

## 암 화학예방제에 의한 death receptor 5(DR5)의 조절 및 apoptosis

계명대학교 의과대학 면역학교실

이태진 · 김 신 · 박종욱 · 권택규

### Modulation of Death Receptor 5 (DR5) and Apoptosis by Chemopreventive Agents

Tae Jin Lee, Ph.D., Shin Kim, M.D., Jong Wook Park, M.D., Taeg Kyu Kwon, Ph.D.

*Department of Immunology,  
Keimyung University School of Medicine, Daegu, Korea*

## 서 론

최근 현대의학의 눈부신 발전에도 불구하고 현대인의 다양한 생활환경과 식생활의 변화 및 인구연령층의 노령화 등의 요인으로 인하여 성인병이 꾸준히 증가하고 있는 추세이다. 그 중에서도 현재 우리나라에서 질병에 의한 사망률 1위인 암 질환은 매년 증가추세인 것으로 밝혀졌다. 새로운 항암제가 계속 개발은 되고 있지만, 전 세계적으로 매년 1,000만 명 이상의 암 환자가 발생하고 약 700만명 정도가 매년 사망하는 것으로 보고되고 있다. 또한 국내에서도 매년 약 11만 명의 암 환자가 발생하고 6만여 명이 한 해에 암으로 사망하는 것으로 알려져 있다. 따라서 암을 정복할 수 있는 수단으로 효능이 뛰어나면서 부작용이 적은 새로운 항암제를 개발과 새로운 접근 방법으로 보다 현실성이 있으며 궁극적인 예방적 차원의 암 화학예방제를 서둘러 연구할 필요성이 절실한 상황이다. 암의 치료에는 화학요법, 방사선요법, 외과적 수술 등이 널리 사용되어 왔으나, 치료 요법 자체의 부작용 등으로 인한 사망도 빈번한 실정이다.

이에 따라 암 치료를 위한 새로운 접근 방법을 필요로 하게 되었는데, 크게 두 가지의 접근 방법이 최근 까지 시도되고 있다. 첫째는 기존의 항암제 또는 화학요법제들의 단점, 즉 부작용 등을 중시하여 다양한 합성 방법을 통하여 기존의 항암제의 약효를 유지하는 반면에 부작용은 현저히 줄어든게 하는 새로운 유도체를 합성, 개발하는 것이다. 또 다른 하나는 암의 진행 단계에서의 암의 발현 자체를 억제 또는 지연시키는 방법, 즉 암 화학예방법으로서, 최근의 연구 동향은 기존의 화학요법제를 이용한 치료보다는 암예방에 보다 더 큰 관심을 기울이고 있는 실정이다. 1982년부터 국립암연구소를 중심으로 미국에서는 암예방 프로그램을 새로이 발족시켜 새로운 암 화학예방제 개발연구에 대하여 다각적인 지원과 공동 연구를 수행하고 있는 실정이다. 미국을 비롯한 유럽 및 일본 등의 선진국에서도 암 화학예방법은 하나의 학문으로 정착을 해가고 있으며 많은 연구자들이 최근에 집중적으로 관심을 가지고 연구에 임하고 있다. 암예방 연구는 비교적 최근에 관심분야로서 소수의 몇몇 연구자에 의해서 천연물을 대상으로 시도되고 있으나,

아직까지 정제 및 정확히 구조 분석된 특정 성분을 대상으로 한 연구는 드물고 추출 성분에 대한 효능 검정 차원에 그치는 경우가 많았고, 이들 중 암 화학예방제제(cancer chemopreventive agent)로 최종적으로 확인된 물질도 별로 없는 실정이다. 전통적으로 천연 약용식물이 풍부하므로 국내 자원의 활용 극대화를 이루기 위하여 암예방의 적합한 방법론을 적용하여 천연물로부터 새로운 암 화학예방제제를 개발하고 그 작용기전을 이해하는 것은 새로운 암치료제의 개발에 아주 유용한 기본 자료를 제공 해줄 것이라 생각된다.

## 암 화학예방법

암 화학예방법이란 invasive cancer의 발달을 저해하거나 방지하기 위한 자연산물 유래 또는 합성된 화합물의 사용을 의미하며, 1976년 Sporn이 처음으로 암 화학예방법(cancer chemoprevention)이란 용어를 사용하여 비타민 A와 합성 유도체인 retinoids로 알려진 비세포독성 영양물질(noncytotoxic nutrients)이나 약물을 이용하여 암의 발생과정을 억제할 수 있다고 보고 하였다[1]. 암 화학예방법에 관한 연구의 장점은 암 발병으로 치료를 받고 재발의 위험이 있는 환자, 유전적으로 암발생 가능성을 가진 사람, 직업적으로 발암물질에 노출된 사람, 흡연자 등에 적용할 수 있으므로 암을 연구하는 데 있어 매우 유망한 영역이라는 것이다. 그래서 최근에는 암이 발병하기 전에 막을 수 있는 암 화학예방제제의 개발연구 분야에서는 부작용이 적은 천연물에서의 암예방 물질 개발에 관한 연구가 전세계적으로 많은 관심을 모으고 있다. 암 화학예방제제들은 암예방뿐만 아니라 암세포의 성장 억제, 성장 인자 신호전달경로 억제, apoptosis 유도, NF- $\kappa$ B, AP-1, JAK-STAT 활성화 경로와 혈관생성 억제, anti-apoptotic protein들의 발현 억제, cyclooxygenase-2 억제 등을 유도할 수 있으므로 암 치료제로서의 효용성이 있으며 항암 치료를 받는 환자에서 항암제 내성과 방사선 내성을 역전시킬 수 있다는 것이 최근에 밝혀졌다. 이러한 암 화학예방제제가 갖추어야 할 조건으로는 1)

암이 이미 발생하지 않은 정상적인 사람을 대상으로 하기 때문에 인체에 전혀 독성이 없거나 극히 미약해야 한다; 2) 불특정 다수인에게 대량으로 공급할 수 있도록 천연물로부터 분리나 합성이 용이한 화합물이어야 한다; 3) 일반사람들이 쉽게 복용이 가능하도록 경구투여가 가능하도록 만들어야 한다; 4) 발생한 질환을 치료하는 것이 아니기 때문에 경제적이여야 한다는 것이다.

지금까지 알려진 바로는 수천 종의 암 화학예방제제가 보고 되었고, 그 중에서 약 40가지가 임상적인 사용을 검정 중이다(Table 1) [2,3]. Retinoids나 antiestrogens 등과 같은 많은 암 화학예방제제들은 세포의 증식이나 분화를 조절하여 transformed cell로의 진행을 억제하거나 지연시키는 것으로 알려져 있다[2,4,5]. 이들 약제들은 세포증식을 억제하는 기능을 촉진하기 때문에 건강한 사람에게 장기간에 투여를 하였을 경우 암의 발생빈도를 증가시킬 수 있다는 점이 대두되었다. 이러한 문제점 때문에 암 화학예방제제를 사용하는 다른 방법이 도입되었는데, 세포의 증식을 단순히 늦추거나 분화를 촉진하기보다는 오히려 apoptosis를 유발하여 pre-malignant cell을 제거하는 방법이다. 즉, transformed cell에서 apoptosis를 유발할 수 있는 것들을 사용하여 pre-malignant lesions을 제거함으로써 2차 원발암의 발생을 억제 할 수 있다. 세포증식 억제 또는 분화로 부터 apoptosis로 전환함으로써 암 화학예방제제들을 장기간 사용할 필요가 없기 때문에 세포독성 및 저항성암세포의 발생을 제한할 수 있는 장점이 있다.

## Death receptor를 경유하는 apoptosis의 중요성

Apoptosis는 인체의 항상성을 유지하기 위해 중요한 역할을 한다. 또한 병리학적 상태에서 비정상적인 세포사멸은 질병의 원인을 제공하기도 한다. 암, Alzheimer병, Parkinson병 disease, 당뇨병과 같은 자가면역증의 질병 등을 그 예로 들 수 있다. 악성 종양은 세포 성장(proliferation) 및 사멸(apoptosis)을 조절하는 여러 단계의 불균형에서 초래된다.

**Table 1.** Chemopreventive agents that induce apoptosis in carcinogenesis models or in human chemoprevention trials

Agent	Carcinogenesis model/human trial [reference]
Tea polyphenols	TRAMP mouse model for prostate cancer[6], and UV- and chemically induced skin tumors in mice
Epigallocatechin gallate	Chemically induced hepatic tumors in mice[7] and UV-induced skin tumors in mice[8]
S-adenosyl-L-methionine	1,2-Dimethylhydrazine/orotic acid-induced rat liver carcinogenesis[9]
Aspirin	Min/+ mouse model for colon carcinogenesis[10]
Perillyl alcohol	Azoxymethane (AOM)-induced rat colon carcinogenesis[11]
Sulindac	AOM-induced rat colon carcinogenesis[12]
Phenylethyl-3-methylcaffeate	AOM-induced rat colon carcinogenesis[12]
Curcumin	AOM-induced rat colon carcinogenesis[12]
Difluoromethylornithine	N-Nitrosomethylbenzylamine-induced esophageal cancer in Zn <sup>2+</sup> -deficient rats[13]
Quercetin	AOM-induced mouse colon carcinogenesis[14]
Rutin	AOM-induced mouse colon carcinogenesis[14]
Capsaicin	4-Nitroquinoline 1-oxide (NQO) - induced tongue carcinogenesis in rats[15]
Rotenone	NQO-induced tongue carcinogenesis in rats[6], and diethylnitrosamine-induced hepatic lesions in mice[16]
Exisulind	Phase I trial in patients with familial adenomatous polyposis[17]
Mesalazine	Prospective pilot study in colorectal cancer patients[18], and as a chemopreventive agent in patients with sporadic polyps of the large bowel[19]

Caspase 활성화에 이르는 apoptosis 경로는 크게 mitochondrial pathway와 death receptor pathway로 나눌 수 있다. 방사선요법이나 화학요법 수행 시 주로 mitochondrial apoptotic pathway를 통해 암세포에서 apoptosis가 유도되는 것으로 알려져 있으나 악성종양의 경우 mitochondrial apoptotic pathway가 고장이 난 경우가 많다. 따라서 항암제에 대해 저항성을 획득한 암세포를 죽이기 위해서는 mitochondrial apoptotic pathway를 우회하고 tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) 같은 death receptor pathway를 활성화시켜 apoptosis를 유도하는 것이 유리하다. 또한 항암치료에 대해 저항성을 획득하게

되는 주요 원인 기전으로 p53 돌연변이를 들 수 있는데, TRAIL은 p53와는 독립적으로 apoptosis를 유도할 수 있으므로 [20] TRAIL-based therapy는 기존 항암 치료에 저항성을 획득한 암세포 치료법으로 다양한 장점을 가지고 있을 뿐만 아니라 정상세포에 미치는 세포독성, 전신부작용이 없으므로 향후 차세대 항암 치료책으로써 충분한 잠재력을 갖추고 있다고 볼 수 있다.

## Death receptor를 경유하는 apoptosis

지금까지 알려지고 있는 death receptor는 그

receptor에 부착하는 ligand에 따라 TNF receptor (TNFR1, TNFR2), TRAIL receptor (DR4, DR5), CD95 (Fas, APO-1) 등으로 분류된다. 여러 종류의 death receptor 들은 각자 고유의 특정한 기전을 통해 세포사멸을 유발한다. Death receptor는 extrinsic apoptotic pathway의 주요인자이다. Ligand의 부착에 의한 death receptor의 활성화 및 death receptor의 발현증가는 extrinsic apoptotic pathway를 활성화시켜 apoptosis를 유발한다. Death receptor의 발현은 암 화학예방제제 등과 같은 다양한 작은 분자들에 의해 증가된다. TRAIL에 의한 apoptosis 유도 기전을 살펴보면, TRAIL이 DR4 및 DR5에 결합하여 3개의 receptor가 결합하여 (trimerized receptor), adaptor FADD, caspase-8로 이루어진 death-inducing signaling complex(DISC) 형성을 유도한다. DISC 생성의 결과로 caspase-8이 활성화된다. 활성화된 caspase-8에 의해서 하류에 있는 caspase-3, caspase-9 등과 같은 일련의 caspase cascade가 활성화되어 apoptosis를 유발한다. 지금까지 알려진 death receptor 및 그 ligand로는,

- 1) TNF- $\alpha$ 는 TNFR1을 receptor로써 세포사멸 뿐만 아니라 RIP과 JNK를 경유하여 세포염증관련 싸이토카인의 분비를 촉진하여 치명적인 전신염증을 유발 하는 단점이 있다[21].
- 2) Fas는 Fas ligand(Fas L)가 부착하는 수용체인데, 이러한 Fas를 경유하는 세포사멸 기전은 간세포에서는 Fas의 발현이 아주 높기 때문에 이러한 기전이 활성화 되었을 때 강력한 간세포 손상을 유발하기 때문에 치료제로서 사용하기에는 문제가 있다[22].
- 3) TRAIL은 다양한 암세포에 항암 활성을 보이며, 정상세포에는 약한 세포독성을 나타낸다는 것을 보여주었다[23]. 이러한 TRAIL의 세포선택성 때문에 신규 항암제 후보로써 각광을 받고 있다.

### TRAIL의 항암치료제로써의 문제점

TRAIL은 임상 적용 시 비교적 안전하고 유망한 death ligand일 수 있겠으나, 최근 들어 TRAIL에 의

한 apoptosis 감수성이 암세포에 따라 다르며, TRAIL receptor가 발현되는 암세포들 중에서도 TRAIL에 저항성을 가진 암세포가 많이 보고되고 있다[24]. 특히 대부분의 유방암, 전립선암, 자궁암, 폐암, 백혈병, 간암, 뇌종양 세포들이 TRAIL에 저항성이 있다고 알려졌다. 또한 TRAIL을 암세포에 지속적으로 처리하면 처음에는 TRAIL에 감수성을 보이던 암세포들도 TRAIL에 저항성을 가지게 된다는 보고도 있다[25]. 이러한 문제점을 극복하기 위해 세포에 거의 독성을 유발하지 않는 농도의 TRAIL을 다른 기존의 doxorubicin, cisplatin 등과 같은 항암제를 같이 혼합하여 처리하면 TRAIL에 대한 감수성을 증가시켜 apoptosis를 효과적으로 유도할 수 있다고 보고되었다. 그러나 이들 항암제 또한 세포 독성을 나타내므로 암세포뿐만 아니라 정상세포에도 극심한 손상을 유발한다는 문제점이 있다. 이러한 이유로 인해 세포독성이 약하며 TRAIL sensitizing 효능이 있지만 정상세포에 대한 독성을 최소화할 수 있는 새로운 암 화학예방제제를 발굴하여 TRAIL과의 병합 처리에 이용하고자 하는 연구가 진행되고 있다.

### 암 화학예방제제에 의한 death receptor의 조절

많은 연구자들에 의하여 암 화학예방제제 등과 같은 작은 분자들에 의해서 Fas, DR4 및 DR5의 발현이 조절된다. 이러한 death receptor의 활성화에 의해서 암 화학요법의 효과를 증진시킬 수 있다[26]. 최근의 또 다른 보고들에 의하면 non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), retinoids, triterpenoids 등과 같은 암 화학예방제제 등에 의해서 death receptor의 발현을 증가시켜 death receptor에 의해 매개되는 apoptosis를 촉진한다고 알려지고 있다.

### 암 화학예방제제와 TRAIL과의 병합 처리에 의한 apoptosis 연구

#### 1. DR5의 발현조절

Wu 등[27]에 의하면 항암제인 adriamycin에 의해서 wild type의 p53이 발현되는 세포에서는 DR5의 mRNA 발현이 증가되지만 p53 유전자 돌연변이 또는 결손된 세포주에서는 발현에 변화가 없다고 보고하였다. 또한 ionizing radiation은 p53을 안정화시켜 DR5의 발현이 증가한다고 보고하였다[28]. 이러한 보고들에 의해서 처음에는 DR5의 발현조절은 p53 의존적으로 조절된다고 보고되었지만, 최근의 많은 보고들에 의해서 genotoxic stress의 종류에 따라 p53 비의존적으로도 조절된다고 알려지게 되었다. 즉 tumor-necrosis factor- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ), glucocorticoids, interferon- $\gamma$  또는 항암제인 methylmethane sulfonate 처리에 의해서 p53이 돌연변이인 세포주에서도 DR5의 발현이 증가되는 것을 보고하였다[28-29]. 즉 DR5는 p53 의존적 또는 비의존적 경로에 의해 조절되는 유도성 receptor임을 의미한다. p53을 제외한 전사조절인자들에 의한 DR5 promoter 및 유전자 발현에 관한 연구를 살펴보면,

1) NF- $\kappa$ B에 관한 연구: Topoisomerase II 저해제인 etoposide와 TRAIL을 병행해서 처리하면 DR5의 발현이 증가하는데, NF- $\kappa$ B의 활성화를 억제하면 DR5의 발현이 억제된다. 이러한 결과는 etoposide와 TRAIL의 병행처리에 의해서 유발되는 DR5의 발현증가는 NF- $\kappa$ B 신호전달체계를 경유해서 일어난다는 것을 보여 준다[30].

2) Sp1에 관한 연구: Deoxycholic acid 등과 같은 bile acid를 hepatocellular carcinoma 세포에 처리하면 DR5의 발현을 증가시켜 TRAIL에 대한 감수성을 증가시킨다. 이와 같은 bile acid에 의한 DR5의 up-regulation에는 Sp1이 관여한다(Fig. 1). 이 세포주에 bile acid를 처리하면 4개의 SP1 binding site(BS) 중 BS3의 Sp1 binding이 증가되고, 또한

이 부위를 돌연변이 시키면 promoter 활성이 감소되는 것으로 보아 BS3부위가 bile acid에 의한 Sp1에 의한 up-regulation에 관여하리라는 것을 제시해 준다[31]. 저자들은 이러한 다양한 전사조절인자들에 의해서 조절되는 DR5의 전사를 촉진하는 암 화학예방제에 의한 DR5의 발현기전 및 TRAIL에 대한 감수성을 증가시켜 synergistic effect를 유발하여 세포사멸을 촉진하는 기전을 저자들의 연구실에서 관찰한 결과를 중심으로 소개하고자 한다.

## 2. Sulforaphane의 TRAIL에 대한 synergistic effect

역학조사의 결과에 의하면 십자화과 채소(cruciferous vegetables)를 많이 섭취하면 tumorigenesis로부터 보호된다고 알려져 있다[32]. 이러한 결과로 십자화과 채소에 존재하는 암 화학예방제가 암의 예방에 중요한 역할을 한다는 것을 시사한다. Sulforaphane[1-isothiocyanato-4-(methylsulfinyl)-butane]은 브로콜리 등과 같은 십자화과 채소에 존재하는 isothiocyanate family에 속하는 화합물이다. 지금까지 알려진 바로는 sulforaphane은 arcinogenic chemicals의 활성화에 관여하는 cytochrome P450-dependent monooxygenases를 저해하거나 또는 phase II detoxification enzymes을 촉진하여 carcinogenic metabolism을 조절하는 것으로 알려져 있다[33-34]. 또한 sulforaphane은 사람 암세포의 세포주기를 정지시키거나 apoptosis를 유발하여 암세포의 성장을 억제한다고 알려져 있다[35-36]. 이러한 사실을 기반으로 하여 sulforaphane이 암치료제 및 보조치료제로서의 가치가 있음을 시사한다. 저자들은 이러한 사실을 기반으로 하여 연구를 진행한 결과 TRAIL과 subtoxic한 양의 sulforaphane을 사용하

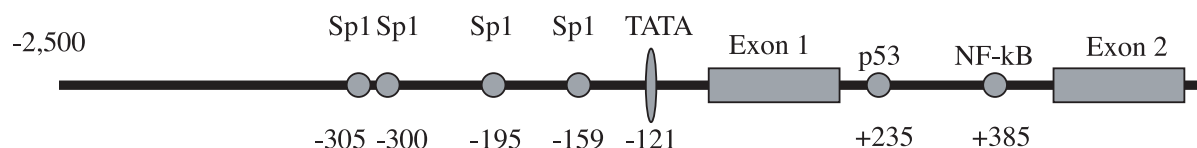


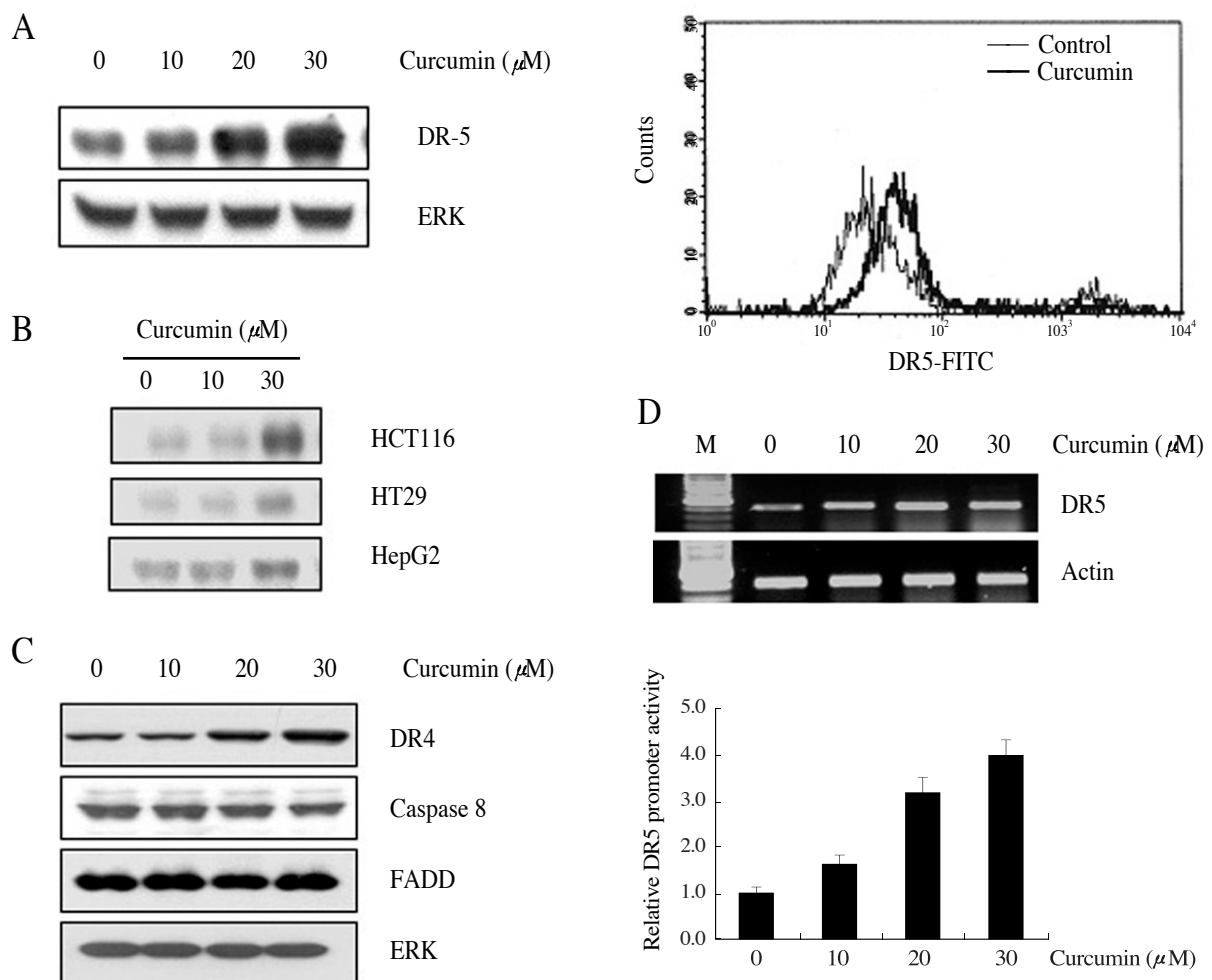
Fig.1. Schematic structure of death receptor (DR5) promoter.

여 TRAIL 저항성을 보이는 간암세포주에서 세포사멸을 증진시킨다는 사실을 규명하였다. 또한 sulforaphane이 활성산소종(reactive oxygen species; ROS)의 생성을 촉진하여 ROS가 TRAIL receptor인 DR5의 발현을 증가시켜 TRAIL에 대한 감수성을 증가시켜 세포사멸을 촉진한다는 것을 밝혔다. 반면에 sulforaphane은 다른 death receptor인 Fas나 TNFR의 발현에는 영향을 주지 않았다. Sulforaphane은 apoptosis를 억제하는 유전자인

Bcl-xL 이나 Bcl-2가 과발현된 간암세포주도 TRAIL에 선택적으로 감수성을 증가시킴을 관찰하였다[37].

### 3. Curcumin에 의한 TRAIL에 대한 synergistic effect

카레 특유의 노란색은 주재료 중의 하나인 강황 또는 울금(*Curcuma longa*)이라 불리는 식물의 뿌리에서 나오는 천연 색상으로 이 색은 curcumin이라

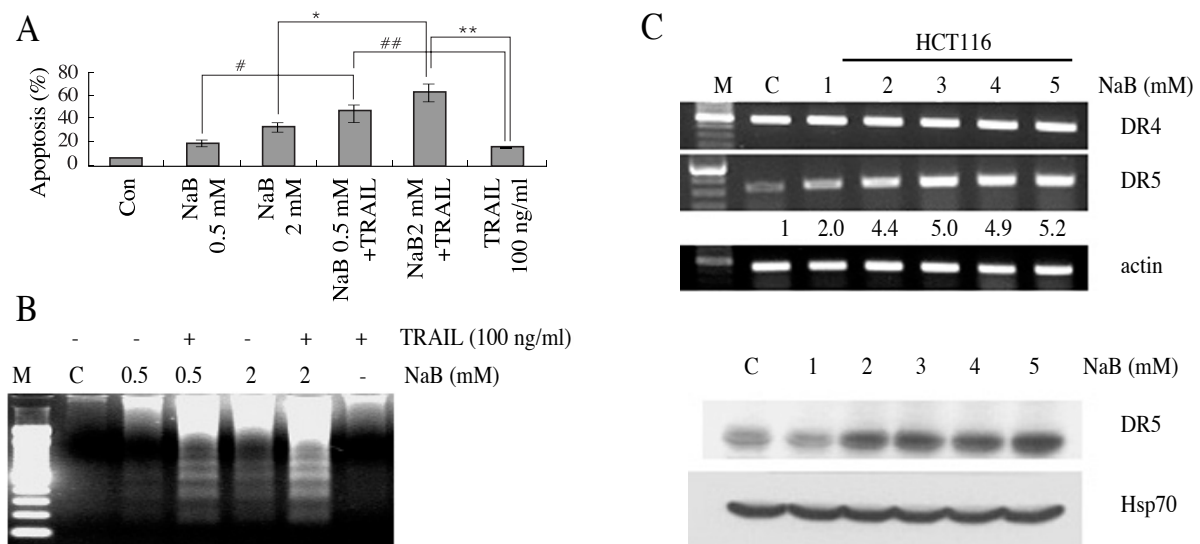


**Fig. 2.** The expression levels of the DR5 mRNA and DR5 protein by treatment with curcumin in Caki cells. (A) Caki cells were treated with the indicated concentrations of curcumin. Effects of curcumin on the cell-surface expression of DR5 in Caki cells. (B) HCT116, HT29 and HepG2 cells were treated with the indicated concentrations of curcumin. Expression of DR5 was determined by western blot analysis. (C) Effect of curcumin on TRAIL-mediated apoptosis related proteins. (D) Effect of curcumin on DR5 mRNA expression and DR5 promoter activity.

불리는 색소에 의한 것이다. 아시아계 이주민이 많은 영국의 레스터시에서 결장암 진단을 받은 환자 500명을 조사하던 중 아시아계는 단 2명에 불과한 사실을 확인한 적이 있다. 더 많은 조사와 실험을 거쳐 조사단은 아시아계 사람들이 많이 먹는 카레, 특히 curcumin에 항암효과가 있다는 사실을 발표했다. 또 미국에서도 curcumin이 종양을 차단하거나 축소시키는 효과가 있다는 연구보고서가 발표됐고 영국의 다른 연구기관에서는 카레가 면역체제를 발동시키는 효과가 있다고 밝혔다. 최근에 Mehta 등 [38]은 curcumin이 in vitro에서 여러 암세포의 증식을 억제하는 기능이 있음을 보고하였으며, in vivo에서도 phorbol esters 등과 같은 다양한 암유발인자들에 의해 유발되는 tumor initiation을 억제하여 항암기능을 나타내는 것을 보고하였다 [39-41]. 피부암, 구강암, 대장암 및 유방암 등과 같은 다양한 암에서 curcumin의 암예방 활성이 보고되었지만 구체적인 기전은 알려지지 않은 상태였다. 저자들의 연구실에서는 curcumin에 의해서 생성된 ROS가 DR5의 mRNA 및 단백질의 합성을 촉진하여 TRAIL에 대한 감수성이 증가함을 신장 세포암인 Caki cell에서 발견하여 보고하였다(Fig. 2) [42].

#### 4. Sodium butyrate에 의한 TRAIL에 대한 synergistic effect

Butyrate는 대장에 존재하는 미생물이식이섬유소를 발효하여 생성하는 세포사멸을 유발하지 않는 짧은 지방산이다[43]. Butyrate는 세포주기의 정지, 분화 및 apoptosis 등을 포함한 세포의 성숙을 자극하여 대장점막의 항상성을 유지하는데 중요한 역할을 한다[44]. Sodium butyrate는 히스톤 단백질의 탈아세틸화를 억제하여 히스톤 단백질의 과아세틸화(hyperacetylation)를 유도한다[45]. 많은 유전자들이 butyrate 및 trichostatin A와 같은 다른 deacetylase 저해제에 의해서 전사단계에서 조절된다[46-48]. 이러한 butyrate 화합물의 증식억제능과 낮은 독성 때문에 새로운 합암제로의 가능성에 많은 관심을 가지게 되었다. 이와 같은 사실을 기반으로 sodium butyrate를 사용하여 TRAIL에 대한 감수성을 증가시켜 apoptosis를 유발하는지를 연구하였다. 그 결과 sodium butyrate는 선택적으로 DR5만 발현을 증가시켰고 또 다른 TRAIL receptor인 DR4의 발현에는 아무런 영향을 주지 않았다(Fig. 3). Sodium butyrate에 의한 DR5의 발현 증가는 DR5의 promoter에 존재하는 Sp1 site가 중요한 역



**Fig. 3.** Effect of sodium butyrate (NaB) on TRAIL-induced apoptosis in colon HCT116 cells. (A) Flow cytometric analysis of apoptotic cells. (B) Fragmentations of genomic DNA in HCT116 cells treated for 24 h with the indicated concentrations of sodium butyrate and TRAIL. (C) Effect of sodium butyrate on DR5 mRNA expression and DR5 protein expression in HCT116 cells.

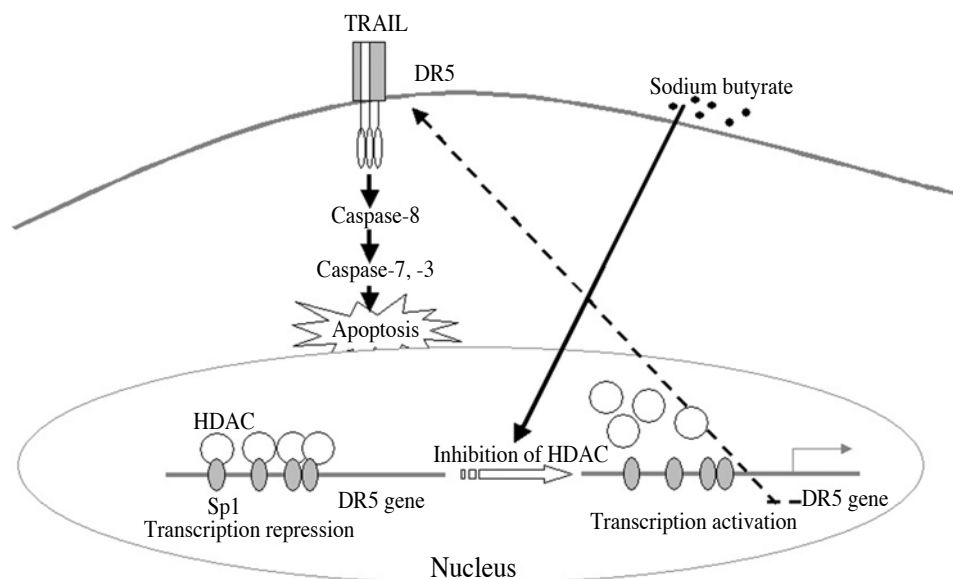


Fig. 4. Tentative model for the mechanism of TRAIL and sodium butyrate-induced apoptotic pathways.

할을 하는 것을 관찰하였다(Fig. 4)[49].

## 결론

암은 우리나라에서 사망원인 1위를 차지하는 질병으로서, 환경문제, 수명의 연장, 식문화의 서구화 등으로 향후 25년 내에 세계 암 발생 인구가 매년 약 3천만 명으로 늘어나고, 이 중 2천만명의 인구가 암으로 사망할 것으로 예상하고 있다. 현재 암치료에 사용되고 있는 항암제의 대부분은 화학요법제로, 이들은 암의 원치보다는 증상완화의 방법으로 사용되고 있는 수준이다. 비록, 항암제가 상당히 발전해왔음은 분명하지만, 현재 사용되고 있는 화학요법제인 항암제는 부작용, 항암제 내성 등의 문제점을 가지고 있다. 항암제는 암세포만이 아니라 정상세포에도 영향을 미치기 때문에 원하지 않는 부작용을 나타내는 경우가 많으며, 아직까지는 암세포에만 작용하고 정상세포에는 영향을 미치지 않는 항암제는 개발되지 못하고 있는 것이 현실이다. 따라서 암의 예방은 암 발생억제의 주요한 수단으로 인식되고 있다. 일반적으로 암예방 방법으로는 지금까지 알려진 발암인에 노출이 되지 않는 방법, 암에 대한 면역반응을 증

진시키는 방법, 생활습관을 바꾸는 방법, 그리고 암 화학예방법 등이 있다. 암 화학예방제의 개발에 중요한 대상이 되는 것이 apoptosis 기전이다. 많은 암 화학예방법 제제들이 apoptosis에 관련된 여러 경로에 관여함으로써 암 세포의 사멸을 촉진하는 것으로 생각된다. 또한 많은 제제들이 apoptosis를 촉진시킬 수 있는 유전자의 발현을 조절함으로써 일어난다는 것이 여러 연구 결과에 의해 밝혀지고 있다. DR5의 발현을 조절하는 암 화학예방제제의 개발은 다른 암 화학예방제제에 비해 몇 가지 장점을 가지고 있다. 암세포가 처음에는 p53이 정상적으로 발현되다가 반복되는 항암제의 투여로 인해 p53유전자에 돌연변이가 유발되어 항암제에 내성을 보이는 경우 많다. 이러한 점에서 DR5의 발현은 p53 의존적 또는 비의존적으로 조절되기 때문에 DR5의 발현을 조절하는 암 화학예방제제를 검색함으로써 p53의 돌연변이에 상관없이 암세포를 대상으로 TRAIL에 대한 감수성을 증가시켜 암세포의 치료에 이용할 수 있다. 또한 DR 유전자는 p53 뿐만 아니라, NF- $\kappa$ B, Sp1 등과 같은 아주 다양한 전사조절인자들에 의해서 유도되기 때문에 적용할 수 있는 암 화학예방제제의 범위가 넓다는 장점이 있다. 따라서 암세포에서만 특이적으로 death receptor의 발현을 촉진시켜 death



receptor 매개 apoptosis를 촉진하는 암 화학예방제 제를 검색하고 개발하는데 보다 많은 연구와 투자가 선행되어야 할 것으로 생각된다.

## 참 고 문 헌

1. Sporn MB. Approaches to prevention of epithelial cancer during the preneoplastic period. *Cancer Res* 1976;**36**:2699-702.
2. Kelloff GJ, Crowell JA, Steele VE, Lubet RA, Boone CW, Malone WA, *et al.* Progress in cancer chemoprevention. *Ann NY Acad Sci* 1999;**889**:1-13.
3. Sun SY, Hail N Jr, Lotan RJ. Apoptosis as a novel target for cancer chemoprevention. *Natl Cancer Inst* 2004;**96**:662-72.
4. Hong WK, Sporn MB. Recent advances in chemoprevention of cancer. *Science* 1997;**278**:1073-7.
5. Wattenberg LW. What are the critical attributes for cancer chemopreventive agents? *Ann NY Acad Sci* 1995;**768**:73-81.
6. Gupta S, Hastak K, Ahmad N, Lewin JS, Mukhtar H. Inhibition of prostate carcinogenesis in TRAMP mice by oral infusion of green tea polyphenols. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;**98**:10350-5.
7. Klaunig JE, Kamendulis LM. Mechanisms of cancer chemoprevention in hepatic carcinogenesis: modulation of focal lesion growth in mice. *Toxicol Sci* 1999;**52**:101-6.
8. Lu YP, Lou YR, Xie JG, Peng QY, Liao J, Yang CS, *et al.* Topical applications of caffeine or (-)-epigallocatechin gallate (EGCG) inhibit carcinogenesis and selectively increase apoptosis in UVB-induced skin tumors in mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;**99**:12455-60.
9. Pascale RM, Simile MM, De Miglio MR, Nufri A, Daino L, Seddaiu MA, *et al.* Chemoprevention by S-adenosyl-L-methionine of rat liver carcinogenesis initiated by 1,2-dimethylhydrazine and promoted by orotic acid. *Carcinogenesis* 1995;**16**(2):427-30.
10. Mahmoud NN, Dannenberg AJ, Mestre J, Bilinski RT, Churchill MR, Martucci C, *et al.* Aspirin prevents tumors in a murine model of familial adenomatous polyposis. *Surgery* 1998;**124**:225-31.
11. Reddy BS, Wang CX, Samaha H, Lubet R, Steele VE, Kelloff GJ, *et al.* Chemoprevention of colon carcinogenesis by dietary perillyl alcohol. *Cancer Res* 1997;**57**(3):420-5.
12. Samaha HS, Kelloff GJ, Steele V, Rao CV, Reddy BS. Modulation of apoptosis by sulindac, curcumin, phenylethyl-3-methylcaffeate, and 6-phenylhexyl isothiocyanate: apoptotic index as a biomarker in colon cancer chemoprevention and promotion. *Cancer Res* 1997;**57**:1301-5.
13. Fong LY, Nguyen VT, Pegg AE, Magee PN. Alpha-difluoromethylornithine induction of apoptosis: a mechanism which reverses pre-established cell proliferation and cancer initiation in esophageal carcinogenesis in zinc-deficient rats. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001;**10**:191-9.
14. Yang K, Lamprecht SA, Liu Y, Shinozaki H, Fan K, Leung D, *et al.* Chemoprevention studies of the flavonoids quercetin and rutin in normal and azoxymethane-treated mouse colon. *Carcinogenesis* 2000;**21**:1655-60.
15. Tanaka T, Kohno H, Sakata K, Yamada Y, Hirose Y, Sugie S, *et al.* Modifying effects of dietary capsaicin and rotenone on 4-nitroquinoline 1-oxide-induced rat tongue carcinogenesis. *Carcinogenesis* 2002;**23**:1361-7.
16. Isenberg JS, Kolaja KL, Ayoubi AS, Watkins JB 3rd, Klaunig JE. Inhibition of WY-14,643 induced hepatic lesion growth in mice by rotenone. *Carcinogenesis* 1997;**18**:1511-9.
17. van Stolk R, Stoner G, Hayton WL, Chan K, DeYoung B, Kresty L, *et al.* Phase I trial of exisulind (sulindac sulfone, FGN-1) as a chemopreventive agent in patients with familial adenomatous polyposis. *Clin Cancer Res* 2000

- ;6:78-89.
18. Bus PJ, Nagtegaal ID, Verspaget HW, Lamers CB, Geldof H, Van Krieken JH, *et al.* Mesalazine-induced apoptosis of colorectal cancer: on the verge of a new chemopreventive era? *Aliment Pharmacol Ther* 1999;**13**:1397-402.
  19. Reinacher-Schick A, Seidensticker F, Petrasch S, Reiser M, Philippou S, Theegarten D, *et al.* Mesalazine changes apoptosis and proliferation in normal mucosa of patients with sporadic polyps of the large bowel. *Endoscopy* 2000;**32**:245-54.
  20. Dorai T, Aggarwal BB. Role of chemopreventive agents in cancer therapy. *Cancer Lett* 2004;**215**:129-40.
  21. Havell EA, Fiers W, North RJ. The antitumor function of tumor necrosis factor (TNF). I. Therapeutic action of TNF against an established murine sarcoma is indirect, immunologically dependent, and limited by severe toxicity. *J Exp Med* 1988;**167**:1067-85.
  22. Ogasawara J, Watanabe-Fukunaga R, Adachi M, Matsuzawa A, Kasugai T, Kitamura Y, *et al.* Lethal effect of the anti-Fas antibody in mice. *Nature* 1993;**364**:806-9.
  23. Pitti RM, Marsters SA, Ruppert S, Donahue CJ, Moore A, Ashkenazi A. Induction of apoptosis by Apo-2 ligand, a new member of the tumor necrosis factor cytokine family. *J Biol Chem* 1996;**271**:12687-90.
  24. Knight MJ, Riffkin CD, Muscat AM, Ashley DM, Hawkins CJ. Analysis of FasL and TRAIL induced apoptosis pathways in glioma cells. *Oncogene* 2001;**20**:5789-98.
  25. Zhang L, Gu J, Lin T, Huang X, Roth JA, Fang B. Mechanisms involved in development of resistance to adenovirus-mediated proapoptotic gene therapy in DLD1 human colon cancer cell line. *Gene Ther* 2002;**9**:1262-70.
  26. Debatin KM, Krammer PH. Death receptors in chemotherapy and cancer. *Oncogene* 2004;**23**:2950-66.
  27. Wu GS, Burns TF, McDonald ER 3rd, Jiang W, Meng R, Krantz ID, *et al.* KILLER/DR5 is a DNA damage-inducible p53-regulated death receptor gene. *Nat Genet* 1997;**17**:141-3.
  28. Sheikh MS, Burns TF, Huang Y, Wu GS, Amundson S, Brooks KS, *et al.* 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* 1998;**58**:1593-8.
  29. Meng RD, El-Deiry WS. p53-independent upregulation of KILLER/DR5 TRAIL receptor expression by glucocorticoids and interferon-gamma. *Exp Cell Res* 2001;**262**:154-69.
  30. 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* 2000;**20**:205-12.
  31. Higuchi H, Grambihler A, Canbay A, Bronk SF, Gores GJ. Bile acids up-regulate death receptor 5/TRAIL-receptor 2 expression via a c-Jun N-terminal kinase-dependent pathway involving Sp1. *J Biol Chem* 2004;**279**:51-60.
  32. Cohen JH, Kristal AR, Stanford JL. Fruit and vegetable intakes and prostate cancer risk. *J Natl Cancer Inst* 2000;**5**:61-8.
  33. Barcelo S, Gardiner JM, Gescher A, Chipman JK. CYP2E1-mediated mechanism of anti-genotoxicity of the broccoli constituent sulforaphane. *Carcinogenesis* 1996;**17**:277-82.
  34. Brooks JD, Paton VG, Vidanes G. Potent induction of phase 2 enzymes in human prostate cells by sulforaphane. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001;**10**:949-54.
  35. Gamet-Payraastre L, Li P, Lumeau S, Cassar G, Dupont MA, Chevolleau S, *et al.* Sulforaphane, a naturally occurring isothiocyanate, induces cell cycle arrest and apoptosis in HT29 human colon

- cancer cells. *Cancer Res* 2000 ;**60**:1426-33.
36. Fimognari C, Nusse M, Cesari R, Iori R, Cantelli-Forti G, Hrelia P. Growth inhibition, cell-cycle arrest and apoptosis in human T-cell leukemia by the isothiocyanate sulforaphane. *Carcinogenesis* 2002;**23**:581-6.
37. Kim H, Kim EH, Eom YW, Kim WH, Kwon TK, Lee SJ, Choi KS. Sulforaphane sensitizes tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL)-resistant hepatoma cells to TRAIL-induced apoptosis through reactive oxygen species-mediated up-regulation of DR5. *Cancer Res* 2006;**66**:1740-50.
38. Mehta K, Pantazis P, McQueen T, Aggarwal BB. Antiproliferative effect of curcumin (diferuloylmethane) against human breast tumor cell lines. *Anticancer Drugs* 1997;**8**:470-481.
39. Huang MT, Smart RC, Wong CQ, Conney AH. Inhibitory effect of curcumin, chlorogenic acid, caffeic acid, and ferulic acid on tumor promotion in mouse skin by 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate. *Cancer Res* 1988;**48**:5941-6.
40. Huang MT, Ma W, Lu YP, Chang RL, Fisher C, Manchand PS, *et al.* Effects of curcumin, demethoxycurcumin, bisdemethoxycurcumin and tetrahydrocurcumin on 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate-induced tumor promotion. *Carcinogenesis* 1995;**16**:2493-7.
41. Huang MT, Ma W, Yen P, Xie JG, Han J, Frenkel K, *et al.* Inhibitory effects of topical application of low doses of curcumin on 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate-induced tumor promotion and oxidized DNA bases in mouse epidermis. *Carcinogenesis* 1997;**18**:83-8.
42. Jung EM, Lim JH, Lee TJ, Park JW, Choi KS, Kwon TK. Curcumin sensitizes tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL)-induced apoptosis through reactive oxygen species-mediated upregulation of death receptor 5 (DR5). *Carcinogenesis* 2005;**26**:1905-13.
43. Velazquez OC, Lederer HM, Rombeau JL. Butyrate and the colonocyte. Production, absorption, metabolism, and therapeutic implications. *Adv Exp Med Biol* 1997;**427**:123-34.
44. Heerdt BG, Houston MA, Augenlicht LH. Short-chain fatty acid-initiated cell cycle arrest and apoptosis of colonic epithelial cells is linked to mitochondrial function. *Cell Growth Differ* 1997;**8**:523-32.
45. Candido EP, Reeves R, Davie JR. Sodium butyrate inhibits histone deacetylation in cultured cells. *Cell* 1978;**14**:105-13.
46. Saito A, Yamashita T, Mariko Y, Nosaka Y, Tsuchiya K, Ando T, *et al.* A synthetic inhibitor of histone deacetylase, MS-27-275, with marked in vivo antitumor activity against human tumors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;**96**:4592-7.
47. Han JW, Ahn SH, Park SH, Wang SY, Bae GU, Seo DW, *et al.* Apicidin, a histone deacetylase inhibitor, inhibits proliferation of tumor cells via induction of p21WAF1/Cip1 and gelsolin. *Cancer Res* 2000;**60**:6068-74.
48. Richon VM, Sandhoff TW, Rifkind RA, Marks PA. Histone deacetylase inhibitor selectively induces p21WAF1 expression and gene-associated histone acetylation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;**97**:10014-9.
49. 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* 2004;**25**:1813-20.