

บทความทั่วไป

ยีนวิลมทูเมอร์วัน (Wilms' tumor 1 gene or *WT1*) กับการเกิดมะเร็งเม็ดเลือดขาว

Wilms' tumor 1 gene and leukemogenesis

โดย ทรงยศ อนุชปริดา* และ สิงห์คำ ชีมา*

ประวัติการค้นพบ

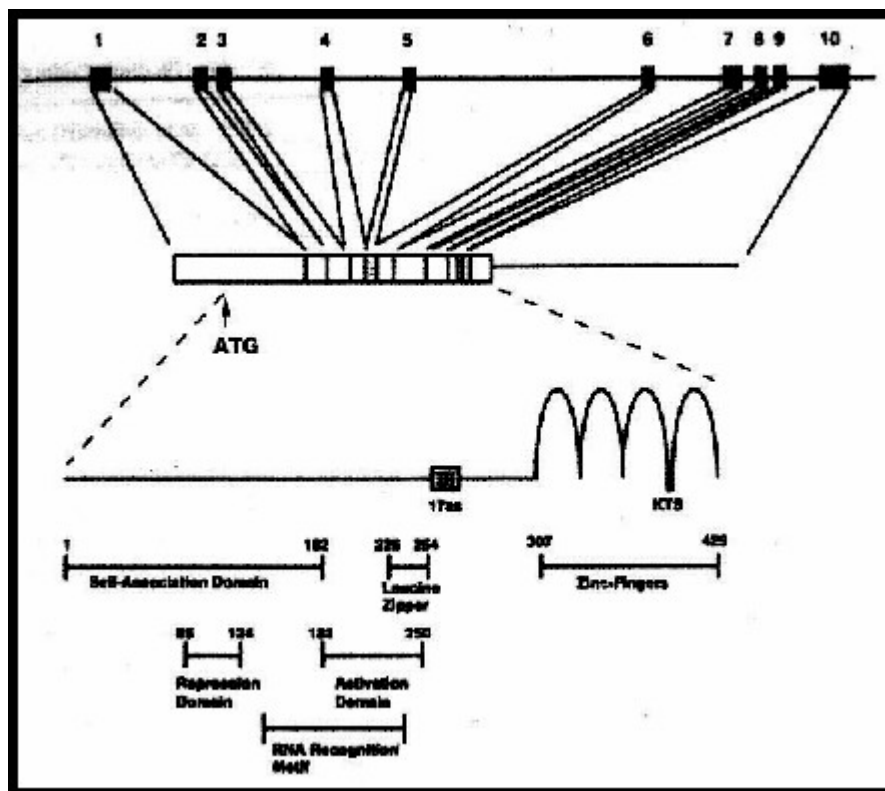
ยีนวิลมทูเมอร์วัน (Wilms' tumor 1 gene หรือ *WT1*) เป็นยีนที่ถูกค้นพบครั้งแรกโดย Max Wilms ในปี ค.ศ. 1899 โดยในช่วงแรกได้ทำการศึกษาในผู้ป่วยโรคมะเร็งของไตในเด็กที่เรียกว่า nephroblastoma หรือ วิลมทูเมอร์ (Wilms' tumor) ซึ่งเป็นมะเร็งที่พบได้บ่อยที่สุดในเด็ก อุบัติการณ์ของโรคในเด็กเกิดใหม่ที่มีชีวิตรอดประมาณ 1 รายต่อ 10,000 ถึง 20,000 ราย^{1,2} เด็กที่เป็นโรคนี้จะพบว่าการทำหน้าที่ของไตผิดปกติ ซึ่งมีสาเหตุมาจากกระบวนการเจริญเติบโตของไตผิดปกติ³ อาการทางคลินิกของเด็กที่เป็นโรคมักรุนแรง จึงเป็นที่น่าสนใจศึกษากลไกการเกิดโรค ผลกระทบที่เกิดจากรวมถึงการรักษาที่ถูกวิธี จากการศึกษาในระดับอนุชีวโมเลกุลสามารถพิสูจน์ได้ว่ายีนวิลมทูเมอร์วันเป็นยีนหนึ่งที่มีความเกี่ยวข้องกับการเกิดวิลมทูเมอร์

โครงสร้างและหน้าที่ของยีนและโปรตีนวิลมทูเมอร์วัน

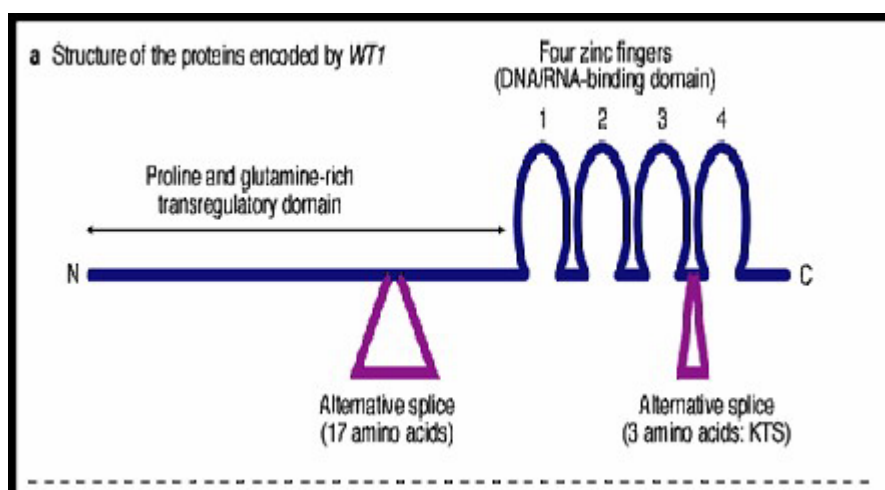
การศึกษายีน *WT1* ได้รับความสนใจอย่างกว้างขวางนับตั้งแต่ Call และคณะในปี ค.ศ. 1990⁴ รวมทั้ง Gessler และคณะในปี ค.ศ. 1992⁵ ได้ค้นพบว่ายีน *WT1* นั้นมีตำแหน่งอยู่บนแขนข้างสั้นของโครโมโซมคู่ที่ 11 บริเวณ region ที่ 1 band ที่ 3 (11p13) มีขนาดประมาณ 50 kb (รูปที่ 1)⁶ ยีนนี้ประกอบด้วยส่วน 10 เอกซอน

เมื่อเกิดกระบวนการถอดรหัส (transcription) จะได้เอ็มอาร์เอ็นเอ (mRNA) ที่มีขนาดประมาณ 3 kb และเมื่อเกิดกระบวนการถอดรหัสจะได้โปรตีนที่เรียกว่า โปรตีนวิลมทูเมอร์วัน (*WT1* protein) (รูปที่ 2)⁷ ซึ่งเป็นโปรตีนที่เป็นทรานสคริปชันแฟกเตอร์ (transcription factor) มีหน้าที่ส่วนใหญ่อยู่ภายในนิวเคลียส (nuclear protein) ของเซลล์ โดยมีขนาดตั้งแต่ 48 ถึง 55 kDa ขึ้นอยู่กับกระบวนการตัดแต่งอาร์เอ็นเอ (RNA alternative splicing)⁸ การปรับเปลี่ยนอาร์เอ็นเอ (RNA editing)⁹ และการเริ่มต้นการแปลรหัส (non-AUG translation initiation)¹⁰ ที่เกิดขึ้นจากกระบวนการเหล่านี้อาจส่งผลให้เกิดการมีหรือไม่มีส่วนเพิ่มของเอกซอนที่ 5 ซึ่งเป็นส่วนที่ถอดรหัสให้กรดอะมิโน 17 ตัว (± 17 aa) และกรดอะมิโน 3 ตัวได้แก่ ไลซีน, ทรีโอนีน และเซอรีน (lysine, threonine และ serine; $\pm$ KTS) ที่ตำแหน่งเอกซอน ที่ 9 ระหว่าง ซิงฟ์เกอร์ (zinc fingers) ที่ 3 และ 4 จากกระบวนการดังกล่าวข้างต้นส่งผลให้ได้โปรตีนทั้งหมด 4 ไอโซฟอร์ม (isoforms) ได้แก่ โปรตีนไอโซฟอร์ม *WT1* (-/-), *WT1* ที่มีการเพิ่มกรดอะมิโน 17 ตัว เป็นไอโซฟอร์ม *WT1* (+/-), *WT1* ที่มีการเพิ่มของกรดอะมิโน 3 ตัว (KTS) เป็น ไอโซฟอร์ม *WT1* (-/+) และ *WT1* ที่มีการเพิ่มของกรดอะมิโนทั้ง 17 ตัว และ KTS เป็นไอโซฟอร์ม *WT1* (+/+) โดยจากการศึกษาการแสดงออกของโปรตีนวิลมทูเมอร์วัน ด้วยวิธีเวสเทิร์นบลอต

* แขนงวิชาจุลทรรศน์ศาสตร์ ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่



รูปที่ 1 แสดงโครงสร้างของยีนวิลมทูเมอร์วีน, วิลมทูเมอร์วีนเอ็มอาร์เอ็นเอ (WT1 mRNA) และโปรตีนวิลมทูเมอร์วีน⁶



รูปที่ 2 แสดงโครงสร้างและส่วนประกอบที่สำคัญของโปรตีนวิลมทูเมอร์วีน⁷

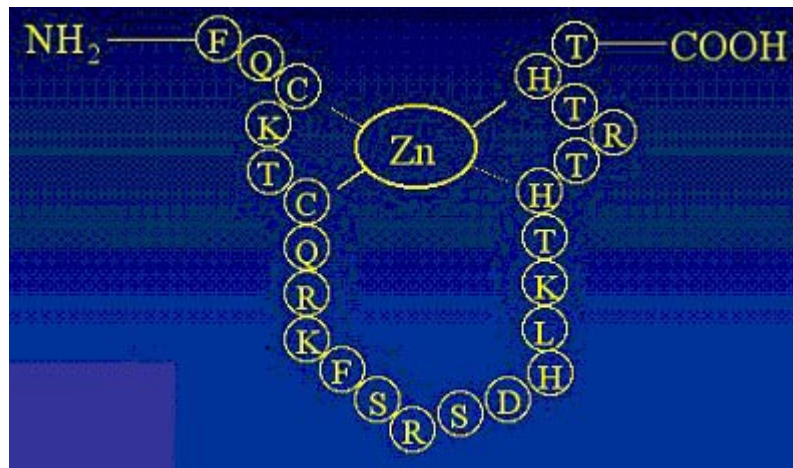
(western blot) จะพบแถบของโปรตีน 2 แถบ โดยแถบบนเป็นแถบของ WT1 (+/+) และ WT1 (+/-) ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 54 ถึง 55 กิโลดาลตัน (kDa) ส่วนแถบล่างเป็นแถบของ WT1 (-/+) และ WT1 (-/-) ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 48 ถึง 49 กิโลดาลตัน

โดยปกติยีนวิลมทูเมอร์วันในเซลล์หลายชนิดทำหน้าที่ในการสร้างโปรตีนที่ทำหน้าที่ควบคุมไม่ให้เกิดเซลล์ที่มีความผิดปกติเซลล์มะเร็งเกิดขึ้น มีชื่อเรียกทั่วไปว่า ทูเมอร์ซัพเพรสเซอร์ยีน (tumor suppressor gene)¹¹⁻¹³ แต่ในระยะหลังได้มีการศึกษาเพิ่มมากขึ้นพบว่ายีนวิลมทูเมอร์วัน น่าจะทำหน้าที่เป็นอองโคยีน (oncogene) ด้วย¹⁴ โดยเฉพาะในผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวพบว่าการแสดงออกของยีนวิลมทูเมอร์วัน ชนิดดั้งเดิมที่สูงมาก โดยเฉพาะเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวตัวอ่อนทั้งในกลุ่มของเซลล์มัยอีลอยด์ (myeloid) และลิมโฟบลาสต์ (lymphoid) ประมาณ 1,000 ถึง 100,000 เท่าเมื่อเทียบกับเซลล์เม็ดเลือดในไขกระดูกจากคนปกติ และเซลล์เม็ดเลือดจากกระแสเลือดของคนปกติ ตามลำดับ¹⁵⁻¹⁸ นอกจากนี้ Call และคณะยังพบว่าโครงสร้างและหน้าที่ของโปรตีนวิลมทูเมอร์วัน มีลำดับกรดอะมิโนของโปรตีนทั้งหมด 429 ตัว และมีส่วนสำคัญอยู่ 2 ส่วนดังที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้นได้แก่ ส่วนของ 4- ซิงฟิงเกอร์ทางปลายด้านคาร์บอกซิล (carboxyl terminal) (รูปที่ 3)¹⁹ ตั้งแต่กรดอะมิโนที่ 307 ถึง 429 เป็นส่วนที่ทำหน้าที่ในการจับกับ ดีเอ็นเอ (DNA binding domain) และอีกส่วนหนึ่งได้แก่ส่วนปลายด้านอะมิโน (amino terminal) ประกอบด้วยกรดอะมิโน โพรลีน (proline) และกลูตามีน (glutamine) อยู่มาก เป็นส่วนที่เรียกว่า ทรานสเรกูเลทอรีโดเมน (transregulatory domain) ทำหน้าที่ควบคุมกระบวนการถอดรหัสของเซลล์ นอกจากนี้ในบางส่วนของบริเวณระหว่างกรดอะมิโนที่ 226 ถึง 254 มีกรดอะมิโนลูซีน (leucine) ซ้ำๆ กัน เรียกว่าลูซีนซิฟเฟอร์ (leucine zipper) โดยอาจทำหน้าที่เป็นตัวกลางในเกิดการปฏิสัมพันธ์ระหว่างโปรตีนกับโปรตีน (protein-protein interaction) และยังพบว่ามีอีกหลายตำแหน่งที่ทำหน้าที่ในการจับกับโปรตีนตัวอื่นอีกด้วย จึงเป็นไปได้อย่างยิ่งว่าโปรตีนวิลมทูเมอร์วันทำหน้าที่เป็น ทรานสคริปชันแฟกเตอร์ (transcription factor) ทำหน้าที่ควบคุมกระบวนการ

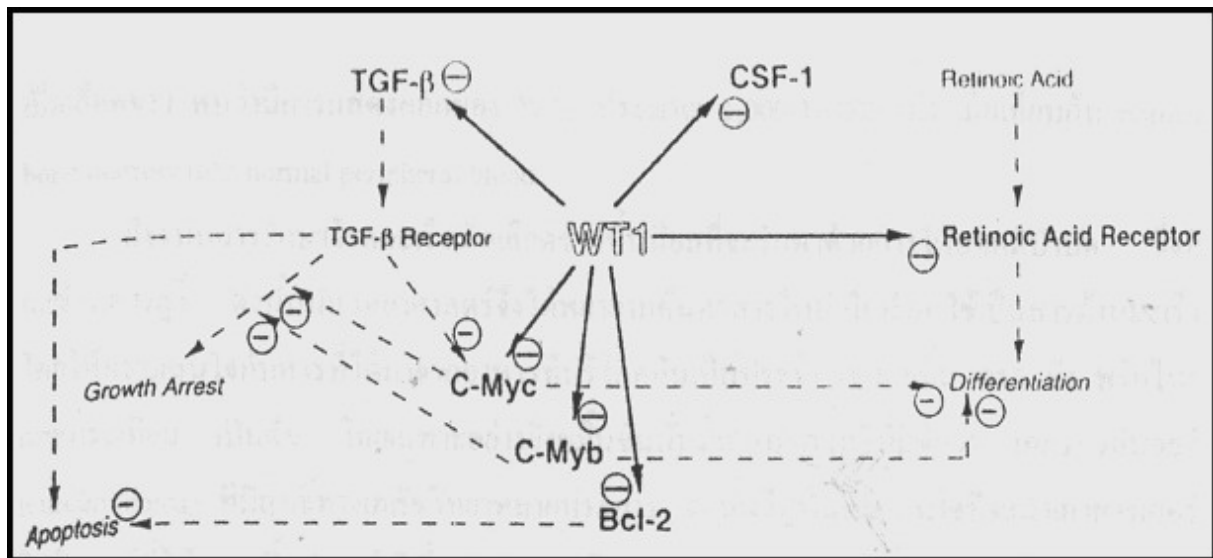
ต่างๆ ภายในเซลล์ โดยในสภาวะปกติพบว่าโปรตีนวิลมทูเมอร์วันมีบทบาทในการควบคุมกระบวนการเจริญเติบโตและพัฒนาการของเซลล์เม็ดเลือดชนิดต่างๆ นอกจากนี้ยังพบว่าโปรตีนวิลมทูเมอร์วันนั้นทำหน้าที่เป็นทรานสคริปชันแฟกเตอร์ให้แก่ยีนต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมการแบ่งตัวของเซลล์มะเร็ง เช่น *Egr-1*, *PDGF-A*, *Bcl-2*, *TGF-β* และ *c-Myc* เป็นต้น (รูปที่ 4) ซึ่งส่งผลกระทบให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นเซลล์มะเร็งขึ้นในที่สุด นอกจากนี้ยังสามารถตรวจพบโปรตีนวิลมทูเมอร์วันได้ในเซลล์เม็ดเลือดตัวอ่อนในกระแสเลือดและไขกระดูกโดยมีปริมาณที่ปกติ แต่ในเซลล์เม็ดเลือดของผู้ป่วยที่เป็นมะเร็งเม็ดเลือดขาว พบว่าโปรตีนวิลมทูเมอร์วันมีปริมาณเพิ่มมากขึ้นกว่าปกติ จากการศึกษพบว่าโปรตีนวิลมทูเมอร์วัน มีส่วนเกี่ยวข้องกับการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องในกระบวนการแบ่งเซลล์ (proliferation) การพัฒนาการของเซลล์ (differentiation) และโปรแกรมการตายของเซลล์ (apoptosis) ในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวอีกด้วย^{6, 20} ด้วยเหตุนี้นักวิจัยจึงได้สนใจศึกษาถึงการแสดงออกของยีนวิลมทูเมอร์วัน และโปรตีนวิลมทูเมอร์วัน ในมะเร็งเม็ดเลือดขาวกันมากขึ้น และพบว่าสามารถนำการแสดงออกนี้มาใช้เป็นดัชนีบ่งชี้ (marker) เพื่อทำนายความรุนแรงของมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดต่างๆ รวมไปถึงการตรวจหาสภาวะ minimal residual disease (MRD) ในผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาวหลังได้รับการรักษาอีกด้วย^{15, 21}

การแสดงออกของยีนวิลมทูเมอร์วัน ในเซลล์เม็ดเลือด

การศึกษากการแสดงออกของยีนวิลมทูเมอร์วันในตัวอ่อน (embryo) ของไก่ หนู และมนุษย์ด้วยวิธี *In situ* hybridization พบว่าการแสดงออกของยีนวิลมทูเมอร์วันในช่วงที่เกิดการพัฒนาการของตัวอ่อน (Embryonic development) โดยพบการแสดงออกของยีนในระบบสืบพันธุ์ (urogenital system) เซลล์เมโซทีเลียล (mesothelial) ของอวัยวะที่อยู่ระหว่างช่องอกและช่องท้อง ผังกล้ามเนื้อ ม้าม รวมทั้งส่วนของสมอง และไขสันหลัง²²⁻²⁴ นอกจากนี้ยังพบการแสดงออกของยีนวิลมทูเมอร์วัน ในอวัยวะต่างๆ ของทารกในครรภ์มารดา



รูปที่ 3 แสดงตัวอย่างโครงสร้างและลำดับกรดอะมิโนบริเวณซิงก์ฟิงเกอร์ (zinc finger) ที่ 3 ของโปรตีน วิล์มทูเมอร์วัน¹⁹



รูปที่ 4 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างโปรตีนวิล์มทูเมอร์วันและยีนต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้อง⁶

ดังนั้น รก ไข่ อัณฑะ ตับ ไต ต่อม้ำเหลือง ต่อมไทมัส ต่อมลูกหมาก ม้าม และสมอง เมื่อร่างกายเจริญเติบโตขึ้น จากวัยเด็กไปจนถึงผู้ใหญ่จะพบการแสดงออกของ ยีนวิล์มทูเมอร์วัน ในอวัยวะต่างๆ เพิ่มขึ้นเช่น ไขกระดูก ต่อม้ำเหลือง และในกระสโลหิต และพบว่ามีการ แสดงออกที่ค่อนข้างสูงในเซลล์เม็ดเลือดตัวอ่อนอีกด้วย จะเห็นได้ว่าส่วนใหญ่แล้วจะพบการแสดงออกของ

ยีนวิล์มทูเมอร์วัน ในอวัยวะที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการ สร้างเม็ดเลือดเช่น ม้าม ตับ และต่อมไทมัส ในทารก รวมถึงไขกระดูก ต่อม้ำเหลืองและกระสโลหิตในผู้ใหญ่ จึงอาจกล่าวได้ว่า โปรตีนวิล์มทูเมอร์วัน มีผลต่อกระบวนการ เจริญเติบโตของเซลล์เม็ดเลือดชนิดต่างๆ นอกจากนี้ ในการศึกษาเปรียบเทียบระดับการแสดงออกของยีนและ โปรตีนวิล์มทูเมอร์วัน ภายในเซลล์เม็ดเลือดระยะต่างๆ

พบว่าเซลล์เม็ดเลือดตัวอ่อนมีการแสดงออกที่สูงกว่าเซลล์ที่มีพัฒนาการที่สมบูรณ์แล้ว (mature cell) แสดงให้เห็นว่าโปรตีนวิลมทูเมอร์วัน มีผลต่อการสร้างเม็ดเลือดในระยะแรกๆ ของกระบวนการสร้างเม็ดเลือด (early hematopoiesis) มากกว่า นอกจากนี้ยังพบการแสดงออกของยีนวิลมทูเมอร์วันที่เพิ่มสูงขึ้นกว่าปกติในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดแทบทุกชนิดอีกด้วย

ยีนและโปรตีนวิลมทูเมอร์วันกับการเกิดมะเร็งเม็ดเลือดขาวหรือลิวคีเมีย (leukemia)

จากการแสดงออกของยีนวิลมทูเมอร์วัน ที่สูงมากกว่าปกติ (overexpression) ในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว ทำให้นักวิจัยหลายกลุ่มให้ความสนใจศึกษาหน้าที่ของยีนวิลมทูเมอร์วัน ในเซลล์เม็ดเลือดปกติและเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดโดยเฉพาะมะเร็งเม็ดเลือดขาวกันมากยิ่งขึ้น ซึ่งพบว่ายีนวิลมทูเมอร์วันแสดงออกในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวของผู้ป่วยลิวคีเมียนั้นส่วนใหญ่เป็นยีนวิลมทูเมอร์วันชนิดดั้งเดิม จึงเป็นไปได้ว่ายีนวิลมทูเมอร์วัน ในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวนั้นทำหน้าที่เป็นอองโคยีนมากกว่าทูเมอร์ซัพเพรสเซอร์ยีน ที่พบในเซลล์มะเร็งชนิดอื่นๆ

Sugiyama และคณะในปี ค.ศ. 1995 ถึง ปี ค.ศ. 2000 ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการแสดงออกของยีนวิลมทูเมอร์วัน ในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดต่างๆ อย่างจริงจัง จนสามารถหาเหตุผลสนับสนุนได้ว่ายีนวิลมทูเมอร์วัน ในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวทำหน้าที่เป็นอองโคยีน โดยมีเหตุผลสนับสนุนดังนี้คือ พบการแสดงออกของยีนวิลมทูเมอร์วันชนิดดั้งเดิมที่สูงขึ้นมากในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวตัวอ่อนทั้งในกลุ่มของเซลล์สายมัยอีลลอยด์ และลิมโฟบลาสต์ และยังพบว่าระดับการแสดงออกของยีนวิลมทูเมอร์วันนั้นแปรผกผันกับการทำนายอาการของโรคในผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาว²⁵ และพบการแสดงออกของยีนวิลมทูเมอร์วันเพิ่มขึ้นในผู้ป่วยที่กลับมาเป็นโรคซ้ำอีกครั้ง (relapse)²⁶ นอกจากนี้การศึกษาของ Yamagami และคณะ²⁷ ยังพบว่าการใช้ WT1 anti-sense สามารถลดการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวได้ การศึกษาของ Menssen และคณะ¹⁹ ได้กล่าวถึงเปอร์เซ็นต์การแสดงออกของ

ยีนและโปรตีน วิลมทูเมอร์วัน ในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวของผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาวกลุ่มต่างๆ พบว่ามีระดับการแสดงออกของยีนและโปรตีนวิลมทูเมอร์วัน ในมะเร็งเม็ดเลือดขาว ชนิด acute myeloblastic leukemia (AML), pre B-cell acute lymphoblastic leukemia, acute lymphoblastic leukemia (ALL) และ T-cell acute lymphoblastic leukemia คือ 93%, 86%, 80% และ 74% ตามลำดับ จากความรู้ทั้งหมดที่ได้กล่าวมาทำให้สามารถสรุปได้ว่ายีนวิลมทูเมอร์วันในผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาวนั้นทำหน้าที่เป็นอองโคยีนมากกว่าทูเมอร์ซัพเพรสเซอร์ยีน การศึกษาการแสดงออกของยีนวิลมทูเมอร์วัน ทำได้หลายวิธีเช่น นอร์เทิร์นบลอต (Northern blot analysis)^{16, 17} หรือ พีซีอาร์ชนิด Quantitative reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR)¹⁵ เป็นต้น โดยการศึกษาทั้งหมดพบว่า มีการแสดงออกของยีนวิลมทูเมอร์วัน เพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนในผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาว เมื่อเปรียบเทียบกับคนปกติ ดังนั้นจากผลการศึกษาทั้งหมดที่กล่าวมาแล้ว ทำให้สามารถใช้การแสดงออกของยีนและโปรตีนวิลมทูเมอร์วัน เป็นดัชนีบ่งชี้ (marker) สำหรับตรวจหาความรุนแรง (severity) และการพยากรณ์โรค (prognosis) ในผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาวรวมไปถึงสภาวะที่เกี่ยวข้องเช่น minimal residual disease (MRD) ได้

การศึกษายาที่ใช้ต้านมะเร็งเม็ดเลือดขาวก็ได้ใช้ยีนและโปรตีนวิลมทูเมอร์วันเป็นตัวบ่งชี้ เพื่อดูการยับยั้งการเพิ่มปริมาณของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวด้วยตัวอย่างงานวิจัย เช่น การศึกษาสารยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวโดยกลุ่มวิจัยของ Anuchapreeda และคณะ²⁸ ได้ทำการศึกษาผลของสารสกัดธรรมชาติจากขมิ้นชันที่มีชื่อว่าเคอร์คิวมินอยด์ต่อการแสดงออกของยีนวิลมทูเมอร์วันในเซลล์มะเร็งของผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดต่างๆ (AML, ALL, และ CML) ในเด็ก ซึ่งเป็นการศึกษาในระดับหลอดทดลองโดยใช้ความเข้มข้นของเคอร์คิวมินอยด์ 10 ไมโครโมลาร์เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง ตรวจสอบการแสดงออกของยีนวิลมทูเมอร์วันด้วยวิธี RT-PCR การศึกษาพบว่าได้ผลยับยั้งการแสดงออกของยีนวิลมทูเมอร์วันได้ในผู้ป่วยประมาณ 50% ทั้งนี้เกี่ยวข้องกับความแตกต่างทาง

โพลิมอร์ฟิซึม (Polymorphism) ของผู้ป่วยเองด้วย แต่เมื่อทำการศึกษาในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด K562 พบว่าสามารถลดระดับของ วิลมทูเมอร์วัน เอ็มอาร์เอ็นเอ ได้โดยเป็นไปตามระดับความเข้มข้นของ เคอร์คิวมินที่เพิ่มขึ้นและระยะเวลาที่มากขึ้นด้วย นอกจากนี้เมื่อศึกษาการแสดงออกของโปรตีน วิลมทูเมอร์วันในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด K562 พบว่าสามารถลดการแสดงออกของโปรตีนวิลมทูเมอร์วัน ได้เช่นเดียวกัน²⁹

ดังนั้นการแสดงออกของยีนและโปรตีนวิลมทูเมอร์วัน จึงเป็นตัวบ่งชี้ที่ดีชนิดหนึ่งที่สามารถนำมาใช้ในการตรวจวิเคราะห์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดต่างๆ รวมถึงการดำเนินโรค และการทำนายอาการของโรคทั้งก่อน และหลังการรักษาได้ในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

1. Matsunaga E. Genetics of Wilms' tumor. Hum Genet 1981; 57: 231-46.
2. Breslow NE, Langholz B. Childhood cancer incidence-Geographical and temporal variations. Int J Cancer 1983; 32: 703-16.
3. Machin GA, McCaughey WT. A new precursor lesion of Wilms' tumor (nephroblastoma) : intralobar multifocal nephroblastomatosis. Histopathology 1984; 8(1): 35-53.
4. Call KM, Glaser T, Ito CY, *et al.* Isolation and characterization of a zinc finger polypeptide gene at the human chromosome 11 Wilms' tumor locus. Cell 1990; 60: 509-20.
5. Gessler M, Konig A, Bruns GA. The genomic organization and expression of the WT1 gene. Genomics 1992; 12: 807-13.
6. Menke AL, van der Eb AJ, Jochemsen AG. The Wilms' tumor 1 gene: Oncogene or tumor suppressor gene?. Int Rev Cytol 1998; 181: 151-212.
7. Brown KW, Malik KTA. 2001. "The molecular biology of Wilms' tumour. Expert Review in Molecular Medicine". (online). Available <http://www-ermm.cbcu.cam.ac.uk/01003027h.htm> (23 August 2006).
8. Haber DA, Buckler AJ, Glaser T, *et al.* Alternative splicing and genomic structure of the Wilms' tumor gene WT1. Proc Natl Acad Sci USA 1991; 88: 9618-22.
9. Sharma PM, Bowman M, Madden SL, Rauscher FJ, Sukumar S. RNA editing in the Wilms' tumor susceptibility gene, WT1. Genes Dev 1994; 8: 720-31.
10. Bruening W, Pelletier J. A non-AUG translational initiation event generates novel WT1 isoforms. J Biol Chem 1996; 271: 8646-54.
11. Rauscher FJ. The WT1 Wilms tumor gene product: A developmentally regulated transcription factor in the kidney that functions as a tumor suppressor. FASEB J 1993; 7: 896-903.
12. Lewis WH, Yeger H, Bonetta L, *et al.* Homozygous deletion of a DNA marker from chromosome 11p13 in sporadic Wilms' tumor. Genomics 1988; 3: 25-31.
13. Kikuchi H, Akasaka Y, Najai T, *et al.* Genomic changes in the WT gene (WT1) in Wilms' tumors and their correlation with histology. Am J Pathol 1992; 140: 781-6.
14. Sugiyama H. Wilms' tumor gene WT1: Its oncogenic function and clinical application. Int J Hematol 2001; 73: 177-87.
15. Inoue K, Sugiyama H, Ogawa H, *et al.* WT1 as a new prognostic factor and a new marker for the detection of minimal residual disease in acute leukemia. Blood 1994; 84: 3071-9.
16. Miwa H, Beran M, Saunders GF. Expression of Wilms' tumor gene (WT1) in human leukemias. Leukemia 1992; 6: 405-09.
17. Miyagi T, Ahuja H, Kubota T, Kubonishi I, Koeffler HP, Miyoshi I. Expression of the candidate

- Wilm's tumor gene, WT1, in human leukemia cells. *Leukemia* 1993; 7: 970-7.
18. Inoue K, Ogawa H, Sonoda Y, *et al.* Aberrant overexpression of the Wilms' tumor gene (WT1) in human leukemia. *Blood* 1997; 89: 1405-12.
 19. Fournet JC. "WT1, development and human pathology" (online). Available http://www.anapath.necker.fr/service/perso/jcf/presentations/wt1_0600/sld019.htm (23 August 2006).
 20. Menssen HD, Renkl HJ, Rodeck U, *et al.* Presence of Wilms' tumor gene (WT1) transcripts and the WT1 nuclear protein in the majority of human acute leukemias. *Leukemia* 1995; 9: 1060-7.
 21. Guo X, Xu S, Dong Z. WT1 gene expression in leukemia patients and its correlation with prognosis and multidrug resistance. *Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi* 1999; 20: 69-72.
 22. Armstrong JF, Pritchard-Jones K, Bickmore WA, Hastie ND, Bard JB. The expression of the Wilms' tumour gene, WT1, in developing mammalian embryo. *Mech Dev* 1992; 40: 85-97.
 23. Rackley RR, Flenniken AM, Kuriyan NP, Kessler PM, Stoler MH, Williams BR. Expression of the Wilms' tumor suppressor gene *Wt1* during mouse embryogenesis. *Cell Growth Differ* 1993; 4: 1023-31.
 24. Kent J, Coriat AM, Sharpe PT, Hastie ND, Vanheyningen V. The evolution of WT1 sequence and expression pattern in the vertebrates. *Oncogene* 1995; 11: 1781-92.
 25. Bergmann L, Miething C, Maurer U, *et al.* High levels of Wilms' tumor gene (WT1) mRNA in acute myeloid leukemias are associated with a worse long-term outcome. *Blood* 1997; 90: 1217-25.
 26. Tamaki H, Ogawa H, Inoue K, *et al.* Increased expression of the Wilms tumor gene (WT1) at relapse in acute leukemia. *Blood* 1996; 88: 4396-9.
 27. Yamagami T, Sugiyama H, Inoue K, *et al.* Growth inhibition of human leukemic cells by WT1 (Wilms tumor gene) antisense oligodeoxynucleotides: implications for the involvement of WT1 in leukemogenesis. *Blood* 1996; 87: 2878-84.
 28. Anuchapreeda S, Limtrakul P, Thanarattanakorn R, Sittpreechacharn S, Chanarat P. Inhibitory effect of curcumin on *WT1* gene expression in patient leukemic cells. *Arch Pharm Res* 2006; 29 (1): 80-7.
 29. Anuchapreeda S, Thanarattanakorn R, Sittpreechacharn S, Chanarat P, Limtrakul P. Curcumin inhibits *WT1* gene expression in human leukemic K562 cells. *Acta Pharmacologica Sinica* 2006; 27 (3): 360-6.