

1. 서론

유방암은 세포가 발현하는 표지 분자(marker)에 따라 subtype 이 나뉜다. 특정 표지 분자의 발현이 나타나는 luminal A, luminal B, Her2 와 표지 분자들을 발현하지 않는 TNBC(triple negative breast cancer) subtype 이 대표적이다. TNBC 의 'triple negative'는 estrogen receptor, progesterone receptor, HER2/neu 모두에 대해 negative 임을 의미한다. 이러한 특성 때문에 호르몬 치료와 표적 치료를 할 수 없으며, 국소 및 원격 재발이 흔하여 subtype 중 가장 예후가 나쁘다. 이에 비해 luminal A 는 치료가 상대적으로 잘 되는 subtype 이다. 이 연구에서는 TNBC subtype 와 luminal A subtype dataset 를 바탕으로 Gene Ontology & Enrichment analysis 를 실시하여 분석하고, 궁극적으로 TNBC subtype 치료제를 찾고자 한다. 특히 TNBC subtype 를 luminal A subtype 로 변화시키는 약물을 찾아 유방암을 보다 치료하기 쉬운 subtype 으로 바꿈으로써 TNBC 환자의 예후를 좋게 하고자 한다.

2. Gene Ontology & Enrichment Analysis

dataset 의 control 그룹은 luminal A 환자에서 얻어진 암 조직의 발현 데이터이고, test 그룹은 TNBC 환자에서 얻어진 암 조직의 발현 데이터이다.

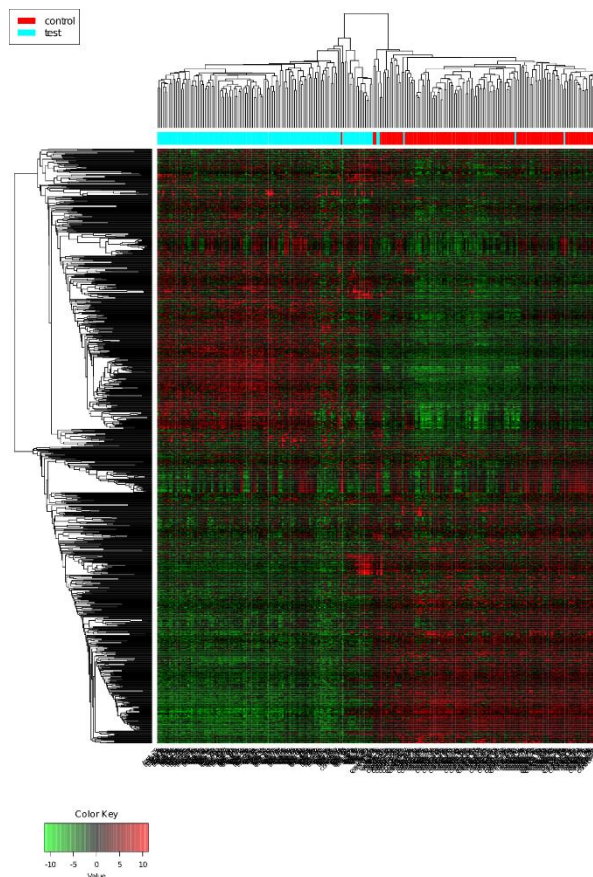
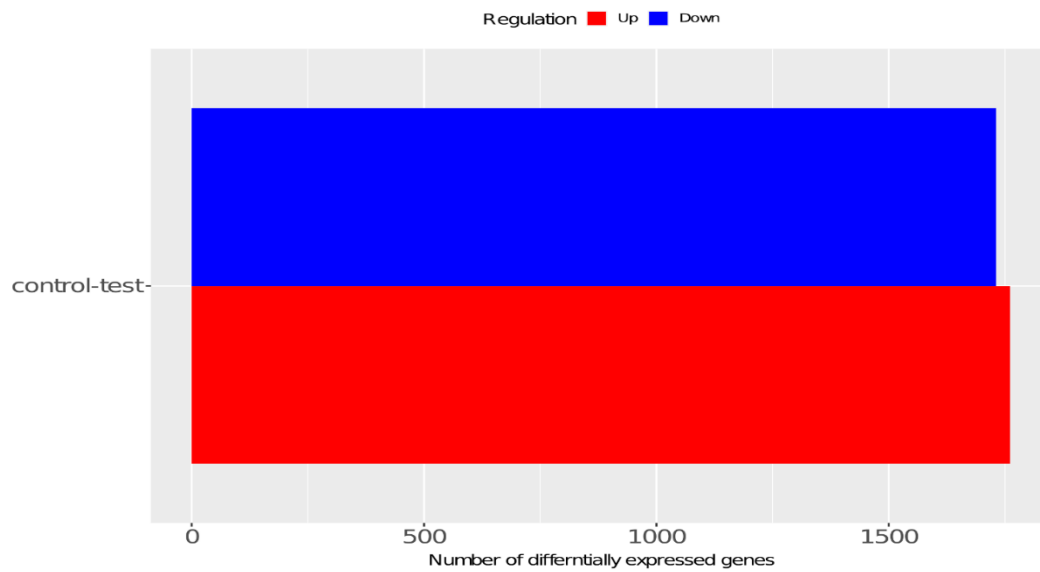
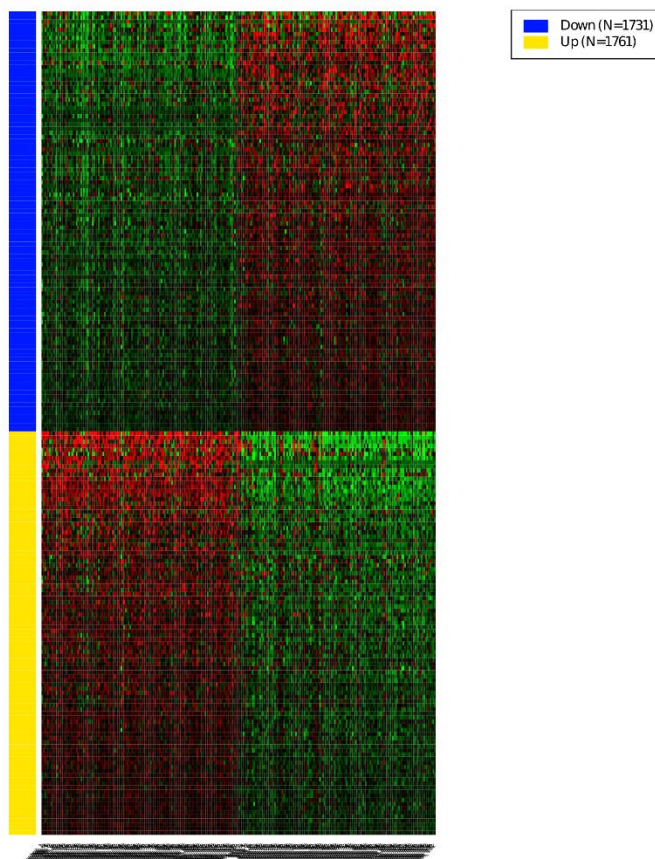


그림 1

전체 유전자 발현 기반 heatmap (그림1)을 통해 control group과 test group에서의 유전자 발현 정도에 유의미한 차이가 있음을 확인할 수 있다.

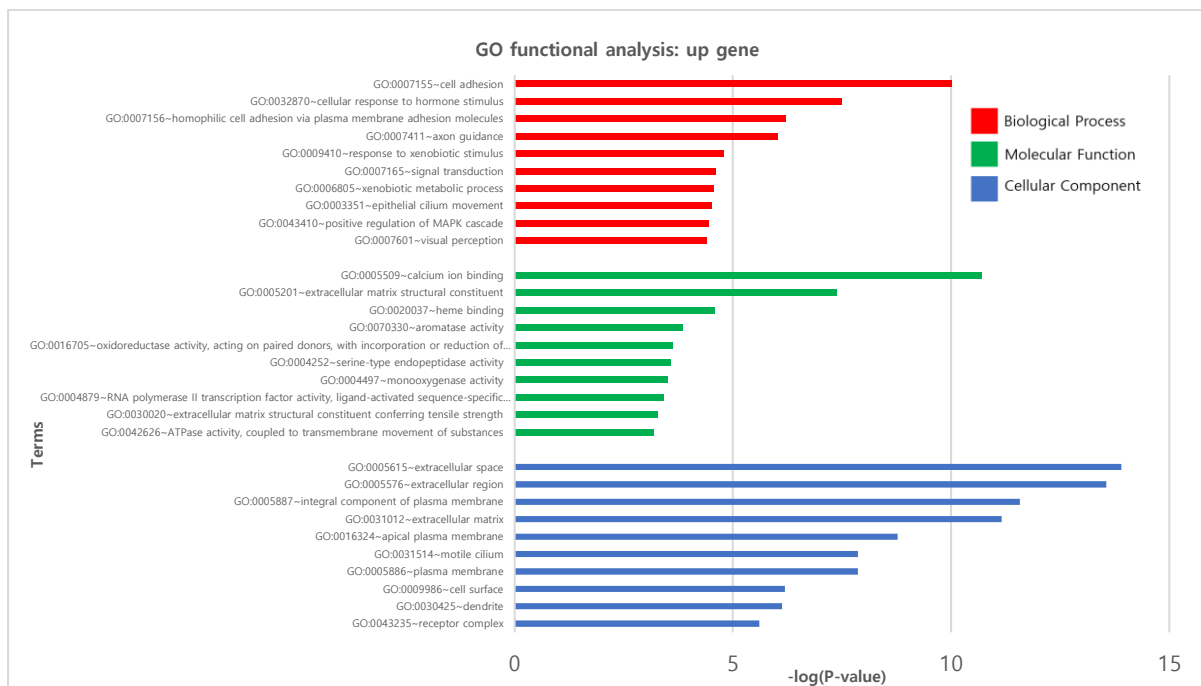


<그림 2>

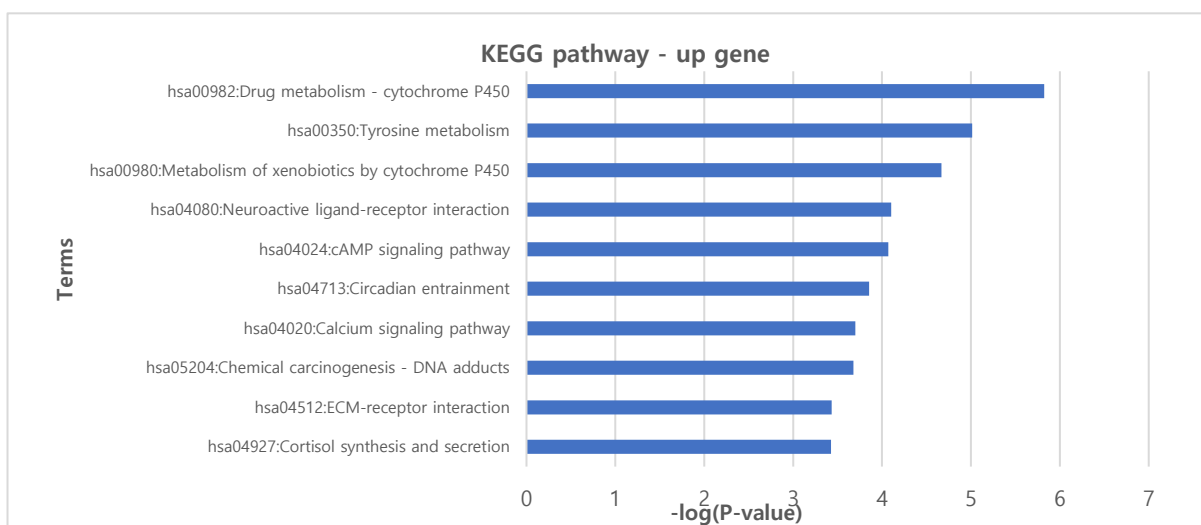


<그림 3>

<그림 2>와 <그림 3>은 DEG 분석 결과를 바탕으로 한 결과이다. test group 은 control group 과 비교하여 1761 개의 gene 은 up, 1731 개의 gene 은 down 으로 differently express 된다.

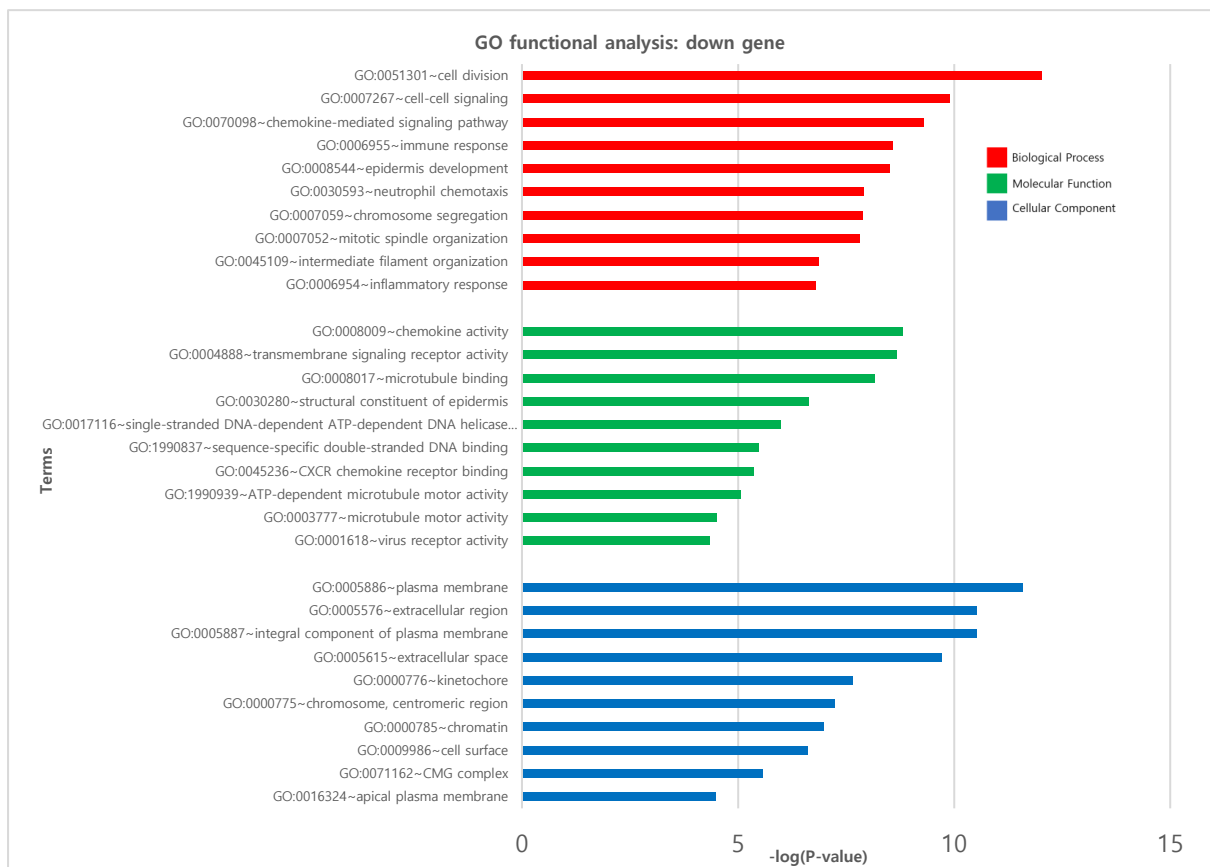


<그림 4>

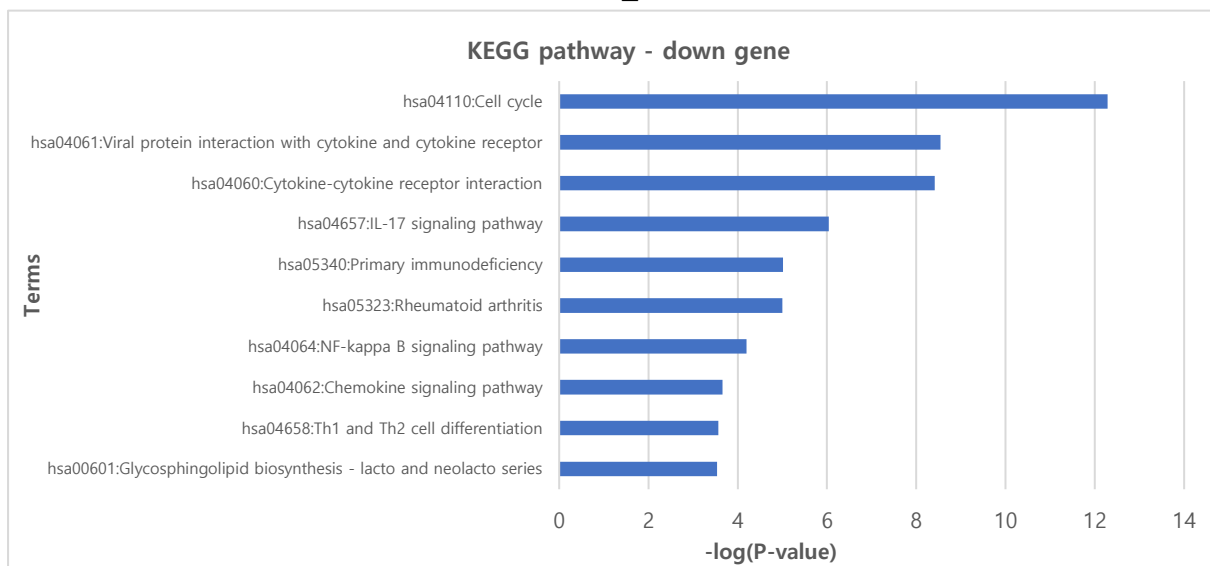


<그림 5>

Test group에서 유전자 발현이 증가한 up gene의 enrichment analysis 결과다. Up gene이 Biological Process(BP), Molecular Function(MF), Cellular Component(CC), KEGG pathway의 어떤 기능 또는 경로에 관여하는지 확인할 수 있다. 상위 10개 항목을 추출하여 그래프로 표현했다. BP에서는 Cell adhesion, cellular response to hormone stimulus, MF에서는 Calcium ion binding, extracellular matrix structural constituent, heme binding, CC에서는 Extracellular space, extracellular region, integral component of plasma membrane, KEGG pathway에서는 Drug metabolism – cytochrome P450, Tyrosine metabolism, metabolism of xenobiotics by cytochrome P450 항목이 top 3에 rank되었다.



<그림 6>



<그림 7>

Test group에서 유전자 발현이 감소한 down gene의 enrichment analysis 결과다. BP에서는 Cell division, cell-cell signaling, chemokine-mediated signaling pathway, MF에서는 Chemokine activity, transmembrane signaling receptor activity, microtubule binding, CC에서는 plasma membrane, extracellular region, integral component of plasma membrane, KEGG pathway에서는 Cell cycle, viral protein interaction with cytokine and cytokine receptor, cytokine-cytokine receptor

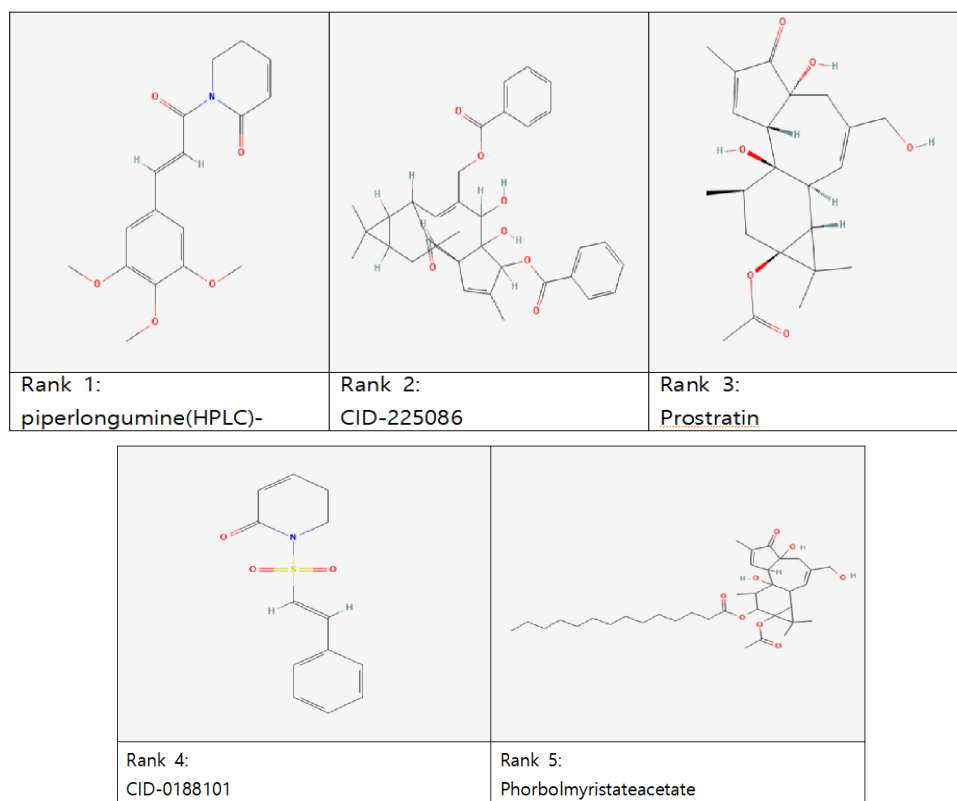
interaction 항목이 top 3에 rank되었다. signaling, chemokine, cytokine, receptor와 같은 keyword가 많이 나타났다. TNBC subtype의 receptor negative 특성이 BP, MF, pathway 등에 큰 영향을 미쳐 결과적으로 TNBC의 예후를 나쁘게 하는 주요 원인으로 작용한다는 사실을 확인할 수 있다.

3. 유전자 발현 정상화를 위한 약물 탐색

Rank	score	Perturbation	Cell-line	Dose	Time
1	0.0382	piperlongumine (HPLC)	MCF7	10.0um	24.0h
2	0.035	Ingenol 3, 20-dibenzoate	HA1E	10.0um	6.0h
3	0.035	BRD-K91145395	MCF7	10.0um	6.0h
4	0.0341	BRD-K66254772	MCF7	10.0um	24.0h
5	0.0323	phorbol-12-myristate-13-acetate (PMA)	HA1E	10.0um	6.0h
6	0.0292	Kenpaullone	VCAP	10.0um	24.0h
7	0.0292	Ingenol 3, 20-dibenzoate	MCF7	10.0um	6.0h
8	0.0283	CT-200783	MCF7	10.0um	24.0h
9	0.0278	Ingenol 3, 20-dibenzoate	MCF7	10.0um	24.0h
10	0.0278	K784-3187	MCF7	10.0um	24.0h

<표 1>

<표 1>은 유전자 발현 정상화를 위한 약물 탐색을 진행한 결과 상위 10 개의 약물을 표로 정리한 것이다. 그 중 상위 5 개의 화합물 구조는 아래와 같다.



<그림 8>

4. 문헌 조사 결과

유전자 발현 정상화를 위한 약물 탐색 결과 중 상위권에 rank 된 약물들 위주로 TNBC 치료 효과와 관련한 문헌 조사를 실시했다.

Piperlongumin 은 PI3K/Akt/mTOR 신호 전달 축을 억제하여 TNBC 세포에서 카스파제 의존성 세포자멸사를 유도한다. Ingenol type 은 유방암 세포주에서 증식을 억제하고 세포자멸사를 유도한다. 조사 결과 TNBC 의 치료는 주로 세포자멸사를 유도하는 방향으로 진행된다는 것을 알 수 있었다.

TNBC 는 주요 유방암 표적치료제가 작용하는 세가지 수용체가 모두 음성이기에 표적치료제를 통한 치료가 어렵다. 반면 다른 유방암과 달리 면역치료에 반응할 수 있는 조건을 갖고 있기 때문에 주로 면역치료를 활용한다.

TNBC 는 여전히 치료가 어려운 암으로 분류되어 더욱 많은 연구가 필요하다. 최근 미국에서 TNBC 재단이 설립되어 많은 관련 연구가 진행되고 있다. TNBC 치료와 관련된 가장 최신 정보로는 면역관문억제제인 키트루다(Keytruda)에 의한 적응증이 확대되었다는 긍정적인 소식이 있다.

5. 고찰

치료제에 대한 문헌 연구를 진행하는 과정에서 참고하려는 논문이 유료인 경우가 많았다. 때문에 살펴보지 못한 논문이 많아 아쉬움이 남는다. 조회하지 못한 논문 중 TNBC subtype 를 luminal A subtype 로 변화시키는 약물을 찾으려는 본 연구의 목적과 높은 유사성을 보이는 논문의 제목을 첨부했다.

P. Buiga, J. Soul and J. Schwartz, "A meta-analysis portal for human breast cancer transcriptomics data: BreastCancerVis," 2018 IEEE International Conference on Bioinformatics and Biomedicine (BIBM), 2018, pp. 260-264, doi: 10.1109/BIBM.2018.8621315.

Fan, M., Chen, J., Gao, J. *et al.* Triggering a switch from basal- to luminal-like breast cancer subtype by the small-molecule diptoinindonesin G via induction of GABARAP1. *Cell Death Dis* **11**, 635 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41419-020-02878-z>

일반적으로 어떤 질병을 정의하고 진단할 때 그 병의 특유의 증상이나 병리학적 특징, 세포생물학적 특징 등을 기반으로 하는데, TNBC 의 경우 세 가지 수용체가 없다는 특징으로만 정의된다. 아직 TNBC 에 대한 정보가 완벽하게 정리되어 있지 않다는 것이다. 따라서 TNBC 치료제 개발을 위해서는 TNBC 질병 자체에 대한 더욱 깊은 연구가 동반되어야 한다.

6. 참고자료

Shrivastava, S., Kulkarni, P., Thummuri, D. et al. Piperlongumine, an alkaloid causes inhibition of PI3 K/Akt/mTOR signaling axis to induce caspase-dependent apoptosis in human triple-negative breast cancer cells. *Apoptosis* 19, 1148–1164 (2014). <https://doi.org/10.1007/s10495-014-0991-2>

Vigone A, Tron GC, Surico D, et al. Ingenol derivatives inhibit proliferation and induce apoptosis in breast cancer cell lines. *European Journal of Gynaecological Oncology*. 2005 ;26(5):526-530. PMID: 16285571.

메디칼업저버(<http://www.monews.co.kr>)

조기 유방암에서 삼중복 음성군의 임상 병리학적 특징 및 예후: 비삼중복 음성 유방암과 비교
계명대학교 의과대학 외과학교실, 1 병리학교실 안재석 · 조지형 · 권선영 1 · 강선희