

Recent Research Trends in Thioredoxin Reductase-targeted Anticancer Therapy

Hyun Hwangbo¹, Hyesook Lee², JaeHun Cheong^{1,3} and Yung Hyun Choi^{2,4*}

¹Korea Nanobiotechnology Center, Pusan National University, Busan 46241, Korea

²Anti-Aging Research Center, Dong-eui University, Busan 47340, Korea

³Department of Molecular Biology, Pusan National University, Busan 46241, Korea

⁴Department of Biochemistry, Dong-eui University College of Korean Medicine, Busan 47227, Korea

Received November 15, 2021 / Revised December 1, 2021 / Accepted December 1, 2021

The thioredoxin reductase (TrxR) system is essential for cell survival and function by playing a pivotal role in maintaining homeostasis of cellular redox and regulating signal transduction pathways. The TrxR system comprises thioredoxin (Trx), TrxR, and nicotinamide adenine dinucleotide phosphate. Trx reduced by the catalytic reaction of the TrxR enzyme reduces downstream proteins, resulting in protection against oxidative stress and regulation of cell differentiation, growth, and death. Cancer cells survive by improving their intracellular antioxidant capacity to eliminate excessively generated reactive oxygen species (ROS) due to infinite cell proliferation and a high metabolic rate. Therefore, cancer cells have high dependence and sensitivity to antioxidant systems, suggesting that focusing on TrxR, a representative antioxidant system, is a potential strategy for cancer therapy. Several studies have revealed that TrxR is expressed at high levels in various types of cancers, and research on anticancer activity targeting the TrxR system is increasing. In this review, we discuss the feasibility and value of the TrxR system as a strategy for anticancer activity research by examining the relationship between the function of the intracellular TrxR system and the development and progression of cancer, considering the anticancer activity and mechanism of TrxR inhibitors.

Key words : Cancer therapy, reactive oxygen species, thioredoxin, thioredoxin reductase

서 론

세포 내에서 산화 환원 반응의 항상성 유지는 세포의 기능과 생존에 중요한 역할을 하며 세포 신호 전달 과정의 활성화에 있어 핵심적인 역할을 한다[43, 63]. 많은 연구에 따르면 미토콘드리아 호흡은 세포 내 산화 환원 상태에 영향을 미치는 활성산소종(reactive oxygen species, ROS) 발생의 주요 원천이다[4, 34, 52]. 최근 연구에 의하면, 낮은 수준의 ROS는 산화 환원 반응 수준을 변화시켜 세포를 자극할 수 있는 신호 분자로 간주되고 있으며, 더욱이 세포에서 분비하는 호르몬, 성장인자, 신경전달 물질 및 사이토카인(cytokine)은 하류 신호 전달계 자극이 발생할 수 있도록 과산화수소(H₂O₂)의 일시적인 증가를 유도할 수 있다[5, 41, 55, 64]. 그러나 높은 수준의 ROS 축적에 따른 산화적 스트레스는 암의 발생에서 나타나는 공통적인 특징이며, 다양한 질병의 발병기전과 밀접하게 연관

되어 있다고 보고되고 있다[28, 31, 57].

Thioredoxin reductase (TrxR) 시스템은 세포 내 산화 환원 상태를 유지하는 주요 항산화 시스템으로 ROS를 소거하고 자유 라디칼(free radical)의 손상으로부터 세포를 보호하는 데 필수적이다[10, 19, 30]. TrxR 시스템은 thioredoxin (Trx), TrxR 및 nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH)를 포함하며, 세포 내에서 생화학적 반응 촉매를 통해 광범위한 생물학적 기능에 관여한다[1, 21, 32]. 이러한 TrxR 시스템은 암의 발생과 발달에 이중적인 역할을 할 수 있다. 정상 세포에서 Trx 시스템은 세포 내 산화 환원의 평형을 유지하고 발암 물질로 인한 손상으로부터 세포를 보호한다[28, 43]. 그러나 암세포에서 높은 수준의 TrxR 시스템은 상향 조절된 항산화능과 증가된 DNA 합성 속도로 세포의 성장을 가속화하고 세포 사멸(apoptosis)에 대한 저항을 증가시킴으로써 암세포의 표현형을 유지하는데 도움을 준다[1, 17, 20]. 또한 정상세포에 비해 암세포가 산화적 스트레스에 대한 방어 수단인 TrxR 시스템에 더욱 의존적이다[12, 64, 67]. 게다가 최근 TrxR은 유방암, 자궁경부암, 폐암, 간암 및 위암과 같은 많은 악성 종양 조직 및 세포에서 과발현되는 것으로 밝혀졌다[3, 21, 33, 37, 43, 46]. 따라서 암의 발달과 진행에 관여하는 TrxR 시스템을 대상으로 한 접근 방법은 암 치료 연구에서 유용한 전략으로 대두되고 있다. 본 총설에서는 TrxR 시스템의 기능과 암의 발

*Corresponding author

Tel : +82-51-890-3319, Fax : +82-51-893-3333

E-mail : choiyh@deu.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.

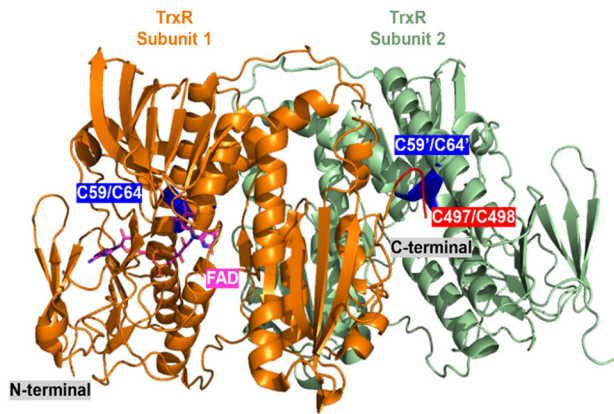


Fig. 1. 3D structures of thioredoxin reductase (TrxR). The cartoon view of the head-to-tail homodimer of human TrxR1 (PDB: 2ZZ0). Single subunits were shown in orange and green. The NADPH binding sites (C59/C64) were highlighted in blue and a redox active site (C497/C498) located in C-terminal arm for electron transport to Trx was shown in red. The TrxR structure was downloaded from the PDB (<http://www.rcsb.org>) and modified using PyMOL (<http://pymol.org>).

생 및 진행에서의 역할을 조사함으로써, TrxR 시스템을 표적으로 한 항암 활성 연구에 대한 통찰력을 제시하고자 한다.

본 론

TrxR 시스템

TrxR 효소는 NADPH 및 Trx으로 구성된 Trx 시스템의 필수 구성 요소이며 항산화, 세포 운명 조절, 셀레늄(selenium) 및 산화 질소 대사 조절을 비롯한 세포 내 환경을 유지하기 위한 산화 환원 신호 전달 경로를 조절하는 데 중추적인 역할을 한다[19, 21, 30]. 또한 셀레노시스테인(selenocysteine)을 함유한 TrxR 효소는 2개의 동일한 폴립еп타이드로 만들어진 동종이량체 단백질이며 NADPH 결합부위(Cys59/Cys64) 및 티올/이황화물(thiol/disulfide) 모티프를 포함한 산화 환원 활성

부위(Cys497/SeCys498)를 갖는 플라보효소(flavoenzyme)이다(Fig. 1) [21, 40, 68]. Trx/TrxR 시스템의 촉매 과정은 Fig. 2에 나타내었듯이, 산화된 Trx는 TrxR에 의해 촉매되는 반응에서의 NADPH로부터 받은 전자에 의해 환원된다[9, 68]. 이러한 티올/이황화물 반응에 의해 환원된 Trx는 광범위한 하위 표적 단백질과 상호작용할 수 있으며, peroxiredoxin을 환원 시킴에 따라 ROS를 소거할 수 있다[19, 67]. 따라서 TrxR 시스템은 세포 내 다양한 신호전달 경로에 관여하고 산화적 스트레스에 대한 방어기전으로 작용한다[10, 37, 60].

다양한 연구에서 세포의 성장, 손상된 DNA 수선, 산화 환원의 항상성 등 세포의 생존에 필요한 여러 과정에서 TrxR 시스템이 중요하게 관여한다는 것을 제시하였다[17, 20]. 특히 Trx 돌연변이가 마우스의 배아의 높은 치사율로 보아 TrxR 시스템 구성원의 존재가 정상적인 세포의 기능에 필수적임을 시사한다[26, 38]. TrxR은 전체적인 구조는 유사하고 단백질의 발현 수준과 위치가 다른 세 가지 형태가 존재한다. TrxR1은 세포질에서 주로 발견되며, TrxR2는 미토콘드리아에 존재하면서 미토콘드리아 ROS의 항상성을 제어하고, 또 고환 조직에 특이적인 TrxR3는 Trx 뿐만 아니라 글루타티온(glutathione) 이황화물을 환원시킬 수 있어 티오레독신 글루타티온 환원효소(thioredoxin glutathione reductase)라고도 한다[12, 32, 42, 58]. 이러한 TrxR 단백질에서 N-말단의 촉매부위인 -Cys-Val-Asn-Val-Gly-Cys-는 flavin adenine dinucleotide 결합 도메인에 위치하며, 이 서열은 글루타티온 환원효소(glutathione reductase, GR)에서도 발견된다[40, 68]. TrxR과 GR의 가장 큰 차이점은 TrxR의 C-말단(-Gly-Cys-SeCys-Gly-)에 SeCys 잔기를 가지는 것이다[9, 16, 62]. 이 SeCys는 인접해 있는 Cys와 함께 티올/이황화물 교환 반응을 통해 또 다른 산화 환원 활성 부위를 형성할 수 있으므로 산화 환원 반응에 필요한 촉매 부위로서, TrxR의 기능에 필수적이다[7, 58]. 그러므로 Trx 및 TrxR을 포함하는 Trx/TrxR 시스템은 산화 환원 반응 항상성 및 항산화력을 포함한 광범위한 생물학적 과정에 참여할 수 있으므로, 암, 기생충 감염, 염증성 질환 및 알츠하이머와 파킨슨병과 같은 신경퇴행성 질환 등의 다양한 생리적 및 병

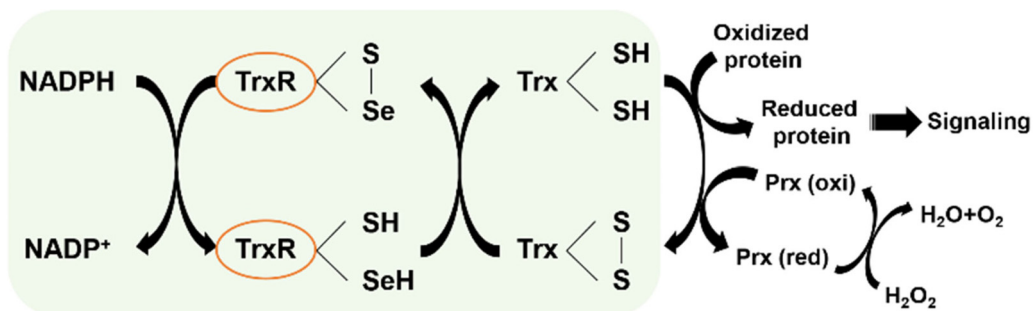


Fig. 2. Catalytic cycles and functions of the thioredoxin system. TrxR catalyzes the transfer of electrons from NADPH to the active site disulfide and then to the oxidized Trx to convert to the reduced Trx form. Trx reduced by TrxR interacts with a wide range of target proteins and scavenges reactive oxygen species (ROS) by reducing peroxiredoxin. Oxi, oxidized; Red, reduced.

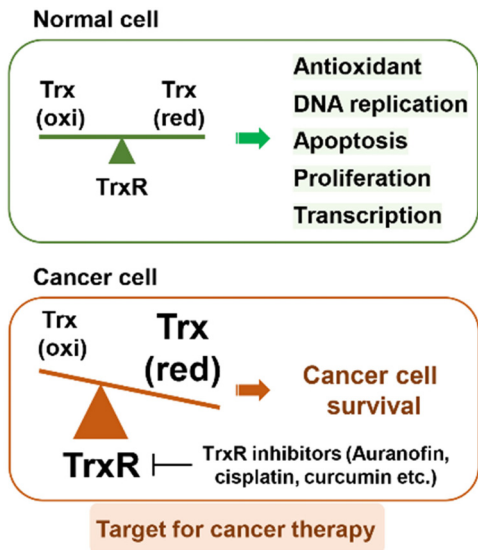


Fig. 3. Schematic diagram of TrxR system targeting for cancer therapy. Role of TrxR in normal cell were expressed. In cancer cells, enhancement of TrxR function contributes to cell survival as the redox balance is altered, making it a target for cancer therapy.

리학적 상태에서 중요한 역할을 한다[15, 21, 37, 67].

TrxR 시스템과 암

건강한 세포에서는 ROS의 생성과 항산화 시스템에 의한 제거 사이의 균형을 유지하기 위해 산화 환원 반응의 항상성을 유지한다[19, 30, 43]. 적당한 수준의 ROS는 유전자 발현, 세포 증식 및 신호 전달을 포함한 많은 세포 과정의 조절에서 특정한 역할을 한다[63]. 암세포는 제어되지 않는 증식과 높은 대사율의 결과로 정상세포에 비해 ROS의 수준이 상승되어 있다[52, 64]. 과도한 ROS의 수준은 지질, 단백질 및 핵산과 같은 주요 세포 구성 요소에 손상을 일으키고 궁극적으로 세포사멸을 초래할 수 있다[8, 61]. 이에 대응하기 위해 암세포는 항산화 시스템을 상향 조절하여 항산화 능력을 향상시키고 ROS 수준을 상쇄하여, 결과적으로 산화적 스트레스에 의한 손상을 피하여 생존할 수 있다[1, 52, 64]. 그러므로 암세포에서 항산화 시스템을 조금이라도 손상시킨다면, 이는 ROS 수준을 더욱 증가시켜 산화적 스트레스를 유발하여 세포사멸을 촉진할 수 있다. 따라서 TrxR 시스템과 같은 항산화 시스템을 표적으로 하여, 산화 환원 반응 및 ROS 수준 조절을 통해 정상 세포에는 심각한 독성을 일으키지 않으면서 암세포를 선택적으로 죽음에 이르게 하는 것은 설득력 있는 암세포 치료 접근 방법 중 하나이다.

세포에서 산화 환원 반응의 항상성을 조절하는 중요한 역할을 하는 TrxR 효소의 발현은 대장암, 유방암, 위암, 췌장암 및 폐암과 같은 다양한 유형의 암에서 증가되어 있다고 보고되고 있다[21, 33, 46, 48]. TrxR은 항산화능 뿐만 아니라 성장 조절

과 세포사멸을 억제함으로써 암세포의 성장과 상관관계가 있는 것으로 나타났다. 그러므로 TrxR 시스템의 과발현은 종양의 진행과 관련된 단순한 현상만이 아니라 세포사멸을 회피하고 암세포의 성장을 촉진시키는데 기여한다는 것을 시사한다 [1, 28, 56]. 초기 단계에서 TrxR 시스템의 직접적인 항산화 활성은 생체이물(xenobiotic)이나 발암 물질로 인한 산화적 스트레스 방어를 통해 정상세포에서 악성 종양 세포로 넘어가는 단계를 예방할 수 있다. 그러나 정상세포가 악성 종양 세포의 표현형을 가지면 TrxR 시스템 구성요소의 발현 수준이 높아짐에 따라 세포의 성장 촉진, 세포사멸에 대한 저항성 및 혈관 신생(angiogenesis) 증가로 인해 종양 발달 및 전이에 도움을 줄 수 있다[29, 56, 66]. 형질전환으로 세포의 Trx 발현을 증가시키면 저산소증 반응 유전자의 단백질 산물이자 혈관 신생의 중요한 인자로 알려진 혈관 내피세포 성장인자(vascular endothelial growth factor)의 과발현을 유발하는 것으로 나타났다[65]. 또한 TrxR1의 녹다운(knockdown)은 미토콘드리아 기능 장애 및 DNA 손상을 유도하여 selenazolidine을 처리한 인간 폐암 세포의 독성을 더욱 향상시킬 수 있으며[45], TrxR2의 억제제는 비소세포폐암(non-small cell lung cancer) 세포의 증식을 억제, 세포사멸 유도과 세포의 침윤(invasion) 및 전이(metastasis)를 억제하였다[6]. 더욱이 TrxR1이 낮은 수준으로 발현되는 세포에 비해 높은 수준으로 발현되는 세포에서 cisplatin의 세포독성이 더욱 증가하는 것은 암세포의 TrxR1 발현 수준이 약물에 대한 세포의 민감도와 관련이 있다는 것을 뒷받침한다[13]. 따라서, 앞서 언급한 암 및 TrxR 시스템의 특징과 그들의 상관관계는 TrxR 시스템을 표적으로 한 효과적인 항암제 개발을 위한 유망한 전략으로서 가능성이 있음을 시사한다.

TrxR 선택적 억제제

TrxR은 다양한 유형의 암에서 과발현되어 있으며, 상향 조절된 TrxR은 세포 내 ROS, 무분별한 세포 증식 및 세포사멸에 대한 저항성과 같이 암세포의 생존에 필수적인 조건을 충족시켜줄 수 있다[20, 21, 33]. 따라서 TrxR 시스템을 표적으로 하는 치료에 대한 관심이 증가하고 있으며, TrxR의 천연물 및 합성 화합물 유래의 수많은 억제제가 보고되고 있다.

천연물 유래 억제제

천연물 유래의 TrxR 대표적 억제제인 curcumin은 강황(薑黃, turmeric) 뿌리에 주로 함유되어 있는 폴리페놀(polyphenol)이며, 여러 연구 결과에서 잠재적인 항암제로서 가능성을 확인하였다[2, 50]. Curcumin과 TrxR의 C-말단 산화환원 활성 부위인 Cys497/SeCys498과의 상호작용을 통해 비가역적으로 TrxR의 활성을 억제하여 세포 내 ROS 생성 및 DNA 손상을 유도하여 궁극적으로 세포사멸을 촉진한다[7]. Fang 등[14]의 연구에 따르면 자궁경부암 세포주인 HeLa 세포에서 cur-

cumin의 농도 의존적으로 TrxR의 활성이 억제되었다. 또한 유방암의 2D 및 3D 배양 시스템에서 curcumin 단독 또는 화학 요법 및 방사선 요법 조건에서 curcumin은 Trx 및 TrxR 발현 수준을 감소시키면서 세포 증식 감소 및 세포사멸을 유도하였고, 이는 유방암의 잠재적인 항암제, 그리고 화학요법 및 방사선 요법의 민감도를 증가시킴으로써 치료제의 용량을 줄이는 데에 사용할 수 있는 용량 조절제로서 역할을 할 수 있다고 밝혔다[11]. 미토콘드리아에 선택적으로 침투한다고 알려진 curcumin 유도체인 mitocurcumin은 폐암세포에서 미토콘드리아 ROS를 증가시키고 미토콘드리아 DNA의 가닥 절단을 유도하여 Bcl-2와 같은 세포사멸 억제인자에 대한 Bax와 같은 세포사멸 촉진인자의 발현 비율 증가, 미토콘드리아에서 세포질 내로 cytochrome c 방출, 미토콘드리아 막 전위 (mitochondrial membrane potential) 손실 및 caspase-3 활성화 증가를 통해 세포사멸을 유도하는데, 이때 mitocurcumin이 TrxR2 활성 조절을 매개하는 것으로 나타났다[27]. 게다가 quercetin 및 myricetin과 같은 플라보노이드(flavonoid) 화합물도 폐암세포에서 TrxR의 C-말단 활성 부위를 표적으로 그 활성을 억제시키고 ROS의 생성을 증가시켰으며, 세포주기를 정지시킴으로써 항암 활성을 나타내는 것으로 보고되었다[35].

합성 화합물 유래 억제제

천연물 유래 TrxR 억제제 외에도 다양한 합성 화합물들이 TrxR 효소의 생물학적 기능을 억제하여 TrxR 시스템을 조절할 수 있다. 그 중에서도 특히 금 및 백금 화합물인 금속화합물 TrxR 억제제를 이용한 항암제 개발에 대한 연구가 증가하고 있다. 대표적인 금 함유 TrxR 억제제인 auranofin (S-triethylphosphine gold(I)-2,3,4,6-tetra-O-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranoside)은 류마티스 관절염 치료에 임상적으로 사용되었으며, 여러 유형의 암에서 항암활성을 나타낸다는 것이 보고가 증가하고 있다[39, 51]. Auranofin은 thiol 및 selenol 그룹과의 높은 친화력으로 인해 TrxR의 효소활성을 위한 필수적인 SeCys 잔기와의 상호작용을 통해 TrxR의 활성을 억제시킨다고 여겨진다[49, 53]. Passetto 등[44]은 auranofin이 위장관 간질성 종양(gastrointestinal stromal tumor) 세포의 TrxR 활성을 억제시키고 ROS 생성을 현저하게 증가시킨다는 것을 보고하였다. 게다가 이들은 caspase-3/7의 활성 증가와 phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/Akt 및 extracellular signal-regulated kinase 신호전달 경로를 억제해 통해 세포사멸을 유도한다고 밝혔다. 더불어 간암세포주인 Hep3B 세포에서 auranofin의 농도 의존적으로 TrxR 활성이 감소하였으며, 그에 따라 ROS 수준이 축적되어 세포사멸을 촉진함으로써 간암에서 auranofin의 항암 활성이 제시되었다[25]. 이렇듯 auranofin의 항암 활성이 제시되는 가운데, 두 개 이상의 약물의 효과가 독립적인 각각의 효과를 더한 것보다 더 높은 효과를

나타내는 상승효과, 즉 시너지효과를 발휘하기 위해 auranofin을 적용한 사례도 증가하고 있으며, 이는 치료 선택의 폭을 넓히는데 의미가 있다. Habermann 등[18]의 연구에 따르면 glutathione 고갈제가 auranofin과 상승효과를 나타내어 횡문근육종(rhabdomyosarcoma cells)의 세포사멸을 유도하였다. 더욱이 auranofin은 천연물 유래 phytochemical인 sulforaphane과 함께 간암세포에서 TrxR 활성 감소 및 미토콘드리아 기능장애에 따른 ROS 축적과 PI3K/Akt 신호전달 경로 억제를 매개한 세포사멸 유도에서 상승효과가 나타난다는 것이 보고되었다[24]. Auranofin은 항암 활성 뿐만 아니라 항염증, 항균 및 항바이러스 특성도 보고되고 있으며[22, 36, 59], 만성 염증 질환인 비알콜성 지방간(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)의 *in vivo* 및 *in vitro* 모델에서 auranofin은 NLR family pyrin domain containing 3 inflammasome 억제를 통한 NAFLD 증상 개선 또한 밝혀졌다[23]. 이는 auranofin이 가지는 다양한 생리활성 특징으로 암 치료뿐만 아니라 다른 질환의 잠재적인 치료제로서의 가능성을 시사한다. 한편, 백금을 함유한 TrxR 억제제인 cisplatin [cis-diamminedichloridoplatinum (II)]은 DNA와 상호작용하여 세포 증식을 지연시키고 DNA 손상시킴으로써 광범위한 항암 활성을 나타낸다[54, 69]. Cisplatin의 TrxR 억제 기전은 auranofin과 마찬가지로 TrxR 효소에서 반응성이 높고 접근하기 쉬운 C-말단의 SeCys 잔기를 표적으로 하여 TrxR의 활성을 비가역적으로 억제한다[47]. Eriksson 등[13]에 따르면 TrxR1의 발현이 높은 암세포에서는 cisplatin에 대한 민감도가 높아져 세포독성이 증가하여, TrxR 표적 항암 화학요법의 기초 자료임을 제안하였다.

결론

TrxR 시스템은 항산화, 세포 증식, 세포사멸과 같은 세포 기능에 관련된 신호전달 네트워크에서 중요한 역할을 하고 있다. TrxR 활성화의 메커니즘은 동종이량체의 TrxR에서 단량체의 N-말단과 NADPH가 상호작용을 통해 다른 단량체의 C-말단이 전자를 얻고, 이는 티올/이황화물 교환에 의해 Trx를 환원시킨다. 이러한 TrxR 시스템의 산화 환원 반응을 통해 세포의 생존과 관련된 핵심적인 역할을 한다. 한편, 암세포에서는 높은 수준의 ROS에 대응하기 위해 항산화 시스템의 기능이 향상되어 있으며, 특히 다양한 유형의 암에서 TrxR의 발현이 증가되어 있어 정상 세포에 비해 암세포에서 TrxR의 기능 억제에 더욱 민감하다. 따라서 TrxR 시스템은 암에 대한 잠재적 표적임을 시사함과 동시에 TrxR 시스템이 정상적인 세포와 암세포 모두에게 필수적이기 때문에 정상 세포에 미치는 영향을 최소화하고 암세포에 대한 증식 억제 효과를 최대화하기 위한 추가 연구가 요구된다.

감사의 글

이 논문은 2021학년도 부산대학교 박사후연수과정 지원사업에 의하여 연구되었다.

The Conflict of Interest Statement

The authors declare that they have no conflicts of interest with the contents of this article.

References

1. Arnér, E. S. and Holmgren, A. 2006. The thioredoxin system in cancer. *Semin. Cancer Biol.* **16**, 420-426.
2. Baker, M. 2017. Deceptive curcumin offers cautionary tale for chemists. *Nature* **541**, 144-145.
3. Bhatia, M., McGrath, K. L., Di Trapani, G., Charoentong, P., Shah, F., King, M. M., Clarke, F. M. and Tonissen, K. F. 2016. The thioredoxin system in breast cancer cell invasion and migration. *Redox Biol.* **8**, 68-78.
4. Bindoli, A. and Rigobello, M. P. 2013. Principles in redox signaling: from chemistry to functional significance. *Antioxid. Redox Signal.* **18**, 1557-1593.
5. Boonstra, J. and Post, J. A. 2004. Molecular events associated with reactive oxygen species and cell cycle progression in mammalian cells. *Gene* **337**, 1-13.
6. Bu, L., Li, W., Ming, Z., Shi, J., Fang, P. and Yang, S. 2017. Inhibition of TrxR2 suppressed NSCLC cell proliferation, metabolism and induced cell apoptosis through decreasing antioxidant activity. *Life Sci.* **178**, 35-41.
7. Cai, W., Zhang, B., Duan, D., Wu, J. and Fang, J. 2012. Curcumin targeting the thioredoxin system elevates oxidative stress in HeLa cells. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **262**, 341-348.
8. Cairns, R. A., Harris, I. S. and Mak, T. W. 2011. Regulation of cancer cell metabolism. *Nat. Rev. Cancer* **11**, 85-95.
9. Cheng, Q., Sandalova, T., Lindqvist, Y. and Arnér, E. S. 2009. Crystal structure and catalysis of the selenoprotein thioredoxin reductase 1. *J. Biol. Chem.* **284**, 3998-4008.
10. Das, K. C. and Das, C. K. 2000. Thioredoxin, a singlet oxygen quencher and hydroxyl radical scavenger: redox independent functions. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **277**, 443-447.
11. El Feky, S. E., Ghany Megahed, M. A., Abd El Moneim, N. A., Zaher, E. R., Khamis, S. A. and Ali, L. 2021. Cytotoxic, chemosensitizing and radiosensitizing effects of curcumin based on thioredoxin system inhibition in breast cancer cells: 2D vs. 3D cell culture system. *Exp. Ther. Med.* **21**, 506.
12. Engman, L., Al-Maharik, N., McNaughton, M., Birmingham, A. and Powis, G. 2003. Thioredoxin reductase and cancer cell growth inhibition by organotellurium antioxidants. *Anticancer Drugs* **14**, 153-161.
13. Eriksson, S. E., Prast-Nielsen, S., Flaberg, E., Szekely, L. and Arnér, E. S. 2009. High levels of thioredoxin reductase 1 modulate drug-specific cytotoxic efficacy. *Free Radic. Biol. Med.* **47**, 1661-1671.
14. Fang, J., Lu, J. and Holmgren, A. 2005. Thioredoxin reductase is irreversibly modified by curcumin: a novel molecular mechanism for its anticancer activity. *J. Biol. Chem.* **280**, 25284-25290.
15. Fritz-Wolf, K., Jortzik, E., Stumpf, M., Preuss, J., Iozef, R., Rahlfs, S. and Becker, K. 2013. Crystal structure of the *Plasmodium falciparum* thioredoxin reductase-thioredoxin complex. *J. Mol. Biol.* **425**, 3446-3460.
16. Gladyshev, V. N., Jeang, K. T. and Stadtman, T. C. 1996. Selenocysteine, identified as the penultimate C-terminal residue in human T-cell thioredoxin reductase, corresponds to TGA in the human placental gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **93**, 6146-6151.
17. Gromer, S., Urig, S. and Becker, K. 2004. The thioredoxin system-from science to clinic. *Med. Res. Rev.* **24**, 40-89.
18. Habermann, K. J., Grünewald, L., van Wijk, S. and Fulda, S. 2017. Targeting redox homeostasis in rhabdomyosarcoma cells: GSH-depleting agents enhance auranofin-induced cell death. *Cell Death Dis.* **8**, e3067.
19. Hanschmann, E. M., Godoy, J. R., Berndt, C., Hudemann, C. and Lillig, C. H. 2013. Thioredoxins, glutaredoxins, and peroxiredoxins-molecular mechanisms and health significance: from cofactors to antioxidants to redox signaling. *Antioxid. Redox Signal.* **19**, 1539-1605.
20. Holmgren, A. 1985. Thioredoxin. *Annu. Rev. Biochem.* **54**, 237-271.
21. Holmgren, A. and Lu, J. 2010. Thioredoxin and thioredoxin reductase: current research with special reference to human disease. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **396**, 120-124.
22. Hwangbo, H., Ji, S. Y., Kim, M. Y., Kim, S. Y., Lee, H., Kim, G. Y., Kim, S., Cheong, J. and Choi, Y. H. 2021. Anti-inflammatory effect of auranofin on palmitic acid and LPS-induced inflammatory response by modulating TLR4 and NOX4-mediated NF- κ B signaling pathway in RAW264.7 macrophages. *Int. J. Mol. Sci.* **22**, 5920.
23. Hwangbo, H., Kim, M. Y., Ji, S. Y., Kim, S. Y., Lee, H., Kim, G. Y., Park, C., Keum, Y. S., Hong, S. H., Cheong, J. and Choi, Y. H. 2020. Auranofin attenuates non-alcoholic fatty liver disease by suppressing lipid accumulation and NLRP3 inflammasome-mediated hepatic inflammation *in vivo* and *in vitro*. *Antioxidants (Basel)* **9**, 1040.
24. Hwangbo, H., Kim, S. Y., Lee, H., Park, S. H., Hong, S. H., Park, C., Kim, G. Y., Leem, S. H., Hyun, J. W., Cheong, J. and Choi, Y. H. 2020. Auranofin enhances sulforaphane-mediated apoptosis in hepatocellular carcinoma Hep3B cells through inactivation of the PI3K/Akt signaling pathway. *Biomol. Ther. (Seoul)* **28**, 443-455.
25. Hwang-Bo, H., Jeong, J. W., Han, M. H., Park, C., Hong, S. H., Kim, G. Y., Moon, S. K., Cheong, J., Kim, W. J., Yoo, Y. H. and Choi, Y. H. 2017. Auranofin, an inhibitor of thioredoxin reductase, induces apoptosis in hepatocellular carcinoma Hep3B cells by generation of reactive oxygen species. *Gen. Physiol. Biophys.* **36**, 117-128.
26. Jakupoglu, C., Przemeczek, G. K., Schneider, M., Moreno, S.

- G., Mayr, N., Hatzopoulos, A. K., de Angelis, M. H., Wurst, W., Bornkamm, G. W., Brielmeier, M. and Conrad, M. 2005. Cytoplasmic thioredoxin reductase is essential for embryogenesis but dispensable for cardiac development. *Mol. Cell Biol.* **25**, 1980-1988.
27. Jayakumar, S., Patwardhan, R. S., Pal, D., Singh, B., Sharma, D., Kutala, V. K. and Sandur, S. K. 2017. Mitochondrial targeted curcumin exhibits anticancer effects through disruption of mitochondrial redox and modulation of TrxR2 activity. *Free Radic. Biol. Med.* **113**, 530-538.
28. Karlenius, T. C. and Tonissen, K. F. 2010. Thioredoxin and cancer: A role for thioredoxin in all states of tumor oxygenation. *Cancers (Basel)* **2**, 209-232.
29. Kim, S. J., Miyoshi, Y., Taguchi, T., Tamaki, Y., Nakamura, H., Yodoi, J., Kato, K. and Noguchi, S. 2005. High thioredoxin expression is associated with resistance to docetaxel in primary breast cancer. *Clin. Cancer Res.* **11**, 8425-8430.
30. Lee, S., Kim, S. M. and Lee, R. T. 2012. Thioredoxin and thioredoxin target proteins: from molecular mechanisms to functional significance. *Antioxid. Redox Signal.* **18**, 1165-1207.
31. Liguori, I., Russo, G., Curcio, F., Bulli, G., Aran, L., Della-Morte, D., Gargiulo, G., Testa, G., Cacciatore, F., Bonaduce, D. and Abete, P. 2018. Oxidative stress, aging, and diseases. *Clin. Interv. Aging* **13**, 757-772.
32. Lillig, C. H. and Holmgren, A. 2007. Thioredoxin and related molecules-from biology to health and disease. *Antioxid. Redox Signal.* **9**, 25-47.
33. Lincoln, D. T., Ali Emadi, E. M., Tonissen, K. F. and Clarke, F. M. 2003. The thioredoxin-thioredoxin reductase system: over-expression in human cancer. *Anticancer Res.* **23**, 2425-2433.
34. Loschen, G., Azzi, A., Richter, C. and Flohé, L. 1974. Superoxide radicals as precursors of mitochondrial hydrogen peroxide. *FEBS Lett.* **42**, 68-72.
35. Lu, J., Papp, L. V., Fang, J., Rodriguez-Nieto, S., Zhitovovskiy, B. and Holmgren, A. 2006. Inhibition of mammalian thioredoxin reductase by some flavonoids: implications for myricetin and quercetin anticancer activity. *Cancer Res.* **66**, 4410-4418.
36. Madeira, J. M., Gibson, D. L., Kean, W. F. and Klegeris, A. 2012. The biological activity of auranofin: implications for novel treatment of diseases. *Inflammopharmacology* **20**, 297-306.
37. Mahmood, D. F., Abderrazak, A., El Hadri, K., Simmet, T. and Rouis, M. 2013. The thioredoxin system as a therapeutic target in human health and disease. *Antioxid. Redox Signal.* **19**, 1266-1303.
38. Matsui, M., Oshima, M., Oshima, H., Takaku, K., Maruyama, T., Yodoi, J. and Taketo, M. M. 1996. Early embryonic lethality caused by targeted disruption of the mouse thioredoxin gene. *Dev. Biol.* **178**, 179-185.
39. Marzano, C., Gandin, V., Folda, A., Scutari, G., Bindoli, A. and Rigobello, M. P. 2006. Inhibition of thioredoxin reductase by auranofin induces apoptosis in cisplatin-resistant human ovarian cancer cells. *Free Radic. Biol. Med.* **42**, 872-881.
40. Meyer, Y., Buchanan, B. B., Vignols, F. and Reichheld, J. P. 2009. Thioredoxins and glutaredoxins: unifying elements in redox biology. *Annu. Rev. Genet.* **43**, 335-367.
41. Mikkelsen, R. B. and Wardman, P. 2003. Biological chemistry of reactive oxygen and nitrogen and radiation-induced signal transduction mechanisms. *Oncogene* **22**, 5734-5754.
42. Miranda-Vizuete, A., Damdimopoulos, A. E., Pedrajas, J. R., Gustafsson, J. A. and Spyrou, G. 1999. Human mitochondrial thioredoxin reductase cDNA cloning, expression and genomic organization. *Eur. J. Biochem.* **261**, 405-412.
43. Nordberg, J. and Arnér, E. S. 2001. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radic. Biol. Med.* **31**, 1287-1312.
44. Pessetto, Z. Y., Weir, S. J., Sethi, G., Broward, M. A. and Godwin, A. K. 2013. Drug repurposing for gastrointestinal stromal tumor. *Mol. Cancer Ther.* **12**, 1299-1309.
45. Poerschke, R. L. and Moos, P. J. 2011. Thioredoxin reductase 1 knockdown enhances selenazolidine cytotoxicity in human lung cancer cells via mitochondrial dysfunction. *Biochem. Pharmacol.* **81**, 211-221.
46. Powis, G., Mustacich, D. and Coon, A. 2000. The role of the redox protein thioredoxin in cell growth and cancer. *Free Radic. Biol. Med.* **29**, 312-322.
47. Prast-Nielsen, S., Cebula, M., Pader, I. and Arnér, E. S. Noble metal targeting of thioredoxin reductase-covalent complexes with thioredoxin and thioredoxin-related protein of 14 kDa triggered by cisplatin. *Free Radic. Biol. Med.* **49**, 1765-1778.
48. Rackham, O., Nichols, S. J., Leedman, P. J., Berners-Price, S. J. and Filipovska, A. 2007. A gold (I) phosphine complex selectively induces apoptosis in breast cancer cells: implications for anticancer therapeutics targeted to mitochondria. *Biochem. Pharmacol.* **74**, 992-1002.
49. Rackham, O., Shearwood, A. M., Thyer, R., McNamara, E., Davies, S. M., Callus, B. A., Miranda-Vizuete, A., Berners-Price, S. J., Cheng, Q., Arnér, E. S. and Filipovska, A. 2011. Substrate and inhibitor specificities differ between human cytosolic and mitochondrial thioredoxin reductases: Implications for development of specific inhibitors. *Free Radic. Biol. Med.* **50**, 689-699.
50. Reddy, C. A., Somepalli, V., Golakoti, T., Kanugula, A. K., Karnewar, S., Rajendiran, K., Vasagiri, N., Prabhakar, S., Kuppasamy, P., Kotamraju, S. and Kutala, V. K. 2014. Mitochondrial-targeted curcuminoids: a strategy to enhance bioavailability and anticancer efficacy of curcumin. *PLoS One* **9**, e89351.
51. Roder, C. and Thomson, M. J. 2015. Auranofin: repurposing an old drug for a golden new age. *Drugs R. D.* **15**, 13-20.
52. Sabharwal, S. S. and Schumacker, P. T. 2014. Mitochondrial ROS in cancer: initiators, amplifiers or an Achilles' heel? *Nat. Rev. Cancer* **14**, 709-721.
53. Saccoccia, F., Angelucci, F., Boumis, G., Brunori, M., Miele, A. E., Williams, D. L. and Bellelli, A. 2012. On the mechanism and rate of gold incorporation into thiol-dependent flavoreductases. *J. Inorg. Biochem.* **108**, 105-111.
54. Sasada, T., Nakamura, H., Ueda, S., Sato, N., Kitaoka, Y., Gon, Y., Takabayashi, A., Spyrou, G., Holmgren, A. and

- Yodoi, J. 1999. Possible involvement of thioredoxin reductase as well as thioredoxin in cellular sensitivity to cis-diamminedichloroplatinum (II). *Free Radic. Biol. Med.* **27**, 504-514.
55. Schafer, F. Q. and Buettner, G. R. 2001. Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple. *Free Radic. Biol. Med.* **30**, 1191-1212.
56. Schumacker, P. T. 2006. Reactive oxygen species in cancer cells: live by the sword, die by the sword. *Cancer Cell* **10**, 175-176.
57. Shah, M. A. and Rogoff, H. A. 2021. Implications of reactive oxygen species on cancer formation and its treatment. *Semin. Oncol.* **48**, 238-245.
58. Söderberg, A., Sahaf, B. and Rosén, A. 2000. Thioredoxin reductase, a redox-active selenoprotein, is secreted by normal and neoplastic cells: presence in human plasma. *Cancer Res.* **60**, 2281-2289.
59. Sonzogni-Desautels, K. and Ndao, M. 2021. Will auranofin become a golden new treatment against COVID-19? *Front. Immunol.* **12**, 683694.
60. Sun, X., Wang, W., Chen, J., Cai, X., Yang, J., Yang, Y., Yan, H., Cheng, X., Ye, J., Lu, W., Hu, C., Sun, H., Pu, J. and Cao, P. 2016. The natural diterpenoid isoforretin a inhibits thioredoxin-1 and triggers potent ROS-mediated antitumor effects. *Cancer Res.* **77**, 926-936.
61. Szatrowski, T. P. and Nathan, C. F. 1991. Production of large amounts of hydrogen peroxide by human tumor cells. *Cancer Res.* **51**, 794-798.
62. Tamura, T. and Stadtman, T. C. 1996. A new selenoprotein from human lung adenocarcinoma cells: purification, properties, and thioredoxin reductase activity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **93**, 1006-1011.
63. Thannickal, V. J. and Fanburg, B. L. 2000. Reactive oxygen species in cell signaling. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* **279**, L1005-1028.
64. Trachootham, D., Alexandre, J. and Huang, P. 2009. Targeting cancer cells by ROS-mediated mechanisms: a radical therapeutic approach? *Nat. Rev. Drug Discov.* **8**, 579-591.
65. Welsh, S. J., Bellamy, W. T., Briehl, M. M. and Powis, G. 2002. The redox protein thioredoxin-1 (Trx-1) increases hypoxia-inducible factor 1alpha protein expression: Trx-1 overexpression results in increased vascular endothelial growth factor production and enhanced tumor angiogenesis. *Cancer Res.* **62**, 5089-5095.
66. Yamada, M., Tomida, A., Yoshikawa, H., Taketani, Y. and Tsuruo, T. 1996. Increased expression of thioredoxin/adult T-cell leukemia-derived factor in cisplatin-resistant human cancer cell lines. *Clin. Cancer Res.* **2**, 427-432.
67. Zhang, J., Li, X., Han, X., Liu, R. and Fang, J. 2017. Targeting the thioredoxin system for cancer therapy. *Trends Pharmacol. Sci.* **38**, 794-808.
68. Zhong, L., Arnér, E. S. and Holmgren, A. 2000. Structure and mechanism of mammalian thioredoxin reductase: the active site is a redox-active selenothiol/selenenylsulfide formed from the conserved cysteine-selenocysteine sequence. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **97**, 5854-58549.
69. Zhu, B., Ren, C., Du, K., Zhu, H., Ai, Y., Kang, F., Luo, Y., Liu, W., Wang, L., Xu, Y., Jiang, X. and Zhang, Y. 2019. Olean-28,13b-olide 2 plays a role in cisplatin-mediated apoptosis and reverses cisplatin resistance in human lung cancer through multiple signaling pathways. *Biochem. Pharmacol.* **170**, 113642.

초록 : Thioredoxin reductase를 표적으로 하는 항암 최신 연구 동향

황보현¹ · 이혜숙² · 정재훈^{1,3} · 최영현^{2,4*}

(¹부산대학교 한국나노바이오테크놀로지센터, ²동의대학교 항노화연구소, ³부산대학교 자연과학대학 분자생물학과, ⁴동의대학교 한의과대학 생화학교실)

Thioredoxin reductase (TrxR) 시스템은 세포 내 산화 환원 반응의 항상성 유지와 신호 전달 경로를 조절하는데 중추적인 역할을 함으로써 세포의 생존과 기능 유지에 필수적이다. TrxR 시스템은 thioredoxin (Trx), TrxR 및 nicotinamide adenine dinucleotide phosphate의 구성요소를 포함하며, TrxR 효소의 촉매 반응에 의해 환원된 Trx는 하위 표적 단백질을 환원시켜 결과적으로 산화적 스트레스에 대한 방어와 세포 분화, 성장 및 사멸을 조절한다. 암세포는 무한한 세포 증식과 높은 대사율로 인해 과도하게 생성된 활성산소종을 소거하기 위해 세포 내 항산화능을 향상시켜 세포의 생존을 유지하는 반면, 항산화 시스템에 대한 의존도 및 민감도가 높아 이를 표적으로 한 항암 활성 연구에서 잠재적인 가능성이 있음을 제시한다. 여러 연구 결과에서 TrxR이 다양한 유형의 암에서 높은 수준으로 발현되고 있음이 밝혀졌고, 또한 TrxR 시스템을 표적으로 한 항암 활성에 대한 연구가 증가하고 있다. 따라서 본 총설에서는 세포 내 TrxR 시스템의 기능과 암의 발달 및 진행에서의 역할을 다루고, TrxR 억제제의 항암 활성 및 기전을 검토함으로써 항암 활성 연구에 대한 전략으로 TrxR 시스템의 타당성과 가치를 논하였다.