวัฏจักรของเซลล์ (Cell Cycle Control)

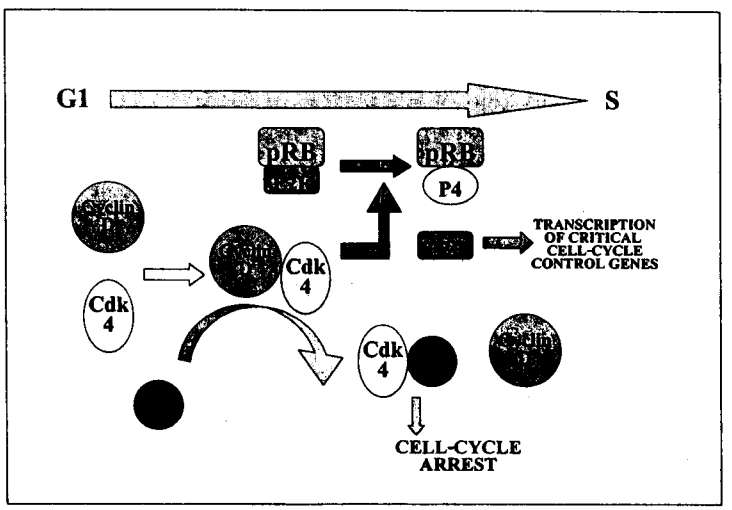
การที่เซลล์เข้าสู่วัฏจักรของเซลล์และดำเนินไปจนครบวงจรนี้ จำเป็นจะต้องมีขบวนการควบคุม เพื่อป้องกันและกำจัดความผิดปกติที่เกิดขึ้น เรียกขบวนการนี้ว่า "Cell cycle control" หรือ "checkpoint"[12] checkpoint ที่สำคัญ คือ G1/S checkpoint และ G2/M checkpoint ในปัจจุบันความรู้เกี่ยวกับ G1/S checkpoint มีค่อนข้างมาก ในขณะที่ G2/M checkpoint ยังไม่เป็นที่ทราบกัน นอกจากนี้ปัจจุบันยังพบการควบคุมวัฏจักรของเซลล์โดยการควบคุมการทำงานของ CDK4 โดยกลไกการทำงานของ cyclin-dependent kinase inhibitor (CDKI)[13] การทำงานของสารประกอบ cyclin-CDK และ PCNA[15-16] 2) กระตุ้นการทำงานของ growth arrest and DNA damage 45 (gadd 45) เชื่อกันว่า gadd45 สามารถจับกับ PCNA และทำให้เกิด G1 arrest[15-16] 3) จับกับ TATA-box binding protein (TBP) และ Replication protein A (RPA) เป็นผลให้เกิดการหยุดยั้งการเกิด DNA replication[17] 4) กระตุ้นการสร้างโปรตีน bax และ กดการสร้างโปรตีน bcl-2 ทำให้เกิด apoptosis[15-18] 5) กระตุ้นการสร้างโปรตีน mdm-2 ซึ่งทำหน้าที่ควบคุมการสร้างโปรตีน p53 อีกทีหนึ่ง จัดเป็น autoregulation loop[15-19]



รูปที่ 6. ยีน P53 เป็น G1/S checkpoint ที่สำคัญที่สุด ที่ทราบกันในปัจจุบัน การทำงานของยีน P53 จะถูกกระตุ้นจากอันตรายที่เกิดกับเซลล์ ทำให้มีการสร้างโปรตีน p53 ที่ปกติสูงขึ้น โปรตีน p53 ที่ปกตินี้ทำหน้าที่ต่าง ๆ เช่น กระตุ้นการสร้างโปรตีน p21$^{WAF-1/CIP-1}$ ซึ่งไปจับกับโปรตีน PCNA และสารประกอบระหว่าง cyclin และ CDK ทำให้เกิด G1 arrest และหยุดการเกิด replication นอกจากนั้นยังกระตุ้น gadd45 เปลี่ยนอัตราส่วนระหว่างโปรตีน bax และ bcl-2 จับกับ TBP และ RPA นอกจากนี้ยังกระตุ้นการสร้างโปรตีน mdm-2 ซึ่งการทำงานต่าง ๆ ดังกล่าวนี้ ส่งผลให้เกิด G1 arrest หรือ apoptosis นั่นเอง (Modified from Hainaut P: Curr Opin Oncol 1995; 7:76-82)

Cyclin-dependent kinase inhibitor (CDKI)

CDKI มีการทำงานในลักษณะการหยุดยั้งการทำงานของ CDK ฉะนั้นจึงจัดเป็น negative growth control ตัวอย่างที่สำคัญของ CDKI คือ โปรตีน p16$^{INK4\alpha}$ ซึ่งทำหน้าที่ยับยั้งการทำงานของ G1 cyclin-CDK complexes และทำให้เกิด G1 arrest[20] โดยโปรตีน p16$^{INK4\alpha}$ จะจับกับ CDK4 ทำให้ Cyclin D ไม่สามารถจับกับ CDK4 เพื่อเป็นสารประกอบและทำงานต่อไปได้ (รูปที่ 7) ปัจจุบัน CDKI ที่พบแล้วมี 8 ชนิด คือ p15, p16, p18, p19, p20, p21, p27 และ p28[16, 21-23]



รูปที่ 7. โปรตีน p16$^{INK4\alpha}$ เป็นตัวอย่างของ CDKI ที่สำคัญ โดยโปรตีน p16$^{INK4\alpha}$ นี้จะทำหน้าที่จับกับ CDK4 ทำให้ไม่สามารถจับกับ cyclin D ได้ในระยะ G1/S ทำให้โปรตีน pR b และ pRb - like ไม่ปลดปล่อย E2F จึงไม่เกิด transcription

Other G1/S regulators

แม้ว่า E2F จะเป็นจุดสำคัญที่ช่วยให้เกิด checkpoint แต่ก็ยังไม่มีรายงานเกี่ยวกับความผิดปกติกับ E2F ในผู้ป่วยโรคมะเร็ง ในหนูพบว่าความผิดปกติต่อ wild-type E2F alleles ทั้งคู่ ก่อให้เกิดโรคมะเร็งได้[24] นอกจากนี้มีการพบความผิดปกติเกี่ยวกับ cyclin เช่น ความผิดปกติของยีน cyclin A ในโรคมะเร็งตับ[25] เป็นต้น คำถามหนึ่งซึ่งยังไม่มีคำตอบก็คือ อาจมี oncoproteins และ/หรือ tumor suppressor proteins ที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมและสร้างโปรตีนกลุ่ม cyclin

วัฏจักรของเซลล์และการเกิดเป็นโรคมะเร็ง

Cell Cycle and Tumorigenesis

การเกิดวัฏจักรของเซลล์นั้นจะเกิดขึ้นได้จะต้องเป็นการทำงานร่วมกันของ 1) Cyclins 2) CDKs 3) Tumor suppressor genes (TSGs) และ 4) CDKIs ความผิดปกติที่เกิดขึ้นกับสิ่งเหล่านี้ ปัจจุบันพบว่าก่อให้เกิดโรคมะเร็ง (ตารางที่ 1)

Cyclins and cancer

การค้นพบที่สำคัญนั้น คือการศึกษาในโรคมะเร็งเต้านม โดยมีการค้นพบความผิดปกติของโปรตีน Cyclin D1 ทั้งในระดับยีน(ch11q13)[26] ระดับ mRNA[27] และระดับโปรตีน[28] การค้นพบนี้แสดงให้เห็นว่าโปรตีน Cyclin D1 มีส่วนสำคัญในการเกิดเป็นโรคมะเร็งเต้านม นอกจากนี้ยังพบความผิดปกติของโปรตีน cyclin D1 ในโรคมะเร็งหลอดอาหาร[29] ตับ[30] และต่อมลูกหมาก[31] ความผิดปกติของ Cyclin A, D และ E ในโรคมะเร็งลำไส้ใหญ่[32] ความผิดปกติของโปรตีน cyclin A ในโรคมะเร็งตับที่เกี่ยวข้องกับไวรัสตับอักเสบชนิด B[25] ความผิดปกติของโปรตีน cyclin E ในโรคมะเร็งปอด[33] ไต[33-34] และหลอดไต[34] เป็นต้น

CDKs and Cancer

มีการศึกษาในโรคมะเร็ง gliomas และ sarcomas (ตารางที่ 1) พบว่ามีความผิดปกติของ chromosome 12q13 ซึ่งควบคุมการสร้าง CDK4[35] ทำให้มีการสร้างเพิ่มขึ้นมากผิดปกติ นอกจากนี้พบว่ามีการผ่าเหล่าของ CDK4 ทำให้โปรตีน $p16^{INK4}$ ไม่สามารถจับกับโปรตีน CDK4 ที่เกิดจากยีนที่ผ่าเหล่านี้ได้ โปรตีน $p16^{INK4}$ จึงไม่สามาถทำงานได้[36] การศึกษาเกี่ยวกับ CDKs กับการก่อให้เกิดโรคมะเร็งเพิ่งได้รับความสนใจเมื่อไม่นานนี้ ข้อมูลเกี่ยวกับโปรตีน $p16^{INK4}$ กำลังทยอยออกมา

TSGs and Cancer

เป็นที่ทราบกันมานานแล้วว่า TSGs มีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการเกิดเป็นโรคมะเร็ง TSGs ที่สำคัญที่ควบคุมวัฏจักรของเซลล์ก็คือ ยีน p53[14] และยีน retinoblastoma[37] ความผิดปกติของยีนทั้ง 2 นี้ ก่อให้เกิดโรคมะเร็งชนิดต่างๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งยีน p53 จัดเป็นยีนที่พบว่าเกิดความผิดปกติที่พบในโรคมะเร็งเกือบทุกชนิด หน้าที่สำคัญของยีน p53 ก็คือการเป็น G1/S Checkpoint นั่นเอง นอกจากนี้ก็ยังทำหน้าที่ควบคุมการเกิด apoptosis การทำหน้าที่ผิดปกติไปของยีน p53 ส่งผลก่อให้เกิดความผิดปกติของโปรตีน p53 และความผิดปกติในวัฏจักรของเซลล์ และการเกิดเป็นโรคมะเร็งในที่สุด (ตารางที่ 1, 2)

CDKIs and cancer

CDKIs ที่สำคัญในปัจจุบันนี้ $p16^{INK4}$ และ $p21^{WAF-1/CIP-1}$ โปรตีน $p16^{INK4}$ จัดเป็น CDKI ที่เพิ่งค้นพบในปี ค.ศ. 1993[20] ยีนที่ควบคุมการสร้างโปรตีนนี้มีชื่อเรียกมากมาย เช่น multiple tumor suppressor-1 หรือ major tumor suppressor-1 *(MTS-1)*, inhibitor of cyclin-dependent kinase 4 *(INK4)*, Cyclin-dependent kinase inhibitor 2A (*CDKN2A*) อยู่บน chromosome 9p21 ประกอบด้วย 3 exon ทำหน้าที่สร้างโปรตีน $p16^{INK4}$ ซึ่งประกอบขึ้นด้วยกรดอะมิโน 156 ตัว มีน้ำหนัก 15.8 kD ทำหน้าที่เป็น CDKI โดยการจับกับ CDK4 หรือ CDK6 ซึ่งทำให้ cyclin จับกับ CDK ไม่ได้ จึงไม่เกิดสารประกอบ cyclin-CDK ทำให้ pRb like protein ไม่ปลดปล่อย E2F ดังได้กล่าวแล้วข้างต้น ปัจจุบันพบว่าความผิดปกติของยีนและโปรตีน p16 นั้นมีมากและก่อให้เกิดโรคมะเร็งหลายชนิด อาจกล่าวได้ว่าข้อมูลในปัจจุบันมีความผิดปกติที่เกี่ยวกับ p16 นี้ พบมากเป็นรองเฉพาะ p53 เท่านั้น (ตารางที่ 1)

Table 1. Abnormalities in Cell Cycle-Related Genes in Human Cancers[2]

Gene	Type of abnormality	Type of Cancer
Cyclin		
Cyclin A	Site of integration of hepatitis B virus, yielding a stabilized protein	Liver
Cyclin E	Increased expression and aberrant low molecular weight forms	Breast, colon, prostate
Cyclin D1	Chromosomal translocations cause constitutive high expression	Parathyroid (PRAD1)
		B-cell lymphoma (BCL1)
	Gene amplification and increased expression	Breast, esophagus, head and neck, lung, liver, bladder
	Increased expression without amplification	Breast, colon
Cyclin-dependent kinase		
CDK4	Amplification and increased expression	Gliomas, sarcomas
	Mutation that disrupts $p16^{INK4}$ binding	Melanoma
Phosphatase		
CDC25B	Increased expression	Breast
Cyclin-dependent kinase inhibitor		
$p16^{INK4}$	Loss of expression due to deletions, point mutations, or DNA methylation	Pancreas, esophagus gliomas, leukemias etc.
$p15^{INK4b}$	Deletions (links to $p16^{INK4}$ gene)	Leukemias, lung, etc.
$p21^{CIP1}$	Impaired induction after DNA damage in p53 mutant cells	Numerous types of cancers
$p27^{KIP1}$	Impaired function in TGFb-resistant cells	Numerous types of cancers
C1/S checkpoint control proteins		
p53	Loss of heterozygosity, point mutations, and inactivation by viral oncoproteins	Numerous types of cancers
Rb	Loss of heterozygosity, deletions, point mutations, and inactivation by viral oncoproteins	Numerous types of cancers

Table 2. Frequency of p16 Inactivation in Primary Tumors by Mechanism[25]

Tumor Type	HD* %	Mutation %	Methylation † %	Total, %‡
Glioma	60	<5	24	85
Head and neck	50	10	20	80
Esophagus	20	30	20	70
Pancreas	30	30	ND	60
Bladder	45	<5	<5	55
Mesothelioma	50	<5	ND	55
ALL, T-cell	50	<5	ND	55
Breast	10	ND	30	40
NSCLC	20	15	ND	35
Colon	0	ND	30	30
Melanoma	25	<5	ND	30
Ovary	10	<5	10	25
Prostate	20	ND	ND	20
Renal cell	15	ND	ND	15
Pituitary	15	0	ND	15
Sarcoma	10	<5	ND	10
Gastric	10	0	ND	10
SCLC	5	ND	ND	5

NOTE. Frequency of involvement are approximations based on pooled or individual studies with relative small sample sizes.

Abbreviation: ND, not done; ALL, acute lymphoblastic leukemia; NSCLC, non-small-cell lung cancer; SCLC, small-cell lung cancer.

*Homozygous deletions based on deletion mapping in primary tumors of xenografts, likely an underestimate. Newer studies that use microsatellite markers of FISH probes very close to the *p16* locus are more accurate than many older studies.

† Methylation of 5′ CpG islands.

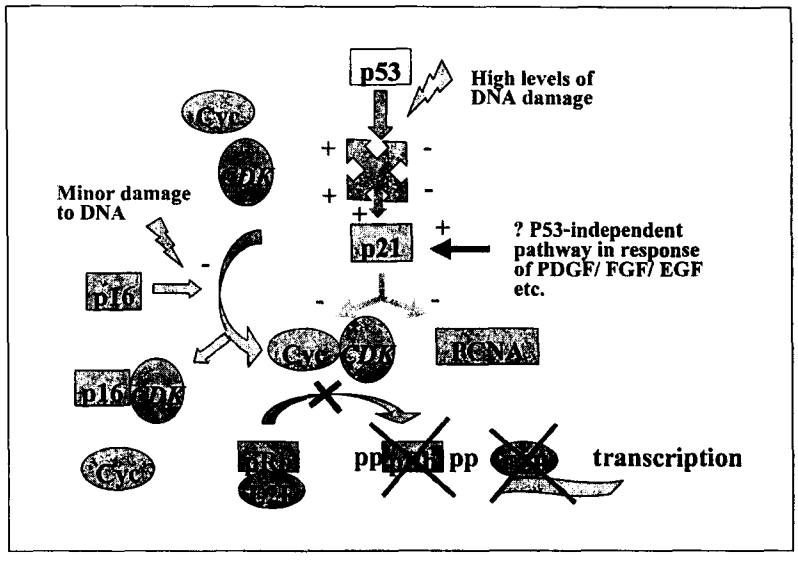
‡ Based on these frequencies, *p16* inactivation will occur in at least 357,000 new cancer cases (of 1,382, 400 projected in the United States in 1997, excluding skin cancer) or 26% of all cancers, a figure only rivaled by the p53 gene.

โปรตีน $p21^{WAF-1/CIP-1}$ นั้นควบคุมการสร้างโดยยีน มีชื่อเรียกต่าง ๆ เช่น wild-type p53 activated fragement-1 *(WAF-1)* หรือ CDK interacting protein-1 (CIP-1) เป็นต้น เนื่องจากมีการพบความผิดปกติของโปรตีน $p21^{WAF-1/CIP-1}$ ในโรคมะเร็งหลายชนิด (ตารางที่ 1) จึงนิยมเรียกว่า universal CDK inhibitor[38] เป็นที่ทราบกันดีว่าโปรตีนที่ทำหน้าที่ยับยั้งการทำงานของสารประกอบ cyclin-CDK โดยเฉพาะอย่างยิ่งการทำงานของสารประกอบ Cyclin E-CDK2 โปรตีน $p21^{WAF-1/CIP-1}$ นี้ เท่าที่ทราบกันในปัจจุบันถูกกระตุ้นให้ทำงานได้ 2 ทาง คือโดยผ่านทางโปรตีน p53 (p53-dependent pathway)[39] และโดยไม่ผ่านทางโปรตีน p53 (p53-independent pathway)[40] เช่น โดยการกระตุ้นของ platelet derived growth factor (PDGF), fibroblast growth factor (FGF), epidermal growth factor (EGF) เป็นต้น

ประโยชน์และการประยุกต์ใช้ผลจากการศึกษาวัฏจักรของเซลล์และการเกิดเป็นโรคมะเร็ง

(Usefullness and Clinical Application of Cell Cycle and Tumorigenesis

การศึกษาวัฏจักรของเซลล์ในภาวะปกติ และภาวะที่ก่อให้เกิดโรคมะเร็งนั้นก่อให้เกิดประโยชน์ และการประยุกต์ความรู้พื้นฐานนี้มาสู่การพัฒนาวิธีการบำบัดรักษาโรคมะเร็ง ตัวอย่างที่สำคัญ เช่น การรักษาโรคมะเร็งรังไข่[41] ซึ่งมีการนำ cis-diamminedichloroplatinum หรือ cisplatin ซึ่งมีกลไกการออกฤทธิ์ที่สำคัญ คือการจับกับ DNA และ nuclear proteins ทำให้เกิด intrastrand และ interstrand crosslinks และ DNA-protein crosslinks ซึ่งทำให้ DNA เปลี่ยนรูปร่างไป และไม่สามารถเกิด replication และ transcription ขึ้นได้[42-43]



รูปที่ 8. ในปัจจุบันเชื่อว่า อันตรายต่อเซลล์ที่มีความรุนแรงต่อเซลล์ค่อนข้างสูง จะกระตุ้นการทำงานของยีน P53 ทำให้เกิด G1/S checkpoint ซึ่งกลไกที่สำคัญ จะไปกระตุ้นการทำงานของโปรตีน $p21^{WAF-1/CIP-1}$ นั่นเอง อย่างไรก็ตามพบว่า โปรตีน $p21^{WAF-1/CIP-1}$ นี้อาจจะถูกกระตุ้นโดย p53-independent pathway ได้ ส่วนอันตรายต่อเซลล์ที่มีความรุนแรงน้อยกว่าจะกระตุ้นการทำงานของโปรตีน $p16^{INK4\alpha}$ ผลลัพธ์ของการทำงานทั้ง p53 และ p16 ช่วยทำให้เกิด G1/S checkpoint เช่นกัน

ความรู้ความเข้าใจในกลไกระดับอณูชีววิทยาของวัฏจักรของเซลล์เป็นพื้นฐานสำคัญยิ่งในการหาวิธีการเพื่อการบำบัดรักษาโรคมะเร็ง วิธีการที่สำคัญวิธีการหนึ่งก็คือการใช้ความรู้ทางอณูชีววิทยาเข้ามาช่วยในการรักษาในระดับยีน (gene transfer technology หรือ gene therapy) เพื่อช่วยให้วัฏจักรของเซลล์กลับเป็นปกติ แก้ไข checkpoint mechanism ที่มีปัญหาการแก้ไขยีนที่ผิดปกติทั้งหลายที่เกี่ยวข้องกับวัฏจักรของเซลล์เป็นวิธีการหนึ่งที่ได้รับความสนใจศึกษาวิจัยอย่างมากในปัจจุบัน ตัวอย่างที่สำคัญ คือการสอดใส่ยีน p53 ที่เป็นปกติไปให้ carcinoma cell lines ที่มียีน p53 ที่ผิดปกติ เพื่อช่วยให้เกิด cell cycle arrest หรือ apoptosis[44-46] จากการศึกษาประสบความสำเร็จในการทดลองใน tumor tissues[47] ใน nude mice ซึ่งเป็นโรคมะเร็งเต้านมที่มีการผ่าเหล่าของยีน p53[48] การทำ transfer ยีนที่ควบคุมการสร้างโปรตีน $p21^{WAF-1/CIP-1}$ เข้าไปใน carcinoma cell lines ก็พบว่าช่วยทำให้เกิด cell cycle arrest หรือ apoptosis ได้เช่นกัน[49]

สรุป

วัฏจักรของเซลล์เป็นความรู้พื้นฐานที่เกี่ยวข้องการดำรงอยู่ของสิ่งมีชีวิต ขณะเดียวกันความผิดปกติของวัฏจักรของเซลล์สามารถนำไปสู่การเกิดเป็นโรคมะเร็ง ปัจจุบันความรู้พื้นฐานทางด้านวัฏจักรของเซลล์เป็นเรื่องที่ได้รับความสนใจมากที่สุดในงานการศึกษาเกี่ยวกับการเกิดเป็นโรคมะเร็ง ยังมีความรู้พื้นฐานอีกมาที่ยังรอการค้นพบศึกษาอยู่ เช่น G2/M checkpoint เป็นต้น การศึกษาเกี่ยวกับวัฏจักรของเซลล์ไม่ใช่เป็นเพียงเพื่อต้องรู้ถึงความรู้พื้นฐานทางด้านวัฏจักรของเซลล์เท่านั้น หากแต่ความรู้นี้สามารถนำมาประยุกต์เพื่อหาวิธีการบำบัดรักษาโรคมะเร็งซึ่งเป็นความหวังที่ผู้ป่วยโรคมะเร็งรอคอย

อ้างอิง

1. นวพรรณ จารุรักษ์. The role of cell-cycle and apoptosis in tumorigenesis. ใน: นเรศวร สุขเจริญ, อภิวัฒน์ มุทิรางกูร, ยง ภู่วรวรรณ, บรรณาธิการ. อณูชีววิทยาทางการแพทย์. กรุงเทพ ฯ : เท็กซ์ แอนด์ เจอร์นัล พับลิเคชั่น, 2541: 447-62
2. Kastan MB. Molecular biology of cancer : the cell cycle. In: DeVita VT Jr, Hellman S, Rosenberg SA, eds. Cancer: Priciples & Practice of Oncology. Vol I. 5th ed. Philadelphia: Lippincott-Roven Publishers, 1997: 121-34
3. Pardee AB. G1 events and regulation of cell proliferation. Science 1989 Nov 3; 246(4930): 603-8
4. Pines J. Cyclins and cyclin-dependent kinases : take your partners. Trends Biochem Sci 1993 Jan; 18 (6): 195-7
5. Sherr CJ. Mammalian G1 cyclins. Cell 1993 Jun; 73(6): 1059-65
6. Dowdy SF, Hinds PW, Louie K, Reed SI, Arnold A. Weinberg RA. Physical interactions of the retinoblastoma protein with human D cyclins. Cell 1993 May; 73(3): 499-511
7. Iwashita J, Hayano Y, Sagata N. Essential role of germinal vesicle material in the meiotic cell cycle of Xenopus oocytes. Proc Natl Acad Sci USA 1998 Apr 14; 95(8): 4392-7
8. Hunt T. The cell cycle. In: Kendrew J, Lowrence E, eds. The Encyclopedia of Molecular Biology. Oxford: Blackwell Science, 1994: 161-6
9. Jessus C, Ozon R. Function and regulation of cdc25 protein phosphate through mitosis and meiosis. Prog Cell Cycle Res 1995; 1: 215-28
10. McGowan CH, Russel P. Human wee1 kinase inhibits cell division by phosphorylating p34 cdc2 exclusively on Tyr 15. EMBO J 1993 Jan; 12(1): 75-85
11. Wheatley SP, Hinchcliffe EH, Glotzer M, Hyman AA, Sluder G, Wang YI. CDK1 inactivation regulates anaphase spindle dynamics and cytokinesis in vivo. J Cell Biol 1997 Jul 28; 138 (2): 385-93
12. Murray AW. Creative blocks : cell-cycle check-points

and feedback controls. Nature 1992 Oct; 359 (6396): 599-604

13. Piccinin S, Doglioni C, Maestro R, Vukosavljevic T. p16/CDKN2 and CDK4 gene mutations in sporadic melanoma development and progression. Int J Cancer 1997 Feb 20; 74(1): 26-30

14. Charuruks N. p53 : Its implication on clinical oncology. Chula Med J 1995 Nov; 39(11): 779-89

15. Charuruks N, Voravud N. Molecular biology of head and neck tumorigenesis: the role of p53 expression and genetic instability. J Med Assoc Thai 1996 Dec: 79(Suppl 1): 53-10

16. Sherr CJ, Roberts JM. Inhibitors of mammalian G1 cyclin-dependent kinase. Genes Dev 1995 May 15; 9(10): 1149-63

17. Chen X, Farmer G, Zhu H, Prywes R, Priver C. Cooperative DNA binding of p53 with TFIID (TBP): a possibl e mechanism for transcriptional activation. Genes Dev 1993 Oct; 7(12B): 1837-49

18. Miyashita T, Krajewski S, Krajewski M, Wang HG, Lin HK, Liebermann DA, Hoffman B, Reed JC. Tumor suppressor p53 is a regulatory of bcl-2 and bax gene expression *in vitro* and *in vivo*. Oncogene 1994 Jun; 9(6): 1799-805

19. Wu X, Bayle JH, Olson D, Levince AJ. The p53 mdm-2 autoregulatory feedback loop. Genes Dev 1993 Jul 1993; 7(7A): 1126-32

20. Liggett WH Jr, Sidransky D. Role of the p16 tumor suppressor gene in cancer. J Clin Oncol 1998 Mar; 16(3): 1197-206

21. Nasmyth K. Viewpoint: putting the cell cycle in order. Science 1996 Dec 6; 274(5293):1643-5

22. Sherr CJ. Cancer cell cycles. Science 1996 Dec 6; 274 (5293): 1672-7

23. Stillman B. Cell cycle control of DNA replication. Science 1996 Dec 6; 274(5293): 1659-64

24. Yamasaki L, Jacks T, Bronson R, Goillot E, Harlow E, Dyson NJ. Tumor induction and tissue atrophy in mice lacking E2F-1. Cell 1996 May 17; 85(4) : 537-48

25. Wang J, Chenivesse X, Henglein B, Brechot C. Hepatitis B virus integration in cyclin A gene in a hepatocellular Carcinoma. Nature 1990 Feb 8; 343(6258): 555-7

26. Fantl V, Smith R, Brookes S, Dickson C, Peters G. Chromosome 11q13 abnormalities in human breast cancer. Cancer Surv 1993;18: 77-94

27. Buckley MF, Sweeney KJ, Hamilton JA, Sini RL, Manning DL, Nicholson RI, deFazio A, Watts CK, Musgrove EA, Sutherland RL. Expression and amplification of cyclin genesis human breast cancer. Oncogene 1993 Aug; 8(8): 2127-33

28. Bartkova J, Lukas J, Muller H, Lutzhoft D, Strauss M, Bartek J. Cyclin D1 protein expression and function in human breast cancer. Int J Cancer 1994 May 1; 57(3): 353-61

29. Inomata M, Uchino S, Tanimura H, Shiraishi N, Adachi Y, Kitano S. Amplification and overexpression of cyclin D1 in aggressive human esophageal cancer. Oncol Reports 1998 Jan-Feb; 5(1): 171-6

30. Glaise D, Iiyin GP, Loyer P, Cariou S, Bilodeau M, Lucas J, Puisieux A, Ozturk M, Guguen-Guillouzo C. Cell cycle gene regulation reversibly differentiated new human hepatoma cell lines. Cell Growth Differ 1998 Feb; 9(2): 165-76

31. Perry JE, Grossmann ME, Tindall DJ. Epidermal growth factor induces cyclin D1 in a human prostate cancer cell line. Prostate 1998 May;

35 (2): 117-24

32. Wang A, Yoshimi N, Suzui M, Yamauchi A, Tarao M, Mori H. Different expression patterns of cyclins A, D1 and E in human colorectal cancer. J Cancer Res Clin Oncol 1996;122 (2): 122-6

33. Keyomarsi K, Herliczek TW. The role of cyclin E in cell proliferation, development and cancer. Prog Cell Cycle Res 1997; 3: 171-91

34. Furihata M, Ohtsuki Y, Sonobe H, Shuin T, Yamamoto A, Terao N, Kuwahara M. Prognostic significance of cyclin E and p53 protein overexpression in carcinoma of the renal pelvis and ureter. Br J Cancer 1998 Mar; 77(5): 783-8

35. Kitahara K, Yasui W, Kuniyasu H, Yokozaki H, Akama Y, Yunotani S, Hisatsugu T, Tahara E. Concurrent amplification of cyclin E and CDK2 genes in colorectal carcinomas. Int J Cancer 1995 Jul 4; 62 (1): 25 - 8

36. Serrano M, Hannon GJ, Beach D. A new regulatory motif in cell-cycle control causing specific inhibition of cyclinD/CDK4. Nature 1993 Dec 16; 366(6456): 704-7

37. Weinberg RA. The retinoblastoma protein and cell cycle control. Cell 1995 May 5; 81(3):323-30

38. Xiong Y, Hannon GJ, Zhang H, Casso D, Kobayashi R, Beach D. p21 Is a universal inhibitor of cyclin kinases. Nature 1993 Dec 16; 366(6456): 701-4

39. el-Deiry WS, Tokino T, Velculesu VE, Levy DB, Parsons R, Trent JM, Lin D, Mercer WE, Kinzler KW, Vogelstein B. WAF1, a potential mediator of p53 tumor suppression. Cell 1993 Nov 19;75(4): 817-25

40. Macleod KF, Sherry N, Hannon G, Beach D, Tokino T, Kinzler K, Vogelstein B, Jacks T. p53-dependent and independent expression of p21 during cell growth, differentiation, and DNA damage. Genes Dev 1995 Apr 15; 9(8): 935-44

41. Coukos G, Rubin SC. Chemotherapy resistance in ovarian cancer: new molecular perspectives. Obstet Gynecol 1998 May; 91(5 pt 1): 783-92

42. Bellon SF, Coleman JH, Lippard SJ. DNA unwinding produced by site-specific intrastrand cross-links of the antitumor drug cis-diammine-dichloroplatinum (II). Biochemistry 1991 Aug 13; 30(32): 8026-35

43. Chu G. Cellular responses to cisplatin : the roles of DNA-binding proteins and DNA repair. J Biol Chem 1994 Jan 14; 269(2): 787-90

44. Yang C, Cirielli C, Capogrossi MC, Passaniti A. Adenovirus-mediated wild-type p53 expression induces apoptosis and suppresses tumorgenesis of prostatic tumor cells. Cancer Res 1995 Oct 1; 55(19): 4210-3

45. Liu T-J, el-Naggar AK, McDonnell TJ, Steck KD, Wang M, Taylor DL, Clayman GL. Apoptosis inducion mediated by wild-type p53 adenoviral gene transfer in squamous cell carcinoma of head and neck. Cancer Res 1995 Jul 15; 55 (14): 3117-22

46. Harris MP, Sutjipto S, Wills KN, Hancock W, Cornell D, Johnson DE, Gregory RJ, Shepard HM, Maneval DC. Adenovirus-mediated p53 gene transfer inhibits growth of human tumor cells expressing mutant p53 protein. Cancer Gene Ther 1996 Mar-Apr; 3(2): 121-30

47. Mujoo K, Maneval DC, Anderson SC, Gutterman JU. Adenoviral-mediated p53 tumor suppressor

gene therapy of human ovarian carcinoma. Oncogene 1996 Apr 18; 12(8): 1617-23

48. Lesoon-Wood LA, Kim WH, Kleinman HK, Weintraub BD, Mixson AJ. Systemic gene therapy with p53 reduces growth and metastases of malignant human breast cancer in nude mice. Hum Gene Ther 1995 Apr; 6(4): 395-405

49. Eastham JA, Hall SJ, Sehgal I, Wang J, Timme TL, Yang G, Connell-Crowley L, Elledge SJ, Zhang WW, Harper JW, et al. In vivo gene therapy with p53 or p21 adenovirus for prostate cancer. Cancer Res 1995 Nov 15; 55(22): 5151-5