

인체 종양과 당쇄생물학

김 철 호

동국대학교 한의과대학 생화학교실

인체질환의 발생과 수반되어 세포표면당쇄나 혈액 중에 방출되는 단백질의 당쇄변화가 생기는 현상이 흔히 보고 되고 있다. 이러한 경우, 당쇄변화나 그 변화가 갖는 의미를 인체 질환의 진단, 예방 및 치료에 응용할 수 있다. 이를 위하여 제 1장에서는 인체질환에 따른 당쇄변화를 암(종양)을 예로 들어 소개하고 이 기작을 기초로 한 질환의 예방과 치료에 대한 연구를 설명하였으며 마지막으로 제 2장에서는 이 분야에 대한 접근 가능한 연구대상을 몇가지 예를 들어 설명하였다.

암(종양)과 암항원당쇄

종양발생과 수반된 당쇄변화는 당단백질, 당지질, proteoglycan모두에서 인정되고 있다. Asn형 당쇄변화에 대해서는 당단백질을 들어 그 당쇄구조를 hydrazine분해, lectin chromatography, methylation분석, 효소분해법을 이용하여 쉽게 분석할 수 있게 되었다. 주요변화는 Asn형 당쇄의 경우 일반적으로 癌化에 따라 고분자화, 고분자화되는 것이다. 이러한 변화는 세포막뿐 아니라 혈액이나 뇨중에 방출되는 당단백질에서도 보인다. 오줌에서의 경우는 변화의 특이성이 높아 간편한 검출법을 이용한다면 종양의 진단이 보다 용이하게 이루어질 수 있다.

종양에 수반되어 당지질이나 무친(mucin)형 당단백질의 당쇄변화는 암세포를 면역시켜 얻은 항체의 항원결정기를 해석하는 과정에서 이러한 당쇄변화가 당쇄항원으로 알려지게 된 것이다. 따라서 이들 당쇄의 癌性變化에 대한 연구는 Asn형 당쇄처럼 철저하게 그 구조해석이 이루어지지 않고 있다. 이와 같이 糖鎖癌抗原은 당지질에서 또는 당단백질에서 발견되는 경우가 있다. 또한 당초에는 당지질을 인식하는 것으로 알려져 왔던 monoclonal항체가 무친형당단백질 질당쇄도 인식할 수 있음이 밝혀지기도 하였다. 최근에는 上皮性癌細胞表面에 많이 발견되고 있는 무친형당단백질의 임상응용에 관한 관심에서 무친형당쇄의 인식을 목적으로한 monoclonal항체도 개발중에 있다. 한편, Asn형 단백질에 대한 항체는 생기기 어려워 monoclonal항체 이용 연구는 별로 이루어지지 않았었다. 최근에서야 이와 같은 당쇄의 암성변화가 주는 의미를 해명하려는 연구나 의료에 이용하려는 연구가 활발해 지고 있다.

**암화, 암전이, 악성화에 수반된 Asn형 당단백질당쇄의 변화
- 암세포가 생산하는 당단백질의 당쇄**

(1) 간암세포의 α -Fetoprotein

간암은 원발성간암과 전이성간암으로 분류되며 원발성간암은 간세포암과 담관세포암으로 분류된다. 진단지표를 사용할 경우 그 대상은 거의 간세포암의 경우가 대부분이며 간암진단은 당쇄보다는 간세포암이 분비생성하는 당단백질을 지표로 그 당쇄변이를 검출하는 것이 일반적이다. 또한 α -Fetoprotein(AFP)은 전형적인 암태아단백질로 간세포암과 요크삭종양에 대한 특이성이 높은 종양지표이며 Asn형당쇄를 가지는 분자량 약 70,000 정도의 당단백질로 태아발생기(胎生期)에 생성되지만 성인에서는 거의 발현되지 않는다. 그러나 肝癌과 요크삭종양세포에서는 발현량이 많으며 혈중에서의 농도가 높아진다.

α -fetoprotein은 종양지표로 이용되고 있지만 암이 아닌 만성간염이나 간경변과 같은 양성질환에서도 검출되는 문제점이 있다. 최근, 간암, 양성간질환, 요크삭종양세포에서 혈중 검출되는 α -fetoprotein당쇄구조의 차이가 밝혀지게 되었다(그림 1). 따라서 이러한 차이를 이용하여 간암진단법이 개발되었다.

(2) 人體絨毛性성선자극호르몬(hCG)

사람융모성성선자극호르몬(hCG)은 태반에서 발현되는 subunit로 된 당단백질호르몬인데 각 subunit에는 2개의 Asn형 당쇄가 결합되어 있다. 사람성선자극호르몬(hCG)은 건강한 정상 임신부의 뇨중에서 검출되지만 胞狀奇胎, 侵入奇胎, 융모상피암의 경우에는 뇨중에 hCG가 증가한다. Kobata 등은 뇨중의 사람 성선자극호르몬의 당쇄구조를 해석하여 당쇄구조가 질병에 따라 각각 다르다는 사실을 밝혔다(표 1). 즉, 양성의 융모질환인 포상기태에서는 비정상당쇄는 발견되지 않으나 침윤, 전이 등 악성도가 높은 침입기태에서는 fucose를 갖는 1사슬당쇄, C-2,4분지한 3사슬당쇄가 출현하였으며 융모암에서는 C-2,4에서 더 분지한 2사슬당쇄가 출현하였다. 따라서 1,6-GalNAc 1,6-fucose전이효소의 활성화와 β -1,4 N-아세틸글루코사민전이효소GnT-IV의 활성화가 일어난 것으로 추측되고 있다(그림 2).

(3) 간암세포의 γ -Glutamyltranspeptidase

γ -Glutamyltranspeptidase(γ -GTP)는 생체의 해독작용을 담당하는 당단백질로 사람의 경우 2개의 대소 subunit로 되어 있으며, 대 subunit에는 3개의, 소 subunit에는 2개의 Asn형 당쇄가 붙어 있다.

이전부터 화학발암제로 유도된 실험용쥐(rat)의 간암에서 γ -GTP활성이 상승하며 암의 진행에 따라 사람신장 γ -GTP

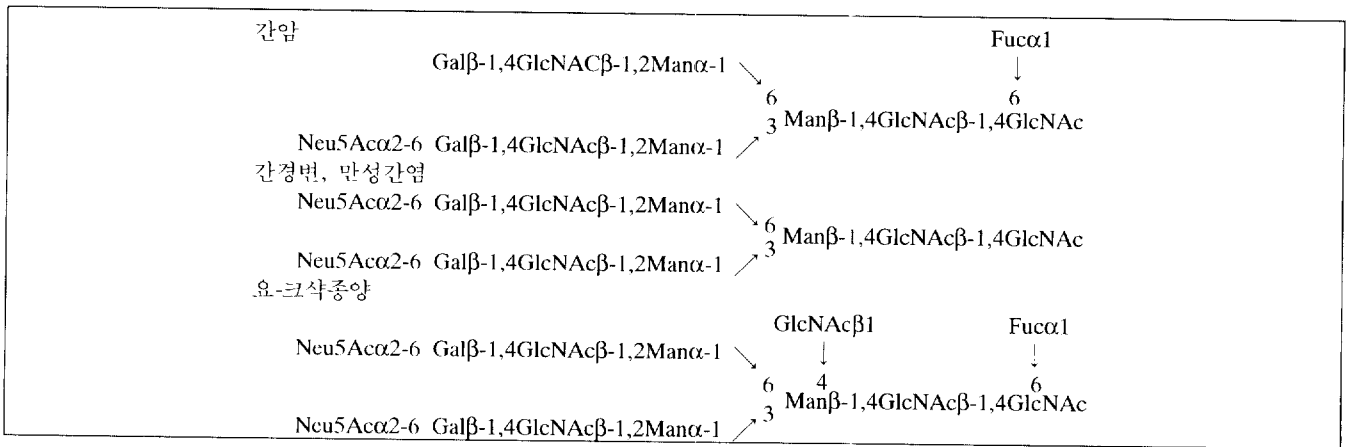


그림 1. 간암, 간경변, 요크삭종양환자 혈청중의 α -fetoprotein의 주요 당쇄구조.

표 1. 정상임산부와 각종용모성질환환자의 뇨중에 있는 hCG의 당쇄구조

당쇄구조	정상임신	포상기태	침입기태	용모암
Gal β -1,4GlcNAc β -1,2Man α -1 Gal β -1,4GlcNAc β -1 Man α -1 Man β -1,4R ₁ ,R ₂	-	-	+	+
Gal β -1,4GlcNAc β -1 Man α -1 Man β -1,4R ₁ ,R ₂	-	-	-	+
Gal β -1,4GlcNAc β -1,2Man α -1 Gal β -1,4GlcNAc β -1,2Man α -1 Man α -1 Man β -1,4R ₁ ,R ₂	+	+	+	+
Gal β -1,4GlcNAc β -1,2Man α -1 Man α -1 Man β -1,4R ₁	-	-	+	+
Gal β -1,4GlcNAc β -1,2Man α -1 Man α -1 Man β -1,4R ₁ ,R ₂	+	+	+	+

R₁: GlcNAc β -1,4(Fuc α -1,6)GlcNAc, R₂: GlcNAc β -1,4GlcNAc

의 락틴화성이 변한다는 사실은 알려져 있었으나 Yamashita 등은 사람의 간세포가 암화될 때 γ -GTP의 혈중활성이 상승하고 동시에 당쇄구조도 변한다는 사실을 발견하였다 (표 2). 이 변화의 특징은 高mannose형 당쇄의 출현, β -1,4 N-아세틸글루코사민을 골격으로 한 2사슬의 C-2,4분지출현, 3사슬의 증가, C-2,6분지를 갖는 4사슬의 증가인데 이는 C-

표 2. 사람 간, 간암생성 γ -GTP의 Asn형당쇄의 특징

당 쇄	정상인의 간	간 암 (% mol비)
고mannose형	0	7.4
복합형 (fucosylated mannose core)a)	100 (42.0)	92.6 (31.8)
2개사슬(biantenary)		
C2, C2 ^{b)}	65.7	17.6
C2, 4 ^{b)}	0	4.1
3개사슬(triantenary)		
C2, C2, 4 ^{b)}	19.4	24.2
C2, C2, 6 ^{b)}	8.8	18.3
4개사슬(tetraantenary)	4.5	19.3
4개사슬(tetraantenary)의 N-acetylglucosamine 반복배열 구조를 갖는 것	1.6	9.1

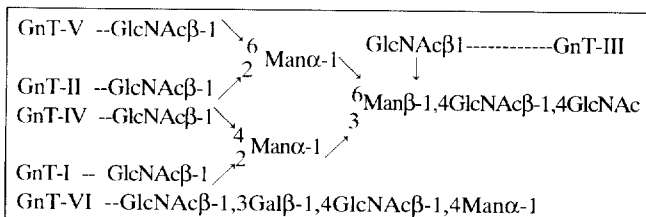


그림 2. 복합형당쇄의 생합성에 관여하는 β -1,4 N-아세틸글루코사민전이효소.

^{a)}Man 1,6(Man 1,3)Man β -1,4GlcNAc β -1,4(Fuc α -1,6)GlcNAc

^{b)}옆사슬의 분지결합부위, 각 옆사슬은 모두 Gal β -1,4GlcNAc

2,4분지와 C-2,6분지형성을 촉매하는 효소인 β -1,4 N-아세틸글루코사민전이효소 IV와 V의 활성화에 의한 것이다. Yamashita 등이 조사한 간암에서는 전이는 없었으나 생쥐에서 확인된 암전이에 필요한 Gal β -1,4GlcNAc β -1,6(Gal β -1,4GlcNAc β -1,6)Man 1,6분지에 sialic acid가 결합할 때 모두 α -2,3결합으로 암전이에는 sialic acid도 중요한 의미를 갖는 것으로 추측된다.

(4) 혈청 Transferin

혈청 Transferin은 肝細胞가 생성하는 분비성당단백질로 혈청에서 검출된다. Yamashita 등은 정상인과 肝癌患者의 혈청에서 Transferin을 정제하여 그 당쇄구조를 조사하였는데 표 3에 나타나듯이 肝癌患者의 경우는 환원말단에 fucose기가 결합된 당쇄 C-2, C-2,4분지, C-2, C-2, 6분지의 3개사슬(triantenary), C-2, 4, C-2, 6분지의 4개사슬(triantenary)의 당쇄 그리고 Le^x항원결정기가 결합한 3개사슬(triantenary)의 당쇄가 결합되어 있다. 현재 이러한 당쇄구조의 변화 특히 Le^x항원결정기를 갖는 당쇄와 악성肝癌과의 상관관계를 연구 중에 있다.

- 癌세포의 세포막 당단백질당쇄구조에서 보이는 비정상적인 특징들

1970년대초 배양세포를 癌化시키면 세포가 암화되면서 세포막표면에 고분자량의 당쇄가 나타난다는 사실이 알려지기 시작하였다. 이를 Warren-Glick현상이라고 부르는데 1980년대에 Yamashita 등이 BHK세포와 BHA세포를 polioma virus로 악성암화형질전환시킨 세포 Py-BHK를 hydrazine분해법으로 세포표면의 당단백질당쇄의 암화에 따른 변

표 3. 사람 정상인과 肝癌患者血清Transferin의 Asn형 당쇄의 특징^{a)}

당쇄	정상인의 간	간 암 (% mol비)
복합형 (fucosylated mannose core) ^{b)}	(3)	(12)
(Neu5Ac 2-3Gal당쇄를 갖는것)	(5)	(21)
2개사슬(biantenary)		
C2, C2 ^{b)}	97	51
3개사슬(triantenary)		
C2, C2, 4 ^{b)}	0	12
C2, C2, 6 ^{b)}	1	19
(Le ^x 항원결정기가 결합한 3개사슬 (triantenary)) 4개사슬(tetraantenary)	(0)	(24)
C-2, 4, C-2, 6 ^{b)}	0	6

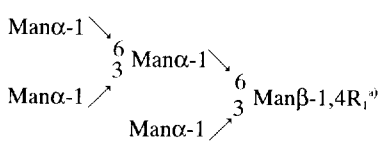
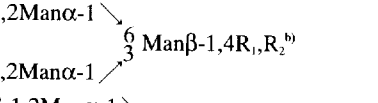
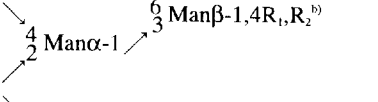
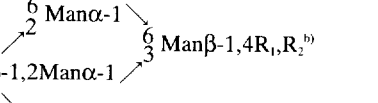
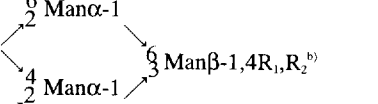
^{a)} Man α 1-6(Man α 1-3)Man β 1-4GlcNAc β 1-4(Fuc α 1-6)GlcNAc, ^{b)} 바뀐 분지위치

화를 조사한 결과, Py-BHK세포의 경우 Gal β -1,4GlcNAc β -1,6Man분지가 몇 배나 증가한 사실을 발견하였다(표 4).

Yamashita 등은 이러한 분지구조를 만드는 유속효소인 β -N-아세틸글루코사민전이효소(GnT)활성비교를 통하여 GnT-V활성이 그 주원인임을 밝혔다. 비슷한 결과가 라우스 육종virus로 악성암화시킨 BHK세포에서도 관찰되어 이 결과는 확신을 갖게 되었다.

癌細胞에 대한 Monoclonal抗體를 이용하여 밝혀진 癌化와 당쇄변화의 상관관계

표 4. BHK세포와 poioma virus로 악성암화된 Py-BHK세포의 세포막당단백질의 Asn형당쇄특징

당쇄구조	정상임신	포상기태	침입기태	융모암
고mannose형 (Man α 1-2) _n , 		34.5	25.7	
복합형 Gal β -1,4GlcNAc β -1,2Man α -1 		25.7	22.9	
Gal β -1,4GlcNAc β -1,2Man α -1 Gal β -1,4GlcNAc β -1 		9.9	4.0	
Gal β -1,4GlcNAc β -1 		3.3	5.8	
Gal β -1,4GlcNAc β -1 Gal β -1,4GlcNAc β -1 		5.4	14.1	
Gal β -1,4GlcNAc β -1 N-acetylactosamine이 반복된 3 또는 4사슬		21.2	27.5	

a) GlcNA β -1,4GlcNAc b) GlcNA β -1,4(Fuc α -1,6)GlcNAc

당지질이나 무친형 당단백질당쇄의 암화에 따른 변화는 암세포를 면역하여 얻은 monoclonal항체가 암당쇄항원을 인식한다는 연구로 해명되었다. 당쇄항원은 당지질이나 당단백질 모두에 발현된다. 또한, 당쇄의 1차구조뿐 아니라 양적인 변화와 aglycon변화에 의한 세포표면당쇄항원의 입체구조변화할 수도 있다.

예를 들어서 神經外胚葉유래의 癌細胞인 melanoma, 神經芽細胞腫, glyoma, 小細胞性肺癌, T細胞白血病의 경우 癌抗原으로서 GD3, GD2, GM3, GM2, O-Ac-GD3 등의 ganglioside가 동정되어 있다. ganglioside는 모두 동물세포막에 일반적으로 존재하기 때문에 이때의 암화에 다른 변화는 당쇄의 일차구조 변화는 아닐 것으로 생각된다.

당쇄중양항원은 monoclonal항체의 초기연구 단계에서는 불분명했으나 지금은 암당쇄항원을 인식하는 monoclonal항체를 다음과 같이 정리할 수 있다(표 5). 이 중에서 표 6에 나타낸 monoclonal항체가 인식하는 당쇄항원은 혈청중에 검출되므로 암의 혈청진단에 사용되고 있다. 또한, ganglioside에 대한 항체는 강력한 항종양활성을 갖기 때문에 이를 이용한 암의 수동면역요법이 이미 melanoma환자에 대해서 이루어지고 있다. GM2를 BCG와 함께 투여하여 면역하면 항 GM2항체역가가 높은 환자에서는 치료효과가 크다.

암화, 악성화 및 암전이에 따른 細胞表面 당쇄변화의 의미

대부분의 고형암은 原發巢에서 증식할 뿐아니라 혈액이

나 임파구액을 타고 전이하며 異所性 증식을 한다. 암의 치료가 곤란하다고 하는 것은 바로 암의 전이성 때문이다. 최근, 당쇄가 암화에 따라 변하는 현상이 암전이성과 밀접한 관계가 있다는 결과가 보고된 바 있다. 즉, 세포표면의 Asn형당쇄의 암성변화로 알려진 Warren-Glick현상이 악성세포만이 아닌 종양화나 전이성과 같은 보다 고차원적인 악성도를 제시하게 되었는데 생쥐의 섬유아세포주 NIH3T3세포에 polioma virus의 유전자단편을 도입시켜 종양형성상태가 다른 세포주를 골라 造腫瘍能, 전이성과 N-형당쇄와의 관계를 조사해 보면 조종양성, 전이성으로 본 악성도와 C-2,6분지당쇄비율과의 상관관계가 발견된다. 또한 rat의 섬유아세포주 3Y1에 adeno virus의 유전자단편들을 도입한 실험에서도 동일한 결과를 보였다.

한편, 생쥐의 B16 melanoma세포 5종(F1, F10, BL6, W1-4, C4-1)의 전이능과 당쇄변화를 비교하기 위해 이들 세포주를 생쥐의 꼬리정맥(실험 1)과 뒷다리(실험 2)에 주사하여 일정기간후 폐에 형성된 colony수를 세어 본 결과 암세포의 혈행성전이에는 적어도 ① 원발소로 부터 이탈, ② 혈관계에 침입, ③ 혈관내피에 정착과 혈관계에서 탈출, ④ 타조직에 정착과 증식의 단계를 거치는 것으로 생각된다. 따라서 실험1에서는 ③ 이후에서 보이는 전이능이, 실험 2에서는 ① 이하의 전이능이 보일 것으로 추측되었다. 실험 결과, 실험1에서는 세포주 F-10, BL6에서, 그리고 실험2에서는 BL6에서 폐의 높은 colony형성이 보였다. 또한 각 세포주 표

표 5. 당쇄중양항원 분류와 이를 인식하는 monoclonal항체

분 류	hapten구조	통 칭	특이적 monoclonal항체	혈청중에 나타나는 질환
1형 당쇄	2-3sialyl Le ^a	CA 19-9	N 19-9	췌장암, 각종소화기암
1형 당쇄	2-3sialyl Le ^a 와 2-3sialyl Le4	CA 19-9	C-50	췌장암, 각종소화기암
1형 당쇄	2-3sialyl Le ^a	KM 01	KM 01	췌장암, 각종소화기암
1형 당쇄	(2-3sialyl Le ^a ?)	SPan-1	SPan-1	췌장암, 각종소화기암
1형 당쇄	2-3sialyl Le ^a	-	2D3	췌장암, 각종소화기암
1형 당쇄	2-3sialyl Lea	-	1H4	췌장암, 각종소화기암
1형 당쇄	2-3sialyl Le ^a	KM 231	KM 231	췌장암, 각종소화기암
1형 당쇄	2-3sialyl Le ^a	CA 19-9	B 25.10	췌장암, 각종소화기암
1형 당쇄	(Lea 와 sialyl Le ^a ?)	CA 195	CC 3 C 195	췌장암, 각종소화기암
1형 당쇄	(2-3sialyl Le4?)	DU-PAN-2	DU-PAN-2	췌장암, 각종소화기암
1형 당쇄	2-6sialyl Le ^a	SLA 2-6	FH-7	췌장암, 소화기암, 양성질환
2형 당쇄	2-3sialyl Le ^a -i	sialylSSEA-1(SLX)	FH-6	폐선췌장암, 난소암
2형 당쇄	2-3sialyl Le ^a	CSLEX	CSLEX-1	폐암(특히 폐선암)
2형 당쇄	2-3sialyl Le ^a	KM93	KM93	폐암(특히 폐선암)
모핵당쇄	2-6sialyl Tn	CA 72.4	B 72.3+CC 49	난소암, 위암, 대장암
모핵당쇄	2-6sialyl Tn	STN	TKH-2	소암, 위암
모핵당쇄	(2-6sialyl Tn?)	CA 54/61(MKS-15)	510-61	난소암
코아단백질	(코아단백질 epitope)	CA 125	OC 125	난소암, 폐암
코아단백질	(코아단백질 epitope)	CA 602+MA 602-9	MA 602-1	난소암
코아단백질	(코아단백질 epitope)	CA 130+145-9	130-22-1	난소암, 폐암
구조불명의 당쇄항원	?	CA 15-3	115 D 8+DF3	진행성 유암
구조불명의 당쇄항원	?	NCC-ST-439	NCC-ST-439	유암, 췌장암, 담도암

면당쇄해석 결과 F10, BL6 양 세포주에서 N-아세틸락토사민반복구조를 갖지 않는 4사슬당쇄가 증가하여 이 당쇄구조가 ③ 이후의 과정에서 중요한 의미를 갖는 것으로 추론되었다.

배양암세포주를 변이원으로 처리한 뒤 렉틴함유 배지에서 배양하면 렉틴저항성변이주가 얻어진다. Burger는 B16 melanoma세포의 F1주로부터 얻은 WGA저항성주 Wa4-b 1와 RCA렉틴 저항성세포주 R4c-a가 친주에 비해서 전이능이 현저하게 저하된 사실을 발견하였다. Kobata 등이 이들 렉틴 저항성, 저전이성 세포주와 친주의 N-결합당쇄구조분석을 해 본 결과 전이능이 떨어진 세포주의 경우 당쇄구조에 변화가 생겨 Neu5Ac 2-3Gal 1-4GlcNAc 1-6(Neu5Ac 2-3Gal 1-4GlcNAc 1-2)Man 1-6사슬이 소실되었다. 이러한 사실로부터 암전이성에는 sialic acid함유의 C-2,6분지를 가진 복합형 N-형당쇄가 관계하고 있음을 알수 있었다.

한편, Fukuda 등은 암전이능이 다른 인체 대장암 세포주를 선별하여 lysosome 막당단백질 lamp-1, lamp-2의 당쇄구조를 조사한 결과 lamp-1, lamp-2는 lysosome막의 당단백질이지만 그 일부가 세포표면에 발현되어 polylectosamine반복구조를 갖는 Asn형당쇄를 가지고 있었다. 또한 전이성이 다른 인체 대장암 세포주(SP, I4)에 있는 lamp-1, lamp-2의 당쇄부분을 표식법으로 분석해 본 결과 전이성이 높은 세포주는 세포표면 polylectosamine반복구조가 증가하였으며, sialic acid수도 많았다(표 6).

또한, 인체 대장암 세포주의 항sialyl Le^x monoclonal항체의 결합부위갯수를 조사해 보면 고전이성 세포주(L4, SM)는 저전이성세포주(SP, C)에 비해 lamp-1, lamp-2가 세포표면에 많이 발현되며 sialyl Le^x에 대한 고친화성 결합부위도 증가되어 있다. 한편, 세포막에서 발현되도록 유전자조작한 lamp-1 c-DNA를 전이능이 낮은 대장암 세포주에 transfection시킨 뒤, lamp-1발현이 다른 세포주를 얻어 IL-1으로 활성화된 내피세포와 E-selectin을 발현한 CHO세포에 대한 접착성을 조사해 보면 lamp-1발현이 많은 세포에서 접착성이 높았다. 이러한 사실로부터 전이성이 높은 대장암세포는 세포표면에, polylectosamine당쇄말단에 sialyl Le^x당쇄항원을 발현시킨 lamp를 대량발현시키고 이 당쇄구조가 내피세포에 발현되는 세포접착분자 E-selectin과 결합하여 암세포의 혈관으로부터 탈출을 촉진함으로써 암의 혈행성전이를 일으키게 하는 것이다(7, 8).

한편, 중앙항원에 대한 monoclonal항체 중에는 sialyl Le^x당쇄나 sialyl Le^a를 인식하는 것이 많고 내피세포에서 발현되는 E-selectin의 ligand가 sialyl Le^x라는 사실로부터 위암, 대장암, 폐암, 췌장암, 간암 등의 상피성 암세포주 수십종을 IL-1으로 활성화시킨 내피세포에 대한 접착성을 조사해 보면 거의 모든세포가 E-selectin의존성 접착특성을 나타낸다. 또한, sialyl Le^a 발현이 많은 소화기암에서는 sialyl Le^x의존성접착을 한다. 즉, sialyl Le^a도 E-selectin의 리간드인 것이다. 대장암의 경우 sialyl Le^a 발현환자에서 암절제수술후 생존율이 낮은 것으로 보고되고 있다. 이러한 사실은 암화의 결과 발현되는 세포표면의 sialyl Le^a, sialyl Le^x 당쇄가 암전이에 관여하고 있음을 반영하고 있는 것이다.(5).

이상의 결과는 세포의 암화에 수반되어 당단백질의 당쇄가 변하고 있음을 나타낸다. 또한 암화에 따라 heparan 황산의 황산잔기 감소되는 것도 보고되고 있다(13). 이 변화를 혈청이나 뇨와 같은 비파괴적인 방법으로 입수 가능한 시료를 조기에 검출할 수 있다면 암진단에 유용할 것이다. 암의 혈행성전이에 대해서는 여러 가지 접착분자나 세포의 matrix와의 상호작용 등이 관여하는데, 예를 들어 기저막의 침습에는 heparan 황산에 특이적인 endoglucuronidase(heparanase)가 관여하며, 그 활성이 heparan에 의해 강하게 저해된다는 사실도 알려져 있으나 antitrombin III 결합활성을 없앤 heparin유도체가 암전이를 저해한다는 보고도 있다(표 7)(18). 또한 해조류의 황산화 다당, carboxylated chitin유도체가 암의 전이를 저해한다는 보고도 있다(19).

또한, 최근 암의 면역요법에서 당쇄항원을 adjuvant와 함께 투여하면 숙주의 면역계를 부활시켜 암을 억제한다는 연구(20, 21), 또는 암에 대한 monoclonal항체의 당쇄항원인 식부위에 대한 항체(항idiotype 항체)를 만들어 항체를 유도하여 암을 억제하는 연구도 진행 중에 있다(22).

인체암 이외에 당쇄생물학을 이용한 질병치료연구

당쇄생물학을 이용한 인체질환의 예방, 진단, 치료연구 그리고 당쇄관련 물질의 의료이용에 대해 과학자들의 관심이 증대되고 있다. 앞에서 설명한 당쇄생물학의 실체를 기초로 하여 인체질환예방, 진단, 치료연구에 대한 향후 추진 가능한 과제들을 열거하였다.

표 6. 인체 대장암세포의 lysosome막당단백질인 lamp-1, lamp-2의 당쇄특성

당 쇠	lamp-1(18a)		lamp-2(16a)	
	저전이성(SP)	고전이성(L4)	저전이성(SP)	고전이성(L4)
polylectosamine(1-2개 이상의 N-아세틸락토사민)을 갖는 복합형당쇄(IB)	0.5	1.9	0.6	1.7
polylectosamine(1-2개 이상의 N-아세틸락토사민)을 갖는 복합형당쇄(IA2)	1.3	6.0	1.6	6.4
Fucose 함량이 많은 3사슬 또는 4사슬복합형당쇄(IA1)	14.1	7.9	12.2	6.2
2사슬복합형당쇄(II)	0.2	0.3	0.2	0.2
고mannose형당쇄	1.8	2.0	1.4	1.5

표 7. heparanase inhibitor에 의한 생쥐 melanoma의 폐전이억제 작용(18)

heparan sulfate	heparanase 저해활성(%)	항응고활성(U/ml)	폐전이 colony수(메디안, n=10) ^{a)}
미처리	-	-	250+
hearin	99.1	112	14
hearin methylester	99.5	18.7	12
hearinylglycin	99.0	5.2	13
hearinylglycinmethylester	21.0	0.1	250+
dextran sulfate	100	14.7	15
fucoidan	80.3	2.6	305
pentosan sulfate	80.5	14.4	45

^{a)} B-16 melanoma세포를 500 g/ml의 황산화다당으로 처리후 1×10^5 개의 세포를 1군 10마리의 C57BL/6 mouse의 꼬리정맥에 투여하여 21일 후에 폐의 colony를 센다.

- 발생과 분화에서 당쇄의 생물학적 기능을 추적

지금까지 알려진 올리고당의 생물학적 기능을 몇가지 예로 들면 transgenic 동물을 이용하여 당질분해효소를 발현시켜 糖鎖異常을 만들고 당쇄올리고당이 특이적으로 결합하는 물질을 검색하여 질환과의 관련성을 해명한다.

- 포유동물 배란(preovulatory follicles) 중 Hyaluronic acid의 합성과 구성

배란시에 oocyte-cumulus cell이 합성하는 hyaluronic acid를 다량 포함하는 특이적인 결합조직의 생성기구를 해석한 결과, 난세포가 생성하는 transforming growth factor-유사물질이 cumulus cell을 자극하는 것으로 알려져 있다. 이 결합조직을 형성하는데는 혈청 유래의 단백질(inter- β -1,6-N- α -trypsin inhibitor)의 존재가 필수적이다. 이를 이용한 배란의 촉진연구가 가능할 것이다.

- 포유류의 수정은 탄수화물이 매개체

난세포 표면에 존재하는 Zona Pellucida의 주요단백질 성분중 하나인 ZP3이 정자의 수용체인 사실이 밝혀졌다. O결합형의 당쇄올리고당이 직접 결합하는 부위인 것도 밝혀졌으며 이 당쇄올리고당의 구조분석과 ZP3 단백질내의 올리고당의 존재부위분석을 해명 중에 있다. 이를 이용한 인공수정을 위한 연구가 가능할 것이다.

- 구강치주의 방어능역은 어떤 기작인가?: 타액Mucin의 역할

唾液이 갖는 생리적 역할과 주요 타액 무친성분 MG1과 MG2에 관한 논쟁이 있는데 MG2에 존재하는 당쇄올리고당 구조 NeuNAc 2,3 Gal β -1,3GalNAc가 *Streptococcus gordonii*와 *Streptococcus oralis*와 특이적으로 반응하며, Gal β -1,3GalNAc가 *Streptococcus mutans*와 반응함이 최근 알려졌다. 타액무친과 세균의 반응은 구강중에 적절한 세균flora를 형성하는데 중요한 요소로 생각되며 이를 억제하는 연구(치약성분 등)가 가능할 것이다.

- 아프리카 Trypanosome의 GPI결합: 항기생충 화학요법을 위한 잠재적 목표물의 탐색

Glycosyl-phosphatidylinositol(GPI)가 진핵세포중 몇 단백

질을 세포표면에 결합시키고 있다는 사실이 알려졌다. *Trypanosoma brucei*에서는 그 주요 세포표면단백질(VSG)이 GPI에 의해 세포막에 결합되어 있으며 그 독성에 큰 영향을 주고 있다. GPI의 생합성요소인 myristate-유사물질을 투여하여 정상인 GPI합성을 저해하는 방법이 Trypanosomiasis치료로서 사용될 가능성이 높다. 이를 연구하여 기생충감염억제, 치료제개발이 가능할 것이다.

- Leishmania기생체들의 세포표면 Lipophosphoglycan: 다기능 독성요소

Lipophosphoglycan은 Leishmania의 세포표면의 주요 성분이며 독성을 주는 주요물질이다. 이물질은 또 Protein kinase C를 매개한 산화물질의 방출, c-fos발현, chemotaxis 등 macrophage의 lysosome안에 투입될 때 그 생존능에 크게 기여하고 있다. 이를 억제하는 연구가 가능할 것이다.

- Herpes virus의 세포내 침입시 복잡한 접착과정은 당쇄때문이다

단순 herpes 1(HSV-1)의 세포침입에는 숙주세포표면의 heparan sulfate proteoglycan의 관여가 중요하다. 최근, HSV-1에 감수성이 낮은 상피세포를 분석하여(이 세포는 HSV-1에 결합하는 정상 heparan sulfate proteoglycan을 가지고 있는 사실로) heparan sulfate 이외의 수용체의 존재가 필수적임을 시사하였다. 이를 규명하는 연구가 가능하다.

- 당쇄생물학에서의 알콜유발성 변화들

알콜섭취는 여러 가지 인체의 장기에서 단백질의 당쇄수식에 많은 변화를 준다는 사실이 알려져 있는데 이것이 장기의 기능변화와 관계있다는 추론이 가능하다. 이들 당쇄수식변화를 연구하는 것이 알콜성 장기장해를 치료하기 위한 방법개발의 실마리를 줄 수 있을 것이다.

- 당단백질호르몬 기능과 당쇄전이반응

黃體化호르몬(LH)는 특이적인 sulfated oligosaccharide인 SO₄-GalNAc β -1,4NAc β -1,4Man를 가지고 있는데 이것이 이 호르몬의 생물학적 작용에 큰 역할을 담당한다. sulfate 및 GalNAc전이의 효소발현은 estrogen에 영향받는 LH합성변화와 관계 있으며 성주기에 걸쳐서 LH가 항상 sulfated oli-

gosaccharide를 갖도록 조절하고 있다.

- 간세포안으로 목적유전자의 수송과 발현에 당쇄 이용 가능

간세포에 asialo당단백질 수용체가 존재한다는 사실을 이용하여 polylysine을 결합시킨 asialo당단백질을 매체로 하고 여기에 이온결합시킨 목적DNA를 간세포에 집적시키는 방법이 고안되었다. 이 방법으로 알부민, low density lipoprotein 수용체유전자를 간세포에 집적시켜 단백질이 발현되는 것을 확인한다. 이 방법은 유전자결손질환에서 유전자보충요법으로 사용가능성이 있다.

- 말라리아감염증 sporozoite에 의해 간세포 집적

말라리아sporozoite는 혈액내로 주입되면 몇분안에 간세포에 직접되게 된다. 이는 간세포에 말라리아sporozoite에 대한 수용체가 존재함을 시사한다. 말라리아sporozoite의 주요 세포표면 단백질인 circumsporozoite protein(CP)가 간세포표면의 heparan sulfate proteoglycan에 특이적으로 결합함을 의미한다. CP의 단백질구조는 약물을 간세포에 집적시키는 데 매체로서 사용가능할 것이다.

- 면역글로부린G의 당쇄생물학과 당쇄병리학

IgG는 다양한 당쇄올리고당성분을 가지고 있는데 류마티스(Rheumatoid A) 유사 관절염에서 가락토스함량이 현저하게 감소한다는 사실이 밝혀져 있다. 이는 환자의 B세포에서 가락토스전이효소활성이 저하되었기 때문으로 보인다. 가락토스결손의 IgG는 C1q, 및 Fcg receptor type1에 대한 친화성이 감소된다.

- 암전이와 당쇄

Rat와 사람종양세포에서 복합당질성분, 특히 다분지 복합형당쇄(polylactosamine, Lewis항원 등)에 변화가 보이는 것은 잘 알려져 있다. 이들 변화는 당쇄전이효소에 의한 것으로 세포표면의 당구조변화가 조직중 렉틴과의 결합상태에 변화를 주어 종양세포전이성의 결정요인이 된다.

- 인체질환중 selectin과 leukocyte

E-와 P-selectin은 염증부위의 내피세포에서 발현되나 leukocyte를 염증부위에 동원하는 것이 알려져 있다. ELAM-1의 ligand가 되는 당쇄구조는 3-sialyl ply Lewis^x를 외곽에 갖는 tri-혹은 tetraantennary의 복합형당쇄이다.

참고문헌

1. 山河克子. 1990. 化學と生物, **30**, 20-26.
2. 山河克子. 1992. 蛋白質核酸酵素, **37**, 1880-1888.
3. 木幡陽. 1992. 藥學雜誌, **112**, 375-392.
4. 高田亞希子. 1992. 検査と技術, **20**, 961-972.
5. 神奈木怜兒. 1992. *Modern Physician*, **12**, 1067-1075.
6. 田井直, 川島育夫. 1992. 蛋白質核酸酵素, **37**, 1863-1867.
7. 劑藤治, 福田穰. 1992. 蛋白質核酸酵素, **37**, 1873-1879.
8. Saitoh, O., W.C. Wang, and R. Lotan., 1992. *J. Biol. Chem.*, **267**, 5701-5711.
9. Sawada, R. and M. Fukuda, 1992. *J. Cell. Biochem. Suppl.* **16D**, 158.
10. Irimura, T., Y. Matsushita, and S.D. Hoff, 1992. *Cancer Biology*, **2**, 129-139.
11. Irimura, T., Y. Matsushita, and S.J. Nakamori, 1992. *Cell. Biochem. Suppl.* **16D**, 155.
12. 八村達郎. 1992. 蛋白質核酸酵素, **37**, 1747-1752.
13. Renato, V. 1988. *J. Cell. Biochem.* **37**, 61-78.
14. 佐藤芳春. 1992. 醫學のあゆみ, **159**, 370-373.
15. 駒澤幸. 1992. 北口博司, 最新醫學, **38**, 2287-2295.
16. 久保田俊一郎. 1992. 細胞工學, **11**, 20-24.
17. 守隆夫. 1992. 細胞工學, **11**, 44-52.
18. 中島元夫. 1992. 蛋白質核酸酵素, **37**, 1753-1758.
19. 濟木育夫. 1992. 化學と生物, **30**, 625-626.
20. 森庸厚. 1992. 蛋白質核酸酵素, **37**, 1747-1752.
21. 八村達郎. 1990. *Oncologia*, **24**, 115-117.
22. Kim, Y.J., J.H. Park, J.E. Chang, J.H. Ko, M.H. Kim, D.H. Chung, T.W. Chung, I.S. Choe, Y.C. Lee, and C. H. Kim. 1996. *Gene*, **170**, 281-283.
23. 김철호 등, 1995 대한민국특허 출원.