



## 노화의 유도과 억제

# 발암유전자로 정상 세포 노화를 차단한다

글\_ 신득용 단국대 의대 교수 dyshin@dankook.ac.kr

**약** 30년 전 헤이플릭 박사는 시험관 세포 배양계에서 정상 섬유아(牙) 세포가 언제나 일정한 횟수의 세포분열 후에는 성장이 멈춘다는 연구 결과를 보고했다. 그 후 이러한 세포의 유한 증식능은 다른 종류의 세포 배양계에서도 계속 보고되었다. 세포는 증식할 수 있는 제한된 능력을 가지고 있다. 세포는 정해진 횟수의 세포분열 후 노화(senescence)라고 부르는 비가역적인 증식 정지기에 들어간다. 이러한 세포의 노화는 결국 생명체의 노화 진행에도 영향을 미치게 된다. 세포의 노화는 어떻게 진행되는 것일까? 세포

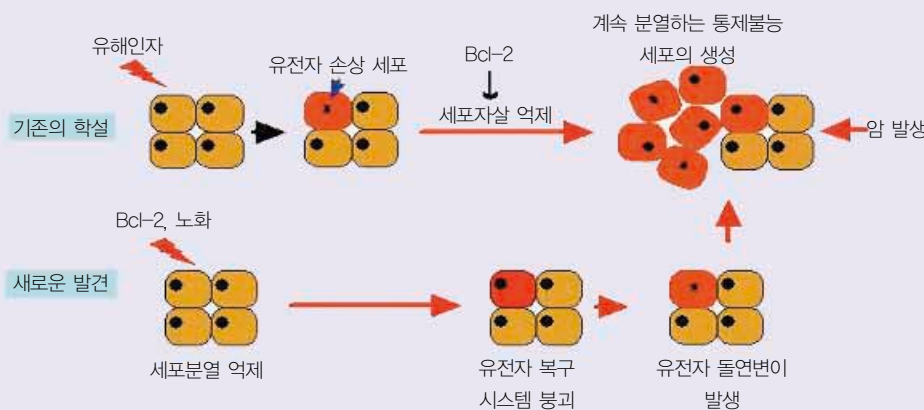
의 노화를 제어하는 유전자는 존재하는 것일까? 세포가 분열을 거듭할수록 염색체 말단에 존재하는 텔로미어의 길이가 짧아지는 것으로 노화를 설명할 수 있을까? 세포노화에 관련된 많은 질문들이 아직도 풀리지 않은 숙제로 남아있다. 이 글에서는 세포주기를 제어하는 암 관련 유전자들이 노화의 유도과 억제에 어떤 역할을 수행하는지를 살펴보기로 한다.

### p53 항암 유전자가 세포의 노화 촉진

암 관련 유전자가 세포의 노화에 어떤 영향을 미치는 것일까? 암과 노화는 전혀 관련성이 없어 보이지만 사실은 동전의 앞뒷면과 같은 관계에 있다. 암 세포가 무한증식을 하기 위해서는 세포의 유한증식을 지배하는 세포 노화 프로그램을 극복해야만 한다. 암 발생과정에서 정상세포의 불멸화 과정이 바로 노화 프로그램으로부터 뺄어나기 위한 과정이다. 세포의 불멸화 과정에는 다양한 암 관련 유전자가 작용한다는 사실이 밝혀져 있다. 따라서 발암 유전자의 일부는 노화 프로그램을 해제하는 작용을 할 것으로 보인다.

노화와 암발생 상관관계.

조선대 유호진 교수가 발표한 노화와 암발생 상관관계. 나이가 들어 암 발병이 촉진되는 원인이 Bcl-2라는 단백질의 세포자살 억제기능 때문이라는 기존 학설을 뒤엎고 세포분열 억제에 의한 유전자 복구시스템의 붕괴 때문이라는 사실을 세계 최초로 규명했다.



연합포토

많은 암세포의 경우 변이 등에 의해서 p53 및 Rb와 같은 항암유전자의 기능이 상실되어 있고, 암세포에서 그런 유전자를 과발현시키면 세포의 증식 정지 혹은 세포사멸(apoptosis)이 일어난다. 암세포는 세포의 정상적인 노화 메커니즘의 지배를 받지 않고 무한증식이 가능하다. 세포노화는 SV40 T항원 등의 DNA 종양 바이러스 유전자의 발현이나 p53와 Rb 등 항암유전자의 상보적(antisense) DNA 또는 인체 암세포에서 고빈도로 발견되는 열위종(劣位種) p53 돌연변이체에 의해 지연될 수도 있다.

p53 항암 유전자가 암세포의 노화를 유도한다는 사실은 필자의 연구실에서 처음으로 발견되었다. p53 유전자의 선택적인 발현 시스템을 구축하고, 암세포에서 p53 유전자를 과발현시킨 결과 세포주기의 정지에 이어서 노화가 시작되었다. p53 발현에 의하여 비가역적인 세포주기의 정지, cdc2, cyclin A, B의 발현감소, p21/Waf1의 발현유도, Rb의 탈인산화, 노화 관련  $\beta$ -갈락토시데이즈(SA-b-Gal) 활성의 출현 등을 확인되었

다. 그 이후에 다양한 암 세포주에서 p53 뿐만 아니라 Rb, p16, p21 등의 세포주기 조절인자들의 발현이 노화를 유도한다는 사실이 밝혀졌다. p53 유전자가 암세포에서 작동하지 않고 있는 노화 프로그램을 자극하여 활성화시킴으로써 이미 수명을 초과한 암세포를 노화시키는 것으로 보인다.

이후 본 연구팀은 p53에 의한 노화 유도를 억제할 수 있는 유전자를 탐색해왔다. p53에 의한 유전자 발현의 변화를 cDNA 마이크로어레이 기법을 이용하여 분석하는 것도 가능하다. 미국의 연구진들도 이 방법으로 p53에 의해 발현이 증가하는 유전자를 중심으로 세포노화의 특이 유전자 탐색을 시도하였으나 아직 성공을 거두고 있지 못하다. 본 연구팀은 p53에 의한 노화 유도를 억제하는 유전자를 탐색하는 과정에서 Bcl-2, Bcl-xL, E1B-19K를 비롯한 Bcl-2군 유전자들의 새로운 기능을 발견했다.

#### 노화 억제 이끄는 '반세포죽음 유전자군'

Bcl-2 군 유전자는 Bax, Bak 등의 친

세포죽음 유전자군과 Bcl-2, Bcl-xL, E1B-19K 등의 반(反)세포죽음 유전자군으로 분류할 수 있다. p53 유전자에 의하여 세포노화가 일어나는 EJ 방광암 세포주에 Bcl-2, Bcl-xL, E1B-19K 유전자를 각각 발현하는 세포주를 제작하고 이들 세포주에 p53 유전자를 발현시키면, 세포노화의 생물학적 증거인 노화 관련  $\beta$ -갈락토시데이즈(SA-b-Gal)의 활성이 증가하지만, Bcl-2, Bcl-xL, E1B-19K 유전자를 발현하는 세포주는 SA-b-Gal 활성 증가가 발견되지 않았다. 노화세포에 특이적인 형태적 변화 역시 Bcl-2군 유전자를 발현하는 세포주에서 거의 발견되지 않았다. 세포노화를 판단하는데 있어서 가장 중요한 것은 비가역적인 세포주기 정지라고 할 수 있다. 즉, p53 발현에 의하여 세포주기 정지가 일어난 후 다시 p53 발현을 억제했을 때 세포주기를 다시 시작하지 않는 것이다.

p53을 발현하는 아데노바이러스를 세포에 감염시켜서 p53 발현을 유도하면 p53 발현은 2일내에 최고점에 달한다. 그러나 아데노바이러스는 세포 안에서

스스로 복제 증식할 수 없는 변이주이므로 감염 약 6일 후에는 p53 발현이 관찰되지 않는다. 그러나 EJ세포의 경우 p53 바이러스의 감염에 의해서 DNA 복제가 정지하는 것을 BrdU 삽입의 정도를 통해서 확인할 수 있다. 그러나 p53 발현이 없어진 후에도 BrdU의 삽입은 관찰되지 않는다. 따라서 p53 발현에 의하여 세포주기가 정지된 후 약 4일 이내에 일시적인 성장 정지가 영구적, 비가역적 성장 정지로 바뀐다고 볼 수 있으며 이를 노화수입(senescence commitment)이라고 부른다.

한편 Bcl-2군 유전자를 발현하는 EJ세포주에서는 p53 바이러스 감염 후 세포주기가 정지하고 BrdU의 삽입이 저해되

지만 p53 발현이 없어지는 6일 후에는 다시 BrdU의 삽입이 활발하게 일어난다. 즉 Bcl-2군 유전자의 발현은 p53에 의한 세포주기 정지에는 영향을 끼치지 않지만 세포주기 정지 후에 일어나는 노화수입을 방해하는 것으로 볼 수 있다.

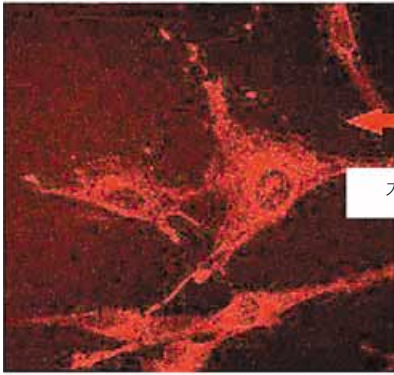
Bcl-2 유전자는 세포죽음을 억제하는 유전자로 알려져 왔다. 특히 임파종을 유발하는 종양유전자로 발견되었다. Bcl-2의 세포죽음 저해 작용은 암 발생의 새로운 개념을 제공하는 중요한 발견이다. 즉 암은 세포의 성장뿐만 아니라 세포의 죽음을 억제함으로써 발생할 수 있는 것을 보여준 것이다. 그러나 Bcl-2 유전자들이 세포죽음 뿐만 아니라 세포노화를 억제하는 것이 밝혀졌고, 이러한 결과는 암 발생 과정에 세포성장 촉진과 죽음 억제, 그리고 노화억제가 필요하다는 것을 보여준다.

본 연구팀은 Bcl-2군 유전자들의 노화 억제 작용기전을 분석하였다. p53이 어떻게 노화를 유도하는지, 그리고 Bcl-2군 유전자가 어떻게 p53의 노화 유도를 억제하는지를 분석하는 것은 쉽지 않다. 우선 p53과 Bcl-2 유전자의 기능이 겹치는 부분이 ROS(활성산소종)와 관련이 있는 것으로 밝혀졌다. p53은 ROS의 생성을 촉진하고 Bcl-2군 단백질은 ROS의 생성을 억제하는 작용을 한다. 이러한 기존 연구 결과를 바탕으로 p53 발현에 의하여 ROS가 증가하는지를 우선 분석하였다. EJ세포주에서 p53을 발현시키면 세포내 ROS의 양이 증가하였다. 그러나 Bcl-xL 및 E1B-19K 발현세포주에서는 ROS가

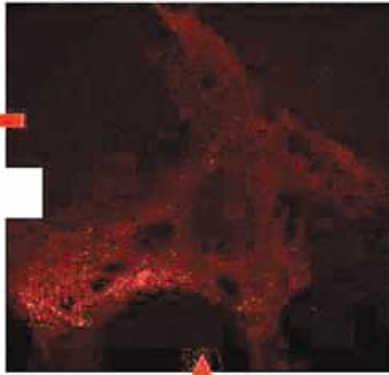


연합포토

젊은 세포



늙은 세포



기능회복

암피피신

노화를 막을 수 있는 생물학적 단서를 세계 최초로 발견한 서울의대 박상철 생화학 교수의 노화세포 회복' 연구중 암피피신 단백질이 늙은 세포의 기능을 회복시키는 모습

증가하지 않았다. 따라서 Bcl-2군 유전자들이 p53에 의한 ROS의 증가를 억제한다고 볼 수 있다. p53에 의한 노화 유도에 있어서 ROS의 증가가 필수적인 것인지를 판단하기 위해서 p53 발현 후 항산화 물질인 PDTC와 NAC를 처리하고 SA-b-Gal 활성을 분석하였다. PDTC와 NAC처리에 의하여 p53 유도노화가 억제되는 것을 관찰하였다. 따라서 p53에 의한 세포노화에 ROS의 증가가 필수적인 것으로 생각할 수 있다.

### 세포 노화의 분자적 이해 · 기능장애 예방

세포의 노화는 세포주기 G1기에서 정지한 후 아직 알려지지 않은 다른 종류의 신호전달계와 협력하여 비가역적인 증식 정지와 동시에 노화기로 들어가는 것으로 보인다. 대부분의 노화 세포에서는 G1 사이클린-cdk 착물의 활성이 억제되어 있고 증식 자극 후에도 정지기의 세포와는 달리 이들 착물이 활성화되지 않는다. 따라서 G1 사이클린-cdk 착물의 활성을 억

제하는 시스템이 노화에 중요한 역할을 수행할 것으로 추측해 볼 수 있다. p21의 발현은 세포분열의 한계수명에 가까워 올수록 증가하여 완전히 노화한 세포에서는 어린 세포보다 약 10~20배 정도 많이 발현한다. p21의 발현은 p53에 의하여 제어되기 때문에 p53의 열위중 변이를 도입했을 경우 세포분열의 한계수명이 연장된다는 결과는 p53의 기능상실에 의한 p21 발현의 감소 때문일 것이다.

최근 p21 유전자를 선택적으로 정지시킨 세포에서 세포수명의 연장이 보고되었다. 그래서 p21의 발현이 노화의 진행에 중요한 인자임에는 틀림없다. 그러나 p21의 발현증가가 이미 알려진 것처럼 사이클린 E/D-cdk2/4의 활성감소와 Rb의 탈인산화로 이어지는 일련의 연쇄 현상에 의한 것인지 혹은 다른 경로의 미지의 인자들이 관여하는 것인지는 명확하지 않다. 그러나 최근 Rb의 발현이 세포노화를 유도할 수 있다는 보고가 계속 발표되고 있기 때문에 적어도 Rb를 매개로 하는 경

로가 노화의 진행에 관여하는 것은 사실인 것 같다. p21과 같이 사이클린D-cdk4 복합체의 활성을 저해하는 p16의 역할도 주목된다. p16의 발현도 노화의 진행에 비례해서 증가한다. 인체는 분열세포와 비분열세포로 구성되어 있고 이들의 성질과 변화에 따라 인체의 노화가 진행될 것이다. 뇌세포와 신장세포 등의 비분열세포의 상실 혹은 기능저하는 생명을 위협하는 주요 요인이다. 따라서 비분열조직으로 구성되어 있는 선충과 초파리의 수명연장 변이체의 분자 유전학적 분석은 노화 연구의 중요한 전환점을 제공해 줄 수 있을 것이다. 한편 조직의 기능저하는 그들을 구성하는 분열세포의 기능저하와 관련이 있다. 최근 유전적 조로를 유발하는 베르너 증후군의 유전자가 발견되어 DNA 헬리케이스인 것으로 밝혀졌다. 세포주기를 제어하는 시스템과 노화와의 관련성에 중요한 단초를 제공하고 있다. 세포의 불멸화 과정에 관여하는 적어도 4종류의 M2기 유전자의 실체가 밝혀지면 세포노화를 이해하는데 중요한 계기가 될 것으로 기대된다. 노화에 따른 신체기능의 저하와 노화 관련 질환의 대부분은 세포의 비정상적인 노화의 결과로서 나타나는 퇴행성 기능변환이 원인일 것으로 생각된다. 따라서 노화 프로그램의 분자적 실체가 규명되면서 이러한 신체기능의 장애와 질환을 예방할 수 있는 지식이 생겨날 것을 기대해 본다. **SD**



글쓴이는 일본 도쿄대학에서 박사학위를 받은 후 미국 NIH에서 박사 후 연구원, 한국생명공학연구원 선임연구원을 지냈다.