

## 동물학 논문

### $\beta$ -catenin에 의한 신호전달과 그 역할 ( $\beta$ -catenin은 세포의 감초인가?)



정 선 주

- 1985년 서울대학교 자연과학대학 동물학과 학사
- 1990년 미국 University of Utah 의과대학 생화학과 박사
- 1993년 미국 Stanford University 의과대학 발생생물학과 post-doc
- 1995년 서울대학교 유전공학연구소 연수연구원
- 1997년 단국대학교 이과대학 분자생물학과 전임강사
- 1997-현재 단국대학교 자연과학부 분자생물학전공 조교수

#### 요약

Wnt signaling의 주요 분자인  $\beta$ -catenin의 기능과 조절에 관한 연구, 특히 TCF family 단백질과 함께 작용하는 신호전달에 관한 연구가 최근에 활발히 진행되고 있다.  $\beta$ -catenin 단백질은 *Drosophila*나 *Xenopus*의 발생초기에 중요한 역할을 한다는 것이 알려져 있고 Wnt (Wingless) 단백질에 의하여 활성화되는 신호전달 과정에 관여한다고 알려져 있으므로, TCF 단백질들이 Wnt signalling pathway에 작용한다는 것을 의미한다. 즉,  $\beta$ -catenin/TCF complex는 발생초기의 세포의 운명을 결정하는 세포의 분화에 중요하리라 생각된다. 또한  $\beta$ -catenin/TCF complex는 세포의 암화에도 중요하다는 것이 보고되었다. 정상세포의 경우,  $\beta$ -catenin은 APC 라는 tumor suppressor에 의하여 결합하고 단백질의 분해가 유도되어 핵 안의 TCF와 결합하지 못하는데, 암세포의 경우 APC가 결실되었거나  $\beta$ -catenin의

양이 과도하게 발현되어 암세포화 되는 것으로 보인다. 즉,  $\beta$ -catenin은 일종의 oncogene으로 작용하는 단백질이며, 그 작용에 필수적인 전사인자가 TCF라는 것이다. 특히, 대장암세포에서 이  $\beta$ -catenin/TCF complex에 의해 활성화되는 유전자로서 c-myc과 cyclin D1 등이 있는 것으로 보아,  $\beta$ -catenin/TCF 단백질은 세포의 증식 및 사멸에 관여하는 단백질들의 발현을 조절하는 매우 중요한 인자라고 생각된다.

#### 서론

약방에 감초라는 말이 있다. 어디에도 빠지지 않고 등장하는 것을 두고 칭하는 말인데, 세포내 신호전달 기작을 연구하다 보면 이런 말에 어울릴 만한 것들이 있다.  $\beta$ -catenin 단백질에 의한 신호전달은 그야말로 약방의 감초처럼 cell adhesion, early development, carcinogenesis, cell proliferation, apoptosis등, 세포의 여러 과정에 중요하게 작용한다.  $\beta$ -catenin은 cell adhesion에 작용하는 단백질로 처음에는 알려졌으나, signal transduction 기능이 있음이 나중에 알려졌다. 특히,  $\beta$ -catenin에 의한 신호전달은 Wnt signaling에 의하며 세포질에서 작용하는 것으로 알려졌으나, 최근 연구결과에 의하면 여러 다른 pathway에 의하여 조절되고, 세포막과 세포질은 물론 핵으로 이동하여 작용한다고 한다. 그 중에서도  $\beta$ -catenin이 많은 연구자의 관심을 끌게 된 것은 이 단백질이 Wnt signal transduction 과정에서 여러 중요한 유전자를 전사시킬 수 있다는 것이 알려졌기 때문이다.  $\beta$ -catenin은 transcriptional activation domain을 가지고 있으므로 DNA에 결합할 수 있는 T Cell Factor (TCF)라는 전사인자와 복합체를 이루어 전사활성인자로 작용한다. 이 논문에서는  $\beta$ -catenin의 구조와 기능을 바탕으로, 이에

의한 세포내 신호전달 기작과 이에 따른 여러 기능을 TCF 단백질과의 상호작용을 중심으로 간략히 소개하고자 한다.

## 본 론

### 1. Cell adhesion과 $\beta$ -catenin

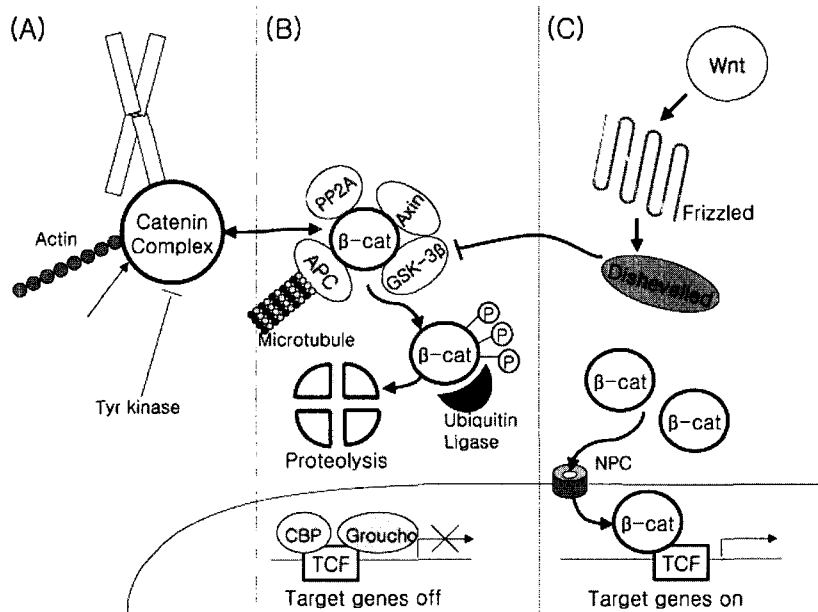
$\beta$ -catenin은  $\alpha$ - 및  $\gamma$ -catenin (plakoglobin),  $\delta$ -catenin, p120과 더불어, E-cadherin이라는 세포막 단백질의 cytoplasmic domain과 결합하는 단백질로 알려졌다 (실지로 catenin이라는 단어는 라틴어의 *catena*, 즉 chain에서 기원하였다고 한다). 이들 단백질은 E-cadherin을 actin cytoskeleton에 연결해 주는 역할을 하고 있으므로, E-cadherin/catenin 복합체는 adherens junction에 의한 cell-cell adhesion에 중요하다 (Miller and Moon, 1996; Aberle *et al.*, 1996). 특히 catenin 단백질은 *Drosophila*의 armadillo 단백질과 유사하며 이 부분을 이용하여 E-cadherin과 결합한다고 한다 (McCrea *et al.*, 1991). 그러나 adhesion complex에 있는  $\beta$ -catenin의 tyrosine phosphorylation 정도가 변하면 세포결합이 파괴되고 세포의 운동성이 증가하므로 초기 배 발생에서의 세포의 이동이나 암세포의 침윤이 증가된다. 이러한 현상을 유도하는 tyrosine kinase로는 erbB2 나 Src 외에도 EGF나 HGF와 같은 growth factor의 receptor 등이 있다. 그러나 tyrosine phosphatase (PTP- $\mu/\kappa$ , LAR-PTP)에 의해서는 위와 반대현상이 유발된다 (Nollet *et al.*, 1999). Tyrosine phosphorylation에 의한  $\beta$ -catenin의 조절은 결국 세포막에 있는 cytoskeleton adhesion complex에서의  $\beta$ -catenin의 양을 감소시킬 뿐 아니라 세포질에 존재하는 free  $\beta$ -catenin pool을 늘려, 앞으로 언급할 signal transduction에 작용할 단백질을 증가시키는 이중의 효과가 있다 (Fig. 1A).

### 2. Wnt signaling에 의한 $\beta$ -catenin의 조절

E-cadherin과 결합한다고 처음 알려진  $\beta$ -catenin이 signal transduction 연구자의 관심을 끌게 된 것은, 그 단백질의 구조 때문이었다. 이 단백질은 *Drosophila* segment polarity 유전자인 armadillo와 유

사한 구조를 가지고 있는 homologue이므로, *Drosophila*에서와 같이 Wnt/wingless 단백질에 의한 신호전달에 관여하리라고 유추할 수 있었다 (Miller and Moon, 1996). Wnt signal이 없을 때 E-cadherin과 결합하지 않고 세포질에 monomer로 존재하는  $\beta$ -catenin은 실지로는 APC (Adenomatous polyposis coli) 단백질과 그 복합체의 하나로 존재하고 있다. APC 복합체는  $\beta$ -catenin, GSK-3 $\beta$ , Axin, Phosphatase PP2A 등, 여러 단백질로 구성되어 있으며, 특히  $\beta$ -catenin이 복합체에 존재할 경우에는 GSK-3 $\beta$ 의 ser/thr kinase 기능에 의하여 인산화 된다. 인산화된  $\beta$ -catenin은 E3/SCF-ubiquitin ligase의 F-box 단백질과 결합하여 ubiquitin-dependent proteolysis를 거쳐 단백질이 분해되기 때문에 Wnt signal이 없는 경우에는 세포질에 아주 적은 양 존재하게 된다 (Nollet *et al.*, 1999; Fig 1B).

Wnt/wingless 단백질은 secretory protein으로 세포 표면으로 분비되기는 하나, solubility가 높지 않아 멀리 확산되지는 않는 단백질이다. 그러므로 이 단백질을 분비하는 세포는 주위 세포의 운명을 Wnt/wingless 단백질의 농도 구배로 결정할 수 있다 (Gumbier, 1998). Wnt 단백질의 신호를 세포내로 전달하는 세포표면 수용체의 존재는 한동안 미스터리였고, 한 때는 Wnt 단백질이 receptor가 없는 orphan ligand라고 생각하기도 하였다 (Arias *et al.*, 1999). 결국 Frizzled나 그와 유사한 막단백질이 그 수용체이며, Frizzled의 extracellular domain에 Wnt 단백질이 결합하면 세포질 단백질인 Disheveled에 신호를 전달한다는 것이 알려졌다 (Bhanot *et al.*, 1996). 일반적으로 Disheveled가 활성화되면 Glycogen Synthase Kinase-3 $\beta$  (GSK-3 $\beta$ )의 작용을 억제하므로, GSK-3 $\beta$ 에 의해 그 양이 조절되어 세포질에 적은 양 존재하던  $\beta$ -catenin의 양이 증가한다. 즉, Wnt signal이 오면 GSK-3 $\beta$ 의 인산화 기능이 억제되어  $\beta$ -catenin이 APC와 결합하여 인산화 되지 않고 세포질에 free한 상태로 존재하므로 proteolysis가 되지 않고 세포질에 다량 축적된다. 세포질의  $\beta$ -catenin은 정확한 기작은 알 수 없지만 nuclear pore complex를 통하여 핵으로 이동하고, TCF family 단백질과 complex를 이루어 transcriptional activator 역할을 수행한다 (Fig. 1C). 만약, 핵 안에  $\beta$ -catenin이 없으면 TCF의 DNA 결합부분인 HMG box에 의



**Fig. 1**  $\beta$ -catenin의 세포내 기능 및 신호전달의 간략한 요약.

- (A) Cell adhesion 에서의  $\beta$ -catenin의 기능과 조절.  $\beta$ -catenin은 여러 다른 catenin 단백질들과 함께 E-cadherin에 결합하여 다른 세포와의 adherens junction의 형성을 도와준다. 또한 cadherin/catenin 복합체는 actin에 연결되어 cell adhesion complex와 cytoskeleton의 공조를 단단히 한다.  $\beta$ -catenin은 tyr의 인산화에 의하여 cell adhesion에서의 기능이 조절된다.
- (B) 세포막에서 cell adhesion에 관여하지 않는  $\beta$ -catenin은 세포질에 존재하며 Wnt signal에 의하여 조절된다. Wnt signal이 없는 세포에서의  $\beta$ -catenin은 세포질에 free한 상태로 존재하지 않고 APC (Adenomaous polyposis coli) 단백질과 PP2A phosphatase, Axin, GSK-3 $\beta$  등과 complex를 이루고 있다. 이 복합체에 있는  $\beta$ -catenin은 GSK-3 $\beta$ 에 의하여 특정ser/thr 잔기에 인산화가 되고, 인산화된  $\beta$ -catenin은 Ubiquitin ligase에 의하여 ubiquitination이 되어 proteosome으로 전달되고 분해된다. 이와 같이 경우에는 핵 내의 TCF 단백질은 CBP나 Groucho와 같은 repressor와 결합하여 유전자의 발현을 유도하지 않는다.
- (C) Wnt signal이 있는 세포의 경우  $\beta$ -catenin의 기능. Wnt 단백질은 세포막의 Frizzled 수용체에 결합하여 Dishevelled를 활성화시키고, 이는 GSK-3 $\beta$ 의 인산화 기능을 억제하는 효과가 있다. GSK-3 $\beta$ 가  $\beta$ -catenin을 인산화시키지 못하므로 단백질 분해가 되지 않고 세포질에 다량의  $\beta$ -catenin이 축적된다.  $\beta$ -catenin은 세포질에서 핵안으로 Nuclear Pore Complex를 통하여 이동하고 핵 안의 TCF 단백질에 결합하여 여러 종류의 target gene을 활성화시킨다.  $\beta$ -catenin/TCF를 통하여 전사되는 target gene으로는 siamois, fibronectin, connexin 43, cyclin D1, c-myc, PPAR- $\delta$  등이 있다.

하여 DNA에 결합할 수는 있으나 transcriptional activator 역할을 수행할 수는 없다 (Hsu *et al.*, 1998). 그러나,  $\beta$ -catenin이 존재하게 되면 TCF family와 complex를 이루고 DNA에 결합하게 되는데 TCF가 단독적으로 DNA에 결합하는 pattern과 달리 DNA를 다른 형식으로 변형시키게 되어

transcriptional activator 역할을 하고 특정 유전자를 전사 활성화시킨다 (He *et al.*, 1998; Tetsu and McCormick, 1999).

### 3. $\beta$ -catenin과 TCF 단백질의 결합

세포막이나 세포질에만 존재한다고 생각하던  $\beta$

-catenin이 핵으로 이동할 수 있고, 더구나 T cell factor로만 알고 있던 TCF 단백질들과 결합할 수 있다는 것은 매우 놀라운 발견이었다 (Behrens *et al.*, 1996; Molenaar *et al.*, 1996; Huber *et al.*, 1996; van de Wetering *et al.*, 1997; Brunner *et al.*, 1997). TCF (T-cell factor) 단백질은 여러 종류가 있는데, 그 중에 가장 먼저 알려진 TCF-1 단백질은 T 세포에서 매우 높은 농도로 발현되는 전사인자이다 (van de Wetering *et al.*, 1991). 이 단백질은 CD3의  $\epsilon$ -chain, TCR- $\alpha$ 와 CD4와 같은 T 세포의 기능에 중요한 여러 유전자들의 enhancer에 결합할 수 있다고 알려졌다. T 세포에서의 TCF-1의 기능은 아직 불분명하나, knockout mice를 이용한 실험결과에 의하면 T 세포의 성숙과 분화의 특정단계에 관여한다고 생각된다 (Okamura *et al.*, 1998; Verbeek *et al.*, 1995). TCF-1 단백질의 구조적 특징 중 가장 눈에 띄는 것은 HMG (High Mobility Group) box인데, 이 부분에 의해 특정 염기 서열(A/T A/T C A A A G)을 가진 DNA에 붙는다. 이런 HMG box를 가진 단백질은 60여개가 넘는데, 그 중 TCF-1과 같이 특정 염기 서열을 인식하는 종류는 또 다른 lymphoid-specific 단백질이며 TCF-1의 homolog인 LEF-1과 포유동물의 성 결정 단백질인 SRY 등이 있다. 이들 단백질은 전사인자로 작용하며 DNA에 결합하는데, 특히 이 과정에서 DNA 구조를 bend 시키거나, supercoil시키는 특징이 있다 (Love *et al.*, 1995).  $\beta$ -catenin과 결합하여 Wnt signal을 나타내는 단백질은 TCF-4이다. 이 단백질은 T 세포뿐 아니라 여러 종류의 세포에서 발현하고, 특히 epithelial cell에서의 발현이 높고,  $\beta$ -catenin과 결합하여 세포의 암화를 유발하고 발생과정에서 세포의 운명 결정에 중요하게 작용한다고 생각된다 (van de Wetering *et al.*, 1997; Brunner *et al.*, 1997).

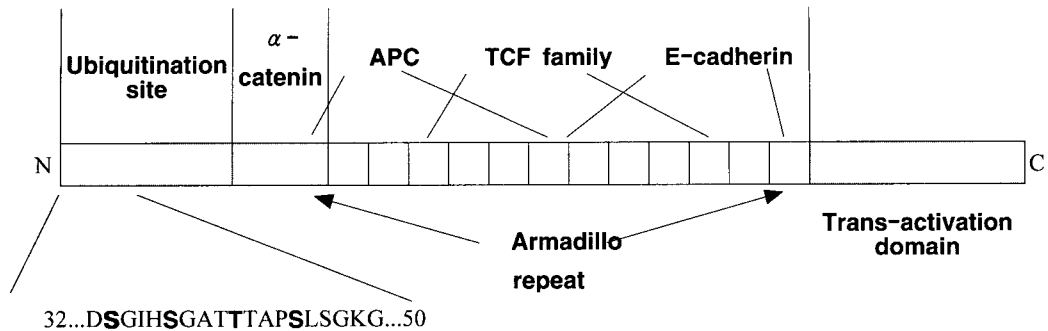
$\beta$ -catenin의 다양한 기능은 그 구조를 분석해 보면 이해할 수 있다. 즉,  $\beta$ -catenin은 여러 종류의 단백질과 선택적으로 결합하고 그 결과 여러 형태적 변형을 통하여 다양한 기능을 한다고 생각된다.  $\beta$ -catenin은 130개의 아미노산으로 구성된 N-terminal region, 550개 아미노산인 armadillo repeat, 100개 아미노산인 C-terminal region으로 구성되어 있다 (Fig. 2A). N-terminal region에는 GSK-3 $\beta$ 에 대한 phosphorylation site와 ubiquitination site가 존재하고,

특히 GSK-3 $\beta$ 에 의해 인산화되는 Ser이나 Thr은 암세포에서 돌연변이 되어 있는 경우가 많다. C-terminal region은 target gene에 대한 transactivator 기능을 가진다. Armadillo repeat은 42개의 아미노산으로 구성된 12 repeat가 반복되어져 있는데 E-cadherin, APC, TCF 등과 같은 다양한 단백질과 결합한다 (Pai *et al.*, 1996; Omer *et al.*, 1999). TCF 단백질의 경우에도 TCF-1이나 TCF-4 모두  $\beta$ -catenin과 결합하는 N-terminal region과 DNA에 결합하는 HMG box 부분이 있는 C-terminal 부분으로 구성되어 있다. 또한 TCF 단백질들의 중간 부분은 Groucho라는 repressor하고 결합하여 TCF를 transcriptional repressor 역할을 수행하게 되고, 또 다른 repressor인 CBP는 TCF 단백질 N-terminal의  $\beta$ -catenin 결합부분에 있는 lysin을 acetylation시켜 TCF를 repressor로 작용케 한다 (Cavallo *et al.*, 1998; Waltzer and Bienz, 1998). 즉, TCF 단백질의 경우에도  $\beta$ -catenin 외의 여러 단백질과 선택적으로 결합하여 activator 혹은 repressor로 작용한다 (Fig. 2B). 이와 같이 Tcf 단백질은 여러 다른 activator나 repressor와 결합하여 multiprotein complex를 형성하고, 특히 다른 전사유도체와 선택적으로 결합하여 이에 따라 세포의 분열 및 사멸을 조절하는 단백질일 가능성이 높다 (Waltzer and Bienz, 1998).

그 중요성 때문에  $\beta$ -catenin과 TCF complex의 구조가 분석되었다.  $\beta$ -catenin의 armadillo repeat domain을 X-ray crystallography로 분석하여 본 결과 groove가 길게 연결된 superhelix form을 이루고 있음이 밝혀졌다. 그리고 각각의 armadillo repeat는 3개의  $\alpha$ -helix으로 구성되어 있으며, helix끼리 짧은 loop에 의해 연결되어 있다.  $\beta$ -catenin의 basic groove들은  $\beta$ -catenin binding domain을 포함하는 protein들의 acidic residue들과 interaction 되리라 생각되어 진다. 또한  $\beta$ -catenin과 결합하는 TCF N-terminal 부분과  $\beta$ -catenin의 복합체 상태의 구조를 분석해 본 결과,  $\beta$ -catenin의 armadillo repeat 부분은 길게 늘어진 TCF 단백질과 반대 방향으로 결합하고 있고, TCF의 3개의 아미노산 부위가 armadillo 부분과 직접 결합하고 있음을 알 수 있었다 (Heber *et al.*, 1997; Graham *et al.*, 2000). 이러한 구조 분석을 이용한  $\beta$ -catenin/TCF 저해제 및 항암

A)  $\beta$ -Catenin

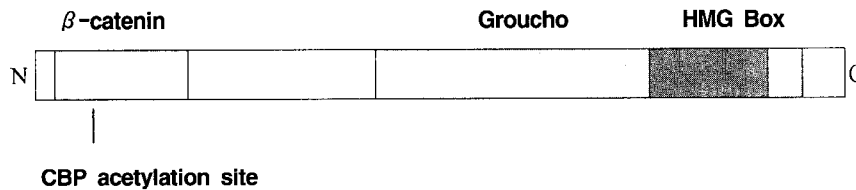
Interaction with :



**GSK-3 $\beta$  phosphorylation sites**  
(mutated in tumors)

B) TCF family

Interaction with :



**Fig. 2**  $\beta$ -catenin과 TCF 단백질의 주요 부분에 대한 모식도.

- (A)  $\beta$ -catenin은 N-terminal, Armadillo repeat, trans-activation domain의 3부분으로 나눌 수 있다. N-terminal에는 GSK-3 $\beta$ 에 의한 ser/thr phosphorylation site, Ubiquitination site,  $\alpha$ -catenin 결합부위 등이 있다. 특히, 암세포의 경우 인산화되는 serine이나 threonine이 돌연변이 되어 있는 것이 발견되었다. 가운데 부분은 Armadillo와 유사한 서열이 12개 반복적으로 존재하며, 이 부위는 APC, TCF, Axin, E-cadherin과 같이  $\beta$ -catenin의 기능을 조절해 주는 여러 가지 단백질과 결합할 수 있다. C-terminal은 trans-activation domain으로서  $\beta$ -catenin이 TCF와 더불어 전사조절인자로 작용하도록 한다.
- (B) TCF family 단백질은  $\beta$ -catenin에 결합하여 전사를 활성화시키는 부분과 CBP에 의하여 acetylation되어 전사기능을 저해하는 부분이 N-terminal에 존재한다. N-terminal의 HMG box는 TCF 단백질이 직접 DNA에 결합할 수 있도록 한다. Groucho repressor의 결합 부분도 그 주위에 위치하고 있다.

제의 개발이 시급하다고 생각된다.

4. 발생과정에서의 Wnt signaling과  $\beta$ -catenin

앞에서 언급한 바와 같이 Wnt signaling은 *Drosophila*의 wingless 단백질에 의한 *Drosophila* segment polarity에 관여하는 pathway로 처음에 알려졌다. C.

*elegans*와 *Xenopus*의 mesoderm induction과 patterning 등, 생물의 발생 과정에 매우 중요한 signal pathway이다 (Siegfried and Perrimon, 1994; Nusse and Varmus, 1992). *Drosophila*의 wingless 단백질은 최초로 알려진 Wnt 단백질로서 segment polarity를 결정하거나 Wing formation 등, 여러 과정에 다면적으로

작용하는 신호를 유도한다. *Xenopus*의 초기 발생과정에서는 Wnt signaling이 mesoderm을 유도하고 pattern을 형성하고, *C. elegans*의 경우에도 anterior-posterior axis 형성에 따른 세포의 운명 결정에 중요하다. 그러므로  $\beta$ -catenin을 injection하여 다량 발현시킨 *Xenopus* embryo는 머리가 두 개인 double axis를 형성하기도 한다 (Brannon *et al.*, 1997). 그런데 여기서 흥미로운 것은, 발생과정에서의 Wnt signaling은 세포의 새로운 운명을 결정하거나 적극적으로 유도하는 instructive한 작용을 하는 것이 아니라 다른 유도물질에 의해 결정이 되었을 때 이를 허락하거나 혹은 안정하게 하는 permissive한 역할을 한다는 것이다. T 세포의 발생과정에 있어서도  $\beta$ -catenin과 복합체로 작용하는 TCF 단백질도 cell fate 결정에 있어 비슷하게 permissive한 역할을 할 것으로 예상된다 (Schilham *et al.*, 1998).

### 5. 암세포 형성과 $\beta$ -catenin

최근에 Wnt signaling과 TCF/ $\beta$ -catenin interaction이 암세포 형성과 관련 있다는 증거가 제시되어 세간의 관심을 받고 있다 (Morin, 1999). 아직까지 암세포의 발달과정이 완전히 규명되어 있지는 않지만 Wnt pathway의 downstream component들이 암세포 형성과정에 있어서 중요한 역할을 한다고 생각된다 (Korinek *et al.*, 1997; Morin *et al.*, 1997; Rubinfeld *et al.*, 1997). Colorectal cancer와 그 외 여러 암의 발생원인이 APC 단백질의 돌연변이 때문인 경우 외에도  $\beta$ -catenin의 돌연변이에 의한 경우가 많다.  $\beta$ -catenin은 APC와 결합하므로, 돌연변이된 APC나  $\beta$ -catenin은 APC/ $\beta$ -catenin/Axin 등으로 구성되어 있는 복합체로 형성되지 않으리라는 것을 예측할 수 있다. 이 복합체에는 특히 GSK-3 $\beta$ 가 존재하여 APC와  $\beta$ -catenin을 인산화시키고 이에 따라 ubiquitin-mediated proteolysis가 되는 것이기 때문에, 암세포의 돌연변이된  $\beta$ -catenin은 GSK-3 $\beta$ 에 의해 인산화 되지 않으므로 세포질에서 안정하게 다량 축적될 것이다. 세포질에 과량 존재하는  $\beta$ -catenin은 핵으로 이동하게 되고, TCF family 단백질과 같이 DNA에 결합하는 인자와 결합하여 전사 활성인자로 작용한다 (see Fig. 2B and 2C).

APC는 상피세포의 증식을 조절하는 gatekeeper

역할을 하여 APC 돌연변이가 있는 생쥐의 경우 대장에서 종양이 발생하고 invasive carcinoma로 발전하는 polyp이 생긴다. 그러므로 APC 단백질은  $\beta$ -catenin의 작용을 억제하는 tumor suppressor의 역할을 한다고 볼 수 있다. APC가 아니라  $\beta$ -catenin에 돌연변이가 된 colorectal tumor 세포에서는 GSK-3 $\beta$ 에 의하여 인산화되는  $\beta$ -catenin N-terminal 부위 내의 serine이나 threonine이 바뀌거나 제거된 경우가 많다 (see Fig. 2A). APC 돌연변이의 경우 colorectal cancer에 주로 있는 반면,  $\beta$ -catenin 돌연변이는 다양한 tumor type에서 발견할 수 있다. 이 사실은  $\beta$ -catenin이 in vivo에서 잠정적 oncogene이라는 사실을 입증한다. APC와  $\beta$ -catenin의 돌연변이는 결과적으로 핵 내의  $\beta$ -catenin을 증가시켜 TCF/ $\beta$ -catenin complex의 양을 증가시킨다. 이 결과 TCF target gene을 부적절하게 활성화시키고 더 나아가 암세포로 발전한다. 특히,  $\beta$ -catenin/TCF 복합체에 의하여 활성화되는 target 유전자가 c-myc과 같은 oncogene이거나 cyclinD1과 같은 세포증식을 조절하는 인자이므로, excessive Wnt signaling이나  $\beta$ -catenin의 돌연변이는 세포의 암화의 원인이 된다는 것이 설명된다 (Tetsu and McCormick 1999; Cavallo *et al.*, 1998).

Colon cancer 외에도 여러 종류의 암에서  $\beta$ -catenin이 돌연변이 되어 있는 것이 발견되었다. 또한 dominant-negative  $\beta$ -catenin을 발현하는 생쥐에서 hair follicle tumor 형태가 유도되기도 한다. 흥미롭게도 TCF-1이 제거된 knock-out mouse에서 mammary gland와 gut에서 adenomas가 형성되고 추가적인 APC mutation 경우 adenomas의 숫자가 증가한다. 이 사실은  $\beta$ -catenin이 제거된 상태에서 TCF-1이 oncogene에 대한 repressor 역할을 담당하고 있다고 볼 수 있다 (Roose *et al.*, 1999).

### 6. 다른 pathway에 의한 $\beta$ -catenin의 조절

Wnt signal에 의한  $\beta$ -catenin의 활성화만이 유일한 조절방법은 아니고, 다른 signal transduction pathway와의 network이 중요하다고 생각된다. Wnt 단백질의 경우도 Frizzled 이외에도 Notch receptor나 세포막의 proteoglycan, 혹은 BMP와도 결합할 수도 있으므로, 이런 여러 신호에 의해 조절될 수 있을

것이다.  $\beta$ -catenin의 경우에도 Axin, APC, PP2A, GSK-3 $\beta$ 와 같이 복합체를 형성하므로, 이 들 단백질의 조절은 직접 혹은 간접적으로  $\beta$ -catenin의 기능을 조절할 것이다. 예를 들어  $\beta$ -catenin과 결합하는 주요 단백질인 APC의 경우는 자신도 GSK-3 $\beta$ 에 의한 인산화가 되어 구조를 변형하고, microtubule과 결합하기도 한다 (see Fig. 1).  $\beta$ -catenin의 경우에도 GSK-3 $\beta$ 에 의한 조절 외에도 presenillin이나 actin-binding protein Fascin과 결합한다. 또한 TCF도 Groucho나 CBP와 같은 repressor와 결합하여  $\beta$ -catenin의 activor 기능을 저해하기도 한다. 또한 최근 연구 결과에 의하면 mouse나 C. elegans에서는  $\beta$ -catenin과 TCF의 결합이 MAPK pathway에 의하여 억제되는 것으로 보아, 여러 signaling pathway가 서로 연결되어 있다고 추측된다 (Ishitani *et al.*, 1999; Meneghini *et al.*, 1999). 이렇듯,  $\beta$ -catenin은 여러 pathway에 의하여 기능이 조절되며, 이 들의 선택적인 작용에 따라 다른 작용을 할 것으로 생각된다.

## 장래 전망

$\beta$ -catenin과 TCF 단백질에 의한 signaling은 여러 단계에서 조절되고 그 결과 여러 가지의 target gene의 발현도 조절되리라고 예상된다. 현재까지 알려진 target gene 들은 주로 세포의 증식을 유도하거나 조절하는 유전자들이었고, 아마도 이 들의 발현에 따라 세포의 암화 및 운명결정이 결정될 수 있을 것이다. 그러나, 현재까지 알려지지 않은 target gene의 종류도 많고, 이 들에 의한 세포작용도 중요한 요인이 될 것으로 예상된다. 특히, 세포의 암화 및 발생조절에서는 세포증식 못지 않게 세포사멸이 중요한 요인이므로,  $\beta$ -catenin/TCF signaling이 apoptotsis를 직접, 혹은 간접적으로 영향을 주리라고 생각되며, 최근 연구결과들이 이를 시사하고 있다 (Chen *et al.*, 2001; Steinhusen *et al.*, 2000; Fukuda *et al.*, 1999; Jeong *et al.*, 1998, Jeon *et al.*, 1998; Kim *et al.*, 2000). 그러므로,  $\beta$ -catenin에 의해 발현되는 유전자를 전반적으로 이해하는 것이  $\beta$ -catenin의 다양한 기능을 이해하는 방법일 것이다. 또한  $\beta$ -catenin과 TCF의 구조도 결정되었기 이

를 바탕으로 한  $\beta$ -catenin/TCF 결합을 방해하여 세포의 암화를 막는 신약의 개발에 한 걸음 더 다가와 있다고 할 수 있다.  $\beta$ -catenin에 의한 유전자 조절은 암세포 외에도 여러 질환에 관계한 가능성이 있다. Alzheimer's 세포나 Adipogenesis 과정에도 Wnt signaling이 관계할 수 있다는 가설이 제기되고 있다 (De Ferrari and Inestrosa, 2000; Ross *et al.*, 2000). 다시 말하자면,  $\beta$ -catenin은 TCF 라는 전사 인자를 통하여 여러 다양한 target gene을 활성화하고 이 들 유전자의 활성화에 따라 세포의 증식과 사멸을 위시한 세포의 기능을 조절하리라 생각된다. 이러한 신호전달자로서의 기능 외에도  $\beta$ -catenin은 cell adhesion complex의 하나로 구조적인 기능을 함께 수행하고 있으므로  $\beta$ -catenin의 기능은 여러 pathway에 의하여 조절되며, 일종의 세포내 기능 및 구조의 networking의 핵심 player 라고 할 수 있을 것이다. 그러므로,  $\beta$ -catenin 조절방법의 fine-tuning을 이해하는 것을 여러 세포의 기능을 fine-tuning하는 첫 걸음일 것이다. 약방의 감초의 기능은 한의학에서 잘 연구되고 이해되고 있는지 모르겠다.

## 감사의 글

본 논문의 원고 준비에 많은 도움을 준 단국대학교의 이희규 군과 정성원 군에게 감사를 전한다.

## 참 고 문 헌

- Aberle H, Schwartz H and Kemler H (1996) Cadherin-catenin complex: protein interactions and their implication for cadherin function. *J. Cell Biochem* 61: 514-523
- Arias AM, Brown AMC and Brennan K (1999) Wnt signalling: pathway or network? *Curr. Opin in Genet. Develop.* 9: 447-454
- Behrens J, von Kries JP, Kuhl M, Bruhn L, Wedich D, Grosschedl R and Birchmeier W (1996) Functional interaction of  $\beta$ -catenin with the transcription factor LEF-1. *Nature* 382: 628-642
- Bhanot P, Brink M, Samos CH, Hsieh JH, Wang Y,

- Macke JP, Andrew D, Nathans J and Nusse R (1996) A new member of the *frizzled* family from *Drosophila* function as a Wingless receptor. *Nature* 382: 225-230
- Brannon M, Gomperts M, Sumoy L, Moon R and Kimelman D (1997) A  $\beta$ -catenin/Xtcf-3 complex binds to the *Siamois* promoter to regulate dorsal axis specification in *Xenopus*. *Genes Dev.* 11: 2359-2370
- Brunner E, Peter O, Schweizer L and Basler K (1997) Pangolin encodes a LEF-1 homologue that acts downstream of armadillo to transduce the Wingless signal in *Drosophila*. *Nature* 285: 829-833
- Cavallo RA, Cox RT, Moline MM, Roose J, Polevoy GA, Clevers H, Peifer M, Bejsovec A (1998) *Drosophila* Tcf and Groucho interact to repress Wingless signalling activity. *Nature* 395: 604-612
- Chen S, Guttridge DC, You Z, Zhang Z, Fribley A, Mayo MW, Kitajewski J and Wang CY (2001) Wnt signaling inhibits apoptosis by activating  $\beta$ -catenin/T cell factor-mediated transcription. *J. Cell Biol.* 152: 87-96
- De Ferrari GV and Inestrosa NC (2000) Wnt signaling function in Alzheimer's disease. *Brain Res. Rev.* 33: 1-12
- Fukuda K (1999) Apoptosis-associated cleavage of  $\beta$ -catenin in human colon cancer and rat hepatoma cells. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 31: 519-529.
- Graham TA, Weaver C, Mao F, Kimelman D and Xu W (2000) Crystal structure of a  $\beta$ -catenin/Tcf complex. *Cell* 103: 885-896
- Gumbier BM (1998) Propagation and localization of Wnt signaling. *Curr. Opin. in Genet. Develop.* 8: 430-436
- He TC, Sparks AB, Rago C, Hermeeking H, Zawel L, Costa LTD, Morin PJ, Vogelstein B and Kinzler KW (1998) Identification of c-MYC as a Target of the APC pathway. *Science* 281: 1509-1512
- Hsu SC, Galceran J and Grosschedl R (1998) Modulation of Transcriptional Regulation by LEF-1 in Response to Wnt-1 Signaling and Association with  $\beta$ -catenin. *Mol. Cell. Biol.* 18: 4807-4818.
- Huber A, Nelson J and Weiss W (1997) Three-dimensional structure of the armadillo repeat region of  $\beta$ -catenin. *Cell* 90: 871-82
- Huber O, Korn R, Mclaughlin J, Ohsugi M, Herrmann BG and Kemler R (1996) Nuclear localization of  $\beta$ -catenin by interaction with transcription LEF-1. *Mech. Dev.* 89: 3-10
- Ishitani T, Ninomiya-Tsuji J, Nagai S, Nishita M, Meneghini M, Barkers N, Waterman M, Bowerman B, Clevers H, Shibuya H and Matsumoto K (1999) The TAK1-NLK-MAPK-related pathway antagonizes signaling between  $\beta$ -catenin and transcription factor TCF. *Nature* 399: 798-802
- Jeon SH, Jeong SJ, Lee CJ, Kim JK, Kim YS, Chung HY, Park SD and Seong RH (1998) Expression of Tcf-1 mRNA and surface TCR-CD3 complexes are reduced during apoptosis of T cells. *Int. Immunol.* 10: 1519-1527
- Jeong SJ, Jeon SH, Yim JB, Park SD and Seong RH (1998) Down-regulation of Tcf-1 Expression by Activation-induced Apoptosis of T Cell Hybridoma. *Kor. J. Biol. Sci.* 2: 403-410
- Kim K, Pang KM, Evans M and Hay ED (2000) Overexpression of beta-catenin induces apoptosis independent of its transactivation function with LEF-1 or the involvement of major GI cell cycle. *Mol. Biol. Cell* 11: 3509-3523
- Korinek V, Barker N, Morin PJ, Wichen DV, Weger RD, Kinzler KW, Vogelstein B and Clevers H (1997) Constitutive Transcriptional Activation by a  $\beta$ -Catenin-Tcf Complex in APC-/- colon carcinoma. *Science* 275: 1784-1787
- Love JJ, Li X, Case DA, Giese K, Grosschedl R and Wright P (1995) Structural basis for DNA bending by the architectural transcription factor



- LEF-1. *Nature* 376: 791-795
- McCrea PD, Turck CW and Gumbiner B (1991) A homology of the *Drosophila* protein armadillo (plakoglobin) associates with E-cadherin. *Science* 254: 1359-1361
- Meneghini MD, Ishitani T, Carter JC, Hisamoto N, Ninomita-Tsuji J, Thorpe CJ, Hamill DR, Matsumoto K, Bowerman B (1999) MAP kinase and Wnt pathways converge to downregulate an HMG-domain repressor in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 399: 793-797
- Miller JR and Moon RT (1996) Signaling transduction through  $\beta$ -catenin and specification of cell fate during embryogenesis. *Genes Dev.* 10, 2527-2539
- Molenaar M, van de Wetering M, Oosterwegel M, Peterson-Maduro J, Godsave S, Korinek V, Roose J, Destree O and Clevers H (1996) Xtcf-3 transcription factor mediates  $\beta$ -catenin-induced axis formation in *Xenopus* embryos. *Cell* 86: 391-399
- Morin PJ (1999)  $\beta$ -catenin signaling and cancer. *BioEssays* 21: 1021-1030
- Morin PJ, Sparks AB, Korinek V, Barker N, Clevers H, Vogelstein B and Kinzler KW (1997) Activation of  $\beta$ -Catenin-Tcf Signaling in Colon Cancer by Mutation in  $\beta$ -Catenin or APC. *Science* 275: 1787-1790
- Noller F, Berx, G and van Roy F (1999) The role of the E-cadherin/catenin complex in the development and progression of cancer. *Mol. Cell Biol. Res. Commun.* 2: 77-85
- Nusse R and Varmus HE (1992) Wnt genes. *Cell* 69: 1073-1087
- Okamura RM, Sigvardsson M, Galceran J, Verbeek S, Clevers H, and Grosschedl R (1998) Redundant regulation of T cell differentiation and TCR- $\alpha$  gene expression by transcription factors LEF-1 and TCF-1. *Immunity* 8: 11-20
- Omer CA, Miller PJ, Diehl RE and Kral AM (1999) Identification of Tcf4 residues involved in high-affinity  $\beta$ -catenin binding. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 256: 584-590
- Pai LM, Kirkpatrick C, Stein J and Peifer M (1996) *Drosophila*  $\alpha$ -catenin and E-cadherin bind to distinct regions of *Drosophila* armadillo. *Biol. Chem.* 271: 411-20
- Roose J, Huls G, van Beest M, Moerer P, van der Horn K, Goldchmeding R, Logtenberg T and Clevers H (1999) Synergy between tumor suppressor APC and the  $\beta$ -catenin-Tcf4 target Tcf1. *Science* 285: 1923-1926
- Ross SE, Hemati N, Longo KA, Bennett, CN, Lucas PC, Erickson RL and MacDougald OA (2000) Inhibition of adipogenesis by Wnt signaling. *Science* 289: 950-953
- Rubinfeld B, Robbins P, El-Gamil M, Albert I, Porfiri E and Polakis P (1997) Stabilization of  $\beta$ -catenin by genetic defects in melanoma cell lines. *Science* 275: 1790-1792
- Schilham MW, Wilson A, Moerer P, Bemaissa-Trouw BJ, Cumano A and Clevers HC (1998) Critical involvement of Tcf-1 in expansion of thymocytes. *J. Immunol.* 161: 3984-3991.
- Siegfried P and Perrimon N (1994) *Drosophila* wingless: a paradigm for the function and mechanism of Wnt signaling. *Bioessays* 16: 395-404
- Staal FJT, Burgering MT, van de Wetering M and Clevers HC (1999) Tcf-1-mediated transcription in T lymphocytes: differential role for glycogen synthase kinase-3 in fibroblasts and T cells. *Int. Immunol.* 11: 317-323
- Steinhausen U, Badock V, Bauer A, Behrens J, Wittman-Liebold B, Dorken B and Bommert K (2000) Apoptosis-induced cleavage of  $\beta$ -catenin by caspase-3 results in proteolytic fragments with reduced transactivation potential. *J. Biol. Chem.* 275: 16345-16353
- Tetsu O and McCormick F (1999)  $\beta$ -catenin regulates expression of cyclin D1 in colon carcinoma cells. *Nature* 398: 422-426

- van de Wetering M, Cavallo R, Dooijes D, van Beest M, van Es J, Loureiro J, Ypma A, Hursh D, Jones T, Bejsovec A (1997) Armadillo coactivates transcription driven by the product of the *Drosophila* segment polarity gene dTCF. *Cell* 88: 789-799
- van de Wetering M, Oosterwegel M, Dooiges D and Clevers H (1991) Identification and cloning of TCF-1, a T lymphocyte-specific transcription factor containing a sequence-specific HMG box. *EMBO J.* 10: 123-132
- Verbeek S, Izon D, Hofhuis F, Robabus-Maandag E, Riele H, Wetering M, Oosterwegel M, Wilson A, MacDonald HR and Clevers H (1995) An HMG-box-containing T-cell factor required for thymocyte differentiation. *Nature* 374: 70-74
- Waltzer L and Bienz M (1998) *Drosophila* CBP represses the transcription factor TCF to antagonize Wingless signalling. *Nature* 395: 521-525