

Keystone Symposia : Adipose Tissue Biology 학회 참관기

A Report on the Keystone Symposia-Adipose Tissue Biology

황진택 | 바이오제론연구단

Jin-Taek Hwang | Biogeron Food Technology Research Group

출장목적

미국 콜로라도에서 개최하는 Keystone Symposia : Adipose Tissue Biology 에 참석하여 비만 예방 기능성 식품소재 발굴 연구를 위한 효능 평가법 및 세포 내 작용기작 전반에 대한 최신 학술정보 수집하였다.

학회 개요

- 학회명 : Keystone Symposia : Adipose Tissue Biology
- 일시 : 2010. 1. 23 ~ 1. 29
- 장소 : 미국 콜로라도주 키스톤 컨퍼런스 센터
- 개요 : 키스톤 symposia는 1972년에 처음으로 UCLA Symposia on Molecular and Cellular Biology로 출발하여 지금의 scientific conference로 발전하게 되었다. 연간 50회 이상의 conference를 개

최하며 각각의 meeting마다 250명 이상의 학회 참가자를 기록하고 있다.

발표내용

주요 발표내용

세포의 에너지 balance를 유지하기 위한 gene networking의 탐색은 비만 당뇨와 관련된 metabolism에 있어서 매우 중요한 열쇠가 된다. 그 중에서 SIRT 1(NAD⁺-dependent deacetylase SIRT 1)은 노화와 관련된 매우 중요한 유전자이면서 에너지 대사에 관여하는 단백질로서 베타세포에서 insulin expression과 secretion을 촉진한다. 또한 지방세포 조절에 중요한 cytokine인 adiponectin의 발현과 분비를 촉진하여 인슐린 감수성을 증가시키는 역할을 한다. 다양한 세포타입에서 glucose, 지방산 그리고 콜레스테롤의 대사에 있어서 SIRT-1은 PPAR-gamma 및 PGC-1alpha의 발현 및 전사

활성을 조절하여 세포에 beneficial effect를 가져다 준다.

SIRT-1은 PPAR-gamma의 negative regulator로서 지방세포의 축적을 방해하게 되는데 실험적인 데이터로서 SIRT-1을 knock out시킨 mice는 white adipose tissue의 축적을 증가시키는 것으로 증명하였으며, 이와는 반대로 SIRT-1은 PGC-1alpha의 positive regulator로서 PGC-1alpha를 증가시키고 지방산 산화를 촉진하는 것으로 나타났다. 최근에는 SIRT-1이 인슐린 감수성 개선인자인 IRS2를 deacetylation시킴으로서 인슐린의 감수성을 개선시키는 것으로 나타났다.

Target of rapamycin(TOR)는 serine/threonine protein kinase로서 mammalian에서 세포의 성장과 survival, protein synthesis 및 transcription을 조절하는 대표적인 단백질이다. Intracellular rapamycin receptor는 ubiquitous protein인 FKBP12(FK506-binding protein, molecular mass of 12 kDa)이다. Mammalian protein mTOR는 289 kDa으로서 down stream의 S6Kinase를 활성화시킨다. 그리고 또한 eEF2의 활성을 억제하여 protein의 합성을 조절하게 된다. 최근에 TOR는 인

슐린이나 growth factor에 의해 활성화 되는데 이것의 dysregulation은 암과 같은 질병의 발생을 촉진하기도 한다. 이 단백질을 타겟으로 하는 rapamycin은 TOR단백질의 억제제로서 항암제로 쓰이는 대표적인 약물이다. Oldman group에서는 초파리를 이용하여 high fat diet 유도된 비만의 gene을 연구한 결과 nutrient에 의해 반응하여 target of rapamycin(TOR) 단백질이 활성화 되는 것을 확인하였다. TOR은 high fat diet의해 유도된 비만으로 인한 심장질환으로부터 기능을 보호하는 것으로 나타났다.

Macrophage는 염증반응에 의해 활성화 되는 것으로 외부로부터의 infection이나 damage를 sensing하는 역할을 한다. 최근에는 이들이 adipose tissue에서 발견이 되는데, obesity는 plasminogen activator inhibitor-1(PAI-1), C-reactive protein (CRP), TNF-alpha and IL-6 같은 proinflammatory cytokine들의 분비를 촉진시킨다.

이렇게 분비되어진 TNF-alpha, IL-6와 monocyte chemoattractant protein-1(MCP-1)는 circulating level 또한 증가시키며 결론적으로 adiposity와 insulin resistance에 영향을 미치게 된다. 실험적으



그림 1. 각 세션 발표 및 청취 모습

로 증명한 데이터에서, LPS-stimulated J774 macrophages medium을 differentiated 3T3-L1 adipocytes에 처리한 후 insulin으로 glucose uptake를 측정할 결과 glucose uptake가 감소하는 것으로 나타났다. 이들의 작용기작은 GLUT4 와 IRS-1 expression을 감소하여 인슐린 저항성을 나타내는 것으로 나타났다. 결과로 알 수 있는 것은 macrophage에서 분비된 cytokine들은 인슐린 저항성을 일으키는 것으로 보인다.

Preadipocyte factor 1(Pref-1)은 epidermal growth factor-like repeat-containing proteins의 Notch/Delta/Serrate family로서 3T3-L1 preadipocyte에 많이 발현된다. Pref-1은 transmembrane protein으로 50-kDa의 soluble form 과 small soluble forms으로 구성된다. 이중에 50-kDa soluble form은 ADAM family member, tumor necrosis factor-converting enzyme(ADMA 17)에 의해 released된다. 또한 이것은 adipocyte differentiation동안 발현이 억제된다. 그래서 Pref-1은 adipogenesis의 강력한 억제 단백질이 되는데 실험적으로 Pref-1의 constitutive expression은 adipogenesis를 억제한다. 분자적 메커니즘을 확인하기 위하여 세포 실험을 시행한 결과 Pref-1은 MEK/ERK신호전달 경로를 활성화 시키는 것으로 나타났다. 또한 이들을 *in vivo* 모델에서 확인한 결과, sox-9과 interaction하여 지방세포 억제효과를 나타내는 것으로 확인하였다. 이와 더불어 Sul et al은 또한 *in vivo* 모델에서 mice lacking Pref-1은 fat deposition을 증가시키는 것을 확인했고, 이와 반대로 mice overexpressing soluble Pref-1은 fat mass를 감소시키는 것으로 확인하여 Pref-1이 지방의 축진을 억제 할 수 있는 인자로서 제시하였다.

Wnt signaling pathway는 원래 초과리의 날개 형

성에 중요한 역할을 하는 단백질로 알려져 있어서 이것의 돌연변이에 의해 초과리의 날개 형성이 억제 되는 것으로 발견하게 되었다. 최근 이 Wnt 신호전달계는 세포의 성장 및 분화에도 영향을 미치는 것을 발견하게 되었는데 종양유전자인 APC를 억제하여 종양을 촉진시키는 단백질로도 발견하게 되었다. 따라서 다양한 항암제들이 이 Wnt 신호전달계를 표적으로 하여 개발되어지고 있다. Wnt pathway는 외부로부터 신호를 받아 cell-surface receptors 인 frizzled family와 binding을 하고 이 결과 dishevelled family proteins을 활성화 시키게 되어 β -catenin을 조절하여 이것이 핵으로의 이동을 증가시키게 된다. Dishevelled(DSH)는 membrane-associated Wnt receptor complex의 key component 로서 second complex 인 axin, GSK-3, 그리고 protein APC를 억제한다. Axin/GSK-3/APC complex는 원래 β -catenin intracellular signaling molecule의 degradation을 촉진한다. 이에 따라 cytoplasmic β -catenin은 안정화 되게 되고 β -catenin은 nucleus으로 이동하여 TCF/LEF family transcription factors와 binding하게 되고 specific gene expression을 증가시키게 된다. 몇몇의 protein kinases와 protein phosphatases는 Wnt receptor complex와 상호 조절하는 것으로 알려지고 있는데 casein kinase 또는 GSK3에 의한 cytoplasmic domain LRP의 Phosphorylation은 axin과 LRP의 binding을 조절한다. GSK3에 의한 β -catenin의 인산화 또한 β -catenin의 destruction을 유도한다. 이 Wnt/beta catenin 신호전달계는 최근에 adipocyte differentiation의 중요한 조절자로서 밝혀지게 되었는데, Wnt10b는 adipocyte differentiation을 억제하는 것으로 밝혀졌고 골다공증의 예방에 중요한 osteoblastogenesis의

중요한 transcription factor의 expression에 중요한 역할을 하는 것으로 나타났다.

Wnt 신호전달의 두 가지 중요한 인자인 frizzled 4와 secreted frizzled-related protein 5(sFRP5)는 adipogenesis시 발현이 증가하는 것으로 나타났다. 따라서 이들의 Wnt related protein signaling의 억제에는 암세포의 억제 뿐만 아니라 지방세포의 억제에 중요한 타겟이 될 수 있음을 알게 되었다.

Matrix metalloproteinases(MMP)는 MMP라고도 불리며 23가지의 다른 형태의 효소 그룹이다. 이들 중 MMP-1은 콜라겐 분해효소로 잘 알려져 있으며 콜라겐 분해를 담당한다. 최근에 matrix metalloproteinase(MMP)의 adipose tissue의 pathophysiology를 mouse model을 이용하여 증명하였는데, MMP-8을 제외하고 모든 MMP and TIMP transcription이 양쪽의 gonadal과 subcutaneous fat depots에서 발견되었다. Obese mice에서 MMP-3, -11, -12, -13, -14와 TIMP-1 mRNAs는 발현이 증가하였고, MMP-7, -9, -16, -24와 TIMP-4는 발현이 감소하였다.

대부분의 MMP와 TIMP mRNAs는 mature adipocytes 보다 stromal-vascular cells에서 과발현되는 것을 관찰할 수 있었다. *in vitro*에서 3T3-F442A cells을 이용하여 mature adipocytes로 전환될 때 MMP와 TIMP expression의 substantial modulations이 일어났다. 또한 *in vitro* 이들의 결과로 adipose tissue는 MMPs와 TIMPs의 발현을 증가시키며 이들을 타겟으로 한 약물이 지방세포의 분화를 억제할 수 있음을 알게 되었다.

Toll-like receptor(TLRs)는 pattern recognition receptor로서 innate immune system을 조절하여 host defence에 중요한 역할을 한다. 최근의 연구

에서 TLR-4의 null mice가 obesity induced diabetes를 예방할 수 있음이 밝혀졌는데 연구진들은 이들의 역할에서 immune system이 중요한 역할을 할 것임을 추측하고 실험을 진행하였다. TLR2, TLR3 그리고 TLR4의 ligand stimulation은 IL-6, IL-8 그리고 MCP-1 등의 proinflammatory cytokine의 발현을 증가시키는 것을 관찰하였다. 이로서 TLR signaling은 human adipocyte에서 비만에 의해 유도된 염증, insulin resistance 및 dyslipidemia에 중요한 factor임을 알게 되었다.

MDM2는 P53 tumor suppressor의 negative regulator로서 p53과 binding하고 p53 transcriptional activity를 억제하게 된다. 여러 가지 MDM의 조절 메커니즘이 있는데 Mdm2는 다양한 site에 인산화가 이루어지게 된다. DNA damage에 의해 phosphorylation된 Mdm2는 p53의 protein function과 stabilization에 영향을 주게 된다. 여기에 더하여 central acidic domain of Mdm2은 target인 p53의 degradation을 촉진하게 된다. 이와 같은 MDM2의 암세포에서의 역할과 더불어 최근에 비만에서도 중요한 역할을 하는 것이 밝혀지게 되었는데, MDM2는 PPAR gamma 2의 발현을 증가시키는 전사활성의 cascade에 관여하는 것으로 발견하게 되었다.

Retinoblastoma gene(RB1)은 tumor suppressor gene으로 처음 발견되어지게 되었는데 E2F transcription factors family를 억제함으로써 세포의 증식을 억제하는 것으로 밝혀지게 되었다.

최근에는 pRb가 지방세포 분화에 중요한 역할을 하는 것으로 밝혀지게 되었는데 이들은 지방세포 분화에 있어서 induction되는 몇몇 gene들의 활성을 조절하는 것으로 밝혀졌다. PPAR(peroxisome

proliferator acceptor receptor) 와 C/EBP families는 지방세포 분화에서 중요한 역할을 하며 RB는 C/EBP proteins과 cognate DNA sequences와의 binding을 촉진하고, 이 결과로서 C/EBP β responsive promoter의 transactivation을 증가시키게 된다. 또 다른 실험적 증거는 pRb deficient MEF cells은 adipogenesis의 억제체를 유도한다. 또한 ELF7 pRb null cells 역시 adipogenic differentiation을 억제하고 반대로 pRb (+/+) ELF1 cells은 differentiation을 증가시키게 된다.

LKB1의 mutation은 peutz-Jeghers syndrome(PJS)을 증가시키는 melanocytic macules, hamartomatous polyps 또는 numerous cancers의 risk를 증가시킨다. Human LKB1(hLKB1) gene은 serine/threonine protein kinase로서 이 역시 지방세포에서 중요한 역할을 하는 것으로 최근에 밝혀지고 있는데, adipogenesis에서 중요한 역할을 하는 CREB mediated gene expression이 LKB1과 그것의 down stream인 AMP-activated protein kinase에 의해서 억제됨을 알아내게 되었다. siRNA를 이용한 LKB1의 knock down은 CREB mediated lipogenic gene expression을 증가시키는 것으로 나타나게 되어, LKB1이 비만 억제의 새로운 타겟이 될 수 있음을 알게 되었다.

접촉인사

Dr. Jeffrey M. Friedman, Rockefeller University,
USA

Dr. Silvia Corvera, University of Massachusetts
Medical School, USA

Dr. 김민선, 울산대학교 의과대학

Dr. 권오주, 카톨릭대학교 의과대학

종언

Keystone Symposia: Adipose tissue biology 학회는 하나의 compound가 지방세포분화를 억제하거나 지방세포의 산화를 촉진할 때 일어날 수 있는 세포내 작용기작을 아주 자세하게 그리고 논리적으로 증명된 데이터를 제공하였다. 또한 세포수준의 연구결과와 더불어 동물실험에서의 효능과 작용기작을 설명함으로써 데이터의 신뢰성 면에서 매우 우수한 발표 자료들이 많았다.

특히 흥미로웠던 점은 세포수준으로부터 증명된 데이터를 가지고 인체의 성형수술에까지 적용하며, 이들의 효과를 분자수준에서 설명하는 등 *in vitro*에서 인체실험까지의 다양한 적용법들이 소개되었다.

이에 더하여 하나의 기능성 식품을 개발하기 위해 꼭 증명되어야 할 세포수준에서의 현상 및 작용기작 그리고 이들 수수께끼를 푸는 과정이 소개되었으며, 동물실험, 인체시험 및 인체적용까지의 광범위한 실험적 증거들을 경험 할 수 있는 좋은 기회였다. 특히 Neurobiology와의 joint meeting으로 내용면에서 다양한 지식을 습득할 수 있는 유익한 학회였다.