

심바스타틴과 아토바스타틴이 치료적인 농도에서 TPC-1 세포의 NIS 발현에 미치는 영향

김태균¹ · 정혜숙² · 윤창신² · 고정해¹ · 전해정¹ · 권민정¹ · 이순희¹ · 김미경^{2,3} · 박정현^{1,2}

인제대학교 의과대학 부산백병원 내분비대사내과¹, 백인제 임상의학 연구소², 메리놀병원 내분비대사내과³

The Effect of Atorvastatin and Simvastatin on NIS Expression of the TPC-1 Cell under the Therapeutic Blood Concentrations

Tae Kyoon Kim¹, Hye Sook Jung², Chang Shin Yoon², Jung Hae Ko¹, Hae Jung Jun¹, Min Jung Kwon¹, Sun Hee Lee¹, Mi Kyung Kim^{2,3}, Jeong Hyun Park^{1,2}

Department of Internal Medicine¹, Pusan Paik Hospital, College of Medicine, Inje University, Busan; Molecular Therapy Lab.², Paik Memorial Institute for Clinical Research, Inje University, Busan; Department of Internal Medicine³, Marynoll Medical Center, Busan, Korea

Background: Although so many experimental trials have been done to improve the redifferentiation and responsiveness of radioiodide therapy, they have not yet yielded any satisfactory results. As statins inhibit both farnesylation and geranylgeranylation, they have been reported to have an antineoplastic and redifferentiation effect in experimental and clinical studies. In this study, we investigated the relationship between statins and the alteration of the NIS expression and, TPC-1 cell apoptosis to evaluate the possibility of using statins as adjuvant therapeutic agents for papillary thyroid cancer.

Methods: We used the TPC-1 cell lines for our experiments. Cell viabilities were measured by CCK-8. The degrees of apoptosis and, the expressions of NIS mRNA and NIS protein were measured by flow cytometry, semi quantitative RT-PCR and Western blot assay.

Results: Increased levels of NIS mRNA and NIS protein were observed under therapeutic blood concentrations (concentrations of simvastatin: 20, 50, 80 nM, concentrations of atorvastatin: 50, 80, 110 nM), but the dose-response relationship was only manifested within simvastatin. The TPC-1 cells showed a concentration dependent decrease of viability and an increase of apoptosis not under therapeutic blood concentrations, but under excessively high concentrations (after treatment with 10-50 μM of atorvastatin and with 1-10 μM of simvastatin).

Conclusion: The results of this study show that effective therapeutic blood concentrations of simvastatin and atorvastatin can give a favorable effect on the NIS expression under effective therapeutic blood concentrations. Therefore, we demonstrated the possibility that simvastatin and atorvastatin might have an important role as adjuvant therapeutic agents to improve the responsiveness of radioiodide therapy for papillary thyroid cancer. Further studies are needed to clarify this issue. (*Endocrinol Metab* 25:192-198, 2010)

Key Words: Thyroid Papillary Cancer, TPC-1 cell, Statin, NIS

서론

잘 분화된 갑상선 유두암들은 갑상선 여포세포의 기저막(basolateral membrane)에 sodium iodide symporter (NIS)가 잘 발현되어 있어 갑상선 절제술 후 방사선 요오드 치료시 방사선 요오드의 섭취를 증가시켜 잔존 갑상선 암이나 재발성, 그리고, 전이성 갑상선

암의 치료 효과 증대에 중요한 역할을 하고 있다는 것이 잘 알려져 있다[1]. 갑상선 유두세포암 중 일부는 조기 탈분화(early dedifferentiation) 과정을 거쳐 보다 더 공격적으로 변하여 빠른 성장을 하거나 주위 조직으로의 침윤이 증가하는 경향을 보이는데, 이런 탈분화 과정을 거친 갑상선 세포암은 NIS의 발현이 없거나 감소하여 갑상선 절제술 후 방사선 동위원소 치료 효과를 감소시키며, TSH 억제 치료에 저항성을 보여 궁극적으로는 환자의 나쁜 예후에 영향을 주게 된다[2]. 이러한 분화도가 감소된 갑상선 암에 대해 항암 치료 보조 약제로서 분화도 및 방사성 요오드 섭취능의 호전을 위한 여러 약제들을 이용한 시도들이 있어 왔지만 만족할 만한 효과를 보이는

Received: 11 March 2010, Accepted: 28 May 2010

Corresponding author: Jeong Hyun Park

Department of Internal Medicine, Pusan Paik Hospital, College of Medicine, Inje University, Gaegeum-dong, Busanjin-gu, Busan 614-735, Korea

Tel: +82-51-890-6074, Fax: +82-51-894-0145, E-mail: pjhdcc@chol.com

약제는 없었다. 최근 활발한 연구가 이루어지고 있는 스타틴의 경우 콜레스테롤 생합성 억제 효과 이외에 세포막의 유지, 신호전달, 단백질 생합성, 세포 주기에 영향을 미치는 mevalonate 경로를 억제하여 Ras의 farnesylation과 Rho의 geranylgeranylation을 억제하고, 종양 세포의 발생, 성장, 분화도의 조절, 전이의 억제 및 종양 세포의 고사를 유도시켜[3] 장기 사용하면 혈액암, 췌장, 전립선, 대장암, 유방암 및 흑색종암 세포주의 위험이 감소 된다는 보고가 있다[4].

따라서, 저자들은 심바스타틴과 아토바스타틴을 이용하여 갑상선 유두세포암의 분화도 회복을 통해 sodium iodide symporter (NIS)의 발현이 실제 치료적인 혈중 유효 농도에서 이루어지는지를 확인하여 향후 방사성 요오드 치료의 보조 치료 약제로서뿐만 아니라, 다른 고형암에서와 같이 갑상선 유두세포암에서도 TPC-1 세포의 자멸사를 유도하여 항암치료 보조제로서 스타틴 적용 가능성을 확인하고자 하였다.

대상 및 방법

1. 재료

심바스타틴과 아토바스타틴은 BIOMOL Research Laboratories, Inc. Plymouth Meeting (PA, USA)로 부터 구매하여 사용하였고, 세포 배양에 필요한 Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM)과 우태아혈청 등은 GIBCO (CA, USA)에서 구매하였다. Cell Counting Kit-8 (CCK-8)은 Dojindo Laboratories (Kumamoto, Japan)에서 구입하였으며, Apoptosis marker인 Annexin V-FITC와 Propidium Iodide (100 µg/mL)는 BD bioscience (CA, USA)에서 구입하였다. 반정량적 역전사 중합효소 연쇄반응을 시행하기 위해 RNeasy Mini kit는 QIAGEN (Hilden, Germany)에서, Accupower RT/PCR premix와 human NIS primers는 Bioneer (Daejeon, Korea)에서 구매하였다. CellLytic™ MT Mammalian tissue Lysis/Extraction Reagent는 Sigma (MO, USA)에서, 1차 Anti-sodium/Iodide symporter (NIS) monoclonal Antibody는 Chemicon (CA, USA)에서, 이차 항체인 Goat Anti-Mouse antibody는 Biorad (CA, USA)에서 구입하였으며, 단백질 정량에 사용된 BCA™ Protein Assay Reagent Kit는 PIERCE (IL, USA)에서 구입하였다. 그 외에 사용된 화학 약품들은 Sigma-Aldrich (MO, USA)에서 구입하였다.

2. 세포주 및 배양 조건

갑상선 유두암 세포주(TPC-1 세포: 충남의대 내과 송민호 교수님 기증, Passage 15)는 10% 우태아 혈청을 첨가한 DMEM 배양액을 사용하여 37°C, 5% CO₂ 표준가습배양기에서 배양하였다. 배양액은 2-3일마다 교환하였으며 세포가 90-95% 정도 자라면 계대 배양을 하였다. 정해진 농도의 스타틴 시약을 만들기 위하여 스타틴과 DMSO를 일정한 비율로 녹였으며, 스타틴 처리 직전 우태아혈청을

첨가하지 않은 DMEM 배양액과 혼합하였다. 6-well plate에 1×10^5 /well 세포를 분주하여 70% 정도 자랐을 때 정해진 농도의 스타틴을 처리하여 주었으며, 세포 사멸을 보기 위한 실험에서는 96-well plate에 2×10^3 /well 세포를 분주하여 2일 후에 정해진 농도의 스타틴을 처리하였다.

3. 세포생존율 측정(Cell Viability Assay)

스타틴이 세포 사멸에 미치는 영향을 알아보기 위해 CCK-8을 이용한 발색 분석법을 사용하였다. 96-well plate에 각 well당 2×10^3 개씩의 세포를 분주하고 2일 후 정해진 농도의 스타틴을 함유한 DMEM 배양액으로 갈아 준 후 48시간 동안 세포 배양기에서 배양하였다. 배양액을 제거하고 PBS 용액으로 2번 세척한 후 CCK-8 100 µL씩 첨가하였다. 세포 배양기에서 1-4 시간 동안 배양 후, 발색 정도를 측정하기 위해 Microplate reader (SLT, Austria)에서 450 nm의 파장으로 흡광도를 측정하였으며, 각 실험은 독립적으로 3회 반복 실행하여 평균치와 표준편차를 구하였다.

4. 세포자멸사 분석(Flow Cytometry)

세포자멸사 분석은 Apoptosis marker인 Annexin V-FITC와 Propidium Iodide (100 µg/mL)로 반응시킨 후 유세포 분석기(FACS: fluorescence activated cell sorting, Becton-Dickinson, San Jose, CA, USA)를 이용하여 확인하였다. 반응이 끝난 세포는 single cell로 만들기 위해서 Trypsin-EDTA를 처리하고, FACS tube에 모아서 1,500 rpm에서 5분간 원심 분리하였다. 상층액은 제거하고 $1 \times$ binding buffer (140 mM NaCl, 10 mM HEPES [pH 7.4], 2.5 mM CaCl₂, store at 2-8°C) 1 mL을 넣고 세포를 풀어준 뒤 1,500 rpm으로 5분간 원심 분리하였다. 상층액을 제거한 뒤 Annexin V-FITC 3 µL와 Propidium Iodide 10 µL를 15분간 반응시켰다. 그 후 FACS buffer (1% FBS, 0.1% NaN₃) 300 µL를 넣고 FACS로 분석하였다.

5. 반정량적 역전사 중합효소 연쇄반응(Semiquantitative RT-PCR)

TPC-1 cell에서 RNA 분리는 RNeasy Mini kit를 이용하여 시행하였다. 농도 조건은 심바스타틴과 아토바스타틴 40 mg을 건강한 성인에서 경구 투여하였을 때의 최고 혈중 농도와 최저 혈중농도를(심바스타틴의 혈중 유효 농도는 각각 20-50 nM이었고, 아토바스타틴에서는 50-80 nM) 기준으로 정하였다[5]. 6-well plate에 배양된 갑상선 유두암 세포를 각각의 정해진 농도의 스타틴에 1시간 동안 반응시켰다. 반응이 끝난 후 PBS로 3회 세척하고 즉시 Buffer RLT 350 µL를 넣어 pipette으로 RNA를 분리하였다. 분리된 RNA는 Eppendorf tube에 넣고 30초간 vortex 시행하였다. 70% ETOH 300 µL를 추가하여 pipette으로 잘 섞은 뒤 총 700 µL를 collection tube내 RNeasy spin column에 넣고 상온에서 15초간 10,000 RPM으로 원심 분리하였다. Collection tube에 모인 액을 제거한 뒤 700 µL Buffer RW1을

spin column에 넣고 15초간 10,000 RPM으로 원심 분리하였다. Collection tube에 모인 액을 제거한 뒤 500 μ L Buffer RPE를 spin column에 넣고 15초간 10,000 RPM에서 원심 분리하고, 다시 collection tube에 모인 액을 제거한 뒤 500 μ L Buffer RPE를 spin column에 넣고 2분 동안 10,000 RPM에서 원심 분리하였다. 그 후 새 collection tube에서 30 μ L RNase free water를 spin column에 넣고 1분간 10,000 RPM으로 원심 분리한 후 Nano-drop ND-1000 spectrophotometer를 이용하여 RNA를 정량하였다.

역전사 과정은 42°C에서 1시간, 중합효소 연쇄반응 과정은 95°C에서 15분간 예비 변성을 하고 95°C에서 2분, 40.1°C에서 1분, 72°C에서 1분을 40주기를 시행한 후 마지막 확장은 72°C에서 10분간 한 다음 4°C에서 보관하였다.

Semiquantitative RT-PCR에 필요한 human NIS primer의 염기 서열은 Forward primer: 5'-TCTCTCAGTCAACGCCTCT-3', Reverse primer: 5'-ATCCAGGATGGCCACTTCTT-3', 증폭된 생성물의 크기는 299 bp이며, GAPDH mRNA를 internal control로 사용하였다. 만들어진 PCR 생성물은 1.2% agarose gel에서 전기 영동하여 LAS-3000 (Fujifilm, Japan)에서 사진을 찍어 확인하고, Multi Gauge 3.0

(Fujifilm, Japan)을 이용하여 densitometry 정량을 시행하였다. 각 실험은 독립적으로 3회 반복하여 시행하였다.

6. 웨스턴블롯(Western blot) 분석

웨스턴 블롯 시 농도 조건은 semiquantitative RT-PCR을 시행할 때와 동일하게 정하였다[5].

스타틴이 처리된 세포를 PBS 용액으로 2회 세척하고 단백질을 분리하기 위해서 Mammalian tissue lysis buffer 100 μ L를 넣고 세포를 용해시켰다. 12,000 RPM, 4°C에서 10분간 원심 분리하여 상층액만을 깨끗한 eppendorf tube에 옮기고 사용하기 전까지 -70°C에 보관하였다. Western blot 실험을 시작하기 전 BCA™ protein assay kit로 단백질을 정량하였다. 10% SDS-PAGE에 한 well당 100 μ g을 로딩하여 전기영동을 하고 10 V에서 PVDF membrane에 옮긴 후 5% skim milk로 blocking하였다. 1차 Anti-Sodium/Iodide symporter (NIS) monoclonal antibody (1:1,000)를 4°C에서 12시간 냉장 반응시키고, 2차 Goat Anti-Mouse antibody (1:200)를 실온에서 1시간 반응시킨 뒤 AP-conjugated development kit Biorad (CA, USA)로 발색하였다.

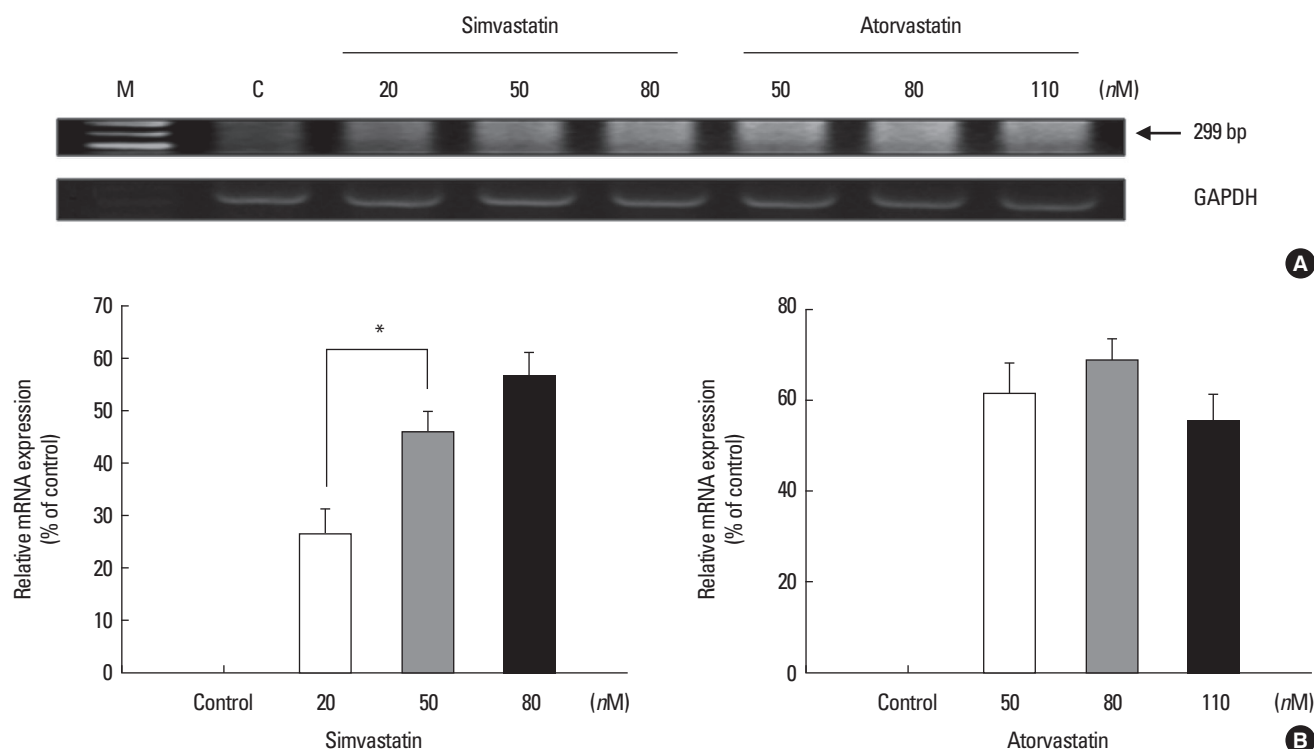


Fig. 1. Human NIS mRNA expression after treatment of simvastatin and atorvastatin. A. After treatment of each statins for 48 hr, human NIS mRNA expression treated with simvastatin was detected in a dose dependent manner by semiquantitative RT-PCR. But, human NIS mRNA expression treated with atorvastatin showed the only increase of mRNA expression in a dose independent manner. Treated concentrations of statins were decided by the range of effective blood concentrations which normal healthy adults ingest simvastatin or atorvastatin 40 mg P.O. (C: control). B. These graphs show the increased percent of relative mRNA expression in a dose dependent manner after treatment of simvastatin. But, atorvastatin showed the only increased percent of relative mRNA expression in a dose independent manner. These densitometric result were measured by Multi Gauge 3.0. (concentrations of simvastatin: 20, 50, 80 nM, atorvastatin: 50, 80, 110 nM).

결 과

1. 반정량적 역전사 중합효소 연쇄반응(Semiquantitative RT-PCR)

건강한 성인에서 스타틴 40 mg 경구 투여 시 얻어지는 치료적인 혈중 유효 농도는 심바스타틴에서는 23.9-81.2 nM, 아토바스타틴에서는 48.3-119.6 nM이었다[5]. 6-well plate에 배양된 TPC-1 세포에 각각 심바스타틴 20, 50, 80 nM을, 아토바스타틴 50, 80, 110 nM의 농도로 투여하여, 스타틴 투여 전과 투여 1시간 후 NIS mRNA의 발현 정도를 확인하기 위하여 semi-quantitative RT-PCR을 이용하여 이를 확인하였다. 스타틴 투여 1시간 후 심바스타틴에서 농도 의존적인 NIS mRNA 발현 증가가 관찰되었지만, 아토바스타틴에서는 NIS mRNA 발현이 관찰되었으나, 농도 의존적이진 않았다(Fig. 1).

2. 웨스턴 블롯(Western blot)

10 cm petri dish에 배양된 TPC-1 세포에 반정량적 semiquantitative RT-PCR을 시행할 때와 동일한 농도의 스타틴을 투여하여(심바스타틴의 농도는 20, 50, 80 nM, 아토바스타틴의 농도는 50, 80, 110 nM이었다)[5], 스타틴 투여 전에 비해 투여 48시간 후 NIS 단백질 발현의 변화를 측정하였다. 심바스타틴의 경우 농도 의존적인 NIS 단백

질의 증가가 관찰되었지만, 아토바스타틴의 경우 NIS 단백질이 발현되었으나 농도 의존적인 NIS 단백질 발현의 증가는 관찰되지 않았다(Fig. 2).

3. 심바스타틴과 아토바스타틴 처리 후 농도에 따른 TPC-1 세포의 생존변화

치료적인 혈중 유효 농도에서 스타틴의 TPC-1 세포 생존변화에 미치는 영향을 관찰하였으나 아무런 변화가 관찰되지 않았으며, 보다 높은 고농도에서 심바스타틴과 아토바스타틴을 48시간 동안 처리하고 CCK-8을 통해 측정하였을 때 모든 세포주에서 세포 생존율의 농도 의존적 감소가 관찰되었다(Fig. 3).

4. 스타틴 처리 후 각 세포의 농도에 따른 유세포 분석

TPC-1 세포를 대조군과 각각 일정한 고농도의 스타틴을 투여한 군으로 나누어 살아있는 세포, 고사된 세포 및 죽은 세포로 나누어 농도에 따른 세포분획의 변화를 관찰하였다. 대조군에 비해 스타틴 투여 군에서 농도에 따라 살아있는 세포의 비율이 감소되면서 고사된 세포의 비율이 점차로 증가되어 농도에 따른 세포자멸사의 진행을 관찰할 수 있었다(Fig. 4).

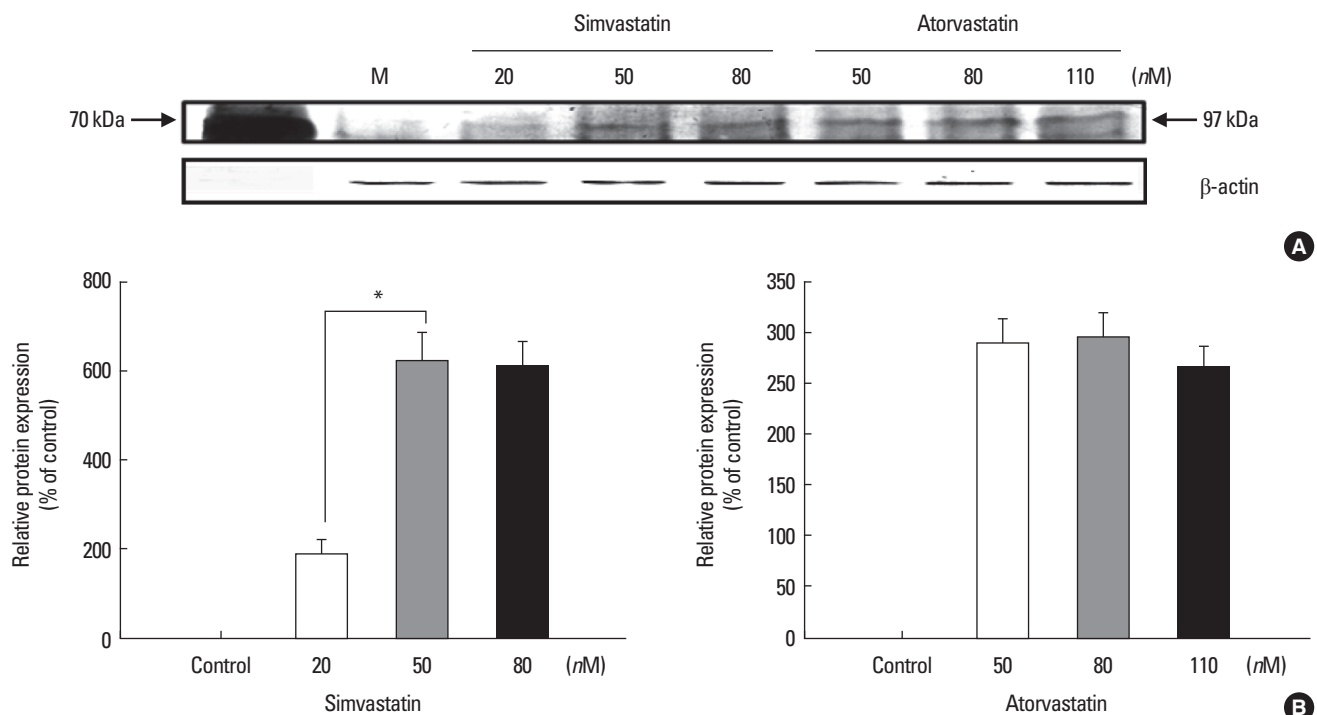


Fig. 2. Human NIS protein expression after treatment of simvastatin and atorvastatin. A. After treatment of each statins for 48 hr, human NIS protein expression treated with simvastatin was detected in a dose dependent manner by Western blot. But, human NIS protein expression treated with atorvastatin showed the only increase of protein expression in a dose independent manner. Treated concentrations of statins were decided by the range of effective blood concentrations which normal healthy adults ingest simvastatin or atorvastatin 40 mg P.O. (C: control). B. These graphs show the increased percent of relative protein expression in a dose dependent manner after treatment of simvastatin. But, atorvastatin showed the only increased percent of relative protein expression in a dose independent manner. These densitometric result were measured by Multi Gauge 3.0. (concentrations of simvastatin: 20, 50, 80 nM, atorvastatin: 50, 80, 110 nM).

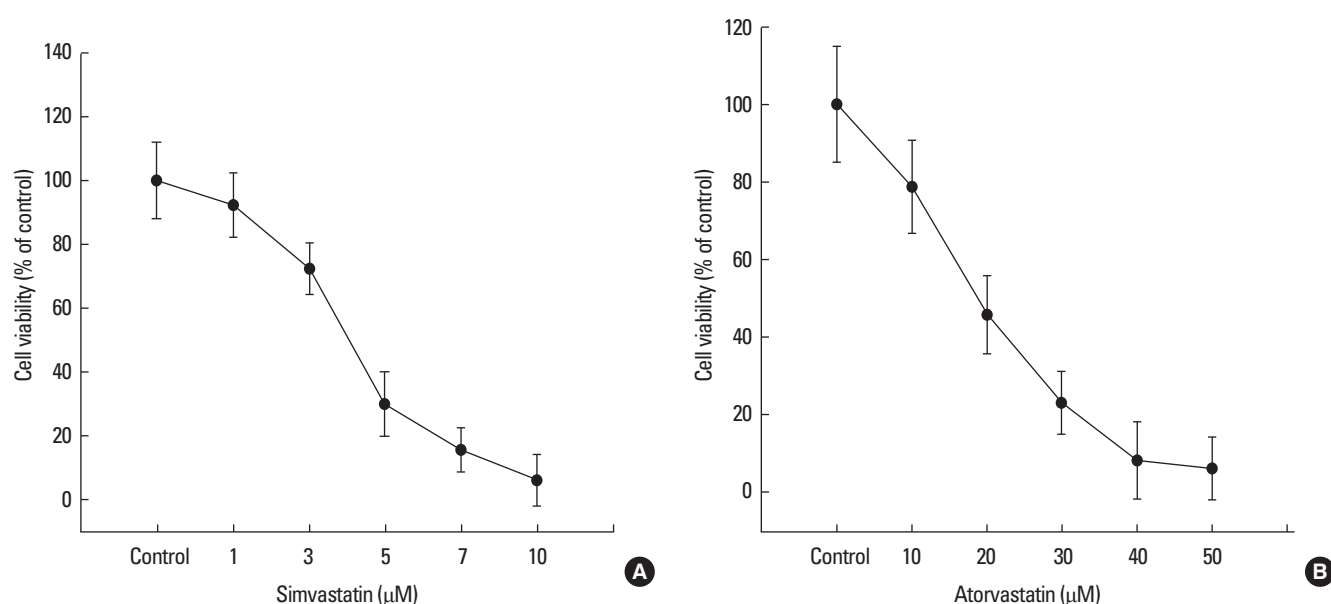


Fig. 3. Viability of TPC-1 cell depending on both simvastatin and atorvastatin concentrations. TPC-1 cell were exposed to the indicated concentrations of simvastatin (1-10 μ M) or atorvastatin (10-50 μ M) for 48 hr, and cell viability was measured by CCK-8 assay. Cell viability decreased in a dose dependent manner. A. Simvastatin, B. Atorvastatin (data shown are mean \pm SD) ($P < 0.05$).

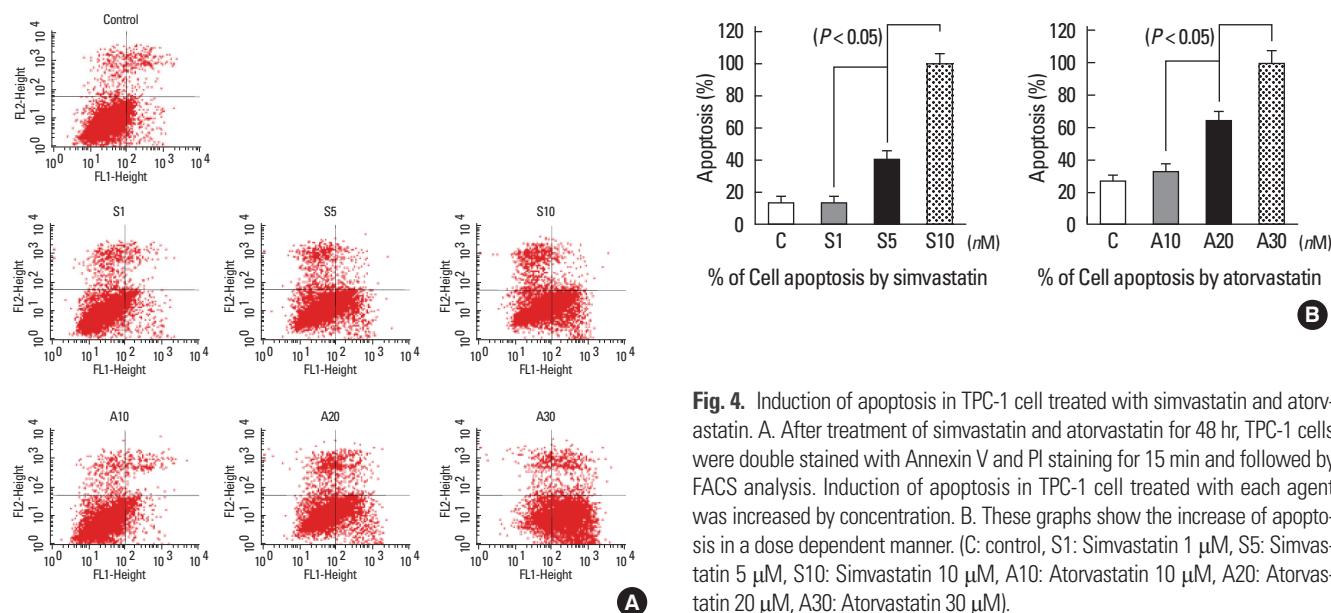


Fig. 4. Induction of apoptosis in TPC-1 cell treated with simvastatin and atorvastatin. A. After treatment of simvastatin and atorvastatin for 48 hr, TPC-1 cells were double stained with Annexin V and PI staining for 15 min and followed by FACS analysis. Induction of apoptosis in TPC-1 cell treated with each agent was increased by concentration. B. These graphs show the increase of apoptosis in a dose dependent manner. (C: control, S1: Simvastatin 1 μ M, S5: Simvastatin 5 μ M, S10: Simvastatin 10 μ M, A10: Atorvastatin 10 μ M, A20: Atorvastatin 20 μ M, A30: Atorvastatin 30 μ M).

고 찰

본 연구에서 가장 의미 있는 소견은 실제 치료적 용량인 심바스타틴 40 mg과 아토바스타틴 40 mg을 투여 했을 때 유효 혈중 농도(건강한 성인에서 스타틴 40 mg 경구 투여 시 얻어지는 혈중 유효 농도는 심바스타틴에서는 23.9-81.2 nM, 아토바스타틴에서는 48.3-119.6 nM) 내에서 human NIS mRNA와 단백질의 발현이다. 심바스타틴의 경우 20, 50, 80 nM, 아토바스타틴의 경우 50, 80, 110 nM에서 TPC-1

세포의 생존에 어떠한 영향을 주지 않고 human NIS mRNA와 단백질의 발현이 각각 관찰되었다. 또한, 심바스타틴의 경우 치료적인 유효 혈중 농도에서 human NIS mRNA와 단백질의 농도 의존적인 발현 증가가 관찰되었지만, 아토바스타틴의 경우 human NIS mRNA와 단백질 모두 농도 비의존적인 발현이 관찰되었다. 즉, 심바스타틴과 아토바스타틴은 치료적인 농도에서 human NIS mRNA와 단백질의 발현을 유도하여 추후 방사성 요오드 치료의 보조 치료 약제로서 적용될 수 있는 가능성을 제시하였다.

1998년 Jhiang 등[9]은 형질 전환된 mouse model의 갑상선 종양에서, 2004년 Venkateswaran 등[10]은 배양된 갑상선세포에서 갑상선 유두암의 암화 과정 중 RET/PTC-1 재배열이 있을 경우 NIS 발현 감소와 방사성 요오드 농축능의 감소를 보고하였다. 2003년 Knauf 등[11]은 RET/PTC 종양단백질이 rat PCCl3 갑상선 세포에서 Shc/Ras/MAPK 신호전달 체계를 통해 NIS mRNA level을 낮추며 MAP/ERK kinase (MEK) (MAPK kinase) inhibitors를 사용할 경우 NIS mRNA level이 회복됨을 보고하였다. 하지만, 최근 Romei 등[2]에 의하면 RET/PTC 재배열이 있는 환자 군에서 NIS의 발현 감소는 관련성이 없음을 주장하기도 하였다. 한편 Vadysirisack 등[12]은 RET/PTC-1과 MEK를 발현하는 rat PCCl3 갑상선 세포주에서 MEK를 억제할 경우 NIS 단백질이 증가함을 보여 주었다. 그러므로, 갑상선 유두암의 암화 과정에서 나타나는 분자 유전학적 이상에는 RET/PTC 재배열, Ras 돌연변이, BRAF 돌연변이 등의 여러 과정이 mitogen-activated protein kinase (MAPK)를 활성화하는데 관여하며[13], 이러한 신호전달체계가 NIS 발현 억제와 관련성이 있는 것 같다. 저자들은 스타틴이 Isoprenylation과 Ras를 억제하여 Ras-Raf-MAPK 3/1 전달 체계를 억제하므로[14] 스타틴의 투여와 Ras-Raf-MAPK 3/1 전달 체계 억제를 통한 NIS의 발현 증가는 어느 정도 상관관계가 있을 것으로 생각하고 있다. 하지만 저자들의 이러한 주장 및 연구 결과들을 뒷받침할 가능성 있는 기전들에 대해 아직 밝혀진 바는 없으며, 아직 밝혀지지 않은 수많은 신호 전달체계 억제 기전들에 대한 추가적인 연구가 더 시행되어야 한다.

한편 실제 상용하는 용량에서 스타틴이 TPC-1 세포 증식에 미치는 영향을 보았을 때에 아무런 변화가 없었지만, 상당히 높은 농도에서는(심바스타틴의 경우 1-10 μ M, 아토바스타틴의 경우는 10-50 μ M) 농도 의존적인 세포 사멸이 관찰되었다. 이는 정상인이 스타틴 40 mg을 복용할 경우의 치료적인 혈중 농도보다(심바스타틴에서는 23.9-81.2 nM, 아토바스타틴에서는 48.3-119.6 nM)[5] 상당히 높은 농도에서 TPC-1 세포의 사멸이 이루어졌음을 의미한다. 이 결과는 미분화 갑상선 세포주의 생존 분석을 알아보기 위해 심바스타틴을 이용하여 시행된 기존의 연구 결과와 비슷하며 실제 임상에서 사용되기에는 농도적인 측면에서 한계를 보여준다[6]. Wang 등[7]에 의하면 Lovastatin에 의한 미분화 갑상선 암의 고사(apoptosis)는 주로 Rho family의 geranylgeranylation 과정 억제를 통하여 유도된다고 보고하였으며, Laezza [8]은 Lovastatin의 선택적인 farnesylation 억제가 K-ras-transformed thyroid cell의 고사와 증식억제를 유도한다고 보고하였다. 미분화 갑상선 암에 대한 이들의 실험 결과를 토대로 생각해보면 스타틴의 TPC-1 세포에 대한 세포 사멸 기전 역시 이들의 연구 결과와 비슷한 기전으로 이루어 질 가능성이 있지만 아직까지 TPC-1 세포에 대해 이루어진 연구 및 결과에 대한 보고는 없다. 한편, 저자들은 스타틴이 동일한 고농도 조건에서 정상 세포에 어떠한 영향을 미치는지 확인하기 위해 대조군 실험으로서 HEK

293 세포에 대한 세포 사멸 실험을 추가적으로 시행하였다. 하지만 HEK 293 세포에서도 역시 농도 의존적인 세포사멸이 관찰되었다 (data not shown). 그러므로, 실제 임상에서 TPC-1 세포의 사멸을 목적으로 스타틴이 갑상선 유두암 치료의 보조요법으로서 사용되기에는 여러 가지 한계점이 있다.

저자들은 이번 연구를 통해 스타틴이 상용하는 용량에서는 비록 직접적인 세포고사를 유도하지는 않지만, NIS의 발현을 증가시킴으로써 방사성 요오드 치료 효과의 증대를 통한 치료적 효과를 기대해 볼 수 있을 것으로 생각한다. 하지만, 이번 연구와 관련된 한계점은 첫째, TSH의 증가가 NIS의 발현 증가에 영향을 미치지만, 실제 갑상선 암의 방사성요오드 치료 시 TSH를 상승시킴에도 불구하고 요오드 섭취가 안 되는 경우가 있으므로 스타틴에 의한 NIS 발현 증가가 TSH 유무에 따라 어떤 변화를 보이는지에 대한 추가적인 연구가 필요한 상황이다. 둘째, 스타틴-MAP kinase pathway-human NIS mRNA와 단백질 발현과의 연관성에 대해 향후 추가적인 실험실적인 입증에 필요하다. 셋째, 심바스타틴에서는 관찰되는 용량의존적인 NIS 발현증가 현상이 아토바스타틴에서는 관찰할 수 없는 데, 이는 심바스타틴보다 아토바스타틴의 콜레스테롤 저하능이 더 강력하기 때문이라고 생각된다. 하지만, 이를 확인하기 위해서는 보다 더 낮은 농도에서 아토바스타틴을 통한 추가적인 실험이 이루어져야 할 것 같다.

결론

심바스타틴과 아토바스타틴은 치료적인 유효 혈중 농도에서 TPC-1 세포의 NIS mRNA와 단백질의 발현 증가를 보여 주어 향후 갑상선 암의 방사성 요오드 치료 시 보조치료제로서의 가능성을 제시해주었다. 이 결과는 스타틴이 갑상선 유두세포암의 분화에 영향을 미치는 Ras-Raf-MAPK pathway와 아직 밝혀지지 않은 신호 전달체계 억제를 통해 유도되는 것으로 사료된다. 하지만, 현재까지 이러한 가능성에 대한 실험이나 기전에 대해 보고된 바는 없으며, 향후 이러한 가능성과 이들의 인과 관계를 명확히 하기 위해 추가적인 연구가 필요하다고 생각한다.

참고문헌

1. Min JJ, Chung JK, Lee YJ, Jeong JM, Lee DS, Jang JJ, Lee MC, Cho BY: Relationship between expression of the sodium/iodide symporter and ¹³¹I uptake in recurrent lesions of differentiated thyroid carcinoma. *Eur J Nucl Med* 28:639-645, 2001
2. Romei C, Ciampi R, Faviana P, Agate L, Molinaro E, Bottici V, Basolo F, Miccoli P, Pacini F, Pinchera A, Elisei R: BRAFV600E mutation, but not RET/PTC rearrangements, is correlated with a lower expression of both thyroperoxidase and sodium iodide symporter genes in papillary thyroid

- cancer. *Endocr Relat Cancer* 15: 511-520, 2008
3. Boudreau DM, Yu O, Miglioretti DL, Buist DS, Heckbert SR, Daling JR: Statin use and breast cancer risk in a large population-based setting. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 16:416-421, 2007
 4. Chan KK, Oza AM, Siu LL: The statins as anticancer agents. *Clin Cancer Res* 9:10-19, 2003
 5. Shitara Y, Sugiyama Y: Pharmacokinetic and pharmacodynamic alterations of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A (HMG-CoA) reductase inhibitors: drug-drug interactions and interindividual differences in transporter and metabolic enzyme functions. *Pharmacol Ther* 112:71-105, 2006
 6. Choi HJ, Kim TY, Kim EY, Kim WG, Kim WB, Shong YK: Effects of simvastatin on the growth and invasion of anaplastic thyroid cancer cells lines. *J Korean Endocr Soc* 23:238-244, 2008
 7. Wang CY, Zhong WB, Chang TC, Lai SM, Tsai YF: Lovastatin, a 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitor, induces apoptosis and differentiation in human anaplastic thyroid carcinoma cells. *J Clin Endocrinol Metab* 88:3021-3026, 2003
 8. Laezza C, Fiorentino L, Pisanti S, Gaggero P, Caraglia M, Portella G, Vitale M, Bifulco M: Lovastatin induces apoptosis of k-ras-transformed thyroid cells via inhibition of ras farnesylation and by modulating redox state. *J Mol Med* 86:1341-1351, 2008
 9. Jhiang SM, Cho JY, Furminger TL, Sagartz JE, Tong Q, Capen CC, Mazzaferri EL: Thyroid carcinomas in RET/PTC transgenic mice. *Recent Results Cancer Res* 154:265-270, 1998
 10. Venkateswaran A, Marsee DK, Green SH, Jhiang SM: Forskolin, 8-Br-3,5-cyclic adenosine 5-monophosphate, and catalytic protein kinase A expression in the nucleus increase radioiodide uptake and sodium/iodide symporter protein levels in RET/PTC 1-expressing cells. *J Clin Endocrinol Metab* 89:6168-6172, 2004
 11. Knauf JA, Kuroda H, Basu S, Fagin JA: RET/PTC-induced dedifferentiation of thyroid cells is mediated through Y1062 signaling through SHC-RAS-MAP kinase. *Oncogene* 22:4406-4412, 2003
 12. Vadysirisack DD, Venkateswaran A, Zhang Z, Jhiang SM: MEK signaling modulates sodium iodide symporter at multiple levels and in a paradoxical manner. *Endocr Relat Cancer* 14: 421-432, 2007
 13. Nikiforov YE: Thyroid carcinoma: molecular pathways and therapeutic targets. *Mod Pathol* 21: S37-S43, 2008
 14. Piotrowski PC, Kwintkiewicz J, Rzepczynska IJ, Seval Y, Cakmak H, Arici A, Duleba AJ: Statins inhibit growth of human endometrial stromal cells independently of cholesterol availability. *Biol Reprod* 75:107-111, 2006