บทบาทของเอนไซม์ไซโตโครมพี 450 ในการรักษามะเร็ง

Role of Cytochrome P450 Enzymes in Cancer Treatment

นิพนธ์ปริทัศน์ | Review Article

เบญจมาศ คุชนี*

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม จ.มหาสารคาม

* **ติดต่อผู้นิพนธ์:** bwarasiha@yahoo.com

วารสารไทยเภสัชศาสตร์และวิทยาการสุขภาพ 2555;7(1):44-51

Benjamart Cushnie*

Faculty of Pharmacy, Mahasarakham University, Mahasarakham, Thailand

* **Corresponding author:** bwarasiha@yahoo.com

Thai Pharmaceutical and Health Science Journal 2012;7(1):44-51

บทคัดย่อ

การผลิตยาต้านมะเร็งชนิดใหม่ที่มีประสิทธิผลสูงและจำเพาะต่อเซลล์มะเร็งเป็นสิ่งที่ทางการแพทย์จำเป็นต้องให้ความสำคัญในการค้นหาและพัฒนาอย่างเร่งด่วน กลุ่มเอนไซม์ cytochrome P450 (P450) ซึ่งมีหน้าที่เปลี่ยนแปลงสารใน phase I จัดว่าเป็นเอนไซม์กลุ่มหนึ่งที่ได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก เนื่องจากมีบทบาทและความสำคัญในการก่อให้เกิดมะเร็งและการดำเนินของโรค อีกทั้งมีการแสดงออกที่จำเพาะต่อเซลล์มะเร็ง ได้แก่ เอนไซม์ CYP1B1 ความรู้เกี่ยวกับสารตั้งต้นและกลไกการออกฤทธิ์ของเอนไซม์นี้ ได้ถูกนำมาประยุกต์ในการพัฒนายาใหม่ และ/หรือ ปรับปรุงรูปแบบยาเคมีบำบัดที่ใช้กันในปัจจุบันให้มีประสิทธิผลดียิ่งขึ้น ทั้งนี้เพื่อจำเพาะต่อเซลล์มะเร็งเท่านั้นและลดความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ วัตถุประสงค์ของการทบทวนวรรณกรรมในครั้งนี้เพื่อรวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับบทบาทของเอนไซม์ P450 ในแนวทางการรักษามะเร็งแบบใหม่ ได้แก่ การยับยั้งเอนไซม์ P450 ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดมะเร็ง ยาในรูป prodrug และพันธุกรรมบำบัด เป็นต้น

คำสำคัญ: เอนไซม์ไซโตโครมพี 450, การรักษามะเร็ง, ออกฤทธิ์แบบมุ่งเป้าหมาย, แสดงออกที่จำเพาะต่อเซลล์มะเร็ง

Abstract

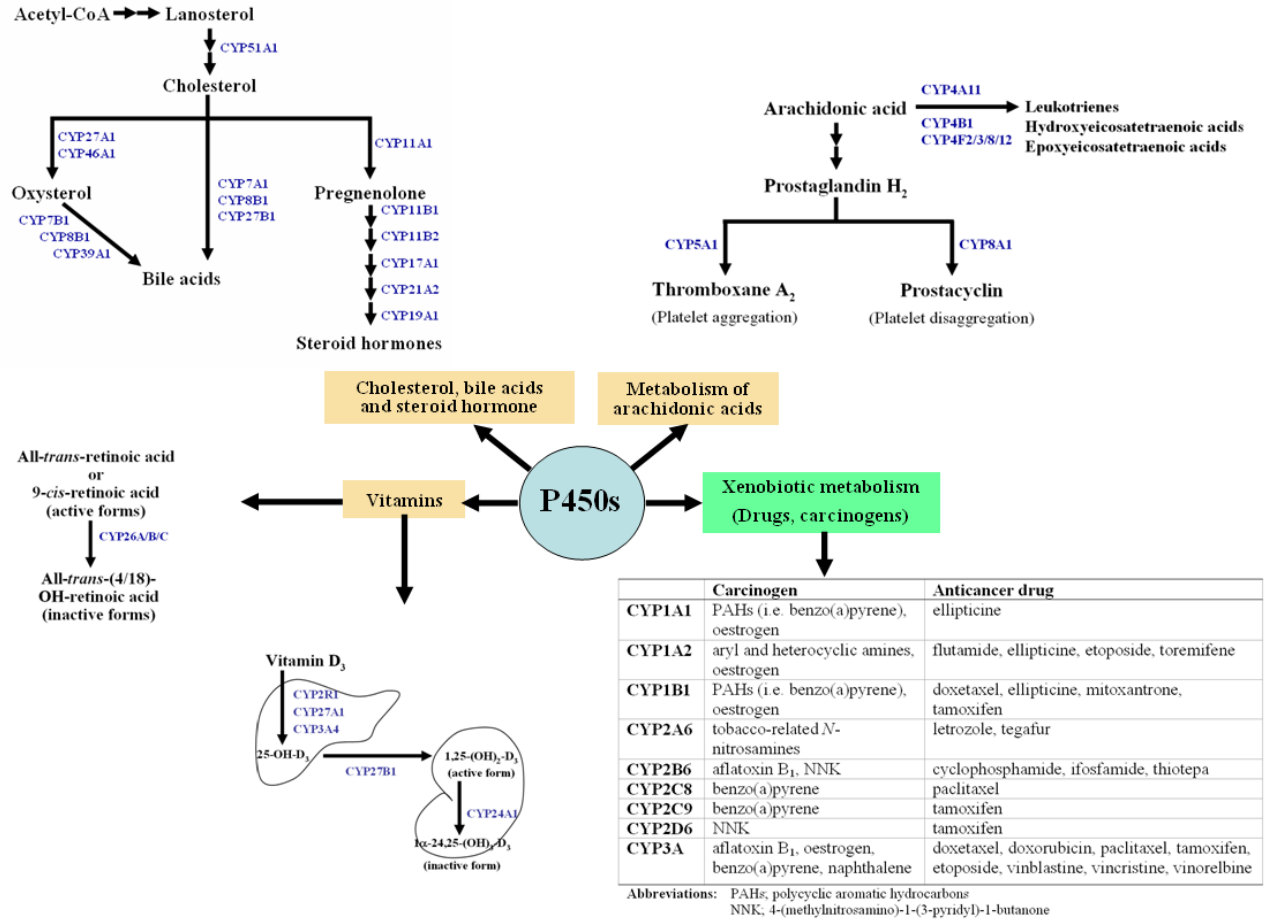
Novel anticancer agents with improved efficacy and selectivity are urgently needed. The cytochrome P450 family of enzymes (P450), which is involved in the Phase I metabolism of a wide variety of compounds, represents an interesting target for cancer research. The role and importance of P450 enzymes in cancer formation and progression has led to the development of cancer therapeutics based on P450 expression and metabolic pathways. Some P450 enzymes have been identified as having tumor-specific expression, for instance CYP1B1. Knowledge in these enzymes' substrate and mechanism of action in tumor cells has become very useful in the design of new chemotherapeutics and/or development of more effective existing anticancer drugs. It can help reduce systemic toxicity and enhance specificity to tumor cells. This review aims to outline the applications of P450 enzymes in cancer therapy. Applications include inhibition of enzymes involved in hormone-dependent cancer and vitamin metabolism, development of prodrugs activated by enzymes, and P450-mediated gene therapy.

Keywords: cytochrome P450 enzymes, cancer treatment, targeted therapy, tumor-specific expression

บทนำ

เอนไซม์ cytochrome P450 (P450) ถูกค้นพบประมาณเมื่อ 50 กว่าปีที่แล้ว เป็นกลุ่มเอนไซม์ขนาดใหญ่ที่มีเหล็กเป็นองค์ประกอบภายในโมเลกุล (heme-containing protein) สามารถพบได้ในสิ่งมีชีวิตหลายชนิด เช่น แบคทีเรีย รา พืชและสัตว์ ส่วนในมนุษย์นั้นปัจจุบันพบว่ามีทั้งสิ้น 57 ไอโซฟอร์ม (isoform) จาก 18 แฟมิลี่ (family) และ 43 แฟมิลี่ย่อย (subfamily)[1] ระบบการเรียกชื่อเอนไซม์ P450 ขึ้นอยู่กับความคล้ายคลึงของลำดับกรดอะมิโน (amino acid sequence similarity) ถ้าคล้ายคลึงกันร้อยละ 40 ขึ้นไป จัดอยู่ในแฟมิลี่เดียวกัน โดยแสดงเป็นเลขอารบิก เช่น CYP**1**, CYP**2**, CYP**3** แต่ถ้าคล้ายคลึงกันร้อยละ 55 ขึ้นไป จัดอยู่ในแฟมิลี่ย่อยเดียวกัน จะแสดงเป็นตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวใหญ่ เช่น CYP1**A**, CYP2**B**, CYP3**A** ส่วนไอโซฟอร์มแสดงเป็นตัวเลขอารบิกอยู่หลังอักษรภาษาอังกฤษ โดยส่วนใหญ่กำกับตามลำดับการค้นพบก่อน-หลัง เช่น CYP1A**1** ค้นพบก่อน CYP1A**2**[2] เอนไซม์ P450 มีบทบาทสำคัญหลายประการ ได้แก่ เกี่ยวข้องกับวิถีการสังเคราะห์และการสลาย (biosynthesis and catalysis pathways) ของสารจำเป็นภายในร่างกาย (endogenous compounds) เช่น cholesterol, steroid hormones, bile acids, vitamins และ arachidonic acid และยังเกี่ยวข้องกับเมแทบอลิซึม (metabolism) สารแปลกปลอมภายนอกร่างกาย (exogenous compounds หรือ xenobiotics) เช่น ยารักษาโรค สารก่อมะเร็งที่อาจพบปนเปื้อนในอาหารหรือสิ่งแวดล้อม[3,4] ดังแสดงในรูปที่ 1

เอนไซม์ P450 โดยส่วนใหญ่แสดงออก (expression) ภายในตับ แต่สามารถพบได้ภายนอกตับเช่นกัน ได้แก่ สมอง ปอด เต้านม ลำไส้ใหญ่ เป็นต้น[3,4] แต่มีสิ่งหนึ่งที่น่าสนใจเกี่ยวกับการแสดงออกของเอนไซม์ P450 นั่นคือ มีบางไอโซฟอร์มที่มีการแสดงออกที่จำเพาะต่อเนื้อเยื่อมะเร็งเมื่อเปรียบเทียบเนื้อเยื่อปกติในคนคนเดียวกัน หรืออาจเรียกว่า 'tumor-specific expression' ยกตัวอย่างเช่น CYP1B1 มีการแสดงออกที่มากเกิน (overexpression) ในเนื้อเยื่อมะเร็งหลายชนิด ได้แก่ มะเร็งเต้านม มะเร็งรังไข่ มะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนัก เป็นต้น[5-8] นอกจากนี้ยังพบปรากฏการณ์เช่นนี้ในเอนไซม์ CYP4Z1 และ CYP2W1 ซึ่ง

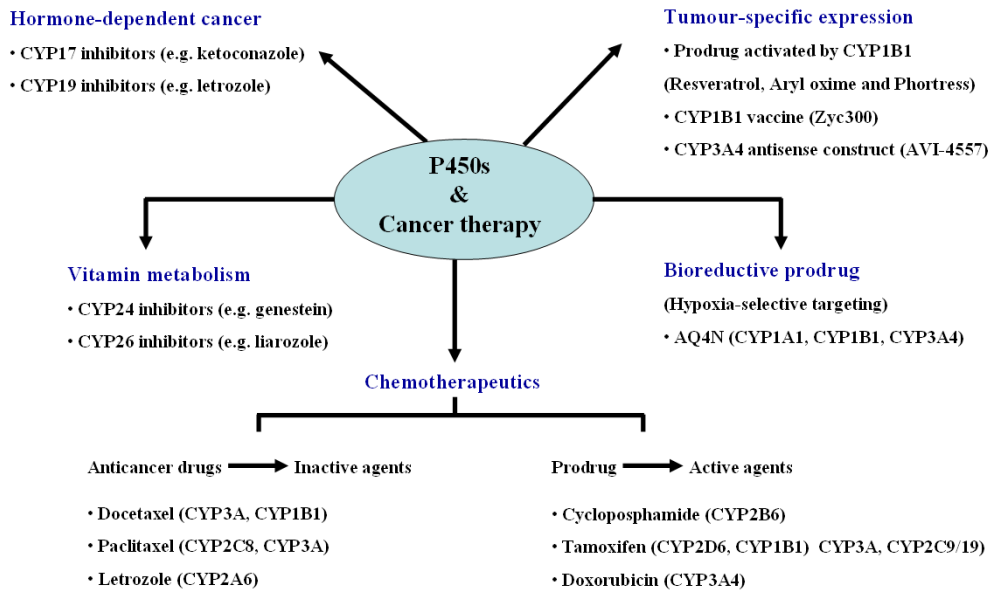


รูปที่ 1 สรุปบทบาทและหน้าที่ของเอนไซม์ P450 ที่เกี่ยวข้องกับการเมแทบอลิซึมของสารจากภายในและภายนอกร่างกาย

เป็นไอโซฟอร์มใหม่ที่เพิ่งค้นพบเมื่อประมาณ 6 ปีที่แล้ว พบการแสดงออกของเอนไซม์ CYP4Z1 ที่มากเกินในเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านมแต่ไม่พบในเนื้อเยื่อเต้านมปกติ อีกทั้งพบความสัมพันธ์นี้ในผู้ป่วยมะเร็งรังไข่ที่มีการพยากรณ์โรคไม่ดี (poor prognosis)[9] ส่วนเอนไซม์ CYP2W1 พบการแสดงออกที่มากเกินในมะเร็งลำไส้ใหญ่แต่ไม่พบในเนื้อเยื่อลำไส้ใหญ่ปกติ[10] จากข้อมูลข้างต้นนี้จึงมีนักวิจัยหลายกลุ่มได้ให้ความสนใจในการพัฒนายาใหม่แบบมุ่งเป้าหมายที่เอนไซม์ P450 เพื่อหวังผลให้เกิดประสิทธิผลในการรักษาสูงสุดและเกิดอาการพิษหรืออาการไม่พึงประสงค์น้อยที่สุด หรืออีกนัยหนึ่งก็คือ ทำลายเซลล์มะเร็งเท่านั้นแต่ไม่มีผลต่อเซลล์ปกตินั่นเอง

จากบทบาทและความสำคัญของเอนไซม์ P450 ที่เกี่ยวข้องกับยาต้านมะเร็งหรือมีผลต่อกระบวนการเกิดมะเร็งที่กล่าวข้างต้น จึงนำมาสู่แนวทางการพัฒนายาต้านมะเร็งแบบใหม่ โดยอาศัยความรู้ความเข้าใจพื้นฐานเกี่ยวกับวิถีเมแทบอลิซึมที่มีต่อสารภายในหรือสารภายนอกร่างกาย หรือแม้แต่การแสดงออกของเอนไซม์ P450 ที่จำเพาะต่อมะเร็งนั้น ๆ ข้อมูลเกี่ยวกับสารตั้งต้น (substrate) หรือกลไกการออกฤทธิ์ (mechanism of action) ของเอนไซม์ P450 ในเซลล์มะเร็ง ถือได้ว่าเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการออกแบบยาต้านมะเร็งรุ่นใหม่ และ/หรือ การพัฒนายาต้านมะเร็งแบบดั้งเดิมที่ใช้กันในทางคลินิกให้มีประสิทธิผลในการรักษาดีขึ้นกว่าเดิม โดยที่พยายามลดระดับความรุนแรงของอาการไม่พึงประสงค์และมีความจำเพาะต่อเซลล์มะเร็งมากยิ่งขึ้น ดังนั้นการทบทวนวรรณกรรมในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อรวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับบทบาทของเอนไซม์ P450 ในแนวทางการรักษามะเร็งแบบใหม่ โดยอาจสรุปได้เป็น 4 กลุ่มใหญ่ คือ[5,11-13] (รูปที่ 2)

1) การยับยั้งเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดมะเร็งที่สัมพันธ์กับฮอร์โมน (hormone-dependent cancer)
2) การยับยั้งเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับวิถีเมแทบอลิซึมของวิตามิน
3) การออกแบบ prodrugs ที่ถูกกระตุ้นโดยเอนไซม์ที่จำเพาะอยู่ภายในเซลล์มะเร็งเท่านั้น
4) พันธุกรรมบำบัด (gene therapy) โดยมุ่งเป้าหมายที่เอนไซม์ที่มีความจำเพาะต่อเซลล์มะเร็ง



รูปที่ 2 สรุปการประยุกต์ใช้เอนไซม์ P450 ในการรักษามะเร็ง

การยับยั้งเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดมะเร็งที่สัมพันธ์กับฮอร์โมน

เอนไซม์ CYP17A1 (17alpha-hydroxylase หรือ 17,20-lyase) มีการแสดงออกที่ต่อมอะดรีนอล อัณฑะ รกและรังไข่ เอนไซม์นี้มีหน้าที่สำคัญในการควบคุมกระบวนการสร้างฮอร์โมนแอนโดรเจน (androgen) ซึ่งเป็นฮอร์โมนเพศชายที่ควบคุมการเปลี่ยนแปลงทางเพศและลักษณะทางกายภาพของร่างกาย อย่างไรก็ตามเชื่อว่าฮอร์โมนนี้มีบทบาทสำคัญในการก่อให้เกิดโรค 'androgen-dependent diseases' โดยเฉพาะมะเร็งต่อมลูกหมาก[14] ดังนั้นจึงมีการพัฒนายาที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ CYP17A1 ได้แก่ abiraterone, ketoconazole, VN/124-1 (TOK-001) และ TAK-700 ในการรักษาผู้ป่วยมะเร็งต่อมลูกหมาก ซึ่งพบว่าได้ผลในการรักษาเป็นอย่างดี เนื่องจากยาเหล่านี้ช่วยลดระดับฮอร์โมนแอนโดรเจนและเทสโทสเตอโรน ขณะนี้มีนักวิจัยหลายกลุ่มได้ให้ความสนใจในการศึกษาระดับคลินิกเพื่อพัฒนาประสิทธิผลในการรักษาต่อไป[15,16]

เอนไซม์ CYP19A1 (aromatase หรือ estrogen synthase) มีการแสดงออกในหลายเนื้อเยื่อ ได้แก่ รังไข่ รก กระดูก เลดิกเซลล์ (leydig cells) และเนื้อเยื่อไขมัน (adipose tissue) เอนไซม์ CYP19A1 ทำหน้าที่เปลี่ยนแอนโดรเจน (androgen) ไปเป็นเอสโตรเจน (estrogen) โดยเปลี่ยนแอนโดรสตีนไดโอน (androstenedione) ไปเป็นเอสโตรน (estrone) อีกทั้งเปลี่ยนเทสโทสเทอโรน (testosterone) ไปเป็นเอสตราไดออล (estradiol)[17] มีหลายงานวิจัยรายงานว่า พบการแสดงออกของเอนไซม์ CYP19A1 ที่เพิ่มสูงขึ้นในเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านม ดังนั้นจึงมีการพัฒนายาที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ CYP19A1 ซึ่งได้แก่ letrozole, anastrazole และ exemestane เพื่อใช้ในการรักษาผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่มีตัวรับเอสโตรเจน (estrogen receptor) เนื่องจากยาเหล่านี้มีผลยับยั้งการสร้างเอสโตรเจนในเนื้อเยื่อเป้าหมายและมีผลเพิ่มอัตราการรอดชีวิตของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะลุกลาม (metastatic breast cancer)[18,19]

การยับยั้งเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับวิถีเมแทบอลิซึมของวิตามิน

เอนไซม์ CYP26A1 มีการแสดงออกทั้งเนื้อเยื่อในตับและนอกตับ (ได้แก่ สมอง และ รก) เอนไซม์นี้มีบทบาทเกี่ยวข้องกับการทำให้ all-*trans*-retinoic acid (ATRA) หมดฤทธิ์ (inactivation) จากที่ทราบกันดีว่า ATRA เป็นเมแทบอไลต์ที่มีฤทธิ์ (active metabolite) ของวิตามินเอและมีหน้าที่ในการเปลี่ยนแปลงเซลล์เพื่อทำหน้าที่ต่างๆ (cell differentiation) และยังเกี่ยวข้องกับการแบ่งตัวของเซลล์ (cell proliferation) โดยเฉพาะในส่วนอีพิธีเลียลเซลล์ (epithelial cells) การมองเห็นและระบบสืบพันธุ์[20] นอกจากนี้ ยังพบว่า ATRA ทำให้เกิดการเหนี่ยวนำการตายแบบอะพอพโทซิส (apoptosis) ในเซลล์มะเร็งหลายชนิด ซึ่งบ่งชี้ได้ว่า ATRA อาจใช้เป็นสารป้องกันการเกิดมะเร็ง (chemo-preventive agent) ได้ต่อไป[21] ในขณะเดียวกัน Downie และคณะพบระดับการแสดงออกของเอนไซม์ CYP26A1 มากเกินในเนื้อเยื่อมะเร็งรังไข่เมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อเยื่อปกติ อีกทั้งพบระดับการแสดงออกของเอนไซม์ CYP26A1 แปรผกผันกับปริมาณของ ATRA ในเนื้อเยื่อเป้าหมาย[9] จากข้อมูลข้างต้นอาจกล่าวได้ว่าการยับยั้งเอนไซม์ CYP26A1 มีผลทำให้เพิ่มปริมาณของ ATRA และลดการสลายของ ATRA ซึ่งเป็นหนึ่งในแนวทางการรักษามะเร็ง สารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ CYP26A1 ได้แก่ liarozole, R115866 และ R116010 อย่างไรก็ตาม พบว่า liarozole ยังขาดคุณสมบัติที่จำเพาะต่อเอนไซม์และยังมีความแรงที่ค่อนข้างอ่อน ดังนั้นจึงไม่ได้รับการพัฒนาในการใช้เป็นยาต้านมะเร็งในขั้นต่อไป

ในขณะที่ R116010 มีความแรงที่มากกว่าและจำเพาะต่อ CYP26A1 ค่อนข้างสูง[22] ซึ่งขณะนี้ได้ถูกนำมาทดสอบในระดับก่อนคลินิก *(pre-clinical trial)* ในผู้ป่วยมะเร็งที่สัมพันธ์กับฮอร์โมนเพศ ได้แก่ มะเร็งต่อมลูกหมากและมะเร็งเต้านม[22,23]

เอนไซม์ CYP24A1 (1,25-$(OH)_2D_3$-24-hydroxylase) มีการแสดงออกในหลายเนื้อเยื่อ ได้แก่ ไต ตับและระบบทางเดินอาหาร มีหน้าที่สำคัญในการทำลาย (degradation) *วิตามินดี 3* (cholecalciferol หรือ 1,25-$(OH)_2D_3$) ซึ่งเป็นเมแทบอไลต์ที่มีฤทธิ์ของวิตามินดีและมีบทบาทในการยับยั้งกระบวนการแบ่งตัวของเซลล์ ส่งเสริมการเปลี่ยนแปลงเซลล์เพื่อทำหน้าที่ต่างๆ อีกทั้งยังเหนี่ยวนำการตายแบบอะพอพโทซิส[24,25] มีหลายงานวิจัยแสดงให้เห็นว่าการแสดงออกที่มากเกิน (overexpression) ของเอนไซม์ CYP24A1 พบในเนื้อเยื่อมะเร็งหลายชนิดด้วยกัน ได้แก่ มะเร็งเต้านม มะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนัก มะเร็งปอด เป็นต้น ทั้งนี้โดยการเปรียบเทียบกับเนื้อเยื่อปกติ[26-28] จึงอาจกล่าวได้ว่า CYP24A1 เป็น oncogene ชนิดหนึ่ง[27] จึงนำมาสู่แนวคิดที่ว่าการยับยั้งการแสดงออกของเอนไซม์ CYP24A1 จะมีผลทำให้เพิ่มปริมาณของวิตามินดี 3 ซึ่งมีฤทธิ์ต้านมะเร็ง สารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ CYP24A1 ได้แก่ genestein, QW-1624F2-2 และ EB1089 ซึ่งสารเหล่านี้มีโครงสร้างทางเคมีคล้ายกับวิตามินดี 3 (vitamin D3 analogs) และสามารถยับยั้งการแสดงออกของเอนไซม์ CYP24A1 อีกด้วย[12] เมื่อไม่นานมานี้ Sundaram และคณะ ได้แสดงให้เห็นว่า QW-1624F2-2 สามารถยับยั้งกระบวนการแบ่งตัวของเซลล์และการลุกลามของเซลล์มะเร็งเต้านมได้เป็นอย่างดี ดังนั้นจึงได้รับความสนใจในการใช้เป็นยาต้านมะเร็งที่มีประสิทธิภาพสูงในการรักษามะเร็งเต้านม ซึ่งขณะนี้ได้ถูกนำมาทดสอบในระดับก่อนคลินิก[29]

การออกแบบ prodrugs ที่กระตุ้นโดยเอนไซม์ซึ่งอยู่จำเพาะภายในเซลล์มะเร็งเท่านั้น

กลุ่มเซลล์ในส่วนแกนที่อยู่ตรงกลางของก้อนมะเร็ง (solid tumor) ประกอบไปด้วยเซลล์ที่ตายแล้ว เนื่องจากเซลล์อยู่ห่างจากหลอดเลือดฝอย ทำให้เซลล์เหล่านั้นอยู่ในภาวะขาดออกซิเจน (hypoxic conditions) ในทางคลินิกพบว่าส่วนแกนของก้อนมะเร็งนี้มักก่อให้เกิดการดื้อต่อยาเคมีบำบัดและรังสีรักษาสูง ทำให้เกิดความล้มเหลวในการรักษาผู้ป่วยมะเร็ง จากข้อมูลเกี่ยวกับคุณสมบัติที่จำเพาะของก้อนมะเร็งนี้ ทำให้มีนักวิจัยจำนวนไม่น้อยเริ่มมีการพัฒนาและออกแบบยาต้านมะเร็งในรูปที่ไม่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา (prodrug) จนกว่าจะได้รับการกระตุ้นโดยปฏิกิริยาทางเคมี หรือเอนไซม์ที่เจาะจงต่อการถูกเปลี่ยนแปลง โดยเอนไซม์ที่พบภายใต้ภาวะขาดออกซิเจนในส่วนแกนของก้อนมะเร็งเท่านั้น (hypoxia-activated prodrug หรือ bioreductive drugs) prodrug ที่กล่าวถึงนี้ถูกออกแบบให้สามารถถูกรีดิวซ์อย่างน้อยสองครั้งเพื่อเตรียมพร้อมให้สามารถเกิดปฏิกิริยาย้อนกลับในภาวะที่มีออกซิเจนได้ (oxygen-sensitive reductase) แนวทางการพัฒนายาใหม่นี้ เป็นการเน้นการออกฤทธิ์ที่มุ่งเป้าหมาย (เอนไซม์) ที่เซลล์มะเร็งเท่านั้น แต่ไม่มีผลต่อเซลล์ปกติ เอนไซม์ P450 เป็นหนึ่งในเอนไซม์เป้าหมายที่มีผู้ให้ความสนใจศึกษา[30] AQ4N (Banoxantrone) เป็น prodrug ที่ถูกออกแบบให้ออกฤทธิ์ต้านมะเร็งหลังจากถูกกระตุ้นด้วย CYP1A1, CYP1B1 และ CYP3A4 ภายใต้ภาวะขาดออกซิเจน โดย AQ4N จะถูกเปลี่ยนเป็น AQ4 ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โทโพไอโซเมอเรส 2 (topoisomerase II) ที่มีความแรงสูงมาก โดยสอดแทรกเข้าไปในสายดีเอ็นเอของเซลล์มะเร็ง จึงทำให้เซลล์มะเร็งตายในที่สุด ขณะนี้ AQ4N อยู่ในระหว่างการทดสอบในระดับคลินิกขั้นที่ 1b/2a (phase Ib/IIa clinical trials) ซึ่งมีรายงานว่าผู้ป่วยทนยาได้ดีและมีพิษน้อยกว่ายาชนิดอื่นที่ออกฤทธิ์คล้ายกัน (เช่น tirapazamine)[31] Albertella และคณะ ได้รายงานข้อมูลผลการทดสอบในระดับคลินิกขั้นที่ 1 ของ AQ4N ในผู้ป่วยมะเร็งแบบก้อนแข็งระยะลุกลาม (ได้แก่ มะเร็งเต้านม มะเร็งปากมดลูก มะเร็งกระเพาะปัสสาวะ และมะเร็งศีรษะและลำคอ) จำนวน 32 ราย โดยให้ AQ4N แก่ผู้ป่วยเพียงครั้งเดียวก่อนได้รับการผ่าตัด ผลการศึกษาพบว่า AQ4N สามารถแทรกซึมเข้าสู่ก้อนมะเร็งในความเข้มข้นที่สูงมาก โดยวัดจากปริมาณของ AQ4[32] จากการศึกษานี้จะเห็นได้ว่า AQ4N มีความจำเพาะเจาะจงต่อมะเร็งแบบก้อนแข็งโดยเฉพาะในส่วนที่ขาดออกซิเจน ซึ่งจำเป็นต้องมีการทดสอบในระดับคลินิกขั้นสูงต่อไป

ยาต้านมะเร็งหลายชนิดที่ใช้กันในทางคลินิกที่มีคุณสมบัติเป็น prodrug ได้แก่ cyclophosphamide, doxorubicin และ tamoxifen ซึ่งต้องการการกระตุ้น (activation) ด้วยเอนไซม์ P450 ให้เปลี่ยนไปอยู่ในรูปที่ออกฤทธิ์ได้ cyclophosphamide เป็นยาต้านมะเร็งที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย จัดอยู่ในกลุ่ม alkylating agent เป็นอนุพันธ์ของ nitrogen mustard อยู่ในรูปสารที่ไม่ออกฤทธิ์ เมื่อเข้าสู่ร่างกายจะถูกเปลี่ยนแปลงโดยเอนไซม์ CYP2B6 ที่ตับให้ได้สารที่ออกฤทธิ์ คือ phosphoramide mustard สารนี้จะเข้าจับกับส่วนประกอบในสายดีเอ็นเอ (DNA) ซึ่งเป็นสารพันธุกรรมที่สำคัญ ทำให้เซลล์มะเร็งมีการเชื่อมสายดีเอ็นเอที่ผิดปกติ (DNS cross-link) ทำให้เซลล์มะเร็งตาย[33] ยา cyclophosphamide แบบดั้งเดิมนั้นมีพิษต่อเนื้อเยื่อปกติค่อนข้างสูง เพื่อเป็นการป้องกันความเป็นพิษของยาต่อเนื้อเยื่อปกติ จึงมีการพัฒนาและออกแบบรูปแบบยา cyclophosphamide ที่เราทราบดีว่าถูกกระตุ้นให้มีฤทธิ์โดยเอนไซม์ CYP2B6 อย่างเจาะจง โดยการนำยาและยีนของเอนไซม์จากภายนอกร่างกายเข้าไปยังบริเวณก้อนมะเร็งด้วยเทคนิค gene-directed enzyme and prodrug therapy (GDEPT)[34] MetXia ประกอบด้วยยีน CYP2B6 ของมนุษย์ซึ่งต้องฉีดเข้าไปในก้อนมะเร็งโดยตรงเพื่อให้เซลล์มะเร็งสร้างเอนไซม์ CYP2B6 ขึ้นมาใช้ในการกระตุ้นยา ก่อนที่จะให้ cyclophosphamide ในการ

รักษาผู้ป่วย ขณะนี้ MetXia อยู่ในระหว่างการทดสอบในผู้ป่วยมะเร็งระยะลุกลามขั้นคลินิกที่ 1 และ 2[35]

Doxorubicin จัดเป็น antibiotic prodrug ที่นำมาใช้รักษามะเร็งกันอย่างแพร่หลาย อยู่ในกลุ่มแอนทราซัยคลิน (anthracycline antibiotics) ยานี้อาศัย CYP3A4 ที่ตับในการกระตุ้นให้ได้สารที่ออกฤทธิ์ methoxymorpholinyl doxorubicin (MMDX) ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โทโพไอโซเมอเรส 2 (topoisomerase II) โดยสอดแทรกเข้าไปในสายดีเอ็นเอของเซลล์มะเร็ง นอกจากนั้นยังทำให้เกิดอนุมูลอิสระ (free radical) ทำลายดีเอ็นเออีกด้วย[36] งานวิจัยของ Lu และคณะ ได้ศึกษาฤทธิ์ในการต้านมะเร็งของ MMDX ในเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงของเซลล์มะเร็งเต้านม มะเร็งปอด มะเร็งสมอง และมะเร็งลำไส้ใหญ่ ผลการศึกษาพบว่าเซลล์มะเร็งที่มีการแสดงออกของ CYP3A4 ระดับต่ำจะมีฤทธิ์ในการต้านมะเร็งของ MMDX น้อยลงไปด้วย[37] จากการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าการใช้เทคนิคพันธุกรรมบำบัด เพื่อเพิ่มปริมาณของ CYP3A4 ในก้อนมะเร็งอาจจะมีผลช่วยให้การรักษาผู้ป่วยด้วย doxorubicin ได้ผลดียิ่งขึ้น

Tamoxifen จัดเป็นยาต้านเอสโตรเจนที่นิยมใช้รักษาในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่มีตัวรับเอสโตรเจน เนื่องจากยานี้มีฤทธิ์ยับยั้งการจับระหว่างเอสโตรเจนและตัวรับเอสโตรเจน ยาถูกทำให้มีฤทธิ์โดย CYP2D6 เป็นหลัก โดยเปลี่ยนไปอยู่ในรูป 4-hydroxytamoxifen ซึ่งมีความแรงในการต้านเอสโตรเจนสูงกว่า tamoxifen 50-100 เท่า[38] อย่างไรก็ตาม สิ่งหนึ่งที่ต้องตระหนักเมื่อต้องใช้ tamoxifen ในการรักษาก็คือ CYP2D6 มีความหลากหลายทางพันธุกรรม (genetic polymorphism) ค่อนข้างสูง ดังนั้นแพทย์ต้องใช้เกณฑ์พิจารณาในด้านตัวบุคคลและเชื้อชาติในการรักษาเพื่อให้ได้ประสิทธิผลการรักษาสูงสุด[39]

การค้นหาและพัฒนายาต้านมะเร็งจากสารธรรมชาติในรูป prodrug เริ่มได้รับความสนใจมากขึ้น ตัวอย่างเช่น resveratrol (3,5,4'-trihydroxy-*trans*-stilbene) เป็นเอสโตรเจนที่ได้จากพืช (phytoestrogen) พบในเปลือกองุ่นแดง resveratrol อาศัยเอนไซม์ CYP1A1 และ CYP1B1 ในการกระตุ้นก่อนเปลี่ยนเป็นสารมีฤทธิ์ piceatannol ซึ่งมีฤทธิ์ต้านมะเร็ง[40] นอกจากนี้ยังพบว่าสารนี้มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบ อีกทั้งเหนี่ยวนำการตายแบบอะพอพโทซิสและควบคุมการทำหน้าที่ของตัวรับเอสโตรเจนในเซลล์มะเร็งเต้านม[41] Boocock และคณะ ได้ทำการทดสอบทางคลินิกขั้นที่ 1 โดยประเมินคุณสมบัติทางเภสัชจลนศาสตร์ของ resveratrol ให้อาสาสมัครสุขภาพดี 40 คน รับประทาน resveratrol ขนาด 0.5,1.0, 2.5 และ 5.0 กรัม ครั้งเดียว แล้วทำการตรวจวัดเมแทบอไลต์ (metabolite) 6 ชนิดของ resveratrol จากพลาสมาและปัสสาวะ ผลการศึกษาพบว่า resveratrol ขนาดสูงสุด (5.0 กรัม) ไม่ก่อให้เกิดอาการพิษแต่อย่างใด อีกทั้งมีฤทธิ์ป้องกันมะเร็ง (cancer chemopreventive effect)[42]

สาร prodrug อีกชนิดหนึ่งที่ได้รับความสนใจไม่น้อยกว่า resveratrol และอาศัยเอนไซม์ P450 ในการกระตุ้นให้ได้สารมีฤทธิ์เช่นกัน คือ phortress ซึ่งเป็น fluorinated benzothiazole ละลายน้ำได้ดี มีฤทธิ์กระตุ้นตัวรับ aryl hydrocarbon (AhR agonist) ที่มีความแรงสูง สารตั้งต้น phortress ถูกเปลี่ยนแปลงโดย CYP1A1 ให้ได้สารตัวกลางที่มีความไวต่อการเกิดปฏิกิริยาสูง (electrophilic reactive intermediate) จึงส่งผลเหนี่ยวนำความผิดปกติของดีเอ็นเอทำให้เซลล์ถูกทำลายและตายในที่สุด เมื่อ phortress อยู่ในเซลล์จะถูก hydrolyse อย่างรวดเร็วเพื่อเปลี่ยนไปอยู่ในรูปที่ละลายในไขมันได้ดี (lipophilic parent drug) จากนั้นก็แทรกซึมเข้าสู่เซลล์ที่มีความไวต่อ AhR แล้วจึงเข้าจับและเคลื่อนตัวเข้าสู่นิวเคลียส จึงมีผลชักนำการแสดงออกของเอนไซม์ CYP1A1[43] มีรายงานวิจัยจากประเทศอังกฤษว่า ขณะนี้ได้มีการทดสอบทางคลินิกขั้นที่ 1 ของ phortress ในผู้ป่วยมะเร็งเต้านม[44] อย่างไรก็ตาม Brockdorff และคณะ ได้แสดงให้เห็นว่าการแสดงออกของเอนไซม์ CYP1A1 และ CYP1B1 ที่เพิ่มมากขึ้นสัมพันธ์ต่อการเกิดการดื้อต่อยาทำให้ฤทธิ์ต้านเอสโตรเจนลดลงในการเพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็งเต้านม[45] ดังนั้นการศึกษาขั้นต่อไปในเนื้อเยื่อมะเร็งที่ได้จากผู้ป่วย ควรตระหนักถึงการแสดงออกของ CYP1A1 และ CYP1B1 ในเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านมโดยเปรียบเทียบกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ เพื่อหลีกเลี่ยงปัญหาการดื้อยาที่อาจพบได้ในผู้ป่วยต่อไป

พันธุกรรมบำบัด (gene therapy) ที่มุ่งเป้าหมายต่อเอนไซม์ที่จำเพาะต่อเซลล์มะเร็ง

จากการค้นพบการแสดงออกของเอนไซม์ P450 บางชนิดที่จำเพาะต่อเนื้อเยื่อมะเร็ง ได้ถูกนำมาประยุกต์ในการรักษามะเร็งแบบภูมิคุ้มกันบำบัด (cancer immunotherapy) โดยใช้วัคซีนจากดีเอ็นเอ (DNA vaccine) เอนไซม์CYP1B1 เป็นหนึ่งเป้าหมายที่น่าสนใจในการรักษาแบบนี้ เนื่องจากสามารถตรวจพบการแสดงออกของโปรตีนเอนไซม์ CYP1B1 แบบมากเกิน (over-expression) ในเนื้อเยื่อมะเร็งหลายชนิด ได้แก่ มะเร็งเต้านม มะเร็งมดลูก และมะเร็งรังไข่ เป็นต้น แต่ไม่สามารถตรวจวัดได้จากเนื้อเยื่อปกติ พบเพียงการแสดงออกของเมสเซนเจอร์อาร์เอ็นเอ (messenger RNA; mRNA) เท่านั้น[6,46] Zyc300 จัดเป็น CYP1B1-based DNA vaccine ซึ่งถูกออกแบบให้เหนี่ยวนำระบบภูมิคุ้มกัน CYP1B1-specific $CD8^+$ T-cell ให้มีฤทธิ์ต้านการแสดงออกของเอนไซม์ CYP1B1 ในส่วนของเนื้อเยื่อมะเร็ง ขณะนี้ Zyc300 อยู่ในระหว่างการทดสอบทางคลินิกขั้นที่ 1 นอกจากนี้ยังพบอีกว่าวัคซีนนี้ช่วยเพิ่มอัตราการรอดชีวิตของผู้ป่วยมะเร็งอีกด้วย[47] ส่วน Gribben และคณะ ได้แสดงให้เห็นว่าการเพิ่ม anti-CYP1B1 immunity ในผู้ป่วยมะเร็งระยะลุกลาม (ได้แก่ มะเร็งรังไข่ มะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนัก มะเร็งต่อมลูกหมาก และมะเร็งเต้านม เป็นต้น) ช่วยให้การตอบสนองต่อยาในผู้ป่วยมะเร็งระยะสุดท้าย (salvage therapy) ได้ดีมาก[48] ซึ่งอาจกล่าวได้ว่าเป็นสิ่งที่

ผู้วิจัยไม่คาดคิดมาก่อนว่าประสิทธิผลในการรักษาในอยู่ในระดับที่ดีมากและมีพิษต่ำเช่นนี้

Antisense oligonucleotide (ASO) เป็นอีกหลักการหนึ่งที่นำมาประยุกต์ใช้ในพันธุกรรมบำบัด กล่าวโดยย่อ ASO คือ นิวคลีโอไซด์สายสั้นๆ ประมาณ 20-50 เบส (oligonucleotides) ซึ่งเข้าจับคู่กับ (complimentary) messenger RNA (mRNA) ของยีนเป้าหมายที่ต้องการจะยับยั้ง โดยการจับเป็นแบบจำเพาะเจาะจง โดยปกติ ASO มักเข้าจับกับตำแหน่งที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมการทำหน้าที่ของยีน จึงมีผลยับยั้งการทำหน้าที่ของยีน รวมถึงยับยั้งการสร้างโปรตีนของยีนนั้นๆ ถ้าโปรตีนที่ถูกยับยั้งมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ จะมีผลทำให้เซลล์นั้นตายได้ ในทางคลินิกเป็นที่ทราบกันดีว่าเอนไซม์ CYP3A4 มีบทบาทสำคัญเกี่ยวข้องกับการทำให้ยาต้านมะเร็ง อย่างเช่น paclitaxel หมดฤทธิ์ ดังนั้นการควบคุมการแสดงออกของเอนไซม์ CYP3A4 ในเนื้อเยื่อมะเร็งมีส่วนสำคัญต่อประสิทธิผลในการทำลายเซลล์มะเร็งของยา (cytotoxic efficacy) เป็นอย่างมาก อย่างไรก็ตาม ได้มีการพัฒนายาที่เป็น ASO เพื่อยับยั้งเอนไซม์ CYP3A4 ทั้งนี้หวังผลให้ยืดเวลาการออกฤทธิ์ทำลายเซลล์มะเร็งก่อนที่ยาจะถูกเปลี่ยนแปลงและขับออกจากร่างกาย แต่สิ่งหนึ่งที่ต้องตระหนักในการมุ่งเป้าหมายการรักษาที่เอนไซม์ CYP3A4 คือ เอนไซม์นี้ไม่ใช่เอนไซม์ที่มีความจำเพาะ (tumor specific enzyme) เช่นเดียวกับเอนไซม์ CYP1B1 อีกทั้งเป็นเอนไซม์หลักที่พบในเนื้อเยื่อตับและมีหน้าที่เกี่ยวกับเมแทบอลิซึมของยารักษาโรคที่ใช้กันในทางคลินิกในปัจจุบันมากกว่าร้อยละ 50 AVI-4557 เป็น oligonucleotide ของ phosphorodiamidate morpholino ซึ่งสามารถเข้าจับคู่กับส่วน mRNA ของยีนเอนไซม์ CYP3A4 โดยเข้าจับกับตำแหน่งที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมการทำหน้าที่ของยีน (เช่น promoter และ enhancer) ส่งผลให้ยับยั้งการแสดงออกของยีนเอนไซม์ CYP3A4[11] ก่อนหน้านี้มีงานวิจัยที่แสดงให้เห็นว่า AVI-4557 สามารถยับยั้งการแสดงออกของ CYP3A4 ใน primary human hepatocyte หลังจากสัมผัสสารนี้ 24 ชั่วโมง[49] อย่างไรก็ตามยังไม่พบข้อมูลรายงานการทดสอบในขั้นคลินิก

บทสรุป

เป็นที่ทราบกันดีว่าขนาดของยาเคมีบำบัดที่ใช้ในปัจจุบันในการรักษาผู้ป่วยมะเร็งนั้น ออกฤทธิ์ทำลายเซลล์ที่มีการแบ่งตัวในร่างกาย โดยไม่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างเซลล์ปกติ (เช่น ไขกระดูก เซลล์เม็ดเลือด เยื่อบุทางเดินอาหาร เยื่อบุอวัยวะสืบพันธุ์) หรือเซลล์มะเร็งได้ จึงมีความเป็นพิษสูงและมีช่วงความปลอดภัยในการรักษาแคบ ทำให้ผู้ป่วยมีโอกาสเกิดอาการไม่พึงประสงค์จากการใช้ยาได้ง่ายและอาจเกิดอย่างรุนแรงได้ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ ของผู้ป่วยในแต่ละราย ดังนั้นจุดมุ่งหมายหลักในการออกแบบและพัฒนายาใหม่ในการรักษาผู้ป่วยมะเร็งนั้นจึงมุ่งหวังให้การออกฤทธิ์ของยาที่เซลล์มะเร็งเท่านั้น โดยมีผลต่อเซลล์ปกติให้น้อยที่สุดหรือไม่มีเลย ทั้งนี้เพื่อลดระดับความรุนแรงของอาการไม่พึงประสงค์หรือพิษของยานั่นเอง เอนไซม์ P450 เป็นกลุ่มเอนไซม์ขนาดใหญ่ที่เริ่มเข้ามามีบทบาทและเป็นหนึ่งในเป้าหมายสำคัญในการรักษามะเร็ง เนื่องจากมีหน้าที่เกี่ยวกับกระบวนการเมแทบอลิซึมของสารภายใน (เช่น วิตามินและฮอร์โมนเพศ) และภายนอกร่างกาย (เช่น ยาต้านมะเร็งและสารก่อมะเร็ง) ซึ่งอาจทำให้สารเหล่านั้นมีฤทธิ์เพิ่มมากขึ้น (activation) หรือทำให้หมดฤทธิ์ (inactivation) ก็ได้ อีกทั้งบางไอโซฟอร์มมีการแสดงออกที่จำเพาะในเซลล์มะเร็งเท่านั้น แต่ไม่พบในเซลล์ปกติ เช่น เอนไซม์ CYP1B1 นอกจากนี้ยังพบเอนไซม์ P450 ในส่วนแกนของก้อนมะเร็งที่มีภาวะขาดออกซิเจน ซึ่งเป็นส่วนที่ก่อให้เกิดปัญหาทางคลินิกค่อนข้างบ่อย นั่นคือ การดื้อต่อยาเคมีบำบัดและรังสีบำบัด ทำให้เกิดความล้มเหลวในการรักษาผู้ป่วยมะเร็ง ข้อมูลของเอนไซม์ P450 เหล่านี้ จึงนำไปสู่แนวทางการพัฒนายาใหม่โดยมุ่งเป้าหมายที่เอนไซม์ P450 ที่มีความจำเพาะต่อเซลล์มะเร็ง ได้แก่ การยับยั้งเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเกิดมะเร็งทั้งเมแทบอลิซึมของวิตามินและฮอร์โมน ยาในรูป prodrug และพันธุกรรมบำบัด เป็นต้น จากการทดสอบยาใหม่ในระดับคลินิกขั้นที่ 1 (เช่น AQ4N, MetXia, resveratrol, Zcy300) โดยส่วนใหญ่ผู้ป่วยทนต่อการรักษาได้ดี พบความเป็นพิษในระดับต่ำมาก อันเป็นผลเนื่องมาจากยามีความจำเพาะต่อเซลล์มะเร็งสูง อย่างไรก็ตาม จากการศึกษาของตัวอย่างยาใหม่ที่ได้กล่าวถึงในการทบทวนวรรณกรรมในครั้งนี้ ยังมีข้อจำกัดเกี่ยวกับข้อมูลการทดสอบในระดับคลินิกขั้นสูง ซึ่งน่าสนใจในการติดตามต่อไปในอนาคต และอีกสิ่งหนึ่งที่ควรคำนึงถึง นั่นคือ ความหลากหลายทางพันธุกรรมของเอนไซม์ P450 โดยเฉพาะ CYP1A1, CYP1B1, CYP2D6 และ CYP3A4 ซึ่งพบได้ค่อนข้างบ่อย ว่ามีผลกระทบต่อการตอบสนองต่อการรักษาอย่างไรบ้าง โดยภาพรวม อาจกล่าวได้ว่าการพัฒนายาใหม่ที่มุ่งเป้าหมายที่เอนไซม์ P450 ก่อให้เกิดอาการไม่พึงประสงค์น้อยกว่ายาเคมีบำบัดที่ใช้ในปัจจุบัน ซึ่งเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจสำหรับการรักษาผู้ป่วยมะเร็งในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

1. Nelson DR, Zeldin DC, Hoffman SM, et al. Comparison of cytochrome P450 (CYP) genes from the mouse and human genomes, including nomenclature recommendations for genes, pseudogenes and alternative-splice variants. *Pharmacogenetics* 2004;14(1):1-18.
2. Nebert DW, Nelson DR, Coon MJ, et al. The P450 superfamily: update on new sequences, gene mapping, and recommended nomenclature. *DNA* 1991;10(5):1-14.
3. Guengerich FP, Wu ZL, Bartleson CJ. Function of human cytochrome P450s: characterization of the orphans. *Biochem Bioph Res Co* 2005; 338(1):465-469.
4. Nebert DW, Nelson DR. Cytochrome P450 (CYP) gene superfamily. In: Encyclopedia of life sciences. USA. John Wiley & Sons, Ltd., 2005.

5. Ma J, Ramachandran S, Fiedorek J, Frederick T, et al. Mapping of the CYP2J cytochrome P450 genes to human chromosome 1 and mouse chromosome 4. *Genomics* 1998;49(1):152-155.
6. Murray G, Taylor M, McFadyen M, et al. Tumor-specific expression of cytochrome P450 CYP1B1. *Cancer Res* 1997;57(14):3026-3031.
7. McFadyen MCE, Breeman S, Payne S, et al. Immunohistochemical localization of cytochrome P450 CYP1B1 in breast cancer with monoclonal antibodies specific for CYP1B1. *J Histochem Cytochem* 1999;47(11):1457-1464.
8. Murray GI, Melvin WT, Greenlee WF, et al. Regulation, function, and tissue-specific expression of cytochrome P450 CYP1B1. *Annu Rev Pharmacol* 2001;41(1):297-316.
9. Downie D, McFadyen MCE, Rooney PH, et al. Profiling cytochrome P450 expression in ovarian cancer: Identification of prognostic markers. *Clin Cancer Res* 2005;11(20):7369-7375.
10. Karlgren M, Gomez A, Stark K, et al. Tumor-specific expression of the novel cytochrome P450 enzyme, CYP2W1. *Biochem Bioph Res Co* 2006;341(2):451-458.
11. McFadyen MCE, Melvin WT, Murray GI. Cytochrome P450 enzymes: Novel options for cancer therapeutics. *Mol Cancer Ther* 2004;3(3):363-371.
12. Bruno RD, Njar VCO. Targeting cytochrome P450 enzymes: A new approach in anti-cancer drug development. *Bioorgan Med Chem* 2007; 15(15):5047-5060.
13. Purnapatre K, Khattar SK, Saini KS. Cytochrome P450s in the development of target-based anticancer drugs. *Cancer Lett* 2008; 259(1):1-15.
14. Schuster I, Bernhardt R. Inhibition of cytochromes p450: existing and new promising therapeutic targets. *Drug Met Rev* 2007;39(2-3):481-499.
15. Moreira VMA, Vasaitis TS, Njar VCO, et al. Synthesis and evaluation of novel 17-indazole androstene derivatives designed as CYP17 inhibitors. *Steroids* 2007;72(14):939-948.
16. Vasaitis TS, Bruno RD, Njar VCO. CYP17 inhibitors for prostate cancer therapy. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology Targeted Inhibitors for Steroid Transforming Enzymes* 2011;125(1-2):23-31.
17. Payne AH, Hales DB. Overview of steroidogenic enzymes in the pathway from cholesterol to active steroid hormones. *Endocr Rev* 2004;25(6):947-970.
18. Gibson LJ, Dawson CK, Lawrence DH, et al. Aromatase inhibitors for treatment of advanced breast cancer in postmenopausal women. *Cochrane Syst Rev (Online)* 2007;24(1):CD003370.
19. Perez EA. Safety of aromatase inhibitors in the adjuvant setting. *Breast Cancer Res Tr* 2007;105(Suppl 1):75-89.
20. White JA, Ramshaw H, Taimi M, et al. Identification of the human cytochrome P450, P450RAI-2, which is predominantly expressed in the adult cerebellum and is responsible for all-trans-retinoic acid metabolism. *P Natl Acad Sci* 2000;97(12):6403-6408.
21. Osanai M, Petkovich M. Expression of the retinoic acid-metabolizing enzyme CYP26A1 limits programmed cell death. *Mol Pharmacol* 2005; 67(5):1808-1817.
22. Njar VCO, Gediya L, Purushottamachar P, et al. Retinoic acid metabolism blocking agents (RAMBAs) for treatment of cancer and dermatological diseases. *Bioorgan Med Chem* 2006;14(13):4323-4340.
23. Njar VC. Cytochrome p450 retinoic acid 4-hydroxylase inhibitors: potential agents for cancer therapy. *Mini Rev Med Chem* 2002;2(3): 261-9.
24. Gonzalez FJ, Yu AM. Cytochrome P450 and xenobiotic receptor humanized mice. *Annu Rev Pharmacol* 2006;46:41-64.
25. Deeb KK, Trump DL, Johnson CS. Vitamin D signalling pathways in cancer: potential for anticancer therapeutics. *Nat Rev Cancer* 2007; 7(9):684-700.
26. Mimori K, Tanaka Y, Yoshinaga K, et al. Clinical significance of the overexpression of the candidate oncogene CYP24 in esophageal cancer. *Ann Oncol* 2004;15(2):236-241.
27. Anderson MG, Nakane M, Ruan X, et al. Expression of VDR and CYP24A1 mRNA in human tumors. *Cancer Chemoth Pharm* 2006; 57(2):234-240.
28. González-Sancho JM, Larriba MJ, Ordóñez-Morán P, et al. Effects of 1alpha,25-dihydroxyvitamin D3 in human colon cancer cells. *Anticancer Res* 2006;26(4A):2669-2681.
29. Sundaram S, Beckman MJ, Bajwa A, et al. QW-1624F2-2, a synthetic analogue of 1,25-dihydroxyvitamin D3, enhances the response to other deltanoids and suppresses the invasiveness of human metastatic breast tumor cells. *Mol Cancer Ther* 2006;5(11):2806-2814.
30. Denny WA. The design of drugs that target tumour hypoxia. *Aust J Chem* 2004;57(9):821-828.
31. McKeown SR, Cowen RL, Williams KJ. Bioreductive drugs: from concept to clinic. Clinical oncology importance of radiobiology to cancer therapy: Current practice and future perspectives. *Radiobiol Cancer Ther* 2007;19(6):427-442.
32. Albertella MR, Loadman PM, Jones PH, et al. Hypoxia-Selective Targeting by the Bioreductive Prodrug AQ4N in Patients with Solid Tumors: Results of a Phase I Study. *Clin Cancer Res* 2008;14(4):1096-1104.
33. Stoff-Khalili MA, Dall P, Curiel DT. Gene therapy for carcinoma of the breast. *Cancer Gene Ther* 2006;13(7):633-647.
34. Roy P, Waxman DJ. Activation of oxazaphosphorines by cytochrome P450: Application to gene-directed enzyme prodrug therapy for cancer. *Toxicol In Vitro* 2006;20(2):176-186.
35. Braybrooke JP, Slade A, Deplanque G, et al. Phase I Study of MetXia-P450 Gene Therapy and Oral Cyclophosphamide for Patients with Advanced Breast Cancer or Melanoma. *Clin Cancer Res* 2005;11(4):1512-1520.
36. Mathijssen RHJ, van Schaik RHN. Genotyping and phenotyping cytochrome P450: Perspectives for cancer treatment. *Eur J of Cancer* 2006;42(2):141-148.
37. Lu H, Waxman DJ. Antitumor activity of methoxymorpholinyl doxorubicin: Potentiation by cytochrome P450 3A metabolism. *Mol Pharmacol* 2005;67(1):212-219.
38. Dehal SS, Kupfer D. CYP2D6 catalyzes tamoxifen 4-hydroxylation in human liver. *Cancer Res* 1997;57(16):3402-3406.
39. Zanger UM, Klein K, Saussele T, et al. Polymorphic CYP2B6: molecular mechanisms and emerging clinical significance. *Pharmacogenomics* 2007;8(7):743-59.
40. Piver B, Fer M, Vitrac X, et al. Involvement of cytochrome P450 1A2 in the biotransformation of trans-resveratrol in human liver microsomes. *Biochem Pharmacol* 2004;68(4):773-782.

41. Athar M, Back JH, Tang X, et al. Resveratrol: A review of preclinical studies for human cancer prevention. *Toxicol Appl Pharm* 2007;224(3) :274-283.
42. Boocock DJ, Faust GES, Patel KR, et al. Phase I Dose Escalation Pharmacokinetic Study in Healthy Volunteers of Resveratrol, a Potential Cancer Chemopreventive Agent. *Cancer Epidem Biomar* 2007;16(6):1246-1252.
43. Leong CO, Gaskell M, Martin EA, et al. Antitumour 2-(4-aminophenyl)benzothiazoles generate DNA adducts in sensitive tumour cells in vitro and in vivo. *Brit J Cancer* 2003;88(3):470-477.
44. Bradshaw TD, Westwell AD. The Development of the antitumour benzothiazole prodrug, Phortress, as a clinical candidate. *Curr Med Chem* 2004;11(8):1009-1021.
45. Brockdorff BL, Skouv J, Reiter BE, et al. Increased expression of cytochrome P450 1A1and 1B1 genes in anti-oestrogen-resistant human breast cancer cell lines. *Int J Cancer* 2000;88:902-906.
46. Yang X, Solomon S, Fraser LR, et al. Constitutive regulation of CYP1B1 by the aryl hydrocarbon receptor (AhR) in pre-malignant and malignant mammary tissue. *J Cell Biochem* 2008;104(2):402-417.
47. Maecker B, Sherr DH, Vonderheide RH, et al. The shared tumor-associated antigen cytochrome P450 1B1 is recognized by specific cytotoxic T cells. *Blood* 2003;102(9):3287-3294.
48. Gribben JG, Ryan DP, Boyajian R, et al. Unexpected association between induction of immunity to the universal tumor antigen CYP1B1 and response to next therapy. *Clin Cancer Res* 2005;11(12):4430-4436.
49. Arora V, Cate ML, Ghosh C, et al. Phosphorodiamidate morpholino antisense oligomers inhibit expression of human cytochrome P450 3A4 and alter selected drug metabolism. *Drug Metab Dispos* 2002;30(7): 757-762.

Editorial note
Manuscript received in original form on October 25, 2011;
accepted in final form on February 7, 2012