บทความวิชาการ

โปรแกรมการตายของเซลล์ในแมลง

มนพร มานะบุญ*

บทคัดย่อ

โปรแกรมการตายของเซลล์เป็นเหตุการณ์ที่จำเป็นสำหรับการเจริญพัฒนาที่ปกติในสัตว์รวมทั้งแมลง ในแมลงที่มีการลอดรูปสมบูรณ์แบบแสดงให้เห็นว่าฮอร์โมนสเตอรอยด์ที่ชื่อ 20-ไฮดรอกซีเอคไดโซนเป็นตัวกระตุ้นให้เนื้อเยื่อของตัวหนอนสลายไปในระหว่างที่มีการลอดรูป ในสัตว์มีกระดูกสันหลังการควบคุมการตายอยู่ภายใต้การกระตุ้นของฮอร์โมนสเตียรอยด์เช่นเดียวกัน ดังนั้นกลไกในการกระตุ้นการทำงานของ 20-ไฮดรอกซีเอคไดโซนจึงเหมือนกับการควบคุมการตายที่พบในสัตว์มีกระดูกสันหลัง นั่นคือฮอร์โมนเอคไดโซนจะจับกับนิวเคลียร์รีเซบเตอร์ (nuclear receptor) คือ เอคไดโซนรีเซบเตอร์และอัลตราสไปราเคิล (EcR/Usp) เมื่อปริมาณฮอร์โมนเอคไดโซนในฮีโมลิมพ์เพิ่มสูงขึ้นจะไปมีผลกระตุ้นให้กลไกของฮอร์โมนเริ่มขึ้น บทบาทของฮอร์โมน 20-ไฮดรอกซีเอคไดโซนต่อการควบคุมการตายเกิดโดยการกระตุ้นผ่านยีน 2 ขั้นตอน คือ ขั้นแรกไปมีผลกระตุ้นการแสดงออกของยีนชุดแรก คือ early gene ซึ่งได้แก่ *BR-C E73* และ *E93* และ ขั้นที่ 2 คือ early gene จะส่งสัญญาณไปยังยีนอีกกลุ่มที่เกี่ยวข้องกับการตาย (death gene) ยีนในกลุ่มที่ 2 นี้เรียกว่า late gene ผลของการกระตุ้นโดย early gene ทำให้เซลล์เกิดการสร้างโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการตาย เนื่องจากยีนในกลุ่มนี้จะชักนำให้เซลล์เกิดการสลายตัวอย่างรวดเร็วและเห็นความเสียหายของการตายชัดเจน ทำให้เซลล์ตายในที่สุด ตัวอย่างของ late gene ที่มีบทบาทสำคัญ ได้แก่ *rpr, hid* และ *dronc* นอกเหนือไปจากการควบคุมของยีนใน 2 ขั้นตอนแล้ว ยังพบว่าเอนไซม์ที่มีบทบาทสำคัญมากต่อการควบคุมการตายของเซลล์คือเอนไซม์แคสเปส งานวิจัยในปัจจุบันได้แสดงให้เห็นว่ากลไกควบคุมการตายมีเอนไซม์นี้เป็นตัวกลางในการส่งสัญญาณระดับเซลล์ และพบว่ากลไกที่มีเอนไซม์แคสเปสเป็นตัวกลางนี้เหมือนกันกับที่พบในหนอนตัวกลม แมลงหวี่และมนุษย์ ดังนั้นความรู้ที่ได้จากการศึกษาเรื่องโปรแกรมการตายของเซลล์ในแมลงจึงถูกนำไปประยุกต์ใช้กับการศึกษาเรื่องโรคต่างๆ ในมนุษย์ที่เกิดเนื่องมาจากการเสื่อมสภาพหรือการตายของเซลล์ เช่น โรคอัลไซเมอร์ โรคพาร์คินสัน และโรคความผิดปกติของหัวใจ

คำสำคัญ: ฮอร์โมนแมลง การส่งสัญญาณระดับเซลล์ อะพอพโทซิส

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

*ผู้นิพนธ์ประสานงาน, email: m_manaboon@hotmail.com, manaporn.m@cmu.ac.th

Programmed Cell Death in Insects

Manaporn Manaboon*

ABSTRACT

Programmed cell death (PCD) is an essential event for normal development in animals including insects. In holometabolous insects, they have shown that the insect steroid hormone 20-hydroxyecdysone (20E) triggers cell death of larval specific tissues during metamorphosis. This regulation of cell death in insects and vertebrates are parallel because they are under the control of steroid hormones. Like vertebrate steroid hormone functions, ecdysone exerts its effects via steroid hormone receptor. In insects, the steroid hormone receptor for ecdysone is ecdysone receptor (EcR). EcR is a heterodimer of two nuclear receptors, EcR and Ultraspiracle (USP). The mechanisms regulating apoptosis in insects are initiated by an increasing in hemolymph ecdysteroid titer. The role of 20E to degenerate larval tissues is the activation of 20E through a two-step regulatory hierarchy of genes, primary-response genes or early genes and secondary-response target genes or late genes. In the beginning, the ecdysone/EcR/Usp complex directly regulates the early genes expression at a transcriptional level while late genes are important for death protein synthesis. The early genes include the *BR-C* E73 and E93, and the late genes are a set of genes which were activated by early genes. The late genes, *rpr, hid* and *dronc,* are death activator genes because they induce a rapid and massive destruction in the death cells. In addition to the activation of 20E on signal transduction pathway of early genes and late genes on programmed cell death, members of a family protease known as caspases comprise the core of apoptosis cell death. Recent researches reveal that the signaling pathway of programmed cell death mediated by caspase is similar among roundworms, insects and human. Hence, the knowledge obtained from the study of signal transduction pathway controlling programmed cell death in insects has been implied to the study of various human diseases caused by the degeneration of tissues or death of cells, such as Alzheimer's, Parkinson's and congenital heart disorder (CHD).

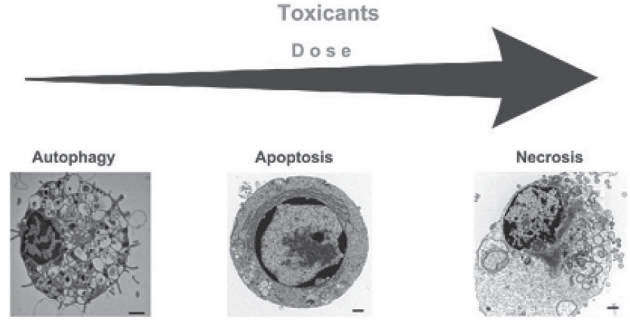
Keywords: insect hormones, signal transduction pathway, apoptosis

Department of Biology, Faculty of Science, Chiang Mai University

*Corresponding auther, email: m_manaboon@hotmail.com, manaporn.m@cmu.ac.th

การตายของเซลล์และการถอดรูปของแมลง

การตายของเซลล์ (programmed cell death, PCD) เป็นกระบวนการสำคัญในขั้นสุดท้ายของการมีชีวิตอยู่ของเซลล์หรือสิ่งมีชีวิตหลายเซลล์ เกิดขึ้นได้เสมอในระหว่างการเจริญเติบโตของสัตว์เกือบทุกชนิด เพราะเป็นกระบวนการที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมกลไกทางชีววิทยาหลายอย่าง ไม่ว่าจะเป็นการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์ การรักษาสภาพของเซลล์ และการกำจัดเซลล์ที่เป็นพิษ หรือเซลล์ที่ไม่มีความจำเป็นแล้วออกจากร่างกายของสิ่งมีชีวิต หากกระบวนการควบคุมการตายของเซลล์ถูกยับยั้งในเนื้อเยื่อดังกล่าว จะก่อให้เกิดการเป็นพิษต่อเซลล์หรือสิ่งมีชีวิตเอง หรืออาจทำให้เกิดความผิดปกติขึ้นได้ในขั้นต่อมาของการเจริญของเซลล์ เช่นเดียวกับการนำไปสู่การเกิดมะเร็งในคน รูปแบบการเกิดการตายของเซลล์ สามารถแบ่งได้เป็นสามประเภท ขึ้นกับการตอบสนองของเซลล์ ได้แก่ apoptosis, necrosis และ autophagy [1] (รูปที่ 1)



รูปที่ 1 แสดงรูปแบบการตายของเซลล์เมื่อได้รับความเข้มข้นของสารพิษระดับต่างๆ โดยหากเซลล์ได้รับสารพิษหรือสิ่งแปลกปลอมน้อย เซลล์จะตอบสนองโดยการเกิด autophagy หากเซลล์ได้รับสารพิษมากเกินไป เซลล์จะตอบสนองโดยการเกิด necrosis [2]

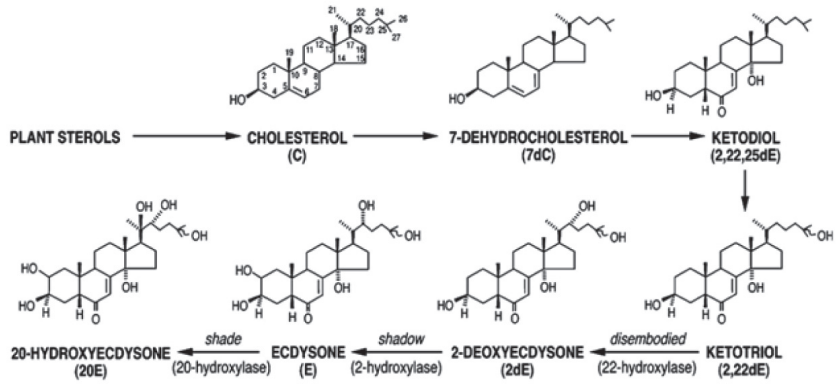
สามารถสังเกตความแตกต่างระหว่างการตายของเซลล์ทั้ง 3 แบบได้จากการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาภายนอกและภายในเซลล์ เซลล์ที่เกิด apoptosis นั้นมักถูกควบคุมด้วยเอนไซม์แคสเปส (caspase) เยื่อหุ้มเซลล์เกิด blebbing ทำให้เซลล์มีรูปร่างกลมมากขึ้น (รูปที่ 1) เกิดการอัดแน่นของเส้นใยโครมาทินในนิวเคลียส (nuclear condensation) เกิดการแตกหักของดีเอ็นเอ (DNA fragmentation) และเกิดชิ้นส่วนสีดำขนาดเล็กภายในเซลล์เรียกว่า “apoptotic body” ซึ่งจะพบเฉพาะในเซลล์ที่เกิดการตายแบบ apoptosis เท่านั้น การตายของเซลล์แบบ autophagy เกิดโดยเยื่อหุ้มเซลล์เปลี่ยนแปลงไปมี 2 ชั้น (หรือมากกว่า) เรียกว่า autophagosome จากนั้นเยื่อหุ้มเซลล์นี้จะไปรวมตัวกับออร์กาเนลล์ภายในเซลล์คือไลโซโซม เกิดเป็นถุงจำนวนมาก เรียกแต่ละถุงว่า autophagic vesicle ในถุงนี้มีสารโมเลกุลขนาดใหญ่ที่จำเป็นต่อการดำรงชีวิตของเซลล์ ซึ่งจะถูกย่อยโดยเอนไซม์จากไลโซโซมแล้วปล่อยเข้าสู่ไซโทพลาซึมของเซลล์ การมี autophagosome มากเกินไปอาจทำให้เซลล์ตายได้ จึงรวมเอา autophagy เป็นรูปแบบหนึ่งของการตายของเซลล์ด้วย สำหรับการตายของเซลล์แบบ necrosis ไม่ได้เป็นผลเนื่องมาจากการทำงานของเอนไซม์แคสเปสหรือไลโซโซม ลักษณะการเปลี่ยนแปลงที่เกิดกับเซลล์จึงแตกต่างจากที่

พบในการตายของเซลล์แบบ apoptosis และ autophagy การเปลี่ยนแปลงที่สังเกตเห็นได้ชัดคือ เซลล์ฉีกขาด (cell rupture) เซลล์และออร์กาเนลล์ต่างๆ ภายในเซลล์บวม (swelling) การเกิด necrosis จึงเป็นการตอบสนองของเซลล์ต่อความเป็นพิษระดับเฉียบพลัน (acute) หรือเซลล์ที่อักเสบ (inflammation) [1, 2]

ในแมลงการเปลี่ยนแปลงอย่างหนึ่งที่สังเกตได้ชัดเจนเมื่อเซลล์เกิดการตาย คือ เกิดการสลายตัวของเนื้อเยื่อหรือเนื้อเยื่อบางส่วนที่พบเฉพาะในระยะตัวหนอน (larval specific tissues) ในขั้นสุดท้ายก่อนเข้าสู่ระยะดักแด้ หากกระบวนการตายของเซลล์ถูกยับยั้ง จะก่อให้เกิดความผิดปกติของดักแด้และทำให้ดักแด้ไม่สามารถเปลี่ยนแปลงเป็นตัวเต็มวัยที่สมบูรณ์ได้ [2-5] จึงเห็นได้ว่าการตายของเซลล์ในแมลงมีความสำคัญเช่นเดียวกับการตายของเซลล์ที่เกิดในสัตว์มีกระดูกสันหลังอื่น เพราะเป็นกระบวนการที่มีบทบาทสำคัญในการควบคุมการสลายตัวของเนื้อเยื่อในระหว่างการเจริญเติบโตของตัวหนอนและการเปลี่ยนแปลงรูปร่างไปเป็นดักแด้และตัวเต็มวัย กล่าวได้ว่าการควบคุมการตายของเซลล์ในเนื้อเยื่อตัวหนอนของแมลงมีความสำคัญต่อกระบวนการลอดรูปของแมลง รูปแบบการตายของเซลล์ที่พบในแมลงที่มีการลอดรูปอย่างสมบูรณ์ (holometabolism) เป็นแบบ apoptosis สำหรับการตายของเซลล์แบบ autophagy และ necrosis นั้นมีการศึกษาบ้างเช่นกัน แต่ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาการตายของเซลล์แบบ autophagy มีมากกว่า necrosis พบว่าการตายของเซลล์แบบ apoptosis และ autophagy มีความสัมพันธ์กันและมีบทบาทต่อการลอดรูปของแมลง เช่น ในแมลงหวี่ (fruit fly, *Drosophila melanogaster*) หนอนไหม (silkworm, *Bombyx mori*) และ ผึ้ง (bee, *Apis mellifera*) โดยมักพบการตายของเซลล์แบบ apoptosis ก่อนแล้วตามด้วยการเกิด autophagy ในภายหลัง ตัวอย่างเนื้อเยื่อของระยะตัวหนอนที่พบว่าเกิดการตายของเซลล์แบบ apoptosis และ autophagy ได้แก่ ต่อมน้ำลาย รังไข่ และทางเดินอาหารส่วนกลาง [6]

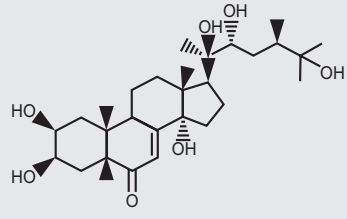
การควบคุมการตายของเซลล์แมลงโดยฮอร์โมนเอคไดโซน

ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม การตายของเซลล์ถูกควบคุมโดยสเตอรอยด์ฮอร์โมน (steroid hormone) เช่น เอสโตรเจน (estrogen) แอนโดรเจน (androgen) โพรเจสเตอโรน (progesterone) และกลูโคคอติคอยดส์ (glucocorticoids) ในแมลงการตายของเซลล์เกิดขึ้นในระหว่างการลอดรูป (metamorphosis) และถูกควบคุมโดยสเตอรอยด์ฮอร์โมนที่สำคัญคือ 20-ไฮดรอกซีเอคไดโซน แยกได้เป็นครั้งแรกในปี 1954 โดย Karlson [7] มีโครงสร้างเหมือนกันในแมลงอันดับ Lepidoptera และ Hemiptera (ตารางที่ 1) ฮอร์โมนชนิดนี้ผลิตได้จากต่อมโปรทอแรคซิค (prothoracic gland) ในระยะตัวอ่อน แต่แมลงอันดับดิพเทอร่า (order Diptera) ฮอร์โมนนี้ผลิตได้จาก ring gland ในทางทฤษฎีแล้วเชื่อว่าการสังเคราะห์ฮอร์โมนเอคไดโซนเริ่มจากการที่แมลงได้รับสารประกอบสเตอรอลจากพืชโดยการกิน จากนั้นจะเปลี่ยนเป็นสารประกอบชื่อคีโตไดออล (ketodiol) และเกิดการทำงานของเอนไซม์อีกหลายชนิด ทำให้ได้ฮอร์โมนเอคไดโซนในรูปที่สามารถทำงานได้ (active form) ที่เรียกว่า 20-ไฮดรอกซีเอคไดโซน (20-hydroxyecdysone; 20E) (รูปที่ 2) ในแมลงหวี่ พบว่าเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ฮอร์โมน 20-ไฮดรอกซีเอคไดโซน ได้แก่ เอนไซม์ในกลุ่ม P450 เช่น *dib, sad,* และ *shd* [8] เมื่อสร้างแล้วจะเก็บสะสมไว้รอบๆ เนื้อเยื่อของต่อมโปรทอแรคซิคเอง เมื่อแมลงมีการลอกคราบเป็นตัวเต็มวัยต่อมนี้จะสลายตัว อย่างไรก็ตามพบว่านอกเหนือไปจากต่อมโปรทอแรคซิคแล้วยังมีอวัยวะอื่นๆ ที่ทำหน้าที่สร้างฮอร์โมนเอคไดโซนได้ด้วยเช่น เซลล์เม็ดเลือดอีโนไซต์ (oenocyte) รังไข่และผิวหนัง (epidermis) [9, 10]



รูปที่ 2 แสดงกระบวนการสังเคราะห์ 20-ไฮดรอกซีเอคไดโซน [8]

ตารางที่ 1 แสดงโครงสร้างของ 20-ไฮดรอกซีเอคไดโซนที่พบในแมลงชนิดอื่นๆ [11]

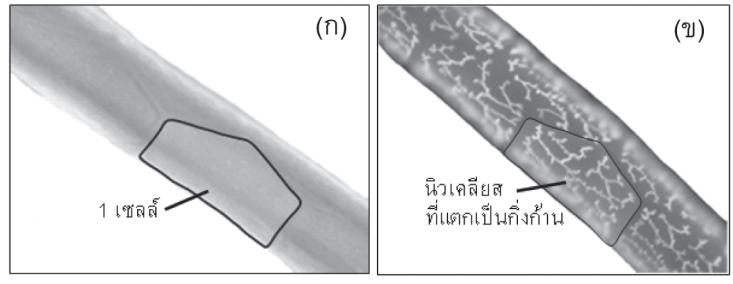
Factor[a]	Species[b]	Tropic/static
2OE 	*H. cecropia* *S. cynthia* *M. sexta* *M. configurata* *P. brassicae* *R. prolixus* *M. brassicae*	Physiologically dependent

[a]For every family of influencing factors an exemplary structure is presented if characterized
[b]The species in which activity was described

ในระหว่างการเจริญเปลี่ยนแปลงของตัวอ่อนหลังระยะเอ็มบริโอของแมลงในกลุ่มโฮโลเมทาโบลัส (holometabolous) มีการลอกคราบเกิดขึ้นหลายครั้ง โดยจำนวนครั้งของการลอกคราบเพื่อเข้าสู่ระยะดักแด้แตกต่างกันไปแล้วแต่ชนิดแมลง เช่น ในแมลงหวี่ มีการลอกคราบ 2 ครั้ง และในหนอนไหมมีการลอกคราบ 4 ครั้ง การเปลี่ยนรูปร่างจากตัวหนอนไปเป็นดักแด้พบว่าเกิดการเปลี่ยนแปลงพัฒนาการของเนื้อเยื่อในตัวหนอนทั้งระดับเซลล์และระดับโมเลกุล [12, 13] ในหนอนไหม ตัวหนอนระยะที่ 4 ถือเป็น penultimate larvae จะเกิดการสร้างเนื้อเยื่อปุ่มปีกที่เรียกว่า wing imaginal disc และเนื้อเยื่อเริ่มต้นที่จะเจริญไปเป็นขา (leg primodia) ทั้งสองเนื้อเยื่อ มีความพร้อมที่จะถูกกระตุ้นโดยฮอร์โมนเพื่อกลายเป็นปีกและขาของดักแด้ โดยพบว่าหนอนระยะที่ 5 ซึ่งเป็นระยะที่หนอนยังมีการกินอาหารอยู่ เนื้อเยื่อปุ่มปีก

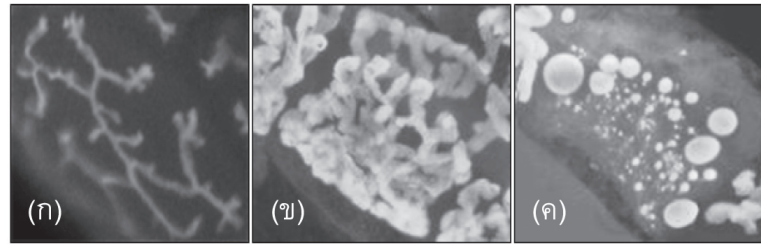
และเซลล์ผิวหนังมีความพร้อมที่จะเกิดการสลายตัวและเปลี่ยนแปลงไปเป็นโครงสร้างของปีกและผิวหนังในดักแด้ แต่ต่อมสร้างไหมจะเกิดการสลายตัวหลังจากดักแด้ลอกคราบแล้ว ปรากฏการณ์ทั้งหมดที่กล่าวมาถูกควบคุมโดยฮอร์โมน 20-ไฮดรอกซีเอคไดโซน [14-16]

มีการศึกษาเกี่ยวกับการตายของเซลล์ในแมลงอย่างแพร่หลายในแมลงหลายชนิด แต่ที่นิยมศึกษากันมากเป็นการศึกษาการตายโดยอาศัยต่อมน้ำลายของแมลงหวี่เป็นต้นแบบ แต่เนื่องจากเซลล์ต่อมน้ำลายของแมลงหวี่มีขนาดเล็กทำให้ไม่สามารถเห็นการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างภายในเซลล์ได้ชัดเจน การตรวจวัดการแตกหักของดีเอ็นเอ (DNA fragmentation) โดยการทำเจลอิเลคโทรโฟเรซิส (gel electrophoresis) ทำได้ยากเนื่องจากปริมาณดีเอ็นเอในต่อมน้ำลายมีน้อย [17] การศึกษาเรื่องการตายของเซลล์ในแมลงหวี่จึงทำได้เพียงการตรวจวัดการแตกหักของดีเอ็นเอ (DNA fragmentation) โดยใช้เทคนิค TUNEL (terminal deoxynucleotidyl transferase-mediate deoxyuridine triphosphate biotin nick end labeling) [18] และเนื่องจากการศึกษาเรื่องการตายในแมลงหวี่ได้ทำอย่างต่อเนื่องเป็นระยะเวลานาน ข้อมูลในระดับโมเลกุลจึงมีค่อนข้างมาก อย่างไรก็ตามหากต้องการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของเซลล์และนิวเคลียส จำเป็นต้องเลือกเนื้อเยื่อแมลงที่มีขนาดใหญ่ ต่อมสร้างไหมของหนอนไหมเป็นเนื้อเยื่อที่มีขนาดใหญ่ที่สุดในตัวหนอนระยะสุดท้ายของหนอนไหม จึงถูกเลือกมาเพื่อเป็นต้นแบบในการศึกษาการตายในแมลงนอกเหนือจากต่อมน้ำลายที่ทำการศึกษาในแมลงหวี่ นอกจากต่อมสร้างไหมจะมีข้อได้เปรียบในเรื่องขนาดของเซลล์แล้วยังพบว่าเซลล์ที่บุอยู่รอบท่อสร้างไหม มีการจัดเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบ เซลล์แต่ละเซลล์มีรูปร่างเป็นแผ่นหกเหลี่ยม และมีนิวเคลียสแตกกิ่งก้านเห็นได้ชัดเจนเมื่อย้อมด้วยสี DAPI (4',6-diamidono-2-phenylindole) [18, 19] (รูปที่ 3)



รูปที่ 3 แสดงลักษณะของต่อมสร้างไหมตอนต้นของหนอนไหม (ที่มา: เรียบเรียงใหม่และดัดแปลงจาก [20])
(ก) ต่อมสร้างไหมตอนต้นของหนอนไหม
(ข) นิวเคลียสเมื่อย้อมด้วยสี DAPI

เมื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของต่อมสร้างไหมตอนต้นของตัวหนอนในระยะก่อนเปลี่ยนเป็นดักแด้ (prepupal stage) จนกระทั่งเป็นดักแด้ พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของเซลล์และนิวเคลียสที่เห็นได้ชัดเจน และผลการศึกษาที่ได้จากการสังเกตการเปลี่ยนแปลงนี้คล้ายคลึงกับผลการศึกษาที่ได้จากการนำต่อมสร้างไหมตอนต้นมาเพาะเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแมลงที่เติมฮอร์โมน 20-ไฮดรอกซีเอคไดโซนลงไปด้วย โดยพบว่า เซลล์ของต่อมมีการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาทำให้สามารถมองเห็นการเปลี่ยนแปลงได้เป็นระดับขั้น เรียกคะแนนการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวว่า PCD score มีทั้งหมด 6 ระดับคะแนน [16, 21] นอกจากนี้แล้วยังพบการเปลี่ยนแปลงที่เกิดกับนิวเคลียสด้วยเช่นกัน โดยพบว่า 20-ไฮดรอกซีเอคไดโซน ทำให้เกิดการตายชนิด apoptosis โดยส่งผลใน 2 ขั้นตอน คือ ส่งผลต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์และส่งผลในระดับโมเลกุล สำหรับการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาที่เกิด สามารถสังเกตได้จากลักษณะของเซลล์ที่มีการเปลี่ยนแปลงเป็นลำดับ โดยเริ่มจากการหดตัวของเซลล์ (cell shrinkage) การเกิดการอัดแน่นของนิวเคลียส การเกิดการแตกหักของดีเอ็นเอ การเกิดการแตกหักของนิวเคลียส (nuclear fragmentation) (รูปที่ 4) และการเกิด apoptotic body [19-22]

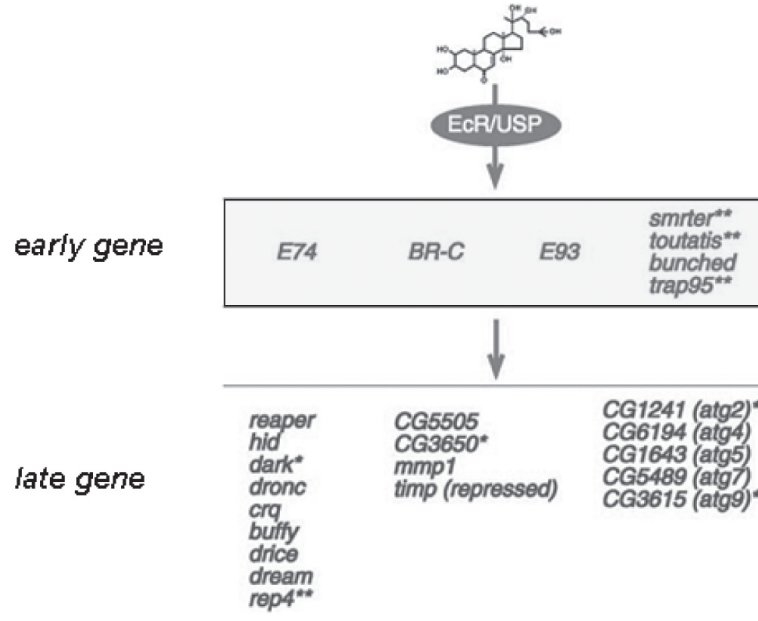


รูปที่ 4 แสดงลักษณะนิวเคลียสของต่อมสร้างไหมตอนต้นที่เกิด PCD (ที่มา: เรียบเรียงใหม่และดัดแปลงจาก [20])
(ก) นิวเคลียสที่ไม่เกิด PCD
(ข) นิวเคลียสที่เกิดการอัดแน่น
(ค) นิวเคลียสที่เกิดการแตกหัก

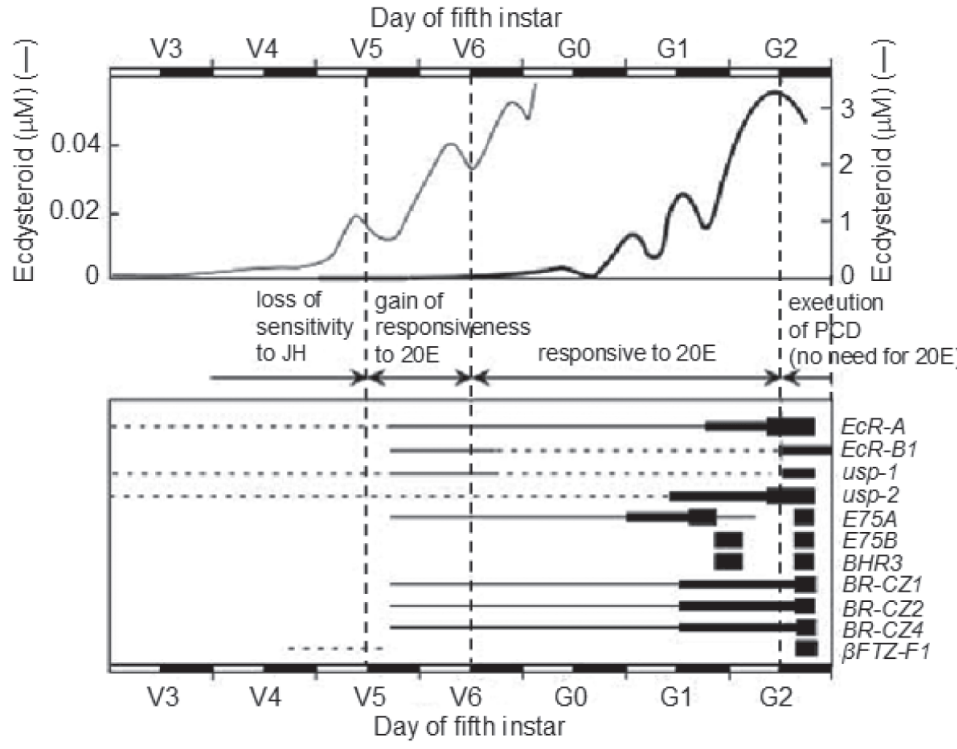
การควบคุมการตายของเซลล์โดยฮอร์โมนแมลงในระดับโมเลกุล

ดังที่ได้กล่าวมาแล้วว่า 20-ไฮดรอกซีเอคไดโซน มีผลไปกระตุ้นให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยา การศึกษาเรื่องการตายของเซลล์โดยอาศัยการทดลองในทางเดินอาหารส่วนกลางและต่อมน้ำลาย แสดงให้เห็นว่าฮอร์โมนเอคไดโซนมีผลต่อการควบคุมการตายของเซลล์ในระดับโมเลกุลของยีนผ่าน 2 กลไก กลไกแรกจะไปกระตุ้นการทำงานของ early gene กลไกที่สองเป็นผลเนื่องมาจากการกระตุ้นของ early gene ต่อยีนที่ควบคุมการตาย (death gene) กลไกแรกเริ่มจากการจับกันระหว่างฮอร์โมนเอคไดโซนกับรีเซบเตอร์ของฮอร์โมน ชื่อ เอคไดโซนรีเซบเตอร์ (ecdysone receptor; EcR) กับ partner protein ชื่อ อัลตราสไปราเคิล (ultraspiracle, Usp) การจับกันของฮอร์โมนกับรีเซบเตอร์นี้จะไปมีผลกระตุ้นให้เกิดการทำงานของ early gene ได้แก่ *Broad-Complex (BR-C), E74* และ *E93* [23, 24] (รูปที่ 5) การควบคุมโดยยีนที่กล่าวมา มีความคล้ายคลึงกับการควบคุมโดยยีนที่พบในแมลงอันดับเลพิดอพเทอร่า

(order Lepidoptera) ชนิดอื่น เช่น หนอนไหม และผีเสื้อเหยี่ยว (hawkmoth, *Manduca sexta*) ในหนอนไหม พบว่าฮอร์โมน 20-ไฮดรอกซีเอคไดโซนมีผลไปกระตุ้นให้เกิดการแสดงออกของยีนที่ตอบสนองต่อ 20E (20E responsive genes) คือ early gene ได้แก่ *EcR, USP, BR-C, E74, E75* และ *E93* [24, 25] (รูปที่ 6) การทำงานของ *BR-C* และ *E74* จะขึ้นกับระดับของเอคไดโซนในฮีโมลิมพ์ที่สูงขึ้น แต่ยีน *E79* เป็นยีนที่แสดงออกอย่างจำเพาะเจาะจงในแต่ละระยะการเจริญ การควบคุมของยีนทั้งสามตัวมีผลกระตุ้นการทำงานของยีนที่ควบคุมการตาย (death gene) หลายตัว เช่น *rpr (reaper), hid (head involution defective)* และ *dronc* (รูปที่ 7) การศึกษาทางพันธุศาสตร์โดยเทคนิค RNA interference (RNAi) ให้ผลยืนยันว่า ยีน *rpr* และ *hid* เป็นยีนที่จำเป็นต่อการส่งสัญญาณให้เซลล์ตาย และพบว่า *BR-C* มีผลโดยตรงต่อการแสดงออกของ *dronc* [26] ความผิดปกติของยีน *E93* ไปมีผลทำให้การแสดงออกของ death gene เช่น *rpr, hid, dronc* และ *crq* ลดลง [27]



รูปที่ 5 แสดงการกระตุ้นการทำงานของเอค-ไดโซนรีเซบเตอร์ โปรตีนอัลตราสไปราเคิล และยีนที่เกี่ยวข้องกับการตายของเซลล์ในต่อมน้ำลายของหนอนไหมระยะตัวหนอน (*ยีนที่ไม่ตอบสนองต่อการถูกกระตุ้นด้วยยีน *E74, BR-C* และ/หรือ *E93* ในแมลงหวี่กลายพันธุ์; **ยีนที่ไม่ได้ทดสอบการกระตุ้นในแมลงหวี่กลายพันธุ์) [23]

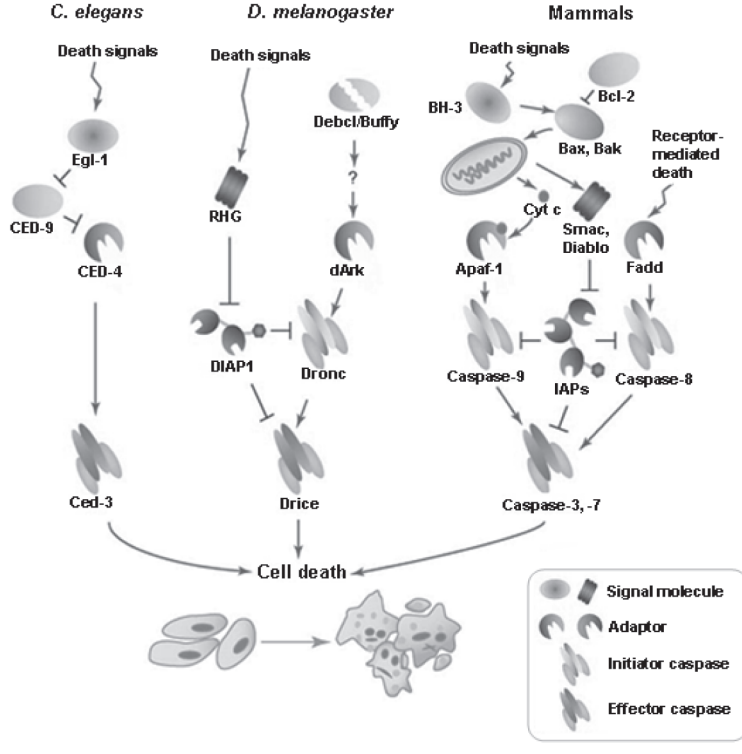


รูปที่ 6 แสดงการเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของยีนที่สัมพันธ์กับระดับฮอร์โมนเอคไดโซนในฮีโมลิมพ์ในระยะการเจริญขั้นต่างๆ V = ตัวหนอนระยะที่ 5 เลขที่ระบุด้านหลังตัวอักษร V หมายถึงอายุของหนอนในระยะที่ 5 (วัน) G = ตัวหนอนระยะก่อนเข้าดักแด้ เลขที่ระบุด้านหลังตัวอักษร G หมายถึงอายุของตัวหนอนระยะก่อนเข้าดักแด้ [24]

เอนไซม์แคสเปสและการควบคุมการตายของเซลล์

นอกจากจะพบว่าฮอร์โมน 20-ไฮดรอกซีเอคไดโซน มีผลต่อการทำงานในระดับยีนดังที่ได้กล่าวไปแล้วนั้น ยังพบว่าฮอร์โมนเอคไดโซน มีผลต่อสารโมเลกุลอื่นในการส่งสัญญาณระดับเซลล์ (cell signaling pathway) เช่น แคลเซียมและเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการตายคือ เอนไซม์แคสเปส [28-30] และพบว่ากลไกการส่งสัญญาณในระดับเซลล์เพื่อควบคุมการตายในแมลงมีความเหมือนหรือคล้ายคลึงกับที่พบในหนอนตัวกลม *(Caenorhabditis elegans)* และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม [30] เอนไซม์แคสเปสทำหน้าที่เป็นเอนไซม์ในการย่อยโปรตีน ถือเป็นเอนไซม์ที่มีบทบาทสำคัญที่สุดในการควบคุมการตายของเซลล์ในหนอนตัวกลม เอนไซม์แคสเปสชนิด CED-4 ไปมีผลกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์แคสเปสชนิด CED-3 อย่างไรก็ตามหากพบว่ามีการแสดงออกของ CED-9 ภายในเซลล์นั้น จะไปมีผลยับยั้งการตายของเซลล์เนื่องจาก CED-9 ไปมีผลยับยั้งกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์แคสเปสชนิด CED-4 นอกจากนี้แล้วยังพบว่า EGL-1 เป็นโปรตีนอีกชนิดในกลุ่ม Bcl-2 ที่มีผลไปรบกวนการทำงานของเอนไซม์แคสเปส CED-9 กับ เอนไซม์แคสเปสชนิด CED-4 ทำให้เซลล์ตาย ในจีโนม (genome) ของแมลงหวี่พบว่ามีโปรตีนที่ทำหน้าที่เป็นเอนไซม์แคสเปสด้วยกันทั้งหมด 7 ชนิด คือ Dronc [31], Decay [32], Drice [33], Dcp-1 [34], Damm (Daydream) [35, 36], Strica (Dream) [36, 37] และ Dredd [38] adaptor Ark

(dArk) (homologous กับ CED-4 และ Apaf-1) เป็นโปรตีนตัวแรกที่มีผลในการส่งสัญญาณระดับเซลล์ ต่อไปยังเอนไซม์แคสเปสตัวสำคัญที่ชื่อ Dronc จากนั้นเอนไซม์แคสเปสตัวอื่นๆ เช่น Debcl และ Buffy ทำหน้าที่เป็นตัวรับสัญญานภายในเซลล์ กลไกควบคุมการตายของเซลล์สามารถถูกยับยั้งได้โดยโปรตีนในกลุ่ม IAP (inhibitor apoptosis protein) เอนไซม์ชนิดนี้ในแมลงหวี่ชื่อว่า DIAP-1 ทำหน้าที่ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Dronc รวมทั้งมีผลไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อีกชนิดที่ถูกกระตุ้นโดย Dronc คือ เอนไซม์ Drice อีกด้วย โปรตีนที่มาจับกับ DIAP-1 เช่น Rpr, Hid (Wrinkled) [39], Grim [40], Sickle [41] และ Jafrac-2 (RHG) [42, 43] ทำให้เกิดการตายของเซลล์ โดยไปมีผลรบกวนความสามารถของ DIAP-1 ต่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Dronc และ Drice [44] ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม มีเอนไซม์แคสเปสที่ทำหน้าที่เหมือนกับเอนไซม์ Dronc ของแมลงหวี่ ชื่อว่าเอนไซม์ caspase-9 เอนไซม์นี้ถูกกระตุ้นโดย Apaf-1 ภายใต้การควบคุมของโปรตีนในกลุ่ม Bcl-2 สิ่งเร้าที่ไปมีผลกระตุ้นการตายของเซลล์ นอกจากนี้ยังพบว่ามีโมเลกุลของสารอื่นที่มีผลไปกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์แคสเปสแล้วชักนำให้เกิดการตายในเซลล์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เช่น BH3, Bax, Bak และ Fadd [45] จึงเห็นได้ว่าการตายของเซลล์จะเกิดขึ้นเมื่อเซลล์ถูกรบกวน การรบกวนของเซลล์โดยสิ่งแปลกปลอมไปมีผลต่อการทำงานของเอนไซม์แคสเปสชนิดอื่นๆ ที่อยู่ในการส่งสัญญาณระดับเซลล์ โดยอาจไปกระตุ้นหรือยับยั้งโมเลกุลของสารที่เกี่ยวข้องกับการส่งสัญญาณระดับเซลล์ได้ การทำงานของเอนไซม์แคสเปสของแมลงและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม สามารถถูกยับยั้งได้โดยโปรตีนในกลุ่ม IAP (inhibitor apoptosis protein) (รูปที่ 7)



รูปที่ 7 แสดงการส่งสัญญาณระดับเซลล์เพื่อควบคุมการตายของเซลล์ในหนอนตัวกลม แมลงหวี่ และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม โดยมีเอนไซม์แคสเปสเป็นตัวกลาง [30]

การตายของเซลล์ในแมลงและการนำไปใช้ประโยชน์

การทดสอบทางยา (pharmacological tests) โดยใช้ตัวยับยั้งการทำงาน (inhibitors) ของโมเลกุลในการส่งสัญญาณระดับเซลล์ เช่น ตัวยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน (protein synthesis inhibitor) ตัวยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แคสเปส (caspase inhibitor) แคลเซียมไอโอโนฟอร์ (calcium ionophore) และตัวยับยั้งการทำงานอื่นๆ ทำให้ทราบกลไกการส่งสัญญาณระดับเซลล์ของฮอร์โมน 20-ไฮดรอกซีเอคไดโซนในระดับเซลล์ สรุปได้ว่าฮอร์โมนเอคไดโซนมีผลต่อการชักนำให้เซลล์เกิดการตายผ่าน 2 กลไก คือ กลไกที่เป็นผลเนื่องมาจากยีน (genomic action) และกลไกที่ไม่ได้เป็นผลโดยตรงเนื่องมาจากยีน (nongenomic action) [19, 20, 22, 29]

ปัจจุบันการศึกษาเรื่องการตายของเซลล์ในแมลงทำให้เกิดความรู้ในระดับโมเลกุลเพิ่มมากขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งการทดลองที่ได้ศึกษาในเนื้อเยื่อต่างๆ ของแมลงหวี่ระหว่างการเจริญเปลี่ยนแปลงรูปร่าง ทำให้เกิดความเข้าใจเรื่องกลไกของฮอร์โมนต่อการควบคุมการตายและเนื่องจากกลไกการควบคุมการตายในระดับโมเลกุลของแมลงมีความคล้ายคลึงกับกลไกที่พบในหนอนตัวกลมและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม จึงมีความพยายามที่จะใช้แมลงหวี่เป็นต้นแบบในการศึกษาวิจัยเรื่องการตายเพื่อหาคำอธิบายกลไกที่ควบคุมการเกิดโรคและเพื่อนำไปสู่แนวทางในการรักษาโรค มีงานวิจัยหลายงานวิจัยที่ได้นำเทคนิคทางโมเลกุลได้แก่ การสร้างแมลงหวี่ที่มียีนกลายพันธุ์ที่สนใจโดยเทคนิค RNA interference และการทดสอบทางยากับแมลงหวี่ ทำให้ทราบว่ากลไกควบคุมกระบวนการการตายของเซลล์ประสาทในสมองของแมลงหวี่มีความคล้ายคลึงและใกล้เคียงกับกลไกการเกิดโรคที่เกี่ยวข้องกับความผิดปกติของระบบประสาท (neurodegenerative disease) ของคน ตัวอย่างของโรคที่เกิดกับคนที่เกี่ยวข้องกับการเสื่อมสลายหรือเสียหายของเซลล์ คือ โรคที่เกี่ยวข้องกับความผิดปกติของระบบประสาท (neurodegenerative diseases) เช่น โรคอัลไซเมอร์ (Alzheimer's disease) [46] และโรคพาร์คินสัน (Parkinson's disease) [47] นอกเหนือไปจากการศึกษาการตายในระบบประสาทของแมลงหวี่แล้วยังมีการศึกษาที่ทำในระบบอื่นด้วย เช่น การใช้ระบบหมุนเวียนโลหิตของแมลงหวี่เป็นโมเดลในการศึกษาและอธิบายความผิดปกติของโรคที่เกี่ยวข้องกับความผิดปกติของหัวใจในเด็กแรกเกิด (congenital heart disorder) [48]

สรุป

จะเห็นว่า การค้นพบและการศึกษาในระดับโมเลกุลเกี่ยวกับยีนและสารชีวโมเลกุล ทำให้ทราบว่าการตายของแมลงและการตายในเซลล์อื่นๆ ของสัตว์มีกระดูกสันหลัง เกิดโดยอาศัยกระบวนการส่งสัญญาณในระดับเซลล์ที่คล้ายคลึงกัน เราจึงสามารถใช้การตายของเซลล์เป็นตัวบ่งชี้อันตรายของสารเคมี สารพิษหรือสารแปลกปลอมได้ ได้มีผู้พยายามนำเอาสารเคมีและสารพิษไปทำการทดสอบกับแมลง ถือเป็นข้อดีในการนำมาใช้ศึกษาถึงผลของสารเคมีหรือสารแปลกปลอมที่เข้าสู่เซลล์ ดังนั้นการศึกษาการตายของเซลล์จึงมีความสำคัญ เพราะจะทำให้สามารถเข้าใจกลไกของสารพิษที่เกิดกับเซลล์และเพื่อพัฒนาการประเมินความเสี่ยง (risk assessment) แต่อย่างไรก็ตามการศึกษาต้องทำอย่างต่อเนื่องเพราะถึงแม้จะมีงานวิจัยที่ได้รายงานถึงผลของสารพิษ สารเคมี หรือแม้กระทั่งยาหลายๆ ชนิดแล้วก็ตามเราก็ยังไม่สามารถทราบได้ถึงความเป็นพิษในระดับกึ่งเฉียบพลัน (subacute) หรือระดับเรื้อรัง (chronic toxicity) หากเซลล์ของสิ่งมีชีวิตได้รับสารเหล่านั้นเป็นระยะเวลานาน จึงควรต้องพิจารณาเลือกเนื้อเยื่อ ความเข้มข้น ระยะเวลารวมไป

ถึงการจัดการระบบทดสอบอย่างรัดกุม แล้วนำผลที่ได้จากการศึกษามาวิเคราะห์ มาประมวลผลใหม่ ทำการทดสอบอีกครั้งในระบบการทดลอง *in vitro*

เอกสารอ้างอิง

1. Sun, Y., and Peng, Z. L. 2009. Programmed Cell Death and Cancer. *Postgraduate Medical Journal* 85: 134-140.
2. Orrenius, S., Nicotera, P., and Zhivotovsky, B. 2010. Cell Death Mechanisms and Their Implications in Toxicology. *Toxicological Sciences* 119(1): 3-19.
3. Nardi, J. B., Godfry, G. L., and Bergstrom, R. A. 1991. Programmed Cell Death in the Wing of *Orgyia leucostigma* (Lepidoptera: Lymantriidae). *Journal of Morphology* 1: 121-131.
4. Milan, M., Campuzano, S., and Garcia-Baehrecke, E. H. 1997. Developmental Parameters of Cell Death in the Wing Disc of *Drosophila. Proceedings of National Academy of Sciences of the United States of America* 94: 5691-5696.
5. Fujiwara, H., and Hojyo, T. 1997. Developmental Profiles of Wing Imaginal Discs of *flugellos (fl),* A Wingless Mutant of the Silkworm, *Bombyx mori. Development Genes and Evolution* 207: 12-18.
6. Malagoli, D., Abdalla, F. C., Cao, Y., Feng, Q., Fujisaki, K., Gregorc, A., Matsuo, T., Nezis, I. P., Papassideri, I. S., Sass, M., Silva-Zacarin, E. C. M., Tettamanti, G., and Umemiya-Shirafuji, R. 2010. Autophagy and its Physiological Relevance in Arthropods. *Autophagy* 6(5): 1-14.
7. Karlson, P. 1996. The Hormonal Control of Insect Metamorphosis. A Historical Review. *International Journal of Developmental Biology* 40: 93-96.
8. Petryk, A., Warren, J. T., Marqués, G., Jarcho, M. P. Gilbert, L. I. Kahler, J., Parvy, J. P., Li, Y., Dauphin-Villemant, C., and O'Connor, M. B. 2003. Shade is the *Drosophila* P450 Enzyme that Mediates the Hydroxylation of Ecdysone to the Steroid Insect Molting Hormone 20-Hydroxyecdysone. *Proceedings of National Academy of Sciences of the United States of America* 100(24): 13773-13778.
9. Delbecque, J. P., Weidner, K., and Hoffmann, K. H. 1990. Alternative Sites for Ecdysteroid Production in Insects. *Invertebrate Reproduction and Development* 18: 29-42.
10. Lafont, R., Dauphin-Villemant, C., Warren, J. T., and Rees, H. H. 2005. Ecdysteroid Chemistry and Biochemistry. Comprehensive Molecular Insect Science. Oxford. Elsevier. p. 25-195.
11. Marchal, E., Vandersmissen, H. P., Badisco, L., de Velde, S. V., Verlinden, H., Iga, M., Wielendaele, P.V. Huybrechts, R., Simonet, G., Smagghe, G., and Vanden Broeck, J. 2010. Control of Ecdysteroidogenesis in Prothoracic Glands of Insects. *Peptides* 31(3): 506-519.

12. Riddiford, L. M. 1994. Cellular and Molecular Actions of Juvenile Hormone I. General Considerations and Prematamorphic Actions. *Advances in Insect Physiology* 24: 213-274.
13. Henrich, V. C., Rybczynski, R., and Gilbert, L. I. 1999. Peptide Hormones, Steroid Hormones and Puffs: Mechanisms and Models in Insect Development. *Vitamins and Hormones* 55: 73-125.
14. Riddiford, L. M. 1996. Molecular Aspects of Juvenile Hormone Action in Insect Metamorphosis. Metamorphosis: Postembryonic Reprogramming of Gene Expression in Amphibian and Insect Cells. San Diego. Academic Press. p. 223-251.
15. Obara, Y., Miyatani, M., Ishiguro, Y., Hirota K., Koyama. T., Izumi., Iwami, M., and Sakurai, S. 2002. Pupal Commitment and its Hormonal Control in Wing Imaginal Discs. *Journal of Insect Physiology* 48: 933-944.
16. Kakei, M., Iwami, M., and Sakurai, S. 2005. Death Commitment in the Anterior Silk Gland of the Silkworm. Bombyx mori. *Journal of Insect Physiology* 51(1): 17-25.
17. Martin, D. N., and Baehrecke, E. H. 2004. Caspases Function in Autophagic Programmed Cell Death in *Drosophila. Development* 131: 275-284.
18. Daish, T. J., Mills, K., and Kumar, S. 2004. Drosophila Caspase DRONC is Required for Specific Developmental Cell Death Pathways and Stress-Induced Apoptosis. *Developmental Cell* 7(6): 909-915.
19. Iga, M., Iwami, M., and Sakurai, S. 2007. Nongenomic Action of an Insect Steroid Hormone in Steroid-Induced Programmed Cell Death. *Molecular and Cellular Endocrinology* 263: 18-28.
20. Manaboon, M., Iga, M., and Sakurai, S., 2008. Nongenomic and Genomic Actions of an Insect Steroid Coordinately Regulate Programmed Cell Death of Anterior Silk Glands of *Bombyx mori. Invertebrate Survival Journal* 5: 1-11.
21. Terashima, J., Yasuhara, N., Iwami, M., and Sakurai S. 2000. Programmed Cell Death Triggered by Insect Steroid hormone, 20-Hydroxyecdysone, in the Anterior Silk Gland of the Silkworm, *Bombyx mori. Development Genes and Evolution* 210: 545-558.
22. Manaboon, M., Iga, M., Iwami, M., and Sakurai, S., 2009. Intracellular Mobilization of Ca^{2+} by the Insect Steroid Hormone 20-Hydroxyecdysone During Programmed Cell Death in Silkworm Anterior Silk Glands. *Journal of Insect Physiology* 55(2): 123-129.
23. Yin, Y. P., and Thummel, S. 2005. Mechanisms of Steroid-Triggered Programmed Cell Death in *Drosophila. Seminar in Cells and Developmental Biology* 16: 237-243.
24. Sekimoto, T., Iwami, M., and Sakurai, S. 2006. Coordinate Responses of Transcription Factors to Ecdysone During Programmed Cell Death in the Anterior Silk Gland of the Silkworm, *Bombyx mori. Insect Molecular Biology* 15: 281-292.

25. Myer, A., Mason, H. A., Smith, W., Brown, C., and Schwartz, L. M. 2009. Differential Control of Cell Death and Gene Expression During Two Distinct Phases of Hormonally-Regulated Muscle Death in Tobacco Hawkmoth, *Manduca sexta. Journal of Insect Physiology* 55(4): 314-320.
26. Cakouros, D., Daish, T., Martin, D., Baehrecke, E. H., and Kumar, S. 2002. Ecdysone Induced Expression of the Caspase DRONC during Hormone Dependent Programmed Cell Death in *Drosophila* is Regulated by Broad-Complex. *Journal of Cell Biology* 157: 985-995.
27. Lee, C. Y., Simon, C. R., Woodard, C. T., and Baehrecke, E. H. 2002. Genetic Mechanism for the Stage-and Tissue-Specific Regulation of Steroid Triggered Programmed Cell Death in *Drosophila. Developmental Biolology* 252: 138-48.
28. Takemoto, K., Kuranaga, E., Tonoki, A., Miyawaki, A., and Miura, M. 2007. Local Initiation of Caspase Activation in *Drosophila* Salivary Gland Programmed Cell Death. *Proceeding of National Academy of Sciences* 104(33): 13367-13372.
29. Iga, M., Manaboon, M., Matsui, H., and Sakurai, S. 2010. Ca^{2+} -PKC-Caspase 3-Like Protease Pathway Mediates DNA and Nuclear Fragmentation in Ecdysteroid-Induced Programmed Cell Death. *Molecular and Cellular Endocrinology* 321(2): 146-151.
30. Hay, B. A., and Guo, M. 2006. Caspase-Dependent Cell Death in *Drosophila. Annual Review of Cell and Developmental Biology* 22: 623-650.
31. Dorstyn, L., Colussi, P. A., Quinn, L. M., Richardson, H., and Kumar, S. 1999. DRONC, an Ecdysone-Inducible *Drosophila* Caspase. *Proceeding of National Academy of Sciences of the United States of America* 96: 4307-4312.
32. Dorstyn, L., Read, S. H., Quinn, L. M., Richardson, H., and Kumar, S. 1999. Decay, a Novel *Drosophila* Caspase Related to Mammalian Caspase-3 and Caspase-7. *Journal of Biological Chemistry* 274: 30778-20783.
33. Fraser, A. G., and Evan, G. I. 1997. Identification of a *Drosophila melanogaster* ICE/CED-3-Related Protease, drICE. *EMBO Journal* 16: 2805-2813.
34. Song, Z., McCall, K., and Steller, H. 1997. DCP-1, a *Drosophila* Cell Death Protease Essential for Development. *Science* 275: 536-540.
35. Harvey, N. L., Daish, T., Mills, K., Dorstyn, L., Quinn, L. M., Read, S. H., Richardson, H., and Kumar, S. 2001. Characterization of the *Drosophila* Caspase, DAMM. *Journal of Biological Chemistry* 276: 25342-25350.
36. Vernooy, S. Y., Copeland, J., Ghaboosi, N., Griffine, E., Yoo, S. J., and Hay, B. A. 2000. Cell Death Regulation in *Drosophila:* Conservation of Mechanism and Unique Insights. *Journal of Cell Biology* 150: F69-76.

37. Doumanis, J., Quinn, L., Richardson, H., and Kumar, S. 2001. STRICA, a Novel *Drosophila melanogaster* Caspase with an Unusual Serine/threonine-Rich Prodomain, Interacts with DIAP1 and DIAP2. *Cell Death and Differentiation* 8: 387-894.
38. Chen, P., Rodriguez, A., Erskine, R., Thach, T., and Abrams, J. M. 1998. *Dredd,* a Novel Effector of the Apoptosis Activators *reaper, grim, and hid in Drosophila. Developmental Biology* 201: 202-216.
39. Grether, M. E., Abrams, J. M., Agapite, J., White, K., and Steller, H. 1995. The Head Involution Defective Gene of *Drosophila melanogaster* Functions in Programmed Cell Death. *Genes and Development* 9: 1694-708.
40. Chen, P., Nordstrom, W., Gish, B., and Abrams, J. M. 1996. *grim,* a Novel Cell Death Gene in *Drosophila. Genes and Development* 10: 1773-1782.
41. Christich, A., Kauppila, S., Chen, P., Sogame, N., Ho, S. I., and Abrams, J. M. 2002. The Damage-Responsive *Drosophila Gene Sickle* Encodes a Novel IAP Binding Protein Similar to but Distinct from *reaper, grim, and hid. Current Biology* 12: 137-140.
42. Tenev, T., Zachariou, A., Wilson, R., Ditzel, M., and Meier, P. 2005. IAPs are Functionally Nonequivalent and Regulate Effector Caspases through Distinct Mechanisms. *Nature Cell Biology* 7: 70-77.
43. Zhou, L. 2005. The 'Unique Key' Feature of the Lap-binding Motifs in RHG Proteins. *Cell Death and Differentiation* 12: 1148-51.
44. Claveria, C., Martinez-A, C., and Torres, M. 2004. A Bax/Bak-Independent Mitochondrial Death Pathway Triggered by *Drosophila* Grim GH3 Domain in Mammalian Cells. *Journal of Biological Chemistry* 279: 1368-1375.
45. Lavrik, I., Golks, A., and Krammer, P. H. 2005. Death Receptor Signaling. *Journal of Cell Science* 118: 265-267.
46. Lijima, K., Liu, H. P., Chiang, A. S., Hearn, S. A., Konsolaki, M., and Zhong, Y. 2004. Dissecting the Pathological Effects of Human A{Beta}40 and A{Beta}42 in *Drosophila:* A Potential Model for Alzheimer's Disease. *Proceeding of National Academy of Sciences of the United States of America* 101: 6623-6628.
47. Feany, M. B., and Bender, W. W. 2000. A *Drosophila* Model of Parkinson's Disease. *Nature* 404: 394-398.
48. Vogler, G., Bodmer, R., and Akasaka, T. 2009. A *Drosophila* Model for Congenital Heart Disease. *Drug Discovery Today: Disease Model* 6(2): 47-54.

ได้รับบทความวันที่ 6 กรกฎาคม 2554
ยอมรับตีพิมพ์วันที่ 15 สิงหาคม 2554