

열충격단백질 70에 대한 연구

대구대학교 재활의원
남 기 원
대구대학교 재활과학대학 물리치료학과
김 진 상
영동전문대학 물리치료과
최 진 호

A Study in Heat Shock Protein 70

Nam, Ki-Won, P.T.
Taegu University Rehabilitation Clinic
Kim, Jin-Sang, D.V.M., Ph.D.
Department of Physical Therapy, College of Rehabilitation Science, Taegu University
Choi, Jin-Ho, P.T., M.S.
Department of Physical Therapy, Yeongdong Junior College

< Abstract >

Heat shock protein 70(HSP70) is induced by elevated temperature and many other types of stresses in cell. HSP70 ensures cell survival under stressful condition that would lead to irreversible cell damage and ultimately to cell death. HSP70 plays essential role in the synthesis, transport, and folding of proteins and is often referred to as molecular chaperones. Increased levels of HSPs occur after arthritis, infection, inflammation, autoimmune disease and CNS injury such as infarction, ischemia, seizure and Alzheimer's disease. Also, HSP70 increases resistance to apoptosis. The recent studies that the expression of the HSP has been processed at various field. However, they are still relatively little studied in clinically application. This review summarizes the fundamental knowledge of HSP.

I. 서 론

열충격단백질(heat shock protein : 이하 HSP)은 생명체들이 정상적인 범위 이상의 온도 상승에 반응하여 주로 세포질에서 광범위하게 발현하는 일군의 단백질들이다(Bienz와 Pelham, 1987 : Bond와 Schlesinger, 1987 :

Lindquist, 1986 : Ashburner and Bonner, 1979). 또한 HSP는 환경적 스트레스와 병리적 스트레스 상황에서도 발현되며 환경적 스트레스에는 고온 이외에도 아미노산 유사체, 중금속, 독소, 산화물에 세포가 노출되었을 경우 등이고, 병리적 스트레스에는 바이러스나 박테리아가 세포에 침입할 경우와 노화나 염증이 세포에 유발되었을 경우이다(Morimoto 등, 1992)(Table 1). 다양한 스트레스

Table 1. Conditions that Induce Expression of HSPs

Physiological	Pathological	Environmental
Cycle of cell division	Viral infection	Heat shock
Growth factors	Bacterial infection	Heavy metals
Cell differentiation	Parasitic infection	Metabolic inhibitors
Tissue development	Fever	Amino acid analogs
Hormonal stimulation	Inflammation	Ethanol
	Ischemia	Antibiotics
	Hypertrophy	Radiation
	Oxidant injury	

에 대해 발현하는 HSP들 중 HSP70이 온도 변화에 가장 많은 반응을 보이는 HSP으로, HSP70은 세포가 급격한 온도 상승의 조건에 처했을 때 수 분 이내에 세포내에서 합성되며(Ellis 등, 1991) 세포에 스트레스가 주어졌을 때 세포를 보호하고(Laudry 등, 1982), 또한 과도한 외부 자극 등의 부적절한 조건하에서 세포의 생존력을 증가시켜 주는 물질이다(Li 등, 1982).

HSP에 대한 연구는 다양한 분야에서 많은 연구들이 이루어지고 있으며, 특히 암, 면역계, 감염성 질환, 자가 면역 질환, 백신과 면역치료, 독물학(toxicology) 등에서 활발히 진행 중이다. Li 등(1999)은 골모세포(osteoblast)에 42, 45, 48 도의 온도로 10분간 열충격을 가한 결과, 45도에서 치료한 세포에서 HSP70이 가장 많은 증가를 보였고 세포 방어 기전이 가장 활발하게 일어났다. 이러한 방어 기전은 45도에서 치료한 세포에서 아포토우시스(apoptosis)를 방지할 수 있지만 48도에서 치료한 세포에서는 그렇지 못함을 의미한다. 또한 심부 루열 치료기인 치료적 초음파는 관절 연골세포 내의 HSP 생성을 증가시키며, 연골세포를 보호하고 관절 연골을 회복시키는 초음파의 치료적 효과와 밀접한 관계가 있다(Huang 등, 1999). Yoo 등(1999)은 알츠하이머 환자와 다운증후군 환자에 대한 연구에서 알츠하이머 환자의 측두 대뇌피질에서 HSP70의 유의한 증가를 확인하였으며 이는 HSP 70이 신경퇴행성 질환에 밀접한 영향을 미친다는 것을 의미한다고 했다. 최근 연구에서, 뇌졸중이나 간질에 의해 손상받은 뇌에서 HSP70의 발현이 증가되며 이는 허혈(ischemia)이나 간질에 의한 손상에 대해, HSP70이 뇌 손상을 방어한다는 것을 의미한다(Yenari 등, 1998). 따라서 본 고찰의 목적은 조직의 온도 상승시 그 발현이 증가하여 세포를 보호하고, 세포의 생존력을 증가 시켜주는 물질인 HSP70에 대해 분자의학적인 새로운 정보를

제공하고, 일상에서 다양하게 적용되고 있는 온열치료와 관련한 이들 물질의 발현 관련성을 알아보기 위함이다.

II. HSP의 종류

HSP의 종류를 분자량과 서열상동성(sequence homology)에 따라 분류하면 104(HSP100 family), 90(HSP90 family), 70(HSP70 family), 60(HSP60 family), 20(HSP27/28 family) kDa이며, HSP의 세포내 위치도 다양하다(Table 2).

Table 2. HSP and Intercellular Location

HSP	Location of HSP
HSP110/104	Cytosol / nucleus
HSP90	Cytosol / nucleus
HSP78(BiP)	Endoplasmic reticulum
HSP75	Mitochondria / chloroplast
HSP73	Cytosol / nucleus
HSP72	Cytosol / nucleus
HSP60	Mitochondria / chloroplast
HSP56	Cytosol
HSP47	Endoplasmic reticulum
HSP20	Cytosol / nucleus
HSP10	Mitochondria / chloroplast

HSP 100 family에 속하는 단백질은 최근에 그 기능이 알려지고 있는 군으로 *Drosophila*를 제외하고는 박테리아부터 진핵세포에 이르기까지 보존되어 있으며 고온에서의 열 저항성에 필요한 단백질로서 효모에서는 HSP70의 기능을 보완하는 것으로 알려져 있다(Snachez 등, 1992).

HSP90 family는 사이토솔(cytosole)과 내형질 세망(ER)에서 발견되며 생체내 기능은 아직 잘 알려져 있지

않지만 인산화 효소나 글루코코르티코이드 수용체와 같은 전사인자(transcription factor)와 결합되어 있는 것이 밝혀졌다. 이러한 단백질과 결합함으로써 HSP90은 이들의 작용을 조절하며, 또한 이러한 단백질들이 적절한 구조를 가질 수 있도록하여 이들의 기능을 보조한다(Bohn 등, 1995).

HSP70 family는 다른 HSP family에 비해 유전학적으로나 생화학적인 면으로 가장 잘 밝혀진 단백질이다. HSP70 family는 여러개의 HSP로 나누어지며 세포내 분포 또한 다르다. 항상 발현되고 주로 세포질에 존재하는 heat shock cognate(HSC70), 미토콘드리아에 존재하는 p75, lumen에 분포하고 glucose에 반응하는 grp78/BiP, 열충격에 의해 세포질에서 합성되는 유도성 HSP70이 그것들이다(Kiang과 Tsokos, 1998). 그 중 급격하게 자극에 반응하여 그 존재 여부가 좌우되는 것은 HSP72(유도성 HSP70)이다(Beckmann 등, 1990). HSP70은 진핵세포와 원핵세포에서 모두 발현되며 보존성이 높은 단백질로 진핵세포 사이에서는 60-78%의 동일성을 보이며 대장균과 진핵세포 사이에서는 40-60%의 동일성을 보이고 있다(Craig, 1985; Lindquist, 1986; Caplan 등, 1993). 또한 HSP70은 자극을 받았을 때에만 급격하고 민감하게 반응하여 상당한 양의 증가를 보이고 회복시기에 가장 먼저 감소한다(Welch 등, 1986).

HSP60 family는 미토콘드리아에서 제한적으로 발현되고 있으며 몇몇 질병에서 그 발현 정도가 증가하여 질병의 진단 기준으로서의 역할에 관심을 모으고 있다(Ellis 등, 1991).

HSP27/28 family는 정상세포와 암세포 모두에서 발현되는 단백질로서 최근에 세포의 분화단계에서 중요한 작용을 한다는 사실이 밝혀지고 있으며 약제 내성(drug resistance)에도 중요한 역할을 할 것임이 제시되고 있다(Ciocca 등, 1993).

III. HSP의 발현

세포가 열충격을 받게되면 그 세기의 정도에 따라 정상적인 단백질의 합성이 감소하여 일정 온도 이상이 되면 HSP의 합성을 제외하고는 거의 모든 단백질의 합성이 중지된다. 이것은 세포의 자기보호 기전이라 생각되는데, 즉 높은 온도에서는 단백질의 적절하고 올바른 folding이 이루어질 수 없기 때문에 이러한 상태에서 발현시킨 단백질은 그 활성이 제대로 나타날

수 없다. 그리고 이 열충격에 대항하기 위하여 만들어 내야하는 HSP를 충분히 만들어 내기위해 다른 단백질의 발현은 억제된다. HSP70은 열충격에 의해 발현되는 단백질 중에 가장 많은 부분을 차지하는 단백질로서 thermotolerance와 가장 연관성이 큰 HSP이다(Li 등, 1982). Thermotolerance는 높은 온도와 접한 세포의 경우 이후의 열충격에 일시적인 저항성을 획득하는 것을 말한다(Henle, 1976).

세포의 항상성을 파괴하는 자극들에 대한 반응으로 HSP이 합성될 때에는 각 HSP들은 매우 정교하게 조절되어 발현된다. 이때 발현되는 양은 각 HSP의 종류에 따라 다르다. 이러한 열충격 반응은 HSP 유전자들의 프로모터 내부에 혹은 근처에 존재하는 잘 보존된 열충격 요소(heat shock element : HSE)에 열충격 인자(heat shock factor : HSF)가 결합하여 일어난다(Lindquist, 1986; Bienz와 Pelham, 1987). 다시말해 HSP는 HSF라 알려진 전사인자(transcriptional factor)에 의해서 발현되는데, 스트레스를 받지 않은 상황에서는 HSF가 단량체(monomer)의 형태로 세포질과 핵내에 존재한다. 이때에는 DNA와 결합하지 않고 HSP과 1:1로 결합하고 있다(Morimoto 등, 1993). 그러나 고온이나 정상과 다른 생리적 스트레스 상황에서는 misfolding protein의 양이 증가하게 되는데 이때에는 misfolding protein과 HSP이 결합하게 되고 HSP에서 떨어진 HSF는 삼합체(trimer)로 뭉쳐 핵내로 이동하게 된다. 핵내로 이동한 HSF는 열충격 유전자 촉진자(heat shock gene promotor) 내에 위치한 특이한 DNA 인지 부위인 HSE에 결합하고 인산화되면서 활성화된다. 열충격 유전자의 전사활성(transcriptional activation)은 HSP의 발현을 증가시켜 HSF와 HSP의 복합체 형성을 증가시키며 이로 인하여 HSF는 DNA에서 떨어지고 단량체 상태로 돌아온다(Welch, 1984; Kiang과 Tsokos, 1998).

HSP은 스트레스에 노출된 지 수 분 이내에 세포 내에서 합성되며(Marx, 1983), HSP70은 세포가 39도를 넘어서면 발현되기 시작하여 43도에서 최고조를 이루어 45도가 넘어서면 그 발현양이 급격히 감소하는데 이는 세포가 45도를 넘어서면 세포 자체가 아포토우시스(apoptosis) 또는 괴사(necrosis)로 사망해 버리기 때문에 HSP70은 발현되지 않는다(안정혁, 1997). HSP은 열충격 후 3-5 시간 내에 최대로 합성되며 8시간이 지난 후에는 합성이 중지하게 된다(Kiang 등 1994).

Table 3. Functions of HSPs

HSP110/104	Required to survive severe stress for yeasts
HSP90	Binds steroid receptors to stabilize the receptors in the cytosol and silence their function
HSP78	Acts as molecular chaperones and provides cytoprotection
HSP75	Acts as molecular chaperones
HSP73	Acts as molecular chaperones
HSP72	Provides cytoprotection
HSP60	Acts as molecular chaperones
HSP56	Binds steroid receptors and FK506
HSP47	Acts as collagen chaperones
HSP20	Regulates actin cytoskeleton; acts as molecular chaperones; provides cytoprotection
HSP10	Acts as a cohort of HSP 60

IV. HSP70의 역할(기능)

HSP70의 기능 중 가장 중요한 기능은 molecular chaperone으로 변성된 다른 효소 단백질과 결합하여 그 적절한 folding을 유지시켜 세포의 손상을 최소화한다 (Morimoto, 1993; Kiang과 Tsokos, 1998). 또한 세포막을 통한 단백질 수송이나 단백질 합성과 같은 세포내 합성성 유지에 중요하게 작용한다(Moseley, 1998).

HSP70의 또다른 기능 중 하나는 세포의 사망이 유전자에 프로그램 되어있는 능동적인 과정으로 programmed cell death의 한 형태인 아포토우시스 (Steller 등, 1995)를 억제하는 것이다. Samali와 Cotter (1996)는 HSP70이 아포토우시스를 억제하고 세포의 생존을 증가시킨다고 하였으며, 이는 HSP70이 단순한 chaperone 기능에서 벗어나 세포의 운명을 결정해 주는 신호 전달 체계에 관여함을 의미한다(안정혁, 1997). Human premonocytic line U937 세포에서 열충격을 준 세포는 H₂O₂에 의한 미토콘드리아 막(membrane)의 변화와 돌기(cristae)의 형성을 감소시키며, 이 효과는 HSP70의 발현과 가장 큰 상관관계가 있다는 보고가 있다(Polla 등, 1996). 그리고 고환(testis)에서 특이적으로 발현하는 HSP70을 결손 시킨 생쥐에서 고환의 정모세포(spermatocyte)에 아포토우시스가 생겼고 또한 수컷 배아 세포(germ cell)의 감수분열이 억제되어 불임증이 발생하였다(Dix 등, 1996). 양분의 부족, ATP의 결핍, 열충격, 그리고 미세소관(microtubul)을 파괴하는 약물인 vinblastine은 Ehrlich ascites carcinoma(EAC) 세포에서 아포토우시스를 유발하는데, HSP70은 이러한 자극에 의한 아포토우시스를 억제한다(Gaba 등, 1995). HSP70은

고온 이외에도 다양한 자극에 의해 발현이 증가함으로써 인해 스트레스 유도성 HSP70이라고도 명명되며, 세포의 차원에서 보면 이들 apoptic stimuli는 크게 하나의 스트레스로 볼 수 있기 때문에 아포토우시스와 HSP과는 밀접한 관계가 있을 것으로 생각되어 지고 그에 대한 연구 또한 활발히 진행중이다.

Table 3은 HSP들의 기능을 간단하게 보여주고 있다.

V. 결 론

HSP70은 열충격을 비롯하여 다양한 스트레스에 의해 발현이 증가하는 단백질이다. 세포가 받은 스트레스로 인해 발현량이 증가하여 세포를 보호하고 생존력을 증가시켜주며, 최근 활발히 진행되고 있는 아포토우시스에 대한 연구에서 HSP70은 아포토우시스를 억제하여 줌으로써 세포가 사망하는 것을 막아준다고 보고되고 있다. 특히 HSP70은 관절염, 중추신경계 질환, 염증성 질환, 자가면역 질환 등에서 그 발현이 현저히 증가함을 보였다. 그러나 질환에 대한 자기방어 기전으로 발현되는 HSP70의 발현량 만으로는 효과적인 회복이 어려울 것이다. 또한 임상에서 다루고 있는 다양한 질환들에 대한 HSP70의 치료 효과를 밝히는 연구는 아직 미비하다. 따라서 조직의 온도를 상승시킴으로써 HSP70의 발현을 더욱 많이 유도한다면 세포의 손상을 최소화할 수 있을 것이며 성공적인 치료 효과도 기대할 수 있으리라 생각된다.

<참 고 문 헌>

안정혁 : 열충격단백질 70(Heat shock protein 70)의 새라 마이드 매개성 아포토우시스 억제효과에 대한 연구,

- 서울대학교 대학원 의학박사 학위논문, 1997.
- Ashburner M, Bonner JJ : The induction of gene activity in drosophila by heat shock, *Cell*, 17(2) : 241-54, 1979.
- Lindquist S : The heat-shock response, *Annu Rev Biochem*, 55 : 1151-91, 1986.
- Bond U, Schlesinger MJ : Heat-shock proteins and development, *Adv Genet*, 24 : 1-29, 1987.
- Bienz M, Pelham HR : Mechanisms of heat-shock gene activation in higher eukaryotes, *Adv Genet*, 24 : 31-72, 1987.
- Morimoto RI, Sarge KD, Abravaya K : Transcriptional regulation of heat shock genes, A paradigm for inducible genomic responses, *J Biol Chem*, 267(31) : 21987-90, 1992.
- Ellis RJ, van der Vies SM : Molecular chaperones, *Annu Rev Biochem*, 60 : 321-47, 1991.
- Landry J, Bernier D, Chretien P, Nicole LM, Tanguay RM, Marceau N : Synthesis and degradation of heat shock proteins during development and decay of thermotolerance, *Cancer Res*, 42(6) : 2357-61, 1982.
- Li S, Chien S, Branemark PI : Heat shock-induced necrosis and apoptosis in osteoblasts, *J Orthop Res*, 17(6) : 891-9, 1999.
- Huang MH, Yang RC, Ding HJ, Chai CY : Ultrasound effect on level of stress proteins and arthritic histology in experimental arthritis, *Arch Phys Med Rehabil*, 80 : 551-556, 1999.
- Yoo BC, Seidl R, Cairns N, Lubec G : Heat-shock protein 70 levels in brain of patients with Down syndrome and Alzheimer's disease, *J Neural Transm Suppl*, 57 : 315-22, 1999.
- Yenari MA, Fink SL, Sun GH, Chang LK, Patel MK, Kunis DM, Onley D, Ho DY, Sapolsky RM, Steinberg GK : Gene therapy with HSP72 is neuroprotective in rat models of stroke and epilepsy, *Ann Neurol*, 44(4) : 584-91, 1998.
- Sanchez Y, Taulien J, Borkovich KA, Lindquist S : Hsp 104 is required for tolerance to many forms of stress, *EMBO J*, 11(6) : 2357-64, 1992.
- Bohen SP, Kralli A, Yamamoto KR : Hold'em and fold'em : chaperones and signal transduction, *Science*, 268(5215) : 1303-4, 1995.
- Beckmann RP, Mizzen LE, Welch WJ : Interaction of Hsp70 with newly synthesized protein : implications for protein folding and assembly, *Science*, 248(4957) : 850-4, 1990.
- Welch WJ, Suhan JP : Cellular and biochemical events in mammalian cells during and after recovery from physiological stress, *J Cell Biol*, 103(5) : 2035-52, 1986.
- Ciocca DR, Osterreich S, Chamness GC, McGuire WL, Fuqua SA : Biological and clinical implications of heat shock protein 27,000(Hsp27) : a review, *J Natl Cancer Inst*, 85(19) : 1558-70, 1993.
- Heule KJ, Leeper DB : Combinations of hyperthermia (40 degrees, 45 degrees C) with radiation, *Radiology*, 121(2) : 451-4, 1976.
- Morimoto, Richard I : Cell in stress : Transcriptional activation of heat shock genes, *Advancement of Science*, 259(5100) : 1409-1410, 1993.
- Welch WJ, Feramisco JR : Nuclear and nucleolar localization of the 72,000-dalton heat shock protein in heat-shocked mammalian cells, *J Biol Chem*, 259(7) : 4501-13, 1984.
- Marx JL : Surviving heat shock and other stresses, *Science*, 221(4607) : 251-3, 1983.
- Moseley PL : Heat shock proteins and the inflammatory response, *Ann N Y Acad Sci*, 856 : 206-13, 1998.
- Steller H : Mechanisms and genes of cellular suicide, *Science*, 267(5203) : 1445-9, 1995.
- Samali A, Cotter TG : Heat shock proteins increase resistance to apoptosis, *Exp Cell Res*, 223(1) : 163-70, 1996.
- Polla BS, Kantengwa S, Francois D, Salvioli S, Franceschi C, Marsac C, Cossarizza A : Mitochondria are selective targets for the protective effects of heat shock against oxidative injury, *Proc Natl Acad Sci USA*, 93(13) : 6458-63.
- Dix DJ, Allen JW, Collins BW, Mori C, Nakamura N, Poorman-Allen P, Goulding EH, Eddy EM : Targeted gene disruption of Hsp70-2 results in failed meiosis, germ cell apoptosis, and male infertility, *Proc Natl Acad Sci USA*, 93(8) : 3264-8, 1996.
- Gabai VL, Zamulaeva IV, Mosin AF, Makarova YM, Mosina VA, Budagova KR, Malutina YV, Kabakov AE : Resistance of Ehrlich tumor cells to apoptosis can be due to accumulation of heat shock proteins, *FEBS Lett*, 375(1-2) : 21-6, 1995.