The Journal of Medicine and Life Science Vol. 15, No. 2, 46-50, December 2018
https://doi.org/10.22730/jmls.2018.15.2.46
ISSN: 1738-1010

유방암 줄기세포 개념 및 제한점

김종빈[1,*], 안정신[2], 임우성[2], 문병인[2]

[1]이화여자대학교 세포 항상성 연구센터, [2]이화여자대학교 의과대학 외과학교실

Concept and limitation of breast cancer stem cells by Jong Bin Kim[1,*], Jeong Shin An[2], Woosung Lim[2], Byung-In Moon[2] ([1]Research Center for Cellular Homeostasis, Ewha Womans University, 52, Ewhayeodae-gil, Seodaemun-gu, Seoul 03760, Korea; [2]Department of Surgery, Ewha Womans University School of Medicine, Ewha Womans University Mokdong Hospital, 1071 Anyangcheon-ro, Yangcheon-gu, Seoul 07985, Korea)

Abstract Cancer, a leading mortality disease following cardiovascular disease worldwide, has high incidence as one out of every four adults in Korea. It was known to be caused by several reasons including somatic mutation, activation of oncogene and chromosome aneuploidy. Cancer cells show a faster growth rate and have metastatic and heterogeneous cell populations compared to normal cells. Cancer stem cells, the most invested field in cancer biology, is a theory to explain heterogeneous cell populations of cancer cells among several characteristics of cancer cells, which is providing the theoretical background for incidence of cancer and treatment failure by drug resistance. Cancer stem cells initially explain heterogeneous cell populations of cancer cells based on the same markers of normal stem cells in cancer, in which only cancer stem cells showed heterogeneity of cancer cells and tumor initiating ability of leukemia. Based on these results, cancer stem cells were reported in various solid cancers such as breast cancer, liver cancer, and lung cancer. Breast cancer stem cells were first reported in solid cancer which had tumor initiating ability and further identified as anti-cancer drug resistance. There were several identification methods in breast cancer stem cells such as specific surface markers and culture methods. The discovery of cancer stem cells not only explains heterogeneity of cancer cells, but it also provides theoretical background for targeting cancer stem cells to complete elimination of cancer cells. Many institutes have been developing new anticancer drugs targeting cancer stem cells, but there have not been noticeable results yet. Many researchers also reported a necessity for improvement of current concepts and methods of research on cancer stem cells. Herein, we discuss the limitations and the perspectives of breast cancer stem cells based on the current concept and history.

Key words: Breast cancer, Cancer stem cells, Tumor initiation, Perspectives

국내외 연구자들에 의해 제안된 암줄기세포 개념

1. 암줄기세포 발견

1997년 캐나다의 토론토 대학 연구진들은 정상줄기세포가 대칭적 분열과 비대칭분열을 통하여 자가복제성과 자신의 후대를 만들어 정상세포의 이형성을 만든다는 특성에 근거하여 암줄기세포의 이형성이 이들 정상줄기세포에서 유래되었을 가능성이 있으며, 정상줄기세포 표지인자를 가진 세포들을 분리하고 이들 세포들이 이형성 집단을 만든다는 것을 입증하였고, 동시에 정상줄기세포표지인자를 가진 세포들만이 다시 암세포를 만들어 암을 개시하는 세포가 이들 정상줄기세포표지인자를 가진 세포임을 보고하였다.[1)] 1997년 혈액암에서 암줄기세포의 존재가 밝혀진 이후 많은 연구자들에 의해 고형암에

Received: November 5, 2018; Revised: December 15, 2018; Accepted: December 15, 2018
*Correspondence to : Jong Bin, Kim
Research Center for Cellular Homeostasis, Ewha Womans University, 52, Ewhayeodae-gil, Seodaemun-gu, Seoul 03760, Korea
Tel: 82-2-3277-4391, FAX: 82-2-3277-3760
E-mail: kkimjp@gmail.com

Copyright ⓒ The Journal of Medicine and Life Science

서도 암줄기세포의 존재를 확인하려고 시도되었고, 이러한 노력을 바탕으로 2003년 미국 미시건 대학 연구팀은 고형암인 유방암에서 특정 표지인자(CD44/CD24)를 이용하여 CD44+/CD24low/− 세포들만이 암을 개시하는 특성을 갖는다고 보고하여 고형암에서도 암줄기세포의 존재를 확인하였다.[2] 국내에서도 고려대학교 연구팀은 암세포의 개시성, side population, sphere forming 능력 등을 기초로 하여 두경부 편평세포암종에서 암줄기세포를 동정하고, 이들 암줄기세포의 표지인자를 제시하였으며,[3] 삼성병원 연구팀 또한 신경 교모세포종에서 정상 신경줄기세포의 표지인자를 이용하여 기존의 보고와 다른 표지인자의 임상적인 의미를 제시하였다.[4]

2. 암세포의 완전한 제거

1997년 혈액암에서 암줄기세포의 존재가 밝혀진 이후, 이들의 결과를 바탕으로 미국의 미시건 대학 연구 그룹에 의해 암줄기세포 모델을 통한 암세포 제거 이론을 발표하였다.[3] 이들은 암세포 내에 암을 개시하는 줄기세포가 있으며 기존의 항암제는 암세포의 생장을 억제시켜 암의 크기를 줄어들게 하지만 암을 개시하는 특성을 갖고 있는 암줄기세포를 표적으로 하지 못해 결국은 암이 다시 재발하게 된다는 이론적 가설을 제시하였고, 이들은 암을 완전히 제거하기 위해서는 암을 개시하는 특성을 갖고 있는 암줄기세포를 표적으로 하여 암줄기세포를 완전히 제거해야 암세포의 재발을 막을 수 있다고 제안하였다.[3] 이들의 제안은 암줄기세포가 암세포의 이형성과 암의 개시능력을 설명하는 것 외에 항암제에 대한 저항성을 갖는 세포에 대한 이론적 배경을 제시하였다.

3. 연구자들에 의해 제안된 암줄기세포의 동정 방법 및 개념

"암줄기세포는 이형의 집단을 만들 수 있는 세포이다."[1]

1997년 캐나다의 토론토 대학 연구진에 의하여 제시된 개념으로 암세포의 이형성을 설명하며, 정상줄기세포 표지인자를 가진 세포들만이 다시 이형의 집단을 가진 암세포를 만들 수 있다는 내용이다.

"암줄기세포는 암을 개시하는 세포이다."[2]

2003년 미국의 미시건 대학 연구진에 의해 제시된 후 많은 연구자들에 의해 공통적으로 받아들여진 개념으로, 이들 개념은 암세포가 다양하게 이루어져 있으나 그 중에서도 암을 개시하는 세포들이 따로 있으며, 이들 세포들은 줄기세포 특성을 갖고 있어 암세포의 이형성을 만들 수 있고, 이들 세포들만이 암을 개시할 수 있다는 내용이다.

"암줄기세포는 약물에 대한 저항성을 갖고 있는 세포이다."[5]

캐나다와 미국의 연구진에 의하여 제안된 개념으로 암줄기세포는 약물에 대한 저항성을 갖고 있어 증식력이 왕성한 세포를 표적으로 하는 기존의 항암제는 암을 완전히 제거할 수 없으며, 암을 완전히 제거하기 위해서는 약물에 대한 저항성을 갖고는 있는 암줄기세포를 제거해야 한다는 내용이다.

"암줄기세포는 구를 형성할 수 있거나 형성하는 세포(Sphere forming cell)이다."[10]

정상 신경세포, 피부진피세포, 유방조직에서 제안된 개념으로 정상조직에서 세포를 분리하여 구를 형성하는 조건에서 배양했을 때 구를 형성하는 세포들만이 줄기세포의 특징을 보여주었으며 이와 같은 특징을 이용하여 암세포를 기내에서 배양했을 때 구를 형성하는 세포들만이 암을 개시하고 항암제에 대한 저항성을 보이며, 암줄기세포 및 정상줄기세포의 특정 표지인자를 발현한다는 내용이다.

"암줄기세포는 특정 표지인자를 발현하는 세포이다."[8]

이들 개념은 많은 연구자들에 의해 암줄기세포를 분리 배양하고, 이들 표지인자를 사용하여 환자의 예후를 예측하고, 암줄기세포를 표적으로 하는 약물을 개발하고자 제안된 개념으로 이들 표지인자를 가지고 분리된 암줄기세포는 암을 개시하는 능력, 구를 형성하는 능력, 항암제 저항성을 갖고 있다는 내용이다.

"암줄기세포는 약물을 뿜어내는 세포이다."[11]

조혈모세포나 골수에서 줄기세포를 분리할 때 사용하는 방법을 이용한 것으로 기존의 확립된 암세포주에 DNA 염색시약인 Hoechst dye를 이용하여 이들의 염색 정도를 flow cytometry로 분석하여 Hoechst dye 염색강도에 따라 Hoechst dye 염색약이 약하게 나온 집단을 Side Population이라 명명하고,[10] 이들 집단의 세포들이 암줄기세포의 특성으로 제시된 암을 개시하는 능력, 항암제 저항성, 구를 형성하는 능력 등을 갖고 있다는 내용이다.

유방줄기세포와 유방암 줄기세포(Table 1)

1. 정상유방줄기세포

유방 조직은 세포 외 기질, 지방, 관(duct) 구조로 이루어져 있으며, 이들 중 관을 구성하는 상피세포는 그들의 기능 및 위치에 따라 myoepithelial cells, luminal epithelial cell, basal

Table 1. Known surface markers for normal stem cells of breast and breast cancer stem cell

Cell types	Surface marker
Myoepithelial cells	CK14, Vimentin, α-Smooth Muscle Actin, Thy-1, CALLA (CD10)
Luminal epithelial cells	CK8/18, CK19, CD24, Muc-1, ESA
Basal cells	CK5/6, CK19, ABCG2, Nestin
Breast stem cells	ABCG2, ALDH1, MUC-1$^-$/ESA$^+$
Cancer stem cells	ESA$^{+/-}$CD44^{high}/CD24$^{low/-}$, Mammospheres cells, SP cells, ALDH1$^+$, Epithelial mesenchymal transition cells (EMT)
Mouse breast stem cells	Sca-1$^+$ cells, Lin$^-$CD29hiCD24$^+$, Lin-CD24^{high}/CD49f^{high}

cell 등으로 나뉘며, 이들 세포들 외에 세뢰외기질을 제공하는 중간엽세포 특징을 가지고 있는 adipocyte, fibroblast 등으로 이루어져 있다.[12] 이들 세포들은 각각의 특이적인 표지인자를 발현하며, myoepithelial cells는 CK14, Vimentin, alpha-Smooth Muscle Actin, Thy-1, CALLA (CD10), luminal epithelial cells는 CK8/18, CK19, CD24, Muc-1, ESA basal cell는 CK5/6, CK19, ABCG2, Nestin 등을 발현하며, 정상유방줄기세포는 이들 상피세포들의 특징을 모두 갖고 있으며, 분화 시 ductal 구조를 형성할 수 있는 세포로서 표지인자로는 myoepithelial cells과 luminal epithelial cells을 동시에 발현하는 세포,[13] 또는 ABCG2, ALDH1, MUC-1-/ESA+ 등을 발현하는 세포로 제시되고 있다.[14]

정상조직에서 lineage 표지인자 등을 가지고 세포를 분리 배양하였을 때 luminal epithelial cells 표지인자를 가지고 분리한 세포들이 각각의 표지인자를 동시에 발현하며, myoepithelial cells로 분화하고, 3차원 배양 시 ductal 구조를 형성하는 능력이 있어 이들 luminal epithelial cells 표지인자 유래 세포는 정상유방줄기세포 또는 progenitor cell로 알려져 있다.[15] 정상조직에서 세포를 분리 배양하였을 때 구를 형성하는 세포들이 있는데 이들 세포 또한 각각의 lineage 세포로 분화가 가능하고 3차원 배양 시 ductal 구조를 형성하는 능력이 있어 이들 구형성세포를 마모스피어(Mammosphere)라 명명하여 이들 세포 또한 정상줄기세포로 알려져 있다.[16]

2. 유방암줄기세포

유방암줄기세포는 "ESA+/-CD44+/CD24low-"이다.[2]

고형암에서 최초로 암줄기세포 존재를 밝힌 결과로 이들 표지인자를 발현하는 세포들만이 유방암을 개시할 수 있으며, 이들 세포들이 유방암을 개시하는 유방암줄기세포로 제시되고 있다.

유방암줄기세포는 "Mammosphere cells"이다.[6]

배양을 통한 정상 유방줄기세포 동정 방법을 이용하여 제시한 개념으로 암조직에서 세포를 분리 배양 시 바닥에 붙지 않고 구 형태로 떠서 자라는 세포들이 있으며, 이들 구형성 세포들만이 암을 개시하고, 암줄기세포 표지인자를 발현하며, 항암제에 대한 내성을 갖고 있는 세포로서 제시되고 있다.[7]

유방암줄기세포는 "Side Population cells"이다.[11]

유방암세포주에서 조혈모세포처럼 Hoechst dye를 뿜어내는 세포들이 있으며, 이들 세포들 또한 암을 개시하는 능력, 항암제 저항성, 구를 형성하는 능력 등을 갖고 있는 세포로 제시되고 있다.

유방암줄기세포는 "ALDH1+ cells"이다.[8]

Side Population 모델과 유사하게 유방암세포주에서 조혈모세포표지인자 ALDH1+cells이 있으며, 이들 세포들 또한 암을 개시하는 능력, 항암제 저항성, 구를 형성하는 능력 등을 갖고 있는 세포로서 제시되고 있다.[9]

유방암줄기세포는 "Epithelial-mesenchymal transition (EMT)" 이다.[17]

ESA+/-CD44+/CD24low-에서 제시된 세포군들의 특성을 바탕으로 이들 표지인자를 발현하는 세포집단들이 EMT를 일으킨 세포와 유사하며 이들은 암을 개시하는 능력, 항암제 저항성, 구를 형성하는 능력 등을 갖고 있는 세포이다.[18]

현재 제시된 암줄기세포 개념 및 동정 방법의 제한점

1. 암세포의 이형성

우리 몸의 외부환경과 관련하여 세포의 이형성은 암세포뿐만 아니라 우리 몸 속의 모든 세포들은 이형성 상태로 존재해야 한다. 이와 같은 세포의 이형성은 우리 몸 속의 세포들이 외부 열악한 환경에서 견딜 수 있게 하는 원동력이며, 우리 몸을 건강하게 유지시키는데 필수적인 역할을 하며, 이와 같이

세포들은 암줄기세포가 아니더라도 외부 환경에 반응하여 그 자체로 이형성을 만들 수 있다.

2. 표지인자 발현과 암의 개시성

2008년 미국의 미시건 대학 연구진 등은 흑색종(melanoma)에서 기존에 제시된 줄기세포 표지인자와 상관없이 세포의 암 개시능력에 차이를 보여준 것은 동물 실험에 사용된 마우스의 면역력에 의해 좌우 된다고 보고하였다.[19] 이와 같은 결과는 표지인자 및 암의 개시성을 바탕으로 암줄기세포를 동정하는 현재의 동정 방법이 재정립 되어야 함을 보여주고 있다.

3. 항암제 저항성

약물의 저항성은 다양한 기작에 의해 획득되며, 일반적으로 암의 치료에 있어 특히 재발된 암의 경우 약물의 저항성을 획득하여 더 이상 항암제가 듣지 않으며, 이들 세포들이 항암제에 대해 저항성을 갖는 것은 약물에 대한 반응 후 생존을 위한 방어기작 때문일 가능성이 있다.

4. 구형성 능력

확립된 부착 배양 세포 중 일정 부유배양 조건에서 배양하면 다양한 형태의 구 모양의 세포가 형성된다. 세포의 구형성 능력은 암줄기세포의 특징이라기 보다는 암세포가 전이되기 위해서 자신의 영역을 벗어나 생존할 수 있는 능력을 갖게 되는 anoikis 저항성 세포의 특징으로 설명할 수 있다.

결 론

현재까지 제시된 암줄기세포의 개념 및 동정 방법을 분자생물학적인 측면에서 살펴보면, 암의 발생은 oncogene 활성화, 특정 유전자의 돌연변이, 돌연변이의 축적, 유전자 복구 시스템의 파괴, 염색체의 변화 등 다양한 원인에 의해 발생하며, 암줄기세포 이론 또한 이들 다양한 암 발생 원인 중 하나일 수 있다는 것을 보여주고 있다.

암줄기세포를 동정하기 위하여 제시된 연구 방법 중 "동물 모델에서 암개시 능력", "기내에서 세포배양을 통한 구형성 능력" 등은 암줄기세포를 표적으로 하는 완전한 암세포 제거 이론을 뒷받침할 연구 방법으로 제시하기에는 부족하며, "암세포의 이형성"은 좀 더 많은 연구를 통하여 입증해야 할 것으로 사료되며, 표지인자 발현 분석을 통한 암줄기세포 연구는 정상줄기세포 표지인자, 항암제 저항성 표지인자, 환자의 예후를 예측할 수 있는 표지인자 등을 공통적으로 제시할 수 있는 표지인자 개발이 필요함을 보여주고 있다. 이상의 암줄기세포 동정 및 연구방법의 제한점은 유방암줄기세포에서도 동일한 점을 보여주고 있다. 표지인자로 제시되고 있는 CD44high/CD24low, ALDH1 등은 기존에 확립된 세포주에서 존재하며, 특히 CD44high/CD24low는 중배엽 기원세포에서 주로 발현하는 표지인자로 유방암줄기세포 표지인자로 제시하기에는 부족하다. 또한 이들 표지인자분석을 이용한 유방암 예후 예측에서도 이들 표지인자가 예후 예측인자로 사용되기에는 부족함을 보여주었다. Mammosphere 배양을 통한 정상 및 유방암줄기세포 동정은 기존에 확립된 세포주들의 전이성을 보여주는 anoikis-resistant 세포[20] 특징으로 정의할 수 있다.

결론적으로 암줄기세포 이론에서 중요한 것은 암줄기세포 존재를 밝히기 위해 사용된 연구 방법보다는, 특정 세포를 표적으로 하는 암세포의 완전한 제거 개념을 제시했다는 것이 중요할 것으로 보인다.

REFERENCES

1. Bonnet D, Dick JE. Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. Nat Med 1997;3:730-7.
2. Al-Hajj M, Wicha MS, Benito-Hernandez A, Morrison SJ, Clarke MF. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. Proc Natl Acad Sci U S A 2003;100:3983-8. Erratum in: Proc Natl Acad Sci U S A 2003;100:6890.
3. Lim YC, Oh SY, Cha YY, Kim SH, Jin X, Kim H. Cancer stem cell traits in squamospheres derived from primary head and neck squamous cell carcinomas. Oral Oncol 2011;47:83-91.
4. Joo KM, Kim SY, Jin X, Song SY, Kong DS, Lee JI, et al. Clinical and biological implications of CD133-positive and CD133-negative cells in glioblastomas. Lab Invest 2008;88:808-15.
5. Reya T, Morrison SJ, Clarke MF, Weissman IL. Stem cells, cancer, and cancer stem cells. Nature 2001;414:105-11.
6. Ponti D, Costa A, Zaffaroni N, Pratesi G, Petrangolini G, Coradini D, et al. Isolation and in vitro propagation of tumorigenic breast cancer cells with stem/progenitor cell properties. Cancer Res 2005;65:5506-11.
7. Cao L, Yang Y, Ye Z, Lin B, Zeng J, Li C, et al. Quercetin-3-methyl ether suppresses human breast cancer stem cell formation by inhibiting the Notch1 and PI3K/Akt signaling pathways. Int J Mol Med 2018;42:1625-36.
8. Ginestier C, Hur MH, Charafe-Jauffret E, Monville F, Dutcher J, Brown M, et al. ALDH1 is a marker of normal and malignant human mammary stem cells and apredictor of poor clinical outcome. Cell Stem Cell 2007;1:555-67.

9. Ciccone V, Terzuoli E, Donnini S, Giachetti A, Morbidelli L, Ziche M. Stemness marker ALDH1A1 promotes tumor angiogenesis via retinoic acid/HIF-1α/VEGF signalling in MCF-7 breast cancer cells. J Exp Clin Cancer Res 2018;37:311.
10. Goodell MA, Brose K, Paradis G, Conner AS, Mulligan RC. Isolation and functional properties of murine hematopoieticstem cells that are replicating in vivo. J Exp Med 1996;183:1797-806.
11. Patrawala L, Calhoun T, Schneider-Broussard R, Zhou J, Claypool K, Tang DG. Side population is enriched in tumorigenic, stem-like cancer cells, whereas ABCG2+ and ABCG2− cancer cells are similarly tumorigenic. Cancer Res 2005;65:6207-19.
12. Sternlicht MD. Key stages in mammary gland development: the cues that regulate ductal branching morphogenesis. Breast Cancer Res 2006;8:201.
13. Clayton H, Titley I, Vivanco Md. Growth and differentiation of progenitor/stem cells derived from the human mammary gland. Exp Cell Res 2004;297:444-60. Erratum in: Exp Cell Res 2004; 300:257.
14. Gudjonsson T, Villadsen R, Nielsen HL, Rønnov-Jessen L, Bissell MJ, Petersen OW. Isolation, immortalization, and characterization of a human breast epithelial cell line with stem cell properties. Genes Dev 2002;16:693-706.
15. Péchoux C, Gudjonsson T, Ronnov-Jessen L, Bissell MJ, Petersen OW. Human mammary luminal epithelial cells contain progenitors to myoepithelial cells. Dev Biol 1999;206:88-99.
16. Dontu G, Abdallah WM, Foley JM, Jackson KW, Clarke MF, Kawamura MJ, et al. In vitro propagation and transcriptional profiling of human mammary stem/progenitor cells. Genes Dev 2003; 17:1253-70.
17. Mani SA, Guo W, Liao MJ, Eaton EN, Ayyanan A, Zhou AY, et al. The epithelial-mesenchymal transition generates cells with properties of stem cells. Cell 2008;133:704-15.
18. Bagger SO, Hopkinson BM, Pandey DP, Bak M, Brydholm AV, Villadsen R, et al. Aggressiveness of non-EMT breast cancer cells relies on FBXO11 activity. Mol Cancer 2018;17:171.
19. Quintana E, Shackleton M, Sabel MS, Fullen DR, Johnson TM, Morrison SJ. Efficient tumour formation by single human melanoma cells. Nature 2008;456:593-8.
20. Ashour F, Awwad MH, Sharawy HEL, Kamal M. Estrogen receptor positive breast tumors resist chemotherapy by the overexpression of P53 in Cancer Stem Cells. J Egypt Natl Canc Inst 2018;30:45-8.