

두경부 암의 표적 지향적 방사선 치료

연세대학교 의과대학 방사선종양학과 연세암센터

김 귀 언

종양 발생 과정에 관여되고 있는 분자 생물학적 기전을 직접 공격해 보자고 하는 치료 방침은 암 치료에 있어서 아주 유망한 치료방법의 하나로 인정되고 있다. Epidermal growth factor receptor (EGFR) 수용체에 여러 ligands가 결합하게 되면 발암 단계에서부터 암의 진행 과정과 전이 과정 그리고 방사선에 대한 저항성과 관련된 여러 가지 중요한 신호전달체계를 활성화시킨다. 특히 진행된 두경부 암 환자들에서 EGFR이 과발현 된 경우에는 매우 불량한 예후를 나타내고 있기 때문에 이러한 signaling pathway의 selective targeting을 위한 많은 임상 시도가 이루어지고 있다. 현재까지 알려진 표적치료 항암제로는 크게 EGFR에 대한 monoclonal antibody와 tyrosin kinase inhibitors로 대별될 수 있는데 이와 같은 약제들은 여러 xenograft에서 고무적인 실험 결과들이 입증되어 곧 바로 임상 현장에서 적용되고 있다. 그러나 기대와는 달리 EGFR inhibitor 단독으로 치료한 초기 임상연구 결과들을 보면 극히 소수의 환자에서만 미미한 효과를 나타내고 있고, 방사선 치료와의 병용치료에서도 괄목할만한 항암 효과를 보여주지 않고 있다. 그럼에도 불구하고 많은 실험적 데이터로부터 여러 가지 생물학적 이점이 밝혀져 있고 또 미래 지향적인 치료법의 하나로 각광을 받고 있기 때문에 현재 많은 연구자들은 어떤 환자 군에서 이러한 표적 치료가 도움이 될 것이며, 방사선 치료 또는 항암 치료와는 어떤 방식으로 조합할 것인지, 또 그 순서는 어떻게 할 것이며, 또 환자 선정에 있어 reliable marker는 무엇인지, 어떻게 체내에서 신호 전달체계의 효과적인 차단을 확인할 수 있겠는지, 또한 multiple targeted therapy가 필요하도록 하는 targeted agent에 대한 intrinsic 또는 acquired resistance의 기전은 무엇인지 등등, 현재 당면하고 있는 많은 문제점을 규명하고자 노력하고 있다. 특히 EGFR-signaling pathway를 표적으로 하는 표적 지향적 방사선 치료를 위한 translation research의 적절한 모델이 되고 있는 두경부 암 환자에서 이러한 제반 문제점을 해결하기 위해서는 더 많은 임상 연구와 함께 well-integrated laboratory clinical research program이 필요할 것으로 생각된다. 또한 EGFR antagonist 외에도 angiogenic pathway나 cell-cycle pathway를 표적으로 하는 새로운 약제들이 계속 개발되고 있고 이에 관한 연구가 활발히 진행 중이다. 따라서 이 고찰에서는 두경부 암 환자에서 이러한 약제들을 방사선 치료와 병용하였을 때의 임상 연구 결과들을 재검토해 보고 부가적으로 EGFR blockade에 따르는 내성 문제 그리고 방사선 치료를 병용하면서 여러 표적을 동시에 차단시키는 multiple-targeted therapy의 개발 현황을 간략히 소개하고자 한다.

핵심용어: 표적치료, 두경부 암, EGFR inhibitor, Angiogenesis inhibitor

서 론

Growth factor receptors와 이에 관련된 tyrosine kinases가 두경부 암의 발암 기전은 물론이고 침윤이나 전이 등, 암의 진행 과정에서도 매우 중요한 역할을 하고 있다는 것은

이미 잘 알려진 사실이다. Epidermal growth factor receptor (EGFR)는 복잡한 신호 전달체계에 관여하면서 상피세포의 성장을 조절한다. 특히 epidermal growth factor (EGF)와 transforming growth factor α (TGF- α)는 이러한 receptor에 작용하는 대표적인 ligands 들로서 80%에 달하는 많은 두경부 암 환자에서 과발현 되고 있다는 것이 많은 임상 연구에서 입증된 바 있다.¹⁻⁴⁾ 또 어떤 tyrosine kinases가 비정상적으로 발현되면 방사선 치료에서 치료 반응과도 밀접한 관계가 있다는 보고도 있다. 더욱이 EGFR이나 TGF- α 가 발현된 암은 근치적 수술을 받거나 방사선 치료를 받은 환자들에서 예후를 예측할 수 있는 신빙성 있는 지표의 하

이 논문은 2004년 6월 14일 접수하여 2004년 6월 14일 채택되었음.
 책임저자: 김귀언, 연세대학교 의과대학 방사선 종양학과 연세암센터
 Tel: 02)361-7600, Fax: 312-9033
 E-mail: gekim@yumc.yonsei.ac.kr

나로 밝혀져 있고, EGFR 발현의 예후 인자 가능성을 더 명확히 규명하고자 Radiation Therapy Oncology Group (RTOG)에서는 정교하게 치료 받은 두경부 암 환자 군 만을 대상으로 조사한 제3상 연구 결과를 최근 발표한 바 있다.²⁾

EGFR이나 그 신호 전달체계를 선택적인 표적으로 하고자 하는 치료법의 개념은 실험실 연구 결과를 근간으로 새롭게 개발된 치료 방법의 하나로서 지금까지 많은 연구자들의 관심의 대상이 되고 있다. 특히 방사선이나 항암 요법이 주요 표준치료가 되고 있는 두경부 암 환자는 이러한 EGFR-signaling pathway를 표적으로 하는 표적 지향적 치료를 위한 translation research의 매우 적합한 모델로 생각되고 있다. 그러나 현재까지의 두경부 암 환자에 대한 임상 연구 결과를 종합해 보면 EGFR 차단제 단독의 치료법은 EGFR을 차단시키는 데 어느 정도 한계성을 나타내고 있고, 또 EGFR 발현이 있는 두경부 암 환자만이 anti-EGFR therapy의 치료 대상이 되어 하는지에 대해서도 아직까지 논란이 있다.¹⁾ 방사선 치료나 동시 항암 방사선요법 시에 EGFR antagonists를 함께 병용했을 때의 효과를 알아보는 여러 가지 임상 시험도 현재 진행 중이다.

본 문헌에서는 EGFR-mediated signal transduction에 관한 개괄적인 소개와 함께 EGFR 발현이 두경부 암 환자들에

서 예후 인자로 사용될 수 있는지를 조사한 여러 임상 자료들을 소개해 보고자 한다. 더불어 두경부 암 환자의 치료에 있어 EGFR antagonists를 단독으로 사용했을 때 또는 이러한 약제들을 항암 요법 내지 방사선 치료와 병용하였을 때의 임상 연구 결과를 제시하고 부가적으로 EGFR blockade에 따르는 내성 문제 그리고 항암 요법과 방사선 치료를 병용하면서 여러 표적을 동시에 차단시키는 multiple-targeted therapy의 개발 현황을 간략하게 고찰해 보고자 한다.

EGFR Signaling의 특성

이미 잘 알려진 대로 모든 EGFR은 extracellular binding domain, transmembrane portion, 그리고 intrinsic tyrosine kinase activity를 갖고 있는 intracellular region의 3 부분으로 구성되어 있다. 이러한 수용체에 EGF나 TGF- α 와 같은 ligands가 결합하게 되면 Fig. 1에서 예시되는 바와 같이 tyrosine kinase activity가 활성화되면서 복잡 다단한 downstream의 intracellular-signaling pathways가 활성화되고 (1) 세포 생존의 증대 및 apoptosis 기능의 약화, (2) 세포 증식 (cell proliferation), 그리고 (3) angiogenesis와 invasion과 같은 암 진행 과정에서 흔히 나타날 수 있는 여러 가지 이차

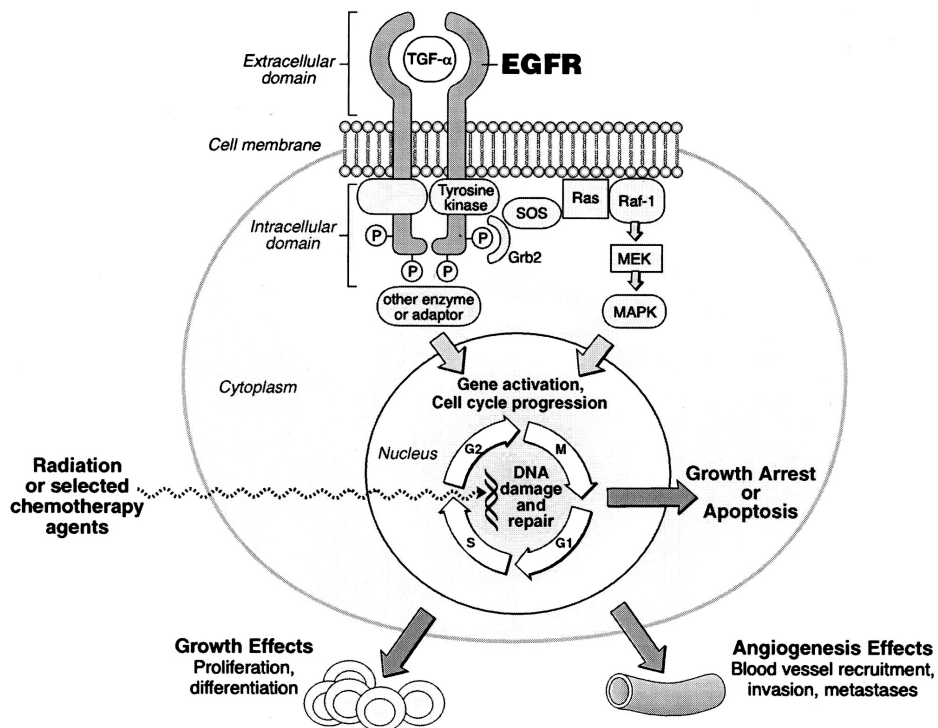


Fig. 1. Simplified schematic illustration of the EGFR system.

적인 생물학적 반응이 일어나게 된다.^{1,4)}

두경부 암 환자의 조직 절편을 이용한 연구 결과들을 살펴 보면 대부분의 환자에서 높은 수준의 EGFR이나 또는 erbB family의 다른 members인 erbB2, erbB3, erbB4가 발현되고 있다는 것이 밝혀져 있다. 지난 10여 년 동안 EGFR로 더 잘 알려진 erbB1의 역할은 이미 상당 부분이 규명되어 있고 또 erbB family members의 하나인 Her에 관한 연구도 비교적 활발히 진행된 편이다. 그러나 아직까지도 erbB2 (Her-2)와 직접 결합하는 ligands들은 명확히 규명되지 않고 있다. 또 erbB3나 epiregulin, neuroregulins, BTC 등을 포함한 erbB4와 선택적으로 결합하는 또 다른 protein ligands들도 있는데, 이와 같은 수용체들은 주로 EGFR. ErbB3와의 heterodimerization을 통해 활성화되며 ligand와 결합할 수는 있으나 intracellular tyrosine kinases가 결핍되어 있어 다른 family member와의 상호 작용이 필요한 경우도 있다.¹⁾ 특히 gliomas와 같은 특수한 악성 종양은 EGFR extracellular domain의 일부가 결손되거나 유실되어 있어서 수용체의 구조적인 활성화가 유도되기도 하는데 부가적으로 EGF와 연관된 ligand가 비정상적인 방법으로 결합하게 되면 EGFR의 활성화를 위해서 autocrine loop가 증진된다. 즉 다발성으로 erbB 수용체를 과발현하는 많은 상피세포 암에선 이러한 별도의 신호 전달체계에 의해서 세포의 변형이나 증식이 일어나기도 하고 암세포의 치료제에 대한 저항성이 만들어지기도 한다.

통상적으로 80~90%의 두경부 암 환자에서 EGFR messenger RNA나 단백질들은 정상 점막보다 암이 존재하는 부위에서 훨씬 더 강하게 발현되지만,³⁾ 때로 dysplastic lesions이나 심지어 조직학적으로 아무 이상이 없는 주변의 정상 점막에서도 발현되기도 한다.⁴⁾ 이러한 사실은 EGFR amplification이 두경부 암의 발암 기전에서 어떤 상당한 역할을 하고 있다는 것을 암시하는 소견이라 할 수 있다. 또 EGF, TGF- α 외에 또 다른 ligands나 수용체가 두경부 암 세포의 증식이나 악성으로의 진행과정을 조절하는 데 어떤 역할을 하고 있는지에 대해서는 아직까지 확실하게 규명되어 있지 않다. 다만, EGF, TGF- α 외에도 heregulin, amphiregulin 등 여러 가지 erbB와 연관된 ligands들이 인간의 두경부 암 세포주에서 in vitro proliferation, invasion, 그리고 angiogenesis에 관여되는 단백질을 조절할 수 있고,⁵⁾ 여러 erbB 수용체들이 활성화되면 transcriptional 및 posttranscriptional mechanisms을 거쳐 downstream genes과의 cross-communication을 일으킨다고 알려져 있다. 이처럼 또 다른 erbB 수용체를 통한 신호 전달체계가 여러 갈래로 중복될 수 있다는 사실은 표적치료에서 EGFR 만을 단독적

인 표적으로 삼는 것 보다는 광범위하게 이러한 receptors family 모든 부분을 다 함께 차단시켜야 한다는 것을 의미한다. 현재까지 이와 같은 EGFR 신호 전달 체계를 차단하는 약물로는 (1) monoclonal antibodies (2) tyrosine kinase inhibitors, 등 두 카테고리의 약제가 확인되고 있다. Cetuximab (C225, Erbitux; Imclone, New York, NY)는 EGFR의 external domain에 대한 chimeric monoclonal antibody로서 preclinical models과 clinical trials에서 가장 광범위하게 연구된 바 있는 약제이다. 그리고 reversible EGFR tyrosine kinase inhibitors (TKIs)로는 현재 ZD1839 (gefitinib, Iressa; AstraZeneca, Wilmington, DE)와 OSI-774 (erlotinib, Tarceva; Genentech, San Francisco, CA) 등이 소개되어 있으며 그 밖에도 여러 약제들에 대한 많은 연구가 활발히 진행되고 있다(Table 1). 지금까지 알려진 두 가지의 TKIs 중에는 EGFR 과 결합하여 phosphorylation과 activation을 방해하면서 동시에 경구투여가 가능하고 분자량이 적은 anilinoquinazolines이 개발되어 있고 또 현재 임상 연구가 진행되고 있는 다른 약제로는 모든 erbB receptors의 활성화를 차단시키는 reversible agent, CI-1033 등도 있다.

두경부 암에서 EGFR의 임상적 의의

몇몇 RTOG 연구자들은 이전의 연구에 포함된 진행된 두경부 암 환자들의 조직 절편을 사용하여 EGFR 발현이 치료 실패 양상을 예측할 수 있는 지표로 이용될 수 있는지에 대한 해답을 얻고자 하였다.²⁾ 연구 분석 결과, EGFR 발현과 원격전이 빈도 사이에는 아무런 연관 관계를 찾아볼 수 없었지만, EGFR-발현이 낮은 암 환자 보다 EGFR-발현이 높은 두경부 암 환자에서 국소 및 림파절 재발이 의의 있게 높은 것으로 나타났다. 더 흥미로운 것은 다변량 분석에서 T-병기보다 오히려 EGFR 발현이 국소 재발을 예측할 수 있는 더 강력한 예측 인자로 밝혀졌다는 점이다. 이러한 임상 결과들은 EGFR 발현이 있으면 방사선에 대한 세포의 저항성이 높아질 수 있다는 in vitro 실험 결과뿐만 아니라 EGFR 과발현이 종양의 방사선 저항성과도 밀접한 관계가 있다는 in vivo 실험에서 얻어진 임상 전 실험 결과들과도 일치되는 소견이라 할 수 있다.^{1,6,7)} 따라서 어떤 방법을 동원해서라도 EGFR을 차단해 주면 국소적으로 진행된 두경부 암 환자에서 방사선 감수성을 증대시킬 수도 있고 더 나아가 치료 결과를 보다 더 향상시킬 수도 있을 것으로 기대되고 있다. 방사선치료에 있어 치료 반응은 Akt와 같은 downstream-signaling proteins의 amplification이나 functionality와 깊은 관련이 있는 것으로 보여지는데

Table 1. New Targeted Biological Agents

Target	Biological agents	Mechanism of action
EGFR	Cetuximab (IMC-C225) Gefitinib (ZD1839, Iressa™) Erlotinib (OSI-774, Tarceva™) CI-1033	mAb Kinase inhibitor Quinazoline-type compounds Quinazoline-type compounds
HER2/c-neu	Trastuzumab (Herceptin™)	mAb
Ras	Lonafarnib (SCH66336, R115777)	Farnesyl transferase inhibitor
PLC/PKC	Affinitak (ISIS 3521, LY90003)	Antisense
VEGF	Bevacizumab (Avastin™)	Angiogenesis inhibitor
VEGF/PDGF/FGF	SU6668	Angiogenesis inhibitor
VEGFR-TKI	ZD6474	Angiogenesis inhibitor
Direct Vascular Targeting	ZD6126	Tubulin-binding
Endogeneous Angiogenesis	Angiostatin and Endostatin	unknown
Cell Cycle	Flavopridol (HMR 1275, L86-8275) E7070	Cyclin-dependent kinase inhibitor Cyclin-dependent kinase inhibitor
Gene Therapy p53	Adp53 (adenoviral)	Supplementation of p53
Functional p53	Onyx 015	Selective killing of p53 mutant cell
Proteasome Pathway	Bortezomib	Proteasome inhibitor

Akt는 주로 apoptosis를 차단하고 암세포의 생존을 조장하는 것으로 알려져 있다.⁸⁾ 또한 Akt staining의 phosphorylated (activated) form과 국소 제어율 사이에서도 의의 있는 연관성이 관찰되고 있지만 EGFR 발현과 p-Akt levels 사이에는 특이한 상관 관계가 관찰되지 않고 있는데 이것은 Akt를 활성화시키는 데 있어 EGFR 보다 또 다른 기전도 함께 작용할 수 있다는 점을 시사하고 있다.

모든 병기를 다 포함시킨 두경부 암 환자들에서 EGFR 발현을 확인한 두 개의 임상 연구가 있는데, Dasonville 등⁹⁾은 정상 점막 조직보다 종양 조직에서 EGFR이 훨씬 더 높은 빈도로 발현되는 것을 발견하였고 동시에 국소적으로 암이 진행된 병기 III-IV에서 높은 수준의 EGFR 발현을 볼 수 있었다는 등, 암의 병기와 밀접한 관계가 있었지만 종양의 발생부위나 분화의 정도에 따라서는 아무런 상관 관계가 없음을 관찰하였다. 이 연구에서 대다수의 환자들이 cisplatin을 근간으로 한 유도 화학요법을 받았고 특별히 국소 치료법에 대해서는 자세히 기술되지 않아 치료 방법이 비교적 일정하지 않은 측면이 있긴 하였지만, 종양 병기는 전체 생존율과 연관이 있었고 EGFR 발현은 무재발 생존율과도 의미 있는 관련성이 있음을 보여 주었다. 흥미로운 것은 종양 안에서 발현되는 EGFR의 정도는 유도화학 요법의 반응과는 아무런 연관성을 나타내지 않았다는 점이다. 또 Grandis 등¹⁰⁾은 수술 후 방사선치료를 받았던 56명과 수술 후 항암 요법을 시행 받은 16명 등, 총 91명의 두경부 암 환자들에서 EGFR과 EGFR의 ligand 인 TGF- α 를 면역조직화학적 분석방법으로 조사한 바 있는데, proportional hazard model을 이용한 correlative analysis에서 EGFR이

나 TGF- α level이 경부의 N-병기와 조합해 보았을 때 생존율을 예측할 수 있는 가장 강력한 예측인자임을 확인하였다. 또 최근 Ang 등²⁾은 RTOG 9003의 제3상 연구에서 통상적인 방사선 요법으로 치료 받은 국소적으로 진행된 두경부 암 환자들의 종양 조직에서 면역조직 화학 분석을 시행한 155명 중 148 (95%) 명의 환자에서 EGFR의 발현을 관찰할 수 있었고, EGFR 발현 양상에도 상당한 차이가 있음을 확인하였다. 또한 Dasonville's series⁹⁾와는 달리 EGFR의 발현과 T 병기, N 병기, 또는 AJCC stage grouping 사이에 특별한 연관 관계를 발견하지 못했지만 중앙값보다 높은 EGFR 발현이 있으면 단변량 분석 및 다변량 분석 모두에서 통계적으로 의의 있는 불량한 전체 생존율 (p=.006) 및 무병 생존율(p=.003)을 보인다는 사실을 확인하였다. 이처럼 두경부 암 환자에서 EGFR amplification이 있을 때 매우 불량한 예후를 나타낸다는 사실은 이미 15년 전부터 잘 알려진 사실이지만,¹¹⁾ 두경부 암 중에서도 인후암만을 대상으로 발표된 3개의 연이은 연구에서 얻어진 결론들을 보면 서로 상충되는 부분이 적지 않다. Miyaguchi 등¹²⁾은 재발된 T1-2 성문 및 성문 하부 암 환자들에서 재발되지 않는 환자 군에 비해 높은 빈도의 EGFR 발현을 관찰할 수 있었다고 보고하였고, Wen 등¹³⁾은 이와는 대조적으로 다양한 범위의 방사선량이 조사된 초기의 인후암 환자들에서 EGFR 상태와는 관계없이 동일한 국소 제어율을 나타냈다는 상반된 결과를 보고하고 있다. 이러한 결과는 아마도 소수의 환자를 대상으로 한 연구에서 낮은 방사선량이 조사되어 비교적 불량한 치료 성적과 함께 EGFR 발현에 따른 예후 인자의 중요성이 통계학적으로 간과된 것이 아닌가 추측

되고 있다. Maurizi 등¹⁴⁾도 보존적 수술(n=67)이나 근치적 수술(n=73)만 시행 받은 140명의 T1-4 인후암 환자의 생검 종양조직을 가지고 radioligand receptor assay로 EGFR 발현을 측정하여 연구 결과에서 다변량 분석으로 T-병기 외에 EGFR 발현 정도가 무재발 생존율과 전체 생존율에 영향을 미치는 가장 중요한 예후 인자라고 보고한 바 있다.

EGFR 이외에 다른 erbB members가 erbB 처럼 하나의 예후 인자로 활용될 수 있는지에 대한 연구는 이제 시작 단계라 할 수 있다. 유방암에서 Her-2로 알려진 erbB2가 비교적 광범위하게 연구된 바 있지만, 두경부 암을 대상으로 한 이와 같은 데이터는 현재까지 그리 많지 않다. 전반적으로 Her-2는 두경부 암 환자의 약 20% 정도에서 발현되고 있고,¹⁵⁻¹⁷⁾ 이것이 upregulation 되면 구강 암에서 경부 임파절 전이 빈도가 높을 뿐만 아니라 불량한 생존율을 나타낸다는 보고가 있다.¹⁸⁾ 또 거의 절반 수의 구강 암 환자에서는 erbB3가 발현되고 있고 erbB3의 upregulation은 높은 경부 임파절 전이 빈도와 연관이 있는 것으로 있는 것으로 나타났으며,¹⁹⁾ 또 구강 암 111예를 대상으로 한 다른 연구에서도 거의 절반 수의 환자에서 erbB4가 발현되고 있는 것이 관찰되었다.²⁰⁾ 수술 절제를 받은 여러 종류의 구강 암 환자 47예의 상관 관계를 비교한 연구에서 모든 erbB family members가 발현되면 환자의 생존 기간이 짧은 것으로 나타났으며 그 중에서도 erbB2의 경우가 가장 강한 영향을 나타냈다. EGFR과 erbB2, erbB3가 동시에 발현되면 그 결과는 유사하였으나, erbB4의 경우는 통계적 의의를 나타내는 예후 인자가 아닌 것으로 밝혀졌다.²⁰⁾ 이와 같이 현재까지 보고된 연구들을 종합해 보면 두경부 암 환자에서 EGFR의 발현은 임상적으로 매우 근거 있는 예후 인자로 사용될 수 있을 뿐만 아니라 intensive therapy modalities를 시험하는 임상 연구에서 불량한 예후를 갖는 환자 군을 선택하는데도 어느 정도 확실한 지표의 하나로 제시될 수 있을 것처럼 간주되고 있다.

EGFR inhibitors에 대한 실험적 연구

지난 5년 동안 EGFR antagonists에 관한 연구가 매우 활발하게 진행되었는데 특히 EGFR에 대한 monoclonal antibodies를 대상으로 많은 연구가 집중되었다. 이제까지의 cetuximab (C225)에 관한 임상 전 연구 결과를 간단히 요약해 보면, 이 antibody는

- ① EGFR에 결합되어 있는 EGF와 TGF- α 를 차단하여 receptor dimerization이나 coupling, 그리고 신호전달 체계의 활성화를 저해한다.²¹⁾

- ② 두경부 암이나 폐암 모델에서 cytotoxicity보다 cytostasis를 유도한다.²²⁾
- ③ cyclin-dependent kinase activation을 방해하여, p27 upregulation을 유도하고 몇몇 암세포 주에서 Rb, MAPK, 및 AKT phosphorylation을 감소시킨다.²³⁾
- ④ BAX (proapoptotic protein)/Bcl-2 ratio를 증가시켜 in vitro에서 apoptosis를 유도한다.²³⁾
- ⑤ 두경부 암 세포주에서 DNA repair enzymes을 감소시킨다.²³⁾
- ⑥ SCC-1 세포의 migration과 invasion을 모두 감약시키면서 SCC-1 xenografts에서 수많은 모세혈관과 성숙한 혈관의 성장을 감소시킨다.²⁴⁾
- ⑦ in vitro 및 in vivo 실험에서 EGFR 발현을 보이는 여러 다른 종양의 세포생존을 저해한다.^{25,26)}
- ⑧ ABX-EGF와 같은 EGFR에 대한 fully humanized antibodies를 사용해도 A431 tumors에서와 같은 유사한 반응이 일어나며 monotherapy만으로도 어떤 established xenografts의 완전 관해를 유도할 수 있다.²⁷⁾

이와 같은 실험 결과들을 근간으로 anti-EGFR antibodies를 항암 치료나 방사선치료 시에 병용해서 사용해야 한다는 관심이 고조되기 시작하였다. 이온화 방사선도 그 자체만으로 EGFR 신호전달 체계를 급속하게 활성화시킬 수 있는데,²⁸⁾ 이것은 proliferation, angiogenesis, 및 전이를 일으키는 downstream transcription factors에 의한 일련의 pro-survival response의 하나로 볼 수 있다.^{24,28)} 더 중요한 사실은 암세포 성장을 억제하는 방사선의 효과가 EGFR 발현량의 정도에 따라 반비례적인 관계를 나타낸다는 것이다.⁷⁾ 이런 이유 때문에 EGFR 신호전달 체계가 차단되면 방사선의 세포치사 효과가 증대될 수 있다는 가설이 생겨나게 되었고 실제로 이러한 가설은 anti-EGFR agents를 방사선 치료와 병용하였을 때 additive 내지 supra-additive effects를 나타낼 수 있다는 것이 많은 실험들에서 입증된 바 있다.^{1,21-24)} 또 cetuximab를 방사선과 병용하였을 때 cetuximab에 반응하는 두경부 종양 모델에서는 tumor apoptosis가 증가될 뿐만 아니라 angiogenesis도 감소되는 현상이 관찰되고 있다.^{21,24)}

다른 erbB family receptors의 발현이나 암 세포 내에서 일어나는 다른 신호 전달체계에 따라 EGFR antagonists에 의한 종양 반응이 부분적으로 어떤 영향을 미치는지에 대해서는 아직까지 확실한 해답이 없지만, exogenous EGF-related ligands가 존재하면 부분적으로 anti-EGFR agents의 종양 관해가 어느 정도 영향을 받기 때문에 원하고자 하는 효과를 달성하기 위해서는 다른 EGFR의 family members

들을 이중 삼중으로 차단해야 할지도 모른다.²⁹⁾ PTEN, ras, Akt, 그리고 insulin growth factor receptor 1과 같은 downstream proteins에 돌연변이가 생기거나 발현 정도가 유난히 높게 나타나면 이 경우엔 EGFR 발현과 관계없이 종양 반응이 다르게 나타날 수도 있다.

핵 내에서 cytoplasmic signals과 gene messages의 transcription을 전달 하는데 관련이 있는 protein family, STAT3가 두경부 암에서도 발견된다는 보고도 있다.³⁰⁾ EGFR 활성화와 많은 연관이 있지만, 두경부 암에서 STAT3는 EGFR 신호 체계와는 별개로 작용하며 EGFR 발현량이 낮은 어떤 두경부 암 세포 주에서도 증폭되어 나타나기도 한다.³¹⁾ STAT3의 활성화 내지 비활성화를 통해 암세포의 성장을 조절할 수도 있는데 이러한 현상은 별개의 autocrine/paracrine loop에서 interleukin-6 cytokine의 상호 작용과 연관이 있는 것처럼 보인다. 따라서 STAT3를 선택적인 표적으로 고려해 보는 것도 두경부 암 성장을 억제시킬 수 있는 또 다른 방법의 하나로 제시되고 있다.

두경부 암에서 EGFR TKIs의 역할에 관한 데이터도 이제 막 나오기 시작하고 있다. 예를 들어 ZD1839 (gefitinib)에 관한 in vitro studies 결과들을 보면,

- ① Akt와 MAPK pathways를 거치는 EGFR 신호전달 체계를 방해한다.
- ② G1 주기에 있는 세포들을 정지시킨다.
- ③ EGFR을 발현하는 인간 암 세포주나 xenografts에서 성장을 억제하고 항암제나 방사선치료를 병용했을 때 additive 내지 synergistic 효과를 보여 준다.
- ④ 항암제나 방사선치료를 병용했을 때 독성이 미미하다.

그밖에 여러 가지 다른 소 분자 EGFR TKIs가 현재 두경부 암을 위한 임상 전 시험에서 이용되고 있고, OSI-774도 EGFR 양성인 두경부 암 xenograft model에서 괄목할 만한 효과를 나타낸다는 보고도 있다.³²⁾

두경부 암 치료에서 EGFR inhibitors의 초기 임상 경험

1. Single-agent therapy with EGFR antagonists

전통적인 표준 치료에 반응하지 않는 진행된 고형암을 대상으로 OSI-774의 효능을 시험하는 제1상 연구가 마무리 되었다.³³⁾ 총 환자 40명 중 3명이 두경부 암 환자였는데 이 중 EGFR-positive 종양을 가졌던 환자는 치료 후 15개월 동안 stable disease를 보였다. Cetuximab과 유사하게 흔히 관찰되던 부작용은 경미한 grade 1~2 설사와 acne-like 피부 발진이 있었는데 이러한 발진은 OSI-774의 용량을 증가

시켰을 때 더 심하게 나타났다. 2명에서 grade 3~4의 심한 설사 증세가 관찰되었지만 치료 종료 후에 대부분 곧 회복되었다. 항암 치료에 반응하지 않는 진행된 두경부 암 환자 114명을 대상으로 한 또 다른 제2상 연구에서는, 종양 반응을 평가할 수 있었던 78명 중 23%가 부분 관해, 29%는 stable disease, 그리고 58%의 환자에선 disease progression을 보였다. 치료 부작용은 acne-like 피부 발진(28% grade 1, 34% grade 2, 8% grade 3), 오심, 구토, 두통, 설사, 피로감 등이 관찰되었고 2명의 환자에서는 약물 투여가 중단되었다고 보고하였다.³⁴⁾

Baselga 등³⁵⁾은 8예의 두경부 암 환자를 포함한 진행성 또는 전이성 종양환자 88명에서 ZD1839에 대한 제1상 연구를 진행하였다. 비록 객관적인 반응은 없었으나 더 이상 암이 진행되지 않은 채, 어느 정도 안전성을 유지하였고, dose-limiting toxicity로는 grade 3 설사, 불면증 등이 관찰되었다. 또한 최근에 국소적으로 진행되었거나 전이성 병변을 가진 두경부 암 환자에서 ZD1839 monotherapy에 대한 제2상 연구 결과가 발표되었는데, 평가가 가능했던 40명의 환자 중 20%는 완전 또는 부분 관해, 35%는 stable disease, 45%는 disease progression을 보였다. 1명에서 grade 3 drug-related neurotoxicity로 myelopathy 소견을 보였지만, 치료 후 곧 회복되었고, 1명은 grade 2 acne-like 발진 때문에 치료를 중단하였으며, 3명은 경 중 정도의 설사로 인해 용량을 낮춰야만 했다. 다른 부작용으로는 grade 1~2 설사(45%), acne-like 발진(45%), 오심(14%), 식욕감퇴(20%) 등이었다. 흥미롭게도 acne-like 발진은 ZD1839에 대한 반응과 밀접한 관련이 있었다.³⁶⁾

CI-1033은 경구 투여로도 효과가 있는 irreversible pan-erbB TKI의 하나인데 DLT, minimal toxic dose, pharmacokinetic profiles를 결정하기 위한 제1상 연구에서 주당 100~560 mg 범위의 용량만으로도 반응이 올 수 있다는 것을 알게 되었고, 두경부 암 환자 3명을 포함한 34명의 진행된 병기의 환자들 중, 560 mg을 사용한 2명에서 dose limiting hypersensitivity reaction를 관찰할 수 있었다.³⁶⁻³⁷⁾ 또 EGFR에 대한 humanized monoclonal antibody인 EMD72000을 가지고 진행된 악성 종양 환자들을 대상으로 한 제1상 연구가 시도되었는데 과거에 치료 받은 적이 있는 2명의 진행된 두경부 암 환자를 포함한 22명 중 5명(23%)만이 부분 관해를 보였고, EGFR 발현 유무에 따른 EMD72000에 대한 종양 반응에는 커다란 차이가 없었으며, MTD 이하의 용량에서도 EGFR signaling pathway의 차단이 일어날 수 있음을 확인한 바 있다.³⁸⁾

2. Combinations of EGFR antagonists with radiation

두경부 암에서 방사선치료와 병용해서 사용하는 cetuximab의 안정성과 효능을 알아보는 최초 연구는 Birmingham에 있는 University of Alabama에서 시작되었다.³⁹⁾ 임상 연구에서 사용한 cetuximab의 loading dose는 처음 100 mg/m²에서 시작하여 500 mg/m²까지 증량하였고 주당 100~250 mg/m²을 사용하였는데, 방사선 치료는 일일 선량 2 Gy씩 총 70 Gy를 주었으며 추가적으로 3명의 환자에선 1.2 Gy BID로 총 76.8 Gy를 조사하였다. 가장 자주 관찰되는 부작용으로는 발열, 무력증, transaminase elevation, 오심, 그리고 피부 반응 등이 있었다. 1명의 환자는 처음 주사 시에 cetuximab에 대한 anaphylactic reaction을 일으켜 투여를 중지하였다. 대부분의 부작용은 방사선 치료와 연관된 것이었고 모든 환자들에서 객관적인 반응을 볼 수 있었으며 연구자들은 제2-3상 연구를 시행할 때 필요한 용량으로 주당 250 mg/m²를 유지하면서 400~500 mg/m²가 적절할 것이라고 추천하였다. 연이은 400여 명의 환자를 대상으로 방사선 치료 단독군과 방사선 치료에 cetuximab을 병용해서 치료한 환자군의 성적 차이를 비교하는 prospective randomized trial이 종결되어 최초의 결과가 조만간 곧 알려지게 될 것이다.

Pfister 등⁴⁰⁾은 병기 III/IV 두경부 암 환자에서 동시 항암 방사선 치료 중에 cetuximab를 병용하는 제1상 연구를 보고한 바 있는데 사용된 cetuximab는 400 mg/m²의 loading dose 후에 주당 250 mg/m²씩 동시에 투여하고 항암 치료는 cisplatin 100 mg/m²을 각각 1주와 4주에 정맥 주사하면서 방사선 치료는 concomitant boost radiation을 시행하는 등

환자가 사망하였는데 그 중의 한 명은 폐렴과 관련이 있었고, grade 4 독성으로는 아나피락시스, 심근 경색, 그리고 심한 구강 점막염 등이 포함되었다. 그럼에도 불구하고 전체 2년 생존율은 76%, 그리고 26개월의 평균 추적기간 중에 21명 중 16명이 무병 상태로 생존하는 우수한 치료 성적을 보이고 있었지만 저자들은 좀 더 독성이 적은 regimens을 사용할 것을 권장하고 있다.⁴⁰⁾

또 다른 약제의 하나로 cisplatin을 근간으로 한 동시 항암 방사선치료에서 OSI-774를 병용하는 치료가 Johns Hopkins Hospital에서 국소적으로 진행된 두경부 암 환자를 대상으로 제1상 연구가 진행 중에 있다. 진행된 두경부 암 환자를 대상으로 동시 항암 방사선치료에서 ZD1839를 병용하는 치료를 테스트하기 위해 University of Colorado Comprehensive Cancer Center를 중심으로 다 기관이 참여하는 제1상 연구도 현재 진행 중이다.⁴¹⁾

Table 2는 지금까지 시행되었거나 시행 중에 있는 임상 시험들을 종합해 본 도표로서 현재까지 진행된 두경부 암을 대상으로 anti-EGFR antibodies나 TKIs를 단독으로 사용했을 때는 비소세포성 폐암의 경우에서처럼 15% 전후의 기대 이하의 비교적 저조한 반응률을 나타내고 있다. 진행된 비소세포성 폐암을 대상으로 한 INTACT 1-2의 제3상 연구에서와 같이 cisplatin과 cetuximab의 병용요법과 cisplatin 단독치료를 비교한 ECOG의 무작위 제3상 연구에서도 마찬가지로 긍정적인 결과를 얻지 못하고 있는데, 이러한 점은 두경부 암의 치료에 있어 표적 지향성 치료의 역할을 재고할 필요가 있다는 문제점이나 한계성을 시사한다고 할 수 있다. 더욱이 tumor EGFR 발현 그 자체가 반드시 EGFR TKIs의 감수성을 예측하는 기준이 되지 않는다는 in

Table 2. Phase I-III Trials with EGFR Targeted Agents and Radiation in Head Neck Cancer

Authors	Targeted Therapy	Patients	Phase	Results
Anti-EGFR monoclonal antibodies				
Robert <i>et al.</i>	RT+C225	Locally advanced HNC	I	13/16 CR
Pfister <i>et al.</i>	RT/concurrent DDP +C225	Locoregionally advanced HNC	I	~90% CR, 2 year DFS: 65%
Bonner <i>et al.</i>	RT+C225	Locally advanced HNC	III	87% CR
Vokes <i>et al.</i>	RT/concurrent 5-FU and HU+Bevacizumab	Advanced HNC	I	Pending
EGFR-TKI				
Raben <i>et al.</i>	RT/weekly CDDP+Gefitinib	Advanced HNC	I	Pending
Hidalgo <i>et al.</i>	RT/weekly cisplatin+OSI-774	Advanced solid malignancies	I	Pending
Remick <i>et al.</i>	RT/docetaxel+Erlotinib	Locally advanced HNC	I	Pending

상당히 적극적인 치료를 시행하였다. 치료 도중에 2명의 vitro의 결과나 in vivo 임상 전 실험 결과들은 이런 점을

더 부채질하고 있다.^{41,42)} 사실상 동일한 조직학적 형태일지라도 세포 생존의 활성화를 위한 체계는 개개 종양마다 다양한 양상을 나타낼 수 있다.⁴³⁾ 즉 PI-3K, MAPK, 또는 STAT3 같은 다양한 downstream signaling pathways가 존재하기 때문에 EGFR antagonists에 대한 반응에도 다양한 차이를 나타낼 수 있다는 것이다. 이러한 현상들 때문에 이러한 약제의 선택은 좀 더 신중을 기할 필요가 있고 또 보다 더 확실한 연구 결과를 기다릴 필요성이 대두되고 있다.

두경부 암 치료에서 angiogenesis inhibitors

모든 악성 종양은 growth factor receptor 발현과 상관없이 주위 조직으로의 침윤이나 전이를 일으키기 위해서는 반드시 새로운 혈관이 생성되어야 하며 새로운 혈관의 형성이 이루어지지 않으면 2~5 mm의 작은 크기로 남아 있는 경우가 대부분이다. 종양 내부와 주변에 섞여 있는 혈관 조직들은 비교적 혼잡하고 다양한 형태를 취하고 있어서 정상적인 혈관 조직들과 명백한 차이가 있지만, tumor angiogenesis도 embryonic angiogenesis와 유사하게 angiogenic stimulator 및 inhibitor와의 상호 작용에 따라 조절되며 암의 성장이 미미한 dormancy 상태에서 암이 급속도로 팽창되는 시기에 이르면 angiogenic stimulator가 angiogenic inhibitor를 훨씬 압도하게 된다.^{44,45)}

종양의 성장을 위해서 vascular endothelial growth factor (VEGF)와 그와 연관된 receptor (VEGFR)는 매우 중요한 역할을 한다. 특히 antiangiogenic 또는 vascular targeting agent를 통한 angiogenesis inhibition은 EGFR 발현이 없거나 EGFR inhibitor에 반응이 없는 암의 치료에 있어 하나의 대안으로 등장되고 있다. 이온화 방사선도 VEGF와 같은 proangiogenic molecule의 생성을 활성화한다.⁴⁴⁾ 더욱이 방사선에 의한 proangiogenic nitric oxide pathway가 upregulation 되면 Fig. 2에서 보는 바와 같이 endothelial cell 내에서 tumor angiogenesis를 촉진하는 phenotypic change가 일어나며 이런 방법으로 angiogenesis가 방해를 받게 되면 좀 더 향상된 방사선 반응을 나타낼 수도 있다.⁴⁵⁾

Teicher 등⁴⁶⁾은 angiogenesis를 차단 시켰을 때 방사선의 세포치사 능력이 향상 될 수 있음을 관찰하였다. 이러한 연구 결과를 바탕으로 현재 VEGFR-TKIs, VEGF에 대한 antibodies나 VEGFR, endostatin, COX-2 inhibitors, 그리고 direct vascular targeting drugs와 같은 여러 합성 물질들을 방사선 치료와 함께 병용해서 사용하고자 하는 임상 시도가 이루어지고 있다. ZD6474는 angiogenesis를 차단하는 여러 가지 VEGFR-TKIs 중에서 방사선 치료와 병용할 때

EGFR과 VEGFR을 동시에 차단시킬 수 있는 효과를 기대할 수 있기 때문에 가장 전망이 밝은 약제의 하나로 인정되고 있다.⁴⁷⁾ 이 약제에 대한 연구는 EGFR-TKI resistant xenograft model인 비소세포성 폐암 Calu-6를 가지고 시행된 바 있는데 이 연구에서 ZD6474 50 mg/kg을 방사선 치료 2시간 전에 투여하거나 치료 후 30분 내에 투여한 경우 모두에서 종양 반응이 향상되는 것을 관찰할 수 있었다.⁴⁸⁾ 특히 이러한 종양 반응은 동시 투여의 경우보다 방사선 치료 2시간 전에 경구로 투여했을 때 효과가 극대화되는 것을 관찰할 수 있었는데 이러한 실험 데이터들은 향후 임상 연구를 디자인할 때 투여의 순서 방법도 염두에 두어야 한다는 점을 시사한다고 생각된다. EGFR과 VEGFR이 모두 발현된 두경부 암 세포주를 가지고 EGFR inhibitors를 사용했을 때와 사용하지 않았을 때 방사선과 ZD6474를 병용요법의 효과를 비교하는 연구가 현재 University of Colorado Cancer Center에서 진행 중에 있다.

ZD6126 (N-acetylcolchicol-O-phosphate)은 intratumoral blood vessels을 방해할 수 있도록 디자인된 direct vascular-targeting agent이다. Tubulin-binding agent N-acetylcolchicol의 prodrug의 하나인 ZD6126는 beta tubulin과 결합하여 microtubular network을 파열시키면서 tumor neoendothelium과 같은 proliferating endothelial cells에서 세포의 형태를 급속하게 변화시키고 종양 혈관들에서는 폐쇄 소견을 일으킨다. 이와는 대조적으로 성숙된 정상 endothelial cells에서는 tubulin disruption과 같은 현상이 일어나지 않는다. 주 1회 한 번 ZD6126를 투여 받은 KHT sarcoma xenograft model에서 방사선 반응이 현저하게 증강되는 것을 관찰할 수 있었다는 보고가 있으며 복강 내로 ZD6126를 주입시켰을 때 human A549 비소세포성 폐암 xenografts의 성장이 억제되고 분할 방사선 조사와 함께 ZD6126를 병용하면 protracted tumor regression과 더불어 supra-additive effects를 기대할 수도 있다는 보고도 있다.^{1,49)} 이러한 현상들은 EGFR inhibitors에 저항을 보이는 두경부 암에서 방사선과 동시에 사용해 볼 가치가 있는 흥미 있는 약제가 될 수도 있다는 이론적 근거를 제공하고 있다.

두경부 암에서 Multi-targeted therapy의 전망

최근의 실험 결과들을 종합해 보면 암 세포들은 EGFR 신호 전달체계 뿐만 아니라 다른 경로의 growth pathway를 사용하거나 downstream signaling effector들을 조직적으로 활성화 시킴으로써 성장이 방해 받는 것을 피해 가는 것으로 알려져 있다. 예를 들면 A431 xenograft는 proangiogenic

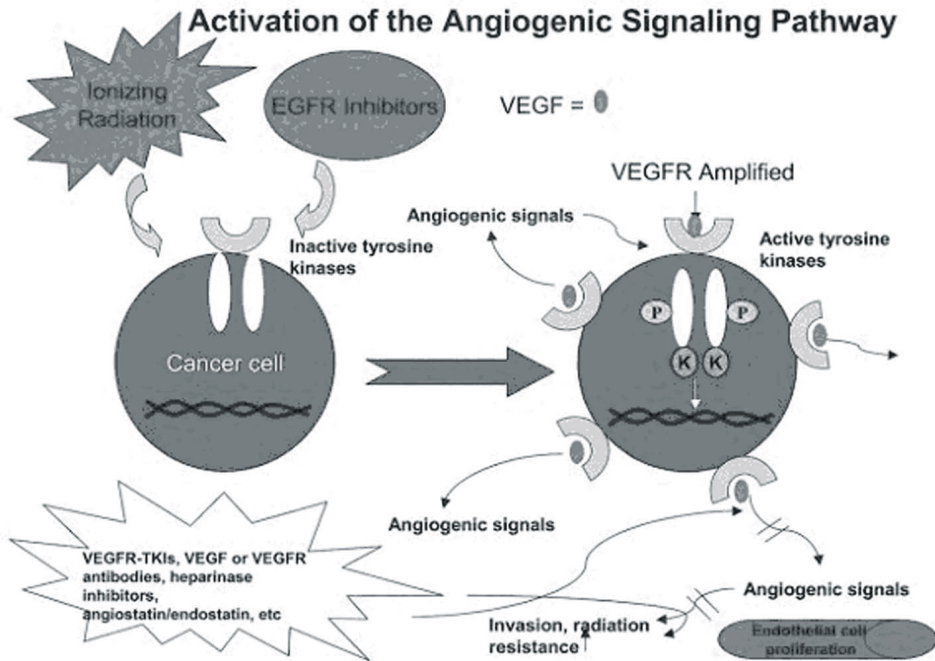


Fig. 2. Strategies to counteract upregulation of angiogenic signaling pathways as a result from either resistance to EGFR inhibitors or via radiation.

VEGF의 과발현을 통해 angiogenesis를 upregulating 함으로써 cetuximab이나 hR3 같은 anti-EGFR antibody에 대한 저항성을 얻게 되며,⁵⁰⁾ glioblastoma cell에서 insulin-like growth factor I이 활성화되면 오히려 antiapoptotic PI-3K signaling pathway를 지속적으로 강화시킴으로써 EGFR inhibitor의 항 증식 효과를 능률적으로 상쇄시키고 있음이 in vitro 실험에서 관찰되었다.¹⁾ 이와 같이 한 종양세포 내에서 여러 가지 신호 전달체계가 공존하고 있다는 사실은 여러 pathway를 동시에 치료의 표적으로 삼아야 한다는 치료 전략의 이론적 근거가 된다. 예를 들어 여러 anti-EGFR agents, cAMP dependent kinase inhibitor (type I PKA), VEGF antisense oligonucleotide 또는 ZD1839를 anti-erbB-2인 trastuzumab과 같이 동시에 병용하여 투여하였을 때 in vivo 또는 in vitro 임상 전실험에서 지속적인 항암 효과를 기대할 수 있었다는 보고가 있고,¹⁾ Jung 등도 murine anti-VEGFR antibody인 DC101과 IMC C225를 동시에 사용하였을 때 위암 세포의 증식 자체가 의미 있게 차단됨을 관찰한 바 있다.⁵¹⁾ 또한 ZD1839에 ZD6126을 추가함으로써 ZD1839에 대해 중증도의 감수성을 나타내는 A549 비소세포성 폐암 xenograft의 항암 반응을 현저하게 강화시킬 수 있었으며 가장 극대화된 효과는 ZD1839, ZD6126과 분할 방사선 조사 세 가지를 동시에 모두 병용하였을 때였다는 보고도 있다.⁵²⁾

Cyclin dependent kinase의 broad spectrum inhibitor인

flavopridol도 두경부 암 세포주의 in vitro 및 in vivo 실험에서 고무적인 proapoptotic activity를 보이고 있다.^{53,54)} Flavopridol 치료는 in vivo에서 cyclin D1 감소와 함께 종양 성장이 현저하게 억제되었고,⁵³⁾ 유사한 결과들이 구강암 세포주를 대상으로 한 in vitro 실험에서도 관찰되었다.⁵⁴⁾ 따라서 flavopridol을 multi-target therapy에 이용하고자 하는 연구가 현재 진행 중에 있는데 예를 들어 trastuzumab과 flavopridol의 병용은 G1 progression이나 RB phosphorylation에 거의 영향을 미치지 않지만 유방암 세포에서는 매우 강화된 apoptosis를 나타낸다. 앞에서 언급되었듯이 EGFR과 VEGFR signaling에 대해 dual inhibitory action을 보이는 새로운 신약들이 계속 개발되고 있다. ZD6474는 Fig. 3에서 보는 바와 같이 KDR/VEGFR-2 tyrosin kinase activity와 EGFR에 의해 활성화되는 kinase를 포함한 다른 tyrosin 및 serine-threonin kinase의 기능도 차단시킬 수 있는 분자량이 아주 적은 차단제로 알려져 있다.⁴⁷⁾ Taguchi 등⁵⁵⁾은 ZD6474가 ZD1837-sensitive 비소세포성 폐암 PC-9 xenograft 뿐만 아니라 ZD1839에 resistant한 PC-9/ZD xenograft의 성장도 모두 억제할 수 있음을 관찰하였다고 보고한 바 있다.

EGFR의 서로 다른 domain에 작용하는 다른 두 약제를 복합하여 사용하는 연구도 함께 진행되고 있다. Matar 등⁵⁶⁾은 높은 EGFR-발현을 나타내는 종양을 대상으로 in vivo 와 in vitro 실험에서 ZD1839와 cetuximab의 병용 효과를 연

Predicting Response To Anti-EGFR Agents

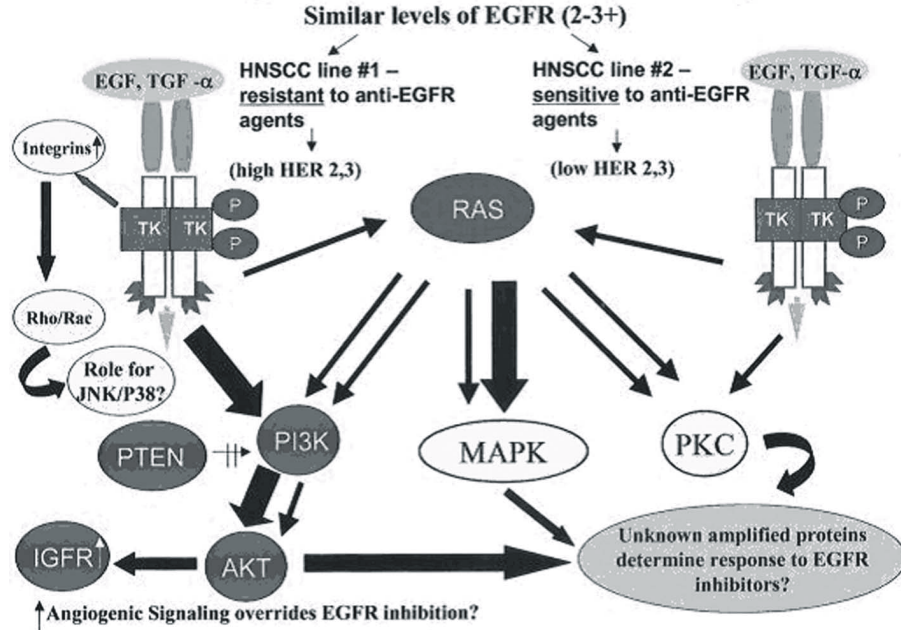


Fig. 3. ZD6474, a dual inhibitor of EGFR TK and VEGFR TKs, and its inhibitory effects on EGF and VEGF signaling, tumor cell growth, and metastasis.

구하였는데 두 약제의 병용이 단독 사용보다 supra-additive effect ($p < 0.05$)를 보인다고 보고하였다. A431 xenograft에서 ZD1839 25 mg/kg와 cetuximab을 병용하였을 때 90%의 growth inhibition과 함께 10개 중 3개의 종양에서 완전 관해를 보여 주었고, 용량을 더 높혀서 50 mg/kg의 ZD1839와 cetuximab를 병용하였을 때는 종양 100% 모두에서 완전 관해를 보였다고 보고하였다. 또 extracellular domain의 다른 부위와 결합하여 erbB family member와 dimerization되는 것을 막는 역할을 하는 Her2 receptor에 대한 humanized antibody, 2C4가 개발되었다.⁵⁷⁾ 초기 연구는 Her2 양성 및 음성 세포주에서 모두 괄목할만한 효과를 나타내었다는 보고가 있는데 두경부 암에 대한 multi-target therapy에서 2C4가 어떤 역할을 할 수 있는지에 대해서는 현재 연구가 시작되고 있다.

기타 Molecular-targeted therapy

1. Farnesyl transferase inhibitors

구강암 환자의 27%에서 *h-ras* 유전자의 돌연변이를 관찰할 수 있고, farnesyl transferase inhibitors는 두경부 암 세포주에서 상당한 항암 효과가 있다는 보고가 있다. 수술이 예정되어 있는 새로 진단된 두경부 암 환자들을 대상으로 SCH 66336 (lonafarnib)에 대한 제1상 연구가 시행되었다.

환자들은 8~14일 동안 서로 다른 세 용량의 lonafarnib 또는 placebo를 투여 받는 군으로 randomization되었는데, 두 target protein인 DNA-J와 prelamin A의 baseline value에서, protein farnesylation이 강력히 차단되고 있음을 증명하였고 4명의 환자에서 종양 감소되는 것을 관찰할 수 있었다.⁵⁸⁾ 또 다른 임상 전 데이터들을 살펴보면 lonafarnib는 다른 compound, 특히 taxanes과의 synergism을 보여 주고 있으며 최근 완료된 lonafarnib과 paclitaxel의 병용에 대한 제1~2상 연구에서는 두경부 종양에서 어느 정도 활동성이 있다는 증거를 보여 주고 있고,⁵⁹⁾ 두경부 암을 대상으로 한 두 약제의 병용에 대한 제2상 연구도 현재 진행 중에 있다.

2. Cell cycle regulations

E7070은 cyclin-dependent kinase phosphorylation을 차단하면서 cell cycle의 G1 주기를 표적으로 하는 synthetic sulfonamide로서 RB protein의 hypophosphorylation과 G1/S transition을 방해하는 약물이다. 재발 두경부 암 환자나 전이성 두경부 암 환자를 대상으로 E7070을 사용한 제2상 연구에서 700 mg/m²를 3주 간격으로 투여해 본 결과 객관적인 반응이 나타나지 않은 것으로 보고된 바 있다. 그러나 pharmacodynamic data에서는 종양 내에서 cyclin-dependent kinase activity가 억제될 수 있었으며, RB phosphorylation의 post-treatment modulation을 초래할 수 있음을 보여 주고 있다.⁶⁰⁾

3. Gene therapy

Tumor suppression gene인 p53은 두경부 암 환자의 40~70%에서 돌연변이를 보이고 있기 때문에, wild-type p53이 대부분의 gene replacement therapy에 대한 연구의 중심이 되고 있다. 진행된 두경부 암 환자들에서 adenoviral-mediated p53 gene transfer에 대한 초기 제1상 연구에서, 평가 가능했던 환자 18명 중 9명의 환자에서 일정한 임상 반응이 관찰되었고 이후 200명 이상의 재발 환자들을 대상으로 한 제2상 연구에서도 10% 정도의 반응률이 관찰되었다.⁶¹⁾ 두경부 암에서 p53 mutation을 이용하는 또 다른 방법으로 E1B region에 결손이 있는 adenovirus mutant를 투여하는 방법이 있는데 이는 replication만 할 수 있기 때문에 functional p53 (Onyx 0-15)이 결여된 세포에서 세포 용해를 일으킬 수 있다는 점을 이용한 것이다. 일반적으로 Onyx 0-15 intratumoral injection은 비교적 안전한 것으로 알려져 있으며 두경부 암에 대한 제2상 연구에서, 재발 암 환자 36명 중 4명에서 객관적인 반응을 나타냈다는 보고가 있다.⁶¹⁾ 또 Onyx 0-15와 항암제의 병용요법을 시행한 30명의 환자 중 8명에서 완전 관해를 그리고 11명의 환자에서 부분 관해를 보여 주고 있는데 이 연구에서 반응했던 중앙 중에는 최소 6개월의 추적 기간 동안 더 이상 병이 진행되지 않는 것을 관찰할 수 있었다는 보고도 있다.

4. Proteasome inhibitors

Ubiquitin-proteasome pathway는 cell cycle과 apoptosis에 관여하는 단백질의 degradation을 조절한다. 강력한 proteasome 차단제로 알려져 있는 bortezomib은 두경부 암 환자의 preclinical model에서 cytotoxic 효과뿐만 아니라 radiosensitizing activity를 나타내고 있다. 구제 재방사선 치료가 필요한 재발된 두경부 암 환자들에게서 bortezomib과 함께 방사선의 dose escalation study가 진행되고 있는데 예비 결과에서 비교적 고무적인 항암 효과를 보인다는 보고가 있다.⁶²⁾

결 론

대부분의 preclinical study에서 anti-EGFR agent를 항암 치료나 방사선 치료와 동시에 병용했을 때 synergistic effect를 보인다고 보고하고 있다. EGFR mediated signaling을 차단하면 암 세포의 증식이 억제될 뿐만 아니라 angiogenesis와 cancer cell motility가 간섭을 받게 된다. 비소세포성 폐암 중앙 모델에서 항암 요법과 동시에 ZD1839를 투여했을

때 이에 대한 반응은 EGFR 발현 정도와는 상관이 없는 것으로 보고됨에 따라 비소세포성 폐암에서 TKI와 항암제를 병용한 57개의 제3상 연구에서는 EGFR 상태에 따른 환자 selection이 요구되지는 않고 있다. 단독으로 사용했을 때 중등 정도의 반응을 나타내는 데도 불구하고 대부분의 제3상 연구에서 나타난 부정적인 결과들 때문에 향후 더 정확한 biomarker에 대한 필요성과, 중앙 반응을 결정짓는 주요 인자, 그리고 상호 작용에 따르는 메카니즘 등을 설명할 수 있는 쪽으로 연구 방향이 수정되고 있다. 중요한 것은 EGFR inhibitor에 의해 생긴 피부 발진의 정도가 중앙의 반응을 뿐만 아니라 생존율까지 예측 가능케 한다는 것이다. Cetuximab을 사용한 4개의 제2상 연구에서, 이 연구에는 진행된 두경부 암 환자도 포함되어 있었는데, acne-like rash가 발생했던 환자는 좀 더 오래 생존하고 피부 발진이 심하면 심할수록 생존 기간이 연장되었기 때문에 발진이 cetuximab에 대한 효율이나 효과를 예측할 수 있는 주요 인자일 수 있다고 추측되고 있다. Gefitinib monotherapy로 치료한 진행된 두경부 암 환자에 대한 제2상 연구에서도 이와 비슷한 결과가 관찰되었다. 그러나 gefitinib으로 치료한 진행된 폐 비소세포 암 환자에서는 이러한 조건들이 관찰되지 않고 있다.

지금까지도 cetuximab과 방사선을 병용했을 때의 효능을 평가한 randomized trial의 결과는 아직 없다. 그러나 지금까지의 인상은 EGFR antagonist가 특별히 방사선에 의한 구강 점막염을 현저하게 증가시키지는 않는다는 것이다. 서로 다른 혹은 여러 개의 molecular signaling pathway에 영향을 미치는 새로운 약제들에 대한 이러한 관찰로, 방사선 치료 또는 항암 요법과 multi-targeted regimen과의 병용에 대한 preclinical study가 시작되었는데, 이 분야에서의 발전은 임상 시험에서 새로운 multi-targeted therapy를 연구하는데 있어 biomarker에 바탕을 둔 환자의 선택이나 stratification에 대한 전략을 세우는 데 크게 이바지하게 될 것으로 생각되고 있다.

참 고 문 헌

1. Raben D, Bianco C, Milas L, Ang KK. Targeted therapies and radiation for the treatment of head and neck cancer: Are we making progress? *Semin. Radiat. Oncol* 2004;14:139-152
2. Ang KK, Berkey BA, Tu X, et al. Impact of epidermal growth factor receptor expression on survival and pattern of relapse in patients with advanced head and neck carcinoma. *Cancer Res* 2002;62:7350-7356

3. Grandis JR, Melhem MF, Barnes EL, et al. Quantitative immunohistochemical analysis of transforming growth factor- and epidermal growth factor receptor in patients with squamous cell carcinoma of the head and neck. *Cancer* 1996;78:1284-1292
4. Grandis J, Tweardy D. Elevated levels of transforming growth factor and epidermal growth factor receptor messenger RNA are early markers of carcinogenesis in head and neck cancer. *Cancer Res* 1993;53:3579-3584
5. O-Chaonrat P, Rhys-Evans P, Eccles S. Expression and regulation of c-ERBB ligands in human head and neck squamous carcinoma cells. *Int J Cancer* 2000;88:759-765
6. Sheridan MT, O'Dwyer T, Seymour CB, et al. Potential indicators of radiosensitivity in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Radiat Oncol Invest* 1997;5:180-186
7. Akimoto T, Hunter NR, Buchmiller L, et al. Inverse relationship between epidermal growth factor receptor expression and radiocurability of murine carcinomas. *Clin Cancer Res* 1999;5:437-443
8. Gupta AK, McKenna WG, Weber CN, et al. Local recurrence in head and neck cancer: Relationship to radiation resistance and signal transduction. *Clin Cancer Res* 2002;8:885-892
9. Dassonville O, Formento JL, Francoual M, et al. Expression of epidermal growth factor receptor and survival in upper aerodigestive tract cancer. *J Clin Oncol* 1993;11:1873-1878
10. Grandis J, Melhem M, Gooding W, et al. Levels of TGF- and EGFR protein in head and neck squamous cell carcinoma and patient survival. *J Natl Cancer Inst* 1998;90:824-832
11. Hendler F, Shum-Siu A, Nanu L, et al. Overexpression of EGF receptors in squamous tumors is associated with poor survival. *J Cell Biochem* 1988;12:105
12. Miyaguchi M, Olofsson J, Hellquist HB. Expression of epidermal growth factor receptor in glottic carcinoma and its relation to recurrence after radiotherapy. *Clin Otolaryngol* 1991;16:466-469
13. Wen QH, Miwa T, Yoshizaki T, et al. Prognostic value of EGFR and TGF- α in early laryngeal cancer treated with radiotherapy. *Laryngoscope* 1996;106:884-888
14. Maurizi M, Almadori G, Ferrandina G, et al. Prognostic significance of epidermal growth factor receptor in laryngeal squamous cell carcinoma. *Br J Cancer* 1996;74:1253-1257
15. Craven JM, Pavelic ZP, Stambrook PJ, et al. Expression of c-erbB-2 gene in human head and neck carcinoma. *Anticancer Res* 1992;12:2273-2276
16. Beckhardt RN, Kiyokawa N, Xi L, et al. HER-2/neu oncogene characterization in head and neck squamous cell carcinoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1995;121:1265-1270
17. Field JK, Spandidos DA, Yiagnisis M, et al. C-erbB-2 expression in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Anticancer Res* 1992;12:613-619
18. Xia W, Lau Y, Zhang H, et al. Strong correlation between c-erbB-2 overexpression and overall survival of patients with oral squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 1997;3:3-9
19. Shintani S, Funaymam T, Yoshihama Y, et al. Prognostic significance of ERBB3 overexpression in oral squamous cell carcinoma. *Cancer Letters* 1995;95:79-83
20. Xia W, Lau YK, Zhang HZ, et al. Combination of EGFR, HER-2/neu and HER-3 is a stronger predictor for the outcome of oral squamous cell carcinoma than any individual family members. *Clin Cancer Res* 1999;5:4164-4174
21. Mendelsohn J. Epidermal growth factor receptor inhibition by a monoclonal antibody as anticancer therapy. *Clin Cancer Res* 1997;3:2703-2707
22. Huang SM, Harari PM. Modulation of radiation response after epidermal growth factor receptor blockade in squamous cell carcinomas: Inhibition of damage repair, cell cycle kinetics, and tumor angiogenesis. *Clin Cancer Res* 2000;6:2166-2174
23. Huang SM, Bock JM, Harari PM. Epidermal growth factor receptor blockade with C225 modulates proliferation, apoptosis, and radiosensitivity in squamous cell carcinomas of the head and neck. *Cancer Res* 1999;59:1935-1940
24. Huang SM, Li J, Harari PM. Molecular inhibition of angiogenesis and metastatic potential in human squamous cell carcinomas after epidermal growth factor receptor blockade. *Mol Cancer Ther* 2002;1:507-514
25. Mendelsohn J, Fan Z. Epidermal growth factor receptor family and chemosensitization. *J Natl Cancer Inst* 1997;89:341-343
26. Ciardiello F, Tortora G. A novel approach in the treatment of cancer: Targeting the epidermal growth factor receptor. *Clin Cancer Res* 2001;7:2958-2970
27. Lynch DH, Yang XD. Therapeutic potential of ABX-EGF: A fully human anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody for cancer treatment. *Semin Oncol* 2002;29:47-50
28. Dent P, Reardon DB, Park JS, et al. Radiation-induced release of transforming growth factor α activates the epidermal growth factor receptor and mitogen-activated protein kinase pathway in carcinoma cells, leading to increased proliferation and protection from radiation-induced cell death. *Mol Biol Cell* 1999;10:2493-2506
29. Motoyama A, Hynes NE, Lane HA. The efficacy of ErbB receptor-targeted anticancer therapeutics is influenced by the availability of epidermal growth factor-related peptides. *Cancer Res* 2002;62:3151-3158
30. Grandis JR, Drenning SD, Chakraborty A, et al. Requirement of Stat3 but not Stat1 activation for epidermal growth factor receptor-mediated cell growth *In vitro*. *J Clin Invest* 1998;102:1385-1392
31. Sriuranpong V, Park JI, Amornphimoltham P, et al. Epidermal growth factor receptor-independent constitutive activation of STAT3 in head and neck squamous cell carcinoma is mediated by the autocrine/paracrine stimulation of the interleukin 6/gp130 cytokine system. *Cancer Res* 2003;63:2948-2956
32. Pollack VA, Savage DM, Baker DA, et al. Inhibition of epidermal growth factor receptor-associated tyrosine phosphorylation in human carcinomas with CP-358,774: Dynamics of receptor inhibition *in situ* and antitumor effects in athymic

- mice. *J Pharmacol Exp Ther* 1999;291:739-748
33. Hidalgo M, Siu LL, Nemunaitis J, et al. Phase I and pharmacological study of OSI-774, an epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor, in patients with advanced solid malignancies. *J Clin Oncol* 2001;19:3267-3279
 34. Senzer N, Soulieres D, Siu L, et al. Phase 2 evaluation of OSI-774, a potent oral antagonist of the EGFR-TK in patients with advanced squamous cell carcinoma of the head and neck. *Proc ASCO* 2001;20:2a
 35. Baselga J, Rischin D, Ranson M, et al. Phase I safety, pharmacokinetic, and pharmacodynamic trial of ZD1839, a selective oral epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor, in patients with five selected solid tumor types. *J Clin Oncol* 2002;20:4292-4302
 36. Shin DM, Nemunaitis J, Zinner RG, et al. A phase I clinical and biomarker study of CI-1033, a novel Pan-ErbB tyrosine kinase inhibitor in patients with solid tumors. *Proc ASCO* 2001;20:82a
 37. Garrison MA, Tolcher A, McCreery H, et al. A phase I and pharmacokinetic study of CI-1003, a Pan-ErbB tyrosine kinase inhibitor, given orally on days 1, 8 and 15 Every 28 days to patients with solid tumors. *Proc ASCO* 2001;20:72a
 38. Vanhoefler U, Tewes M, Rojo F, et al. Phase I study of the humanized anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody EMD7200 in patients with advanced solid tumors that express the epidermal growth factor. *J Clin Oncol* 2004;22:175-184
 39. Robert F, Ezekiel MP, Spencer SA, et al. Phase I study of anti-epidermal growth factor receptor antibody cetuximab in combination with radiation therapy in patients with advanced head and neck cancer. *J Clin Oncol* 2001;19:3234-3243
 40. Pfister DG, Aliff TB, Kraus DH, et al. Concurrent cetuximab, cisplatin, and concomitant boost radiation therapy (RT) for locoregionally advanced, squamous cell head and neck cancer (SCCHN): Preliminary evaluation of a new combined-modality paradigm. *Proc ASCO* 2003;22:495
 41. Ciardiello F, Caputo R, Bianco R, et al. Antitumor effects and potentiation of cytotoxic drugs activity in human cancer cells by ZD-1839 (Iressa), an epidermal growth factor receptor-selective tyrosine kinase inhibitor. *Clin Cancer Res* 2000;6:2053-2063
 42. Sirotnak FM, Zakowski MF, Miller VA, et al. Efficacy of cytotoxic agents against human tumor xenografts is markedly enhanced by coadministration of ZD1839 (Iressa), an inhibitor of EGFR tyrosine kinase. *Clin Cancer Res* 2000;6:4885-4892
 43. Saijo N, Nishio K, Tamura T. Translational and clinical studies of target-based cancer therapy. *Int J Clin Oncol* 2003;8:187-192
 44. Eberhard A, Kahlert S, Goede V, et al. Heterogeneity of angiogenesis and blood vessel maturation in human tumors: Implications for antiangiogenic tumor therapies. *Cancer Res* 2000;60:1388-1393
 45. Sonveaux P, Brouet A, Havaux X, et al. Irradiation-induced angiogenesis through the up-regulation of the nitric oxide pathway: Implications for tumor radiotherapy. *Cancer Res* 2003;63:1012-1019
 46. Teicher B, Depuis NP, Kusumoto T, et al. Anti-angiogenic agents can increase tumor oxygenation and response to radiation therapy. *Radiat Oncol Invest* 1995;2:269-276
 47. Wedge SR, Ogilvie DJ, Dukes M, et al. ZD6474 inhibits vascular endothelial growth factor signaling, angiogenesis, and tumor growth following oral administration. *Cancer Res* 2002;62:4645-4655
 48. Williams KJ, Telfer BA, Stratford IJ, et al. ZD6474, a potent inhibitor of VEGF signaling, combined with radio-therapy: Schedule-dependent enhancement of anti-tumor activity in a lung tumor xenograft model. *Proc AACR* 2003;44:9
 49. Siemann DW, Rojiani AM. Enhancement of radiation therapy by the novel vascular targeting agent ZD6126. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2002;53:164-171
 50. Vioria-Petit A, Crombet T, Jothy S, et al. Acquired resistance to the antitumor effect of epidermal growth factor receptor-blocking antibodies in vivo: A role for altered tumor angiogenesis. *Cancer Res* 2001;61:5090-5101
 51. Jung YD, Mansfield MA, Akagi M, et al. Effects of combination anti-vascular endothelial growth factor receptor and anti-epidermal growth factor receptor therapies on the growth of gastric cancer in a nude mouse model. *Eur J Cancer* 2002;38:1133-1140
 52. Ciardiello F, Caputo R, Bianco R, et al. Cooperative inhibition of renal cancer growth by anti-epidermal growth factor receptor antibody and protein kinase A antisense oligonucleotide. *JNCI Cancer Spectrum* 1998;90:1087-1094
 53. Patel V, Senderowicz AM, Pinto D Jr, et al. Flavopiridol, a novel cyclin-dependent kinase inhibitor, suppresses the growth of head and neck squamous cell carcinomas by inducing apoptosis. *J Clin Invest* 1998;102:1674-1681
 54. Mihara M, Shintani S, Nakashiro K, et al. Flavopiridol, a cyclin dependent kinase (CDK) inhibitor, induces apoptosis by regulating Bcl-x in oral cancer cells. *Oral Oncol* 2003;39:49-55
 55. Taguchi F, Koh Y, Koizumi F, et al. Activity of ZD6474, a vascular endothelial growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor (VEGFR (KDR)-TKI), in a model of ZD1839 (Iressa) resistance. *Proc AACR* 2003;44:1119
 56. Matar P, Rojo R, Guzman M, et al. Combined anti-epidermal growth factor receptor (EGFR) treatment with a tyrosine kinase inhibitor gefitinib (ZD1839, Iressa) and a monoclonal antibody (IMC-C225): Evidence of synergy. *Proc AACR* 2003;44:917
 57. Baselga J. A new anti-ErbB2 strategy in the treatment of cancer: Prevention of ligand-dependent ErbB2 receptor heterodimerization. *Cancer Cell* 2002;2:93-95
 58. Kies MS, Clayman GL, El-Naggar AK, et al. Induction therapy with SCH 66336, a farnesyl transferase inhibitor, in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2001;20:896
 59. Kim ES, Glisson BS, Meyers ML, et al. A phase I/II study of the farnesyl transferase inhibitor (FTI) SCH 66336 with paclitaxel in patients with solid tumors. *Proc Am Assoc Cancer Res* 2001;42:2629

60. Haddad RI, Shapiro GI, Weinstein L, et al. A phase II study of E7070 in patients with metastatic, recurrent, or refractory head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC): clinical activity and post-treatment modulation of Rb phosphorylation. Proc Am Soc Clin Oncol 2003;22:800
61. Moon C, Oh Y, Roth JA. Current status of gene therapy for lung cancer and head and neck cancer. Clin Cancer Res 2003; 9:5055-5067
62. Lebowitz PF, Harkins C, Conley B, et al. Concomitant therapy with proteasome inhibitor, bortezomib, and radiation in patients with recurrent or metastatic head and neck squamous cell carcinoma. Proc Am Soc Clin Oncol 2003;22:2010 (abstr)

Abstract

Targeted Therapies and Radiation for the Treatment of Head and Neck Cancer

Gwi Eon Kim, M.D., Ph.D.

Department of Radiation Oncology, Yonsei Cancer Center,
Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Purpose: The purpose of this review is to provide an update on novel radiation treatments for head and neck cancer.

Recent Findings: Despite the remarkable advances in chemotherapy and radiotherapy techniques, the management of advanced head and neck cancer remains challenging. Epidermal growth factor receptor (EGFR) is an appealing target for novel therapies in head and neck cancer because not only EGFR activation stimulates many important signaling pathways associated with cancer development and progression, and importantly, resistance to radiation. Furthermore, EGFR overexpression is known to be portended for a worse outcome in patients with advanced head and neck cancer. Two categories of compounds designed to abrogate EGFR signaling, such as monoclonal antibodies (Cetuximab) and tyrosine kinase inhibitors (ZD1839 and OSI-774) have been assessed and have been most extensively studied in preclinical models and clinical trials. Additional TKIs in clinical trials include a reversible agent, CI-1033, which blocks activation of all erbB receptors. Encouraging preclinical data for head and neck cancers resulted in rapid translation into the clinic. Results from initial clinical trials show rather surprisingly that only minority of patients benefited from EGFR inhibition as monotherapy or in combination with chemotherapy. In this review, we begin with a brief summary of erbB-mediated signal transduction. Subsequently, we present data on prognostic-predictive value of erbB receptor expression in HNC followed by preclinical and clinical data on the role of EGFR antagonists alone or in combination with radiation in the treatment of HNC. Finally, we discuss the emerging thoughts on resistance to EGFR blockade and efforts in the development of multiple-targeted therapy for combination with chemotherapy or radiation. Current challenges for investigators are to determine (1) who will benefit from targeted agents and which agents are most appropriate to combine with radiation and/or chemotherapy, (2) how to sequence these agents with radiation and/or cytotoxic compounds, (3) reliable markers for patient selection and verification of effective blockade of signaling in vivo, and (4) mechanisms behind intrinsic or acquired resistance to targeted agents to facilitate rational development of multi-targeted therapy. Other molecular-targeted approaches in head and neck cancer were briefly described, including angiogenesis inhibitors, farnesyl transferase inhibitors, cell cycle regulators, and gene therapy

Summary: Novel targeted therapies are highly appealing in advanced head and neck cancer, and the most promising strategy to use them is a matter of intense investigation.

Key Words: Targeted therapy, Head and neck cancer, EGFR inhibitor, Angiogenesis inhibitor