

# 암 전사 인자 표적화 – 불가능에서 현실로

하 자 인

서울대학교

E-mail: joehalee@gmail.com

## 요약문

돌연변이가 일어나거나 적절히 조절되지 않은 전사 인자는 암의 특징인 비정상적인 유전자 발현을 매개하는 독특한 약물 표적이다. 염색체 전좌, 유전자 증폭 또는 결실, 점 돌연변이, 발현량 변화와 같은 직접적 기작뿐 아니라, 전사 인자 결합에 영향을 미치는 비-코딩 DNA 돌연변이 같은 간접적 기작을 통해서도 전사 인자의 활성은 다양한 암에서 달라진다. 최근 들어 전사 인자의 활성을 표적으로 삼는 여러 접근법이 전임상 및 임상적으로 입증되고 있다. 전사 인자-보조 활성 인자 간의 단백질-단백질 상호작용 저해, 전사 인자-DNA 결합 저해, 유비퀴틴화 변화에 따른 단백질 분해 유도 또는 전사 인자의 발현 조절을 억제함으로써 전사 인자 활성도의 변화를 유도하는 방식 등이 전임상 또는 임상 시험에서 시도되었다. 이에 더해, 자가 억제 조절, PROTAC (proteolysis targeting chimaeras; 선택적 단백질 분해기술), 시스테인 반응성 억제제의 활용, 전사 인자의 본질적 무질서 영역을 표적으로 삼거나, 전사 인자 억제제와 키나아제 억제제를 조합하여 저항성이 나타나는 것을 막는 새로운 방법 등이 등장하였다. 이러한 약물 개발 혁신이 미래의 암 치료에 영향을 미칠 새로운 약물의 가능성을 본 원고를 통해서 제시하고자 한다.

**Key Words:** 전사 인자, PROTAC, 유비퀴틴화, 단백질 결합, 단백질 분해, 리간드

본 자료는 Targeting transcription factors in cancer — from undruggable to reality. Nat Rev Cancer 19, 611–624 (2019).의 논문을 한글로 번역, 요약한 자료입니다.

## 목 차

1. 소개
2. 암의 전사 인자
3. 성공적인 표적화

- 3.1. 핵 호르몬 수용체 리간드 결합 도메인
- 3.2. 필수 단백질-단백질 상호작용
- 3.3. 전사 인자의 프로테아좀 분해 조절
- 3.4. PROTAC으로 전사 인자 분해
- 3.5. 전사 인자의 발현 조절
- 3.6. 전사 인자-DNA 결합 저해하는 DNA 결합 화합물
4. 향후 방향
  - 4.1. 자동 억제(auto-inhibition) 상태 표적화
  - 4.2. 시스테인 반응성 전략 적용
  - 4.3. PTM 표적화
  - 4.4. 본질적 무질서 영역 (intrinsically disordered region; IDR) 표적화
5. 주목할 점

## 1. 소개

15년 전 제임스 다넬(James E. Darnell)은 '암 치료 대상으로서의 전사 인자'라는 리뷰에서 "대부분의 인간 암 세포에서 제한된 수의 전사 인자는 높은 활성을 보이기 때문에 이들을 표적으로 하는 항암제 개발이 필요하다. 그러나 어떻게 특정 전사 인자 활동을 억제할 수 있을까?"라는 의문을 던졌다. 이후 수많은 문헌에서 암의 수많은 표적 전사 인자를 검증하면서 다넬의 가설을 확인했다 (표 1). 전사 인자 활성의 조절은 암뿐만 아니라 다른 질병 환경에서도 실질적인 잠재력을 가지고 있다. 전사 인자 표적의 검증이 늘어남에 따라 저분자 물질로 전사 인자 활성을 조절하는 접근법이 새롭게 개발되며 확장되고 있다.

전사 인자는 역사적으로 '약물 개발이 어려운 표적(undruggable)'으로 여겨졌다. 키나아제 또는 다른 효소의 활성 부위와는 달리, 전사 인자의 기능을 매개하는 단백질-DNA 또는 단백질-단백질 상호작용을 표적으로 삼아야 하기 때문이다. 특히, 전형적으로 볼록하게 돌출된 구조에 양전하를 띠는 DNA 결합 계면은 저분자 억제제 개발에 어려운 표적이기에 현재까지 개발된 단백질-DNA 결합 억제제가 심각하게 부족한 상황이다. 게다가 단백질-단백질 상호작용 표면은 효소 활성 부위의 깊은 주머니(deep pocket) 같은 구조와 달리, 표면의 고저 차이가 적기 때문에 저분자 억제제의 개발이 어렵다. 하지만 상호작용 에너지의 대부분에 기여하고 공간적으로 국소화된 핫스팟 잔기(\*두 단백질의 결합에 가장 많은 에너지를 제공하는, 단백질-단백질 상호작용 표면의 특정 아미노산)가 제한적이거나 소량 존재하기에 전사 인자의 단백질-단백질 상호작용 억제제의 개발은 시도해볼 만하다. 또한 단백질-단백질 상호작용의 알로스테릭 조절(allosteric modulation)이 대안적 접근법으로 해결책이 될 수 있다.

**표 1. 암의 특징을 유발하는 전사 인자**

전사 인자	암종	효과
<b>줄기세포 특성 - 자가 갱신</b>		
MLL-AF9	급성 골수성 백혈병(acute myeloid leukaemia; AML)	백혈병 줄기세포 집단의 인자 (driver)
CBFβ-SMMHC	급성 골수성 백혈병	백혈병 줄기세포 집단의 인자
<b>복제 불멸 (Replicative immortality)</b>		
GABP	교모세포종(Glioblastoma)	돌연변이TERT 프로모터에서 TERT 발현을 증가시킴
RUNX1-ETO	급성 골수성 백혈병	t(8; 21)에서 TERT 발현을 증가시킴
<b>상피-중간엽 전이 (epithelial-mesenchymal transition; 이하 EMT)</b>		
KLF8	위암	EMT 조절
SIX1	유방암	과발현될 경우, EMT 유발
RUNX2	유방암	유방암에서 EMT 유발
RUNX2	전립선암	전립선암에서 EMT 유발
<b>분화 또는 세포 사멸</b>		
PML-RARα	급성 전골수성 백혈병(acute promyelocytic leukemia; APL)	분화 차단; 레티노산과 삼산화비소 처리 시, 분화 유도
<b>저항성 발달</b>		
FOXO	유방암	키나아제 억제제 라파티닙(lapatinib)에 대한 저항성 매개
RUNX1	FLT3-ITD 급성 골수성 백혈병	FLT3 키나아제 억제제 퀴자티닙 (quizartinib; AC220)에 대한 저항성 매개
RUNX2	흑색종	BRAF 억제제 베무라페닙(vemurafenib)에 대한 저항성 매개
<b>자가조절 경로</b>		
TAL1, GATA3, RUNX1	T 세포 급성 림프모구 백혈병(T-ALL)	T 세포 급성 림프모구 백혈병을 유발하는 자가조절 경로 형성
CBFβ, RUNX1, p53	급성 골수성 백혈병	급성 골수성 백혈병을 유발하는 자가조절 경로 형성
ETS1, ETS2	RAS-유발 암종 (RAS-driven cancers)	MAPK 경로 인자인 ERK1, ERK2 및 DUSP6 와 함께 자가조절 경로 형성
<b>면역 회피</b>		
MYC 202	림프종(Lymphoma)	CD4+ T 세포의 회피 유도
MYC 203	간세포암(hepatocellular carcinoma; HCC)	PDL1 발현 증가
STAT1 204	흑색종	PDL1 발현 조절
RUNX1-ETO	급성 골수성 백혈병	CD 48 저해 - NK 세포 활동 감소 유발

**표 2. 임상 개발 또는 임상 시험에서 전사 인자 억제제의 예**

억제제	회사	작용 방식	임상 시험 상태
<b>단백질-단백질 상호작용 억제제</b>			
RG7388	로슈	MDM2-p53 결합 억제 → p53의 유비퀴틴화 감소 → p53의 양 증가 → 세포 사멸 증가	NCT02633059
			NCT03287245
			NCT02670044
			NCT03135262
			NCT03566485
			NCT03850535
HDM201	노바티스	MDM2-p53 결합 억제 → p53의 유비퀴틴화 감소 → p53의 양 증가 → 세포 사멸 증가	NCT02890069
			NCT02780128
			NCT02601378
KO-539	쿠라 온콜로지	MLL 융합 단백질-양성 백혈병 치료용 menin-MLL 결합 저해; MLL 융합 단백질의 표적 유전자 결합 및 활성 저해	2019, FDA IND (임상시험허가신청) 승인; 2019, phase I 계획 2019
SNDX-5613	신닥스	MLL 융합 단백질-양성 백혈병 치료용 menin-MLL 결합 저해; MLL 융합 단백질의 표적 유전자 결합 및 활성 저해	2019, FDA IND 계획
LeuSO (AI-10-49)	시스템즈 온콜로지	16번 염색체 반전형 급성 골수성 백혈병 CBFβ-SMMHC 융합 단백질-RUNX1 결합 저해; RUNX1의 표적 유전자에 대한 점유율 회복	IND 가능 연구 진행 중
<b>PROTACs</b>			
ARV-110	아비나스	거세 저항성 전립선 암 치료용 안드로겐 수용체의 PROTAC 기반 분해제	NCT03888612
ARV-471	아비나스	ER- 양성 유방암 치료용 에스트로겐 수용체의 PROTAC 기반 분해제	2019, Phase I
<b>전사 인자 유전자 발현 조절</b>			
SY-1365	시로스	RUNX1 발현 포함, 유전자 발현 변경시키는 CDK7 억제제	NCT03134638
INCB057643	인사이트	BET 단백질-아세틸화 라이신 결합 억제제	NCT02959437
			NCT02711137
BMX-986158	브리스톨-마이어스 스퀴브	BET 단백질-아세틸화 라이신 결합 억제제	NCT02419417

전사 인자를 포함하여 단백질-단백질 상호작용을 표적으로 하는 최근의 성공적인 결과는 이러한 접근법의 가능성을 보여준다. 예를 들어, p53과 그 음성 조절자 MDM2 사이의 단백질-단백질 상호작용 억제제는 프로테아좀에 의한 p53의 분해를 감소시켜 여러 종류의 암에서 생체 내 활성을

보였다. 현재 전사인자의 단백질-단백질 상호작용 억제제를 적용한 다수의 임상 시험이 고형 종양과 혈액암에서 진행되고 있다 (표 2). 또한 최근 등장하는, 후성유전적(epigenetic) 신호 전달 단백질을 표적으로 하는 약물은 유전자 발현 프로그램을 변화 시켜 원하는 결과를 얻고자 시도하고 있다. 예를 들어, 히스톤 아세틸화 후성유전적 리더(epigenetic reader; \*메틸화, 아세틸화 또는 인산화와 같은 특정한 PTM을 갖는 펩타이드, 전형적으로 히스톤 또는 전사 인자에 결합하는 단백질)인 브로모도메인의 억제제는 여러 종류의 암 마우스 모델에서 유망한 결과를 보여주었다. 히스톤 메틸화의 후성유전적 라이터(epigenetic writer; \* 히스톤 및 전사 인자의 펩타이드 요소에 메틸화 및 아세틸화를 포함한 특정 PTM을 추가하는 단백질)인 EZH2의 억제제 역시 임상 시험에 들어갔다.

하지만 이런 제제는 많은 수의 유전자 발현에 영향을 미친다. 그 과정에서 공통적인 기능을 수행하는 유전자들만 영향받을 확률은 낮기 때문에, 이런 제제는 표적 선택성은 떨어지면서, 용량-제한적 독성 가능성을 증가시킬 위험이 있다. 그렇기에 질병을 일으키는 검증된 전사 인자를 직접 표적으로 삼는 것이 선택적 효과를 기대할 수 있다. 따라서, 이 리뷰에서는 1) 전사 인자의 저분자 조절제를 개발하기 위한 접근법, 2) 타당성 입증의 성공 사례 및 3) 다른 전사 인자를 표적으로 하는 패러다임을 제시하는 데 중점을 둘 것이다.

## 2. 암의 전사 인자

암의 원인으로 확인된 첫 전사 인자는 PML-RAR $\alpha$ , AML1-ETO (“RUNX1-MTG8”이라고도 함), TEL-AML1 (“ETV6-RUNX1”이라고도 함), CBF $\beta$ -SMMHC (미오신 11) 및 MLL 융합 등의 융합 단백질로 다양한 유형의 백혈병에서 발견되었다. 수년에 걸친 연구 결과, 이러한 전사 인자의 융합은 질병의 원인이자 질병 발생의 초기 현상으로 밝혀졌기에, 치료 접근법의 표적으로서 강조되었다. 융합 단백질 기작에 대한 연구 결과, 융합 단백질이 세포 분화를 차단하여 세포를 줄기세포-유사 상태로 유지한다는 것이 알려졌다. 또한, 일부 융합 전사 인자는 DNA 복구 유전자를 변성하여, 클론 이질성과 증식을 유도하는 여타 돌연변이가 일어나기 쉬운 환경을 조성한다.

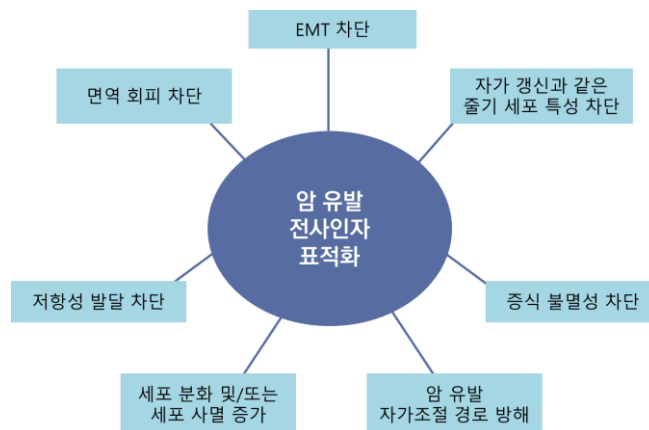


그림 1. 암 유발성 전사 인자 표적화.

암에서 전사 인자의 활성을 억제 시 가능한 결과. EMT, 상피-중간엽 전이.

고형 종양을 유발하는 전사 인자의 검증이 최근 몇 년 동안 상당히 늘어났다. 대표적으로, ETS 계 전사 인자의 구성원인 ERG와 ETV1의 과발현이 염색체 전좌에 의해 일어나며, 전립선암의 주요 발병 원인으로 밝혀졌다. ETV1의 과발현은 위장관 기질 종양(GIST) 및 흑색종과도 관련이 있다는 것과 RUNX1-RUNX3 및 이들의 이종이량체(heterodimerization) 파트너인 CBF $\beta$ 는 수많은 상피암과 관련이 있는 것으로 나타났다.

**그림 1**은 전사 인자를 표적으로 하는 약물에 의해 조절될 수 있는 암의 특성이다. 이러한 특성을 조절할 수 있는 전사 인자 표적 약물들은 임상적으로 의미 있는 효과를 보일 것으로 예상된다.

### 3. 성공적인 표적화

#### 3.1. 핵 호르몬 수용체 리간드 결합 도메인

지금껏 암에서 가장 성공적으로 표적화된 전사 인자는 특정 핵 호르몬 수용체에 결합하는 저분자에 의한 것이었다. 실제로 에스트로겐 수용체(oestrogen receptor; ER), 안드로겐 수용체(androgen receptor; AR), 레티노산 수용체(RAR) 및 글루코코르티코이드 수용체(glucocorticoid receptor; GR)의 활성을 조절하는 약물은 현재 각각 유방암, 전립선암, 급성 전골수성 백혈병(acute promyelocytic leukaemia; APL) 및 급성 림프모구 백혈병(acute lymphoblastic leukaemia; ALL)의 치료에 사용된다. 핵 호르몬 수용체는 DNA 결합 도메인 및 리간드 결합 도메인(ligand binding domain; LBD)을 가진다. 리간드 결합 도메인은 일종의 저분자 조절제인 호르몬과 결합하여 핵 호르몬 수용체의 활성을 변화시키고, 유전자 발현을 조절하는 데 기여한다. 핵 호르몬 수용체를 표적으로 하는 약물 개발은 이런 리간드 결합 도메인의 특성을 활용하여, 저분자(호르몬)가 이미 결합한 단백질 부위에 결합한다는 점에서 결정적인 장점을 가진다.

유방암의 약 75%는 에스트로겐 수용체-양성으로, 에스트로겐 수용체를 발현한다. 에스트로겐 수용체-양성 유방암에서 에스트로겐 수용체의 신호전달은 세포 증식의 원동력이다. **그림 2**와 같이, 에스트로겐 수용체에 결합하여 그 활성을 조절하는 약물은 선택적 에스트로겐 수용체 조절제(selective oestrogen receptor modulators; SERM) 및 선택적 에스트로겐 수용체 분해제(selective oestrogen receptor degraders; SERD)의 두 가지 종류가 있다. 타목시펜과 같은 선택적 에스트로겐 수용체 조절제는 리간드 결합 도메인에 결합하여, 보조 활성 인자(co-activator) 결합에 필요한 단백질 구조 변화를 차단한다. 이 경우, 리간드 결합 도메인이 오히려 보조 억제 인자(co-repressor)가 결합하기 쉬운 구조를 유지하게 되어, 결과적으로 하위 유전자 발현을 감소시킨다. 서로 다른 조직에서 발현되는 보조 활성 인자와 보조 억제 인자의 종류 및 조합이 다르기 때문에 이런 약물은 더 특이적으로 작용할 수 있다. 예를 들어 타목시펜은 유방암 세포에서는 길항제지만 자궁내막암 세포에서는 부분적인 작용제 활성을 보인다. 선택적 에스트로겐 수용체 분해제인 풀베스트란트(fulvestrant)는 리간드 결합 도메인에 결합하여 에스트로겐 수용체의 프로제아솜-매개 분해를 촉진함으로써 표적 유전자 발현을 억제한다. 풀베스트란트의 저조한 생체 이용률(bioavailability)은 선택적 에스트로겐 수용체 분해제의 개발 동기가 되었고, AZD9496 및 엘라세스트란트(elacestrant)의 개발로 이어졌다.

안드로겐 수용체는 안드로겐이 결합하면 샤페론 열충격 단백질 90 (HSP90)에서 분리되어 핵으로 이동하고, 표적 유전자에 결합하여 발현을 조절한다. 안드로겐이 안드로겐 수용체에 의한 유전자 발현을 유발하기 때문에 전립선 암세포는 안드로겐에 매우 의존적으로 세포 증식과 생존이 일어난다. 이러한 안드로겐 수용체와 안드로겐 사이의 결합을 막고자, 안드로겐 수용체의 리간드 결합 도메인을 표적으로 하는 약물이 개발되었다. 1세대 약물에는 비칼루타미드(bicalutamide), 플루타미드(flutamide) 및 닐루타미드(nilutamide) 등이 있다. 거세 저항성 전립선암(castration-resistant prostate cancer; CRPC)까지 진행된 환자의 경우, 1세대 약물의 효과가 미미하여, 2세대 약물이 개발되기 시작하였다. 엔잘루타미드(enzalutamide)는 더 강력한 안드로겐-안드로겐 수용체 결합의 길항제로서, 안드로겐 수용체가 핵으로 이동하는 것을 저해함으로써 치료 효과를 보인다. 거세 저항성 전립선암 환자를 대상으로 한 임상 시험에서 엔잘루타미드는 강력한 활성을 나타내었고, 2014년에 해당 질병의 1차 치료제로 승인되었다.

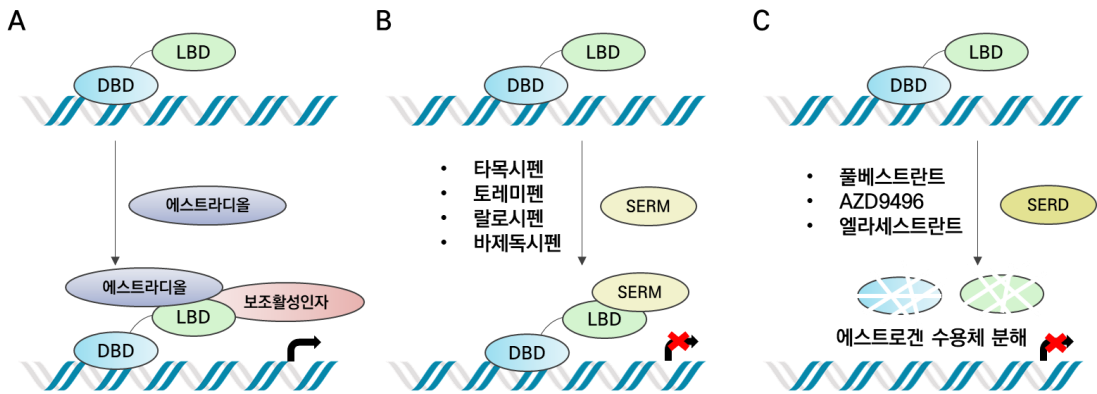


그림 2. 에스트로겐 수용체 기능 표적화. 핵 호르몬 수용체인 에스트로겐 수용체 및 저분자 조절제에 의한 유전자 발현 조절.

**A.** 에스트로겐 스테로이드 호르몬인 에스트라디올이 리간드 결합 도메인에 결합하여 입체 형태 변화 유도, 보조 활성 인자의 결합 가능케 하여 유전자 발현 활성화. **B.** 선택적 에스트로겐 수용체 조절제가 리간드 결합 도메인에 결합, 보조 활성 인자의 결합 차단, 유전자 활성화 차단. **C.** 선택적 에스트로겐 수용체 분해제 결합 시, 프로테아좀-매개 분해 촉진, 유전자 활성화 차단. LBD, 리간드 결합 도메인; DBD, DNA 결합 도메인; SERM, 선택적 에스트로겐 수용체 조절제; SERD, 선택적 에스트로겐 수용체 분해제.

### 3.2. 필수 단백질-단백질 상호작용

전사 인자와 보조 활성 인자 간의 단백질-단백질 상호작용은 유전자 발현에 영향을 미친다. 또한 다른 전사 인자와의 상호작용은 게놈에서 협동적 결합 및 특이적 국소화를 야기한다.

전사 인자 MLL은 염색체 전좌에 의해 변형되어 예후가 좋지 않은 급성 골수성 백혈병 및 급성 림프모구 백혈병을 유발한다. MLL 융합 단백질에는 백혈병을 유발하는 데 필수적인 두 영역이 존재한다. 하나는 보조 활성 인자인 메닌(menin)과 LEDGF (또는 "PSIP1"이라고도 함)가 결합하는 N-



말단의 모티프이고, 나머지 하나는 게놈 상의 메틸화되지 않은 CpG 모티프에 특이적으로 결합하는 CXXC 도메인이다. 메닌-MLL 상호작용이 MLL 융합-양성 백혈병에 필수적임을 보여주는 데이터에 근거하여, Grembecka 및 Cierpicki 연구자 그룹은 MI-538 및 MI-1481과 같은 메닌-MLL 융합 단백질 상호작용의 저분자 억제제를 개발했다 (그림 3). 이 억제제는 표적 유전자에 대한 MLL 융합 단백질의 결합을 저해하여, 호메오박스 전사 인자인 HOXA9 및 MEIS1 유전자를 포함한 MLL 융합-양성 백혈병을 유발하는 주요 유전자의 발현을 감소시키는 것으로 입증되어, 그 작용 기작까지 검증되었다. 이 억제제는 또한 MLL 융합-양성 백혈병 세포의 분화와 세포자멸을 증가시키는 것으로 나타났다. Grembecka 및 Cierpicki 그룹은 MLL 융합-백혈병 마우스 모델에서 효과를 보이는 경구 생체 이용 유도체를 개발하기 위해 흡수, 분포, 대사, 배설, 독성(absorption, distribution, metabolism, excretion, toxicity; 이하 ADMET) 특성에 화합물을 최적화하였다. Grembecka와 Cierpicki는 단백질-단백질 상호작용 저해제의 최적화와 관련된 과제를 조명하면서, 성공 사례를 제시하였다.

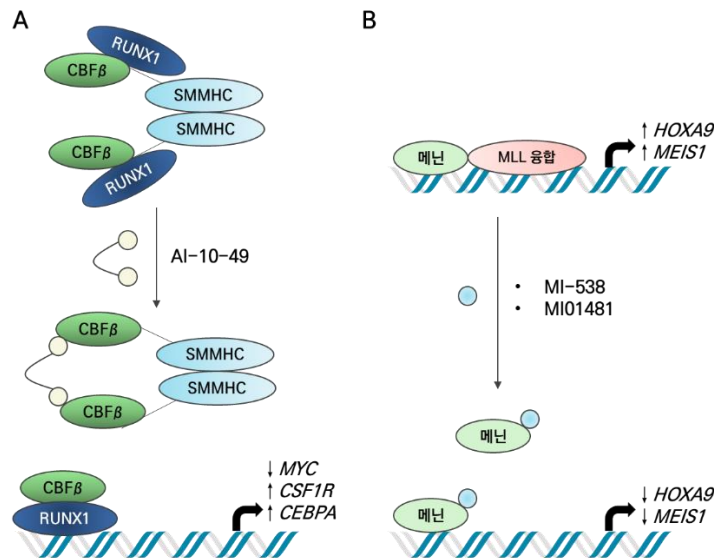


그림 3. 전사 인자를 표적으로 하는 단백질-단백질 상호작용 억제제의 예.

**A.** CBFβ는 DNA 결합 단백질 중 RUNX 패밀리와 이종이량체를 형성한다. RUNX1에 대한 CBFβ 결합은 DNA에 대한 결합을 향상시키고 분해로부터 보호한다. 급성 골수성 백혈병과 관련된 CBFβ-SMMHC 융합 단백질은 CBFβ가 있는 N-말단 부분을 통해 RUNX1에 결합하는 능력을 유지한다. 단백질-단백질 상호작용 억제제 AI-10-49는 CBFβ-SMMHC 융합 단백질에 선택적으로 결합하여 RUNX1 결합을 막는다. **B.** MI-538 및 후속 유도체는 전사 보조 활성 인자인 메닌에 결합한다. 결과적으로 억제제는 게놈의 특정 부위에 대한 MLL 융합 단백질의 결합을 방해하여 MLL 융합 단백질의 주요 표적 유전자의 발현을 감소시킨다.

이종이량체 전사 인자 CBF를 구성하는 RUNX (RUNX1, RUNX2 또는 RUNX3) 및 CBFβ는 인간 백혈병에서 빈번히 돌연변이가 일어나는 유전자다. RUNX1 유전자는 다양한 염색체 전좌 및 점 돌연변이가 일어나며, CBFβ 유전자는 급성 골수성 백혈병 환자의 대략 10%에서 염색체 16의 역위(inversion)로 변이가 일어난다. 이 역위로 인해, CBFβ 유전자와 MYH11 유전자가 잘리고 다시 이어 붙게 되어 융합 단백질 CBFβ-SMMHC를 발현시킨다. CBFβ-SMMHC 융합 단백질은 CBF 기능의 우월



한 억제 인자(dominant repressor)로 작용하여, 융합 단백질의 CBFβ 및 SMMHC 부분을 통해 RUNX1와 결합하여 정상적인 조혈에 필요한 다수의 유전자의 발현을 조절하지 못하게 한다. Bushweller 그룹은 융합 단백질의 CBFβ 부분에 결합하여 CBFβ-SMMHC와 RUNX1 사이의 단백질-단백질 상호작용을 방해하는 억제제(AI-10-49)를 개발했다 (그림 3). 이 화합물은 RUNX1과 CBFβ-SMMHC 융합 단백질 간의 결합은 강력하게 억제하지만, 정상 CBFβ와 RUNX1의 결합은 억제하지 않는 우수한 선택성을 보였다.

### 3.3. 전사 인자의 프로테아좀 분해 조절

전사 인자는 많은 유전자를 조절함으로써 세포 분화, 노화 및 사멸 등에 중요한 역할을 하므로, 그 단백질량은 유비퀴틴화 및 프로테아좀-매개 분해를 통해 세포 내에서 주의 깊게 조절된다. 프로테아좀 경로는 유비퀴틴화 및 탈유비퀴틴화를 매개하는 단백질과 전사 인자의 상호작용 조절을 통해 전사 인자의 활성을 조절하는 독특한 접근법을 제공하였다 (그림 4).

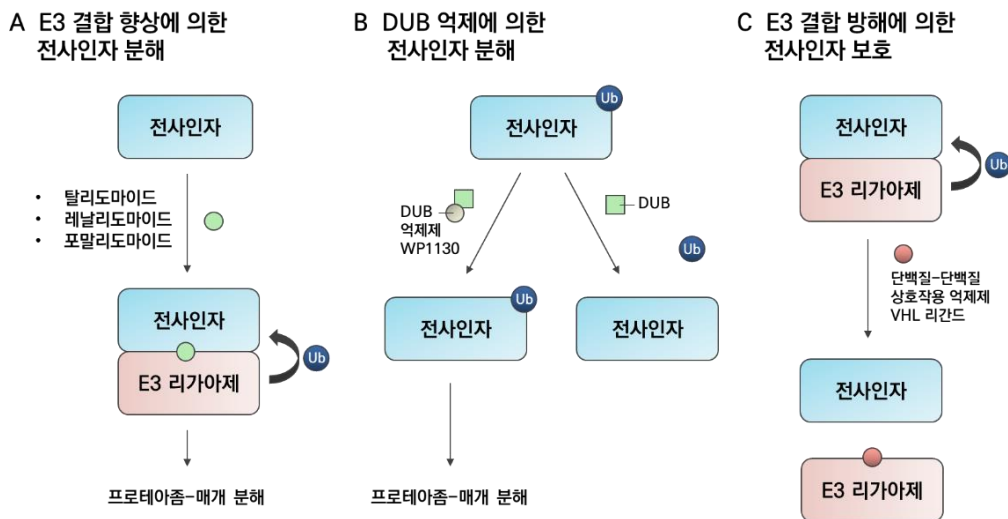


그림 4. 유비퀴틴화를 조절함으로써 전사 인자 안정성을 조절하는 접근법.

**A.** 저분자-촉진 E3 유비퀴틴 리가아제 결합으로 전사 인자의 분해가 향상된다. 예를 들어, 다발성 골수종 세포의 성장을 억제하는 탈리도마이드 및 이의 유도체는 E3 유비퀴틴 리가아제 CRBN의 특정 포켓에 결합한다. 그렇게 함으로써, 다발성 골수종의 주요 원인인 이카로스 패밀리 단백질 IKZF1 및 IKZF3과의 CRBN 상호작용과 유비퀴틴화를 향상시킨다. **B.** 해당 전사 인자에 특이적인 탈유비퀴티나제(DUB)를 저분자로 억제하여 전사 인자 분해를 향상시킨다. 보다 높은 수준의 유비퀴틴화 및 강화된 프로테아좀 분해를 초래한다. 예를 들어, DUB 유비퀴틴-특이적 프로테아제 9X (USP9X)는 전립선암의 중요한 동인인 전사 인자 ERG를 탈유비퀴틴화한다. USP9X 억제제 WP1130을 처리하면 ERG의 유비퀴틴화 및 프로테아좀 파괴가 향상된다. **C.** E3 유비퀴틴 리가아제 결합을 저분자로 저해하여 유비퀴틴화가 감소되고 전사 인자의 프로테아좀-매개 분해가 감소된다. 중앙 억제제로 작용하는 전사 인자의 단백질 수준을 이 방법으로 증가시키면 치료 효과를 가질 수 있다. Ub, 유비퀴틴.

E3 유비퀴틴 리가아제(이하 E3 리가아제)는 기질 단백질과 상호작용하여 유비퀴틴화 및 프로테아좀 분해를 유도한다. 저분자를 이용하여 해당 상호작용을 조절한다면 세포 내의 단백질 수준을 변화시킬 수 있다. E3 리가아제의 표적화 성공 사례는 아직 많지 않지만, 대표적인 예로 E3 리가아제 VHL과 전사 인자 HIF1 $\alpha$ 가 있다. 정상 조건에서 HIF1 $\alpha$ 는 프롤린의 하이드록실화에 의해 VHL에 결합하여 이후 유비퀴틴화 및 프로테아좀에 의한 분해가 일어남으로써, 정상 조건에서 HIF1 $\alpha$  수준이 낮게 유지된다. 저산소 조건에서 하이드록실화 수준이 낮아지므로 HIF1 $\alpha$ 의 유비퀴틴화 및 프로테아좀-매개 분해가 감소되어 해당 단백질 양이 증가하게 된다. E3 리가아제와 전사 인자의 상호작용 조절의 다른 예는 다발성 골수종 치료를 목적으로 한 탈리도마이드와 그 유도체의 적용이다. 탈리도마이드는 다발성 골수종의 주요 동인인 이카로스(Ikaros) 전사 인자 IKZF1 및 IKZF3에 E3 리가아제 CRBN이 결합하는 것을 향상시키는 것으로 처음 밝혀졌다. 결과적으로 탈리도마이드의 작용으로 IKZF 단백질이 프로테아좀에 의해 분해된다. 이러한 작용 기작은 표적 단백질이 프로테아좀에 의해 분해되어 사라지기 때문에, 세포가 새로운 단백질을 합성하여 활성을 회복시키는 데에 더 오랜 시간이 걸린다는 뚜렷한 이점을 가진다. 다시 말해, 억제 효과가 더 오래 지속되며, 투여량을 감소시킬 수 있게 된다. 이와 같은 연구는 아래에서 논의할 PROTAC 접근법에서 탈리도마이드 및 유도체의 활용으로 이어졌다.

인간 암에서 가장 빈번하게 변이된 단백질인 전사 인자 p53은 세포주기 제어, 세포사멸, DNA 복구 및 노화 관여하는 경로를 조절하는 중요한 종양 억제제다. 정상적인 조건 하에서, p53의 수준은 유비퀴틴화 및 p53의 후속 프로테아좀 분해를 매개하는 E3 리가아제인 MDM2와의 결합을 통해 낮게 유지된다. MDM2 및 p53은 증가된 p53이 MDM2의 발현을 증가시키는 자가조절 회로에 관여한다. 다양한 종류의 암에서 MDM2의 증폭 또는 과발현이 관찰되었다. 로슈의 Vassilev 그룹은 MDM2와 p53과의 단백질-단백질 상호작용 억제제인 뉴틀린(Nutlins)을 개발하였다. 뉴틀린은 정상 p53을 발현하는 암세포의 생존율을 감소시키는 것으로 나타났다. 돌연변이 p53을 발현하는 암세포의 생존율에는 뉴틀린에 의한 영향이 크게 나타나지 않았는데, 이는 p53 돌연변이가 DNA에 결합할 수 없는 구조여서 세포 사멸 유도에 필요한 유전자를 발현할 수 없었기 때문이다. 뉴틀린은 또한 정상 p53을 발현하는 골육종 및 전립선암 마우스 이종 이식 모델에서 생체 내 효능을 갖는 것으로 나타났다.

### 3.4. PROTAC으로 전사 인자 분해

E3 리가아제에 결합하는 리간드와 특정 단백질에 결합하는 리간드가 공유 부착되어 있는 이 작용성(bifunctional) 분자는 유비퀴틴화를 유도할 수 있다. 이렇게 결합된 단백질은 프로테아좀-매개 분해가 이루어지면서 세포 내에서 특정 단백질을 녹다운(knockdown; \* 단백질 발현량 저하)할 수 있게 된다 (**그림 5**). 이러한 분자를 "PROTAC"이라고 한다. PROTAC에 의해 매개되는 녹다운은 표적 단백질의 모든 기능을 제거하는 이점을 갖는다. 놀랍게도 이 방법은 또한 촉매와 같은 특성을 지녀 단일 분자가 결합 및 분해 유도 사이클을 반복하면서 여러 개의 표적 단백질의 분해를 매개한다. 또한 이런 제제의 효과에서 세포가 회복되기 위해선 새로운 단백질을 합성해야 하기 때문에 시간이 더 소모된다. PROTAC의 이런 특성 덕분에, 효능을 유지하기 위한 투여 빈도가 더 낮을 것이며, 생체 내

반감기가 더 짧은 화합물도 여전히 효과적일 수 있다. 실제로 Bradner 그룹의 새로운 탈리도마이드-결합 BRD4 억제제는 짧은 노출 시간으로도 이전의 BRD4 억제제보다 훨씬 더 효과적이었다. 비슷한 방식으로, Crews 그룹은 기존에 존재하는 억제제를 이용한 PROTCAC을 개발하여, EGFR (라파티닙, 제피티닙), HER2 (라파티닙), MET (포르티닙)과 같은 RTK에 대한 PROTAC 유도체의 활성을 향상하였다. 지금까지 PROTAC 개발은 E3 리가아제 모집 리간드로서 VHL 리간드 및 탈리도마이드 유도체의 사용에 초점을 두었다. MDM2 및 cIAP에 결합하는 리간드를 포함한 추가적인 E3 리가아제 모집 리간드의 개발은 PROTAC 개발 가능성의 레퍼토리를 확장하고 높은 작용 특이성을 달성할 수 있는 잠재력을 향상시켰다. 전사 인자 표적에 대한 해당 접근법으로는 최근 임상 시험에 들어간 아비나스의 안드로겐 수용체 및 에스트로겐 수용체의 경구용 PROTAC 분해제가 보고되었다 (표 2). 이 접근법은 표적 단백질 결합 리간드와 E3 리가아제 모집 리간드의 공유 연결이 필요하기 때문에, 보다 도전적인 ADMET 특성을 갖는 더 큰 분자를 생성한다. 아비나스의 PROTAC 기반 약물은 최근 임상 시험이 시작되었으며, 새롭고 흥미로운 접근법의 임상 적용 가능성을 탐구하는 데 매우 유익할 것이다. 다른 전사 인자 표적의 경우, 이 접근법을 적용하기에 충분한 친화력으로 전사 인자에 결합하는 리간드를 확인해야 한다. 중요한 점은, 이런 리간드는 전사 인자의 특정 기능에 작용할 필요가 없다는 점이다. 리간드는 전사 인자에 결합하기만 하면 되기 때문에, 이 점을 기반으로 결합 리간드를 식별하고 개발해야 한다.

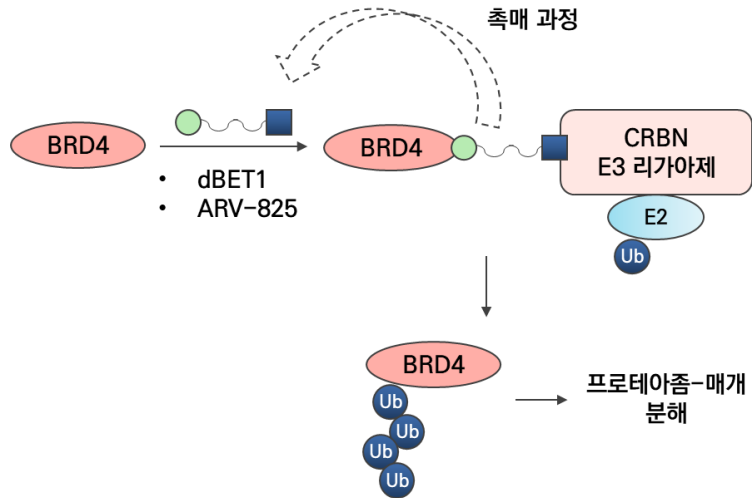


그림 5. PROTAC 작용 기작. 후성유전적 리더인 BRD4를 표적으로 하는 PROTAC의 작용 방식.

PROTAC는 E3 리가아제와 동시에 표적 단백질과 상호작용하는 이작용성(bifunctional) 저분자 물질로, 세포 내 단백질을 관리하는 시스템을 하이재킹하여 관심있는 단백질을 효과적으로 분해하고자 한다. 그림의 PROTAC는 E3 리가아제 CRBN과 결합하기 위한, 탈리도마이드에서 유도된 리간드(파란색 사각형), 링커(linker, 회색 곡선), 그리고 BRD4의 브로모도메인과 결합하기 위한 또다른 리간드(연녹색 원)로 구성되어 있다. BRD4-PROTAC-E3 리가아제 복합체가 형성되면, E2 유비퀴틴-접합 효소는 유비퀴틴(Ub)을 BRD4 표면의 리신 잔기에 접합시킨다. 프로테아솜에 의한 리신 폴리유비퀴틴화 신호 인식으로 BRD4의 분해가 촉진된다. PROTAC이 하나의 BRD4 단백질에 결합하고 유비퀴틴화를 매개한 다음, 분리되어 다른 BRD4 단백질에 결합할 수 있기 때문에, 이 저분자 물질은 BRD4의 유비퀴틴화의 촉매로 작용한다 (점선 화살표).

### 3.5. 전사 인자의 발현 조절

전사 인자 발현 조절제는 전사 인자 활성 조절을 위한 또 다른 잠재적인 수단이다. 일반적인 전사 인자 IIH (TFIIH)의 구성 성분 중 하나인 CDK7는 RNA 중합 효소 II (RNA polymerase II; 이하 RNAPII)의 C-말단 도메인을 인산화하여, RNAPII의 개시와 정지를 조절한다. CDK7 및 CDK12의 시스테인 반응성 공유 억제제로 개발된 THZ1은 CDK7에 의해 조절되는 유전자 발현을 감소시키는 데 효과적이다. THZ1은 마우스 이종 이식 모델의 KOPTK1 T-ALL 세포의 증식을 강력하게 억제했다. 유전자 발현 분석은 예상대로 전반적인 전사의 감소를 보여주었다. 그러나 더 적은 용량 처리 시에도 특정 유전자의 매우 특이적인 감소가 관찰되었으며, 이는 CDK7 억제에 따른 유전자의 차별적 민감성을 보여준다. 특히, *RUNX1*은 저용량 THZ1 처리 시 T-ALL 세포에서 가장 하향 조절된 유전자 중 하나였다. 위에서 언급한 바와 같이, T-ALL 세포는 질병을 유발하는 전사 인자 *RUNX1*, *TAL1* 및 *GATA3*을 포함하는 자가조절 회로를 형성한다 (표 1). 저용량에서 THZ1 처리 후, T-ALL 세포에서 이 유전자들의 발현이 모두 감소되었다. 즉, 자가조절 회로에서 개별 전사 인자를 표적화하면, 전체 회로의 활성을 저해할 수 있다는 것을 보여준다.

후성 유전적 신호 전달에 관여하는 단백질을 표적화하기 위한 초기 노력은 특정 후성 유전적 마크를 기록 또는 소거하는 데 관여하는 효소(즉, 아세틸 전이효소, 탈아세틸화 효소, 메틸 전이 효소 및 탈메틸화 효소)에 초점을 맞추었다. 활성 부위를 갖는 효소이기 때문에, 이들은 약물 표적화 가능성이 있다. 다양한 히스톤 탈아세틸화 효소의 저분자 억제제의 성공적인 발전은 히스톤 메틸화 효소인 *EZH2* 및 *DOT1L*, 히스톤 탈메틸화 효소인 *LSD1* 역시 실제로 약물화 가능한 표적임을 시사한다.

보다 최근에 마크의 후성유전적 리더(효소 활성이 없는 결합 단백질)를 표적으로 하는 경우도 성공적인 결과를 보여주었다. Bradner 그룹은 후성유전적 리더인 BET 단백질 패밀리를 표적으로 삼았다. BET 단백질 패밀리의 브로모도메인은 히스톤과 전사 인자의 아세틸화 라이신에 결합한다. 직접적 또는 간접적으로 작용하는 특정 전사 인자는 BET 단백질이 게놈 부위에 모여드는 것을 조절한다. 브래드너 그룹은 *BRD4*의 브로모도메인의 선택적이고 효과적인 저분자 억제제를 개발하였다. 이 억제제는 생체 내 시험에서 *NUT*과 *BRD4* 융합 단백질에 의해 유발되는 *NUT*-미드라인 암종 마우스 모델의 생존율을 증가시켰다. BET 하위 패밀리 구성원은 *MYC* 발현을 조절한다. *MYC*는 수많은 암에서 상향 조절되는 주요 전사 인자이므로, BET을 통한 조절은 *MYC*를 직접 표적화하지 않고 *MYC* 구동 유전자 발현 프로그램을 변경하는 기작을 제공한다. 이와 같은 연구에 기초하여, 다수의 회사가 임상 시험에 진입한 BET 단백질 브로모도메인 억제제를 개발하였다 (표 2).

### 3.6. 전사 인자-DNA 결합 저해하는 DNA 결합 화합물

전사 인자 활성을 억제하기 위해 DNA에 특이적으로 결합하는 저분자를 개발하려는 노력은 계속해서 이어져 왔다. 저분자 화합물은 작은 그루브(minor groove)에서 일련의 염기와 상호작용함으로써, 특정 DNA 서열에 대한 특이성을 갖는다. 이런 화합물은 암에 대한 임상시험 단계에 들어가지 않았기 때문에 현재 임상적 유용성은 확인되지 않았다. DNA 결합 저해 전략의 최근 예시는 *RUNX*-

DNA 결합을 표적으로 한다. RUNX 결합 표적 저해제는 DNA 알킬화제를 화합물의 일부로서 사용하기에, 관찰된 효과 중 결합 억제에 의한 효과와 DNA 손상에 의한 효과를 분리하여 평가하기 어렵다. 그러나, RUNX 조절 유전자의 발현에 대한 효과는 작용 기작과 일치하는 것을 관찰하였다. 또한 AML (MV4-11 세포주 사용), ALL (SU/ SR 세포주 사용) 및 비소 세포 폐암(NSCLC, A549 세포주 사용)의 마우스 이종 이식편 모델에서 저해제 처리 시, 생존율이 크게 증가하는 것이 관찰하였으며, 위암의 마우스 이종 이식 모델(MKN45 세포주 사용)에서 종양 부피가 현저하게 감소하는 것을 관찰하였다.

## 4. 향후 방향

### 4.1. 자동 억제(auto-inhibition) 상태 표적화

자동 억제는 기능성 도메인(촉매 도메인, DNA 결합 도메인, 단백질 결합 도메인 등)의 외부 영역이 기능성 도메인에 결합하여 활성을 자가적으로 억제하는 단백질의 공통 속성이다. 번역 후 수정(post-translational modification; 이하 PTM) 또는 단백질-단백질 상호작용에 의해 조절된다. 포스파타제 SHP2를 억제하기 위해 Novartis는 SHP2 단백질의 자동 억제 상태를 안정화하는 화합물을 스크리닝하고, 최적화하여, 자동 억제 상태 안정화에 대한 구조적 기초를 보여주었다. 자동 억제는 다양한 전사 인자의 공통 속성이므로 이러한 자동 억제 상태를 안정화시키는 개념은 광범위한 유용성을 가진다. 이 접근법은 전형적으로 보존된 DNA 결합 도메인을 공유하는 전사 인자 패밀리에 대해 특이성 측면에서 뚜렷한 이점을 갖는다. 일반적으로 자동 억제를 매개하는 서열은 서로 다르기 때문에, 이 부위를 표적으로 저분자 억제제를 개발한다면, 밀접하게 관련된 단백질 중 특정 전사 인자만을 특이적으로 저해할 가능성이 있다.

### 4.2. 시스테인 반응성 전략 적용

약물과 약물 표적, 특히 시스테인 잔기와의 공유 반응은 잘 알려진 기작이지만, 오프타겟 효과 (off-target effect)로 인한 위험성이 존재한다. 전체 프로테오믹스에 대한 반응성을 프로파일링하는 단백질 접근법의 최근 개발은 공유 약물의 특이성 평가법을 제시한다. 단백질에 대한 공유 반응은 억제제의 활성을 증가시킬 가능성이 있고, 공유 반응이 일어난 단백질의 활성 회복은 아예 새로운 단백질의 합성을 필요로 하기 때문에 억제제의 저해 작용 시간을 증가시킬 수도 있다. DNA 결합 계면에 위치한 시스테인 잔기는 반응성 산소종(reactive oxygen species; ROS) 및 반응성 질소종(reactive nitrogen species; RNS)에 의한 산화환원 신호 전달의 중요한 표적이다. 실제로 다른 보조 인자와의 결합 뿐 아니라 DNA와의 결합 역시 이러한 방식으로 조절되는 전사 인자(AP-1, NF- $\kappa$ B, HIF, NRF2, p53 및 RUNX1 등)가 다수 존재한다. 이 전략의 주요 과제는 오프타겟 효과 또는 독성을 피하기 위해 공유 반응 시 고도의 특이성을 갖는 물질의 개발이다.

### 4.3. PTM 표적화

전사 인자의 활성화에 영향을 주는 변형에는 세린, 트레오닌, 티로신의 인산화, 리신, 아르기닌의 메틸화 및 리신 아세틸화(ubiquitylation, sumoylation 및 ADP ribosylation) 등이 있다. 최근 프로테오믹스 연구는 p53에 99개의 잔기를 포함하는 222개의 이러한 PTM을 확인하였다. RUNX1은 세린, 트레오닌, 티로신 인산화, 아르기닌 메틸화 및 리신 아세틸화에 의해 조절되는 것으로 나타났다. 이런 변형은 DNA 결합 활성화 및 보조 인자 상호작용에 영향을 미치기 때문에, 전사 인자 활성을 조절할 수 있는 상대적으로 쉬운 표적이 된다.

### 4.4. 본질적 무질서 영역(intrinsically disordered region; IDR) 표적화

전사 인자는 종종 고유한 무질서 영역, 즉 안정적인 3차원 구조를 형성하지 않는 영역을 포함한다. 암 관련 단백질의 79%는 30개 혹은 그 이상의 아미노산으로 구성된 무질서 영역을 갖는다. 이 영역은 그 자체로는 구조화되지 않지만, 결합 파트너와의 상호작용에 의해 종종 구조화된다. 본질적 무질서 영역은 전사 인자와 보조 인자와의 상호작용을 매개하기도 한다. 백혈병-유도 전사 인자인 융합 단백질 MLL-AF9의 AF9 부분은 AF4, DOT1L, BCOR 및 CBX8에 대한 결합을 매개하는 본질적 무질서 영역이다. 이 AF9이 AF4 및 DOT1L과 상호작용하는 것이 MLL-AF9에 의한 백혈병 유발에 결정적 요소인 것으로 나타났다. 약리학 및 단백질-저분자 상호작용에 대한 전통적인 관점에서는 본질적 무질서 영역은 구조를 알기 어렵고, 저분자가 붙을 수 있는 결합 부위가 없기 때문에, 본질적 무질서 영역을 표적에서 제외하는 경향이 있다. 그러나 최근의 분석은 본질적 무질서 단백질이 그 파트너와 결합할 때의 구조를 기반으로 저분자가 결합할 수 있는 잠재적 구조가 높은 비율로 존재함을 제시하였다. 이런 표적을 다룰 때의 실질적인 문제는 표적 결합에 대한 검증 및 화합물 최적화 방법이다. 즉, NMR이나 X-선 결정학에 기반한 표적 특이적 결합의 검증이 억제제 개발 프로그램의 중요한 구성 요소다. 본질적 무질서 영역은 결정화할 수 없기 때문에 X-선 결정학은 사용할 수 없다. 따라서 NMR 데이터가 해당 억제제를 평가하는 중요한 기준이 될 것이다. 본질적 무질서 영역은 매우 동적(dynamic)이므로 결합 상태의 자세한 정보를 얻기 어렵다. 해당 영역에 대한 화합물 최적화는 보다 전통적인 의약 화학 접근법에 의존해야 하며, 대상의 동적 특성 때문에 구조-활동 관계를 도출하는 데 어려움을 겪고 있다. 그럼에도 불구하고 이러한 억제제의 개발은 광범위한 새로운 표적을 발굴해낼 것이라 기대되고 있다.

## 5. 주목할 점

지금까지의 전사 인자 표적화 결과는 매우 고무적이다. 전사 인자를 조절하는 능력을 실질적으로 향상할 수 있는 수많은 새로운 접근법이 현재 시험되고 있다. 키나아제 억제제를 단일로 사용할 경우 야기되는 저항성을 극복하기 위해 키나아제 억제제와 전사 인자 조절제를 조합하여 활용하는 방법도 시도되고 있다. 마지막으로, 가까운 미래에 전사 인자를 활성화할 수 있는 약물 개발로 특정 암에서 발현이나 활성이 감소한 종양 억제성 전사 인자의 활성을 증가시키는 것을 기대해 볼 수 있을 것이다.

The views and opinions expressed by its writers do not necessarily reflect those of the Biological Research Information Center.

하자인(2020). 암 전사 인자 표적화 - 불가능에서 현실로. BRIC View 2020-R09  
Available from [https:// www.ibric.org/ myboard/ read.php?Board=report&id=3468](https://www.ibric.org/myboard/read.php?Board=report&id=3468) (Mar. 26, 2020)

Email: member@ibric.org