

생쥐의 위장관기질종양에서 Kit^{low} 줄기세포가 Kit/Platelet-Derived Growth Factor α 억제제에 대한 내성을 일으킨다

(**Kit^{low} Stem Cells Cause Resistance to Kit/Platelet-Derived Growth Factor α Inhibitors in Murine Gastrointestinal Stromal Tumors.**
Gastroenterology 2010;139:942-952)

요약: 위장관기질종양은 Cajal 기질세포(interstitial cell of Cajal, ICC)와 연관되어 있으며, stem cell factor receptor (Kit) 혹은 platelet-derived growth factor receptor α (Pdgfra)의 돌연변이를 갖고 있다.

Kit/Pdgfra의 억제제인 imatinib mesylate는 병의 진행을 늦추기는 하지만 완치하기는 어렵다. 생쥐를 이용한 모델 실험을 통하여 Kit^{low} ICC 전구세포가 Kit/Pdgfra 억제제에 내성을 보이는 위장관기질종양의 저장고인가를 알아보기 위하여 본 실험을 하였다. 계대배양 후 $\text{Kit}^{\text{low}}\text{Cd44}^+\text{Cd34}^+$ 형질의 세포를 얻었다. 누드 마우스에서는 자연적으로 형질전환된 세포의 종양능을 살펴보았다. $\text{Kit}^{\text{low}}\text{Cd44}^+\text{Cd34}^+$ 세포의 Kit에 대한 활성화와 억제효과는 Kit signaling에 문제가 있는 $\text{Kit}^{\text{K641E}}$ 생쥐에서 야리학적으로 측정하였다. 그 결과 낱개의 $\text{Kit}^{\text{low}}\text{Cd44}^+\text{Cd34}^+$ 세포는 클론성을 가졌으며 자가재생을 할 수 있다는 것을 볼 수 있었다. 누드 마우스에서 자연적으로 형질전환된 악성세포는 imatinib과 같은 Kit 억제제에 내성을 보였으며 Kit 활성화는 조금 약해졌지만 종양세포의 수에는 변화가 없었다. $\text{Kit}^{\text{K641E}}$ 생쥐에서 돌연변이를 갖는 ICC 줄기세포는 증식을 하였지만 imatinib에 대한 내성은 유지하였다. 반면 암줄기세포를 타겟으로 하는 약제인 salinomycin을 주입한 경우 $\text{Kit}^{\text{low}}\text{Cd44}^+\text{Cd34}^+$ 세포의 증식이 차단되었고 imatinib에 대한 반응도 증가하였다. 결론적으로 $\text{Kit}^{\text{low}}\text{Cd44}^+\text{Cd34}^+$ 전구세포가 정상 및 증식을 보이는 ICC, 그리고 위장관기질종양의 줄기세포인 것이다. Kit/Pdgfra 억제제에 대한 내성은 위장관기질종양 본연의 특징이며, 이는 ICC 줄기세포가 생존에 있어서 발암을 일으키는 Kit 돌연변이 후에 획득되며 Kit와는 무관하다는 사실에 기인한다. 아마도 암줄기세포에 대한 약제가 이를 세포를 목표로 할 것이다.¹

해설: 위장관기질종양은 가장 흔한 위장관 내 육종으로 ICC로부터 기인한다는 가설이 일반적이다.^{2,3} 그럼에도 불구하고 위장관기질종양의 기원 세포에 대해서는 아직까지 확실히 밝혀져 있지 않다. 위장관기질종양에 대한 치료는 원발성 종양인 경우 종양 제거 후, 전이성 종양인 경우 우선적

으로 imatinib mesylate 같은 티로신ки나아제 억제제를 사용하며, 이는 종양의 진행 없이 생존율을 증가시켜 주는 효과가 있는 것으로 알려져 있다. 그러나 이 치료제는 완치제가 아니고 병의 진행을 막기 위해 지속적으로 환자에게 투여하여야 하며 종종 약물내성을 일으키는 문제점이 있다.⁴ 이러한 사실은 위장관기질종양 내에 티로신ки나아제 억제제를 통하여 차단되는 Kit 신호체계와 관련성이 없는 종양 줄기세포가 존재하며, 그 결과 Kit 신호체계를 억제하는 것만으로는 종양의 완전 치료가 불가능하다는 가설을 뒷받침해준다. Bardsley 등¹은 생쥐를 이용한 모델 실험을 통하여 분리 배양된 Cajal 전구세포가 종양의 줄기세포인지를 확인하고 이를 세포가 티로신ки나아제 억제제에 대한 내성을 보이는 위장관기질종양의 원인이 되는지를 연구하였다.

이들의 연구결과에 의하면 Cajal 전구세포의 경우 세포 표면 내에 Kit의 발현도가 낮아서 성숙세포의 십분의 일정도로 발현되고, 분화된 ICC와는 형태학적으로 다르며, 또한 CD44, CD34, Insr (receptors for insulin)과 Igf1r (insulin like growth factor-I)를 발현하는 것을 알아내었다. 중간 분화과정에서는 Kit, Cd44, CD34에는 양성이나 Insr과 Igf1r에는 음성을 보이다가 최종적으로는 Kit, CD44에는 양성이고, CD34, Insr, Igf1r에는 음성인 성숙된 ICC로 분화되는 것을 보여 주었다. 이들 세포들은 새로운 ICC 표지자인 anoctamin 1 (Ano1 혹은 DOG1)에도 양성소견을 보였다.^{5,6} Ano1은 최근에 Kit 면역조직화학적 염색 외에 위장관기질종양의 진단마커로 많이 이용되고 있는 단백질이다.⁶ 또한 오랫동안 신경 줄기세포 증식 배지에서 배양한 Cajal 줄기세포는 성장인자에 대한 의존성이 감소되고 비정상적인 핵형을 획득하는 등의 형질 변환을 보였다. 형질 변환 Cajal 줄기세포를 주입한 생쥐의 경우 종양이 형성되었다. 인간의 가족성 위장관기질종양의 모델인 Kit 유전자 변형 $\text{Kit}^{\text{K641E}}$ 생쥐에 주입한 형질 변환 Cajal 줄기세포는 ICC의 증식을 보였으며 imatinib에도 내성을 보였다. Cajal 줄기세포의 증식은 유방암 줄기세포에 대한 선택적 억제제인 salinomycin에 의해서만 억제되었다. 결론으로 $\text{Kit}^{\text{low}}\text{CD34}$ 양성인 ICC의 전구세포가 줄기세포이며 위장 근육층의 표층에 존재한다는 사실을 증명하였다.

이번 연구를 통하여 저자들은 위장관기질종양의 치료제인 티로신키나아제 억제제에 내성을 일으키는 병인에 대한 기질종양 내 줄기세포의 존재에 대하여 처음으로 규명하였다. 특이한 점은 암줄기세포가 우리의 일반적인 예상과 달리 Kit 신호체계가 매우 약하다는 사실이다. 그러므로 암줄기세포의 증식에 Kit 신호체계에 대한 의존성은 떨어지게 된다. 따라서 기존의 티로신키나아제 억제제 외에 이들 암줄기세포를 대상으로 salinomycin과 같은 표적 치료제의 개발이 필요하다고 하였다. 이는 위장관기질종양의 완치를 위하여 티로신키나아제 억제제 외에 암줄기세포에 대한 치료가 병행되어야 할 필요성을 제기한 것에 매우 큰 의미가 있다. 본 논문이 동물실험을 결과로 도출된 것이므로 인간에서의 연구가 지속적으로 이루어져야 할 것이며, 이를 토대로 임상연구가 진행될 경우 위장관기질종양의 완치는 머지 않을 것으로 기대된다.

(정리: 성균관대학교 의과대학
삼성서울병원 병리과 김경미)

참고문헌

1. Bardsley MR, Horváth VJ, Asuzu DT, et al. Kit^{low} stem cells cause resistance to Kit/platelet-derived growth factor alpha inhibitors in murine gastrointestinal stromal tumors. *Gastroenterology* 2010;139:942-952.
2. Stewart DR, Corless CL, Rubin BP, et al. Mitotic recombination as evidence of alternative pathogenesis of gastrointestinal stromal tumours in neurofibromatosis type 1. *J Med Genet* 2007;44:e61.
3. Hirota S, Isozaki K, Moriyama Y, et al. Gain-of-function mutations of c-kit in human gastrointestinal stromal tumors. *Science* 1998;279:577-580.
4. Rubin BP, Heinrich MC, Corless CL. Gastrointestinal stromal tumour. *Lancet* 2007;369:1731-1741.
5. Gomez-Pinilla PJ, Gibbons SJ, Bardsley MR, et al. Ano1 is a selective marker of interstitial cells of Cajal in the human and mouse gastrointestinal tract. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2009;296:G1370-1381.
6. Lopes LF, West RB, Bacchi LM, van de Rijn M, Bacchi CE. DOG1 for the diagnosis of gastrointestinal stromal tumor (GIST): Comparison between 2 different antibodies. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2010;18:333-337.