

대장암의 발생과 전이에 관련된 세포 내 신호 전달 경로

순천향대학교 의과대학 외과학교실

백 무 준

Signal Transduction Pathways in Colorectal Cancer Carcinogenesis and Metastasis

Moo Jun Baek, M.D.

Department of Surgery, College of Medicine, Soonchunhyang University, Cheonan, Korea

Cell proliferation and differentiation are regulated by a number of hormones, growth factors. These molecules interact with cellular receptors and communicate with the nucleus of the cell through a network of intracellular signal transduction pathways. A great deal of recent work has defined signal transduction pathways that distinguish malignant from normal cells, and hence identified potential targets for cancer therapy. In colorectal cancer cells, key components of these pathways may be altered by oncogenes through overexpression or mutation, leading to dysregulated cell signaling, inhibition of apoptosis, metastasis, and cell proliferation. The molecular mechanisms and signaling pathways that regulate cell proliferation and survival are receiving considerable attention as potential targets for anticancer strategies. This article reviewed the role of signal transduction in colorectal cancer, introduce promising molecular targets, and outline therapeutic approaches under development. **J Korean Soc Coloproctol 2005;21:433-444**

Key Words: Signal transduction pathway, Colorectal cancer
신호 전달 경로, 대장암

서 론

세포의 성장을 조절하는 것은 촉진과 저해의 균형 유지라고 할 수 있다. 세포에서는 성장을 촉진하는 신호와 항상성을 회복하기 위한 되먹이기 저해와 함께 분화와 아포토시스(programmed cell death; apoptosis)

등, 세포의 운명을 결정하는 시스템이 복잡하게 작용하고 있다. 이들 시스템은 매우 다양할 뿐만 아니라 서로간에 복잡하게 얽혀 있다. 암이 세포 성장 조절의 이상이라고 한다면 이러한 시스템이 암의 발생에 관련되어 있다는 것은 쉽게 생각할 수 있다. 실제로 세포 성장 촉진 및 억제 신호 전달계 및 이들의 상호 작용에 대한 새로운 지식이 암의 발생 기전을 이해하는 데 많은 기여를 하고 있으며 암 유전자의 작용 기전의 연구가 세포 내 신호 전달계의 이해에 많은 기여를 하였다.

생물체를 형성하는 세포는 외부로부터 자극을 받거나 환경의 변화를 감지하게 되면 다양한 형태로 반응을 나타내게 된다. 외부로부터 감지한 정보는 세포 내에서 여러 가지 단백질들이 관여하는 복잡한 신호 전달 과정(signal transduction)을 거치게 되는데 이 과정은 거의 모든 생명 현상과 밀접한 관련을 맺고 있다. 모든 세포는 신호전달계(signaling pathway)를 통해 외부로부터의 자극을 수용하고 유전자 발현을 변화시킴으로써 주어진 상황에 가장 적절한 방향으로 자신의 생리 현상을 조절한다. 외부 자극은 수용체를 통해 인식되며 이 신호는 신호 전달계 구성 요소들의 일련의 반응을 통해 핵 속으로 전달된다. 핵 속으로 전달된 신호는 유전자 전사조절로 연결되어 장기적인 반응을 일으킨다.¹

다세포 생물의 경우 신호전달계는 외부 자극에 대한 단순한 반응을 넘어 다양한 세포들간의 의사 소통을 위한 도구로 기능한다. 즉, 신호전달계는 한 개체를 이루고 있는 다양한 세포 간의 조화를 가능케 한다. 특히 세포가 변형되어 비정상적으로 성장하는 암은 신호 전달 과정에서 암 유전자(oncogene)라 불리는 특정 단백질의 고장으로 인한 경우가 많은데 이 단백질의 대

책임저자: 백무준, 330-721, 충남 천안시 봉명동 23-20
순천향대학교 천안병원 외과
Tel: 041-570-3633, Fax: 041-571-0129
E-mail: ssurge@sch.ac.kr

Correspondence to: Moo Jun Baek, Department of Surgery, Soonchunhyang University College of Medicine, 23-20 Bongmyeong-dong, Cheonan 330-721, Korea.
Tel: +82-41-570-3633, Fax: +82-41-571-0129
E-mail: ssurge@sch.ac.kr

부분은 세포의 성장 및 분화, 그리고 세포의 이동성을 조절하는 신호 전달 인자들이다.

대장암은 우리나라에서 부위별 암 발생 빈도 중 4위를 차지하고 있으며, 최근 그 빈도가 증가하는 추세에 있다. 외과적 근치 절제술이 치료의 원칙이고 조기 대장암일 경우에는 수술만으로도 좋은 생존율이 기대된다. 암이 전이된 환자의 경우나 재발 또는 전이의 위험이 높은 환자의 경우에는 보조 요법으로 irinotecan, oxaliplatin과 같은 상대적으로 비선택적인 세포독성의 약제들이 지금까지 대장암의 치료에 사용되었으며 이에 더하여 최근에는 고도로 선택적인 치료제로 알려진 cetuximab나 bavacizumab과 같은 약제들이 대장암 치료제로 개발되기 시작하였다.^{2,3}

이제까지 대장암의 항암 요법에 널리 쓰이는 약제는 대장암 세포뿐 아니라, 정상 세포도 죽임으로써 심각한 전신 부작용을 초래하고 있으며, 또한 암화 과정의 억제에 집중되어 있기 때문에, 실질적인 치료의 한계를 가지고 있다. 따라서 현재 개발되고 있고 또 앞으로 개발이 될 약제들은 이러한 부작용을 최소화시키는 약제들이 주종을 이룰 것으로 생각된다. 이러한 약제들은 정상 세포가 어떤 원인에 의해서 암 세포가 되고, 암화된 세포가 어떤 과정을 통해서 전이되어 사망을 유도하는 지에 대한 정확한 신호전달을 이해함으로써, 암세포만을 선택적으로 억제하는 부작용이 없는 암 치료제 개발이 될 것이다. 이러한 관점에서 볼 때, 새로운 항암제의 작용을 이해하기 위해서는 대장암 세포 내에서 일어나는 여러 신호전달 경로를 이해하는 것이 직접 환자를 치료하는 우리 임상 의사들에게도 의의가 있을 것으로 생각한다. 따라서 본 고에서는 대장암의 암화 과정과 전이에서 세포 내 신호 전달 경로의 역할을 살펴보고 앞으로 치료 목적으로 사용될 수 있는 표적 분자들에 대해 알아보려고 한다.

본 론

1) TGF- β /TGF- β 수용체 및 신호전달

Transforming growth factor (TGF)는 인체에서 세가지 이형(isoform)이 알려져 있으며 대표적인 다기능 성장 인자로 생체내 여러 조직에 널리 산재하고 정상적인 상태에서 체내에서 세포의 증식 및 분화의 조절이나 세포의 기질의 합성에 필수적인 역할을 수행한다. TGF- β 는 인체 대장 상피세포를 비롯한 대부분의 상피 세포 및 림프계 세포의 성장을 억제하며 인체 대장 세포에서는 아폽토시스를 유발한다. TGF- β 가 세포

성장을 억제하는 기전은 cyclin의 발현 및 활성화 억제, cyclin dependent kinase (cdk)의 발현 억제, cdk inhibitor인 p15, p21, p27 등의 유도, Rb의 인산화 억제 등을 통해 이루어진다. 이 물질이 갖고 있는 기능의 다양성 때문에 대장암을 포함한 인체 암종에서도 오래 전부터 이 물질과 관련된 신호전달경로에 관한 많은 연구가 있어왔다. 하지만 아직까지도 확실한 기전이 모두 밝혀져 있다고 보기는 어려울 정도로 그 기능이 다양하며 우리 인체 세포 내의 다양한 신호전달경로 및 악성종양과의 연관성이 암과 연관된 다른 많은 물질과 이 신호전달경로가 관계가 있음이 속속 밝혀지고 있어 앞으로도 지속적인 연구가 필요하다.

TGF- β ligand는 serine/threonine kinase인 type I과 type II 수용체에 결합하여 신호를 전달한다.⁴ TGF- β type II 수용체(T β RII)는 특정한 ligand 결합을 위해 필요하다. Ligand가 결합된 type II 수용체는 type I 수용체와 oligomeric 복합체를 형성하여 type I 수용체의 인산화를 유발한다. type I 수용체가 결여된 세포에서 TGF- β 는 type II 수용체와 결합은 하지만 신호를 세포 내로 전달하지 못한다.⁵ 또한 cytoplasmic domain이 없는 T β RII를 포함하는 세포에서도 ligand의 결합은 일어나지만 신호는 전달되지 못하였다.⁶ T β RI의 경우 TGF- β 와 단독으로 결합하지는 못하지만 T β RII에 결합되어 있는 TGF- β 와 결합하여 stable ternary complex를 형성한다. 이러한 사실을 type I, type II 수용체와 TGF- β 의 ligand 수용체 결합이 TGF- β 의 신호전달에 필수적이라는 것을 의미한다. TGF- β 에 대한 binding specificity는 type II 수용체에 의하여 결정되며 type I 수용체는 binding affinity를 증가시킨다.⁷

Smad2와 Smad3는 TGF- β type I 수용체의 중요한 기질인데, TGF- β ligand와 type II 수용체와의 결합에 의해 활성화된 type I 수용체에 의해서 Smad2와 Smad3가 인산화되면 이들은 Smad4와 결합하여 핵 내로 들어가게 된다. 핵 내로 들어간 이 복합체는 핵 내의 DNA binding partner와 결합하여 특별한 표적 유전자의 전사를 활성화시키게 된다. 이때, Smad6와 Smad7이 세포막에서 활성화된 TGF- β 의 신호전달을 억제하는 역할을 한다(Fig. 1).

이와 같은 TGF- β 신호전달의 결과로 세포의 성장이 억제되고 종양억제 효과가 나타나게 된다. 하지만 정상 세포에서와는 달리 암 세포에서는 TGF- β 의 작용에 저항성을 보이는데, 이는 대장암 세포에서도 발견되는 현상이다. 즉 대장 선종에서 유래한 세포주에서는 TGF- β 에 감수성이 있었으나 완전히 악성화한

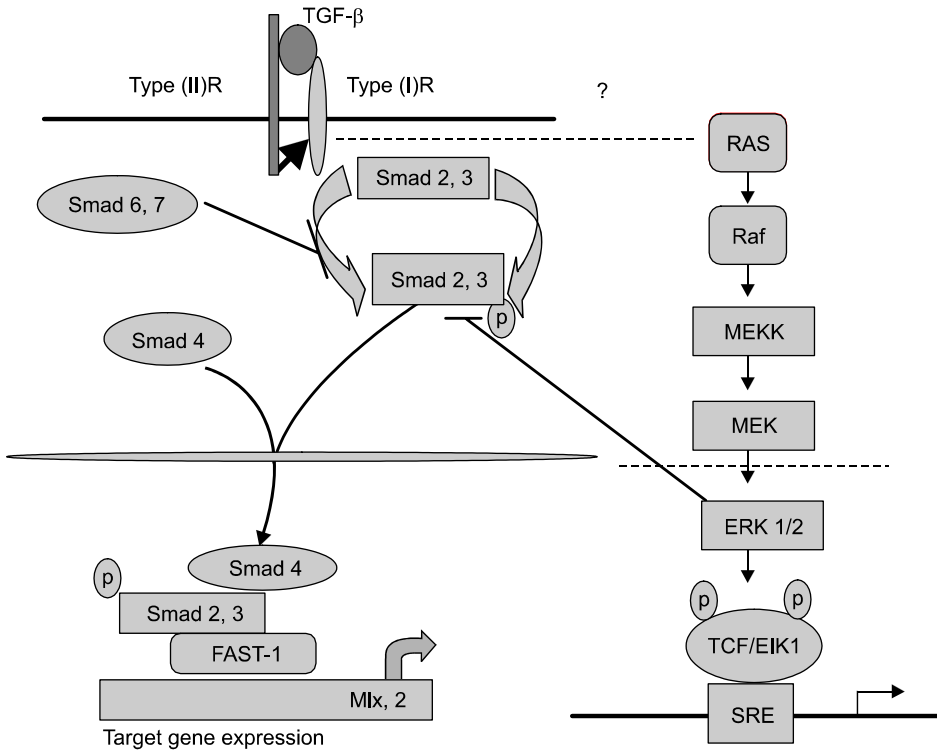


Fig. 1. TGF- β signal transduction pathways. TGF- β s bind to T β RII causing recruitment, phosphorylation, and activation of T β RI. Substrates of T β RI include the pathway restricted Smad2 and Smad3. The phosphorylated Smad2 and Smad3 complexed with Smad4 is transported to the nucleus where it interacts with other transcription factors.

대장암 세포주의 경우에는 TGF- β 에 대한 반응성이 소실 됨을 관찰하여 세포가 악성으로 형질 전환이 된 경우에는 TGF- β 에 대한 종양억제 효과에 이들 암 세포들이 저항성을 나타내며 이것은 실제 악성종양의 경우에도 똑같이 일어남을 관찰하였다.⁸

TGF- β /TGF- β 수용체 복합체를 포함하여 TGF- β 신호 전달 경로 전체가 종양 억제 효과를 나타내며 밝혀짐으로써 TGF- β 에 의한 세포 성장 억제 경로가 대장암을 비롯한 여러 악성 종양에서 발암 예방에 중요한 역할을 하는 것을 확인하였다. 그러므로 인체에서 발생하는 악성 종양에서 종양 억제 효과를 갖는 TGF- β 에 대해 저항성이 언제 출현하는지를 밝힐 수 있다면 향후 대장암의 화학 예방 전략에 중요한 의의를 가질 수 있을 것이다.

2) Ras 신호 전달계

Ras유전자는 처음으로 인체 암에서 발견된 암 유전자일 뿐만 아니라 인체 악성 종양에서 변이의 빈도가 가장 높은 암 유전자이다. 최근에 또 다른 Ras계 단백질이 암 발생에 관여할 가능성이 제시되었는데 이들이 TC-21과 R-Ras이다. TC-21은 22번과 61번(Ras의 12와 61에 해당)에 변이가 있으면 NH3T3 세포를 변형시킬 수 있으며 인체 암에서도 변이가 발견되었다.

EGFR과 같은 세포막에서 기인하는 여러 물질의 가장 중요한 신호전달경로는 Ras/Raf/MAPK와 PI3K/AKT 신호전달 경로이다. 두 경로는 결국 핵 내에서 세포의 분열과 생존, 혈관 신생 그리고 궁극적으로 전이와 주위 조직으로의 침습에 영향을 미치게 된다. 이러한 이유로 EGFR 신호 전달 경로와 함께 Ras 신호 전달 경로를 이해하고 차단하는 것이 대장암 치료에 더욱 중요하게 이용될 수 있다.

K-Ras 변이는 대장암의 50% 이상에서 발견되고 상대적으로 암화 과정의 초기에 영향을 미치는데,⁹ 이 변이에 의해 Ras 단백질은 GTP (guanosine triphosphate)가 결합된 형태로 되어 활성화된다. Ras 신호전달 단백질은 guanosine triphosphatases (GTPases)군의 단백질로서 GTP가 결합하면 활성화되고 GTP가 GDP (guanosine diphosphate)로 되면 불활성화되는데 활성화되면 receptor tyrosine kinase로부터의 신호를 하부 cascade로 연결시켜 세포의 증식을 조절하는 기능을 한다. 활성화된 Ras는 원형질막(plasma membrane)의 표면에 위치하여 여러 신호 전달을 자극하여 결국 세포의 분열을 유발하게 된다.¹⁰

대장암 치료에 있어서 Ras를 표적으로 사용하는 것은 쉽지 않다. Ras의 작용을 차단하기 위한 초기의 시도는 Ras의 기능을 나타내는데 중요한 15-carbon group

을 더해주는 post-translational farnesylation을 억제하는 간접적인 방법으로 이루어졌다. 하지만 현재까지 개발된 farnesyltransferase inhibitor인 tipifarnib (R115777)과 lonafarnib (SCH66366)은 대장암에 대해서 특별한 항암 효과가 없는 것으로 나타났다.¹¹ 이에 대한 대안으로 ISIS-2503 (인체 H-Ras mRNA의 억제제)와 같은 antisense oligonucleotide 이용하여 대장암에서 Ras의 기능을 차단하기 위한 시도가 있었으나 역시 임상에서는 실패하였다.¹²

대장암에서 이와 같은 Ras 억제제의 이용이 왜 가능하지 않은지에 대해서는 여러 가지 설명이 있지만 아직 확실히 이유는 잘 알려져 있지 않다. 최근에는 15개의 carbon group을 붙여주는 farnesylation보다 오히려 20개의 carbon group을 붙여주는 geranylgeranylation에 대해 더 관심이 집중되어 있다. 이러한 여러 연구들의 결과에서 Ras의 기능을 차단하기 위해서는 farnesyltransferase를 억제뿐 아니라 geranylgeranyltransferase를 억제하여 Ras를 표적으로 하는 항암 치료를 하는 것이 필요하다는 의견이 대두되고 있다. 하지만 geranylgeranyltransferase 억제제는 독성 때문에 아직 임상적인 사용이 불가능하다.

3) Raf 신호전달

Raf 원암유전자(protooncogene)는 serine/threonine (Ser/Thr) protein kinase로서 세포막에서 활성화된 성장인자 수용체로부터 오는 신호를 핵 내의 전사인자에게 전달하는 물질이다. Epidermal growth factor, platelet derived growth factor, colony stimulating factor, interleukin-2, interleukin-3 등과 같은 여러 자극들이 모두 Raf를 활성화시킨다. Raf 단백질의 활성화는 이 단백질의 tyrosine, serine, threonine 잔기(residue)에 인산화를 동반한다. Receptor tyrosine kinase에 의한 직접적인 인산화 또는 이들 수용체들에 의해 조절되는 단백질 인산화 효소들에 의한 인산화가 Raf 활성화의 기전으로 알려지고 있다. 수용체에 의해 조절되는 경우에 Ras가 Raf의 활성화에 관여하게 된다. Raf에 도달한 신호는 다시 Raf/MEK/MAPK로 이어지는 신호 전달 경로를 통해 핵으로 전달된다. 이러한 신호 전달 경로에는 일련의 kinase들이 종으로 배열되어 신호를 전달하게 되는데, 이는 세포의 성장과 분화에 필수적인 역할을 수행한다.¹³

이처럼 Raf는 Ras 기능의 주요 번식자로서 작용하여 이 단백질의 작용을 억제하는 것에 대한 Ras의 변이가 있거나 활성화되어 있는 암의 경우 항암 치료에 대해

이론적인 배경을 제공해 주었다. Raf 단백질에는 A-Raf, B-Raf, C-Raf의 세 가지의 기능을 하는 isoform이 있는데 그 중에서 B-Raf가 Ras에서 MEK 신호전달을 연결하는데 중요한 역할을 한다. 대장암에서는 10% 정도에서 B-Raf의 변이가 있는 것으로 알려져 있고 최근의 연구에 의하면 K-Ras의 변이가 없는 종양에서 이러한 변이가 발견되는 것으로 알려져 있다.¹⁴

이와 같이 신호의 활성화는 Raf나 K-Ras의 변이 둘 모두를 통해 일어날 수 있어서 이론적으로는 Raf의 기능을 직접적으로 억제하면 Raf나 Ras의 변이에 의해 촉발된 종양의 성장을 억제할 수 있다. 이러한 사실을 배경으로 Raf 신호전달을 억제하기 위해서 antisense oligonucleotide와 small molecule tyrosine kinase inhibitor가 개발되었다. 그 중 ISIS-5132는 c-raf kinase mRNA를 표적으로 하는 antisense oligonucleotide인데 이 약제는 치료 받지 않은 전이성 대장암 환자를 대상으로 시행한 2상 임상 시험에서 그리 좋은 결과를 나타내지는 못하였다.¹⁵

또 다른 약제인 Sorafenib (BAY 43-9006)은 A-Raf과 변이형 혹은 wild type의 B-Raf 모두에게 작용하는 small molecule inhibitor인데 이 약제는 대장암 세포주에서 MAPK 전달 경로를 억제하고 인체 대장암의 이종 이식 모형에서 항암 효과를 나타낸다.¹⁶ 하지만 실제 임상 시험에서는 결과가 그리 좋지 못하여 현재는 대장암에서 기존의 세포독성을 갖는 항암제에 결합하여 사용하는 방법으로 연구가 진행 중에 있다.

4) Rho 단백질과 신호전달

Rho family는 Rho (A, B, C), Rac (1, 2), Cdc42 (Cdc42Hs, G25K), Rho D, RhoG, RhoE, TC10으로 구성되어 있다. Rho 단백질은 Ras처럼 활성형의 GTP 결합형과 불활성형인 GDP 결합 사이를 cycling하면서 molecular switch로 작용하여 세포 내 downstream effector와 결합하여 액틴 중합과 유전자 발현 조절과 같은 다양한 세포 내 기능에 관여한다. Rho 단백질의 effector로는 Ser/Thr kinase인 p160ROCK과 p140mDia이 있는데 이들은 세포 골격의 변화에 영향을 미친다.¹⁷

Rho subfamily 단백질의 가장 널리 알려진 기능은 세포 골격 재구성인데 Cdc42는 액틴 중합을 개시하여 filopodia 혹은 micro-spike 형성 및 focal adhesion 복합체의 형성을 촉진하며, Rac은 membrane ruffling과 lamellipodia를 형성하며, Rho는 microfilament 다발로 되어 있는 stress fiber와 focal adhesion 복합체의 형성을 조절한다. 이러한 세포 골격 조절 기능 외에도 Rho 단백

질이 유전자 발현과 세포 주기 진행의 조절에도 관여함이 알려지고 있다. 또한 전사인자인 serum response factor (SRF)를 활성화시키는데, 이와 같은 Rho와 SRF와의 관계가 암의 발생에 어떤 역할을 할 것으로 생각하고 있다.¹⁸

정상 세포가 암세포로 변형되는 과정에서 여러 가지 세포 골격의 변화가 생기므로 Rho계 단백질이 정상 세포의 암 변형에 중요한 역할을 하리라는 것은 잘 알 수 있는 사실이다. 그러나 아직 이러한 Rho 단백질이 인체 악성 종양에서 변이가 발생한다는 증거는 없다. 그러나 이들 단백질을 GDP 결합 상태에서 GTP결합 상태로 바꾸는 교환 단백질의 변이가 암의 발생에 관여한다는 사실이 Rho 신호 전달 경로가 암의 발생에 중요한 역할을 하리라는 것을 강력히 시사하고 있다.¹⁹

발암에 관련된 Rho계 신호전달분자로 맨 먼저 알려진 것이 Dbl이다. Dbl은 NIHT3 유전자 이입 assay에서 인위적으로 발생한 암 단백질이며 이후 Vav, Tiam, Ect2, FGD1 등이 알려졌다. 이들의 기능은 다 밝혀져 있지는 않지만 이들 모두 약 300개의 아미노산으로 이루어지고 GDP/GTP 교환에 필요한 Dbl-상동부위라 불리는 핵심 영역을 가지고 있다. 이들 암 유전자가 기능이 저하되면 Rho계 단백질에서 GDP/GTP 교환을 하지 못해 결과적으로 Rho계 단백질을 활성화시키게 되며 이 결과로 세포를 암 세포로 변형시키게 된다. 대장암에서는 이러한 Rho 단백질 중 RhoA의 발현이 높게 나타남이 보고되어 있으며 Rho 단백질의 effector molecule인 pak-1이 대장암의 진행과 관련이 있다고 보고되어 있다.²⁰

5) Mitogen Activated Protein Kinase (MAPK) 신호 전달 경로

앞서 고찰했던 Raf 단백질의 신호 전달 경로상의 일차적인 기능은 MEK (MAPK kinase (MAPKK))을 인산화하여 활성화 시키는 것이다.²¹ 다시 MEK는 ERK1과 ERK2 (MAPKs)의 인산화를 촉진시킨 다음 인산화된 phospho-ERK (pERK)는 이합체를 형성하고 핵 내로 자리를 옮겨 전사인자를 활성화시키고 세포의 분열과 분화, 생존, 침습, 그리고 전이를 유발한다.²² 활성화된 MAPK는 대장암에서 높은 빈도로 관찰되는데, 활성화된 MAPK는 지속적으로 MEK를 활성화한다(Fig. 2). 이와 같은 ERK/MAPK 단계는 전사 인자를 활성화시키는 단계이며 그의 위치 자체가 세포의 분열, 그리고 암의 발생과 관련된 여러 활동들에 있어 가장 마지막 단계라는 점에서 대장암을 비롯한 여러 악성 종양 치료의 좋은 표적으로 여겨져 왔다. 임상 전 단계 연구 모형에서 small molecule inhibitor를 이용한 MEK의 억제제는 세포사를 유발하는 것으로 나타났다.²³

이 신호 전달 경로를 표적으로 하는 최초의 임상적인 시도는 MEK1과 MEK2의 경구용 small-molecule inhibitor인 CI-1040이었다. 1상 임상 시험에서 종양 조직 내의 활성화된 phospho-MAPK (pMAPK)를 감소시키는 효과를 보여주었지만 20명의 대장암 환자를 대상으로 한 실제 2상 임상 시험에서는 객관적인 치료 효과를 보이는데 실패하였다.²⁴ 그 외에도 2세대 MEK1과 2의 억제제가 개발되어 현재 임상 영역에서 효능을 평가 중에 있다.

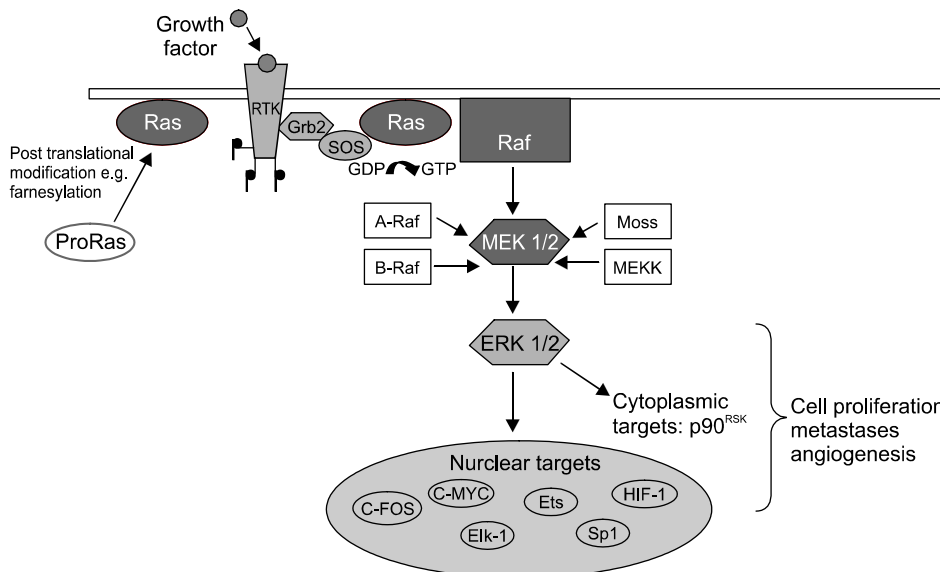


Fig. 2. Overview of the Ras-Raf-MEK-ERK signaling pathway. General signaling events following binding of the receptor tyrosine kinase by ligand. Sequential activation of Ras-Raf-MEK-ERK results in phosphorylation of both cytoplasmic and nuclear targets leading to cell proliferation, metastases, and angiogenesis.

6) Wnt 경로: APC와 β -카테닌

Wnt1은 MMTV에 의해 생성된 마우스 유방에서 바이러스가 삽입되어 활성화되는 암 유전자로 처음 밝혀졌다. 대장암을 포함한 일부 암에서 wnt2나 wnt5 등의 발현 증가가 보고되기도 하였으며 이들이 사람의 암 발생에 어떤 역할을 하는지에 대해 많은 연구가 있어왔다. 최근에 이들의 수용체와 함께 세포 내 신호 전달 경로가 어느 정도 밝혀지면서 Wnt 세포 내 신호전달의 이상이 대장암 발생에 관여할 가능성이 매우 높은 것으로 밝혀졌다.

Wnt는 최근에 이의 수용체로 밝혀진 초파리의 Frizzled를 통해 신호를 전달한다. wnt신호 전달계에는 Dishevelled와 함께 GSK3 (glycogen synthase kinase 3) 그리고 β -카테닌이 관여한다. wnt는 GSK3의 활성을 감소시키며 GSK3는 Wnt 신호 전달을 하향 조절하게 되는데 현재 GSK3의 기질로는 APC와 β -카테닌이 잘 알려져 있다. APC가 β -카테닌과 결합하면 β -카테닌의 분해를 촉진하며 이것이 β -카테닌이 농도를 낮게 유지하는 기전으로 작용한다. GSK3는 APC를 인산화하여 β -카테닌과의 결합을 증가시키며 결과적으로 β -카테닌의 분해를 촉진하게 된다. 따라서 Wnt는 GSK3의 활성을 억제하여 APC의 인산화를 감소시키므로 결과적으로 β -카테닌의 세포내 양을 증가시키게 되는 것이다(Fig. 3).²⁵

APC 유전자는 유전성 대장암의 원인 유전자로 발견되었는데 2,843개의 아미노산으로 이루어진 APC 단백질은 여러 부위에서 다른 단백질과 결합한다. 이 중 가장 중요한 것이 단백질의 중앙에 위치하며 β -카테닌과 결합하는 탠덤 반복 모티프이다. 암에서 발견된 변이의 대부분은 이 부위가 결손된 것이며 이 결손으로 APC는 β -카테닌과 결합하지 못하여 결과적으로 β -카테닌의 분해가 일어나지 않게 된다.

β -카테닌은 처음에는 세포-세포간의 접착 단백질로 알려졌으나 β -카테닌이 암 발생에 관여할 수 있다는 것은 Wnt-1에 의한 암 발생 신호 전달에 β -카테닌이 참여한다는 사실에서 알게 되었다. 그 후 β -카테닌이 암 억제 유전자인 APC와 결합하며 정상 APC가 β -카테닌의 분해를 촉진한다는 사실이 밝혀졌으며 최근에 인체 암 조직과 암 세포에서 β -카테닌 변이가 발견되고 변이 β -카테닌은 APC에 의한 하향 조절을 받지 않는 것이 알려지면서 β -카테닌이 암 유전자로 작용할 가능성과 APC와 β -카테닌으로 이어지는 신호 전달 경로가 대장암 발생에 관여할 것으로 생각하고 있다.²⁶ Wnt 경로가 대장암의 발암 과정뿐 아니라 암의 전이에도 굉장히 중요한 역할을 하고 있음이 명백한데도 아직 이에 대한 약제의 개발은 아직 미미한 실정이다. 하지만 앞으로 연구가 더 진행되면서 이 신호 전달 경로와 관련한 약제들도 개발이 될 것으로 생각한다.

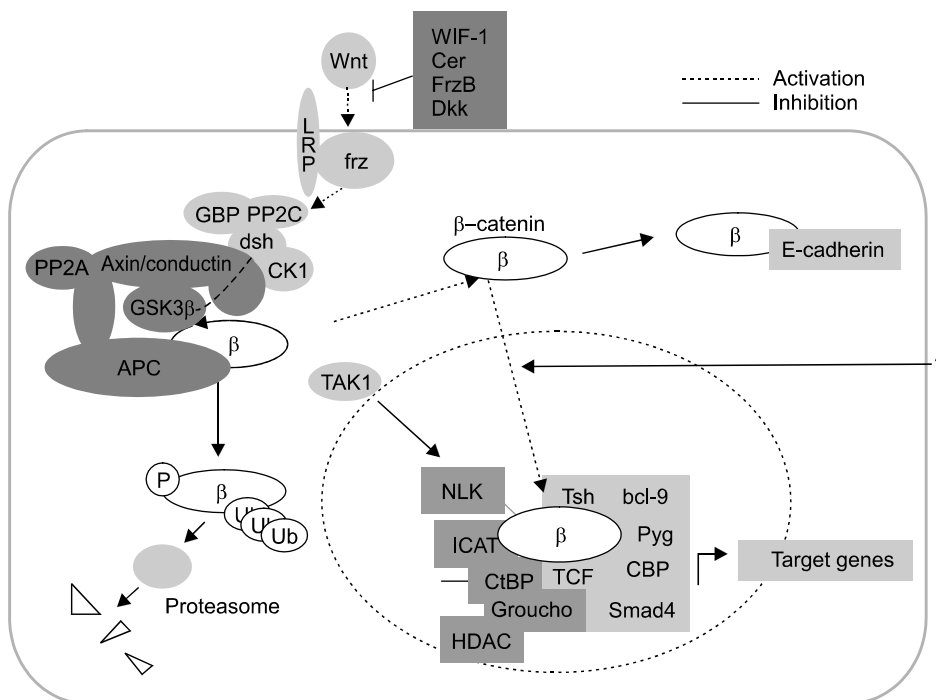


Fig. 3. The Wnt signaling pathway. Wnts are secreted glycoproteins that bind to and activate frizzled (frz) seven-transmembrane-span receptors. Wnt signaling leads to a stabilization of cytoplasmic β -catenin, the main effector of the Wnt pathway. In the absence of Wnts, β -catenin is phosphorylated (p) at the N-terminal serine and threonine residues 33, 37, 41, 45 by glycogen synthase kinase 3 β (GSK3 β), which triggers ubiquitination and subsequent degradation in proteasomes.

7) Insulin-Like Growth factor (IGF) 수용체

IGF 경로는 IGF-1과 IGF-2 그리고 IGF 결합 단백질이 두 가지의 IGF 수용체인 IGF-1R과 IGF-2R에 결합함으로써 시작된다. IGF1과 IGF2는 우리 몸의 많은 세포들에서 생성되어 IGF-R과 결합하여 종양의 성장을 촉진하고 아폽토시스를 억제한다.²⁷ EGF를 포함한 많은 성장 인자들은 IGF-1R의 발현을 촉진한다. IGF-1이나 IGF-2가 IGF-1R에 결합하면 downstream 세포 신호 전달이 일어나게 되고 이 결과로 EGFR 신호전달과 같이 ras/raf/MAPK, PI3K/AKT, JAK/STAT 신호전달을 활성화시키게 된다.²⁸

IGF2의 mRNA나 단백질은 대장암의 약 1/3에서 과 발현되는 것으로 알려져 있다.²⁹ IGF-1R 단백질은 대장암의 90% 이상에서 발현되지만 정상 대장 점막에서는 거의 발현이 되지 않는다.³⁰ IGF-1은 대장암 세포를 아폽토시스로부터 보호하며 대장암 세포에서 IGF-1R의 작용을 억제하면 대장암 세포의 성장이 억제되는 것으로 알려져 있으며, 현재 다양한 항체와 small molecule inhibitor들이 대장암을 대상으로 임상 시험 중에 있다.³¹

8) Platelet-Derived Growth Factor (PDGF)와 PDGF 수용체

PDGF는 네 가지의 isoform이 있으며 이들 isoform은 섬유모세포 (fibroblast)나 평활근 그리고 내피세포(endothelial cell)에 위치하는 tyrosine kinase α 와 β 수용체에 일차적으로 결합하여 수용체의 자가 인산화를 초래한다.³² 이 결과로 세포의 분열, 생존, 그리고 이동에 영향을 미치게 된다. PDGF 경로는 혈관 형성에도 영향을 미치는 것으로 알려져 있다. PDGF는 대장암의 83% 정도에서 발현되고 이의 발현은 microvessel density를 증가시키고,³³ PDGF의 자극으로 생체 내에서 대장암 세포의 성장이 증가한다.³⁴

치료적인 측면에서는 PDGF- β 수용체를 억제하면 대장암에서 interstitial hypertension과 transcapillary transport를 감소시키게 되어 결과적으로 항암제의 운반을 용이하게 할 수 있다. 현재 이 신호전달경로와 관련하여서는 두 가지의 PDGF tyrosine kinase inhibitor인 imatinib mesylate (STI571)과 SU011248이 임상적으로 연구가 되고 있다. 두 약제는 다수의 표적을 가지는데, imatinib은 bcr-abl 암 유발 단백질과 c-kit, 그리고 PDGFR을 억제한다. 현재 imatinib은 위장관 간질 종양과 만성 골수성 백혈병에서 임상적으로 사용되어 임상적 효과

가 입증되고 있으며 대장암에서의 효과에 대해서는 현재 대장암 환자들을 상대로 연구가 진행되고 있다.^{35,36}

9) 표피성장인자수용체(EGFR; Epidermal Growth Factor Receptor)

성장인자가 세포막에 있는 수용체에 결합하면 수용체는 리간드를 매개로 하여 이합체(dimer)를 형성하여 활성화된다. 따라서 리간드가 결합하지 않더라도 수용체가 이합체를 형성하면 활성화되는데 최근 들어 변이에 의해 구조적으로 이합체를 형성하여 활성화되면서 암 발생에 관여하는 수용체들이 알려지고 있다. 이들 중 대장암과 관련하여 가장 잘 알려진 것이 표피성장인자수용체(EGFR)이다.

EGFR (human EGF receptor, HER)은 세포의 ligand binding domain과 막횡단부위(transmembrane region), 그리고 세포 내 tyrosine kinase domain으로 구성되어 있는 glycoprotein이다.³⁷⁻³⁹ 이 수용체는 ErbB1, ErbB2 (HER-2), ErbB3, 그리고 ErbB4를 포함하는 receptor tyrosine kinase의 ErbB군의 한 구성원이며 c-erb proto-oncogene에 의해 부호화(encoding)된다.⁴⁰

EGFR은 정상 상피, 간질, 신경아교세포(glial cell), 그리고 평활근 조직에서 정상적으로 발현되며 세포 및 조직의 성장과 발달, 그리고 분화를 조절한다. EGFR은 EGF (epidermal growth factor), TGF α , amphiregulin, heparin-binding EGF, poxvirus mitogen, betacellulin과 같은 여러가지 ligand와 반응하며 이들 ligand에 의해 활성화된다.⁴¹ 수용체에 ligand가 결합하게 되면 두 가지 ErbB군 구성원의 이합체화(dimerization)를 통해 세포 내 신호전달이 활성화되고 이러한 kinase에 의해 매개된 신호 전달 경로는 Ras/mitogen activated protein kinase, phosphoinositol-3-kinase/Akt 등의 경로를 거쳐 세포 핵 내에서 전사인자를 활성화시키게 된다.^{42,43}

인체의 모든 표피성 악성종양은 정도의 차이는 있지만 모두 EGFR을 발현한다. 하지만 어떤 악성 종양에서는 EGFR과 이들과 결합하는 ligand의 과발현이 보고되었고 이러한 사실을 이용하여 종양을 치료하고자 하는 시도가 있어왔다.⁴⁴

대장암에서 EGFR의 발현은 종양 주위 정상 점막에서보다 종양이 있는 대장의 점막에서 훨씬 더 높게 나타나는 경우가 많은데, 대장암의 25~77%에서 EGFR이 발현된다.^{41,45} EGFR 경로의 부적절한 조절은 대장암에서 악성화와 관련이 되어 있을 뿐만 아니라 대장암 환자에서 EGFR의 발현은 환자의 경과가 좋지 않음을 예측하게 해 준다. EGFR 양성 세포가 전체의 50%

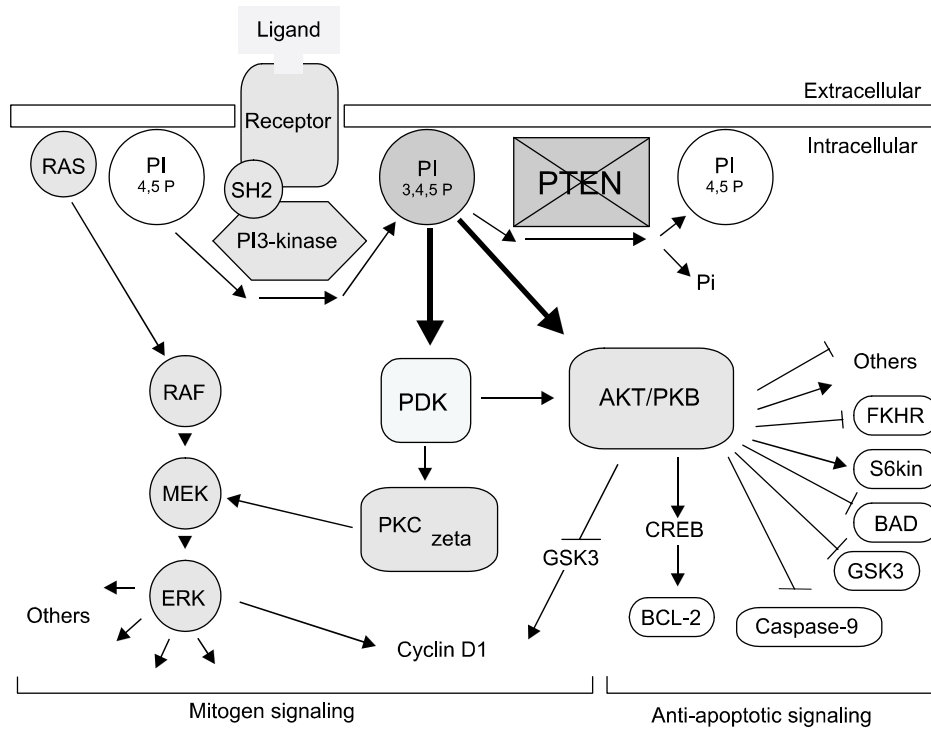


Fig. 4. The PI3K/Akt signaling pathway. Following Akt activation, the kinase translocates around the cell where it phosphorylates and regulates the function of various cellular substrates. These factors then stimulate ERK pathway signaling, thereby promoting cell growth. In the PI3K/Akt pathway, PTEN serves as a negative regulator of Akt by reducing PIP3 levels, thereby effectively shutting off Akt and PDK causing a reduction in mitogen signaling and increasing cellular apoptosis.

미만인 대장암 환자의 경우 EGFR 발현이 높은 환자보다 생존율이 더 높게 나타난다는 보고도 있다.⁴⁶

이러한 세포 내의 신호 전달 경로에서 EGFR의 역할을 토대로 이를 표적으로 하는 대장암의 치료 방법과 약제가 개발되고 있는데, 이들에게는 단클론항체(monoclonal antibody), tyrosine kinase inhibitor, ligand-toxin conjugates, immunoconjugates, antisense therapy 등이 있다. 이 중 tyrosine kinase inhibitor와 단클론항체를 이용한 약제의 개발이 이루어져 있고 현재 임상에서 직접 환자에게 사용되고 있으며 어떤 이유인지 확실치는 않지만 small molecule tyrosine kinase inhibitor는 단일 제제로 대장암에서는 효과를 잘 나타내지 않아 현재 IgG1 단클론항체인 cetuximab이 미국 FDA (Food and Drug Administration)의 승인을 받아 irinotecan에 반응하지 않는 진행성 대장암에 단독 혹은 irinotecan과의 병합요법으로 사용되고 있다.

10) AKT/PI3K 경로

PI3K 경로는 중요한 성장 인자 수용체(growth factor receptor)와 밀접한 관련을 맺으면서 예정된 세포 사멸(programmed cell death), 즉 아포토시스(apoptosis)에 관여하는 것으로 알려져 있었다. AKT의 활성화는 성장 인자수용체의 활성화를 통해 유발되는데, ligand가 다양한 막 성장인자 수용체에 결합하면 상응하는 recep-

tor tyrosine kinase가 PI3K를 활성화하고 이 결과로 PI3K가 세포막에 모이게 되고 PIP3 (phosphatidylinositol (3,4,5)-triphosphate)를 생산하게 된다.⁴⁷ 그 다음으로 PIP3는 AKT를 원형질막에 모이게 하여 이를 인산화시키고 활성화시킨다(Fig. 4). 활성화된 AKT는 mitochondria에서 cytochrome c의 분비를 막고, Fas-ligand와 같은 pro-apoptotic 인자의 발현을 유발시키는 전사인자를 불활성화시키며 pro-apoptotic 인자인 BAD와 pro-caspase-9을 불활성화시키고 nuclear factor kappa B의 positive regulator로 작용하여 항아포토시스 유전자의 전사를 유발함으로써 항아포토시스의 활성을 가지게 된다.⁴⁸ 또한 AKT의 활성화는 cyclin D를 안정적으로 조절하고 p27^{Kip1} 단백질을 억제하여 세포 주기의 진행에도 영향을 미친다. AKT는 내피세포 nitric oxide synthase의 활성화를 매개시켜 종양의 침습성을 촉진시키고 telomerase의 활성을 증강시키기도 한다.⁴⁹

PI3K 경로는 다른 신호전달 경로와 다양한 신호 수수 과정을 맺고 있기도 하다. 이들 경로 사이에는 앞먹임(feed-forward) 및 되먹임(feedback) 관계가 얽혀 있는데, 이런 연결 고리 가운데 핵심 역할을 담당하는 경로가 존재할 가능성이 많다고 생각되고 있다. 일부 연구자들을 그 핵심 고리가 바로 PI3K 경로라고 주장하고 있다.

대장암에서 AKT의 인산화와 PI3K의 활성화는 직접

적으로 종양화 가능성과 관련이 있다. 주위 정상 점막보다 대장암에서 대부분 PI3K의 활성도가 증가되어 있으며 PI3K의 p110 α subunit의 변이가 대장암의 약 1/3에서 관찰된다. 임상 전 모형에서 PI3K와 AKT의 억제제는 항 종양 효과를 나타내었으며 대장암을 대상으로 시행한 임상 연구에서 EGFR 억제제를 투여하였을 때 약제에 대한 반응은 치료 후 AKT 인산화가 소멸된 종양에서만 효과가 나타남을 관찰하여 AKT 단백질이 대장암의 치료에 중요한 역할을 하는 것임을 암시하였다.⁵⁰ 하지만 아직까지 AKT의 억제제가 임상적으로 이용되지는 못하고 있다.

11) mTOR (mammalian target of rapamycin) 신호전달

mTOR는 phosphatidylinositol kinase-like kinase군에 속하는 serine/threonine kinase이다. 이 물질은 성장과 관련된 세포의 작용, 예컨대 전사와 번역(translation), 막 trafficking 단백질의 분해, 그리고 액틴 세포골격의 재편 등의 다양한 세포 활동을 조절한다.⁵¹ 이 물질은 앞서 설명한 AKT 신호전달의 하부에 위치하고 있으며 PI3K/AKT 경로를 활성화시키는 자극에 반응하여 인산화된다.⁵²

가장 잘 알려진 세포 분열과 관련한 mTOR의 기능은 번역 개시를 조절하는 것인데, 이는 40S ribosomal protein S6 kinase (p70s6k)의 활성화와 4E-binding protein (4E-BP1)의 불활성화에 의해 매개된다. 천연 산물인 macrolide antibiotic sirolimus (rapamycin)에 의한 mTOR의 억제는 AKT와 PI3K의 암 유발 작용을 억제한다.⁵³ mTOR의 억제는 phosphatase나 mTOR을 억제하는 종양 억제 단백질인 PTEN (tensin homolog deleted on chromosome ten)의 발현이 부족한 종양에서 더욱 큰 효과를 나타낸다. mTOR의 억제를 위해서 rapamycin 보다 더 훌륭한 약리 효과를 나타내는 여러 mTOR 억제제들이 현재 임상적으로 활발한 연구 중에 있는데, 이런 약제들 중 temsirolimus (CCI 779), RAD001, 그리고 AP23573과 같은 약제들이 대장암 세포주와 이종이식 모델을 대상으로 연구 중에 있으며,⁵⁴ 대장암과 여러 악성 종양을 대상으로 임상 시험이 활발히 진행되고 있다.⁵⁵

12) Tumor Necrosis Factor-Related Apoptosis-Inducing Ligand (TRAIL)와 그의 수용체

일반적인 세포 내 신호전달과 관련된 물질들은 대부분 아폽토시스를 억제하고 세포사멸을 방해한다. 그러나 최근에는 이러한 사실 외에도 세포 내에서 아폽

토시스를 유발하는 신호전달에 대해 관심이 높아져서 이를 여러 종류의 암의 치료에 이용하고자 하는 시도들이 계속되고 있다.

TRAIL은 아폽토시스를 유발하는 TNF ligand superfamily의 한 구성원이다.⁵⁶ 현재까지 네 개의 수용체가 밝혀졌는데, 그 중 TRAIL-R1과 TRAIL-R2가 TRAIL과 결합하여 downstream 신호전달을 매개하여 아폽토시스를 유발한다.⁵⁷ 반면 TRAIL-R3와 TRAIL-R4는 death domain이 기능을 하지 않거나 없어서 아폽토시스 신호를 전달하지 못한다. TRAIL이 기능을 하는 수용체인 TRAIL-R1과 R2에 결합하게 되면 아폽토시스를 야기하는 caspase가 주위로 오게되고 이 결과로 전아폽토시스 단백질인 Bid와 Bax를 활성화시키고 mitochondria에서 cytochrome c의 분비를 유발한다.⁵⁸

대장암에서 TRAIL과 TRAIL-R에 관한 연구에서 TRAIL-R1의 발현이 대장암 환자의 무병생존율과 관련이 있는 독립적인 예후인자로 알려져 있으며 이 수용체의 증가와 환자의 좋은 예후와 관련이 있는 것으로 보고되었다.⁵⁹ Mapatumumab (HGS-ETR1, TRM-1 mAb)는 TRAIL-R1에 대한 인체 단클론항체 작용제 (agonist)로 동물 실험에서는 이 약제의 투여로 대장암의 증식을 억제하는 것으로 나타났으며 현재 진행성 대장암에 대한 2상 임상연구가 진행되고 있다.

결 론

지금까지 인체 세포 내에서 알려진 신호 전달 경로 중 주로 대장암과 관련된 전달경로를 간단히 고찰해보았다. 살펴본 신호 전달 경로 외에도 대장암의 발생과 전이에 관련된 많은 신호 전달 경로가 우리 세포 내에 존재하고 있고, 이에 대한 연구는 앞으로도 계속될 것이다.

암은 기본적으로 세포의 조절되지 않는 이상 증식이다. 암 세포에서는 세포의 생존 및 증식, 분화 및 사멸을 조절하는 주요 유전자들의 발현이 변화되고 이에 따라 세포의 생장이 비정상적으로 조절된다. 세포의 생존과 사멸을 관장하는 유전자들은 면밀히 조절되어야만 하는 중요 인자이므로, 암 세포에서 이들의 신호전달 경로는 특이하고 복잡한 상호작용을 한다. 그러므로 암세포의 증식과 분화, 전이 및 사멸을 조절하는 세포 신호전달의 네트워크를 이해하고 이를 기반으로 암의 발생 및 성장을 조절할 수 있는 분자들을 이해하는 일이 중요한 일이 될 것이다. 이는 암 세포의 기능을 이해하는데 필요할 뿐만 아니라 암의 발생 기

전과 치료법의 개발에 꼭 필요한 일이 될 것이다.

잘 알려져 있다시피 대장암을 비롯한 인체의 여러 악성 종양 치료에서 최근의 화두는 표적치료, 또는 분자치료라고 할 수 있다. 현재 우리가 치료제로 개발할 수 있고 앞으로 개발이 가능한 치료법은 상당 부분 앞서 고찰한 세포 내 신호 전달 경로와 관련한 물질들과 연관이 있다. 세포 내 신호 전달 경로를 이해하는 것은 세포 내 신호 전달 경로상에 있는 단백질의 이상 때문에 암 세포가 이상 증식하고 그러한 이상 신호 전달 경로를 차단하고 이상 단백질을 억제하여 암을 치료할 수 있다는 개념을 이해하는 것이다. 이를 이용하여 정상 세포는 공격하지 않고 암 세포만 선택적으로 공격하는 제제를 개발하고 그 결과로 부작용은 줄이고 효과는 증대시키는, 궁극적으로는 암 환자의 삶의 질을 향상시키는 치료법을 개발하고 시행하는 일이 앞으로 우리들의 또 다른 과제가 될 것이다.

REFERENCES

- Berridge MJ. Inositol triphosphate and calcium signalling. *Nature* 1993;361:315-25.
- Hurwitz H, Fehrenbacher L, Novotny W, et al. Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2004;350:2335-42.
- Saltz LB, Meropol NJ, Loehrer PJ Sr, et al. Phase II trial of cetuximab in patients with refractory colorectal cancer that expresses the epidermal growth factor receptor. *J Clin Oncol* 2004;22:1201-8.
- Massague J. TGF- β signal transduction. *Annu Rev Biochem* 1998;67:753-91.
- Wrana JL, Attisano L, Carcamo J, Zentella A, Doody J, Laiho M, et al. TGF β signals through a heteromeric protein kinase receptor complex. *Cell* 1992;71:1003-14.
- Wieser R, Attisano L, Wrana JL, Massague J. Signaling activity of transforming growth factor β type II receptors lacking specific domains in the cytoplasmic region. *Mol Cell Biol* 1993;13:7239-47.
- Attisano L, Carcamo J, Ventura F, Weis FM, Massague J, Wrana JL. Identification of human activin and TGF β type I receptors that form heteromeric kinase complexes with type II receptors. *Cell* 1993;75:671-80.
- Manning AM, Williams AC, Game SM, Paraskeva C. Differential sensitivity of human colonic adenoma and carcinoma cells to transforming growth factor β (TGF- β): conversion of an adenoma cell line to a tumorigenic phenotype is accompanied by a reduced response to the inhibitory effects of TGF- β . *Oncogene* 1991;6:1471-6.
- Servomaa K, Kiuru A, Kosma VM, et al. p53 and K-ras gene mutations in carcinoma of the rectum among Finnish women. *Mol Pathol* 2000;53:24-30.
- Bos JL. ras oncogenes in human cancer: a review. *Cancer Res* 1989;49:4682-9.
- Rao S, Cunningham D, de Gramont A, et al. Phase III double-blind placebo-controlled study of farnesyl transferase inhibitor R115777 in patients with refractory advanced colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2004;22:3950-7.
- Cunningham CC, Holmlund JT, Geary RS, et al. A phase I trial of H-ras antisense oligonucleotide ISIS 2503 administered as a continuous intravenous infusion in patients with advanced carcinoma. *Cancer* 2001;92:1265-71.
- Wellbrock C, Karasarides M, Marais R. The RAF proteins take centre stage. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2004;5:875-85.
- Nagasaka T, Sasamoto H, Notohara K, Cullings HM, Takeda M, Kimura K, et al. Colorectal cancer with mutation in BRAF, KRAS, and wild-type with respect to both oncogenes showing different patterns of DNA methylation. *J Clin Oncol* 2004;22:4584-94.
- Cripps MC, Figueredo AT, Oza AM, Taylor MJ, Fields AL, Holmlund JT, et al. Phase II randomized study of ISIS 3521 and ISIS 5132 in patients with locally advanced or metastatic colorectal cancer: a National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group study. *Clin Cancer Res* 2002;8:2188-92.
- Wilhelm SM, Carter C, Tang L, Wilkie D, McNabola A, Rong H, et al. BAY 43-9006 exhibits broad spectrum oral antitumor activity and targets the RAF/MEK/ERK pathway and receptor tyrosine kinases involved in tumor progression and angiogenesis. *Cancer Res* 2004;64:7099-109.
- Minden A, Lin A, Claret FX, Abo A, Karin M. Selective activation of the JNK signaling cascade and c-Jun transcriptional activity by the small GTPases Rac and Cdc42Hs. *Cell* 1995;81:1147-57.
- Iwahara T, Akagi T, Shishido T, Hanafusa H. CrkII induces serum response factor activation and cellular transformation through its function in Rho activation. *Oncogene* 2003;22:5946-57.
- Sahai E, Marshall CJ. RHO-GTPases and cancer. *Nat Rev Cancer* 2002;2:133-42.
- Carter JH, Douglass LE, Deddens JA, Colligan BM, Bhatt TR, Pemberton JO, et al. Pak-1 expression increases with progression of colorectal carcinomas to metastasis. *Clin Cancer Res* 2004;10:3448-56.
- Cobb MH, Goldsmith EJ. How MAP kinases are regulated. *J Biol Chem* 1995;270:14843-6.
- Sebolt-Leopold JS, Herrera R. Targeting the mitogen-activated protein kinase cascade to treat cancer. *Nat Rev Cancer* 2004;4:937-47.
- Wang Z, Li Y, Liu ET, Yu O. Susceptibility to cell death induced by blockade of MAPK pathway in human colorectal cancer cells carrying Ras mutations is dependent on p53 status. *Biochem Biophys Res Commun* 2004;322:609-13.

24. Rinehart J, Adjei AA, Lorusso PM, Waterhouse D, Hecht JR, Natale RB, et al. Multicenter phase II study of the oral MEK inhibitor, CI-1040, in patients with advanced nonsmall cell lung, breast, colon, and pancreatic cancer. *J Clin Oncol* 2004;22:4456-62.
25. He B, Reguart N, You L, Mazieres J, Xu Z, Lee AY, et al. Blockade of Wnt-1 signaling induces apoptosis in human colorectal cancer cells containing downstream mutations. *Oncogene* 2005;24:3054-8.
26. Clements WM, Lowy AM, Groden J. Adenomatous polyposis coli/beta-catenin interaction and downstream targets: altered gene expression in gastrointestinal tumors. *Clin Colorectal Cancer* 2003;3:113-20.
27. D'Ercole AJ, Stiles AD, Underwood LE. Tissue concentrations of somatomedin C: further evidence for multiple sites of synthesis and paracrine or autocrine mechanisms of action. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984;81:935-9.
28. Petley T, Graff K, Jiang W, Yang H, Florini J. Variation among cell types in the signaling pathways by which IGF-I stimulates specific cellular responses. *Horm Metab Res* 1999;31:70-6.
29. Lambert S, Vivario J, Boniver J, Gol-Winkler R. Abnormal expression and structural modification of the insulin-like growth-factor-II gene in human colorectal tumors. *Int J Cancer* 1990;46:405-10.
30. Weber MM, Fottner C, Liu SB, Jung MC, Engelhardt D, Baretton G. Overexpression of the insulin-like growth factor I receptor in human colon carcinomas. *Cancer* 2002;95:2086-95.
31. Cohen BD, Baker DA, Soderstrom C, Tkalcevic G, Rossi AM, Miller PE, et al. Combination therapy enhances the inhibition of tumor growth with the fully human anti-type 1 insulin-like growth factor receptor monoclonal antibody CP-751, 871. *Clin Cancer Res* 2005;11:2063-73.
32. Heldin CH, Westermark B. Mechanism of action and in vivo role of platelet-derived growth factor. *Physiol Rev* 1999;79:1283-316.
33. Takahashi Y, Bucana CD, Liu W, Yoneda J, Kitadai Y, Cleary KR, et al. Platelet-derived endothelial cell growth factor in human colon cancer angiogenesis: role of infiltrating cells. *J Natl Cancer Inst* 1996;88:1146-51.
34. Hsu S, Huang F, Friedman E. Platelet-derived growth factor-B increases colon cancer cell growth in vivo by a paracrine effect. *J Cell Physiol* 1995;165:239-45.
35. Attoub S, Rivat C, Rodrigues S, Van Bocxlaer S, Bedin M, Bruyneel E, et al. The c-kit tyrosine kinase inhibitor STI571 for colorectal cancer therapy. *Cancer Res* 2002;62:4879-83.
36. Zhou L, An N, Haydon RC, Zhou Q, Cheng H, Peng Y, et al. Tyrosine kinase inhibitor STI-571/Gleevec down-regulates the beta-catenin signaling activity. *Cancer Lett* 2003;193:161-70.
37. Ogiso H, Ishitani R, Nureki O, Fukai S, Yamanaka M, Kim JH, et al. Crystal structure of the complex of human epidermal growth factor and receptor extracellular domains. *Cell* 2002;110:775-87.
38. Stamos J, Sliwkowski MX, Eigenbrot C. Structure of the epidermal growth factor receptor kinase domain alone and in complex with a 4-anilinoquinazoline inhibitor. *J Biol Chem* 2002;277:46265-72.
39. Wells A. EGF receptor. *Int J Biochem Cell Biol* 1999;31:637-43.
40. Velu TJ. Structure, function and transforming potential of the epidermal growth factor receptor. *Mol Cell Endocrinol* 1990;70:205-16.
41. Salomon DS, Brandt R, Ciardiello F, Normanno N. Epidermal growth factor-related peptides and their receptors in human malignancies. *Crit Rev Oncol Hematol* 1995;19:183-232.
42. Talapatra S, Thompson CB. Growth factor signaling in cell survival: implications for cancer treatment. *J Pharmacol Exp Ther* 2001;298:873-8.
43. Woodburn JR. The epidermal growth factor receptor and its inhibition in cancer therapy. *Pharmacol Ther* 1999;82:241-50.
44. Grandis JR, Sok JC. Signaling through the epidermal growth factor receptor during the development of malignancy. *Pharmacol Ther* 2004;102:37-46.
45. Messa C, Russo F, Caruso MG, Di Leo A. EGF, TGF-alpha, and EGF-R in human colorectal adenocarcinoma. *Acta Oncol* 1998;37:285-9.
46. Mayer A, Takimoto M, Fritz E, Schellander G, Kofler K, Ludwig H. The prognostic significance of proliferating cell nuclear antigen, epidermal growth factor receptor, and mdr gene expression in colorectal cancer. *Cancer* 1993;71:2454-60.
47. Thompson JE, Thompson CB. Putting the rap on Akt. *J Clin Oncol* 2004;22:4217-26.
48. Cross DA, Alessi DR, Cohen P, Andjelkovich M, Hemmings BA. Inhibition of glycogen synthase kinase-3 by insulin mediated by protein kinase B. *Nature* 1995;378:785-9.
49. Vivanco I, Sawyers CL. The phosphatidylinositol 3-Kinase AKT pathway in human cancer. *Nat Rev Cancer* 2002;2:489-501.
50. Salazar R, Tabernero J, Rojo F, Casado E, Martinelli E, Gomez P, et al. Dosedependent inhibition of the EGFR and signaling pathways with the anti-EGFR monoclonal antibody (MAB) EMD 72000 administered every three weeks (q3w): a phase I pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) study to define the optimal biological dose (OBD). *Proc Am Soc Clin Oncol* 2004;22(abstr 2002; suppl):127s.
51. Schmelzle T, Hall MN. TOR, a central controller of cell growth. *Cell* 2000;103:253-62.
52. Hara K, Yonezawa K, Kozlowski MT, Sugimoto T, Andrabi K, Weng QP, et al. Regulation of eIF-4E Bp1 phosphorylation by mTOR. *J Biol Chem* 1997;272:26457-63.

53. Kumar V, Sabatini D, Pandey P, Gingras AC, Majumder PK, Kumar M, et al. Regulation of the rapamycin and FKBP-target 1/mammalian target of rapamycin and capdependent initiation of translation by the c- Abl protein-tyrosine kinase. *J Biol Chem* 2000;275:10779-87.
 54. Clackson T, Metcalf C, Rivera V, Tang H, Bohacek RS, Wang Y, et al. Broad anti-tumor activity of ap23573, an mTOR inhibitor in clinical development. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2003;22(abstr 882):220.
 55. Punt CJ, Boni J, Brunsch U, Peters M, Thielert C. Phase I and pharmacokinetic study of CCI-779, a novel cytostatic cell-cycle inhibitor, in combination with 5-fluorouracil and leucovorin in patients with advanced solid tumors. *Ann Oncol* 2003;14:931-7.
 56. Wiley SR, Schooley K, Smolak PJ, Din WS, Huang CP, Nicholl JK, et al. Identification and characterization of a new member of the TNF family that induces apoptosis. *Immunity* 1995;3:673-82.
 57. MacFarlane M, Ahmad M, Srinivasula SM, Fernandes-Alnemri T, Cohen GM, Alnemri ES. Identification and molecular cloning of two novel receptors for the cytotoxic ligand TRAIL. *J Biol Chem* 1997;272:25417-20.
 58. Li H, Zhu H, Xu CJ, Yuan J. Cleavage of BID by caspase 8 mediates the mitochondrial damage in the Fas pathway of apoptosis. *Cell* 1998;94:491-501.
 59. Strater J, Hinz U, Walczak H, Mechtersheimer G, Koretz K, Herfarth C, et al. Expression of TRAIL and TRAIL receptors in colon carcinoma: TRAIL-R1 is an independent prognostic parameter. *Clin Cancer Res* 2002;8:3734-40.
-