

폐암의 분자생물학

서울대학교 의과대학 내과학교실

김 영 환

I. 서 론

호흡기계에서 가장 중요한 암인 폐암은 미국에서는 남녀 공히 암사망의 제1위의 암이며 한국에서는 남성 암사망의 2위로 올라섰으며, 여성에서는 4위를 차지하고 있고 최근 급속히 증가하고 있는 추세이다. 그러나 폐암은 대부분 진단이 늦어 수술 절제가 불가능한 경우가 압도적으로 많고 방사선요법이나 화학요법에 잘 반응하지 않으며 화학요법에 잘 반응하는 소세포폐암도 거의 대부분 재발하여 완치가 거의 불가능한 실정이다. 암을 아직 정복하지 못하고 있는 이유로는 여러 가지들을 들 수 있겠으나 무엇보다도 중요한 원인으로서는 아직 우리가 암의 발병기전을 충분히 이해하지 못하고 있음을 들 수 있다. 그러나 최근 분자생물학의 발전으로 폐암의 발병기전에 대한 연구가 활발히 진척되고 있다. 특히 암을 일으키는 원인으로 알려진 수십 가지의 종양유전자에 이어 최근에 암의 발생을 억제하는 것으로 생각되는 여러 종류의 암억제유전자가 밝혀지면서 폐암의 발병기전에 대한 이해가 넓어졌으며 이를 이용한 폐암의 유전자치료가 시도되고 있어 폐암치료의 새로운 장이 열리고 있다고 할 수 있다.

II. 본 론

1. 폐암의 종류

폐암은 조직학적 분류에 따라 소세포암, 편평상피암, 선암, 대세포암, 미분화세포암 등 여러가지로 분류할 수 있으나 임상적, 생화학적 특성에 따라 크게 들로 즉 소세포폐암과 비소세포폐암으로 나눌 수 있다. 소세포폐암은 비소세포폐암과는 달리 진단 당시 전신적으로 전이가 되어 있는 경우가 많고 화학요법에 잘 반응하여 수술은 시행하지 않는 것을 원칙으로 하고

있으며 생화학적으로도 여러종류의 신경내분비 표식자를 분비하는 등의 특징을 가지고 있다. 소세포폐암과 비소세포폐암은 분자생물학적으로도 암유전자 및 암억제유전자의 변이의 종류와 형태도 서로 다른 것으로 알려지고 있다.

2. 폐암의 암유전자 (oncogenes)

암유전자는 크게 우성 암유전자(dominant oncogene)와 열성 암유전자(recessive oncogene) 2종류로 나눌 수 있다. 2개의 유전자 중 하나의 유전자가 돌연변이 또는 증폭에 의하여 활성화되면 암을 유발하는 것이 우성 암유전자이며 통상 암유전자라고 부르는 유전자는 이 우성 암유전자를 가르키는 것이다. 그리고 2개의 유전자가 모두 기능을 상실하여 암이 유발되는 암유전자를 열성 암유전자 또는 암억제유전자(suppressor gene)라고 부른다. 폐암에서는 암유전자로는 myc, ras oncogene이 관여하며, 암억제유전자로는 Rb, p53가 관여하고 최근에는 p16(MTS1)도 관여함이 밝혀졌다.

2-1. 폐암과 myc

소세포폐암의 염색체를 조사해보면 homogeneously staining lesion 또는 double minute chromosome를 관찰하는 경우가 종종 있는데 이것은 c-myc, N-myc 또는 L-myc 이라는 암유전자가 증폭되어 나타나는 것으로 밝혀졌다. Myc 암유전자의 증폭은 비소세포폐암에서는 발견되지 않고 소세포폐암의 경우 세포주의 25~30%, 암조직의 5~18%에서 발견되어 소세포폐암의 말기에 나타나는 현상으로 생각되며 c-myc이 증폭된 경우 생존기간이 짧아지는 예후인자로 작용함이 보고되었다.

2-2. 폐암과 ras

Ras 유전자는 외부의 신호를 핵내로 전달하는데 관

여하는 일종의 guanine nucleotide 결합 단백질로 mis-sense mutation에 의하여 이 단백질이 계속 자극을 전달하는 형태로 고정되면 계속하여 세포성장 자극을 보내게 된다. 이 ras 유전자의 돌연변이는 여러종류의 암에서 발견되는데 주로 codon 12, 13, 61에 돌연변이가 한정되어 있다. 폐암의 경우에는 비소세포폐암의 20~30%에서 이 유전자의 돌연변이가 관찰되나 소세포폐암의 경우에는 이 유전자가 돌연변이가 보고되지 않았다. 비소세포폐암에서의 ras 유전자의 돌연변이는 흡연력과 관련이 있으며 생존기간에 나쁜 예후인자로 작용하는 것으로 생각된다.

3. 폐암의 암억제유전자 (suppressor genes)

세포유전학적 연구(cytogenetics)는 암의 유전자적 이상을 밝히는데 가장 기본이 되는 연구이며 이 연구에 의하여 어느 염색체의 어느 부위에 이상이 있는지 알 수 있다. 폐암에 대해서는 1980년대 초에 이러한 연구가 이루어졌는데 폐암에서 가장 많이 이상이 발견되는 염색체는 3번 염색체이다. RFLP(restriction fragment length polymorphism)를 이용한 연구에 의하면 소세포폐암에서는 100%, 비소세포폐암에서는 50%에서 염색체 3p의 deletion이 관찰되어 이 부위에 폐 발병의 중요한 역할을 하는 암억제유전자가 존재할 가능성을 시사해주고 있다. 이후 여러 연구자가 이 암억제 유전자를 밝히기 위하여 노력하고 있으나 아직 이 유전자는 cloning 되어 있지 않다. 그러나 멀지 않은 장래에 이 유전자의 정체는 밝혀지면 폐암의 발병기전을 좀더 잘 이해할 수 있을 것으로 기대된다.

3-1. 폐암과 Rb gene

Retinoblastoma (Rb) gene은 암발생에 있어서 "two-hit" hypothesis를 확인한 최초로 발견된 암억제 유전자로서 retinoblastoma의 100%에서 이상이 증명되었고 다른 종류의 암에서도 이 유전자의 이상이 발견되었다. 폐암의 경우는 많은 수의 소세포폐암에서 Rb gene이 있는 13q allele의 소실이 RFLP에 의하여 발견되었으며, Rb gene의 DNA 및 RNA의 이상이 많은 수의 소세포암에서 발견되었다.

최근에 저자는 다른 연구자들과 함께 171종의 폐암 암세포주에서 RB protein의 이상을 조사하여 임상결과와 관련을 지어 발표하였는데 그 결과를 요약하면 다음과 같다. 소세포폐암 75세포주중 66세포주(88%), 비소세포폐암 80세포주중 12세포주(12%), carcinoid 6세포주중 1세포주, 악성흉피종 5세포주중 0세포주, 폐외 소

세포암 5세포주중 4세포주에서 RB protein이 없거나 이상이 있음을 관찰하여 RB protein이 주로 소세포폐암의 발생에 관여함을 알 수 있다. 그러나 RB protein의 이상 여부와 환자의 나이, 성별, 질병의 정도, 흡연력, 과거의 치료경력 등의 임상소견과는 관련이 없으며, 항암제의 감수성, 환자의 생존기간과의 관련도 없음을 밝혀 이 암유전자의 이상은 주로 폐암의 진전보다는 발생에 관여함을 알 수 있다.

지금까지 폐암에서 발견된 Rb gene의 변이를 조사해보면 거의 모든 변이가 Rb protein의 암억제 기능에 중요한 역할을 하는 것으로 밝혀진 pocket의 A와 B domain에 존재함을 알 수 있다. Rb protein은 resting state에서는 hypophosphorylated state로 있으며 이 Rb protein이 active한 Rb protein이며 이 Rb protein의 A, B pocket domain에서 E2F 등의 transcription factor들과 결합하여 세포주기진행을 억제한다. 그러나 어떤 자극에 의하여 Rb protein이 phosphorylation되면 이 기능을 상실하여 결합하고 있던 여러 종류의 결합단백질이 해리되어 세포주기가 진행하게 된다. 폐암을 비롯한 여러 종류의 암에서 발견된 변이 Rb protein은 결합단백질과 결합할 능력을 상실하고 phosphorylation도 되지 않으며 따라서 암억제기능을 상실하게 되는 것으로 생각된다.

Rb protein이 폐암에서 암억제 효과가 있는지 알아보기 위하여 Rb protein을 만들지 않는 소세포폐암 및 비소세포폐암세포주에 RB 유전자를 transfection을 한 후 nude mice에서의 종양형성과 soft agar에서의 클론형성을 본 결과 현저한 암억제가 있음을 알게 되었다. 그러나 가끔 Rb protein을 발현하고 있는 폐암세포가 종양을 형성하여 이 억제는 불완전한 것으로 생각된다. 그리고 암세포 성장억제능력이나 apoptosis를 일으키는 능력이 p53보다 못하기 때문에 폐암에서 Rb gene의 이상이 높은 빈도로 관찰되지만 Rb gene을 이용한 유전자치료법은 거의 시행되고 있지 않은 실정이다.

3-2. 폐암과 p53

p53이 세포주기에서 G1 checkpoint 조절에 관여함으로써 암억제유전자로 작용 한다는 것은 분자생물종양학의 길지 않은 역사에서 가장 중요한 발견의 하나라고 할 수 있다. 더욱이 p53 knock out mice에서 homozygous null p53 mice가 정상으로 태어나고 단지 종양발생률이 높다는 사실은 p53의 생체내에서의 역할이 주로 암억제라는 사실을 뒷받침해 준다. p53 유전자의 이상이 많은 종류의 인간의 암에서 발견되었고 폐암의 경우

에는 소세포폐암의 70~100%, 비소세포폐암의 경우에는 40~60%의 빈도로 p53의 유전자 이상이 관찰되었다. 이렇게 높은 빈도로 이상이 발견되는 것은 폐암에서 p53이 매우 중요한 아마도 초기단계에서 작용하는 것임을 시사한다. 또한 기관지의 암전단계병변에서 p53의 변이에 대한 연구결과를 보면 정상점막에서는 0%, squamous metaplasia에서는 8.3%, mild dysplasia에서는 37.5%, moderate dysplasia에서 12.5%, severe dysplasia에서는 93.8%, 그리고 carcinoma in situ에서는 55%의 빈도를 보여 폐암의 발병 초기에 p53의 변이가 일어나는 것으로 생각되며 폐암 조기발견의 표식자로 이용될 가능성을 시사해 주고 있다.

여러 연구자들의 보고에 의하면 비소세포폐암에서는 p53 단백질의 발현(변이가 일어난 p53단백질은 반감기가 길어 강하게 염색된다)은 환자의 생존기간에 나쁜 예후인자로 작용한다고 한다. p53이 폐암세포주에서 강한 암억제효과를 보이고 폐암에서 높은 빈도의 이상을 보인다는 사실에 힘입어 p53을 환자의 치료에 이용하려는 시도가 이루어지고 있다. 변이 p53을 항원으로 사용하는 면역요법과 정상 p53를 이용하는 유전자 치료요법인데 아직은 시작단계이며 앞으로 많은 임상시도가 이루어질 전망이다.

3-3. 폐암과 p16

유헤세포의 세포주기는 세포주기의 특정 주기에 cyclin dependent kinase: cyclin (cdk: cyclin) 복합체의 순차적인 활성화에 의하여 진행된다. 이 활성화된 cdk: cyclin 복합체는 세포주기 진행에 필요한 단백질을 인산화하여 활성화시킨다. Yeast같은 단순한 유헤세포는 세포분열을 완성시키는데 한가지 종류의 cdk와 몇가지의 cyclin만으로 충분하지만 포유동물에 있어서는 세포분열 또는 분화과정에서 G1, S, G2, M phase 각각에서 여러 종류의 cdk와 cyclin들이 작용하게 된다. 이론적으로는 세포주기의 어느 phase에서든지 돌연변이가 일어나면 암이 발생할 수 있으나 실제로 인간의 악성종양에서는 세포주기의 G1/S 전환과정에 관여하는 유전자들이 돌연변이의 주 target이다. 여기에 관여하는 단백질로는 첫째로, 외부의 성장인자의 신호전달을 매개하는 ras, myc 등, 둘째로, DNA 손상을 감지하여 G1 arrest에 관여하는 p53, 셋째로, G1 cyclin들(cyclins D1, D2, A, E)과 cdk inhibitors(p21, p16, p15, p27 등)가 있으며 넷째로, 이러한 G1 kinase의 substrate인 RB 등이 있으며 여러 종류의 종양에서 돌연변이의 주 target이 되고 있다.

유전성 흑색종양의 암억제유전자를 찾은 후 이 유전

자가 다른 여러종류의 암세포에서도 많은 수의 돌연변이가 있다고 밝혀져 multiple tumor suppressor 1 (MTS1)라고 불리게 된 이 암억제유전자는 이 보다 불과 수개월전에 밝혀진 cdk4 inhibitor인 p16과 동일한 물질로 밝혀졌다. p16 유전자가 여러종류의 암세포주 50% 이상에서 이상이 있다고 알려진 후 암조직에서 조사한 이후의 보고에서는 이 유전자의 이상이 그렇게 많지 않다는 보고도 있어 아직 논란이 많지만 비소세포폐암의 경우에는 매우 중요한 의미를 가지고 있다고 할 수 있는데 그 이유로는 세포유전학적검사에서 비소세포암의 85%에서 p16이 있는 염색체 9 p21의 소실이 발견되기 때문이다.

암조직에서의 변이 빈도는 지금까지 보고된 세포종에서의 변이의 빈도보다는 낮지만 폐암, 방광암, 식도암, 췌장암의 암조직에서 p16유전자의 deletion, non-sense and missense mutation이 20~85%로 보고되고 있다. 또한 p16유전자를 주입한 암세포주는 중앙형성능이 감소함이 확인되어 p16이 암억제유전자로 작용함은 분명한 것으로 생각된다.

p16은 cdk4와 cdk6의 kinase activity를 억제함으로써 Rb protein의 인산화를 막는 역할을 하므로 저자와 공동연구자들은 Rb protein이 wildtype인가 또는 absent/mutant인가에 따른 p16 protein의 발현을 조사하였다. 소세포폐암에서는 55세포주중 6세포주(11%)에서만 p16 단백질의 발현이 없었는데 이 세포주들은 모두 비소세포폐암에서는 매우 드문 wildtype Rb를 가지고 있는 세포주들이었다. 반대로 RB protein이 absent/mutant인 소세포폐암에서는 48세포주 모두 p16 protein이 정상으로 RB와 p16은 역상관관계를 보였다. 비소세포폐암에서도 이와 같은 역상관관계가 관찰되었다. 그러나 p16과 p53 또는 ras와의 상관관계는 관찰할 수 없었다. 이러한 결과는 p16과 Rb가 같은 경로의 암억제작용을 하고 있어 이중 하나만 이상이 생기면 이 경로가 차단이 되며 두 유전자 모두 이상이 생길 필요가 없는 것임을 알 수 있다. 그러나 소세포폐암은 주로 Rb에 이상이 생기고 비소세포폐암에서는 주로 p16에 이상이 생기는지 아직 알려져 있지 않다.

III. 결 론

폐암의 분자생물학적, 유전학적 지식이 급속히 증가하고 있지만 아직 해결해야 할 많은 의문점이 남아 있다. 소세포폐암은 어느 세포에서 발생한 것인가? 폐암의 발생기전에서 dysplasia에서 어떤 순차적인 유전자의

변이를 거쳐 cancer에 이르게 되는 것인가? 폐암발생에 유전적인 성향이 있는 것인가? 여러 종류의 유전자에 이상이 생긴 폐암의 치료에 한가지 경로를 목표로하는 약제나 유전자로 치료가 가능할 것인가? 등 여러가지 해결해야 할 의문점이 남아 있다. 그러나 이제 우리는 폐암의 예방과 치료를 위하여 새로운 전략을 세워야 할 시기를 맞이하고 있다고 할 수 있다.

IV. 향후 전망

암억제유전자들은 요즘 각광을 받고 있는 유망한 암치료법으로 기대되고 있는 유전자 주입요법의 가장 적합한 대상물질로 이에 대한 연구가 현재 활발히 진행되고 있다. 근래에는 p53를 이용한 유전자 주입요법의 상당히 고무적인 치료 결과들이 나오고 있다.

폐암의 경우에는 암억제유전자로서 Rb, p53, p16이 관여함이 밝혀졌으나 폐암에서 가장 높은 빈도의 염색체 이상은 3p의 이상이므로 이 부위에 폐암의 억제유전자가 존재할 것으로 생각되고 있다. 이에 대한 연구도 활발히 진행되어 이 유전자의 범위가 상당히 좁혀지고 있으며 머지 않은 장래에 폐암의 억제유전자가 밝혀질 전망이다. 이 유전자가 밝혀지면 폐암의 유전자 주입요법을 이용한 치료에 획기적인 발전이 있을 것으로 기대

되고 있다.

참고 문헌

1. Johnson BE, Sakaguchi AY, Gazdar AF, et al: *Restriction fragment length polymorphism studies show consistent loss of chromosome 3p alleles in small cell lung cancer patients' tumors.* J Clin Invest 1988; 82: 502-7
2. Harbour JW, Lai SL, Whang-Peng J, Gazdar AF, Minna JD and Kaye FJ: *Abnormalities in structure and expression of the human retinoblastoma gene in SCLC.* Science 1988; 241: 353-7
3. Takahashi T, Nau MM, Chiba I, et al: *p53: a frequent target for genetic abnormalities in lung cancer.* Science 1989; 246: 491-4
4. Shimizu E, Coxon A, Otterson GA, et al: *RB protein status and clinical correlation from 171 cell lines representing lung cancer, extrapulmonary small cell carcinoma, and mesothelioma.* Oncogene 1994; 9: 2441-2448
5. Kamb A, Gruis NA, Weaver-Feldhaus J, et al: *A cell cycle regulator potentially involved in genesis of many tumor types.* Science 1994; 264: 436-40
6. Otterson GA, Kratzke RA, Coxon A, Kim YW and Kaye FJ: *Absence of p16INK4 protein is restricted to the subset of lung cancer lines that retains wildtype RB.* Oncogene 1994; 9: 3375-8