

간극결합채널의 개폐기전

- 총 설 -

오 승 훈*

단국대학교 의과대학 생리학교실

Received September 15, 2004 / Accepted October 3, 2004

Mechanism for the Gating of Gap Junction Channel. Seunghoon Oh*. *Department of Physiology, College of Medicine, Dankook University, Cheonan 330-714, Korea* – Gap junction is a membrane structure facilitating the direct transmission of several ions and small molecules between two cells. It is also called an 'intercellular channel' to distinguish it from other well-known cellular channels (e.g. sodium and potassium channels). Gap junction channels are not passive conduits, rather the ion channels modulated by several stimuli including pH, calcium ion, voltage, and a chemical modification (mainly known as phosphorylation). Among them, the effects of voltage on the gating of gap junction channels have been well studied. Gap junction channels are more sensitive to the transjunctional potential (V_j) between two cells rather than the membrane potential (V_m) between inside and outside the cell. In this review, I will summarize the general properties of gap junction channel and discuss the gating mechanism for the gap junction channels.

Key words – connexin, gap junction, intercellular channel, gating polarity, voltage-dependent gating

생명체가 유지되기 위해서는 끊임없는 세포의 분열과 분화와 같은 생명현상이 이루어져야 하며 이를 위해서는 세포와 세포간의 상호작용(cell-to-cell interaction)을 통한 신호전달이 필수적이다. 두 세포사이의 신호전달은 여러 경로를 통하여 이루어지며 이들 가운데서도 간극결합(gap junction)은 가장 빠른 속도를 제공하는 신호전달 체계이다. 이러한 간극결합은 이웃하는 두 세포사이에 형성된 특이한 막 구조물이며 이를 통해서 두 세포는 세포 내 여러 가지 물질(세포 내 이온들, 이차신호전달물질, 1 kDa 미만의 대사산물 등)을 직접 교환한다. 이런 이유로 간극결합을 세포간 채널(intercellular channel)이라고도 부른다.

간극결합의 존재는 이미 오래 전부터 전기생리학적 방법으로 확인된 바 있으며[15], 화학적 시냅스(chemical synapse)와 구별하여 간극결합을 전기적 시냅스(electrical synapse)라고도 부른다[2]. 간극결합을 구성하는 요소들 중의 하나인 connexin을 coding하는 유전자가 1986년 Paul[40]에 의해 밝혀진 이후 현재까지 connexin 유전자는 약 20여 종류 이상이 밝혀졌으며 이들 유전자는 생체의 거의 모든 부위에서 발현한다. 말초 신경계의 대표적인 유전병의 하나인 CMTX (X-linked Charcot-Marie-Tooth Disease)가 connexin 32 (Cx32) 유전자의 돌연변이에 의한다는 연구논문[3]이 발표된 이후 인간의 유전적 질병과 관련된 많은 연구결과가 보고되고 있으며, 특히, 신경계에서 발현하는 connexin 유전자가 밝혀지면서 신경계에서의 간극결합의 기능연구에 많은 관심이 모아지고 있다.

일반적으로 알고 있는 세포막의 이온채널(예를 들어, Na^+ 이온채널과 K^+ 이온채널)의 연구처럼 전기생리학적 방법을 이용하여 간극결합의 많은 생물리학적 특성이 연구되어져왔다. 간극결합이 갖고 있는 이러한 생물리학적 특성 때문에 간극결합을 간극결합채널(gap junction channel)이라고도 부른다. 간극결합채널은 세포막의 이온채널보다는 상대적으로 큰 채널구경을 갖고 있지만, 두 세포사이에 형성된 간극결합채널의 종류에 따라서 단위전도(unitary conductance), 이온선택성, 분자투과성, 그리고 전압-의존적 개폐(voltage-dependent gating) 등을 달리한다.

본 론

간극결합채널의 기본구조와 이의 형성

간극결합채널을 구성하고 있는 단백질 단위체는 connexin (Cx)이며 현재까지 약 20여가지 이상의 connexin 유전자가 밝혀졌다[49]. 각 connexin은 각기 유전자의 분석으로 예상되는 분자량을 kDa으로 표시하는 방법으로 명명한다[5,28]. 예를 들어, 분자량이 32 kDa인 connexin은 connexin 32 또는 줄여서 Cx32로 표기한다. 여섯 개의 connexin 단위체가 한 개의 connexon (또는 hemichannel)을 형성하며, 두 개의 connexon (각 각의 세포에서 한 개씩)이 모여 하나의 완성된 간극결합채널을 만든다. Connexin 단위체는 세포막을 관통하는 4개의 세포막부위(transmembrane segments, TM1, TM2, TM3, and TM4), 2개의 세포외부위(extracellular loops, E1 and E2), 한 개의 세포내부위(cytoplasmic loop, CL), 그리고 세포내 아미노말단과 카르복실말단(amino and carboxyl termini, NT and CT)으로 이루어져 있다(Fig. 1).

*Corresponding author

Tel : +82-41-550-3859, Fax : +82-41-550-3905

E-mail : seung@dku.edu

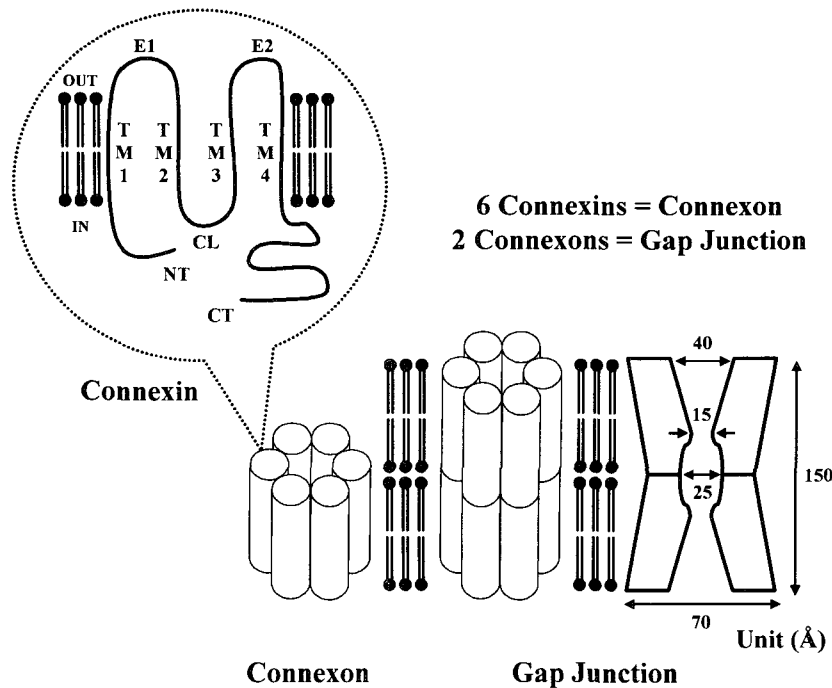


Fig. 1. Schematic diagram of gap junction channel. Connexin subunit is composed of 4 transmembrane domains (TM1, TM2, TM3, and TM4), 2 extracellular loops (E1 and E2), a cytoplasmic loop (CL), and amino and carboxyl termini (NT and CT, respectively). A connexon is comprised of 6 connexin subunits. Two connexons in series forms a complete gap junction channel. The physical dimensions of a representative gap junction channel formed by Cx43 subunits are also shown on the right side based on the observation of Unger et al.[53].

최근 동결전자현미경을 이용하여 Cx43으로 이루어진 간극결합채널의 구조를 고해상도에서 밝힘으로써 현재까지 알려지고 예상되던 구조를 더욱 상세하게 확증할 수 있게 되었다[53]. 이들의 보고에 의하면, 간극결합채널의 두께는 약 150 Å이며, 세포 안쪽에서부터 바깥쪽으로 채널의 외경은 70 Å에서 50 Å으로, 그리고 채널의 내경 또한 40 Å에서 15 Å으로 각 각 좁아진다. 그러나 세포바깥부위에서의 내경은 25 Å으로 다시 넓어지는 구조를 띠고 있다(Fig. 1). 또한 connexin 단위체가 갖고 있는 4 개의 세포막부위 가운데 2 개의 세포막부위가 기여하여 총 24 개(2×6 connexin subunits×2 connexons)의 세포막부위가 간극결합채널의 안쪽 면을 구성(pore lining)하는 것으로 밝혀졌다. 아직까지 4 개의 세포막부위 가운데 어느 부위가 관여하는 가는 연구해야 할 과제이다. 일반적인 세포막 채널, 예를 들어 K⁺ 이온채널은 K⁺ 이온만을 선택적 통과시키고 K⁺ 이온의 탈수과정을 위한 특별한 구조를 갖고 있는데 비해서 상대적으로 큰 내경을 갖는 간극결합채널에서는 이러한 구조가 불필요한 것으로 추정된다.

간극결합채널을 구성하는 connexin 단위체가 여러 종류가 있으며 주어진 특정 세포에서 한 종류 이상의 connexin 유전자가 발현하기 때문에 이론적으로는 여러 종류의 간극결합채널이 형성될 수 있다. 그 가운데 가장 일반적이고 널리 통용되는 간극결합채널의 형성은 다음과 같다. 동일한 종류의

connexin 단위체로 형성된 connexon을 ‘동종’(homomeric)이라고 칭하고, 종류가 다른 단위체로 형성된 경우를 ‘이종’(heteromeric)이라고 부른다. 또한 같은 종류의 connexon이 모여 형성된 간극결합채널을 ‘동형’(homotypic), 종류가 다른 connexon으로 이루어진 간극결합채널을 ‘이형’(heterotypic)이라고 부른다(Fig. 2). 예를 들어, connexin 26 단위체로만 이루어진 간극결합채널 즉, 12개의 단위체가 한 종류로만 되어 있는 경우는 ‘동종’의 ‘동형’ 간극결합채널(homomeric-homotypic gap junction channel)이 된다. 이런 경우는 편의상 connexin 26 채널(Cx26 channel)이라고 줄여서 부른다. Connexin 32 단위체만으로 이루어진 ‘동종’의 connexon과 connexin 43 단위체만으로 이루어진 ‘동종’의 connexon이 만나서 형성된 ‘동종’의 ‘이형’ 간극결합채널은 줄여서 Cx32/Cx43 채널이라고 부른다. 여러 종류의 connexin 유전자를 세포주 (cell lines)나 *Xenopus* oocytes에서 발현시켜 전기생리학적 방법으로 동형과 이형 간극결합채널의 형성유무를 확인하는 많은 연구가 이루어졌다[57]. 대부분의 경우에는 동형 간극결합채널을 쉽게 형성할 수 있으나 이형 간극결합채널은 connexin 단위체에 따라서 형성유무를 달리하므로 이는 설명할 수 없는 기전에 의해 조절되고 있으리라 예상하고 있다. 특히 흥미로운 점은, Cx38 connexon은 Cx43 connexon과 이형 간극결합채널 (Cx43/Cx38 channel)을 잘 형성하지만 동형 간극결합채널 (Cx38 채널)은 세포배양조건에

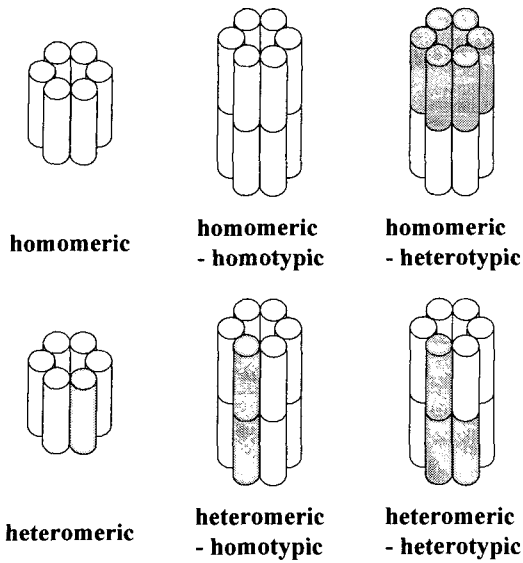


Fig. 2. Combinations of possible gap junction channels. Connexons can be composed of either the same connexin subunits (homomeric) or different connexin subunits (heteromeric). Gap junction channels formed by identical connexons are called 'homotypic' channels, whereas intercellular channels formed by two different connexons are called 'heterotypic' channels.

따라서 상대적으로 잘 형성하지 못한다는 사실이다.

'동종'의 connexon이 '동형' 또는 '이형' 간극결합채널을 형성하는 경우에 비해서 더욱 복잡한 경우가 바로 '이종'의 connexon으로 형성된 간극결합채널이다. 이러한 여러 가지 종류의 간극결합채널이 형성될 가능성은 이론적으로 뿐만 아니라 실제로도 여러 연구 보고에 의해서 알려지고 있다. 쥐와 기니피그의 간세포(hepatocytes)들로 형성된 간극결합채널의 집합체(plaque, a cluster of gap junction channels)에서 Cx26과 Cx32이 섞여있는 모습이 이종-표지 면역전자현미경으로 관찰된 바 있으며[29], Cx26과 Cx32 유전자로 과발현 시킨 세포로부터 정제한 connexon이 Cx26-항체와 Cx32-항체에 모두 반응하는 점으로 미루어 connexon이 두 connexin 단위체를 모두 포함한다는 점을 암시하고 있다[50]. 또한 양의 렌즈에서 Cx46-항체로 면역침전 시킨 connexon은 Cx50 단위체를 포함하고 있으며 반대로 Cx50-항체로 얻은 connexon 역시 Cx46 단위체를 포함한다는 결과들은 connexon이 '이종'의 connexin 단위체로 이루어졌음을 의미한다[25]. 두 개의 connexin 유전자(Cx37 과 Cx43)를 동시에 발현하는 N2A 세포로부터 전기생리학적 방법으로 측정된 단일이온채널기록(single channel recording, 여기서는 한 분자의 간극결합채널기록)을 비교한 연구결과는 '이종'의 connexon이 존재할 수 있다는 가정을 더욱 뒷받침하고 있다[6]. 관찰된 여러 형태의 단일이온채널의 특성 가운데는 Cx37이나 Cx43만으로 형성된 동종의 동형 간극결합채널(Cx37 or Cx43 channels)과 동종의 이형 간극결합채널(Cx37/Cx43

channels)의 특성과는 다른 새로운 형태의 특성이 기록되는 점은 '이종'의 connexon에 의해서 생성된 간극결합채널임을 알려주고 있다.

일반적으로 막단백질의 경우는 rough endoplasmic reticulum(rER)에서 단위체가 모여서 완성된 형태를 갖춘다. 만약 모든 connexin 단위체가 모여서 connexon을 형성하는 부위가 rER이라고 한다면 아마도 현재까지 관찰된 것 보다 더욱 많은 '이종'의 connexon이 형성되며 궁극적으로 connexin 단위체 종류보다 훨씬 더 많은 종류의 간극결합채널이 형성될 것이다. 그러나 connexon이 형성되는 부위가 connexin 단위체의 종류에 따라서 다르다면 이론적으로 예상되는 종류보다는 실제로 훨씬 적은 종류가 생겨날 것이다. 이러한 가설을 뒷받침하는 연구결과는 다음과 같다. Cx43 단위체로 이루어진 connexon은 rER이 아닌 trans-Golgi network에서 형성되며[34], 반면 Cx32 단위체로 이루어진 connexon은 일반적인 막단백질처럼 rER에서 형성된다고 보고하고 있다[27]. 따라서 Cx32와 Cx43으로 이루어진 '이종' connexon은 connexon의 형성부위가 다르므로 실제 존재하지 않을 것으로 예상된다. connexon의 형성부위가 이를 구성하고 있는 connexin 단위체에 따라서 어떻게 다르며, 세포의 종류에 따라서 특이성이 있는지, 그리고 어떤 기전으로 조절되는지는 중요한 연구대상이 된다.

간극결합채널의 여러 가지 특성

간극결합채널의 특성은 여러 가지 요인, 즉 pH, calcium 이온, 전압, 그리고 인산화에 의해서 조절된다. 또한 여러 가지 성장인자와 호르몬이 간극결합채널의 특성을 변화시키는 것으로 보고하고 있다[22,23,31,32,39]. 이러한 조절은 간극결합채널의 형태가 빠르게 변화하거나(예를 들어, 채널의 개폐) 또는 connexin 유전자의 발현이 변하여 형성되는 간극결합채널의 수가 변화하는 양상으로 나타난다. pH에 의해서 조절되는 현상은 아직 논쟁의 여지가 있기는 하다. 세포내의 pH가 낮을 때는 Ca²⁺-calmodulin 이 관여하는 기전에 의해서 Cx38 채널의 기능이 억제되기도 하지만[42], Cx46채널의 경우에는 직접 H⁺이온에 의해서 채널의 개폐가 조절된다고 보고하고 있다[52]. 인산화에 의한 조절은 Cx43 채널을 대상으로 많은 연구가 진행되고 있다[21]. EGF는 Cx43 간극결합채널을 통한 물질교환을 억제할 뿐만 아니라 Cx43 단백질의 인산화를 증가시킨다고 알려져 있다[30]. Mitogen-activated protein (MAP) kinase는 Cx43 단위체의 세 곳에 있는 아미노산(S255, S279, S282)을 인산화시킬 수 있으며 EGF에 의해 활성화된 MAP kinase 작용만으로도 Cx43 채널을 통한 전기전도가 억제된다고 밝혀졌다[59,60]. 또한 Cx43 간극결합채널의 단위전도(일정한 전압조건에서 한 개의 간극결합채널을 통하여 이동할 수 있는 이온의 양)는 채널을 구성하고 있는 Cx43 단위체의 인산화 정도에 따라서 달라진다고 보고하고 있다[33].

간극결합채널을 통하여 두 세포사이에 직접적으로 전기적 신호가 전달되는 특성은 앞서 설명한대로 *in vivo*에서 전기적 시냅스가 밝혀지면서 오래 전부터 연구가 되어왔다. 현재는 간극결합채널의 전기생리학적 특성을 다양한 시스템을 이용하여 *in vitro*에서 많은 연구가 진행되고 있다. Connexin 유전자를 이용하여 세포에서 발현시킨 최초의 보고는 Dahl 등[11]이 Cx32 유전자의 상보적인 cRNA를 합성하여 *Xenopus oocyte*에 주입한 후 두 개의 oocytes를 인위적으로 접촉시켜 두 oocytes 사이에 형성된 Cx32 채널을 통한 전기적 신호의 전달을 확인 한 것이다. 이후 *Xenopus oocyte*는 물론 여러 종류의 세포를 이용하여 connexin 유전자를 발현시키는 연구가 진행되어 간극결합채널의 많은 전기생리학적 특성이 밝혀지고 있다. 간극결합채널의 특성을 연구하는 또 다른 방법은 한 쪽 세포에 형광물질을 주입하고 간극결합채널을 통하여 이웃하는 세포로 전달되는가를 측정하는 것이다. 이 방법은 전기적 측정장비가 필수적인 전기생리학적 방법에 비해 상대적으로 손쉽게 이용할 수 있는 장점을 가지고 있다. 특히 간극결합채널을 연구하는 세포생물학자들에 의해서 널리 애용되고 있다.

간극결합채널은 일반적인 세포막채널(예를 들어, K^+ 이온 채널)보다는 상대적으로 큰 채널구경을 갖고 있지만 이를 구성하고 있는 connexin 단위체에 따라서 통과할 수 있는 분자들이 제한되어 있다. 곤충(무척추동물)의 간극결합채널은 분자량이 1.8 kDa인 물질들을 통과시킬 수 있는 반면[48], 척추동물의 간극결합채널은 이보다 훨씬 적은 분자량(약 0.9 kDa)을 가진 물질만을 통과시킬 수 있다[14]. 이를 근간으로 해서 일반적으로 간극결합채널을 통과할 수 있는 물질의 분자량의 한계가 1 kDa 미만이라고 받아들이고 있다. 사실 무척추동물의 간극결합채널은 척추동물의 간극결합채널과 매우 유사하지만 서로 다른 유전자에 의해서 만들어진다. 척추동물의 connexin 유전자가 있듯이 무척추동물의 간극결합채널은 'innexin'이라는 유전자로부터 만들어진다[41]. 통과하는 물질의 크기뿐만 아니라 물질이 갖고 있는 전하에 의해서도 간극결합채널의 투과성이나 선택성과 같은 특성이 변하게 된다. 크기와 전하를 달리하는 여러 종류의 물질을 이용하여 조사한 연구보고에 의하면 물질의 크기와 함께 전하에 따라서 간극결합채널을 통과할 수 있는지 여부가 결정된다고 알려져 있다[4,7]. 대부분의 간극결합채널은 양이온 선택성을 갖고 있다. 즉, 음성전하를 띠는 음이온보다는 양성전하를 띠는 양이온이 이들 간극결합채널을 더 잘 통과한다. 그 가운데서도 Cx37 채널은 가장 강력한 양이온 선택성을 갖고 있다[58]. 전기생리학적 방법뿐만 아니라 Lucifer yellow (음성전하를 띠는 형광물질)가 Cx37 간극결합채널을 통과하지 못한다는 점도 양이온 선택성임을 증명하고 있다. 반면, Cx32 간극결합채널은 약한 음이온 선택성을 갖고 있다[20,36,55]. Lucifer yellow는 Cx32 간극결합채널을 잘 통과하는 반면, DAPI (양성전하를 띠는 형광물질)는 상대적으로 잘 통과하

지 못한다. 이온이 갖고있는 전하에 따라서 간극결합채널이 선택성을 달리하지만 흥미로운 점은 가장 많이 알려진 Cx43 간극결합채널은 이온에 대한 비 선택적인(non-selective) 특성을 갖고 있다는 점이다[18].

전압-의존적 개폐

전압-의존적 이온채널(voltage-dependent ion channels)은 세포 안쪽과 바깥쪽에 형성된 전위차, 즉 막전압(membrane potential, V_m)에 의해서 특성이 좌우된다. 예를 들어, 신경세포에 있는 전압-의존적 Na^+ 이온채널은 안정상태($V_m = -65$ mV)에서는 채널이 닫혀 있지만, 막전압이 탈분극(depolarization, $V_m = -40$ mV)이 되면 채널이 열리게 된다. 간극결합채널도 막전압에 의해서 영향을 받기도 하지만 이보다는 두 세포사이에 형성된 전위차, 즉 세포간 전압(trans-junctional voltage, V_j)에 더욱 민감하게 반응한다. 이러한 간극결합채널의 전압 의존도는 전기적 시냅스에서 오랜 전에 보고된 바 있다[1,15]. 두 세포사이에 전위차가 없을 때에는, 즉 세포간 전압 $V_j = 0$ 일 때는 간극결합채널을 통과하는 이온들 즉, 전류가 최대값에 도달하며 V_j 값이 증가함에 따라서 전류는 줄어들게 된다. 달리 표현하면, 이온의 전도(conductance, G)는 V_j 값에 따라 좌우된다(Fig. 3). 특히 이러한 전압 의존도는 간극결합채널을 구성하고 있는 connexin 단위체에 따라서 매우 다르게 나타난다. 즉, Cx26 채널은 V_j 값에 따라 G 값이 매우 완만하게 줄어드는 반면, Cx45 채널의 G 값은 매우 급격하게 줄어든다. 전압에 따른 전도의 변화는 $V_j = 0$ 일 때를 중심으로 대칭으로 나타나는 것이 일반적이다. 이러한 대칭성의 전도-전압곡선(symmetric $G-V$ plot)은 간극결합채널을 구성하는 두 개의 connexon이 서로 머리를 맞대고 직렬로 연결되어 있으며 개개의 connexon이 처한 전압환경에 따라서 독립적으로 개폐가 좌우되기 때문이다[19, 45,46,56].

간극결합채널의 개폐는 앞서 언급한대로 주로 세포간 전압에 의해 좌우된다. 또한 connexin 단위체의 종류에 따라서 두 가지의 개폐양상이 나타난다. 한 그룹은 상대적인 전압이 양성(positivity 혹은 depolarization)일 때 간극결합채널이 닫히는 반면, 다른 한 그룹은 음성(negativity 혹은 hyperpolarization)일 때 채널이 닫힌다[18]. 전자의 경우는 Cx26, Cx37, Cx38, Cx40, Cx46, 그리고 Cx50 으로 구성된 간극결합채널이 이에 해당하고, Cx30, Cx32, Cx43, 그리고 Cx45로 이루어진 간극결합채널이 후자의 경우에 해당한다. 이처럼 간극결합채널을 닫히게 하는 전압환경을 개폐극성(gating polarity)이라고 부른다. Cx26 단위체로 이루어진 connexon과 Cx32로 이루어진 connexon이 서로 연결되어 형성된 이형 간극결합채널(Cx26/Cx32 channel)은 이러한 개폐극성을 잘 설명하는 매우 독특한 전도-전압곡선을 나타낸다[46,56]. 즉, Cx26 connexon이 음성이고 Cx32 connexon이 상대적으로 양성인 전압환경에서는 이온의 전도가 줄어들지 않지만,

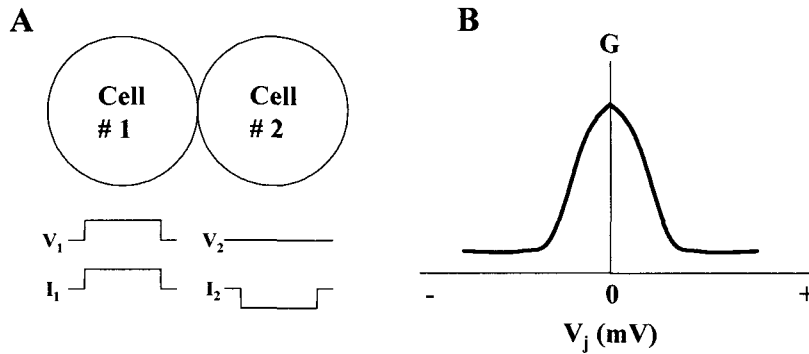


Fig. 3. Voltage-clamp configuration and a representative conductance-voltage relation. (A) Gap junctions are formed between two cells (cell #1 and #2). Initially, both cells are held at 0 mV. When the relative either depolarizing or hyperpolarizing voltages (V_1) with respect to the voltage (V_2) at cell #2 are applied to the cell #1, the currents (I_1 and I_2) are measured at both cells. The currents obtained from the cell #2 are the ionic currents through the gap junction channels formed between the cell #1 and #2. A family of voltage is usually used to obtain a series of current traces. (B) The conductance-voltage plot is obtained from the current traces and transjunctional voltages (V_j). Most connexins forming homotypic gap junction channels display nearly symmetrical conductance-voltage relations centered at $V_j=0$. The symmetrical reductions of the conductance at both higher voltages are also observed.

반대의 전압환경에서는 간극결합채널의 개폐가 유도되어 이온의 전도가 줄어드는 비대칭적 전도-전압곡선을 나타낸다. 이는 간극결합채널을 이루는 두 개의 connexon이 각 기 정 반대의 개폐극성을 갖고 있기 때문이다. 특히 이형 간극결합채널을 발현하는 세포로부터 단일이온채널기록을 하면 개폐극성을 더욱 확실하게 알 수 있다[9,38]. Cx26과 Cx32로 이루어진 이형 간극결합채널(Cx26/Cx32 channel)의 경우를 예를 들면, Cx32 connexon 쪽이 음성전압일 때(상대적으로 Cx26 connexon 쪽은 양성전압환경) Cx26/Cx32 채널은 개폐현상이 일어나 열려있는 상태(open state)와 채널이 닫혀있는 상태(closed state)를 반복하지만, 반대의 조건에서는(Cx32쪽이 상대적으로 양성이거나 Cx26쪽이 상대적으로 음성전압 환경일 때) 채널은 항상 열려 있는 상태를 유지하고 있다(Fig. 4).

일반적인 세포막채널과 달리 간극결합채널의 연구는 두 세포가 필수적이며 따라서 전기적 측정장치와 미세조작도 각 세포마다 필요하다. 그러나 간극결합채널을 구성하는 각각의 connexon이 독립적으로 작용하며[19] 세포막채널처럼 기능을 나타내는 connexon이 밝혀지면서 간극결합채널의 개폐연구에 많은 진전을 가져왔다. Cx46 단위체가 6개 모여 이루어진 Cx46 connexon은 세포막채널처럼 단일 세포에서도 이온채널의 기능을 나타낸다[51]. 이러한 기능적인 connexon은 최근 다른 connexin 단위체로 이루어진 connexon에서도 보고되고 있다[12,13,24,35,54].

간극결합채널의 여러 부위를 분자유전학적으로 돌연변이체를 만들어 간극결합채널의 어느 부위가 즉, connexin 단위체의 특정부위가 간극결합채널의 개폐극성을 좌우하는지를 알아보는 많은 노력이 있어왔다. 여러 연구결과 가운데서 아미노말단에 존재하는 특정 아미노산의 잔기가 매우 중요한

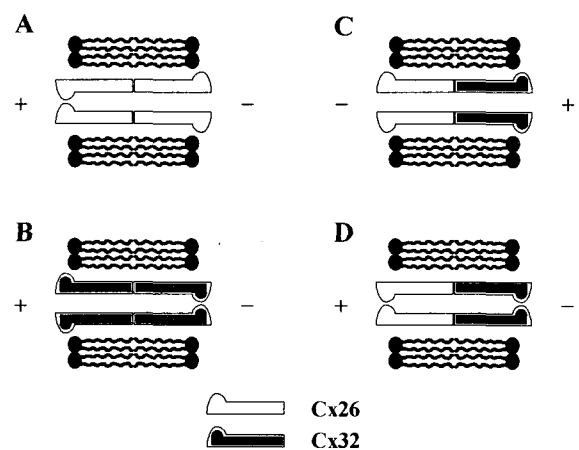


Fig. 4. Model showing the opposite gating polarities of gap junction channels. Homotypic gap junction channels formed by Cx26 and Cx32 connexin subunits (A and B, respectively) show the distinct gating polarities. While Cx26 gap junction channel is closed at positive potential (A), Cx32 channel is closed at negative potential (B). In heterotypic gap junction channels (C and D), both connexons can be either open or closed.

것으로 나타났다[45,46,56]. Cx26 단위체의 두 번째 아미노산인 aspartate (음성전하를 띠는)를 중성 또는 양성전하를 띠는 아미노산으로 치환하면 개폐극성이 양성에서 음성으로 변한다. 즉 양성전압환경에서 닫혀있던 Cx26 간극결합채널이 음성전압환경에서 닫히고 양성전압에서는 열리게 된다. 반대로 두 번째 아미노산이 중성(asparagine, N)인 Cx32 단위체를 음성전하를 띠는 아미노산(glutamate, E)으로 치환하면 개폐극성이 음성에서 양성으로 변한다(Fig. 5). 이러한 개폐극성의 변화는 간극결합채널 뿐만 아니라 이들을 구성하는

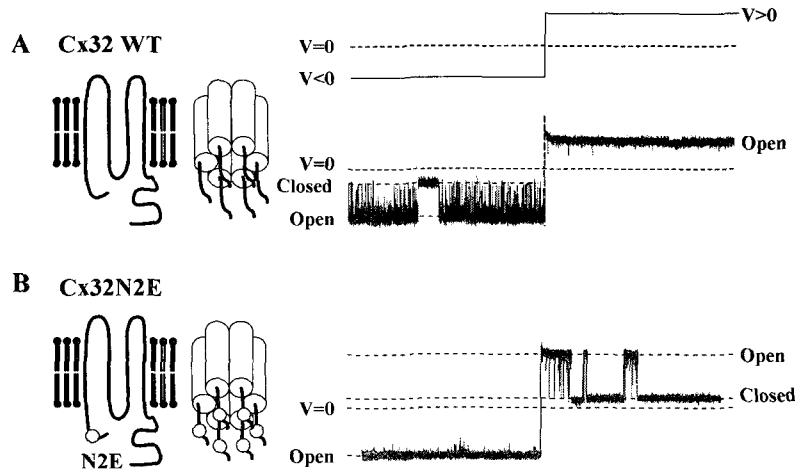


Fig. 5. Effect of negative charge on gating polarity. (A) Wild-type Cx32 channel is closed at the negative potential, while open at the positive potential. (B) Mutant channel which has a negatively charged amino acid residue (E, glutamate) shows the opposite gating polarity. The mutant channel is now closed by the positive potential.

connexon 에서도 관찰된 바 있다[35,37,38,43]. 또한 아미노 말단의 8번째 아미노산까지는 전압환경에 노출되어 전압을 감지하는 것으로 보고하고 있다. 따라서 간극결합채널을 구성하는 두 개의 connexon의 독립적인 특성이 완전한 간극결합채널의 특성을 좌우한다는 기존의 보고[19,45,46]는 매우 설득력이 있다.

결론

일반적인 전압-의존적 세포막채널처럼 간극결합채널도 전압에 따라서 특성이 좌우되는 전압-의존적인 이온채널이다. 간극결합채널은 구조상의 특수성 때문에 두 세포사이에 형성되며 따라서 두 세포사이의 상대적인 전위차 즉, 세포간 전압에 의해서 특성이 크게 좌우된다. 이러한 전압-의존적인 특성은 간극결합채널을 형성하는 두 개의 connexon이 갖고 있는 독립적인 특성에 달려있다. 또한 connexon의 특성은 이를 구성하고 있는 기본 단위체인 connexin의 종류에 따라서 달라진다.

세포막채널은 이를 구성하는 단백질의 일부분이 선택여과기를 구성하여 특정 이온만을 선택적으로 통과시킬 수 있지만(예를 들어, K⁺ 이온채널은 Na⁺ 이온보다는 K⁺ 이온만을 통과시킨다.), 간극결합채널은 이러한 선택여과기를 갖고 있지 않은 것으로 알려져 있다. 그러나 간극결합채널은 세포막채널보다 상대적으로 큰 채널 구경을 갖고 있음에도 불구하고 이온이나 물질에 대한 선택성을 나타낸다. 간극결합채널을 구성하고 있는 connexin의 종류에 따라서 양이온- 또는 음이온-선택적 특성을 나타낸다. 또한 척추동물의 간극결합채널의 경우에는 1 kDa미만의 물질만을 통과시킨다. 전압-의존적인 간극결합채널은 고유한 개폐극성을 또한 갖고 있다. 개폐극성은 간극결합채널의 내재적인 특성이며 이를 결

정하는 부위가 최소한 connexin 단위체의 아미노말단에 존재하는 것은 분명하다. 아울러 여러 가지 채널억제제가 이용되고 있지만 간극결합채널에만 작용하는 억제제가 아직 밝혀지지 않고 있다. 이런 점에서, 항말라리아 제재인 mefloquine 이 Cx36과 Cx50 간극결합채널에 선택적으로 작용한다는 최근 연구보고[10]는 간극결합채널연구에 매우 중요한 수단으로 이용될 것으로 보인다.

20여종 이상의 connexin 유전자가 존재하며 이들이 여러 형태(동중, 이중, 동형 및 이형)로 구성될 수 있기 때문에 간극결합채널이 갖고 있는 특성을 조사하고 일반화시키기는 매우 어려운 것 또한 사실이다. Connexin 유전자에 대한 knock-out 생쥐[17,44,47]로부터 얻은 결과는 connexin 유전자마다 고유한 특성과 기능을 갖고 있음을 암시하는 좋은 예이다. 또한 connexin 유전자의 돌연변이와 관련된 인간의 유전적 질병에 대한 연구[3,8,16,26]는 간극결합채널 연구에 새로운 장을 열게 되었다. 이와 더불어, 신경계에서만 발현하는 connexin 유전자가 밝혀지고, 전자현미경이나 전기생리학적 방법으로 간극결합채널의 존재가 신경계에서 밝혀지면서 화학적 시냅스와 더불어 전기적 시냅스로서의 간극결합채널 역할의 중요성이 새로이 부각되고 있다.

요약

간극결합(gap junction)은 이웃하는 두 세포사이에 형성된 막 구조물로 이를 통하여 각종 이온들과 여러 가지 분자들이 통과한다. 일반적으로 알려진 세포의 이온채널(예를 들어, Na⁺ 이온채널과 K⁺ 이온채널)과 구별하여 두 세포사이에 형성된 간극결합을 세포간 채널(intercellular channel)이라고도 부른다. 간극결합채널(gap junction channel)은 단순히 수동적으로 열려있는 통로가 아니라 여러 가지 자극 즉 pH, 칼슘이온

(calcium ion), 전압(voltage), 그리고 화학적인 변형(주로 인산화, phosphorylation)에 의해서 개폐(gating, opening and closing)가 조절되는 이온채널이다. 그 가운데서도 전압에 의한 간극결합채널 개폐 변화가 가장 많이 연구되었다. 세포 안과 바깥에 형성된 전압차이(membrane potential, V_m) 보다는 주로 두 세포 사이에 형성된 전압차이(transjunctional voltage, V_j)에 의해서 간극결합채널은 민감하게 반응한다. 본 총설에서는 간극결합채널의 일반적인 특성을 정리해보고 전압-의존적인(voltage-dependent) 채널개폐에 관한 기전을 논의하고자 한다.

참 고 문 헌

- Auerbach, A. A. and M. V. L. Bennett. 1969. A rectifying electrotonic synapse in the central nervous system of a vertebrate. *J. Gen. Physiol.* **53**, 211-237.
- Bennett, M. V. L. 2000. Seeing is relieving: electrical synapses between visualized neurons. *Nat. Neurosci.* **3**, 7-9.
- Bergoffen, J., S. S. Scherer, S. Wang, M. O. Scott, L. J. Bone, D. L. Paul, K. Chen, M. W. Lensch, P. E. Chance and K. H. Fischbeck. 1993. Connexin mutations in X-linked Charcot-Marie-Tooth disease. *Science* **262**, 2039-2042.
- Bevans, C. G., M. Kordel, S. K. Rhee and A. L. Harris. 1998. Isoform composition of connexin channels determines selectivity among second messengers and uncharged molecules. *J. Biol. Chem.* **273**, 2808-2816.
- Beyer, E. C., D. L. Paul and D. A. Goodenough. 1987. Connexin43: a protein from rat heart homologous to a gap junction protein from liver. *J. Cell Biol.* **105**, 2621-2629.
- Brink, P. R., K. Cronin, K. Banach, E. Peterson, E. M. Westphale, K. H. Seul, S. V. Ramanan and E. C. Beyer. 1997. Evidence for heteromeric gap junction channels formed from rat connexin43 and human connexin37. *Am. J. Physiol.* **273(C1)**, 386-396.
- Brink, P. R. and M. M. Dewey. 1980. Evidence for fixed charge in the nexus. *Nature* **285**, 101-102.
- Britz-Cunningham, S. H., M. M. Shah, C. W. Zuppan and W. H. Fletcher. 1995. Mutations of the connexin43 gap-junction gene in patients with heart malformation and defects in laterality. *New Engl. J. Med.* **332**, 1323-1329.
- Bukauskas, F. F., C. Elfgang, K. Willecke and R. Weingart. 1995. Heterotypic gap junction channels (connexin26-connexin32) violate the paradigm of unitary conductance. *Pflugers Arch.* **429**, 870-872.
- Cruikshank, S. J., M. Hopperstad, M. Younger, B. W. Connors, D. C. Spray and M. Srinivas. 2004. Potent block of Cx36 and cx50 gap junction channels by mefloquine. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **101**, 12364-12369.
- Dahl, G., T. Miller, D. Paul, R. Voellmy and R. Werner. 1987. Expression of functional cell-cell channels from cloned rat liver gap junction complementary DNA. *Science* **236**, 1290-1293.
- Ebihara, L., X. Xu, C. Oberti, E. C. Beyer and V. M. Berthoud. 1999. Co-expression of lens fiber connexins modifies hemi-gap-junctional channel behavior. *Biophys. J.* **76**, 198-206.
- Eskandari, S. and G. A. Zampighi. 2000. Properties of connexin50 hemichannels expressed in *Xenopus laevis* oocytes, pp. 369-388, In Peracchia, C. (ed), *Gap Junctions: Molecular Basis of Cell Communication in Health and Disease*, Academic Press, San Diego.
- Flagg-Newton, J., I. Simpson and W. R. Loewenstein. 1979. Permeability of the cell-to-cell membrane channels in mammalian cell junction. *Science* **205**, 404-407.
- Furshpan E. J. and D. D. Potter. 1959. Transmission at the giant motor synapses of the crayfish. *J. Physiol.* **145**, 289-325.
- Gong, X. H., E. Li, G. Klier, Q. L. Huang, Y. Wu, H. Lei, N. M. Kumar, J. Horwitz and N. B. Gilula. 1997. Disruption of alpha (3) connexin gene leads to proteolysis and cataractogenesis in mice. *Cell* **91**, 833-843.
- Guldenagel, M., J. Ammermuller, A. Feigenspan, B. Teubner, J. Degen, G. Sohl, K. Willecke and R. Weiler. 2001. Visual transmission deficits in mice with targeted disruption of the gap junction gene connexin36. *J. Neurosci.* **21**, 6036-6044.
- Harris, A. L. 2001. Emerging issues of connexin channels: biophysics fills the gap. *Quart. Rev. Biophys.* **34**, 325-472.
- Harris, A. L., D. C. Spray and M. V. L. Bennett. 1981. Kinetic properties of a voltage-dependent junctional conductance. *J. Gen. Physiol.* **77**, 95-117.
- Harris, A. L., A. Walter, D. Paul, D. A. Goodenough and J. Zimmerberg. 1992. Ion channels in single bilayers induced by rat connexin32. *Brain Res. Mol. Brain Res.* **15**, 269-280.
- Hertzberg, E. L., J. C. Saez, R. A. Corpina, C. Roy and J. A. Kessler. 2000. Use of antibodies in the analysis of connexin 43 turnover and phosphorylation. *Methods* **20**, 129-139.
- Hossain, M. Z., P. Ao and A. L. Boynton. 1998. Rapid disruption of gap junctional communication and phosphorylation of connexin43 by platelet-derived growth factor in T51B rat liver epithelial cells expressing platelet-derived growth factor receptor. *J. Cell Physiol.* **174**, 66-77.
- Hossain, M. Z., A. B. Jagdale, P. Ao, A. Kazlauskas and A. L. Boynton. 1999. Disruption of gap junctional communication by the platelet-derived growth factor is mediated via multiple signaling pathways. *J. Biol. Chem.* **274**, 10489-10496.
- Hu, X. G. and G. Dahl. 1999. Exchange of conductance and gating properties between gap junction hemichannels. *FEBS Lett.* **451**, 113-117.
- Jiang, J. X. and D. A. Goodenough. 1996. Heteromeric connexons in lens gap junction channels. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **93**, 1287-1291.
- Kelsell, D. P., J. Dunlop, H. P. Stevens, N. J. Lench, J. N. Liang, R. F. Bueller and I. M. Leigh. 1997. Connexin26 mutations in hereditary nonsyndromic sensorineural deafness. *Nature* **387**, 80-83.
- Kumar, N. M., D. S. Friend and N. B. Gilula. 1995. Syn-

- thesis and assembly of human beta 1 gap junctions in BHK cells by DNA transfection with the human beta 1 cDNA. *J. Cell Sci.* **108**, 3725-3734.
28. Kumar, N. M. and N. B. Gilula. 1996. The gap junction communication channel. *Cell* **84**, 381-388.
 29. Kuraoka, A., H. Iida, T. Hatae, Y. Shibata, M. Itoh and T. Kurita. 1993. Localization of gap junction proteins, connexins 32 and 26, in rat and guinea pig liver as revealed by quick-freeze, deep-etch immunoelectron microscopy. *J. Histochem. Cytochem.* **41**, 971-980.
 30. Lau, A. F., M. Y. Kanemitsu, W. E. Kurata, S. Danesh and A. L. Boynton. 1992. Epidermal growth factor disrupts gap-junctional communication and induces phosphorylation of connexin43 on serine. *Mol. Biol. Cell* **3**, 865-874.
 31. Massas, R., R. Korenstein and D. Benayahu. 1998. Estrogen modulation of osteoblastic cell-to-cell communication. *J. Cell Biochem.* **69**, 282-290.
 32. Moorby, C. D. and E. Gherardi. 1999. Expression of a Cx43 deletion mutant in 3T3 A31 fibroblasts prevents PDGF-induced inhibition of cell communication and suppresses cell growth. *Exp. Cell Res.* **249**, 367-376.
 33. Moreno, A. P., M. B. Rook, G. I. Fishman and D. C. Spray. 1994. Gap junction channels: distinct voltage-sensitive and -insensitive conductance states. *Biophys. J.* **67**, 113-119.
 34. Musil, L. S. and D. A. Goodenough. 1993. Multisubunit assembly of an integral plasma membrane channel protein, gap junction connexin43, occurs after exit from the ER. *Cell* **74**, 1065-1077.
 35. Oh, S., C. K. Abrams, V. K. Verselis and T. A. Bargiello. 2000. Stoichiometry of transjunctional voltage-gating polarity reversal by a negative charge substitution in the amino terminus of a connexin32 chimera. *J. Gen. Physiol.* **116**, 13-31.
 36. Oh, S., Y. Ri, M. V. Bennett, E. B. Trexler, V. K. Verselis and T. A. Bargiello. 1997. Changes in permeability caused by connexin 32 mutations underlie X-linked Charcot-Marie-Tooth disease. *Neuron* **19**, 927-938.
 37. Oh, S., S. Rivkin, Q. Tang, V. K. Verselis and T. A. Bargiello. 2004. Determinants of gating polarity of a connexin 32 hemichannel. *Biophys. J.* **87**, 912-928.
 38. Oh, S., J. B. Rubin, M. V. Bennett, V. K. Verselis and T. A. Bargiello. 1999. Molecular determinants of electrical rectification of single channel conductance in gap junctions formed by connexins 26 and 32. *J. Gen. Physiol.* **114**, 339-364.
 39. Patino, R. and H. Kagawa. 1999. Regulation of gap junctions and oocyte maturational competence by gonadotropin and insulin-like growth factor-I in ovarian follicles of red seabream. *Gen. Comp. Endocrinol.* **115**, 454-462.
 40. Paul, D. L. 1986. Molecular cloning of cDNA for rat liver gap junction protein. *J. Cell Biol.* **103**, 123-134.
 41. Phelan, P., L. A. Stebbings, R. A. Baines, J. P. Bacon, J. A. Davies and C. Ford. 1998. Drosophila Shaking-B protein forms gap junctions in paired *Xenopus* oocytes. *Nature* **391**, 181-184.
 42. Peracchia, C., X. Wang, L. Li and L. L. Peracchia. 1996. Inhibition of calmodulin expression prevents low-pH-induced gap junction uncoupling in *Xenopus* oocytes. *Pflugers Arch.* **431**, 379-387.
 43. Purnick, P. E. M., S. Oh, C. K. Abrams, V. K. Verselis and T. A. Bargiello. 2000. Reversal of the gating polarity of gap junctions by negative charge substitution in the N-terminus of connexin 32. *Biophys. J.* **79**, 2403-2415.
 44. Reaume, A., P. A. De Sousa, S. Kulkarni, B. L. Langille, D. Zhu, T. C. Davies, S. C. Juneja, G. M. Kidder and J. Rossant. 1995. Cardiac malformation in neonatal mice lacking connexin43. *Science* **267**, 1831-1834.
 45. Rubin, J. B., V. K. Verselis, M. V. Bennett and T. A. Bargiello. 1992. A domain substitution procedure and its use to analyze voltage dependence of homotypic gap junctions formed by connexins 26 and 32. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **89**, 3820-3824.
 46. Rubin, J. B., V. K. Verselis, M. V. Bennett and T. A. Bargiello. 1992. Molecular analysis of voltage dependence of heterotypic gap junctions formed by connexins 26 and 32. *Biophys. J.* **62**, 183-193.
 47. Simon, A. M., D. A. Goodenough, E. Li and D. L. Paul. 1997. Female infertility in mice lacking connexin 37. *Nature* **385**, 525-529.
 48. Simpson, I., B. Rose and W. R. Loewenstein. 1977. Size limit of molecules permeating the junctional membrane channels. *Science* **195**, 294-296.
 49. Sohl, G. and K. Willecke. 2004. Gap junctions and the connexin protein family. *Cardiovas. Res.* **62**, 228-232.
 50. Stauffer, K. A. 1995. The gap junction proteins beta 1-connexin (connexin-32) and beta 2-connexin (connexin-26) can form heteromeric hemichannels. *J. Biol. Chem.* **270**, 6768-6772.
 51. Trexler, E. B., M. V. Bennett, T. A. Bargiello and V. K. Verselis. 1996. Voltage gating and permeation in a gap junction hemichannel. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **93**, 5836-5841.
 52. Trexler, E. B., F. F. Bukauskas, M. V. Bennett, T. A. Bargiello and V. K. Verselis. 1999. Rapid and direct effects of pH on connexins revealed by the connexin46 hemichannel preparation. *J. Gen. Physiol.* **113**, 721-742.
 53. Unger, V. M., N. M. Kumar, N. B. Gilula and M. Yeager. 1999. Three-dimensional structure of a recombinant gap junction membrane channel. *Science* **283**, 1176-1180.
 54. Valiunas, V. and R. Weingart. 2000. Electrical properties of gap junction hemichannels identified in transfected HeLa cells. *Pflugers Arch.* **440**, 366-379.
 55. Veenstra, R. D. 1996. Size and selectivity of gap junction channels formed from different connexins. *J. Bioenerg. Biomembr.* **28**, 327-337.
 56. Verselis, V. K., C. S. Ginter and T. A. Bargiello. 1994. Opposite voltage gating polarities of two closely related connexins. *Nature* **368**, 348-351.
 57. Verselis, V. K. and R. D. Veenstra. 2000. Gap junction channels: permeability and voltage gating, pp. 129-192, In Hertzberg, E. L. (ed.), *Advanced Molecular and Cell Biology*, Vol. 30, JAI Press Inc., Stamford.
 58. Waltzman, M. N. 1996. Biophysical properties of rat con-

nexin37 stably expressed in N2A cell lines. *Ph.D. thesis*. Albert Einstein College of Medicine of Yeshiva University, New York.

59. Warn-Cramer, B. J., G. T. Cottrell, J. M. Burt and A. F. Lau. 1998. Regulation of connexin-43 gap junctional intercellular communication by mitogen-activated protein kinase. *J. Biol. Chem.* **273**, 9188-9196.
60. Warn-Cramer, B. J., P. D. Lampe, W. E. Kurata, M. Y. Kanemitsu, L. W. Loo, W. Eckhart and A. F. Lau. 1996. Characterization of the mitogen-activated protein kinase phosphorylation sites on the connexin-43 gap junction protein. *J. Biol. Chem.* **271**, 3779-3786.