

사람의 췌장암에서 암 줄기 세포 소멸을 위한 복합 표적 치료

(Combined Targeted Treatment to Eliminate Tumorigenic Cancer Stem Cells in Human Pancreatic Cancer. Gastroenterology 2009;137:1102-1113)

요약: 췌장암은 gemcitabine을 근간으로 한 항암치료를 하더라도 예후가 불량하다.¹ 예후가 불량한 이유는 항암 치료 중에 약제에 내성이 있는 암 줄기 세포(cancer stem cell, CSC)^{2,3}가 증가하여 췌장암을 악화시키기 때문이다. 그러므로 치료 성적을 높이기 위해서는 췌장암의 CSC를 없앨 수 있는 치료 전략이 필요하다. CSC는 자기 복제와 다양한 종류의 암세포로 분화할 수 있는 능력이 있어 이론적으로 한 개의 CSC로도 종양을 형성할 수 있다. Sonic hedgehog⁴와 mammalian target의 mTOR⁵은 CSC의 자기 복제에 필수적인 신호전달이므로 CSC의 완전 소멸을 위해서 이 신호를 억제하는 것이 필요하다.

이번 연구는 sonic hedgehog (shh) 억제제인 cyclopamine/CUR199691과 mTOR 차단제인 rapamycin을 gemcitabine과 복합적으로 사용하여 CSC 세포군에 미치는 치료 효과를 생체내·외 실험을 통해 규명하였다. 연구 재료는 전이 췌장암 세포주 L3.6pl과 사람의 췌장암 세포를 사용하였고, 췌장 CSC 분리는 CD133 항체를 이용하였다. mTOR 활성도는 s6 리보솜 단백질 인산화로 측정하였고, shh 신호전달은 Gli 1을 반정량적 RT-PCR로 측정하였다. Gemcitabine, cyclopamine, CUR199691 및 rapamycin으로 처리한 췌장암 세포주를 췌장에 주입한 orthotopic 마우스 모델과 2 mm³ 췌장암 조직을 피하에 주입한 피하 모델에 3가지 약제를 투여한 후 효과를 판정하였다.

연구 결과는 다음과 같다. 1) 췌장암 세포주에서 CSC는 gemcitabine (G) 처리 후 증가하였고, cyclopamine (C)/CUR-199691과 rapamycin (R) 단독 투여 후 감소하였다. 그러나 3 가지 약제(CRG)를 복합 투여 후 CD133⁺ CSC는 완전히 소멸되었다. 2) 췌장암 세포주를 CRG로 전처치한 후 시행한 전이 검사에서 CSC가 완전히 소멸되어 전이가 억제되었다. 3) CG, RG, 혹은 CRG로 전처치한 후 췌장암 세포를 췌장에 이식한 결과, CRG군에서만 췌장암을 형성하지 않았다. 4) 췌장암 orthotopic 마우스 모델에 각각의 약제로 치료한 결과, CRG 치료군에서 췌장암의 용적이 현저히 감소하고 생존 기간이 연장되었으며 췌장암 조직에서 CSC는 발견되지 않았다. 5) 사람의 췌장암 세포를 이용한 실험에서도 CRG 복합 치료는 CSC를 없애는 데 효과적이나 췌장암의 종류에

따라 차이가 있었다. 사람의 췌장암 세포를 주입한 피하암 모델에서도 CRG 치료군이 췌장암 용적과 CSC가 현저히 낮았으며 생존기간이 길었다.

결론으로 표준 항암 치료에 shh와 mTOR 신호를 동시에 억제하는 복합 치료는 췌장암의 CSC를 완전히 소멸시킬 수 있다. 향후 이 성과를 토대로 한 전임상 시험을 통하여 췌장암의 예후를 향상시키는 획기적인 치료 전략을 개발할 수 있을 것이다.

해설: 췌장암의 예후를 향상시키기 위해서는 자기 복제와 암세포로 분화할 수 있는 CSC를 완전히 소멸시킬 수 있는 새로운 치료 방법이 필요하다. CSC는 자가 증식과 다양한 종류의 종양 세포로 분화할 수 있는 특징을 지닌다. CSC는 증식이 느리고 약제 방출 펌프가 있어 대부분 항암제에 대해 내성을 가진다. CD24/44/ESA4 혹은 CD133를 표지자로 췌장의 CSC를 분리하여 면역이 저하된 마우스의 췌장에 주입하면 췌장암을 형성하고, gemcitabine을 처리하면 오히려 CSC수가 증가한다. CSC는 종양을 형성하고 성장시키며 전이를 일으킨다.

이 논문에서는 기본 항암제인 gemcitabine에 shh와 mTOR 신호 억제제인 cyclopamine/CUR199691과 rapamycin으로 복합 치료를 하였더니 췌장암 CSC를 소멸시키고, 종양의 크기와 전이를 줄이며 생존을 연장시킨 효과가 있었다. 이번 연구의 의의는 소수(1-2%)의 CSC에 의해 암의 발생이 시작되고 활성화된다는 기존의 CSC 가설을 확인하였다는 점과 췌장암 세포 실험에서 gemcitabine과 함께 shh와 mTOR 신호를 동시에 억제하였을 때 췌장 CSC pool을 감소시켰고 동물 모델에서 암의 크기가 줄고 CSC pool을 소멸시켰으며 생존 기간을 연장하였다는 점이다.

Shh가 막횡단 수용체인 patched에 결합하면 patched에 의한 smoothened 억제 기능이 사라져서 Gli 단백질의 전사 작용이 활성화된다.^{6,7} Shh 신호는 췌장암의 발생 초기에 결정적인 역할을 하며 CSC의 생존에 필수적인 신호로 정상 췌장세포에 비해 CD24/44/ESA4 세포에서 46배 정도 높게 발현된다. 암 줄기 세포를 활성화시키는 데 중요한 영향을 미치는 shh 신호를 cyclopamine으로 차단하면 췌장암의 성장

을 억제하지만 암성 활성도를 완전히 없애지는 못한다. Shh을 억제하면 암의 침윤과 전이를 줄인다는 연구 보고가 있지만,⁸ 이번 연구에서 cyclopamine으로 전처치한 세포를 정맥으로 주입하면 아주 활성도는 감소하지만 전이를 차단하지 못했고, CRG로 처리한 경우에만 CSC를 사멸시켜 전이를 효과적으로 차단시킬 수 있었다.

mTOR는 복잡한 신호 전달 경로로 phosphatidylinositol 3-키나제 가계에 속하는 serine/threonine 키나제이다. 최근의 연구에서 mTOR 억제제인 rapamycin은 백혈병 유발 세포를 없애고 정상 조혈모세포를 복구시키며,⁹ 유방 CSC의 생존과 성장에 중요한 역할을 한다는 것이 증명되었다.⁵ Rapamycin은 CSC에서 mTOR 신호 기전을 억제한다는 것이 알려져 있다.¹⁰ 이번 연구에서 rapamycin 단독 처리로 CSC 군을 일부 감소시킬 수 있었지만 암 형성을 억제하지 못했고 CRG로 복합 치료를 할 때에만 효과적으로 CSC를 소멸할 수 있었다.

CSC의 기원은 정상 줄기세포가 유전자 이상으로 CSC로 변화했을 가능성 혹은 분화한 체장암 세포의 일부가 줄기세포로 변화했을 가능성 등이 제기되고 있지만 여전히 논란이 있다. 이번 연구에서는 CD133를 이용하여 CSC를 분리하였고 다른 연구에서는 CD44/CD24를 표지자로 하였는데 두 세포군은 완전히 일치하지 않았다. 적절한 체장 CSC 표지자에 대해서는 향후 연구가 필요하다. 체장암에서 CSC 비율은 세포주 종류에 따라서, 체장암 환자 개개인에 따라 다르며 일부에서는 발견되지 않는 경우도 있다. 이것은 세포 처리과정에서 항원이 변성되어 검출되지 않았을 가능성도 있지만, CSC 가설이 아닌 다른 발암기전을 보이는 체장암이 있을 가능성도 있다.

이번 연구에서 보인 표적 복합 치료의 효과는 shh와 mTOR 신호를 차단시켜 CSC를 억제함으로 gemcitabine에 대한 감수성을 증가시켜 탁월한 항암 효과를 보인 것으로 해석된다. Shh 억제제인 cyclopamine은 이미 제1, 2 임상시험에 진행 중에 있으며 rapamycin은 신장 이식 후 면역 억제 효과를 위해 사용하고 있다. Rapamycin은 혈관 내피세포의 증식을 억제하므로 수술 후 상처가 치유된 후 사용할 것을 권고하고 있다. 이번 논문에서 소개한 새로운 복합 표적 치료 요법은 향후 (전)임상 시험을 통하여 부작용과 효과에 대해 검정하는 과정이 필요할 것으로 생각한다.

(정리: 충북대학교 의과대학 내과학교실 박선미)

참고문헌

1. Matano E, Tagliaferri P, Libroia A, et al. Gemcitabine combined with continuous infusion 5-fluorouracil in advanced and symptomatic pancreatic cancer: a clinical benefit-oriented phase II study. *Br J Cancer* 2000;82:1772-1775.
2. Hermann PC, Huber SL, Herrler T, et al. Distinct populations of cancer stem cells determine tumor growth and metastatic activity in human pancreatic cancer. *Cell Stem Cell* 2007;1: 313-323.
3. Li C, Heidt D, Dalerba P, et al. Identification of pancreatic cancer stem cells. *Cancer Res* 2007;67:1030-1037.
4. Bar EE, Chaudhry A, Lin A, et al. Cyclopamine-mediated hedgehog pathway inhibition depletes stem-like cancer cells in glioblastoma. *Stem Cells* 2007;25:2524-2533.
5. Zhou J, Wulfkuhle J, Zhang H, et al. Activation of the PTEN/mTOR/STAT3 pathway in breast cancer stem-like cells is required for viability and maintenance. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007;104:16158-16163.
6. Thayer SP, di Magliano MP, Heiser PW, et al. Hedgehog is an early and late mediator of pancreatic cancer tumorigenesis. *Nature* 2003;425:851-856.
7. Morton JP, Mongeau ME, Klimstra DS, et al. Sonic hedgehog acts at multiple stages during pancreatic tumorigenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007;104:5103-5108.
8. Hermann PC, Huber SL, Herrler T, et al. Distinct populations of cancer stem cells determine tumor growth and metastatic activity in human pancreatic cancer. *Cell Stem Cell* 2007;1: 313-323.
9. Yilmaz Ö, Valdez R, Theisen B, et al. Pten dependence distinguishes hematopoietic stem cells from leukaemia-initiating cells. *Nature* 2006;441:475-482.
10. Guba M, von Breitenbuch P, Steinbauer M, et al. Rapamycin inhibits primary and metastatic tumor growth by antiangiogenesis: involvement of vascular endothelial growth factor. *Nat Med* 2002;8:128-135.