เอนไซม์ต้านออกซิเดชันมุ่งเป้าเพื่อเสริมฤทธิ์เคมีบำบัด

Targeting the Antioxidant Enzymes to Enhance the Efficacy of Chemotherapy

เตือนใจ ขุนรักษ์ และ เอื้อมเดือน ประวาฬ*

Tueanjai Khunluck and Auemduan Prawan*

ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ และ ศูนย์วิจัยพยาธิใบไม้ตับและมะเร็งท่อน้ำดี มหาวิทยาลัยขอนแก่น

Department of Pharmacology, Faculty of Medicine and Liver Fluke and Cholangiocarcinoma Research Center, Khon Kaen University

Received : 19 April 2016

Accepted : 11 July 2016

Published online : 11 August 2016

บทคัดย่อ

ปัญหาหลักที่ทำให้การรักษาโรคมะเร็งล้มเหลวคือปัญหาการดื้อต่อการรักษา โดยเซลล์มะเร็งมีหลากหลายวิธีในการปรับตัวเพื่อการอยู่รอดและหลบเลี่ยงกลไกของร่างกายหรือเพื่อทนต่อฤทธิ์ฆ่าเซลล์ของยาเคมีบำบัด หนึ่งในกลไกการปรับตัวที่สำคัญคือการเพิ่มระดับเอนไซม์ต้านออกซิเดชันภายในเซลล์มะเร็ง เช่น เอนไซม์ NAD(P)H:quinone oxidase 1 (NQO1) เอนไซม์ heme oxygenase-1 (HO-1) และเอนไซม์ γ-glutamylcysteine ligase (γ-GCL) การปรับตัวในลักษณะนี้ ช่วยให้เซลล์มะเร็งสามารถอยู่รอดได้ในสภาวะเครียดออกซิเดชันที่สูงกว่าเซลล์ปกติแล้ว ยังช่วยปกป้องเซลล์มะเร็งจากภาวะต่างๆ ที่เป็นอันตรายต่อเซลล์ รวมทั้งพิษของยาเคมีบำบัดด้วย มีการศึกษาพบว่าการยับยั้งเอนไซม์เหล่านี้ร่วมกับการให้ยาเคมีบำบัดช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของยาเคมีบำบัดให้ดียิ่งขึ้น ดังนั้น การปรับลดเอนไซม์ต้านออกซิเดชันภายในเซลล์มะเร็งร่วมกับการให้ยาเคมีบำบัด อาจเป็นกลยุทธ์ใหม่ในการเอาชนะปัญหาเซลล์มะเร็งดื้อยาเคมีบำบัดได้

คำสำคัญ: เอนไซม์ต้านออกซิเดชัน ยาเคมีบำบัด มะเร็ง

Abstract

The major obstacle for failure of cancer treatment is the therapy resistance. As cancer cells have several mechanisms of cellular adaptation to survive and evade the body mechanism and counteract the cytotoxic attack of chemotherapy. One of the remarkable adaptation mechanisms is an augmentation in antioxidant enzyme levels within the cancer cells including NAD(P)H:quinone oxidase 1 (NQO1), heme oxygenase-1 (HO-1) and γ-glutamylcysteine ligase (γ-GCL). This adaptation renders the cancer cells not only to survive in oxidative stress condition that higher than in normal cells but also protects cancer cells from various insults condition as well as chemotherapeutic agents. Inhibition of these enzymes together with chemotherapeutic agents has been found to improve the efficacy of chemotherapeutic agents. Thus, the suppression of antioxidant enzymes within the cell in combination with chemotherapeutic treatment might be a new strategy to overcome chemotherapy resistance in cancer.

Keywords: antioxidant enzymes, chemotherapeutic agents, cancer

***Corresponding author. E-mail:** peuamd@kku.ac.th

บทนำ

การรักษาโรคมะเร็งในปัจจุบันมีความรุดหน้าและทันสมัยอย่างมาก แต่ปัญหาเซลล์มะเร็งดื้อยาเคมีบำบัดยังคงเป็นปัญหาหลักที่ส่งผลกระทบต่อการรักษาผู้ป่วยมะเร็ง เซลล์มะเร็งมีการพัฒนากลไกสำคัญหลายประการเพื่อการอยู่รอดและทนต่อฤทธิ์ฆ่าเซลล์ของยาเคมีบำบัด เช่น เพิ่มการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเมแทบอลิซึมยา เพิ่มการกำจัดยาออกจากเซลล์มะเร็ง เพิ่มกระบวนการซ่อมแซมดีเอ็นเอ เกิดการผ่าเหล่าของยีนและโปรตีนเป้าหมายออกฤทธิ์ของยา ปรับสมดุลรีดอกซ์ภายในเซลล์ หรือปรับเปลี่ยนสัญญาณการอยู่รอดและสัญญาณการตายแบบอะพอพโทซิสภายในเซลล์ เป็นต้น ในบทความนี้ จะเน้นความสำคัญกับบทบาทและการทำงานของเอนไซม์ต้านออกซิเดชันในโรคมะเร็ง เนื่องจากมีข้อมูลว่ามะเร็งหลายชนิดพัฒนาระบบปกป้องตนเองโดยปรับสมดุลรีดอกซ์ (redox) ภายในเซลล์และเพิ่มระดับเอนไซม์ต้านออกซิเดชัน (antioxidant enzyme) ภายในเซลล์ เช่น เอนไซม์ NAD(P)H:quinone oxidase 1 (NQO1) เอนไซม์ heme oxygenase-1 (HO-1) และเอนไซม์ γ-glutamylcysteine ligase (γ-GCL) การเพิ่มขึ้นของเอนไซม์เหล่านี้สัมพันธ์กับการพัฒนาและแพร่กระจายของโรคมะเร็ง และช่วยให้เซลล์มะเร็งทนต่อภาวะเครียดออกซิเดชัน และฤทธิ์ฆ่าเซลล์ของยาเคมีบำบัดได้มากขึ้น ด้วยแนวคิดนี้ จึงมีความเป็นไปได้ว่ากลยุทธ์การปรับลดเอนไซม์ต้านออกซิเดชันภายในเซลล์มะเร็งร่วมกับการให้ยาเคมีบำบัด จะช่วยส่งเสริมประสิทธิภาพการรักษาโรคมะเร็งด้วยยาเคมีบำบัดได้

อนุมูลอิสระ ระบบต้านอนุมูลอิสระ และภาวะเครียดออกซิเดชัน

อนุมูลอิสระ (free radicals)

อนุมูลอิสระ หมายถึงสารหรือโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยว (unpaired electron) ที่ชั้นนอกสุด ทำให้มีความไวต่อการทำปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่น อนุมูลอิสระสามารถเกิดได้แม้ในสภาวะการทำงานปกติของร่างกายในกระบวนการที่เกี่ยวข้องกับการใช้ออกซิเจน หรืออาจเกิดจากภาวะชราภาพของร่างกาย พยาธิสภาพและโรคต่างๆ นอกจากนี้ สารจากภายนอกร่างกาย (xenobiotics) หรือกระบวนการเมแทบอลิซึมสารจากภายนอกร่างกายผ่านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidative metabolism) ก็สามารถเหนี่ยวนำการสร้างอนุมูลอิสระได้เช่นกัน (Machlin & Bendich, 1987; Ames *et al*., 1993) อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นภายในเซลล์มีบทบาทสำคัญและจำเป็นต่อการทำงานของเซลล์ โดยเป็นโมเลกุลส่งสัญญาณของกระบวนการต่างๆ ภายในเซลล์ เช่น การขนส่งสารและไอออนผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ การควบคุมการเจริญเติบโตของเซลล์ การควบคุมวัฏจักรของเซลล์ และการควบคุมการตายของเซลล์แบบอะพอพโทซิส ในทางตรงกันข้าม หากภายในเซลล์มีปริมาณอนุมูลอิสระมากเกินไป อาจส่งผลเสียต่อการทำงานของเซลล์ได้ เช่น เปลี่ยนแปลงสัญญาณการเจริญเติบโตของเซลล์ไปจากเดิม สูญเสียการควบคุมวัฏจักรของเซลล์ หรืออาจกระตุ้นการตายของเซลล์แบบอะพอพโทซิส เป็นต้น ดังนั้น ผลโดยรวมของอนุมูลอิสระต่อพฤติกรรมของเซลล์จะขึ้นกับระดับของอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น

ระบบต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant system)

กลไกสำคัญในการควบคุมปริมาณอนุมูลอิสระในร่างกายคือการทำงานของระบบต้านอนุมูลอิสระ เพื่อควบคุมให้เซลล์มีอนุมูลอิสระในระดับต่ำ ลดความเป็นพิษของอนุมูลอิสระและป้องกันการเกิด “ภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress)” สารต้านอนุมูลอิสระที่พบในร่างกาย แบ่งออกเป็นสองกลุ่ม คือ กลุ่มเอนไซม์ต้านออกซิเดชัน (เช่น superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) และ glutathione peroxidase (GPx) เป็นต้น) และกลุ่มสารต้านอนุมูลอิสระที่ไม่จัดเป็นเอนไซม์ (อาจได้รับจากอาหารหรือร่างกายสร้างขึ้น เช่น วิตามินซี วิตามินอี วิตามินเอ โคเอนไซม์ Q (coenzyme Q) กลูตา

ไทโอน (glutathione, GSH) และบิลิรูบิน (bilirubin) เป็นต้น) สารต้านอนุมูลอิสระจะทำงานประสานกันอย่างเป็นระบบ จึงนิยมเรียกว่า ระบบต้านอนุมูลอิสระ มีหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระและมีบทบาทสำคัญในการควบคุมสมดุลรีดอกซ์ (redox balance) ภายในเซลล์ อาจแบ่งการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระได้สองลักษณะ คือ 1) ออกฤทธิ์โดยตรงต่ออนุมูลอิสระด้วยการให้ไฮโดรเจนหรืออิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ ทำให้อนุมูลอิสระมีอิเล็กตรอนที่ชั้นนอกสุดเป็นคู่ โมเลกุลเกิดความเสถียรและสูญเสียความไวในการเข้าทำปฏิกิริยาเคมี และ 2) ออกฤทธิ์โดยอ้อมโดยทำให้เซลล์ลดการสร้างอนุมูลอิสระหรือเพิ่มการทำงานของเอนไซม์ต้านออกซิเดชัน (Ames *et al*., 1993)

ภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress)

ภาวะเครียดออกซิเดชัน คือภาวะเสียสมดุลระหว่างอนุมูลอิสระและระบบต้านอนุมูลอิสระ อาจเนื่องจากมีปริมาณอนุมูลอิสระที่มากเกิน และ/หรือมีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระหรือเมแทบอลิซึมของอนุมูลอิสระที่ลดลง หรือระดับสารต้านอนุมูลอิสระลดลง ส่งผลให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของอนุมูลอิสระกับสารชีวโมเลกุลภายในเซลล์ การเกิดภาวะเครียดออกซิเดชันอย่างต่อเนื่องส่งผลกระทบที่ไม่พึงประสงค์ต่อสมดุลทางชีวเคมีและการทำงานของเซลล์ หากร่างกายแก้ไขภาวะเครียดออกซิเดชันที่เกิดขึ้นไม่ได้ จะเกิดพยาธิสภาพหรือโรคต่างๆ เช่น ภาวะชราภาพ โรคที่เกี่ยวข้องกับความเสื่อม (degenerative diseases) โรคระบบหัวใจและหลอดเลือด (cardiovascular diseases) โรคเบาหวาน (diabetes) โรคระบบประสาท (neurological diseases) โรคระบบภูมิคุ้มกัน (immune dysfunction) โรคต้อกระจก (cataract) โรคจอประสาทตาเสื่อม (age-related macular degeneration) และโรคมะเร็ง (cancers) เป็นต้น (Willcox *et al*., 2004) ในบางสภาวะที่มีการทำลายเนื้อเยื่อในร่างกายจากสาเหตุต่างๆ เช่น การติดเชื้อ การบาดเจ็บ หรือการได้รับสารพิษ (toxins) ก็พบว่ามีการสร้างและสะสมอนุมูลอิสระในร่างกายมากขึ้น โดยปริมาณอนุมูลอิสระที่เพิ่มขึ้นสัมพันธ์กับความรุนแรงของพยาธิสภาพที่เกิดขึ้นด้วย กล่าวได้ว่า ภาวะเครียดออกซิเดชันเป็นได้ทั้งปัจจัยเบื้องต้นของการเกิดพยาธิสภาพหรือโรค และปัจจัยที่สัมพันธ์กับความรุนแรงของพยาธิสภาพหรือโรค

ภาวะเครียดออกซิเดชันและกระบวนการเกิดมะเร็ง (oxidative stress and carcinogenesis)

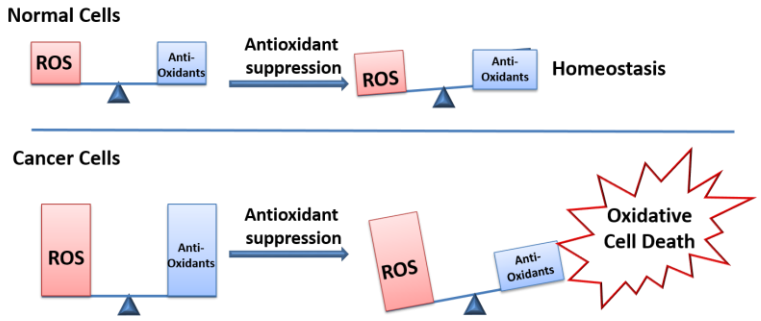
การเกิดมะเร็งเป็นกระบวนการเปลี่ยนเซลล์ร่างกายปกติให้กลายเป็นเซลล์มะเร็ง ประกอบด้วยสามขั้นตอนหลัก คือ ระยะเริ่มต้น (initiation) ระยะส่งเสริม (promotion) และระยะก้าวหน้า (progression) (Oliveira *et al*., 2007) ในขั้นตอน initiation จะเกิดความเสียหายของสารพันธุกรรมหรือดีเอ็นเอ (DNA damage) จากสารก่อมะเร็ง (carcinogen) เช่น สารเคมีบางชนิด รังสี หรือไวรัส ร่วมกับความผิดปกติของกระบวนการซ่อมแซมดีเอ็นเอ (DNA repair) ทำให้เกิดเซลล์ผิดปกติที่เรียกว่า initiated cells ซึ่งหากมีความผิดปกติอย่างถาวรในกลุ่มยีนก่อมะเร็ง (oncogene) หรือยีนต้านมะเร็ง (tumor suppressor gene) หรือยีนสำคัญบางกลุ่มจะส่งผลให้ initiated cells มีความผิดปกติในการควบคุมการเจริญเติบโตและแบ่งเซลล์ในขั้นตอน promotion เมื่อ initiated cells ได้รับการกระตุ้นด้วยสารส่งเสริมมะเร็ง (tumor promoter) ทำให้เซลล์มีการเจริญและแบ่งตัวเพิ่มจำนวนมากขึ้น และมียีนหรือโครโมโซมผิดปกติสะสมในเซลล์มากขึ้นด้วย รวมทั้งเซลล์มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างจากเซลล์ธรรมดากลายเป็นเซลล์ระยะก่อนมะเร็ง (preneoplastic cells) ในขั้นตอน progression เมื่อเกิดเป็นเซลล์มะเร็งแล้ว เซลล์สามารถบุกรุกเข้าไปในเนื้อเยื่อบริเวณใกล้เคียงและแพร่กระจายไปยังอวัยวะอื่นๆ ของร่างกายได้

อนุมูลอิสระและภาวะเครียดออกซิเดชันเกี่ยวข้องกับกระบวนการเกิดมะเร็งในทุกขั้นตอน เช่น ทำให้เกิดความเสียหายของดีเอ็นเอ ทำให้โปรตีนทรานสคริปชันแฟคเตอร์ (transcription factors) บางชนิดทำงานผิดปกติ หรือทำให้ยีน

สำคัญบางชนิดมีการแสดงออกที่ผิดปกติ เป็นต้น การศึกษาของ Zimmerman และ Cerutti ในปี 1984 ได้แสดงบทบาทอนุมูลอิสระและภาวะเครียดออกซิเดชันในกระบวนการเกิดมะเร็ง โดยพบว่าเซลล์สร้างเส้นใย (fibroblast) ของหนูที่รับสัมผัสสารก่อมะเร็ง ^{137}Cs gamma-rays หรือ benzo[a]pyrene diol epoxide และได้รับสัมผัส xanthine-xanthine oxidase (มีคุณสมบัติในการสร้างอนุมูลอิสระ superoxide anion) จะพัฒนาเป็น transformed foci/cells มากกว่าการรับสัมผัสสารก่อมะเร็งอย่างเดียว งานวิจัยนี้ได้สรุปว่าอนุมูลอิสระ superoxide anion มีคุณสมบัติเป็นสารก่อมะเร็งที่สมบูรณ์อย่างอ่อน (weak complete carcinogen) และยังมีฤทธิ์เป็นสารส่งเสริมมะเร็ง (tumor promoter) ด้วย (Zimmerman & Cerutti, 1984)

ภาวะเครียดออกซิเดชัน การอยู่รอดและการตายของเซลล์มะเร็ง และการดื้อยาเคมีบำบัด

ผลของอนุมูลอิสระหรือภาวะเครียดออกซิเดชันต่อการอยู่รอด และการตายของเซลล์ขึ้นกับระดับอนุมูลอิสระและระยะเวลาที่เกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน ในภาพรวม การมีอนุมูลอิสระปริมาณมากจะเป็นสาเหตุให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชันรุนแรงและกระตุ้นกระบวนการตายของเซลล์ได้ แต่มีข้อแตกต่างของระดับอนุมูลอิสระภายในเซลล์ระหว่างเซลล์ปกติและเซลล์มะเร็ง โดยเซลล์ปกติมักอยู่ในสมดุลรีดอกซ์ที่มีอนุมูลอิสระในระดับที่ค่อนข้างต่ำ เพราะเซลล์มีสมดุลของการสร้างและการกำจัดอนุมูลอิสระภายในเซลล์ รวมทั้งเซลล์มีความสามารถในการปรับตัวต่อภาวะเครียดออกซิเดชันได้ สำหรับเซลล์มะเร็งซึ่งส่วนใหญ่มีกระบวนการเมแทบอลิซึมเพิ่มมากขึ้น มีการสร้างและการทำงานที่ผิดปกติของโปรตีนภายในเซลล์ เซลล์จะมีระดับอนุมูลอิสระที่มากขึ้นกว่าเซลล์ปกติ ทำให้เซลล์มะเร็งต้องพัฒนาปรับตัวต่อภาวะเครียดออกซิเดชันที่สูงขึ้นนี้ด้วยการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระ/เอนไซม์ต้านออกซิเดชันเพิ่มมากขึ้น เพื่อลดระดับอนุมูลอิสระให้กลับมาอยู่ในระดับที่ไม่ทำให้เกิดการตายของเซลล์ ดังนั้น เซลล์มะเร็งส่วนใหญ่จะมีการเปลี่ยนหรือย้ายตำแหน่งของสมดุลรีดอกซ์ให้สูงขึ้นเมื่อเทียบกับเซลล์ปกติ (ภาพที่ 1) กล่าวได้ว่าเซลล์มะเร็งต้องรักษาสมดุลนี้ให้ได้เพื่อการมีชีวิตรอดหรือคงอยู่ของเซลล์ เซลล์จึงต้องพึ่งพาระบบต้านอนุมูลอิสระมากขึ้น (Trachootham *et al*., 2009) หรืออีกนัยหนึ่ง เซลล์มะเร็งมีความไวต่อภาวะเครียดออกซิเดชันจากอนุมูลอิสระจากภายนอกร่างกาย (free radical-generating agents) หรือไวต่อสารยับยั้งระบบต้านอนุมูลอิสระมากขึ้น เนื่องจากสารเหล่านี้สามารถชักนำให้เซลล์เสียสมดุลรีดอกซ์มากขึ้น เกิดภาวะเครียดออกซิเดชันรุนแรงยิ่งขึ้นจนนำไปสู่กระบวนการตายของเซลล์ได้ ด้วยแนวคิดนี้ การให้ยาเคมีบำบัดเพื่อชักนำอนุมูลอิสระภายในเซลล์มะเร็ง ร่วมกับการยับยั้งระบบต้านอนุมูลอิสระ โดยขัดขวางการแสดงออกหรือลดการทำงานของเอนไซม์ต้านออกซิเดชัน จะช่วยส่งเสริมการตายของเซลล์มะเร็งจากภาวะเครียดออกซิเดชันและสามารถเพิ่มความไวหรือเสริมประสิทธิภาพของยาเคมีบำบัดได้



ภาพที่ 1 ภาวะเครียดออกซิเดชันกับการอยู่รอดและการตายของเซลล์ปกติและเซลล์มะเร็ง

เมื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงสมดุลรีดอกซ์ เซลล์ที่ปรับตัวรักษาสมดุลไว้ได้จะสามารถรอดชีพ หากเซลล์เสียสมดุลรีดอกซ์รุนแรงหรือมีภาวะเครียดออกซิเดชันต่อเนื่อง จะส่งผลให้เซลล์นั้นเข้าสู่วิถีการตาย การยับยั้งระบบต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant suppression) ในเซลล์ปกติซึ่งมีระดับอนุมูลอิสระต่ำ จะมีการเสียสมดุลรีดอกซ์ที่ไม่รุนแรง แตกต่างจากเซลล์มะเร็งซึ่งมีปริมาณอนุมูลอิสระในเซลล์มาก เซลล์พึ่งพาระบบต้านอนุมูลอิสระเพื่อการรอดชีพมากกว่าเซลล์ปกติ เมื่อระบบต้านอนุมูลอิสระของเซลล์มะเร็งถูกยับยั้ง จึงมักก่อให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชันรุนแรงและทำให้เซลล์มะเร็งตาย (ดัดแปลงจาก Sullivan & Chandel, 2014)

ยาเคมีบำบัดซึ่งใช้รักษามะเร็งมีกลไกหลายประการในการออกฤทธิ์ฆ่าเซลล์หรือขัดขวางการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง ในภาพรวม กลไกการออกฤทธิ์ที่สำคัญอย่างหนึ่งของยาเคมีบำบัดหลายชนิด คือการสร้างอนุมูลอิสระภายในเซลล์มะเร็ง เพื่อให้เซลล์เกิดภาวะเครียดออกซิเดชันอย่างรุนแรงและนำไปสู่การตายของเซลล์ในที่สุด ดังนั้น หากเซลล์มะเร็งมีการพัฒนาหรือปรับตัวเพิ่มกลไกปกป้องตนเองเพื่อรักษาสมดุลรีดอกซ์ภายในเซลล์ เพิ่มสารต้านอนุมูลอิสระและเอนไซม์ต้านออกซิเดชันภายในเซลล์ จะทำให้เซลล์มะเร็งทนต่อภาวะเครียดออกซิเดชันจากยาเคมีบำบัดได้ดีขึ้น เซลล์มะเร็งที่มีลักษณะเช่นนี้จะลดการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดลงและพัฒนาเป็นเซลล์มะเร็งดื้อยา นอกจากนี้ เซลล์มะเร็งอาจเพิ่มวิถีตอบสนองต่างๆ ที่ควบคุมโดยสมดุลรีดอกซ์ (redox-sensitive signaling pathways) เช่น วิถี NF-**κ**B วิถี AP-1 และวิถี p53 ส่งผลให้เซลล์ปรับเปลี่ยนสัญญาณภายในเซลล์ เช่น เพิ่มกระบวนการซ่อมแซมดีเอ็นเอ เพิ่มสัญญาณการอยู่รอดภายในเซลล์ (survival signal) หรือลดการตอบสนองต่อสัญญาณอะพอพโทซิส เป็นต้น (Reuter *et al*., 2010)

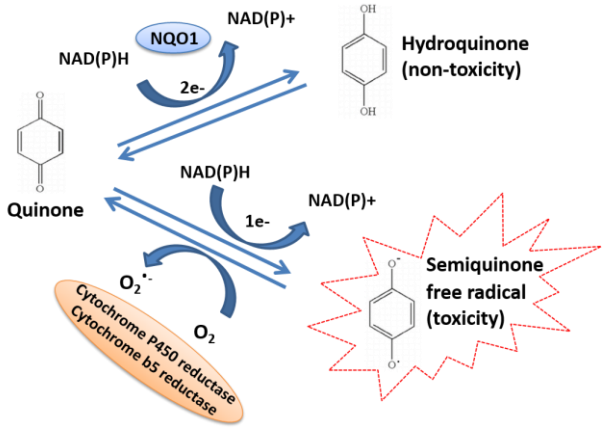
การมุ่งเป้าที่ระบบเอนไซม์ต้านออกซิเดชันเพื่อเสริมประสิทธิภาพของยาเคมีบำบัด

ด้วยแนวคิดว่าเซลล์มะเร็งมีการปรับสมดุลรีดอกซ์และเพิ่มการทำงานของระบบต้านอนุมูลอิสระมากขึ้น ทำให้เซลล์มะเร็งทนต่อภาวะเครียดออกซิเดชันรุนแรงและทนต่อฤทธิ์ฆ่าเซลล์ของยาเคมีบำบัดได้มากขึ้น ดังนั้น จึงมีผู้สนใจศึกษาผลการปรับเปลี่ยนระบบต้านอนุมูลอิสระในเซลล์มะเร็งเพื่อเพิ่มการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัด โดยคาดหมายว่าการปรับลดระบบต้านอนุมูลอิสระในเซลล์มะเร็ง จะส่งผลกระตุ้นกระบวนการตายจากภาวะเครียดออกซิเดชันรุนแรงและช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของยาเคมีบำบัด ในบทความนี้ จะให้ความสำคัญของการปรับเปลี่ยนระบบต้านอนุมูลอิสระโดยการควบคุมเอนไซม์ต้านออกซิเดชัน ได้แก่ เอนไซม์ NQO1, HO-1 และ **γ**-GCL เนื่องจากเป็นเอนไซม์หลักที่สำคัญในการตอบสนองต่อภาวะเครียดออกซิเดชันของเซลล์

เอนไซม์ NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1

NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1 (NQO1, EC 1.6.99.2) เป็นเอนไซม์ที่ใช้สำหรับการเปลี่ยนแปลงสารจากภายนอกร่างกายและสามารถต้านออกซิเดชัน (xenobiotic detoxifying/antioxidant enzyme) ได้ ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยารีดักชันที่ใช้อิเล็กตรอนสองตัว โดยมี NADPH หรือ NADH เป็นตัวให้อิเล็กตรอน ปฏิกิริยานี้จะเปลี่ยนสารก่อมะเร็งกลุ่ม quinone ให้กลายเป็น hydroquinone (เมแทบอไลต์ที่ไม่มีพิษและมีความคงตัวสูง) ดังนั้น NQO1 จึงช่วยกำจัดสารจากภายนอกร่างกายและป้องกันการเกิดพิษของสารก่อมะเร็งกลุ่ม quinone (ในทางอ้อม NQO1 ช่วยลดการสร้าง semiquinone intermediates ที่เป็นพิษจากปฏิกิริยา one electron reduction) (ภาพที่ 2) นอกจากนี้ NQO1 ยังมีบทบาทในการลดภาวะเครียดออกซิเดชันโดยช่วยทำลายอนุมูลอิสระ superoxide anion และช่วยรักษาระดับสารต้านอนุมูลอิสระภายในร่างกาย

(endogenous antioxidants) (ได้แก่ โคเอนไซม์ Q และวิตามินอี) รวมทั้งมีบทบาทในการควบคุมวัฏจักรเซลล์และการตายของเซลล์ โดยเกี่ยวข้องกับการทำงานและความเสถียรของโปรตีน tumor suppressor p53 (Liu *et al*., 2015) กล่าวได้ว่าเอนไซม์ NQO1 เป็น xenobiotic detoxifying/antioxidant enzyme ที่จำเป็นในการป้องกันตนเองของเซลล์



ภาพที่ 2 ปฏิกิริยาเคมีของ NQO1 ในการเมแทบอลิซึม 1,4-benzoquinone (ดัดแปลงจาก Piper & Millson, 2011)

NQO1 ในโรคมะเร็ง และการปรับเปลี่ยน NQO1 เพื่อการรักษาโรคมะเร็ง

ด้วยหน้าที่ของ NQO1 เป็น xenobiotic detoxifying/antioxidant enzyme ที่จำเป็นในการป้องกันตนเองของเซลล์ ดังนั้น การขาดหรือมีการทำงานที่ลดลงของ NQO1 จึงพบว่าสัมพันธ์กับการเกิดโรคต่างๆ ในทางตรงกันข้าม การเหนี่ยวนำ NQO1 อาจเกิดประโยชน์ในการป้องกันหรือลดอุบัติการณ์การเกิดโรคที่สัมพันธ์กับภาวะเครียดออกซิเดชัน รวมทั้งมะเร็งได้ อย่างไรก็ตาม งานวิจัยในระยะหลังพบว่าเนื้อเยื่อมะเร็งหลายชนิดมีการแสดงออกและการทำงานของ NQO1 มากกว่าเนื้อเยื่อปกติ ตัวอย่างเช่น มะเร็งปอด มะเร็งลำไส้ใหญ่ มะเร็งผิวหนัง มะเร็งกระเพาะปัสสาวะ มะเร็งเต้านม มะเร็งรังไข่ มะเร็งต่อมไทรอยด์ มะเร็งต่อมหมวกไต และมะเร็งเม็ดเลือดขาว เป็นต้น (Begleiter & Fourie, 2004) ทำให้เกิดแนวคิดในการนำเอนไซม์ NQO1 มาเป็นเป้าหมายของการออกฤทธิ์ และการพัฒนายาเคมีบำบัด โดยอาศัยความรู้ว่าสาร quinone บางชนิดถูกเมแทบอไลซ์โดยเอนไซม์ NQO1 กลายเป็น semiquinone free radical ที่ว่องไวและมีพิษต่อเซลล์ (ปฏิกิริยาในลักษณะ bioactivation) ซึ่งกลุ่มยาเคมีบำบัดที่อาศัย NQO1 ในการเกิด bioactivation เพื่อการออกฤทธิ์ ได้แก่ anthracyclines, anthraquinone, indolquinone และ mitomycin C เป็นต้น (Volpato & Phillips, 2007; Oh & Park, 2015)

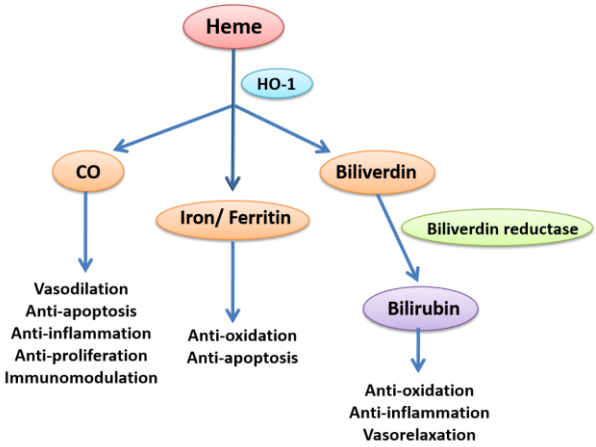
อีกแง่มุมหนึ่ง งานวิจัยในปัจจุบันแสดงให้เห็นว่าการเพิ่มขึ้นของ NQO1 ในเนื้อเยื่อมะเร็งมีความสัมพันธ์กับการพยากรณ์โรคมะเร็งที่ไม่ดี รวมทั้งเกี่ยวข้องกับการดื้อยาเคมีบำบัดของเซลล์มะเร็ง ตัวอย่างเซลล์มะเร็งที่พบการเพิ่มขึ้นของ NQO1 สัมพันธ์กับการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดที่ลดลง ได้แก่ มะเร็งปอด มะเร็งท่อน้ำดี และมะเร็งตับอ่อน เป็นต้น (Siegel *et al*., 1998; Awadallah *et al*., 2008; Buranrat *et al*., 2012) หากพิจารณาบทบาทของ NQO1 ในการเป็น cytoprotective antioxidant enzyme ที่ช่วยปกป้องเซลล์จากอนุมูลอิสระ superoxide anion และช่วยรักษาระดับสารต้านอนุมูลอิสระภายในร่างกาย การเพิ่มขึ้นของ NQO1 จึงมีส่วนช่วยป้องกันเซลล์มะเร็งจากภาวะเครียดออกซิเดชันและพิษของยาเคมีบำบัดได้

ในขณะนี้ NQO1 ได้รับความสนใจในการเป็นโมเลกุลเป้าหมายส่งเสริมการรักษาโรคมะเร็ง โดยเฉพาะมะเร็งดื้อยาเคมีบำบัดที่มีการแสดงออกของ NQO1 มาก โดยมีแนวคิดว่าการปรับลด NQO1 จะเพิ่มภาวะเครียดออกซิเดชันในเซลล์และช่วยเสริมประสิทธิภาพของยาเคมีบำบัดได้ ตารางที่ 1 ได้แสดงตัวอย่างงานวิจัยที่พิสูจน์ว่าการให้สารที่มีฤทธิ์ยับยั้ง NQO1 ร่วมกับยาเคมีบำบัด หรือการยับยั้งยีน NQO1 ด้วยเทคนิค gene silencing (โดยใช้ NQO1 siRNA) ร่วมกับการให้ยาเคมีบำบัด สามารถเพิ่มประสิทธิภาพของยาเคมีบำบัดในเซลล์มะเร็งชนิดต่างๆ ได้

เอนไซม์ Heme oxygenase-1

Heme oxygenase-1 (HO-1, EC 1.14.99.3) เป็นหนึ่งในเอนไซม์ต้านออกซิเดชันที่สำคัญ มีหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการสลายฮีมภายในร่ายกายให้กลายเป็นบิลิเวอร์ดิน (biliverdin) เหล็ก และคาร์บอนมอนอกไซด์ ซึ่งบิลิเวอร์ดินจะถูกเปลี่ยนแปลงไปเป็นบิลิรูบิน โดยเอนไซม์ biliverdin reductase (ภาพที่ 3) การทำงานของ HO-1 ทำให้มีการกำจัดกลุ่มฮีมอิสระซึ่งจัดเป็นสาร pro-oxidant ที่ก่อให้เกิดอนุมูลอิสระ ส่วนผลผลิตอื่นของ HO-1 เช่น บิลิเวอร์ดินและบิลิรูบิน สามารถทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ด้วย นอกจากนี้ HO-1 ยังเป็นเอนไซม์ที่มีฤทธิ์ต้านการอักเสบ เนื่องจากบิลิรูบินและคาร์บอนมอนอกไซด์สามารถลดการหลั่งของสารสื่อกลางการอักเสบ เช่น ไนตริกออกไซด์ interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor-alpha (TNF-α) และลดการทำงานของวิถี NF-κB (Ryter *et al*., 2006) กล่าวได้ว่า HO-1 มีคุณสมบัติช่วยในการปกป้องตนเองของเซลล์ (cytoprotecive properties) และช่วยรักษาสมดุลรีดอกซ์ภายในเซลล์ รวมทั้งป้องกันการบาดเจ็บของเซลล์จากภาวะอักเสบต่างๆ

การแสดงออกของ HO-1 ถูกเหนี่ยวนำให้เพิ่มขึ้นด้วยภาวะเครียดออกซิเดชันภายในเซลล์และสารกระตุ้นภาวะเครียดออกซิเดชันจากภายนอก ตัวกระตุ้นเหล่านี้จะเพิ่มการสร้าง HO-1 ผ่านทางวิถี Keap1/Nrf2/ARE signaling pathway เมื่อเซลล์เพิ่มการแสดงออกของ HO-1 จะส่งผลเพิ่มการป้องกันเซลล์บาดเจ็บจากภาวะเครียดออกซิเดชันได้ (Eyssen-Hernandez *et al*., 1996) ดังนั้น การทำงานของ HO-1 จึงมีความจำเป็นต่อเซลล์อย่างมาก หากเซลล์ขาดหรือพร่อง HO-1 จะทำให้เกิดพยาธิสภาพหรือโรคต่างๆ เช่น การขาด HO-1 สัมพันธ์กับการเจริญเติบโตที่ช้าลง การทำลายเม็ดเลือดแดง ความเสียหายของผนังหลอดเลือด การสะสมของเหล็กที่มากขึ้น และเพิ่มความไวต่อการเกิดบาดเจ็บของเซลล์จากตัวกระตุ้นภาวะเครียดออกซิเดชัน (Yachie *et al*., 1999) นอกจากนี้ มีงานวิจัยที่พบว่า HO-1 สามารถป้องกันเซลล์จากโรคทางเมแทบอลิซึม (metabolic diseases) (เช่น โรคเบาหวาน โรคความดันโลหิตสูง) และโรคของความเสื่อม เป็นต้น (Ndisang & Jadhav, 2009; Ndisang *et al*., 2010)



ภาพที่ 3 ปฏิกิริยาของ HO-1 และหน้าที่ของผลิตภัณฑ์ในเซลล์ (ดัดแปลงจาก Abraham *et al*., 2009)

HO-1 ในโรคมะเร็ง และการปรับเปลี่ยน HO-1 เพื่อการรักษาโรคมะเร็ง

ด้วยหน้าที่ของ HO-1 จำเป็นสำหรับการป้องกันตนเองของเซลล์ ส่งผลให้การขาดหรือการทำงานที่ลดลงของ HO-1 เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคที่สัมพันธ์กับภาวะเครียดออกซิเดชันหรือการอักเสบ ทำให้เกิดแนวคิดว่าการกระตุ้นแสดงออกของยีน HO-1 มีประโยชน์ในการป้องกันหรือลดอุบัติการณ์เกิดโรคต่างๆ รวมทั้งมะเร็ง อย่างไรก็ตาม งานวิจัยในช่วงหลังพบว่ามะเร็งหลายชนิดมีการแสดงออกที่มากผิดปกติของ HO-1 ตัวอย่างเช่น มะเร็งสมอง มะเร็งต่อมลูกหมาก และมะเร็งไต เป็นต้น (Jozkowicz *et al*., 2007) การแสดงออกที่มากขึ้นของ HO-1 มีผลดีต่อการอยู่รอดของเซลล์มะเร็ง มีผลให้โรคมะเร็งมีความรุนแรงเพิ่มขึ้นและนำไปสู่การพยากรณ์โรคที่ไม่ดี (Tsai *et al*., 2012) นอกจากนี้ การเพิ่มขึ้นของ HO-1 ยังสัมพันธ์กับการดื้อยาเคมีบำบัดของเซลล์มะเร็ง ตัวอย่างเซลล์มะเร็งที่พบว่าการเพิ่มขึ้นของ HO-1 สัมพันธ์กับการดื้อยาเคมีบำบัด ได้แก่ มะเร็งกระเพาะปัสสาวะ มะเร็งปอด และมะเร็งตับอ่อน เป็นต้น (Nuhn *et al*., 2009; Kuroda *et al*., 2010; Miyake *et al*., 2010)

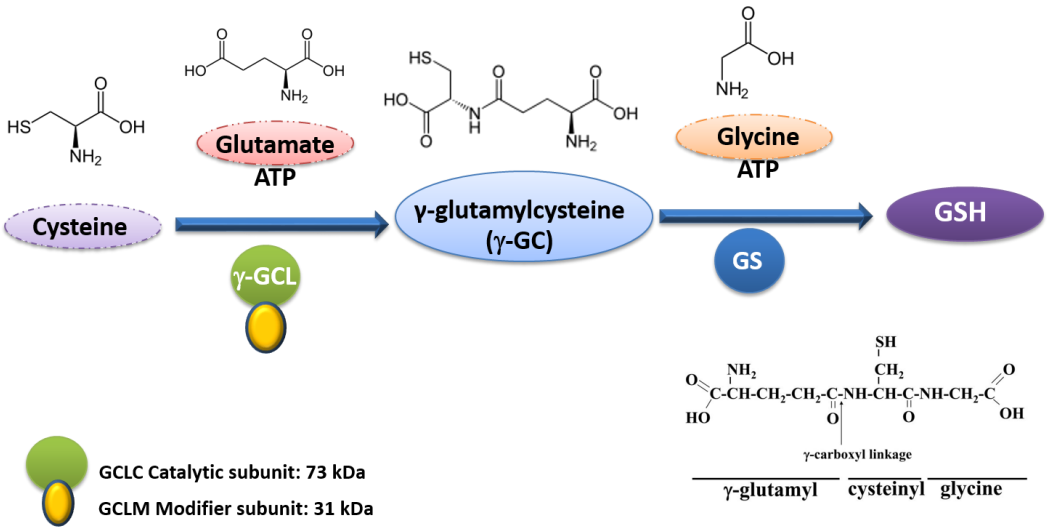
ในอีกด้านหนึ่งพบว่า การแสดงออกของ HO-1 ในเซลล์มะเร็งจะเพิ่มขึ้นในระหว่างการพัฒนาของโรคมะเร็งและในระหว่างการรักษามะเร็งด้วยยาเคมีบำบัด เชื่อว่าการเพิ่มขึ้นของ HO-1 เป็นกลไกสำคัญส่วนหนึ่งของการปรับตัวต่อภาวะเครียดออกซิเดชันของเซลล์มะเร็งเอง และอีกส่วนหนึ่งเป็นการปรับตัวต่อภาวะเครียดออกซิเดชันจากยาเคมีบำบัด ผลเสียของการเพิ่มขึ้นของ HO-1 ที่ทำให้การตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดลดลง/เซลล์ดื้อยาเคมีบำบัดมากขึ้น ทำให้การมุ่งเป้าเพื่อลด HO-1 อาจเป็นกลยุทธ์สำคัญในการจัดการและรักษาโรคมะเร็ง ตัวอย่างงานวิจัยที่พบว่าการให้สารยับยั้ง HO-1 ร่วมกับยาเคมีบำบัด หรือการยับยั้งยีน HO-1 ด้วยเทคนิค gene silencing (โดยใช้ HO-1 siRNA) ร่วมกับการให้ยาเคมีบัด สามารถเพิ่มประสิทธิภาพของยาเคมีบำบัดในเซลล์มะเร็งชนิดต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 1

เอนไซม์ γ-Glutamylcysteine ligase

γ-Glutamylcysteine ligase (γ-GCL, EC 6.3.2.2) หรือ γ-glutamylcysteine synthetase (GCS) เป็นเอนไซม์หลักในการสร้างกลูตาไทโอนซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญของร่างกาย เอนไซม์ γ-GCL ประกอบด้วยพอลิเปปไทด์ 2 หน่วยย่อย ได้แก่ glutamate cysteine ligase catalytic subunit (GCLC) และ glutamate cysteine ligase modifier subunit

(GCLM) ที่ถอดรหัสมาจากยีนบนโครโมโซมที่ต่างกันและทำหน้าที่ต่างกันด้วย โดย GCLC ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาเคมี ส่วน GCLM ทำหน้าที่เพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของ GCLC สำหรับภายในเซลล์หรือเนื้อเยื่อจะมีการแสดงออกของ GCLM น้อยกว่า GCLC ดังนั้น การแสดงออกของ GCLM จึงเป็นตัวจำกัดการสร้างกลูตาไทโอน หรือการทำงานของ γ-GCL กระบวนการสร้างกลูตาไทโอนภายในเซลล์จะผ่านสองปฏิกิริยาหลักที่เกี่ยวข้องกับสองเอนไซม์และใช้พลังงาน ATP (two ATP-dependent sequential reactions) โดยปฏิกิริยาแรกเป็นการเชื่อม (ligation) ระหว่าง L-glutamate และ L-cysteine กลายเป็น γ-glutamylcysteine (γ-GC) โดยเอนไซม์ γ-GCL (ปฏิกิริยานี้เป็นปฏิกิริยากำหนดความเร็วของการสังเคราะห์กลูตาไทโอน) ส่วนปฏิกิริยาที่สองเป็นการเชื่อมระหว่าง glycine และ γ-GC โดยเอนไซม์ glutathione synthetase (GS, EC 6.3.2.3) กลายเป็นกลูตาไทโอนซึ่งทั้งสองขั้นตอนต้องอาศัยพลังงาน ATP (รูปที่ 4) (Franklin *et al*., 2009)

กลูตาไทโอนเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญของร่างกาย การลดลงของกลูตาไทโอนแสดงถึงความสามารถของระบบต้านอนุมูลอิสระในภาพรวมที่ลดลง ดังนั้น การลดลงของ γ-GCL จะทำให้มีการสร้างกลูตาไทโอนลดลงและมีผลให้เซลล์เกิดภาวะเครียดออกซิเดชันได้ง่ายมากขึ้น กล่าวได้ว่า γ-GCL มีบทบาทสำคัญมากในการป้องกันการบาดเจ็บของเซลล์จากภาวะเครียดออกซิเดชัน การลดลงของ γ-GCL มีผลทำให้เกิดโรคที่สัมพันธ์กับภาวะเครียดออกซิเดชันในมนุษย์ เช่น โรคเบาหวาน โรคอัลไซเมอร์ โรคพาร์กินสัน โรคปอดอุดกั้นเรื้อรัง (Chronic obstructive pulmonary disease, COPD) รวมทั้งโรคมะเร็งด้วย (Franklin *et al*., 2009; Lu, 2009)



ภาพที่ 4 การสร้างกลูตาไทโอน (glutathione, GSH) โดยเอนไซม์ γ-GCL และเอนไซม์ glutathione synthetase (GS) (ดัดแปลงจาก Toroser & Sohal, 2007)

γ-GCL ในโรคมะเร็ง และการปรับเปลี่ยน γ-GCL เพื่อการรักษาโรคมะเร็ง

จากบทบาทของ γ-GCL และกลูตาไทโอนในการป้องกันการบาดเจ็บของเซลล์จากภาวะเครียดออกซิเดชัน การเหนี่ยวนำ γ-GCL จึงมีประโยชน์ในการป้องกันหรือลดอุบัติการณ์เกิดโรคต่างๆ รวมทั้งมะเร็ง งานวิจัยในช่วงหลังพบว่ามะเร็ง

หลายชนิดมีแสดงออกและการทำงานของ γ-GCL มากขึ้นในระหว่างการพัฒนาของโรคมะเร็งและระหว่างการรักษามะเร็งด้วยยาเคมีบำบัด (แบบแผนการแสดงออกคล้ายคลึงกับ NQO1 และ HO-1) ทั้งนี้การเพิ่มขึ้นของ γ-GCL ยังสัมพันธ์กับการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดที่ลดลงด้วย ในปี 1998 Kigawa และคณะ ได้ทำการศึกษาผู้ป่วยมะเร็งรังไข่ที่ได้รับยาเคมีบำบัด cisplatin พบว่าผู้ป่วยที่ดื้อต่อยาเคมีบำบัด cisplatin จะมีระดับเอนไซม์ γ-GCL สูงกว่าผู้ป่วยที่ไวต่อยาเคมีบำบัด cisplatin โดยเอนไซม์ γ-GCL ไปเพิ่มการสร้างกลูตาไทโอนส่งผลให้เซลล์มะเร็งเพิ่มความสามารถในการเมแทบอไลซ์ยา (กลไกการกำจัดยาหรือสารเคมีโดยตับ ที่อาศัยกลูตาไทโอน แบ่งเป็น 2 ประเภท ได้แก่ 1) ปฏิกิริยาทางเคมีธรรมดาโดยไม่มีเอนไซม์ ซึ่งสารอนุมูลอิสระหรือเมแทบอไลซ์ว่องไวเกิดปฏิกิริยาโดยตรงกับกลูตาไทโอน และ 2) ปฏิกิริยาการรวมตัวทางเคมี (conjugation) ที่อาศัยเอนไซม์ เช่น เอนไซม์ glutathione S-transferases (GST) ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาคอนจูเกชั่นระหว่างสารอนุมูลอิสระหรือเมแทบอไลซ์กับกลูตาไทโอน) และเพิ่มการกำจัดยาออกจากเซลล์มะเร็งได้มากขึ้น (Kigawa *et al*., 1998) ตัวอย่างมะเร็งที่พบว่าการเพิ่มขึ้นของปริมาณกลูตาไทโอนและเอนไซม์ γ-GCL สัมพันธ์กับการดื้อยาเคมีบำบัด ได้แก่ มะเร็งรังไข่ และ มะเร็งต่อมลูกหมาก (Godwin *et al*., 1992; Mulcahy *et al*., 1994) จากผลเสียของการเพิ่มขึ้นของ γ-GCL ที่สัมพันธ์กับการพัฒนาของโรคมะเร็งและการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดที่ลดลง จึงมีหลายงานวิจัยที่แสดงให้เห็นว่ากการปรับลด γ-GCL หรือกลูตาไทโอนภายในเซลล์ โดยการใช้สารยับยั้ง γ-GCL ร่วมกับการให้ยาเคมีบำบัดสามารถเพิ่มความเป็นพิษและเสริมประสิทธิภาพของยาเคมีบำบัดในเซลล์มะเร็งบางชนิดได้ (ดังตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ผลของการปรับเปลี่ยนเอนไซม์ NQO1, HO-1 และ γ-GCL ร่วมกับการให้ยาเคมีบำบัด

การปรับเปลี่ยน	Cell line	ยาเคมีบำบัดที่ใช้	ผลที่เกิดขึ้น
NQO1			
NQO1 siRNA (Zeekpudsa *et al*., 2014)	Cholangiocarcinoma cells	Gemcitabine, 5-fluorouracil, Doxorubicin	เพิ่มการแสดงออกของ p53 และ Bax ส่งผลเพิ่มความเป็นพิษของยาเคมีบำบัด
Dicoumarol, NQO1 inhibitor (Buranrat *et al*., 2010)	Cholangiocarcinoma cells	Gemcitabine	เพิ่มการแสดงออกของ p53 และลด Bcl-xL ส่งผลเพิ่มความเป็นพิษของยาเคมีบำบัด
Dicoumarol, NQO1 inhibitor (Matsui *et al*., 2010)	Urogenital cancer cells	Cisplatin, Doxorubicin	เพิ่มความเป็นพิษของยาเคมีบำบัดในเซลล์ที่มี wild-type p53 โดยควบคุมวิถี p53/p21/p38 MAPK
HO-1			
HO-1 siRNA (Heasman *et al*., 2011)	Myeloid leukemia cells	Cytarabine, Daunorubicin	เพิ่มความเป็นพิษของยาเคมีบำบัด และเพิ่มการตายแบบอะพอพโทซิส
HO-1 siRNA (Miyake *et al*., 2010)	Urothelial cancer cells	Doxorubicin	เซลล์มีความไวต่อยาเคมีบำบัดมากขึ้น
ZnPP, HO-1 inhibitor (Kongpetch et al., 2016)	Cholangiocarcinoma cells, xenografts nude mice	Gemcitabine	-ในหลอดทดลอง: เซลล์มะเร็งมีความไวต่อยาเคมีบำบัดมากขึ้น -ในสัตว์ทดลอง: เซลล์มะเร็งในสัตว์ทดลองที่ได้รับยาเคมีบำบัดมีการเจริญเติบโตและแบ่งตัวช้าลง
ZnPP, HO-1 inhibitor (Kongpetch *et al*., 2012)	Cholangiocarcinoma cells	Gemcitabine, Doxorubicin	เพิ่มการสร้างอนุมูลอิสระ มีการหลั่งไซโตโครมซี และเกิดศักย์ไฟฟ้าของเยื่อหุ้มไมโตคอนเดรียผิดปกติ ส่งผลเพิ่มความเป็นพิษของยาเคมีบำบัด
ZnPP, HO-1 inhibitor (Yin *et al*., 2012)	Gastric cancer cells	Cisplatin	เพิ่มความเป็นพิษของยาเคมีบำบัด และลดการแสดงออกของ MMP-9 และ VEGF-A
ZnPP, HO-1 inhibitor (Hirai *et al*., 2006)	Lung cancer cells, xenografts C57BL mice	-	สัตว์ทดลองที่ได้รับ ZnPP มีการเจริญเติบโตและการแบ่งตัวของเซลล์มะเร็งช้าลง มีการแสดงออกของ VEGF น้อยลง
γ-GCL			
GCLC siRNA (Liu *et al*., 2015)	Lung cancer cells (A549)	Gold nanoparticles	เซลล์มีความไวต่อฤทธิ์ฆ่าเซลล์ของ gold nanoparticles มากขึ้น
L-Buthionine sulfoximine (BSO), γ-GCL inhibitor (Lopes-Coelho *et al*., 2016)	Ovarian clear cell carcinoma	Carboplatin	-ในหลอดทดลอง: เซลล์ที่ได้รับ BSO จะถูกยับยั้งการสังเคราะห์กลูตาไทโอน และมีความไวต่อยาเคมีบำบัดมากขึ้น -ในสัตว์ทดลอง: ก้อนมะเร็งในสัตว์ทดลองที่ได้รับยาเคมีบำบัดร่วมกับ BSO มีการเจริญเติบโตช้าและก้อนขนาดเล็กกว่า

การปรับเปลี่ยน	Cell line	ยาเคมีบำบัดที่ใช้	ผลที่เกิดขึ้น
BSO, γ-GCL inhibitor (Hernandez-Breijo *et al*., 2011)	Hepatocarcinoma cells	Azathioprine	-ในหลอดทดลอง: เซลล์ที่ได้รับยาเคมีบำบัดร่วมกับ BSO จะมีการกระตุ้นวิถี c-Jun amino-terminal kinase และ Bax ทำให้ไมโตคอนเดรียเสียสภาพ และหลั่งไซโตโครมซี ทำให้เยื่อหุ้มเมมเบรนเสียสภาพ มีการหลั่ง lactate dehydrogenase และดีเอ็นเอ ถูกทำลาย -ในสัตว์ทดลอง: เซลล์มะเร็งในสัตว์ทดลองที่ได้รับยาเคมีบำบัดร่วมกับ BSO มีการเจริญเติบโตที่ช้ากว่า
BSO, γ-GCL inhibitor (Hadzic *et al*., 2010)	Breast cancer cells	Paclitaxel	การยับยั้งการสังเคราะห์กลูตาไทโอนโดยการให้ BSO ส่งผลให้เซลล์มะเร็งเพิ่มความไวต่อยาเคมีบำบัด และไวต่อฤทธิ์ฆ่าเซลล์ของ inhibitors of glucose (i.e., 2-deoxy-d-glucose, 2DG) มากขึ้น

บทสรุป

กระบวนการเกิดโรคและพัฒนาโรคมะเร็งเป็นส่วนสำคัญในการส่งเสริมให้เซลล์มะเร็งต้องปรับตัวเองเพื่อการอยู่รอด โดยเซลล์มะเร็งอาจพัฒนากลไกทางชีวภาพและการส่งสัญญาณในเซลล์หลายด้าน เพื่อให้มีทางเลือกหลายวิถีทางในการอยู่รอดและแพร่กระจายได้ กลไกการปรับตัวที่สำคัญของเซลล์มะเร็งอย่างหนึ่ง คือการปรับเพิ่มการทำงานของระบบต้านอนุมูลอิสระ โดยเพิ่มการแสดงออกและการทำงานของเอนไซม์ต้านออกซิเดชันภายในเซลล์ให้สูงขึ้น เช่น เอนไซม์ NQO1 HO-1 และ γ-GCL การปรับตัวในลักษณะนี้ ช่วยทำให้เซลล์มะเร็งสามารถอยู่รอดได้ในภาวะเครียดออกซิเดชันที่สูงกว่าเซลล์ปกติ และยังช่วยปกป้องเซลล์มะเร็งจากภาวะต่างๆ ที่เป็นอันตรายต่อเซลล์ด้วย จึงนับเป็นกลไกสำคัญอย่างหนึ่งที่ทำให้เซลล์มะเร็งทนต่อความเป็นพิษของยาเคมีบำบัด ดังนั้น การปรับลดการทำงานของระบบต้านอนุมูลอิสระโดยมุ่งเป้าที่เอนไซม์ต้านออกซิเดชัน NQO1 HO-1 และ γ-GCL ร่วมกับการให้ยาเคมีบำบัดจึงเป็นความหวังอีกทางของการรักษาโรคมะเร็งให้มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น อย่างไรก็ตาม ข้อมูลส่วนใหญ่ยังเป็นการศึกษาในหลอดทดลอง ยังต้องทำการศึกษาแนวคิดนี้ในสัตว์ทดลองและทำการวิจัยในมนุษย์เพื่อแสดงศักยภาพที่แท้จริงและความปลอดภัยของกลยุทธ์นี้ ก่อนนำไปใช้จริงทางคลินิกกับผู้ป่วยมะเร็งต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณทุนจากบัณฑิตวิทยาลัย ประเภททุนวิจัยสำหรับคณาจารย์บัณฑิตศึกษา เพื่อให้สามารถรับนักศึกษาที่มีความสามารถและศักยภาพสูงเข้าศึกษาในหลักสูตรและทำวิจัยในสาขาที่อาจารย์มีความเชี่ยวชาญ ปีการศึกษา 2557 และทุนสนับสนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยขอนแก่น ประเภททุนอุดหนุนทั่วไป ปีงบประมาณ 2558

เอกสารอ้างอิง

Abraham, N.G., Cao, J., Sacerdoti, D., Li, X. & Drummond, G. (2009). Heme oxygenase: the key to renal function regulation. *American Journal of Physiology - Renal Physiology, 297*(5), F1137-52.

Ames, B.N., Shigenaga, M.K. & Hagen, T.M. (1993). Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 90*(17), 7915-22.

Awadallah, N.S., Dehn, D., Shah, R.J., Russell Nash, S., Chen, Y.K., Ross, D., Bentz, J.S. & Shroyer, K.R. (2008). NQO1 expression in pancreatic cancer and its potential use as a biomarker. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology, 16*(1), 24-31.

Begleiter, A. & Fourie, J. (2004). Induction of NQO1 in cancer cells. *Methods in Enzymology, 382*, 320-51.

Buranrat, B., Chau-in, S., Prawan, A., Puapairoj, A., Zeekpudsa, P. & Kukongviriyapan, V. (2012). NQO1 expression correlates with cholangiocarcinoma prognosis. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, 13 Suppl*, 131-6.

Buranrat, B., Prawan, A., Kukongviriyapan, U., Kongpetch, S. & Kukongviriyapan, V. (2010). Dicoumarol enhances gemcitabine-induced cytotoxicity in high NQO1-expressing cholangiocarcinoma cells. *World Journal of Gastroenterology, 16*(19), 2362-70.

Eyssen-Hernandez, R., Ladoux, A. & Frelin, C. (1996). Differential regulation of cardiac heme oxygenase-1 and vascular endothelial growth factor mRNA expressions by hemin, heavy metals, heat shock and anoxia. *FEBS Letters, 382*(3), 229-33.

Franklin, C.C., Backos, D.S., Mohar, I., White, C.C., Forman, H.J. & Kavanagh, T.J. (2009). Structure, function, and post-translational regulation of the catalytic and modifier subunits of glutamate cysteine ligase. *Molecular Aspects of Medicine, 30*(1-2), 86-98.

Godwin, A.K., Meister, A., O'Dwyer, P.J., Huang, C.S., Hamilton, T.C. & Anderson, M.E. (1992). High resistance to cisplatin in human ovarian cancer cell lines is associated with marked increase of glutathione synthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 89*(7), 3070-4.

Hadzic, T., Aykin-Burns, N., Zhu, Y., Coleman, M.C., Leick, K., Jacobson, G.M. & Spitz, D.R. (2010). Paclitaxel combined with inhibitors of glucose and hydroperoxide metabolism enhances breast cancer cell killing via H2O2-mediated oxidative stress. *Free Radical Biology and Medicine, 48*(8), 1024-33.

Heasman, S.A., Zaitseva, L., Bowles, K.M., Rushworth, S.A. & Macewan, D.J. (2011). Protection of acute myeloid leukaemia cells from apoptosis induced by front-line chemotherapeutics is mediated by haem oxygenase-1. *Oncotarget, 2*(9), 658-68.

Hernandez-Breijo, B., Monserrat, J., Ramirez-Rubio, S., Cuevas, E.P., Vara, D., Diaz-Laviada, I., Fernandez-Moreno, M.D., Roman, I.D., Gisbert, J.P. & Guijarro, L.G. (2011). Preclinical evaluation of azathioprine plus buthionine sulfoximine in the treatment of human hepatocarcinoma and colon carcinoma. *World Journal of Gastroenterology, 17*(34), 3899-911.

Hirai, K., Sasahira, T., Ohmori, H., Fujii, K. & Kuniyasu, H. (2006). Inhibition of heme oxygenase-1 by zinc protoporphyrin IX reduces tumor growth of LL/2 lung cancer in C57BL mice. *International Journal of Cancer, 120*(3), 500–505.

Jozkowicz, A., Was, H. & Dulak, J. (2007). Heme oxygenase-1 in tumors: is it a false friend? *Antioxidants & Redox Signaling, 9*(12), 2099-117.

Kigawa, J., Minagawa, Y., Cheng, X. & Terakawa, N. (1998). Gamma-glutamyl cysteine synthetase up-regulates glutathione and multidrug resistance-associated protein in patients with chemoresistant epithelial ovarian cancer. *Clinical Cancer Research, 4*(7), 1737-41.

Kongpetch, S., Kukongviriyapan, V., Prawan, A., Senggunprai, L., Kukongviriyapan, U. & Buranrat, B. (2012). Crucial role of heme oxygenase-1 on the sensitivity of cholangiocarcinoma cells to chemotherapeutic agents. *PLoS One, 7*(4), e34994.

Kongpetch, S., Puapairoj, A., Ong, C.K., Senggunprai, L., Prawan, A., Kukongviriyapan, U., Chan-On, W., Siew, E.Y., Khuntikeo, N., Teh, B.T. & Kukongviriyapan, V. (2016). Haem oxygenase 1 expression is associated with prognosis in cholangiocarcinoma patients and with drug sensitivity in xenografted mice. *Cell Proliferation, 49*(1), 90-101.

Kuroda, H., Takeno, M., Murakami, S., Miyazawa, N., Kaneko, T. & Ishigatsubo, Y. (2010). Inhibition of heme oxygenase-1 with an epidermal growth factor receptor inhibitor and cisplatin decreases proliferation of lung cancer A549 cells. *Lung Cancer, 67*(1), 31-6.

Liu, K., Jin, B., Wu, C., Yang, J., Zhan, X., Wang, L., Shen, X., Chen, J., Chen, H. & Mao, Z. (2015). NQO1 Stabilizes p53 in Response to Oncogene-Induced Senescence. *International Journal of Biological Sciences, 11*(7), 762-71.

Liu, M., Zhao, Y. & Zhang, X. (2015). Knockdown of glutamate cysteine ligase catalytic subunit by siRNA causes the gold nanoparticles-induced cytotoxicity in lung cancer cells. *PLoS One, 10*(3), e0118870.

Lopes-Coelho, F., Gouveia-Fernandes, S., Goncalves, L.G., Nunes, C., Faustino, I., Silva, F., Felix, A., Pereira, S.A. & Serpa, J. (2016). HNF1beta drives glutathione (GSH) synthesis underlying intrinsic carboplatin resistance of ovarian clear cell carcinoma (OCCC). *Tumour Biology, 37*(4), 4813-29.

Lu, S.C. (2009). Regulation of glutathione synthesis. *Molecular Aspects of Medicine, 30*(1-2), 42-59.

Machlin, L.J. & Bendich, A. (1987). Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients. *The FASEB Journal, 1*(6), 441-5.

Matsui, Y., Watanabe, J., Ding, S., Nishizawa, K., Kajita, Y., Ichioka, K., Saito, R., Kobayashi, T., Ogawa, O. & Nishiyama, H. (2010). Dicoumarol enhances doxorubicin-induced cytotoxicity in p53 wild-type urothelial cancer cells through p38 activation. *BJU International, 105*(4), 558-64.

Miyake, M., Fujimoto, K., Anai, S., Ohnishi, S., Nakai, Y., Inoue, T., Matsumura, Y., Tomioka, A., Ikeda, T., Tanaka, N. & Hirao, Y. (2010). Clinical significance of heme oxygenase-1 expression in non-muscle-invasive bladder cancer. *Urologia Internationalis, 85*(3), 355-63.

Mulcahy, R.T., Untawale, S. & Gipp, J.J. (1994). Transcriptional up-regulation of gamma-glutamylcysteine synthetase gene expression in melphalan-resistant human prostate carcinoma cells. *Molecular Pharmacology, 46*(5), 909-14.

Ndisang, J.F. & Jadhav, A. (2009). Up-regulating the heme oxygenase system enhances insulin sensitivity and improves glucose metabolism in insulin-resistant diabetes in Goto-Kakizaki rats. *Endocrinology, 150*(6), 2627-36.

Ndisang, J.F., Lane, N., Syed, N. & Jadhav, A. (2010). Up-regulating the heme oxygenase system with hemin improves insulin sensitivity and glucose metabolism in adult spontaneously hypertensive rats. *Endocrinology, 151*(2), 549-60.

Nuhn, P., Kunzli, B.M., Hennig, R., Mitkus, T., Ramanauskas, T., Nobiling, R., Meuer, S.C., Friess, H. & Berberat, P.O. (2009). Heme oxygenase-1 and its metabolites affect pancreatic tumor growth in vivo. *Molecular Cancer, 8*, 37.

Oh, E.T. & Park, H.J. (2015). Implications of NQO1 in cancer therapy. *BMB Reports, 48*(11), 609-17.

Oliveira, P.A., Colaco, A., Chaves, R., Guedes-Pinto, H., De-La-Cruz, P.L. & Lopes, C. (2007). Chemical carcinogenesis. *Anais da Academia Brasileira de Ciências, 79*(4), 593-616.

Piper, P.W. & Millson, S.H. (2011). Mechanisms of Resistance to Hsp90 Inhibitor Drugs: A Complex Mosaic Emerges. *Pharmaceuticals, 4*(11), 1400.

Reuter, S., Gupta, S.C., Chaturvedi, M.M. & Aggarwal, B.B. (2010). Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked? *Free Radical Biology and Medicine, 49*(11), 1603-16.

Ryter, S.W., Alam, J. & Choi, A.M. (2006). Heme oxygenase-1/carbon monoxide: from basic science to therapeutic applications. *Physiological Reviews, 86*(2), 583-650.

Siegel, D., Franklin, W.A. & Ross, D. (1998). Immunohistochemical detection of NAD(P)H:quinone oxidoreductase in human lung and lung tumors. *Clinical Cancer Research, 4*(9), 2065-70.

Sullivan, L.B. & Chandel, N.S. (2014). Mitochondrial reactive oxygen species and cancer. *Cancer & Metabolism, 2*, 17.

Toroser, D. & Sohal, R.S. (2007). Age-associated perturbations in glutathione synthesis in mouse liver. *Biochemical Journal, 405*(3), 583-9.

Trachootham, D., Alexandre, J. & Huang, P. (2009). Targeting cancer cells by ROS-mediated mechanisms: a radical therapeutic approach? *Nature Reviews Drug Discovery, 8*(7), 579-91.

Tsai, J.R., Wang, H.M., Liu, P.L., Chen, Y.H., Yang, M.C., Chou, S.H., Cheng, Y.J., Yin, W.H., Hwang, J.J. & Chong, I.W. (2012). High expression of heme oxygenase-1 is associated with tumor invasiveness and poor clinical outcome in non-small cell lung cancer patients. *Cellular Oncology, 35*(6), 461-71.

Volpato, M. & Phillips, R.M. (2007). Tailoring targeted therapy to individual patients: lessons to be learnt from the development of mitomycin C. *Cancer Genomics Proteomics, 4*(3), 175-86.

Willcox, J.K., Ash, S.L. & Catignani, G.L. (2004). Antioxidants and prevention of chronic disease. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 44*(4), 275-95.

Yachie, A., Niida, Y., Wada, T., Igarashi, N., Kaneda, H., Toma, T., Ohta, K., Kasahara, Y. & Koizumi, S. (1999). Oxidative stress causes enhanced endothelial cell injury in human heme oxygenase-1 deficiency. *The Journal of Clinical Investigation, 103*(1), 129-35.

Yin, Y., Liu, Q., Wang, B., Chen, G., Xu, L. & Zhou, H. (2012). Expression and function of heme oxygenase-1 in human gastric cancer. *Experimental Biology and Medicine, 237*(4), 362-71.

Zeekpudsa, P., Kukongviriyapan, V., Senggunprai, L., Sripa, B. & Prawan, A. (2014). Suppression of NAD(P)H-quinone oxidoreductase 1 enhanced the susceptibility of cholangiocarcinoma cells to chemotherapeutic agents. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research, 33*, 11.

Zimmerman, R. & Cerutti, P. (1984). Active oxygen acts as a promoter of transformation in mouse embryo C3H/10T1/2/C18 fibroblasts. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 81*(7), 2085-7.