Molecular Mechanisms of Drug Resistance in Cancer

한림대학교 의과대학 내과학교실

김 효 정

Ⅰ. 서 론

지금까지 암 치료에 대한 많은 발전이 있었지만, 진행된 또는 전이성 암에 대한 현재의 항암 치료에서는 종종 암의 재발로 치료에 실패하게 된다. 현재 항암 화학 요법의 한계는 항암제에 대한 내성으로, 항암제 치료 효율을 떨어지게 하는 가장 큰 요인이기도 하다.[1]

항암제 투여 후 항암 효과에 영향을 주는 두 가지 요인은 첫째 환자 요인으로, 환자의 신체 내에서 항암제의 흡수, 대사, 약물 이동에 이상이 발생되는 경우이며, 두번째 요인은 암 세포의 유전적 또는 후생유전적(epigenetic) 변화로, 약제 내성을 보이는 암세포로의 과성장과 빠른 내성 획득이다.[2] 약제 내성은 암 자체 고유로 발생되기도 하지만 대부분은 암의 진행(악화) 과정 중 또는 장기간의 항암제 투여 중에 유전자 변이를 통하여 획득된다.[3] 또한 이러한 내성은 한 개의 약제에 대한 내성을 획득한 이후 구조적으로나 작용 기전이 전혀 다른 약제들에 대해서도 교차 내성 즉 다약제 내성을 획득하게 되어 항암제의 병합 요법에도 잘 반응하지 않게 된다. 따라서 이러한 항암제 내성 문제를 해결하는 것이 현재 암 치료의 당면한 주요 문제이다. 그 동안 내성을 유발하는 기전에 대해서는 많은 연구가 있었으며, 본 강좌에서는 암에서의 약제 내성 기전에 대해 지금까지 알려진 내용을 살펴보고자 한다.

Ⅱ. 본 론

약제에 대한 내성은 다수의 유전자에서 많은 분자 생물학적 변화가 일어나는 다변적 현상으로 약제의 전달, 대사, 인체 내 미세환경, 세포의 방어 기전 등을 포함한 여러 단계에서 발생된다.[4] 암 세포내의 분자생물학적 변화로는, ATP-의존성 배출 펌프 증가, 손상된 DNA 복구 장치의 활성, 성장 인자들의 활성 증가, 약제 표적물(drug target)의 발현 정도 변화 등으로, 이로 인해 항암제의 약동학적, 약역학적 변화가 초래된다(Fig. 1). 다음은 약제 투여 후 일어 날 수 있는 약제 내성 기전을 단계별로 살펴 본 것이다.

1. 약물 대사 이상

항암제가 암세포까지 적절하게 도달하지 못하게 되는 경우이다. 즉 항암제의 흡수가 저하되거나, 항암제의 대사 혹은 배출이 증가되어 항암제의 혈중 농도가 저하되면서 궁극적으로는 암세포로의 항암제 전달이 감소되면 내성을 유발할 수 있다.

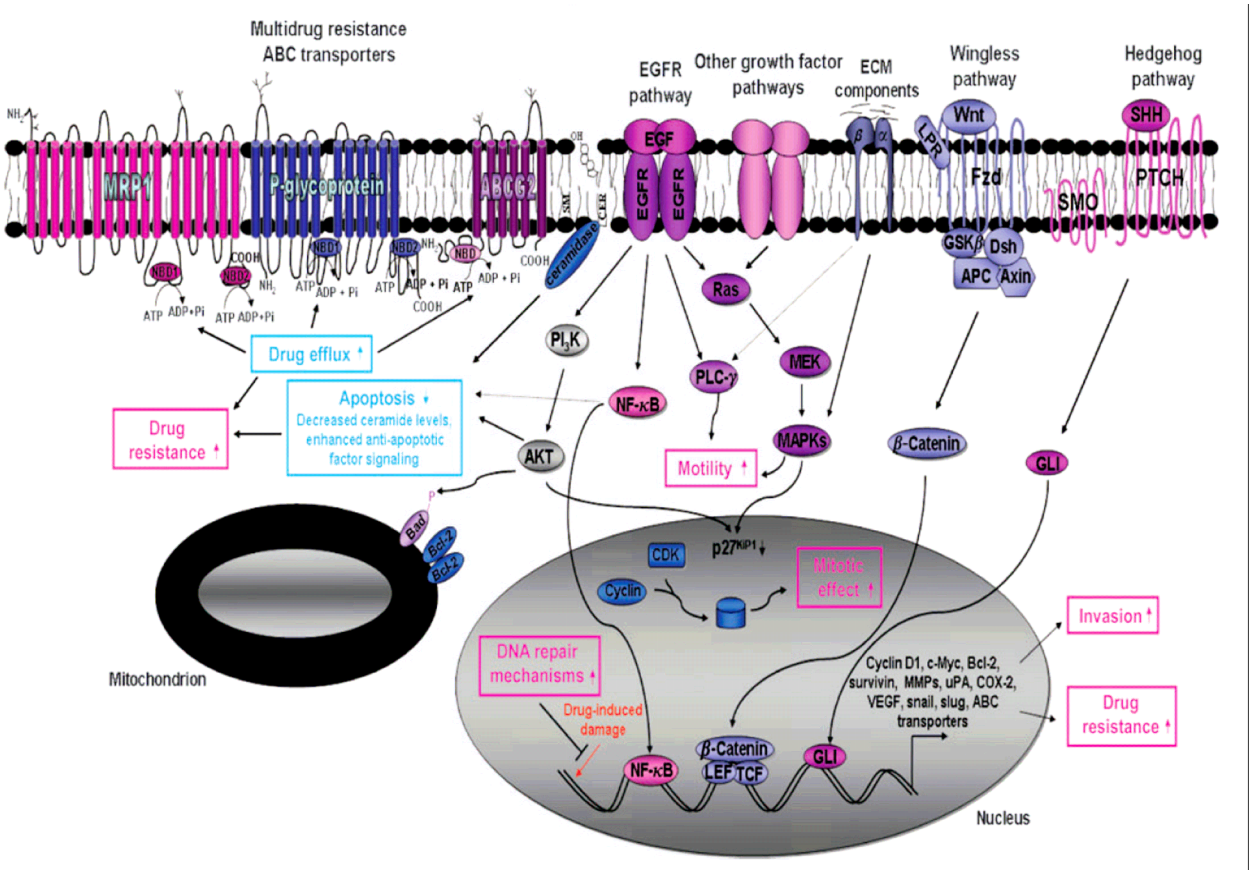

Fig. 1. Schematic showing the possible molecular mechanisms involved in the sustained growth, survival, invasion, and drug resistance of cancer cells.
APC, adenomatous polyposis coli; CDK, cyclin-dependent kinase; CER, ceramide; EGF, epidermal growth factor; EGFR, epidermal growth factor receptor; FZD, Frizzled receptor; IGF, insulin-like growth factor; IGF-1R, insulin-like growth factor-1 receptor; LEF, lymphoid enhancer factor; LPR, low-density lipoprotein receptor-related protein; MAPKs, mitogen-activated protein kinase; MEK, extracellular signal-related kinase kinase; NBD, nucleotide binding domain; NF-kB, nuclear factor-kB; PI3K, phosphatidyl inositol 30-kinase; PLC-g, phospholipase C-g; SHH, sonic hedgehog; SM, sphingomyelin; SMO, smoothened; TCF, T-cell factor; uPA, urokinase plasminogen activator; Wnt, wingless.

첫번째로 대사과정을 살펴보면, 소화기 암을 비롯한 여러 고형 암에 흔히 사용되고 있는 5-FU는 80% 이상이 주로 간에 있는 dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD)에 의해 dihydrofluorouracil로 이화(catabolism)된다. 따라서 DPD가 과발현된 종양에서는 5-FU의 효과가 감소되는 저항이 나타난다.[5] 따라서 DPD 억제제인 eniluracil을 이용하거나 5-FU의 pro-drug인 capecitabine 사용은 DPD를 통한 대사(이화)를 억제함으로써 약의 생물학적 이용을 증가시킬 수 있다. 약제 활성화의 감소도 내성에 관여하는데, 5-FU, Irinotecan (CPT-11)이 항암 효과를 나타내기 위해서 각각의 활성 물질로 전환되어야 하며, 여기에 관여하는 전환 효소들(thymidine phosphorylase, uridine phosphorylase 그리고 carboxylesterase)의 활성도가 5-FU, CPT-11 항암제의 효능과 관련이 있다.

또한 대사 과정 중 약제의 불활성화가 일어나기도 하는데, glutathione (GSH)은 강력한 항산화제로서 oxaliplatin 같은 platinum제재와 결합 시 항암제의 불활성화를 일으키며, 또한 이러한 platinum-GSH 복합체는 ABC transporter proteins의 기질로 작용, 세포 외로 배출되게 됨으로써 GSH가 많은 암에서는 platinum에 저항을 일으킨다.

두 번째로 약제 배출 증가 과정을 살펴보면, 세포막을 통한 약물 흡수 과정에서 약제 내성이 일어날 수 있다. 여러 가지 ABC transporter 단백이 항암제를 능동적으로 세포 외로 배출시킴으로써 암 세포 내 축적되는 항암제의 양을 감소시키고 내성을 일으키는 것이다. ABC transporter는 세포막의 ATP-의존성 배출 펌프로, 약제 내성의 분자생물학적 기전으로 활발히 연구되어 왔으며, 1976년 사람에서 처음 발견된 이후 현재까지 49개의 유전자가 밝혀진 membrane transportor superfamily이다.[6,7] A에서 G까지 7개의 군(ABCA-ABCG)으로 분류되며, 이중 ABCB1 (MDR1), ABCC1 (MRP1), ABCG2 (BCRP; breast cancer resistance protein)를 포함해 여러 ABC transporter가 항암제 내성에 관여한다고 알려져 있다(Table 1).

ABCB군에서는 최초로 다약제 내성 관련 단백으로 보고된 P-glycoprotein 또는 MDR1으로도 알려진 ABCB1이 있다. 이 ABCB1는 vinka alkaloid, anthracyclin, taxane과 같은 많은 항암제의 내성과 관련이 있는 것으로 보고되었다. ABCC (MRP, MDR related protein)군에서는 ABCC1 (MRP1)이 anthracycline 등 여러 항암제의 내성과 관련이 있으며, MRP2는 irinotecan, cisplatin 등의 내성과 관련이 있고, 또한 MRP1, MRP2, MRP4, MRP5는 detoxification 과정에 이용되는 glutathione (GSH)의 배출에도 관여한다고 알려져 있다. ABCG2 (BCRP)는 정상적으로 위장관 특히 십이지장, 간에 존재하여 세포 독성 약제, 독성물질, 발암물질 등을 배출하여 ABCG2와 결합하는 topotecan, irinotecan (CPT-11), SN-38, doxorubicine, methotrexate를 포함한 여러 항암제의 경구 흡수를 제한한다. 또한 급성골수성 백혈병에서는 발현이 증가하여 항암제 내성에 관여하며, Irresa같은 tyrosine kinase inhibitor들이 ABCG2 억제 효과를 나타내 chemo-sensitizer로 개발되었다.

이러한 여러 transporter들은 약제와의 결합에 광범위 특이성(broad spectrum specificity)을 가지고 있어 서로 관련이 없는 많은 다른 약제들에 대해서도 상호 저항을 나타내는 다약제 내성을 일으킨다.[8]

Table 1. MDR ABC transporter superfamily members and their cytotoxic drug resistance profile

Transporter/ Subfamily name	Cytotoxic drug resistance profile
ABCA2	Estramustine, mitoxantrone (MXT), doxorubicin Adriamycin, methotrexate, vinblastine
ABCA3	Doxorubicin, methotrexate, vinblastine
MDR1 (P-gp)/ABCB1	Anthracyclines (doxorubicin, daunorubicin, epirubicin), actinomycin D, colchicine, mitomycin C, epipodophyllotoxin derivatives (etoposide (VP-16), teniposide), methotrexate, mitoxantrone, taxanes (paclitaxel (PTX or taxol), docetaxel (taxotere)), Vinca alkaloids (vincristine, vinblastine)
MPP1/ABCC1	Anthracyclines, colchicine, etoposide, methotrexate, paclitaxel, camptothecine, vincristine, vinblastine
MRP2/ABCC2	Irinotecan (camptothecine-11, CPT-11, or camptosar), active metabolite of irinotecan (7-ethyl-10-hydroxycamptothecine, SN-38), cisplatin, doxorubicin, etoposide, methotrexate, vincristine, vinblastine
BCRP/ABCG2	Anthracyclines, bisantrene, 9-amino- camptothecine, irinotecan, SN-38, topotecan (TPT), mitoxantrone, methotrexate, etoposide, epirubicin, flavopiridol

ABC, ATP-binding cassette; BCRP, breast cancer resistance protein; MDR1, multidrug resistance 1; MRP1, multidrug resistance-associated protein 1; MRP2, multidrug resistance-associated protein 2; P-gp, P-glycoprotein.

2. Drug Target의 유전적 다형성, 변이

항암제의 표적이 되는 물질의 변화 및 변이가 내성을 일으킬 수 있다. 5-FU의 대사 산물인 fluorodeoxyuridine monophosphate (FdUMP)은 thymidylate synthase (TS)를 억제하여 항암 효과를 나타내는데, 5-FU를 투여하게 되면 TS가 자신의 mRNA에 결합하여 translation을 억제하는 negative feedback이 감소함으로써 오히려 TS 단백이 암세포에서 빠르게 증가하는 저항이 나타나기도 한다. 여러 전임상 연구들은 TS 발현 정도가 5-FU의 효과를 예측하는 인자라고 보고하였다.[9]

DNA topoisomerase-I (topo-1) 활성을 억제하는 SN-38 (irinotecan의 활성대사물)은 topo-1과 cleaved DNA의 복합체를 안정화시켜 religation 과정을 억제하는데, topo-1변이는 SN-38에 결합력이 떨어져 irinotecan의 효과를 감소시킨다. topo-I 활성도는 대장암에서 SN-38의 효과와 비례한다는 보고도 있다.[10]

3. 손상 DNA 복구 기전의 활성화

항암제는 직접적(oxaliplatin) 또는 간접적(5-FU and CPT-11)으로 세포 손상을 일으키는데, 손상된 DNA를 복구하는 암세포의 기전은 다양하며 이러한 기전들이 항암제의 감수성이나 내성 획득에 관여할 수 있다. 세포의 DNA 손상을 극복하는 중요한 기전은 nucleoside excision repair system (NER)으로 platinum에 의한 DNA 손상의 주요한 복구 기전으로 알려져 있다. 또한 NER을 조절하는 가장 중요한 유전자의 하나인 excision repair cross complementing 1 (ERCC1)은 cisplatin 저항에 중요한 인자로 이 단백의 발현 증가가 cisplatin 저항과 연관이 있다. 실제로 colon cancer cell lines에서 ERCC1 발현이 oxaliplatin의 효능 감소와 관련이 있었으며,[11] 이러한 연구들은 platinum-based chemotherapies에서 NER(특히 ERCC1)이 내성에 중요한 역할을 한다는 것을 제시하고 있다.

다른 복구 기전인 DNA mismatch repair (MMR) system은 새로 합성되는 DNA 염기서열을 검색하여 복제 과정 중 생성된 single nucleotide mismatches들을 제거하는 장치로, MMR의 소실은 microsatellite instability를 만들게 된다. MMR의 소실 특히 hMLH1 유전자의 소실은 cisplatin, 5-FU 저항과 관련이 있는데, MLH1 발현이 억제된 hMLH1-deficient HCT116 colon cancer cells에서 hMLH1유전자를 다시 발현시키면 5-FU에 더 잘 반응하며,[12] 또 난소암에서 MLH1 유전자를 발현시킬 경우 cisplatin에 대한 감수성이 회복되는 것으로 보고되었다.[13] 하지만 MMR이 oxaliplatin 저항에는 영향을 주지 않는 것으로 알려져 있는데, oxaliplatin제재가 MMR에 의해 인식 되지 않는 DNA-adducts를 만들기 때문이다.

4. 세포 사멸의 억제

세포의 성장과 사멸은 유기적이고도 정확한 조절 장치로 조절되는데, 이러한 장치의 이상 시 세포의 성장과 사멸의 균형이 깨진다. 항암제는 세포사멸을 유도하므로 세포사멸을 조절하는 단백이 항암제 내성을 일으킬 수 있다.

Tumour suppressor protein, p53은 transcription factor로서 cell cycle arrest와 cell death에 중요한 역할을 하여, 항암제로 DNA가 손상된 세포에서 p53은 p21WAF-1/CIP-1와 GADD45같은 단백의 발현을 증가시켜 cell cycle arrest를 유도한다. 또한 p53은 Bax와 Fas (CD95/Apo-1)같은 pro-apoptotic 유전자들의 발현을 증가시켜 DNA가

손상된 세포의 세포사멸을 촉진시킬 수도 있다. 하지만 p53 변이는 많은 종양에서 흔하게 관찰되며 colon cancer cells에서 oxaliplatin-induced apoptosis는 p53에 의존하는데, p53의 기능 이상시 p53-mediated apoptosis가 진행되지 않아 5-FU에 저항을 일으킨다.[14]

또한 세포사멸은 apoptosis effector인 caspases의 영향을 받는데, caspases의 활성은 Bcl-2 proteins으로 조절되는 intrinsic pathway와 tumour necrosis factor (TNF) receptor로 조절되는 extrinsic pathway로 이루어 진다. Bcl-2 family의 역할은 chemotherapy에 대한 반응을 조절하는 것으로, Bcl-2 과발현은 항암제에 의한 세포 사멸을 억제하여 내성을 일으킬 수 있으며, pro-apoptotic Bcl-2 family 중 Bax의 발현 소실은 5-FU와 oxaliplatin의 효과를 감소시켜 내성을 일으킬 수 있다.[15] Extrinsic apoptotic pathway는 TNF-receptor family중 Fas (CD95/APO-1)와 DR5 (TRAIL-R1)와 같은 세포 표면의 'death receptors'에 의해 조절되는데, 이들 수용체가 Fas 리간드(FasL, TRAIL)에 결합 시 caspase를 활성화 시킨다. 이러한 death receptors를 겨냥하면 chemotherapy-induced apoptosis를 향상시킨다는 보고도 있다.

많은 종양에서 EGFR의 과발현이나 변이가 알려져 있는데, EGFR과 같은 protein tyrosine kinases (PTKs)도 anti-apoptotic 신호 전달 체계를 조절함으로써 약제 내성에 영향을 줄 수 있어 EGFR의 과발현이 항암제에 대한 저항을 증가 시킨다. 따라서 EGFR 억제제가 drug target으로 이용되어 왔는데, capecitabine, oxaliplatin 항암제와 tyrosine kinase inhibitor의 조합이 대장암에서 연구되었으며, panitumumab은 EGFR-targeted monoclonal antibody로 최근 phase III 연구에서 전이성 대장암에서, chimeric IgG1 monoclonal antibody인 cetuximab은 진행성 대장암에서 효과가 보고되었다.

Ⅲ. 결 론

약제 내성 기전은 종양의 종류에 따라 다양하며, 또한 같은 종양이라도 환자들마다 다르게 나타나고, 같은 종양 세포 내의 다른 클론들 사이에서도 서로 다를 수 있다. 유전적으로 또 형질적으로 다양한 다른 성질의 클론들로 이루어진 암세포들처럼, 암세포의 약제 내성 또한 여러가지 기전이 다른 다수의 약제 내성 클론들로 구성되어 있다. 또한 암의 발생이 단일 유전자의 결손보다는 많은 유전자들의 이상으로 발생되는 것처럼, 암의 약제 내성 또한 세포의 성장과 사멸에 영향을 주는 많은 약제 내성 인자들의 조합에 의해 발생된다. 따라서 암의 약제 내성은 암 세포들과 약제들 사이의 상호작용을 거친 복잡하고 역동적인 현상이다. 이러한 이유로 현재까지 다양한 표적을 가진 여러 항암제들이 개발되어 왔지만, 암에 의한 항암제 내성은 결코 피하기가 쉽지 않아 보인다. 비록 내성을 완벽하게 막아 낼 기적의 강력한 항암제는 없지만, 서로 다른 기전으로 암 사멸을 활성화 시킬 수 있는 항암제들의 병합이 내성을 최소화시킬 수 있는 보다 강력한 무기라 할 수 있겠다.

참 고 문 헌

1. Tsang WP, Wong TWL, Cheung AHH, Co CNN, Kwok TT. Induction of drug resistance and transformation in human cancer cells by the noncoding RNA. CUDR. RNA 2007;890-898.
2. Gottesman MM. Mechanisms of cancer drug resistance. Annu Rev Med 2002;53:615-627.
3. Mimeault M, Hauke R, Batra SK. Recent advances on the molecular mechanisms involved in the drug resistance of

cancer cells and novel targeting therapies. Clin Pharmacol Ther. 2008;83:673-691.
4. Longley DB, Allen WL, Johnston PG. Drug resistance, predictive markers and pharmacogenomics in colorectal cancer. Biochim Biophys Acta 2006;1766:184-196.
5. Takebe N, Zhao SC, Ural AU, Johnson MR, Banerjee D, Diasio RB, Bertino JR. Retroviral transduction of human dihydropyrimidine dehydrogenase cDNA confers resistance to 5-fluorouracil in murine hematopoietic progenitor cells and human CD34+-enriched peripheral blood progenitor cells. Cancer Gene Ther 2001;8:966-973.
6. Xu J, Peng H, Zhang JT. Human multidrug transporter ABCG2, a target for sensitizing drug resistance in cancer chemotherapy. Curr Med Chem 2007;14:689-701.
7. Leitner HM, Kachadourian R, Day BJ. Harnessing drug resistance: Using ABC transporter proteins to target cancer cells. Biochem Pharmacol 2007;74:1677-1685.
8. Hu X, Xuan Y. Bypassing cancer drug resistance by activating multiple death pathways--a proposal from the study of circumventing cancer drug resistance by induction of necroptosis. Cancer Letter 2008;259:127-137.
9. Longley DB, Harkin DP, Johnston PG. 5-fluorouracil: Mechanisms of action and clinical strategies. Nat Rev Cancer 2003;3:330-338.
10. Lansiaux A, Bras-Goncalves RA, Rosty C, Laurent-Puig P, Poupon MF, Bailly C. Topoisomerase I-DNA covalent complexes in human colorectal cancer xenografts with different p53 and microsatellite instability status: Relation with their sensitivity to CTP-11. Anticancer Res 2001;21:471-476.
11. Arnould S, Hennebelle I, Canal P, Bugat R, Guichard S. Cellular determinants of oxaliplatin sensitivity in colon cancer cell lines. Eur J Cancer 2003;39:112-119.
12. Meyers M, Wagner MW, Hwang HS, Kinsella TJ, Boothman DA. Role of the hMLH1 DNA mismatch repair protein in fluoropyrimidine mediated cell death and cell cycle responses. Cancer Res 2001;61:5193-5201.
13. Brown R, Hirst GL, Gallagher WM, McIlwrath AJ, Margison GP, van der Zee AG, Anthoney DA. hMLH1 expression and cellular responses of ovarian tumour cells to treatment with cytotoxic anticancer agents, Oncogene 1997; 15:45-52.
14. Bunz F, Hwang PM, Torrance C, Waldman T, Zhang Y, Dillehay L, et al. Disruption of p53 in human cancer cells alters the responses to therapeutic agents. J Clin Invest 1999;104:263-269.
15. Zhang L, Yu J, Park BH, Kinzler KW, Vogelstein B. Role of BAX in the apoptotic response to anticancer agents. Science 2000;290:989-992.