

당을 통한 세포간의 정보교환과 렉틴의 응용성

김 하 형

중앙대학교 약학대학

생체계에 있어서 세포간의 인식 및 상호작용의 과정은 분화, 성장이라고 하는 생명현상에 있어서 기본적인 필수과정으로 생각할 수 있다. 이 과정이 정상적으로 가동되지 못하게 된 경우, 세포는 발육장애, 기형, 암 등을 초래하게 된다. 최근, 유전자 및 단백질 레벨에서 생명현상의 이해가 진행되고 생체물질의 구조와 기능을 해석, 제어하는 기술이 발전함에 따라, 이와 같은 현상을 분자 레벨에서 해석할 수 있는 물질로서, 세포 표면의 당의 역할에 많은 연구자들이 주목하고 있다.

단백질, 핵산, 지질과 함께 생체를 구성하는 중요한 성분중 하나인 당은 올리고당이라고 하는 중합체를 형성하여, 당단백질, 당지질 및 프로테오글리칸과 같은 복합분자를 형성하며, 세포의 접착, 세포간의 정보전달, 조직 개체의 형태 형성 등 개체의 생물활성 유지에 필수 불가결한 기능을 담당하고 있다. 당 관련 연구를 진행시키기 위해서는, 올리고당이 단백질 및 지질 기능에 미치는 영향, 세포간 상호 정보전달에 미치는 역할, 분리, 구조 해석 및 합성기술 등이 종합적으로 연구, 검토되어야 한다.

올리고당의 구조와 기능적 특징은 다음과 같다. 구조적 특징으로는, 단백질이나 핵산을 구성하고 있는 기본단위가 아미노산 20종류 혹은 핵산 4종류가 직선적 배열인데 반해, 올리고당은 결합부위에 관하여 α , β 의 아노머 구조에 대해 2종류, pyranose, furanose에 대해 각각 2종류 등 다양한 양식의 구조를 취할 수 있어 분자 내에 복수의 분지점을 가지고 있으며, 결합양식도 다양하여 취급에 어려움이 따라 그 해석 기술의 확립이 어려운 상태이다. 또한, 올리고당은 유전자의 일차산물이 아니라 유전정보에 지배되어 만들어진 일련의 당전이 효소에 의해 합성 또는 분해, 수식되어 진다. 그리고, 올리고당의 합성과정에서 움직이는 당전이 효소군의 발현 순서와 발현 방법에 따라 각각 다른 구조의 올리고당을 만들어 내게 되고 이로 인해 올리고당에 미세 균일성이 생기는 원인이 되는데 그 구조가 구축되어지는 기구는 아직 해명되어 있지 않은 실정이다. 또한, 당전이 효소군의 발현은 각 장기 부위에 따라 다르기 때문에 같은 단백질에 결합하여 있어도 장기에 따라 올리고당의 구조는 달라지게 된다.

기능적 특징으로는, 올리고당은 당과 특이적으로 결합하는 단백질과 결합하여 그 상호작용으로 인해 세포의 특이적인 인식에 중요한 역할을 하게 된다. 또한, 단백질자체의 Asn(Fig. 1) 혹은 Ser/Thr을 통하여 올리고당이 결합된 당단백질의 형태로 존재하고 단백질 특유의 기능에 현저한 변화를 주는 경우이다. 즉, 올리고당은 그 자체로서 뿐만 아니라 다른 생체 물질과의 결합에 의해 그 기능의 변화를 초래시킬 수 있는 중요한 물질로 생각할 수 있다.

하등동물의 세포 재집합 혹은 수정 등과 같은 기초 생물학적 현상으로 세포와 세포의 상호작용에 세포에 결합된 올리고당이 기여할 것이라는 것은 1960년대에 이미 제기되었으나, 당시에는 올리고당에 대한 구조적인 정보가 전무하여 구체적인 증거는 없는 실정이었다. 그러나 생체 내 올리고당의 구조가 점점 밝혀지면서 최근 사람과 같은 고등동물의 당단백질 혹은 당지질에 관해서 생리적, 병리적 프로세스에 중요한 세포 접착에 올리고당이 어느 정도 관여하고 있는가가 집중적으로 논의되고 있다. 즉, 세포표면의 올리고당과 이들을 인식하는 인식분자의 상호작용은 세포 접착을 통하여 세포상호간의 위치관계를 결정하며 세포의 기능을 제어하여 유전자 발현의 패턴을 결정하게 된다. 이와 같은 올리고당을 통한 세포 상호작용은 다양한 당인식 분자와 당 표출 분자간의 정보교환에 의해 특이성 및 인과관계가 결정된다.

올리고당은 앞에서 언급한 바와 같이 구조적으로 다양성을 갖을 수 있으며 이와 같은 다양성으로부터 생물학적 정보를 갖고 있는 분자임을 충분히 유추할 수 있다. 특히 세포 표면상의 당은 세포와 세포 혹은 세포와 매트릭스와의 접착, 인식이라고 하는 현상과 관련이 있게 된다. 그러나 실제로 올리고당이 어떠한 정보를 갖고 있고 그것이 어떠한 형태로 발현되는

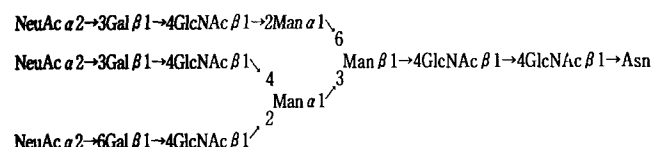


Fig. 1. 일반적인 Asn 결합형 올리고당의 구조.

가에 대해서는 명확하지 않은 부분이 많다. 최근의 분자면역학 적 연구가 진행됨에 따라 올리고당 구조의 해석이 발전하고 특정구조의 올리고당이 특정분자 혹은 조직과 발생과정중의 특정 시기에 특징적으로 발현하는 것이 알려지기 시작하면서 올리고당이 갖는 구체적인 실험적 결과가 얻어지게 됐다.

생체를 구성하고 있는 세포는 막을 사이에 두고 세포자신과 외부위를 구별하고 있고 이 막위에는 여러 세포간 접착분자가 존재하며 이 세포간 접착분자의 중요한 물질로서 렉틴을 들 수가 있다. 1990년대에 Sialyl Lewis 항원 당쇄가 내재성 렉틴 성 접착분자인 셀렉틴(selectin)의 리간드임이 보고되면서 당 인식에 직접적인 관여를 하는 분자들의 생물학적 역할, 결합특 이성, 활성의 제어 기구 등이 점차 밝혀지게 되었다. 또한, 염증시 백혈구가 혈관내피세포와 결합할 때 단백질 뿐만 아니라 당이 세포간의 상호인식에 대한 시그널로서 작용하게 되며, 이는 생체의 항상성 유지에 대단히 중요한 프로세스로 인식되고 있다. 즉, 백혈구의 접착과 습윤은 세포활성화를 동반한 멀티스텝의 과정이며 여기에는 백혈구상의 당쇄, 인테그린 등과 같은 접착분자가 필수적이고 이들이 순차적으로 협조하여 최종 결과로서 염증이 제거되게 된다.

여기에서는 세포의 접착분자로서의 기능을 갖는 것이 밝혀지고 있는 당수용체로서 렉틴을 예로 들어 그 응용성을 간단히 소개하고자 한다.

렉틴은 당과 특이적으로 결합하는 단백질의 총칭으로 세포 표면 혹은 그 구성단백질에는 복수의 당으로 연결된 올리고당을 가지고 있는데, 그 중에서 어떤 특정한 구조를 갖고 있는 당만이 렉틴과 결합할 수 있게 된다. 당과 렉틴과의 결합은 특이적이면서 렉틴을 갖고 있는 세포와 그것에 결합하는 당을 가지고 있는 세포간의 선택적 정보교환을 성립하게 한다. 이와 같은 관점으로 부터 렉틴에 관한 연구는 '인식'을 통한 세포간의 정보전달에 관한 연구를 해석하는데 중요한 재료로서 선택할 수 있다. 현재, 이와 같은 '인식'의 기구를 해명하고자 하는 연구의 흐름으로서는, 분자 레벨에서의 인식 및 세포 레벨에서의 인식을 중심으로 신경계, 면역계, 염증반응 등을 중심으로 이루어 지고 있으며, 감염, 암과의 관계가 연구되어 지고 있다.

렉틴은 주로 식물, 동물, 무척추동물, 박테리아, 바이러스등에서 다수 분리, 정제되고 있으며, 그 중 식물 유래 콩과식물이 가장 대표적인 렉틴 유래로 알려져 있다. 현재까지 보고된 렉틴의 대다수는 D-mannose나 D-galactose 등을 인식하며, 올리고당의 비환원 말단에서 복합당질의 구조 및 기능에 중요한 역할을 하고 있는 시알산(sialic acid)을 인식하는 렉틴은 단지 수 종만이 보고되고 있다. 시알산은 N-acetylneuraminic acid(NeuAc, Fig. 2), N-glycolylneuraminic acid(NeuGc), O-acetylsialic acid 등과 같은 약 30개의 유도체를 지칭하는 물질로, 세포간의 상호작용이나 바이러스, 펩타이드 호르몬, 독소 등의 수용체로써 중요한 작용을 하는 것으로 보고되고 있

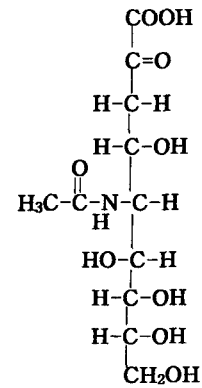


Fig. 2. N-acetylneuraminic acid의 구조.

다. 예를 들면, 인플루엔자 바이러스의 경우 당의 말단에 시알산이 연결된 세포 수용체와 결합하여 그 작용을 나타내며, 이 수용체를 시알산 가수분해효소(sialidase)로 처리하면 인플루엔자 바이러스에 대해 저항성을 가지게 된다. 시알산을 포함하는 sialoglycoprotein과 sialoglycolipid는 정상세포와 형질 전환된 세포의 생리작용에 매우 중요한 작용을 하며, 시알산 잔기의 O-acetylation은 세포의 형질 전환이나 분화 과정에 영향을 주는 것으로 알려져 있다. 따라서 시알산에 특이적으로 결합하는 렉틴은 복합당질 및 폴리사카라이드와 같은 시알산을 함유한 많은 생체분자의 검출, 정량, 정제 등에 유용하게 활용되고 있다.

시알산을 인식하는 대표적인 식물유래의 렉틴으로는 wheat germ agglutinin(WGA), *Sambucus*(Elderberry) agglutinin, *Maackia amurensis* lectin 등이 있으며, 특히 *Maackia amurensis*의 종자로부터 얻어진 렉틴은 *Maackia amurensis* hemagglutinin(MAH), *Maackia amurensis* leukoagglutinin(MAL)의 두종류의 isolectin이 존재하는 것으로 보고되고 있으며, 이들의 결합특이성은 MAH는 NeuAc α 2 \rightarrow 3Gal β 1 \rightarrow 3(NeuAc α 2 \rightarrow 6)GalNAc, MAL은 NeuAc α 2 \rightarrow 3Gal β 1 \rightarrow 4GlcNAc 구조를 갖는 올리고당 혹은 당펩타이드와 결합하는 것으로 보고되고 있다. 즉, 이들을 분리하여 얻어지는 렉틴을 이용하여 시알산 결합양식의 차를 구별하는데도 유용하게 응용되고 있다.

렉틴과 관련된 연구의 응용성에 대해 최근 급속히 연구가 진행되고 있는 암과 관련하여 시알산을 인식하는 WGA 렉틴을 일례로 들면 다음과 같다. WGA 렉틴은 분자량 36kDa, pI 7.7~8.7의 4종류의 isolectin으로 존재하며, 분자량 18kDa의 subunit가 이량체를 형성하고 있다. 최근의 암 관련 실험 모델에서 시알산의 일종인 NeuAc를 포함하는 당쇄의 증가가 확인되고 있고 이에 대응하는 WGA의 결합성의 상승이 높은 전이성과 관련이 있다는 사실이 보고되고 있다. 이와 같은 NeuAc의 증가는 당단백질의 Asn 혹은 Ser/Thr을 통한 올리고당에서 동시에 나타나며, tunicamycin과 같은 당쇄 합성 저해제에 의

한 당쇄의 형성 저해는 전이성의 저하를 나타내게 된다. 또한, 당지질에 있어서도 ganglioside의 증가, 시알산을 다수 포함하는 당쇄의 증가 등이 보고되고 있다. 특히 WGA는 바이러스와 화학발암제로 악성화된 세포를 정상세포에 비해 강하게 응집하는 성질이 알려져 있으며, 동일 암환자로부터 얻은 사람 멜라노마 세포주 중 primary tumor의 IGR39와 metastatic lymph node유래의 IGR37이 WGA와 강하게 결합한다는 보고가 있다. 또한, HM7 melanoma cell의 plasma membrane으로부터 mucin-type glycoprotein을 분리 정제하는 데에도 WGA를 sepharose에 결합한 affinity column이 이용되고 있다.

한편, 렉틴의 구조해석에 의해 단백질의 기능적 도메인의 하나인 당인식 도메인(carbohydrate recognition domain)의 존재가 밝혀지면서 이 도메인을 하나의 분자군으로 보게 되었다. 이것은 당의 생물학적 정보를 해석할 수 있는 분자가 하나의 유전자군으로서 존재한다는 것을 나타내는 것이다.

앞에서 일부 언급한 바와 같이 최근의 세포생물학과 구조생화학의 연구결과에 의하면 동물세포에서 바이러스 등에 의해 세포가 악성화 되는 과정에서, 세포표층의 당의 구조가 변화하는 당부전 현상이 나타나게 되고, 세포막에 결합된 당의 구조적 이상이 대부분의 암세포에 있어서 공통적인 현상이 밝혀지고 있으며, 발생과 분화의 과정에서도 당구조의 극적인 변화가 보고되고 있다. 즉, 세포가 암화 된 경우와 정상세포를 비교하였을 때 세포표면간의 당의 구조적 차이가 보고되고 있고, 이와 같은 당의 구조적 차이를 특이적으로 인식하여 결합하는 렉틴을 이용하여 질병의 진단과 치료에 응용하고자 활발한 연구가 전개되고 있다.

또한, 세포 표면의 당쇄가 실험 모델에 대한 암의 전이성을 결정하는 중요한 인자임이 다음과 같은 주요 원인에 의해 보고되고 있다. 첫째, 전이성이 다른 암세포 변이주의 표면 당쇄에 대한 렉틴 결합성의 차이와 당 구조에 차이가 나타나며, 둘째, 렉틴을 이용하여 *in vitro*에서 선별된 암세포에 전이성의 차이가 보인다고 하는 점이다. 셋째, 암세포의 당쇄를 수식함으로써 인해 전이성을 바꿀 수 있는 가능성에 관한 보고이다. 이들은 암세포의 종류와 전이의 타겟으로 되는 장기를 불문하고 공통적인 성질임이 알려졌다. 전이 종양은 수술 등의 외과적 치료에 원발 종양이 완전히 제거된 후에도 시간이 경과함에 따라 출현이 빈번해진다. 이 암 전이는 악성종양의 치료를 곤란하게 하는 최대의 원인중 하나가 된다.

최근, 일부 연구자들은 암세포가 숙주를 공격하는 메커니즘을 해명하고자 암의 병태 형성에 대한 당쇄와 당쇄 인식분자의 역할에 대해서 연구하고, 특히 마크로파지의 표면에 발현하는 C형 렉틴의 당쇄 특이성을 해석하여 이 분자가 사람의 유래의 암에서 자주 발현하는 당쇄 항원을 인식하는 것을 밝혀냈다.

결론적으로 렉틴 연구의 응용성은 다음과 같다. 특정 당을

인식하는 렉틴이 세포표면에 존재하는 특정 당을 인식하게 되고, 이와 같은 인식의 과정으로 부터 암세포에 있어서 당이 렉틴에 의해 인식되어지는 과정을 추정해 나갈 수 있으며, 이미 보고된 바와 같이 암세포에 특이적인 galactose 및 lactosamine을 인식하는 렉틴을 이용하여 얻어진 암 전이와의 관련을 해석할 수 있는 중요한 수단으로 사용되어 질 수 있다. 최근에는, 암세포와 같이 정상세포에 비해 세포 표면의 당에 구조적 변화를 일으키는 경우, 당이 항원성이 낮은 이유로 인해 monoclonal antibody의 제작이 어려울 뿐만 아니라 대량으로 얻는데도 많은 시간과 경비가 드는 점을 고려하여 항암제와 렉틴을 결합시킨 컨쥬게이트를 제작하고 인체 투여후 암세포만을 선택적으로 공격하도록 함으로써 원치 않는 조직에 약물이 작용하여 일어나는 부작용을 최소화 할 수 있는 약물 타겟팅에 대한 연구도 보고되고 있다. 또한, 암세포에 대한 monoclonal antibody에 렉틴을 결합시켜 만든 immunotoxin을 이용하여 암세포에 작용시키면 암세포의 단백질 합성이 저해되고 종양세포의 성장이 저하된 보고와 마크로파지와 같은 effector cell이 렉틴 공존하에서 암세포를 파괴시키는 작용의 보고로 부터, 항암작용을 갖는 신물질의 개발로 이어 질 수 있을 것이다. 한편, 렉틴에 의한 당의 인식이 당단백질의 체내에서의 거동에 큰 영향을 주는 것으로 부터, drug delivery system에서도 유용하게 이용될 수도 있을 것으로 기대된다. 렉틴은 이상과 같이 진단 시약, 항암작용, immunotoxin, 접착 분자등 다양한 용도로 연구되고 있어 앞으로 생명과학 연구에서 그 중요성이 더욱 부각될 것이다.

참고문헌

1. Glycobiology A Practical Approach, M. Fukuda and A. Kobata, (1993) IRL Press.
2. 糖鎖研究の最先端, 福田穰 (1995) 羊土社
3. 糖鎖ハイブリッド 稲田祐二, 川寄敏祐 (1994) 共立出版株式会社.
4. Complex Carbohydrate The Chemistry, Biosynthesis, and Functions, Nathan Sharon(1975) Addison-Wesley Publishing Co. Inc.
5. Antitumor effect of plant lectins Abduullaev F. I. and Mejia E. G.(1997) *Natural Toxins* 5, 157-163
6. Glycosylation and the immune system. P.M. Rudd, T. Elliott, P. Cresswell, I.A. Wilson and R.A. Dwek(2001) *Science*, 291, 2370-2376.
7. Glycoproteins: glycan presentation and protein-fold stability. M.R. Wormald and R.A. Dwek(1999) *Structure*, 7, R155-R160
8. Glycosylation and the immune system. P.M. Rudd, M.R. Wormald and R.A. Dwek (1999) *Trends in Glycoscience and Glycotechnology*, 11, 1-21.