Review Article

ฮีทช็อคโปรตีน 90: เป้าหมายในการรักษามะเร็ง

Heat Shock Protein 90: Target for Cancer Therapy

สริน ทัดทอง*

สาขาวิชาเภสัชเคมีและเภสัชเวท คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

* Corresponding author: sarin@swu.ac.th

บทคัดย่อ

ฮีทช็อคโปรตีน 90 (heat shock protein 90; Hsp90) เป็นแชเพอโรนโปรตีน (chaperone protein) ที่ควบคุมการจัดรูปร่างของโปรตีนอื่น ๆ (protein folding) พบในของเหลวภายในเซลล์ยูแคริโอต (eukaryotic cytosol) มากถึง 1 - 2% ของโปรตีนภายในเซลล์ หน้าที่ของ Hsp90 เท่าที่ค้นพบ คือ ควบคุมโปรตีนที่ทำหน้าที่คัดลอกดีเอ็นเอ (transcription factors) และโปรตีนที่ส่งสัญญาณภายในเซลล์ (signaling proteins) ให้อยู่ในรูปที่ทำงานได้ และป้องกันการเกาะกลุ่มของโปรตีน (protein aggregation) เมื่ออยู่ในสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิต โปรตีนที่ถูกควบคุมโดย Hsp90 chaperone มี 3 ชนิด คือ 1) โปรตีนที่เป็นตัวรับฮอร์โมนสเตียรอยด์ เช่น ตัวรับเอสโตรเจน 2) โปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการส่งสัญญาณภายในเซลล์ (signal transduction factors จำพวก tyrosine kinases และ serine/threonine kinases) เช่น p185erbB2 และ 3) กลุ่มอื่น ๆ เช่น p53 ที่กลายพันธุ์ (mutant p53) การทำงานของ Hsp90 ต้องใช้ ATP และต้องร่วมกับแชเพอโรนและแชเพอโรนร่วม (co-chaperone) อื่น ๆ อีกหลายชนิด ทั้งนี้ มี Hsp90 ที่เกี่ยวข้องกับการส่งสัญญาณภายในเซลล์ (signal transduction pathway) โดยเฉพาะอย่างยิ่งต่อโปรตีนที่ก่อให้เกิดเนื้องอก (oncogenic client protein) ทำให้ Hsp90 เป็นเป้าหมายระดับโมเลกุลชนิดใหม่สำหรับการพัฒนายาต้านมะเร็งที่มีกลไกการออกฤทธิ์แตกต่างจากยาต้านมะเร็งที่ใช้ในปัจจุบัน โดยมี geldanamycin ซึ่งเป็นสารในกลุ่ม benzoquinone ansamycin เป็นสารต้นแบบในการพัฒนายาต้านมะเร็งที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของ Hsp90 (Hsp90 inhibitor) ปัจจุบันมีการศึกษาพัฒนาสารอนุพันธุ์ที่ได้จากการเปลี่ยนแปลงหมู่แทนที่ในตำแหน่ง C-17 ของ geldanamycin คือ 17-allylamino-17-demethoxy-geldanamycin (17-AAG, tanespimycin) และ 17-dimethylaminoethylamino-17-demethoxygeldanamycin (17-DMAG, alvespimycin hydrochloride) เพื่อใช้เป็นยาต้านมะเร็ง ซึ่งอยู่ในระหว่างการศึกษาทดลองทางคลินิกระยะที่ 2 และ 1 ตามลำดับ

คำสำคัญ: ฮีทช็อคโปรตีน 90, HSP90, กลไกในการรักษามะเร็ง, geldanamycin, 17-AAG, 17-DMAG

Thai Pharm Health Sci J 2009;4(3):387-396[§]

บทนำ

ปัจจุบันการพัฒนายาต้านมะเร็งชนิดใหม่ ๆ มักเป็นการพัฒนายาที่ออกฤทธิ์ต่อกลไกที่ควบคุมการเกิดมะเร็งในระดับโมเลกุล (molecular targets) หนึ่งในกลไกการควบคุมการเกิดมะเร็งในระดับโมเลกุลที่ได้รับความสนใจในการใช้เป็นเป้าหมาย (drug target) ในการรักษาโรคมะเร็งคือ Hsp90[1] ซึ่งมีบทบาทสำคัญต่อการควบคุมโปรตีนที่คัดลอกดีเอ็นเอ (transcription factors) และโปรตีนที่ส่งสัญญาณภายในเซลล์ (signaling proteins) ให้มีรูปแบบที่เหมาะสมที่จะทำงานได้[1-16]

Heat shock proteins คืออะไร

ในสภาวะปกติภายในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตจะมีโปรตีนจำพวกหนึ่งที่เรียกว่า molecular chaperones ทำหน้าที่ช่วยให้โปรตีนอื่น ๆ ที่เซลล์สร้างขึ้นมามีรูปแบบที่เหมาะสมต่อการทำงานตามหน้าที่ของโปรตีนแต่ละชนิด ซึ่งแชเพอโรนเหล่านี้มีความสำคัญต่อการควบคุมสมดุลระหว่างการสร้างและกำจัดโปรตีนต่าง ๆ ภายในเซลล์ ในเวลาที่เซลล์อยู่ในสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิต (environmental stresses) เช่น ได้รับความร้อน (heat shock), โลหะหนัก, แอลกอฮอล์ หรือกระทั่งการเกิดออกซิเดชันมากขึ้นภายในเซลล์ (oxidative stress) เป็นต้น เซลล์จะมีการตอบสนองต่อสภาวะที่ไม่

[§] 14th year of Srinakharinwirot Journal of Pharmaceutical Science

เหมาะสมเหล่านั้นโดยการสร้างแชเพอโรนโปรตีนชนิดต่าง ๆ เพิ่มขึ้นเพื่อช่วยป้องกันการเสียสภาพของโปรตีนอื่น ๆ ภายในเซลล์ ทำให้เซลล์สามารถดำรงชีวิตต่อไปได้ในสภาวะแวดล้อมนั้น[1,2] เนื่องจากมีการค้นพบการทำงานของแชเพอโรนโปรตีนเหล่านี้เป็นครั้งแรกจากเซลล์ที่ได้รับการกระตุ้นด้วยความร้อน (heat shock/stress) จึงเรียกแชเพอโรนโปรตีนเหล่านี้ในอีกชื่อหนึ่งว่าฮีทช็อคโปรตีน (heat shock proteins; Hsps)[1,2]

การจัดแบ่งกลุ่มของฮีทช็อคโปรตีนนั้นจะแบ่งตามน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนเหล่านี้[1,2] สามารถจัดแบ่งออกเป็น 5 กลุ่ม ดังแสดงในตารางที่ 1[2]

ตารางที่ 1 ประเภทของฮีทช็อคโปรตีน[2]

ประเภทของ hsp	หน้าที่ภายในเซลล์
- Hsp27,crystallins, small heat shock proteins	- ป้องกันการเกาะกลุ่มของโปรตีนและช่วยคลายโปรตีน จากการเกาะกลุ่ม
- Hsp60, chaperonins	- ป้องกันการเกาะกลุ่มของโปรตีนและช่วยในการม้วนพับโปรตีน
- Hsp70, grp78, BiP	- ป้องกันการเกาะกลุ่มของโปรตีนและช่วยในการม้วนพับโปรตีน
- Hsp90, grp94	- ป้องกันการเกาะกลุ่มของโปรตีน
- Hsp110	- ช่วยคลายโปรตีนจากการเกาะกลุ่ม

แชเพอโรนโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุล 90 kDa

กลุ่มของ Hsp90 คือกลุ่มของแชเพอโรนที่มีน้ำหนักโมเลกุล 90 กิโลดาลตัน (kDa) ในปัจจุบันมีการค้นพบสมาชิกของแชเพอโรนกลุ่มนี้ 4 ชนิด ดังแสดงในตารางที่ 2[2]

ตารางที่ 2 ประเภทของแชเพอโรนโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุล 90 kDa[2]

ประเภท	แหล่งที่พบ
HtpG	*Escherichia coli*
Hsp75/TRAP-1	ไซโทพลาซึม
Hsp90-α, Hsp90-β	ไซโทพลาซึม
Grp94	ร่างแหเอนโดพลาซึม

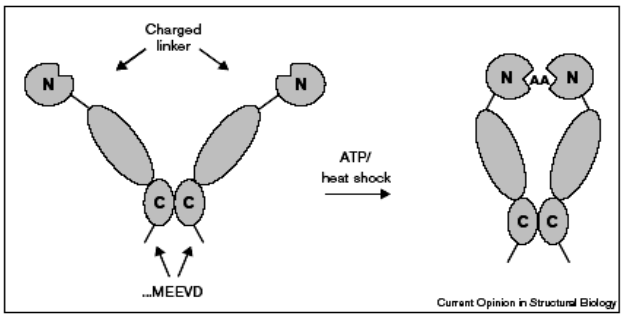
HtpG หรือ high temperature protein G เป็นโปรตีนที่พบในสิ่งมีชีวิตพวกโปรแคริโอต (prokaryotes) มีความคล้ายคลึงกับ Hsp90 ซึ่งพบในสิ่งมีชีวิตพวกยูแคริโอตถึง 40% และทำหน้าที่เป็นแชเพอโรนโปรตีนเช่นเดียวกัน ส่วน Hsp75 หรือ TRAP-1 (type 1 tumor necrosis factor receptor-interacting protein), Hsp90-α, Hsp90-β, และ Grp94 นั้นพบในสิ่งมีชีวิตพวกยูแคริโอต โดยที่ TRAP-1 และ Hsp90-α รวมทั้ง Hsp90-β สามารถพบได้ในส่วนของไซโทพลาซึม ส่วน Grp94 หรือ 94-kDa glucose-regulated protein พบได้ในร่างแหเอนโดพลาซึม (endoplasmic reticulum)[2]

Hsp90 มี 2 isoforms ได้แก่ Hsp90-α และ Hsp90-β ซึ่งมีความคล้ายคลึงกันถึง 76% โดยที่ Hsp90-β มีขนาดใหญ่กว่า Hsp90-α และถูกเหนี่ยวนำได้ยากกว่า Hsp90-α และอาจเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า Hsc90 ส่วน Hsp90-α มักจะเรียกกันว่า Hsp90 ส่วน Grp94 นั้นมีความคล้ายคลึงกันกับ Hsp90 ถึง 50%[2]

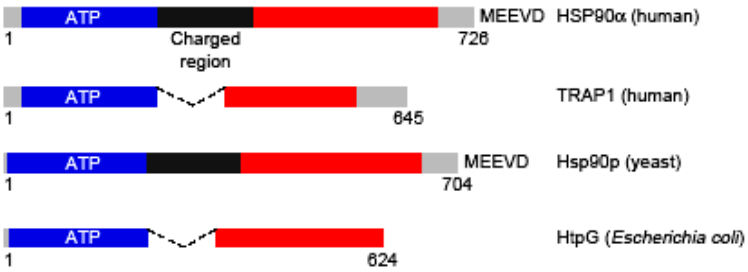
Hsp90 เป็นโปรตีนที่พบได้ทั่วไปในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตพวกยูแคริโอต[1-10] โดยในสภาวะปกติพบได้ถึง 1 - 2% ของโปรตีนภายในเซลล์ และจะสร้างเพิ่มขึ้นอีกหลายเท่าตัวเพื่อตอบสนองต่อสิ่งแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิต[1-3]

รูปร่างของ Hsp90

Hsp90 เป็นโมเลกุลที่ประกอบขึ้นจากหน่วยย่อย 2 หน่วย โดยแต่ละหน่วยย่อย (monomer) ของ Hsp90 นั้นจะประกอบด้วยส่วนของปลายด้านเอ็น (N-terminal domain) ที่มีขนาด 25 kDa ซึ่งเป็นส่วนที่ใช้จับกับ ATP (ATP-binding site)[2,4-10] การทำงานของ Hsp90 ขึ้นกับการจับกับ ATP[1-14,16-22] และการไฮโดรไลซ์ ATP[9-13] และส่วนของปลายด้านซี (C-terminal domain) ที่มีขนาด 55 kDa ซึ่งเป็นส่วนที่เกิดการเชื่อมต่อของหน่วยย่อยของโมเลกุล[2,4-7] และในปลายด้านซีนี้จะเป็นส่วนของโมเลกุลที่ใช้ในการจับกับแชเพอโรนร่วม ซึ่งประกอบด้วยลำดับกรดอะมิโนที่จะไม่มีการเปลี่ยนแปลงลำดับและชนิด ซึ่งได้แก่ MEEVD หรือ Methionine (Met/M)-Glutamic acid (Glu/E)-Glutamic acid-Valine (Val/V)-Aspartic acid (Asp/D)[6,7,11] ดังรูปที่ 1[6] และในส่วนของบริเวณตรงกลางซึ่งอยู่ในส่วนของปลายด้านซีนั้น เป็นส่วนที่ใช้จับกับโปรตีนที่ถูกควบคุมโดย Hsp90 และเป็นส่วนที่มีคุณสมบัติเป็น ATPase ซึ่งจะไฮโดรไลซ์ ATP ที่จับกับอยู่กับ Hsp90 ส่วนปลายด้านเอ็นทำให้ Hsp90 ทำหน้าที่ในการควบคุมโปรตีนอื่น ๆ ได้[12] ซึ่งทั้งสองส่วนนี้จะเชื่อมต่อกันด้วยประจุโดยขนาดของบริเวณที่เชื่อมต่อกันด้วยประจุ (charged linker region) นี้ จะแตกต่างกันไปขึ้นกับชนิดของแชเพอโรนโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุล 90 kDa เช่น HtpG ของ *E. coli* และ TRAP-1 ของมนุษย์ จะไม่มีส่วนของ charged linker region นอกจากนี้ ขนาดของ Hsp90 ในสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดก็มีขนาดไม่เท่ากันอีกด้วย เช่น Hsp90 ของยีสต์จะสั้นกว่าของมนุษย์ ดังรูปที่ 2[7]



รูปที่ 1 แสดงลักษณะโมเลกุลของ Hsp90 (ที่มา: เอกสาร อ้างอิงหมายเลข 6)



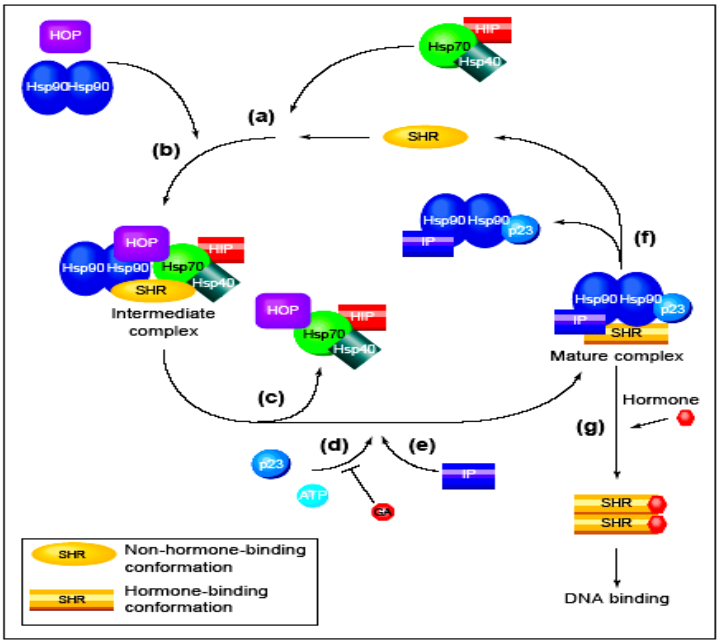
รูปที่ 2 แสดงลักษณะโครงสร้างของโมเลกุลของ Hsp90 (ที่มา: เอกสารอ้างอิงหมายเลข 7)

บทบาทหน้าที่ของ Hsp90 ภายในเซลล์

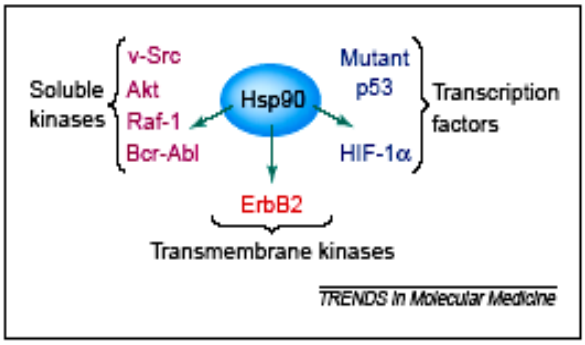
หน้าที่โดยทั่วไปของ Hsp90 คือ ควบคุมการจัดรูปร่างและช่วยป้องกันการเกาะกลุ่มของโปรตีนภายในเซลล์ ในสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิต[1-10] โดยทำงานร่วมกับแชเพอโรนและแชเพอโรนร่วมอื่น ๆ ในลักษณะที่เป็นกลุ่ม (multichaperone complex)[1-7,10-12,14]

Hsp90 ยังมีหน้าที่พิเศษ คือ การควบคุมโปรตีนที่ทำหน้าที่เกี่ยวกับการคัดลอกดีเอ็นเอและโปรตีนที่ทำหน้าที่ส่งสัญญาณภายในเซลล์ให้อยู่ในรูปแบบที่เหมาะสมที่จะทำงานได้[1-16] ซึ่งโปรตีนสำคัญที่ทำหน้าที่ส่งสัญญาณภายในเซลล์ที่ถูกควบคุมโดย Hsp90 ได้แก่ โปรตีนที่ทำหน้าที่เป็นตัวรับฮอร์โมนสเตียรอยด์ เช่น ตัวรับเอสโตรเจน[1-3,5-7] Hsp90 จะทำหน้าที่ร่วมกับ Hsp70 (ซึ่งเป็นแชเพอโรนเช่นเดียวกัน) และแชเพอโรนร่วมอื่น ๆ อีกหลายชนิด ในการทำให้ตัวรับฮอร์โมนสเตียรอยด์มีรูปแบบที่พร้อมที่จะให้โมเลกุลของฮอร์โมนสเตียรอยด์ เช่น ฮอร์โมนเอสโตรเจนมาจับ จากนั้นจะเกิดการเข้าคู่กันของตัวรับฮอร์โมนสเตียรอยด์แล้วพากันเข้าสู่นิวเคลียสเพื่อไปจับกับสายดีเอ็นเอเพื่อเกิดการคัดลอกดีเอ็นเอต่อไป ดังแสดงในรูปที่ 3[7]

นอกจากการกระตุ้นการทำงานของตัวรับฮอร์โมนสเตียรอยด์แล้วนั้น Hsp90 ยังสามารถช่วยคงรูปร่างของโปรตีน (stabilize client proteins) ที่ทำหน้าที่ในการส่งสัญญาณภายในเซลล์ (รูปที่ 4)[14] ทั้ง tyrosine kinases และ serine/threonine kinases เช่น p185erbB2[1,2,5-7,10,14,16] ที่มักพบว่ามีการแสดงออกในปริมาณมากกว่าปกติ (over-expressed) ในเซลล์มะเร็งเต้านม, มะเร็งรังไข่, และมะเร็งต่อมลูกหมาก[14] หรือ Bcr-Abl ที่มักพบว่ามีการแสดงออกในปริมาณมากกว่าปกติในมะเร็งชนิด leukemia[2,14] รวมทั้งโปรตีนที่ทำหน้าที่เกี่ยวกับการคัดลอกดีเอ็นเอชนิดอื่น ๆ เช่น p53 ที่กลายพันธุ์ (mutant p53)[1-2,6,14] ซึ่งมักพบในเซลล์มะเร็งหลายชนิด โดยปกติแล้ว p53 เป็นโปรตีนที่ยับยั้งการเกิดเนื้องอก (tumor suppressor) ซึ่งรู้จักกันโดยทั่วไปว่า p53 เป็น “guardian of the genome” ทำหน้าที่ควบคุมการแบ่งตัวของเซลล์ในระยะ G1/S checkpoint เนื่องจาก p53 จะสามารถรับรู้ถึงความผิดปกติของสายดีเอ็นเอ เมื่อ p53 ตรวจพบความผิดปกติของดีเอ็นเอ ก็จะส่งสัญญาณให้เซลล์หยุดการแบ่งตัวที่ระยะ G1 แล้วทำให้เกิดการซ่อมแซมสายดีเอ็นเอที่ผิดปกติก่อนที่จะแบ่งตัวต่อไป[2] มีการค้นพบว่า p53 ที่กลายพันธุ์เท่านั้นที่ถูกควบคุมการทำงานโดย Hsp90 ส่วน p53 ชนิดปกติ (wild type p53) นั้นไม่ถูกควบคุมการทำงานโดย Hsp90[7]



รูปที่ 3 แสดงการทำงานของ Hsp90 ในการกระตุ้นการทำงานของตัวรับฮอร์โมนสเตียรอยด์ (SHR)
(ที่มา: เอกสารอ้างอิงหมายเลข 7)

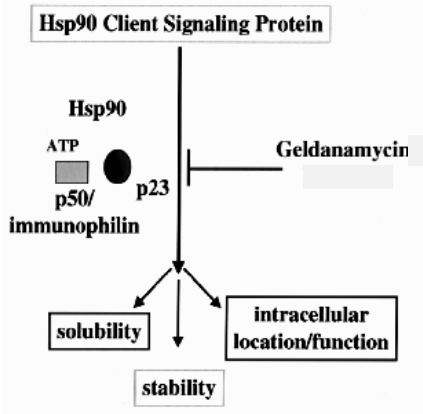


รูปที่ 4 แสดงโปรตีนที่ทำหน้าที่ในการส่งสัญญาณภายในเซลล์ที่ถูกควบคุมโดย Hsp90 (ที่มา: จากเอกสารอ้างอิงหมายเลข 14)

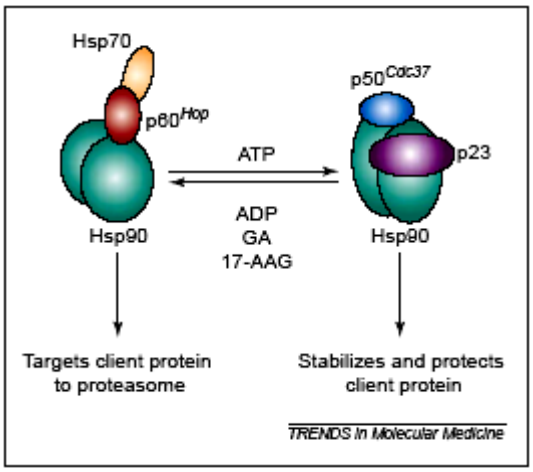
การทำงานของ Hsp90 ในการกระตุ้นการทำงานของตัวรับฮอร์โมนสเตียรอยด์และช่วยคงรูปร่างของโปรตีนที่ทำหน้าที่ในการส่งสัญญาณภายในเซลล์จะทำงานร่วมกับแชเพอโรนร่วมที่ต่างชนิดกัน โดยที่แชเพอโรนร่วมที่ช่วยในการกระตุ้นการทำงานของตัวรับฮอร์โมนสเตียรอยด์ คือ immunophilins แต่ในการช่วยคงรูปร่างของโปรตีนที่ทำหน้าที่ในการส่งสัญญาณภายในเซลล์จะใช้ p50^{CDC37} เป็นแชเพอโรนร่วมแทน[1,2,5,7,14]

การใช้ Hsp90 เป็นเป้าหมายระดับโมเลกุลในการออกฤทธิ์ของยาต้านมะเร็ง

จากเหตุผลที่ Hsp90 ช่วยคงรูปร่างของโปรตีนที่ทำหน้าที่ส่งสัญญาณภายในเซลล์ที่มีความสำคัญต่อการเกิดมะเร็ง เช่น p185erbB2, Bcr-Abl, และ mutant p53[10,14-16] รวมทั้งกระตุ้นการทำงานของตัวรับฮอร์โมนสเตียรอยด์ เช่น ตัวรับเอสโตรเจน ซึ่งอาจกระตุ้นให้เกิดมะเร็งได้ ดังที่พบในเซลล์มะเร็งเต้านมชนิดที่สัมพันธ์กับตัวรับเอสโตรเจน (estrogen-receptor-dependent)[14] และจากการที่พบว่ากระบวนการทำงานของ Hsp90 ถูกยับยั้งโดย geldanamycin (รูปที่ 5)[6,10,13-17] ซึ่งเป็นสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งมะเร็ง ที่แต่เดิมเข้าใจว่าสามารถยับยั้งการเกิดมะเร็งได้โดยออกฤทธิ์ยับยั้งไทโรซีนไคเนส (tyrosine kinase inhibitors) แต่ในภายหลังพบว่าฤทธิ์ที่เกิดขึ้นเป็นผลทางอ้อมมาจากการที่ geldanamycin จับกับ Hsp90 แล้วทำให้โปรตีนที่ทำให้เกิดมะเร็งภายในเซลล์มะเร็งถูกทำลาย ทำให้เซลล์มะเร็งไม่สามารถมีชีวิตต่อไป[10,14-16] นอกจากนี้ ยังพบว่าในเซลล์มะเร็งจะมีการแสดงออกของ Hsp90 ในปริมาณมากกว่าปกติ[2,10] ทำให้ Hsp90 เป็นเป้าหมายระดับโมเลกุลที่น่าสนใจสำหรับการพัฒนายาต้านมะเร็งที่มีการแสดงออกของโปรตีนเหล่านี้ในปริมาณมากกว่าปกติ โดยมีกลไกการออกฤทธิ์ที่ต่างไปจากยาต้านมะเร็งที่ใช้ในปัจจุบัน[10,14-16]



รูปที่ 5 แสดงหน้าที่ของ Hsp90 (ที่มา: ดัดแปลงจากเอกสารอ้างอิงหมายเลข 10)



รูปที่ 6 แสดงการยับยั้งการทำงานของ Hsp90 โดยสารยับยั้งการทำงานของ Hsp90 ซึ่งได้แก่ ADP, geldanamycin (GA), และ 17-allylamino-17-demethoxygeldanamycin (17-AAG) (ที่มา: เอกสารอ้างอิงหมายเลข 14)

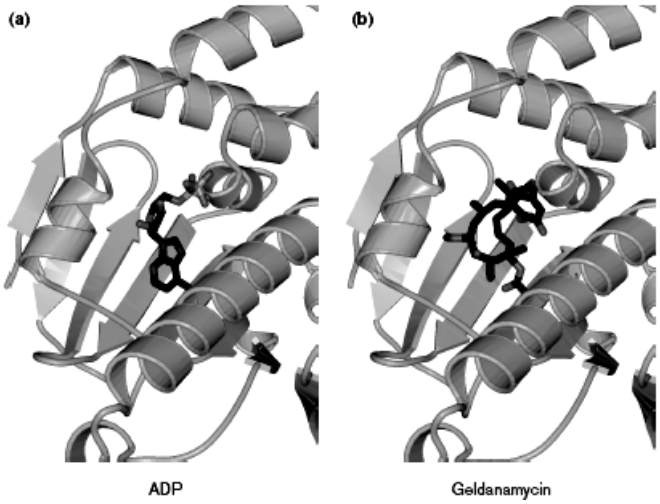
สารยับยั้งการทำงานของ Hsp90

สารยับยั้งการทำงานของ Hsp90 สามารถยับยั้งมะเร็งโดยไปแย่ง ATP จับกับส่วนที่ใช้จับกับ ATP ที่อยู่ในปลายด้านเอ็นของ Hsp90 ซึ่งเป็นส่วนสำคัญต่อการทำงานของ Hsp90 เนื่องจาก Hsp90 อาศัย ATP กระตุ้นการทำงาน[1-14,16-21] โดยการทำงานของ Hsp90 เพื่อคงรูปร่างหรือกระตุ้นการทำงานของโปรตีนต่าง ๆ จะขึ้นกับวงจร ATPase[6,9,12,14] เมื่อ ATP จับกับ Hsp90 ตรงบริเวณส่วนที่ใช้จับกับ ATP ที่อยู่ในปลายด้านเอ็นแล้วก็จะกระตุ้นให้เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปแบบของโมเลกุลของ Hsp90 ให้อยู่ในรูปแบบที่สามารถเกิดการรวมตัวกับ p23 ซึ่งเป็นแชเพอโรนร่วมได้[4,6,10,14] แล้วเกิดการคงรูปร่างหรือกระตุ้นการทำงานของโปรตีนต่าง ๆ ให้สามารถทำหน้าที่ของโปรตีนแต่ละชนิดเหล่านั้นภายในเซลล์ต่อไป[14] แต่ถ้ากระบวนการนี้ถูกขัดขวางโดย geldanamycin ซึ่งจะเข้าไปจับกับส่วนที่ใช้จับกับ ATP ที่อยู่ในปลายด้านเอ็นของ Hsp90[7,14] โดยที่ geldanamycin จะเลียนแบบรูปร่างของ ATP[6-7,17] ทำให้ไม่สามารถเกิดการไฮโดรไลซ์ ATP โดยเอนไซม์ ATPase ทำให้ Hsp90 ที่อยู่ในรูปที่เกิดการรวมตัวกันกับโปรตีนที่ถูกควบคุมและแชพเพอโรนร่วมซึ่งได้แก่ p60^{Hop} และ Hsp70[4,10,14] ซึ่งจะไปกระตุ้นให้เกิดการทำลายโปรตีนถูกควบคุมโดย Hsp90 นั้นไปพร้อมกับ Hsp90 และแชเพอโรนร่วมต่าง ๆ ที่รวมตัวกันอยู่โดย proteasome แทน[13-16]

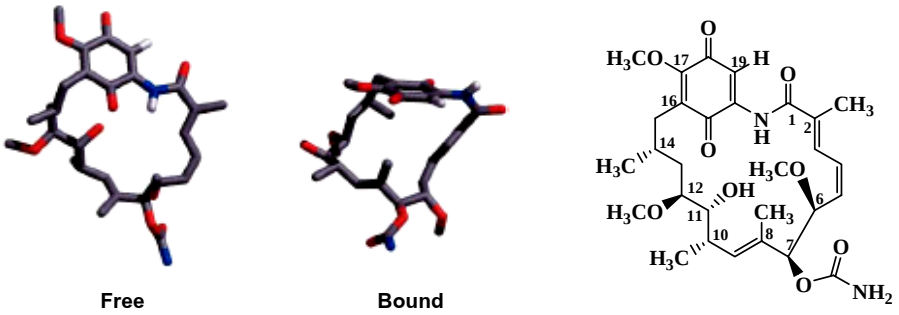
นอกจากนี้การรวมตัวของ Hsp90 กับ p23 ยังถูกขัดขวางโดย ADP อีกด้วย[4,10] ดังในรูปที่ 6[14] ซึ่งถ้าขณะนั้น Hsp90 รวมตัวอยู่กับโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการทำให้เกิดมะเร็งเช่น p185erbB2, Bcr-Abl หรือ mutant p53 ก็จะทำให้โปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการทำให้เกิดมะเร็งถูกกำจัดไป ทำให้สามารถยับยั้งการเกิดมะเร็งได้

geldanamycin จะเข้าจับกับส่วนที่ใช้จับกับ ATP ที่อยู่ในปลายด้านเอ็นของ Hsp90 ที่มีลักษณะเป็นถุง (pocket) ที่มีความลึก 15^{O}A เมื่อเปรียบเทียบกับการจับของ ADP (รูปที่ 7a) กับส่วนที่ใช้จับกับ ATP ที่อยู่ในปลายด้านเอ็นของ Hsp90 จะเห็นได้ว่า geldanamycin (รูปที่ 7b) พยายามที่จะเลียนแบบรูปแบบของ ADP โดย ADP จะใช้ส่วนของวง purine เข้าไปจับกับส่วนที่ลึกสุดของถุงแต่ geldanamycin มีลักษณะการจับที่แตกต่างออกไป คือจะใช้ส่วนของวง ansa ไปจับกับส่วนที่ลึกสุดของถุงแทน[6] ซึ่ง ADP จะยับยั้งการทำงานของ Hsp90 เช่นเดียวกับ geldanamycin

ในปัจจุบันมีสารจากธรรมชาติและอนุพันธุ์ที่แสดงกลไกการออกฤทธิ์ต้านมะเร็งโดยยับยั้งการทำงานของ Hsp90 ที่มีการศึกษาพัฒนาเพื่อใช้เป็นยารักษามะเร็งที่อยู่ในระหว่างการทดลองขั้นคลินิก คือ สารในกลุ่ม benzoquinone ansamycins ซึ่งได้แก่ geldanamycin และอนุพันธุ์[14-22] geldanamycin เป็นสารจากธรรมชาติที่สร้างโดยเชื้อ *Streptomyces hygroscopicus* ที่พบว่าเป็นสารยับยั้งการทำงานของ Hsp90 ชนิดแรก[16] geldanamycin เมื่อจับกับปลายด้านเอ็นของ Hsp90 แล้ว จะเปลี่ยนแปลงรูปร่างจากปกติ เพื่อให้สามารถแทรกเข้าไปในถุง (binding pocket) ให้ได้[17,19,20] โดยจะบิดวงให้ amide hydrogen ของ lactam มาอยู่ข้างเดียวกันกับ carbonyl oxygen รูปที่ 8[20] ทำให้วง ansa มีลักษณะขนานกันและมีรูปร่างคล้ายตัวซี (C)[19-20]



รูปที่ 7 แสดงการจับของ ADP (a) และ geldanamycin (b) กับส่วนที่ใช้จับกับ ATP ที่อยู่ในปลายด้านเอ็นของ Hsp90 (ที่มา: ดัดแปลงจากเอกสารอ้างอิงหมายเลข 6)

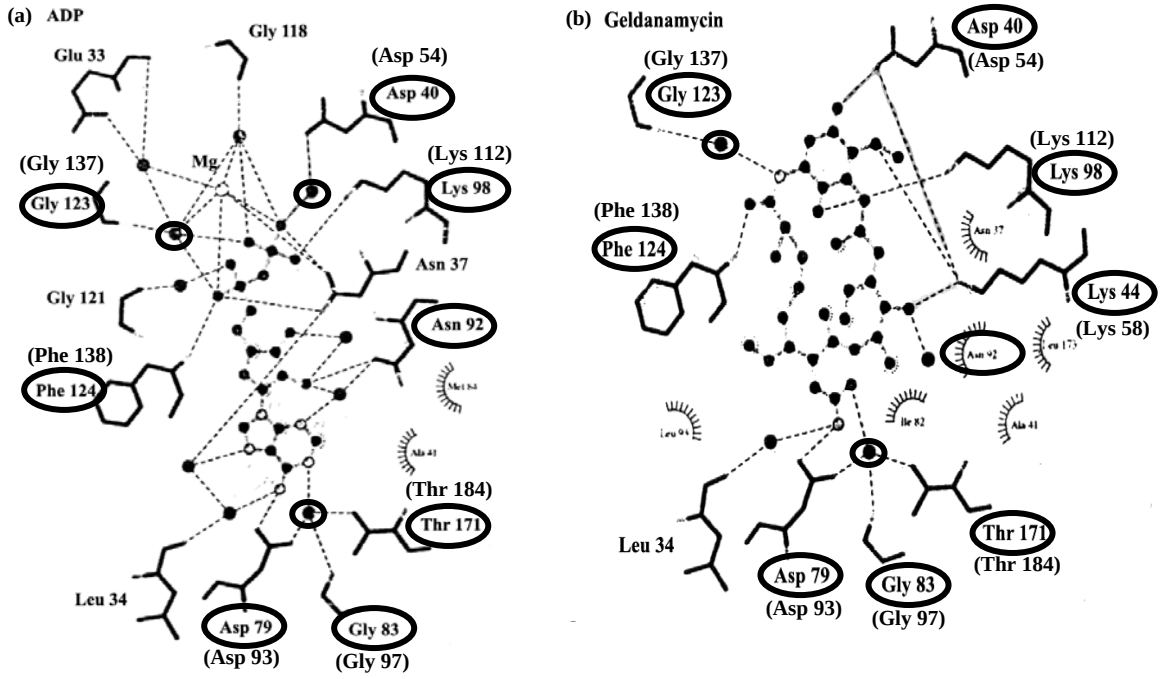


รูปที่ 8 แสดงรูปแบบของ geldanamycin ในสภาวะปกติ (a) และเมื่อจับกับ Hsp90 (b) เปรียบเทียบกับโครงสร้างสองมิติของ geldanamycin ในสภาวะปกติ (c) (ที่มา: เอกสารอ้างอิงหมายเลข 20)

การศึกษาการเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่าง geldanamycin กับกรดอะมิโนลำดับต่าง ๆ ของส่วนที่ใช้จับกับ ATP ของ Hsp90 จะใช้ Hsp90 จากยีสต์เป็นแบบจำลองในการศึกษา เนื่องจาก Hsp90 ของยีสต์มีความคล้ายคลึงกับของมนุษย์มาก มีเพียงแค่เลขลำดับของกรดอะมิโนเท่านั้นที่แตกต่างกัน โดยในที่นี้จะอธิบายควบคู่กันไป โดยแสดงลำดับกรดอะมิโนของ Hsp 90 จากยีสต์ก่อน และแสดงลำดับกรดอะมิโนของ Hsp 90 จากมนุษย์ในวงเล็บ การเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่าง geldanamycin กับกรดอะมิโนลำดับต่าง ๆ ของส่วนที่ใช้จับกับ ATP ที่อยู่ในปลายด้านเอ็นของ Hsp90 ของยีสต์[17] (Hsp90 ของมนุษย์)[8,19] จะคล้ายคลึงกับ ADP โดย geldanamycin จะเกิดพันธะไฮโดรเจนโดยตรงระหว่าง carbamate carbonyl oxygen กับ Asp79 (Asp93) และผ่านโมเลกุลของน้ำไปยัง Gly83 (Gly97) และ Thr171 (Thr184) นอกจากนี้ ยังเกิดพันธะไฮโดรเจนโดยตรงระหว่าง lactam carbonyl oxygen ไปยัง Phe124 (Phe138) จาก lactam amide nitrogen ไปยัง Gly123 (Gly137) จาก C-18 quinone oxygen ไปยัง Asp40 (Asp54) จาก C-21 quinone oxygen ไปยัง Lys98 (Lys112) โดยที่ ADP จะใช้ส่วนต่าง ๆ ในโมเลกุลเกิดพันธะไฮโดรเจนกับกรดอะมิโนลำดับต่าง ๆ ของส่วนที่ใช้จับกับ ATP ที่อยู่ในปลายด้านเอ็นของ Hsp90 ของยีสต์[17] (Hsp90 ของมนุษย์)[8] ดังนี้ คือ เกิดพันธะไฮโดรเจน

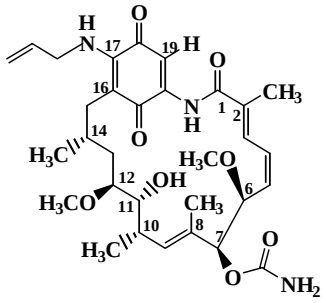
โดยตรงระหว่าง N-6 กับ Asp79 (Asp93) ใช้ N-1 เกิด H-bond ผ่านโมเลกุลของน้ำไปยัง Asp79 (Asp93), Gly83 (Gly97) และ Thr171 (Thr184) นอกจากนี้ยังเกิดพันธะไฮโดรเจนจาก oxygen ของ α-phosphate ไปยัง Phe124 (Phe138) และผ่านโมเลกุลของน้ำไปยัง Gly123 (Gly137) นอกจากนี้ยังใช้ oxygen ของ β-phosphate ไปเกิดพันธะไฮโดรเจนโดยตรงกับ Lys98 (Lys112) และผ่านทางโมเลกุลของน้ำที่สร้างเครือข่ายกับ Mg^{2+} ไปยัง Asp40 (Asp54) สิ่งที่แตกต่างกันระหว่าง ADP กับ geldanamycin ก็คือ geldanamycin จะไม่เกิดพันธะไฮโดรเจนกับ Asn92 (Asn106) อีกทั้ง โมเลกุลของ geldanamycin ยังผลักให้ Asn92 (Asn106) เปลี่ยนรูปแบบไปอยู่ด้านหลังอีกด้วย และ geldanamycin จะใช้ oxygen จาก 11-OH และ 17-OMe ไปเกิดพันธะไฮโดรเจนโดยตรงกับ Lys44 (Lys58) ในขณะที่ ADP ไม่มีอันตรกิริยากับกรดอะมิโนลำดับนี้[8,17] ดังในรูปที่ 9[17]

ปัญหาที่สำคัญของ geldanamycin คือ เกิดพิษต่อตับ[2,15] จึงได้มีการพัฒนาอนุพันธุ์ชนิดใหม่ ๆ ที่มีความเป็นพิษน้อยลง โดยใช้ geldanamycin เป็นสารต้นแบบ[14-16,18,20] คือ 17-allylamino-17-demethoxy-geldanamycin (17-AAG)[14-16,18] หรือ tanespimycin[21] ซึ่งเป็นอนุพันธุ์ที่มีการเปลี่ยนแปลงหมู่แทนที่ในตำแหน่ง 17 แล้วพบว่ามีความเป็นพิษต่อตับน้อยลงกว่า geldanamycin ซึ่งในขณะนี้กำลังอยู่ในขั้นศึกษาทดลองทางคลินิกระยะที่ 2 เพื่อใช้เป็นยาต้านมะเร็งต่อมไทรอยด์ที่ไม่สามารถทำการผ่าตัดได้[21] โดยมีกลไกการออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของ Hsp90[21] และจัดเป็น first-in-class Hsp90 inhibitor[14-16] แต่ 17-AAG มีปัญหาที่สำคัญอย่างหนึ่ง คือ ไม่สามารถละลายน้ำได้ ทำให้ยากต่อการตั้งตำรับ จึงได้มีการพัฒนาอนุพันธุ์ของ geldanamycin ขึ้นมาใหม่อีกหนึ่งชนิด ที่สามารถละลายน้ำได้และมีฤทธิ์ที่ดีกว่า 17-AAG คือ 17-desmethoxy-17-*N,N*-dimethylaminoethyl-amino-geldanamycin หรือ 17-DMAG[20] (alvespimycin HCl)[22] ซึ่งยังคงเกิดอันตรกิริยากับกรดอะมิโนลำดับต่าง ๆ ของส่วนที่ใช้จับกับ ATP ที่อยู่ในปลายด้านเอ็นของ Hsp90 ของมนุษย์ในลักษณะเดียวกับ geldanamycin ดังในรูปที่ 10[20] ในปัจจุบันนี้ 17-DMAG กำลังอยู่ในระหว่างการศึกษาทดลองทางคลินิกในระยะที่ 1 เพื่อใช้เป็นยารักษามะเร็งชนิด advanced solid tumor และ lymphoma[22]

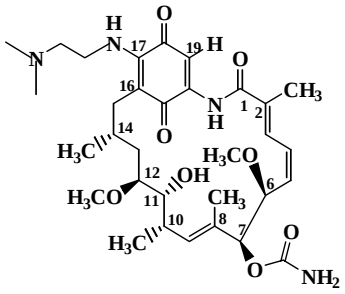


รูปที่ 9 แสดงอันตรกิริยาระหว่าง ADP (a) และ geldanamycin (b) กับ Hsp90 ของยีสต์

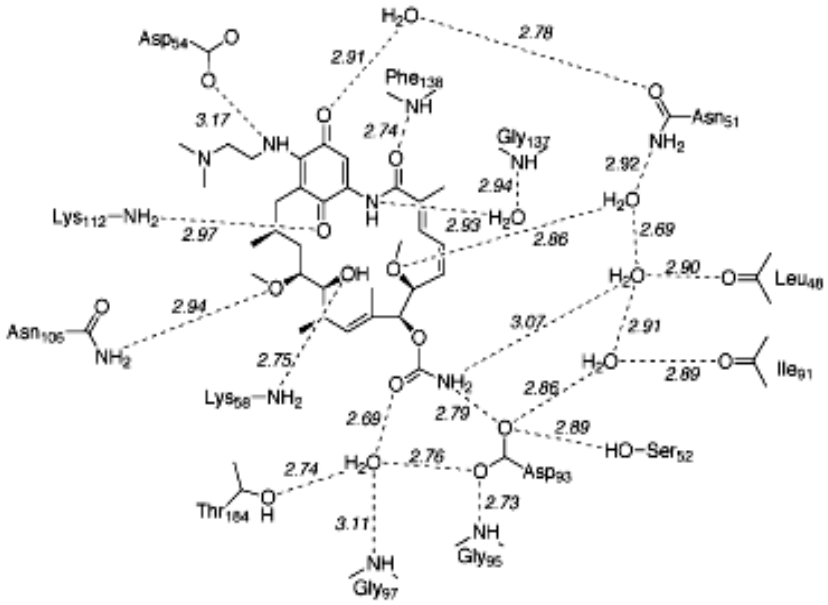
(ที่มา: ดัดแปลงจากเอกสารอ้างอิงหมายเลข 8 และ 17)



17-AAG



17-DMAG



รูปที่ 10 แสดงอันตรกิริยาระหว่าง 17-DMAG กับ Hsp90 ของมนุษย์ (ที่มา: เอกสารอ้างอิงหมายเลข 20)

พันธะไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นกับกรดอะมิโนลำดับต่าง ๆ ของส่วนที่ใช้จับกับ ATP ที่อยู่ในปลายด้านเอ็นของ Hsp90 ของมนุษย์ในส่วนของวง ansa ยังคงเหมือนกับ geldanamycin ยกเว้นแต่มีเพียงเฉพาะ 11-OH ของ 17-DMAG เท่านั้นที่เกิดอันตรกิริยากับ Lys58 และหมู่แทนที่ในตำแหน่งที่ 17 ของ 17-DMAG จะใช้หมู่ NH ไปเกิดพันธะไฮโดรเจนกับ Asp54 ซึ่งแต่เดิมเกิดอันตรกิริยาอยู่กับ C-18 quinone oxygen ก็จะย้ายไปเกิดพันธะไฮโดรเจนผ่านทางโมเลกุลของน้ำไปยัง Asn51 แทน[20]

จะเห็นได้ว่า Hsp90 ของยีสต์ตำแหน่ง Asp79 หรือ Hsp90 ของมนุษย์ตำแหน่ง Asp93 เป็นตำแหน่งที่สำคัญต่อการแสดงฤทธิ์ของสารยับยั้งการทำงานของ Hsp90 รวมทั้งการจับกับ ATP ของ Hsp90 ด้วย ถ้าเกิดการเปลี่ยนแปลง (mutation) ของลำดับกรดอะมิโนที่ตำแหน่งนี้ จะทำให้ ATP ไม่สามารถจับกับส่วนที่ใช้จับกับ ATP ที่อยู่ในปลายด้านเอ็นของ Hsp90 ทำให้ Hsp90 ไม่สามารถทำงานได้[9] และถ้าทำการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีของสารยับยั้งการทำงานของ Hsp90 ให้ไม่สามารถเกิดอันตรกิริยาลำดับกรดอะมิโนที่ตำแหน่งนี้ของส่วนที่ใช้จับกับ ATP ที่อยู่ในปลายด้านเอ็นของ Hsp90 ทำให้ยาไม่สามารถออกฤทธิ์ได้เช่นกัน[17] และจากการที่การเรียงลำดับกรดอะมิโนของ Hsp90 ในมนุษย์และยีสต์มีความคล้ายคลึงกันถึง 69% ดังนั้นโครงสร้างตติยภูมิ (tertiary structure) ของทั้งคู่จึงคล้ายกันเพียงแต่เลขลำดับเท่านั้นที่เปลี่ยนไป[8]

บทสรุป

จากข้อมูลทั้งหมดที่กล่าวมาแล้วข้างต้น สามารถสรุปได้ว่ากลไกการต้านมะเร็งของสารยับยั้งการทำงานของ Hsp90 นั้นเกิดจากการยับยั้งการทำงานของ Hsp90 ซึ่งทำงานร่วมกับแช

เพอโรนและแชเพอโรนร่วมหลายชนิดในลักษณะที่เป็นกลุ่ม (multichaperone complex) ในการกระตุ้นการทำงานของโปรตีน เช่น ตัวรับฮอร์โมนสเตียรอยด์ รวมทั้งช่วยคงรูปร่างของโปรตีนที่ทำหน้าที่ในการส่งสัญญาณภายในเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมวงจรชีวิตของเซลล์ การเพิ่มจำนวนของเซลล์ และการดำรงชีวิตของเซลล์ โดยเฉพาะโปรตีนที่ทำหน้าที่ในการส่งสัญญาณภายในเซลล์ที่พบว่ามีการแสดงออกมากกว่าปกติในเซลล์มะเร็ง เช่น p53 กลายพันธุ์, p185erbB2, และ Bcr-Abl เป็นต้น โดยการช่วยให้โปรตีนเหล่านี้มีรูปแบบเหมาะสมต่อการทำหน้าที่ของโปรตีนแต่ละชนิดภายในเซลล์ เมื่อสารยับยั้งการทำงานของ Hsp90 เข้าไปจับกับส่วนที่ใช้จับกับ ATP ที่อยู่ในปลายด้านเอ็นของ Hsp90 ทำให้เกิดการยับยั้งการแสดงฤทธิ์ ATPase ของ Hsp90 และรูปแบบของ Hsp90 จะไม่เหมาะสมที่จะจับกับ p23 ซึ่งเป็นแชเพอโรนร่วมที่ช่วยในการจัดรูปร่างโปรตีนเหล่านี้ให้มีรูปร่างที่เหมาะสมต่อการทำหน้าที่ของโปรตีนเหล่านั้น จากนั้นการรวมตัวของ Hsp90-โปรตีนที่ถูกควบคุมโดย Hsp90-Hsp70-p60^{Hop} จะกระตุ้นให้โปรตีนที่ถูกควบคุมโดย Hsp90 ซึ่งมักจะเป็นโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการก่อให้เกิดมะเร็งถูกทำลายโดย proteasome แทน ทำให้โปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการก่อให้เกิดมะเร็งเหล่านั้นถูกทำลายไป ทำให้สามารถยับยั้งการเกิดมะเร็งได้

การที่ Hsp90 พบได้ทั่วไปในเซลล์ปกติแต่สามารถนำมาใช้เป็นเป้าหมายระดับโมเลกุลในการรักษามะเร็งได้นั้น เนื่องมาจากในเซลล์มะเร็งจะมีการพบ Hsp90 ในปริมาณที่มากกว่าเซลล์ปกติมากเนื่องจากสภาวะการเกิดมะเร็งนั้นจัดเป็นสภาวะผิดปกติของเซลล์ (stress) รูปแบบหนึ่งทำให้มีการแสดงออกของ Hsp90 มากกว่าปกติไปด้วย นอกจากนั้นโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการส่งสัญญาณภายในเซลล์ที่ถูกควบคุมโดย Hsp90 มักเป็นโปรตีนที่มีความเกี่ยวข้องกับการเกิดมะเร็ง เช่น p53 กลายพันธุ์, p185erbB2, และ Bcr-Abl เป็นต้น ทำให้การออกฤทธิ์ของสารยับยั้งการทำงานของ Hsp90 ออกฤทธิ์ต่อเซลล์มะเร็งมากกว่าที่เซลล์ปกติ แต่อย่างไรก็ตามก็ยังคงมีผลต่อเซลล์ปกติอยู่บ้างเช่นเดียวกันกับยาต้านมะเร็งอื่น ๆ

จากการที่มีการค้นพบ geldanamycin ซึ่งเป็นสารจากธรรมชาติที่มีฤทธิ์ต้านมะเร็งที่สามารถยับยั้งการทำงานของ Hsp90 ทำให้ Hsp90 เป็นเป้าหมายในระดับโมเลกุลชนิดใหม่ที่น่าสนใจในการพัฒนายาต้านมะเร็งที่มีกลไกการออกฤทธิ์ที่แตกต่างออกไปจากยาที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน ซึ่งเป็นการเพิ่มหนทางในการรักษาโรคมะเร็งอีกทางหนึ่ง ขณะนี้มีการศึกษาสารอนุพันธุ์ที่ได้จากการเปลี่ยนแปลงหมู่แทนที่ในตำแหน่ง C-17 ของ geldanamycin คือ 17-allylamino-17-demethoxy-geldanamycin (17-AAG) และ 17-desmethoxy-17-*N,N*-dimethyl-aminoethyl-amino-geldanamycin (17-DMAG) ซึ่งอยู่ในระหว่างการศึกษาทดลองทางคลินิกในระยะที่ 2 และ 1 ตามลำดับ

เอกสารอ้างอิง

1. Maloney A, Workman P. Hsp90 as a new therapeutic target for cancer therapy: the story unfolds. *Expert Opin Biol Ther* 2002;2(1):3-24.
2. Csermely P, Schnaider T, Söti C, Prohászka Z, Nardai G. The 90-kDa molecular chaperone family: structure, function, and clinical applications. A comprehensive review. *Pharmacol Ther* 1998;79(2):129-168.
3. Scheibel T, Buchner J. The hsp90 complex a super-chaperone machine as a novel drug target. *Biochem Pharmacol* 1998;56:675-682.
4. Toft DO. Recent advances in the study of hsp90 structure and mechanism of action. *Trends Endocrinol Metab* 1998;9(6):238-243.
5. Mayer MP, Bukau B. Molecular chaperones: the busy life of hsp90. *Curr Biol* 1999;9:R322-R325.
6. Pearl LH, Prodromou C. Structure and *in vivo* function of hsp90. *Curr Opin Struct Biol* 2000;10:46-51.
7. Buchner J. Hsp90 & Co. - a holding for folding. *Trends Biochem Sci* 1999;24:136-141.
8. Prodromou C, Roe SM, O'Brien R, Ladbury JE, Piper PW, Pearl LH. Identification and structure characterization of the ATP/ADP-binding site in the hsp90 molecular chaperone. *Cell* 1997;90:65-75.
9. Panaretou B, Prodromou C, Roe SM, et al. ATP binding and hydrolysis are essential to the function of the hsp90 molecular chaperone *in vivo*. *EMBO J* 1998;17(16):4829-4836.
10. Neckers L, Mimnaugh E, Schulte TW. Hsp90 as an anti-cancer target. *Drug Resist Updat* 1999;2:165-172.
11. Young JC, Barral JM, Hartl FU. More than folding: localized functions of cytosolic chaperones. *Trends Biochem Sci* 2003;28(10):541-547.
12. Meyer P, Prodromou C, Hu B, et al. Structural and functional analysis of the middle segment of hsp90: implications for ATP hydrolysis and client protein and cochaperone interactions. *Mol Cell* 2003;11:647-658.

13. Schneider C, Sepp-Lorenzino L, Nimmesgern E, et al. Pharmacologic shifting of a balance between protein refolding and degradation mediated by hsp90. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:14536-14541.
14. Neckers L. Hsp90 inhibitors as novel cancer chemo-therapeutic agents. *Trends Mol Med* 2002;8(4)(suppl): S55-S61.
15. Workman P. Pharmacogenomics in cancer drug discovery and development: inhibitors of the hsp90 molecular chaperone. *Cancer Detect Prev* 2002;26:405-410.
16. Sreedhar AS, Sõti C, Csermely P. Inhibition of hsp90: a new strategy for inhibiting protein kinases. *Biochim Biophys Acta* 2004;1697:233-242.
17. Roe SM, Prodromou C, O'Brien R, Ladbury JE, Piper PW, Pearl LH. Structural basis for inhibition of the hsp90 molecular chaperone by the antimor antibiotics radicicol and geldanamycin. *J med Chem* 1999;42:260-266.
18. Westwell AD. Monitor and molecules. *Drug Discov Today* 2001;6(20):1070-1071.
19. Stebbins CE, Russo AA, Schneider C, Rosen N, Hartl FU, Pavletich NP. Crystal structure of an hsp90-geldanamycin complex: targeting of a protein chaperone by an antitumor agent. *Cell* 1997;89:239-250.
20. Jez JM, Chen JCH, Rastelli G, Stroud RM, Santi DV. Crystal structure and molecular modeling of 17-DMAG in complex with human hsp90. *Chem Biol* 2003;10:361-368.
21. US National Institutes of Health. 17-AAG in Treating patients with inoperable locoregionally advanced or metastatic thyroid cancer. (สืบค้นข้อมูลเมื่อ 23 มิถุนายน 2552, ที่ http://clinicaltrials.gov/ct2/show/ NCT00118248)
22. US National Institutes of Health. 17-DMAG in treating patients with an advanced solid tumor or lymphoma. (สืบค้นข้อมูลเมื่อ 23 มิถุนายน 2552, ที่ http://clinicaltrials. gov/ct2/show/NCT00088868)