

자식작용과 식품

Autophagy and Food

허행전 | 장수과학연구단

Haeng Jeon Hur | Biogeron Technology Research Group

원 리

자식작용의 기본 원리

자식작용(autophagy, 自食)은 그리스어인 ‘auto’와 ‘phagy’의 합성어로 자기자신을(auto) 먹는다(phagy)는 의미를 갖는다. 자식작용은 세포질 내용물을 리소좀으로 보낸 뒤 분해하는 것으로 단백질의 합성, 분해, 그리고 재활용에 관여하여 세포의 증식, 발달, 항상성 유지에 중요한 역할을 한다.

현재 자식작용에는 샤페론 매개 자식작용(chaperone-mediated autophagy), 미세자식작용(microautophagy), 거대자식작용(macroautophagy)의 세 가지 유형이 규명되었으며 일반적으로 자식작용은 거대자식작용을 의미한다. 자식작용은 진핵세포가 오래된 단백질들과 세포 소기관을 분해하는 이화작용으로 세포질 내용물을 이중막의 소포에 가둔 뒤에 리소좀으로 운반하는 과정을 포함한다. 자식작용의 첫 번째 단계는 소포 핵형성 단계로써 분리

된 막(phagopore)이 팽창하는 과정이다. 그 다음 phagopore의 가장자리가 융합하여(vesicle completion) 이중막 구조의 소포체인 autophagosome을 형성하여 세포질 물질을 가두게 된다. 그 다음 autophagosome이 리소좀과 융합하여 내부에 가둔 세포질 물질을 분해하는 과정이다.

사실 세포는 단백질과 소기관의 교체와 같은 세포의 항상성을 유지하기 위하여 항상 낮은 수준의 자식작용을 수행하고 있으며 기아, 성장인자의 부족과 같이 세포 내의 영양분이나 에너지를 생성해야 할 필요가 있을 때 자식작용은 빠르게 증가한다. 또한 자식작용은 발달전환(developmental transition) 중이거나 산화적 손상, 감염, 응고된 단백질의 축적과 같이 손상된 세포 성분을 제거하기 위하여 구조적인 개조(structural remodeling)의 이행을 준비하는 과정에서 증가한다. 영양상태, 호르몬과 온도, 산소농도, 세포농도와 같은 신호 역시 자식작용을 조절하는데 중요한 역할을 한다(Fig. 1).

자식작용의 조절 기작

자식작용의 중요 조절자 중 하나는 TOR kinase (target of rapamycin)이다. TOR kinase는 성장인

자가 존재하거나 영양분이 풍부할 때 자식작용을 차단하는 신호의 주요 저해물질이다. 1형 PI3K/Akt (class I PI3K/Akt) 신호전달 물질은 인슐린 유사 성장인자(insulin like growth factor)와 다른 성장인

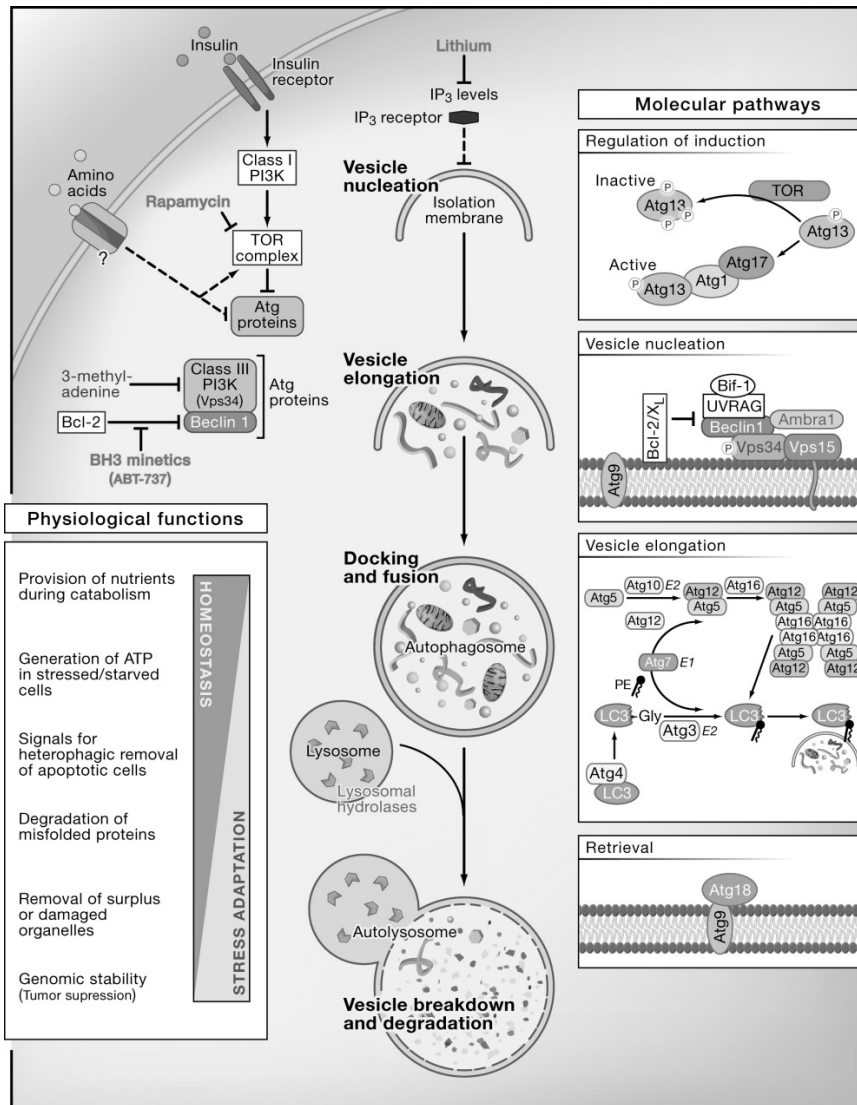


Fig. 1. The Cellular, molecular, and physiological aspects of autophagy (Levine B, Kroemer G, Cell, 132, 27-42, 2008)

자에 반응하여 수용체 티로신 인산화효소(receptor tyrosine kinase)를 TOR의 활성화와 연계해주어 자식작용을 억제한다. 또 다른 자식작용 조절 물질에는 낮은 에너지상태에 반응하는 5'-AMP-activated protein kinase(AMPK), 영양 기아 생태에 반응하는 the eukaryotic initiation factor 2 α (eIF2 α), double-stranded RNA, endoplasmic reticulum(ER) stress, Bcl-2 homology-3(BH3) 도메인을 포함하고 있는 BH3-only proteins, Bcl-2/Bcl-XL 비율의 붕괴, Beclin 1/class III PI3K 복합체의 저해, 암 저해 단백질인 p53, death-associated protein kinases(DAPk), ER 막결합 단백질인 Ire-1, c-Jun-N-terminal kinase (JNK), inositol-trisphosphate(IP3) receptor(IP3R); GTPases, Erk1/2, 세라미드, 그리고 칼슘 등이 있다.

자식작용의 조절 단백질

효모의 경우 TOR kinase의 하위에는 ATG 유전자인 20개 이상의 유전자가 자식작용을 실행하는 단백질을 암호화한다. ATG 단백질에는 상위 TOR kinase에 반응하는 Atg1, Atg13, Atg17, 지질 인산화 효소 신호전달 복합체에 반응하여 소포체 핵 형성(vesicle nucleation)에 작용하는 Atg6, Atg14, Vps34, 그리고 Vps15, 두 종의 ubiquitin-like conjugation pathways에 반응하여 소포체 팽창(vesicle expansion)을 매개하는 Atg8과 Atg12 체제, 성숙 자가소포체(mature autophagosomes)로부터 ATG 단백질의 분리를 매개하는 재활용 경로인 Atg2, Atg9, Atg18, 분해 구획(degradative compartment)으로부터 아미노산의 유출을 허용하는 vacuolar permeases 인 Atg22 등의 serine·threonine 인산화효소 복합체를 포함한다. 포유동물의 경우 리소좀의 기능에

일반적으로 작용하는 단백질들, 예를 들어 LAMP-2와 CLN3이 autophagosome과의 적합한 융합에 필요하며 autophagosome의 내용물 분해에는 리소좀의 시스테인 단백질 분해효소인 cathepsins B, D, L이 필요하다.

자식작용의 측정 원리

자식작용을 조절하는 신호와 자식작용을 실행하는 유전자들의 동정은 자식작용 경로의 조작과 발견을 돕는다. 효모의 Atg8 또는 포유동물의 LC-3과 phosphatidylethanolamine(PE)의 결합은 비수용성 형태의 Atg8(Atg8-PE) 또는 LC3(LC3-II)을 형성하여 autophagosome의 막에 안정하게 결합한다. 결과적으로 자식작용은 생화학적으로 Atg8-PE 또는 LC3-II를 측정하거나 현미경을 통해 형광물질이 결합한 Atg8 또는 LC3의 국부화(localization)를 관찰함으로써 측정할 수 있다. 이런 자식작용 측정 방법들은 두 가지 생리적으로 구별된 시나리오 즉, 자식작용 교체(autophagic turnover)의 결합이 없는 autophagic flux의 증가에 의한 Atg8-PE 또는 LC3-II의 증가와 자가포식 기능적 손실에 의한 autophagosome 분해 결합으로 인한 Atg8-PE 또는 LC3-II의 증가를 구분하기 위하여 반드시 보조적인 방법을 동반하여 측정해야 한다.

자식작용의 조절 물질

약리학적으로 rapamycin을 처리하여 자식작용의 음성조절자(negative regulator)인 TOR 인산화효소를 저해하거나, ABT-737로 Beclin 1에 결합하는 자가세포사멸 저해 단백질인 Bcl-2와 Bcl-XL을

저해하거나, IP3의 수준을 낮추어 IP3R의 길항물질로 작용하는 ABT-737을 이용하여 IP3R을 저해함으로써 자식작용을 유도할 수 있다. 반대로 자식작용을 저해하기 위해서는 autophagosome의 형성에 관여하는 class III PI3K를 저해하는 3-methyladenine을 이용하거나, lysosomal proton pump의 저해제인 bafilomycin A1을 이용하거나, lysosomotropic alkalines인 chloroquine과 3-hydroxychloroquine을 이용한다. 그러나 이러한 약리제제들은 자식작용 경로에 대한 특이성이 부족하다는 것을 주목해야 한다. 따라서 rapamycin, lithium, 그리고 chloroquine과 같이 임상적으로 적용이 가능하고 자식작용의 조절이상과 관련이 있는 질병을 치료하는데 도움이 될 수 있는 물질이라 할지라도 유전적인 접근방법, 예를 들어 ATG 유전자의 knock-out 또는 small-interfering RNA(siRNA)를 이용하는 것이 자식작용의 건강과 질병에 있어 생물학적인 역

할에 관한 확실한 정보를 효과적으로 제공할 수 있다(Fig. 2).

식품분야 활용방안

건강기능성 식품

자식작용의 정도는 나이가 들면서 감소하며 이는 소기관 유지관리의 노화와 같은 현상과 연결되어 있다. 예를 들어 미토콘드리아 노화 이론에 따르면 손상된 미토콘드리아 유전체의 축적이 노화와 관련이 있다. 자식작용의 유지관리 기작에 따라 자식작용의 수준은 결손된 미토콘드리아의 축적을 결정짓는다. 관련된 견해로써 식이제한은 수명연장에 효과적이며 여기에 자식작용이 중요한 역할을 한다는 것이 있다. 이렇듯 자식작용과 노화, 수

퇴행성뇌질환	<ul style="list-style-type: none"> 독성이 있는 변성단백질의 축적 예방 자가포식소체 축적이 아밀로이드 단백질의 독성 유도
암	<ul style="list-style-type: none"> 손상 소기관과 성장인자 제거, 염색체 불안정성 감소 항암제 및 영양부족으로부터 암세포 보호
노화	<ul style="list-style-type: none"> 손상 소기관 제거, 활성산소종의 생성을 제한 현재까지 없음
간질환	<ul style="list-style-type: none"> 잘못 접힌 단백질을 제거하여 세포질그물 (ER) 보호 과도한 자식작용은 간독성 유발
심장질환	<ul style="list-style-type: none"> 허혈과 압력과부하로부터 보호 가능성 있음 재관류에 의한 손상 증가 가능성 있음
근육질환	<ul style="list-style-type: none"> 응고 단백질에 의한 생리기증 저하 예방 근육파괴 촉진 가능성
감염과 면역	<ul style="list-style-type: none"> 세포에 침입한 세균, 바이러스, 원생동물 제거 일부 미생물은 자식작용 회피 가능 <p>• 회색: 생체에 긍정적인 효과 • 검은색: 생체에 부정적인 효과</p>

Fig. 2. Autophagy and related disease

명연장, 압과 관련이 있다고 간주하고 있기 때문에 다른 많은 연구들이 자식작용을 조절하는 식품 성분에 대해 초점을 맞추고 있다.

발효식품

진핵세포와 관련된 식품과 음료의 발효과정은 종종 장기 숙성과 영양제한 상태를 발생하여 자식작용을 유발할 수 있게 된다. 포도주 제조는 이러한 자식작용이 관여하기 쉬운 조건의 좋은 예이다. 접종 후 발효가 진행되기 전에 효모는 낮은 산성도 조건과 높은 당 농도, 높은 이산화황 농도 조건에 적응해야 한다. 지체기(lag phase)가 지난 뒤 효모의 생물량(biomass)은 약 2~6일간 기하급수적으로 증가한다. 효모의 생물학적 활성은 발효기간 동안 급속한 질소의 고갈, 온도변화, 그리고 에탄올 독성과 같은 다양한 스트레스 조건을 유발하여 포도주 에탄올의 약 1/3과 주요 글리세롤 분획이 이때 생성된다. 다음 단계에서는 효모의 생물량은 증가하지 않지만 포도주 에탄올 함량의 나머지 2/3와 포도주 품질에 중요한 향미성분이 생성된다.

질소제한은 이 과정의 주요 스트레스 요인으로 효모가 더 이상 성장하지 못하게 한다. 포도에 존재하는 대부분의 질소원은 프롤린, 아르기닌과 같은 암모늄 이온이며 기타 다른 아미노산의 함량은 포도 품종, 농경법과 같은 조건에 따라 다를 수 있다. 프롤린은 가장 풍부한 아미노산이지만 효모는 호기조건에서만 프롤린을 이용할 수 있다. 발효 시간이 지남에 따라 효모는 해당작용을 통해 이산화탄소 함량을 증가시켜 점차적으로 혐기적 조건을 형성한다. 발효초기에도 효모는 포도에 존재하는 소량의 암모늄을 선호하므로 프롤린 이용이 차단

된다. 따라서 포도즙(grape must)의 효모 가용 부족한 효모 생물량 부족으로 이어져 충분한 발효가 일어나지 않을 수 있다. 포도주 산업계는 이를 해결하기 위하여 여러 질소원을 첨가하였으나 포도즙 하부에는 여전히 대부분의 발효기간 동안 질소원이 부족한 상태가 되어 질소원 기아 상태가 우세하게 되므로 자식작용은 반드시 유도된다.

Methode Champenoise 방법으로 발포 포도주를 제조하기 위해 사용하는 기저 포도주는 당과 효모가 추가된 특수한 병에 담겨 이차 발효를 진행한다. 이때 효모의 자가용해가 일어나 아미노산과 향미 성분 그리고 그 전구체 성분을 유리한다. 따라서 이렇게 포도주에 유리되는 성분은 자식작용과 자가용해 작용이 복합적으로 작용한 결과, 자식작용은 효모의 자가용해 이전에 발생하는데 이는 자식작용이 자가용해에 선행하여 일어나기 때문이다. Cebollero는 이차 발효과정 중에 자식작용이 일어남을 관찰하여 이 가설을 증명하였다. 이 연구를 통해서 자식작용의 지표가 발효과정 중에 나타나며 이는 당이 소모되기 이전 질소의 제한이 주요 자식작용의 원인 환경임을 제안하였다. 부가적으로 자식작용 조절유전자가 제거된 효모의 경우 당의 소모 이후 사멸속도가 증가하며 자가용해 경로로 빨리 진입한다. 이러한 연구 결과를 토대로 자식작용을 조절함으로써 발효음료의 관능적인 특성을 조절하기 용이하게 해준다. 효모는 인체를 구성하는 세포와 동일한 진핵세포이므로 인체에 해를 미치지 않는 보존제를 개발하는 것은 까다롭다.

식품의 저장 수명

세계 식품의 약 40%는 부패로 인하여 손실되고

있다. 이러한 손실의 대부분은 필요하지 않은 효모의 증식으로 인한 부패 때문이다. 효모는 선별적으로 높은 삼투압, 당 농도, 식재료, 산도를 갖는 식재료에 부패를 유발한다. 효모는 다른 균에 비해 위 식재료의 부패에 우위를 점하고 있지만, 현 위생 기준은 효모가 아닌 세균의 부패를 막는 방향에 중점을 두고 있어 효모로 인한 식품의 부패는 증가하고 있는 추세이다. 효모의 부패로 인해 가장 큰 피해를 받고 있는 식품은 음료이며 식품 부패의 원인이 되는 효모의 대표는 *Saccharomyces cerevisiae* (*S. cerevisiae*)이다. 현재 효모의 부패를 막기 위해 주로 사용하는 보존제는 약한 유기산이다. 약한 유기산은 효모 세포질을 산성화시키거나, 산화적 스트레스를 유발하거나, 내포내 막의 통로를 유발하여 효모의 부패를 막는 것으로 추정된다. Hazan은 유기산인 benzoic acid가 보존제로 사용하는 농도에서 효모의 자식작용을 저해함으로써 세포증식을 억제한다고 보고하였다. 유기산은 효모를 사멸시키지 못하고 증식을 억제함으로써 효모가 유기산에 적응하면 결국 식품의 부패로 연결된다는 한계를 갖고 있다. 그러나 위 연구진은 benzoic acid와 동시에 질소가기 상태에서 효모가 사멸하여 유기산의 한계를 극복할 수 있음을 보여주었다. 이는 다른 식품 부패 유발 효모인 *Zygosaccharomyces bailii*(*Z. bailii*)에도 동일하게 적용되었다.

모든 식품은 질소가 존재하므로 위 발견을 식품의 보존에 직접 적용할 수 없다. 그러나 Powers와 동료들은 허가된 식품 첨가제인 카페인이 효모의 Tor 인산화 효소의 활성을 억제하기 때문에 질소가 이상태와 유기산의 상승과 유사한 효과를 나타낼 수 있다고 가정하였으며, Winter는 *S. cerevisiae*와 *Z. bailii*에 적용될 수 있음을 보여주었다.

기대효과

자식작용은 효모에서 포유동물을 포함하는 진핵 세포와 식물에서 일어나는 항상성 유지의 중요한 도구이다. 자식작용을 활성화시킴으로써 질병을 유발하는 변성 단백질이나 소기관을 제거하여 퇴행성 뇌 질병, 암 등과 세포에 축적된 과잉 에너지를 분해하여 비만, 지방간 등을 예방·치료하거나 수명을 증가시킬 가능성이 제시되고 있다. 또한 효모는 발효와 위생에서 중요한 위치에 있으며 효모의 대사와 증식을 조절하는 것이 식품의 품질과 밀접한 관련이 있다. 최근 연구결과에 따르면 자식작용은 효모의 증식과 후기 발효를 조절하는 중요한 인자로 나타났다. 따라서 자식작용을 조절하는 소재를 개발하여 새로운 건강기능성식품을 개발하거나 식품의 품질을 개선할 수 있는 가능성이 높다.

● 참고문헌 ●

1. Abeliovich H, Gonzalez R, Autophagy in food biotechnology, *Autophagy*, **5**, 925-929, 2009
2. Levine B, Kroemer G, Autophagy in the Pathogenesis of Disease, *Cell*, **132**, 27-42, 2008
3. Mizushima N, Levine B, Cuervo AM, Klionsky DJ, Autophagy fights disease through cellular self-digestion, *Nature*, **451**, 1069-1075, 2008

허 행 전 농학박사

소 속 : 한국식품연구원 장수과학연구단
 전문분야 : 기능성 식품학
 E-mail : mistitoe@kfri.re.kr
 T E L : 031-780-9338