비소세포성 폐암 세포주에서 Farnesyl Transferase Inhibitor SCH66336과 인슐린양 성장 인자 결합 단백-3의 병용처리에 의한 세포고사 상승 작용

연세대학교 의과대학 [1]내과학교실, [2]폐질환연구소, [3]BK21 의과학 사업단, [4]암전이 연구센터
김 영[1], 김세규[1,2,3,4], 김형중[1,2], 장 준[1,2], 안철민[1,2], 김성규[1,2], 장윤수[1]

Synergism Induced by Combination of Farnesyl Transferase Inhibitor SCH66336 and Insulin like-Growth Factor Binding Protein-3 in apoptosis of Non-Small Cell Lung Cancer Cell lines

Young Kim, M.D.[1], Se Kyu Kim, M.D.[1,2,3,4], Hyung Jung Kim, M.D.[1,2], Joon Chang, M.D.[1,2], Chul Min Ahn, M.D.[1,2], Sung Kyu Kim, M.D.[1,2], and Yoon Soo Chang, M.D.[1]

Department of [1]Internal Medicine, [2]Institute of Chest Diseases, [3]Brain Korea 21 Project for Medical Sciences, and [4]Cancer Metastasis Research Center, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Background : Insulin-like growth factor binding protein (IGFBP)-3 regulates non-small cell lung cancer(NSCLC) cell proliferation *in vitro* and *in vivo* by inhibiting IGF-mediated signaling pathways. To have better strategies for the treatment of lung cancer, we analyzed the combining effects of adenovirus expressing IGFBP-3 (Ad5CMV-BP3) and SCH66336, a farnesyl transferase inhibitor (FTI) designed to block Ras-mediated proliferative signaling pathways.

Methods : To measure the combining effects of Ad5CMV-BP3 and SCH66336 on the proliferation of NSCLC cells, human NSCLC cell lines (H1299, H596, A549, H460, and H358), SCH66336, recombinant adenovirus expressing IGFBP-3 (Ad5CMV-BP3) and athymic nude mice were used in these experiments.

Results : The combination of Ad5CMV-BP3 and SCH66336 produced a synergistic enhancement in antiproliferative effects over a range of clinically achievable concentrations in a variety of NSCLC cell lines. Furthermore, we observed a significant reduction in growth of NSCLC xenograft induced in athymic nude mice.

Conclusion : In conclusion, this study demonstrated for the first time that the FTI SCH66336 synergizes with IGFBP-3 and enhances its apoptotic activity in NSCLC cells *in vitro* and *in vivo*. The combined treatment of Ad5CMV-BP3 and SCH66336 raises the possibility of using this regimen in clinic for the treatment of NSCLC.
(Tuberc Respir Dis 2005; 58:120-128)

Key words : Non-small cell lung cancer, Insulin-like growth factor binding protein-3, Farnesyl transferase inhibitor

서 론

폐암은 국내 및 미국을 비롯한 전세계 인구에서 가장 높은 암 사망률을 차지하고 있는 질환 중 하나로 사망률을 줄이기 위한 수술적 절제 및 방사선 치료와 항암 화학 약물요법을 포함한 다양한 노력에도 불구하고 5년 생존율은 1970년대의 7%에서 2000년에 14%로 만족할 만한 수준에 미치지 못하고 있는 실정이다[1]. 국내에서도 약 5년 전부터는 위암에 버금가는 높은 발생빈도를 보이고 있으며, 전세계적으로 매년 1,000,000예의 새로운 폐암 환자가 생겨나고 있다[1]. 이에 폐암 발생의 기전 규명뿐 아니라 예방과 조기 진단 방법의 개발 및 그 치료법의 개발이 시급하게 필요한 상황이다.

최근 특정 신호전달체계 억제물질을 통한 새로운 폐암치료의 전략이 제시되고 있다[2]. 인슐린 양 성장인자들(Insulin-like growth factors, IGFs)은 두개의 다른 신호전달 체계인 Ras/Raf/MAPK와 phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/Akt의 활성을 통하여 세포의 성장에서 중요한 세포분열 촉진과 세포자멸사를 억제하는 것으로 알려져 있다[3]. 폐암 세포는 높은 인슐린 양 성장인자 수용체의 발현으로 인하여 외부에

본 연구는 한국과학재단 지정 연세대학교 암전이 연구센터의 연구비 지원에 의해 수행되었습니다.

Address for correspondence : **Yoon Soo Chang, M.D., Ph. D.**
Department of internal Medicine, Yonsei University College of Medicine 146-92, Dogok-Dong, Kangnam-Ku, Seoul 135-270, Korea
Phone : 02-3497-3309 Fax : 02-3463-3882
E-mail : yschang@yumc.yonsei.ac.kr
Received : Nov. 5. 2004
Accepted : Dec. 22. 2004

서 주입한 소량의 인슐린 양 성장인자에 대하여도 세포 분열 반응을 나타내는 것으로 알려져 있다[4]. 이는 인슐린 양 성장인자에 기초한 치료가 폐암의 치료에 효과가 있을 것을 의미한다. 인슐린 양 성장 인자 결합 단백질-3 (IGF binding protein-3, IGFBP-3)은 생체내와 시험관내에서 인슐린 양 성장 인자 매개 신호전달 체계인 phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/Akt 신호전달 체계를 억제하여 비소세포성 폐암 세포의 증식을 조절하는 것으로 알려져 있다[5]. 비소세포성 폐암에서는 IGFBP-3 promotor 의 hypermethylation에 의하여 IGFBP-3의 발현이 억제 되며 이는 제 1기의 비소세포성 폐암 환자에서 나쁜 예후와 관련이 있는 것으로 알려져 있다[6]. 또한 혈청 또는 혈장의 IGFBP-3 농도와 폐암 사망률은 역상관관계를 갖고 있다[7,8]. 이러한 사실은 암세포의 인슐린 양 성장인자 매개 성장과 생존에 관련하여 IGFBP-3가 암세포 성장에 대한 자연 억제물이며 비소세포성 폐암의 치료 및 예방물질로서 IGFBP-3에 대한 연구는 매우 중요하며 의미있는 것임을 시사한다. 반면 Ras 단백을 통하여 세포분열을 촉진하는 IGFBP-3의 신호전달 효과는 IGFBP-3가 임상적에서 사용되는데 제한을 줄 수 있다. Ras 매개 신호전달 체계의 활성화는 유전자 변이에 의한 신호전달의 증가로부터 일어난다[2]. Tyrosine kinase 수용체인 ErbB1의 과발현과 그 결합체의 하나인 TGF-α와 ras 유전자 돌연변이의 발현은 비소세포성 폐암의 40-80% 에서 발견되며[9] Ras 매개 세포분열 신호전달 체계의 억제에 대한 연구 또한 매우 중요한 과제가 될 수 있다. 최근 인간의 암세포 모델에서 이미 항암효과가 증명된 Ras 매개 세포분열 신호전달 체계의 억제인자인 farnesyl transferase inhibitor(FTI)가 임상연구에 적용중이다[10]. 또한 FTIs에 대한 임상연구가 진행됨에 따라 기존의 항암제와 FTI의 병용효과에 대한 연구와 관심이 높아지고 있다.

이에 본 연구에서는 비소세포성 폐암세포의 성장에 관련하여 IGFBP-3 와 초기 FTI중의 하나로 임상 연구단계에 있는 SCH66336과의 병용작용을 분석하였다. SCH66336은 경구용으로 사용이 가능한 강력한 활성의 FTI로서[10] 이 새로운 치료물질은 다양한 종류의 이식 종양 세포주와 *wap-H-ras* transgenic mice에서 종양의 감소를 유발하였다. 실험 동물 모델에서 SCH66336과 cyclophosphamide, 5-fluorouracil, vincristine, cisplatin, taxanes, p53 유전자 치료를 조합했을 경우 항암효과가 증강됨이 보고된 바 있다[11]. 본 실험에서는 세포배양 모델과 생체 동물실험 모델에서 adenovirus를 이용한 IGFBP-3 (Ad5CMV-BP3)와 SCH66336의 병용이 비소세포성 폐암세포의 성장에 미치는 효과를 연구하였다.

대상 및 방법

1. 연구 재료

사람의 비소세포성 폐암 세포주인 NCI-H1299, -H596, -A549, -H460, -H358은 American Type Culture Collection (ATCC)(Rockville, MD, USA)로부터 구입하였고, 이들은 10% fetal calf serum(FCS) (GIBCO-BRL, Gaithersburg, MD, USA)이 첨가된 RPMI 1640 배양액으로 배양하였다. Farnesyl transferase inhibitor인 SCH66336은 Schering-Plough Corp (Kenilworth, N.J., USA)에서 공여받아 사용하였으며[11] IGFBP-3를 발현하는 recombinant adenovirus(Ad5CMV-BP3)는 이미 기술되어 있는대로 제작하였다[5].

2. SCH66336과 Ad5CMV-BP3의 병용 투여에 의한 실험실적 효과의 측정

비소세포성 폐암 세포주의 성장에 Ad5CMV-BP3와 SCH66336의 병용투여가 미치는 효과를 측정하기 위하여 96-well plate에 well당 2,000개의 세포를 분주하고서 24시간 뒤 세포당 Ad5CMV-BP3 또는 대조군인 Ad5CMV를 1 X 10^3, 5 X 10^3, 그리고 10 X 10^3 particles/cell의 농도로 처리하였다. Fetal calf serum(FCS)이 없는 상태에서 2 시간 동안 처리하여 바이러스에 감염시켰으며 그 후 지정된 용량의 SCH66336(0.5 μM, 1.0 μM, 2.0 μM)과 FCS를 포함하는 medium에서 배양하였다. 3일간 배양한 뒤 세포의 성장 정도는 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2, 5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT) 분석을 통하여 비교 분석하였다[12].

초회 실험에서 약물 반응 곡선을 만들어 실험에서 사용된 세포주에 대한 각 약물의 IC_{50}을 먼저 확인하였으며 이를 기준으로 하여 다음 실험에 세포마다 IC_{50}의 1/5, 5/8, 3/4, 7/8, 1, 1.5배 농도에 해당하는 농도의 약물들을 고정된 비율로 처리하였다. 생존률(*f*)은 약물을 처리한 well의 흡광도와 대조군의 흡광도 분률로부터 구하여 Chou와 Talalay의 방법에 따라 분석하였다[13]. 간략하면 D는 약물 농도이며 Dm 은 중간 효과를 나타내는 약물의 농도이다. 이를 이용하여 log [D/Dm]에 대한 log [(1-*f*)/*f*]를 작성하였으며 중간 효과 곡선 (Median Effect Curve)에서 각각의 약물과 약물조합에 대한 X intercept (log IC_{50}) 와 기울기 m을 least squares 법으로 계산하였다. 이 값은 아래의 공식에 따라 단계별 세포독성을 나타내는 각각 약물의 농도와 약물조합의 농도를 계산하는데 사용되었다 (*f* = 0.95, 0.90, 0.85, ..., 0.05).

$$D = D_m \left[(1 - f)/f \right]^{1/m}$$

생존률(*f*)값의 약물조합 농도는 약물 1과 약물 2에 대하여 $(D)_1$ 과 $(D)_2$ 로 표시하였고 단계별 세포독성을 나타내는 지표 combination index(CI)는 다음의 공식을 이용하여 계산하였다.

$$CI = (D_{comb})_1/(D_{alone})_1 + (D_{comb})_2/(D_{alone})_2 + \alpha[(D_{comb})_1 \times (D_{comb})_2]/[(D_{alone})_1 \times (D_{alone})_2]$$

$(D_{alone})_1$ 과 $(D_{alone})_2$ 는 약제 1과 2의 단독처리시 주어진 효과 (생존률 (*fa*))를 나타내는 약물의 농도를 의미하며 $(D_{alone})_1$ 과 $(D_{alone})_2$ 는 약물을 조합 처리하였을 때 주어진 효과(*fa*)를 얻기 위한 농도이다. 그리고 약물의 작용이 상호간에 유사성이 있는 경우(mutually exclusive)는 α = 0 그리고 없는 경우(mutually exclusive) α = 1로 가정하였다. CI는 두 약물이 세포독성을 나타내는데, 상승효과가 있는 경우는 CI <1이고 병합효과가 있는 경우는 CI=1이며 CI >1은 병합효과보다 효과가 적을 경우이다.

3. 생체 실험에서 SCH66336과 Ad5CMV-BP3의 병용투여가 종양의 성장에 미치는 영향 측정

병원체가 없는 환경에서 피하 종양을 발생시킨 흉선이 없는 nude mice (Harlan-Sprague-Dawley, Indianapolis, IN)를 이용하여 Ad5CMV-BP3와 SCH66336의 병용효과를 연구하였다. 간략하면, 4주된 nude mice 암컷에 350 rad ^{137}Cs를 조사한 뒤 100 μL medium내에 현탁되어 있는 H1299 세포를 쥐의 등에 피하 주사하였다. 생쥐는 6개의 group으로 나누어 실험을 진행하였는데 제 1군은 대조군으로 SCH66336의 전달체인 hydroxyl-propyl beta-cyclodexatrin (HPCD)과 PBS를 투여 하였으며, 제 2군은 Ad5CMV와 PBS, 제 3군은 HPCD와 Ad5CMV-BP3, 제 4군은 SCH66336과 PBS, 제 5군은 SCH66336과 Ad5CMV, 제 6군은 SCH66336과 Ad5CMV-BP3를 투여하였다. 종양의 부피가 약 75 mm^3에 도달하였을 때 2.5 x 10^9 particles의 Ad5CMV- BP3 또는 PBS 100 μL내에 현탁되어 있는 Ad5CMV 또는 PBS 100 μL를 종양 내에 주입하였으며 SCH66336는 0.4 mg/kg씩 매일 경구 투여하거나 20% HPCD 100 μL를 2-10일 동안 하루 두 번씩 경구 투여하였다. 각 group마다 5마리의 쥐가 사용되었으며 종양의 크기는 약물 주입 후 16일 동안 매일 측정하였고 종양이 괴사되거나 종양의 직경이 1.5 cm 이상인 쥐는 안락사 시켰다. 결과는 5마리의 쥐에서 측정된 종양 부피의 평균 (± 표준편차)과 약제 투여가 시작된 날(day 0)의 종양의 부피를 비교하여 얻었다. 병용치료와 단독치료의 종양억제 정도의 비교는 ANOVA를 이용하여 유의성을 평가하였다.

결 과

1. SCH66336과 Ad5CMV-BP3의 병용투여가 세포주에 미치는 영향

SCH66336과 Ad5CMV-BP3의 병용투여가 지닌 성장억제 효과는 MTT방법을 통하여 NSCLC 세포주에서 연구하였다. 다양한 농도의 SCH66336 (0.5 μM, 1 μM, 2.0 μM) 과 Ad5CMV-BP3 (1 X 10^3, 5 X 10^3, 10 X 10^3 particles/cell)를 이용하여 병용 투여한 H1299 세포에서는 단일 약제를 투여한 세포에서보다 더 큰 증식 억제능력을 보였으며 억제능은 SCH66336 또는 Ad5CMV-BP3의 투여량을 늘렸을 때 증가하였다. 다

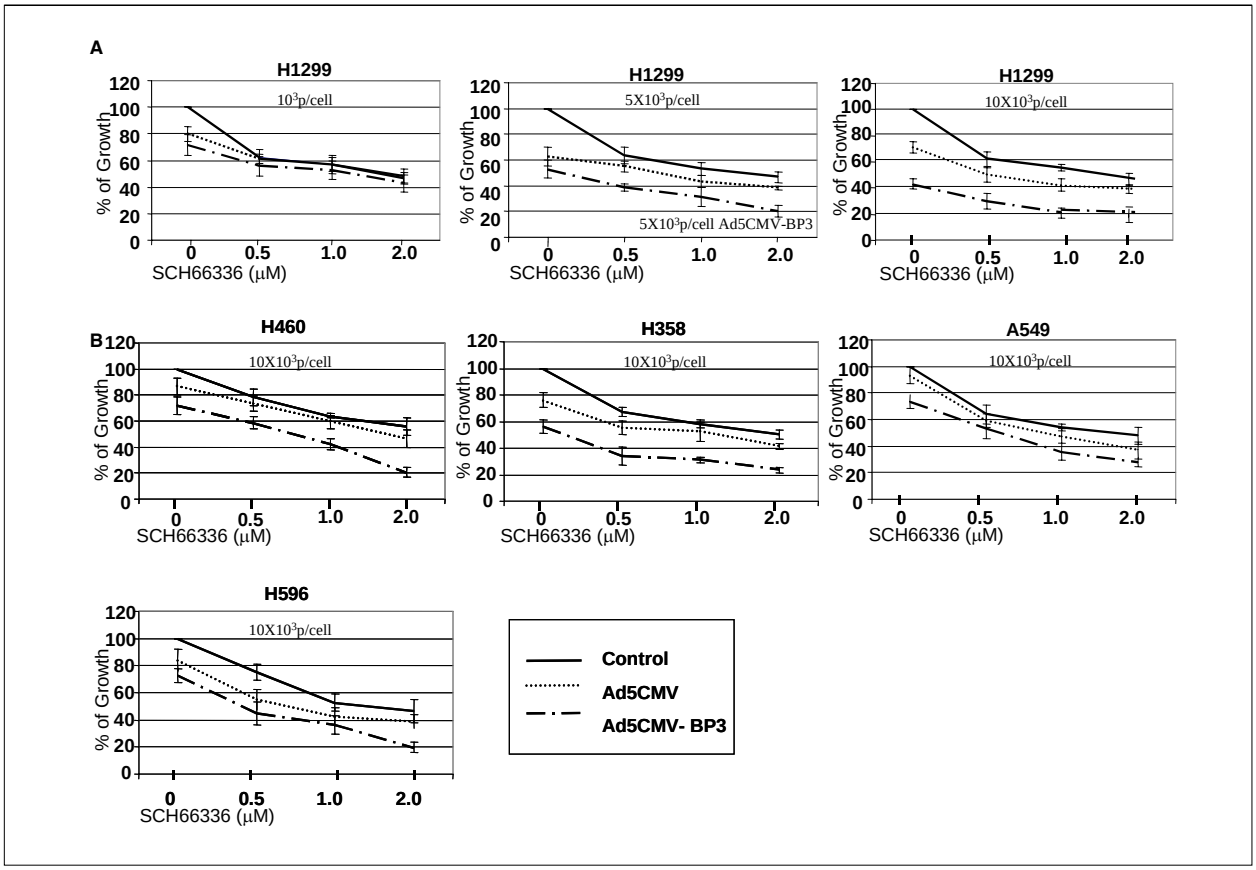


Figure 1. Effect of combined Ad5CMV-BP3 and SCH66336 on NSCLC cell proliferation. (**A**) H1299 NSCLC cells were untreated or infected with Ad5CMV or Ad5CMV-BP3 and then incubated in the medium containing the indicated concentration of SCH66336. The H1299 cells treated with combinations of SCH66336 showed more growth inhibition than did the cells treated with a single agent, and the inhibition increased with increments of the dose of SCH66336 or Ad5CMV-BP3. Each value is the mean (SD) from 6 identical wells. Each experiment was repeated more than 3 times.
(**B**) H460, H358, A549, H596 NSCLC cell lines showed the same pattern as that shown in the H1299 cells.

른 NSCLC 세포주인 H460, H358, A549, H596에서도 SCH66336 및 Ad5CMV-BP3로 치료한 H1299와 같은 양상을 나타냈다(Fig. 1). 각각의 NSCLC 세포주의 IC_{50} 은 약 2μM 전후였고 이는 기존의 보고와 차이가 없었다[14]. SCH66336에 대한 반응은 *ras* 돌연변이와 p53 돌연변이 또는 세포의 기원 및 IGFBP-3 단백의 발현 정도와 관련이 없다.

병용치료가 상승효과를 나타내는지 또는 병합 효과나 반감 효과를 나타내는지 확인하기 위하여 몇몇 고정된 비율로 병용된 약물의 처리로서 얻어진 자료를 median effect method에 의해 분석하였다[13]. Fig. 2는 NCI-H1299와NCI-H460을 다양한 농도의 Ad5CMV-BP3와 SCH66336에 동시에 노출시킨 후 3 일 뒤 얻어진 결과이다. 각각의 약물은 세포증식을 억제하였고 다른 약제를 더할 때 세포증식 억제효과를 상승시켰다. 각각의 치료에 대한 log [(1/*f*) - 1] 대 log [drug dose]를 작성한 뒤 X인터셉트와 각각의 축에 대하여 결정된 기울기를 CI를 계산하기 위하여 사용되었다. H1299의 CI는 병용투여시의 성장억제 상승효과를 보여주며 일정비율 이상에서 지속적으로 1보다 낮았다. H460의 CI도 병용치료의 성장억제 상승효과를 보여주며 지속적으로 1보다 낮았다.

약물의 상호작용에서 현실적으로 비배타성 유무를 명확하게 규명하기 어렵다는 점에 대하여 우리는 완전 비배타적 약물 상호작용시의 CI를 결과에 포함시켰으며 이는 역시 두 약물간의 상승효과를 나타내었다. 실

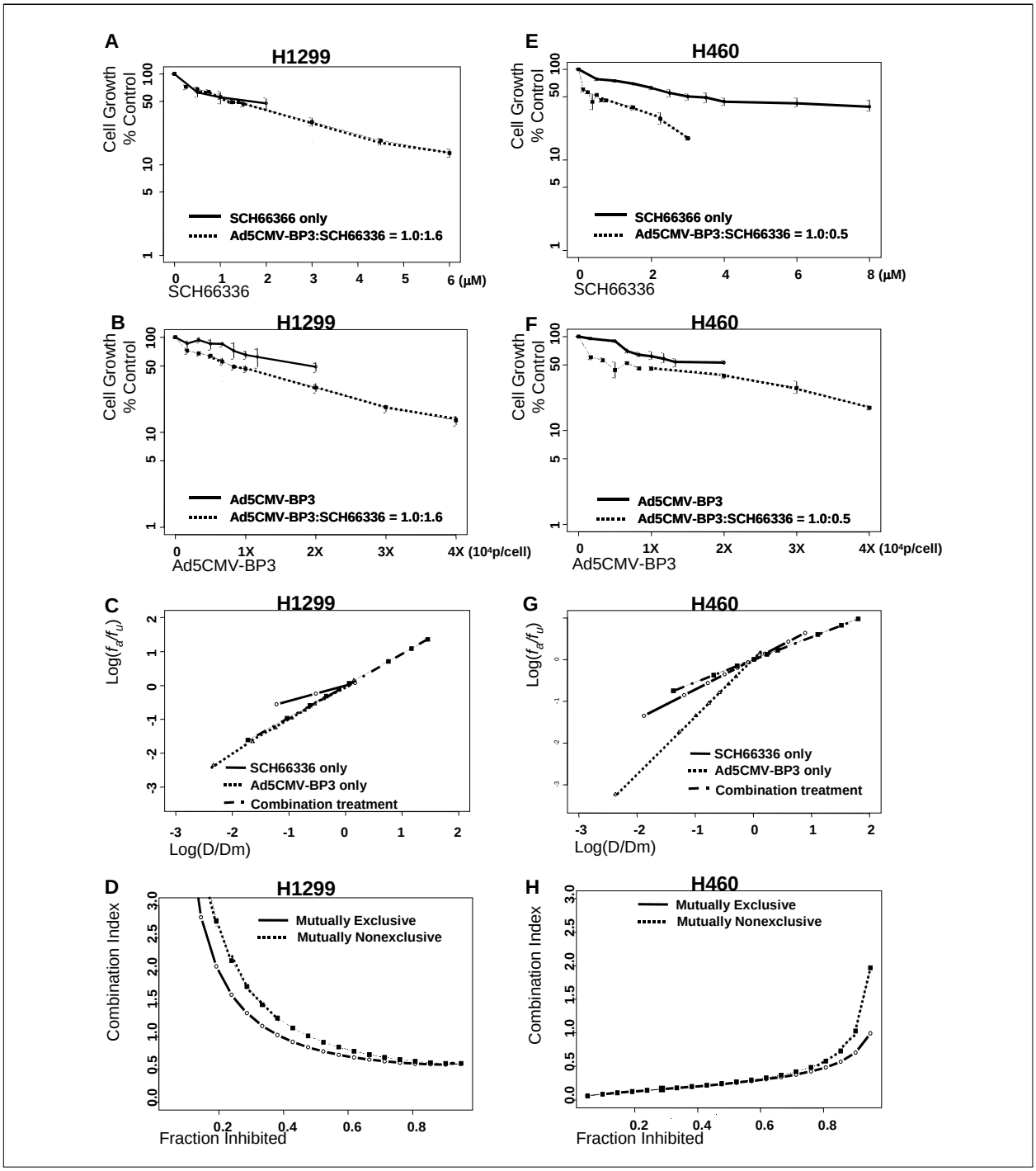


Figure 2. Effect of combined Ad5CMV-BP3 and SCH66336 on NSCLC cell lines. (**A**) and (**B**), H1299 cells were incubated for 3 days with Ad5CMV-BP3 or SCH66336 alone (solid line) or with a fixed 1:1.6 ratio of Ad5CMV-BP3 and SCH66336 (dotted line). Cell survival was plotted relative to the untreated cells. (**C**) Median effect plot of data in (**A**) and (**B**). (**D**), plot of CI versus cytotoxicity calculated from the data in (**C**) under the assumption that agents are mutually exclusive and nonexclusive, respectively. (**E**) and (**F**), H460 cells were incubated for 3 days with Ad5CMV-BP3 or SCH66336 alone (solid line) or with a fixed 1:0.5 ratio of Ad5CMV-BP3 and SCH66336 (dotted line). Cell survival was plotted relative to the untreated cells. (**G**), median effect plot of data in (**E**) and (**F**). (**H**), plot of CI versus cytotoxicity calculated from the data in (G) under the assumption that agents are mutually exclusive and nonexclusive, respectively.

험실내 약물 상호작용 분석결과와 세포의 특성은 American Type Culture Collection (ATCC)(Rockville, MD, USA)의 자료와 문헌을 참고하여 Table 1에 요약하였다[15].

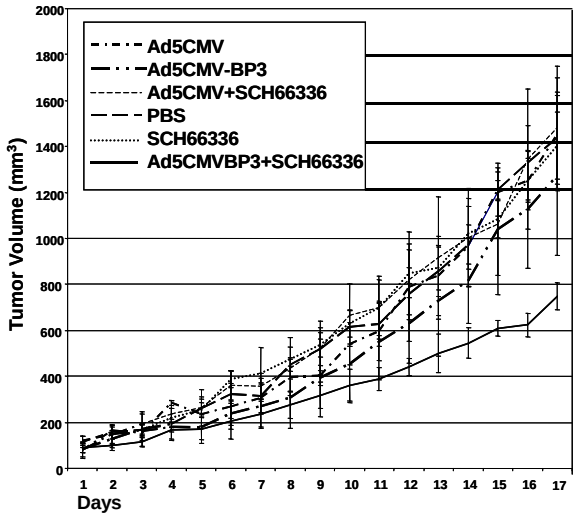
2. Ad5CMV-BP3 및 SCH66336의 병용치료가 생체내에서 종양의 성장억제에 미치는 영향

NCI-H1299 세포주를 흉선이 없는 nude mice에 이

Table 1. The results of *in vitro* drug interactions and characteristics of cell lines

cell line	Histology	p-53 status	Ras mutation	IGFBP-3 expression	Median effect analysis
H1299	Large cell	Null	+	Low	Synergy
H460	Large cell	Wild	+	Normal	Synergy
A549	Adenocarcinoma	Wild	+	Normal	Synergy
H596	Adenosquamous	Mutant	Wild	Normal	Synergy
H358	Bronchioalveolar carcinoma	Null	+	Low	Antagonism

(A)



(B)

Treatment	Mean Volume (mm^3 ± SD) on D17 and total	
Ad5CMV	1454.7 ± 245.14 (on D17)	601.7 ± 429.53 (total)
Ad5CMV-BP3	1274.5 ± 347.97 (on D17)	521.4 ± 397.59 (total)
Ad5CMV+SCH66336	1482.7 ± 266.11 (on D17)	625.5 ± 435.41 (total)
PBS	1436.8 ± 200.35 (on D17)	603.0 ± 430.68 (total)
SCH66336	1403.5 ± 145.29 (on D17)	619.8 ± 401.40 (total)
Ad5CMVBP3+SCH66336	749.2 ± 59.29 (on D17)	355.6 ± 202.58 (total)

(C)

PBS(control)	Mean Volume Difference(total)	p
Ad5CMV	1.35	0.999
Ad5CMV-BP3	81.57	0.007*
Ad5CMV+SCH66336	-22.51	0.937
SCH66336	-16.73	0.988
Ad5CMVBP3+SCH66336	247.44	0.000*

Figure 3. Effect of combined Ad5CMV-BP3 and SCH-66336 on NSCLC xenografts. (**A**) Growth of NSCLC xenografts is inhibited by the combination of Ad5CMV-BP3 and SCH66336. H1299 cells were injected into the dorsal flank of athymic nude mice. Tumors were measured every day, and results were expressed as the mean tumor volume (calculated from five mice) relative to the tumor volume at the time of adenoviral injection (day 0); bars, standard deviation. (**B**) The mean and standard deviation of tumor size at the end day of the study (day 17)and total study. (**C**) The mean tumor volume differences between control(PBS) and other treatment groups.

식하여 발생시킨 피하 종양이 75 mm^3에 도달하였을 때 쥐들을 6개의 그룹으로 무작위로 나누어 병용치료를 시작하였고 약제 투여후 17일까지 각각에서 종양의 크기를 매일 측정하였다. Ad5CMV-BP3와 SCH66336의 병용치료는 다른 조합과 비교하여 매우 의미있는 종양 억제효과를 보였다($P < 0.001$; Fig. 3A, 3C). 17일째 PBS 및 HPCD로 치료한 대조군 그룹과 비교하였을때 Ad5CMV-BP3와 SCH66336의 병용치료는 Ad5CMV-BP3만 사용했을 때와 비교하여 종양의 부피를 더욱 감소시켰다. 그러나 SCH66336만을 사용한 치료는 이전의 동물실험 연구[16]와는 달리 종양의 성장에서 의미 있는 효과를 가져오지 못하였다(Fig. 3A, 3B).

고 찰

세포의 분열과 증식, 생존과 관련된 신호전달체계의 분자생물학적 연구가 발전함에 따라 이 신호전달체계를 암 치료의 대상으로 할 수 있는 가능성과 함께 선택적 신호 변환 반응 억제제가 암을 치료 할 수 있는 항암 물질이 될 수 있을 것으로 여겨지고 있다[17]. 혈관외 조직에 작용하는 IGF-1의 제어에서 중추적인 역할을 하는 IGFBP-3는 이러한 선택적 신호 변환 반응 억제제 중의 하나로 이전의 실험에서 adenoviral vector (Ad5CMV-BP3)에 의해 매개된 IGFBP-3의 과발현이 실험실과 생체내의 비소세포성 폐암세포의 고사를 일으키는 것으로 나타났는데 이는 부분적으로 Akt/ PKB와 MAPK의 활동이 억제됨으로서 나타나는 것으로 알려져 있다[5]. 이러한 결과들은 IGFBP-3가 비소세포성 폐암을 치료 할 수 있는 물질임을 의미한다. 또한, 이번 연구에서 SCH66336은 비소세포성 폐암세포에서 임상적으로 도달 가능한 약물농도의 범위의 IGFBP-3 유전 재조합 adenovirus와 Ad5CMV-BP3 병용시 암의 성장 억제에 상승작용을 나타내는 것으로 증명되었다. SCH66336은 FTI가 post-translation ras의 신호전달을 억제한다는 가정하에 만들어졌으며 이는 proto-oncogenes ras family에 의해 encode되는 membrance-associated small GTPases의 증식 신호 변환을 억제한다[17]. 본 연구에서 경구투여 SCH66336과 종양내로 Ad5CMV-BP3를 주입하는 병용치료는 nude mice에 H1299 비소세포성 폐암세포를 이식하여 발생시킨 종양의 성장을 단독약제로 치료하는 것보다 월등히 효과적인 것으로 나타났다. Ad5CMV-BP3와 SCH66336은 독립적으로도 H460 비소세포성 폐암세포주에서 세포를 자멸사시키며 Ad5CMV-BP3와 SCH66336의 병용치료시 동일 세포의 세포자멸사 효과를 강화시키는 것으로 나타났다. 비슷한 효과로 SCH66336과 p53을 발현하는 adenovirus의 병용치료에 의해 강화된 항증식 효과는 p53의 IGFBP-3 유도 효과에 의한 것으로 생각되는데 이는 IGFBP-3 유전자 발현이 transcription factor p53에 의해 유도되기 때문이다[16,18]. 또한 최근의 연구에서 *ras*-dependent pathway는 외인성 IGFBP-3에 대해 저항성이 있음이 보고되었고 이에 대한 한가지 설명으로 SCH66336이 비소세포성 폐암세포에서 *ras* 매개 신호전달체계를 통한 IGFBP-3 단백질의 발현의 증가를 억제하여 항세포자멸사 물질인 Akt 활동을 억제하는 것을 들 수 있다[19]. Ad5CMV-BP3와 SCH66336에 의해 Akt를 조절하는 기전에 대한 연구가 추후 더 필요할 것이나 Ad5CMV-BP3와 SCH66336의 상승효과로 비소세포성 폐암세포에서 증식을 억제 할 수 있다는 본 연구의 결과를 통하여 저자들은 FTI SCH66336이 IGFBP-3와 상승효과를 일으켜 실험실내와 생체내에서 비소세포성 폐암세포의 세포자멸사를 상승시킨다는 사실을 입증하였다. Akt/PKB의 구조적인 활성화가 빈번하게 발생하는 비소세포성 폐암[20]의 치료에 있어 Ad5CMV-BP3와 SCH66336의 병용치료에 의한 세포가사 상승작용은 이 약제의 임상적인 사용의 가능성을 증가시켰다. 약을 투여하는 순서가 상승효과에 영향을 미칠 수도 있으므로 효과적인 병용치료를 위하여 다양한 투약 순서에 대한 연구가 향후 필요할 것으로 사료된다[21].

요 약

연구배경 :

인슐린 양 성장 인자 결합 단백질-3 (IGF binding protein-3, IGFBP-3)는 생체내와 실험관내에서 인슐린 양 성장인자 매개 신호전달 체계를 억제하여 비소세포성 폐암 세포의 증식을 조절하는 것으로 알려져

있다. 이에 본 연구에서는 비소세포성 폐암의 치료에 있어 IGFBP-3를 이용한 치료전략의 개발을 위하여 IGFBP-3(Ad5CMV-BP3)와 FTI SCH66336의 병용치료 상승작용을 분석하였다.

방 법 :

비소세포성 폐암 세포주의 성장에 Ad5CMV-BP3와 SCH66336의 병용투여가 미치는 효과를 측정하기 위하여 비소세포성 폐암 세포주와 IGFBP-3를 발현하는 recombinant adenovirus(Ad5CMV-BP3)를 이용하였고 흉선이 없는 nude mice의 등에 H1299 폐암 세포를 피하 주사한 후 Ad5CMV-BP3와 SCH66336의 병용치료 상승작용을 단일 치료와 비교 분석하였다.

결 과 :

SCH66336과 Ad5CMV-BP3 병용처리는 단일 약제보다 더 큰 증식 억제효과 상승작용을 보였으며 nude mice에서도 병용치료 시 종양의 부피는 매우 의미 있는 감소를 보였다.

결 론 :

본 연구의 결과를 통하여 저자들은 SCH66336이 IGFBP-3와 병용투여시 실험실내와 생체내에서 비소세포성 폐암세포의 세포자멸사에 상승적인 효과가 있다는 것을 처음으로 입증하였으며, 이는 비소세포성 폐암의 치료에 있어 Ad5CMV-BP3와 SCH66336의 병용치료가 임상적으로 사용될 수 있음을 시사하는 것이라 하겠다.

참 고 문 헌

1. Parkin DM, Pisani P, Ferlay J. Estimates of the worldwide incidence of 25 major cancers in 1990. Int J Cancer 1999;80:827-41.
2. Gibbs JB. Anticancer drug targets: growth factors and growth factor signaling. J Clin Invest 2000; 105:9-13.
3. Brodt P, Samani A, Navab R. Inhibition of the type-I insulin-like growth factor receptor expression and signaling: novel strategies for antimetastatic therapy. Biochem Pharmacol 2000;60:1101-7.
4. Shigematsu K, Kataoka Y, Kamio T, Kurihara M, Niwa M, Tsuchiyama H. Partial characterization of insulin-like growth factor-1 in primary human lung cancers using immunohistochemical and receptor autoradiographic techniques. Cancer Res 1990;50:2481-4.
5. Lee HY, Chun KH, Liu B, Wiehle SA, Cristiano RJ, Hong WK, et al. Insulin-like growth factor binding protein-3 inhibits the growth of non-small cell lung cancer. Cancer Res 2002;62:3530-7.
6. Chang YS, Wang L, Liu D, Mao L, Khuri FR, Hong WK, et al. Correlation between insulin-like growth factor-binding protein-3 promoter methylation and prognosis of patients with stage I non-small cell lung cancer. Clin Cancer Res 2002;8:3669-75.
7. del Giudice ME, Fantus IG, Ezzat S, McKeown-Eyssen G, Page D, Goodwin PJ. Insulin and related factors in premenopausal breast cancer risk. Breast Cancer Res Treat 1998;47:111-20.
8. London SJ, Yuan JM, Travlos GS, Gao YT, Wilson RE, Ross RK, et al. Insulin-like growth factor I, IGF-binding protein 3, and lung cancer risk in a prospective study of men in China. J Natl Cancer Inst 2002;94:749-54.
9. Polosa R, Prosperini G, Leir SH, Holgate ST, Lackie PM, Davies DE. Expression of c-erbB receptors and ligands in human bronchial mucosa. Am J Respir Cell Mol Biol 1999;20:914-23.
10. Njoroge FG, Vibulbhan B, Pinto P, Bishop WR, Bryant MS, Nomeir AA, et al. Potent, selective, and orally bioavailable tricyclic pyridyl acetamide N-oxide inhibitors of farnesyl protein transferase with enhanced in vivo antitumor activity. J Med Chem 1998;41:1561?7.
11. Liu M, Bryant MS, Chen J, Lee S, Yaremko B, Lipari P, et al. Antitumor activity of SCH 66336, an orally bioavailable tricyclic inhibitor of farnesyl protein transferase, in human tumor xenograft models and wap-ras transgenic mice. Cancer Res 1998;58: 4947-56.
12. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. J Immunol Methods 1983;65:55-63.
13. Chou TC, Talalay P. Quantitative analysis of dose-effect relationships: the combined effects of multiple drugs or enzyme inhibitors. Adv Enzyme Regul 1984; 22:27-55.
14. Prendergast GC. Farnesyltransferase inhibitors: antineoplastic mechanism and clinical prospects. Curr Opin Cell Biol 2000;12:166-73.
15. Lee HY, Moon H, Chun KH, Chang YS, Hassan K, Ji L, et al. Effects of insulin-like growth factor binding protein-3 and farnesyl transferase inhibitor SCH66336 on Akt expression and apoptosis in non-small-cell lung cancer cells. J Natl Cancer Inst 2004; 96:1536-48.
16. Nielsen LL, Shi B, Hajian G, Yaremko B, Lipari P, Ferrari E, et al. Combination therapy with the

farnesyl protein transferase inhibitor SCH66336 and SCH58500 (p53 Adenovirus) in preclinical cancer models. Cancer Res 1999;59:5896-901.
17. Karp JE, Kaufmann SH, Adjei AA, Lancet JE, Wright JJ, End DW. Current status of clinical trials of farnesyltransferase inhibitors. Curr Opin Oncol 2001;13:470-6.
18. Buckbinder L, Talbott R, Velasco-Miguel S, Takenaka I, Faha B, Seizinger BR, et al. Induction of the growth inhibitor IGF-binding protein 3 by p53. Nature 1995;377:646-9.
19. Baxter RC. Signaling pathways involved in antiproliferative effects of IGFBP-3: a review. Mol Pathol 2001;54:145-8.
20. Brognard J, Clark AS, Ni Y, Dennis PA. Akt/protein kinase B is constitutively active in non-small cell lung cancer cells and promotes cellular survival and resistance to chemotherapy and radiation. Cancer Res 2001;61:3986-97.
21. Adjei AA, Davis JN, Bruzek LM, Erlichman C, Kaufmann SH. Synergy of the protein farnesyltransferase inhibitor SCH66336 and cisplatin in human cancer cell lines. Clin Cancer Res 2001;7:1438-45.