

## *Helicobacter pylori*에 감염된 위상피세포에서 14-3-3 결합 단백질의 변화

†정혜연

승의여자대학 식품영양과

### 14-3-3-Associated Proteins in *Helicobacter pylori*-Infected Gastric Epithelial Cells

†Hae-Yun Chung

Dept. of Food and Nutrition, Soongyei Women's College, Seoul 100-751, Korea

#### Abstract

14-3-3 is a highly conserved, ubiquitously expressed protein family. It associates with diverse cellular proteins through its specific phosphoserine/phosphothreonine-binding activity and thus contributes to the regulation of crucial cellular processes such as metabolism, signal transduction, cell-cycle control, apoptosis, protein trafficking, transcription and stress responses. This study aims to determine changes in levels of 14-3-3 isoforms and 14-3-3 - associated proteins in *Helicobacter pylori*(*H. pylori*)-infected gastric epithelial AGS cells. AGS cells were stimulated with *H. pylori*(NCTC 11637) at the ratio of 300:1(bacterium:cell). Western blot analysis revealed that 14-3-3  $\sigma$  was elevated at 3 hr after *H. pylori* treatment. Other isoforms were not significantly affected by *H. pylori* infection. Using immunoprecipitation to 14-3-3  $\sigma$ , followed by proteomic analysis, we found that S phase kinase associated protein isoform 2 bound to 14-3-3  $\sigma$  has increased. In contrast, three proteins (DEAD-box polypeptide 3, heterogeneous nuclear ribonucleoprotein H2 and WD repeat-containing protein isoform 1) bound to 14-3-3 decreased by *H. pylori* infection. Our results suggest that 14-3-3 may play an important regulatory role in *H. pylori*-induced signal transduction in gastric epithelial cells.

Key words: *Helicobacter pylori*, gastric epithelial cells, 14-3-3, 14-3-3 associated proteins, proteomics

#### 서론

*Helicobacter pylori*(*H. pylori*)는 나선형 미생물로서, 만성 위염, 소화성 궤양, 위선암, 위림프종 등 각종 위장관 질환의 위험인자이며, NIH가 지정한 1급 발암물질이다(NIH Consensus Conference 1994; Blaser 1999). 우리나라의 경우 성인의 약 60%가 *H. pylori*에 감염된 것으로 보고되었으며, 내과에 내원한 소화성 궤양 환자의 *H. pylori* 감염률은 90.1%에 달한다(Cho JJ 1999; Yim 등 2007).

*H. pylori*에 감염되었을 때 위장관 질환의 발생이 증가하는 이유는 여러 가지이다. *H. pylori*의 요소분해효소에 의해 생성

되는 암모니아는 위점막을 손상시켜 질환 발생에 기여한다. 또 *H. pylori*가 분비하는 vacuolating cytotoxin A(VacA), cytotoxin-associated protein A(CagA), induced by contact with epithelium (IceA) 단백질 등의 병독인자가 질환 발생 위험을 가중시킨다고 알려져 있다(Tsujii 등 1992; Miehke 등 2001).

*H. pylori* 감염이 야기하는 염증반응도 위장관 질환 발생과 밀접한 관련이 있다. 사람의 위장관 상피세포는 세균이나 독소와 같은 외부 침입원에 대해 다양한 케모카인을 발현하는데, 이들은 면역세포와 상피세포에서 분비되어 체내의 면역 반응을 조절하는 단백질이다. *H. pylori*에 감염된 인체 위조직에서도 IL-8, MCP-1, TNF- $\alpha$ , IL-6 등의 케모카인이 분비되어

† Corresponding author: Hae-Yun Chung, Dept. of Food and Nutrition, Soongyei Women's College, Seoul 100-751, Korea. Tel: +82-2-3708-9119, Fax: +82-2-3708-9121, E-mail: hchung02@sewc.ac.kr

염증반응을 일으키는데 관여한다(Tsai & Hsu 2010).

한편, *H. pylori*에 감염된 위상피세포에서는 단백질 발현이 특이적으로 변화하는데, 이런 변화도 위장관 질환 발생과 연관되어 있는 것으로 보인다(Backert 등 2005; Chan 등 2006). Chan 등은 프로테오믹스 실험 결과, *H. pylori*로 감염시킨 위상피세포에서 20여 가지 단백질의 발현양상이 변화했음을 관찰하였고, 이들 중 특히 14-3-3  $\beta$ , valosin-containing protein, mitochondrial matrix protein P1, T-complex protein 1, enolase  $\alpha$  등은 암조직에서도 발현이 증가되어 있다고 보고하였다. 국내 선행 연구에서도 *H. pylori*에 감염된 위상피세포에서 14-3-3 protein  $\alpha/\beta$ , cullin homolog 3,  $\alpha$ -enolase 및 ezrin 등의 발현이 현저히 증가한 것을 관찰하였다(Lim 등 2004).

이들 단백질 중 14-3-3은 1967년 Moore와 Perez에 의해 처음 규명된 30kDa 정도의 산성 단백질이다(Moore & Perez 1967). 포유류에는  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\epsilon$ ,  $\sigma$ ,  $\zeta$ ,  $\tau$ ,  $\eta$  등 7개의 아이소형이 존재하며, 이들은 동종이합체 혹은 이질이합체의 형태로 다른 단백질과 결합한다. 14-3-3과 결합하는 단백질들은 모두 인산화된 세린 혹은 트레오닌을 갖고 있으며, 주된 결합 모티프는 RSXpSXP와 RXXXpSXP이다(Jones 등 1995; Yaffe 등 1997). 최근에는 결합 모티프에 속하지 않는 아미노산이 14-3-3과 인산화된 결합 단백질 사이의 상호작용을 안정화시킴으로써 복합체 형성에서 중요한 역할을 한다는 사실이 밝혀졌다(Uhart 등 2011).

14-3-3은 세포주기, 세포자멸사, 단백질 이동, 전사, 스트레스 반응, 발암과정 등 다양한 세포대사의 조절에 관여하는 것으로 밝혀졌으나, 그 작용기전은 완전히 밝혀지지 않았다. 한 가지 모델은 14-3-3이 결합 단백질의 구조를 변화시켜 그들의 기능적 모티프를 감추거나 혹은 드러냄으로써 그들의 위치, 안정성 또는 활성을 조절한다는 것이다(Yaffe MB 2002). 한편,  $\alpha 6\beta 4/\alpha 3\beta 1$  인테그린과 Ron 수용체 티로신 키나아제의 경우에서 보듯이 14-3-3이 두 단백질 간의 결합을 조정하는 어댑터 역할을 하기도 한다(Santoro 등 2003).

본 연구에서는 선행 연구에서 *H. pylori*에 감염된 위상피세포에서 발현이 증가하는 것으로 관찰된 14-3-3에 대해 연구하고자 하였다. 14-3-3은 다른 단백질과의 결합 및 해리를 통하여 세포대사에 관여하므로, 본 연구에서는 *H. pylori* 감염 시 14-3-3과의 결합이 증가하거나 혹은 감소하는 단백질을 규명하고자 하였다.

## 연구방법

### 1. 세균주

NCTC 11367 균주의 *H. pylori*는 American Type Culture Collection(Rockville, MD, USA)에서 구입하였다. 초콜릿 우무

평판(Becton Dickinson Microbiology Systems, Cockeysville, MD, USA)에 접종하여 무산소배양통(BBL Campy Pouch<sup>®</sup> System, Becton Dickinson Microbiology Systems)을 이용하여 미세 산소 환경에서 배양하였다.

### 2. 세포주와 배양조건

인간 위상피세포 AGS(위 선암종, ATCC CRL 1739)는 American Type Culture Collection에서 구입하였다. 10% FBS, 2 g/l 중탄산염나트륨, 1% 항생제를 첨가한 RPMI 1640 배지에서 배양하였다.

### 3. AGS와 *H. pylori*의 배양

10 cm 배양접시에  $5 \times 10^6$ 개의 AGS세포를 시딩한 후 접시의 80%를 덮을 때까지 키웠다. 한편, *H. pylori*는 PBS로 세척한 후 무항생제 배지에 현탁하였다. 그 후 세균과 세포의 비율이 300:1 이 되도록 *H. pylori* 현탁액을 세포에 첨가하여 추가 배양하였다.

### 4. 웨스턴 블롯

*H. pylori*에 감염된 AGS세포의 단백질 발현 변화를 살펴보기 위해 웨스턴 블롯을 실시하였다. AGS세포에 *H. pylori*를 처치한 후 시간에 따라 회수하고, 용해용액(10mM Tris, 0.15M NaCl, 1% NP-40, 1  $\mu\text{g/ml}$  단백질 분해효소 억제제)을 넣어 균질화하였다. 이를 원심분리하여 전체 단백질을 얻은 후 8~30  $\mu\text{g}$ 의 단백질을 SDS-폴리아크릴아미드겔에서 전기영동하였다. 겔에 있는 단백질을 Hybond-PVDF막(Amersham Inc., IL, USA)으로 옮기고 5% 탈지분유를 포함한 TBST 차단완충액으로 차단하였다. 그 후 각각의 1차 항체를 포함한 TBST에 막을 넣고 4°C에서 하룻밤 동안 반응시켰다. 1차 항체와 반응이 끝난 막을 다시 horseradish peroxidase-conjugated 2차 항체에 반응시킨 후 ECL system(Amersham)을 이용하여 단백질의 발현 정도를 측정하였다. 막을 항 actin 항체와 다시 반응시켜 일정한 양의 단백질을 사용하였는지 확인하였다.

### 5. 면역침전법

14-3-3  $\sigma$ 에 결합한 단백질을 분리추출하기 위해 면역침전법을 실시하였다. *H. pylori*를 처치한 세포와 대조군 세포에 추출용액(100mM NaCl, 10mM Tris, 1mM EDTA, 1mM EGTA, 1% NP-40, 0.5% deoxycholate, 10% glycerol, 1  $\mu\text{g/ml}$  단백질 분해효소 억제제)을 넣고 균질화한 후 원심분리하여 상층액을 분리하였다. 단백질 정량 후 3 mg의 단백질을 취하고 anti-14-3-3  $\sigma$  항체를 더하여(2  $\mu\text{g/ml}$ ) 4°C에서 2시간 동안 진탕하였다. 여기에 protein G agarose를 첨가하여 하룻밤 동안 진탕한 후 원심분리하여 protein G agarose에 결합한 14-3-3 결합 단백질을 회수하였다.

## 6. 프로테오믹스

### 1) 단백질 추출

Protein G agarose에 결합한 14-3-3 결합 단백질에 추출용액 (5M urea, 2M thiourea, 2% CHAPS, SB3-10, 40mM Tris, 0.2% carrier ampholyte, 5mM tributyl-phosphate)을 넣고 교반한 후 원심분리하여 상층액을 취하였다. Bradford protein assay(Bio-Rad, Hercules, CA, USA)를 이용하여 단백질을 정량하였다.

### 2) 1차원 및 2차원 전기영동

1차원 등전점 전기영동을 위해 단백질 3 mg과 재수화 용액을 혼합한 후 IPG strip(pH5-8, BioRad)에 넣고 하룻밤 동안 재수화시켰다. 그 후 60,000 VH, 20°C에서 1차원 전기영동을 한 후 IPG strip을 20 mg/ml DTT와 25 mg/ml iodoacetamide를 함유한 평형 완충용액(6M urea, 150mM Tris-HCl pH 8.8, 2% SDS, 30% glycerol, 2% DTT)에 각각 15분간 담가 반응을 시켰다. 완충반응이 끝난 IPG strip을 11% SDS-폴리아크릴아미드겔(1.5 mm, 20×20 cm)에 놓고 하룻밤 동안 2차원 전기영동을 하였다.

### 3) Coomassie Brilliant Blue G-250 염색과 이미지 분석

전기영동이 끝난 겔을 50% 메탄올, 2% 인산을 함유한 고정용액에 넣어 겔에 있는 단백질을 고정시켰다. 그 후 Coomassie brilliant blue G-250을 함유한 염색용액(34% 메탄올, 17% ammonium sulfate, 35% 인산, 0.1% Coomassie brilliant blue G-250)에 넣어 단백질을 가시화하였다. 염색된 겔은 GS 690 Imaging densitometer(Bio-Rad)로 스캔하여 디지털화하였다. 그 후 Melanie 프로그램(Swiss Institute of Bioinformatics, Geneva, Switzerland)을 이용하여 변화된 단백질 spot을 선별하였다. *H. pylori* 처치 시 14-3-3에 대한 결합이 1.5배 이상 증가 혹은 감소한 spot을 분리하여 추후 분석을 하였다. Coomassie brilliant blue G-250으로 spot을 가시화한 겔의 표본을 Fig. 2에 제시하였다.

### 4) In-gel Digestion

*H. pylori* 처치 시 14-3-3에 대한 결합이 증가 혹은 감소한 spot을 겔에서 잘라 튜브에 넣고 in-gel digestion을 실시하였다. 우선 125mM ammonium과 acetonitrile(1:1, v/v)의 혼합액으로 겔을 세척한 후 진공건조하였다. 건조된 겔 조각에 0.01 μg/μl 트립신을 함유한 25mM ammonium bicarbonate(pH 8.0) 용액을 넣고 37°C에서 하룻밤 동안 진탕하여 단백질을 가수분해하였다. 여기에 50% acetonitrile과 0.25% TFA를 함유한 용액을 넣고 37°C에서 10분간 진탕한 후 상층액을 취하여 가수분해된 펩타이드를 추출하였다. 추출된 펩타이드는 진공건조하여 다음 단계를 준비하였다.

### 5) MALDI-TOF/Q-TOF를 이용한 단백질 분석

튜브에 5% 포름산을 함유한 용액을 첨가하여 펩타이드를 녹인 뒤 matrix와 섞어 시료를 준비하였다. Matrix는 α-cyano-4-hydroxy-trans-cinnamic acid 용액을 사용하였다. 시료를 MALDI-TOF/Q-TOF에 주입하여 펩타이드의 질량값을 분석하였다. 그 후 생물정보학 기법을 이용하여 질량값 측정분석을 통해 얻어진 데이터로부터 단백질을 동정하였다. 생물정보학 분석을 위해서는 Protein Prospector의 MS-Fit module을 이용하였다 (<http://prospector.ucsf.edu/prospector/cgi-bin/msform.cgi?form=msfitstandard>).

## 결과 및 고찰

### 1. *Helicobacter pylori* 처치 후 AGS 세포에서 14-3-3 단백질 발현의 변화

*H. pylori*가 위상피세포의 14-3-3 단백질 발현에 미치는 영향을 알아보기 위해 AGS 세포에 *H. pylori*를 1:300의 비율로 처리한 후 웨스턴블롯 실험을 통해 14-3-3의 단백질 양을 분석하였다. 그 결과 포유류에 존재하는 14-3-3의 7가지 아이소형 중 σ형의 발현이 *H. pylori* 처치 후 3시간에 증가하는 것을 관찰하였다. 그러나 *H. pylori* 처치 후 6시간에는 기저 수준으로 돌아왔으며, 처치 시간이 길어질수록 14-3-3 σ형의 양이 점차 감소함을 관찰할 수 있었다(Fig. 1). 나머지 아이소형은 *H. pylori* 처치 후에도 단백질의 양이 크게 변화하지 않았다. AGS 세포에 *H. pylori*를 처치했을 때 14-3-3의 아이소형 중 σ형의 발현이 가장 뚜렷하게 변화하므로 추후의 연구에서는 14-3-3 σ형에 한정하여 실험하였다. 한편, *H. pylori* 처치 후 3시간에 14-3-3 σ형의 발현이 가장 큰 변화를 보였으므로 *H. pylori* 처치 후 3시간에 세포를 수확하여 추후 실험을 하였다.

### 2. *Helicobacter pylori* 처치 시 14-3-3에 대한 결합이 변화하는 단백질의 규명

*H. pylori*를 처치한 세포(*H. pylori* 군)와 처치하지 않은 세포(None군)에서 14-3-3 σ에 결합한 단백질을 분리하여 전기영동을 실시하였다(Fig. 2). 2차원 전기영동 후 얻은 겔을 비

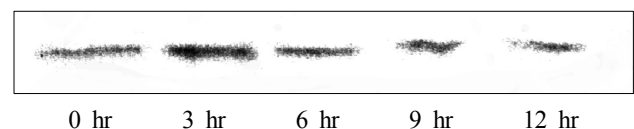
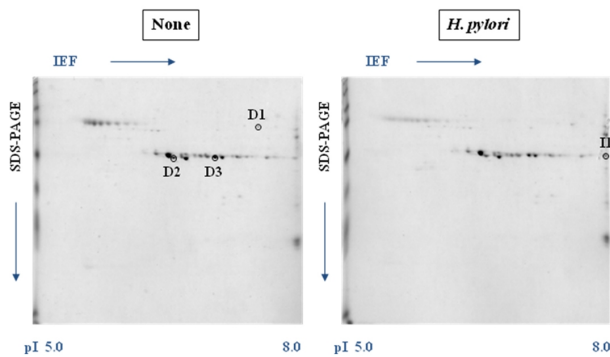


Fig. 1. *H. pylori*-induced changes of 14-3-3 σ protein level in AGS cells. Thirty mg of whole cell lysates were loaded onto 12% SDS-PAGE. After transfer, membranes were incubated with anti-14-3-3 σ antibody at the ratio of 1:1000.



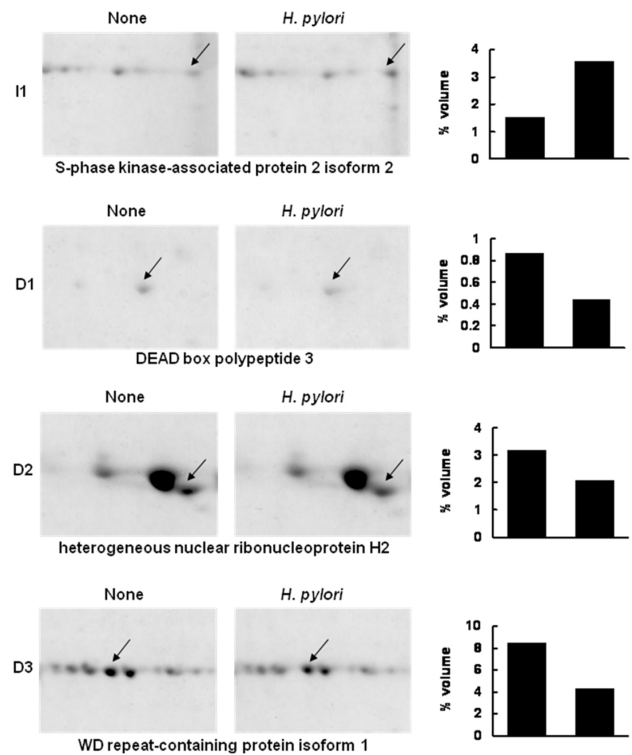
**Fig. 2.** 2-Dimensional electrophoresis gel map derived from none-treated and *H. pylori*-stimulated AGS cells. Immuno-precipitates to 14-3-3 were applied to pH 5~8 linear IPG strip, with 11% linear vertical SDS-PAGE as the second dimension. Increased or decreased proteins were determined by MALDI-TOF MS.

교한 결과, None군에 비해 *H. pylori*군에서 14-3-3  $\sigma$ 에 대한 결합이 1.5배 이상 증가한 단백질이 발견되었다(Fig. 3, Table 1). 프로테오믹스 기법을 이용하여 분석한 결과, 이 단백질은 S-phase kinase-associated protein 2 isoform 2(Skp 2, I1)로 밝혀졌다. 측정된 pI는 7.9이고, 분자량은 약 46.6kDa으로 분석되었다. 반면, *H. pylori*를 처치한 후 14-3-3  $\sigma$ 에 대한 결합이 감소한 단백질은 DEAD-box polypeptide 3(pI 7.2, 73.2kDa, D1), heterogeneous nuclear ribonucleoprotein H2(hnRNP H2, pI 5.9, 49.3kDa, D2), WD repeat-containing protein isoform 1(pI 6.7, 39.9kDa, D3) 등으로 밝혀졌다(Fig. 3, Table 1).

**결론**

14-3-3은 다른 단백질과의 결합 및 해리를 통하여 그들의 활성을 조절하고, 나아가 세포대사에 관여하므로 본 연구에서는 *H. pylori* 감염 시 14-3-3과의 결합이 증가하거나 혹은 감소하는 단백질을 규명하였다.

*H. pylori* 처치 후 3시간에 14-3-3과의 결합이 증가한 단백



**Fig. 3.** Segments of 2-DE gel map derived from non-infected (None) and *H. pylori*-infected cells (*H. pylori*). The arrows indicate protein spots that were differentially expressed in *H. pylori*-infected cells. Differentially expressed proteins whose expression levels were either increased or decreased by more than 1.5-fold in *H. pylori*-infected cells were selected for the MALDI-TOF MS analysis. The expression levels were determined by calculating the relative spot volume of the proteins vs. the total amount of protein in the gel, expressed as percent volume. A representative gel image and expression level is shown for each spot.

질은 Skp2이다. Skp2는 S phase kinase associated protein의 약자로서 세포주기에서 S기로 진입하는데 중요하기 때문에 이와 같이 명명되었다. 세포주기는 사이클린 의존성 인산화효소(cyclin-dependent kinases, CDK)에 의해 조절되는데, 세포주

**Table 1.** Increased and decreased proteins identified by MALDI-TOF MS

No	MOWSE score	Masses matched	Protein MW/pI	Accession No.	Description	Sequence coverage(%)
I1 <sup>1)</sup>	2.451e+03	5	46576/7.9	14249170	S-phase kinase-associated protein 2 isoform 2	18
D1 <sup>2)</sup>	3.721e+08	19	73154/7.2	13514809	DEAD box polypeptide 3	29
D2	1.516e+08	13	49264/5.9	9624998	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein H2	44
D3	4.769e+03	5	39939/6.7	47059042	WD repeat-containing protein isoform 1	21

<sup>1)</sup> Increased spot, <sup>2)</sup> Decreased spots.

기의 S단계로 진입하려면 사이클린A-CDK2 복합체가 필요하다(Morgan 1997). 이 때 사이클린A-CDK2 복합체가 Skp2에 결합하여야만 세포가 S기로 진입할 수 있다(Zhang 등 1995).

Skp2는 F-box 함유 단백질 패밀리의 일원으로서 Skp1-Cullin-F box protein<sup>Skp2</sup>(SCF<sup>Skp2</sup>) 유비퀴틴 연결효소 복합체를 구성하는데 참여한다(Harper 2001). SCF<sup>Skp2</sup>에서 Skp2는 기질을 인식하는 서브유닛으로 작용하여 p27<sup>Kip1</sup>, p21, p130/pRb2, E2F1, cyclin E, c-Myc, p57<sup>Kip2</sup> 등의 단백질이 유비퀴틴화되도록 한다. 유비퀴틴으로 표시된 단백질은 프로테아좀에서 분해되므로 Skp2는 결국 이들 단백질이 분해되도록 촉진하는 역할을 하게 되는 것이다(Bornstein 등 2003; Kamura 등 2003). 이들 단백질 중 p27<sup>Kip1</sup>은 세포가 스트레스를 받았을 때 세포주기 정지와 세포자멸사를 촉진하는 역할을 하는데(Philipp-Staheli 2001), 이는 p27<sup>Kip1</sup>이 CDK의 작용을 억제하여 세포주기가 S기로 진입하는 것을 방해하기 때문이다. Skp2는 p27<sup>Kip1</sup>의 카르복실말단에 특이적으로 결합할 수 있는데, 결합이 이루어지면 p27<sup>Kip1</sup>은 SCF<sup>Skp2</sup>의 중심부로 이동하고 유비퀴틴화된다. 따라서 Skp2는 p27<sup>Kip1</sup>의 분해를 촉진함으로써 S기 진입을 촉진한다(Nakayama 등 2001).

한편, Skp2는 세포주기 외에 세포자멸사의 조절에도 관여한다. 한 예로 Skp2를 트랜스펙션한 위암세포는 actinomycin D로 세포자멸사를 유도했을 때 강한 내성을 나타낸다고 보고되었다(Masuda 등 2002). 또한 Lee 등은 siRNA를 이용하여 Skp2를 하향 조절했을 때 성장 정지 및 세포자멸사가 초래됨을 보여주었다(Lee 등 2005). 이들은 Skp2와 p27<sup>Kip1</sup>을 동시에 하향 조절한 경우에는 세포의 성장이 정지되지 않는 것으로 보아 Skp2 하향 조절에 의해 유도된 성장 정지는 주로 p27<sup>Kip1</sup>에 의해 매개된다고 추측하였다. 그러나 세포자멸사의 경우, p27<sup>Kip1</sup> 하향 조절 여부에 관계 없이 증가하는 것으로 보아 Skp2가 p27<sup>Kip1</sup>과는 무관한 경로로 세포자멸사를 조절함을 알 수 있다.

여러 종류의 암세포에서 Skp2는 증가, p27<sup>Kip1</sup>은 감소함이 관찰되었으며, *H. pylori*에 감염된 위조직에서도 같은 결과가 보고되었다(Kim 등 2006). 따라서 *H. pylori* 감염 시 Skp2가 위 세포 내 신호전달에 관여하는 것으로 보인다. 그러나 *H. pylori*를 처치한 AGS 세포에서 p27은 감소하지만 Skp2의 수준은 변화가 없었다는 연구결과도 있으므로(Eguchi 등 2003) *H. pylori* 감염 시 Skp2의 역할에 대해서는 좀 더 연구가 필요하다.

한편, *H. pylori* 감염 시 Skp2와 p27<sup>Kip1</sup>의 단백질 수준이 변화함을 발견한 Kim 등의 연구에서 mRNA의 변화는 관찰되지 않은 것으로 보아 이들 단백질은 번역 후 단계에서 조절을 받는 것으로 보인다. 이런 번역 후 조절에 14-3-3이 관여할 가능성이 있다. Skp2는 14-3-3과 결합할 수 있는데, 이들의 결합에는 Akt가 필요하다. 평상시 Skp2는 주로 핵에 존재하는

데, Akt에 의해 Ser72이 인산화되면 Skp2가 세포질로 이동하며 14-3-3과의 결합이 증가한다고 알려졌다. 이 때 siRNA를 이용하여 14-3-3의 발현을 억제하면 Skp2의 세포질 이동이 억제되는 것으로 보아, Skp2가 세포질로 이동하는 과정에 14-3-3이 결정적인 역할을 함을 알 수 있다(Lin 등 2009). 이에 대해 Poon 등은 Akt에 의한 Skp2의 인산화부위(Ser72)는 핵지향 배열(nuclear localization sequence, NLS)에 인접해 있으므로, 인산화된 Skp2에 14-3-3이 결합하면 NLS를 가리게 되어 세포질로의 이동이 촉진된다고 설명하였다(Poon 등 2005). Skp2는 APC/Cdh1과의 결합에 의해 파괴되는데, Cdh1은 주로 핵에 존재하므로 Skp2의 인산화에 이은 세포질 이동은 Skp2의 파괴를 감소시킴으로써 Skp2의 양을 증가시킬 수 있다(Gao 등 2009).

본 연구에서 *H. pylori* 감염 시 AGS 세포에서 Skp2와 14-3-3의 결합이 증가하는 것으로 드러났는데, 이는 Skp2 단백질 양의 증가로 이어질 수 있다. Skp2가 증가한 경우 세포주기가 촉진되고 세포자멸사가 억제되는데, 이는 모두 암 발생 증가로 이어질 수 있다. 따라서 본 연구결과는 14-3-3과 Skp2 간 결합의 변화가 *H. pylori* 감염 시 위암 발생이 증가하는 하나의 기전이 될 수 있다는 것을 시사한다. 그러나 이에 대해서는 더 많은 연구가 필요하다.

*H. pylori* 감염 시 14-3-3과의 결합이 감소하는 단백질로는 DEAD-box polypeptide(DDX) 3를 들 수 있다. DDX는 RNA 헬리카제의 일종으로서 Asp-Glu-Ala-Asp(D-E-A-D) 모티프를 갖고 있는 것이 특징이다(Linder 등, 1989). RNA 헬리카제는 ATPase 활성화와 RNA 구조를 풀고 RNA-단백질 결합을 붕괴하는 능력을 갖고 있으며, 전사, 스플라이싱, 운반, 번역, 분해 등 RNA의 모든 대사에 관여한다(Jankowsky 등 2001; Tanner 등 2003). 따라서 DDX도 각종 RNA 대사에 관여하는 것으로 보인다.

DEAD-box protein3(DDX3)는 DDX의 일원으로서 원핵세포와 진핵세포에 걸쳐 발현되며, 661 혹은 662개의 아미노산으로 구성되어 있다(You 등 1999). 인간에게는 DDX3Y와 DDX3X 두 개의 유전자가 존재하는데, DDX3X 유전자는 X염색체 상에 존재하며, Y염색체에 존재하고 남성의 종자계에서만 발현되는 DDX3Y와는 90% 이상의 상동성을 보인다(Linder P 2003; Rosner & Rinkevich 2007).

DDX3의 정확한 기능은 아직 잘 밝혀져 있지 않으나 RNA의 스플라이싱에 참여하는 것으로 추측된다. DDX3가 스플라이싱 인자들이 모여 있는 반점(nuclear speckle)에 위치하고 있으며, 스플라이싱 인자에 존재하는 RS-like domain을 갖고 있다는 점이 그런 추측을 가능케 한다(Owsianka & Patel 1999).

DDX3는 단백질 번역에도 관여하는데, 이 과정에서의 역할에 대해서는 다양한 의견이 존재한다. 한 연구에서는 DDX3가 캡의존 번역을 억제한다고 보고하였다(Shih 등 2007). 대다

수 mRNA의 번역을 담당하는 캡의존(cap-dependent) 번역은 mRNA의 캡구조로 리보솜 40S 단위가 이동하면서 시작되는데 이 과정은 eIF4F(eukaryotic initiation factor 4F, 번역개시인자 4F)라 불리는 캡결합단백질 복합체에 의해 중재된다. eIF4F 복합체는 eIF4E와 eIF4G로 구성되어 있고, 이들의 결합이 번역의 개시에 필수적이다. DDX3는 eIF4E 결합모티프를 갖고 있으며, eIF4E에 결합하여 eIF4E와 eIF4G의 복합체 형성을 방해함으로써 캡의존 번역을 억제한다(Richter & Sonenberg 2005). 그러나 또 다른 연구는 DDX3가 캡의존 번역을 촉진하며, 이 작용은 eIF3와의 결합을 통해 매개된다고 하였다(Lee 등 2008). DDX3는 또한 캡에 무관한 internal ribosomal entry site(IRES)-매개 번역도 촉진한다고 한다. 대개의 세포 mRNA는 캡의존 번역과정을 거치지만 몇몇 스트레스 관련 유전자와 바이러스 RNA는 IRES 방식으로 번역된다(Hellen & Sarnow 2001). 따라서 DDX3는 IRES-매개 번역을 조절함으로써 세포의 스트레스 반응에 관여하는 것으로 보인다.

DDX3는 RNA 대사와 단백질 번역을 조절함으로써 암 발생에도 관여한다. 한 예로 유방상피세포인 MCF 10A에 발암물질을 처치하면 DDX3의 발현이 증가함이 관찰되었다. DDX3가 과발현되면 발암과정의 특징인 상피-중간엽세포 전이가 일어나고 세포의 운동성과 침습이 증가하였는데, 이들은 모두 종양세포로의 형질전환 시 일어나는 현상이다(Botlagunta 등 2008). 반면, Chang 등은 정상조직과 비교했을 때 인간의 간암 조직에서 DDX3의 mRNA와 단백질이 적게 발현되었으며, 이런 현상은 B형 간염바이러스에 감염된 표본에서 더 자주 발견되었다고 보고하였다. 이들은 간암세포를 이용한 실험에서 DDX3를 녹다운시킨 경우 세포증식이 촉진되고 세포사멸이 저해됨으로써 간암 발생이 증가함을 규명하였다(Chang 등 2006). 한편, 피부 편평세포암종에서는 DDX3가 정상세포에서와 달리 세포질에 주로 존재한다고 보고되었다. 정상적인 편평세포에서는 DDX3가 주로 핵에 존재하며, CDK를 억제하는 p21waf1/cip1의 프로모터를 활성화하는 역할을 하는데, 종양 편평세포에서는 주로 세포질에 존재하게 됨으로써 p21의 전사조절능력을 상실하게 된다(Chao 등 2006). 이와 같은 연구결과들로부터 암발생과 전이에 있어서 DDX3가 다양한 역할을 함을 알 수 있는데 이는 세포의 종류마다 보조인자와 세포신호전달 경로가 다르기 때문으로 사료된다.

DDX3는 암 외에 자연면역에 관련된 유전자의 발현에도 관련되어 있다. 박테리아와 바이러스에 대한 자연면역반응의 신호전달은 모두 TANK-binding kinase 1(TBK1)/IKK-i를 통해 일어나는데, TBK/IKKi는 결과적으로 인터페론- $\alpha$ ,  $\beta$ 의 전사를 증가시켜 외부 침입자에 대항한다. Soulat 등은 DDX3가 그람양성균인 *Listeria monocytogenes*에 감염된 대식세포에서 TBK1과 상호작용한다는 사실을 밝혀냈다. 그들은 세포실험

에서 DDX3와 TBK1을 동시에 과발현시켰을 때 IFN- $\beta$  프로모터의 활성화가 급격히 증가하는 것으로 미루어 보아 IFN- $\beta$  프로모터 활성화에 대해 DDX3와 TBK1이 상승작용을 한다고 주장하였다. 또한 DDX3는 TBK1 혹은 IKKi에 의해 인산화 될 수 있는데, TBK1에 의한 DDX3의 인산화가 IFN- $\beta$  발현에 대한 두 단백질의 상승작용에 필수적이라는 것을 규명하였다(Soulat 등 2008).

자연면역과 달리 세포주기와 관련된 DDX3의 기능은 인산화에 의해 사라짐이 보고되었다. 생체의 실험에서 DDX3의 Thr204와 Thr323이 사이클린 B/CDC2 인산화 효소에 의해 인산화됨이 밝혀졌는데, 이 부위가 인산화되면 DDX3에 의해 조절되는 사이클린 A의 발현이 억제되는 등 DDX3의 기능이 손실됨이 밝혀졌다(Sekiguchi 등 2007).

DDX3가 14-3-3과 결합하는지의 여부는 연구된 바 없지만, DDX의 일종인 DDX54가 14-3-3과 결합한다는 연구결과가 보고되었다. DDX54 역시 전사의 조절에 관여하는데 14-3-3과 결합하면 전사가 억제되었다고 한다(Gustafson 등 2010).

Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein(hnRNP) H2 역시 *H. pylori* 감염 후 14-3-3에 대한 결합이 감소한다. hnRNP는 RNA 중합효소 II에 의해 만들어진 핵 RNA와 결합하는 일련의 폴리펩티드들이다(Dreyfuss 등 1993). hnRNP 단백질의 기능에는 mRNA 운반, 스플라이싱, 텔로미어 길이 조절, mRNA 안정성 조절, 전사와 아데닐중합체형성 등이 포함된다. 현재까지 약 30개의 hnRNP가 확인되었으며, A부터 U의 이름이 붙여졌다(Krecic 등 1999). 이들 중 hnRNP H 단백질군은 비교적 늦게 염기서열이 밝혀졌고, hnRNP F(Matunis 등 1994)와 hnRNP H/H2(Honore 등 1995) 그리고 hnRNP 2H9 및 이들 유전자의 대체 스플라이싱에 의해 발현되는 단백질로 구성되어 있다(Mahe 등 1997).

hnRNP H 단백질군을 구성하는 hnRNP H와 hnRNP H2는 대부분 핵에 위치하고, 핵기질단백의 일부로 알려져 있다(Holzmann 등 1997). 이들은 TATA박스 결합단백질과 RNA 중합효소 II 및 캡결합단백질 복합체와 결합함으로써 전사의 개시에 관여한다(Yoshida 등 1999).

hnRNP H2는 또한 예비 mRNA의 3' 말단 처리에도 관여한다. Bagga 등의 생체의 실험에서 hnRNP H2는 예비 mRNA의 poly A 신호와 결합하여 절단과 아데닐중합체 형성의 효율을 증가시키는 것으로 나타났다(Bagga 등 1998). 이러한 효율의 증가는 hnRNP H2가 절단촉진인자(cleavage stimulation factor)를 예비 mRNA로 동원하기 때문인 것으로 보인다.

hnRNP H는 스플라이싱을 촉진할 수도 있고 억제할 수도 있다고 보고되었는데, 이는 이들 단백질이 스플라이싱 인헨서와 사일렌서 모두와 결합하기 때문이다(Grabowski 등 2004).

Chou 등은 신경세포에서 *c-src*의 대체 스플라이싱에 hnRNP

H가 관여한다고 보고하였다. 대체 스플라이싱이 이루어지려면 스플라이싱 인헨서 서열에 조절단백질이 결합해야 하는데, hnRNP H는 hnRNP F, KH-type 스플라이싱 조절단백질과 함께 조절단백질 복합체를 구성함으로써 대체 스플라이싱을 조절한다고 한다(Chou 등 1999). hnRNP H는 *c-src* 외에도  $\beta$ -트로포미오신 및 갑상선호르몬 수용체 유전자, *bcl-x* 등의 대체 스플라이싱에도 관여하는 것으로 밝혀졌다(Chen 등 1999; Hastings 등 2001; Gameau 등 2005). 세포자멸사에 관여하는 Bcl-x 단백질은 예미 mRNA의 대체 스플라이싱에 따라 Bcl-xs 혹은 Bcl-xl로 만들어질 수 있는데, Bcl-xs는 세포자멸사를 촉진하고 Bcl-xl은 억제하는 역할을 한다. hnRNP H와 hnRNP F는 bcl-x의 2번 엑손에 결합하여 대체 스플라이싱을 조절함으로써 세포자멸사를 조절하는데, 이들은 세포자멸사를 촉진하는 Bcl-xs의 발현이 증가하도록 작용한다(Gameau 등 2005).

최근의 연구들은 또한 hnRNP H계의 단백질들이 유전자 발현 조절의 주요 요소임을 보여주고 있다. Liu 등은 평활근 세포에서 hnRNP H의 발현을 억제했을 때 평활근세포에 특이적인 몇몇 단백질들의 발현이 증가하는 것으로 보아 hnRNP H/H2가 유전자 발현의 조절 인자로 기능한다고 주장하였다. 이들은 후후 연구를 통해 중간엽세포가 평활근세포로 분화되는 과정에서 중간엽세포는 hnRNP H의 발현을 감소시키며, 이는  $\alpha$ -액틴, 테스민, 미오신과 같은 평활근세포에 특이적인 단백질의 발현 증가로 이어진다는 사실을 밝혀냈다(Liu 등 2001). 이들의 연구 결과는 hnRNP H가 유전자의 발현을 조절하고 이를 통해 세포의 분화를 조절한다는 것을 보여준다.

hnRNP H계의 단백질과 14-3-3의 결합은 보고된 바 없다. 그러나 hnRNP D는 14-3-3  $\sigma$ 와 결합한다고 알려졌다. AUF1으로도 불리는 hnRNP D는 AU-rich destabilizing element(ARE)를 갖고 있는 mRNA에 결합하여 그들의 세포질 이동을 촉진하고, 나아가 분해를 증가시키는 역할을 한다. He 등은 hnRNP D가 14-3-3과 결합하게 되면 hnRNP D의 NLS가 가려지므로 세포질에 축적된다고 하였고, 이 때 ARE-mRNA의 분해가 증가함을 관찰하였다(He 등 2006). 이들의 연구결과는 14-3-3  $\sigma$ 와 hnRNP D의 상호작용을 통해 여러 mRNA의 안정성과 그에 관련된 대사과정이 조절될 수 있음을 시사한다.

WD-repeat 단백질들은 베타 프로펠러 단백질군에 속하는 일련의 조절 단백질로서, 모두 WD-repeat을 갖고 있다. WD-repeat은 44-60개의 아미노산으로 이루어져 있으며, 아미노 말단 쪽에는 글라이신-히스티딘(GH) 디펩티드를, 그리고 카르복시 말단 쪽에는 트립토판-아스파르트산(WD) 디펩티드를 갖고 있다. GH와 WD 디펩티드 사이에는 서열이 잘 보존된 약 40개의 아미노산으로 이루어진 핵심서열이 있다. WD-repeat 단백질들은 4~16개의 WD-repeat을 갖고 있으며, 이들이 모여 베

타 프로펠러 구조를 이룬다(Smith 등 1999).

모든 WD-repeat 단백질의 공통적인 기능은 단백질-단백질 상호작용을 위한 부착 플랫폼을 제공함으로써 단백질 복합체의 구성을 조절하는 것이다(van Nocker & Ludwig 2003). 구조-기능 분석 연구 결과, WD repeat은 대사과정의 촉매로 작용하지 않으며(Neer 등 1994), 특별한 기능을 갖고 있지 않는 것으로 드러났다. 그러나 이들은 프로펠러 구조로 인해 상부, 하부, 측면에 넓은 표면적을 갖고 있으며, 이 넓은 표면은 단백질-단백질 상호작용을 위해 플랫폼을 제공하는 역할을 한다. 이런 특징으로 인해 WD-repeat 단백질은 세포주기 조절, 세포사멸, 신호전달, RNA 대사, 크로마틴 구조 등 여러 세포 기능의 주요 요소로 작용한다(Li & Roberts 2001).

WD-repeat 단백질의 중요성은 암과의 상관성에 의해서도 입증된다. WD-repeat 단백질의 일종인 hWIPI-2와 hWIPI-4는 정상조직과 비교 시, 췌장암과 신장암 조직에서 발현이 저하되어 있는 것으로 나타났다. hWIPI-1도 이들 조직에서 감소된 양상을 보였지만 피부암과 자궁경부암 조직 샘플에서는 오히려 상승하였다고 한다(Proikas-Cezanne 등 2004).

본 연구에서 규명된 14-3-3 결합단백질들은 세포주기, 세포자멸사, RNA 가공 등 다양한 기능을 수행한다. 이들 중 Skp2 단백질은 *H. pylori* 감염 시 14-3-3에 대한 결합이 증가하는데, 이는 세포주기를 촉진하고, 세포자멸사를 억제하는 방향으로 작용할 것으로 추측된다. 만약 실제로 이런 변화가 일어난다면 이는 *H. pylori* 감염과 위암 발생을 연결 짓는 중요한 연결고리가 될 것이다. 그러나 이 같은 추측을 뒷받침하기 위해서는 더 많은 연구가 필요하다. 한편, DDX3, hnRNP H2, WD repeat 단백질 등은 *H. pylori* 감염 시 14-3-3에 대한 결합이 감소하는데, 이들 단백질은 *H. pylori* 감염 시 여러 가지 RNA의 가공과정에 관여하는 것으로 보인다. 그러나 이들 단백질에 대해서는 정보가 충분치 않으므로 *H. pylori* 감염에서 이들의 자세한 역할에 대해 논하는 것은 시기상조라고 사료된다.

*H. pylori*에 감염되면 위염, 위궤양 및 위암의 발생이 증가한다고 알려져 있다. *H. pylori* 감염은 항생제를 이용해 치료할 수 있지만 재발률이 높고 부작용 또한 크다. 따라서 영양학적 접근을 통해 *H. pylori* 감염을 예방 내지는 치료하려는 많은 시도들이 있었다(Sivam G 2001; Lesbros-Pantofflickova 등 2007). 그러나 이런 시도들이 성공하기 위해서는 *H. pylori* 감염에 따른 위상피세포의 반응을 정확하게 파악하는 것이 우선이다. 본 연구의 결과는 *H. pylori* 감염에 대한 반응으로 위상피세포에서 일어나는 세포신호전달에서 14-3-3과 14-3-3 결합단백질이 중요한 역할을 담당할 것이라는 것을 보여준다. 그러나 이들이 정확히 어떤 역할을 하는지에 대해서는 더 많은 연구가 필요하다.

## 감사의 글

이 논문은 2006년도 정부(교육인적자원부)의 재원으로 한국학술진흥재단의 지원을 받아 수행된 연구임(KRF-2006-353-F00019).

## 참고문헌

- Backert S, Gressmann H, Kwok T, Zimny-Arndt U, König W, Jungblut PR, Meyer TF. 2005. Gene expression and protein profiling of AGS gastric epithelial cells upon infection with *Helicobacter pylori*. *Proteomics* 5:3902-3918
- Bagga PS, Arhin GK, Wilusz J. 1998. DSEF-1 is a member of the hnRNP H family of RNA-binding proteins and stimulates pre-mRNA cleavage and polyadenylation *in vitro*. *Nucleic Acids Res* 26:5343-5350
- Blaser MJ. 1999. Hypothesis: the changing relationships of *Helicobacter pylori* and humans: implications for health and disease. *J Infect Dis* 179:1523-1530
- Bornstein G, Bloom J, Sitry-Shevah D, Hershko A. 2003. Role of the SCFSkp2 ubiquitin ligase in the degradation of p21Cip1 in S phase. *J Biol Chem* 278:25752-25757
- Botlagunta M, Vesuna F, Mironchik Y, Raman A, Raman V. 2008. Oncogenic role of DDX3 in breast cancer biogenesis. *Oncogene* 27:3912-3922
- Chan CH, Ko CC, Chang JG, Chen SF, Wu MS, Lin JT, Chow LP. 2006. Subcellular and functional proteomic analysis of the cellular responses induced by *Helicobacter pylori*. *Mol Cell Proteomics* 5:702-713
- Chang PC, Chi CW, Chau GY, Li FY, Tsai YH, Wu JC, Wu Lee YH. 2006. DDX3, a DEAD box RNA helicase, is deregulated in hepatitis virus-associated hepatocellular carcinoma and is involved in cell growth control. *Oncogene* 25:1991-2003
- Chao CH, Chen CM, Cheng PL, Shih JW, Tsou AP, Wu Lee YH. 2006. DDX3, a DEAD box RNA helicase with tumor growth-suppressive property and transcriptional regulation activity of the p21waf1/cip1 promoter, is a candidate tumor suppressor. *Cancer Res* 66:6579-6588
- Chen CD, Kobayashi R, Helfman DM. 1999. Binding of hnRNP H to an exonic splicing silencer is involved in the regulation of alternative splicing of the rat h-tropomyosin gene. *Genes Dev* 13:593-606
- Cho JJ. 1999. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection in patients of peptic ulcer among Korean. *Korean J Family Med* 20: 1084-1090
- Chou MY, Rooke N, Turck CW, Black DL. 1999. hnRNP H is a component of a splicing enhancer complex that activates a *c-src* alternative exon in neuronal cells. *Mol Cell Biol* 19: 69-77
- Dreyfuss G, Matunis MJ, Pinol-Roma S, Burd CG. 1993. hnRNP proteins and the biogenesis of mRNA. *Annu Rev Biochem* 62:289-321
- Eguchi H, Herschenhou N, Kuzushita N, Moss SF. 2003. *Helicobacter pylori* increases proteasome-mediated degradation of p27kip1 in gastric epithelial cells. *Cancer Res* 63:4739-4746
- Gao D, Inuzuka H, Tseng A, Wei W. 2009. Akt finds its new path to regulate cell cycle through modulating Skp2 activity and its destruction by APC/Cdh1. *Cell Division* 4:11
- Garneau D, Revil T, Fiset JF, Chabot B. 2005. Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein F/H proteins modulate the alternative splicing of the apoptotic mediator Bcl-x. *J Biol Chem* 280: 22641-22650
- Grabowski PJ. 2004. A molecular code for splicing silencing: configurations of guanosine-rich motifs. *Biochem Soc Trans* 32:924-927
- Gustafson EA, Wessel GM. 2010. DEAD-box helicases: Post-translational regulation and function. *Biochem Biophys Res Commun* 395:1-6
- Harper JW. 2001. Protein destruction: adapting roles for Cks proteins. *Curr Biol* 11:R431-435
- Hastings ML, Wilson CM, Munroe SH. 2001. A purine-rich intronic element enhances alternative splicing of thyroid hormone receptor mRNA. *RNA* 7:859-874
- He C, Schneider R. 2006. 14-3-3 $\sigma$  is a p37 AUF1-binding protein that facilitates AUF1 transport and AU-rich mRNA decay. *EMBO* 25:3823-3831
- Hellen CU, Sarnow P. 2001. Internal ribosome entry sites in eukaryotic mRNA molecules. *Genes Dev* 15:1593-1612
- Holzmann K, Korosec T, Gerner C, Grimm R, Saueremann G. 1997. Identification of human common nuclear-matrix proteins as heterogeneous nuclear ribonucleoproteins H and H' by sequencing and mass spectrometry. *Eur J Biochem* 244: 479-486
- Honore B, Rasmussen HH, Vorum H, Dejgaard K, Celis JE. 1995. Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins H, H', and F are members of a ubiquitously expressed subfamily of



- related but distinct proteins encoded by genes mapping to different chromosomes. *J Biol Chem* 270:28780-28789
- Jankowsky E, Gross CH, Shuman S, Pyle AM. 2001. Active disruption of an RNA-protein interaction by a DExH/D RNA helicase. *Science* 291:121-125
- Jones DH, Ley S, Aitken A. 1995. Isoforms of 14-3-3 protein can form homo- and heterodimers *in vivo* and *in vitro*: implications for function as adapter proteins. *FEBS Lett* 368:55-58
- Kamura T, Hara T, Kotoshiba S, Yada M, Ishida N, Imaki H, Hatakeyama S, Nakayama K, Nakayama KI. 2003. Degradation of p57Kip2 mediated by SCFSkp2-dependent ubiquitylation. *Proc Natl Acad Sci USA* 100:10231-10236
- Kim SS, Meitner P, Konkin TA, Cho YS, Resnick MB, Moss SF. 2006. Altered expression of Skp2, c-Myc and p27 proteins but not mRNA after *H. pylori* eradication in chronic gastritis. *Mod Pathol* 19:49-58
- Krecic AM, Swanson MS. 1999. HnRNP complexes: composition, structure, and function. *Curr Opin Cell Biol* 11:363-371
- Lee SH, McCormick F. 2005. Down regulation of Skp2 and p27/Kip1 synergistically induces apoptosis in T98G glioblastoma cells. *J Mol Med* 83:296-307
- Lee CS, Dias AP, Jedrychowski M, Patel AH, Hsu JL, Reed R. 2008. Human DDX3 functions in translation and interacts with the translation initiation factor eIF3. *Nucleic Acids Research* 36:4708-4718
- Lesbros-Pantoflickova D, Corthésy-Theulaz I, Blum AL. 2007. *Helicobacter pylori* and probiotics. *J Nutr* 137:812S-818S
- Li D, Roberts R. 2001. WD-repeat proteins: structure characteristics, biological function, and their involvement in human diseases. *Cell Mol Life Sci* 58:2085-2097
- Lim JW, Kim H, Kim JM, Kim JS, Jung HC, Kim KH. 2004. Cellular stress-related protein expression in *Helicobacter pylori*-infected gastric epithelial AGS cells. *Int J Biochem Cell Biol* 36:1624-1634
- Lin H, Wang G, Chen Z, Teruya-Feldstein J, Pandolfi PP. 2009. Phosphorylation-dependent regulation cytosolic localization and oncogenic function of Skp2 by Akt/PKB. *Nat Cell Biol* 11:420-432
- Linder P, Lasko PF, Ashburner M, Leroy P, Nielsen PJ, Nishi K. 1989. Birth of the D-E-A-D box. *Nature* 337:121-122
- Linder P. 2003. Yeast RNA helicases of the DEAD-box family involved in translation initiation. *Biol Cell* 95:157-167
- Liu J, Beqaj S, Yang Y, Honore B, Schuger L. 2001. Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein-H plays a suppressive role in visceral myogenesis. *Mech Dev* 104:79-87
- Mahe D, Mahl P, Gattoni R, Fischer N, Mattei MG, Stevenin J, Fuchs JP. 1997. Cloning of human 2H9 heterogeneous nuclear ribonucleoproteins. Relation with splicing and early heat shock-induced splicing arrest. *J Biol Chem* 272:1827-1836
- Masuda TA, Inoue H, Sonoda H, Mine S, Yoshikawa Y, Nakayama K, Nakayama K, Mori M. 2002. Clinical and biological significance of S-phase kinase-associated protein 2 (Skp2) gene expression in gastric carcinoma: modulation of malignant phenotype by Skp2 overexpression, possibly via p27 proteolysis. *Cancer Res* 62:3819-3825
- Miehlke S, Yu J, Schuppler M, Frings C, Kirsch C, Negraszus N, Morgner A, Stolte M, Ehninger G, Bayerdorffer E. 2001. *Helicobacter pylori* vacA, iceA, and cagA status and pattern of gastritis in patients with malignant and benign gastroduodenal disease. *Am J Gastroenterol* 96:1008-13
- Moore B, Perez V. 1967. Specific Acid Proteins in the Nervous System. Prentice Hall. Inc
- Morgan DO. 1997. Cyclin-dependent kinases: engines, clocks, and microprocessors. *Annu Rev Cell Dev Biol* 13:261-291
- Nakayama KI, Hatakeyama S, Nakayama K. 2001. Regulation of the cell cycle at the G1/S transition by proteolysis of cyclin E and p27Kip1. *Biochem Biophys Res Commun* 282:853-860
- NIH Consensus Conference. 1994. *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease. NIH consensus development panel on *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease. *JAMA* 272:65-69
- Philipp-Staheli J, Payne SR, Kemp CJ. 2001. p27(Kip1): regulation and function of a haploin sufficient tumor suppressor and its misregulation in cancer. *Exp Cell Res* 264:148-168
- Poon IK, Jans DA. 2005. Regulation of nuclear transport: central role in development and transformation? *Traffic* 6:173-186
- Proikas-Cezanne T, Waddell S, Gaugel A, Frickey T, Lupas A, Nordheim A. 2004. WIPI-1a (WIPI49), a member of the novel 7-bladed WIPI protein family, is aberrantly expressed in human cancer and is linked to starvation-induced autophagy. *Oncogene* 23:9314-9325
- Richter JD, Sonenberg N. 2005. Regulation of cap-dependent translation by eIF4E inhibitory proteins. *Nature* 433:477-480
- Rosner A, Rinkevich B. 2007. The DDX3 subfamily of the DEAD box helicases: divergent roles as unveiled by studying different organisms and *in vitro* assays. *Curr Med Chem* 14:2517-

2525

- Santoro MM, Gaudino G, Marchisio PC. 2003. The MSP receptor regulates  $\alpha 6 \beta 4 / \alpha 3 \beta 1$  integrins via 14-3-3 proteins in keratinocyte migration. *Dev Cell* 5:257-271
- Sekiguchi T, Kurihara Y, Fukumura J. 2007. Phosphorylation of threonine 204 of DEAD-box RNA helicase DDX3 by cyclin B/cdc2 *in vitro*. *Biochem Biophys Res Commun* 356:668-673
- Shih JW, Tsai TY, Chao CH, Wu Lee YH. 2007. Candidate tumor suppressor DDX3 RNA helicase specifically represses cap-dependent translation by acting as an eIF4E inhibitory protein. *Oncogene* 27:700-714
- Sivam G. 2001. Protection against *Helicobacter pylori* and other bacterial infections by garlic. *J Nutr* 131:1106S-1108S
- Smith TF, Gaitatzes C, Saxena K, Neer EJ. 1999. The WD repeat: a common architecture for diverse functions. *Trends Biochem Sci* 24:181-185
- Soulat D, Burckstumer T, Westermayer S, Goncalves A, Bauch A, Stefanovic A, Superti-Furga G. 2008. The DEAD-box helicase DDX3X is a critical component of the TANK-binding kinase 1-dependent innate immune response. *EMBO* 27:2135-2146
- Tanner NK, Cordin O, Banroques J, Doere M, Linder P. 2003. The Q motif: a newly identified motif in DEAD box helicases may regulate ATP binding and hydrolysis. *Mol Cell* 11:127-138
- Tsai HF, Hsu PN. 2010. Interplay between *Helicobacter pylori* and immune cells in immune pathogenesis of gastric inflammation and mucosal pathology. *Cell Mol Immunol* 4:255-259
- Tsujii M, Kawano S, Tsuji S, Fusamoto H, Kamada T, Sato N. 1992. Mechanism of gastric mucosal damage induced by ammonia. *Gastroenterology* 102:1881-1888
- Uhart M, Iglesias AA, Bustos DMJ. 2011. Structurally constrained residues outside the binding motif are essential in the interaction of 14-3-3 and phosphorylated partner. *Mol Biol* 406:552-557
- van Nocker S, Ludwig P. 2003. The WD-repeat protein superfamily in Arabidopsis: conservation and divergence in structure and function. *BMC Genom* 4:50
- Yaffe MB, Rittinger K, Volinia S, Caron PR, Aitken A, Leffers H, Gambin SJ, Smerdon SJ, Cantley LC. 1997. The structural basis for 14-3-3: phosphopeptide binding specificity. *Cell* 91:961-971
- Yaffe MB. 2002. How do 14-3-3 proteins work? Gatekeeper phosphorylation and the molecular anvil hypothesis. *FEBS Lett* 513:53-57
- Yim JY, Kim N, Choi SH, Kim YS, Cho KR, Kim SS. 2007. Seroprevalence of *Helicobacter pylori* in South Korea. *Helicobacter* 12:333-340
- Yoshida T, Kokura K, Makino Y, Ossipow V, Tamura T. 1999. Heterogeneous nuclear RNA-ribonucleoprotein F binds to DNA via an oligo(dG)-motif and is associated with RNA polymerase II. *Genes Cells* 4:707-719
- You LR, Chen CM, Yeh TS, Tsai TY, Mai RT, Lin CH. 1999. Hepatitis C virus core protein interacts with cellular putative RNA Helicase. *J Virol* 73:2841-2853
- Zhang H, Kobayashi R, Galaktionov K, Beach D. 1995. p19Skp1 and p45Skp2 are essential elements of the cyclin A-CDK2 S phase kinase. *Cell* 82:915-25

---

접 수 : 2011년 6월 21일  
 최종수정 : 2011년 6월 24일  
 채 택 : 2011년 6월 27일