

류마티스관절염 치료의 새로운 표적으로서의 Phosphoinositide 3-kinase (PI3K)

김 해 림

건국대학교 의학전문대학원 내과학교실 류마티스내과

Phosphoinositide 3-kinase (PI3K) as a New Therapeutic Target for Rheumatoid Arthritis

Hae-Rim Kim

*Division of Rheumatology, Department of Internal Medicine,
Konkuk University School of Medicine, Seoul, Korea*

Dysregulated activation of immune and synovial cells and their reciprocal action play a key role in the pathogenesis of rheumatoid arthritis (RA). Various signal transduction molecules regulate cellular responses and small molecular inhibitors targeting the signal molecules, such as Janus kinase (JAK) and spleen tyrosine kinase (Syk) inhibitors, which have been developed for treating RA. Phosphoinositide 3-kinase (PI3K) is one of the signal molecules, which regulates innate and adaptive immune systems and is over-expressed in RA. PI3Ks phosphorylate phosphoinositide-4,5-bisphosphate (PI-4,5-P₂) generates phosphoinositide-3,4,5-triphosphate (PI-3,4,5-P₃) at the cell membrane. PI3Ks are divided into class I, II and III. Two catalytic subunits, p110 γ and p110 δ of PI3K, modulate cellular development, differentiation, proliferation, migration, cytokine synthesis and antibody production in both innate and adaptive immune

systems. In RA synovium and synovial fibroblasts, the expression of p110 γ and p110 δ is increased, and their up-regulation results in the abnormal activation of cellular immune responses. In preclinical animal models for RA, genetic deletion of p110 γ and p110 δ and selective inhibitors decrease the clinical arthritis score, synovial inflammation, cellular infiltration, bone and cartilage erosion and osteoclast activity. There is a synergistic effect for controlling arthritis by dual inhibition of PI3K γ and PI3K δ . Through reviewing the function of PI3K in the immune system and the effect of PI3K inhibition in preclinical arthritis animal models, we can expect the PI3K inhibition as a new therapeutic target for treatment of RA.

Key Words. Rheumatoid arthritis, Small molecular inhibitor, Phosphoinositide 3-kinase

서 론

류마티스관절염은 만성 염증성 자가면역 질환으로 윤활막염과 이의 결과로 발생하는 뼈와 연골의 파괴를 특징으로 한다 (1). 정확한 병인은 밝혀지지 않았으나 유전적 소

인과 환경적인 자극이 자가면역 반응을 촉발하여 자가항체 생산을 유발하고 윤활막염이 발생하며, 이 과정에 많은 면역 세포와 시토카인이 서로 유기적 영향 관계를 가지면서 염증 반응을 악화시키며 결과적으로 인접한 연골

<Received : March 28, 2013, Accepted : April 9, 2013>

Corresponding to : Hae-Rim Kim, Division of Rheumatology, Department of Internal Medicine, Konkuk University School of Medicine, 120-1, Neungdong-ro, Gwangjin-gu, Seoul 143-729, Korea. E-mail : kimhaerim@kuh.ac.kr

pISSN: 2093-940X, eISSN: 2233-4718

Copyright © 2013 by The Korean College of Rheumatology

This is a Free Access article, which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

과 뼈를 파괴하게 된다 (2). 이러한 병인에 착안하여 개발된 종양괴사인자(tumor necrosis factor, TNF) 저해제, 인터루킨(IL)-6 차단제 그리고 다양한 면역 세포 저해제와 같은 생물학적 제제의 도입으로 근 20년간 류마티스관절염에 대한 치료는 획기적인 변화를 맞게 되었다 (3). 기존의 항류마티스제제에 불충분한 반응을 보이는 환자에게 우수한 임상적 효과를 보였고, 관절 파괴에 대한 뼈와 연골의 보호 효과를 나타내었으며, ‘임상적 관해’로 이르는 치료 목표를 위해 조기 진단과 초기의 적극적인 약물 병합 요법이라는 치료 패러다임의 변화로 인해 류마티스관절염의 분류 기준까지 바뀌게 되었다 (4,5). 그러나 이러한 생물학적 제제에도 반응하지 않는 환자가 적지 않게 존재한다는 점, 감염이나 종양 위험성 등의 부작용, 주사를 이용해야 하는 투여 방법의 침습성과 불편성, 높은 약제 가격 등의 문제점을 안고 있다 (6). 이에 비해 소분자 억제제 (small molecular inhibitor)는 대부분 세포내 신호 전달 과정이나 케모카인과 수용체의 결합 작용을 억제하는 약물로, 대표적으로 Janus kinase (JAK) 저해제와 spleen ty-

rosine kinase (Syk) 저해제가 임상 사용의 승인을 받았거나 임상 연구가 거의 종료 단계에 있다 (7,8). 이 약물들은 메토트렉세이트의 병합 투여 없이도 생물학적 제제에 버금가는 관절염 조절 효과를 보일 뿐 아니라, 경구 투여가 가능해 투여가 편리하고, 비교적 저렴한 비용으로 이러한 화합물의 생산이 가능하다는 장점을 가지고 있다. 현재 S1P lyase 저해제인 LX3305와 케모카인 수용체 저해제인 CCX354-C 등의 소분자 억제제가 임상 연구 중에 있으며, 병인에 기초한 연구를 통해 지속적으로 새로운 약물들이 개발되고 있다 (9). 본 논문에서는 세포내 신호 전달 물질 중 하나인 phosphoinositide 3-kinase (PI3K)가 면역계를 조절하는 작용과 류마티스관절염 병인에 관여하는 기전에 대해 알아보고, 이 물질에 대한 소분자 억제제가 이 질환 치료의 새로운 방법이 될 수 있음을 평가해 보려 한다

본 론

PI3K의 분류와 신호 전달 체계

PI3K는 지질 신호 키나아제의 하나로 phosphoinositide (PI)

Table 1. Classification of phosphoinositide 3-kinases (PI3Ks). Catalytic and regulatory subunits of PI3Ks and their substrates and products

	Catalytic subunit	Regulatory subunit	Substrate	Product
Class IA				
PI3K α	p110 α			
PI3K β	p110 β	p85 α , p50 α , p55 α , p85 β , p55 γ	PI-4,5-P ₂	PIP ₃
PI3K δ	p110 δ			
Class IB				
PI3K γ	p110 γ	p110, p84	PI-4,5-P ₂	PIP ₃
Class II	PI3K-C2 α		PI-4-P	PI-3,4-P ₂
	PI3K-C2 β		PI	PI-3-P
	PI3K-C2 δ			
Class III	VPS34	p150	PI	PI-3-P

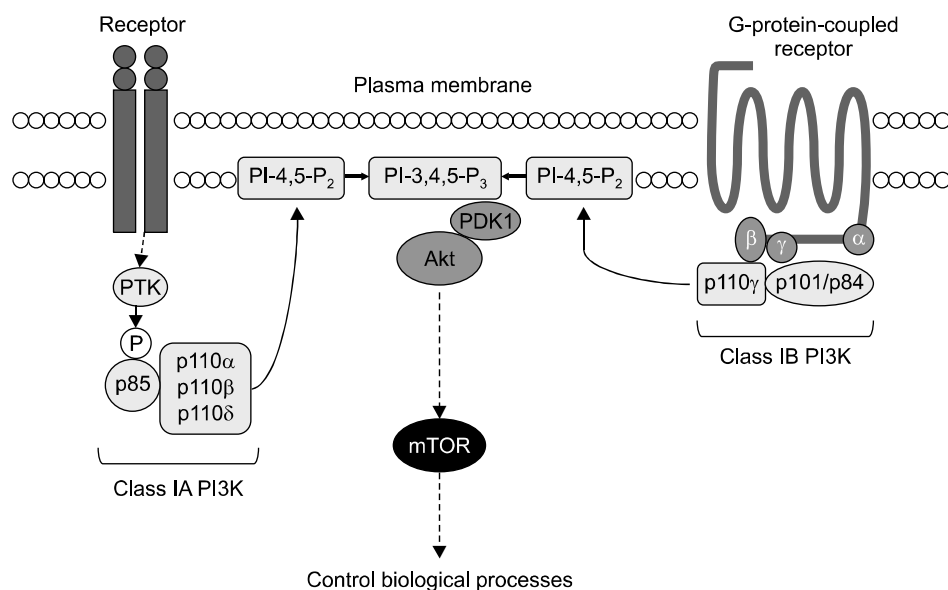


Figure 1. Simplified scheme of class I phosphoinositide 3-kinases (PI3Ks) and their intracellular cascades. Class IA PI3Ks are activated by tyrosine kinase receptor or by protein tyrosine kinase and class IB PI3K is recruited to G-protein-coupled receptor. After activation, class I PI3Ks phosphorylate phosphoinositide-4,5-bisphosphate (PI-4,5-P₂) to generate phosphoinositide-3,4,5-triphosphate (PI-3,4,5-P₃) at cell membrane. The generation of PI-3,4,5-P₃ activates downstream phosphorylation cascades, resulting in the induction of various cellular biologic functions.

inositol 고리의 3-하이드록실기를 인산화 하는 효소이다 (10). PI3K는 분자 구조와 기능, 기질 특이성에 따라 class I, II, III의 세 그룹으로 나뉘고, Class I PI3K는 다시 class IA와 class IB로 분류된다. Class IA에 PI3K α , PI3K β 그리고 PI3K δ 가 속하고, class IB에는 PI3K γ 가 속한다 (11,12). Class I PI3K는 110 kDa의 분자량을 가진 촉매성 소단위 (catalytic subunit)와 조절성 소단위(regulatory subunit)로 이루어진 이질이합체(heterodimer)이다. 촉매성 소단위로 p110 α , p110 β , p110 δ , 세 가지 종류가 있으며 이중 하나와 조절성 소단위인 p85 α , p50 α , p55 α , p85 β , p55 γ 중 하나가 결합하여 PI3K 이질이합체를 이루게 된다(Table 1). PI3K 중 그 구조와 번역계의 기능이 잘 알려지고 질병과 관련된 기전이 연구된 것은 주로 class I PI3K이며, 이들은 세포의 성장, 증식, 분화, 자가사멸, 부착과 이동 등에 관여한다.

Class IA와 class IB PI3K는 수용체 등 신호 전달 경로에 차이가 있는데, class IA PI3K는 주로 tyrosine kinase receptor에 의해 직접 활성화 되거나 protein tyrosine kinase를 매개하여 성장인자나 시토카인 수용체에 의해 활성화 된다 (13). 반면 p110과 p84 두 종류의 조절 소분자로 구성되는 class IB PI3K는 케모카인 수용체 등의 G단백결합 수용체(G protein-coupled receptor)에 의해 활성화 되는 차이를 보인다 (14). 활성화 된 class I PI3K는 PI-3,4,5-diphosphate를 PI-3,4,5-triphosphate로 인산화 시켜, 세포의 성장과 증식, 생존과 자가사멸, 부착과 이동 등 다양한 기능을 조절하는데 관여한다(Figure 1). PI-3,4,5-triphosphate는 휴식기의 세포에서는 발견되지 않으나 자극에 의해 생산되며 이 물질의 과다 생산은 종양, 만성 염증, 알레르기 질환, 대사성 질환, 심장혈관 질환 등에 관여하므로 PI3K의 과발현 또는 비정상적인 활성화가 각 질환의 병인과 깊은 관련성을 갖게된다 (15). PI3K에 의해 인산화 된 산물인 PI-3,4,5-triphosphate는 pleckstrin homology (PH) domain을 발현하는 단백을 활성화하고 동원하는데 이러한 물질로는 PDK1, Akt (protein kinase B라 불리기도 한다), guanine nucleotide exchange factors (GEF), Btk, GAP 등이 있다 (16). 이 중 Akt가 가장 잘 알려져 있고, 이 물질은 다양한 기질을 인산화 하는데 대표적인 하위 물질이 mTOR (mammalian target of rapamycin)이다 (17). 또한 PI-3,4,5-triphosphate의 생산은 SHIP (SH2 domain-containing inositol phosphatase)과 PTEN (phosphatase and tensin homolog deleted in chromosome ten)에 의해 길항 조절을 받는데, 이 물질들은 PI-3,4,5-triphosphate를 다시 PI-4,5-diphosphate로 가수분해 한다 (18,19).

Class IA PI3K의 p110 α 와 p110 β 소단위는 거의 모든 세포들에서 발현이 되며, 이 소단위를 유전적으로 제거했을 때 배아 시기에 이미 치명적인 것으로 보아 이들은 발생 과정에 필수적인 역할을 하는 것으로 보인다 (20,21). 반면, p110 γ 와 p110 δ 소단위는 주로 백혈구 세포에서 발현되어 선천 면역과 후천 면역의 기능을 조절하는 역할을 하며 이러한 소단위를 유전적으로 제거한 경우 동물 모델은 정

상적인 수명을 유지하면서 다양한 면역적 이상을 보이게 된다 (22-24). 따라서 p110 γ 와 p110 δ 소단위에 대한 여러 유전자 조작 연구와 선택적인 소단위 저해제 투여를 이용한 연구에서 이들의 차단이 면역 매개성 질환과 종양성 질환을 효과적으로 제어할 수 있음을 알 수 있었고, 이러한 결과에 따라 이 소단위들을 차단하는 소분자 억제제 개발과 임상 연구가 활발하게 이루어지고 있다. 반면 LY294002나 wortmannin은 class I, II, III의 PI3K를 모두 억제하고 mTOR 뿐 아니라 PI3K 경로와 관련성 없는 물질까지 차단하므로, 비특이적인 저해 효과와 예상치 못할 합병증이 발생할 가능성이 높아 소분자 억제제로서의 개발이 매력적이지 못하다 (25).

T세포에서 PI3K γ 와 PI3K δ 의 작용

T세포의 발달 과정에서 각 PI3K 소단위의 역할을 보면, p110 γ 유전자 결함 마우스는 가슴샘세포(thymocyte) 숫자의 부족을 유발하여 결과적으로 말초 T세포의 수적 감소를 초래하며, p110 γ 와 p110 δ 유전자 동시 결함 마우스에서는 이러한 가슴샘세포 숫자의 감소가 더욱 심화된다고 (26). p110 γ 결핍이 CD4⁺CD8⁺에서 CD4⁺CD8⁺ T세포로의 이행을 저해하고 CD4⁺CD8⁺ T세포의 생존을 단축시키는 것이다 (27,28). T세포 수용체(T cell receptor, TCR)를 매개하는 초기 신호 전달은 p110 γ 유전자 결함 마우스에서 정상 소견을 보이지만 TCR을 자극 후 T세포 증식이나 시토카인 생산이 저하되는 것으로 볼 때 p110 γ 가 TCR의 직접적인 하류(downstream)에 있지는 않으나 이차적인 신호를 조절하여 간접적으로 영향을 주는 것으로 보인다 (26). 반면 PI3K δ 소단위는 주로 T세포의 증식, 활성화, 분화에 관여하여 이 소단위 유전자 결함 마우스나 선택적 저해제를 투여하면 interferon (IFN)- γ , IL-4, 그리고 IL-17의 생산이 감소하여 Th1, Th2, Th17 세포로의 분화가 억제되고, 말초에서의 CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺ 조절 T세포의 생존을 감소시킨다 (29-32). 이와 같이 T세포의 발생에 PI3K γ 가 결정적인 역할을 하고, 발생 이후 T세포의 분화와 증식은 PI3K δ 가 조절하게 된다.

B세포에서 PI3K γ 와 PI3K δ 의 작용

B세포의 분화와 활성화에는 PI3K δ 가 필수적으로 중요하며, T세포와는 달리 PI3K γ 의 역할은 미미해 보인다. p110 δ 유전자 결함 마우스나 선택적 억제제 투여시 성숙된 혈중 B세포의 수가 감소하고, 케모카인 유도하 이동이 저해되며, B세포 수용체(B cell receptor, BCR) 신호 및 BCR 매개성 세포 증식이 감소하고, 항체 생산 세포로의 분화와 예방접종 후 면역 글로부린의 생산이 감소한다 (33-35). 또한 PI3K δ 는 BCR 매개 DNA 합성과 증식, IL-4로 유도되는 생존, 그리고 TLR-9 매개성 항체 전환에도 결정적 역할을 한다 (36). PI3K δ 결함 마우스에서 IgG와 IgM 항체의 생산이 감소하지만 이와 반대로 IgE의 생산

이 증가하는데, p110 δ 의 결핍이 IgG1에서 IgE로의 클래스 전환 재조합을 증강시키기 때문이다 (37,38). 앞서 언급한 조절 T세포의 감소와 B세포 매개성 IgE 생산의 증가는 PI3K δ 유전자 결함 마우스가 자가면역 현상을 갖게 되는 주요한 원인이 된다 (29,39).

중성구에서 PI3K γ 와 PI3K δ 의 작용

p110 γ 유전자 결함 마우스는 케모카인, 보체, 세균 펩티드 등의 화학유인물질(chemoattractants)의 자극에 반응하는 중성구의 이동성이 저하되고, reactive oxygen species (ROS) 생산에 장애를 보인다 (24,26,40,41). 또한 ROS의 생산에는 PI3K α 와 PI3K β 도 부분적으로 관여한다 (42). 그리고 p110 γ 유전자 결함 마우스나 PI3K δ 의 선택적 억제제 투여 시 중성구의 폐조직 침윤이 감소한다 (43). p110 γ 는 염증 반응에서 중성구를 유도할 뿐 아니라 중성구의 생존을 조절함으로써 염증 반응의 종식에 관여하기도 한다. PI3K γ 는 중성구 뿐 아니라 평활근 세포, 심근 세포, 혈관 내피세포에도 존재하며 (44), 혈관 내피세포에서 p110 γ 결핍 시 selectin 매개성 중성구의 부착이 저하되어 중성구의 회전 속도가 빨라지고, 한편 중성구의 p110 γ 결핍시 내피내 안정된 부착이 어려워져 혈관의 조직으로의 이동 및 침윤이 감소하게 된다 (45). 또한 PI3K γ 는 세포 분극 (cell polarization)과 관련된 형태 변화에도 필수적인 역할을 한다 (46).

수지상세포에서 PI3K γ 와 PI3K δ 의 작용

p110 γ 유전자 결함 마우스에서 수지상세포의 분화는 정상을 보이지만 이 세포의 이동에 큰 결함을 보여 염증성

환경에서 림프절로의 이동이 감소하고, 피부 광거한스세포와 림프절내 CD8 α^+ 수지상세포의 수적 감소를 보인다. 이로 인해 접촉성 과민반응(contact hypersensitivity)이나 지연 과민성(delayed type hypersensitivity) 반응의 중증도가 낮아지고 자가면역성 뇌척수염 마우스 모델에서 증상의 발현이 지연되는 면역 조절 효과를 보인다 (47,48). 또한 p110 δ 는 콜레라 독성 자극에 의한 대식세포의 IL-6의 생산에 중요한 역할을 한다 (49). Table 2는 각 면역 세포에서의 PI3K의 주요 역할을 나타낸다.

류마티스관절염 동물 모델에서 PI3K γ 와 PI3K δ 의 억제 효과

류마티스관절염은 선천 면역과 후천 면역에 관련되는 중성구, 단핵구, 수지상세포, T세포, B세포, 비만세포 등이 부적절하게 활성화되면서 상호 작용을 일으켜 윤활막염이 발생하고 결과적으로 파골세포의 활성화로 인해 관절에 인접한 뼈의 파괴가 발생하는 질환이다 (1,2). 이러한 다양한 면역 세포들은 PI3K γ 와 PI3K δ 을 발현하고 있으며 각 세포들의 발달에서 증식, 활성화, 이동까지 관여하는 이 소분자들을 억제함으로써 과도한 면역 반응이 조절되는 지에 대한 연구는 유전자 결함 동물 모델과 선택적 소분자 억제제 투여를 통해 이루어져 왔다.

먼저 관절염 동물 모델의 종류에 따라 PI3K γ 의 역할을 살펴보면, 항콜라겐 항체 유도성 관절염(α CII-induced arthritis) 유도 시 PI3K γ 의 유전적 결함이 있는 마우스와 선택적 억제제를 투여한 마우스에서 임상적인 관절염의 정도가 낮을 뿐 아니라 조직학적인 윤활막염과 연골 미란의 정도가 감소되고 관절 조직에 중성구의 침윤이 적다 (50). K/BxN 혈청 전환(serum transfer) 모델에서 관절염 유도시

Table 2. The roles of PI3K γ and PI3K δ subunits on hematopoietic cells

	PI3K γ	PI3K δ
T cell	<ul style="list-style-type: none"> - Development of thymocytes - Proliferation - Cytokine synthesis - Immunological synaps organization 	<ul style="list-style-type: none"> - Maturation and differentiation into Th1, Th2, Th17 cells - Clonal expansion - Lymph node homing - Survival of Treg cell - T cell trafficking
B cell		<ul style="list-style-type: none"> - Development and maturation - Proliferation - Activation - Antibody production - Immunoglobulin switching
Neutrophil	<ul style="list-style-type: none"> - Chemotaxis - Adhesion - ROS production - Cell polarization 	<ul style="list-style-type: none"> - Chemotaxis
Macrophage/monocyte	<ul style="list-style-type: none"> - Chemotaxis - ROS production 	
Mast cell	<ul style="list-style-type: none"> - Degranulation (late phase) 	<ul style="list-style-type: none"> - Degranulation (early phase)
Eosinophil	<ul style="list-style-type: none"> - Chemotaxis 	
NK cell		<ul style="list-style-type: none"> - Chemotaxis

p110 γ 유전자 결핍 마우스는 관절 종창이 적고, 류코트리엔B4 (LTB4) 매개성 중성구의 조직 침윤이 감소한다 (51). 항원 유도성 관절염(antigen-induced arthritis) 유도시 PI3K γ 의 유전적 결함이 있는 쥐와 선택적 억제제를 투여한 경우 초기 관절염의 발병 정도가 약하고 대식세포의 이동과 활성화가 저하되며 관절 조직으로의 대식세포와 중성구의 침윤이 감소된 것이 관찰된다 (52). 이 모델들의 경우 T 세포

나 B세포 등 후천 면역에 관여하는 세포보다는 중성구 등 선천 면역 관련성 관절염을 유발하는 기전으로 PI3K γ 억제를 통한 선천 면역의 조절만으로도 관절염이 호전됨을 보여준다. 반면 콜라겐 유도성 관절염(collagen-induced arthritis) 마우스의 경우 선천 면역뿐 아니라 항원 특이적인 T 세포의 활성화와 B세포의 활성화 및 항체 생산을 통한 후천 면역을 매개로 관절염이 발생하는, 인간의 류마티스관절

Table 3. Preclinical animal models and the effect of specific inhibitors for the determination of PI3K γ and PI3K δ activity in rheumatoid arthritis

Targeted PI3K	Method of PI3K inhibition	Animal models	Effect of PI3K inhibition
PI3K γ	Pik3cg ^{-/-} mice (50)	α CII-induced arthritis	<ul style="list-style-type: none"> - Very mild paw swelling with a reduced number of infiltrating cells - Less severe cartilage erosion - Low histopathological scores in synovial inflammation and cartilage erosion - Few neutrophil in the arthritic joints
PI3K γ	AS-605240 (50)	Collagen-induced arthritis	<ul style="list-style-type: none"> - Semitherapeutic protocol: mild arthritis with no increase in digit inflammation or paw thickness - Therapeutic protocol: reverted digit inflammation and paw thickness, reduced synovial inflammation and cartilage erosion, fewer infiltration of neutrophils in arthritic joints
PI3K γ	AS-605240 (50)	α CII-induced arthritis	<ul style="list-style-type: none"> - Reduced clinical and histological signs of joint inflammation
PI3K γ	p110 γ ^{-/-} mice (51)	K/BxN serum transfer model	<ul style="list-style-type: none"> - Reduction in the extent of paw edema - Reduced LTB4-mediated neutrophil tissue accumulation
PI3K γ	p110 γ ^{-/-} mice (53)	hTNFtg mice	<ul style="list-style-type: none"> - Reduced severity of arthritis - Less severe joint inflammation in histological analysis - Less formation of TRAP-positive synovial osteoclasts - Reduction of total cell number in synovial tissue - Less cartilage damage - Reduced MMP expression and invasive properties in synovial fibroblasts
PI3K γ	AS-605240 (52)	Antigen-induced arthritis (AIA)	<ul style="list-style-type: none"> - Marked decrease of clinical symptoms in early AIA - Diminished macrophage migration and activation - Impaired macrophage and neutrophil infiltration into the knee joint
PI3K γ	p110 γ ^{-/-} mice (52)	Antigen-induced arthritis (AIA)	<ul style="list-style-type: none"> - Decrease of clinical symptoms in early AIA - Inhibited migration of macrophages towards C5a - Decreased activity of peritoneal macrophages
PI3K δ	IC87114 (54)	Collagen-induced arthritis	<ul style="list-style-type: none"> - Decrease of osteoclast formation - Inhibited bone resorption activity of osteoclasts
PI3K δ	p110 δ ^{-/-} mice (51)	K/BxN serum transfer model	<ul style="list-style-type: none"> - Reduction in the extent of paw edema - Reduced LTB4-mediated neutrophil tissue accumulation - Slow migration velocity of neutrophils
PI3K δ	IC87114 (51)	K/BxN serum transfer model	<ul style="list-style-type: none"> - Reduction in the overall extent of inflammation and associated bone and cartilage erosion
PI3K δ	p110 γ δ ^{-/-} mice (51)	K/BxN serum transfer model	<ul style="list-style-type: none"> - Minimal paw swelling - Relatively normal articular surfaces, intact joint spaces, and absence of significant periarticular inflammation - Limited movement of neutrophils

염의 병인과 가장 가까운 기전을 보이는 모델이다. 콜라겐 유도성 관절염 모델에서 관절염이 시작한 초기에 PI3K γ 의 선택적 억제제인 AS-605240를 투여한 경우 관절의 염증이나 종창이 증가하지 않고, 인도메타신 투여군에 비해서도 윤활막염과 연골 미란이 유의하게 덜 발생하여 예방적 효과를 보인다. 이미 심한 관절염이 진행된 후 AS-605240 투여를 시작한 경우에도 윤활막염과 연골 미란, 그리고 관절내 중성구 침윤이 감소하는 좋은 치료 효과를 볼 수가 있다 (50). 인간의 TNF 유전자 도입 마우스에서 p110 γ 유전자를 결핍시키면 임상적 관절염의 중증도, 조직학적 윤활막염의 정도, 윤활막내 파골세포의 형성, 윤활막에 침윤된 총 세포의 수, 연골 손상의 정도가 모두 낮으며 윤활막 섬유모세포의 metalloproteinase (MMP) 발현 및 조직 침범성(invasiveness)의 정도가 감소한다 (53).

관절염 전임상 동물 모델에서 PI3K δ 의 작용을 살펴보면, 콜라겐 유도성 관절염 유발시 PI3K δ 의 선택적 억제제인 IC87114를 투여하면 파골세포의 형성과 파골세포의 골흡수력이 저하된다 (54). K/BxN 혈청 전환 모델에서 관절염 유도시 p110 δ 의 유전적 결핍이나 선택적 억제제 투여시 임상적 관절 종창이 감소하고 윤활막염은 물론 골과 연골 미란의 정도가 감소하며 LTB4 매개성 중성구의 조직 침윤 정도 및 그 속도가 저하된다 (51). 그리고 두 가지 소분자를 동시에 저해하는 경우 관절염 제어 효과가 더욱 증강되어 나타났는데, p110 γ/δ 유전자 동시 결핍 마우스 또는 p110 γ 유전자 결핍 마우스에 PI3K δ 억제제를 투여하여 관절염 유도시 관절의 종창이 거의 없어 관절염의 임상적 증상이 미미하고, 조직학적 관찰에서도 윤활막염을 동반하지 않은 정상에 가까운 관절 조직 소견을 보이며, 중성구의 이동이 매우 지연된다 (51). 이러한 결과를 볼 때 각 소분자를 저해하는 것보다 두 가지 소분자를 동시에 저해하는 것이 질환을 조절하는데 있어 더욱 효과적인 방법임을 예상할 수 있다. Table 3은 류마티스관절염과 관련된 전임상 동물 모델에서 PI3K의 역할에 대한 연구를 요약한 것이다.

류마티스관절염 환자의 조직과 세포에서 PI3K γ 와 PI3K δ 의 발현

아직까지 류마티스관절염과 관련된 인체 조직이나 세포에서 각 PI3K 소단위의 면역학적 기능과 병인에 기여하는 역할에 대한 연구는 충분하지 않은 실정이다. 두 개의 연구에서 환자의 윤활막 조직과 세포에서 각 소분자의 발현을 조사하였는데, 류마티스관절염 환자의 윤활막 조직과 섬유모세포에서 PI3K γ 와 PI3K δ 의 발현이 골관절염 등 대조군에 비해 유의하게 증가되어 있다 (53,55). 또한 PI3K γ 의 발현은 류마티스 윤활막 섬유모세포뿐 아니라 윤활막 내 대식세포에서도 증가되어 있다 (53). 거의 모든 세포에 존재하는 PI3K α 와 PI3K β 와는 달리 PI3K γ 와 PI3K δ 는 백혈구 세포 등 일부 세포에서만 존재한다는 것이 일반적인 경우이나 종양 세포나 류마티스 윤활막 섬유모세포에서도

이 소분자들이 이상 발현 된다는 것은 질병의 치료 기전에 대한 또 다른 가능성을 제공해 준다. 즉 이러한 소분자들의 억제가 혈액에서 유래한 면역 세포뿐 아니라 섬유모세포 등 질환 특이적인 세포의 면역생물학적 작용을 억제하여 세포간 상호 작용까지 조절함으로써 그 치료 효과가 증강될 수 있을 것이다. 또한 윤활막 섬유모세포에서 TNF나 IL-1 등 전염증성 시토카인의 자극에 의해 PI3K δ 의 발현이 뚜렷하게 증가하며 세포의 성장과 자가사멸에 영향을 주어 류마티스 윤활막내 세포의 증식을 조절한다 (55). 다른 연구에서는 류마티스 윤활막 섬유모세포를 TNF로 자극할 때 PI3K γ 차단제를 함께 투여하면 MMP-3의 발현과 침윤성이 저해되는 것으로 나타나 이 소분자의 억제가 뼈와 연골 파괴를 조절하여 관절 보호 효과를 보일 수 있음을 예상하게 한다 (53). 그리고 반응성 관절염 환자의 활액에서 분리한 단핵구를 anti-CD3로 자극할 때 PI3K δ 차단제를 투여하면 IFN- γ , TNF- α 그리고 IL-17의 생산이 감소하는 것으로 보아, 염증성 관절염에서 PI3K δ 가 Th1과 Th17 T 세포 반응과 분화에 결정적인 역할을 한다는 것을 시사한다 (56). 실제 환자의 조직과 세포에서 PI3K γ 와 PI3K δ 의 발현이 증가되어 있고, 이러한 물질의 생산이 TNF나 IL-1 등 전염증성 시토카인의 자극을 받는다는 사실에서 이러한 소분자들의 억제가 류마티스관절염 환자에서 질환의 진행을 조절할 수 있음을 시사한다.

질병 치료제로서의 PI3K γ 와 PI3K δ 억제제의 현재와 전망

PI3K γ 와 PI3K δ 는 선천 그리고 후천 면역계에 작용하는 세포들의 생존과 생물학적 작용에 영향을 주는 주요 물질로, 자가면역 질환뿐 아니라 종양, 대사성 질환, 동맥경화증 등의 질환의 병인에 깊게 관여하고 있다. 류마티스관절염의 치료 효과에 대한 연구에서 여러 관절염 동물 모델을 통해 이 소분자들의 억제시 임상적 관절염의 중증도와 조직학적 윤활막염이 감소하고, 윤활막내 세포 침윤이 저해되며, 연골과 뼈 파괴를 약화시키는 효과가 있음을 앞서 소개하였다 (47,50,52-54). 또한 이 두 소분자를 동시에 억제할 때 관절염의 예방 및 치료 효과가 증강되어 동시 억제제가 더욱 우수한 효과를 보일 수 있음을 기대하게 된다 (51). 이러한 기초 연구를 토대로 PI3K γ 와 PI3K δ 차단제의 개발이 대표적 자가면역 질환인 류마티스관절염이나 전신홍반루푸스의 치료의 새로운 방법으로써 관심 받고 있다 (7,15,57). 현재까지 개발된 PI3K γ 차단제로는 AS252424와 AS604850 등이 있으며 이 약제들은 이미 전임상 동물 모델에서 관절염 제어 효과가 입증되었다 (50,52). PI3K δ 차단제로는 IC871114가 관절염 동물 모델에서 연구 되었고 (51), CAL-101, CAL-263, AMG-319 등은 기초 연구뿐 아니라 종양 질환을 중심으로 1상과 2상 임상 연구가 진행 중에 있다 (58,59). 또한 PI3K γ 와 PI3K δ 를 동시에 차단하는 약물로는 IPI-145가 있으며 비공식적으로 관절염 동물 모델 실험과 1상 임상 연구를 끝내고 결과 발표를 준비 중

에 있다. 이미 류마티스관절염의 치료제로 JAK 차단제와 Syk 차단제가 사용 승인을 받았고, 기존의 생물학적 제제에 버금가는 효과와 더 적은 부작용과 간편하고 비침습적인 복용법으로 인해 향후 류마티스관절염의 치료에 사용이 증가될 것으로 예상된다. 이러한 추세에 발맞추어 여러 신호 전달 물질 차단제에 대한 연구가 최근 활발히 이루어지고 있으며, 이 중 가장 큰 치료 효과를 기대할 수 있고 조속한 시일 내 약제로서 임상에서의 적용이 가능한 물질이 바로 PI3K γ 와 PI3K δ 일 것이다.

결 론

PI3K는 여러 면역 세포에서 세포의 발생, 분화, 성장, 증식과 활성화를 조절하여 선천 면역과 후천 면역 매개성 질환의 병인에 깊이 관여하고 있다. PI3K γ 와 PI3K δ 소분자들은 류마티스관절염 환자의 윤활막과 세포에 과발현되어 있으며 이 소분자들에 대한 유전적 차단이나 약물적 제어가 관절염 전임상 동물 모델에서 관절염을 조절하는데 유의한 효과가 있었다. 이러한 병인과 치료 효과에 근거하여 PI3K γ 와 PI3K δ 에 대한 소분자 저해제가 류마티스관절염의 새로운 치료제로써 우수한 효과를 보일 가능성이 높을 것으로 예상된다.

감사의 글

이 논문 2011학년도 건국대학교의 연구년 교원 지원에 의하여 연구되었습니다.

참고문헌

1. Scott DL, Wolfe F, Huizinga TW. Rheumatoid arthritis. *Lancet* 2010;376:1094-108.
2. Boissier MC, Semerano L, Challal S, Saidenberg-Kermanac'h N, Falgarone G. Rheumatoid arthritis: from autoimmunity to synovitis and joint destruction. *J Autoimmun* 2012;39:222-8.
3. Keystone EC, Smolen J, van Riel P. Developing an effective treatment algorithm for rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2012;51 Suppl 5:v48-54.
4. Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, Funovits J, Felson DT, Bingham CO 3rd, et al. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis Rheum* 2010;62:2569-81.
5. Singh JA, Furst DE, Bharat A, Curtis JR, Kavanaugh AF, Kremer JM, et al. 2012 update of the 2008 American College of Rheumatology recommendations for the use of disease-modifying antirheumatic drugs and biologic agents in the treatment of rheumatoid arthritis. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 2012;64:625-39.
6. Rubbert-Roth A. Assessing the safety of biologic agents in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2011;51 Suppl 5:v38-47.
7. Fleischmann R. Novel small-molecular therapeutics for rheumatoid arthritis. *Curr Opin Rheumatol* 2012;24:335-41.
8. Cohen S, Fleischmann R. Kinase inhibitors: a new approach to rheumatoid arthritis treatment. *Curr Opin Rheumatol* 2010;22:330-5.
9. Norman P. Selective JAK1 inhibitor and selective Tyk2 inhibitor patents. *Expert Opin Ther Pat* 2012;22:1233-49.
10. Cantley LC. The phosphoinositide 3-kinase pathway. *Science* 2002;296:1655-7.
11. Yu J, Zhang Y, McIlroy J, Rordorf-Nikolic T, Orr GA, Backer JM. Regulation of the p85/p110 phosphatidylinositol 3'-kinase: stabilization and inhibition of the p110alpha catalytic subunit by the p85 regulatory subunit. *Mol Cell Biol* 1998;18:1379-87.
12. Geering B, Cutillas PR, Nock G, Gharbi SI, Vanhaesebroeck B. Class IA phosphoinositide 3-kinases are obligate p85-p110 heterodimers. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007;104:7809-14.
13. Fruman DA, Cantley LC. Phosphoinositide 3-kinase in immunological systems. *Semin Immunol* 2002;14:7-18.
14. Stephens LR, Eguinoa A, Erdjument-Bromage H, Lui M, Cooke F, Coadwell J, et al. The G beta gamma sensitivity of a PI3K is dependent upon a tightly associated adaptor, p101. *Cell* 1997;89:105-14.
15. Marone R, Cmiljanovic V, Giese B, Wymann MP. Targeting phosphoinositide 3-kinase: moving towards therapy. *Biochim Biophys Acta* 2008;1784:159-85.
16. Manning BD, Cantley LC. AKT/PKB signaling: navigating downstream. *Cell* 2007;129:1261-74.
17. Saunders RN, Metcalfe MS, Nicholson ML. Rapamycin in transplantation: a review of the evidence. *Kidney Int* 2001;59:3-16.
18. Rohrschneider LR, Fuller JF, Wolf I, Liu Y, Lucas DM. Structure, function, and biology of SHIP proteins. *Genes Dev* 2000;14:505-20.
19. Wishart MJ, Dixon JE. PTEN and myotubularin phosphatases: from 3-phosphoinositide dephosphorylation to disease. *Trends Cell Biol* 2002;12:579-85.
20. Bi L, Okabe I, Bernard DJ, Wynshaw-Boris A, Nussbaum RL. Proliferative defect and embryonic lethality in mice homozygous for a deletion in the p110alpha subunit of phosphoinositide 3-kinase. *J Biol Chem* 1999;274:10963-8.
21. Bi L, Okabe I, Bernard DJ, Nussbaum RL. Early embryonic lethality in mice deficient in the p110beta catalytic subunit of PI 3-kinase. *Mamm Genome* 2002;13:169-72.
22. Barber DF, Bartolomé A, Hernandez C, Flores JM, Redondo C, Fernandez-Arias C, et al. PI3Kgamma inhibition blocks glomerulonephritis and extends lifespan in a mouse model of systemic lupus. *Nat Med* 2005;11:933-5.
23. Comerford I, Litchfield W, Kara E, McColl SR. PI3K γ drives priming and survival of autoreactive CD4(+) T cells during experimental autoimmune encephalomyelitis. *PLoS One* 2012;7:e45095.
24. Ferrandi C, Ardisson V, Ferro P, Rückle T, Zaratini P, Ammannati E, et al. Phosphoinositide 3-kinase gamma inhibition plays a crucial role in early steps of inflammation by blocking neutrophil recruitment. *J Pharmacol Exp Ther* 2007;322:923-30.

25. Rommel C, Camps M, Ji H. PI3K delta and PI3K gamma: partners in crime in inflammation in rheumatoid arthritis and beyond? *Nat Rev Immunol* 2007;7:191-201.
26. Sasaki T, Irie-Sasaki J, Jones RG, Oliveira-dos-Santos AJ, Stanford WL, Bolon B, et al. Function of PI3Kgamma in thymocyte development, T cell activation, and neutrophil migration. *Science* 2000;287:1040-6.
27. Webb LM, Vigorito E, Wymann MP, Hirsch E, Turner M. Cutting edge: T cell development requires the combined activities of the p110gamma and p110delta catalytic isoforms of phosphatidylinositol 3-kinase. *J Immunol* 2005;175:2783-7.
28. Swat W, Montgrain V, Doggett TA, Douangpanya J, Puri K, Vermi W, et al. Essential role of PI3Kdelta and PI3Kgamma in thymocyte survival. *Blood* 2006;107:2415-22.
29. Oak JS, Deane JA, Kharas MG, Luo J, Lane TE, Cantley LC, et al. Sjögren's syndrome-like disease in mice with T cells lacking class 1A phosphoinositide-3-kinase. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006;103:16882-7.
30. Okkenhaug K, Patton DT, Bilancio A, Garçon F, Rowan WC, Vanhaesebroeck B. The p110delta isoform of phosphoinositide 3-kinase controls clonal expansion and differentiation of Th cells. *J Immunol* 2006;177:5122-8.
31. Locke NR, Patterson SJ, Hamilton MJ, Sly LM, Krystal G, Levings MK. SHIP regulates the reciprocal development of T regulatory and Th17 cells. *J Immunol* 2009;183:975-83.
32. Patton DT, Garden OA, Pearce WP, Clough LE, Monk CR, Leung E, et al. Cutting edge: the phosphoinositide 3-kinase p110 delta is critical for the function of CD4+CD25+Foxp3+ regulatory T cells. *J Immunol* 2006;177:6598-602.
33. Puri KD, Gold MR. Selective inhibitors of phosphoinositide 3-kinase delta: modulators of B-cell function with potential for treating autoimmune inflammatory diseases and B-cell malignancies. *Front Immunol* 2012;3:256.
34. Okkenhaug K, Bilancio A, Farjot G, Priddle H, Sancho S, Peskett E, et al. Impaired B and T cell antigen receptor signaling in p110delta PI 3-kinase mutant mice. *Science* 2002;297:1031-4.
35. Sujobert P, Bardet V, Cornillet-Lefebvre P, Hayflick JS, Prie N, Verdier F, et al. Essential role for the p110delta isoform in phosphoinositide 3-kinase activation and cell proliferation in acute myeloid leukemia. *Blood* 2005;106:1063-6.
36. Bilancio A, Okkenhaug K, Camps M, Emery JL, Ruckle T, Rommel C, et al. Key role of the p110delta isoform of PI3K in B-cell antigen and IL-4 receptor signaling: comparative analysis of genetic and pharmacologic interference with p110delta function in B cells. *Blood* 2006;107:642-50.
37. Zhang TT, Okkenhaug K, Nashed BF, Puri KD, Knight ZA, Shokat KM, et al. Genetic or pharmaceutical blockade of p110delta phosphoinositide 3-kinase enhances IgE production. *J Allergy Clin Immunol* 2008;122:811-9.
38. Omori SA, Cato MH, Anzelon-Mills A, Puri KD, Shapiro-Shelef M, Calame K, et al. Regulation of class-switch recombination and plasma cell differentiation by phosphatidylinositol 3-kinase signaling. *Immunity* 2006;25:545-57.
39. Ji H, Rintelen F, Waltzinger C, Bertschy Meier D, Bilancio A, Pearce W, et al. Inactivation of PI3Kgamma and PI3Kdelta distorts T-cell development and causes multiple organ inflammation. *Blood* 2007;110:2940-7.
40. Li Z, Jiang H, Xie W, Zhang Z, Smrcka AV, Wu D. Roles of PLC-beta2 and -beta3 and PI3Kgamma in chemotactant-mediated signal transduction. *Science* 2000;287:1046-9.
41. Condliffe AM, Davidson K, Anderson KE, Ellson CD, Crabbe T, Okkenhaug K, et al. Sequential activation of class IB and class IA PI3K is important for the primed respiratory burst of human but not murine neutrophils. *Blood* 2005;106:1432-40.
42. Kulkarni S, Sitaru C, Jakus Z, Anderson KE, Damoulakis G, Davidson K, et al. PI3K β plays a critical role in neutrophil activation by immune complexes. *Sci Signal* 2011;4:ra23.
43. Lee KS, Lee HK, Hayflick JS, Lee YC, Puri KD. Inhibition of phosphoinositide 3-kinase delta attenuates allergic airway inflammation and hyperresponsiveness in murine asthma model. *FASEB J* 2006;20:455-65.
44. Wymann MP, Marone R. Phosphoinositide 3-kinase in disease: timing, location, and scaffolding. *Curr Opin Cell Biol* 2005;17:141-9.
45. Smith DF, Deem TL, Bruce AC, Reutershan J, Wu D, Ley K. Leukocyte phosphoinositide-3 kinase {gamma} is required for chemokine-induced, sustained adhesion under flow in vivo. *J Leukoc Biol* 2006;80:1491-9.
46. Ferguson GJ, Milne L, Kulkarni S, Sasaki T, Walker S, Andrews S, et al. PI(3)Kgamma has an important context-dependent role in neutrophil chemokinesis. *Nat Cell Biol* 2007;9:86-91.
47. Del Prete A, Vermi W, Dander E, Otero K, Barberis L, Luini W, et al. Defective dendritic cell migration and activation of adaptive immunity in PI3Kgamma-deficient mice. *EMBO J* 2004;23:3505-15.
48. Berod L, Heinemann C, Heink S, Escher A, Stadelmann C, Drube S, et al. PI3K γ deficiency delays the onset of experimental autoimmune encephalomyelitis and ameliorates its clinical outcome. *Eur J Immunol* 2011;41:833-44.
49. Krishnamoorthy N, Oriss TB, Paglia M, Fei M, Yarlaga M, Vanhaesebroeck B, et al. Activation of c-Kit in dendritic cells regulates T helper cell differentiation and allergic asthma. *Nat Med* 2008;14:565-73.
50. Camps M, Ruckle T, Ji H, Ardisson V, Rintelen F, Shaw J, et al. Blockade of PI3Kgamma suppresses joint inflammation and damage in mouse models of rheumatoid arthritis. *Nat Med* 2005;11:936-43.
51. Randis TM, Puri KD, Zhou H, Diacovo TG. Role of PI3Kdelta and PI3Kgamma in inflammatory arthritis and tissue localization of neutrophils. *Eur J Immunol* 2008;38:1215-24.
52. Gruen M, Rose C, König C, Gajda M, Wetzker R, Bräuer

- R. Loss of phosphoinositide 3-kinase gamma decreases migration and activation of phagocytes but not T cell activation in antigen-induced arthritis. *BMC Musculoskeletal Disord* 2010;11:63.
53. Hayer S, Pundt N, Peters MA, Wunrau C, Kühnel I, Neugebauer K, et al. PI3Kgamma regulates cartilage damage in chronic inflammatory arthritis. *FASEB J* 2009;23:4288-98.
 54. Toyama S, Tamura N, Haruta K, Karakida T, Mori S, Watanabe T, et al. Inhibitory effects of ZSTK474, a novel phosphoinositide 3-kinase inhibitor, on osteoclasts and collagen-induced arthritis in mice. *Arthritis Res Ther* 2010;12:R92.
 55. Bartok B, Boyle DL, Liu Y, Ren P, Ball ST, Bugbee WD, et al. PI3 kinase δ is a key regulator of synovocyte function in rheumatoid arthritis. *Am J Pathol* 2012;180:1906-16.
 56. Soond DR, Bjørge E, Moltu K, Dale VQ, Patton DT, Torgersen KM, et al. PI3K p110delta regulates T-cell cytokine production during primary and secondary immune responses in mice and humans. *Blood* 2010;115:2203-13.
 57. Banham-Hall E, Clatworthy MR, Okkenhaug K. The Therapeutic Potential for PI3K Inhibitors in Autoimmune Rheumatic Diseases. *Open Rheumatol J* 2012;6:245-58.
 58. Meadows SA, Vega F, Kashishian A, Johnson D, Diehl V, Miller LL, et al. PI3K δ inhibitor, GS-1101 (CAL-101), attenuates pathway signaling, induces apoptosis, and overcomes signals from the microenvironment in cellular models of Hodgkin lymphoma. *Blood* 2012;119:1897-900.
 59. Norman P. Selective PI3K δ inhibitors, a review of the patent literature. *Expert Opin Ther Pat* 2011;21:1773-90.