บทความปริทัศน์
Review Article

เฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนบนผิวเซลล์ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม

เกศกาญจน์ เกศวยุธ
อาจารย์ ภาควิชาชีวเคมี
คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ถนนอังรีดูนังต์ ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330
โทรศัพท์: 02-2188672
โทรสาร: 02-2188670
อีเมล: kasekarn.k@chula.ac.th

บทคัดย่อ

เฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์เป็นโปรทีโอไกลแคนส์ที่สังเคราะห์ได้โดยเซลล์ทุกชนิดในสัตว์ที่มีและไม่มีกระดูกสันหลัง เฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์มีหน้าที่สำคัญในการงานหลากหลายชนิดของเซลล์ เช่น มีส่วนเกี่ยวข้องในการจับกันระหว่างเซลล์ด้วยกันเองและการจับกันระหว่างเซลล์กับเมทริกซ์นอกเซลล์ การเพิ่มจำนวนเซลล์ การเคลื่อนย้ายของเซลล์ และกระบวนการเกิดพยาธิสภาพต่าง ๆ การศึกษาวิจัยเกี่ยวกับเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ มีทั้งแง่ของลักษณะโครงสร้าง กระบวนการเมตาโบลิซึมและหน้าที่ภายในเซลล์ โดยทั่วไปเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์สามารถแบ่งเป็นสองชนิด ได้แก่ เฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ที่ถูกปล่อยอยู่นอกเซลล์ เช่น เพอร์ลีแคนและอะกรินเป็นต้น และที่ติดอยู่บนผิวเซลล์ เช่น ซินดีแคนและไกลพิแคน เป็นต้น ในบทความนี้จะกล่าวเฉพาะเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ที่ติดอยู่บนผิวเซลล์เท่านั้น ซึ่งสามารถแบ่งเป็นสองกลุ่มโดยใช้ลักษณะการยึดเกาะของโมเลกุลของเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์บนเยื่อหุ้มเซลล์ ได้แก่ กลุ่มที่ยึดเกาะด้วยส่วนของโปรตีนแทรกผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ และกลุ่มที่ยึดเกาะด้วยไกลโคซิลฟอสฟาทิดิลอินโนซิทอลเกี่ยวอยู่ในเยื่อหุ้มเซลล์ ทั้งสองกลุ่มนี้แตกต่างกันในกระบวนการสร้าง การสลายตัว และหน้าที่ ความรู้ที่ได้จากการศึกษาเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์บนผิวเซลล์สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการพัฒนาแนวทางในการรักษาโรคต่าง ๆ รวมทั้งอาจใช้เป็นเครื่องมือบ่งชี้ในการวินิจฉัยและการพัฒนาการของโรคได้

บทนำ

เฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ (heparan sulfate proteoglycans, HSPGs) เป็นโมเลกุลที่มีอยู่ในเซลล์ทุกชนิดของสัตว์มีและไม่มีกระดูกสันหลัง นั่นแสดงให้เห็นว่า เฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์มีบทบาทสำคัญในกิจกรรมต่าง ๆ ของเซลล์ เช่น ปฏิสัมพันธ์ของการยึดเกาะกันระหว่างเซลล์ (cell-cell interaction) ปฏิสัมพันธ์ของการยึดเกาะกันระหว่างเซลล์กับเมทริกซ์ (cell-matrix interaction) การเพิ่มจำนวนเซลล์ (cell proliferation) การเคลื่อนย้ายของเซลล์ (cell migration) และกระบวนการเจริญเติบโตของเซลล์ (cell growth processes) เป็นต้น นอกจากนี้ เฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ยังมีบทบาทในกระบวนการเกิดโรค (pathological processes) ได้อีกด้วย เช่น โรคฮีรีดิทารีมัลติเปิลเอ็กซอสโทซีส (Hereditary multiple exostoses, HMS)[2] โรคซิมป์ซันกอลาไบเบห์เมลซินโดรม (Simpson-Golabi-Behmel syndrome, SGBS)[2,3] และกระบวนการติดเชื้อไวรัส (viral infection)[4,5] เป็นต้น จากที่กล่าวมาแล้วข้างต้น ทำให้มีผู้สนใจศึกษาบทบาทของเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ในแง่มุมต่าง ๆ อย่างกว้างขวาง เริ่ม

ตั้งแต่เรื่องของลักษณะโครงสร้างของโมเลกุล กระบวนการเมตาโบลิซึม (metabolism) และบทบาทหน้าที่ต่าง ๆ ของเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ในเซลล์

เฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์แบ่งได้ 2 ชนิดดังนี้ ชนิดที่อยู่นอกเซลล์ เช่น เพอร์ลีแคน (perlecan) และอะกริน (agrin) เป็นต้น และชนิดที่อยู่บนผิวเซลล์ เช่น ซินดีแคน (syndecan) และไกลพิแคน (glypican) เป็นต้น[1] ซึ่งเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ชนิดที่อยู่นอกเซลล์และบนผิวเซลล์ทำหน้าที่แตกต่างกันออกไป ในที่นี้ขอกล่าวถึงเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ที่อยู่บนผิวเซลล์เท่านั้น โดยเน้นที่โครงสร้าง การสร้างและการสลาย บทบาทและหน้าที่ของเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ ทั้งในเนื้อเยื่อทั่วไปและเนื้อเยื่อในช่องปากรวมทั้งการนำความรู้มาประยุกต์ใช้ในปัจจุบัน

1. โครงสร้างและชนิดของเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์บนผิวเซลล์[1]

เฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ที่อยู่บนผิวเซลล์แบ่งเป็นกลุ่มย่อยตามชนิดของโมเลกุลที่เกาะกับเยื่อหุ้มเซลล์ได้ 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่ยึดเกาะด้วยส่วนของโปรตีนของเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ แทรกผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ (transmembrane HSPGs) เช่น กลุ่มซินดีแคน (รูปที่ 1A) และกลุ่มที่ยึดเกาะบนผิวเซลล์ด้วยไกลโคซิลฟอสฟาทิดิลอินโนซิทอล (glycosylphosphatidylinositol (GPI-anchored) บนโปรตีนของเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ เช่น กลุ่มไกลพิแคน (รูปที่ 1B) โครงสร้างหลักของเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ทั้งสองกลุ่มนี้ประกอบด้วยโปรตีน (protein core) สายโอลิโกแซคคาไรด์ (oligosaccharide) และสายโพลีแซคคาไรด์ (polysaccharide) ที่เรียกว่า ไกลโคซามิโนไกลแคน (glycosaminoglycan, GAG) ชนิดเฮพพาแรนซัลเฟต (heparan sulfate, HS) ซึ่งประกอบด้วยโมเลกุลคู่ของน้ำตาลเอ็น-แอซีทิลกลูโคซามีน (N-acetylglucosamine, GlcNAc) และน้ำตาลกรดกลูคูโรนิก (glucuronic acid, GlcA) ต่อซ้ำกันไปเป็นสายยาว

1.1 เฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ชนิดที่ยึดเกาะด้วยส่วนของโปรตีนแทรกผ่านเยื่อหุ้มเซลล์

เฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ชนิดที่ยึดเกาะด้วยส่วนของโปรตีนแทรกผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมส่วนใหญ่เป็นกลุ่มของซินดีแคน ในที่นี้จึงขอใช้ซินดีแคนเป็นตัวแทนของเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ชนิดที่ยึดเกาะด้วยส่วนของโปรตีนแทรกผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ โดยในปัจจุบันพบซินดีแคนทั้งหมด 4 ชนิด ได้แก่ ซินดีแคน 1-4[6] โดยมีส่วนประกอบของโปรตีนขนาด 20-40 กิโลดัลตัน (kilodalton) แบ่งเป็นส่วนย่อย ๆ ดังนี้

1.1.1 ส่วนที่อยู่ภายนอกเซลล์

ส่วนนี้เป็นส่วนที่อยู่นอกเยื่อหุ้มเซลล์ที่มีความหลากหลายของการเรียงตัวของกรดอะมิโนสูงกว่าส่วนอื่นในสายโปรตีนของส่วนที่อยู่ภายนอกเซลล์ (ectodomain) ซึ่งมีส่วนยึดเกาะของสายไกลโคซามิโนไกลแคน (GAG attachment site) ที่มีความคล้ายกันในสิ่งมีชีวิตหลายชนิด เช่น มนุษย์ หมู หนู ไก่ และกบ เป็นต้น[7] สายไกลโคซามิโนไกลแคนยึดเกาะที่กรดอะมิโนเซรีน (serine) ที่ต่อกับกรดอะมิโนไกลซีน (glycine) ซึ่งในบริเวณใกล้เคียงกับตำแหน่งนี้มักพบกรดอะมิโนเซรีน-ไกลซีนต่อซ้ำกันสองถึงสามครั้งล้อมรอบด้วยกรดอะมิโนกลุ่มไม่ชอบน้ำและกลุ่มที่มีความเป็นกรดทางปลายด้านเอ็น (N-terminus)[7] ในการศึกษาซินดีแคน-4 พบว่าตำแหน่งที่ใกล้กับตำแหน่งที่ยึดเกาะของไกลโคซามิโนไกลแคนบนโปรตีน มีตำแหน่งยึดเกาะสำหรับสารที่สามารถจับกับเซลล์ได้ (cell interaction ligands) เช่น โกรทแฟกเตอร์ (growth factor) เป็นต้น ซึ่งในการจับกันนี้เกี่ยวข้องกับการส่งสัญญาณในเซลล์โดย ผ่านทางอินทีกริน (integrin) และตัวรับสัญญาณของเอนไซม์ไทโรซีนไคเนส (tyrosine kinase)[8] (รูปที่ 1A)

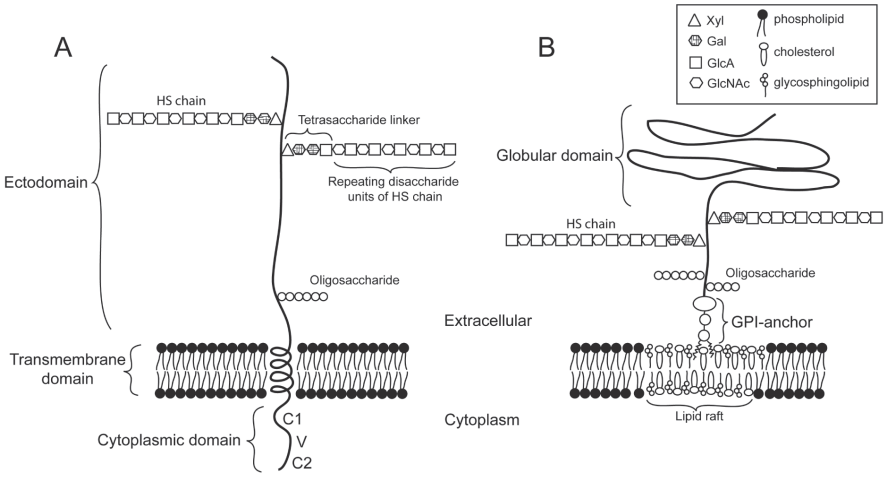
1.1.2 ส่วนที่อยู่ในเยื่อหุ้มเซลล์

ซินดีแคนสามารถแทรกอยู่ในเยื่อหุ้มเซลล์ผ่านทางสายโปรตีนซึ่งถูกอนุรักษ์ไว้ในซินดีแคนทั้งสี่ชนิด โดยลำดับการเรียงตัวของกรดอะมิโนจะเป็นแบบไกลซีน-เอ็กซ์-เอ็กซ์-เอ็กซ์-ไกลซีน (glycine-X-X-X-glycine motif)[9] ซึ่งสามารถยึดเกาะกับโมเลกุลที่อยู่บนเยื่อหุ้มเซลล์ได้หลากหลายชนิด ด้วยเหตุนี้ทำให้ซินดีแคนรวมกันอยู่ในตำแหน่งที่เรียกว่าไมโครโดเมน (microdomain) บนเยื่อหุ้มเซลล์ เช่น ซินดีแคน-1 พบมากบริเวณด้านเบโซแลตเทอรัล (basolateral) ของเซลล์เยื่อบุผิว (epithelial cell) แต่ในซินดีแคน-4 จะพบมากที่บริเวณโฟคัลแอดฮีชัน (focal adhesion)[10] ซึ่งเป็นตำแหน่งของโปรตีนหลายชนิดรวมตัวกันเพื่อทำหน้าที่ยึดระหว่างไซโตสเคเลตัน (cytoskeleton) ภายในเซลล์กับสารเมทริกซ์นอกเซลล์ เป็นต้น (รูปที่ 1A)

1.1.3 ส่วนที่อยู่ภายในเซลล์

เป็นส่วนบริเวณปลายด้านซี (C-terminus) ของโปรตีนที่อยู่ภายในเซลล์ ประกอบด้วย 3 บริเวณที่สำคัญ ได้แก่ ซีหนึ่ง (C1) วี (V) และซีสอง (C2) (รูปที่ 1A)

- บริเวณซีหนึ่ง จะอยู่ใกล้ ๆ กับเยื่อหุ้มเซลล์พบได้ในซินดีแคนทุกชนิด เป็นบริเวณที่มีกรดอะมิโนเซรีนและไทโรซีนอยู่มาก ซึ่งเกี่ยวข้องกับการยึดเกาะของเซลล์โดยจับกับเส้นใยแอคทิน (actin)[11]



รูปที่ 1 *ชนิดของเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์บนผิวเซลล์ (A) เฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนสที่ยึดเกาะด้วยส่วนของโปรตีนแทรกผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ (transmembrane HSPG) ซึ่งส่วนโปรตีนประกอบด้วยส่วนที่อยู่นอกเซลล์ (ectodomain) ส่วนที่อยู่ในเยื่อหุ้มเซลล์ (tramsmembrane domain) และส่วนที่อยู่ในเซลล์ (cytoplasmic domain) โดยส่วนที่อยู่นอกเซลล์จะพบสายเฮพพาแรนซัลเฟตทางปลายด้านเอ็น (N-terminus) ในสายของเฮพพาแรนซัลเฟตประกอบด้วยเตตระแซคคาไรด์และน้ำตาลโมเลกุลคู่ที่ซ้ำกันของน้ำตาลกรดกลูคูโรนิก (GlcA) และน้ำตาลเอ็น-แอซีทิลกลูโคซามีน (GlcNAc) ในส่วนนี้ยังพบสายโอลิโกแซคคาไรด์ด้วย ส่วนที่อยู่บนเยื่อหุ้มเซลล์เป็นส่วนที่โปรตีนของเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ และส่วนที่อยู่ในเซลล์เป็นปลายทางด้านซี (C-terminus) จะพบบริเวณซีหนึ่ง (C1) วี (V) และซีสอง (C2) อยู่ในไซโตพลาสซึมของเซลล์ (B) เฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ชนิดที่ยึดเกาะด้วยไกลโคซิลฟอสฟาทิดิลอินโนซิทอล (glycosylphosphatidylinositol (GPI)-anchored HSPG) ส่วนโปรตีนประกอบด้วยโกลบูลาร์ทางปลายด้านเอ็น ถัดไปเป็นบริเวณที่สายเฮพพาแรนซัลเฟตเกาะ โดยส่วนประกอบในสายเฮพพาแรนซัลเฟตเหมือนกับเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ที่ยึดเกาะด้วยส่วนของโปรตีนผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ และปลายด้านซี ประกอบด้วยไกลโคซิลฟอสฟาทิดิลอินโนซิทอล เป็นส่วนที่ยึดกับเยื่อหุ้มเซลล์ในบริเวณที่เรียกว่า ลิปิดราฟต์ (lipid raft) คือบริเวณที่มีคอเลสเตอรอลและไกลโคสฟิงโกลิปิดรวมตัวกันหนาแน่น (Modified from Belting, 2003[49] และ Mayor, 2004[15])*

Fig. 1 *Types of cell-surface HSPGs. (A) The transmembrane HSPGs of which protein core composes of ectodomain, transmembrane domain and cytoplasmic doamin. HS chains are attached at N-terminus of ectodomain and consist of tetrasaccharide linker and repeating disaccharide unit, which is glucuronic acid (GlcA) and N-acetylglucosamine (GlcNAc). Oligosaccharide is also attached to protein core in ectodomain. HSPGs pass through cell membrane via transmembrane domain. Cytoplasmic domain contains C1, V, and C2 region at C-terminus in cytoplasm. (B) GPI (glycosylphosphatidylinositol)-anchored HSPGs which compose of protein core with globular domain at N-terminus and HS attachment sites, which HS composition and arrangement are the same as those in transmembrane domain, and GPI-anchor is linked to cell membrane in lipid raft that is an accumulation of cholesterol and glycosphingolipid domain. (Modified from Belting, 2003[49] and Mayor, 2004[15])*

- บริเวณวี เป็นส่วนที่มีความหลากหลายมากในกลุ่มซินดีแคนทั้งขนาดและการเรียงตัวของกรดอะมิโน ซึ่งคาดว่าเป็นส่วนที่ทำให้หน้าที่ของซินดีแคนแต่ละชนิดนั้นแตกต่างกัน เช่น บริเวณวีในซินดีแคน-4 สามารถจับกับบริเวณส่วนที่เป็นคาตาลิติก (catalytic site) ของเอนไซม์โปรทีนไคเนสซี-เอ (protein kinase C-a, PKC-a) และฟอสฟาทิดิลอินโนซิทอล 4,5-บิสฟอสเฟต (phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate) ซึ่งการจับกันนี้ช่วยเอื้อให้เกิดการรวมตัวกันของโปรตีนเกิดเป็นตำแหน่งโฟคัลแอดฮีชันที่เยื่อหุ้มเซลล์[10,12]

- บริเวณซีสอง มีกรดอะมิโนที่จำเพาะเรียงตัวกัน 4 ตัวที่ปลายด้านซี (C-terminus) ทำให้สามารถจับกับโปรตีนต่าง ๆ ที่อยู่บนเยื่อหุ้มเซลล์ด้านในเซลล์ (cytoplasmic face of plasma membrane) เชื่อว่าที่บริเวณนี้ซินดีแคนสามารถจับกับอินทีกรินและตัวรับสัญญาณของเอนไซม์ไทโรซีนไคเนส มีผลกระตุ้นให้เกิดการเพิ่มจำนวนเซลล์ การอยู่รอด (survival) และการบุกรุก (invasion) ของเซลล์มะเร็ง[8]

1.2 เฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ชนิดที่ยึดเกาะด้วยไกลโคซิลฟอสฟาทิดิลอินโนซิทอล

เฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ชนิดที่ยึดเกาะด้วยไกลโคซิลฟอสฟาทิดิลอินโนซิทอลในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมส่วนใหญ่เป็นกลุ่มของไกลพิแคน จึงขอใช้โครงสร้างของไกลพิแคนเป็นตัวแทนในกลุ่มนี้ ในมนุษย์มีไกลพิแคน 6 ชนิด ได้แก่ ไกลพิแคน 1-6[13] ซึ่งทุกชนิดจะมีลักษณะคล้าย ๆ กัน (รูปที่ 1B) ดังนี้

- การเรียงตัวของกรดอะมิโนที่ทำหน้าที่เป็นซิกนัลซีเควน (signal sequence) ที่ปลายด้านเอ็น

- มีส่วนโกลบูลาร์ (globular domain) ขนาดประมาณ 50 กิโลดัลตัน ซึ่งเป็นบริเวณที่ถูกอนุรักษ์ไว้ในไกลพิแคน ทุกชนิด โดยมีการเรียงตัวของกรดอะมิโนซีสทีอีน (cysteine) 14 ตัว เชื่อว่ามีความเกี่ยวข้องกับการมีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนต่าง ๆ ในการทำกิจกรรมภายในเซลล์[14]

- ตำแหน่งบนโปรตีนที่มีการยึดเกาะของสายเฮพพาแรนซัลเฟต ประกอบด้วยการเรียงตัวซ้ำกันของ กรดอะมิโนเซรีน-ไกลซีน 2-3 ครั้ง[1] อยู่ใกล้ปลายด้านซี ดังนั้นสายเฮพพาแรนซัลเฟตน่าจะมีส่วนเกี่ยวข้องกับการจับกับโกรทแฟกเตอร์[13]

- ปลายด้านซี เป็นตำแหน่งของไกลโคซิลฟอสฟาทิดิลอินโนซิทอล ซึ่งเป็นจุดที่เฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์เกาะกับเยื่อหุ้มเซลล์ที่บริเวณลิปิดราฟท์ (lipid raft) ซึ่งส่วนนี้จะเป็นบริเวณที่มีคอเลสเตอรอล (cholesterol) และไกลโคสฟิงโกลิปิด (glycosphingolipid) รวมตัวกันหนาแน่น[15] กว่าบริเวณอื่น ๆ ของเยื่อหุ้มเซลล์

2. กระบวนการเมตาโบลิซึมของเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ที่อยู่บนผิวเซลล์ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม

กระบวนการเมตาโบลิซึมของเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ได้มีการศึกษาอย่างกว้างขวางในเซลล์หลายชนิด เช่น เซลล์โอวาเรียนแกรนูโลซาของหนูแรท (rat ovarian granulosa cell)[16,17] เซลล์เยื่อบุผิวมดลูกของหนูเมาส์ (mouse uterine epithelium)[18] และเซลล์รังไข่ของหนูแฮมสเตอร์จีน (Chinese hamster ovary cell)[19] เป็นต้น ผลการศึกษาพบว่ามีหลายปัจจัยทำให้การสร้างและการสลายของโมเลกุลเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์แตกต่างกัน อาทิเช่น ชนิดของเซลล์ (cell type) ช่วงของการเจริญเติบโต (developmental stage) และขั้นตอนในกระบวนการเมตาโบลิซึม (metabolic stage) เป็นต้น ทั้งนี้เพื่อความเหมาะสมในการทำหน้าที่ของเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ในเซลล์แต่ละชนิด

2.1 การสร้างเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ที่อยู่บนผิวเซลล์ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม

ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมมีกระบวนการสร้างเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ ประกอบด้วย 2 ขั้นตอนใหญ่ ๆ คือ การสร้างโปรตีนและสายเฮพพาแรนซัลเฟต สำหรับการสร้างโปรตีนเริ่มในนิวเคลียสแล้วเคลื่อนย้ายผ่านไปยังรัฟเอ็นโดพลาสมิกเรติคูลัม (rough endoplasmic reticulum; RER) มีกระบวนการสร้างเหมือนกับโปรตีนชนิดอื่น ๆ โดยเริ่มที่กระบวนการทรานส์คริปชัน (transcription) จากดีเอ็นเอ (DNA) ไปเป็นเอ็มอาร์เอ็นเอ (mRNA) ต่อด้วยกระบวนการทรานส์เลชัน (translation) ได้เป็นโปรตีน จากนั้นโปรตีนจะเคลื่อนเข้าสู่กอลจิแอพพาราตัส (Golgi apparatus) เพื่อสร้างสายเฮพพาแรนซัลเฟตและสายโอลิโกแซคคาไรด์เชื่อมต่อกับโปรตีน การสร้างสายโอลิโกแซคคาไรด์นั้นยังไม่ทราบกลไกที่แน่ชัด ในที่นี้จะขอกล่าวในรายละเอียดของกระบวนการสร้างสายเฮพพาแรนซัลเฟต ซึ่งแบ่งได้เป็น 3 ขั้นตอน ได้แก่ ขั้นตอนการเริ่มต้นการสร้างสายเฮพพาแรนซัลเฟต (initiation of HS chain) ขั้นตอนการต่อสายเฮพพาแรนซัลเฟตให้ยาวขึ้น (polymerization of HS chain) และขั้นตอนการปรับแต่งภายในสายเฮพพาแรนซัลเฟต (modification of HS chain) ซึ่งแต่ละขั้นตอนมีรายละเอียดดังนี้

2.1.1 ขั้นตอนการเริ่มต้นการสร้างสายเฮพพาแรนซัลเฟต[5,20]

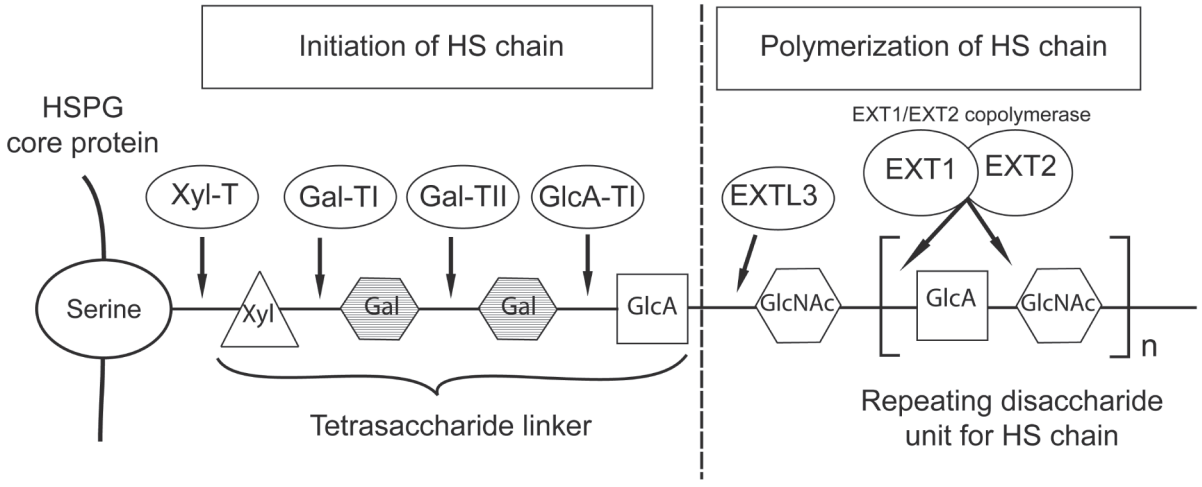
กระบวนการเริ่มต้นของการสังเคราะห์สายเฮพพาแรนซัลเฟตโดยการสังเคราะห์เตตระแซคคาไรด์ (tetrasaccharide linker) (รูปที่ 2) ได้แก่ ไซโลส-กาแลคโตส-กาแลคโตส-กรดกลูคูโรนิก (xylose-galactose-galactose-glucuronic acid) โดยเอนไซม์ไซโลซิลทรานส์เฟอเรส (xylosyltransferase, Xyl-T) เอนไซม์กาแลคโตซิลทรานส์เฟอเรส 1 และ 2 (galactosyltransferase I and II, Gal-TI and Gal-TII) ตามลำดับ สุดท้ายคือ การทำงานของเอนไซม์กลูคูโรโนซิลทรานส์เฟอเรส 1 (glucuronosyltransferase I, GlcA-TI) เสร็จจากนี้ก็จะเข้าสู่ขั้นตอนการต่อสายเฮพพาแรนซัลเฟตให้ยาวขึ้น

2.1.2 ขั้นตอนการต่อสายเฮพพาแรนซัลเฟตให้ยาวขึ้น

เมื่อเซลล์สังเคราะห์เตตระแซคคาไรด์เสร็จแล้วเอนไซม์อีเอ็กซ์ทีแอล 3 (Exostosin-like 3, EXTL3) นำน้ำตาลเอ็น-แอซีทิลกลูโคซามีน (N-acetyl glucosamine) ต่อจากเตตระแซคคาไรด์ จากนั้นเอนไซม์กลุ่มไกลโคซิลทรานส์เฟอเรส ได้แก่ เอนไซม์ที่เกิดจากการรวมตัวของโปรตีนอีเอ็กซ์ที 1 (exostosin 1, EXT1) และอีเอ็กซ์ที 2 (exostosin 2, EXT2) เรียกว่า อีเอ็กซ์ที 1/อีเอ็กซ์ที 2 โคโพลีเมอเรส (EXT1/EXT2 copolymerase) นำน้ำตาลกรดกลูคูโรนิกและน้ำตาล เอ็น-แอซีทิลกลูโคซามีนมาต่อสลับไปมาจนสายยาวขึ้นเรื่อย ๆ[5] ดังรูปที่ 2

2.1.3 ขั้นตอนการปรับแต่งภายในสายเฮพพาแรนซัลเฟต

กระบวนการปรับแต่งภายในสายเฮพพาแรนซัลเฟตจะเกิดขึ้นพร้อมกับการสร้างสายเฮพพาแรนซัลเฟต โดยเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ ยังไม่สามารถทำงานได้จนกว่ากระบวนการปรับแต่งสายเสร็จสิ้น ซึ่งขั้นตอนในการปรับแต่งมี 6 ขั้นตอน[1,5] ได้แก่ การตัดหมู่แอซีทิล การเติมหมู่ซัลเฟต และกระบวนการอีพิเมอไรเซชัน (epimerization) โดยการเปลี่ยนน้ำตาลกรดกลูคูโรนิกให้เป็นน้ำตาลกรดไอดูโรนิก (Iduronic acid, IdoA)



รูปที่ 2 *กระบวนการเริ่มต้นของการสร้างสายเฮพพาแรนซัลเฟตและกระบวนการต่อสายเฮพพาแรนซัลเฟตให้ยาวขึ้น รายละเอียดอ่านในบทความ โดย Xyl คือน้ำตาลไซโลส Gal คือน้ำตาลกาแลคโตส GlcA คือน้ำตาลกรดกลูคูโรนิก GlcNAc คือน้ำตาลเอ็น-แอซิทิลกลูโคซามีน Xyl-T คือเอนไซม์ไซโลซิลทรานส์เฟอเรส Gal-TI คือเอนไซม์กาแลคโตซิลทรานส์เฟอเรส 1 Gal-TII คือเอนไซม์กาแลคโตซิลทรานส์เฟอเรส 2 GlcA-TI คือเอนไซม์กลูคูโรโนซิลทรานส์เฟอเรส 1 EXTL3 คือเอนไซม์-อีเอ็กซ์ทีแอล 3 EXT1 คือโปรตีนอีเอ็กซ์ที 1 EXT2 คือโปรตีนอีเอ็กซ์ที 2 (ดัดแปลงจาก Duncan, 2001[22])*

Fig. 2 *Initiation and polymerization of HS chain. For more detail please see text. Xyl = xylose, Gal = galactose, GlcA = glucuronic acid, GlcNAc = N-acetyl glucosamine, Xyl-TI = xylosyltransferase I, Gal-TI = galactosyltranferase I, Gal-TII = galactosyltransferase II, GlcA-TI = glucuronosyltransferase I, EXTL3 = exostosin-like 3, EXT1 = exostosin 1, EXT2 = exostosin 2. (Modified from Duncan, 2001[22])*

2.2 การสลายเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ที่อยู่บนผิวเซลล์ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม

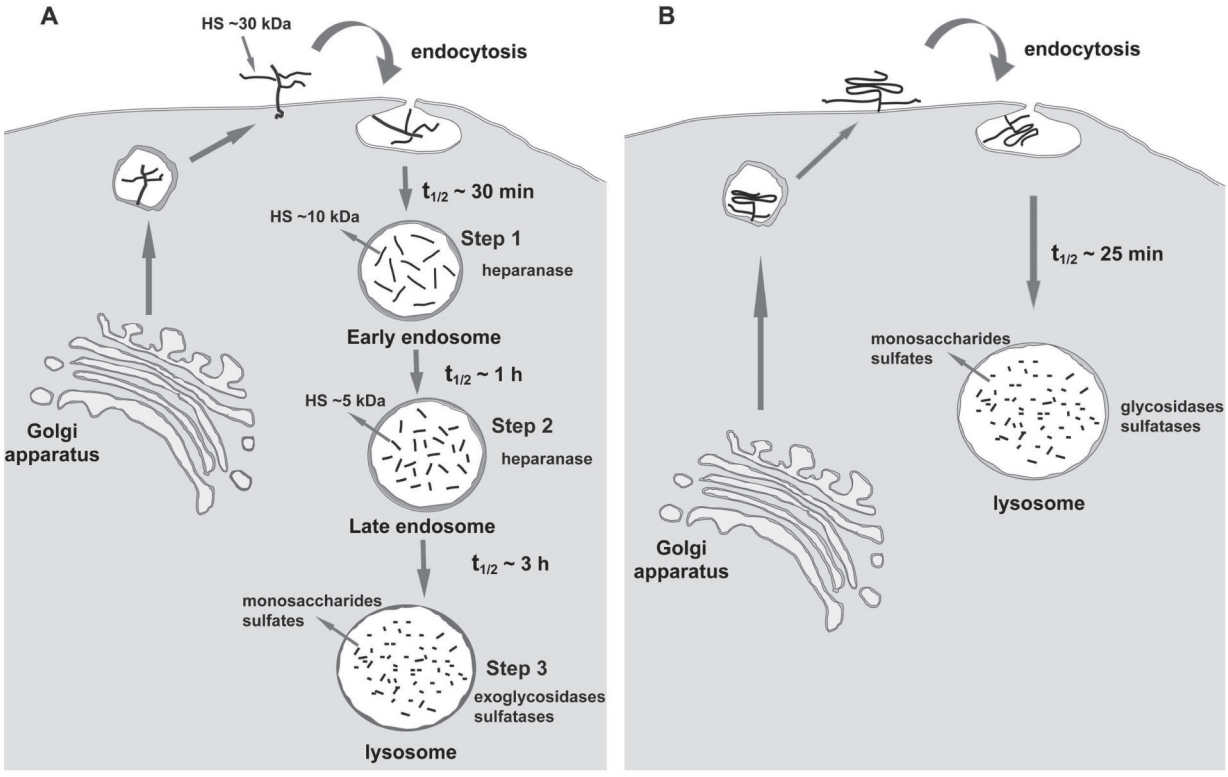
การสลายเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์บนผิวเซลล์เกิดขึ้นแบบสุ่มโดยเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ชนิดที่ยึดเกาะด้วยส่วนของโปรตีนแทรกผ่านเยื่อหุ้มเซลล์และชนิดที่ยึดเกาะด้วยไกลโคซิลฟอสฟาทิดิลอินโนซิทอลถูกนำกลับเข้าเซลล์ด้วยกระบวนการเอนโดไซโทซิส (endocytosis) เข้ามาอยู่ในเอนโดโซม (endosome) จากนั้นเอนไซม์โปรทีเอส (protease) ย่อยสายโปรตีนอย่างรวดเร็ว คงเหลือสายเฮพพาแรนซัลเฟตซึ่งจะถูกย่อยสลายต่อไปภายในเซลล์ จากการศึกษาเมตาโบลิซึมของเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ในเซลล์โอวาเรียนแกรนูโลซาของหนูแร็ทด้วยวิธีการติดสารรังสี [^{35}S] ที่หมู่ซัลเฟต พบว่ากลไกการย่อยสายเฮพพาแรนซัลเฟต มี 2 แบบ ตามชนิดของเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ที่อยู่บนผิวเซลล์ (รูปที่ 3) ดังนี้

2.2.1 การย่อยสายเฮพพาแรนซัลเฟตของเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ชนิดที่ยึดเกาะด้วยส่วนของโปรตีนแทรกผ่านเยื่อหุ้มเซลล์[16] เกิดขึ้นเป็นขั้นตอน (stepwise) ดังรูป 3A โดยขั้นแรกเอนไซม์เฮพพาราเนส (heparanase)[21] ซึ่งเป็นเอนไซม์ชนิดเอนโดไกลโคซิเดส (endoglycosidase) ย่อยสายเฮพพาแรนซัลเฟตขนาดประมาณ 30 กิโลดัลตัน ได้สายเฮพพาแรนซัลเฟตขนาดประมาณ 10 กิโลดัลตัน ในเออร์ลีเอนโดโซม (early endosome) คือเอนโดโซมที่มีสภาวะความเป็นกรด-ด่าง (pH) เป็นกลาง ขั้นที่สองเอนไซม์เฮพพาราเนสย่อยสายเฮพพาแรนซัลเฟตขนาดประมาณ 10 กิโลดัลตัน ได้เป็นสายเฮพพาแรนซัลเฟตขนาดประมาณ 5 กิโลดัลตัน ในเลตเอนโดโซม (late endosome) ซึ่งเป็นเออร์ลีเอนโดโซมที่มีการรวมตัวกับเวสซิเคิล (vesicle) ในเซลล์ ทำให้มีสภาวะ pH เป็นกรด และขั้นสุดท้ายเลตเอนโดโซมจะรวมตัวกับไลโซโซม (lysosome) เกิดการย่อยสายเฮพพาแรนซัลเฟตขนาดประมาณ 5 กิโลดัลตันด้วยเอนไซม์เอ็กโซไกลโคซิเดส (exoglycosidase) และซัลฟาเทส (sulfatase)ได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวและซัลเฟต

2.2.2 การย่อยสายเฮพพาแรนซัลเฟตของเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ชนิดที่ยึดเกาะด้วยไกลโคซิลฟอสฟาทิดิล-อินโนซิทอล[17] เกิดขึ้นอย่างรวดเร็วโดยเอนไซม์ไกลโคซิเดสและซัลฟาเทสในไลโซโซม ได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวและซัลเฟต (รูปที่ 3B)

2.3 โรคที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมตาโบลิซึมที่ผิดปกติของเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์

ถ้าพบว่ามีความผิดปกติในการรักษาสภาวะสมดุลของการสร้างและการสลายเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์จะส่งผลให้เกิดโรคต่างๆได้ซึ่งความรุนแรงของโรคจะมากหรือน้อยขึ้นกับยีน



รูปที่ 3 *กระบวนการสลายเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ที่อยู่บนผิวเซลล์ การสลายเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์เริ่มขึ้นเมื่อโมเลกุลถูกนำเข้าสู่เซลล์โดยกระบวนการเอนโดไซโทซิส จากนั้นโปรตีนจะถูกย่อยอย่างรวดเร็ว ส่วนการสลายสายเฮพพาแรนซัลเฟตขึ้นกับชนิดของเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์โดย (A) เฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ชนิดที่ยึดเกาะด้วยส่วนของโปรตีนแทรกผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ (transmembrane HSPG)[16] สายเฮพพาแรนซัลเฟตถูกย่อยเป็น 3 ขั้นตอน โดยขั้นแรกสายเฮพพาแรนซัลเฟตขนาดประมาณ 30 กิโลดัลตัน ถูกย่อยด้วยเอนไซม์เฮพพาราเนสได้สายเฮพพาแรนซัลเฟตขนาดประมาณ 10 กิโลดัลตัน ด้วยเวลาครึ่งชีวิติ ($t_{1/2}$) ประมาณ 30 นาที ในเออร์ลีเอนโดโซม (early endosome) ขั้นที่สอง สายเฮพพาแรนซัลเฟตถูกย่อยต่อไปด้วยเอนไซม์เฮพพาราเนสได้สายเฮพพาแรนซัลเฟตขนาด ประมาณ 5 กิโลดัลตัน ด้วยเวลาครึ่งชีวิตประมาณ 1 ชั่วโมงในเลตเอนโดโซม (late endosome) และขั้นสุดท้ายสายเฮพพาแรนซัลเฟตถูกย่อย จนได้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวและซัลเฟตโดยเอนไซม์เอ็กโซไกลโคซิเดสและซัลฟาเทส ด้วยเวลาครึ่งชีวิตประมาณ 3 ชั่วโมงในไลโซโซม (B) การสลายสายเฮพพาแรนซัลเฟตของเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ชนิดที่ยึดเกาะด้วยไกลโคซิลฟอสฟาทิดิลอินโนซิทอล[17] สายเฮพพาแรนซัลเฟตถูกย่อยเพียงขั้นตอนเดียวโดยเอนไซม์ไกลโคซิเดสและซัลฟาเทส ได้ผลิตภัณฑ์เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวและซัลเฟตในไลโซโซมด้วยเวลาครึ่งชีวิตประมาณ 25 นาที (ดัดแปลงจาก Yanagishita, 1984[16], 1992[17])*

Fig. 3 *Degradation of cell-suface HSPG. Protein core of HSPG is degraded quickly once its endocytosed into the cell. Degradation of HS chain depends on type of HSPG. (A) Transmembrane HSPG[16], HS chain is degraded by 3 steps; 1) 30 kDa HS chain is degraded to 10 kDa in early endosome by heparanase with 30 min half-life ($t_{1/2}$), 2) HS chain is further degraded to 5 kDa in late endosome by heparanase with $t_{1/2}$ ~1 hour and 3) HS chain is degraded to monosaccharide and sulfate by exoglycosidase and sulfatase, respectively in lysosome with $t_{1/2}$ ~3 hour. (B) GPI-anchored HSPG[17], HS chain is degraded in only one step to get monosaccharide and sulfate by glycosidases and sulfatases in lysosome with $t_{1/2}$ ~25 min. (Modified from Yanagishita 1984[16], 1992[17])*

(gene) ที่เกี่ยวข้อง ตัวอย่างของโรคคือ โรคฮีรีดิทารีมัลติเปิลเอ็กซอสโทซีสและโรคซิมป์ซันกอลาไบเบห์เมลซินโดรม

2.3.1 โรคพันธุกรรมฮีรีดิทารีมัลติเปิลเอ็กซอสโทซีส (โรคเอชเอ็มอี)

เป็นโรคพันธุกรรมที่เกิดจากความผิดปกติของยีนอีเอ็กซ์ที 1 และอีเอ็กซ์ที 2 ซึ่งมีลักษณะทางคลินิกประกอบด้วยเนื้องอกกระดูกชนิดไม่ร้าย (benign bone tumor) โดยมีลักษณะเป็นเนื้องอกของกระดูกอ่อน (cartilage-capped tumor) บนอีพิไฟเซียลโกรทเพลท (epiphyseal growht plate) ของกระดูกยาว (long bone) เรียกว่า ออสทีโอคอนโดรมา (osteochondroma) หรือเอ็กซ์ซอสโทเซส (exostoses) การพัฒนาการของโรคเอชเอ็มอี จะเริ่มตั้งแต่วัยเด็กอ่อนจนถึงวัยรุ่น การเจริญเติบโตของกระดูกที่ผิดปกติทำให้เกิดการกด

ทับของเส้นประสาทและเนื้อเยื่ออ่อนทำให้ผู้ป่วยมีอาการชา ปวด กระดูก เคลื่อนไหวข้อลำบากและหลอดเลือดอุดตัน[2] นอกจากนี้ยังพบความชุกในการพัฒนาไปเป็นมะเร็งกระดูกชนิดคอนโดรซาร์โคมา (chondrosarcoma) และออสทีโอซาร์โคมา (osteosarcoma) ได้มากกว่าคนที่ไม่ได้เป็นโรคถึงร้อยละ 0.3-5.0[22] เนื่องจากการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของกระดูกถูกควบคุมโดยกระบวนการควบคุมย้อนกลับของอินเดียนเฮดจ์ฮอก/พาราไทรอยด์ฮอร์โมน-รีเลตเต็ดเป็บไทด์ (Indian hedgehog (Inh)/parathyroid hormone (PTH)-related peptide (PTHrP) feedback loop) และกระบวนการส่งสัญญาณของไฟโบรบลาสโกรทแฟกเตอร์ หรือเอฟจีเอฟ (fibroblast growth factor; FGF) ซึ่งทั้งหมดนี้ต้องอาศัยเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ในการกระตุ้นกระบวนการดังกล่าว ดังนั้นความผิดปกติของยีนอีเอ็กซ์ที1 ก่อให้เกิดการสร้างเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ไม่สมบูรณ์มีผลทำให้กระบวนการไฮเปอร์โทรฟิกดิฟเฟอร์เรนทิเอชัน (hypertrophic differentiation) ของกระดูกช้ากว่าปกติและทำให้เกิดการเพิ่มของเซลล์สร้างกระดูกอ่อน (chondrocyte)[23] ส่วนความผิดปกติของยีนอีเอ็กซ์ที 2 เพียงอย่างเดียวไม่สามารถทำให้การสร้างสายเฮพพาแรนซัลเฟตผิดปกติ[24] แต่ถ้ามีความผิดปกติร่วมกันของยีนอีเอ็กซ์ที 1 และอีเอ็กซ์ที 2 สามารถทำให้เกิดโรคเอชเอ็มอีในมนุษย์ได้[2,22]

2.3.2 โรคพันธุกรรมซิมป์ซันกอลาไบเบห์เมลซินโดรม

เป็นโรคทางพันธุกรรมที่เกิดขึ้นบนโครโมโซมเอ็กซ์ (X-linked disorder) ตำแหน่งเอ็กซ์คิว 26 (Xq26)[25] ที่พบได้ไม่บ่อย ผู้ป่วยจะมีความผิดปกติของอวัยวะภายในและการเจริญเติบโตของกระดูก เช่น ลิ้นโต (macroglossia) เด็กมีขนาดโตกว่าปกติ (macrosomia) ความผิดปกติของหัวใจตั้งแต่กำเนิด รวมทั้งมีความผิดปกติของไตและรูปร่างของกระดูกโครงสร้าง เป็นต้น[1] นอกจากนี้ ผู้ป่วยมีความเสี่ยงสูงที่จะเป็นมะเร็งในระยะที่เป็นตัวอ่อน (embryonal cancer) สาเหตุของการเกิดโรคคือ การขาดหายไป (deletion) หรือการกลายพันธุ์เฉพาะตำแหน่ง (pointed mutation) ของยีนไกลพิแคน-3 ซึ่งเป็นยีนของการสร้างโปรตีนในโมเลกุลของไกลพิแคนทำให้โปรตีนที่สร้างได้ไม่สมบูรณ์ขาดตำแหน่งที่ให้สายเฮพพาแรนซัลเฟตมาเกาะมีผลทำให้โมเลกุลไกลพิแคนมีความสามารถในการจับกับโกรทแฟกเตอร์ เช่น อินซูลิน-ไลก์โกรทแฟกเตอร์ 2 (insulin like growth factor 2) ได้ลดลง[25]

3. หน้าที่ของเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ที่อยู่บนผิวเซลล์ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม

เฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ ที่อยู่บนผิวเซลล์สามารถจับกับสารที่อยู่ภายนอกเซลล์แล้วนำสารนั้นเข้าสู่เซลล์โดยผ่านกระบวนการเอนโดไซโทซิส นอกจากนี้ ยังจับกับโปรตีนที่เป็นตัวรับสัญญาณที่เยื่อหุ้มเซลล์เพื่อส่งสัญญาณและควบคุมการทำงานของโปรตีนหลายชนิด การส่งสัญญาณจะเป็นชนิดใดนั้นขึ้น อยู่กับชนิดของสารที่มันจับ อาจเป็นสารที่ละลายน้ำได้ เช่น โกรทแฟกเตอร์และไซโทไคน์ (cytokine) เป็นต้น หรือสารที่ละลายน้ำไม่ได้ เช่น เซลล์ เมทริกซ์นอกเซลล์และจุลินทรีย์ เป็นต้น นอกจากนี้เฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ยังสามารถจับกับสายเฮพพาแรนซัลเฟต หรือโปรตีนของตัวมันเองได้ด้วย การที่เฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์สามารถจับกับสารได้หลากหลาย ทำให้เฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์มีหน้าที่แตกต่างกันออกไป ดังนี้

3.1 การยึดเกาะและการเคลื่อนย้ายของเซลล์ (cell adhesion and cell migration)

ด้านนอกเซลล์ เฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์บนผิวเซลล์สามารถจับกับสารที่ละลายน้ำไม่ได้ ได้แก่ เซลล์ เมทริกซ์นอกเซลล์และจุลินทรีย์ ส่วนเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ด้านในเซลล์ จับกับโปรตีนแอคติน (actin) ทำให้สารนั้นถูกตรึงอยู่ในตำแหน่งที่เหมาะสมในการทำกิจกรรมต่าง ๆ ในเซลล์ นอกจากนี้สายเฮพพาแรนซัลเฟตสามารถจับกับอิมมูโนโกลบูลิน (immunoglobulin) เพลตเลต/เอนโดทีเลียลเซลล์แอดฮีซันโมเลกุล 1 (platelet/endothelial cell adhesion molecule-1, PECAM-I) และนิวรัลเซลล์แอดฮีซันโมเลกุล (neural cell adhesion molecule, NCAM) การจับกันนี้เป็นการเพิ่มความแข็งแรงให้กับการยึดเกาะกันระหว่างโมเลกุลภายในเซลล์ และเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์สามารถกระตุ้นการสร้างเส้นใยสเตรซ (stress fiber) และโฟคัลแอดฮีซันในเซลล์มีเซนไคมัล (mesenchymal cell) โดยการจับกับโปรตีนไฟโบรเนกติน (fibronectin)[26]

มีงานวิจัยพบว่าถ้าเพิ่มปริมาณเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ จะทำให้เฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์จับกับไวรัสเฮอร์ปีส์ซิมเพลกซ์ (herpes simplex virus)[4] และเอชไอวีไวรัส (HIV)[27] ได้เพิ่มมากขึ้น โดยการจับกันนี้เกิดที่บริเวณโปรตีนบนผิวเซลล์ของเชื้อไวรัส ทำให้เชื้อไวรัสสามารถเข้ามาอยู่ในเซลล์สิ่งมีชีวิตที่มันอาศัยอยู่ (host) ได้ง่ายขึ้น

เฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์มีหน้าที่ในการเคลื่อนย้ายของเซลล์โดยเฉพาะเซลล์มะเร็งจากตำแหน่งตั้งต้นไปตำแหน่งที่ไกลออกไปเรียกว่าเมแทสเตซิส (metastasis) เช่น ซินดีแคน-2 มีบทบาทสำคัญในการเคลื่อนย้ายของเซลล์เมลาโนมา (melanoma) โดยพบว่ามีการเพิ่มปริมาณซินดีแคน-2 ในเนื้อเยื่อมะเร็งเมลาโนมา (malignant melanoma) มากกว่าเนื้อเยื่อปกติ[28] เป็นต้น

3.2 การเป็นตัวรับสัญญาณร่วม (co-receptor) ของโกรทแฟกเตอร์ ไซโทไคน์และเคมโมไคน์

เมื่อเซลล์ต้องการเพิ่มจำนวน เปลี่ยนแปลงรูปร่างและ/หรือเคลื่อนที่ เซลล์จะเริ่มส่งสัญญาณภายในเซลล์ก่อน จากนั้นจะส่งสัญญาณไปสู่เซลล์ข้างเคียงและ/หรือเซลล์ที่เกี่ยวข้องที่ไกลออกไป โดยส่วนใหญ่เซลล์ทำงานผ่านโมเลกุลที่อยู่นอกเซลล์ในกลุ่มโกรทแฟกเตอร์ ไซโทไคน์และเคมโมไคน์ร่วมกับตัวรับสัญญาณบนผิวเซลล์

เอฟจีเอฟเป็นโปรตีนที่พบได้ในสัตว์ทุกชนิดและถูกหลั่งออกมานอกเซลล์ เพื่อกระตุ้นการเพิ่มจำนวนเซลล์ การเปลี่ยนแปลงรูปร่างและการเคลื่อนย้ายของเซลล์ การศึกษาทางชีวเคมีของ เอฟจีเอฟ-2 พบว่ามันสามารถจับกับเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ในตำแหน่งที่มีลำดับกรดอะมิโนที่จำเพาะ กลไกในการจับกันของเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์และเอฟจีเอฟ-2 เริ่มต้นจากเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์มีการรวมตัวกันบริเวณลิปิดราฟต์ (lipid raft) ของเยื่อหุ้มเซลล์ เพื่อเพิ่มปริมาณของเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์บนผิวเซลล์[15,29] ทำให้เพิ่มการจับกันของเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์และเอฟจีเอฟ-2 จากนั้นเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์จะนำเอฟจีเอฟ-2 ส่งให้ตัวรับสัญญาณของเอฟจีเอฟ-2 แล้วจึงเกิดกระตุ้นกระบวนการฟอสโฟริเลชัน (phosphorylation) ของตัวรับสัญญาณของเอฟจีเอฟ-2 ทำให้เกิดเป็นสัญญาณส่งต่อ ๆ ไปจนเซลล์มีการตอบสนองต่อสิ่งกระตุ้นที่ได้รับ การศึกษาลักษณะโครงสร้างผลึก (crystal structure) ของเอฟจีเอฟพบว่าเอฟจีเอฟที่สามารถส่งสัญญาณได้จะต้องอยู่ในรูปโมเลกุลคู่ (dimer) หรือหลายโมเลกุลจับกันอยู่ (oligomer) ซึ่งจะเกิดได้เมื่อโมเลกุลเดี่ยวของเอฟจีเอฟจับอยู่กับเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์[30]

ทรานส์ฟอร์มมิงโกรทแฟกเตอร์-เบต้า (transforming growth factor-β, TGF-β) เป็นโปรตีนในกลุ่มไซโทไคน์ที่มีความสำคัญในการเจริญเติบโต การเปลี่ยนแปลงรูปร่างและการยึดเกาะของเซลล์ การศึกษาพบว่าการจับของทีจีเอฟ-เบต้ากับเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์บนผิวเซลล์มีส่วนสำคัญในการรักษาสภาพการทำงานของทีจีเอฟ-เบต้า โดยป้องกันไม่ให้ทีจีเอฟ-เบต้าถูกย่อยสลาย[31]

เคมโมไคน์เป็นโปรตีนขนาดเล็กประมาณ 8-10 กิโลดัลตัน ที่มีหน้าที่ควบคุมการขนส่งและกระตุ้นเม็ดเลือดขาวชนิดลิวโคไซต์ (leukocyte) ตัวอย่างของเคมโมไคน์ ได้แก่ อินเตอร์ลิวคิน 8 (interleukin 8) และโมโนไซต์เคมโมแอตแทรกแตนต์โปรตีน 1 (monocyte chemoattractant protein I) เป็นต้น การจับกันของเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์บนผิวเซลล์กับเคมโมไคน์ ทำให้เคมโมไคน์รวมตัวกันเป็นโอลิโกเมอร์ซึ่งมีผลในการเพิ่มประสิทธิภาพในการทำงานของเคมโมไคน์ร่วมกับตัวรับสัญญาณของมันเอง[32]

3.3 การกำจัดโมเลกุลบางชนิดผ่านกระบวนการเอนโดไซโทซิส

เฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์บนผิวเซลล์มีบทบาทสำคัญในการรักษาสมดุลของการสร้างและการสลายของโมเลกุลต่าง ๆ ตัวอย่างเช่น การสลายตัวของเปปไทด์แฟกเตอร์ชื่อว่า แอคทิวิน (activin) ซึ่งเป็นตัวควบคุมการทำงานของฮอร์โมนทางเพศ โดยการสลายเกิดขึ้นเมื่อแอคทิวินรวมตัวกับเปปไทด์แฟกเตอร์อีกตัวชื่อว่าฟอลลิสแตติน (follistatin) กลายเป็นโมเลกุลเชิงซ้อนซึ่งสามารถจับกับเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์บนผิวเซลล์ แล้วเกิดกระบวนการเอนโดไซโทซิสผ่านเวซิเคิลที่หุ้มด้วยโปรตีนคลาทริน (clathrin-coated vesicle) สุดท้ายรวมตัวกับไลโซโซม ทำให้แอคทิวินถูกสลายไปในที่สุด[33] นอกจากนี้ การสลายตัวของเอฟจีเอฟ-2 เกิดได้โดยการจับกับเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์บนผิวเซลล์แล้วเกิดกระบวนการเอนโดไซโทซิสผ่านเวซิเคิลชนิดคาวีโอเล (caveolae) โดยไม่ผ่านการจับกับตัวรับสัญญาณของเอฟจีเอฟ-2[34] เป็นต้น

นอกจากนี้ เฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ยังมีบทบาทสำคัญในการป้องกันการเกิดโรคหลอดเลือดแดงแข็ง (atherosclerosis) กล่าวคือ เฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ควบคุมปริมาณของไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride) ในกระแสเลือดโดยสามารถจับกับไลโพโปรตีนที่มีปริมาณไตรกลีเซอไรด์มาก (triglyceride-rich lipoprotein) ที่อยู่ภายนอกเซลล์แล้วนำกลับเข้าสู่เซลล์เพื่อกำจัดในไลโซโซม ดังเช่นในเซลล์ตับของหนูไมซ์ที่มีความบกพร่องที่ยีนซินดีแคน-1 (*syn*-1) จะพบปริมาณวีแอลดีแอล (VLDL, very low density lipoprotein) ในกระแสเลือดมากกว่าเซลล์ตับของหนูไมซ์ที่ปกติ[35] เป็นต้น

3.4 กระบวนการป้องกันการแข็งตัวของเลือด

กระบวนการป้องกันการแข็งตัวของเลือดเป็นกระบวนการสำคัญในการควบคุมการแพร่ของสารอาหารและการกำจัดของเสียผ่านทางกระแสเลือด เฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์บนผิวเซลล์ทั้งในเนื้อเยื่อปกติและเนื้อเยื่อมะเร็งมีส่วนเกี่ยวข้องโดยตรงกับกระบวนการนี้ โดยเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ สามารถจับกับโกรทแฟกเตอร์ เช่น วาสคูลาร์เอนโดทีเลียลโกรทแฟกเตอร์ (vascular endothelial growth factor) และเอฟจีเอฟ เป็นต้น ผ่านทางตัวรับสัญญาณซึ่งกระตุ้นให้เกิดการสร้างหลอดเลือดใหม่ และเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ยังเป็นแหล่งสะสมของแองจิโอจีนิกแฟกเตอร์ (angiogenic factor) ต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการ

ป้องกันการแข็งตัวของเลือด นอกจากนี้ เฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์บนผิวเซลล์ยังสามารถจับกับเอนไซม์เมทริกซ์เมทัลโลโปรทีเนส 7 (matrix metalloproteinase 7 ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ย่อยโปรตีนในเมทริกซ์นอกเซลล์ และมีบทบาทสำคัญในการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง) ก่อให้เกิดการเคลื่อนย้ายของเอนโดทีเลียลเซลล์ในกระบวนการสร้างหลอดเลือดใหม่อีกด้วย[36]

4. บทบาทของเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์บนเยื่อหุ้มเซลล์ในเนื้อเยื่อช่องปาก

บทบาทของเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์บนเยื่อหุ้มเซลล์ในเนื้อเยื่อช่องปากจะคล้ายคลึงกับเนื้อเยื่ออื่นๆ ในร่างกาย ได้แก่ กระบวนการเจริญเติบโต การเคลื่อนย้ายของเซลล์ การเกิดโรคในช่องปากและกระบวนการหายของแผล แต่การศึกษาในเนื้อเยื่อช่องปากนั้นมีอยู่ไม่มากนัก ดังตัวอย่างต่อไปนี้

เอฟจีเอฟ-2 สามารถกระตุ้นการสร้างใหม่ (regeneration) ของเนื้อเยื่อปริทันต์ที่ถูกทำลายในโรคปริทันต์[37] Shimabukuro และคณะได้ทำงานวิจัยโดยกระตุ้นเซลล์พีดีแอล (PDL, periodontal ligament) ของมนุษย์ด้วยเอฟจีเอฟ-2 เป็นเวลา 72 ชั่วโมง[38] พบว่ามีซินดีแคน-4 อยู่ในอาหารเลี้ยงเซลล์ (conditioned medium) มากกว่าเซลล์ที่ไม่ได้รับการกระตุ้นและปริมาณของซินดีแคน-4 บนผิวเซลล์ลดลงเมื่อเซลล์ได้รับการกระตุ้นด้วยเอฟจีเอฟ-2 จากผลดังกล่าวทำให้สันนิษฐานได้ว่าเซลล์มีการสร้างเอฟจีเอฟ-2 เพิ่มมากขึ้นในกระบวนการหายของแผลและกระบวนการเสริมสร้างเนื้อเยื่อทดแทน (tissue regeneration process) นอกจากนั้น ซินดีแคน-4 มีส่วนเกี่ยวข้องเป็นตัวรับสัญญาณร่วม (co-receptor) โดยซินดีแคน-4[1] จะถูกกระตุ้นให้หลุดจากเยื่อหุ้มเซลล์และจะจับกับเอฟจีเอฟ-2 จากนั้นจะพาเอฟจีเอฟ-2 ไปจับกับตัวรับสัญญาณบนผิวเซลล์ เพื่อกระตุ้นให้เกิดการสร้างเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน

เฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ยังมีบทบาทในกระบวนการสร้างเคลือบฟัน (amelogenesis) โดยทั่วไปที่เบสเมนต์เมมเบรน (basement membrane) จะพบปริมาณคอลลาเจนชนิดที่ 4 (collagen type IV) เป็นร่างแห และพบลามินิน (laminin) และเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์เกาะอยู่ที่ร่างแหคอลลาเจน แต่มีการศึกษาโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนและอิมมูโนฮิสโตเคมมิสทรี (immunohistochemistry) ต่อคอลลาเจนชนิดที่ 4 ลามินิน และเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ในฟันหน้าของหนูแร็ท พบปริมาณของเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์มากและเรียงตัวเป็นเส้นใยสานกันเป็นร่างแหแทนที่จะเป็นคอลลาเจนชนิดที่ 4 ในโครงสร้างคล้ายเบสเมนต์เมมเบรน (basement membrane-like)[39] ซึ่งเป็นส่วนที่อยู่ระหว่างชั้นของเคลือบฟัน (enamel) และเซลล์สร้างเคลือบฟัน (ameloblast) จากผลการศึกษาดังกล่าว แสดงว่าเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์อาจจะเป็นตัวกลางที่จะช่วยให้เซลล์สร้างเคลือบฟันยึดกับชั้นเคลือบฟัน ทำให้เกิดการแลกเปลี่ยนสารอาหารที่จำเป็นต่อการตกผลึกแร่ธาตุของเคลือบฟัน[39]

ซินดีแคน-1 ซินดีแคน-4 และไกลพิแคนมีการแสดงออกของยีนในเซลล์ลิมโฟไซต์ (lymphocyte) ในโรคเหงือกอักเสบและโรคปริทันต์เรื้อรัง (chronic periodontitis) แตกต่างกัน ซึ่งการแสดงออกนั้นมีบทบาทในการเคลื่อนย้ายและการกระตุ้นการทำงาน(activation) ของเซลล์[40] ดังแสดงโดยผลของอิมมูโนฮิสโตเคมมิสทรีและเอฟเอซีเอส (FACS, fluorescent-activated cell sorting analysis) ของเซลล์ลิมโฟไซต์บริเวณเนื้อเยื่อเหงือกและปริทันต์ในโรคเหงือกอักเสบและโรคปริทันต์เรื้อรัง พบการแสดงออกของซินดีแคน-1 ในเซลล์บี-เซลล์/พลาสมาเซลล์ (B-cells/plasma cells) ซึ่งการแสดงออกของยีนซินดีแคน-1 จะลดลงในโรคปริทันต์เรื้อรัง การแสดงออกของซินดีแคน-4 พบในเซลล์บี-เซลล์/พลาสมาเซลล์ และที-เซลล์ (T-cells) ทั้งในเนื้อเยื่อเหงือกอักเสบและโรคปริทันต์เรื้อรัง ส่วนการแสดงออกของไกลพิแคนพบในเซลล์แมกโคแฟจ (macrophage) ในเนื้อเยื่อผู้ป่วยโรคเหงือกอักเสบและโรคปริทันต์[40] จากผลการวิจัยนี้พบว่าการแสดงออกของเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์มีความแตกต่างกันในเซลล์ลิมโฟไซต์ที่ต่างชนิดกัน[40]และมีส่วนเกี่ยวข้องกับการอักเสบของเนื้อเยื่อปริทันต์ทั้งในโรคเหงือกอักเสบและโรคปริทันต์

5. การประยุกต์ใช้ในอนาคต

ความรู้ที่ได้จากการศึกษาโครงสร้าง การสังเคราะห์และการสลาย หน้าที่และบทบาทของเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการเพิ่มพูนองค์ความรู้พื้นฐาน ตลอดจนสามารถนำไปพัฒนายาที่ใช้ในการรักษาโรคต่าง ๆ ดังตัวอย่างต่อไปนี้

เนื่องจากเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์มีบทบาทในโรคหลายชนิดโดยเฉพาะโรคมะเร็ง ทำให้ปัจจุบันได้นำเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์มาใช้เป็นตัวบ่งชี้ในการตรวจพิเคราะห์โรคว่าเกิดโรคหรือไม่ ดังนั้นในการตรวจหาปริมาณของเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ทั้งในเรื่องของความไวของการตรวจ (sensitive) และความจำเพาะเจาะจงจึงมีความสำคัญมาก มีงานวิจัยพบว่าแอนติบอดีต่อ 3-โอ-ซัลเฟต ในสายเฮพพาแรนซัลเฟตสามารถยับยั้งการทำงานของเฮพพาริน (heparin) โดยแอนติบอดีจับกับส่วนแอนตีทรอมบิน 3 (antithrombin III domain) บนเฮพพาริน ทำให้เฮพพารินไม่สามารถยับยั้งให้เลือดแข็งตัว[41] ซึ่งมีผลใกล้เคียงกับสารโปรตามีน (protamine) ที่ใช้เป็นยาต้านฤทธิ์ของเฮพพาริน (heparin antidote) ในงานวิจัยนี้ได้แสดงความพยายามในการผลิต

แอนติบอดีต่อเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ซึ่งมีความหลากหลายในโครงสร้างค่อนข้างสูง เช่น เมื่อจำนวนของซัลเฟตต่างกัน ตำแหน่งที่เกิดการเติมหมู่ซัลเฟตต่างกัน ความยาวของสายเฮพพาแรนซัลเฟตต่างกัน จำนวนสายเฮพพาแรนซัลเฟตที่ต่อกับโปรตีนต่างกันเป็นต้นล้วนทำให้คุณสมบัติและตำแหน่งที่พบในแต่ละเซลล์ต่างกันไปด้วย ดังนั้น การพัฒนาแอนติบอดีจึงเป็นสิ่งที่ท้าทายและผลที่ได้ก็น่าเชื่อถือ และมีความไวในการตรวจสอบสูง นั่นคือสามารถตรวจพบได้ แม้จะมีปริมาณอยู่น้อยมาก

ปัจจุบันเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ถูกพัฒนาเพื่อเป็นตัวบ่งชี้ที่จำเพาะเจาะจง (specific marker) โดยมากใช้แอนติบอดีต่อเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ในการติดตามพัฒนาการหรือใช้ในการวินิจฉัยโรคมะเร็ง[42] เช่น ไกลพิแคน-3 สามารถนำไปประยุกต์ใช้เป็นตัวบ่งชี้สำหรับโรคมะเร็งในตับ (hepatocellular carcinoma) โดยพบปริมาณของไกลพิแคนสูงในซีรั่ม[43]และเนื้อเยื่อ[44]ของผู้ป่วยโรคมะเร็งในตับแต่ไม่พบไกลพิแคนในผู้ป่วยที่เป็นเนื้องอกที่ตับ (liver neoplasm) และคนปกติ นอกจากนั้นในคนไข้ที่เป็นมะเร็งปอด (lung carcinoma) ยังตรวจพบปริมาณไกลพิแคนทั้งระดับโปรตีนและเอ็มอาร์เอ็นเอสูงกว่าคนปกติ[45] เป็นต้น

ซินดีแคน-1 สามารถพัฒนาเป็นตัวบ่งชี้สำหรับเซลล์ที่มีการเปลี่ยนเป็นเซลล์มะเร็ง (malignant transformation) ที่เนื้อเยื่อริมฝีปากได้ โดยพบว่าปริมาณซินดีแคน-1 จะลดลงอย่างต่อเนื่องเมื่อกระบวนการเกิดมะเร็งที่ริมฝีปากมีพัฒนาการของโรครุนแรงมากขึ้น กล่าวคือ ในเนื้อเยื่อของริมฝีปากของคนปกติพบปริมาณซินดีแคน-1 มากกว่าคนที่เป็นแอคทินิกไคไลติส (actinic chilitis) และมากกว่าคนที่เป็นมะเร็งชนิดสแควร์มัสเซลล์คาร์ซิโนมา (squarmous cell carcinoma)[46]

นอกจากนี้ เฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ยังถูกพัฒนาเป็นสารต้านเชื้อไวรัสเอชไอวี-1(HIV-1) โดยการสร้างโปรตีนจากการรวม (fusion protein) โปรตีนส่วนที่อยู่ภายในเซลล์ของซินดีแคน-1และส่วนเอฟซี (Fc fragment) ของอิมมูโนโกลบูลินจี (IgG) ของมนุษย์ ซึ่งได้เป็นโปรตีนที่ละลายน้ำได้ และทำการทดสอบกับเซลล์ที่ได้รับการติดเชื้อเอชไอวี-1 ในหลอดทดลอง[47] พบว่าโปรตีนซินดีแคน-1-เอฟซี (syndecan-1-Fc fusion protein) สามารถ i) ยับยั้งการติดเชื้อไวรัสเอชไอวี-1 ในทีเซลล์ แมกโครแฟจ เดนไดร์ติกเซลล์ ii) ยับยั้งการติดเชื้อได้หลายชนิด ได้แก่ เชื้อเอชไอวี-2 เชื้อเอสไอวี (SIV, Simian immunodefficiency virus) เป็นเชื้อที่พบในลิง ที่เชื่อว่าเมื่อเชื้อถ่ายทอดจากลิงมาสู่คนจะทำให้เชื้อพัฒนาพันธุ์เป็นเอชไอวี-1 และ-2[48] และเชื้อเฮอร์ปีส์ซิมเพล็ก (Herpes Simplex virus) และ iii) ออกฤทธิ์ในการยับยั้งการติดเชื้อได้นาน แม้ใส่โปรตีนก่อนใส่เชื้อเอชไอวี-1 ลงในเซลล์ถึง 2 ชั่วโมง และสามารถออกฤทธิ์ได้ดีในสภาวะกรด-ด่างเป็นกลาง แต่ก็ยังออกฤทธิ์ได้ดีในสภาวะเป็นกรด (pH 4) และด่าง (pH 8) อย่างไรก็ดี การใช้โปรตีนซินดีแคน-1-เอฟซียังมีข้อไม่พึงประสงค์ เช่น ถ้าเพิ่มความเข้มข้นอาจจะเกิดเป็นตะกอนได้ ซึ่งทำให้เกิดความไม่สบายได้ในมนุษย์และสัตว์ทดลอง และต้องใช้โปรตีนก่อนการติดเชื้อเท่านั้น เพราะโปรตีนจะไม่ออกฤทธิ์หลังจากติดเชื้อไปแล้ว 1 ชั่วโมง เป็นต้น

จากตัวอย่างที่ยกมา จะเห็นได้ว่าการประยุกต์ใช้เฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ มีความเป็นไปได้สูงที่จะนำมาใช้ในอนาคต แต่ยังคงต้องอาศัยการศึกษาวิจัยอีกมากเพื่อนำมาใช้ได้จริงในมนุษย์

บทสรุป

เฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์เป็นโมเลกุลที่มีอยู่ทั่วไปในเซลล์ทุกชนิดของสิ่งมีชีวิตที่มีและไม่มีกระดูกสันหลัง ประกอบด้วยโปรตีน สายโอลิโกแซคคาไรด์และสายโพลีแซคคาไรด์ที่เรียกว่า ไกลโคซามิโนไกลแคนชนิดเฮพพาแรนซัลเฟต เกิดจากการต่อสายซ้ำกันของน้ำตาลโมเลกุลคู่ คือ น้ำตาลกรดกลูคูโรนิกและเอ็น-แอซิทิลกลูโคซามีน โดยทั่วไปเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์กระจายอยู่ที่เยื่อหุ้มเซลล์และบริเวณนอกเซลล์ซึ่งเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์บนผิวเซลล์แบ่งออกเป็น 2 ชนิด ได้แก่ เฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ชนิดที่ยึดเกาะด้วยส่วนของโปรตีนผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ เฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ชนิดที่ยึดเกาะด้วยส่วนของโปรตีนแทรกผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ (เช่น กลุ่มของซินดีแคน)และชนิดที่ยึดเกาะด้วยไกลโคซิลฟอสฟาทิดิลอินโนซิทอล (เช่น กลุ่มของไกลพิแคน)

การสังเคราะห์เฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์มีลำดับขั้นตอนดังนี้ 1) การสังเคราะห์โปรตีน 2) การเริ่มต้นการสร้างสายเฮพพาแรนซัลเฟต 3) การสังเคราะห์สายเฮพพาแรนซัลเฟตให้มีความยาวเพิ่มขึ้น 4) กระบวนการปรับแต่งภายในสายเฮพพาแรนซัลเฟต ซึ่งขั้นตอนการสังเคราะห์ดังกล่าวเกิดขึ้นที่นิวเคลียส อาร์อีอาร์ และกอลจิแอพพาราตัส ตามลำดับ จากนั้นเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์จะถูกขนส่งไปยังเยื่อหุ้มเซลล์

กระบวนการสลายเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์บนผิวเซลล์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เริ่มจากเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ ถูกนำเข้าเซลล์โดยกระบวนการเอนโดไซโทซิส เข้ามาอยู่ในเออร์รีเอนโดโซม โปรตีนจะถูกย่อยอย่างรวดเร็วด้วยเอนไซม์โปรทีเอส จากนั้นสายเฮพพาแรนซัลเฟตจะถูกย่อยสลาย

ตามชนิดของเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ กล่าวคือในกรณีของเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ชนิดที่ยึดเกาะด้วยส่วนของโปรตีนแทรกผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ จะมีการย่อยสลายของสายเฮพพาแรนซัลเฟตเป็นลำดับขั้นดังนี้ ในเออร์รีเอนโดโซมสายเฮพพาแรนซัลเฟตจะถูกย่อยด้วยเอนไซม์เฮพพาราเนสในสภาวะเป็นกลาง ได้สารตัวกลางเป็นสายเฮพพาแรนซัลเฟตขนาดประมาณ 10 กิโลดัลตัน ซึ่งจะถูกย่อยต่อไปในเลตเอนโดโซมในสภาวะเป็นกรดด้วยเอนไซม์เฮพพาราเนสได้ผลิตภัณฑ์เป็นสายเฮพพาแรนซัลเฟตขนาดประมาณ 5 กิโลดัลตัน และสุดท้ายจะถูกย่อยต่อด้วยเอนไซม์เอ็กโซไกลโคซิเดสและซัลฟาเทส ได้น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวและซัลเฟตในไลโซโซม ส่วนเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ชนิดที่ยึดเกาะด้วยไกลโคซิลฟอสฟาทิดิลอินโนซิทอล สายเฮพพาแรนซัลเฟตจะถูกย่อยในไลโซโซมด้วยเอนไซม์ไกลโคซิเดสและซัลฟาเทสได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวและซัลเฟต

บทบาทและหน้าที่ของเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ในเนื้อเยื่อต่าง ๆ มีความเกี่ยวข้องกับกระบวนการทางชีวภาพที่สำคัญมากมาย เช่น การจับกันระหว่างเซลล์ด้วยกันเองและการจับกันระหว่างเซลล์กับเมทริกซ์ การเพิ่มจำนวนเซลล์ การเจริญเติบโตของเซลล์ การเคลื่อนย้ายของเซลล์ กระบวนการติดเชื้อไวรัส กระบวนการเกิดพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อต่าง ๆ และกระบวนการหายของแผล เป็นต้น

ความรู้ที่ได้จากการศึกษาโครงสร้าง การสังเคราะห์และการสลาย หน้าที่และบทบาทของ เฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการเพิ่มพูนองค์ความรู้พื้นฐานเพื่อความเข้าใจในกระบวนการทางชีวภาพต่าง ๆ ในสิ่งมีชีวิต ตลอดจนสามารถนำไปพัฒนายาที่ใช้ในการรักษาโรคต่าง ๆ เช่น ยายับยั้งเซลล์มะเร็ง และยาต้านเชื้อไวรัส เป็นต้น รวมถึงการปรับปรุงวิธีการรักษา เช่น เฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์อาจเป็นโมเลกุลที่เหมาะสมในการติดตามผลการรักษา เป็นต้น นอกจากนั้นเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ยังสามารถพัฒนาเพื่อเป็นตัวบ่งชี้ที่จำเพาะในการบอกพัฒนาการของโรคหรือใช้ในการวินิจฉัยโรค ผลงานวิจัยและองค์ความรู้ใหม่ของเฮพพาแรนซัลเฟตโปรทีโอไกลแคนส์ยังเป็นที่ต้องการ เพื่อพัฒนาคุณภาพชีวิตของสิ่งมีชีวิตให้ดียิ่ง ๆ ขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.เอมอร เบญจวงศ์กุลชัย และอาจารย์ ทันตแพทย์หญิง ดร.สุภาพร สุทธมนัสวงศ์ คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย สำหรับการตรวจทานและคำแนะนำที่ทำให้งานนี้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

เอกสารอ้างอิง

1. Bernfield M, Gotte M, Park PW, Reizes O, Fitzgerald ML, Lincecum J, et al. Functions of cell surface heparan sulfate proteoglycans. ***Annu Rev Biochem*** 1999;68:729-77.
2. Nadanaka S, Kitagawa H. Heparan sulphate biosynthesis and disease. ***J Biochem*** 2008;144:7-14.
3. DeBaun MR, Ess J, Saunders S. Simpson Golabi Behmel syndrome: progress toward understanding the molecular basis for overgrowth, malformation, and cancer predisposition. ***Mol Genet Metab*** 2001;72:279-86.
4. Akhtar J, Shukla D. Viral entry mechanisms: cellular and viral mediators of herpes simplex virus entry. ***FEBS J*** 2009;276:7228-36.
5. Esko JD, Selleck SB. Order out of chaos: assembly of ligand binding sites in heparan sulfate. ***Annu Rev Biochem*** 2002;71:435-71.
6. Xian X, Gopal S, Couchman JR. Syndecans as receptors and organizers of the extracellular matrix. ***Cell Tissue Res*** 2010;339:31-46.
7. Esko JD, Zhang L. Influence of core protein sequence on glycosaminoglycan assembly. ***Curr Opin Struct Biol*** 1996;6:663-70.
8. Wang H, Leavitt L, Ramaswamy R, Rapraeger AC. Interaction of syndecan and alpha6beta4 integrin cytoplasmic domains: regulation of ErbB2-mediated integrin activation. ***J Biol Chem*** 2010;285:13569-79.
9. Dews IC, Mackenzie KR. Transmembrane domains of the syndecan family of growth factor coreceptors display a hierarchy of homotypic and heterotypic interactions. ***Proc Natl Acad Sci U S A*** 2007;104:20782-7.
10. Woods A, Couchman JR. Syndecan-4 and focal adhesion function. ***Curr Opin Cell Biol*** 2001;13:578-83.

11. Granes F, Berndt C, Roy C, Mangeat P, Reina M, Vilaro S. Identification of a novel Ezrin-binding site in syndecan-2 cytoplasmic domain. ***FEBS Lett*** 2003;547:212-6.
12. Oh ES, Woods A, Lim ST, Theibert AW, Couchman JR. Syndecan-4 proteoglycan cytoplasmic domain and phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate coordinately regulate protein kinase C activity. ***J Biol Chem*** 1998;273:10624-9.
13. Filmus J, Capurro M, Rast J. Glypicans. ***Genome Biol*** 2008;9:224.
14. Fransson LA. Glypicans. ***Int J Biochem Cell Biol*** 2003;35: 125-9.
15. Mayor S, Riezman H. Sorting GPI-anchored proteins. ***Nat Rev Mol Cell Biol*** 2004;5:110-20.
16. Yanagishita M, Hascall VC. Metabolism of proteoglycans in rat ovarian granulosa cell culture. Multiple intracellular degradative pathways and the effect of chloroquine. ***J Biol Chem*** 1984; 259:10270-83.
17. Yanagishita M. Glycosylphosphatidylinositol-anchored and core protein-intercalated heparan sulfate proteoglycans in rat ovarian granulosa cells have distinct secretory, endocytotic, and intracellular degradative pathways. ***J Biol Chem*** 1992; 267:9505-11.
18. Morris JE, Potter SW, Gaza-Bulseco G. Estradiol-stimulated turnover of heparan sulfate proteoglycan in mouse uterine epithelium. ***J Biol Chem*** 1988;263:4712-8.
19. Bai X, Bame KJ, Habuchi H, Kimata K, Esko JD. Turnover of heparan sulfate depends on 2-O-sulfation of uronic acids. ***J Biol Chem*** 1997;272:23172-9.
20. Esko JD, Lindahl U. Molecular diversity of heparan sulfate. ***J Clin Invest*** 2001;108:169-73.
21. Podyma-Inoue KA, Yokote H, Sakaguchi K, Ikuta M, Yanagishita M. Characterization of heparanase from a rat parathyroid cell line. ***J Biol Chem*** 2002;277:32459-65.
22. Duncan G, McCormick C, Tufaro F. The link between heparan sulfate and hereditary bone disease: finding a function for the EXT family of putative tumor suppressor proteins. ***J Clin Invest*** 2001;108:511-6.
23. Koziel L, Kunath M, Kelly OG, Vortkamp A. Ext1-dependent heparan sulfate regulates the range of Ihh signaling during endochondral ossification. ***Dev Cell*** 2004;6:801-13.
24. Busse M, Feta A, Presto J, Wilen M, Gronning M, Kjellen L, et al. Contribution of EXT1, EXT2, and EXTL3 to heparan sulfate chain elongation. ***J Biol Chem*** 2007;282:32802-10.
25. Veugelers M, Cat BD, Muyldermans SY, Reekmans G, Delande N, Frints S, et al. Mutational analysis of the GPC3/GPC4 glypican gene cluster on Xq26 in patients with Simpson-Golabi-Behmel syndrome: identification of loss-of-function mutations in the GPC3 gene. ***Hum Mol Genet*** 2000;9:1321-8.
26. Woods A, Oh ES, Couchman JR. Syndecan proteoglycans and cell adhesion. ***Matrix Biol*** 1998;17:477-83.
27. Vidricaire G, Gauthier S, Tremblay MJ. HIV-1 infection of trophoblasts is independent of gp120/CD4 Interactions but relies on heparan sulfate proteoglycans. ***J Infect Dis*** 2007;195:1461-71.
28. Lee JH, Park H, Chung H, Choi S, Kim Y, Yoo H, et al. Syndecan-2 regulates the migratory potential of melanoma cells. ***J Biol Chem*** 2009;284:27167-75.
29. Chu CL, Buczek-Thomas JA, Nugent MA. Heparan sulphate proteoglycans modulate fibroblast growth factor-2 binding through a lipid raft-mediated mechanism. ***Biochem J*** 2004;379:331-41.
30. DiGabriele AD, Lax I, Chen DI, Svahn CM, Jaye M, Schlessinger J, et al. Structure of a heparin-linked biologically active dimer of fibroblast growth factor. ***Nature*** 1998;393:812-7.
31. Lyon M, Rushton G, Gallagher JT. The interaction of the transforming growth factor-betas with heparin/heparan sulfate is isoform-specific. ***J Biol Chem*** 1997;272:18000-6.
32. Hoogewerf AJ, Kuschert GS, Proudfoot AE, Borlat F, Clark-Lewis I, Power CA, et al. Glycosaminoglycans mediate cell surface oligomerization of chemokines. ***Biochemistry*** 1997;36:13570-8.
33. Hashimoto O, Nakamura T, Shoji H, Shimasaki S, Hayashi Y, Sugino H. A novel role of follistatin, an activin-binding protein, in the inhibition of activin action in rat pituitary cells. Endocytotic degradation of activin and its acceleration by follistatin associated with cell-surface heparan sulfate. ***J Biol Chem*** 1997;272:13835-42.
34. Gleizes PE, Noaillac-Depeyre J, Dupont MA, Gas N. Basic fibroblast growth factor (FGF-2) is addressed to caveolae after binding to the plasma membrane of BHK cells. ***Eur J Cell Biol*** 1996;71:144-53.

35. Stanford KI, Bishop JR, Foley EM, Gonzales JC, Niesman IR, Witztum JL, et al. Syndecan-1 is the primary heparan sulfate proteoglycan mediating hepatic clearance of triglyceride-rich lipoproteins in mice. ***J Clin Invest*** 2009;119:3236-45.
36. Yu WH, Woessner JF Jr. Heparan sulfate proteoglycans as extracellular docking molecules for matrilysin (matrix metalloproteinase 7). ***J Biol Chem*** 2000;275:4183-91.
37. Takayama S, Murakami S, Shimabukuro Y, Kitamura M, Okada H. Periodontal regeneration by FGF-2 (bFGF) in primate models. ***J Dent Res*** 2001;80:2075-9.
38. Shimabukuro Y, Ichikawa T, Terashima Y, Iwayama T, Oohara H, Kajikawa T, et al. Basic fibroblast growth factor regulates expression of heparan sulfate in human periodontal ligament cells. ***Matrix Biol*** 2008;27:232-41.
39. Al Kawas S, Warshawsky H. Ultrastructure and composition of basement membrane separating mature ameloblasts from enamel. ***Arch Oral Biol*** 2008;53:310-7.
40. Manakil JF, Sugerman PB, Li H, Seymour GJ, Bartold PM. Cell-surface proteoglycan expression by lymphocytes from peripheral blood and gingiva in health and periodontal disease. ***J Dent Res*** 2001;80:1704-10.
41. Ten Dam GB, Kurup S, van de Westerlo EM, Versteeg EM, Lindahl U, Spillmann D, et al. 3-O-sulfated oligosaccharide structures are recognized by anti-heparan sulfate antibody HS4C3. ***J Biol Chem*** 2006;281:4654-62.
42. Kandil DH, Cooper K. Glypican-3: a novel diagnostic marker for hepatocellular carcinoma and more. ***Adv Anat Pathol*** 2009;16:125-9.
43. Capurro M, Filmus J. Glypican-3 as a serum marker for hepatocellular carcinoma. ***Cancer Res*** 2005;65:372; author reply 372-3.
44. Wang XY, Degos F, Dubois S, Tessiore S, Allegretta M, Guttmann RD, et al. Glypican-3 expression in hepatocellular tumors: diagnostic value for preneoplastic lesions and hepatocellular carcinomas. ***Hum Pathol*** 2006;37:1435-41.
45. Aviel-Ronen S, Lau SK, Pintilie M, Lau D, Liu N, Tsao MS, et al. Glypican-3 is overexpressed in lung squamous cell carcinoma, but not in adenocarcinoma. ***Mod Pathol*** 2008;21:817-25.
46. Martinez A, Spencer ML, Brethauer U, Grez P, Marchesani FJ, Rojas IG. Reduction of syndecan-1 expression during lip carcinogenesis. ***J Oral Pathol Med*** 2009;38:580-3.
47. Bobardt MD, Chatterji U, Schaffer L, de Witte L, Gallay PA. Syndecan-Fc hybrid molecule as a potent in vitro microbicidal anti-HIV-1 agent. ***Antimicrob Agents Chemother*** 2010;54:2753-66.
48. Williams KC, Burdo TH. HIV and SIV infection: the role of cellular restriction and immune responses in viral replication and pathogenesis. ***APMIS*** 2009;117:400-12.
49. Belting M. Heparan sulfate proteoglycan as a plasma membrane carrier. ***Trends Biochem Sci*** 2003;28:145-51.

Review Article

Cell-Surface Heparan Sulfate Proteoglycans in Mammals

Kasekarn Kasevayuth
Lecturer
Department of Biochemistry
Faculty of Dentistry,
Chulalongkorn University
Henry Dunant Rd., Pathumwan,
Bangkok 10330
Tel.: 02-2188672
Fax: 02-2188670
E-mail: kasekarn.k@chula.ac.th

Abstract

Heparan sulfate proteoglycans (HSPGs) are common proteoglycans synthesized by virtually all cells in invertebrates and vertebrates. HSPGs play important roles in various cell activities such as cell-cell and cell-matrix interaction, cell proliferation, cell migration, and pathological processes. There are extensive studies on HSPGs in various aspects such as structure, metabolism and biological functions. HSPGs are classified into two major types; extracellular matrix HSPGs (perlecan, agrin, etc.) and cell-surface HSPGs (syndecan and glypican, etc.). This article focuses on the cell-surface HSPGs only. Cell-surface HSPGs can be classified by the type of linkages of their protein core to cellular membrane. There are two types of cell-surface HSPGs; transmembrane HSPGs and glycosylphosphatidylinositol-anchored HSPGs. They are differences in their biosynthesis, degradation, and biological function. Study of cell-surface HSPGs can be useful to develop treatment of diseases as well as specific markers for differential diagnosis and monitoring tools for many diseases.

Key words: glypican; heparan sulfate proteoglycans; proteoglycans; syndecan