자연살해세포와 항암면역치료 연구동향

울산대학교 의과대학 김헌식 교수

1. 개요

자연살해세포 [Natural killer (NK) cells]는 세포살해활성을 특징으로 하는 선천림프구세포로써 암세포를 인지하면 다른 활성화과정 없이 이를 즉각적으로 제거할 수 있다. 자연살해세포는 생체 내 암발생을 억제하는 최전선의 핵심면역세포로써 항원특이적인 수용체를 가진 T세포, B세포와 달리 다양한 선천면역 수용체를 세포표면에 발현하며 이들을 통해 정상세포와 암세포를 구분할 수 있다 (Long et al., 2013). 다양한 항암면역세포 중 자연살해세포는 직접적으로 암세포의 발생, 전이를 억제하고 암의 재발에 중요한 암줄기세포 (cancer stem cell)을 효과적으로 제거할 수 있어 항암면역치료제 개발 측면에서 많은 장점을 가지고 있다. 현재 자연살해세포를 이용해 암을 치료하려는 다양한 임상연구들이 시도되고 있으며 특정 암들에 대해 유망한 결과들이 보고되고 있다 (Rezvani et al., 2015; Chouaib et al., 2014). 또한 자연살해세포의 기능결함이 많은 종류의 암환자들에서 보고되고 있으며 그 기능결함의 정도가 임상예후와 밀접한 상관관계에 있는 것이 밝혀지고 있다. 따라서 자연살해세포의 활성을 측정하여 암의 진단, 예후예측에 이용하려는 연구도 활발히 진행되고 있다.

자연살해세포는 세포표면의 다양한 활성화 (activating) 또는 활성억제 (inhibitory) 수용체를 통해 표적세포 (target cell)를 인식하고 이로써 유도되는 종합적인 신호전달 균형에 의해 그 활성이 조절 된다 (Long et al., 2013). 따라서 자연살해세포의 활성조절을 통한 항암치료법 개발을 위해서는 다양한 수용체의 조합에 의해 자연살해세포의 활성이 조절되는 기전을 이해하는 것이 필수적이다. 대표적으로 자연살해세포의 효과적인 활성화에는 여러 활성화 수용체 조합에 의한 표적세포 감지가 필수적임이 보고되었다. 실제로 B 세포 유래 항체에 표지된 표적세포의 살해 [antibody-dependent cellular cytotoxicity (ADCC)]를 매개하는 CD16을 제외하고 다른 활성화 수용체들의 경우 특정 수용체의 조합을 통해서만 효과적으로 혈액 내 자연살해세포의 세포살해활성을 유도할 수

있다 (Bryceson et al., 2006). 예로써, 2B4 수용체의 경우 NKG2D나 DNAM-1 수용체와의 조합을 통해서 자연살해세포의 시너지 활성화를 유도한다. 하지만 IL-2, IL-15 같은 사이토카인 (cytokine)이 존재할 경우 자연살해세포의 활성화를 용이하게 하여 단일 활성화수용체를 통해서도 활성화를 유도할 수 있음이 보고되었다 (Watzl, 2014). 자연살해세포의 활성조절에는 KIRs나 CD94-NKG2A 같은 활성억제 수용체가 매우 중요한데 이들은 정상세포 표면의 MHC class I을 인지하여 정상세포를 보호하는 기능을 하며 활성화수용체에 의한 자연살해세포의 비정상적인 활성화를 주도적(dominant)으로 억제할 수 있다. 하지만 암세포의 경우 MHC Class I의 감소 또는 활성화 수용체 (NKG2D 등)에 대한 ligand 발현증가를 통해 자연살해세포를 충분히 활성화 시켜 이들 비정상적인 암세포를 효과적으로 제거한다고 알려져 있다 (Cerboni et al., 2014). 이러한 측면에서 현재 자연살해세포의 항암면역기능을 활용하여 암치료에 이용하고자하는 많은 노력과 연구가 진행되고 있다. 따라서 본 보고서에서는 자연살해세포의 활성화를 중심으로 최근의 자연살해세포 기반 항암면역치료법에 대해 고찰해 보고 앞으로의 전망에 대해 논하고자 한다 (Kim, 2015).

2. 자연살해세포의 활성억제를 회피하기 위한 전략

많은 암환자, 특히 혈액암 환자에서 자연살해세포의 활성결함은 잘 알려진 특징이다. 이에 관한 분자기전으로는 자연살해세포에서 활성억제 수용체의 발현증가 및 암세포에서 활성화수용체에 대한 ligand 발현감소가 대표적이다 (Chouaib et al., 2014). 이를 바탕으로 활성결함이 없는 자연살해세포의 입양요법이 항암치료요법으로 주목받고 있다. 초창기 자연살해세포기반 항암면역치료요법은 활성화된 자가 (autologous) 자연살해세포 [lymphokine-activated killer cells (LAK cells)]를 입양전달하거나 또는 자연살해세포 투여 후 IL-2를 전신적으로 투여하여 생체 내 활성화와 증식을 촉진하는 치료법이었다. 비록 어느 정도 객관적인 치료효과가 관찰되었지만 이러한 접근법은 혈액암 환자에서 제한적인 효용성과 불충분한 치료성적을 기록하였다 (Rezvani et al., 2015; Pittari et al., 2015). 추가적인 연구들을 통해 이러한 실패원인으로 자가 자연살해세포 활성억제 수용체의 암세포 MHC class I 결합, IL-2의 전신적 투여에 의한 심각한 부작용과 활성억제 조절 T 세포의 증폭이 제기되었다. 따라서 이를 극복하기위한 대안으로 동종 (allogeneic) 자연살해세포를 이용하거나 KIR에 의한 활성억제를 차단하는 항체, IL-2 외에 자연살해세포의 활성화를 유도하는 염증인자 (IL-15, IL-21 등)를 이용하는 방안이 제시되었다 (그림 1) (Chouaib et al., 2014; Pittari et al., 2015; Chretien et al., 2014).

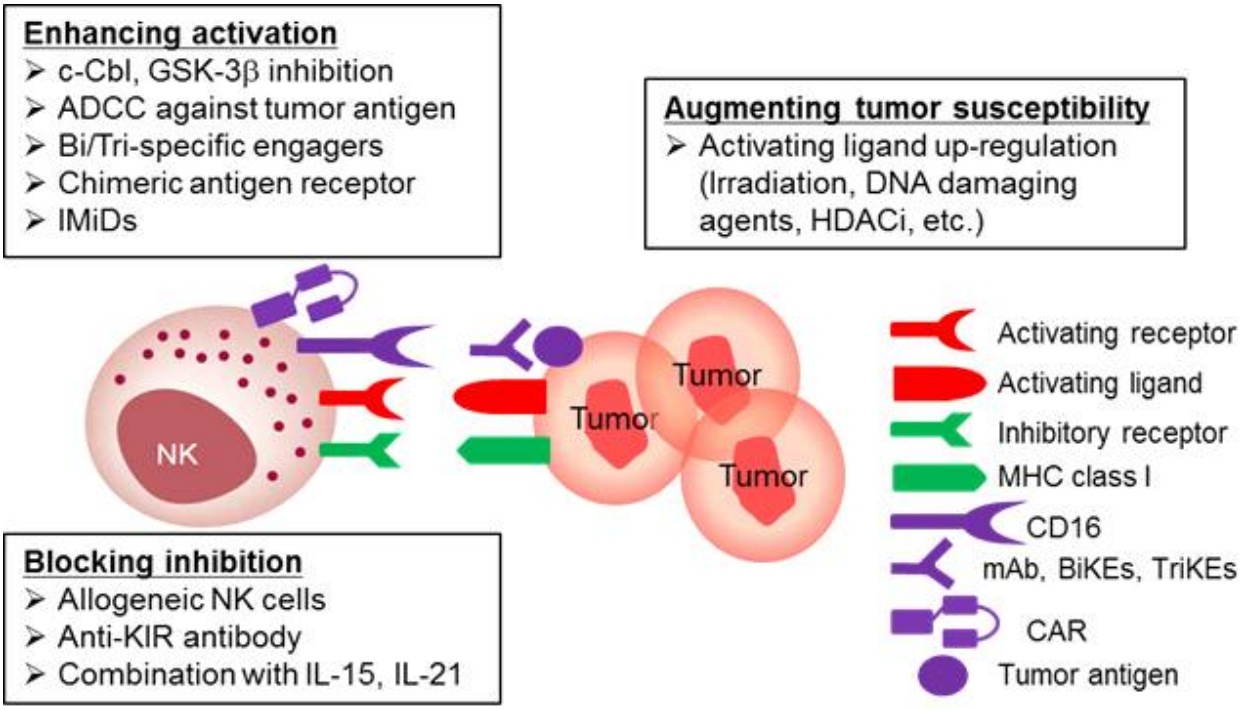

그림 1. 자연살해세포의 항암면역활성을 최적화하기위한 전략들. 자연살해세포의 암세포 사멸을 회복하거나 촉진하기위한 다양한 전략들이 개발되고 있다. 대표적으로 활성억제를 막거나, 활성화를 촉진하거나 또는 암세포의 반응성을 증진시키는 것이다. 이러한 전략들은 자연살해세포기반 항암면역치료법을 최적화하기 위해 개별적으로 또는 경우에 따라 복합적으로 적용되어 개발되고 있다 (Kim, 2015).

많은 연구들을 통해 동종 자연살해세포를 이용할 경우 조혈모세포이식과 입양전달 치료법 조건에서 이식편대숙주병 위험 없이 혈액암 (급성골수성백혈병, 다발성골수종)에 대한 충분한 치료효과와 재발억제 효과를 보였다. 실제로 이들 혈액암의 표면에 다양한 정도로 MHC class I이 발현되어있기 때문에 자연살해세포의 동종이계반응성(alloreactivity)는 암세포의 MHC에 의한 활성억제를 피할 수 있는 중요한 치료전략으로 생각되고 있다. 이러한 측면에서 현재 혈액암환자에서 동종 자연살해세포, 특히 KIR-MHC 반일치 자연살해세포의 치료효용성을 규명하기위한 많은 임상연구들이 진행되고 있으며 유망한 결과들이 보고되고 있다 (Rezvani et al., 2015; Pittari et al., 2015). 하지만 동종 자연살해세포 입양전달 치료법의 경우 아직까지 임상예후가 나쁜 환자들에 제한적으로 시술되고 있다. 더욱이 이식에 적합한 기증자를 찾는 것과 'conditioning regimen'에 의한 많은 부작용 등이 아직까지 큰 문제점으로 남아있다. 따

라서 이러한 제약들을 극복하고 환자 자신의 자연살해세포로도 안전하면서도 비슷한 효과를 얻을 수 있는 대안으로 개발된 것이 자연살해세포 활성억제 수용체를 차단하는 인간화 항체 (IPH-2101 등)이다. 현재 급성골수성백혈병과 재발성 다발성골수종을 대상으로 임상연구가 활발히 진행중이다. 최근 연구를 통해 IL-15, IL-21이 자연살해세포의 분화, 성숙, 생체 내 증식에 중요하며 또한 IL-2에서 관찰된 심각한 전신적 부작용을 수반하지 않는다는 것이 확인되었다. 따라서 IL-2 대신 이들을 자연살해세포 기반 항암면역치료법에 이용하고자 하는 연구들이 활발히 진행되고 있다 (Chretien et al., 2014).

3. 자연살해세포의 활성화를 촉진하기 위한 전략

자연살해세포는 그 활성화에 암세포의 MHC에 제시된 특정항원을 필요로 하지 않는다. 그 대신 자연살해세포는 다양한 ligand 특이성과 신호전달 능력을 가진 여러 활성화 수용체 및 그들의 조합을 통해 활성화된다. 이들 수용체는 크게 ITAM-계열 수용체 (CD16, NKp30 등), DAP10-연관 수용체 (NKG2D), SLAM 계열 수용체 (2B4 등), 그 외 수용체 (DNAM-1 등)으로 구분할 수 있다 (Long et al., 2013). 암세포에서 활성화 수용체에 대한 ligand 발현은 매우 다양하고 복잡하기 때문에, 다양한 자연살해세포 활성화 수용체에 공통적인 활성억제 단백질을 표적하는 것은 자연살해세포의 활성화를 촉진하는 좋은 전략이 될 수 있다. 이러한 노력의 일환으로 자연살해세포의 활성억제 단백질 c-Cbl과 GSK-3β가 보고되었으며 이들이 제거된 자연살해세포의 경우 활성화가 촉진되는 것이 관찰되었다 (그림 1) (Long et al., 2013; Kwon et al., 2015).

급성골수성백혈병의 경우 자연살해세포 활성화 수용체에 대한 ligand가 불충분하여 NK cell 활성을 효과적으로 유도하지 못함이 보고되고 있다. 이러한 경우 암세포 항원에 특이적인 치료용 항체를 사용하여 자연살해세포의 암세포에 대한 표적화와 활성화를 유도하는 것이 유망한 치료방안으로 여겨지고 있다 (Pittari et al., 2015). 암세포에 표지된 치료용 항체의 Fc 부분은 자연살해세포의 FcgRIIIA (CD16)에 결합하여 강력한 세포살해활성을 유도할 수 있다. 이러한 현상을 ADCC로 명명하는데 rituximab, elotuzumab 같은 치료용 항체의 항암치료효과에 있어 핵심적인 부분을 담당하는 것으로 알려져 있다. 이와 비슷한 항체기반 치료전략으로는 bi-specific 이나 tri-specific killer engagers (BiKEs, TriKEs)를 사용하는 방법이 있다 (Rezvani et al., 2015). 이들은 자연살해세포의 활성화수용체 (CD16 등)와 암세포 특이적 항원 (CD19, CD30, ErbB2 등)을 결합시킬 수 있는 방식으로 제작된다. 가령, BiKEs의 경우 CD16에 특이

적인 single chain Fv 부분과 암세포 항원에 특이적인 single chain Fv 부분을 결합시킴으로써 제작되는데 자연살해세포의 급성골수성백혈병에대한 ADCC를 유도하는데 매우 효과적임이 확인되었다. 최근에 암세포에대한 특이성과 활성화를 촉진하기위한 혁신적인 방안으로 chimeric antigen receptor (CAR)를 발현하는 자연살해세포를 제작하고 그 치료효용성을 규명하는자 하는 연구가 활발히 진행되고 있다. 다양한 혈액암 항원 (B 세포 림프종의 CD19, CD20 또는 다발성골수종의 CS1)에 특이적인 CAR를 발현하는 자연살해세포가 제작되었으며 여러 전임상 연구에서 효과적인 항암세포살해 활성을 유도하였다. 이러한 유망한 결과를 바탕으로 현재 B 세포 유래 급성림프구성백혈병의 CD19를 표적으로 CAR 발현 자연살해세포의 치료유효성을 입증하기위한 임상연구가 진행중이다 (Rezvani et al., 2015). 게다가 CAR 발현 자연살해세포의 암세포 살해는 CAR 뿐만아니라 다양한 활성화 수용체를 통해서도 일어나므로 암세포 특이적 항원이 소실된 경우에도 유용하게 사용될 수 있다.

흥미롭게도 몇몇 항암제들 (다발성골수종 치료에 사용되는 lenalidomide나 pomalidomide)의 경우 직접적으로나 또는 T 세포를 통해 간접적으로 자연살해세포의 활성화를 촉진함이 보고되고 있다. 이러한 측면에서 이들을 면역조절약물 [immunomodulatory drugs (IMiDs)]로 부르는데 직접적인 항암효과와 더불어 추가적으로 자연살해세포, T 세포의 활성화를 촉진하거나 신생혈관형성을 억제하기 때문에 항암치료법 개발 측면에서 많은 장점을 가지고 있다. 그러나 실제 항암치료에 이용하기 위해서는 많은 주의와 추가 연구를 필요로 하는데 그것은 용량과 다른 약물 (dexamethasone)과의 조합에 의해 예기치 못한 부작용이 나타날 수 있기 때문이다 (Mentlik et al., 2013).

4. 고찰

그동안 자연살해세포가 항암면역에 핵심적임이 알려졌음에도 불구하고 자연살해세포의 활성화 기전이 명확하지 않아 이를 새로운 치료제로 개발하는데 있어 큰 걸림돌이 되고 있다. 이에 따라 기존의 자연살해세포기반 항암치료법은 활성억제 수용체에 의한 활성억제를 피하기 위해 동종 자연살해세포를 이용하거나 항체 등으로 활성억제 수용체를 차단하는 것이 대세였다. 최근 많은 연구를 통해 다양한 활성화 수용체를 통한 자연살해세포의 활성화 기전이 규명되어 자연살해세포의 항암활성을 촉진하기 위한 새로운 전략들이 마련되고 있다. 더불어 자연살해세포에 대한 암세포의 면역반응성을 높이기 위해 암세포에서 활성화 수용체에 대한 ligand 발현을 증진시키거나 종양미세환경의 면역억제 특정을 조절하려는 연구도 활발히 진행되고 있다 (그림 1) (Chretien

et al., 2014; Mentlik et al., 2013). 게다가 GMP-수준으로 자연살해세포를 대량 증폭하는 기술들이 확립되어 장연살해세포기반 항암면역치료법이 실제 치료에 적용되는 경우가 많아지고 있다 (Childs and Berg, 2013). 따라서 자연살해세포의 활성화 기전에 대한 정확한 이해를 바탕으로 자연살해세포의 항암면역 활성을 최적화한다면 다양한 암을 보다 효과적으로 치료할 수 있는 방법이 조만간 현실화될 수 있을 것으로 기대된다.

참고문헌

Cerboni C, Fionda C, Soriani A, Zingoni A, Doria M, Cippitelli M, Santoni A. The DNA Damage Response: A Common Pathway in the Regulation of NKG2D and DNAM-1 Ligand Expression in Normal, Infected, and Cancer Cells. Front Immunol. 2014;4:508.

Childs RW, Berg M. Bringing natural killer cells to the clinic: ex vivo manipulation. Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2013;234-46.Chouaib S, Pittari G, Nanbakhsh A, El Ayoubi H, Amsellem S, Bourhis JH, Spanholtz J. Improving the outcome of leukemia by natural killer cell-based immunotherapeutic strategies. Front Immunol. 2014;5:95.

Chretien AS, Le Roy A, Vey N, Prebet T, Blaise D, Fauriat C, Olive D. Cancer-Induced Alterations of NK-Mediated Target Recognition: Current and Investigational Pharmacological Strategies Aiming at Restoring NK-Mediated Anti-Tumor Activity. Front Immunol. 2014;5:122.

Kim HS. A multifaceted approach targeting NK cells for better treatment of cancer: Focus on hematological malignancies. Blood Res. 2015;50(4):189-91.

Kwon HJ, Kwon SJ, Lee H, Park HR, Choi GE, Kang SW, Kwon SW, Kim N, Lee SY, Ryu S, Kim SC, Kim HS. NK cell function triggered by multiple activating receptors is negatively regulated by glycogen synthase kinase-3β. Cell Signal. 2015;27(9):1731-41.

Long EO, Kim HS, Liu D, Peterson ME, Rajagopalan S. Controlling natural killer cell responses: integration of signals for activation and inhibition. Annu Rev Immunol. 2013;31:227-58.

Mentlik James A, Cohen AD, Campbell KS. Combination immune therapies to enhance anti-tumor responses by NK cells. Front Immunol. 2013;4:481.

Pittari G, Filippini P, Gentilcore G, Grivel JC, Rutella S. Revving up Natural Killer Cells and Cytokine-Induced Killer Cells Against Hematological Malignancies. Front Immunol. 2015;6:230.

Rezvani K, Rouce RH. The application of natural killer cell immunotherapy for the treatment of cancer. Front Immunol. 2015;6:578.

Watzl C. How to trigger a killer: modulation of natural killer cell reactivity on many levels. Adv Immunol. 2014;124:137-70.