

Intracellular Vesicular Traffic과 Lysosomal Targeting : Lysosomal Hydrolase의 결핍이나 Trafficking의 이상과 연관된 질환을 중심으로

성균관대학교 의과대학 소아과학교실

진 동 규

서 론

모든 세포는 세포밖의 환경 혹은 세포내의 신호나 생성 물질, 노폐물질을 전달하는 과정이 필요하며, 특히 eukaryote 세포들은 endocytosis라는 과정을 통해 고분자물질을 흡수하기도 하고 분해가 필요한 물질을 lysosome에 옮겨서 분해를 진행시키기도 한다. 이 과정은 biosynthetic-secretory pathway나 endocytosis pathway를 통해 전달되는데 이러한 과정은 정밀히 조절되지 않으면 세포내의 traffic jam이나 잘못된 배달로 인한 유통과정의 혼란을 가져올 수 있고, 이러한 장애는 조직의 이상을 초래하여 결국 생명체에 해로운 영향을 미칠 수 있다.

인간의 병은 과거 분석적인 접근 보다는 기술적인 접근이 주를 이루어 왔는데, 세포 생물학 분자 생물학의 발달에 의해 이 두 접근 방법이 점차 한 방향으로 나가고 있다. 이 기고에서는 세포의 intracellular vesicular traffic과 lysosomal targeting과 연관 그 기작을 살펴보고 이와 연관되는 사람의 질환이 어떻게 이해될 수 있고 해결될 수 있는 지에 대해 소개하고자 한다.

Intracellular vesicular traffic과 lysosomal targeting

세포가 물질을 수송하기 위해서는 세포내 소기관에서 생산될 물질이 정확한 길을 따라 세포 표면이나 가 고자 하는 세포 내 다른 기관으로 이동해야 하는데 이 과정에서 세포는 작은 vesicle들을 사용하는 것이 알려져 있다. 또한 이동해야 할 목적지에 정확히 도착하

기 위해서는 각 vesicle에 꼬리표(tagging)가 필요한데 이는 vesicle 표면의 coat 단백을 이용한다. 이러한 단백질의 종류는 clathrin, COPI, COPII 등이 알려져 있으며, 이 과정에 SNARE 단백질이나 Rab 단백질이 정확한 행선지에 대한 표식이 될 수 있다.

이와 함께 단백질 회수를 위해서는 Lys-Asp-Glu-Leu 등의 아미노산 배열을 특징으로 하는 단백질과 그 receptor가 필요한 데 이를 통해서 잘못 배달된 단백질 회수나 사용된 단백질 재활용이 이루어진다(Fig. 1: cited from Molecular biology of the cell, Albert Johnson Lewis Raff Roberts Walter, 4th edition).

Lysosome으로 가는 단백질 trafficking

Lysosome은 hydrolytic enzyme을 40여종 이상 포함하는 막으로 둘러 쌓인 기관으로 세포내의 고분자물질을 분해하는 기관으로 식물세포에서는 세포의 탄력성을 유지시키거나 항상성(homeostasis) 유지에 중요한 기관이다. Lysosome에 존재하는 것으로 알려진 acid hydrolase는 protease, nuclease, glycosidase, lipase, phospholipase, phosphatase, sulfatase 등이 알려져 있으며, 이 모든 효소들은 pH 5.0의 환경에 존재한다. 이는 세포입장에서는 하나의 안전장치로서, 만일 lysosome의 막이 분해되어 cytosol내로 효소가 분비된다 해도 pH 7.2의 환경하에서는 거의 작동을 하지 않을 것이기 때문이다.

이 pH 5.0의 환경은 lysosome에 중요하기 때문에 이를 위해서는 H⁺ pump가 중요하다. 또한 lysosome 내의 대부분의 단백질은 당화(glycosylation)가 많이 되어 있어서 이 역시 안전장치의 하나로 생각되고 있다.

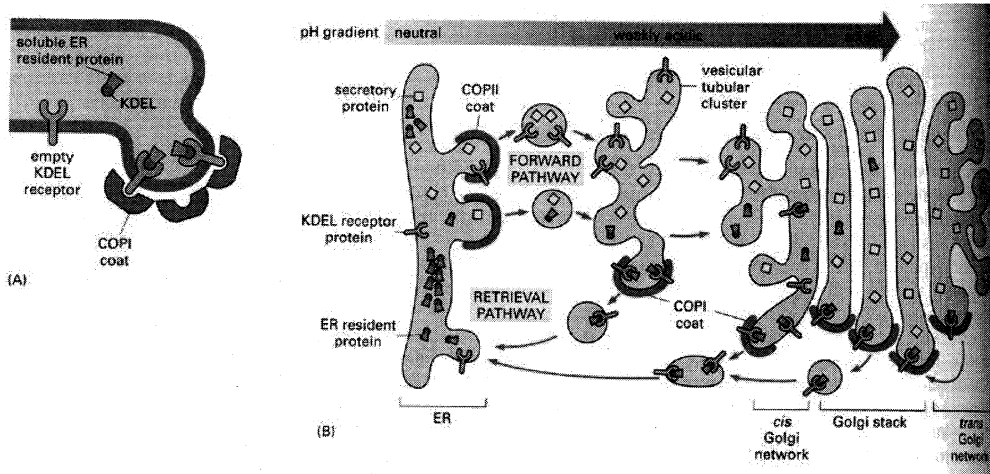


Fig. 1.

당화는 포유동물세포에서 신호전달이나 작용의 다양성을 가질 수 있는 특징 중의 하나로서 endoplasmic reticulum내에서 진행되어 Golgi apparatus에서 마지막 손질이 된다.

당화는 2종류가 있는데, N-linked glycosylation과 O-linked glycosylation이 있다. N-linked glycosylation은 주로 complex oligosaccharide와 high mannose oligosaccharide의 두 종류 중 하나의 형태로 첨가된다. 본 논고에서는 질환연관 부분만을 강조하고자 하며 자세한 과정은 생략한다.

그러면 왜 포유동물의 세포는 당화를 필요로 하고 이것이 세포의 대사에 어떤 영향을 주는가 하는 것은 아직 확실치 않지만 단백질의 표면이 당화로 덮이게 되면 protease 등에 의해 덜 손실을 받을 것이고, 한편으로는 signal mechanism의 하나로도 생각되어지고 있다. 이를 좀 더 자세히 살펴보고자 한다.

Shuttle로서의 mannose-6-phosphate receptor의 역할과 치료약 개발의 여지에 대해

지금까지 세포내의 소기관의 이동과 당화 등에 대해 개괄적으로 살펴보았는데, 이를 lysosome으로의 물질이동에 초점을 맞추어 보면, 매우 흥미있는 사실을 발견하게 된다. 지금까지 알려진 대부분의 lysosome에 있는 acid hydrolase는 Golgi apparatus를 떠나기 전에 mannose-6-phosphate가 N-linked oligosaccha-

ride 끝에 붙어 있다고 알려져 있다. 이는 거꾸로 mannose-6-phosphate(M6P)를 인식하는 receptor의 존재를 의미하는 것으로 실제로 이런 receptor가 존재한다. M6P receptor는 해당 oligosaccharide(M6P)를 Golgi apparatus에서 pH 6.5에서 6.7의 조건에서 결합하는데, lysosome의 내부에 해당되는 pH 6.0 이하에서 그 단백을 lysosome 쪽으로 놓아주게 된다. 이후 pH가 더 떨어지면 lysosome 안의 단백질이나 여러 물질들을 분해 하는 것으로 판명되었다.

즉 N-linked oligosaccharide는 lysosome targeting에 반드시 필요하며 M6P가 붙는 위치는 signal patch라 하여 결정되어 있다. 수년 전에 이와 연관된 수식효소들이 알려졌는데 GLcNac phosphotransferase는 사람의 유전질환과 직접 연결된다.

M6P receptor와 관련하여 이 수용체는 때에 따라서 exocytosis와 연관될 수 있다는 점을 강조하고 싶다. 이는 치료약 개발에 있어서 매우 중요한 전제조건으로 인공적으로 합성된 lysosomal hydrolase들이 적당한 signal patch와 M6P 표식을 가지고 있으며 lysosome내로의 이동이 가능한 점을 시사하고 있다. 또한 M6P independent receptor도 cloning되어 있고 실제로 lysosomal enzyme의 이동과 관련이 있지만 이동에 관해서는 작은 부분으로 생각되어 진다.

사람의 피부에는 melanocyte와 keratinocyte라는 두 종류의 세포가 있는데 melanocyte는 melanin이라는 pigment를 내어 lysosome에 축적되어 농축되었다

Table 1.

number	Eponym	MiM	Chromosome	major clinical	enzyme deficiency	glycosaminoglycan
nuber	locus	manifestations	affected			
MPS IH	Hurler	252800	4p16.3	corneal clouding, dysostosis multiples, organomegaly, heart disease, mental retardation, death in childhood	α -L-Iduronidase	Dermatan sulfate, heparan sulfate
MPS IS	Scheie	252800	4p16.3	corneal clouding, stiff joints, normal intelligence and life span	α -L-Iduronidase	Dermatan sulfate, heparan sulfate
Mps (severe)	IIHynter(severe)	252800	4p16.3	Phenotype intermediate between IH and IS	α -L-Iduronidase	Dermatan sulfate, heparan sulfate
MPS II (mild)	Hunter(mild)	309900	Xq28	Dysostosis multiplex, organomegaly, no corneal cluding, mental retardation, death before 15 years	Iduronate sulfatase	Dermatan sulfate, heparan sulfat
MPS IIIA	SanfilippoA	252900	17q25.3	Profound mental deterioration, hyperactivity, relatively mild somatic manifestations; milder forms known to exit	Iduronate sulfatase	Dermatan sulfate, heparan sulfat
MPS IIIB	Sanfilippo B	252920	17q21	Phenotype similar to IIIA	α -N-acetyl-glucosaminidase	Heparan sulfate
MPS IIIC	Sanfilippo C	252930	No Known	Phenotype similar to IIIA	Acetyl-Doa : α -glucosaminide acetyltransferase	Heparan sulfate
MPS IIID	Sanfilippo D	252940	12q14	Phenotype similar to IIIA	N-Acetylglycosa min 6-Sulfatase	Heparan sulfate
MPS IVA	Morquio A	253000	16q24.3	distinctive skeletal abnormalities, corneal clouding, odontoid hypoplasia; milder forms known to exist	Galactose ^-sulfatase (N-acetylgalacotosamin 6-sulfatase)	Keratan sulfate, chondroitin 6-sulfate
MPS IVB	Morquio B	253010	3p21.33	Spectrum of severity as in IVA	β -Galactosidase	keratan sulfate
MPS V	No longer used			-	-	-
MPS VI	Maroteaux-Lamy	253200	5p13-q14	Dysostosis multiples, corneal coloding, normal intelligence; survival to teens in severe form; milder forms exist	N-Acetylgalact osamine 4-sulfatase (arylsulfatase B)	Dermatan sulfate
MPS VII	Sly	253220	7q21.11	Dysostosis multiplex, hepatosplenomegalay; wide spectrum of severity, including fetal and neonatal form	β -Glucuronidase	Dermatan sulfate, heparna sulfate chondroitin 4o, 6-sulfates
MPS VIII	No longer used					
MPS IX		601492	3p21.2-p21.3	Periarticular soft tissue masses; short stature	hyaluronidase	hyaluronan

가 세포표면으로 exocytosis되는데 keratinocyte는 이를 흡수하여 피부의 색깔을 결정하게 한다.

사람의 질환과 lysosome 효소 결핍

전술한 사람의 40여종의 lysosome 효소는 genomic DNA에 그 template가 있으므로 이 backbone DNA에 critical mutation이 있으면 특정효소의 결핍이 생기는 것은 당연하다 하겠다. Table 1은 lysosomal enzyme 중 가장 많은 효소의 부분을 차지하는 뮤코다당체침착증의 summary로서 이처럼 효소의 결핍에 의해 proteoaminoglycan이 축적되어 퇴행성 병변을 일으키게 된다. 이중 뮤코다당체 침착증 II형은 가장 한국인에 흔한 질환으로 뮤코 다당체 침착증의 5-60%를 차지하는데 대개 2세 이전에는 별 증상이 없다가 2세 이후에 질환의 증상이 나타나는 퇴행성 병변으로 10대 후반에 사망에 이르게 된다. 그러나 돌연변이의 타입에 따라서는 효소의 활성에 부분적인 영향을 주어 성인에서 발견되는 수도 있어 돌연변이의 유치를 결정하는 것이 중요하며, 이를 판단하는데는 이 효소의 3차원 구조를 컴퓨터상에서 구현하고 해당 돌연변이의 위치를 그 구조에서 찾아서 이 돌연변이에 의해 결정되는 3차원구조가 기질의 processing에 어떠한 영향을 줄 수 있는가를 예측하는 것도 예후판단에 무척 중요한 일이다.

이 질환들과 연관하여 치료약 개발에 대해 언급하고자 한다.

Lysosomal storage disease의 치료약 개발 현황

M6P receptor와 연관하여 이 수용체는 때에 따라서 exocytosis와 연관될 수 있으며 인공적으로 합성된 lysosomal hydrolase들이 적당한 signal patch와 M6P 표식을 가지고 있으며 lysosome내로의 이동이 가능한 점을 시사한 바 있는데, 이 원리에 따라 약이 개발되어, 현재 5종의 lysosomal storage disease에서 치료약으로 개발되어 이미 2종이 시판되고 있고 나머

지 3종도 임상실험이 완료단계에 있다. 이 약을 투여가 향후 골수이식이나 유전자 치료요법이 실용화되기까지는 이 질환의 주 치료법으로 자리잡을 것임에 틀림이 없다고 하겠다. 물론 이 치료법에 의해 증상이 좋아지는 것이지 완치는 아니지만 현재로는 가장 좋은 치료법임에는 틀림이 없다.

Lysosomal enzyme의 targeting과 연관되는 질환

Mucopolipidosis type II, III는 GLcNac phosphotransferase의 결핍에 의해 모든 lysosomal hydrolase들이 N-linked oligosaccharide는 lysosome targeting이 안되는 병이다. 따라서 이 환자에게 혈중에는 오히려 모든 lysosomal hydrolase들이 10배 이상 증가되었고 기질을 분해하는 활성도 있는데 lysosome으로 못 들어가 병이 생긴다. 증상은 mucopolipidosis type II는 매우 심해 모든 뮤코다당체 침착증을 합쳐 놓은 듯하고 type III는 효소 활성이 일부 있어서 관절의 운동이 매우 부자유스럽다. 본 질환도 국내에 적지 않은 듯하다. 이 환자의 치료를 위해서는 모든 lysosomal hydrolase들을 투여할 필요가 있어서 아직 약이 없다.

결 론

이상과 같이 lysosome에 관한 기본적인 세포생물학적 사실과 lysosomal hydrolase의 결핍이나 trafficking의 기작과 연관된 질환을 살펴보았다. 본고에서는 다루지 못했지만 lysosomal hydrolase의 결핍이나 trafficking의 기작과 연관된 질환의 newborn screening test가 곧 실용화될 듯하여 향후는 lysosomal storage disease 환자들이 증상이 나타나는 시기인 2세 전에 효소치료가 가능하게 될 것이고 어쩌면 증상의 발현이 전혀 없이 평생을 살 수 있는 환자의 소인만 있는 사람도 머지않아 실현가능할 것으로 보인다. 과학적인 지식은 이제 의학의 여러 분야에서 실용적인 적용을 갖게 되었지만 유전성 대사질환의 치료에 먼저 적용되고 있다. 이 분야의 비약적인 발전이 기대된다.