

유전질환 신경 세로이드 리포푸신증들에 대한 고찰

이민영^{1*} · 김동현^{1*} · 윤동호^{1*} · 김한복¹ · 박주훈² · 이환명² · 김성훈³ · 김성조^{1†}

¹호서대학교 생명공학과, ²호서대학교 본초응용과학과, ³경희대학교 한의과대학 암예방소재개발연구센터

Genetic and Molecular Mechanisms in the Neuronal Ceroid-Lipofuscinoses

Minyoung Lee^{1*}, Donghyun Kim^{1*}, Dong-Ho Yoon^{1*}, Han Bok Kim¹, Joo-Hoon Park²,
Hwan-Myoung Lee², Sung-Hoon Kim³ and Sung-Jo Kim^{1†}

¹Dept. of Biotechnology, Hoseo University, Asan 336-795, Korea

²Dept. of Herbal Medicine, Hoseo University, Asan 336-795, Korea

³Laboratory of Angiogenesis and Chemoprevention, College of Oriental Medicine,
Kyunghee University, Seoul 131-701, Korea

ABSTRACT : The neuronal ceroid-lipofuscinoses (NCLs) are a kind of neurodegenerative storage disorders. The NCLs are characterized by accumulation of autofluorescent lipofuscin or lipopigment in the brain. All NCL group belongs to in lysosomal storage disorders (LSDs), except Northern epilepsy. NCLs are the most common group of progressive neurodegenerative disorders in childhood, with an incidence as high as 1 in 12,500 live births. Four main clinical types have been described based on the onset age : infantile, late infantile, juvenile and adult types. Clinical symptoms of NCLs include loss of vision, seizures, epilepsy, progressive mental retardation and a premature death. Although mutation causes neurodegeneration in NCLs, the molecular mechanism by which mutation leads to neurodegeneration remains unclear. In this paper, we review the characteristics of these NCLs.

Key words : Neuronal ceroid-lipofuscinoses, NCL, Neurodegeneration, Lysosomal storage disorders, Genetic disorder.

요약 : 신경리포푸신증(NCLs)은 신경 퇴행 축적 질환으로 뇌에 자가형광물질을 포함한 다양한 물질의 축적이 야기되어 발생하며, 노던에필레프시를 제외한 모든 신경리포푸신증은 리소좀 축적 질환으로 분류된다. 이러한 신경리포푸신증은 전 세계적으로 12,500명 중 1명에게 발생하는 높은 발병 빈도를 나타내며, 그 발병 시기에 따라 영아형, 영유아형, 유년형, 그리고 성인형과 같이 분류된다. 신경리포푸신증이 유발하는 의학적 증상로는 시각 손실, 발작, 간질, 진행성 정신지체 등을 야기하여 소아성 치매라는 이야기를 들으며, 증상이 심할 경우 환자가 사망에 이르게 된다. 신경퇴행성 리포푸신증의 원인은 유전자의 돌연변이 때문이라고 알려져 있으며, 일부의 연구를 통해 태아의 발생과정 상 문제를 통해 질병이 야기되는 경우도 관찰이 되고 있으나, 아직 그 분자발생학적 기전이 명확하게 규명되어 있지 않은 현실이다. 현재 전 세계적으로 많은 연구가 수행되고 있어 그 결과가 주목되는 바이다.

서론

Lysosomal storage disorders(LSD)는 리소좀 기능의 결핍으로 발생하는 유전질환이다. 이 질환은 7,000~8,000명당 1

명 정도가 발생하는 발병빈도를 보이며, 생체내 거대 분자를 분해하는 효소를 가지고 있는 세포내 소기관인 리소좀내 특정 효소의 기능상실로 인해 물질들이 분해되지 못하고 축적됨으로써 야기되는 질병이다(Carpenter & Karpatis, 1986). Neuronal ceroid lipofucinoses(NCL) family는 흔히 바텐병(Batten's disease)으로 알려진 LSD로서(Haltia 2006; Kim et al., 2006a; Klockars et al., 1999; Pierret et al., 2008; Salonen et al., 2001; Zhang et al., 2001), autofluorescent

* First three authors contributed equally to this work.

† 교신저자: 충남 아산시 배방면 세출리 165 호서대학교 생명공학과,
(우) 336-795, (전) +82-41-540-5571, (팩) +82-41-548-6231, E-mail:
sungjo@hoseo.edu

lipopigment 등의 축적에 의해 발생하는 신경 퇴행 장애(neurodegenerative disorders)의 일종으로(Ahtiainen et al., 2007; Cooper et al., 2006; Isosomppi et al., 2002; Jalanko et al., 2005; Moore et al., 2008), 각각의 질병을 논할 경우 ceroid lipofuscinosis, neuronal로 표기하므로 관용적으로 CLN이라 부른다.

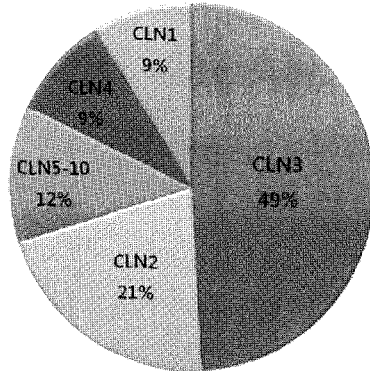


Fig. 1. Incidence outbreaks percent of NCLs.

전체 NCL family의 발병확률은 12,500명 중 1명으로 상대적으로 높은 발병 빈도를 보이며, 임상적으로 진행성 치매와 간질, 근간대성 간질, 실명과 운동장애를 특징으로 갖는 신경 퇴행 질환이다(Mitchison & Mole, 2001). 발병연령 및 임상경과, 그리고 병리 소견에 의해 영아형(infantile neuronal ceroid lipofuscinosis), 말기 영아형(late infantile neuronal ceroid lipofuscinosis), 유년형(juvenile neuronal ceroid lipofuscinosis) 그리고 성인형(adult neuronal ceroid lipofuscinosis) 및 여러 비전형군으로 분류된다(Fig. 1)(Sleat et al., 2008). NCL family들은 대부분 유사병증을 보이며, 일부 NCL들에서는 상염색체 열성 유전 또는 특발성 유전양상을 나타내지만, 성인형 NCL에서는 상염색체 우성으로 유전된다(Table 1). 정확한 기전은 아직 밝혀진 바 없으나, 리소좀 효소의 활성 결핍으로 인해 리소좀 내 자가형광물질(autofluorescent)이 과다 축적되고 점차적인 신경세포의 손실을 초래한다는 가설이 제기되어 있으나, Northern epilepsy에서는 리소좀의 축적이 관찰되어지지 않는 유형도 보고된 바 있다. CLN family

Table 1. NCL genes and gene products

Diseases	Age of onset	Localization in non neuronal cell	Main accumulated protein	Gene	Product	Transmembrane/soluble	Localization in neuronal cells
CLN1 INCL	8~13m	Lysosome	SAPsA and D	1p32	PPT1	Soluble	Synaptic regions of axons
CLN2 cLINCL	2~4y	Lysosome	SCMAS	11p15	TTP1	Soluble	?
CLN3 JNCL	4~7y		SCMAS	16p12	CLN3	Transmembrane	Presynaptic compartments, mitochondria, lysosomes
CLN4 ANCL	11~50y	Lysosome	SCMAS	?	?	?	?
CLN5 vLINCLFin	5~7y	ER	SCMAS	13q22	CLN5	Soluble	Lysosomes, ER
CLN6 vLINCL	4~5y	?	SCMAS	15q23	CLN6	Transmembrane	?
CLN7 vLINCLTurk	2~7y	?	SCMAS	?	?	?	?
CLN8 Northern epilepsy	5~10y	?	SCMAS	8p23	CLN8	?	?
CLN9 JNCL	4~15y	?	?	?	Dihydroceramide	Transmembrane	?
CLN10 Congenital, late infantile	0~20y	?	?	11p15.5	Cathepsin D	?	?

m : months, y : years, SAPsA : saposin A, SAPsD : saposin D, SCMAS : subunit c of mitochondrial ATP-synthase, EPMR : progressive epilepsy with mental retardation.

는 세포내에서의 자동형광 지질염색물질이 다른 초미세 구조 패턴으로 저장되어 있고, 이러한 지질은 지문형(fingerprint) 봉입체, 과립성 호농성(granular osmiophilic) 봉입체, 수직형(rectilinear) 봉입체 그리고 곡선형(curvilinear) 봉입체의 형태를 나타낸다.

과립성 호농성 봉입체의 경우, 영아형, 말기영아형, 유년형 CLN에서도 관찰되지만, 성인형 CLN에서는 말초 림프구 내에 이러한 지질들이 축적되어지는 특이적 현상이 관찰되어지고 있다(Vadlamudi et al., 2003). 또한, 영아형 CLN 및 유년형 CLN에서는 산화적 스트레스의 발생으로 인해 세포 사멸이 발생하기도 한다(Kim et al., 2006b). CLN family 질환은 전 세계적으로는 높은 발병빈도를 나타내고 있으며, 그 발병기전 및 치료방법을 밝히고자 하는 연구가 활발하게 이루어지고 있다. 본 논문에서는 NCL 질환 그룹의 발병기전에 대한 최신 정보를 소개한다.

본 론

1. CLN1(Infantile NCL, INCL)

1) CLN1의 임상적 특징

유년기에 주로 발생하는 CLN1은 그 발병 시기로 인해 infantile NCL(INCL)이라고도 불리며, CLN1 유전자의 돌연변이로 인한 PPT1의 기능상실에 의해 발생되어(Jalanko et al., 2005; Kim et al., 2006b; Kim et al., 2008; Salonen et al., 2001; Zhang et al., 2001) 리소좀에 ceroid(thioesterified polypeptides)라는 지질과립이 비정상적으로 축적되는 증상을 보인다(Ahtiainen et al., 2007; Kalviainen et al., 2007; Kytala et al., 2006; Zhang et al., 2001; Zhang et al., 2007; Zhang et al., 2006). CLN1은 다양한 형태의 NCL 질환 그룹들 중에서도 가장 치명적이고 파괴적인 질병으로, 100,000명 중 1명의 발병률과 70명 중 1명의 보인자 빈도를 보이며, 핀란드 사람에게서 많이 보고되고(Kim et al., 2006b; Kim et al., 2008; Salonen et al., 2000; Zhang et al., 2001; Zhang et al., 2006), 출생 후 약 6~24개월 이내에 발병한다(Hobert & Dawson, 2006). CLN1 질병을 가진 환자에서 신경 퇴행 병증이 관찰되는데(Kim et al., 2006b), 이 질병에 걸린 신생아의 첫번째 증상으로는 대략 6개월부터 근긴장저하(muscular hypotonia)와 뇌 발달의 지연을 나타

내며, 단계적으로 수면장애, 과민반응, 시력상실, 운동실조증이 나타나고, 운동신경과 정신발달의 급격한 퇴화와 같은 병증이 수반되는데, 질병진행 초기에 나타나는 근간대성 경련과 발작은 임상적으로 비정상적 신경간 의사소통(neuronal communication)의 징후가 된다. CLN1 질병을 보유한 아이는 출생 당시 정상이지만 약 2세에 접어들며 완전히 시각을 상실하고, 약 4세경 뇌파검사(electroencephalography, EEG) 소견상 뇌사상태에 빠지며, 이후 몇 년 동안 식물인간으로 생존하다 약 8~12세경 사망에 이르게 된다. 1세와 5세 사이의 환자로부터 frontal brain 생체검사를 통해 극심한 astrocytes의 과생성과 비대(hyperplasia and hypertrophy), cortex의 대식세포 침투(macrophage infiltration) 증상이 관찰되었고, 모든 세포에서 autofluorescent storage granules을 포함하고 있음이 확인되었다(Kim et al., 2006a; Kim et al., 2006b; Kim et al., 2008; Zhang et al., 2006).

2) CLN1 유전자와 PPT1 단백질

CLN1 유전자는 PPT1(palmitoyl-protein thioesterase 1) 효소를 암호화하며(Buff et al., 2007; Salonen et al., 2000), 1995년 linkage analysis와 positional cloning에 의해 염색체 1q32에 위치함이 밝혀졌다(Salonen et al., 2000). CLN1은 인간에게 있어서 25 kb 크기로 9개의 exons을 포함하며, 2.5 kb의 mRNA를 만든다(Kyttala et al., 2006; Salonen et al., 2000). 전형적인 CLN1 환자에서 PPT1 효소의 불활성을 유발하는 다수의 missense mutation 및 nonsense mutation이 보고되었다(Table 2). PPT1은 수용성 리소좀 가수분해효소로 거대분자 분해의 기능을 수행할 것으로 추정되며(Jalanko et al., 2005; Kalviainen et al., 2007; Salonen et al., 2001; Salonen et al., 2000; Zhang et al., 2001), 아직까지 *in vivo* 상에서 PPT1의 기질은 아직 명확하게 확인되지 않았으나(Gupta et al., 2001; Hobert & Dawson, 2006; Isosomppi et al., 2002; Jalanko et al., 2005; Qiao et al., 2007; Zhang et al., 2001), *in vitro* 상에서는 단백질이나 펩타이드(peptides)로부터 palmitate와 다른 지방산을 제거할 수 있음을 보였다(Ahtiainen et al., 2007; Salonen et al., 2001). PPT1 단백질은 306개의 아미노산으로 구성되어 있고(Salonen et al., 2000), 여기에는 소포체(endoplasmic reticulum, ER)로 이동된 후 절단되는 25개 아미노산으로 이루어진 N-terminal signal sequence가 포함된다. 이 효소는 2개의 α/β 세린 가

Table 2. Mutation occurrence of CLN1 and NCL-like diseases

Age of onset (Diagnosis)	Type	Position	Mutation	Consequence
INCL	Missense	Exon 4	A364T	Arg122Trp
	Missense	Exon 6	G541A	Val181Met
	Missense	Exon 3	G353A	Gly118Asp
	Missense	Exon 6	G550A	Glu184Lys
	Nonsense	Exon 5	C451T	Arg151Trp
	1bp del	Exon 2	174G del	Frameshift
	3bp ins	Exon 2	132TGT ins	Cys45 ins
LINCL	Missense	Exon 6	G541A	Val181Met
	Missense	Exon 2	A223C	Thr75Pro
	Nonsense	Exon 5	C490T	Arg16X
	Nonsense	Exon 5	C451T	Arg151X
	Nonsense	Exon 5	C456A	Cys152X
	3bp del	Exon 3	249CTT del	Phe84 del
	1bp ins	Exon 2	162A ins	Frameshift
JNCL	Missense	Exon 2	A223C	Thr75Pro
	Missense	Exon 8	G749T	Gly250Val
	Nonsense	Exon 5	C451T	Arg151X

INCL (infantile neuronal ceroid lipofuscinosis), LINCL (late-infantile neuronal ceroid lipofuscinosis) and JNCL (juvenile neuronal ceroid lipofuscinosis), (del=deletion, ins=insertion, X=Stop codon).

수분해(serine hydrolase) 도메인과 하나의 촉매활성 도메인의 세 부분으로 이루어진다(Ser115, Asp233, His289) (Jalanko et al., 2005). 이 분자의 중앙에는 소수성 지방산 결합 부위가 위치하고 있고, 197, 212, 232번째 아미노산 위치에 asparagine-linked glycosylation sites가 있다. PPT1은 S-acylated proteins의 분해대사에 관여하는 soluble lysosomal enzymes으로 S-acylated(palmitoylated) 단백질의 분해를 촉진하기 위하여 단백질에서 thioester 결합의 분리를 촉매하는 역할을 수행한다(Fig. 2)(Kim et al., 2006b; Zhang et al., 2001; Zhang et al., 2007; Zhang et al., 2006). 또한, 최근 연구를 통해 뇌신경세포에서 PPT1은 synaptosomes과 신경소포(synaptic vesicles)에도 위치함이 발견되었다(Isosomppi et al., 2002; Jalanko et al., 2005). PPT1의 돌연변이는 late-infantile, juvenile, adult NCL을 야기하기도 하는데, 이런 발병시기의 다양성은 환자가 갖는 특정 돌연변이에 의해 생산된 잔여 효소활성과 연관이 있을 것으로 사료된다(Buff et al., 2007; Jalanko et al., 2005; Salonen et al., 2001; Zhang et al., 2001).

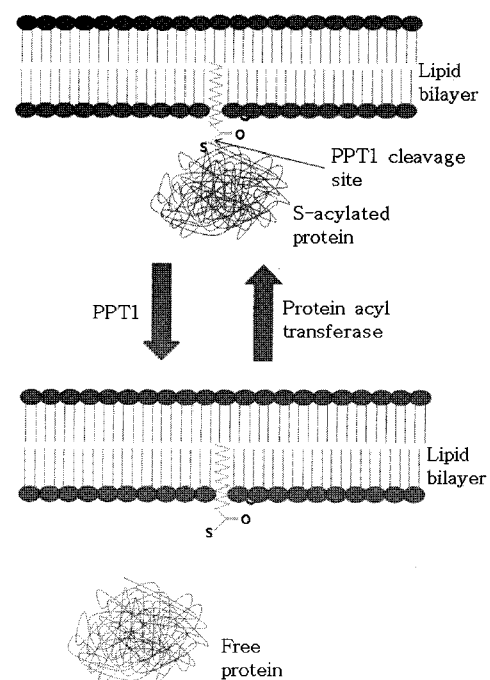


Fig. 2. Function of PPT1. PPT1 hydrolyzes thioester linkages in S-acylated proteins.

3) PPT1의 기능과 세포사멸(Apoptosis)

다수의 단백질은 palmitoylation(S-acylation)에 의해 생체막에 고정되기 위한 번역 후 변형(post-translational modification) 과정을 통해 지질첨가반응을 겪는데, 특히 신경계에서 많은 단백질들이 이와 같은 palmitoylation 반응을 겪게 되어 16-carbon fatty acid인 palmitate가 단백질의 특정 시스테인(cysteine) 잔기에 thioester 연결을 통해 첨가된다(Kim et al., 2006a; Kim et al., 2008; Zhang et al., 2006). Palmitoylation은 막 고정(membrane anchorage), 소포 수송(vesicular transport), 신호전달 과정(signal transduction), 그리고 세포구조물(cellular architecture)의 구조유지를 포함한 다양한 생물학적 기능을 수행한다(Buff et al., 2007; Kim et al., 2008; Zhang et al., 2006). 이와 같은 palmitoylation이 단백질의 기능수행에 필수적이라 하더라도, 이들 단백질은 기능수행 완료 후 리소좀 내 단백질분해효소에 의해 분해되기 위해 depalmitoylation을 겪어야 한다(Kim et al., 2006a; Zhang et al., 2006). Palmitoylation과 depalmitoylation의 반복적 순환을 통해 막과 세포질에서 단백질의 분포가 조절되어진다고 생각되어지고 있다(Kim et al., 2008; Zhang et al., 2006). PPT1은 앞서 언급한 것과 같이 palmitoylated 단백질의 thioester 연결을 분해하여 이 단백질의 분해와 재생을 촉진하는 기능을 수행하므로(Kim et al., 2006a; Zhang et al., 2001; Zhang et al., 2006), 이 효소의 불활성화는 palmitoylated 단백질의 분해를 막아 단백질의 축적을 야기하게 되고, 이것이 CLN1의 발병을 야기하는 주요 발병원인으로 추정되어지나 아직 그 명확한 발병기전이 밝혀지지 않았다(Kim et al., 2008; Zhang et al., 2001). CLN1 환자는 PPT1의 결핍으로 리소좀 내에 saposins A와 D가 축적되며, 봉입체의 초미세구조에서 호농성(granular osmiophilic deposits, GRODs)의 형태를 갖는다(Buff et al., 2007; Cooper et al., 2006; Haltia 2006; Jalanko et al., 2005; Kim et al., 2006b; Salonen et al., 2001; Salonen et al., 2000). 소포체는 세포내에 존재하는 망상구조로 리보솜과 함께 단백질 합성, 단백질 접힘에 관여하고, 지질이나 콜레스테롤 합성에도 관여하며, 칼슘(Ca²⁺)의 주요 저장소의 기능을 한다(Kim et al., 2006b). 이러한 소포체는 'quality control' 시스템을 보유하고 있어 단백질이 알맞게 접히는지 면밀히 검사한다. Inositol-requiring enzyme-1 (IRE-1)과 같은 특정 단백질은 unfolded 단백질과 소포체내의 수용력 사이의 균형에 대하여 모니터링하는 역할을 수행하

는데, 이러한 소포체내에 존재하는 특정 단백질의 작용에도 불구하고 소포체내의 균형 유지에 실패한다면 소포체 스트레스가 발생하게 되고 소포체 스트레스를 제거하기 위한 신호전달 경로인 unfolded protein response(UPR)가 활성화 된다. 이러한 UPR에 의해 해결되지 못한 극심한 소포체 스트레스는 결국 세포사멸을 유도한다(Cooper et al., 2006; Kim et al., 2006a; Kim et al., 2006b; Wei et al., 2008). PPT1-knockout(PPT1-KO) 쥐는 사람에게 발생하는 CLN1의 임상적, 병리학적 특징인 진행성 뇌 위축증(progressive brain atrophy), 세포사멸(apoptosis)과 식세포침투작용(phagocytosis) 등의 현상이 관찰되어져 CLN1의 연구에 다양하게 이용되고 있다. 이러한 동물모델에 대한 연구를 통해 PPT1-KO 쥐에서 소포체 스트레스가 발생하고, mouse의 caspase-12(사람에서는 caspase-4) 활성을 이끌어 caspase-3 경로를 활성화시켜 세포사멸이 발생함이 확인되었다(Kim et al., 2006a; Kim et al., 2006b; Zhang et al., 2006). 또한, 소포체 스트레스는 산화스트레스(oxidative stress)를 야기함이 알려져 있는데, CLN1에서 뉴런내 소포체 스트레스 발생은 활성산소 수준을 증가시켜, superoxide dismutase(SOD)생성과 활성을 촉진하고, 결국 caspase-9, caspase-3를 활성화시켜 세포사멸이 야기된다(Fig. 3)(Kim et al., 2006b). 또한, 이와

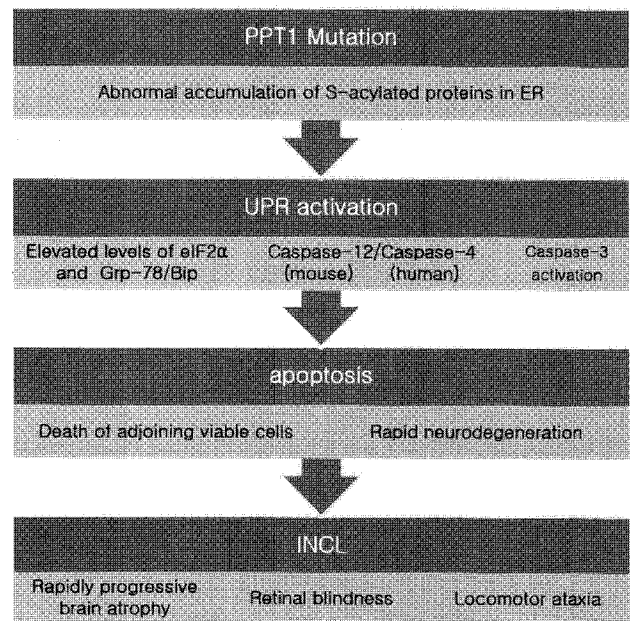


Fig. 3. Pathogenesis of INCL, which caused by PPT1 mutation. (ER; endoplasmic reticulum, UPR; unfolded protein response).

같은 반응은 주변의 식세포들을 불러들여 이 식세포들이 주변의 근접한 정상 세포들마저도 죽음에 이르게 하여 결국 급속도의 신경퇴행이 진행되는 현상이 관찰되었다(Zhang et al., 2007).

4) CLN1의 신경이상증세에 관여하는 PPT1

얼마 전까지도 CLN1 환자에서 발생하는 신경이상증세에 대해 명확하게 설명하지 못하였으나, 최근의 연구를 통해 그 원인이 다수 규명되어졌다. 신경간 의사소통은 신경말단인 시냅스에서 신경전달물질(neurotransmitter)을 함유한 신경소포의 내포작용(endocytosis)과 외포작용(exocytosis) 순환의 반복에 의존하는데, 시냅스 전막(presynaptic plasma membrane)과 신경소포막의 융합은 신경전달물질의 방출을 유도하게 된다. 이 현상은 앞쪽 시냅스 전막으로부터 vesicle 구성요소들의 분리와 막 융합, 외포작용, 새로운 vesicle의 재생에 중요한 역할을 하는 많은 단백질을 포함한 이들 구성요소들의 재순환에 의해 지속적으로 반복되는데, 이런 재순환을 위해 palmitoylated 단백질들은 depalmitoylation을 필요로 한다. 최근 연구를 통해 PPT1 결핍은 palmitoylated vesicle 단백질들의 지속적인 막 고정을 야기하여 vesicle 구성요소들의 재순환이 차단되어 시냅스에서 신경소포 pool 크기 유지를 위해 필요한 새로운 신경소포의 재생이 점차 줄어들게 되어 신경세포의 감소에 따른 비정상적인 신경전달을 야기함이 밝혀졌다(Kim et al., 2008).

2. CLN2(Classical Late Infantile NCL, cLINCL)

이 질병은 1960~1975년 남성 환자에서 처음 보고되었고, 발병시기상 INCL군에 속하기도 하며, INCL보다 조금 늦게 발병하는 질환이다. 약 2~4세 사이에 발병하고, 염색체 11p15 위치에 존재하는 CLN2 유전자의 돌연변이로 인해 TPP1(tripeptidyl-peptidase I)의 결핍으로 발생하는 질환으로 증상은 INCL과 유사하다. CLN2 유전자의 염기서열 분석을 통해 환자들에게서 CLN2 유전자의 6번째 exon 중 622번째 T가 C로 치환되어 있어 Arg208X(stop)와 같은 아미노산 변화가 야기됨이 확인되었고, 최근의 연구결과를 통해 1439번째 G가 T로 교체되어 Val480Gly의 아미노산 변화가 야기됨이 보고되었다(Elleder et al., 2008). CLN2는 CLN1과 유사하게 리소좀의 비정상적인 기능수행으로 뇌, 지방, 단백질 등의 세포내 노폐물들이 제대로 분해되지 못하고 축

적되어 세포사멸이 초래되어 발병한다. 특히 세포 내부의 arginine양에 문제가 발생하면 리소좀 내 수소 이온 농도에 증대한 영향을 초래하여 세포가 노폐물을 처리하는 과정에 영향을 주는 것으로 알려져 있다. 또한 미토콘드리아의 ATP syntase subunit c의 lipopigment 축적이 관찰되었다(Goebel et al., 2001). 이와 같이 lipopigment 축적 현상이 대뇌피질에서는 거의 관찰되지 않으나 해마를 포함한 다른 중추신경계에서 많이 관찰되는데, 이러한 축적이 신경 손상에 중요한 영향을 야기하는 것으로 추정된다(Elleder et al., 2008). CLN2의 임상학적 증상은 뇌의 위축과 발작, 시각기능의 퇴행, 치매, 운동신경의 점진적 퇴화의 발생이며, 환자는 최종적으로 사망에 이르게 된다. CLN2 환자에서 대뇌 피질내 TPP1 효소 활성은 2세 나이에 비하여 과활성화되어 있으므로 TPP1의 활성도를 측정함으로써 CLN2에 대한 비교적 정확한 진단이 가능하다(Mole et al., 2005).

3. CLN3(Juvenile NCL, JNCL)

CLN3 또는 Batten diseases는 1826년 노르웨이에서 최초로 보고되었으며, 현재까지 다수의 환자가 보고되고 있다(Luiro et al., 2006). CLN3는 유년기에 퇴행적인 리소좀 축적 질환이 유전되는 형태를 보이며, 연령의 증가에 따라 악화되는 신경퇴행성 질병이다. 리소좀은 단백질분해 효소를 포함하고 있어 세포내 소화에 있어 중요한 소기관 중의 하나인데 리소좀 효소의 선천적 불활성화는 세포외에서 포식되어진 물질의 분해가 억제되고, 세포내 대사산물들의 분해과정에 이상을 초래하여 이러한 물질들이 리소좀 내에 축적되어 최종적으로 리소좀 축적 질환을 유발하게 된다. CLN3도 특정 지방이 뇌를 포함한 신체 다른 조직의 신경세포 내에 과립형태의 알갱이로 이루어진 lipopigments, ceroid, lipofuscin 등이 비정상적으로 축적되는 특징을 보이며, 조직내 리소좀의 효소결핍으로 축적된 물질이 autofluorescent를 생성한다(Pohl et al., 2007). CLN3는 약 4~7세 사이에서 전형적으로 발병되지만, 정확한 CLN3 단백질의 분자생물학적 기능과 발병기전이 밝혀져 있지 않다(Rakheja et al., 2008).

1) CLN3(Battenin)와 돌연변이

CLN3 유전자는 염색체 16p11.2~12.1 지역에 위치하고 있으며, 15개의 exon 으로 구성되었으며, 전체 길이는 15 kb의 크기를 지닌다. 또한, open reading frame(ORF)의 길이

는 1,314 bp로 이루어져 있으며(Terry J et al., 1995), CLN3 유전자의 5' 지역에는 다수의 전사조절 요소가 존재하는 것으로 추정되지만 아직 정확한 연구가 이루어지지 않고 있다(Mitchison & Mole, 2001). CLN3는 효모(yeast)와 인간에게서 높은 유전자 일치성을 가지며, 일반적으로 CLN3 환자의 85%에서 유전자의 3' 부위가 결실되어져 있는 양상이 관찰된다(Benedict et al., 2007). CLN3 단백질은 438개의 아미노산을 포함하고 있고 분자량은 48 kDa이며(Hald & Lotharius, 2005), northern 분석을 통해 리소좀(Jarvela et al., 1998; Kida et al., 1999), 골지체(Kremmidiotis et al., 1999; Persaud-Sawin et al., 2004), 미토콘드리아(Katz et al., 1997) 등과 같은 세포내 소기관에 존재함을 확인하였다(Janes et al., 1996). CLN3 단백질에는 6개의 transmembrane 도메인이 존재하는 것으로 추정되고 있으며, 4개의 N-link glycosylation site 추정부위와 2개의 O-glycosylation site 추정 부위가 존재하며(Ezaki et al., 2003), 높은 소수성의 transmembrane으로 이루어져있을 것으로 추정되어지고 있다(Rakheja et al., 2004). 뇌를 포함한 체장, 말초신경, 비장, 고환 등의 조직에서 단백질 발현이 확인되어진다(Benedict et al., 2007). 또한, 몇몇 연구를 통해 미토콘드리아 단백질인 ATP synthase subunit c가 축적되어 이로 인해 미토콘드리아의 형태변화를 통한 ATP 수준의 감소가 보고되었다(Fossale et al., 2004). CLN3 단백질은 여러 개의 유전자 접합의 다양성(splice variants)을 가지고 있음이 보고되었으며, CLN3 단백질 중 비정상적으로 꼬인 단백질의 존재가 보고되었으나(Cotman et al., 2002; Narayan et al., 2004), 다양한 형태의 생물학적 역할은 앞으로 연구해야할 과제로 남아있다(Kyttala et al., 2006).

2) CLN3 단백질의 구조

초기의 면역염색법(immunohistochemistry)을 통한 연구 결과, CLN3 단백질은 대부분 뇌 회백질 부분의 정상세포, 모세관, 그리고 신경세포에서 관찰되며, 말초신경, 체장의 작은 세포 그리고 고환내의 정자를 이동시키는 관 내에서도 관찰되었다(Rakheja et al., 2008). 이 단백질의 세포 내 위치 추적 연구를 통해 핵 내와 세포막을 따라서 CLN3 단백질이 존재함이 확인되었으며(Rakheja et al., 2008), 추가적으로 미토콘드리아, 골지체, late endosome, synaptic vesicles, synaptosomes(Luiro et al., 2001), 그리고 리소좀에 존재함이 관찰되었다(Haskell et al., 2000; Jarvela et al., 1999;

Kaczmariski et al., 1999; Katz et al., 1997; Kremmidiotis et al., 1999; Luiro et al., 2001; Persaud-Sawin et al., 2004). 또한, 돌연변이 CLN3 유전자 연구를 통해 CLN3 단백질은 리소좀과 잘못 위치한 골지체에 존재하며, 나아가 지질에서 발견된다(Persaud-Sawin et al., 2004).

3) CLN3의 기능

CLN3의 유전자는 human, dog, rat, mice, Drosophilamelanogaster, Caenorhabditiselegans, 그리고 효모에서 높게 보존되나, 다른 어떠한 단백질과도 상동적인 유사성을 공유하지는 않는다(Phillips et al., 2005). 효모 단백질인 Btn1p는 CLN3와 59%의 유사성을 나타내며(Pearce & Sherman, 1997), 진핵생물 간에 그 유전적 동질성이 높게 보존되기 때문에 CLN3의 세포질 기능 또한 중간에 동일한 것으로 유추되고 있다(Taschner et al., 1997). 집중적인 연구를 통해 CLN3은 리소좀 내 효소 제거, 단백질의 분해, 작은 분자의 이동, 세포기관의 용해, 그리고 세포사멸 유도 등과 같은 기능을 수행함이 알려졌다(Persaud-Sawin et al., 2004), 또한 human CLN3 연구를 통해 CLN3 돌연변이가 lysosome pH(pH 2-3)를 증가시킨다는 것을 발견하였다(Golabek et al., 1999).

4) CLN3 환자의 임상적 증상

CLN3 환자는 취학연령이 될 때까지 발견하기가 쉽지 않은데, 그 이유는 어느 정도 연령까지 병증이 보이지 않다가 급속도로 정신지체 및 인지능력의 쇠퇴가 시작되기 때문이다(Luiro et al., 2006). 또한, 뇌의 위축, 발작, 시각기능의 퇴행, 치매, 운동신경의 점진적 퇴화가 발생하며, 결국 사망에 이르게 된다(Fig. 4)(Fossale et al., 2004). 간질성 발작은 일반적으로 1, 2차의 간헐적 경련성으로 8~13세 사이에 시작

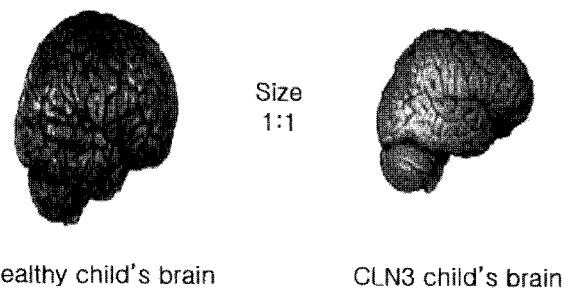


Fig. 4. Gross anatomic appearance of brains in the healthy child (left) and the CLN3 child (right).

되며(Luiro et al., 2006), 보편적으로 15~28세 사이에 보행 능력을 상실하게 되고, 행동 및 정신질환, 환각 등을 포함한 병태생리학적인 양상을 보인다. 또한 50~90% CLN3 환자에게서 수면장애 현상이 발생한다(Santavuori et al., 2000). 이와 같은 임상적 증상을 상세하게 알아보면, 첫 번째로 시각손실(vision loss)이 있다. 안구내 광수용기의 손실이 발생할 경우, 망막 내에서 발생한 흑점이 점차 망막 주변으로 퍼지는데, 이러한 현상은 안과학적으로 CLN3를 진단하는 것에 이용되고 있다(Goebel et al., 1995). 일반적으로 CLN3 환자에게서 급속한 시력저하가 관찰되며, 2~6세 사이에 실명에 이르기도 한다. 그러나 시력상실 이후 빛에 대한 인지력은 수년간 지속될 수도 있으며, 선명한 시각적 환상이 발생하기도 한다(Boustany, 1992). 두 번째, 정신적 쇠퇴(mental decadence) 현상이 있는데, CLN3 환자인 아이들의 부모들이 가장 힘들어하는 병증은 유사치매증상이다(Boustany, 1992). 이미 질병 초기단계에서 경미한 정신쇠퇴가 발생하며, 저학년 시기에 시력손실을 동반한 점진적 뇌기능 퇴화로 인해 아이들은 정상적인 교육프로그램을 따라 가기에는 어려움이 큰 것으로 알려지고 있다(Lou & Kristensen, 1973). 세 번째 간질(epilepsy)의 경우, 환자에게서 발생하는 발작의 우세한 유형은 일반적으로 강직성 간헐적 경련성 발작이며, 복잡한 일부분의 발작은 관찰된다. 발작이 일어나면 격렬하고 빈번하게 발생하는 경향을 보이며 특히 사춘기에 발작의 증가가 관찰된다(Boustany & Filipek, 1993).

5) CLN3의 진단 방법

CLN3의 첫번째 신호는 시각손상이며, 4~7세 사이에 나타나고, 일반적인 안과학 검사로 검진할 수가 있다. 안과학적 이상 징후의 발견은 환자의 나이와 비교하여 CLN3로 진단되어진다. 안과학적 소견과 더불어 액포를 함유한 림프구가 현미경으로 관찰되는 경우 현격히 진단 확률이 높아진다(Goebel et al., 1995). 또한, 진단은 유전자 검사에 의해 수행되어지기도 하며, 환자의 심각한 염색체 돌연변이를 생체 조직절편검사(biopsy)를 통해 건본을 추출한 후, 현미경을 통해 관찰하기도 한다.

4. CLN4(Adult NCL, ANCL)

CLN4는 성인에게서 발생하는 adult neuronal ceroid-lipofuscinosis으로 Kuf's disease 라고도 불린다. CLN4는 전체

CLN 질환군들 중 1.3~10% 정도의 발병비율을 차지하며, 소아기 및 유년기에 발병하는 다른 질환에 비해 임상적으로 시력쇠퇴 및 상실의 증상이 적고, 병리학적 소견상 신경세포에 ceroid-lipofuscin의 축적이 관찰된다. 이 질환의 증상은 크게 두 가지 형태로 분류되는데, 진행성 근간대성 발작(progressive myoclonic epilepsy)과 치매 및 운동장애(dementia and motor disturbance)로 구분된다(Robertson et al., 2008). 현재 보고되고 있는 CLN4 질환의 경우, 유전학적 특징 및 생화학적 특징이 명확하게 규명되어 있지 않고 나아가 lipofuscin의 축적 및 mixed-type osmiophilic deposits와 lamellar inclusion이 발생하는 원인 또한 아직 불분명하다. 현재까지 CLN4의 발병원인으로 효소의 활성변화와 단백질의 구조적 이상이 동시에 고려되고 있기 때문에, 다양한 연구를 통해 정확한 발병원인을 규명하는 것이 필요하다(Gdynia et al., 2007).

5. CLN5

사람의 CLN5의 유전자는 염색체 13q22에 위치하고, 4개의 exons과 13 kb의 genomic DNA로 암호화되는데(Klockars et al., 1999; Kopra et al., 2004; Kytala et al., 2006; Varilo et al., 1996), 2.0, 3.0, 4.5 kb 크기의 다양한 전사체가 모든 조직에서 발견되었다(Klockars et al., 1999; Kytala et al., 2006). CLN5 단백질은 리소솜에 존재하는 60 kDa 크기의 glycoprotein이다(Frugier et al., 2008; Futerman & van Meer, 2004; Isosomppi et al., 2002; Pierret et al., 2008). CLN5는 4~7세에 발병하며, 핀란드인에게서 발병되는 질병으로 'Finnish variant of late-infantile NCL(Finnish vLINCL)'로 불리워지며, CLN5 유전자의 돌연변이로 인해 발생하는 상염색체 열성 유전질환으로 발병하는 나이와는 관계없이 분류된다. CLN5 폴리펩타이드는 번역 후 변형과정 중 하나인 glycosylation을 겪고 주로 비신경세포의 리소솜에 위치하게 된다(Kopra et al., 2004). 이 질병을 가진 환자에게서 첫번째로 발생하는 증상은 운동 능력의 저하와 진행성 시력 손상으로 4~7세 사이에 운동신경 및 정신적 퇴행현상이 관찰되고, 병증이 계속 진행되면서 근간대성 발작과 근육 수축 현상의 특징을 보이며, 약 14~36세 사이에 사망에 이르게 된다(Isosomppi et al., 2002; Klockars et al., 1999; Kopra et al., 2004; Varilo et al., 1996). 신경병리학적 특징으로 대뇌와 소뇌의 극심한 위축소견을 보이는데, 부검을 통해 환자들이 대뇌와 소뇌의 신경세포 파괴에 의한 뇌 위축증(brain

Table 3. Mutation occurrence of CLN5

Mutation	cDNA (genomic DNA)	Position	Consequence
2bp del (AT)	1175AT del (2467)	Exon 4	Tyr392Stop
Nonsense	G225A (1517)	Exon 1	Trp75Stop
Missense	G835A (2127)	Exon 4	Asp279Asn

atrophy)을 나타낸다는 것이 보고되었다(Kopra et al., 2004). 병증이 심화된 시기에 소뇌의 퍼긴즈(cerebellar purkinje)와 granular 세포들은 거의 사멸되었지만, 피질 하층의 구조는 상대적으로 적은 신경 손실 현상을 보인다. 또한, 대뇌 뉴런 손실은 특히 cortex의 III, IV층(layer)에서 뚜렷하게 발생한다. 다른 종류의 NCL과 유사하게, autofluorescent material의 축적은 신경조직 및 비신경조직에서 발견되고, 봉입체(inclusion body)의 초미세구조는 지문형(fingerprint profiles)을 비롯하여 수직형(rectilinear bodies), 곡선형(curvilinear bodies)의 혼합된 형태의 다양한 모습을 보인다(Kopra, et al., 2004). CLN5에는 3 가지 대표적인 돌연변이가 있는데, 이들 중 2가지 돌연변이는 종결코돈을 생성하여 폴리펩타이드 chain의 합성이 조기에 중단되는 결과를 야기한다. 이들 돌연변이 형태를 살펴보면, 첫 번째로 핀란드의 CLN5 환자에게서 가장 흔하게 발견되는 것으로 4번 exon에서 염기 두 개가 결실(AT 2467-2468)되는 형태이며(Tyr 392 Stop), 또 다른 것으로는 1번 exon내 1517번째 염기인 G가 A로 치환되며 종결코돈이 생성되는 형태가 있다(Trp 75 Stop). 마지막 돌연변이 양상으로 4번 exon의 2127번째 염기 G가 A로 바뀔 때 따라 279번째 아미노산인 Asp가 Asn로 치환되는 형태가 보고되어 있다(Isosomppi et al., 2002; Klockars et al., 1999; Kopra et al., 2004; Mole et al., 1999)(Table 3).

6. CLN6(Valiant of Late-onset Infantile NCL, vLINCL)

CLN6는 염색체 15q21~q23에 존재하는 CLN6의 이상으로 발생하는 것으로 알려져 있고, 약 4~5세 사이에 주로 발병하고 CLN2 및 CLN3와 유사한 특징을 가지고 있으며(Wisniewski et al., 2001), 또한 성인형의 특징인 지문형(fingerprint) 봉입체 또는 과립성 호농성(granular osmiophilic) 봉입체를 보인다. 임상학적인 소견으로 진행성 치매와 진행성 시력상실을 동반하고, CLN6 유전자에 있는 2개의 homozygous 돌연변이는 542번부터 547번 사이의 G가 C로 치환되는 nonsense mutation이 보고되어졌고, 또한 663 위치의

C가 G로 치환되는 형태가 보고되어 있는데, 이로 인해 221번째 아미노산이 Tyr에서 stop codon으로 치환되는 결과가 야기된다(Siintola et al., 2005). Haines의 보고를 통해 코스 타리카 지역의 스페인 정착자의 자손 중에 late-onset infantile ceroid lipofuscinosis와 다른 모양의 CLN6가 확인되었다(Haines et al., 1998). 최근의 연구결과를 통해 CLN6 환자에게서 MnSOD(Manganese-dependent superoxide dismutase, SOD2)의 발현수준이 일부 섬유아세포에서 증가됨이 관찰되었고(Heine et al., 2003), 이러한 연구결과를 바탕으로 CLN6를 진단하기 위한 연구가 이루어지고 있다(Robertson et al., 2008).

7. CLN7(vLINCLTurk in LINCL)

CLN7은 MFSD8(major facilitator superfamily domain containing 8) 유전자의 돌연변이로 발생하고, 염색체 4q28.1~q28.2 부위의 CLN7 돌연변이로 인해 발생하는 것으로 알려져 있다. MFSD8 유전자의 5번째 exon에서 362번째 A가 G로 치환된 missense mutation이 발생되어 121번째 아미노산인 Tyr이 Cys으로 변화되는 현상이 관찰되었다. CLN7은 주로 5~10세 사이에 발병하며, 대부분 발작과 운동성의 손상이 나타나고, 인지능력 상실과 myoclonus(간대성 근경련), 언어능력의 상실과 시각의 손실 그리고 개인의 기능장애가 심화되게 된다. 임상적인 진단으로는 lymphocyte에 대한 전자현미경 관독이 이루어지고 있는데, 주로 fingerprint 윤곽이 보이며, 액포를 가진 lymphocyte의 부족현상이 확인되어진다(Stogmann et al., 2009). CLN7은 2004년 일부 터키인에게서 late-onset infantile CLN과 일치하지 않는 양상이 보고됨에 따라 발견되었다(Ranta et al., 2004). MFSD8은 리소솜에 주로 존재하는 518개 아미노산으로 이루어진 막 단백질이며(Siintola et al., 2005), 전자를 운반하는 단백질들에 대해 촉진자 역할을 수행하는 superfamily에 속한다. 현재 MFSD8내에 6개의 다른 돌연변이들이 관찰되었으나(Topcu et al., 2004), 아직 정확한 MFSD8의 기능은 밝혀져 있지 않

은 현실이다.

8. CLN8 및 Northern Epilepsy

CLN8은 33 kDa의 분자량을 가진 286개의 아미노산으로 구성되어 있으며, 소포체에 주로 존재하고, 소포체와 골지체 사이를 이동할 수 있는 단백질로 알려져 있다. 이외에도 추가 연구를 통해 극화된 세포(polarized cells) 내에 존재하는 것이 확인되었으나, 아직까지 정확한 기능이 밝혀져 있지 않다. 주로 5~10세 사이에 발병되고, 다른 CLN들과 동일하게 간질, 발작, 그리고 시신경의 손실이 발생한다(Mole et al., 2005). 8p23 유전자에 있는 돌연변이는 정신박약(progressive epilepsy with mental retardation, EPMR)을 가진 진행적인 간질과 연관되고, 이 유전자에 있는 돌연변이를 가진 환자는 sphingolipid 수준과 두뇌에 있는 phospholipids 수준이 변화되어 있음이 확인되었다(Ranta et al., 2004). CLN8과 동일 유전자의 돌연변이로 인해 발생하는 Northern epilepsy 질환이 보고되었는데, 이 질병은 핀란드에서 최초 관찰되었고, 이후 다른 나라에서는 아직 보고되지 않고 있다(Lofgren et al., 2009). Northern epilepsy는 증상적으로 약 5~10세 사이에 첫 번째 간헐적 경련이 포착되고 이후 2~5년 이내에 정신이상이나 나타난다. 지속적인 간헐성 발작, 진행성 간질과 정신박약, 시각의 손실과 간대성 근경련의 임상학적 특징을 보이지만 그 진행속도는 느린 편이며, 환자의 수명에는 영향을 주지 않는다. Northern epilepsy는 리소좀 내 물질의 축적현상이 발생하지 않고, 해마(hippocampus)의 CA2 부위의 신경원 손실만 나타난다(Carpenter & Karpati, 1986; Haltia et al., 2001). 성인형에서 대표적으로 관찰되는 lipopigment는 심장과 간, 신장에서 발견되며(Mole et al., 2005), 신경세포내 미토콘드리아 ATP synthase subunit c의 축적이 관찰되어진다(Herva et al., 2000). 성년이 된 후 운동장애가 발생하고, myoclonus(근간대성 근경련)증상은 관찰되지 않으며, 시력의 손실 또한 늦게 발생한다(Herva et al., 2000).

9. CLN9

CLN9 질병을 보유한 환자들의 경우 대부분 약 4~10세 사이에 독립적으로 걷지 못하는데, 약 6세경 시력의 저하와 발작을 보이며, 약 12세에 언어장애가 발생하게 된다. 그 후 약 15세경 이들에게서 과립상 물질의 축적으로 인해 팽창되

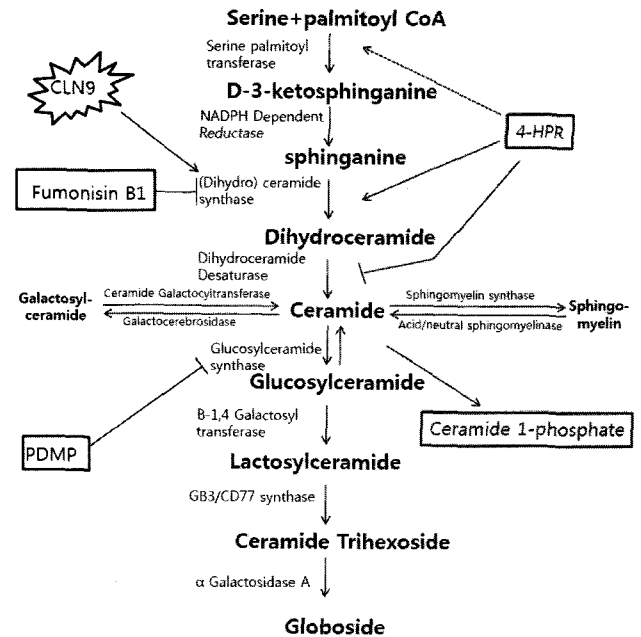


Fig. 5. Schematic diagram for sphingolipid synthetic pathway.

One of the Factors Associated with the CLN9 pathogenesis. (HPR; hydroxyphenyl retinamide, PDMP; 1-phenyl-2-decanoylamino-3-morpholinopropane-1-ol).

어진 신경들이 관찰되었고, 세포주기를 조절하는 효소의 발현이 증가하는 것이 관찰되었다. 또한, Schulz 등의 보고를 통해 CLN9 환자의 fibroblast내에서 dihydroceramide가 급격히 감소한 것이 확인되었다(Schulz et al., 2004). 현재까지 연구결과를 통해, 세포성장과 사멸에 중요한 기능을 수행하는 sphingolipid의 활성화와 억제를 통한 치료방법이 고려되고 있고, 이를 위해 4-HPR(4-hydroxyphenyl retinamide)를 활용한 치료 시도가 이루어지고 있다(Fig. 5). CLN9의 기능상실로 인해 fibroblast의 빠른 성장이 야기되고 세포사멸이 유도되며, ceramide, dihydroceramide, sphingomyelin의 수준이 낮아져 있음이 보고되었으나(Schulz et al., 2006), 현재까지는 CLN9에 대하여 많은 부분이 알려지지 않고 있다.

10. CLN10

CLN10 질병은 신경퇴행성 질환 중 하나로 처음 파키스탄인의 발병을 통해 알려지게 되었다. 이 질환은 리소좀 내 단백질 가수분해 효소인 cathepsin D gene(CTSD) 이상으로 발병한다고 추정되고 있으며, 염색체 11p15.5에 존재하는 CLN10 유전자의 이상으로 발병한다. 2개의 missence mutation이

CTSD gene에서 발생하는데, genomic DNA의 10267째 G가 C로 치환되는 Trp383Cys 돌연변이와 genomic DNA 6517번째 T가 A로 치환되는 Phe229Ile 돌연변이가 여기에 해당한다. 이러한 돌연변이를 통해 CTSD 효소는 활성을 잃는 것으로 알려져 있으며, 특히하게 macrophage와 astrocyte가 cerebral cortex 전체에서 다수 관찰된다. CLN10 질환은 주로 유아와 어린이에게서 발생하며, 인지능력 쇠퇴, 언어능력 상실 등과 같은 신경퇴행성 징후와 함께, 망막의 위축을 동반한 시력의 손상, 그리고 운동능력의 상실을 동반하는 임상학적 징후를 보인다. 정상인과 다르게 머리가 작아지는 이상 소두증, 호흡곤란, 영아 돌연사의 원인 중 하나로 알려져 있으며, 사후 뇌 검사 시 뇌의 위축과 경화된 신경질이 관찰되어진다(Fritch, et al., 2009).

결론

Neuronal ceroid lipofuscinosis(NCL)는 선천성 대사질환으로 분류되기도 하며, 임상적으로 진행성 치매, 간질, 근간대성 간질, 실명과 운동장애를 특징으로 하며, 12,500명 중 1명의 빈도로 발병하는 신경퇴행성 질환이다(Sleat et al., 2008). CLN 중 현재까지 가장 활발히 연구된 것은 CLN1과 CLN3이고, CLN1은 thioester linkage를 절단하는 PPT1 유

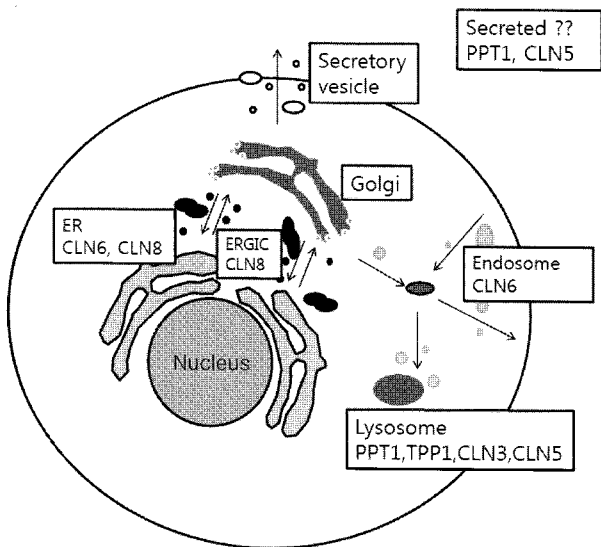


Fig. 6. Transmembrane and soluble location of CLNs. (ER; endoplasmic reticulum, ERGIC; ER-Golgi intermediate compartment).

전자에 발생한 돌연변이로 인한 효소의 기능상실에 의해 리소좀에 ceroid가 축적되어 발생한다. CLN3 또한 유전자의 돌연변이로 인해 발생하는 질환이며, 조직내의 리소좀 효소 결핍으로 축적된 물질이 자가형광물질을 생성하며, 특정지방이 뇌를 포함한 신체 다른 조직의 신경세포 내에 비정상적으로 축적되는 특징을 보인다. 각각의 CLN family 원인 단백질들은 막단백질 형태와 수용성 단백질 형태로 존재하지만 그들의 세포내 정확한 위치는 아직 명확하게 규명되지 않고 있다(Fig. 6). CLN family 중 일부는 현재까지 발병 원인 유전자가 밝혀지지 않은 것도 있고, 더불어 대부분의 CLN family에 대한 데이터가 아직 부족한 현실이나 전 세계적으로 높은 관심을 통해 다양한 연구가 시도되어지고 있으며, 앞으로의 연구결과에 대한 귀추가 주목되는 바이다.

인용문헌

Ahtiainen L, Kolikova J, Mutka AL, Liiro K, Gentile M, Ikonen E, Khiroug L, Jalanko A, Kopra O (2007) Palmitoyl protein thioesterase 1 (Ppt1)-deficient mouse neurons show alterations in cholesterol metabolism and calcium homeostasis prior to synaptic dysfunction. *Neurobiol Dis* 28:52-64.

Benedict JW, Sommers CA, Pearce DA (2007) Progressive oxidative damage in the central nervous system of a murine model for juvenile Batten disease. *J Neurosci Res* 85:2882-2891.

Boustany RM (1992) Neurology of the neuronal ceroid-lipofuscinoses: late infantile and juvenile types. *Am J Med Genet* 42:533-535.

Boustany RM, Filipek P (1993) Seizures, depression and dementia in teenagers with Batten disease. *J Inherit Metab Dis* 16:252-255.

Buff H, Smith AC, Korey CA (2007) Genetic modifiers of *Drosophila* palmitoyl-protein thioesterase 1-induced degeneration. *Genetics* 176:209-220.

Carpenter S, Karpati G (1986) Lysosomal storage in human skeletal muscle. *Hum Pathol* 17:683-703.

Cooper JD, Russell C, Mitchison HM (2006) Progress towards understanding disease mechanisms in small verte-

- brate models of neuronal ceroid lipofuscinosis. *Biochim Biophys Acta* 1762:873-889.
- Cotman SL, Vrbancac V, Lebel LA, Lee RL, Johnson KA, Donahue LR, Teed AM, Antonellis K, Bronson RT, Lerner TJ and others (2002) *Cln3*(Deltaex7/8) knock-in mice with the common JNCL mutation exhibit progressive neurologic disease that begins before birth. *Hum Mol Genet* 11:2709-2721.
- Elleder M, Dvorakova L, Stolnaja L, Vlaskova H, Hulkova H, Druga R, Poupetova H, Kostalova E, Mikulastik J (2008) Atypical CLN2 with later onset and prolonged course: a neuropathologic study showing different sensitivity of neuronal subpopulations to TPP1 deficiency. *Acta Neuropathol* 116:119-124.
- Ezaki J, Takeda-Ezaki M, Koike M, Ohsawa Y, Taka H, Mineki R, Murayama K, Uchiyama Y, Ueno T, Kominami E (2003) Characterization of *Cln3p*, the gene product responsible for juvenile neuronal ceroid lipofuscinosis, as a lysosomal integral membrane glycoprotein. *J Neurochem* 87:1296-1308.
- Fossale E, Wolf P, Espinola JA, Lubicz-Nawrocka T, Teed AM, Gao H, Rigamonti D, Cattaneo E, MacDonald ME, Cotman SL (2004) Membrane trafficking and mitochondrial abnormalities precede subunit c deposition in a cerebellar cell model of juvenile neuronal ceroid lipofuscinosis. *BMC Neurosci* 5:57.
- Fritchie K, Siintola E, Armao D, Lehesjoki AE, Marino T, Powell C, Tennison M, Booker JM, Koch S, Partanen S and others (2009) Novel mutation and the first prenatal screening of cathepsin D deficiency (CLN10). *Acta Neuropathol* 117:201-208.
- Frugier T, Mitchell NL, Tammen I, Houweling PJ, Arthur DG, Kay GW, van Diggelen OP, Jolly RD, Palmer DN (2008) A new large animal model of CLN5 neuronal ceroid lipofuscinosis in Borderdale sheep is caused by a nucleotide substitution at a consensus splice site (c.571+1G>A) leading to excision of exon 3. *Neurobiol Dis* 29:306-315.
- Futerman AH, van Meer G (2004) The cell biology of lysosomal storage disorders. *Nat Rev Mol Cell Biol* 5:554-565.
- Gdynia HJ, Sperfeld AD, Ludolph AC (2007) Adult-onset neuronal ceroid lipofuscinosis. *Nervenarzt* 78:139-140, 142-144.
- Goebel HH (1995) The neuronal ceroid-lipofuscinoses. *J Child Neurol* 10:424-437.
- Goebel HH, Kominami E, Neuen-Jacob E, Wheeler RB (2001) Morphological studies on CLN2. *Eur J Paediatr Neurol* 5 Suppl A:203-207.
- Golabek AA, Kaczmarek W, Kida E, Kaczmarek A, Michalewski MP, Wisniewski KE (1999) Expression studies of CLN3 protein (battenin) in fusion with the green fluorescent protein in mammalian cells *in vitro*. *Mol Genet Metab* 66:277-282.
- Gupta P, Soyombo AA, Atashband A, Wisniewski KE, Shelton JM, Richardson JA, Hammer RE, Hofmann SL (2001) Disruption of PPT1 or PPT2 causes neuronal ceroid lipofuscinosis in knockout mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 98:13566-13571.
- Haines JL, Boustany RM, Alroy J, Auger KJ, Shook KS, Terwedow H, Lerner TJ (1998) Chromosomal localization of two genes underlying late-infantile neuronal ceroid lipofuscinosis. *Neurogenetics* 1:217-222.
- Hald A, Lotharius J (2005) Oxidative stress and inflammation in Parkinson's disease: is there a causal link? *Exp Neurol* 193:279-290.
- Haltia M (2006) The neuronal ceroid-lipofuscinoses: from past to present. *Biochim Biophys Acta* 1762:850-856.
- Haltia M, Herva R, Suopanki J, Baumann M, Tyynela J (2001) Hippocampal lesions in the neuronal ceroid lipofuscinoses. *Eur J Paediatr Neurol* 5 Suppl A:209-211.
- Haskell RE, Carr CJ, Pearce DA, Bennett MJ, Davidson BL (2000) Batten disease: evaluation of CLN3 mutations on protein localization and function. *Hum Mol Genet* 9:735-744.
- Heine C, Tyynela J, Cooper JD, Palmer DN, Elleder M, Kohlschütter A, Bräulke T (2003) Enhanced expression of manganese-dependent superoxide dismutase in human

- and sheep CLN6 tissues. *Biochem J* 376:369-376.
- Herva R, Tyynela J, Hirvasniemi A, Syrjakallio-Ylitalo M, Haltia M (2000) Northern epilepsy: a novel form of neuronal ceroid-lipofuscinosis. *Brain Pathol* 10:215-222.
- Hobert JA, Dawson G (2006) Neuronal ceroid lipofuscinoses therapeutic strategies: past, present and future. *Biochim Biophys Acta* 1762:945-953.
- Isosomppi J, Vesa J, Jalanko A, Peltonen L (2002) Lysosomal localization of the neuronal ceroid lipofuscinosis CLN5 protein. *Hum Mol Genet* 11:885-891.
- Jalanko A, Vesa J, Manninen T, von Schantz C, Minye H, Fabritius AL, Salonen T, Rapola J, Gentile M, Kopra O and others (2005) Mice with Ppt1Deltaex4 mutation replicate the INCL phenotype and show an inflammation-associated loss of interneurons. *Neurobiol Dis* 18:226-241.
- Janes RW, Munroe PB, Mitchison HM, Gardiner RM, Mole SE, Wallace BA (1996) A model for Batten disease protein CLN3: functional implications from homology and mutations. *FEBS Lett* 399:75-77.
- Jarvela I, Lehtovirta M, Tikkanen R, Kyttala A, Jalanko A (1999) Defective intracellular transport of CLN3 is the molecular basis of Batten disease (JNCL). *Hum Mol Genet* 8:1091-1098.
- Jarvela I, Sainio M, Rantamaki T, Olkkonen VM, Carpen O, Peltonen L, Jalanko A (1998) Biosynthesis and intracellular targeting of the CLN3 protein defective in Batten disease. *Hum Mol Genet* 7:85-90.
- Kaczmariski W, Wisniewski KE, Golabek A, Kaczmariski A, Kida E, Michalewski M (1999) Studies of membrane association of CLN3 protein. *Mol Genet Metab* 66:261-264.
- Kalviainen R, Eriksson K, Losekoot M, Sorri I, Harvima I, Santavuori P, Jarvela I, Autti T, Vanninen R, Salmenpera T and others (2007) Juvenile-onset neuronal ceroid lipofuscinosis with infantile CLN1 mutation and palmitoyl-protein thioesterase deficiency. *Eur J Neurol* 14:369-372.
- Katz ML, Gao CL, Prabhakaram M, Shibuya H, Liu PC, Johnson GS (1997) Immunochemical localization of the Batten disease (CLN3) protein in retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 38:2375-2386.
- Kida E, Kaczmariski W, Golabek AA, Kaczmariski A, Michalewski M, Wisniewski KE (1999) Analysis of intracellular distribution and trafficking of the CLN3 protein in fusion with the green fluorescent protein *in vitro*. *Mol Genet Metab* 66:265-271.
- Kim SJ, Zhang Z, Hitomi E, Lee YC, Mukherjee AB (2006a) Endoplasmic reticulum stress-induced caspase-4 activation mediates apoptosis and neurodegeneration in INCL. *Hum Mol Genet* 15:1826-1834.
- Kim SJ, Zhang Z, Lee YC, Mukherjee AB (2006b) Palmitoyl-protein thioesterase-1 deficiency leads to the activation of caspase-9 and contributes to rapid neurodegeneration in INCL. *Hum Mol Genet* 15:1580-1586.
- Kim SJ, Zhang Z, Sarkar C, Tsai PC, Lee YC, Dye L, Mukherjee AB (2008) Palmitoyl protein thioesterase-1 deficiency impairs synaptic vesicle recycling at nerve terminals, contributing to neuropathology in humans and mice. *J Clin Invest* 118:3075-3086.
- Klockars T, Savukoski M, Isosomppi J, Peltonen L (1999) Positional cloning of the CLN5 gene defective in the Finnish variant of the LINCL. *Mol Genet Metab* 66:324-328.
- Kopra O, Vesa J, von Schantz C, Manninen T, Minye H, Fabritius AL, Rapola J, van Diggelen OP, Saarela J, Jalanko A and others (2004) A mouse model for Finnish variant late infantile neuronal ceroid lipofuscinosis, CLN5, reveals neuropathology associated with early aging. *Hum Mol Genet* 13:2893-2906.
- Kremmidiotis G, Lensink IL, Bilton RL, Woollatt E, Chataway TK, Sutherland GR, Callen DF (1999) The Batten disease gene product (CLN3p) is a Golgi integral membrane protein. *Hum Mol Genet* 8:523-531.
- Kyttala A, Lahtinen U, Bräulke T, Hofmann SL (2006) Functional biology of the neuronal ceroid lipofuscinoses (NCL) proteins. *Biochim Biophys Acta* 1762:920-933.
- Lofgren E, Pouta A, von Wendt L, Tapanainen J, Isojarvi JI, Jarvelin MR (2009) Epilepsy in the northern Finland birth cohort 1966 with special reference to fertility. *Epilepsy Behav* 14:102-107.

- Lou HC, Kristensen K (1973) A clinical and psychological investigation into juvenile amaurotic idiocy in Denmark. *Dev Med Child Neurol* 15:313-323.
- Luiro K, Kopra O, Blom T, Gentile M, Mitchison HM, Hovatta I, Tornquist K, Jalanko A (2006) Batten disease (JNCL) is linked to disturbances in mitochondrial, cytoskeletal, and synaptic compartments. *J Neurosci Res* 84: 1124-1138.
- Luiro K, Kopra O, Lehtovirta M, Jalanko A (2001) CLN3 protein is targeted to neuronal synapses but excluded from synaptic vesicles: new clues to Batten disease. *Hum Mol Genet* 10:2123-2131.
- Mitchison HM, Mole SE (2001) Neurodegenerative disease: the neuronal ceroid lipofuscinoses (Batten disease). *Curr Opin Neurol* 14:795-803.
- Mole SE, Mitchison HM, Munroe PB (1999) Molecular basis of the neuronal ceroid lipofuscinoses: mutations in CLN1, CLN2, CLN3, and CLN5. *Hum Mutat* 14:199-215.
- Mole SE, Williams RE, Goebel HH (2005) Correlations between genotype, ultrastructural morphology and clinical phenotype in the neuronal ceroid lipofuscinoses. *Neurogenetics* 6:107-126.
- Moore SJ, Buckley DJ, MacMillan A, Marshall HD, Steele L, Ray PN, Nawaz Z, Baskin B, Frecker M, Carr SM and others (2008) The clinical and genetic epidemiology of neuronal ceroid lipofuscinosis in Newfoundland. *Clin Genet* 74:213-222.
- Narayan SB, Pastor JV, Mitchison HM, Bennett MJ (2004) CLN3L, a novel protein related to the Batten disease protein, is overexpressed in *Cln3*^{-/-} mice and in Batten disease. *Brain* 127:1748-1754.
- Pearce DA, Sherman F (1997) *BTN1*, a yeast gene corresponding to the human gene responsible for Batten's disease, is not essential for viability, mitochondrial function, or degradation of mitochondrial ATP synthase. *Yeast* 13:691-697.
- Persaud-Sawin DA, McNamara JO, 2nd, Rylova S, Vandongen A, Boustany RM (2004) A galactosylceramide binding domain is involved in trafficking of CLN3 from Golgi to rafts via recycling endosomes. *Pediatr Res* 56:449-463.
- Phillips SN, Benedict JW, Weimer JM, Pearce DA (2005) CLN3, the protein associated with batten disease: structure, function and localization. *J Neurosci Res* 79: 573-583.
- Pierret C, Morrison JA, Kirk MD (2008) Treatment of lysosomal storage disorders: focus on the neuronal ceroid-lipofuscinoses. *Acta Neurobiol Exp (Wars)* 68:429-442.
- Pohl S, Mitchison HM, Kohlschutter A, van Diggelen O, Braulke T, Storch S (2007) Increased expression of lysosomal acid phosphatase in CLN3-defective cells and mouse brain tissue. *J Neurochem* 103:2177-2188.
- Qiao X, Lu JY, Hofmann SL (2007) Gene expression profiling in a mouse model of infantile neuronal ceroid lipofuscinosis reveals upregulation of immediate early genes and mediators of the inflammatory response. *BMC Neurosci* 8:95.
- Rakheja D, Narayan SB, Bennett MJ (2008) The function of CLN3P, the Batten disease protein. *Mol Genet Metab* 93:269-274.
- Rakheja D, Narayan SB, Pastor JV, Bennett MJ (2004) CLN3P, the Batten disease protein, localizes to membrane lipid rafts (detergent-resistant membranes). *Biochem Biophys Res Commun* 317:988-991.
- Ranta S, Topcu M, Tegelberg S, Tan H, Ustubutun A, Saatci I, Dufke A, Enders H, Pohl K, Alembik Y and others (2004) Variant late infantile neuronal ceroid lipofuscinosis in a subset of Turkish patients is allelic to Northern epilepsy. *Hum Mutat* 23:300-305.
- Robertson T, Tannenbergs AE, Hiu J, Reimers J (2008) 53-year-old man with rapid cognitive decline. *Brain Pathol* 18:292-294.
- Salonen T, Heinonen-Kopra O, Vesa J, Jalanko A (2001) Neuronal trafficking of palmitoyl protein thioesterase provides an excellent model to study the effects of different mutations which cause infantile neuronal ceroid lipofuscinosis. *Mol Cell Neurosci* 18:131-140.
- Salonen T, Jarvela I, Peltonen L, Jalanko A (2000) Detec-

- tion of eight novel palmitoyl protein thioesterase (PPT) mutations underlying infantile neuronal ceroid lipofuscinosis (INCL;CLN1). *Hum Mutat* 15:273-279.
- Santavuori P, Lauronen L, Kirveskari E, Aberg L, Sainio K, Autti T (2000) Neuronal ceroid lipofuscinoses in childhood. *Neurol Sci* 21:S35-S41.
- Schulz A, Dhar S, Rylova S, Dbaibo G, Alroy J, Hagel C, Artacho I, Kohlschutter A, Lin S, Boustany RM (2004) Impaired cell adhesion and apoptosis in a novel CLN9 Batten disease variant. *Ann Neurol* 56:342-350.
- Schulz A, Mousallem T, Venkataramani M, Persaud-Sawin DA, Zucker A, Luberto C, Bielawska A, Bielawski J, Holthuis JC, Jazwinski SM and others (2006) The CLN9 protein, a regulator of dihydroceramide synthase. *J Biol Chem* 281:2784-2794.
- Siintola E, Topcu M, Kohlschutter A, Salonen T, Joensuu T, Anttonen AK, Lehesjoki AE (2005) Two novel CLN6 mutations in variant late-infantile neuronal ceroid lipofuscinosis patients of Turkish origin. *Clin Genet* 68: 167-173.
- Sleat DE, El-Banna M, Sohar I, Kim KH, Dobrenis K, Walkley SU, Lobel P (2008) Residual levels of tripeptidyl-peptidase I activity dramatically ameliorate disease in late-infantile neuronal ceroid lipofuscinosis. *Mol Genet Metab* 94:222-233.
- Stogmann E, El Tawil S, Wagenstaller J, Gaber A, Edris S, Abdelhady A, Assem-Hilger E, Leutmezer F, Bonelli S, Baumgartner C and others (2009) A novel mutation in the MFSD8 gene in late infantile neuronal ceroid lipofuscinosis. *Neurogenetics* 10:73-77.
- Taschner PE, de Vos N, Breuning MH (1997) Cross-species homology of the CLN3 gene. *Neuropediatrics* 28:18-20.
- Terry JL, Rose-Mary NB, John WA, Kenneth LD, Karen-schlumpf, Alan JB, James F, Gusella & Jonathan H (1995) Isolation of a novel gene underlying Batten disease, CLN3. The International Batten Disease Consortium. *Cell* 82:949-957.
- Topcu M, Tan H, Yalnizoglu D, Usubutun A, Saatci I, Aynaci M, Anlar B, Topaloglu H, Turanli G, Kose G and others (2004) Evaluation of 36 patients from Turkey with neuronal ceroid lipofuscinosis: clinical, neurophysiological, neuroradiological and histopathologic studies. *Turk J Pediatr* 46:1-10.
- Vadlamudi L, Westmoreland BF, Klass DW, Parisi JE (2003) Electroencephalographic findings in Kufs disease. *Clin Neurophysiol* 114:1738-1743.
- Varilo T, Savukoski M, Norio R, Santavuori P, Peltonen L, Jarvela I (1996) The age of human mutation: genealogical and linkage disequilibrium analysis of the CLN5 mutation in the Finnish population. *Am J Hum Genet* 58:506-512.
- Wei H, Kim SJ, Zhang Z, Tsai PC, Wisniewski KE, Mukherjee AB (2008) ER and oxidative stresses are common mediators of apoptosis in both neurodegenerative and non-neurodegenerative lysosomal storage disorders and are alleviated by chemical chaperones. *Hum Mol Genet* 17:469-477.
- Wisniewski KE, Kida E, Golabek AA, Kaczmarek W, Connell F, Zhong N (2001) Neuronal ceroid lipofuscinoses: classification and diagnosis. *Adv Genet* 45:1-34.
- Zhang Z, Butler JD, Levin SW, Wisniewski KE, Brooks SS, Mukherjee AB (2001) Lysosomal ceroid depletion by drugs: therapeutic implications for a hereditary neurodegenerative disease of childhood. *Nat Med* 7:478-784.
- Zhang Z, Lee YC, Kim SJ, Choi MS, Tsai PC, Saha A, Wei H, Xu Y, Xiao YJ, Zhang P and others (2007) Production of lysophosphatidylcholine by cPLA2 in the brain of mice lacking PPT1 is a signal for phagocyte infiltration. *Hum Mol Genet* 16:837-847.
- Zhang Z, Lee YC, Kim SJ, Choi MS, Tsai PC, Xu Y, Xiao YJ, Zhang P, Heffer A, Mukherjee AB (2006) Palmitoyl-protein thioesterase-1 deficiency mediates the activation of the unfolded protein response and neuronal apoptosis in INCL. *Hum Mol Genet* 15:337-346.

(received 7 April 2009, received in revised form 3 June 2009, accepted 4 June 2009)