

บทความพิเศษ

แนวคิดพื้นฐานเกี่ยวกับการตายของเซลล์อย่างเป็นระบบ

เจตนา เรืองประทีป

ภาควิชาพยาธิวิทยา วิทยาลัยแพทยศาสตร์พระมงกุฎเกล้า

บทนำ

การตาย (death) หมายถึง การสูญเสียการบูรณาการและการประสานงานสำหรับการทำหน้าที่ของหัวใจในระบบหมุนเวียนโลหิต ระบบการหายใจ และสมอง¹

โดยทั่วไปการตายของเซลล์ (cellular death) คือ การเสื่อมสภาพที่ไม่สามารถกลับคืนสู่สภาพปกติได้ในหน้าที่ที่จำเป็นสำหรับการมีชีวิตอยู่ของเซลล์ โดยเฉพาะการผลิตสารให้พลังงานแก่เซลล์ [adenosine triphosphate (ATP)] และการรักษาภาวะธำรงดุลด้วยปฏิกิริยารีดอกซ์ของเซลล์ (redox homeostasis) จนก่อให้เกิดการสูญเสียความสมบูรณ์ของเซลล์ ได้แก่ การซึมผ่านได้อย่างถาวรของเยื่อหุ้มเซลล์ (permanent plasma membrane permeabilization) หรือ การแตกสลายของเซลล์ (cellular fragmentation)² ซึ่งลักษณะการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวของเซลล์ที่เกิดการตายนั้นจะเห็นได้ชัด เป็นการเปลี่ยนแปลงอันเกิดจากการบาดเจ็บของเซลล์ชนิดที่ไม่สามารถฟื้นกลับมาเป็นเซลล์ปกติ [irreversible (lethal) cellular injury] นั่นเอง ทั้งนี้การตายของเซลล์โดยทั่วไปเรียกว่า “necrosis”³⁻⁶

สำหรับการตายของเซลล์อย่างเป็นระบบ (apoptosis) หมายถึง กระบวนการตายของเซลล์ตามสภาวะการทำงานของร่างกายที่เกิดขึ้นตั้งแต่เมื่อครั้งตัวอ่อนเริ่มเจริญเติบโตในครรภ์ (embryo) จนกระทั่งโตเป็นผู้ใหญ่ โดยกระบวนการตายของเซลล์ชนิดนี้ถูกควบคุมด้วยยีนที่มีความจำเพาะสำหรับดำเนินการกำจัดสิ่งต่อไปนี้ ได้แก่ เซลล์ต่างๆ ของร่างกายที่ไม่ต้องการอีกต่อไป เซลล์ที่ทำหน้าที่ผิดปกติ หรือเซลล์ที่สามารถก่ออันตรายต่อร่างกาย ทั้งนี้เพื่อรักษาความสมดุลระหว่างจำนวนเซลล์ที่เกิดใหม่และจำนวนเซลล์ที่ตายของร่างกาย อนึ่งคำว่า “apoptosis” นั้นมีรากศัพท์มาจากภาษากรีกแปลว่า “ตกลงมา (falling off)” ซึ่งอาจเปรียบได้กับใบไม้หลุดร่วงจากกิ่งไม้ตามกำหนดเวลา หากพิจารณาจากคำอธิบายของการตายของเซลล์อย่างเป็นระบบ (apoptosis) ดังกล่าวข้างต้น จะเห็นได้ว่าการตายของเซลล์ชนิดนี้ถูกกำหนดไว้แล้วตามธรรมชาติของร่างกายนั่นเอง ดังนั้นจึงมักเรียก apoptosis ว่าเป็น “programmed cell death” อีกด้วย⁷⁻¹⁴

กลไกการเกิด apoptosis^{4,15}

การตายของเซลล์แบบ apoptosis เกิดขึ้นได้ 2 วิธีคือ วิธีภายในหรือวิถีไมโทคอนเดรีย [intrinsic (mitochondria) pathway] และ วิธีภายนอกหรือวิถีตัวรับการตาย [extrinsic (death receptor) pathway]

เมื่อเซลล์ในร่างกายประสบภาวะดังต่อไปนี้คือ (ก) เกิดการขาดแคลนสารประกอบโปรตีนที่กระตุ้นการเจริญเติบโตของเซลล์ (growth factor withdrawal); (ข) เกิดการทำลายของสารพันธุกรรม [deoxyribonucleic acid (DNA)] ขึ้นภายในเซลล์เนื่องจากการฉายรังสี (radiation) การได้รับสารพิษ (toxins) หรือการบาดเจ็บของเซลล์จากอนุมูลอิสระ (free radicals); หรือ (ค) เกิดการสะสมของโปรตีนที่ถูกพับจนมีรูปร่างผิดปกติ (misfolded proteins) เป็นจำนวนมากในร่างแหเอนโดพลาสมิก [endoplasmic reticulum (ER)] ของเซลล์ อันเนื่องมาจากโรคทางพันธุกรรมบางอย่างและกลุ่มโรคทางสมองที่เป็นผลจากการได้รับโปรตีนพรีออน (prion diseases) ซึ่งส่งผลให้มีความผิดปกติอย่างรุนแรงในการทำงานของ ER (severe ER stress) ของเซลล์นั้น โดยทั้งสามภาวะดังกล่าวข้างต้นจะก่อให้เกิดกระบวนการตายของเซลล์แบบ apoptosis ด้วยการกระตุ้น “วิถีภายในหรือวิถีไมโทคอนเดรีย” ซึ่งเริ่มจากการทำงานของกลุ่มโปรตีนที่อยู่ในไซโทพลาซึมของเซลล์ ได้แก่ โปรตีนบีเอ็ด (Bad) โปรตีนบีไอดี (Bid) และ โปรตีนบีไอลิม (Bim) เป็นต้น กลุ่มโปรตีนเหล่านี้เป็นตัวรับรู้การเปลี่ยนแปลงและมีส่วนประกอบเพียงแคโปรตีนบีเอส 3 เท่านั้น (BH3-only sensors) จะกระตุ้นการทำงานของโปรตีนที่อยู่ตรงเยื่อหุ้มชั้นนอกของไมโทคอนเดรีย (Outer mitochondrial membrane) ได้แก่ โปรตีนบีเอเค (Bak) และ โปรตีนบีเอเอกซ์ (Bax) โปรตีนสองชนิดนี้จัดอยู่ในกลุ่มโปรตีนตระกูลบีซีแอล-2 (Bcl-2 family proteins) ทำหน้าที่ชักนำการเกิด apoptosis ของเซลล์และมีส่วนประกอบเป็นโปรตีนบีเอส 1 (BH1) โปรตีนบีเอส 2 (BH2) และโปรตีนบีเอส 3 (BH3) จึงเรียกโปรตีน Bak และโปรตีน Bax ว่า “multidomain (BH1 - 3) proapoptotic Bcl-2 family proteins”¹⁶ โดยโปรตีนทั้งคู่จะทำการซึมผ่าน

ผนังของไมโทคอนเดรีย (mitochondrial permeability) เพิ่มขึ้นมากกว่าปกติ จนเป็นผลให้โปรตีนไซโตโครมซี (cytochrome c) ซึ่งอยู่ที่บริเวณระหว่างเยื่อหุ้มชั้นนอกและชั้นในของไมโทคอนเดรีย (mitochondrial intermembrane space) และทำหน้าที่เป็นตัวรับส่งอิเล็กตรอนในกระบวนการหายใจระดับเซลล์ เกิดการรั่วออกมาจากผนังไมโทคอนเดรียเข้าสู่ไซโตพลาสซึม (cytoplasm) ของเซลล์ และจับกับกลุ่มโปรตีนตัวรับ (adaptor proteins) ที่มีชื่อว่า “apoptosis protease activating factor-1 (Apaf-1)” ภายในไซโตพลาสซึม กลายเป็นสารประกอบโปรตีนเชิงซ้อนที่มี 7 แขน (seven-armed complex) จากนั้นสารประกอบโปรตีนของเอนไซม์แคสเปส-9 ที่ยังทำงานไม่ได้ (procaspase-9) จำนวน 7 โมเลกุล (molecules) จะจับแขนทั้ง 7 ของสารประกอบโปรตีนเชิงซ้อนดังกล่าวข้างต้นเกิดเป็นสารประกอบโปรตีนที่เรียกว่า “อะพอพโทโซม (apoptosome)” ซึ่ง apoptosome นี้จะทำให้เกิดการเปลี่ยน procaspase-9 ทั้ง 7 โมเลกุลที่จับอยู่นั้นกลายเป็นเอนไซม์แคสเปส (caspases) ที่สามารถทำงานต่อไปได้ โดยเอนไซม์นี้ก่อให้เกิดการขาดของเส้นใยโปรตีนที่เชื่อมโยงกันเป็นร่างแหเพื่อเป็นโครงร่างของเซลล์ (breakdown of cytoskeleton) ร่วมกับการก่อให้เกิดการกระตุ้นเอนไซม์เอนโดนิวคลีเอส (endonuclease) จนทำให้นิวเคลียสของเซลล์แตกออกเป็นส่วนตัวๆ (nuclear fragmentation) ซึ่งนำไปสู่การตายของเซลล์ในที่สุด

สำหรับการกระตุ้นการตายของเซลล์แบบ apoptosis ด้วย “วิถีภายนอกหรือวิถีตัวรับการตาย” นั้นมักจะเกิดขึ้นเมื่อเซลล์ของร่างกายที่ผิดปกติถูกกำจัดด้วยเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ (lymphocytes) หรือชนิดแมคโครเฟจ (macrophages) โดยเริ่มจากอันตรกิริยาระหว่างตัวรับบนผิวเซลล์เป้าหมาย (target cells) กับสารประกอบเชิงซ้อนหรือสารประกอบโปรตีน (receptor-ligand interactions) ดังนี้คือ (ก) สารประกอบเชิงซ้อนของโปรตีนฟาส (Fas ligand) ที่อยู่บนผิวของเซลล์ Lymphocytes จับกับตัวรับการตายของโปรตีนฟาส (Fas death receptor) ซึ่งอยู่บนผิวของเซลล์ร่างกายที่จะต้องถูกกำจัดนั้น หรือ (ข) สารประกอบโปรตีนในระบบภูมิคุ้มกันที่มีชื่อว่า “ทูเมอร์เนกโครซิสแฟกเตอร์ [tumor necrosis factor (TNF)]” ซึ่งส่วนใหญ่ถูกหลั่งออกมาจาก macrophages จับกับตัวรับของ TNF (TNF receptor) บนผิวของเซลล์ร่างกายที่จะต้องถูกกำจัดนั้นเช่นกัน ผลจากอันตรกิริยาดังกล่าวข้างต้นนี้จะกระตุ้นให้เกิดการรวมตัวกับ adaptor proteins และ procaspase-8 หรือ procaspase-10 ที่อยู่ใน cytoplasm ของ

เซลล์เป้าหมายกลายเป็นสารประกอบโปรตีนที่มีโครงสร้างเชิงซ้อนที่มีชื่อว่า “death-inducing signaling complex (DISC)” อยู่ตรงบริเวณขอบของเซลล์เป้าหมายนั้น ซึ่งสารประกอบโปรตีน DISC นี้จะทำให้เกิดการเปลี่ยน procaspase-8 หรือ procaspase-10 ที่จับอยู่นั้นกลายเป็นเอนไซม์ caspases พร้อมกับการเปลี่ยนแปลงซึ่งเกิดขึ้นเช่นเดียวกับที่กล่าวไว้ข้างต้นเมื่อเอนไซม์นี้ถูกกระตุ้นให้ทำงานตามวิถีภายในหรือวิถีไมโทคอนเดรีย

ในอีกทางหนึ่งกลุ่มโปรตีนซึ่งทำหน้าที่ต่อต้านกระบวนการตายของเซลล์แบบ apoptosis (multi-BH anti-apoptotic proteins) เช่น โปรตีนบีซีแอล-2 (Bcl-2) โปรตีนบีซีแอล-เอกซ์แอล (Bcl-x_L) โปรตีนเอ็มซีแอล-1 (Mcl-1) เป็นต้น จะมีส่วนประกอบเป็นโปรตีน BH1 โปรตีน BH2 โปรตีน BH3 และโปรตีนบีเอส 4 (BH4) ซึ่งการทำงานของโปรตีน Bcl-2 จะเกี่ยวข้องกับโปรตีน Bad ของวิถีภายในหรือวิถีไมโทคอนเดรีย เมื่อโปรตีน Bcl-2 ที่อยู่ในรูปซึ่งยังทำงานไม่ได้ (inactive Bcl-2) จับกับโปรตีน Bad จะก่อให้เกิดกระบวนการ apoptosis ของเซลล์ หากเซลล์ได้ก็ตามในเนื้อเยื่อของร่างกายได้รับสัญญาณการดำรงชีพ (survival signals) จะส่งผลให้เกิดการกระตุ้นการทำงานของโปรตีนแอกที (Akt) ซึ่งจะนำไปสู่การเติมกลุ่มฟอสเฟตพลังงานสูง (phosphorylation) ให้แก่โปรตีน Bad ยังผลให้โปรตีน Bad ไม่สามารถจับกับ inactive Bcl-2 ได้อีกต่อไป เมื่อมีการแยกจากกันของโปรตีนทั้งสองนั้นแล้ว โปรตีน Bad ที่ได้รับการเติมกลุ่มฟอสเฟตพลังงานสูงจะหยุดการทำงานและกลายเป็น inactive Bad ส่วนโปรตีน Bcl-2 ที่ถูกแยกออกมานั้นจะถูกกระตุ้นให้ทำงานและยับยั้งกระบวนการตายของเซลล์แบบ apoptosis จึงทำให้เซลล์ยังคงมีชีวิตอยู่ (cell survival) และสามารถเจริญเติบโตต่อไปได้¹⁵

รูปแบบของการเกิดกระบวนการ apoptosis

โดยทั่วไปสามารถแบ่งรูปแบบของการเกิด apoptosis นี้ออกได้เป็น 2 ชนิด คือ การเกิด apoptosis ในกระบวนการทางสรีรวิทยาปกติของร่างกาย (physiologic apoptosis) และการเกิด apoptosis ในขณะที่ยังคงมีสุขภาพ (pathologic apoptosis)¹⁶

1. การเกิด apoptosis ในกระบวนการทางสรีรวิทยาปกติของร่างกาย

กระบวนการ apoptosis ที่สามารถพบได้ตั้งแต่ระยะตัวอ่อนในครรภ์ (embryo) เริ่มมีการพัฒนาและการเจริญเติบโตภายหลังจากการปฏิสนธิจนถึงในวัยผู้ใหญ่ที่เจริญเติบโตเต็มที่แล้วนั้น เป็นผลจากวิถีการดังต่อไปนี้

1.1 การสูญเสียการส่งสัญญาณเพื่อการทำงานของสารที่เป็นปัจจัยกระตุ้นการเจริญเติบโตของเซลล์ (growth factor signaling) ระหว่างกระบวนการต่างๆ เหล่านี้คือ

1.1.1 กระบวนการสร้างตัวอ่อนในครรภ์ (embryogenesis) จะปรากฏการเปลี่ยนแปลงของเซลล์แบบ apoptosis ในเนื้อเยื่อต่างๆ อันเนื่องมาจากลักษณะดังต่อไปนี้^{4,6,16-18}

1.1.1.1 การกำจัดจำนวนสารซึ่งถูกปล่อยออกมาจากเซลล์เป้าหมายบางชนิด โดยสารที่ถูกปล่อยออกมานี้จะทำหน้าที่เป็นปัจจัยสำหรับการดำรงชีพของเซลล์ประสาท (nerve cells) ซึ่งเกี่ยวข้องกับเซลล์เป้าหมายนั้น เมื่อเซลล์ประสาทบางตัวของตัวอ่อนในครรภ์ไม่ได้รับสารดังกล่าวในปริมาณที่เพียงพอ เซลล์ประสาทเหล่านี้จะเข้าสู่กระบวนการ apoptosis ทำให้เซลล์ประสาทของบริเวณเนื้อเยื่อนั้นมีจำนวนที่พอดีกับการไปเลี้ยงเซลล์เป้าหมาย ซึ่งจะช่วยให้ระบบประสาทสามารถทำงานได้อย่างมีความจำเพาะและมีประสิทธิภาพ¹⁵

1.1.1.2 การตายของเยื่อผิวหนังในช่องปาก เพื่อให้เกิดการเชื่อมติดกันของเพดานปาก (palate) ของตัวอ่อนในครรภ์

1.1.1.3 การเสื่อมสลายของส่วนโค้งต่างๆ ของหลอดเลือดแดงเอออร์ตา (embryonic aortic arches) เมื่อตัวอ่อนในครรภ์เกิดการพัฒนาระบบไหลเวียนโลหิต

1.1.1.4 การตายของเซลล์ในเนื้อเยื่อพังผืดระหว่างนิ้วมือและนิ้วเท้า (interdigital web tissue) หากกระบวนการนี้มิได้เกิดขึ้นกับทารกในครรภ์ (fetus) ก็จะทำให้ปรากฏการติดกันของนิ้วมือและ/หรือนิ้วเท้า (syndactyly) ของเด็กแรกเกิดได้^(6,17)

1.1.1.5 การเสื่อมสลายของท่อพารามีโซเนฟริก (ท่อมูลเลอเรีย) [paramesonephric (Müllerian) duct] เมื่อตัวอ่อนในครรภ์มีการสร้างอวัยวะในระบบสืบพันธุ์เพศชาย

1.1.2 กระบวนการหมุนเวียนการสร้างและสลาย (turnover) ของเซลล์ lymphocytes ในไขกระดูกและต่อมไทมัส

1.1.3 กระบวนการผลัดเซลล์เยื่อผิวหนังในเนื้อเยื่อลำไส้

1.2 การลดลงของระดับฮอร์โมนในร่างกายซึ่งนำไปสู่การลดสัญญาณการดำรงชีพของเซลล์ในเนื้อเยื่อที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของฮอร์โมนนั้น ได้แก่ เซลล์ของต่อมน้ำนมในสตรี (mammary glands) เซลล์ของเยื่อโพรงมดลูก (endometrium) คอร์ปัสลูเทียม (corpus luteum) ของรังไข่ (ovary) และเซลล์ของต่อมลูกหมาก (prostate gland)

1.3 การสูญเสียการส่งสัญญาณการดำรงชีพของเซลล์เม็ดเลือดขาว ภายหลังจากสิ่งกระตุ้นการทำงานของเซลล์เม็ดเลือดขาวนั้นได้ถูกกำจัดไปแล้ว ส่งผลให้จำนวนของเม็ดเลือดขาวลดลงเมื่อสิ้นสุดกระบวนการตอบสนองทางระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายหรือเมื่อสิ้นสุดกระบวนการตอบสนองของร่างกายจากการอักเสบ

1.4 การรับรู้แอนติเจนของตนเองอย่างเข้มแข็ง (strong recognition of self-antigens) ทำให้เกิดการกระตุ้นวิถีการตายของเซลล์แบบ apoptosis ทั้งสองแบบ คือ วิถีภายในหรือวิถีไมโทคอนเดรียและวิถีภายนอกหรือวิถีตัวรับการตาย เพื่อกำจัดเซลล์ lymphocytes ที่ทำปฏิกิริยาได้เอง (self-reactive lymphocytes) ซึ่งมีศักยภาพในการทำอันตรายต่อเซลล์ปกติของร่างกาย

2. การเกิด apoptosis ในขณะที่ยังคงเกิดพยาธิสภาพสำหรับกระบวนการ apoptosis ของเซลล์เมื่อร่างกายเกิดพยาธิสภาพนั้น เป็นผลจากวิถีการดังต่อไปนี้

2.1 เมื่อเกิดการทำลายของสารพันธุกรรมขึ้นภายในเซลล์ จะส่งผลให้เซลล์เหล่านี้เกิด apoptosis โดยกลุ่มโปรตีน BH3-only sensors ที่อยู่ภายใน cytoplasm ของเซลล์นั้นกระตุ้นการทำงานของกลุ่ม BH1 - 3 proapoptotic proteins

2.2 เมื่อเกิดการสะสมของ misfolded proteins ขึ้นภายในเซลล์จะส่งผลให้เซลล์เหล่านี้เกิด Apoptosis โดย BH3-only sensors จะกระตุ้นการทำงานของ proapoptotic proteins หรืออาจเกิดจากการกระตุ้นโดยตรงต่อการทำงานของเอนไซม์ caspase

2.3 เมื่อเซลล์ในร่างกายเกิดการติดเชื้อไวรัส โปรตีนของไวรัสจะก่อให้เกิดวิถีการตายของเซลล์แบบ apoptosis โดยการกระตุ้นวิถีภายในหรือวิถีไมโทคอนเดรียในเซลล์เหล่านี้ อันที่เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดไซโตท็อกซิกทีลิมโฟไซต์ (cytotoxic T lymphocytes) ก็จะช่วยในการทำลายเซลล์ที่ติดเชื้อไวรัสด้วยการกระตุ้นการ apoptosis เช่นกัน โดยการกระตุ้นวิถีภายนอกหรือวิถีตัวรับการตายผ่านการทำงานของเอนไซม์ caspase

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphology) ของเซลล์ที่เกิด apoptosis

การตายของเซลล์แบบ apoptosis ส่วนใหญ่เกิดขึ้นกับเซลล์เพียงตัวเดียว (single cell) และเซลล์ข้างเคียงจะยังคงปกติอยู่ โดยการตายของเซลล์แบบนี้จะไม่เห็นยว่นำให้เกิดการตอบสนองด้วยการอักเสบอีกด้วย เซลล์ที่เกิดการตายแบบ apoptosis จะมีการเปลี่ยนแปลงดังนี้คือ ในระยะแรกรอยต่อระหว่างเซลล์ปกติกับเซลล์ที่เกิด apoptosis (intercellular junctions) จะถูกทำลาย

เริ่มเกิดการเกาะกลุ่มกันของโครมาติน (chromatin) ในนิวเคลียสของเซลล์ที่เกิด apoptosis นั้น ต่อมาเซลล์ที่เกิด apoptosis จะหดตัวลงทำให้มีขนาดเล็กลง ร่วมกับไฮโดรฟาสซิสติดสีชมพูเข้มมากขึ้นเมื่อย้อมด้วยสี hematoxylin และ eosin (H&E staining) และ chromatin จะเกาะกลุ่มกันที่บริเวณขอบของนิวเคลียสพร้อมกันนี้เอนไซม์ endonuclease จะถูกกระตุ้นให้ทำงานและส่งผลให้นิวเคลียสของเซลล์ที่เกิด apoptosis แตกออกเป็นส่วนตัวๆ ใดๆก็ตามส่วนประกอบต่างๆ ภายในไฮโดรฟาสซิสของเซลล์ (organelles) รวมถึงไมโทคอนเดรียด้วยจะยังไม่มีอาการถูกทำลาย ซึ่งแตกต่างจากการตายของเซลล์แบบ necrosis ที่จะทำให้การทำลาย organelles

หลังจากนั้นเซลล์ที่เกิด apoptosis จะพบปรากฏการณ์โป่งพองเป็นตุ่ม (bleb) ของเยื่อหุ้มเซลล์ แล้วเยื่อหุ้มเซลล์นี้จะโอบล้อม organelles ที่อยู่ในไฮโดรฟาสซิสและ/หรือเศษของนิวเคลียสที่แตกออก จนกลายเป็นถุงขนาดเล็กจำนวนมากที่เรียกว่า “apoptotic bodies” ซึ่งในเวลาต่อมา apoptotic bodies เหล่านี้ก็จะถูกกลืนกิน (phagocytosis) โดยเซลล์ macrophages^{6,13,18}

ความแตกต่างระหว่างการตายของเซลล์แบบ necrosis กับแบบ apoptosis¹⁹

ลักษณะ	การตายของเซลล์	
	necrosis	apoptosis
1. การเกิด	การตายของเซลล์เกิดขึ้นอย่างไม่คาดคิด (accidental cell death)	การตายของเซลล์เป็นการกำจัดเซลล์ที่ไม่ต้องการ โดยเป็นกระบวนการที่อยู่ภายใต้การควบคุมของร่างกาย
2. จำนวน	เซลล์ที่อยู่ในบริเวณเดียวกันจะมีการตายของเซลล์เกิดขึ้นร่วมด้วย	เซลล์ที่ตายจะเกิดขึ้นเพียงเซลล์เดียว ไม่เกี่ยวข้องกับเซลล์ที่อยู่ข้างเคียง
3. รูปร่าง	เซลล์ที่ตายจะเกิดการบวมของเซลล์ (cell swelling) ซึ่งเป็นผลจากการกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์โปรตีเอส (protease)	เซลล์ที่ตายจะเกิดการหดตัว (cell shrinkage) ทำให้เซลล์มีขนาดเล็กลง
4. เยื่อหุ้มเซลล์	เซลล์ที่ตายเกิดการโป่งพองเป็นตุ่มของเยื่อหุ้มเซลล์ แต่จะไม่มี organelles อยู่ในนั้น	เซลล์ที่ตายไม่ปรากฏการฉีกขาดของเยื่อหุ้มเซลล์ แต่จะเกิดการโป่งพองเป็นตุ่มของเยื่อหุ้มเซลล์และมี organelles ขนาดใหญ่อยู่ในนั้น

5. ไมโทคอนเดรีย	เซลล์ที่ตายจะมีการบวมและการเสียหายของไมโทคอนเดรีย	เซลล์ที่ตายจะเกิดการซึมผ่านของไมโทคอนเดรียเพิ่มขึ้นมากกว่าปกติ
6. ปฏิกริยาเคมีภายในเซลล์	เซลล์ที่ตายจะก่อให้เกิดการขาดแคลนสารให้พลังงานแก่เซลล์ [adenosine triphosphate (ATP)] และการหยุดชะงักกระบวนการเผาผลาญสารอาหาร (metabolism)	เซลล์ที่ตายจะยังคงมีการสร้าง ATP และการสังเคราะห์โปรตีนอยู่เช่นเดิม
7. นิวเคลียส	chromatin ในนิวเคลียสของเซลล์ที่ตายจะรวมตัวกันเป็นกลุ่มเล็กๆ	นิวเคลียสของเซลล์ที่ตายจะรวมตัวกันแน่นมากขึ้นและขอบของนิวเคลียสเกิดเป็นรอยหยัก (nuclear condensation and lobulation)
8. สารพันธุกรรม	เกิดการย่อยสลายของสารพันธุกรรมแบบไม่จำเพาะเจาะจง (random DNA degradation) ในนิวเคลียสของเซลล์ที่ตาย	เกิดการย่อยสลายของสารพันธุกรรมที่อยู่ระหว่างหน่วยย่อยของโครโมโซม (chromosome) (internucleosomal DNA degradation) ในนิวเคลียสของเซลล์ที่ตาย
9. การแตกของเซลล์	เซลล์ที่ตายเกิดการกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ฟอสโฟไลเปส (phospholipase) ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ถูกทำลายมากขึ้น จนทำให้เซลล์แตกสลาย (cell lysis) และมีการปล่อยสารต่างๆ ที่อยู่ในเซลล์นั้นออกมา	เซลล์ที่ตายจะเกิดการกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ caspase ทำให้เซลล์แตกย่อยเป็นชิ้นเล็กๆ และกลายเป็น apoptotic bodies
10. การอักเสบ (inflammation)	บริเวณที่มีเซลล์ตายจะมีการอักเสบเกิดขึ้นร่วมด้วย	บริเวณที่มีเซลล์ตายจะไม่มีอาการอักเสบเกิดขึ้นร่วมด้วย
11. การซ่อมแซมของเนื้อเยื่อ	บริเวณที่มีเซลล์ตายจะถูกแทนที่ด้วยการเกิดแผลเป็น (scarring)	บริเวณที่มีเซลล์ตายจะไม่ถูกแทนที่ด้วยการเกิดแผลเป็น

ความสัมพันธ์ระหว่างกระบวนการ apoptosis และการเกิดมะเร็ง

การเกิดมะเร็ง (carcinogenesis) มีความเกี่ยวข้องกับการแสดงออกที่มากเกินไป (overexpression) ของกลุ่มโปรตีนซึ่งทำหน้าที่ต่อต้านกระบวนการตายของเซลล์แบบ apoptosis ในเซลล์ต้นกำเนิด (stem cells) หรือเซลล์บรรพบุรุษที่พัฒนาต่อจากเซลล์ต้นกำเนิด (progenitor cells) ของเนื้อเยื่อร่างกายที่มีการกลายพันธุ์ของสารพันธุกรรม (DNA mutations) ร่วมด้วย

จึงทำให้เกิดเซลล์ที่ผิดปกติเป็นจำนวนมากและเจริญเติบโตขึ้นในเนื้อเยื่อของร่างกายจนกลายเป็นมะเร็ง (cancer) ในที่สุด^{20,21} ซึ่งกลุ่มโปรตีนที่ทำให้เซลล์มะเร็งมีการตายแบบ apoptosis ลดลงนั้น จะแสดงออกผ่านทางวิถีภายในหรือวิถีไมโทคอนเดรียของกระบวนการ apoptosis ได้แก่ โปรตีน Bcl-2 ที่ยับยั้งการทำงานของโปรตีน Bad ในไซโทพลาสซึมของเซลล์ และโปรตีนเอ็กซ์ไอเอพี [X chromosome-linked inhibitors of apoptosis proteins (XIAP)] ที่ถูกสร้างจากยีนในโครโมโซม X และมีหน้าที่ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ caspases โดยตรง²²⁻²⁵

อย่างไรก็ตามเมื่อนำเนื้อเยื่อมะเร็งทุกชนิดมาตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์จะสามารถพบ apoptotic bodies ได้เป็นจำนวนมากในเนื้อเยื่อเหล่านี้ โดยเฉพาะในเนื้อเยื่อของก้อนมะเร็งที่มีขนาดใหญ่ ทั้งนี้อัตราการขยายขนาดของก้อนมะเร็งจะขึ้นอยู่กับความสมดุลระหว่างการแบ่งตัว (mitotic figures) และการเกิด apoptotic bodies ของเซลล์มะเร็ง²⁶ ดังนั้นจึงเป็นที่มาของแนวคิดในการรักษามะเร็งว่า หากทำให้เซลล์มะเร็งเกิดกระบวนการ apoptosis เพิ่มขึ้นย่อมส่งผลให้ก้อนเนื้องอกเกิดการฝ่อตัว (tumor regression) ได้²⁶⁻³⁴ ซึ่งนำไปสู่การพัฒนาที่ใช้ในการรักษามะเร็งแบบมุ่งเป้า (targeted therapy) เพื่อลดผลข้างเคียงที่จะเกิดขึ้นกับร่างกายของผู้ป่วยมะเร็งเมื่อได้รับการรักษาด้วยยาเคมีบำบัด โดยยาที่ถูกพัฒนาขึ้นมานี้จะมีความจำเพาะต่อกลุ่มโปรตีนซึ่งทำหน้าที่ต่อต้านกระบวนการตายของเซลล์มะเร็งแบบ apoptosis นั้นเอง³⁵⁻⁴¹

นอกจากนั้นแล้วการเกิด apoptosis ของเซลล์มะเร็งยังถูกนำมาประยุกต์ใช้ในการตรวจทางพยาธิวิทยาด้วยกล้องจุลทรรศน์ สำหรับการประเมินการตอบสนองของเซลล์มะเร็งต่อการรักษาด้วยยาเคมีบำบัดที่ผู้ป่วยได้รับก่อนการผ่าตัดเอาก้อนเนื้องอกออกจากร่างกาย (neoadjuvant therapy) โดยใช้ค่าดัชนีการตายของเซลล์อย่างเป็นระบบ (apoptotic index) ที่ปรากฏในเนื้อเยื่อมะเร็ง²⁶ แม้กระนั้นก็ตามความถูกต้องในการประเมิน apoptotic index ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่อไปนี้คือ (ก) ชนิดของน้ำยาคงสภาพเนื้อเยื่อ (fixative solution); (ข) ความเข้มข้นของน้ำยาคงสภาพเนื้อเยื่อ; (ค) ความล่าช้าของการแช่เนื้อเยื่อในน้ำยาคงสภาพ (delayed fixation); (ง) การแช่เนื้อเยื่อในน้ำยาคงสภาพเป็นระยะเวลานานเกินไป โดยเฉพาะมากกว่า 3 สัปดาห์; (จ) ขั้นตอนการปรับสภาพ (pretreatment) เนื้อเยื่อก่อนเริ่มวิธีการทางห้องปฏิบัติการ; (ฉ) การอบแห้งเนื้อเยื่อ (tissue drying); (ช) ระยะเวลาและความเข้มข้นของสารเคมีที่ถูกใช้สำหรับการย้อมสีนิวเคลียสของเซลล์ใน

เนื้อเยื่อ; และ (ซ) การเปลี่ยนแปลงของนิวเคลียสที่เป็นผลจากการตายของเซลล์แบบ necrosis⁴²

อนึ่งมีรายงานว่าภายหลังจากการให้ยาเคมีบำบัดแก่เซลล์มะเร็งที่ไม่ใช่เซลล์มะเร็งต้นกำเนิด (non-stem cancer cells (NSCCs)) ซึ่งถูกเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ เซลล์มะเร็งเหล่านี้ยังคงสามารถเพิ่มจำนวนได้เอง โดยมีการแสดงออกที่เพิ่มขึ้นของยีนซีดี 44 แต่ไม่พบการแสดงออกของยีนซีดี 24 ($CD44^+/CD24^-$) ซึ่งเป็นลักษณะการแสดงออกทางพันธุกรรมที่ปรากฏแบบเดียวกันกับเซลล์มะเร็งต้นกำเนิด [cancer stem cells (CSCs)] นอกจากนี้ยังพบอีกด้วยว่าเมื่อนำเซลล์ NSCCs ไปปลูกถ่ายในหนูทดลองจำนวน 8 ตัว พบว่าเซลล์มะเร็งดังกล่าวยังคงมีชีวิตและเจริญเติบโตอยู่ในหนูทดลองทั้งหมด อีกทั้งยังยังสามารถแพร่กระจายไปต่อมน้ำเหลืองของหนูทดลองจำนวน 4 ตัวจาก 8 ตัว (ร้อยละ 50)⁴³ นั่นคือเซลล์ NSCCs มีการย้อนกลับของกระบวนการตายของเซลล์แบบ apoptosis (reversibility of apoptosis) จึงทำให้เซลล์มะเร็งชนิดนี้มีชีวิตอยู่ได้^{43,44} ซึ่งสาเหตุที่เป็นไปได้ของการเกิดปรากฏการณ์นี้คือการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมในลักษณะที่นอกเหนือจากการเปลี่ยนแปลงลำดับของ DNA (epigenetic modifications) ในเซลล์ NSCCs เนื่องจากพบจำนวนหมู่เมทิล [methyl (-CH₃)] ลดลงที่เบสบนสาย DNA ของตัวส่งเสริมการทำงานของยีน $CD44$ (hypomethylated $CD44$ promoters) และพบจำนวนหมู่ methyl เพิ่มขึ้นที่เบสบนสาย DNA ของตัวส่งเสริมการทำงานของยีน $CD24$ (hypermethylated $CD24$ promoters) ดังนั้นการรักษามะเร็งต้องคำนึงถึงการให้ยาเคมีบำบัดที่สามารถยับยั้งการย้อนกลับของกระบวนการ apoptosis ที่จะเกิดขึ้นในเซลล์มะเร็งด้วย เพื่อลดโอกาสที่ผู้ป่วยจะเกิดการกลับมาเป็นซ้ำ (relapse) และ/หรือการแพร่กระจาย (metastasis) ของมะเร็ง⁴³

สรุป

การตายของเซลล์อย่างเป็นระบบ (apoptosis) เรียกอีกชื่อหนึ่งว่า “programmed cell death” เนื่องจากการตายของเซลล์ที่ถูกกำหนดไว้แล้วตามธรรมชาติของร่างกาย โดยทั่วไปการตายของเซลล์อย่างเป็นระบบนี้สามารถพบได้ทั้งในกระบวนการทางสรีรวิทยาปกติของร่างกายและในขณะที่ยาพิษเกิดพิษภัยสำหรับร่างกายตายของเซลล์โดยทั่วไป (necrosis) จะเกิดการตายและการเสียหายที่ของ mitochondria แต่เซลล์ที่ตายแบบ apoptosis นั้นเป็นผลจากการมีสารประกอบโปรตีนซึมผ่านผนังของ mitochondria

เพิ่มขึ้น อันเนื่องการแสดงให้เห็นที่เพิ่มมากขึ้นของกลุ่มโปรตีนที่ทำให้เซลล์มีการตายแบบ apoptosis สามารถนำไปสู่การเปลี่ยนแปลงของเซลล์ในร่างกายที่เกิดการผ่าเหล่าของสารพันธุกรรมกลายเป็นเซลล์มะเร็งต่อไปได้ ดังนั้นการพัฒนารักษาโรคมะเร็งซึ่งออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของกลูโพรตีนดังกล่าว จะช่วยลดการกลับมาเป็นซ้ำและ/หรือการแพร่กระจายของมะเร็งได้

เอกสารอ้างอิง

- Dettmeyer RB, Verhoff MA, Schütz HF. Death. Forensic Medicine: Fundamentals and Perspectives. Germany: Springer; 2014. p. 34-35.
- Galluzzi L, Vitale I, Aaronson SA, Abrams JM, Adam D, Agostinis P, et al. Molecular mechanisms of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018. Cell Death Differ. 2018;25(3):486-541.
- Cell Injury, Disease, and Death. In: McConnell TH, Paulson VA, Valasek MA, editors. The Nature of Disease: pathology for the health professions. 2nd ed. China: Wolters Kluwer Health, Lippincott Williams & Wilkins; 2014. p. 20-35.
- Cell Injury, Cell Death, and Adaptations. In: Kumar V, Abbas AK, Aster JC, editors. Robbins Basic Pathology. 10th ed. Canada: Elsevier; 2018. p. 31-54.
- Cobb JP, Hotchkiss RS, Karl IE, Buchman TG. Mechanisms of cell injury and death. Br J Anaesth. 1996;77(1):3-10.
- Pollard TD, Earnshaw WC, Lippincott-Schwartz J, Johnson GT. Programmed cell death. Cell Biology. 3rd ed. Philadelphia: Elsevier; 2017. p. 797-815.
- Strayer DS, Rubin E. Cell Death. In: Strayer DS, Rubin E, Saffitz JE, Schiller AL, editors. Rubin's Pathology: clinicopathologic foundations of medicine. 7th ed. China: Wolters Kluwer Health; 2015. p. 33-53.
- Abrams J, Telford WG, Rollins L. Cell death: discriminating between apoptosis, necrosis & autophagy [Internet]. London: DDW; 2014 [cited 2019 May 2]. Available from: <https://www.ddw-online.com/drug-discovery/p274231-cell-death:-discriminating-between-apoptosisnecrosis-&-autophagy.html>
- Arends MJ, Morris RG, Wyllie AH. Apoptosis. The role of the endonuclease. Am J Pathol. 1990;136(3):593-608.
- Bright J, Khar A. Apoptosis: programmed cell death in health and disease. Biosci Rep. 1994;14(2):67-81.
- Cohen JJ. Apoptosis. Immunol Today. 1993;14(3):126-130.
- Elmore S. Apoptosis: a review of programmed cell death. Toxicol Pathol. 2007;35(4):495-516.
- Haake AR, Polakowska RR. Cell death by apoptosis in epidermal biology. J Invest Dermatol. 1993;101(2):107-112.
- Stevens A, Lowe J. Pathology. 2nd ed. New York: Mosby; 2000. p. 18-22.
- Tamiru Y, Abebe N, Kebede A. Review on mechanisms of regulating apoptosis in animal cells. World Journal of Biomedicine and Pharmaceutical Sciences. 2017;2:33-38.
- Alberts B, Bray D, Hopkin K, Johnson A, Lewis J, Raff M, et al. Control of cell numbers and cell Size. Essential Cell Biology. 4th ed. New York: Garland Science, Taylor & Francis Group; 2014. p. 633-641.
- Starr C, McMillan B. How the early embryo develops. In: Johnson MD. Human Biology: Concepts and Current Issues. 8th ed. Canada: Brooks/Cole, Cengage Learning; 2010. p. 334-335.
- Young B, O'Dowd G, Woodford P. Programmed cell death. Wheater's Functional Histology: A Text and Colour Atlas. 6th ed. Philadelphia: Elsevier, Churchill Livingstone; 2014. p. 42-3.
- Lemasters JJ. Molecular mechanisms of cell death. In: Coleman WB, Tsongalis GJ, editors. Essential Concepts in Molecular Pathology. China: Elsevier; 2010. p. 3-14.
- Green DR, Evan GI. A matter of life and death. Cancer Cell. 2002;1(1):19-30.
- Labi V, Erlacher M. How cell death shapes cancer. Cell Death Dis. 2015;6(3):e1675.
- Fernald K, Kurokawa M. Evading apoptosis in cancer. Trends Cell Biol. 2013;23(12):620-633.
- Fulda S. Tumor resistance to apoptosis. Int J Cancer. 2009;124(3):511-5.
- Ghavami S, Hashemi M, Ande SR, Yeganeh B, Xiao W, Eshraghi M, et al. Apoptosis and cancer: mutations within caspase genes. J Med Genet. 2009;46(8):497-510.
- Lopez J, Tait SW. Mitochondrial apoptosis: killing cancer using the enemy within. Br J Cancer. 2015;112(6):957-62.
- Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. Br J Cancer. 1972;26(4):239-257.
- Brown JM, Attardi LD. The role of apoptosis in cancer development and treatment response. Nat Rev Cancer. 2005;5(3):231-7.
- Burz C, Berindan-Neagoe I, Balacescu O, Irimie A. Apoptosis in cancer: key molecular signaling pathways and therapy targets. Acta Oncol. 2009;48(6):811-21.
- Chung C. Restoring the switch for cancer cell death: Targeting the apoptosis signaling pathway. Am J Health Syst Pharm. 2018;75(13):945-52.
- Debatin KM. Apoptosis pathways in cancer and cancer therapy. Cancer Immunol Immunother. 2004;53(3):153-9.
- Gerl R, Vaux DL. Apoptosis in the development and treatment of cancer. Carcinogenesis. 2005;26(2):263-70.
- Hersey P, Zhang XD. Overcoming resistance of cancer cells to apoptosis. J Cell Physiol. 2003;196(1):9-18.

33. Kaufmann SH, Gores GJ. Apoptosis in cancer: cause and cure. *Bioessays*. 2000;22(11):1007-17.
34. Plati J, Bucur O, Khosravi-Far R. Dysregulation of apoptotic signaling in cancer: molecular mechanisms and therapeutic opportunities. *J Cell Biochem*. 2008;104(4):1124-49.
35. Baig S, Seevasant I, Mohamad J, Mukheem A, Huri HZ, Kamarul T. Potential of apoptotic pathway-targeted cancer therapeutic research: Where do we stand? *Cell Death Dis*. 2016;7(1):e2058.
36. Goldar S, Khaniani MS, Derakhshan SM, Baradaran B. Molecular mechanisms of apoptosis and roles in cancer development and treatment. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2015;16(6):2129-44.
37. Hassan M, Watari H, AbuAlmaaty A, Ohba Y, Noriaki Sakuragi N. Apoptosis and molecular targeting therapy in cancer. *Biomed Res Int*. 2014;2014:1-23.
38. Kasibhatla S, Tseng B. Why target apoptosis in cancer treatment? *Mol Cancer Ther*. 2003;2(6):573-80.
39. Mohammad RM, Muqbil I, Lowe L, Yedjou C, Hsu HY, Lin LT, et al. Broad targeting of resistance to apoptosis in cancer. *Semin Cancer Biol*. 2015;35(Suppl):S78-S103.
40. Pistritto G, Trisciuglio D, Ceci C, Garufi A, D'Orazi G. Apoptosis as anticancer mechanism: function and dysfunction of its modulators and targeted therapeutic strategies. *Aging (Albany NY)*. 2016;8(4):603-19.
41. Wong RS. Apoptosis in cancer: from pathogenesis to treatment. *J Exp Clin Cancer Res*. 2011;30:87.
42. Soini Y, Paakko P, Lehto VP. Histopathological evaluation of apoptosis in cancer. *Am J Pathol*. 1998;153(4):1041-53.
43. Xu Y, So C, Lam HM, Fung MC, Tsang SY. Apoptosis Reversal Promotes Cancer Stem Cell-Like Cell Formation. *Neoplasia*. 2018;20(3):295-303.
44. Tang HL, Yuen KL, Tang HM, Fung MC. Reversibility of apoptosis in cancer cells. *Br J Cancer*. 2009;100(1):118-22.

