

효과적인 암 치료 : TRAIL에 유도된 세포사멸의 효과

김영호* · 허정훈

고신대학교 의과대학 분자생물면역학교실

Effective Cancer Therapy : Effect of TRAIL-induced Apoptosis

Young-Ho Kim* · Jeonghoon Heo

Department of Molecular Biology and Immunology, Kosin University College of Medicine, Busan, Korea

Abstract

TRAIL (TNF- α Related Apoptosis-Inducing Ligand) is a promising anticancer agent. In fact, it induces apoptosis in cancer cells but not in most normal cells. Nevertheless, certain cancer cells are resistant to TRAIL-induced apoptosis and this could limit TRAIL's efficiency in cancer therapy. To overcome TRAIL resistance, a combination of TRAIL with chemotherapy could be used in cancer treatment. This review describes that TRAIL-resistant tumors can be re-sensitized to TRAIL by a combination of TRAIL with chemotherapeutics. In addition, it has been shown that chemotherapeutic drugs have also been shown to enhance the induction of apoptosis by TRAIL or agonistic antibodies or overcome cell resistance to TRAIL or agonistic antibodies. Therefore, death receptors, particularly TRAIL death receptors, have emerged as an important cancer therapeutic target. This review suggests novel strategies for TRAIL resistance cancer treatment as the effective cancer therapy of TRAIL induced apoptosis in cancer cells.

Key words : TNF α -Related Apoptosis-inducing Ligand (TRAIL), Apoptosis, chemopreventive agents.

서론

지금까지 암 치료는 수술, 방사능, 화학요법을 통해 이루어졌다. 방사능 치료나 다양한 화학요법 치료는 DNA 손상, 세포의 스트레스, DNA 복제 억제, 세포 분열에 의해 암세포의 죽음을 유도한다. 그러나, 이러한 치료는 반복 치료 후에 부작용이 따르고 또한 암에 대한 저항성이 생기며, 완치가 어려워 암의 근본적인 치료법은 되지 못한 현실이다. 그래서, 최근 수년 동안 암에 특이하게 작용을 하는 분자나 암에 주요한 신호 전달 분자를 표적 할 수 있는 새로운 항암제 개발을 시도했다. 최근에 연구 개발되고 있는 Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) 을 이용한 암 치료는 기존의 어떠한 치료보다 안전하며 새로운 항암 치료제로 기대된다. 아직까지는 암세포만 작용하고 정상세포에는 영향을 미치지 않는 항암제는 개발되지 못하고 있는 현

실이다. 그러므로 TRAIL 에 의한 암 치료는 암세포 특이적으로 작동하는 보다 효과적인 치료방법이라 할 수 있다.

1. TRAIL 이란 ?

TNF (tumor necrosis factor)계의 사이토카인들은 활성화된 림포구 (lymphocytes)에 의해 발현되며, 면역계를 조절하는 중요한 세포사멸 중개자이다. TRAIL은 TNF 사이토카인 종류 중에 type II transmembrane protein 에 속하며, TRAIL 수용체에 통해 세포사멸을 유도한다. TRAIL에는 5 종류의 수용체, TRAIL receptor 1 (death receptor 4, DR4), TRAIL receptor 2 (death receptor 5, DR5), Decoy receptor 1 (DcR1), Decoy receptor 2 (DcR2), osteoprotegerin (OPG) 로 구성되어 있다 (Fig. 1).^{1,2)} DR4, DR5 는 세포사멸 신호를 전달하고, DcR1, DcR2 는 외부로부터 세포사멸 유발신호를 세포막으로 전달하는 domain 에 결손이 되어 DR4, DR5에 의한 세포사멸로부터 세포를 보호한다.^{3,4)} 생리적인 기능은 자가반응 면역세포 (autoreactive immune cells), 면역감시기구 (immune surveillance), 암세포의 발생 (development)과 전

교신저자 : 김 영 호

주소 : 602-702 부산광역시 서구 압남동 34번지
고신대학교 의과대학 분자생물면역학교실
TEL : 051-990-6505 FAX : 051-990-3081
E-mail : kimyh@kosin.ac.kr

이(metastasis)를 조절하는 기능을 한다. TRAIL은 암세포에 세포사멸을 유도하지만, 정상세포에는 미약하거나 전혀 독성을 내지 않는다. 그러나, 최근 연구에서 항암제로 TRAIL의 연구개발이 주춤한 것은 간 독성에 대한 보고가 나왔기 때문이다.^{5,6)} 이것은 TRAIL의 tags (polyhistidine or flag)에 의해 tertiary 구조를 가지게 되고, 수용체 응집을 유도함으로써 간세포 독성을 유도하는 원인이었다. 또한, 생물학적으로 TRAIL의 활성구조가 trimer interface에 아연 (Zinc) 이온이 구조적 안정성을 가지게 됨이 알려졌다. 하지만 현재 임상에서 시도하는 TRAIL은 tag에 의한 중합 (oligomerization)을 상승시키거나 Zinc 이온에 의한 안정화가 생성하지 않는 아미노산 (114-281, aa) 부위를 재조합 단백질로 사용한다.

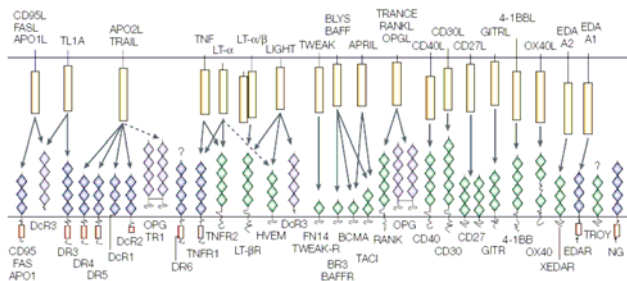


Fig. 1. The TNF and TNFR superfamilies⁴⁾.

2. TRAIL에서 의한 세포사멸 및 기전

TRAIL 수용체는 TRAIL에 특이적인 결합을 함으로써 외부신호에 의한 세포사멸 경로를 유도한다. TRAIL은 homotrimeric 구조를 가진 death ligand 이다. TRAIL에 결합한 DR4, DR5수용체는 구조를 변경함으로써 세포 내에 있는 death domain (DD) 활성을 유도하게 된다. TRAIL이 세포막에 붙어있는 death receptors (DR4, DR5)와 결합을 하게 되면 extrinsic apoptotic pathway가 시작된다(Fig. 2). 활성화된 수용체는 adaptor 분자인 Fas-associated protein with death domain (FADD)와 DD 결합을 하게 된다. 이것은 death-inducing signaling complex (DISC)을 형성하며, procaspase-8, -10의 구조를 변화시켜 활성화시킨다. 활성화된 caspase-8, -10은 하류에 있는 여러 caspase cascade를 활성화시켜 세포사멸을 유도한다(Fig. 2).

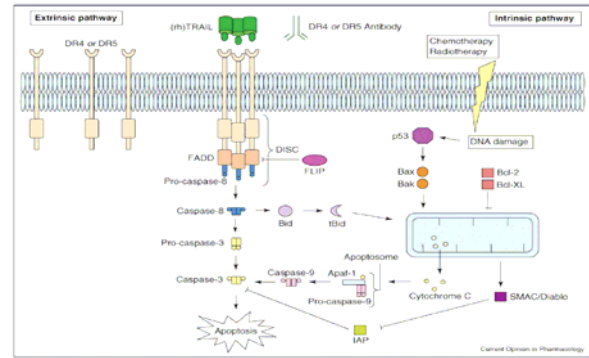


Fig. 2. Intrinsic and extrinsic apoptotic pathway⁷⁾

DISC 내에 있는 세포사멸 신호는 cellular FADD-like IL-1 converting enzyme-inhibitory protein (cFLIP)에 의해 조절된다. Caspase-8의 활성화에 의해서 수반되는 세포사멸은 2가지 경로를 통해서 일어난다.⁸⁻¹⁰⁾ Type I 세포에서는 caspase-8의 활성화가 강하게 일어나 직접적으로 effector caspase인 caspase-3 및 caspase-7을 활성화시킨다. 반면, type II 세포에서는 Bid (pro-apoptotic Bcl-2 family)의 절단에 의해 활성화 (tBid) 되는 것이다. 활성화된 tBid는 Bax, Bak와 상호작용하여 미토콘드리아에 손상을 유발하여 사이토크롬 c 및 Smac/Diablo이 해리된다. 사이토크롬 c는 apoptosome을 형성하여 caspase-9을 활성화시킨다. 활성화된 caspase-9은 caspase-3, -7 활성화시켜 세포사멸을 유발한다.^{11,12)} 즉, type I 세포에서는 미토콘드리아와 독립적인 경로에 의해 TRAIL에 의한 세포사멸이 일어나는 반면, type II 세포에서는 미토콘드리아 의존적인 세포사멸 신호전달이 유도된다. 수용체가 아닌 세포 내에서 일어나는 사멸기전은 암 억제제인자 p53에 의해 조절된다. p53은 세포성 스트레스 (DNA 손상, 화학치료나 방사선 치료에 의한 산화성 스트레스)의 반응에서 활성을 가진다. 대부분 암세포에선 p53의 돌연변이에 의해 화학요법, 방사선 치료에 저항성을 지니게 된다. 이 사실은 TRAIL이 caspase 활성화에 의한 세포사멸을 유도하고, 미토콘드리아의 비의존적인 암세포 사멸을 유도 및 p53이 결핍된 암세포를 표적으로 하는 치료에 유용할 수 있다. TRAIL에 대해 저항성을 지닌 암세포들은 대부분 anti-apoptotic protein의 과 발현에 의한 것이다. FLIPs, Bcl-2 family (Bcl-2, Bcl-xL, Mcl-1), IAP family (XIAP, cIAP-1, -2, survivin), PI3K-Akt 등의 발현이 증가되어 TRAIL에 의한 세포사멸기전을 회피한다.¹³⁻¹⁸⁾ TRAIL에 의한 암세포의 사멸 효과를 상승시키기 위해 화학요법

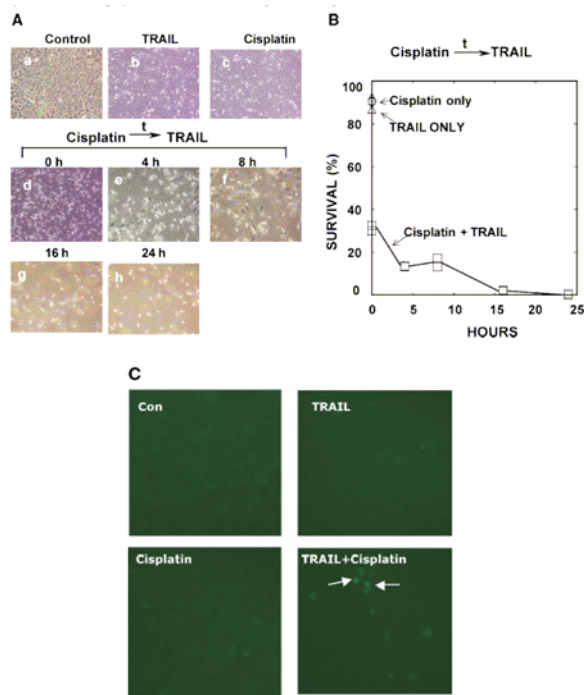


Fig. 3. Effect of TRAIL on cisplatin cytotoxicity in HNSCC-6 cells¹⁹⁾.

제, 천연물에서 추출한 항암제등이 anti-apoptotic 분자들의 발현을 감소시키는 작용을 이용하여 TRAIL과 함께 처치할 경우 암세포 사멸 효과를 상승 시키는 연구가 활발히 진행되고 있다. 아래 Fig. 3에 의하면, cisplatin에 의해 유도되는 약한 세포독성이 TRAIL에 의해 보다 효과적으로 일어나고 있음을 확인하였다. Cisplatin을 전 처리 후 TRAIL을 처리했을 때 보다 효과적인 치료방법임을 cancer cell line에서 확인하였으며, 세포사멸을 확인하기 위해 TUNEL 실험을 실시했다.

3. TRAIL 수용체 발현과 수용체 활성화

TRAIL은 여러 암세포에서 세포사멸을 유도하지만, 정상세포에는 세포독성을 나타내지 않는다는 것이 TRAIL이 생물학적 항암제로 적용될 수 있는 유리한 점이다. Death receptor (DR)을 통한 세포 내 세포사멸기전은 p53 단백질과 무관하게 암세포를 사멸시킬 수 있는 장점이 있다. 최근에 TRAIL 수용체대한 기전이 p53 의존적 또는 비의존적인 경로로 일어남이 보고되고 있다. DNA 손상을 주는 약물에 의해 유도되는 p53의 발현이 TRAIL 수용체 (DR4, DR5) 의 인트론 (intron) 서열에 특이한 p53

Table 1. Effects of anti-cancer drugs shown to enhance TRAIL-induced apoptosis on DR4 and/or DR5 expression⁵⁴⁾.

수용체조절	치료제	역 할	암 종류
DR5 과발현	Proteasome inhibitors	Protein degradation 저해	Cervical, prostate, colon, lung
	HDAC inhibitors	Gene deacetylation 억제	Leukemia, bladder, renal, breast
	NSAIDs	COX-1/2 억제	Colon, prostate, lung
	Radiotherapy	DNA damage 유도	Prostate, leukemia, breast, lung
	Camptothecin	DNA replication 방해	Colon, renal
	Etoposide	DNA replication 방해	Colon, glioma, leukemia
	Doxorubicin	DNA intercalation, DNA replication 방해	Leukemia, myeloma, breast
	Cisplatin	DNA alkylation, Cross-linking	Glioma
	Sulforaphane	Phase II detoxification 효소 유도	Hepatoma
	Curcumin	Cell cycle arrest, apoptosis 유도	Renal, colon, hepatocellular
DR4 과발현	Radiotherapy	DNA damage 유도	Leukemia
	HDAC inhibitors	Gene deacetylation 억제	Leukemia
DR4 and DR5 과발현	Proteasome inhibitors	Protein degradation 억제	Cervical, leukemia
	HDAC inhibitors	Gene deacetylation 방해	Leukemia, multiple myeloma, breast
	NSAIDs	COX-1/2 억제	Colon
	Chlorambucil	DNA alkylation and cross-linking	Leukemia
	Fludarabine	DNA synthesis 억제	Leukemia
	Paclitaxel	Microtubule function 억제	Prostate, breast
	Tunicamycin	N-linked glycosylation 억제	Colon
	Retinoids	Cell growth and differentiation 조절	Lung
	Cisplatin	DNA alkylation and cross-linking	Oesophageal, ovarian
	Doxorubicin	DNA intercalation and DNA replication 방해	Renal, sarcoma, breast, lung, head and neck

결합에 의해 TRAIL 수용체 (DR4, DR5)의 발현을 조절함이 보고 되었다.²⁰⁾ TRAIL 수용체가 p53 비의존적인 경로에 의해 조절되는 것은 전사조절인자인 Sp-1, NFkB, Ap-1, CHOP, YY1등의 인자에 의해 조절됨이 보고되고 있다.²¹⁻²⁵⁾ 그래서, 많은 연구자들은 암 치료제에 의해 TRAIL 수용체의 발현조절을 통해 TRAIL효과를 상승시킬 수 있는 연구를 수행했다 (Table 1).

3-1. DNA 손상유도물질

DNA 손상을 유도하는 화학치료제는 Death receptor 발현 조절을 통해 세포사멸의 감수성을 높인다. Doxorubicin, etoposide, Ara-C, cisplatin, camptosar (CPT-11)는 p53 의존, 비의존적인 기전을 통해 death receptor 발현을 유도한다.²⁶⁾ 지금까지는 DNA 손상 물질에 의한 세포사멸 내에서 death receptor 발현을 증가시키는 역할에 대해 명확하지 않다. 예를 들면, 수용성 DR4 단백질 (DR4:Fc)이 etoposide에 의해 유도되는 세포사멸을 농도의존적으로 억제한다.²⁷⁾ 대장암세포에서 FLIP_L의 과 발현은 화학요법에 의한 세포사멸을 억제시키는 반면, 화학요법제는 FLIP의 발현을 감소 시킨다.²⁸⁾ 최근 임상연구에서는 AML세포에 FADD (fas-associated with death domain)의 발현이 없거나, 약하게 발현함으로써 화학요법에 저항성을 가지게 된다.²⁹⁾ 이런 결과를 통해서, extrinsic death receptor를 매개한 세포사멸 경로 활성화는 화학요법에 유도되는 세포사멸에 주요한 역할을 할 것이다.

3-2. HDAC 억제제

새로운 암치료제인 HDAC 억제제가 등장했다.³⁰⁾ HDAC inhibitors, suberoylanilide hydroxamic acid (SAHA), trichostatin A (TSA) 등은 다발성 흑색종 세포에서 DR4, DR5의 발현을 증가시킨다. 급성백혈병세포에서는 LAQ824, SAHA, MS-275, CBHA, TSA 등이 c-FLIP의 발현을 감소시키며, DR4, DR5의 발현을 증가시켜 TRAIL에 의한 세포사멸 상승 효과를 나타낸다.³¹⁻³⁴⁾ HDAC inhibitor에 의한 death receptor의 발현증가는 death receptor프로모터에 NF-kB, P53, Sp1전사인자 활성화에 의한 것이 보고 되었다.³⁵⁾ 특히, 우리 실험에서도HDAC 억제제인, Sodium butyrate (NaB)에 의해 유도되는 death receptor 5의 발현 증가는 TRAIL에 의한 감수성을 증가시키는 실험으로 확인하였으며, 그 기전이 DR5의 프로모터에 Sp1 활성화에 영향을 줌으로 일어남을 알게 되었다 (Fig. 4).

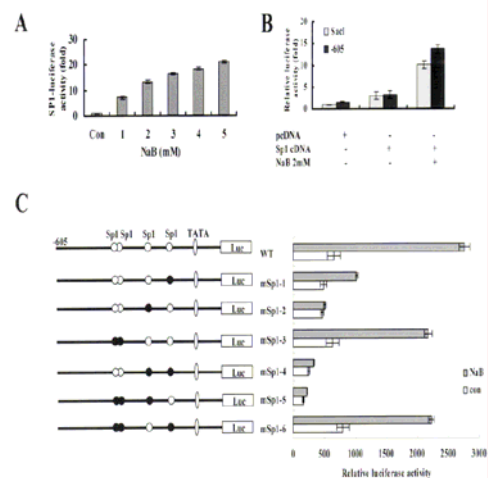
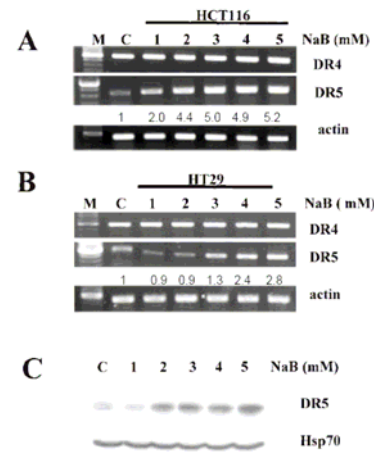


Fig. 4. Tentative model for the mechanism of TRAIL and sodium butyrate-induced apoptotic pathway²³⁾.

3-3. Proteasome 억제제

Proteasome의 억제는 암 치료에 효과적인 방법 중에 하나이다.³⁶⁾ Proteasome inhibitor, MG132는 DR5의 발현을 증가시켜TRAIL의 효과를 증가시킨다. 이것은 DR5의 전사

인자인 CHOP의 활성을 증가시킴이 발표되었다.³⁷⁾ 다른 proteasome inhibitor, PS-341도 또한 DR4, DR5의 발현을 증가시키며, 이 증가는 ubiquitination에 의해 관여함이 보고 되었다.³⁸⁾

3-4. Cyclooxygenase-2 (COX-2) 억제제

악성 종양 조직에서 COX-2가 과발현 되어있으며, 이 COX-2 증대된 신호전달이 암치료에 잠재적인 타겟으로 알려졌다.³⁹⁾ COX-2 inhibitor, sulindac sulfide 는 주요한 sulindac의 대사산물이며 항암제로서 세포사멸의 역할을 한다.⁴⁰⁾ 여러가지 암세포에서 DR5의 발현을 증가시키는 기능을 한다. 또 다른 COX-2 inhibitor, celecoxib는 폐암 세포에서 DR4, DR5의 mRNA 및 단백질 단계를 증가시킨다. Celecoxib에 의한 DR5의 발현 조절은 전사인자 중 CHOP에 의해 이루어진다.⁴¹⁾

3-5. 사이토카인

인터페론과 같은 특정 사이토카인들은 항암 작용을 가지고 있다. 인터페론감마는 DR5 발현을 유도하며, DR5발현은 p53 비의존적으로 유도되고, TRAIL에 의한 세포사멸을 상승시킨다.⁴²⁾ 특히, 인터페론감마에 의해 세포사멸은 TRAIL발현의 증가에 의한 것임을 대장암세포에서 확인했다.⁴³⁾ 또 다른 사이토카인, TNFalpha에 의한 DR5 유도는 p53과 무관하게 일어난다.⁴⁴⁾ TRAIL에 의한 HEK293, MCF-7, MDA231 상피세포들은 DR5 발현을 증가시키지만, DR4 발현의 변화는 없다. 이 같은 효과는 NF-kB 활성화에 의한 것이 보고 되었다.⁴⁵⁾

3-6. 천연물질

역사적으로 천연물들은 약제 개발에 주요한 재료들이다. 특히, 암 화학요법치료제의 대부분 (74%)이 천연물이나 천연물 유도체에서 만들어진 것들이다. Curcumin이 전립선암에서 DR4, DR5 발현을 증가시킴으로 TRAIL에 대한 세포사멸의 상승효과를 가져왔다.⁴⁶⁾ Sulforaphane, 또한 간암 세포나 골수암에서 DR5 발현 증가를 통해 TRAIL의 효과를 상승시킴이 보고되었다.⁴⁷⁾ Luteolin, balsamifera, silibinin, quercetin등도 DR5 발현을 증가시킴으로 TRAIL의 세포사멸 효과를 상승시킨다.⁴⁸⁻⁵¹⁾ 우리의 실험 결과에 의하면, quercetin에 의한 TRAIL의 감수성을 증가시키는 기전은 caspase의존적 활성을 증가시킨다(Fig. 5). 또한, Quercetin은 Akt 인산화를 억제하는 기전⁵²⁾ 과 antiapoptotic protein인 survivin의 발현을 조절한다는 실험결과를 통해 확인 할 수 있었다.⁵³⁾

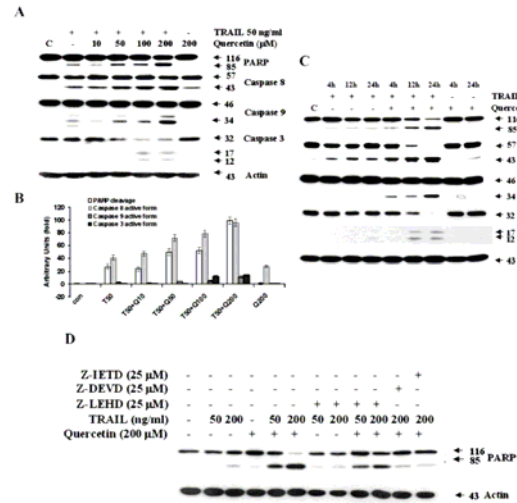


Fig. 5. Effect of quercetin on TRAIL-induced proteolytic cleavage of PARP and activation of caspases and caspase inhibitors in DU-145 cells⁵²⁾.

4. TRAIL 임상적 연구

일반적으로, 병행치료 (combination therapy)는 서로 독립적인 두 가지 세포죽음경로의 활성을 통해 암세포 사멸 및 암 치료에 더 효과적인 접근방법이라 할 수 있다. TRAIL에 의한 세포사멸 신호전달의 이해와 TRAIL 저항성 기전 연구는 특정 타겟 암세포에 대한 약물 병행치료의 효과를 상승시킬 수 있는 가능성이 있다. 앞에 결과보고를 통해 다양한 암세포, 암조직에서 death receptor 발현을 증가시키는 물질이 TRAIL에 의한 세포죽음을 상승시킴을 알았다. 하지만, primary, non-transformed cell에서 TRAIL 수용체의 발현에 대한 치료효과가 아직 많이 알려져 있지 않다. Pre-clinical 또는 early clinical 시도를 위해서 다른 약물과 병합처리 시 TRAIL에 대한 안정성과 non-transformed cell에 저항성을 가지는 기전에 대한 연구가 더 알려져야 한다 (Table 2).

4-1. 재조합 인간 TRAIL (rhTRAIL)

현재genentech회사에서 TRAIL 임상 I/II 시도하고 있다. 임상 I 단계에서 TRAIL (0.5~15 mg/kg)을 연속적으로 5일, 한 사이클 21일을 8사이클을 정맥주사 하였으나, 농도제한 (dose-limiting) 독성 및 간 독성이 없고 반감기 (half-life) 가 21~31분 이었다.⁵⁵⁾ 임상 Ib 단계에서는 TRAIL (4, 8 mg/kg) 과 Rituximab (B-cell non-Hodgkin's lymphoma (NHL) 치료에 사용, 375mg/m2/weak) 병합처리 하여 시도하고 있다. 반감기가 짧기 때문에 효과를 높

Table 2. Summary of existing recombinant human TRAIL variants and agonistic DR4-, DR5-specific antibodies, their pre-clinical development and current clinical trial status⁵⁴⁾.

Molecule tested	Targeted receptor	Comments and clinical development
His-TRAIL(rhTRAIL variant)	DR4/DR5/decoy receptors	Polyhistidine-tagged rhTRAIL induces apoptosis in transformed cell lines. Toxic to primary hepatocytes and keratinocytes.
LZ-TRAIL (rhTRAIL variant)	DR4/DR5/decoy receptors	Leucin-zipper tagged rhTRAIL induces apoptosis in transformed cell lines. Toxic to keratinocytes.
Flag-TRAIL/M2(rhTRAIL variant)	DR4/DR5/decoy receptors	Flag-tagged rhTRAIL induces apoptosis in transformed cell lines when cross-linked. Toxic to primary hepatocytes and keratinocytes.
Apo2L/TRAIL(rhTRAIL variant)	DR4/DR5/decoy receptors	Non-tagged rhTRAIL induces apoptosis in transformed cell lines but not to primary. Non-transformed hepatocytes or keratinocytes. Ongoing phase I/II clinical trials as single agent and in combination therapy.
TRAIL-CD19 and TRAIL-EGFR(rhTRAIL fusion proteins)	DR4/DR5/decoy receptors with CD19 or EGFR	Selectively targets TRAIL to CD19 or EGFR expressing tumors, respectively. Induces apoptosis in vitro. Good in vivo activity seen with TRAIL-CD19 in pre-clinical studies
Apo2LDR5-8(rhTRAIL variant)	DR5/DcR2	Non-tagged, DR5-selective rhTRAIL induces apoptosis in DR5-responsive cancer cell lines. Toxicity observed following cross-linking
DR5-TRAIL(E195R/D29H)(rhTRAIL variant)	DR5/DcR2 (reduced)	Non-tagged, DR5-selective rhTRAIL induces apoptosis in DR5-responsive cancer cell lines. No toxicity in non-transformed fibroblast and endothelial cells. Anti-tumor activity in ovarian cancer xenograft models
M413(agonistic Ab)	DR5	Induces apoptosis in TRAIL-sensitive cancer cell lines selectively through DR5 receptor
TRA-8(CS-1008)(agonistic Ab)	DR5	Induces apoptosis in DR5-responsive cancer cell lines and primary hepatocellular carcinoma but not toxic to normal hepatocytes (phase I clinical trials)
AMG 655(agonistic Ab)	DR5	Induces apoptosis in a number of human cancer cell lines. Phase I trial showing dose linear kinetics with half-life of 10 days and some anti-tumor activity (Amgen)
LBY 135 (agonistic Ab)	DR5	Good anti-tumor activity in vitro and in vivo pre-clinical studies. Currently in phase I trials (Novartis)
Lexatumumab (HGS-ETR2, agonistic Ab)	DR5	Phase I/II trials showing that lexatumumab can be administered safely and in combination with chemotherapeutic agents. (Human Genome Science)
HGS-TR2J (agonistic Ab)	DR5	Phase I trial showing dose proportional pharmacokinetics. Half-life 15-20 days. Currently initiations of phase II trial (Genentech)
Apomab (agonistic Ab)	DR5	Phase I trial showing dose proportional pharmacokinetics. Half-life 15-20 days. Currently initiations of phase II trial (Genentech)
TRAI-R1-5 (rhTRAIL variant)	DR4/decoy receptors	Non-tagged, DR4-selective rhTRAIL induces apoptosis in DR4 responsive cancer cell lines. HDACi sensitized primary CLL cells to DR4 mediated apoptosis
M271 (agonistic Ab)	DR4	Induces apoptosis in TRAIL-sensitive cancer cell lines selectively through DR4 receptor
4HG, 4G7 (agonistic Ab)	DR4	Induced apoptosis in vitro with cross-linking antibody. Anti-tumor activity in colon cancer xenograft model
2E12 (agonistic Ab)	DR4	Induced apoptosis in vitro with cross-linking antibody
Mapatumumab (HGS-ETR1)(agonistic Ab)	DR4	Phase I-solid malignancies refractory to standard therapy. Safely administered up to 10 mg/kg 39% of patients had SD Phase Ib-combination therapy with paclitaxel and carboplatin: 14 % of patients had PR Phase Ib-combination with gemcitabine and cisplatin: 20% of patients had PR, 29% SD Phase II-single treatment in NSCLC: 29% of patients had SD.

이 방법으로 암세포에 타겟팅 할 수 있는 fusion rhTRAIL를 시도하고 있다. 예를 들면, 암에 특이성을 가지는 CD19 single-chain Fv 항체단편을 rhTRAIL에 결합시켜 CD19 양성 암세포(B-lymphoblastic leukemia, chronic-lymphocytic leukemia)를 치료에 이용한다.⁵⁶⁾ 최근에는 TRAIL을 줄기세포의 delivery systems을 이용하여 암세포를 타겟팅 할 수 있는 방법을 개발 중에 있다.⁵⁷⁾

4-2. 수용체-선택적 rhTRAIL 변이체
TRAIL 변이체를 이용한 수용체 선택적 방법이 개발되고 있다. TRAIL의 변이체, D269H/E195R로 돌연변이 시킨 TRAIL은 정상적인 TRAIL과 비교했을 때 DR4 보다 DR5에 70~150배 이상 선택적 결합을 가진다. 이 DR5 선택적인 TRAIL 변이체는 decoy receptors와 결합을 줄이기 때문에 death receptor 결합력의 효율을 높일 수 있다. 이것은 암세포의 효과를 많이 높일 뿐 아니라, 짧은 half-life을 가진 rhTRAIL 분자의 기능을 보강할 수 있다.

4-3. 수용체-선택적 활성 항체

Monoclonal 항체를 이용한 암치료 방법이다. 최근에 DR4, DR5에 특이한 항체가 개발되었다. 이들 항체는 2차 항체에 의해 연결되었을 때, TRAIL 수용체가 매우 효과적인 활성자가 된다. 또한, 최근에 다양한 회사에서 활성 항체 (agonistic antibody) 등이 생산되고 있다. LBY135 (by Novartis), AMG 655 (by Amgen), CS-1008 (by Sankyo), Lexatumumab, HGS-TR2J (by HGS), Apomab (by Genentech) 등은 DR5 agonist 이고, Mapatumumab, M271, 4HG 등은 DR4 agonist 이다. 현재, 이들은 임상 phase I/II 단계 시도 중에 있다 (Table 2).

결 론

TRAIL치료는 지금 임상 phase II 단계에 있다. TRAIL 단독이나 병행치료에서 환자들의 생존율을 높이고 있다. 그러나 아직까지 몇 가지 의문들이 있다. 어떤 특정 암세포에 TRAIL에 대한 저항성을 가지고 있다. 다른 치료제와 TRAIL 수용체의 agonists를 병행처리 했을 때 암세포에 대한 감수성이 회복되거나, 정상세포에서 세포죽음이 나타나는 경우도 있다. 또한 TRAIL 수용체 중 death receptor가 TRAIL에 반응하는 것이 한 종류의 death receptor, 즉 DR5이나 DR4의 발현이 항암제 역할을 한다는 것이다. 두 (DR4, DR5) 수용체가 함께 작동함으로써 서로의 타겟팅 세포의 사멸에 대한 감수성을 증가시킨다면 좋은 치료제가 될 수 있을 것이다. 지금 사용하고 있는 여러가지 agonists들이 death receptor에 대한 특이성을 높여야 할 것이고, rhTRAIL의 변이체들에 대한 TRAIL 수용체에 결합력을 높일 수 있는 물질들이 개발되어야 할 것이다. 앞으로, 연구자들이 암 치료제들에 의한 TRAIL 수용체의 발현조절 기전에 대한 좀 더 많은 이해와 함께 가장 효과적이고 선택적인 타겟팅 암세포에 TRAIL 수용체에 의해 유도되는 세포사멸에 대한 감수성을 높일 수 있는 방법을 찾고 개발해야 할 것이다.

참고문헌

- 1) Pan G, Ni J, Wei YF, Yu G, Gentz R, Dixit VM : An antagonist decoy receptor and a death domain-containing receptor for TRAIL. *Science* 277: 815-81, 1997
- 2) LeBlanc HN, Ashkenazi A : Apo2L/TRAIL and its death and

- decoy receptors. *Cell Death Differ* 10: 66-75, 2003
- 3) Degli-Esposti M : To die or not to die-the quest of the TRAIL receptors. *J Leukoc Biol* 65: 535-542, 1999
- 4) Ashkenazi A : Targeting death and decoy receptors of the tumour-necrosis factor superfamily. *Nat Rev Cancer* 2: 420-430, 2002
- 5) Jo M, Kim TH, Seol DW, Esplen JE, Dorko K, Billiar TR, Strom SC : Apoptosis induced in normal human hepatocytes by tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand. *Nat Med* 6:564-567, 2000
- 6) Lawrence D, Shahrokh Z, Marsters S, Achilles K, Shih D, Mounho B, Hillan K, Totpal K, DeForge L, Schow P, Hooley J, Sherwood S, Pai R, Leung S, Khan L, Gliniak B, Bussiere J, Smith CA, Strom SS, Kelley S, Fox JA, Thomas D, Ashkenazi A : Differential hepatocyte toxicity of recombinant Apo2L/TRAIL versions. *Nat Med* 7:383-385, 2001
- 7) Oldenhuis CN, Stegehuis JH, Walenkamp AM, de Jong S, de Vries EG : Targeting TRAIL death receptors. *Curr Opin Pharmacol* 8:433-439, 2008
- 8) Green DR: Apoptotic pathways: paper wraps stone blunts scissors. *Cell* 102:1-4, 2000
- 9) Kischkel FC, Lawrence DA, Chuntharapai A, Schow P, Kim KJ, Ashkenazi A : Apo2L/TRAIL-dependent recruitment of endogenous FADD and caspase-8 to death receptors 4 and 5. *Immunity* 12:611-620, 2000
- 10) Korsmeyer SJ, Wei MC, Saito M, Weiler S, Oh KJ, Schlesinger PH : Pro-apoptotic cascade activates BID, which oligomerizes BAK or BAX into pores that result in the release of cytochrome c. *Cell Death Differ* 7:1166-1173, 2000
- 11) Ashkenazi A, Dixit VM : Death receptors: signaling and modulation. *Science* 281:1305-1308, 1998
- 12) Lavrik I, Golks A, Krammer PH : Death receptor signaling. *J Cell Sci* 118:265-267, 2005
- 13) Deveraux QL, Takahashi R, Salvesen GS, Reed JC : X-linked IAP is a direct inhibitor of cell-death proteases. *Nature* 388:300-304, 1997
- 14) Irmeler M, Thome M, Hahne M, Schneider P, Hofmann K, Steiner V, Bodmer JL, Schröter M, Burns K, Mattmann C, Rimoldi D, French LE, Tschopp J : Inhibition of death receptor signals by cellular FLIP. *Nature* 388:190-195, 1997
- 15) Wang CY, Mayo MW, Korneluk RG, Goeddel DV, Baldwin AS Jr : NF-kappaB antiapoptosis: induction of TRAF1 and TRAF2 and c-IAP1 and c-IAP2 to suppress caspase-8 activation. *Science* 281:1680-1683, 1998
- 16) Hinz S, Trauzold A, Boenicke L, Sandberg C, Beckmann S, Bayer E, Walczak H, Kalthoff H, Ungefroren H : Bcl-XL protects pancreatic adenocarcinoma cells against CD95- and TRAIL-receptor-mediated apoptosis. *Oncogene* 19:5477-5486, 2000
- 17) Chen C, Edelstein LC, Gélinas C : The Rel/NF-kappaB family directly activates expression of the apoptosis inhibitor Bcl-x(L). *Mol Cell Biol* 20:2687-2695, 2001
- 18) Wirth T, Kühnel F, Fleischmann-Mundt B, Woller N, Djojicubroto M, Rudolph KL, Manns M, Zender L, Kubicka S : Telomerase-dependent virotherapy overcomes resistance of hepatocellular carcinomas against chemotherapy and tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand by

- elimination of Mcl-1. *Cancer Res* 65:7393-7402, 2005
- 19) Kim YH, Lee YJ : Time sequence of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) and cisplatin treatment is responsible for a complex pattern of synergistic cytotoxicity. *J Cell Biochem* 98:1284-1295, 2006
- 20) Takimoto R, El-Deiry WS : Wild-type p53 transactivates the KILLER/DR5 gene through an intronic sequence-specific DNA-binding site. *Oncogene* 19:1735-1743, 2000
- 21) Ravi R, Bedi GC, Engstrom LW, Zeng Q, Mookerjee B, Gélinas C, Fuchs EJ, Bedi A : Regulation of death receptor expression and TRAIL/Apo2L-induced apoptosis by NF-kappaB. *Nat Cell Biol* 3:409-416, 2001
- 22) Guan B, Yue P, Lotan R, Sun SY : Evidence that the human death receptor 4 is regulated by activator protein 1. *Oncogene* 21:3121-3129, 2002
- 23) Kim YH, Park JW, Lee JY, Kwon TK : Sodium butyrate sensitizes TRAIL-mediated apoptosis by induction of transcription from the DR5 gene promoter through Sp1 sites in colon cancer cells. *Carcinogenesis* 25:1813-1820, 2004
- 24) Yoshida T, Shiraishi T, Nakata S, Horinaka M, Wakada M, Mizutani Y, Miki T, Sakai T : Proteasome inhibitor MG132 induces death receptor 5 through CCAAT/enhancer-binding protein homologous protein. *Cancer Res* 65:5662-5667, 2005
- 25) Baritaki S, Katsman A, Chatterjee D, Yeung KC, Spandidos DA, Bonavida B: Regulation of tumor cell sensitivity to TRAIL-induced apoptosis by the metastatic suppressor Raf kinase inhibitor protein via Yin Yang 1 inhibition and death receptor 5 up-regulation. *J Immunol* 179:5441-5453, 2007
- 26) Müller M, Wilder S, Bannasch D, Israeli D, Lehlbach K, Li-Weber M, Friedman SL, Galle PR, Stremmel W, Oren M, Krammer PH : p53 activates the CD95 (APO-1/Fas) gene in response to DNA damage by anticancer drugs. *J Exp Med* 188:2033-2045, 1998
- 27) Gibson SB, Oyer R, Spalding AC, Anderson SM, Johnson GL : Increased expression of death receptors 4 and 5 synergizes the apoptosis response to combined treatment with etoposide and TRAIL. *Mol Cell Biol* 20:205-212, 2000
- 28) Longley DB, Wilson TR, McEwan M, Allen WL, McDermott U, Galligan L, Johnston PG : c-FLIP inhibits chemotherapy-induced colorectal cancer cell death. *Oncogene* 25:838-848, 2006
- 29) Tourneur L, Delluc S, Lévy V, Valensi F, Radford-Weiss I, Legrand O, Vargaftig J, Boix C, Macintyre EA, Varet B, Chiocchia G, Buzyn A : Absence or low expression of fas-associated protein with death domain in acute myeloid leukemia cells predicts resistance to chemotherapy and poor outcome. *Cancer Res* 64:8101-8108, 2004
- 30) Kristeleit R, Fong P, Aherne GW, de Bono J : Histone deacetylase inhibitors: emerging anticancer therapeutic agents?. *Clin Lung Cancer Suppl* 1:S19-30, 2005
- 31) Guo F, Sigua C, Tao J, Bali P, George P, Li Y, Wittmann S, Moscinski L, Atadja P, Bhalla K : Cotreatment with histone deacetylase inhibitor LAQ824 enhances Apo-2L/tumor necrosis factor-related apoptosis inducing ligand-induced death inducing signaling complex activity and apoptosis of human acute leukemia cells. *Cancer Res* 64:2580-2589, 2004
- 32) Nakata S, Yoshida T, Horinaka M, Shiraishi T, Wakada M, Sakai T : Histone deacetylase inhibitors upregulate death receptor 5/TRAIL-R2 and sensitize apoptosis induced by TRAIL/APO2-L in human malignant tumor cells. *Oncogene* 23:6261-6271, 2004
- 33) Shankar S, Singh TR, Fandy TE, Luetrakul T, Ross DD, Srivastava RK : Interactive effects of histone deacetylase inhibitors and TRAIL on apoptosis in human leukemia cells: involvement of both death receptor and mitochondrial pathways. *Int J Mol Med* 6:1125-1138, 2005
- 34) Butler LM, Liapis V, Bouralexis S, Welldon K, Hay S, Thale M, Labrinidis A, Tilley WD, Findlay DM, Evdokiou A : The histone deacetylase inhibitor, suberoylanilide hydroxamic acid, overcomes resistance of human breast cancer cells to Apo2L/TRAIL. *Int J Cancer* 119:944-954, 2006
- 35) Shetty S, Graham BA, Brown JG, Hu X, Vegh-Yarema N, Harding G, Paul JT, Gibson SB : Transcription factor NF-kappaB differentially regulates death receptor 5 expression involving histone deacetylase 1. *Mol Cell Biol* 25:5404-5416, 2005
- 36) Rajkumar SV, Richardson PG, Hideshima T, Anderson KC : Proteasome inhibition as a novel therapeutic target in human cancer. *J Clin Oncol* 23:630-639, 2005
- 37) He Q, Huang Y, Sheikh MS : Proteasome inhibitor MG132 upregulates death receptor 5 and cooperates with Apo2L/TRAIL to induce apoptosis in Bax-proficient and -deficient cells. *Oncogene* 23:2554-2558, 2004
- 38) Johnson TR, Stone K, Nikrad M, Yeh T, Zong WX, Thompson CB, Nesterov A, Kraft AS : The proteasome inhibitor PS-341 overcomes TRAIL resistance in Bax and caspase 9-negative or Bcl-xL overexpressing cells. *Oncogene* 22:4953-4963
- 39) Méric JB, Rottey S, Olausson K, Soria JC, Khayat D, Rixe O, Spano JP : Cyclooxygenase-2 as a target for anticancer drug development. *Crit Rev Oncol Hematol* 59:51-64, 2006
- 40) Huang Y, He Q, Hillman MJ, Rong R, Sheikh MS : Sulindac sulfide-induced apoptosis involves death receptor 5 and the caspase 8-dependent pathway in human colon and prostate cancer cells. *Cancer Res* 61:6918-6924, 2001
- 41) He Q, Luo X, Jin W, Huang Y, Reddy MV, Reddy EP, Sheikh MS : Celecoxib and a novel COX-2 inhibitor ON09310 upregulate death receptor 5 expression via GADD153/CHOP. *Oncogene* 27:2656-2660, 2008
- 42) Meng RD, El-Deiry WS : p53-independent upregulation of KILLER/DR5 TRAIL receptor expression by glucocorticoids and interferon-gamma. *Exp Cell Res* 262:154-169, 2001
- 43) van Geelen CM, de Vries EG, Le TK, van Weeghel RP, de Jong S : Differential modulation of the TRAIL receptors and the CD95 receptor in colon carcinoma cell lines. *Br J Cancer* 89:363-373, 2003
- 44) Sheikh MS, Burns TF, Huang Y, Wu GS, Amundson S, Brooks KS, Fornace AJ Jr, el-Deiry WS : p53-dependent and -independent regulation of the death receptor KILLER/DR5 gene expression in response to genotoxic stress and tumor necrosis factor alpha. *Cancer Res* 58:1593-1598, 1998
- 45) Shetty S, Gladden JB, Henson ES, Hu X, Villanueva J, Haney N, Gibson SB : Tumor necrosis factor-related apoptosis

- inducing ligand (TRAIL) up-regulates death receptor 5 (DR5) mediated by NF κ B activation in epithelial derived cell lines. *Apoptosis* 7:413-420, 2002
- 46) Deeb D, Jiang H, Gao X, Hafner MS, Wong H, Divine G, Chapman RA, Dulchavsky SA, Gautam SC : Curcumin sensitizes prostate cancer cells to tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand/Apo2L by inhibiting nuclear factor- κ B through suppression of I κ B α phosphorylation. *Mol Cancer Ther*, 3:803-12, 2004
- 47) Matsui TA, Sowa Y, Yoshida T, Murata H, Horinaka M, Wakada M, Nakanishi R, Sakabe T, Kubo T, Sakai T : Sulforaphane enhances TRAIL-induced apoptosis through the induction of DR5 expression in human osteosarcoma cells. *Carcinogenesis* 27:1768-1777, 2006
- 48) Horinaka M, Yoshida T, Shiraishi T, Nakata S, Wakada M, Nakanishi R, Nishino H, Matsui H, Sakai T : Luteolin induces apoptosis via death receptor 5 upregulation in human malignant tumor cells. *Oncogene* 24:7180-7189, 2005
- 49) Hasegawa H, Yamada Y, Komiyama K, Hayashi M, Ishibashi M, Yoshida T, Sakai T, Koyano T, Kam TS, Murata K, Sugahara K, Tsuruda K, Akamatsu N, Tsukasaki K, Masuda M, Takasu N, Kamihira S : Dihydroflavonol BB-1, an extract of natural plant *Blumea balsamifera*, abrogates TRAIL resistance in leukemia cells. *Blood* 107:679-688, 2006
- 50) Son YG, Kim EH, Kim JY, Kim SU, Kwon TK, Yoon AR, Yun CO, Choi KS : Silibinin sensitizes human glioma cells to TRAIL-mediated apoptosis via DR5 up-regulation and down-regulation of c-FLIP and survivin. *Cancer Res* 67:8274-8284, 2007
- 51) Kim JY, Kim EH, Park SS, Lim JH, Kwon TK, Choi KS : Quercetin sensitizes human hepatoma cells to TRAIL-induced apoptosis via Sp1-mediated DR5 up-regulation and proteasome-mediated c-FLIPS down-regulation. *J Cell Biochem* 105:1386-1398, 2008
- 52) Kim YH, Lee YJ : TRAIL apoptosis is enhanced by quercetin through Akt dephosphorylation. *J Cell Biochem* 100:998-1009, 2007
- 53) Kim YH, Lee DH, Jeong JH, Guo ZS, Lee YJ : Quercetin augments TRAIL-induced apoptotic death: involvement of the ERK signal transduction pathway. *Biochem Pharmacol* 75:1946-1958, 2008
- 54) Mahalingam D, Szegezdi E, Keane M, Jong S, Samali : TRAIL receptor signalling and modulation: Are we on the right TRAIL?. *Cancer Treat Rev* 35:280-288, 2009
- 55) Ashkenazi A, Holland P, Eckhardt SG : Ligand-based targeting of apoptosis in cancer: the potential of recombinant human apoptosis ligand 2/Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (rhApo2L/TRAIL). *J Clin Oncol* 26:3621-3630, 2008
- 56) Stieglmaier J, Bremer E, Kellner C, Liebig TM, ten Cate B, Peipp M, Schulze-Koops H, Pfeiffer M, Bühring HJ, Greil J, Oduncu F, Emmerich B, Fey GH, Helfrich W : Selective induction of apoptosis in leukemic B-lymphoid cells by a CD19-specific TRAIL fusion protein. *Cancer Immunol Immunother* 57:233-246, 2008
- 57) Loebinger MR, Eddaoudi A, Davies D, Janes SM : Mesenchymal stem cell delivery of TRAIL can eliminate

metastatic cancer. *Cancer Res* 69:4134-4142, 2009