



대장암 동물 모델에 대한 이해

임도영^{1,*}

¹Mayo 병원 소아청소년의학과

Understanding animal models on colorectal cancer by Do Young Lim^{1,*}(¹Pediatric and Adolescent Medicine, Mayo Clinic, Rochester, MN, USA)

Abstract Colorectal cancer (CRC) is a third leading cause of cancer-related death in cancer patients. Sporadic and inflammation-related colon carcinogenesis are major mechanism of colorectal cancer. In vivo CRC models have been developed and implicated to understand their mechanisms upon a different type of CRC. Moreover, recently animal models have played important roles in chemopreventive and preclinical trials over the years. In this mini-review, the aim is to introduce various animal models of CRC and help the understanding to establish in vivo experimental plans according to the cancer type of CRC.

Key words: Colorectal cancer, Animal model, Sporadic colorectal cancer, Inflammatory colorectal cancer

서 론

대장암의 발병률은 세계에서 두 번째로 높으며, 대장암으로 인한 사망률 또한 세 번째로 높다. 대장암의 5년 생존율은 점점 증가 추세에 있으나 다른 암종과 비교하여 여전히 예후가 좋지 않다.¹⁾ 대장암은 발생 유형에 따라 산발성 대장암(sporadic colorectal cancer, SCC)과 염증성 대장암(colitis-associated colorectal cancer, CAC)으로 나뉜다. 산발성 대장암은 유전체 불안정성에 기인하며 용종-선종-암종(polyp-adenoma-carcinoma)과 같은 경로를 거쳐 발생한다.²⁾ 산발성 대장암은 전체 대장암의 65~85% 정도를 차지하고 있으며, 유전 요인과 관련하여 분자 생물학적 기전 연구가 활발히 이루어져 있다. 궤양성 장염(ulcerative colitis, UC)과 크론씨 병(Crohn's disease, CD)을 포함하는 염증성 장질환 환자의 대장암 발병빈도가 일반에 비해 현저히 높다고 보고되었다.³⁾ 이런 염증성 대장암은 만성염증이 지속되어 대장암을 일으키는 경우로 발병 경로나 기전은 산발성 대장암과 다르고, 현재 이에 대하여 연구가 진

행되고 있지만 여전히 치료와 예방에 어려움이 있다.

대장암의 조기발견과 치료는 예후, 즉 생존 확률을 높이는 데 필수적이다. 이를 위하여 대장암의 발생과 기전을 이해하는 것이 치료효율을 높이고 예방에 대한 근거를 마련하기 위해 중요하다. 지난 수년간 대장암 연구를 위한 다양한 동물모델이 개발되었고, 이를 이용하여 임상에 더 가까운 연구가 수행되고 있다. 따라서 본 종설에서는 대장암 발생에 따른 동물 실험 모델에 대한 이해를 넓히고, 기초 연구 결과가 임상 적용에 적합하도록 적절한 동물 모델을 선택하여 실험을 계획하는 방법을 모색하는데 도움이 되고자 한다.

본 론

산발성 대장암의 발생과 동물 모델

산발성 대장암은 유전체 불안정성에서 기인한다고 알려져 있다. 현재까지 잘 알려진 기전으로는 Apc나 p53과 같은 암 발생 억제 유전자(tumor suppressor gene)에 유전체 불안정성이 나타나 대장암을 일으키는 것을 예로 들 수 있다. 이러한 기전을 보여주는 동물 실험 모델로 대표적인 Apc^{Min} 생쥐 모델이 있다. Apc^{Min} 생쥐 모델은 인간 대장암의 초기단계인 가

Received: November 6, 2018; Revised: November 20, 2018; Accepted: November 21, 2018

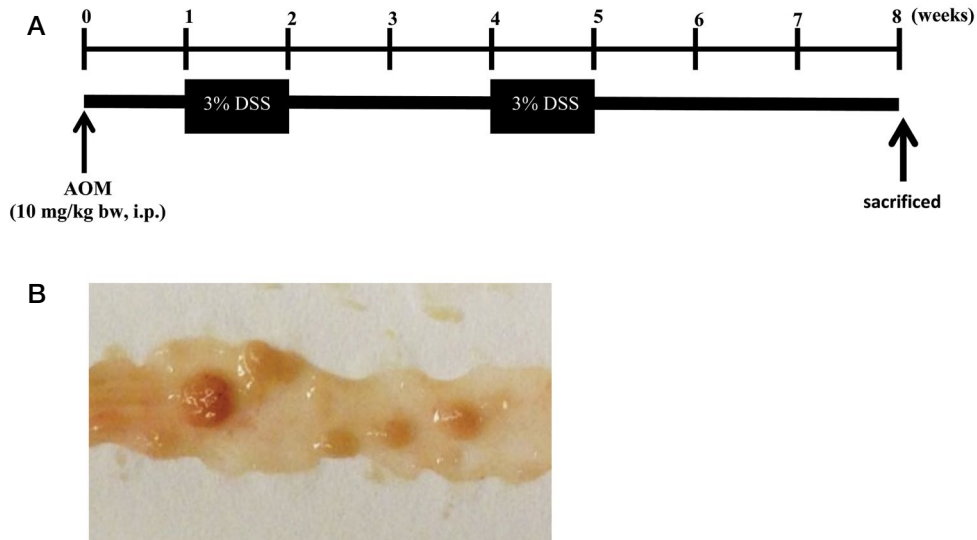
*Correspondence to : Do Young Lim

Pediatric and Adolescent Medicine, Mayo Clinic, Rochester, MN, USA

E-mail: ldydo@daum.net

Table 1. Representative animal models for sporadic colorectal cancer

Mouse model	Background	Tumor formation~	Occurrence	Reference
<i>Apc</i> ^{min}	C57Bl/6J	2 Months ~	Small and large intestine	4, 5
<i>F344-Pirc</i>	F344 Rat	2 Months ~	Small and large intestine	6
<i>Mlh1</i> -/-	C57Bl/6J	~ 9 Months	Intestine and lymphoid tissue	9
<i>Msh2</i> -/-	C57Bl/6J	6 Months ~	Lymphoma and intestine	10

**Figure 1.** An experimental protocol of colitis-associated colorectal cancer model. A. one example of azoxymethane (AOM)/dextran sulfate sodium (DSS) treatment scheme. B. a picture at week of 8 of tumor formation in mouse colon induced by AOM/DSS treatment according to a schedule.

족성 용종증 (familial adenomatous polyposis, FAP)과 기전 및 발생이 비슷하여 대장암 연구에 흔히 사용되는 모델이다. 이와 유사한 흰쥐 모델로는 *F344-Pirc* 흰쥐 모델이 있다.⁴⁻⁶⁾ 이 두 모델은 소장과 대장에서 모두 암이 발생하며 *Apc* 유전자의 이상으로 발생하는 것은 같지만 종양의 부위별 발생 정도에 있어서 상이하다. 전자는 소장과 대장의 종양 발현 빈도가 10 : 1 고, 후자는 1 : 1의 비율로 나타나는 것이 큰 차이점이다.⁷⁾ 그러나 이 비율은 같은 종 (strain) 안에서도 수컷과 암컷에 따라 다르게 나타나기도 한다. 같은 유전자 변이 혹은 처치라 할지라도 그 감수성에 있어서 종 (strain)과 성별 (sex)이 모두 다르게 작용하기 때문에, 동물 모델을 이용한 실험을 계획할 때에는 반드시 이 두 가지를 모두 고려하여 모델을 선정해야 한다.⁸⁾ 다음으로는 유전자 복제 과정에서 발생하는 DNA-base pair mismatch repair (MMR) gene의 기능 손실도 주요한 원인으로 알려져 있다. 이에 관여하는 주요한 유전자로는 *MutL* homologue 1 (*Mlh1*)과 *MutS* homologue 2 (*Msh2*)가 있다. 이 유전자들의 결핍이나 기능 손실은 microsatellite instability를 초래하는 DNA MMR의 결핍을 초래하여 대장암을 유발한

다. 이들 유전자의 결핍을 초래한 동물 모델이 확립되어 있으며,^{9,10)} microbiome과 연계하여 대장암에 대한 연구를 할 때도 사용되기도 한다.¹¹⁾ 이 밖에도 다양한 유전자 결핍 동물 모델이 확립되어 있다. 또한 유전자 변형 동물 모델들은 다양한 암화 유전자 변형 모델 (*Kras*^{G12D}, *Kras*^{G12V} 등)들과 교차교배를 통해 암화가 가속화 됨이 보고되었다.⁷⁾ *Apc*^{min} 동물 모델 등은 기전과 표현형이 확실하여 암 예방 (chemoprevention)을 위한 물질을 발굴하는데 사용되는 모델이기는 하지만 실험 개체군을 충분히 확보하기까지 시간이 걸리는 등의 고려해야 할 점이 있다 (Table 1).

염증성 대장암의 발생과 동물 모델

만성 염증은 초기 암화 단계라고도 불릴 정도로 각 장기에 있어 암 발생과 밀접한 관계가 있음을 시사한다. 만성위염은 위암을, 췌장염은 췌장암을, 대장염은 대장암의 원인이 된다고 알려져 있다.¹²⁾ 대장암 발생에 만성 염증형태인 UC나 CD환자의 경우 대장암의 발생 빈도는 일반에 비해 4~20배 높게 나타나며, 대장염 발병 부위와 기간이 대장암 발생에 양의 상

관관계가 있다고 보고되었다.^{13,14)} 염증성 대장암에 기인하는 기전에 다양한 가설이 제시되고 있다. 대표적으로 만성 염증 상태가 장점막의 DNA 변이를 초래하고 산화적 스트레스를 유발하는 효소가 활성화 됨에 따라 손상을 유발한다거나,¹⁵⁾ 장점막의 심각한 염증상태로 인한 손상을 수복하고자 표면의 장 상피세포의 성장속도가 빨라지고 또한 과도한 사이토카인(cytokine)과 키모카인(chemokine)들을 분비하여 비정상적인 세포성장을 유도하는 것이다.¹⁶⁾ 만성염증에 의한 대장암 발생 기전을 이해하기 위한 동물모델에는 염증 유도 유전자를 조작한 염증성 대장암의 형질 전환 모델이 있다. 염증에 관여하는 유전자인 IL-10, Rag2, Gai2 등을 각각 형질전환(Knock-out, KO)한 동물모델을 염증성 대장암 실험에 이용한다.¹²⁾ 또 다른 방법으로 화학물질을 투여하여 대장염을 일으켜 low grade dysplasia에서 carcinoma까지 관찰 할 수 있는 동물 모델이 있다. Dextran sodium sulfate (DSS)를 식음수에 포함하여 일정기간 음용하게 하고 그 결과를 관찰하는 방법이다. DSS는 장상피에 염증을 일으키고, 오랜 기간 처리하게 되면 암을 일으킨다. DSS만을 처리한 실험을 예로 들어 보자면, 0.7% DSS를 일주일간 음용수로 공급하고 10일간의 회복기를 1 cycle로 15 cycle을 처리하고 37주차에 쥐를 희생하는 방법이 있다. 실험 결과 대장에서 high-grade dysplasia와 adenocarcinoma가 관찰되었다.¹⁷⁾ 쥐의 종(strain)에 따른 DSS의 농도나 처리 기간에 따라 그 결과 정도가 상이하게 나타나므로 실험하고자 하는 목적에 맞게 strain을 선별하여 DSS 처리 기간과 농도를 선정하여야 원하는 결과를 얻을 수 있다. 통상 DSS 처리로 염증성 장질환(inflammatory bowel disease) 상태가 유발되며, 처리 횟수와 기간이 길어야 암화를 관찰할 수 있는 단점이 있지만, 염증성 대장염의 암화 과정을 연구하는 데 있어서 적합한 모델임이 분명하다. 다른 염증성 대장암 유도 모델 구축 방법으로 tumor-inducing reagent (azoxymethane, AOM 또는 1,2-dimethylhydrazine, DMH)를 1회 주사하고 DSS를 처리하는 실험이 이루어지고 있다. 이 방법은 DSS 처리 회수를 줄여 줄 뿐만 아니라 비교적 단시간에 확실한 대장암의 표현형을 관찰할 수 있다.^{18,19)} 본 저자의 실험 방법으로 AOM을 10 mg/kg으로 1회 주사하고 일주일 후, 3% DSS를 7일간 음용수에 공급하고 14일간의 회복기를 1 cycle로 총 2 cycle 반복하고 8주차에 쥐의 대장에서 tumor formation을 관찰하였다(Fig. 1). 염증성 대장암 유발 동물 모델에 대해서도 다양한 처리 방법들이 보고되고 있다. 실험을 하고자 하는 쥐의 종에 따라 감수성이 달라 AOM과 DSS의 농도, 약물 처리 횟수, 종결 시점은 그 표현형으로써의 결과가 달라져 실험을 계획할 때에 충분히 고려해야 할 점이다. 위의

실험동물 모델을 이용하여 암예방이나 임상 테스트를 위해서 AOM/DSS 처리 시점을 중심으로 전처리나 동시처리 방법 등이 적용되고 있다.²⁰⁾

결 론

대장암에 대한 발생과 치료에 대한 이해를 위해 기초 분야에서는 다양한 실험들이 진행 되고 있다. 연구자들은 암세포를 이용하여 발암 기전을 이해하고 그에 따른 치료나 예방 물질을 찾는 실험을 활발히 수행해 왔다. 최근에는 동물 모델을 확립하고 이용하여 임상에 가까워 지도록 실험을 수행하고 있다. 이러한 다양한 동물 모델 실험에 대한 이해는 현재의 기초분야에서는 필수로 수행되고 있고, 임상 전 단계의 방법임이 분명하다. 따라서 이는 임상에서 대장암을 예방하고 치료하는데 바탕이 될 것이며, 기초연구에서 발굴된 발암 지표들을 임상에 적용하여 미래의 항암표적치료에 선도적인 역할을 할 수 있으리라 사료된다.

REFERENCES

- Roser M, Ritchie H. Cancer. Published online at OurWorldInData.org. 2018. Available from: 'https://ourworldindata.org/cancer'
- de la Chapelle A. Genetic predisposition to colorectal cancer. *Nat Rev Cancer* 2004;4:769-80.
- Gillen CD, Walmsley RS, Prior P, Andrews HA, Allan RN. Ulcerative colitis and Crohn's disease: a comparison of the colorectal cancer risk in extensive colitis. *Gut* 1994;35:1590-2.
- Luongo C, Moser AR, Gledhill S, Dove WF. Loss of Apc (+) in Intestinal Adenomas from Min Mice. *Cancer Research* 1994;54:5947-52.
- Yamada Y, Mori H. Multistep carcinogenesis of the colon in Apc(Min/+) mouse. *Cancer Sci* 2007;98:6-10.
- Amos-Landgraf JM, Kwong LN, Kendziorski CM, Reichelderfer M, Torrealba J, Weichert J, et al. A target-selected Apc-mutant rat kindred enhances the modeling of familial human colon cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007;2104:4036-41.
- Johnson RL, Fleet JC. Animal models of colorectal cancer. *Cancer Metastasis Rev* 2013;32:39-61.
- Irving AA, Yoshimi K, Hart ML, Parker T, Clipson L, Ford MR, et al. The utility of Apc-mutant rats in modeling human colon cancer. *Dis Model Mech* 2014;7:1215-25.
- Edelmann W, Yang F, Kuraguchi M, Heyer J, Lia M, Kneitz B, et al. Tumorigenesis in Mlh1 and Mlh1/Apc1638N mutant mice. *Cancer Research* 1999;59:1301-7.

10. Reitmair AH, Redston M, Cai JC, Chuang TC, Bjerknes M, Cheng H, et al. Spontaneous intestinal carcinomas and skin neoplasms in Msh2-deficient mice. *Cancer Res* 1996;56:3842-9.
11. Belcheva A, Irrazabal T, Robertson SJ, Streutker C, Maughan H, Rubino S, et al. Gut microbial metabolism drives transformation of MSH2-deficient colon epithelial cells. *Cell* 2014;158:288-99.
12. Yeo M, Surh YJ, Hahm KB. Molecular mechanism underlying the colitis-associated colorectal cancer. *Korean J Med* 2006;20:130-7. (Korean)
13. Bansal P, Sonnenberg A. Risk factors of colorectal cancer in inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 1996;91:44-8.
14. Jass JR, Whitehall VL, Young J, Leggett BA. Emerging concepts in colorectal neoplasia. *Gastroenterology* 2002;123:862-76.
15. Seril DN, Liao J, Yang GY, Yang CS. Oxidative stress and ulcerative colitis-associated carcinogenesis: studies in humans and animal models. *Carcinogenesis* 2002;24:353-62.
16. Yamamoto Y, Gaynor RB. Therapeutic potential of inhibition of the NF-kappaB pathway in the treatment of inflammation and cancer. *J Clin Invest* 2001;107:135-42.
17. Yeo M, Kim DK, Park HJ, Oh TY, Kim JH, Cho SW, et al. Loss of transgelin in repeated bouts of ulcerative colitis-induced colon carcinogenesis. *Proteomics* 2006;6:1158-65.
18. Okayasu I, Yamada M, Mikami T, Yoshida T, Kanno J, Ohkusa T. Dysplasia and carcinoma development in a repeated dextran sulfate sodium-induced colitis model. *J Gastroenterol Hepatol* 2002;17:1078-83.
19. Tanaka T, Kohno H, Suzuki R, Yamada Y, Sugie S, Mori H. A novel inflammation-related mouse colon carcinogenesis model induced by azoxymethane and dextran sodium sulfate. *Cancer Sci* 2003;94:965-73.
20. De Robertis M, Massi E, Poeta ML, Carotti S, Morini S, Cecchetti L, et al. The AOM/DSS murine model for the study of colon carcinogenesis: From pathways to diagnosis and therapy studies. *J Carcinog* 2011;10:9.