

Characteristics of Cancer Stem Cells and Immune Checkpoint Inhibition

Sang-Hun Choi^{1,2} and Hyunggee Kim^{1,2*}

¹Department of Biotechnology, College of Life Sciences and Biotechnology, Korea University, Seoul 02841, Korea

²Institute of Animal Molecular Biotechnology, Korea University, Seoul 02841, Korea

Received March 14, 2019 / Revised April 6, 2019 / Accepted April 8, 2019

Cancer stem cells (CSCs), which are primarily responsible for metastasis and recurrence, have self-renewal, differentiation, therapeutic resistance, and tumor formation abilities. Numerous studies have demonstrated the signaling pathways essential for the acquisition and maintenance of CSC characteristics, such as WNT/ β -catenin, Hedgehog, Notch, B lymphoma Mo-MLV insertion region 1 homolog (BMI1), Bone morphogenetic protein (BMP), and TGF- β signals. However, few therapeutic strategies have been developed that can selectively eliminate CSCs. Recently, neutralizing antibodies against Cytotoxic T-lymphocyte associated protein 4 (CTLA-4) and Programmed cell death protein 1 (PD-1)/Programmed death-ligand 1 (PD-L1), immune checkpoint inhibitors (ICIs), have shown promising outcomes in clinical trials of melanoma, lung cancer, and pancreatic cancer, as well as in hematologic malignancies. ICIs are considered to outperform conventional anticancer drugs by maintaining long-lasting anticancer effects, with less severe side effects. Several studies reported that ICIs successfully blocked CSC properties in head and neck squamous carcinomas, melanomas, and breast cancer. Together, these findings suggest that novel and effective anticancer therapeutic modalities using ICIs for selective elimination of CSCs may be developed in the near future. In this review, we highlight the origin and characteristics of CSCs, together with critical signaling pathways. We also describe progress in ICI-mediated anticancer treatment to date and present perspectives on the development of CSC-targeting ICIs.

Key words : Cancer stem cell, CTLA-4, Immune checkpoint inhibitor, PD-1, PD-L1

서 론

1971년 암과의 전쟁을 선포한 이후, 현재까지 암 치료법은 획기적인 발전을 이루었다. 하지만 암의 재발과 전이에 대한 치료 전략은 아직까지 미미한 실정이며 기전 또한 정확하게 밝혀지지 않았다. 최근, 전통적인 항암 전략인 화학요법(chemotherapy)과 방사선치료(radiation therapy)에 저항성을 가진 극소수의 세포가 암의 재발과 전이를 유발하는 주된 요인으로 제시되면서 새로운 치료대상으로 대두되고 있다[22, 49]. 이들 세포를 암줄기세포(cancer stem cell, CSC)라고 한다.

암줄기세포는 크게 네 가지 특성을 가지고 있으며, 이는 지속적인 분열을 할 수 있는 자가재생능력(self-renewal ability), 다른 세포로 분화할 수 있는 능력(differentiation ability), 약물 저항성(drug resistance) 그리고 암을 형성할 수 있는 능력(tumor-initiating ability)이다.

1994년 정상조혈모세포와 성격이 비슷한 암줄기세포가 급성 골수성 백혈병(acute myeloid leukemia)에서 처음으로 분리되었다[37]. 연구진은 급성 골수성 백혈병 환자에서 얻은 암줄기세포(CD34⁺ and CD38⁻)를 면역결핍 쥐(NOD/SCID mouse)에 이식하여 백혈병이 유발되는 것을 확인하는 것으로 암줄기세포의 암을 일으킬 수 있는 능력(tumor-initiating ability)을 증명하였다. 이후, 유방암(breast cancer) [2], 뇌종양(brain cancer) [63], 대장암(colon cancer) [55], 두경부암(head and neck cancer) [52] 등 다양한 암에서 암줄기세포의 존재가 보고되었으며 특성 또한 제시되었다.

한편, 2011년 첫 면역관문억제제인 이필리무맙(Ipilimumab)이 미국 식품의약품안전처(FDA)의 승인을 받음으로써 암을 치료하기 위한 새로운 전략으로 제시되었다. 이필리무맙은 CTLA-4 (cytotoxic T-lymphocyte antigen 4)의 단일클론 항체로 T 림프구와 항원제시 세포 사이의 상호작용을 조절함으로써 억제된 T 림프구의 기능을 증가시킨다[68]. 이렇게 활성화된 T 림프구는 면역감시 기능이 회복되고 암세포를 공격한다. 최근 PD-1 (programmed death-1)/PD-L1 (programmed death-ligand 1) 억제제가 추가로 효과를 증명함으로써 면역관문억제제의 적용 영역이 확대되고 있다. 본 리뷰에서는 암의 재발과 전이의 주요한 원인이 되는 암줄기세포와 이를 치료하기 위한 전략 중 하나인 면역관문억제제에 대해 고찰하고자 한다.

*Corresponding author

Tel : +82-2-3290-3059, Fax : +82-2-3290-3040

E-mail : hg-kim@korea.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

본 론

암줄기세포의 기원

전통적인 항암치료요법에서는 외과적 절제, 화학요법 및 방사선 요법을 병행하여 종양의 크기를 감소시키는 방향으로 치료를 진행하고 있으나, 최근 이러한 치료요법에 저항성을 보이는 사례가 늘어나고 있다. 전통적인 항암치료요법에 저항성을 갖게 하는 주된 요인으로 암줄기세포에 의한 암의 비균질성(heterogeneity)이 지목되고 있다[51].

암줄기세포의 기원은 두 가지 이론을 통해 설명되고 있다. 첫째로, 정상줄기세포가 분열하는 과정에서 지속적으로 돌연변이를 획득하여 암줄기세포로 이행(transition)하는 이론이다. 각 장기에서는 조직을 구성하고 있는 세포군집의 항상성(homeostasis)을 유지하기 위해 줄기세포가 지속적으로 분열 및 분화한다. 즉 이미 분화된 세포와 달리 지속적으로 분열하는 정상줄기세포는 상대적으로 돌연변이를 획득할 가능성이 높아지며 이러한 과정에서 돌연변이의 축적이 일어난 정상줄기세포는 세포성장회로에서 이탈하여 암줄기세포화 된다[9]. 최근 연구에서 뇌종양이 신경 줄기세포가 위치하는 뇌실하영역(subventricular zone)으로부터 발생하는 것으로 밝혀짐에 따라 위의 이론을 뒷받침 해주고 있다. 해당 연구에서는 30명의 뇌종양 환자로부터 수술시에 제거되는 절제조직을 종양부분, 종양에서 떨어진 뇌실하영역, 정상부분으로 구분하여 단일세포엑솜시퀀싱(single cell exome-seq)을 통해 분석하였다. 분석 결과 환자 종양에서 관찰되는 56.3%의 종양 유발 유전자가 종양이 존재하지 않는 뇌실하영역에서 발견되었다. 또한 신경줄기세포에 p53, PTEN, EGFR 돌연변이를 유발한 유전자 조작 마우스에서, 돌연변이를 획득 한 신경줄기세포가 뇌실하영역에서 다른 부위로 이동하여 뇌종양이 발생함을 관찰하였다[39]. 또 다른 연구에서는 암 성장 억제유전자인 p53과 Ras 신호기전을 억제하는 NF1을 마우스에서 제거 하였을 때, 자연적으로 뇌실하영역에서 뇌종양이 발생하는 것을 관찰하였다[73]. 앞선 연구결과들은 암줄기세포가 형질이 변환된 정상줄기세포로부터 기원한다는 이론을 뒷받침할 수 있다. 두 번째로, 정상줄기세포에서 암줄기세포가 유래되는 것이 아닌, 이미 분화된 세포에 특정 자극이 가해졌을 때 역분화(dedifferentiation) 과정을 거쳐 암줄기세포가 된다는 보고가 존재한다[25, 45]. 암은 매우 빠른 속도로 증식하기 때문에 필연적으로 혈관이 생성되지 못한 곳에 저산소증(hypoxia)을 유발하게 되며, 이는 암세포에 다양한 변화를 야기한다. 이런 변화 중 대표적인 예가 암세포의 역분화이다. 실제 간암 및 폐암, 뇌종양 세포주를 저산소 조건에 노출시켰을 때, 줄기세포의 마커인 SOX2, OCT4, KLF4, NANOG, LIN28A, CD133의 발현이 증가하고 줄기세포의 특성 중 하나인 스피어(sphere) 형성 능력이 증가한다[66]. 다른 연구에서는 방사선치료를 받은 뇌종양 환자의 대다수가 방사선을 조사한 위치에서 재발되

며, 이러한 현상이 발생하는 이유로 암세포의 역분화를 예로 들고 있다. 뇌종양 세포주를 마우스에 정위이식(orthotopic injection) 한 후, 일정기간 방사선을 조사하였을 때 암세포는 노화관련 분비표현형(senescence-associated secretory phenotype) 특성을 보였으며 중성구의 마커인 Ly6G⁺ 면역세포가 밀집되는 현상을 유도하였다. 노화관련 분비표현형 특성을 보이는 암세포는 다양한 케모카인을 분비하여 Ly6G⁺ 면역세포의 성격변화를 유도하는데, 변화한 Ly6G⁺ 면역세포는 NO(nitric oxide) 기전을 통해 암세포에서의 ID4 (inhibitor of differentiation 4) 발현을 증가시키고, 그 결과 방사선에 대한 저항성을 가진 암줄기세포로 역분화가 일어난다[32].

결론적으로 암줄기세포는 돌연변이 축적에 의한 정상줄기세포 형질 변환의 산물이기도 하며, 다양한 환경에 노출됨으로써 유도 될 수 있는 역분화의 결과이기도 하다. 위의 두 가지 이론은 환자 내에 존재하는 암줄기세포가 다양한 방식으로 생성 될 수 있음을 시사한다.

암줄기세포의 특성

다양한 암 종 내에서 존재하는 암줄기세포의 비율은 가변적이며 양적인 수치 또한 모두 다르다. 이러한 암줄기세포는 크게 네 가지 특성을 지니고 있다(Fig. 1).

첫째는, 지속적으로 분열할 수 있는 자가재생능력이다. 자가재생능력은 조직의 항상성을 유지하기 위해 분열하는 정상줄기세포와 공유하고 있는 성질이지만, 암 줄기세포에서의 자가재생능력은 고유한 신호기전을 통해 유지된다. 배아 발생단계에서 축(axis)을 결정하는 WNT/ β -catenin 신호는 유방암 및 혈액암에서 암줄기세포의 성격을 획득 및 유지하는데 중요하며[8, 13, 69], Hedgehog 신호는 유방암, 췌장암, 대장암, 뇌종양에서 중요하다[3, 5, 20, 41, 43, 44, 54]. 이외에도 Notch, BMI1, BMP, TGF- β 기전이 대표적으로 알려져 있으며, 이를

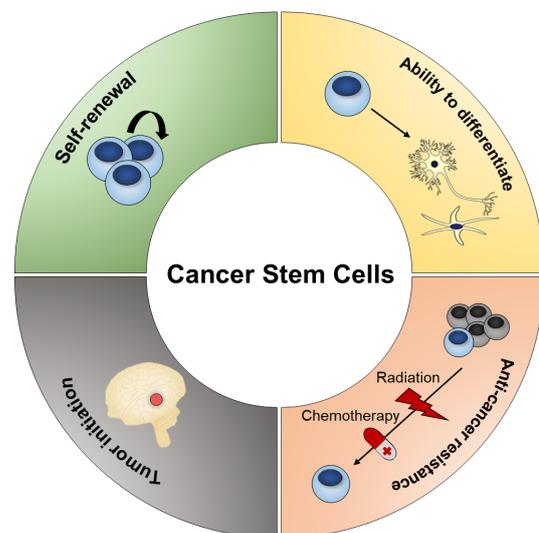


Fig. 1. The characteristics of cancer stem cells.

표적하여 암줄기세포를 치료하고자 하는 전략이 시도되고 있다[59]. 암줄기세포는 한 가지 신호 기전을 통해 자가재생능력을 유지하기도 하지만, 최근 연구결과에 따르면 하나 이상의 기전을 통해 자가재생능력을 유지하는 암줄기세포도 존재한다. ID1이 높은 뇌종양 줄기세포는 WNT/ β -catenin 신호와 Hedgehog 신호를 통해 지속적으로 성장할 수 있는 능력을 유지한다. Cullin3는 E3 ubiquitin ligase로써 특정 단백질을 유비퀴틴화 하여 프로테아좀 분해를 유도한다. WNT/ β -catenin 신호를 조절하는 DVL2와 Hedgehog 신호를 조절하는 GLI2를 Cullin3가 유비퀴틴화하여 신호를 억제하는데, 뇌종양 줄기세포에서는 ID1이 Cullin3를 억제하여 두 신호의 활성을 유지한다[34]. 이러한 내용을 종합해보면, 동일한 종양 내에 존재하는 암줄기세포는 독립적인 신호체계에 의존적이며 다양한 세포로 분화 한다. 그 결과 비균질적인 특징을 나타낼 수 있을 것이다.

다음으로, 암줄기세포는 항암치료에 대한 저항성을 지닌다. 암줄기세포는 전통적인 화학요법 및 방사선요법 이후, 종양 내에 높은 비율로 존재하게 된다. 두가지 치료방법을 통해 암세포는 제거할 수 있지만 저항성을 가진 암줄기세포는 완전히 제거하지 못해 결과적으로는 재발이 일어난다. 암줄기세포는 내재적인 신호를 통해 약물에 대한 저항성을 가지며 대표적인 예로는 ABC (ATP-binding cassette transporters) 운반체가 있다. 암줄기세포는 많은 양의 ABC 운반체를 세포 표면에 발현하고 있으며 항암제를 세포 안에서 밖으로 배출할 수 있다. 총 48종의 ABC 운반체는 각각의 암줄기세포에서 다양하게 발현되고 있다[7]. ABCB1 (MDR1)은 급성 골수성 백혈병, 뇌종양, 난소암, 유방암, 신장암 줄기세포에서 과발현 되어 있으며 OCT4, AKT, SMO, miR-27A와 같은 인자에 의해 특성을 유지한다[17, 23, 24]. ABCG2는 폐암, 췌장암, 간암, 유방암, 난소암 줄기세포에서 높은 발현을 보이며 HMGA1, ERBB2, Hedgehog에 의해 조절받는다[16, 27, 28, 35, 72]. 흥미롭게도 최근 연구결과에 따르면 암줄기세포는 내재적인 신호에 의존적인 저항성을 띠는 경우가 아닌, 암 미세환경에 의해 조절될 수 있는 연구결과도 있다. 암세포 및 암줄기세포는 다양한 케모카인을 분비하여 인접해 있는 세포들의 특성변화를 유도하며, 자신의 약물 저항성을 획득 및 유지한다. 암 미세환경을 구성하는 세포에는 종양 연관 섬유아세포(cancer-associated fibroblast), 혈관내피세포, 종양 연관 대식세포(tumor-associated macrophage) 등이 존재하며, 이들은 다양한 인자를 분비하여 암줄기세포의 내재적 신호기전을 활성화 시킨다. 또한 암세포 주위를 지지하고 있는 세포외기질(extracellular matrix)은 물리적으로 약물의 접근을 차단함과 동시에, 강성도(ECM stiffness)에 의한 암줄기세포의 약물-저항성 기전을 유도한다[12, 15, 64].

마지막으로, 암을 형성할 수 있는 능력(tumor-initiating ability)이 있다. 소수의 암줄기세포는 제거된 종양조직을 빠른

시간 내에 재건할 수 있는 능력을 가진다. 실제로 많은 수의 암세포와 소수의 암줄기세포를 마우스에 이식하였을 때, 소수의 암줄기세포를 이식한 마우스에서만 종양이 형성된다는 보고가 대다수이다. 또한 암줄기세포 표지 인자를 이용해 환자의 조직에서 순수한 암줄기세포를 분리하였을 때, 해당세포가 가지는 종양 형성 능력은 일반적인 암세포와 비교할 수 없을 만큼 뛰어난 것이 보고되었다. 간암세포주(PLC8024)에서 암줄기세포 마커인 CD133을 이용해 CD133 양성 세포와 음성 세포 두 그룹으로 나누어, 각각 1000개와 3000개의 세포를 면역결핍 마우스에 이식한 경우에, CD133 양성 그룹의 세포를 이식한 마우스에서만 암이 형성되었다. 또한 CD133 양성 간암줄기세포가 nonhepatocyte-like, angiomyogenic-like 세포로 분화할 수 있는 분화능(differentiation ability)을 증명하였다[42].

암 줄기세포 표적 방법

세포독성항암제는 1세대 항암제로 정상세포에 비해 빠른 속도로 분열하는 암세포의 특성을 이용한 항암제다. DNA에 결합하여 비정상적인 구조를 유도하는 알킬화제(alkylating agent), 대사 과정을 억제하는 대사길항제(antimetabolite)가 대표적이며, 이들은 암세포를 제거하는데 큰 효능을 보인다. 하지만 1세대 항암제는 휴지기(quiescence) 상태의 암줄기세포에 효능을 보이지 않아, 추가적인 항암전략이 요구되었다. 따라서 현재까지 2세대 항암제(표적항암제) 및 3세대 항암제(면역항암제)가 개발되면서 암줄기세포를 선택적으로 표적할 수 있는 새로운 전략들이 제시되고 있다.

지난 25년간 다양한 종양에서 암줄기세포가 발견되었으며, 정상줄기세포와는 차별화 된 세포 표면 표지인자(cell surface marker)가 동정되었다. 이러한 표지인자는 선택적으로 암줄기세포를 제거할 수 있는 타겟으로 여겨지며, 이를 이용한 치료전략이 시도되고 있다. 예를 들어, 급성 골수성 백혈병 환자의 혈액에서 분리한 암세포에는 CD44⁺ 암줄기세포가 존재하며, 이를 면역결핍마우스에게 이식하였을 때, 높은 종양 형성 능력을 보였다. 암을 이식한 후, CD44에 선택적으로 결합할 수 있는 단일클론항체를 투여하자 종양의 크기가 현저하게 감소하였고, CD44⁺ 암줄기세포의 수도 줄어들었다[33]. 뇌종양, 전립선암, 췌장암, 악성흑색종, 대장암, 간암, 폐암, 난소암의 암줄기세포 표지인자로 잘 알려진 CD133에 대해서도 이와 같은 연구가 진행 중이다. 뇌종양 줄기세포에 CD133⁺ 표지인자를 나다운 하였을 때, 스피어 형성 능력 및 종양 형성 능력이 감소하였다. 따라서, 암줄기세포 특이적인 표지인자를 이용한 치료 방법은 매력적인 접근방식으로 보인다[11].

암줄기세포는 자신의 특성을 유지하기 위해 정상줄기세포와 다른 내재적인 신호 기전을 가진다. 대표적인 신호기전으로는 WNT/ β -catenin, Hedgehog, Notch, BMI1, BMP, TGF- β 신호가 존재하며, 이를 표적하기 위한 항체와 저분자 화합물

이 개발 중이다. WNT/ β -catenin는 가장 연구가 잘 되어있는 암줄기세포의 내재적인 신호기전으로 다양한 억제제가 제시되고 있다. WNT/ β -catenin 기전은 정식적인(canonical) 신호경로와 비정식적인(non-canonical) 경로가 존재하는데, 이를 단독으로 억제하는 방법과 동시에 억제하는 전략이 존재한다. 단독으로 억제하는 방식은 수용체-리간드를 표적하는 것으로 Frizzled, LGR5, ROR1, ROR2, CELSR, PTK7과 같은 수용체에 Wnt 리간드가 결합하는 것을 방해한다. Frizzled 억제 단일클론항체인 반티투맵(vantictumab)은 유방암 줄기세포와 췌장암 줄기세포에서 효능이 입증되어 임상 1상이 진행 중이며 [26], 이외에 비정식적인 신호 경로를 조절하는 ROR1의 억제제인 섬투주맵(cirmtuzumab)은 난소암 줄기세포를 표적하여 임상 1상이 진행 중에 있다[70]. 정식적인 신호 경로와 비정식적인 신호 경로를 동시에 억제하는 약물로는 porcupine 억제제인 WNT974가 있으며, 급성 골수성 백혈병, 뇌종양에서 임상 1/2상이 진행 중이다[1]. Notch 수용체는 Delta, Jagged 리간드에 의해 신호가 활성화 된다. 이 과정에서 Notch 수용체의 세포질 내 도메인에 γ -secretase가 작용하여 단백질 가수분해를 야기하고 그 결과 NICD (Notch Intracellular domain)가 핵 내부로 이동해 신호를 활성화 시킨다. 현재 Notch 신호를 억제하는 대표적인 방법은 γ -secretase 억제제를 이용하여 NICD가 생성되는 것을 저해하는 방법으로, MK-0752는 유방암에서, PF03084014는 다양한 고형암에서 임상시험 1상이 진행 중에 있다[36].

ABC 운반체는 암줄기세포의 특성 중 하나인 항암제 저항성을 나타내는 요인이다. 암줄기세포는 항암제에 노출되었을 때, ABC 운반체를 통해 항암제를 세포 밖으로 배출하게 된다. 따라서 ABC 운반체 억제제와 기존의 항암제를 병행투여 하는 접근방식을 많은 연구진들이 연구하고 있지만 현재까지 주목할만한 억제제는 발굴하지 못하였다. 최근에 ABCB1을 과발현시킨 피부암세포에서 바르데나필(vardenafil)이 선택적으로 ABCB1을 억제함으로써 항암 효능이 증명되었지만 추가적인 연구가 필요한 실정이다[19].

암줄기세포의 존재가 확인된 이후, 암줄기세포를 표적하는 항암제는 그들이 가지는 특징 및 내재적인 신호기전에 초점을 맞춰 개발되었다. 이는 정상줄기세포와 차별화된 특성을 찾는 초기 연구 접근방식에 따른 결과이다. 하지만 최근 종양미세환경이 치료의 예후에 영향을 미치는 연구 내용이 발표됨에 따라, 암줄기세포의 치료 전략도 세포중심에서 암줄기세포가 영향을 미치는 종양미세환경으로 변화하고 있다. 종양미세환경은 다양한 세포들의 상호작용과 환경적 변화를 포괄하는 개념으로써, 이에 영향을 받은 세포는 고유한 기능이 다소 희석된다. 특히 종양 주위에 존재하는 면역세포는 더 이상 암을 인지하거나 제거하지 못하고 오히려 암의 성장에 도움을 주는 특성을 지니기도 한다. 따라서 정상적인 면역기능이 손실된 면역세포의 기능을 회복시키는 항암 전략을 사용한다면 좋은

치료효율을 보일 수 있을 것이다. 이러한 관점에서, 본 논문의 다음 부분에서 최근 가장 주목 받고 있는 면역관문억제 항암 전략에 대해 소개하도록 하겠다.

면역관문억제

현재까지 개발된 대부분의 항암제는 암세포 사멸에 초점을 맞춘 표적항암제로써 암세포가 노출되어 있는 환경 및, 다른 세포와의 상호작용을 고려하지 않은 항암제이다. 하지만 최근에는 암세포가 존재하는 환경, 즉 종양미세환경의 중요성이 부각되면서 새로운 치료 전략들이 시도되고 있다. 종양미세환경에는 종양미세혈관 부위, 저산소증 부위, 세포괴사 부위와 같은 환경적인 요인이 존재하고, 인접한 세포와의 상호작용을 통한 세포생리학적 요인이 있다[50]. 최근, 항암치료의 저항성을 가지게 되는 새로운 기전들이 종양미세환경과 연관되어 설명되고 있으며, 특히 면역세포와의 상호작용을 통한 면역회피 기전을 억제하는 새로운 항암 전략이 각광받고 있다.

면역관문억제제는 환자가 보유하고 있는 면역세포를 이용하여 이전 항암제와는 완전히 다른 개념의 치료가 가능하다. 우리 몸의 면역체계는 외래 항원이 유입되면 선천면역과 적응면역을 통해 방어기전을 작동시킨다. 선천면역과 적응면역은 유입된 항원을 기억하는지, 단회성 반응인지 다회성 반응인지에 따라 구분된다. 유입된 항원을 기억하지 못하고 빠른 시간에 단회성 반응을 보이는 것은 선천면역이며 대부분 백혈구계 세포가 담당하게 된다. 이와 다르게 유입된 항원을 기억하여 장기간 면역반응을 보이는 것이 적응면역이며 T 림프구와 B 림프구가 역할을 담당한다. 적응면역이 활성화 되기 위해서는, 항원제시세포(antigen presenting cells; dendritic cell, macrophage)가 major histocompatibility complex (MHC)에 신생 항원을 탑재하고, T 림프구 표면의 T세포 수용체(T cell receptor; TCR)와 결합하여 T 림프구의 활성화를 거쳐야 한다[14]. 예전에는 MHC와 T세포 수용체의 결합만으로 T 림프구의 활성화가 유도되는 것으로 이해하였지만, CD80, CD86의 기능이 밝혀진 이후로 T 림프구의 활성화에 추가적인 신호가 필요함을 알게 되었다. CD80 (B7.1 리간드), CD86 (B7.2 리간드)은 항원제시세포에서 발현하며, T 림프구의 CD28과 결합하여 T 림프구의 활성을 유도한다. 즉 CD80-CD28, CD86-CD28의 결합은 T 림프구의 활성화에 필수적인 추가적인 신호이다[60, 65]. 한편 T 림프구 수용체 중에서 T 림프구의 활성을 억제하는 수용체도 발견되었는데, 대표적인 예로 CTLA-4 (cytotoxic T-lymphocyte associated protein 4)가 있다. CTLA-4는 CD80, CD86의 수용체로 CD28보다 높은 친화도를 가지고 있어, CD28의 신호를 억제해 활성화된 T 림프구의 기능을 제한한다. 마우스모델에서 CD80을 과발현한 섬유육종(fibrosarcoma)을 이식한 후 CTLA-4 항체를 투여하자 형성된 암이 줄어들고 종양 억제가 오래 지속되었다[38]. 초기에는 CTLA-4 항체의 효능을 단순히 CD28의 신호 활성을 통한

CD4⁺, CD8⁺ T 림프구의 활성의 결과로 봤지만, 최근에는 조절 T 림프구(regulatory T cell; Treg cell)의 감소도 CTLA-4 항체를 통한 종양 억제에 뒷받침 한다는 연구 결과도 보고되고 있다[61]. 하지만 미국 FDA 승인을 받은 CTLA-4 항체인 이필리무맙(Ipilimumab)은 전립선암, 방광암, 흑색종 환자에게 투여시, 조절 T 림프구의 감소 없이 암을 성공적으로 제거하였다. 따라서 CTLA4 억제제를 통한 항암 기전은 아직까지 완벽하게 이해하지 못하고 있는 영역으로 남아있다. 비록 악성 흑색종 환자를 시작으로 여러 고형암에 대한 CTLA-4 항체 사용이 미국 FDA의 승인을 얻어내고 있지만, 부작용도 많이 보고되고 있다. 임상실험 결과 이필리무맙을 투여한 환자의 60%가 부작용을 겪었으며, 면역활성도가 지속적으로 유지되어 면역 체계의 이상반응을 초래하였다. 또한 환자의 피부 조직에 침윤하는 T 림프구가 관찰되었으며, 면역세포가 장을 공격하여 장염이 발생하기도 하였다[31]. 따라서 CTLA-4를 표적하는 면역관문억제제는 지속적인 연구결과가 요구된다.

PD-1 (programmed death-1)은 T 림프구 표면에 분포하는 수용체로 CTLA-4와 동일하게 T 림프구의 기능을 억제하지만, 작용 부위가 염증반응이 존재하는 말초조직 및 종양미세환경으로 제한되어 있는 것으로 알려져 있다. PD-1은 T 림프구 수용체에 의해 T 림프구가 활성화 되는 동시에 발현이 증가하며, IRF9 및 NOTCH 신호에 의해 유도되기도 한다. 외부 항원이 빠른 시간 내에 제거되면 PD-1의 발현은 감소하지만, 암이나 만성감염처럼 외부항원에 지속적으로 노출되는 경우에는 PD-1의 발현도 높게 유지된다. PD-1 신호가 활성화되면 SHP2 (protein-tyrosine phosphatase 1D)가 PD-1의 세포 내 도메인인 ITSM (immunoreceptor tyrosine-based motif)에 결합한다. 결합한 SHP2는 ZAP70 (zeta-chain-associated protein kinase 70), RAS, PI3K 신호를 억제함으로써 T 림프구의 활성화 신호를 감소시킨다[62]. 대사과정을 리프로그래밍하여 T 림프구의 활성화를 조절하는 연구결과도 있다. T 림프구는 활성화 과정에서 PD-1의 신호 기전을 통해 해당과정을 감소시키고, 지방산 베타산화(fatty acid beta-oxidation, FAO)에 의존적으로 대

사과정을 이행한다. 이러한 T 림프구의 변화는 영양분 결핍환경에서 지속적인 활성도를 유지할 수 있는 특성을 보인다[48].

PD-1과 결합할 수 있는 리간드는 PD-L1 (programmed death ligand-1), PD-L2 (programmed death ligand-2)가 존재한다. PD-L1은 항원제시세포, T 림프구, B 림프구, 혈관세포, 암세포 등 많은 조직에서 발현하지만, PD-L2는 수지상세포, 대식세포, 암세포를 포함하여 PD-L1보다 제한된 세포에서 발현한다. 흥미롭게도 암세포는 PD-L1 및 PD-L2를 모두 발현하고 있어 면역회피신호에 이용한다. 암세포에서 주로 높게 발현하고 있는 PD-L1은 PD-1과 결합함으로써, T 림프구 수용체 매개 신호를 억제한다[21]. 그 결과 T 림프구는 활성을 잃어 더 이상 종양을 억제하지 못해 환자의 예후가 악화된다. 위의 현상과 구분되는 PD-1에 독립적인 PD-L1 신호도 존재하는데, 암세포와 PD-1이 존재하지 않는 세포독성 T 림프구를 공배양하였을 때, PD-L1의 발현이 높은 암세포가 세포독성 T 림프구에 저항성을 가졌다[10]. 난소암세포에서는 PD-L1을 차단하였을 때, 자가포식(autophagy)이 유발되고, mTOR신호가 감소하여 세포의 성장 속도가 감소했다[18]. 이런 실험 결과들은 PD-1에 독립적인 PD-L1의 내재적인 신호(intrinsic signaling)가 존재함을 시사하며, mTOR 억제제와 PD-L1 억제제를 병용투여할 수 있는 근거를 제시한다.

PD-L2는 PD-1의 리간드로 알려져 있지만 아직까지 정확한 작용 기전이 밝혀져 있지 않다. 또한 항암효과와 연관이 있는 Th1 반응이 아닌 박테리아나 기생충의 감염에 의한 Th2 반응과 연관이 있다는 것이 제시되면서, 현재까지 면역관문억제제의 표적으로 사용되고 있지 않다[57]. 최근 PD-L2의 임상학적 유용성을 증명하기 위해 많은 시도들이 진행되었으나, 체장암 및 난소암 등 여러 고형암에서 PD-L2와 환자의 예후가 연관이 없는 보고들이 축적되고 있어 난항이 예상된다[46, 47].

2014년 PD-1 억제제인 니볼루맙(Nivolumab), 펌브롤리주맙(Pembrolizumab)이 미국 FDA의 승인을 받아 악성 흑색종과 폐암에 적용되었으며, PD-L1 억제제인 아테졸리주맙(Atezolizumab), 듀발루맙(Durvalumab), 아벨루맙(Avelumab)도

Table 1. List of immune checkpoint inhibitors currently being approved in clinical trial

Drug	Target	Tumor model	First approval data
Ipilimumab	CTLA-4	Melanoma	Mar 25, 2011
		Melanoma	Dec 22, 2014
Nivolumab	PD-1	Non small cell lung cancer	Mar 4, 2015
		Renal cell carcinoma	Nov 23, 2015
		Head and neck cancer	Nov 10, 2016
		Urothelial carcinoma	Feb 2, 2017
		Hepatocellular carcinoma	Sep 22, 2017
Atezolizumab	PD-L1	Urothelial carcinoma	May 18, 2016
		Non small cell lung cancer	Dec 6, 2018
Durvalumab	PD-L1	Bladder cancer	May 1, 2017
Avelumab	PD-L1	Urothelial carcinoma	Mar 23, 2017

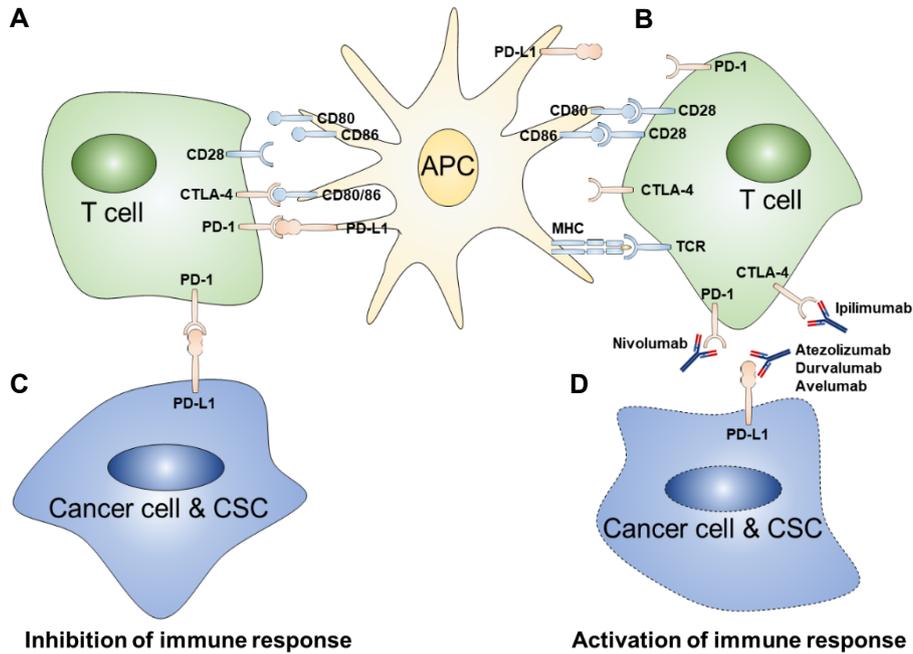


Fig. 2. Mechanism of immune checkpoints and inhibitors. A: CTLA-4 receptor expressed by T lymphocyte competes with CD28 to bind to CD80/CD86. CTLA-4, which has higher affinity than CD28, consequently inhibits CD28 so that function of T lymphocyte is blocked. B: T lymphocytes are activated by two consecutive signaling pathways. When antigen presenting cells present antigen via MHC class II, T lymphocytes bind through TCR, and subsequently CD28 receptor binds to CD80/CD86. As a result, T lymphocytes are activated to attack cancer cells. C: Cancer cells suppress T lymphocytes using PD-L1. Activated PD-1 signal reduces activity of T lymphocytes by inhibiting RAS and PI3K signaling pathways. D: Immune checkpoint inhibitors restore the activity of T lymphocytes through CTLA-4, PD-1 and PD-L1. As a result, T lymphocytes regain the function to eliminate cancer cells. (CTLA-4 inhibitor = Ipilimumab, PD-1 inhibitor = Nivolumab, PD-L1 inhibitor = Atezolizumab, Durvalumab and Avelumab).

2016, 2017년에 차례로 승인을 받아 사용이 확대되고 있다 (Table 1), (Fig. 2) [53, 56]. 또한 면역관문억제제의 효능을 높이기 위해, CTLA4 및 PD-1/PD-L1 억제제를 병용투여 하는 시도도 진행되고 있다. 실제 흑색종 환자를 대상으로 한 병용투여 실험 결과, 단독투여보다 2배 높은 효능을 보였으며, 다른 암종에서도 비슷한 결과를 보여주고 있다. 이는 병용투여 전략으로 사용할 수 있는 새로운 인자의 발굴의 필요성을 부각시켰다. 이에 최근 LAG-3, VISTA, TIM-3, CD96, TIGIT 등의 새로운 면역관문이 지속적으로 밝혀짐에 따라, 앞으로 면역관문억제제의 중요성은 더욱 더 증가 할 것으로 사료된다 (Fig. 3) [6].

현재까지 개발된 면역관문억제제는 모두 단일클론 항체 계열의 의약품으로 2세대 항암제(표적치료제)의 항체 의약품과는 큰 차이점을 가진다. 대표적인 2세대 항체 항암제로는 암세포에서 높게 발현하고 있는 EGFR 수용체에 결합하여 인산화를 억제하는 세투지맴(Cetuximab) [4], 파니투무맴(Panitumumab) [58] 및 HER2 수용체에 결합하여 PI3K/AKT 신호를 억제하는 트라스투주맴(Trastuzumab)이 있으며[30], VEGF-A를 억제하여 암세포 주위에 존재하는 혈관세포의 추가적인 혈관생성을 억제하는 베바시주맴(Bevacizumab)이 있다[67].

이러한 항체는 암세포나 암세포 주위에 존재하는 세포를 표적하는 방법으로 단 하나의 작용점을 가진다. 반면에 면역관문억제제는 암세포와 면역세포간의 상호작용을 억제하는 방식이므로 두 가지 작용점을 가진다. 작용점의 확대는 기존 항암제에 비해 낮은 내성을 보이며, 뛰어난 항암 효과를 나타내는

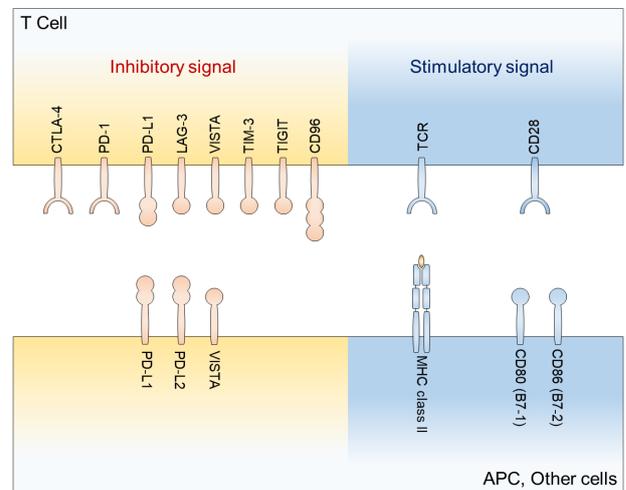


Fig. 3. Multiple signaling molecules in immune checkpoint.

장점을 보인다. 이러한 결과는 면역관문억제제가 기존의 항체 항암제보다 개선 되었음을 시사한다.

암줄기세포와 면역관문억제제

암줄기세포의 표적 항암제 개발은 현재까지 풀리지 않은 숙제로 남아 있다. 2세대 항암제를 시작으로 선택적으로 암줄기세포를 표적하고자 하는 시도들이 다수 있었지만 현재까지 괄목할만한 성과를 내지 못하였다. 최근 3세대 항암제인 면역관문억제제가 대두되면서 이를 이용한 암줄기세포를 표적하는 다양한 시도가 이루어지고 있다.

환자로부터 얻은 두경부편평상피암세포의 71%는 높은 PD-L1의 발현을 나타내며, 암줄기세포의 마커인 CD44와 높은 상관관계를 보인다. 이러한 세포는 높은 암 형성 능력을 보유하고 있으며, STAT3 신호를 통해 PD-L1의 발현을 유지한다. T 림프구와 암줄기세포를 공배양 하였을 때, CD44⁺/PD-L1⁻ 암줄기세포보다 CD44⁺/PD-L1⁺ 암줄기세포의 경우 T 림프구의 활성을 더 잘 억제하는 결과를 보였다[40]. 또한, 흑색종 줄기세포에서 PD-L1은 암 형성 능력에 관여한다. PD-L1 억제제를 흑색종 줄기세포에 처리하였을 때, 마우스에서 암 형성 능력이 감소하였다[71]. 최근 PD-L1 억제제를 유방암 줄기세포에 처리한 이후, 변화하는 세포생리학적 특성을 분석함으로써 조금씩 PD-L1의 신호기전에 대해 밝혀지고 있다. 유방암 줄기세포는 높은 PD-L1의 발현을 보이고 있다. 이는 WNT 신호를 통한 상피간엽이행(epithelial-to-mesenchymal transition; EMT)의 결과이며, 해당 신호가 증가하게 되면 N-glycosyltransferase인 STT3A/B가 PD-L1을 당화시켜 높은 안정성을 가지게 된다[29]. 결론적으로 유방암 줄기세포를 표적하기 위해서는 PD-L1 억제제와 더불어 상피간엽이행을 억제하는 병용전략이 유효할 수 있음을 시사한다.

면역관문억제제를 이용하여 암줄기세포를 표적하는 전략은 아직까지 초기연구단계에 있다. 앞으로 많은 연구 결과가 뒷받침 되어, 면역관문억제제가 기존 암줄기세포 표적 항암제의 한계점을 극복할 수 있는 돌파구가 되기를 기대한다.

결론

면역관문억제제의 개발은 짧은 역사에도 불구하고 임상에서 괄목할만한 성적을 거두고 있다. 악성 흑색종과 폐암을 시작으로 많은 고형암으로 적용 범위가 확대되고 있으며, 진행 중인 임상실험 결과도 기대해 볼 만 하다. 1, 2세대 항암제와 달리 환자의 면역력을 이용하여 암을 치료하는 방법은 상대적으로 적은 부작용을 유발하고, 지속적인 효과를 볼 수 있어 굉장히 매력적이다. 또한 악성 흑색종 줄기세포에 대한 실험 결과와, 악성 흑색종 환자의 임상 결과를 종합하면 암줄기세포를 효과적으로 제거할 수 있는 치료 전략으로 활용 가능하다. 하지만 다양한 암줄기세포를 표적할 수 있는 면역관문억

제제의 개발과, 치료 후 직접적인 효능을 판단 할 수 있는 바이오마커의 발굴은 앞으로 풀어야 할 숙제로 남아있다.

감사의 글

도움을 주신 고려대학교 암성장조절실험실원들께 감사드립니다. 또한 고려대학교 동물분자생체공학연구소 및 BK21 PLUS 생명공학원 사업단의 지원에도 감사드립니다.

References

1. Agarwal, P., Zhang, B., Ho, Y., Cook, A., Li, L., Mikhail, F. M., Wang, Y., McLaughlin, M. E. and Bhatia, R. 2017. Enhanced targeting of CML stem and progenitor cells by inhibition of porcupine acyltransferase in combination with TKI. *Blood* **129**, 1008-1020.
2. Al-Hajj, M., Wicha, M. S., Benito-Hernandez, A., Morrison, S. J. and Clarke, M. F. 2003. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **100**, 3983-3988.
3. Bar, E. E., Chaudhry, A., Lin, A., Fan, X., Schreck, K., Matsui, W., Piccirillo, S., Vescovi, A. L., DiMeco, F., Olivi, A. and Eberhart, C. G. 2007. Cyclopamine-mediated hedgehog pathway inhibition depletes stem-like cancer cells in glioblastoma. *Stem Cells* **25**, 2524-2533.
4. Baselga, J. 2001. The EGFR as a target for anticancer therapy—focus on cetuximab. *Eur. J. Cancer* **37**, Suppl 4: S16-22.
5. Batsaikhan, B. E., Yoshikawa, K., Kurita, N., Iwata, T., Takasu, C., Kashihara, H. and Shimada, M. 2014. Cyclopamine decreased the expression of Sonic Hedgehog and its downstream genes in colon cancer stem cells. *Anticancer Res.* **34**, 6339-6344.
6. Baumeister, S. H., Freeman, G. J., Dranoff, G. and Sharpe, A. H. 2016. Coinhibitory pathways in immunotherapy for cancer. *Annu. Rev. Immunol.* **34**, 539-573.
7. Begicevic, R. R. and Falasca, M. 2017. ABC transporters in cancer stem cells: beyond chemoresistance. *Int. J. Mol. Sci.* **18**, pii:E2362.
8. Bhavanasi, D. and Klein, P. S. 2016. Wnt Signaling in Normal and Malignant Stem Cells. *Curr. Stem Cell Rep.* **2**, 379-387.
9. Bjerkvig, R., Tysnes, B. B., Aboody, K. S., Najbauer, J. and Terzis, A. J. 2005. Opinion: the origin of the cancer stem cell: current controversies and new insights. *Nat. Rev. Cancer* **5**, 899-904.
10. Blank, C., Brown, I., Peterson, A. C., Spiotto, M., Iwai, Y., Honjo, T. and Gajewski, T. F. 2004. PD-L1/B7H-1 inhibits the effector phase of tumor rejection by T cell receptor (TCR) transgenic CD8⁺ T cells. *Cancer Res.* **64**, 1140-1145.
11. Brescia, P., Ortensi, B., Fornasari, L., Levi, D., Broggi, G. and Pelicci, G. 2013. CD133 is essential for glioblastoma stem cell maintenance. *Stem Cells* **31**, 857-869.
12. Brown, Y., Hua, S. and Tanwar, P. S. 2019. Extracellular matrix-mediated regulation of cancer stem cells and chemoresistance. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* **109**, 90-104.

13. Cai, W. Y., Wei, T. Z., Luo, Q. C., Wu, Q. W., Liu, Q. F., Yang, M., Ye, G. D., Wu, J. F., Chen, Y. Y., Sun, G. B., Liu, Y. J., Zhao, W. X., Zhang, Z. M. and Li, B. A. 2013. The Wnt-beta-catenin pathway represses let-7 microRNA expression through transactivation of Lin28 to augment breast cancer stem cell expansion. *J. Cell Sci.* **126**, 2877-2889.
14. Chaplin, D. D. 2010. Overview of the immune response. *J. Allergy Clin. Immunol.* **125**, S3-23.
15. Chen, Y., Tan, W. and Wang, C. 2018. Tumor-associated macrophage-derived cytokines enhance cancer stem-like characteristics through epithelial-mesenchymal transition. *Oncol. Targets Ther.* **11**, 3817-3826.
16. Chun, S. Y., Kwon, Y. S., Nam, K. S. and Kim, S. 2015. Lapatinib enhances the cytotoxic effects of doxorubicin in MCF-7 tumorspheres by inhibiting the drug efflux function of ABC transporters. *Biomed. Pharmacother.* **72**, 37-43.
17. Chuthapisith, S., Eremin, J., El-Sheemey, M. and Eremin, O. 2010. Breast cancer chemoresistance: emerging importance of cancer stem cells. *Surg. Oncol.* **19**, 27-32.
18. Clark, C. A., Gupta, H. B., Sareddy, G., Pandeswara, S., Lao, S., Yuan, B., Drerup, J. M., Padron, A., Conejo-Garcia, J., Murthy, K., Liu, Y., Turk, M. J., Thedieck, K., Hurez, V., Li, R., Vadlamudi, R. and Curiel, T. J. 2016. Tumor-intrinsic PD-L1 signals regulate cell growth, pathogenesis, and autophagy in ovarian cancer and melanoma. *Cancer Res.* **76**, 6964-6974.
19. Ding, P. R., Tiwari, A. K., Ohnuma, S., Lee, J. W., An, X., Dai, C. L., Lu, Q. S., Singh, S., Yang, D. H., Talele, T. T., Ambudkar, S. V. and Chen, Z. S. 2011. The phosphodiesterase-5 inhibitor vardenafil is a potent inhibitor of ABCB1/P-glycoprotein transporter. *PLoS One* **6**, e19329.
20. Ehtesham, M., Sarangi, A., Valadez, J. G., Chanthaphaychith, S., Becher, M. W., Abel, T. W., Thompson, R. C. and Cooper, M. K. 2007. Ligand-dependent activation of the hedgehog pathway in glioma progenitor cells. *Oncogene* **26**, 5752-5761.
21. Escors, D., Gato-Canas, M., Zuazo, M., Arasanz, H., Garcia-Granda, M. J., Vera, R. and Kochan, G. 2018. The intracellular signalosome of PD-L1 in cancer cells. *Signal Transduct. Target. Ther.* **3**, 26.
22. Eun, K., Ham, S. W. and Kim, H. 2017. Cancer stem cell heterogeneity: origin and new perspectives on CSC targeting. *BMB Rep.* **50**, 117-125.
23. Eyre, R., Harvey, I., Stemke-Hale, K., Lennard, T. W., Tyson-Capper, A. and Meeson, A. P. 2014. Reversing paclitaxel resistance in ovarian cancer cells via inhibition of the ABCB1 expressing side population. *Tumour Biol.* **35**, 9879-9892.
24. Frank, N. Y., Schatton, T., Kim, S., Zhan, Q., Wilson, B. J., Ma, J., Saab, K. R., Oshero, V., Widlund, H. R., Gasser, M., Waaga-Gasser, A. M., Kupper, T. S., Murphy, G. F. and Frank, M. H. 2011. VEGFR-1 expressed by malignant melanoma-initiating cells is required for tumor growth. *Cancer Res.* **71**, 1474-1485.
25. Friedmann-Morvinski, D. and Verma, I. M. 2014. Dedifferentiation and reprogramming: origins of cancer stem cells. *EMBO Rep.* **15**, 244-253.
26. Gurney, A., Axelrod, F., Bond, C. J., Cain, J., Chartier, C., Donigan, L., Fischer, M., Chaudhari, A., Ji, M., Kapoun, A. M., Lam, A., Lazetic, S., Ma, S., Mitra, S., Park, I. K., Pickell, K., Sato, A., Satyal, S., Stroud, M., Tran, H., Yen, W. C., Lewicki, J. and Hoey, T. 2012. Wnt pathway inhibition via the targeting of Frizzled receptors results in decreased growth and tumorigenicity of human tumors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **109**, 11717-11722.
27. Hasanabady, M. H. and Kalalinia, F. 2016. ABCG2 inhibition as a therapeutic approach for overcoming multidrug resistance in cancer. *J. Biosci.* **41**, 313-324.
28. Ho, M. M., Ng, A. V., Lam, S. and Hung, J. Y. 2007. Side population in human lung cancer cell lines and tumors is enriched with stem-like cancer cells. *Cancer Res.* **67**, 4827-4833.
29. Hsu, J. M., Xia, W., Hsu, Y. H., Chan, L. C., Yu, W. H., Cha, J. H., Chen, C. T., Liao, H. W., Kuo, C. W., Khoo, K. H., Hsu, J. L., Li, C. W., Lim, S. O., Chang, S. S., Chen, Y. C., Ren, G. X. and Hung, M. C. 2018. STT3-dependent PD-L1 accumulation on cancer stem cells promotes immune evasion. *Nat. Commun.* **9**, 1908.
30. Hudis, C. A. 2007. Trastuzumab--mechanism of action and use in clinical practice. *N. Engl. J. Med.* **357**, 39-51.
31. Iwama, S., De, Remigis, A., Callahan, M. K., Slovin, S. F., Wolchok, J. D. and Caturegli, P. 2014. Pituitary expression of CTLA-4 mediates hypophysitis secondary to administration of CTLA-4 blocking antibody. *Sci. Transl. Med.* **6**, 230-245.
32. Jeon, H. Y., Ham, S. W., Kim, J. K., Jin, X., Lee, S. Y., Shin, Y. J., Choi, C. Y., Sa, J. K., Kim, S. H., Chun, T., Jin, X., Nam, D. H. and Kim, H. 2019. Ly6G(+) inflammatory cells enable the conversion of cancer cells to cancer stem cells in an irradiated glioblastoma model. *Cell Death Differ.* doi: 10.1038/s41418-019-0282-0.
33. Jin, L., Hope, K. J., Zhai, Q., Smadja-Joffe, F. and Dick, J. E. 2006. Targeting of CD44 eradicates human acute myeloid leukemic stem cells. *Nat. Med.* **12**, 1167-1174.
34. Jin, X., Jeon, H. M., Jin, X., Kim, E. J., Yin, J., Jeon, H. Y., Sohn, Y. W., Oh, S. Y., Kim, J. K., Kim, S. H., Jung, J. E., Kwak, S., Tang, K. F., Xu, Y., Rich, J. N. and Kim, H. 2016. The ID1-CULLIN3 axis regulates intracellular SHH and WNT signaling in glioblastoma stem cells. *Cell Rep.* **16**, 1629-1641.
35. Kim, D. K., Seo, E. J., Choi, E. J., Lee, S. I., Kwon, Y. W., Jang, I. H., Kim, S. C., Kim, K. H., Suh, D. S., Seong-Jang, K., Lee, S. C. and Kim, J. H. 2016. Crucial role of HMGA1 in the self-renewal and drug resistance of ovarian cancer stem cells. *Exp. Mol. Med.* **48**, e255.
36. Krop, I., Demuth, T., Guthrie, T., Wen, P. Y., Mason, W. P., Chinnaiyan, P., Butowski, N., Groves, M. D., Kesari, S., Freedman, S. J., Blackman, S., Watters, J., Loboda, A., Podtelezchnikov, A., Lunceford, J., Chen, C., Giannotti, M., Hing, J., Beckman, R. and Lorusso, P. 2012. Phase I pharmacologic and pharmacodynamic study of the gamma secretase (Notch) inhibitor MK-0752 in adult patients with advanced solid tumors. *J. Clin. Oncol.* **30**, 2307-2313.
37. Lapidot, T., Sirard, C., Vormoor, J., Murdoch, B., Hoang,

- T., Caceres-Cortes, J., Minden, M., Paterson, B., Caligiuri, M. A. and Dick, J. E. 1994. A cell initiating human acute myeloid leukaemia after transplantation into SCID mice. *Nature* **367**, 645-648.
38. Leach, D. R., Krummel, M. F. and Allison, J. P. 1996. Enhancement of antitumor immunity by CTLA-4 blockade. *Science* **271**, 1734-1736.
39. Lee, J. H., Lee, J. E., Kahng, J. Y., Kim, S. H., Park, J. S., Yoon, S. J., Um, J. Y., Kim, W. K., Lee, J. K., Park, J., Kim, E. H., Lee, J. H., Lee, J. H., Chung, W. S., Ju, Y. S., Park, S. H., Chang, J. H., Kang, S. G. and Lee, J. H. 2018. Human glioblastoma arises from subventricular zone cells with low-level driver mutations. *Nature* **560**, 243-247.
40. Lee, Y., Shin, J. H., Longmire, M., Wang, H., Kohrt, H. E., Chang, H. Y. and Sunwoo, J. B. 2016. CD44+ cells in head and neck squamous cell carcinoma suppress T-cell-mediated immunity by selective constitutive and inducible expression of PD-L1. *Clin. Cancer Res.* **22**, 3571-3581.
41. Liu, S., Dontu, G., Mantle, I. D., Patel, S., Ahn, N. S., Jackson, K. W., Suri, P. and Wicha, M. S. 2006. Hedgehog signaling and Bmi-1 regulate self-renewal of normal and malignant human mammary stem cells. *Cancer Res.* **66**, 6063-6071.
42. Ma, S., Chan, K. W., Hu, L., Lee, T. K., Wo, J. Y., Ng, I. O., Zheng, B. J. and Guan, X. Y. 2007. Identification and characterization of tumorigenic liver cancer stem/progenitor cells. *Gastroenterology* **132**, 2542-2556.
43. Memmi, E. M., Sanarico, A. G., Giacobbe, A., Peschiaroli, A., Frezza, V., Cicalese, A., Pisati, F., Tosoni, D., Zhou, H., Tonon, G., Antonov, A., Melino, G., Pelicci, P. G. and Bernassola, F. 2015. p63 Sustains self-renewal of mammary cancer stem cells through regulation of Sonic Hedgehog signaling. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **112**, 3499-3504.
44. Miyazaki, Y., Matsubara, S., Ding, Q., Tsukasa, K., Yoshimitsu, M., Kosai, K. and Takao, S. 2016. Efficient elimination of pancreatic cancer stem cells by hedgehog/GLI inhibitor GANT61 in combination with mTOR inhibition. *Mol. Cancer* **15**, 49.
45. Nakano, M., Kikushige, Y., Miyawaki, K., Kunisaki, Y., Mizuno, S., Takenaka, K., Tamura, S., Okumura, Y., Ito, M., Ariyama, H., Kusaba, H., Nakamura, M., Maeda, T., Baba, E. and Akashi, K. 2019. Dedifferentiation process driven by TGF-beta signaling enhances stem cell properties in human colorectal cancer. *Oncogene* **38**, 780-793.
46. Nomi, T., Sho, M., Akahori, T., Hamada, K., Kubo, A., Kanehiro, H., Nakamura, S., Enomoto, K., Yagita, H., Azuma, M. and Nakajima, Y. 2007. Clinical significance and therapeutic potential of the programmed death-1 ligand/programmed death-1 pathway in human pancreatic cancer. *Clin. Cancer Res.* **13**, 2151-2157.
47. Ohigashi, Y., Sho, M., Yamada, Y., Tsurui, Y., Hamada, K., Ikeda, N., Mizuno, T., Yoriki, R., Kashizuka, H., Yane, K., Tsushima, F., Otsuki, N., Yagita, H., Azuma, M. and Nakajima, Y. 2005. Clinical significance of programmed death-1 ligand-1 and programmed death-1 ligand-2 expression in human esophageal cancer. *Clin. Cancer Res.* **11**, 2947-2953.
48. Patsoukis, N., Bardhan, K., Chatterjee, P., Sari, D., Liu, B., Bell, L. N., Karoly, E. D., Freeman, G. J., Petkova, V., Seth, P., Li, L. and Boussiotis, V. A. 2015. PD-1 alters T-cell metabolic reprogramming by inhibiting glycolysis and promoting lipolysis and fatty acid oxidation. *Nat. Commun.* **6**, 6692.
49. Peitzsch, C., Tyutyunnykova, A., Pantel, K. and Dubrovskaya, A. 2017. Cancer stem cells: The root of tumor recurrence and metastases. *Semin. Cancer Biol.* **44**, 10-24.
50. Prager, B. C., Xie, Q., Bao, S. and Rich, J. N. 2019. Cancer stem cells: The architects of the tumor ecosystem. *Cell Stem Cell.* **24**, 41-53.
51. Prasetyanti, P. R. and Medema, J. P. 2017. Intra-tumor heterogeneity from a cancer stem cell perspective. *Mol. Cancer* **16**, 41.
52. Prince, M. E., Sivanandan, R., Kaczorowski, A., Wolf, G. T., Kaplan, M. J., Dalerba, P., Weissman, I. L., Clarke, M. F. and Ailles, L. E. 2007. Identification of a subpopulation of cells with cancer stem cell properties in head and neck squamous cell carcinoma. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **104**, 973-978.
53. Reck, M., Rodriguez-Abreu, D., Robinson, A. G., Hui, R., Czoszi, T., Fulop, A., Gottfried, M., Peled, N., Tafreshi, A., Cuffe, S., O'Brien, M., Rao, S., Hotta, K., Leiby, M. A., Lubiniecki, G. M., Shentu, Y., Rangwala, R. and Brahmer, J. R. 2016. Pembrolizumab versus chemotherapy for PD-L1-positive non-small-cell lung cancer. *N. Engl. J. Med.* **375**, 1823-1833.
54. Regan, J. L., Schumacher, D., Staudte, S., Steffen, A., Haybaeck, J., Keilholz, U., Schweiger, C., Golob-Schwarzl, N., Mumberg, D., Henderson, D., Lehrach, H., Regenbrecht, C. R. A., Schafer, R. and Lange, M. 2017. Non-canonical hedgehog signaling is a positive regulator of the WNT pathway and is required for the survival of colon cancer stem cells. *Cell Rep.* **21**, 2813-2828.
55. Ricci-Vitiani, L., Lombardi, D. G., Pilozzi, E., Biffoni, M., Todaro, M., Peschle, C. and De Maria, R. 2007. Identification and expansion of human colon-cancer-initiating cells. *Nature* **445**, 111-115.
56. Robert, C., Long, G. V., Brady, B., Dutriaux, C., Maio, M., Mortier, L., Hassel, J. C., Rutkowski, P., McNeil, C., Kalinka-Warzocha, E., Savage, K. J., Hernberg, M. M., Lebbe, C., Charles, J., Mihalciou, C., Chiarion-Sileni, V., Mauch, C., Cognetti, F., Arance, A., Schmidt, H., Schadendorf, D., Gogas, H., Lundgren-Eriksson, L., Horak, C., Sharkey, B., Waxman, I. M., Atkinson, V. and Ascierto, P. A. 2015. Nivolumab in previously untreated melanoma without BRAF mutation. *N. Engl. J. Med.* **372**, 320-330.
57. Rozali, E. N., Hato, S. V., Robinson, B. W., Lake, R. A. and Lesterhuis, W. J. 2012. Programmed death ligand 2 in cancer-induced immune suppression. *Clin. Dev. Immunol.* **2012**, 656340.
58. Saltz, L., Easley, C. and Kirkpatrick, P. 2006. Panitumumab. *Nat. Rev. Drug Discov.* **5**, 987-988.
59. Saygin, C., Matei, D., Majeti, R., Reizes, O. and Lathia, J. D. 2019. Targeting cancer stemness in the clinic: from hype to hope. *Cell Stem Cell.* **24**, 25-40.
60. Schweitzer, A. N., Borriello, F., Wong, R. C., Abbas, A. K.

- and Sharpe, A. H. 1997. Role of costimulators in T cell differentiation: studies using antigen-presenting cells lacking expression of CD80 or CD86. *J. Immunol.* **158**, 2713-2722.
61. Selby, M. J., Engelhardt, J. J., Quigley, M., Henning, K. A., Chen, T., Srinivasan, M. and Korman, A. J. 2013. Anti-CTLA-4 antibodies of IgG2a isotype enhance antitumor activity through reduction of intratumoral regulatory T cells. *Cancer Immunol. Res.* **1**, 32-42.
62. Sharpe, A. H. and Pauken, K. E. 2018. The diverse functions of the PD1 inhibitory pathway. *Nat. Rev. Immunol.* **18**, 153-167.
63. Singh, S. K., Clarke, I. D., Terasaki, M., Bonn, V. E., Hawkins, C., Squire, J. and Dirks, P. B. 2003. Identification of a cancer stem cell in human brain tumors. *Cancer Res.* **63**, 5821-5828.
64. Su, S., Chen, J., Yao, H., Liu, J., Yu, S., Lao, L., Wang, M., Luo, M., Xing, Y., Chen, F., Huang, D., Zhao, J., Yang, L., Liao, D., Su, F., Li, M., Liu, Q. and Song, E. 2018. CD10 (+)GPR77(+) cancer-associated fibroblasts promote cancer formation and chemoresistance by sustaining cancer stemness. *Cell* **172**, 841-856.e816.
65. Tatar-Calderone, Z., Semnani, R. T., Nutman, T. B., Schlom, J. and Sabzevari, H. 2002. Acquisition of CD80 by human T cells at early stages of activation: functional involvement of CD80 acquisition in T cell to T cell interaction. *J. Immunol.* **169**, 6162-6169.
66. Wang, P., Wan, W. W., Xiong, S. L., Feng, H. and Wu, N. 2017. Cancer stem-like cells can be induced through dedifferentiation under hypoxic conditions in glioma, hepatoma and lung cancer. *Cell Death Discov.* **3**, 16105.
67. Wang, Y., Fei, D., Vanderlaan, M. and Song, A. 2004. Biological activity of bevacizumab, a humanized anti-VEGF antibody *in vitro*. *Angiogenesis* **7**, 335-345.
68. Wolchok, J. D. and Saenger, Y. 2008. The mechanism of anti-CTLA-4 activity and the negative regulation of T-cell activation. *Oncologist* **13**, Suppl 4:2-9.
69. Yue, Z., Yuan, Z., Zeng, L., Wang, Y., Lai, L., Li, J., Sun, P., Xue, X., Qi, J., Yang, Z., Zheng, Y., Fang, Y., Li, D., Siwko, S., Li, Y., Luo, J. and Liu, M. 2018. LGR4 modulates breast cancer initiation, metastasis, and cancer stem cells. *FASEB J.* **32**, 2422-2437.
70. Zhang, S., Cui, B., Lai, H., Liu, G., Ghia, E. M., Widhopf, G. F. 2nd., Zhang, Z., Wu, C. C., Chen, L., Wu, R., Schwab, R., Carson, D. A. and Kipps, T. J. 2014. Ovarian cancer stem cells express ROR1, which can be targeted for anti-cancer-stem-cell therapy. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **111**, 17266-17271.
71. Zheng, F., Dang, J., Zha, H., Zhang, B., Lin, M. and Cheng, F. 2017. PD-L1 promotes self-renewal and tumorigenicity of malignant melanoma initiating cells. *Biomed Res. Int.* **2017**, 1293201.
72. Zhou, J., Wang, C. Y., Liu, T., Wu, B., Zhou, F., Xiong, J. X., Wu, H. S., Tao, J., Zhao, G., Yang, M. and Gou, S. M. 2008. Persistence of side population cells with high drug efflux capacity in pancreatic cancer. *World J. Gastroenterol.* **14**, 925-930.
73. Zhu, Y., Guignard, F., Zhao, D., Liu, L., Burns, D. K., Mason, R. P., Messing, A. and Parada, L. F. 2005. Early inactivation of p53 tumor suppressor gene cooperating with NF1 loss induces malignant astrocytoma. *Cancer Cell* **8**, 119-130.

초록 : 암줄기세포의 특성 및 면역관문억제

최상훈 · 김형기*

(고려대학교 생명과학대학 생명공학과)

암줄기세포는 전이와 재발의 주요한 요인이 되는 자가재생능력, 분화할 수 있는 능력, 치료에 대한 저항성 및 암 형성 능력의 특성을 가진다. WNT/ β -catenin, Hedgehog, Notch, BMI1, BMP 및 TGF- β 와 같은 암줄기세포의 특성을 획득 및 유지할 수 있는 신호전달의 연구 결과가 존재하지만, 현재까지 선택적으로 암줄기세포를 표적할 수 있는 치료 전략은 미미하다. 최근, 면역관문억제제인 CTLA-4, PD-1/PD-L1 단일클론항체는 흑색종, 폐암, 췌장암 및 혈액암에 광범위한 임상 시험 결과를 나타냈으며, 긴 항암지속효과와 적은 부작용은 기존 항암제보다 개선된 모습을 보였다. 또한 두경부편평상피암, 흑색종, 유방암 줄기세포를 선택적으로 제거 하였다. 위의 결과를 종합하면, 면역관문억제제는 이전 항암제에 비해 효과적인 항암전략이며, 동시에 암줄기세포를 선택적으로 제거할 수 있는 가능성을 시사한다. 따라서 본 리뷰에서는 암줄기세포와 면역관문억제제의 이해를 통해, 면역관문억제제의 암줄기세포 표적 가능성에 대해 고찰하고자 한다.