

การควบคุมการแสดงออกของ CYP2A และบทบาทในกระบวนการเมแทบอลิซึม

กนกวรรณ จารุกัจจา^{1,2*}, ธัญลักษณ์ บุญมาทน^{2,3}

¹ รองศาสตราจารย์, สาขาวิชาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ. ขอนแก่น.40002

² กลุ่มวิจัยฤทธิ์ทางยาของผลิตภัณฑ์ธรรมชาติโดยเทคโนโลยีชีวภาพทางเภสัชศาสตร์ (PANPB) คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

³ นักศึกษา หลักสูตรเภสัชศาสตรบัณฑิต (Doctor of Pharmacy) คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ. ขอนแก่น.40002

* ติดต่อผู้พิมพ์ อีเมล: kanok_ja@kku.ac.th; โทรศัพท์/โทรสาร: +66 43 202 305/+66 43 202 379

บทคัดย่อ

การควบคุมการแสดงออกของ CYP2A และบทบาทในกระบวนการเมแทบอลิซึม

กนกวรรณ จารุกัจจา^{1,2*}, ธัญลักษณ์ บุญมาทน^{2,3}

ว. เภสัชศาสตร์อีสาน 2561; 14(3) : 1-15

รับบทความ : 3 มกราคม 2561

ดอรับ : 25 มิถุนายน 2561

ไซโตโครม พี 450 2 เอ (CYP2A) มีบทบาทในเมแทบอลิซึมของสารภายนอกในร่างกายหลายชนิดทั้งที่เป็นยาและสารที่เปลี่ยนแปลงเป็นสารก่อมะเร็ง บทความฉบับนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อทบทวนการควบคุมการแสดงออกของยีน CYP2A และไอโซฟอร์มของ CYP2A ที่พบในมนุษย์และสัตว์ รวมถึงบทบาทของเอนไซม์ CYP2A ในกระบวนการ เมแทบอลิซึม เป็นข้อมูลในภาพรวมของ CYP2A เพื่อการประยุกต์ใช้ทางคลินิกต่อไป CYP2A6 และ CYP2A13 เป็น ไอโซฟอร์มของ CYP2A ที่แสดงออกและมีสมรรถนะของเอนไซม์ในมนุษย์ โดยทั้งคู่เป็นเอนไซม์หลักในเมแทบอลิซึมของสารภายนอกในร่างกายที่น่าสนใจ ได้แก่ นิโคติน และสารก่อมะเร็งกลุ่มไนโตรซามีนในบุหรี่ปริมาณสูงที่มีความเป็นพิษสูงและก่อกลายพันธุ์ ซึ่งบางบทบาทของเอนไซม์ทั้งสองนี้ในมนุษย์มีความคล้ายคลึงกับเอนไซม์ CYP2A ที่พบในหนูถีบจักรและหนูขาว โดยการควบคุมการแสดงออก CYP2A เกี่ยวข้องกับตัวรับนิวเคลียร์หลายชนิด และขึ้นกับสารกระตุ้น รวมถึงไอโซฟอร์มที่รับผิดชอบต่อกระบวนการเมแทบอลิซึม นอกจากนี้บทบาทของ CYP2A ยังขึ้นกับตำแหน่งและปริมาณการแสดงออกของเอนไซม์ กล่าวคือไอโซฟอร์มที่รับผิดชอบหลักในเมแทบอลิซึมมีบทบาทต่อยกกว่า ไอโซฟอร์มที่แสดงออกสูงกว่า ดังนั้น การทบทวนการควบคุมการแสดงออกและบทบาทในกระบวนการเมแทบอลิซึมของ CYP2A จึงทำให้ทราบถึงความเกี่ยวข้องระหว่าง CYP2A และนัยสำคัญทางคลินิกต่างๆ

คำสำคัญ: ไซโตโครม พี 450 2 เอ, CYP2A6, CYP2A13, ตัวรับนิวเคลียร์

Regulation of CYP2A expression and its role in metabolism

Kanokwan Jarukamjorn^{1,2*}, Thanyalak Boonmaton^{2,3}

¹ Associate Professor, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002 Thailand

² Research Group for Pharmaceutical Activities of Natural Products using Pharmaceutical Biotechnology (PANPB),
Faculty of Pharmaceutical Sciences, National Research University-Khon Kaen University, Khon Kaen 40002 Thailand

³ Undergraduate student (Doctor of Pharmacy), Faculty of Pharmaceutical Sciences,
Khon Kaen University, Khon Kaen 40002 Thailand

* Corresponding author : kanok_ja@kku.ac.th

Abstract

Regulation of CYP2A expression and its role in metabolism

Kanokwan Jarukamjorn^{1,2*}, Thanyalak Boonmaton^{2,3}

IJPS, 2018; 14(1) : 1-15

Received : 3 January 2018

Accepted : 25 June 2018

Cytochrome P450 2A (CYP2A) plays a role in metabolism of exogenous substances including drugs and procarcinogens. This article aims to review regulatory expression of CYP2A gene and CYP2A isoforms found in human and animals, including roles of CYP2As in metabolism to obtain the overview information of CYP2A for clinical application. CYP2A6 and CYP2A13 are CYP2A expressed and showed enzyme activity in human. Both are the main enzymes in metabolism of interesting exogenous substances such as nicotine and nitrosamines procarcinogens in cigarette including high toxic and mutation induced substances. In addition, some roles of these human CYP2As are similar to mouse and rat CYP2As. Regulation of these human CYP2As involve several nuclear receptors depended on an inducer and an isoform responsible for metabolism. Moreover, roles of CYP2A depend on position and level of expression of the enzyme, by which the major responsible isoform for metabolism becomes inferior to the higher expressed isoform. Therefore, the review on regulation of CYP2A expression and its role in metabolism brings information on involvement of CYP2A and clinical significances.

Keywords: cytochrome P450 2A, CYP2A6, CYP2A13, nuclear receptor

บทนำ

ไซโตโครม พี 450 (cytochromes P450, CYP450) เป็นกลุ่มของเอนไซม์ที่มีบทบาทในกระบวนการเมแทบอลิซึมของสารจากทั้งภายนอกร่างกายและภายในร่างกาย (Fernandez-Salguero & Gonzalez, 1995; Oscarson *et al.*, 1998) CYP2A6 แสดงออกในตับเป็นหลักแต่มีปริมาณเพียงร้อยละ 1-10 ของ CYP450 ในตับ ส่วน CYP2A13 แสดงออกในทางเดินหายใจเป็นหลักและพบปริมาณน้อยมากในตับ (Raunio *et al.*, 2008)

แม้ว่า CYP2A จะแสดงออกไม่มากในตับ และเป็นเอนไซม์ที่มีซับสเตรตค่อนข้างจำกัด (Ioannides, 2008) แต่เอนไซม์ CYP2A6 และ CYP2A13 มีบทบาทในเมแทบอลิซึมของสารจากภายนอกในร่างกาย เช่น คูมาริน (coumarin) และสารภายในร่างกาย เช่น บิลิรูบิน (bilirubin) และยังมีบทบาทสำคัญอีกคือเมแทบอลิซึมของนิโคตินและโปรคาซิโนเจนกลุ่มไนโตรซามีน (nitrosamines) ในบุหรี่ นอกจากนี้ CYP2A13 สามารถเมแท

บอไลซ์ 3-เมทิลอินโดล (3-methylindole, 3MI) เป็นสารที่มีความเป็นพิษสูงและก่อกลายพันธุ์ได้ (D'Agostino *et al.*, 2009; Weems *et al.*, 2009) ดังนั้นนิพนธ์ปริทรรศน์ฉบับนี้จึงมุ่งทบทวนการแสดงผลและการควบคุมการแสดงผลของยีน CYP2A รวมทั้งบทบาทในกระบวนการเมแทบอลิซึมของเอนไซม์ที่อาจประยุกต์ใช้เป็นแนวทางในการป้องกันและ/หรือชะลอปัญหาสุขภาพที่เกี่ยวข้องต่อไป

ไซโตโครม พี 450 2 เอ (CYP2A)

มนุษย์ (human) พบ CYP2A6 ประมาณร้อยละ 1-10 ของ CYP450 ทั้งหมด โดยพบในตับเป็นหลักและเยื่อบุโพรงจมูก (nasal mucosa) หลอดลม (trachea) เยื่อบุถุงลมปอด (alveolar mucosa) และหลอดอาหาร (esophagus) (Koskela *et al.*, 1999; von Weymarn *et al.*, 2006; Zhang *et al.*, 2006; Ioannides, 2008) ยีน CYP2A6 อยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 19 บนขาข้างที่ยาวกว่า แถบหลักที่ 13 แถบย่อยที่ 2 (19q 13.2) โดยอยู่ติดกับยีน CYP2A7 บริเวณกิโเบสที่ 370 (Hoffman *et al.*, 2001; Nelson *et al.*, 2004) ตำแหน่งของ CYP2A6 และ CYP2A7 จะอยู่ใกล้เซนโทรเมียร์ (centromere) ของทิศทางการทรานสคริปชันและอยู่ตรงกันข้ามกับ CYP450 อื่น (Fernandez-Salguero & Gonzalez, 1995) CYP2A6 มีต้นกำเนิดเดียวกัน (orthologous) กับยีน *Cyp2a* ในระบบทางเดินหายใจของสัตว์อื่นๆ บ่งชี้ว่าเอนไซม์นี้มีบทบาทในการเปลี่ยนแปลงกลิ่นที่สูดดมผ่านทางเดินหายใจ หรือมีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการส่งสัญญาณการรับกลิ่น (Ioannides, 2008) นอกจากนี้ CYP2A6 ยังเป็นเอนไซม์ที่มีความจำเพาะต่อกระบวนการไฮดรอกซิเลชันของคูมาริน (coumarin 7-hydroxylation)

CYP2A7 เป็นยีนที่อยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 19 บนขาข้างที่ยาวกว่า แถบหลักที่ 13 แถบย่อยที่ 2 เช่นเดียวกับยีน CYP2A6 มีการตรวจพบการแสดงผลของยีนในตับ แต่ไม่พบสมรรถนะของเอนไซม์ CYP2A7 (Raunio *et al.*, 2008)

CYP2A13 พบปริมาณเล็กน้อยในตับ (Koskela *et al.*, 1999) แต่พบมากในทางเดินหายใจ ทั้งในส่วนเยื่อบุโพรงจมูก หลอดลมและเยื่อบุถุงลมปอด โดยพบมากที่สุดที่เยื่อบุโพรงจมูกทั้งในผู้ใหญ่และทารก (Chen *et al.*, 2003) ยีน CYP2A13 มีตำแหน่งอยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 19 บนขาข้างที่ยาวกว่า แถบหลักที่ 13 แถบย่อยที่ 2 เช่นเดียวกับยีน CYP2A6 และ CYP2A7 โดย CYP2A13 และ CYP2A6 มีความคล้ายคลึงกันมากถึง

ร้อยละ 94 (แตกต่างกันเพียง 32 กรดอะมิโน) (von Weymarn *et al.*, 2006) CYP2A13 มีบทบาทมากต่อการเร่งการเปลี่ยนแปลงเอ็นไนโตรซามีน (N-nitrosamine) ในผู้สูบบุหรี่ (Raunio *et al.*, 2008) แต่จากการศึกษาพบว่า ปริมาณ CYP2A13 ที่มากที่สุดปอดมีน้อยกว่าปริมาณ CYP2A6 ในปอด 10 เท่า (Rossini *et al.*, 2008)

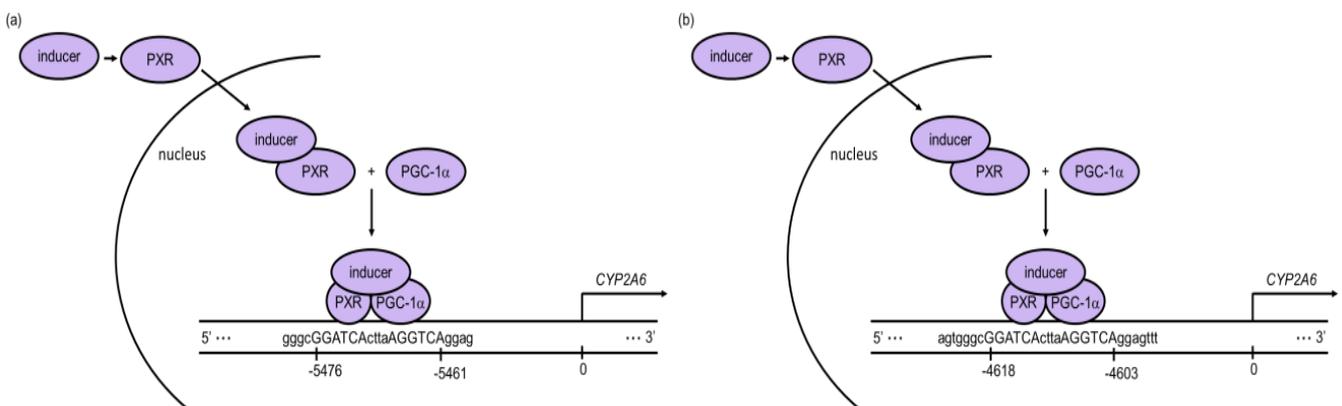
หนูถีบจักร (mouse) *Cyp2a5* ในหนูถีบจักรสันนิษฐานว่ามีต้นกำเนิดของยีนเดียวกันกับ CYP2A6 ในมนุษย์ นอกจากนี้พบว่ายีนของเอนไซม์ทั้งสองมีความคล้ายคลึงกันมากถึงร้อยละ 84 และอยู่ในตำแหน่งที่สอดคล้องกัน (Ioannides, 2008) CYP2A5 มีบทบาทในการเร่งปฏิกิริยา 7-ไฮดรอกซิเลชันของคูมารินเช่นเดียวกับ CYP2A6 ของมนุษย์ (Raunio *et al.*, 2008) พบมากในเยื่อบุทางเดินหายใจเช่นเดียวกับ CYP2A13 ของมนุษย์ แต่ยังสามารถพบได้ในอวัยวะอื่นๆ รวมถึงตับด้วย โดยสามารถพบได้ทั้งในเซลล์ตับปกติและเซลล์มะเร็งตับ (hepatoma) (Kobliakov *et al.*, 1993) ซึ่งปกติ CYP450 มักไม่แสดงผลออกในเซลล์มะเร็ง (Fernandez-Salguero & Gonzalez, 1995) ระดับการแสดงผลของ CYP2A5 ในไตเพศผู้สูงกว่าเพศเมียแต่ในตับเพศเมียจะสูงกว่าเพศผู้ เช่นเดียวกับการแสดงผลของ CYP2A4 (Wiwi *et al.*, 2004) ทั้งนี้เป็นผลจากรูปแบบการหลั่งฮอร์โมนโกรทแบบคงที่ในเพศเมีย (constant growth hormone) และการมีโปรตีน STAT5b (signal transducer and activator of transcription 5B) ภายในเซลล์ โดย STAT5b ถูกควบคุมโดยตัวรับเอสโตรเจนแอลฟา (estrogen receptor- α) (Koskela *et al.*, 1999; Raunio *et al.*, 2008) CYP2A4 และ CYP2A5 มีความคล้ายคลึงกันถึงร้อยละ 98 (แตกต่างกันเพียง 11 กรดอะมิโน) (von Weymarn *et al.*, 2006) นอกจากนี้เอนไซม์ CYP2A4 และ CYP2A5 ในตับหนูถีบจักรยังมีการแสดงผลออกตามวัฏจักรของร่างกาย (circadian rhythms) โดยระดับเอนไซม์สูงสุดในช่วงเย็นเป็นผลจากการแสดงผลของทรานสคริปชันแฟคเตอร์ ชนิดอัลบูมิน-ดี-ไซต์-บิנדิงโปรตีน (transcription factor albumin D-site-binding protein, DBP) ซึ่งเป็นทรานสคริปชันแฟคเตอร์ที่เข้าจับกับโปรโมเตอร์ของ *Cyp2a4* และ *Cyp2a5* (Lavery *et al.*, 1999; Raunio *et al.*, 2008) เอนไซม์ CYP2A4 ในหนูถีบจักรมีหน้าที่ในการเปลี่ยนแปลงเทสโทสเตอโรน (testosterone) ไปเป็น 15 α -ไฮดรอกซีเทสโทสเตอโรน (15 α -hydroxytestosterone) ส่วน CYP2A12 มีบทบาทในกระบวนการ 7 α -ไฮดรอกซิเลชัน (7 α -hydroxylation) ของสารกลุ่มสเตียรอยด์ (Ioannides, 2008) โดย

เอนไซม์ CYP2A4 และ CYP2A12 พบปริมาณมากในตับ แต่อาจตรวจพบระดับต่ำหรือไม่สามารถตรวจพบในปอดของหนูถีบจักร (Rowland & Yost, 2010)

หนูขาว (rat) มี CYP2A1 เป็นเอนไซม์สำคัญในกระบวนการ 7 α -ไฮดรอกซิเลชันของสารกลุ่มสเตียรอยด์ เช่นเดียวกับ CYP2A12 ในหนูถีบจักร โดยสมรรถนะของ CYP2A1 ต่อกระบวนการ 7 α -ไฮดรอกซิเลชันของเทสโทสเตอโรนในตับในเพศเมียจะมากกว่าเพศผู้ แต่สมรรถนะต่อกระบวนการ 15 α -ไฮดรอกซิเลชัน (15 α -hydroxylation) ของเทสโทสเตอโรนในเพศผู้จะมากกว่าเพศเมีย ส่วน CYP2A2 มีการแสดงออกในเพศผู้มากกว่าเพศเมียและมีความจำเพาะต่อกระบวนการไฮดรอกซิเลชันของเทสโทสเตอโรนเช่นเดียวกับ CYP2A4 ในหนูถีบจักร แต่มีความจำเพาะต่อสารแปลกปลอมต่างๆ มากกว่า CYP2A1 โดยทั้ง CYP2A1 และ CYP2A2 พบมากในตับ แต่ไม่พบในเยื่อบุโพรงจมูก (Rowland & Yost, 2010) นอกจากนี้ยังพบ CYP2A1 ในเซลล์เลย์ดิก (Leydig cell) และผิวหนังด้วย ส่วน CYP2A3 พบมากในเยื่อบุโพรงจมูกแต่ไม่พบในตับ (Su & Ding, 2004) มีบทบาทในกระบวนการไฮดรอกซิเลชันของเทสโทสเตอโรนเช่นเดียวกับ CYP2A2 และมีบทบาทในกระบวนการไฮดรอกซิเลชันของคูมารินด้วย (Ioannides, 2008) โดย CYP2A3 มีการแสดงออกในหนูทั้งสองเพศใกล้เคียงกัน (Raunio *et al.*, 2008) และสันนิษฐานว่ามีต้นกำเนิดของยีนเดียวกับ CYP2A5 ของหนูถีบจักร (Su & Ding, 2004)

การควบคุมการแสดงออกของ CYP2A

กระบวนการทรานสคริปชันของยีน CYP2A ถูกกระตุ้นผ่านตัวรับซึ่งเป็นโปรตีนภายในเซลล์ (nuclear receptor, NR) ที่สามารถเข้าจับกับดีเอ็นเอ (DNA) และควบคุมการแสดงออกของยีน ได้แก่ ตัวรับคอนสติทูทีฟแอนโดรสเทน (constitutive androstane receptor, CAR) และตัวรับเพรีกเนนเอ็กซ์ (pregnane X receptor, PXR) โดยทั้ง CAR และ PXR เป็นตัวรับนิวเคลียร์ในกลุ่ม 11 (nuclear receptor subfamily 11, NR11) (Xie *et al.*, 2000; Tien & Negishi, 2006; Timsit & Negishi, 2007) การทำงานร่วมกันของ PXR และเพอรอกซิโซมโปรลิเฟอเรเตอร์แอกติเวตเตอร์เทตรีเซฟเตอร์แกมมาโคแอกติเวเตอร์-1 α (peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator-1 α , PGC-1 α) มีความสำคัญต่อการกระตุ้นทรานสคริปชันของ CYP2A6 โดยสารจากภายนอกร่างกาย (Yoshinari *et al.*, 2008) การควบคุมโดย PXR นั้น CYP2A6 ถูกกระตุ้นผ่านการจับของตัวกระตุ้นกับ PXR ทำให้ PXR เคลื่อนเข้าสู่นิวเคลียส (nucleus) และจับกับ PGC-1 α ได้เป็น PXR/PGC-1 α ก่อนเข้าจับกับตำแหน่งกระตุ้นทรานสคริปชันของยีน โดยตำแหน่งดังกล่าวมีลักษณะการซ้ำของนิวคลีโอไทด์ที่ถูกคั่นกลางด้วยนิวคลีโอไทด์ใดๆ 4 ชนิด (direct repeat separated by 4 nucleotides, DR4) มากกว่า 2 ชุด ได้แก่ ตำแหน่ง -5476/-5461 (GGATCAActtaAGGTCA) และตำแหน่ง -4618/-4603 (AGATCA cctgAGGTCA) (รูปที่ 1) เมแทบอลิซึมของไรแฟมพิซิน (rifampicin) ฟิโนบาร์บิทัล และนิโคติน (nicotin) เกิดโดยการกระตุ้น CYP2A6 ผ่านการจับของ PXR กับ DR4 (Itoh *et al.*, 2006)



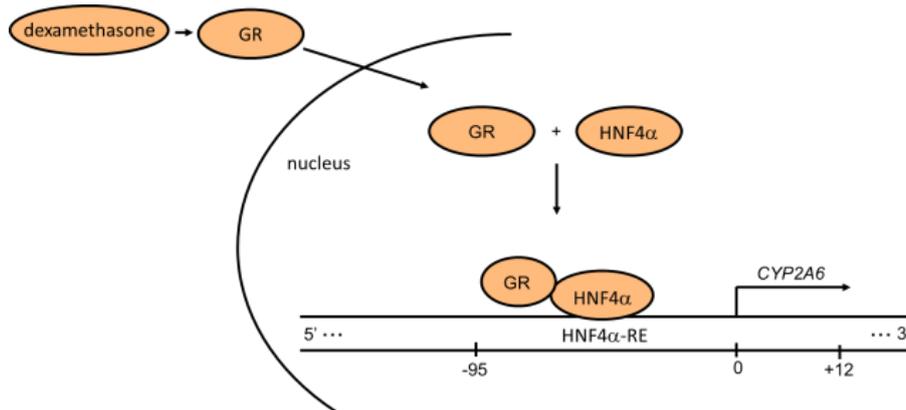
รูปที่ 1 กระบวนการควบคุมการแสดงออกของ CYP2A6 ผ่าน PXR/PGC-1 α และ DR4

(a) การกระตุ้นที่ตำแหน่ง -5476/-5461 (b) การกระตุ้นที่ตำแหน่ง -4618/-4603

(Yoshinari *et al.*, 2008; Itoh *et al.*, 2006)

นอกจากนี้ CYP2A6 ยังถูกกระตุ้นด้วยเดกซามะธาโซน (dexamethasone) ผ่านตัวรับกลูโคคอร์ติคอยด์ (glucocorticoid receptor, GR) และมีเฮพาโตไซต์นิวเคลียร์แฟคเตอร์ 4 แอลฟา (hepatocyte nuclear factor 4 alpha, HNF4 α) เป็นโคแอกติเวเตอร์ (รูปที่ 2) โดยเดกซามะธาโซนกระตุ้น GR ให้เคลื่อนเข้าไปในนิวเคลียสเพื่อจับกับ HNF4 α แล้วกระตุ้นการจับของ HNF4 α กับส่วนที่รับผิดชอบต่อการจับกับเฮพาโตไซต์

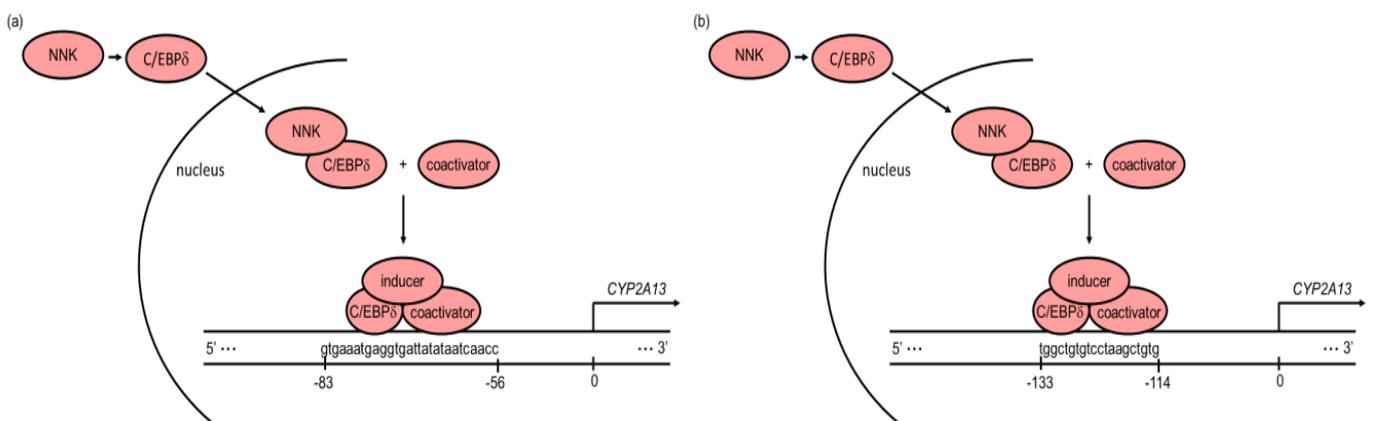
นิวเคลียร์แฟคเตอร์ 4 แอลฟา (HNF4 α response element, HNF4 α -RE) ในโปรโมเตอร์ของ CYP2A6 (ตำแหน่ง -95 ถึง +12) ส่งผลให้เกิดทรานสคริปชันของ CYP2A6 นอกจากนี้ เดกซามะธาโซนยังกระตุ้นการเกิดอะเซทิลเลชัน (acetylation) ของฮิสโตนเฮก 4 (histone H₄) เป็นผลให้โครมาติน (chromatin) คลายตัวทำให้ HNF4 α สามารถเข้าจับกับ HNF4 α -RE ได้มากยิ่งขึ้น ส่งผลเพิ่มทรานสคริปชันของ CYP2A6 (Onica *et al.*, 2008)



รูปที่ 2 กระบวนการควบคุมการแสดงออกของ CYP2A6 โดยเดกซามะธาโซน (Onica *et al.*, 2008)

ทรานสคริปชันของ CYP2A13 ถูกกระตุ้นโดย 4-เมทิลไนโตรซามิโน-1-(3-ไพริดีล)-1-บิวทาโนน (4-methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone, NNK) ผ่านการจับของตัวกระตุ้นกับซีซีเอที/เอ็นเอชบีซีเอทีโปรตีน (CCAAT/enhancer binding protein δ , C/EBP δ) ในโปรโมเตอร์ของ CYP2A13 ได้แก่ ตำแหน่ง -83/-56 (ตำแหน่งหลัก) และ -133/-114 (ตำแหน่งรอง) (รูปที่ 3) โดย C/EBP δ สามารถจับกับตำแหน่งหลักโดยตรง แต่การจับกับตำแหน่งรองนั้น C/EBP δ จำเป็นต้องอาศัยโคแอกติเวเตอร์ อย่างไรก็ตาม เพื่อให้

การจับดังกล่าวมีความคงตัว โคแอกติเวเตอร์มีความจำเป็นในการเข้าจับระหว่าง C/EBP δ กับโปรโมเตอร์ของ CYP2A13 ทั้งที่ตำแหน่งหลักและตำแหน่งรอง ในขณะที่ CYP2A3 ในหนูขาว ซึ่งทำหน้าที่คล้ายกับ CYP2A13 ในมนุษย์จะถูกควบคุมผ่านการจับของนิวเคลียร์แฟคเตอร์ 1 (nuclear factor 1, NF1) กับโปรโมเตอร์ของยีน CYP2A3 นอกจากนี้พบว่า การอักเสบของบริเวณทางเดินหายใจ กระบวนการดีเอ็นเอเมทิลเลชัน (DNA methylation) และฮิสโตนโมดิฟิเคชัน (histone modification) สามารถกดการแสดงออกของ CYP2A13 ได้ (Ling *et al.*, 2007)

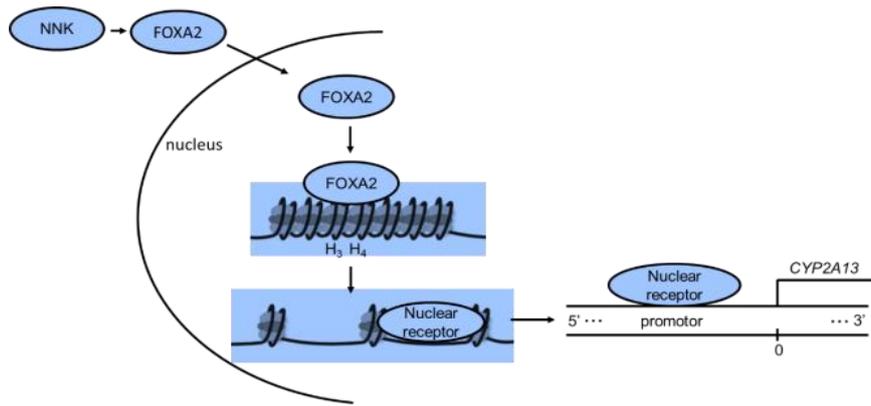


รูปที่ 3 กระบวนการควบคุมการแสดงออกของ CYP2A13 ผ่าน C/EBP δ

(a) การกระตุ้นที่ตำแหน่งหลัก (b) การกระตุ้นที่ตำแหน่งรอง (Ling *et al.*, 2007)

เมแทบอลิซึมของ NNK ด้วย CYP2A13 ถูกควบคุม ผ่านทรานสคริปชันแฟกเตอร์ฟอร์คเฮดบอกซ์เอ 2 (transcription factor forkhead box A2, FOXA2) กับตำแหน่งที่มักจะอยู่ด้านปลายของตำแหน่งจับของทรานสคริปชันแฟกเตอร์ (รูปที่ 4) ซึ่งเป็นบริเวณที่มีพันธะระหว่างฮิสโตนเอช 3 (histone H₃) และฮิสโตนเอช 4 จากนั้นจะส่งผลให้เกิดการคลายตัวของดีเอ็นเอและโครมาติน ทำให้ทรานสคริปชันแฟกเตอร์อื่นๆ สามารถเข้าจับกับ

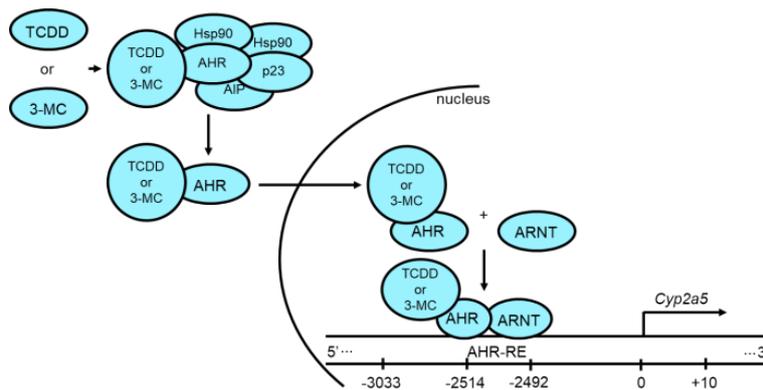
ตำแหน่งจับของ ทรานสคริปชันแฟกเตอร์ได้ เป็นผลให้เกิดทรานสคริปชันของยีน CYP2A13 โดย FOXA2 ในเซลล์เพาะเลี้ยงของมะเร็งปอดถูกยับยั้งได้ด้วยกระบวนการดีเอ็นเอเมทิลเลชัน (Xiang *et al.*, 2015; Bersaas *et al.*, 2016; Bersaas, 2017)



รูปที่ 4 การควบคุมการแสดงออกของยีน CYP2A13 โดย NNK (Xiang *et al.*, 2015; Bersaas *et al.*, 2016; Bersaas, 2017)

สารพิษกลุ่มไดออกซิน (dioxin) ได้แก่ 2,3,7,8-เตตระคลอโรไดเบนโซ-พารา-ไดออกซิน (2,3,7,8-tetrachloro dibenzo-*p*-dioxin, TCDD) และสารก่อมะเร็ง 3-เมทิลโคลแลนทริน (3-methyl cholanthrene, 3-MC) สามารถกระตุ้นทรานสคริปชันของ *Cyp2a5* ผ่านตัวรับเอริลไฮโดรคาร์บอน (aryl hydro carbon receptor, AHR) (รูปที่ 5) โดย TCDD และ 3-MC จะเข้าจับกับ AHR ส่งผลให้ AHR หลุดออกจากสารประกอบเชิงซ้อนซึ่งประกอบด้วย AHR โมเลกุลคู่ของฮีทช็อกโปรตีน 90 (heat shock protein 90, Hsp90) เอริลไฮโดรคาร์บอนรีเซพเตอร์อินเตอร์แอคติ้งโปรตีน (AH receptor-interacting protein, AIP) และโคชาเพอโรน พี 23 (cochaperone p23) ในไซโตพลาซึม จากนั้น AHR ที่จับกับ TCDD และ 3-MC จะเคลื่อนเข้าสู่นิวเคลียสเพื่อจับกับเอริลไฮโดรคาร์บอนรีเซพเตอร์นิวเคลียร์ทรานสโลเคเตอร์ (AHR nuclear translocator, ARNT) ก่อนที่โมเลกุลคู่นี้จะเข้าจับกับตำแหน่งที่เป็นส่วนรับผิดชอบต่อ AHR (AHR response element, AHR-RE) (-2514/-2492) ในโปรโมเตอร์ของ *Cyp2a5* (-3033/+10) ส่งผลให้เกิดทรานสคริปชันของ *Cyp2a5* (Arpiainen *et al.*, 2005) นอกจากนี้ 3-MC ยังสามารถกระตุ้นการแสดงออกของ CYP2A13 ผ่าน AHR ได้เช่นกัน (Robottom-Ferreira *et al.*, 2003)

กรดอะมิโนตำแหน่งสำคัญต่อการจับกับซับสเตรตของเอนไซม์ (active site) เป็นปัจจัยสำคัญหนึ่งต่อบทบาทของเอนไซม์ เช่น CYP2A ไอโซฟอร์มที่มีบทบาทในเมแทบอลิซึมของคูมารินผ่านปฏิกิริยาไฮดรอกซิเลชันจะมีฟีนิลอะลานีน (phenylalanine) ที่ตำแหน่ง 209 ดังนั้น CYP2A4 ที่กรดอะมิโนตำแหน่ง 209 เป็นลิวซีน (leucine) จึงไม่มีบทบาทต่อไฮดรอกซิเลชันของคูมาริน ส่วน CYP2A4 และ CYP2A13 ซึ่งมีบทบาทค่อนข้างน้อยในเมแทบอลิซึมของคูมารินนั้น กรดอะมิโนที่ตำแหน่ง 117 ของทั้งสองไอโซฟอร์มเป็นอะลานีน (alanine) ซึ่งตำแหน่งเดียวกันนี้ใน CYP2A5 และ CYP2A6 เป็นวาเลอีน (valine) ดังนั้น ชนิดของกรดอะมิโนที่ตำแหน่ง 117 และ 209 จะกำหนดบทบาทเมแทบอลิซึมของคูมารินของ CYP2A ไอโซฟอร์มต่างๆ นอกจากนี้กรดอะมิโนที่ตำแหน่ง 117, 209 และ 365 ของ CYP2A13 ยังบ่งบอกความคล้ายคลึงกันระหว่าง CYP2A13 ของมนุษย์และ CYP2A3 ของหนูขาว โดย CYP2A3 มีบทบาทในการเร่งปฏิกิริยา 3,4-อีพอกซิเดชันของคูมาริน เช่นเดียวกับ CYP2A13 จึงอาจสรุปได้ว่ากรดอะมิโนตำแหน่งข้างต้นสามารถช่วยระบุตำแหน่งจับจำเพาะของซับสเตรตกับ CYP2A (von Weyarn & Murphy, 2003)



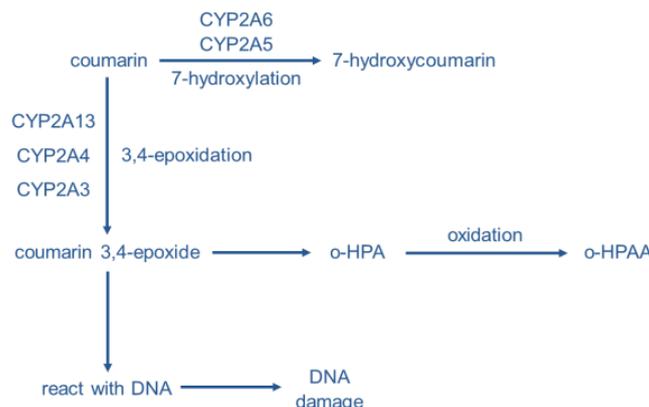
รูปที่ 5 การกระตุ้นการแสดงออกของยีน Cyp2a5 โดย TCDD หรือ 3-MC ผ่าน AHR (Robottom-Ferreira *et al.*, 2003; Arpiainen *et al.*, 2005)

ภาวะอดอาหารกระตุ้นการแสดงออกของ CYP2A1 ในหนูขาว และ CYP2A5 ในหนูถีบจักรส่งผลเร่งกระบวนการ 7 α -ไฮดรอกซิเลชัน นอกจากนี้ CYP2A5 ยังสามารถถูกกระตุ้นได้ด้วยฮอร์โมน กลูคากอน (glucagon) ผ่านตัวนำสัญญาณ เช่น ไสคลิกอะดีโนซีนโมโนฟอสเฟต (adenosine monophosphate, cAMP) ซึ่งระดับกลูคากอนในเลือดที่เปลี่ยนแปลงนั้นคาดว่าเป็นผลจากภาวะอดอาหาร (Raunio *et al.*, 2008)

บทบาทของ CYP2A ในกระบวนการเมแทบอลิซึม

CYP2A6 ในมนุษย์ถูกนิยามครั้งแรกเป็นคูมาริน 7 α -ไฮดรอกซิเลส จากบทบาทในกระบวนการเมแทบอลิซึมของคูมารินผ่านปฏิกิริยา 7 α -ไฮดรอกซิเลชันไปเป็น 7-ไฮดรอกซิคูมาริน (7-hydroxy coumarin) ในตับของมนุษย์ ดังนั้น อัตราไฮดรอกซิเลชันจึงนับเป็นค่าบ่งชี้สมรรถนะของ CYP2A6 (Zanger & Schwab, 2013) นอกจากนี้ CYP2A6 ยังเมแทบอลิซึมเอ็น-ไนโตรโซไดเอธิลลามีน (N-nitrosodiethylamine) มากกว่า CYP450 อื่น ๆ (Fernandez-Salguero & Gonzalez, 1995) ส่วน CYP2A13 มีบทบาทเด่นในการเร่งปฏิกิริยา 3,4-อีพอกซิเดชัน

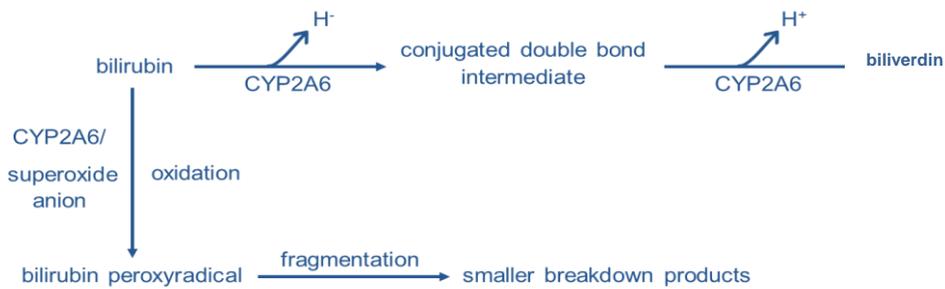
ของคูมาริน (รูปที่ 6) (von Weyarn & Murphy, 2003; Zanger & Schwab, 2013) CYP2A4 จะเร่งปฏิกิริยา 3,4-อีพอกซิเดชันของคูมารินได้เป็นคูมาริน 3,4-อีพอกไซด์ (coumarin 3,4-epoxide) แต่ประสิทธิภาพด้อยกว่า CYP1A1, CYP1A2 และ CYP2E2 ในหนูขาว คูมาริน 3,4-อีพอกไซด์มีความไวต่อปฏิกิริยามากสามารถจับกับดีเอ็นเอได้ นอกจากนี้ 3,4-อีพอกไซด์สามารถเปลี่ยนแปลงเป็น ออร์โธ-ไฮดรอกซีฟีนิลอะซีตัลดีไฮด์ (o-hydroxy phenylacetaldehyde, o-HPA) โดยไม่อาศัยเอนไซม์ใดๆ จากนั้น o-HPA จะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้เป็น ออร์โธ-ไฮดรอกซีฟีนิลอะซีติกแอซิด (o-hydroxyphenyl acetic acid, o-HPAA) นอกจากนี้คูมารินยังสามารถยับยั้งปฏิกิริยา 15 α -ไฮดรอกซิเลชันของเทสโทสเตอโรนซึ่งถูกเร่งโดย CYP2A4 ได้ ในขณะที่เมแทบอลิซึมจากเมแทบอลิซึมของคูมารินผ่านปฏิกิริยา 7 α -ไฮดรอกซิเลชันโดย CYP2A5 คือ 7-ไฮดรอกซิคูมาริน จึงอาจเรียก CYP2A5 ได้ชื่อหนึ่งว่า 7 α -ไฮดรอกซิเลส (von Weyarn & Murphy, 2003)



รูปที่ 6 เมแทบอลิซึมของคูมารินโดย CYP2A (von Weyarn & Murphy, 2003; Zanger & Schwab, 2013)

CYP2A6 สามารถกระตุ้นเมแทบอลิซึมของโปรคาซิโนเจนไปเป็นสารก่อมะเร็ง เช่น NNK เอ็น-ไนโตรโซไคเอธิลามีน อะฟลาท็อกซิน บี 1 (aflatoxin B₁, AFB₁) 4-4'-เมทิลีน-บิส (2-คลอโรโซไคเอธิลามีน) (4-4' - methylene- bis(2-chlorosodiethylamine)) 1,3-บิวเตไดเอิน (1,3-butadiene) และ 2,6-ไดคลอโรเบนโซไนไตรล์ (2,6-dichlorobenzonitrile) นอกจากนี้ยังมีบทบาทในเมแทบอลิซึมของสารภายในร่างกาย เช่น บิลิรูบิน (bilirubin) เป็นต้น (Zanger & Schwab, 2013)

บทบาท CYP2A6 ในเมแทบอลิซึมของบิลิรูบินของ โดยกระตุ้นการหลุดออกของไฮไดรด์แอนไอออน (hydride anion, H⁻) จากหมู่เมทิลีนซึ่งเป็นอะตอมกลางของบิลิรูบิน ได้



รูปที่ 7 เมแทบอลิซึมของบิลิรูบินโดย CYP2A6 (Abu-Bakar, 2012)

CYP2A6 เป็นเอนไซม์หลักตัวแรกในเมแทบอลิซึมของนิโคติน (Raunio & Rahnasto-Rilla, 2012) (รูปที่ 8) โดยประมาณร้อยละ 70-80 ของนิโคตินที่ถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกายถูกเมแทบอลิซึมผ่านปฏิกิริยา 5'-ไฮดรอกซิเลชันเป็นกระบวนการหลัก (major pathway) และประมาณร้อยละ 10 ผ่านปฏิกิริยา 2'-ไฮดรอกซิเลชันและเมทิลไฮดรอกซิเลชันเป็นกระบวนการรอง (minor pathway) ได้เป็นไฮดรอกซีนิโคติน (hydroxy-nicotine metabolite) ซึ่งเปลี่ยนแปลงแบบผันกลับได้เป็น 5'-อิมิเนียมไอออน (5'-iminium ion) (von Weymarn *et al.*, 2006) จากนั้น 5'-อิมิเนียมไอออนเปลี่ยนไปเป็นโคตินินผ่านปฏิกิริยาซี-ออกซิเดชัน (c-oxidation) โดย CYP2A6 หรือเอนไซม์แอลดีไฮด์ออกซิเดส (aldehyde oxidase) (Yuan *et al.*, 2017) จากนั้นโคตินินเปลี่ยนไปเป็นทรานส์-3'-ไฮดรอกซีนิโคติน (trans-3'-hydroxycotinine, 3HC) ผ่านปฏิกิริยา 3'-ไฮดรอกซิเลชันของ CYP2A6 (Oscarson *et al.*, 1998; Yuan *et al.*, 2017) ทำยสุดท้ายทั้งนิโคติน โคตินิน และ 3HC จะเกิดปฏิกิริยากลิวโรนิเดชัน (glucuronidation) และถูกขับออกจากร่างกายทางปัสสาวะ (Yuan *et al.*, 2017) นอกจากนี้ 5'-อิมิเนียมไอออนสามารถทำปฏิกิริยากับดีเอ็นเอและส่งผลกระตุ้นการเกิด

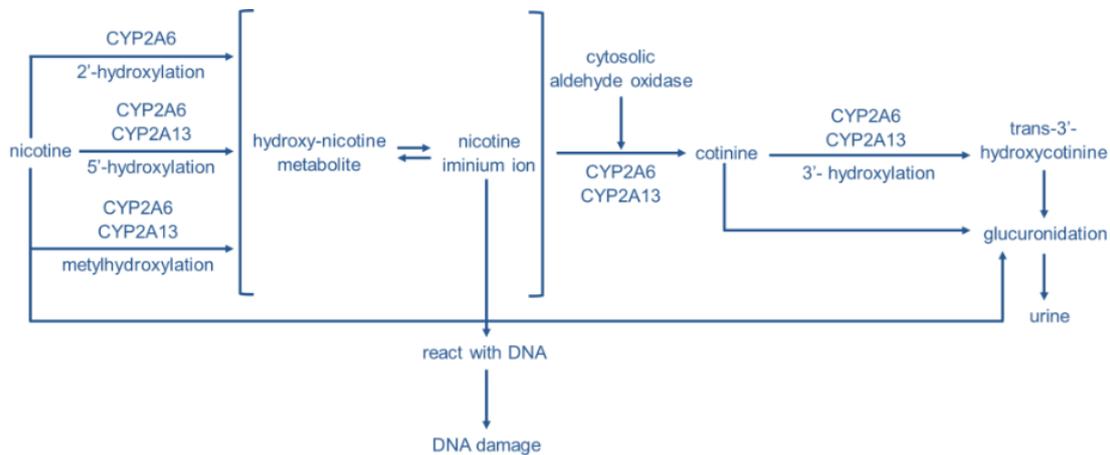
เป็นสารตัวกลางที่มีพันธะคู่สลับกับพันธะเดี่ยว จากนั้น บริเวณตำแหน่งที่สำคัญต่อการจับกับสารตัวกลางของเอนไซม์จะให้โปรตอน (proton, H⁺) ได้ผลิตภัณฑ์เป็นบิลิเวอดิน (biliverdin) (รูปที่ 7) นอกจากนี้บิลิรูบินยังสามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยตรงจากการทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระและจากการกระตุ้นของ CYP2A6 ได้เป็นบิลิรูบินเปอร์ออกไซด์เรดิคัล (bilirubin peroxyradical) ซึ่งทำให้เกิดการแตกหักของโมเลกุล (fragmentation) เป็นโมเลกุลเล็กหลายโมเลกุล เอนไซม์ในหนูถีบจักรที่กระตุ้นกระบวนการออกซิเดชันของบิลิรูบินคือ CYP2A5 (Abu-Bakar, 2012)

มะเร็งได้ CYP2A13 สามารถเมแทบอลิซึมไนโคตินได้เช่นกัน โดยมีบทบาทในปฏิกิริยา 5'-ไฮดรอกซิเลชันและเมทิลไฮดรอกซิเลชัน รวมถึงปฏิกิริยาซี-ออกซิเดชันและ 3'-ไฮดรอกซิเลชันด้วย ทั้งยังมีประสิทธิภาพในเมแทบอลิซึมของนิโคตินมากกว่า CYP2A6 แต่เนื่องจากระดับ CYP2A13 ที่น้อยในตับในขณะที่เมแทบอลิซึมของนิโคตินเกิดในตับเป็นหลัก ดังนั้น CYP2A6 จึงเป็นเอนไซม์หลักในเมแทบอลิซึมของนิโคติน (Rossini *et al.*, 2008)

NNK ถูกเมแทบอลิซึมโดย CYP2A6 ผ่านปฏิกิริยาไฮดรอกซิเลชันของหมู่เมทิล (methyl) หรือหมู่เมทิลีน (methylene) ได้เป็นคีโตแอลกอฮอล์ (ketoalcohol) หรือคีโตแอลดีไฮด์ (ketoaldehyde) (Su *et al.*, 2000) (รูปที่ 9) และอาศัยเอนไซม์คาร์บอนิลรีดักเตส (carbonyl reductase) ได้เป็น 4-เมทิลไนโตรซามิโน-1-(3-ไพริดีล)-1-บิวทานอล (4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanol, NNAL) (Xue *et al.*, 2014) และจะถูกเมแทบอลิซึมต่อโดย CYP2A6 ผ่านปฏิกิริยา α-ไฮดรอกซิเลชัน (α-hydroxylation) และกลูคูโรนิเดชันได้เป็น 4-เมทิลไนโตรซามิโน-1-(3-ไพริดีล)-1-บิวทานอล-โอ-กลูคูโรน (4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-

butanol-O-Gluc, NNAL-O-Gluc) และ 4-เมทิลไนโตรซามิโน-1-(3-ไพริดีล)-1-บิวทานอล-เอ็น-กลูคิวโรไซด์ (4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanol-N-Gluc, NNAL-N-Gluc) ที่สามารถขับออกทางปัสสาวะ (Yuan *et al.*, 2017) เมแทบอลิซึมของ NNK และ NNAL ก่อให้เกิดสารเมแทบอลิต์ที่มีความไวในการเกิดปฏิกิริยาที่สามารถเข้าจับกับดีเอ็นเอและส่งผลให้ดีเอ็นเอถูกทำลาย (Kamatagi *et al.*, 2005) นับเป็นจุดเริ่มต้นของการเกิดมะเร็งปอด (lung carcinogenesis) การเมแทบอลิซึม NNK ที่กล่าวมานี้ถูกยับยั้งได้ด้วยคาร์บอนมอนอกไซด์ (carbon monoxide) นอกจาก CYP2A6

แล้ว CYP2A13 ก็สามารถเมแทบอลิซ์ NNK และ NNAL ได้เช่นเดียวกัน อีกทั้งยังมีประสิทธิภาพสูงกว่า CYP2A6 ประมาณ 30-215 เท่า (Su *et al.*, 2000; He *et al.*, 2006) CYP2A13 จึงจัดเป็นเอนไซม์หลักสำหรับเมแทบอลิซึมของ NNK และ NNAL แต่เนื่องจากร้อยละ 70 ของเมแทบอลิซึมของ NNK เกิดขึ้นในตับ และในตับมีระดับของเอนไซม์ CYP2A6 มากกว่า CYP2A13 ดังนั้น CYP2A6 จึงมีบทบาทเด่นในเมแทบอลิซึมของ NNK (Yuan *et al.*, 2017) CYP2A5 ของหนูถีบจักรก็มีบทบาทในเมแทบอลิซึมของ NNK ในลักษณะเดียวกันนี้



รูปที่ 8 เมแทบอลิซึมของนิโคตินโดย CYP2A6 และ CYP2A13

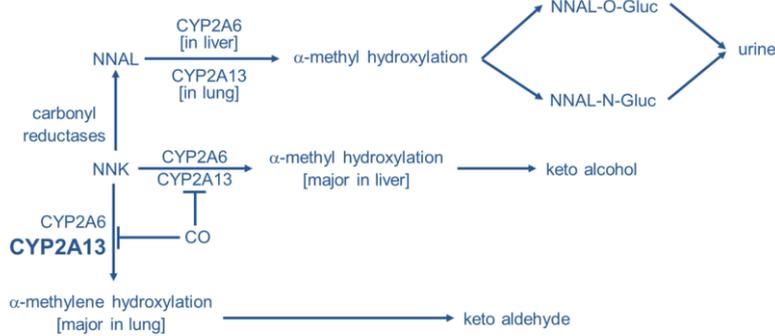
(Oscarson *et al.*, 1998; von Weymarn *et al.*, 2006; Rossini *et al.*, 2008; Raunio & Rahnasto-Rilla, 2012; Yuan *et al.*, 2017)

ทั้ง CYP2A6 และ CYP2A13 สามารถเมแทบอลิซ์เอ็น-ไนโตรโซนิโคติน (N-nitrosornicotine, NNN) ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็งในบุหรี่ได้เช่นเดียวกับ NNK (รูปที่ 10) เนื่องจากระบวนการนี้เกิดขึ้นมากที่ตับจึงสันนิษฐานว่า CYP2A6 เมแทบอลิซ์ NNN ผ่านกระบวนการ 5'-ไฮดรอกซิเลชัน ได้เมแทบอลิต์เป็น 5'-ไฮดรอกซี NNN (5'-hydroxy NNN) กระบวนการนี้ถูกยับยั้งได้ด้วย 8-เมทอกซีไซราเลน (8-methoxypsoralen) และคูมาริน ในขณะที่ CYP2A13 จะเมแทบอลิซ์ NNN ผ่านกระบวนการ 2'-ไฮดรอกซิเลชัน ซึ่งเกิดขึ้นในเยื่อบุโพรงจมูกและหลอดลม อวัยวะเป้าหมายในการก่อมะเร็งของ NNN ได้เมแทบอลิต์เป็น 2'-ไฮดรอกซี NNN (2'-hydroxy NNN) จากการศึกษาในสัตว์ฟันแทะ (rodent) 5'-ไฮดรอกซี NNN และ 2'-ไฮดรอกซี NNN สามารถเปิดวงแหวนไพร์โรลิดีน (pyrrolidine ring) ได้เป็นสารที่มีโครงสร้างเป็นไดอะโซไฮดรอกไซด์ (diazohydroxide) ซึ่งกรณี 2'-ไฮดรอกซี NNN โครงสร้าง

ของไพริดีลออกโซบิวทิลไดอะโซไฮดรอกไซด์ (pyridyl oxobutyldiazohydroxide) สามารถทำปฏิกิริยากับน้ำได้เป็นสารที่มีโครงสร้างคีโตแอลกอฮอล์ (keto alcohols) ซึ่งสามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้เป็นกรดคีโต (keto acids) หรือเกิดปฏิกิริยารีดักชันได้เป็นสารที่มีโครงสร้างไดออล (diols) นอกจากนี้ 2'-ไฮดรอกซี NNN ยังสามารถเกิดการหลุดออกของกรดไนตริก (nitrous acid) ได้เป็นไมออสมีน (myosmine) ในขณะที่กรณี 5'-ไฮดรอกซี NNN โครงสร้างไดอะโซไฮดรอกไซด์สามารถทำปฏิกิริยากับน้ำได้เช่นกันได้เป็นสารที่มีโครงสร้างแลคตอล (lactol) ซึ่งสามารถเปลี่ยนแปลงเป็นกรดไฮดรอกซีได้โดยตรง หรือเปลี่ยนแปลงผ่านสารที่มีโครงสร้างเป็นแลคโตน (lactone) นอกจากนี้สารที่มีโครงสร้างไดอะโซไฮดรอกไซด์จากกระบวนการทั้ง 2'-ไฮดรอกซิเลชันและ 5'-ไฮดรอกซิเลชันยังสามารถจับกับดีเอ็นเอได้ ดังนั้น จึงสันนิษฐานว่ากระบวนการเหล่านี้ที่มีความสำคัญในการก่อมะเร็งของ NNN

โดยกระบวนการหลักของเมแทบอลิซึมของ NNN คือ 2'-ไฮดรอกซิเลชัน นอกจากนี้ยังพบว่ายังมีเพียง CYP2A13 ที่สามารถเมแทบอลิซึม NNN ผ่าน 2'-ไฮดรอกซิเลชันได้ และกระบวนการ

นี้สามารถถูกยับยั้งได้ด้วย 8-เมธอกซีไซราเลน เช่นเดียวกับ 5'-ไฮดรอกซิเลชันในตับ (Rossini *et al.*, 2008; Upadhyaya *et al.*, 2002; Xue *et al.*, 2014)

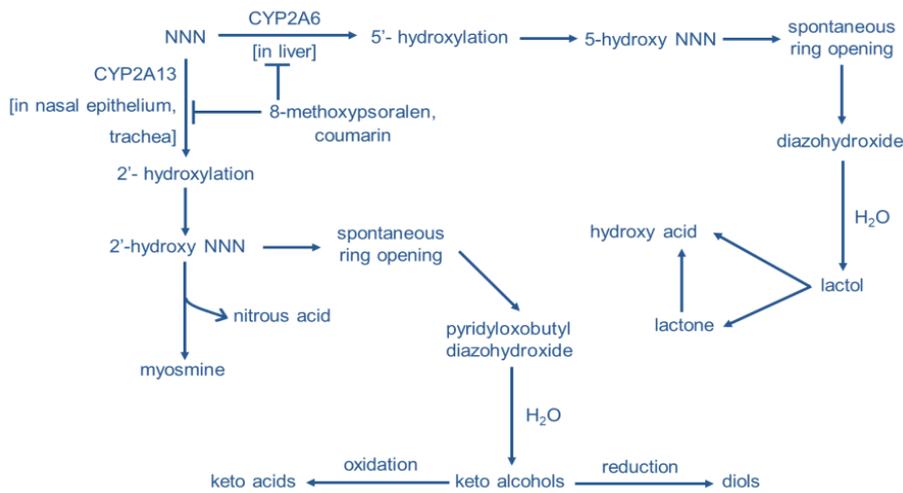


รูปที่ 9 เมแทบอลิซึมของ NNK และ NNAL โดย CYP2A6 และ CYP2A13

(Su *et al.*, 2000; Kamataki *et al.*, 2005; He *et al.*, 2006; Xue *et al.*, 2014; Yuan *et al.*, 2017)

นอกจากนี้ CYP2A13 ยังมีบทบาทในการเร่งเมแทบอลิซึมของสารที่เป็นพิษต่อปอด เช่น แนฟทาลีน (naphthalene) สไตรีน (styrene) และโทลูอีน (toluene) (Fukami *et al.*, 2008) ตลอดจนเอ็น เอ็น-ไดเมทิลอะนิลีน (N, N-dimethylaniline,

DMA) 2'-เมธอกซีอะซิโตนีโนน (2'-methoxyacetophenone, MAP) และ เฮกซะเมทิลฟอสโฟราไมด์ (hexamethylphosphoramide, HMPA) ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็งในหนูขาว (Su *et al.*, 2000)



รูปที่ 10 เมแทบอลิซึมของ NNN โดย CYP2A6 และ CYP2A13

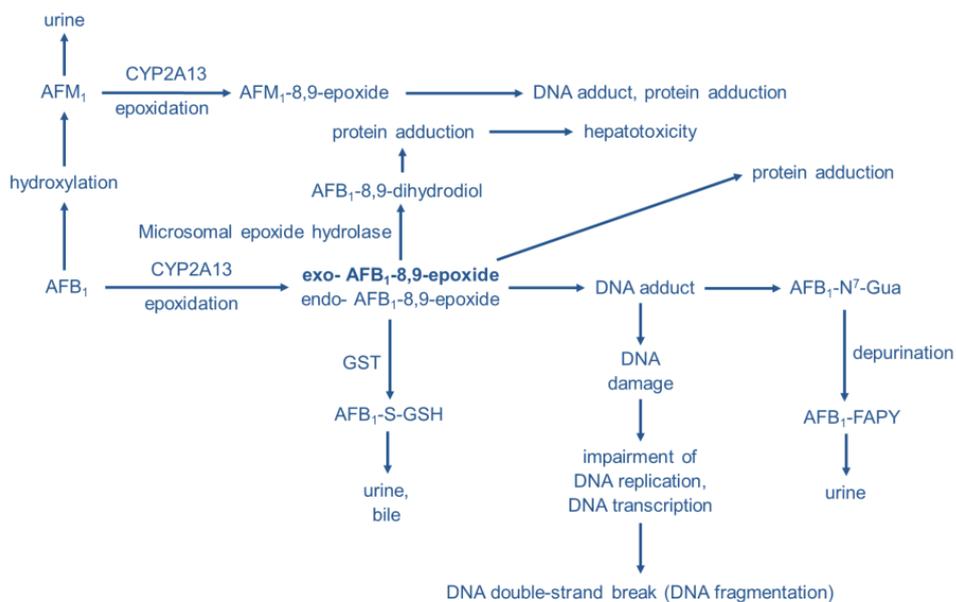
(Rossini *et al.*, 2008; Upadhyaya *et al.*, 2002; Xue *et al.*, 2014)

อะฟลาท็อกซินบี 1 (aflatoxin B₁, AFB₁) เป็นสารก่อมะเร็งในตับมนุษย์ ข้อมูลทางระบาดวิทยาระบุว่า AFB₁ มีความเกี่ยวข้องกับโรคปอดอุดกั้นเรื้อรัง (chronic obstructive pulmonary disease, COPD) และมะเร็งของระบบทางเดินหายใจจากการปนเปื้อนของ AFB₁ ในอากาศจากฝุ่นผงของเมล็ดพืช การศึกษาระบุถึงความเป็นไปได้ที่ CYP2A13 มี

บทบาทในการก่อพิษต่อปอดจากเมแทบอลิซึมของ AFB₁ (รูปที่ 11) และได้เมแทบอลิต์เป็นอะฟลาท็อกซินบี 1-8,9-อีพอกไซด์ (AFB₁-8,9-epoxide) ทั้งชนิดเอ็กโซ (exo-8,9-epoxide) และเอ็นโด (endo-8,9-epoxide) ผ่านปฏิกิริยาอีพอกซิเดชันในอัตราที่เทียบเท่ากับ CYP1A2 ซึ่งเป็นเอนไซม์หลักในเมแทบอลิซึมของ AFB₁ ในตับที่ได้เมแทบอลิต์หลักเป็นอะฟลาท็อกซิน

บี 1 เอ็กโซ-8,9-อีพอกไซด์ ซึ่งมีความไวในการทำปฏิกิริยามากกว่า อะฟลาท็อกซินบี 1 เอ็นโด-8,9-อีพอกไซด์ (Yang *et al.*, 2012) โดยสามารถเข้าทำปฏิกิริยากับดีเอ็นเอได้เป็นทรานส์-8,9-ไดไฮโดร-8-(เอ็น-กวานิล)-9-ไฮดรอกซีอะฟลาท็อกซินบี 1 (trans- 8,9-dihydro-8-(N⁷-guanyl)-9-hydroxyafatoxin B₁, AFB₁-N⁷-Gua) แต่สารนี้มีประจุบวกที่วงแหวนอิมิดาโซล ทำให้ไม่คงตัว จึงเปลี่ยนแปลงต่อไปเป็นอะฟลาท็อกซิน บี 1-ฟอร์มามิโดไพริมิดีน (AFB₁-formamido pyrimidine adduct, AFB₁-FAPY) ที่มีความคงตัวมากขึ้นจากการเปิดออกของวงแหวนอิมิดาโซลและสามารถถูกกำจัดออกจากร่างกายทางปัสสาวะ (Bbosa *et al.*, 2013) นอกจากนี้ CYP2A13 ยังสามารถเร่งกระบวนการอีพอกไซด์ชันของอะฟลาท็อกซินเอ็ม 1 (afatoxin M₁, AFM₁) ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์จากการไฮดรอกซิเลชันของ AFB₁ ได้เป็นอะฟลาท็อกซินเอ็ม 1-8,9-อีพอกไซด์ (AFM₁-8,9-epoxide) เมแทบอลิต์ของ AFB₁ จาก CYP2A13 มีผลก่อมะเร็งและเพิ่มความเป็นพิษต่อเซลล์ (He *et al.*, 2006; Yang *et al.*, 2012; X. Yang *et al.*, 2013) โดยการเข้าทำปฏิกิริยากับโมเลกุลขนาดใหญ่ภายในเซลล์ เช่น ดีเอ็นเอ และ

โปรตีน เป็นต้น (Yang *et al.*, 2012) แต่ไม่พบบทบาทของ CYP2A6 ในลักษณะนี้ (He *et al.*, 2006) ดังนั้น CYP2A13 จึงสามารถกระตุ้นให้เกิดโรคระบบทางเดินหายใจจากการเมแทบอลิซึมของ AFB₁ ที่ส่งผลให้เซลล์เกิดการบาดเจ็บหรือถูกทำลายโดยกระบวนการนีโครซิส (necrosis) อะพ็อพโทซิส (apoptosis) ตลอดจนการก่อมะเร็ง (malignant transformation) ตัวอย่างเช่น AFB₁-8,9-epoxide สามารถเข้าจับกับดีเอ็นเอแล้วทำให้ดีเอ็นเอถูกทำลายและเกิดการตายของเซลล์แบบอะพ็อพโทซิส (Yang *et al.*, 2012) นอกจากนี้ AFB₁-8,9-epoxide ยังสามารถเปลี่ยนแปลงเป็นอะฟลาท็อกซินบี 1-8,9-ไดไฮโดรไดออล (AFB₁-8,9-dihydrodiol) ในตับ ซึ่งสามารถจับกับโปรตีนและก่อให้เกิดพิษต่อตับ อย่างไรก็ตาม อะฟลาท็อกซินบี 1-8,9-อีพอกไซด์ สามารถเกิดกระบวนการคอนจูเกชันกับกลูตาไธโอน (glutathione conjugation) ได้เป็นอะฟลาท็อกซินบี 1-เอส-กลูตาไธโอน (AFB₁-S-GSH) โดยเอนไซม์ กลูตาไธโอน-S-transferase, GST) และถูกกำจัดออกทางปัสสาวะและน้ำดี (Bbosa *et al.*, 2013; Dohnal *et al.*, 2014)



รูปที่ 11 เมแทบอลิซึมของ AFB₁ โดย CYP213 และกระบวนการทำลายดีเอ็นเอของ AFB₁

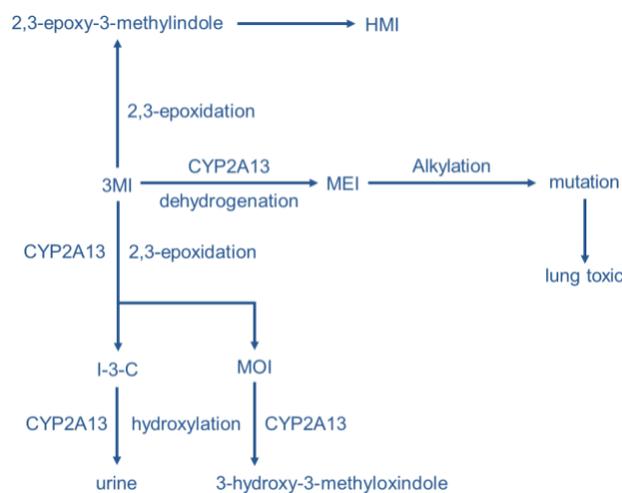
(He *et al.*, 2006; Yang *et al.*, 2012; X. Yang *et al.*, 2013; Bbosa *et al.*, 2013; Dohnal *et al.*, 2014)

CYP2A13 สามารถเมแทบอลิซึม 3-เมทิลอินโดล (3-methylindole, 3MI) ซึ่งเป็นสารที่พบในสารแต่งกลิ่น น้ำหอม รวมถึงอุจจาระจากการหมักของทริปโตเฟนโดยแบคทีเรียในลำไส้ 3MI ถูกเมแทบอลิซึมโดย CYP2A13 ผ่านกระบวนการ

ดีไฮโดรจีเนชัน (dehydrogenation) ได้ 3-เมทิลอินโดลีนีน (3-methyleneindolenine, MEI) ซึ่งเป็นสารตัวกลางที่มีความไวต่อปฏิกิริยาและมีความเป็นพิษสูงจากคุณสมบัติในการเป็นอิเล็กโตรไฟล์ (electrophile) จึงสามารถทำให้เกิดปฏิกิริยาแอลคิลเลชัน

และก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ได้ (รูปที่ 12) แม้ว่า 3MI จะสามารถถูกเมแทบอลิซึมได้ด้วย CYP450 หลายไอโซฟอร์ม แต่มีเพียงไม่กี่ไอโซฟอร์มที่สามารถกระตุ้นกระบวนการดีไฮโดรจีเนชันได้ และกระบวนการนี้นับเป็นกระบวนการหลักที่ก่อให้เกิดสารที่มีความเป็นพิษต่อปอด (pneumotoxicity) นอกจากนี้ 3MI ยังสามารถถูกเมแทบอลิซึมโดยการอีพอกซิเดชัน (epoxidation) ของส่วนไพร์โรล (pyrrole moiety) ได้เป็น 2,3-อีพอกซิ-3-เมทิลอินโดล (2,3-epoxy-3-methylindole) และ 3-ไฮดรอกซี-3-เมทิลอินโดลอีเนน (3-hydroxy-3-methylindole lenine, HMI) และ

CYP2A13 สามารถเมแทบอลิซึม 3MI ผ่านกระบวนการ 2,3-อีพอกซิเดชันได้เป็นอินโดล-3-คาร์บินอล (indole-3-carbinol, I-3-C) และ 3-เมทิลออกซินโดล (3-methyloxindole, MOI) รวมทั้งยังสามารถเร่งปฏิกิริยาไฮดรอกซิเลชันของ MOI ได้ผลิตภัณฑ์เป็น 3-ไฮดรอกซี-3-เมทิลออกซินโดล (3-hydroxy-3-methyl oxindole) และปฏิกิริยาไฮดรอกซิเลชันของ I-3-C ที่สามารถขับออกทางปัสสาวะ (D'Agostino *et al.*, 2009; Weems *et al.*, 2009)



รูปที่ 12 กระบวนการเมแทบอลิซึม 3MI โดย CYP2A13
(D'Agostino *et al.*, 2009; Weems *et al.*, 2009)

ขณะที่ CYP2A13 สามารถเมแทบอลิซึม 3MI ได้ และ 3MI ก็สามารถเปลี่ยนแปลง CYP2A13 ให้ไม่มีฤทธิ์ได้ด้วย ซึ่งอาจส่งผลต่อเมแทบอลิซึมของ NNK ของ CYP2A13 ในทำนองเดียวกัน เนื่องจาก CYP2A13 เป็นเอนไซม์หลักในการเมแทบอลิซึม NNK (D'Agostino *et al.*, 2009; Weems *et al.*, 2009)

บทสรุป

ยีน CYP2A ในมนุษย์มี 3 ไอโซฟอร์ม ได้แก่ CYP2A6, CYP2A7 และ CYP2A13 โดยทั้งหมดอยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 19 บนขาข้างที่ยาวกว่า แถบหลักที่ 13 แถบย่อยที่ 2 โดย CYP2A6 เป็นไอโซฟอร์มที่มีการแสดงออกหลักในตับ ส่วน CYP2A13 แสดงออกหลักในทางเดินหายใจ โดยพบมากที่สุดเยื่อบุทางเดินหายใจ ส่วน CYP2A7 ยังไม่พบรายงานสมรรถนะของเอนไซม์ที่ชัดเจน ไอโซฟอร์มที่พบในหนูถีบจักร ได้แก่ *Cyp2a4*, *Cyp2a5* และ *Cyp2a12* ส่วนในหนูขาว ได้แก่ CYP2A1, CYP2A2 และ CYP2A3

การควบคุมการแสดงออกของ CYP2A ถูกควบคุมผ่านตัวรับนิวเคลียร์ต่าง ๆ ไพรฟัมพิซิน ฟีนobarbิทัล และนิโคตินสามารถกระตุ้น CYP2A6 ผ่านการจับ PXR/PGC-1 α บน DR4 2 ตำแหน่งคือ -5476/-5461 และ -4618/-4603 ส่วนการกระตุ้น CYP2A6 โดยเตกซาเมธาโซนอาศัยการเข้าจับของ GR/HNF4 α กับบริเวณโปรโมเตอร์ตำแหน่ง -95/+12 นอกจากนี้เตกซาเมธาโซนยังช่วยให้ GR/HNF4 α เข้าจับกับตำแหน่งโปรโมเตอร์ได้ง่ายขึ้นโดยกระตุ้นกระบวนการอะเซติเลชันของฮิสโตนเฮซ 4 ส่งผลให้โครมาตินคลายตัว ส่วน CYP2A13 ถูกกระตุ้นโดย NNK ผ่าน C/EBP δ และโคแอกติเวเตอร์ช่วยให้ C/EBP δ เข้าจับกับตำแหน่งโปรโมเตอร์ของ CYP2A13 ได้คงตัว ซึ่งกระบวนการในลักษณะเดียวกันนี้พบในกระบวนการกระตุ้น CYP2A3 ในหนูขาวผ่านนิวเคลียร์แฟคเตอร์ 1 การแสดงออกของ CYP2A13 ถูกยับยั้งได้ด้วยกระบวนการอ็อกเสบและดีเอ็นเอเมธิเลชัน แต่ถูกกระตุ้นได้ด้วย NNK โดยอาศัยการจับของ FOXA2 กับบริเวณ

ระหว่างฮิสโตนเอช 3 และ 4 ที่ส่งผลให้โครมาตินคลายตัว ทำให้ทรานสคริปชันแฟกเตอร์อื่นๆ สามารถเข้าจับกับตำแหน่งของทรานสคริปชันแฟกเตอร์ได้ดี เป็นผลให้เกิดการทรานสคริปชันของยีน CYP2A13 ทั้งนี้ FOXA2 ถูกยับยั้งได้ด้วยกระบวนการดีเอ็นเอเมทิลเลชัน ภาวะทุพโภชนาการมีผลกระตุ้นการแสดงออกของ CYP2A1 ในหนูขาวและ CYP2A5 ในหนูถีบจักร นอกจากนี้ชนิดของกรดอะมิโนตำแหน่งที่สำคัญต่อการจับกับซับสเตรตของเอนไซม์ยังเป็นปัจจัยสำคัญต่อบทบาทในกระบวนการเมแทบอลิซึมของเอนไซม์ด้วย

บทบาทของ CYP2A6 และ CYP2A13 ในเมแทบอลิซึมของนิโคติน NNK, NNAL และ NNN ก่อให้เกิดสาร เมแทบอลิต์ที่เพิ่มความเสี่ยงของการเกิดมะเร็ง ในทำนองเดียวกันเมแทบอลิซึมของ AFB₁ และ 3MI ผ่าน CYP2A13 ได้สารตัวกลางที่มีความไวต่อปฏิกิริยาและมีความเป็นพิษสูงที่สามารถก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ได้ อย่างไรก็ตาม 3MI สามารถทำให้ CYP2A13 สูญเสียสมรรถนะได้จึงส่งผลต่อเมแทบอลิซึมของสารผ่าน CYP2A13 ได้

จากการทบทวนวรรณกรรมยืนยันบทบาทและนัยสำคัญของ CYP2A โดยไอโซฟอร์มหลักในมนุษย์คือ CYP2A6 และ CYP2A13 มีกลไกการควบคุมการแสดงออกที่คล้ายคลึงกับ *Cyp2a4* และ *Cyp2a5* ในหนูถีบจักรหรือ CYP2A3 ในหนูขาว ดังนั้นจึงอาจทำนายผลการศึกษางานของ CYP2A จากสัตว์ทดลองได้ นอกจากนี้อาจใช้เซลล์เพาะเลี้ยงเป็นโมเดลในการศึกษา CYP2A ได้ ส่วนความสัมพันธ์ที่ยังไม่พบนัยสำคัญ เช่น ความสัมพันธ์ระหว่างภาวะพหุสัณฐานของ CYP2A6 กับปริมาณการสูบบุหรี่ จำเป็นต้องทำการศึกษาเพิ่มเติมหรือการเพิ่มจำนวนกลุ่มตัวอย่างเพื่อความถูกต้องแม่นยำในการทำนายผลต่อไป ตลอดจนการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับนัยสำคัญทางคลินิกของภาวะพหุสัณฐานของ CYP2A และการควบคุมการแสดงออกของ CYP2A13 โดยผ่าน FOXA2 เพื่อให้สามารถระบุกลไกการควบคุมการแสดงออกได้อย่างชัดเจน

References

Abu-Bakar A, Arthur DM, S Wikman AS, *et al.* Metabolism of bilirubin by human cytochrome P450 2A6. *Toxicol Appl Pharmacol* 2012; 261(1): 50-58.

Arpiainen S, Raffalli-Mathieu F, Lang MA, *et al.* Regulation of the *Cyp2a5* gene involves an aryl hydrocarbon receptor-dependent pathway. *Mol Pharmacol* 2005; 67(4): 1325-1333.

Bersaas A, Arnoldussen YJ, Sjøberg M, *et al.* Epithelial-mesenchymal transition and fox-a genes during tobacco smoke carcinogen induced transformation of human bronchial epithelial cells. *Toxicol In Vitro* 2016; 35: 55-65.

Bersaas ATH. FOXA genes in lung cancer *in vitro* and *in vivo*. Series of dissertations of Faculty of Medicine, University of Oslo. 2017.

Bbosa GS, Kitya D, Odda J, *et al.* Aflatoxins metabolism, effects on epigenetic mechanisms and their role in carcinogenesis. *Health* 2013; 5(10A): 14-34.

Chen Y, Liu YQ, Su T, *et al.* Immunoblot analysis and immunohistochemical characterization of CYP2A expression in human olfactory mucosa. *Biochem Pharmacol* 2003; 66(7): 1245-1251.

D'Agostino J, Zhuo X, Shadid M, *et al.* The pneumotoxin 3-methylindole is a substrate and a mechanism-based inactivator of CYP2A13, a human cytochrome P450 enzyme preferentially expressed in the respiratory tract. *Drug Metab Dispos* 2009; 37(10): 2018-2027.

Dohnal V1, Wu Q, KuČa K. Metabolism of aflatoxins: key enzymes and interindividual as well as interspecies differences. *Arch Toxicol* 2014; 88(9): 1635-1644.

Fernandez-Salguero P, Gonzalez FJ. The CYP A gene subfamily: species differences, regulation, catalytic activities and role in chemical carcinogenesis. *Pharmacogenetics* 1995; Spec No: S123-S128.

Fukami T, Katoh M, Yamazaki H, *et al.* Human cytochrome P450 2A13 efficiently metabolizes chemicals in air pollutants: naphthalene, styrene, and toluene. *Chem Res Toxicol* 2008; 21(3): 720-725.

He XY, Tang L, Wang SL, *et al.* Efficient activation of aflatoxin B1 by cytochrome P450 2A13, an enzyme predominantly expressed in human respiratory tract. *Int J Cancer* 2006; 118(11): 2665-2671.

Hoffman SM, Nelson DR, Keeney DS. Organization, structure and evolution of the CYP2 gene cluster on human chromosome 19. *Pharmacogenetics* 2001; 11(8): 687-698.

- Hong JY, Ding X, Smith TJ, *et al.* Metabolism of 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK), a tobacco-specific carcinogen, by rabbit nasal microsomes and cytochrome P450s NMa and NMb. *Carcinogenesis* 1992; 13(11): 2141-2144.
- Ioannides C. Cytochromes P450: role in the metabolism and toxicity of drugs and other xenobiotics. Cambridge: RSC Publishing. 2008.
- Itoh M, Nakajima M, Higashi E, *et al.* Induction of human CYP2A6 is mediated by the pregnane X receptor with peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator 1 α . *J Pharmacol Exp Ther* 2006; 319(2): 693-702.
- Kamatani T, Fujieda M, Kiyotani K, *et al.* Genetic polymorphism of CYP2A6 as one of the potential determinants of tobacco-related cancer risk. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 338(1): 306-310.
- Kobliakov V, Kulikova L, Samoilov D, *et al.* High expression of cytochrome P450 2a-5 (coumarin 7-hydroxylase) in mouse hepatomas. *Mol Carcinog* 1993; 7(4): 276-280.
- Koskela S, Hakkola J, Hukkanen J, *et al.* Expression of CYP2A genes in human liver and extrahepatic tissues. *Biochem Pharmacol* 1999; 57(12): 1407-1413.
- Lavery DJ, Lopez-Molina L, Margueron R, *et al.* Circadian expression of the steroid 15 α -hydroxylase (*Cyp2a4*) and coumarin 7-hydroxylase (*Cyp2a5*) genes in mouse liver is regulated by the PAR leucine zipper transcription factor DBP. *Mol Cell Biol* 1999; 19(10): 6488-6499.
- Ling G, Wei Y, Ding X. Transcriptional regulation of human CYP2A13 expression in the respiratory tract by CCAAT/enhancer binding protein and epigenetic modulation. *Mol Pharmacol* 2007; 71(3): 807-816.
- Nelson DR, Zeldin DC, Hoffman SMG, *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.
- Onica T, Nichols K, Larin M, *et al.* Dexamethasone-mediated up-regulation of human CYP2A6 involves the glucocorticoid receptor and increased binding of hepatic nuclear factor 4 α to the proximal promoter. *Mol Pharmacol* 2008; 73(2): 451-460.
- Oscarson M, Gullstén H, Rautio A, *et al.* Genotyping of human cytochrome P450 2A6 (CYP2A6), a nicotine C-oxidase. *FEBS Lett* 1998; 438(3): 201-205.
- Raunio H, Rautio A, Pelkonen O. The CYP2A subfamily. In C Ioannides (Ed.), *Cytochromes P450*. 2008: 150-177.
- Raunio H, Rahnasto-Rilla M. CYP2A6: genetics, structure, regulation, and function. *Drug Metabol Drug Interact* 2012; 27(2): 73-88.
- Robottom-Ferreira AB, Aquino SR, Queiroga R, *et al.* Expression of CYP2A3 mRNA and its regulation by 3-methylcholanthrene, pyrazole, and β -ionone in rat tissues. *Braz J Med Biol Res* 2003; 36(7): 839-844.
- Rossini A, de Almeida Simão T, Albano RM, *et al.* CYP2A6 polymorphisms and risk for tobacco-related cancers. *Pharmacogenomics* 2008; 9(11): 1737-1752.
- Rowland AM, Yost GS. Selected pneumotoxic agents. In CA McQueen (Ed.), *Comprehensive Toxicology*. 2nd ed. 2010: 511-547.
- Su T, Bao Z, Zhang QY, *et al.* Human cytochrome p450 cyp2a13: predominant expression in the respiratory tract and its high efficiency metabolic activation of a tobacco-specific carcinogen, 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone. *Cancer Res* 2000; 60(18): 5074-5079.
- Su T, Ding X. Regulation of the cytochrome P450 2A genes. *Toxicol Appl Pharmacol* 2004; 199(3): 285-294.
- Tien ES, Negishi M. Nuclear receptors CAR and PXR in the regulation of hepatic metabolism. *Xenobiotica* 2006; 36(10-11): 1152-1163.
- Timsit YE, Negishi M. CAR and PXR: the xenobiotic-Sensing receptors. *Steroids* 2007; 72(3): 231-246.
- Upadhyaya P, Zimmerman CL, Hecht SS. Metabolism and pharmacokinetics of N'-nitrosornicotine in the patas monkey. *Drug Metab Dispos* 2002; 30(10): 1115-1122.

- von Weymarn LB, Murphy SE. CYP2A13- catalysed coumarin metabolism: comparison with CYP2A5 and CYP2A6. *Xenobiotica* 2003; 33(1): 73-81.
- von Weymarn LB, Brown KM, Murphy SE. Inactivation of CYP2A6 and CYP2A13 during nicotine metabolism. *J Pharmacol Exp Ther* 2006; 316(1): 295-303.
- Weems JM, Cutler NS, Moore C, *et al.* 3-methylindole is mutagenic and a possible pulmonary carcinogen. *Toxicol Sci* 2009; 112(1): 59-67.
- Wiwi CA, Gupte M, Waxman DJ. Sexually dimorphic P450 gene expression in liver-specific hepatocyte nuclear factor 4 α -deficient mice. *Mol Endocrinol* 2004; 18(8): 1975-1987.
- Xiang C, Wang J, Kou X, *et al.* Pulmonary expression of CYP2A13 and ABCB1 is regulated by FOXA2, and their genetic interaction is associated with lung cancer. *FASEB J* 2015; 29(5): 1986-1998.
- Xie W, Barwick JL, Simon CM, *et al.* Reciprocal activation of xenobiotic response genes by nuclear receptors SXR/PXR and CAR. *Genes Dev* 2000; 14(23): 3014-3023.
- Xue J, Yang S, Seng S. Mechanisms of cancer induction by tobacco-specific NNK and NNN. *Cancers (Basel)* 2014; 6(2): 1138-1156.
- Yang X, Zhang Z, Wang X, *et al.* Cytochrome P450 2A13 enhances the sensitivity of human bronchial epithelial cells to aflatoxin B1-induced DNA damage. *Toxicol Appl Pharmacol* 2013; 270(2): 114-121.
- Yang XJ, Lu HY, Li ZY, *et al.* Cytochrome P450 2A13 mediates aflatoxin B1- induced cytotoxicity and apoptosis in human bronchial epithelial cells. *Toxicology* 2012; 300(3): 138-148.
- Yoshinari K, Tien E, Negishi M, *et al.* Receptor-mediated regulation of cytochromes p450. In C Ioannides (Ed.), *Cytochromes P450*. 2008: 417-448.
- Yuan JM, Nelson HH, Carmella SG, *et al.* CYP2A6 genetic polymorphisms and biomarkers of tobacco smoke constituents in relation to risk of lung cancer in the Singapore Chinese health study. *Carcinogenesis* 2017; 38(4): 411-418.
- Zanger UM, Schwab M. Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation. *Pharmacol Ther* 2013; 138(1): 103-141.
- Zhang JY, Fen WY, Prakash C. Xenobiotic-metabolizing enzymes in human lung. *Curr Drug Metab* 2006; 7(8): 939-948.