

RESEARCH UPDATE

Atorvastatin, γ -tocotrienol, Celecoxib 병합 약물요법이 대장 암세포주에 대해 시너지 효과가 있는가?

장현주

한림대학교 의과대학 한강성심병원 내과학교실

Could Atorvastatin-based Combination Therapy Provide Synergistic Effects against Human Colon Cancer Cells?

Hyun Joo Jang

Department of Internal Medicine, Hangang Sacred Heart Hospital, Hallym University College of Medicine, Seoul, Korea

Article: Synergistic Actions of Atorvastatin with γ -tocotrienol and Celecoxib Against Human Colon Cancer HT-29 and HCT-116 Cells. (Int J Cancer 2010;126:852-863)

요약: 이번 연구는 인간대장암세포주(H-29, HCT-116)를 이용하여 atorvastatin (ATST), γ -tocotrienol (γ -TT), celecoxib (CXIB)의 병합 치료시 시너지 효과가 있는 지에 대한 연구로, ATST와 γ -TT, CXIB를 함께 투여했을 때 세포 성장 억제에 상승효과가 있음을 증명하였다. 먼저 단독투여와 비교하여 약물용량을 절반씩 감량한 ATST와 γ -TT의 병합 투여시 세포성장억제에 상승효과를 확인하였다. Mevalonate와 제라닐제라닐 피로인산염(geranylgeranyl pyrophosphate, GGpp)를 투여하여 ATST의 성장억제효과를 대부분 상쇄시켰으나, γ -TT의 성장억제효과는 미미하게 감소시켜 γ -TT는 HMG-CoA reductase와 무관한 다른 기전으로 세포의 성장을 억제시킬 것으로 추정할 수 있었다. 한편 파르네실 피로인산(farnesyl pyrophosphate, Fpp)과 squalene을 처리하였을 때 ATST와 γ -TT의 성장억제효과에 거의 영향을 끼치지 못하여, 대장암세포성장의 억제에 파르네실화(farnesylation)가 아니라 단백질 제라닐제라닐화(protein geranylgeranylation)가 관련되어 있음을 알 수 있었다. Mevalonate와 squalene은 모두 ATST에 의해 감소된 세포 내 콜레스테롤을 회복시켰

으나, mevalonate만이 세포성장억제 효과를 상쇄시켜 암세포의 성장억제에 세포 내 콜레스테롤 농도는 중요하지 않았다. ATST 투여 후 HMG-CoA reductase의 단백질발현은 증가하였고, γ -TT는 증가된 HMG-CoA reductase를 감소시켰다. ATST는 또한 세포막에 결합된 RhoA를 감소시켰는데, 아마도 단백질 제라닐제라닐화의 감소 때문으로 추정하였고, γ -TT를 추가하면 이 효과가 더 증가하였다. 따라서 HMG-CoA reductase와 RhoA를 매개로 ATST와 γ -TT 상승효과가 나타날 것으로 추정하였다. ATST, γ -TT, CXIB를 각각 1/3 용량으로 감량하여 병합 투여하였을 때 단독 또는 2제 병합에 비하여 대장암 세포의 성장억제에 시너지 효과를 나타내었고, G0/G1 세포 주기 정지와 세포자멸사 유도에 의해 세 약물의 시너지 효과가 나타나는 것을 증명하였다.

해설: ATST는 statin 계열의 약물로 콜레스테롤, 저밀도지단백(low density lipoprotein)을 감소시켜, 심혈관질환의 위험을 낮추는 것으로, 널리 사용되는 약물이다. Statin의 주요 기능은 HMG-CoA reductase를 억제하는 것으로 HMG-CoA reductase는 콜레스테롤 합성과정에서 매우 중요한 효소로

© This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

교신저자: 장현주, 150-719, 서울시 영등포구 영등동 94-200, 한림대학교 의과대학 한강성심병원 소화기내과

Correspondence to: Hyun Joo Jang, Division of Gastroenterology, Department of Internal Medicine, Hangang Sacred Heart Hospital, Hallym University College of Medicine, 94-200 Youngdeungpo-dong, Youngdeungpo-gu, Seoul 150-719, Korea. Tel: +82-2-2639-5400, Fax: +82-2-677-9756, E-mail: jhj1229@freechal.com

Financial support: None. Conflict of interest: None.

HMG-CoA를 mevalonate로 변화시킨다. 따라서 statin은 콜레스테롤 합성의 중간 대사산물인 Fpp, GGpp 등의 합성도 억제하여, Ras/Rho 등 small G-protein의 isoprenylation도 억제시킨다.^{1,2} Statin은 단백질 분해 공장인 단백질분해효소 복합체(proteasomes)를 억제하여 G1기 세포 주기 억제에도 관련이 있을 가능성이 있다. 일반적으로 statin은 염증반응, 면역기능조절, 혈관신생, 세포자멸사 및 세포 증식 등 여러 질환과 관련이 있는 세포의 기능을 조절하여 암 예방 효과를 나타낸다.³

Totrienols (TTs)은 tocopherols (TPs)와 함께 비타민 E 군으로 TTs는 불포화 isoprenoid side chain을 가지고 있으나, TPs는 16-탄소 포화 phytyl side chain을 포함하는 것이 차이점이다. 메틸기의 위치와 숫자에 따라, α -, β -, γ -, δ -TPs와 α -, β -, γ -, δ -TTs로 분류한다.⁴ TTs는 TPs보다 더 강력한 항암효과가 있는 것으로 알려져 있고, TTs는 다양한 molecular targets와 신호전달경로에 영향을 미쳐, tocotrienol rich fraction을 인간대장암 세포인 RKO 세포에 투여하였을 때 Bax/Bcl2 비율에 변화와 함께 세포자멸사가 유도되었고, p21^{Cip1/Waf1}의 발현이 증가하였다.⁵ γ -TT는 NF- κ B와 Akt 활성을 감소시켜, NF- κ B 신호 경로를 억제하여 암세포 증식을 억제하고, adhesive molecules의 발현을 감소시켜, 단핵구와 내피세포의 상호작용을 방해한다.⁶ 특히, γ -TT와 δ -TT는 sterol 결핍 상태에서 보상적인 HMG-CoA reductase의 증가를 약화시킨다.⁷

CXIB는 비스테로이드성 항염제 군에 속한 약물로 COX-2 선택억제제이다. COX-2의 비정상적 발현은 세포의 생존을 촉진하고, 혈관신생 등으로 발암과정과 전이에 관여한다.^{8,9} CXIB는 여러 암세포주에서 cyclin을 감소시키고, cyclin-dependent kinase 억제제를 증가시켜, G1기에서 세포주기정지를 유도한다.^{10,11} 또한 p21^{Cip1/Waf1}과 p27^{Kip1}을 Akt 매개로 불활성화시켜 세포 성장을 억제시키며, NF- κ B 억제를 통해 암세포의 자멸사를 유도하고, 암 발생에 중요한 경로 중 하나인 APC/ β -catenin 경로를 억제한다.^{12,13}

이들 세 약물의 분자생물학적 항암 효과에도 불구하고, 각각의 약물을 단독으로 투여할 경우 상대적으로 고용량을 투여하여야 하고, CXIB를 장기간 투여하면 소화기계와 심혈관계 부작용의 위험이 증가하며, statin 역시 고콜레스테롤혈증 환자에 투여할 때 간기능이상, 근염, 근육병 등 몇 가지 부작용이 발생할 수 있다. 특히, statin을 암예방약물로 고려할 경우, 콜레스테롤이 높지 않은 환자에 투여 시 부작용에 대해서도 고려하여야 한다. 이를 극복하기 위해 적절하게 약물을 병합하여 투여 용량을 줄여서 부작용은 감소시키면서, 약물 상호작용에 의한 상승 효과를 기대할 수 있는데, 저자들은 ATST와 CXIB를 병합하여 상승효과를 이미 보고하였고, 이번 연구

에서는 ATST, γ -TT, CXIB의 병합 투여에 대하여 연구하였다.¹⁴

이번 연구에서 저자들은 ATST와 γ -TT의 병합으로 암세포 성장억제에 상승효과를 증명하였는데, ATST와 γ -TT의 병합이 세포자멸사를 더 많이 유도하였고, ATST의 HMG-CoA reductase 억제에 대하여 보상적으로 증가된 HMG-CoA reductase의 단백질 발현을 γ -TT가 약화시켜 상승효과를 나타내었다. 이와 같은 맥락에서, ATST와 γ -TT의 병합 시 RhoA의 발현이 더욱 억제되어 G₁/S 세포주기의 이행이 중단되므로 암세포 성장 억제의 상승 효과가 나타나는 것으로 병합요법의 기전을 설명하였다. 또한 ATST, γ -TT, CXIB의 병합시 단독투여나 ATST, γ -TT 병합보다 G₀/G₁기 세포주기 정지를 더 유도하며, ATST와 CXIB의 병합시 다른 병합이나 단독투여 보다 세포 주기 진행을 억제하는 p21^{Cip1/Waf1}의 발현을 유의하게 증가시켜, ATST와 CXIB의 병합은 세포 주기 정지를 효과적으로 유도하였다.

이 연구를 통해, ATST와 γ -TT는 세포자멸사 유도를 통하여, ATST와 CXIB는 세포주기정지를 통하여 상승 효과를 나타내며, 세 약물을 병합하여 각 약물의 용량을 줄이면서 상승효과를 기대할 수 있는 분자생물학적 기전을 제시하였다. 이상적인 암 예방약물은 그 예방 효과가 확실하게 증명되어야 하며, 용법이 간단하고, 장기복용 시 부작용이 적고, 비싸지 않아야 한다. CXIB, statin 등을 비롯하여 대장암의 예방을 위한 약물들에 대한 여러 임상 결과들을 보고하고 있으며, 부작용을 줄이기 위해 다양한 약물의 병용요법을 시도하고 있으나, 아직까지 이상적인 화학예방 치료를 위해서는 더 많은 연구가 필요하다. 이번 연구결과는 그 병용 요법에 대한 기초연구로서, 각 약물의 단점은 줄이고 장점을 살린 이상적인 암예방 및 치료를 위한 복합제의 개발을 기대해본다.

REFERENCES

1. Holstein SA, Wohlford-Lenane CL, Wiemer DF, Hohl RJ. Isoprenoid pyrophosphate analogues regulate expression of Ras-related proteins. *Biochemistry* 2003;42:4384-4391.
2. Aznar S, Lacal JC. Rho signals to cell growth and apoptosis. *Cancer Lett* 2001;165:1-10.
3. Demierre MF, Higgins PD, Gruber SB, Hawk E, Lippman SM. Statins and cancer prevention. *Nat Rev Cancer* 2005;5:930-942.
4. Constantinou C, Papas A, Constantinou AI. Vitamin E and cancer: an insight into the anticancer activities of vitamin E isomers and analogs. *Int J Cancer* 2008;123:739-752.
5. Agarwal MK, Agarwal ML, Athar M, Gupta S. Tocotrienol-rich fraction of palm oil activates p53, modulates Bax/Bcl2 ratio and induces apoptosis independent of cell cycle association. *Cell Cycle* 2004;3:205-211.

6. Theriault A, Chao JT, Gapor A. Tocotrienol is the most effective vitamin E for reducing endothelial expression of adhesion molecules and adhesion to monocytes. *Atherosclerosis* 2002; 160:21-30.
7. Parker RA, Pearce BC, Clark RW, Gordon DA, Wright JJ. Tocotrienols regulate cholesterol production in mammalian cells by post-transcriptional suppression of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase. *J Biol Chem* 1993;268:11230-11238.
8. Tsujii M, Kawano S, DuBois RN. Cyclooxygenase-2 expression in human colon cancer cells increases metastatic potential. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:3336-3340.
9. Sheng H, Shao J, Morrow JD, Beauchamp RD, DuBois RN. Modulation of apoptosis and Bcl-2 expression by prostaglandin E2 in human colon cancer cells. *Cancer Res* 1998;58:362-366.
10. Kardosh A, Blumenthal M, Wang WJ, Chen TC, Schönthal AH. Differential effects of selective COX-2 inhibitors on cell cycle regulation and proliferation of glioblastoma cell lines. *Cancer Biol Ther* 2004;3:55-62.
11. Grösch S, Tegeder I, Niederberger E, Bräutigam L, Geisslinger G. COX-2 independent induction of cell cycle arrest and apoptosis in colon cancer cells by the selective COX-2 inhibitor celecoxib. *FASEB J* 2001;15:2742-2744.
12. Kim SH, Song SH, Kim SG, et al. Celecoxib induces apoptosis in cervical cancer cells independent of cyclooxygenase using NF-kappaB as a possible target. *J Cancer Res Clin Oncol* 2004;130:551-560.
13. Maier TJ, Janssen A, Schmidt R, Geisslinger G, Grösch S. Targeting the beta-catenin/APC pathway: a novel mechanism to explain the cyclooxygenase-2-independent anticarcinogenic effects of celecoxib in human colon carcinoma cells. *FASEB J* 2005;19:1353-1355.
14. Yang Z, Xiao H, Jin H, Koo PT, Tsang DJ, Yang CS. Synergistic actions of atorvastatin with gamma-tocotrienol and celecoxib against human colon cancer HT29 and HCT116 cells. *Int J Cancer* 2010;126:852-863.