



## REVIEW ARTICLE

# 골 전이성 전립선암의 동물 모델

전우혁<sup>1</sup>, 송재은<sup>1</sup>, 장승주<sup>1</sup>, 맹세정<sup>2</sup>, 장인호<sup>2</sup>, 태종현<sup>2</sup>

<sup>1</sup>중앙대학교 의과대학 의학부, <sup>2</sup>중앙대학교 의과대학 비뇨의학교실

## Animal Models for Bone Metastatic Prostate Cancer

Woo Hyeok Jeon<sup>1</sup>, Cheeun Song<sup>1</sup>, Seung Ju Jang<sup>1</sup>, Sejung Maeng<sup>2</sup>, In Ho Chang<sup>2</sup>, Jong Hyun Tae<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Medicine, Chung-Ang University College of Medicine, Seoul, Korea

<sup>2</sup>Department of Urology, Chung-Ang University College of Medicine, Seoul, Korea

Metastatic disease is a main cause of mortality in prostate cancer and remains to be incurable despite emerging new treatment agents. Development of novel treatment agents are confined within the boundaries of our knowledge of bone metastatic prostate cancer. Exploration into the underlying mechanism of metastatic tumorigenesis and treatment resistance will further expose novel targets for novel treatment agents. Up to date, many of these researches have been conducted with animal models which have served as classical tools that play a pivotal role in understanding the fundamental nature of cancer. The ability to reproduce the natural course of prostate cancer would be of profound value. However, currently available models cannot reproduce the entire process of tumorigenesis to bone metastasis and are limited to reproducing small portions of the entire process. Therefore, knowledge of available models and understanding the strengths and weaknesses for each model is key to achieve research objectives. In this article, we take an overview of cell line injection animal models and patient-derived xenograft models that have been applied to the research of human prostate cancer bone metastasis.

Received September 30, 2022

Revised October 14, 2022

Accepted October 17, 2022

Corresponding author:

Jong Hyun Tae

Email: jjongee13@cauhs.or.kr

<https://orcid.org/0000-0001-5826-3469>

**Key Words:** Prostatic neoplasms, Neoplasm metastasis, Bone neoplasms

## 서론

전립선암은 미국 남성에서 두 번째로 가장 흔하게 발병하는 암으로, 전이가 없는 단계에서는 치명율이 낮다(진단 후 5년간 생존율, 100%).<sup>1,2</sup> 그러나 국소 진행성 전립선암과는 달리 전이성 전립선암은 예후가 나쁘다(진단 후 5년간 생존율, 29.8%).<sup>1,2</sup> 그러므로 향후에는 전이성 전립선암으로의 진행을 억제하고 치료하는 것이 전립선암 환자들의 전반적인 생존율을 높이기 위한 효과적인 전략이 될 것이며, 이 분야에서 신약개발이 활발히 이루어지고 있다.

국소 단계의 전립선암은 전이 단계로 이환되는 것을 예방하기 위해 암세포의 원발부위 탈락과 전이병변으로의

침투, 림프계 또는 혈관계를 통한 전이를 표적으로 하는 치료가 효과적인 반면, 전이성 전립선암의 경우에는 휴면 세포를 표적으로 치료 저항성과 추가 전이 및 재발을 억제하고, 원발부위 진행을 억제하기 위한 표적 치료가 도움이 될 것이다.

골 전이성 전립선암의 동물 모델들은 전립선암의 특성을 이해하고, 이를 표적으로 새로운 치료법을 발굴하기 위해 반드시 필요한 도구이다. 그러나 현재까지 정립되어 있는 골 전이성 전립선암의 모델들은 원발부위로부터 전이 과정을 거치고, 또 치료저항성을 획득하는 전립선암의 진행 과정을 전반적으로 포괄하지 못한다. 그 이유는, 모델에 따라서는 연구하는 목적에 맞추어 특정한 과정들이 우



회되거나 생략되어 있기 때문이다. 예를 들어, 마우스나 랫트의 옆구리에 전립선암 세포주를 피하 주사하는 것은 1차 병변 발생의 연구에는 이용될 수 있지만, 골 전이로 진행되는 경우는 드물기 때문에 전이성 전립선암 연구로는 적합하지 않다. 또한, 전립선암 세포주를 혈액 내 직접 투여하는 것은 혈행성 전이 확산의 과정을 연구하는데 적합할 수 있으나, 원발 부위에서 종양의 증식과 탈락의 초기 단계를 생략하게 된다. 전이 확산의 과정을 전반적으로 재현할 수 있는 유전자 변형 마우스 모델을 이용할 수도 있지만, 마우스 유래 전립선암은 임상에서 적용하는데 한계가 있다. 임상에서는 환자 유래 이종이식 모델을 이용하여 많은 연구가 이루어졌고, 더욱 이상적인 모델을 만들고자 다양한 시도가 이루어졌다. 그럼에도 불구하고 전이성 전립선암의 자연사를 전체적으로 보여줄 수 있는 모델은 여전히 개발되지 못했다.

이 논문에서는 골 전이성 전립선암의 골 내 미세환경에서 일어나는 변화를 분자생물학적인 측면에서 다루고, 현재까지 개발된 골 전이성 전립선암의 동물 모델을 살펴보고 향후 개발될 차세대 골 전이성 전립선암 모델의 방향성을 제시하고자 한다.

## 골 전이의 단계

전립선암이 원발부위에서 점차 증식(proliferation)함에 따라 암세포가 원발부위로부터 탈락(detachment)하여 림프계 또는 말초 혈관을 통해 원격전이를 일으킨다. 정상 전립선의 상피세포는 인접한 세포와 세포 외 기질(extracellular matrix, ECM)에 밀착해 있다. 반면에 전립선암 세포는 인접한 세포와 세포 외 기질과의 부착성이 약해져 전이와 침투력이 증가한다. 이러한 변화를 상피-중간엽 변형(epithelial-to-mesenchymal transition, EMT)으로 설명하는 이론이 있다. EMT는 결과적으로 세포 간 접착을 감소시키고 혈관 내 침투(intravasation)를 촉진한다. 이것은 변형된 세포골격계 단백질의 발현과,<sup>3</sup> 세포 접착 분자인 E-cadherin 발현의 감소 및 N-cadherin 발현의 증가가 주된 원인으로 추정된다.<sup>4</sup>

전립선암 세포가 림프 및 혈관에 도달하게 되면, CXC-chemokine 수용체 4를 발현하여<sup>5,6</sup> 골수 내피 세포, 줄기세포 및 골수 유래 간질세포에서 분비되는 CXC-chemokine ligand 12으로 유도된다.<sup>7</sup>  $\alpha V\beta 3$  또는  $\alpha 2\beta 1$  과 같은 인테그린 단백질들은 혈관 외 유출 이후에 전립선

암세포가 골수 내 내피세포 및 기타 ECM 단백질에 부착되도록 매개한다.<sup>8-10</sup> Matrix metalloproteinase는 골 내 틈을 만들어 전립선암 세포가 골 내 안착하고 미세 환경과 상호작용할 수 있는 환경을 제공한다. 골수로 유도되는 과정에 기여하는 다양한 인자들은 모두 파골세포로부터 파생되거나 암세포 엑소솜에 의해 매개된다.<sup>11,12</sup>

암세포의 전이가 일어나는 과정에서 원발부위로부터 탈락된 암세포가 성공적으로 전이를 일으키는 것은 극히 일부의 암세포에 국한된다.<sup>13,14</sup> 전이 성공률이 낮은 이유는 원발부위를 벗어난 암세포는 생존력이 낮으며, 성장 개시 및 거대 전이 형성으로 진행하지 못하기 때문이다. 정확한 기전은 불분명하지만, 대부분의 단독적이고 비증식적인 전이 암세포는 전이된 부위에서 향후 활성화가 되기 전까지 휴면상태로 지낸다. 특히, 골 미세 환경에서는 전립선암 세포가 재활성화와 전이 형성에 유리한 조건이 될 때까지 휴면 상태에서 존재할 수 있음을 확인했다.<sup>15</sup> 뼈의 형성과 흡수가 활발하지 않고, 골아세포가 풍부하며 조혈모세포가 활동하지 않는 곳에서 휴면상태가 유지된다.<sup>16</sup> 재활성화는 파골세포에 의해 매개되거나, 암세포 스스로 재활성화를 일으킬 수 있을 것으로 추정된다.

골 미세 환경에서 종양 세포는 주변 환경과의 상호작용을 통해 암세포가 점차 활발히 증식하게 되고 비정상적인 골형성이 이루어지게 된다. 종양 세포는 골아세포를 활성화시켜 비정상적인 골 형성과 파골세포 활성화를 유도하며, 파골세포는 다시 골 흡수를 통해 암세포의 성장을 촉진시키는 다양한 성장 인자들을 방출하여 종양세포증식을 일으키는 악순환이 발생한다. 연구가 많이 이루어진 유방암의 골 전이 병변에서 흔하게 발생하는 골 용해성 병변(osteolytic lesion)내에서 종양 세포는 파골세포로의 분화를 촉진하는 인자들을 분비한다.<sup>17</sup> 종양 세포는 receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand (RANKL)를 직접 분비하여 파골세포로의 분화를 촉진시키기도 하고, 부갑상선 호르몬 관련 단백질(parathyroid hormone-related protein), jagged 1, tumor necrosis factor, interleukin (IL)-6, IL-8, granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF)를 발현하여 직접적인 파골세포의 분화 혹은 간접적으로 골아세포의 활성화를 통해 파골세포의 분화와 활성을 가속화한다.<sup>17-19</sup> 활성화된 골아세포는 IL-6, 대식세포 콜로니 자극 인자(GM-CSF), RANKL과 같은 인자를 분비하여 파골세포에 의한 뼈 재흡수를 촉진한다.<sup>17-19</sup>

골격탈회(skeletal demineralization)는 성장 인자, 특히 transforming growth factor (TGF)  $\beta$ , 인슐린 유사성장 인자(insulin-like growth factor, IGF), 칼슘 이온을 방출하며, 이들은 종양세포의 성장을 촉진한다.<sup>18,19</sup> 그러나 대부분의 전립선암 골 전이 병변은 본질적으로 조골성이므로 비정상적이며 불안정한 뼈의 재형성이 이루어진다.<sup>20</sup> 이와 같은 조골성 골 전이 병변이 발생하는 것은 Wnt 신호 전달 경로의 억제제인 Dickkopf-related protein 1 (DK1)의 역할이 있을 것으로 추정된다.<sup>21</sup> 또한, Wnt 리간드, 골형성단백질(bone morphogenetic protein), endothelin 1, 섬유아세포 성장인자(fibroblast growth factor, FGF), 종양에 의해 분비되는 IGF는 모두 골수 계면에서 골아세포들을 활성화시키거나 전구세포를 골아세포로의 분화를 촉진한다.<sup>18,22,23</sup>

골 전이 병변 내에서 미세환경과 암세포 간의 상호작용은 고도로 복잡한 과정이며, 다양한 세포들이 참여하여 암세포의 성장과 억제에 기여할 것으로 추정된다. 전립선암의 골 전이 과정은 수십 년간 연구가 지속되었음에도 불구하고 여전히 기저의 메커니즘을 정확하게 규명하지 못했다. 난제를 해결하기 위해서는 혁신적이고 효과적인 전임상 모델들이 더욱 많이 개발되어야 할 것이며, 이를 통해 메커니즘을 규명하여 새로운 표적을 발굴할 수 있을 것이다.

## 골 전이의 동물 모델

### 1. 초기 동물 모델

전립선암의 최초의 동물 모델은 쥐를 이용하여 개발되었으며, 이는 쥐가 자발적으로 전립선암을 발병시킬 수 있었기 때문에 가능하였다. Dunning rat은 전립선암의 초기 동물 모델 중 하나로써, R3327 세포로 명명된 암세포를 분리, 보존하는데 성공하였으며 다른 쥐에게 피하로 재주입시킨 최초의 모델이었다.<sup>24,25</sup> 하지만, R3327의 하위종들은 림프절이나 폐로만 전이가 일어나며, 골 전이는 발생하지 않는 것으로 밝혀지면서 골 전이 연구의 모델로 이용하는 데에는 한계가 있었다.<sup>26</sup> 이후에는 개에서 전립선암의 골 전이가 자연적으로 발생하는 것을 보고 연구 모델로 사용하고자 하였으나, 개에서 전립선암의 발생은 매우 드물었고, 개는 사람과는 달리 전립선암 연구의 핵심 수용체인 membrane androgen receptor (AR)가 없다.<sup>27</sup> 그

결과, 개에서 보이는 전립선 과형성증은 항상 androgen receptor와 무관하게 발생하며, 이는 사람의 전립선 질환 연구에 적용하는데 한계로 작용한다.<sup>28,29</sup>

### 2. 세포주 주입 모델

세포주를 이용한 전립선암 모델은 현재 체외 및 체내 모델의 대부분을 차지한다. 1991년에 Wang과 Stearns<sup>30</sup>는 전립선암의 골 전이 마우스 모델을 처음 개발하였으며, 이는 침습성이 높은 PC3 세포주를 이용하여 중증복합면역결핍(severe combined immunodeficiency, SCID) 마우스의 측면 꼬리 정맥(lateral tail vein)에 주입하여 발생한 전이 병변으로부터 다시 암세포를 추출하여 새로운 마우스의 측면 꼬리 정맥에 주입하는 반복적인 과정을 통해 약 80% 이상의 확률로 골 전이를 일으키는 침습적인 PC3 세포주를 추출하는 데 성공한다.

체외 또는 체내에서 높은 전이성을 나타내는 세포주를 추출하는 기술은 보편화가 되었으며, 현재는 수많은 전립선암 세포주들이 존재한다. Haq 등<sup>31</sup>은 Dunning 세포주의 하위종인 R3327-Mat-LyLu 세포를 코펜하겐 랫트의 심장 내 주입(intracardiac injection)한 모델을 고안하였다. 세포주의 심장 내 주입은 접종된 쥐의 100%에서 척추 전이를 발생시킨 것으로 보고 되었으며, 기존 마우스 모델처럼 연속적인 접종과 침습적인 세포의 선별 과정이 필요하지 않게 되었다.<sup>31</sup> 심장 내 주입은 종양 세포가 심장의 좌심실을 통해 폐 모세혈관을 우회하여 발생하는 것으로 추정하고 있다.<sup>31</sup> 이 접종 기법은 전립선암의 골 전이를 위해 가장 흔히 사용하는 방법 중 하나이며, 꼬리 정맥 내 주입 및 대정맥의 폐색을 통해 골 전이를 유도하는 주사 모델보다도 더 발전된 방법이다.<sup>32</sup> 또한, 심장 내 세포주의 주입으로 유도되는 골 전이는 기존 꼬리 정맥 내 주입 및 대정맥 폐색 모델보다 병리학적으로 인간의 골 전이와 더 유사하다.<sup>33</sup> 골 전이가 가장 많이 일어나는 곳이 적색 골수 함량이 풍부한 중축 골격과 척추이기 때문에 심 내 주입 모델은 사람의 전립선암 골 전이와 매우 유사한 장점이 있다.

대부분의 전립선암 골 전이 전임상 모델들은 면역 결핍 동물에 연구하고자 하는 특성을 고려한 적절한 세포주를 직접 주입함으로써 만든다. 세포주의 기원이 숙주와 다른 경우에는 면역 결핍 동물의 사용이 필수적이다.<sup>34</sup> 일반적으로 모델의 성공 여부를 나타내는 척도는 종양의 수율

(tumor take rate)이며, 이는 세포주의 종류, 마우스의 계통, 그리고 주입 방법에 따라 결정된다. 세포주의 종류에 따라 각각 고유한 유전적 특성을 가지고 있으며, 호르몬 감수성 여부 및 전이능력 그리고 항원성이 모두 다르다. 가장 흔하게 사용되는 전립선 암 세포주는 PC3, DU145, 그리고 LNCaP 세포주이다. AR 의존성, 전립선특이항원 (prostate-specific antigen, PSA)의 발현과 같은 생화학적 특성에서 서로 다르며, 진행하고자 하는 실험의 종류에 따라 적합한 세포주를 선택하는 것이 필요하다.

PC3 세포주는 1979년 골 전이성 전립선암 환자로부터 동정되었다.<sup>35</sup> PC3 세포주는 전이성이 높고 호르몬 저항성이며 PSA 음성이다. 또한, PC3 세포주는 신경내분비암(neuroendocrine)이나 소세포암의 특성이 더 강하다. 현재는 다양한 PC3 세포주의 파생물들이 존재하는데, 이는 수 세대에 걸쳐 연속적인 주입과 전이 병변으로부터 암세포를 추출하는 과정을 거쳐 동정되었다. 예를 들어, 1984년에 Kozlowski 등<sup>36</sup>은 누드 마우스에 PC3 세포를 비장 내 주사하여 간결절에서 세포를 채취하였고 이러한 전이성 변종들은 PC3M 세포라 명명되었다. 1996년, Pettaway 등<sup>37</sup>의 연구에서는 PC3M 세포를 이용하여, 림프절 전이로부터 세포를 채취하여 PC3M-LN4 세포주를 확립하였다. PC3 세포주로부터 파생된 모든 세포주는 골 용해성 골 전이를 형성한다.<sup>38</sup> 사람의 전립선암 골 전이 병변은 일반적으로 조골성(osteoblastic)인 것을 감안하였을 때, PC3 세포주는 사람의 전립선암 자연사를 완전히 반영하지는 못한다. 그럼에도 불구하고 PC3 세포주는 여전히 가장 흔히 사용되는 세포주 중 하나이며, 그 이유는 PC3 세포주가 공격성이 높기 때문에 생체 내 쉽게 안착하고 성장할 수 있기 때문이다.<sup>39</sup>

DU145 세포주는 사람의 전립선암 뇌 전이병변에서 기원하였다.<sup>40</sup> PC3 세포와 마찬가지로 DU145 세포는 호르몬 불응성이고 PSA를 발현하지 않는다.<sup>34,40</sup> 또한, DU145 세포주는 경골 내 또는 심 내 주입하면 골 용해성 골 병변을 생성한다.<sup>38</sup> PC3 세포주는 신경내분비암이나 소세포암의 특성이 강한 반면, DU145 세포주는 선암(adenocarcinoma) 특성을 갖고 있으며, 체내에서 골 전이를 생성할 수 있기 때문에 전립선암 연구에 유리하다. 그러나 PC3 세포주와 마찬가지로 골 전이가 형성되면 자연 상태에서는 주로 골 분해를 일으키며, 이는 전립선암의 일반적인 골 전이에서 관찰되는 조골성 병변과는 다르다.

LNCaP 세포주는 전임상 전립선 암 모델에서 흔히 사용

되는 세포주이다. PC3 및 DU145 세포와는 달리 LNCaP 세포는 호르몬 감수성이 있으며(AR 양성), PSA를 발현한다. 사람에서 관찰되는 일반적인 전립선암의 표현형과 유사하다.<sup>34,41</sup> LNCaP 세포는 또한 estimated glomerular filtration rate, TGF $\alpha$  수용체(TGF $\alpha$  receptor), FGF 수용체(FGF receptor), IGF1 수용체(IGF1 receptor)를 발현하며 wild type p53 및 비기능형 phosphatase and tensin homolog를 갖는다.<sup>42-45</sup> 또한, LNCaP 세포에서 발현되는 AR는 테스토스테론 외에도 다양한 안드로겐에 대한 특이성을 갖게 하는 T877A 돌연변이가 있다.<sup>46</sup> LNCaP 세포의 하위 종인 C4-2B는 거세된 생쥐에서 배양된 다음 골 전이에서 세포를 채취할 수 있을 때까지 반복적으로 거세된 생쥐에 주입하여 계대 배양되었다.<sup>47</sup> LNCaP C4-2B 세포는 호르몬 불응성이며, 기존의 LNCaP 세포주보다 전이능력이 우월하며, 골 내 또는 심 내 주사 시 면역결핍 마우스 내부에 조골성 또는 조골성-골용해성 혼합 뼈 병변을 생성한다.<sup>46,48</sup> 이는 전립선암의 가장 미분화된 상태와 매우 유사하다.

자연적으로 발생하는 모든 종양과 그 전이는 분자적, 세포적 이질성을 가지고 있다.<sup>49</sup> 하지만, 세포주를 개발하는 과정에서 여러 세대에 걸쳐 연속적으로 세포 배양을 한 결과, 표현형이 일관된 세포집단을 생산하기 때문에 분자적, 세포적 이질성이 소실된다. 반면에, 세포주를 사용하면 새로운 환자 검체를 사용했을 때와는 달리 재현성과 예측 가능성이 보장되므로 전립선암의 연구 모델에서 많이 활용된다. 세포주를 이용하여 개발된 전립선암 모델들은 연구 목적으로 특정 발광효소의 부착 및 형광 마커 유전자 발현 등을 통해서 체 내 이미징이 가능한 장점이 있다. 다만, 유전자의 변형으로 암세포의 특성이 바뀔 수 있기 때문에 조작된 세포주를 사용하기에 앞서 체내에서 다시 실험을 통해 유사성이 확인되어야 한다.

실험 목적에 적합한 모델을 선택하기 위해서는 각 모델의 특성과 한계를 고려해야 한다. 예를 들어, 설치류의 긴 뼈에 직접 세포주를 주입하는 방법은 골 전이의 과정은 생략되어 있기 때문에 골 전이가 이루어진 상태에서 미세환경과의 상호작용 연구에 이용될 수 있을 것이다. 마찬가지로, 체순환에 세포주를 주사하는 방법은 혈관 외 유출과 전이 종양의 발달에 대한 연구를 가능하게 할 것이다. 세포주의 선택도 신중하게 고려되어야 한다. PC3 세포주는 공격적인 말기 전립선암의 표현형에 적합할 것이며, 일반적으로 관찰되는 선암보다는 신경 내분비 분화 종양에 가

같다. 반면에, DU145 세포주는 선암의 특징을 보존하고 있으며, 이를 사용하여 얻은 실험 결과는 PC3 세포주보다는 인간 피험자의 임상 효과를 더 잘 예측할 수 있는 장점이 있다. 그러나 두 세포주는 모두 골융해성 병변을 형성하는 단점이 있다.

### 환자 유래 이종이식 모델(PDX 모델)

전립선암의 환자 유래 이종이식편(patient-derived xenograft, PDX) 모델은 면역결핍마우스에 환자 종양 조직을 직접 이식함으로써 세포주 모델보다 전립선암의 유전적 특성과 종양 이질성을 잘 반영한다.<sup>50</sup> PDX 모델의 성공은 이식하는 부위에 따라서 크게 좌우된다. 흔히 사용되는 이식 부위로는 피하 공간, 전립선(정위 주입), 신장 피막하가 있다. 신장 피막하 이식법은 혈류량이 많아 생착율이 가장 높으며, 이는 호르몬 박탈 요법 치료에 따른 거세 저항성 전립선암으로 진행되는 과정을 연구하는데 활용되기도 한다.<sup>51</sup> PDX 모델은 임상적으로 유용하며, 현존하는 전립선 암 모델 중에서 사람에서 관찰되는 전립선암을 가장 유사하게 재현하고 약물 효능을 예측을 할 수 있다.

PDX 모델의 경우에는 지속적으로 마우스 체내에서 종양을 배양해야 한다. 예를 들어, LuCaP 전립선암 모델은 환자 21명의 전이부위에서 개별적으로 동정되어 확립된 모델로써 전통적으로는 생쥐의 피하에 주입하여 지속적으로 유지한다.<sup>52,53</sup> PDX 모델은 전통적 세포주와 비교하였을 때, 종양의 이질성이 잘 보존되지만, 세대가 지나면서 마우스 환경 내에서도 이질성이 일부 소실된다.<sup>54</sup> 그럼에도 불구하고, 특정세포에게 유리하거나 불리하도록 외력이 작용하지 않기 때문에 종양의 이질성은 세포주와 비교하였을 때 상당한 부분이 보존된다.<sup>55</sup>

PDX 모델의 단점은 초기에는 골 전이가 잘 발생하지 않는다는 것이다. 이 한계를 극복하기 위해서는 종양세포를 연속적으로 마우스에 접종해야 한다.<sup>48</sup> Wang 등<sup>48</sup>의 연구에서는 비-비만 당뇨병(nonobese diabetic)-SCID 생쥐의 신장 피막하에 환자 종양 샘플을 이식하여 배양하여 이를 다시 새로운 생쥐의 전립선에 정위 주입하였다. 그 이후에 발생한 림프절 전이 병변에서 조직을 채취하여 다시 전립선에 정위 주입하였고, 그 이후에는 골 전이를 포함하여 다양한 장기로의 전이가 발생했다. 이와 같은 방법으로 골 전이성 전립선암 PDX 모델을 생성할 수 있었지만, 이는 한 개체에서 다음 개체로의 연속적인 세포 배양에

따라 공격적인 세포의 선택에 영향을 줄 수 있으며, 본래의 종양 이질성이 부분적으로 훼손되는 결과를 초래한다. PDX가 피하주입으로 유지될 때에도 유전적 부동(genetic drift)이 일어나는 것은 이와 같은 이유에서이다.<sup>54</sup>

Prostate Cancer San Diego 1 모델은 다른 PDX 모델과는 달리, 면역 결핍 마우스의 대퇴골 내 종양세포를 직접 주입함으로써 바로 골병변을 생성할 수 있다.<sup>56</sup> 이 PDX 모델은 전이 연쇄단계의 마지막 단계만 구현하므로 골근집화(bone colonization) 모델에 불과하다. 그러나 이 모델은 일반적으로 사용되는 세포주에 비해 개선된 이질성으로 인해 골조직에서 전이 발생 메커니즘에 대한 넓은 통찰력을 제공한다. 체내 대퇴골 주입을 사용하여 생성된 종양은 환자에서 관찰되는 골 전이의 표현형을 유사하게 모방하는 것으로 보고되었다.<sup>56</sup> 또한, 이 모델에서 bicalutamide와 같은 항호르몬제를 처리하였을 때 거세 저항성으로 진행되지는 않았지만 PSA와 AR 발현이 현저히 감소하는 것을 확인할 수 있었다.<sup>56</sup> 하지만, 이 모델의 경우에는 골 내 접종 시 골 손상이 발생할 수 있으며, 골 손상에 따른 국소적 염증 반응이 실험 결과에 영향을 줄 수 있을 것으로 보고되었다.<sup>57</sup>

결론적으로, 골 전이성 전립선암의 PDX 모델은 전이 연쇄단계의 모든 측면을 재구성할 수 있는 잠재력을 가지고 있다. 종양의 이질성을 보존할 수 있는 장점과 사람의 전립선암 연구에 활용도가 높다. 그러나 종양 주입 방법과 이식 부위에 따라 수율(take rate)이 저조할 수 있으며, 숙련된 기술자 여부에 따라 결과가 다를 수 있다. 그 뿐만 아니라, 조직 거부 반응을 예방하기 위해서는 실험 동물이 면역 결핍 상태여야 하므로, 전립선암의 면역생물학적인 연구에는 사용될 수 없다.<sup>55</sup>

### 향후 방향

골 전이성 전립선암 연구에 다양한 형태의 동물 모델이 있으나, 대부분의 동물 모델은 이종이식편에 대한 거부를 억제하기 위해 면역 결핍동물을 사용할 수 밖에 없다. 그러므로 면역 결핍동물에서 발생하는 전립선암 병변의 복잡한 면역 생물학적 상호 작용에 대한 연구는 할 수 없다. 면역 생물학적 연구를 위해 형질전환 마우스 모델과 같은 혁신적인 모델이 개발되고 있으나 여전히 사람의 전립선 암 연구에는 한계가 있다. 최근 면역요법은 임상에서 그 적용분야가 점차 확대되고 있으며, 골 전이성 전립선암

에서 면역요법의 효능에 대해 보다 깊이 있는 연구를 하기 위해서는 조골성 병변(osteoblastic bone lesion)을 형성하며, 면역능력을 유지하면서 원발부위로부터 골 전이가 이루어지는 연쇄단계를 모방할 수 있는 모델의 개발이 필요하다.

사람과 동물, 특히 마우스의 면역체계는 서로 다르다는 것이 이미 많은 연구를 통해 밝혀져 있으며, 전임상 약물 실험의 결과가 임상시험에서 재현되지 않는 주요한 요인이기도 하다.<sup>58,59</sup> 현재 많은 연구가 마우스 면역 체계를 사람과 유사하도록 조작하여 전임상 약물 실험의 모델로 사용하고자 노력하고 있다.<sup>60</sup> 향후 사람의 면역 체계와 유사하도록 조작된 면역 결핍 동물 모델들이 점차 개발되어 전립선암의 면역 생물학적 연구가 보다 활발히 이루어질 것이 기대된다.

골 전이의 발생률을 증가시키는 자발적 유전자 이식 마우스 모델을 사용하는 것도 좋은 대안이 될 수 있다. 이러한 모델은 전이 과정을 전반적으로 잘 나타내고, 전립선암 면역생물학의 연구를 가능하게 할 것이다. 또한, 향후에는 사람의 전립선암에서 관찰되는 유전적 다양성을 보다 잘 나타내는 PDX의 역할이 중요할 것이다. 하지만, 골 전이성 전립선암 대부분의 연구는 골 내 세포주 주입 모델을 이용하였다. 이 모델들은 전립선암 세포와 골 미세 환경 사이의 상호 작용을 연구하는데 효과적이지만, 전이의 자연적인 발생을 연구하는 데는 한계가 있다. PDX 모델은 전립선암의 자연사를 가장 잘 재현하고 임상시험 결과를 근접하게 예측할 수 있을 것으로 기대한다.

## 결 론

현재까지 개발된 전립선암 연구 동물 모델들은 골 전이의 과정을 전반적으로 재현하지는 못한다. 연구하고자 하는 목적에 따라, 재현하고자 하는 전이 과정의 단계에 따라 동물 모델을 선택적으로 사용해야 하는 제약이 있다. 또한, 사람의 면역 체계를 모방하는 동물 모델이 보편화되지 못하여 전립선암의 면역 생물학적 연구는 한계가 있다.

가장 흔하게 사용되는 모델은 세포주를 이용한 동물 모델로써 비교적 쉽게 모델을 만들고 유지할 수 있으나 종양의 이질성을 반영하지 못하는 단점이 있다. 반면에 PDX 모델은 종양의 이질성을 잘 반영하는 장점이 있지만 모델을 만들고 유지하는 것이 쉽지 않다. 그럼에도 불구하고 PDX 모델은 전립선암 연구에 반드시 필요한 모델이다.

전립선암의 면역 생물학적 연구를 위해서는 형질전환 마우스 모델을 사용할 수 있으며, 모델 형성 이후 유지는 비교적 쉽다. 그러나 형질전환 마우스 모델에서 발생하는 골 전이는 모두 신경내분비 분화 세포(neuroendocrine differentiated cell)라는 단점이 있다.

결국에는, 면역 생물학적 연구가 가능하며, 종양의 이질성이 그대로 잘 유지되고, 임상시험의 결과를 잘 예측할 수 있는 전임상 동물 모델의 개발 선행되고, 기술적인 진보가 뒷받침되었을 때 비로소 골 전이성 전립선암을 이해하고 효과적인 신약을 개발할 수 있을 것이다.

알려지지 않은 질병의 특징에 대한 연구를 가능하게 하기 위해 미래 골 전이 전립선암 모델을 개발해야 한다. 차세대 모델은 완전히 온전하거나 인간화된 면역 체계를 갖추는 것에 중점을 두어야 한다.

또한, 체외 또는 체내 종양 이질성을 보존하는 방법은 보다 예측 가능한 임상시험 결과를 만들어낼 수 있다. 마지막으로, 전립선암의 골 내 모델을 통해 많은 관련 발견들이 이루어졌지만, 새로운 항전이 치료법이 개발되기 위해서는, 혈관 외 유출 또는 휴면과 같은 질병의 다른 단계를 연구하는 데에 더 많은 작업이 필요할 것이다. 전립선암 전이의 복잡한 측면을 충실히 재현한 모델은 임상 환경으로 번역될 수 있는 새로운 분자 및 치료적 진보에 선행할 것이다.

## NOTES

• Conflicts of Interest: 저자들은 이 논문과 관련하여 이해관계의 충돌이 없음을 명시합니다.

• Funding: This research was supported by a research grant from Chung-Ang University.

• ORCID

Woo Hyeok Jeon: <https://orcid.org/0000-0003-3360-4153>

Cheun Song: <https://orcid.org/0000-0001-5336-7998>

Seung Ju Jang: <https://orcid.org/0000-0002-1227-9868>

Sejung Maeng: <https://orcid.org/0000-0002-0730-0300>

In Ho Chang: <https://orcid.org/0000-0003-0240-1310>

Jong Hyun Tae: <https://orcid.org/0000-0001-5826-3469>

## REFERENCES

1. Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieud-

- lent J, Jemal A. Global cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin* 2015;65:87-108.
2. Howlader N, Noone AM, Krapcho M, Miller D, Bishop K, Kosary CL, et al., editors. SEER cancer statistics review, 1975-2014 [Internet]. Bethesda (MD): National Cancer Institute; 2017 [cited 2022 May 13]. Available from: [https://seer.cancer.gov/csr/1975\\_2014/](https://seer.cancer.gov/csr/1975_2014/).
  3. Clarke NW, Hart CA, Brown MD. Molecular mechanisms of metastasis in prostate cancer. *Asian J Androl* 2009;11:57-67.
  4. Smith BN, Odero-Marrah VA. The role of Snail in prostate cancer. *Cell Adh Migr* 2012;6:433-41.
  5. Taichman RS, Cooper C, Keller ET, Pienta KJ, Taichman NS, McCauley LK. Use of the stromal cell-derived factor-1/CXCR4 pathway in prostate cancer metastasis to bone. *Cancer Res* 2002;62:1832-7.
  6. Engl T, Relja B, Marian D, Blumenberg C, Müller I, Beecken WD, et al. CXCR4 chemokine receptor mediates prostate tumor cell adhesion through alpha5 and beta3 integrins. *Neoplasia* 2006;8:290-301.
  7. Greenbaum A, Hsu YM, Day RB, Schuettpeitz LG, Christopher MJ, Borgerding JN, et al. CXCL12 in early mesenchymal progenitors is required for haematopoietic stem-cell maintenance. *Nature* 2013;495:227-30.
  8. McCabe NP, De S, Vasanthi A, Brainard J, Byzova TV. Prostate cancer specific integrin alphavbeta3 modulates bone metastatic growth and tissue remodeling. *Oncogene* 2007;26:6238-43.
  9. Hall CL, Dai J, van Golen KL, Keller ET, Long MW. Type I collagen receptor (alpha 2 beta 1) signaling promotes the growth of human prostate cancer cells within the bone. *Cancer Res* 2006;66:8648-54.
  10. Sottnik JL, Daignault-Newton S, Zhang X, Morrissey C, Hussain MH, Keller ET, et al. Integrin alpha-2beta 1 ( $\alpha 2\beta 1$ ) promotes prostate cancer skeletal metastasis. *Clin Exp Metastasis* 2013;30:569-78.
  11. Lynch CC, Hikosaka A, Acuff HB, Martin MD, Kawai N, Singh RK, et al. MMP-7 promotes prostate cancer-induced osteolysis via the solubilization of RANKL. *Cancer Cell* 2005;7:485-96.
  12. Kruger S, Abd Elmageed ZY, Hawke DH, Wörner PM, Jansen DA, Abdel-Mageed AB, et al. Molecular characterization of exosome-like vesicles from breast cancer cells. *BMC Cancer* 2014;14:44.
  13. Luzzi KJ, MacDonald IC, Schmidt EE, Kerkvliet N, Morris VL, Chambers AF, et al. Multistep nature of metastatic inefficiency: dormancy of solitary cells after successful extravasation and limited survival of early micrometastases. *Am J Pathol* 1998;153:865-73.
  14. Williams KC, Wong E, Leong HS, Jackson DN, Allan AL, Chambers AF. Cancer dissemination from a physical sciences perspective. *Converg Sci Phys Oncol* 2016;2:023001.
  15. Kan C, Vargas G, Pape FL, Clézardin P. Cancer cell colonisation in the bone microenvironment. *Int J Mol Sci* 2016;17:1674.
  16. Shiozawa Y, Pedersen EA, Havens AM, Jung Y, Mishra A, Joseph J, et al. Human prostate cancer metastases target the hematopoietic stem cell niche to establish footholds in mouse bone marrow. *J Clin Invest* 2011;121:1298-312.
  17. Kozlow W, Guise TA. Breast cancer metastasis to bone: mechanisms of osteolysis and implications for therapy. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2005;10:169-80.
  18. Ell B, Kang Y. SnapShot: bone metastasis. *Cell* 2012;151:690.
  19. Ren G, Esposito M, Kang Y. Bone metastasis and the metastatic niche. *J Mol Med (Berl)* 2015;93:1203-12.
  20. Roudier MP, Morrissey C, True LD, Higano CS, Vessella RL, Ott SM. Histopathological assessment of prostate cancer bone osteoblastic metastases. *J Urol* 2008;180:1154-60.
  21. Hall CL, Daignault SD, Shah RB, Pienta KJ, Keller ET. Dickkopf-1 expression increases early in prostate cancer development and decreases during progression from primary tumor to metastasis. *Prostate* 2008;68:1396-404.

22. Weilbaecher KN, Guise TA, McCauley LK. Cancer to bone: a fatal attraction. *Nat Rev Cancer* 2011;11:411-25.
23. Logothetis CJ, Lin SH. Osteoblasts in prostate cancer metastasis to bone. *Nat Rev Cancer* 2005;5:21-8.
24. Dunning WF. Prostate cancer in the rat. *Natl Cancer Inst Monogr* 1963;12:351-69.
25. Isaacs JT, Heston WD, Weissman RM, Coffey DS. Animal models of the hormone-sensitive and -insensitive prostatic adenocarcinomas, Dunning R-3327-H, R-3327-HI, and R-3327-AT. *Cancer Res* 1978;38:4353-9.
26. Isaacs JT, Isaacs WB, Feitz WF, Scheres J. Establishment and characterization of seven Dunning rat prostatic cancer cell lines and their use in developing methods for predicting metastatic abilities of prostatic cancers. *Prostate* 1986;9:261-81.
27. Hu YC, Yeh S, Yeh SD, Sampson ER, Huang J, Li P, et al. Functional domain and motif analyses of androgen receptor coregulator ARA70 and its differential expression in prostate cancer. *J Biol Chem* 2004;279:33438-46.
28. Waters DJ, Sakr WA, Hayden DW, Lang CM, McKinney L, Murphy GP, et al. Workgroup 4: spontaneous prostate carcinoma in dogs and nonhuman primates. *Prostate* 1998;36:64-7.
29. Obradovich J, Walshaw R, Goullaud E. The influence of castration on the development of prostatic carcinoma in the dog. 43 cases (1978-1985). *J Vet Intern Med* 1987;1:183-7.
30. Wang M, Stearns ME. Isolation and characterization of PC-3 human prostatic tumor sublines which preferentially metastasize to select organs in S.C.I.D. mice. *Differentiation* 1991;48:115-25.
31. Haq M, Goltzman D, Tremblay G, Brodt P. Rat prostate adenocarcinoma cells disseminate to bone and adhere preferentially to bone marrow-derived endothelial cells. *Cancer Res* 1992;52:4613-9.
32. Geldof AA, Rao BR. Prostatic tumor (R3327) skeletal metastasis. *Prostate* 1990;16:279-90.
33. Arguello F, Baggs RB, Duerst RE, Johnstone L, McQueen K, Frantz CN. Pathogenesis of vertebral metastasis and epidural spinal cord compression. *Cancer* 1990;65:98-106.
34. Sobel RE, Sadar MD. Cell lines used in prostate cancer research: a compendium of old and new lines--part 2. *J Urol* 2005;173:360-72.
35. Kaighn ME, Narayan KS, Ohnuki Y, Lechner JF, Jones LW. Establishment and characterization of a human prostatic carcinoma cell line (PC-3). *Invest Urol* 1979;17:16-23.
36. Kozlowski JM, Fidler IJ, Campbell D, Xu ZL, Kaighn ME, Hart IR. Metastatic behavior of human tumor cell lines grown in the nude mouse. *Cancer Res* 1984;44:3522-9.
37. Pettaway CA, Pathak S, Greene G, Ramirez E, Wilson MR, Killion JJ, et al. Selection of highly metastatic variants of different human prostatic carcinomas using orthotopic implantation in nude mice. *Clin Cancer Res* 1996;2:1627-36.
38. Dai J, Hensel J, Wang N, Kruihof-de Julio M, Shiozawa Y. Mouse models for studying prostate cancer bone metastasis. *Bonekey Rep* 2016;5:777.
39. Ablin RJ, Mason MD. Introduction: metastasis as a therapeutic target. In: Ablin RJ, Mason MD, editors. *Metastasis of prostate cancer*. Dordrecht (Switzerland): Springer; 2008.
40. Stone KR, Mickey DD, Wunderli H, Mickey GH, Paulson DF. Isolation of a human prostate carcinoma cell line (DU 145). *Int J Cancer* 1978;21:274-81.
41. Tai S, Sun Y, Squires JM, Zhang H, Oh WK, Liang CZ, et al. PC3 is a cell line characteristic of prostatic small cell carcinoma. *Prostate* 2011;71:1668-79.
42. Vlietstra RJ, van Alewijk DC, Hermans KG, van Steenbrugge GJ, Trapman J. Frequent inactivation of PTEN in prostate cancer cell lines and xenografts. *Cancer Res* 1998;58:2720-3.
43. Connolly JM, Rose DP. Production of epidermal growth factor and transforming growth factor-alpha by the androgen-responsive LNCaP human prostate cancer cell line. *Prostate* 1990;16:209-18.
44. Nakamoto T, Chang CS, Li AK, Chodak GW. Basic

- fibroblast growth factor in human prostate cancer cells. *Cancer Res* 1992;52:571-7.
45. Carroll AG, Voeller HJ, Sugars L, Gelmann EP. p53 oncogene mutations in three human prostate cancer cell lines. *Prostate* 1993;23:123-34.
  46. Veldscholte J, Ris-Stalpers C, Kuiper GG, Jenster G, Berrevoets C, Claassen E, et al. A mutation in the ligand binding domain of the androgen receptor of human LNCaP cells affects steroid binding characteristics and response to anti-androgens. *Biochem Biophys Res Commun* 1990;173:534-40.
  47. Thalmann GN, Anezinis PE, Chang SM, Zhau HE, Kim EE, Hopwood VL, et al. Androgen-independent cancer progression and bone metastasis in the LNCaP model of human prostate cancer. *Cancer Res* 1994;54:2577-81.
  48. Wang Y, Xue H, Cutz JC, Bayani J, Mawji NR, Chen WG, et al. An orthotopic metastatic prostate cancer model in SCID mice via grafting of a transplantable human prostate tumor line. *Lab Invest* 2005; 85:1392-404.
  49. Hong MK, Macintyre G, Wedge DC, Van Loo P, Patel K, Lunke S, et al. Tracking the origins and drivers of subclonal metastatic expansion in prostate cancer. *Nat Commun* 2015;6:6605.
  50. Lin D, Xue H, Wang Y, Wu R, Watahiki A, Dong X, et al. Next generation patient-derived prostate cancer xenograft models. *Asian J Androl* 2014;16: 407-12.
  51. Lin D, Wyatt AW, Xue H, Wang Y, Dong X, Haegert A, et al. High fidelity patient-derived xenografts for accelerating prostate cancer discovery and drug development. *Cancer Res* 2014;74:1272-83.
  52. Ellis WJ, Vessella RL, Buhler KR, Bladou F, True LD, Bigler SA, et al. Characterization of a novel androgen-sensitive, prostate-specific antigen-producing prostatic carcinoma xenograft: LuCaP 23. *Clin Cancer Res* 1996;2:1039-48.
  53. Nguyen HM, Vessella RL, Morrissey C, Brown LG, Coleman IM, Higano CS, et al. LuCaP prostate cancer patient-derived xenografts reflect the molecular heterogeneity of advanced disease and serve as models for evaluating cancer therapeutics. *Prostate* 2017;77:654-71.
  54. Ben-David U, Ha G, Tseng YY, Greenwald NF, Oh C, Shih J, et al. Patient-derived xenografts undergo mouse-specific tumor evolution. *Nat Genet* 2017; 49:1567-75.
  55. Tentler JJ, Tan AC, Weekes CD, Jimeno A, Leong S, Pitts TM, et al. Patient-derived tumour xenografts as models for oncology drug development. *Nat Rev Clin Oncol* 2012;9:338-50.
  56. Godebu E, Muldong M, Strasner A, Wu CN, Park SC, Woo JR, et al. PCSD1, a new patient-derived model of bone metastatic prostate cancer, is castrate-resistant in the bone-niche. *J Transl Med* 2014;12:275.
  57. Neudert M, Fischer C, Krempien B, Bauss F, Seibel MJ. Site-specific human breast cancer (MDA-MB-231) metastases in nude rats: model characterisation and in vivo effects of ibandronate on tumour growth. *Int J Cancer* 2003;107:468-77.
  58. Mestas J, Hughes CC. Of mice and not men: differences between mouse and human immunology. *J Immunol* 2004;172:2731-8.
  59. Hackam DG, Redelmeier DA. Translation of research evidence from animals to humans. *JAMA* 2006;296:1731-2.
  60. Fu J, Sen R, Masica DL, Karchin R, Pardoll D, Walter V, et al. Autologous reconstitution of human cancer and immune system in vivo. *Oncotarget* 2017;8:2053-68.