

제 2형당뇨 및 비만에 있어서 마우스 모델과 사람 GWAS 해석

Mouse Models and the Interpretation of Human GWAS in Type 2 Diabetes and Obesity

안지윤 | 기능성연구단

Jiyun Ahn | Functional Food Technology Research Group

지난 3년간 전장유전체연관분석(genome-wide association studies, GWAS)이라는 유전자(genome) 전체의 유전정보를 탐색하여 정상인 그룹과 환자 그룹 사이에서 유의한 차이가 나타나는 유전 요인을 찾아내는 연구를 통해 다발성 질환에 관련된 유전자의 규명에 있어서 전례가 없는 성과가 있었다. 예를 들어 제 2형당뇨의 경우 35개 이상, 비만의 경우 32개의 유전자좌(genus locus, 이하 loci)가 질병 감수성과 관련된 것이 밝혀졌다. 그러나 원인 loci와 특정 연관 불평형 영역(linkage disequilibrium block, LD block)의 변이는 대개 불명확하다. 다른 마우스 대립유전자의 조합은 특정 질병과 연관된 후보 유전자를 이해하는 것을 매우 수월하게 할 수 있으며 또한 대립유전자군을 통해 hypermorph(저차형유전자)와 hypomorph(고차형유전자) 점 돌연변이(point mutation), knockout 및 overexpression 과 같은 유전자 변이의 기능적 분석도 할 수 있다.

이러한 특정 대립유전자에 대한 phenotyping과 유전적 변이의 기능 분석 조합을 통해 분자적 세포적 메커니즘 구명이 되고 이는 궁극적으로 다발성 질환

에 대해 새로운 치료 전략의 개발로 이끌 것이다.

여기서는 대사성 질환 특이 유전자 구명 연구에 있어서 GWAS 진행과 후보 유전자 검증 및 작용 기전에 대한 통찰 제공을 위한 모델로서 마우스의 사용에 대해 다룰 것이다.

인간 질병 연구에 있어서 GWAS의 강점

인간 집단 대상 GWAS는 여러 질병(조울증, 관상동맥 질환, 크론병, 고혈압, 류마티스성 관절염, 비만, 당뇨 등) 및 질병 타입 별로 수행되어 왔다. 이는 다수의 개체를 대상으로 고밀도 단일염기다형성(single nucleotide polymorphism, SNP) 적용을 한 거대한 규모의 연구이다.

많은 경우에서 새로운 질병 특이 유전자를 발굴하기 위한 메타분석과 같은 통계적 파워를 극대화하기 위해 전세계적 협조 필요성이 대두되었다. 이러한 접근은 매우 성공적이어서 다수의 loci와 인간

질병과 연관된 새로운 후보 유전자들이 구명되었고 당뇨의 경우 현재까지 약 35개의 loci가 밝혀졌다. 그러나 각각의 유전자들은 질병 발병에 비교적 미약한 영향을 미치는 것으로 나타나 제 2형당뇨 발병의 경우 가족력의 극일부만이 해석이 가능하다. 즉 각 개체의 질병 발생 위험을 예측하기 위한 질병 진단 수단으로써 loci의 가치는 실망스럽다. 여기에는 아마도 고중성지방혈증(hypertriglyceridemia)에서 나타나는 경우처럼 부수적인 유전을 결정짓는 다른 저빈도 대립유전자가 있을 가능성도 있다. 그러나 질병 관련 유전자 구명의 진정한 가치는 이것들이 질병 자체에 대한 통찰적 정보를 제공하고 차후 치료 중재를 위한 새로운 타겟 및 경로가 될 수 있다는 점이다. 비록 대규모 집단 대상의 다발성 질환 관련 유전자 변이의 효과가 미비하다 해도 이를 치료 타겟(사실상 대립 유전자 자체)으로 하는 약리적 조절을 통해 매우 효과적인 치료 효과가 나타날 수 있는 가능성은 아직 있다.

GWAS를 통해 구명된 질병 관련 loci를 환자의 유익을 위해 궁극적으로 이용하기 위해서는 아직 넘어야 할 산이 많다. 첫째로 GWAS는 원인 유전자 변이 자체보다는 haplotype block이라고도 불리는 non-random 방식으로 유전되는 염기서열인 LD block 규정을 통해 새로운 loci를 구명한다는 것이다. 둘째는 질병과 연관이 있는 SNP가 꼭 functional 하지는 않다는 점이다. 그보다는 표현형적 결과(phenotypic consequence)를 일으키는 다른 유전자에 영향을 미칠 수는 있다. 질병 관련 locus 내에 위치하는 원인 유전자의 기능 구명이야말로 새로운 생물학적 정보를 획득하고 치료 가능 타겟을 구명하기 위해 가장 먼저 필수적으로 이루어져야 할 부분이다.

제 2형당뇨와 비만에 있어서 GWAS

다발성 질환의 질병감수성과 관련이 있는 새로운 loci의 발견에 있어서 대단한 성과 중 하나가 제 2형당뇨 및 비만 관련 loci이다. 2006년에 *TCF7L2* gene(Wnt signaling 관련 주요 전사 인자로 제 2형당뇨와 연관된 loci 내 위치함)이 직접적으로 질병과 관련이 있음이 최초 아이슬란드 인구 대상에서 후에서 다른 두 유럽 조상 인구집단에서도 반복적으로 나타났다. 이 결과는 후에 다른 인구 집단에서도 동일하게 확인되었다. 기전 연구 결과 이 유전자는 secretory granule exocytosis에 필수적이며 이를 통해 인슐린 분비에 관여하는 것으로 밝혀졌다. 다음 해인 2007년은 당뇨 및 비만 GWAS의 역사적 해다. 가장 먼저 밝혀진 것은 *FTO*라 불리는 유전자의 첫 번째 인트론의 SNP로서 제 2형당뇨와 매우 강한 연관성을 나타냈으나 body mass index(BMI) 보정시 연관성이 낮아지는 단점이 있었다. *FTO* 유전자는 아동과 성인에 있어서 비만 성향을 유도하고 결과적으로 당뇨의 발병 위험을 증가시켰다. 가장 중요한 것은 *FTO*가 기능과 작용 경로가 전혀 알려지지 않았던 유전자라는 것이다. 그러므로 *FTO*가 비만의 원인유전자인지 밝히는 것이 훨씬 더 흥미로운 것이었다. 초기의 많은 연구들은 제 2형당뇨와 직접적으로 연관이 있는 다른 loci의 보고로 이어졌다. 현재까지 알려진 loci들은 대부분 인슐린 작용을 조절하기 보다는 인슐린 분비에 영향을 미치는 것으로 보고되었다(Table 1). 흥미롭게도 몇몇 loci는 다른 병리 현상, 예를 들어 KFL14은 아직 그 기능적 중요성에 대해서는 밝혀지지 않았지만 제 2형당뇨뿐만 아니라 basal cell carcinoma에도 관련되어 있다. 유사한 성과가 비만의 GWAS 분야에서도

Table 1. Type 2 diabetes susceptibility loci identified through GWAS

Candidate gene symbol	Gene name	Location	Effect size ^a
<i>NOTCH2</i>	Notch homologue 2	1p12	1.13
<i>PROX1</i>	Prospero homeobox 1	1q41	1.07
<i>BCL11A</i>	B-cell lymphoma/leukemia 11A	2p16.1	1.08
<i>THADA</i>	Thyroid adenoma associated	2p21	1.15
<i>GCKR</i>	Glucokinase (hexokinase 4) regulator	2p23	1.06
<i>G6PC2</i>	Glucose-6-phosphatase, catalytic, 2	2q24.3	0.97
<i>IRS1</i>	Insulin receptor substrate 1	2q36	1.11
<i>ADAMTS9</i>	ADAM metalloproteinase with thrombospondin type 1 motif 9	3p14	1.09
<i>ADCY5</i>	Adenylate cyclase 5	3q13.2	1.12
<i>PPARG</i>	Peroxisome proliferator-activated receptor γ	3q25	0.78
<i>SLC2A2</i>	Solute carrier family 2 (facilitated glucose transporter), member 2	3q26.2	1.01
<i>IGF2BP2</i>	Insulin-like growth factor 2 mRNA-binding protein 2	3q28	1.14
<i>WFS1</i>	Wolfram syndrome 1	4p16.1	1.12
<i>ZBED3</i>	Zinc finger, BED-type containing 3	5q13.2	1.08
<i>CDKAL1</i>	CDK5 regulatory subunit-associated protein 1-like 1	6p22.2	1.14
<i>JAZF1</i>	Juxtaposed with another zinc finger gene 1	7p15	1.10
<i>GCK</i>	Glucokinase (hexokinase 4)	7p15.3	1.07
<i>DGKB</i> and <i>TMEM195</i>	Diacylglycerol kinase β ; transmembrane protein 195 (alkylglycerol monooxygenase)	7p21.1	1.06
<i>KLF14</i>	Kruppel-like factor 14	7q32.3	1.07
<i>TP53INP1</i>	Kumor protein p53 inducible nuclear protein 1	8q22	1.06
<i>SLC30A8</i>	Solute carrier family 30 member 8 (zinc transporter 8)	8q24.11	1.15
<i>CDKN2A</i> and <i>CDKN2B</i>	Cyclin-dependent kinase 4 inhibitor 2A and B	9p21	1.20
<i>GLIS3</i>	GLIS family zinc finger 3	9p24.2	1.03
<i>CHCHD9</i>	Coiled-coil-helix-coiled-coil-helix domain containing 9	9q21.3	1.11
<i>CDC123</i> and <i>CAMK1D</i>	Cell division cycle protein 123 homologue (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>); calcium/calmodulin-dependent protein kinase type 1D	10p13	1.11
<i>HHEX</i> and <i>IDE</i>	Haematopoietically-expressed homeobox; insulin-degrading enzyme	10q23	1.15
<i>ADRA2A</i>	Alpha-2A adrenergic receptor	10q24	1.04
<i>TCF7L2</i>	Transcription factor 7-like 2	10q25.3	1.40
<i>MADD</i>	MAP-kinase activating death domain	11p11.2	1.01
<i>CRY2</i>	Cryptochrome 2	11p11.2	1.04
<i>KCNJ11</i>	Potassium channel, inwardly rectifying, subfamily J, member 11	11p15.1	1.23
<i>KCNQ1</i>	Potassium voltage-gated channel, KQT-like subfamily, member 1	11p15.5	1.29
<i>FADS1</i>	Fatty acid desaturase 1	11q12	1.04
<i>ARAP1</i>	ArfGAP with RhoGAP domain, ankyrin repeat and PH domain 1	11q13.3	1.14
<i>MTNR1B</i>	Melatonin receptor 1B	11q21	1.09
<i>HMGA2</i>	High mobility group AT-hook 2	12q15	1.10
<i>TSPAN8</i> and <i>LGR5</i>	Tetraspanin-8; leucine-rich repeat-containing G-protein coupled receptor 5	12q21	1.09
<i>IGF1</i>	Insulin-like growth factor 1	12q23.2	1.04
<i>HNF1A</i>	Hepatocyte nuclear factor-1 α	12q24.3	1.07
<i>C2CD4B</i>	C2 calcium-dependent domain containing 4B	15q22.2	1.03
<i>ZFAND6</i>	Zinc finger, AN1-type domain 6	15q24.3	1.06
<i>PRC1</i>	Protein regulator of cytokinesis 1	15q26.1	1.07
<i>FTO</i>	Fat mass and obesity associated	16q12.2	1.17
<i>HNF1B</i>	Hepatocyte nuclear factor 1 homeobox B	17q12	1.13
<i>DUSP9</i>	Dual specificity phosphatase 9	Xq28	1.27

^aThe effect size (also known as odds ratio) is a measure of relative risk for a disease association compared with controls.

나타나 09-10년의 관련 논문 다수 발표로 32개 이상의 비만 관련 유전자 loci가 보고되었다(Table 2). 이들 중 다수의 유전자들로부터 비만 발병에 있어서 신경세포와 뇌, 특히 시상하부의 역할 가능성을 제시하였고 소수의 경우 지방세포 생리 조절과 관련되어있고 나머지들은 완전히 새로운 것이었다.

질병 관련 유전자 규명 연구

각 질병 연관 locus 내의 원인 유전자를 규명하기 위한 보조적 방법들이 몇몇 있다. 인간 게놈 서

열 정보를 통해 특정 locus 부분의 유전자 리스트를 알 수 있고 SNP의 연관불균형 관련 haplotype map(HapMap) 데이터를 통해 타겟 locus의 크기를 최소화 할 수 있다. 각 유전자에 대한 정보, 예를 들어 SNP 근접성, 유전자발현, eQTL(expression quantitative trait loci), 알려진 동물모델과 표현형 변화 등을 총체적으로 고려함으로써 각 후보 유전자 질병 특이 유전자로서의 가능성을 평가할 수 있다.

어떤 경우에는 매우 강력한 후보 유전자가 확실하게 있는 경우도 있다. 예를 들어 *MC4R* 유전자의 188 kb downstream의 SNP는 대규모 집단 대상 연구에서 BMI가 높은 군에서 나타났다. *MC4R* 유전

Table 2. Obesity-associated loci identified through GWAS

Candidate gene symbol	Gene name	Location	Effect size ^a
<i>NEGR1</i>	Neuronal growth regulator 1	1p31	1.05
<i>SEC16B</i> and <i>RASAL2</i>	SEC16 homologue B (<i>S. cerevisiae</i>); RAS protein activator like 2	1q25	1.11
<i>SDCCAG8</i>	Serologically defined colon cancer antigen 8 gene	1q43	1.19
<i>TMEM18</i>	Transmembrane protein 18	2p25	1.41
<i>ETV5</i>	Ets variant gene	3q27	1.11
<i>GNPDA2</i>	Glucosamine-6-phosphate deaminase	4p13	1.12
<i>PRL</i>	Prolactin	6p22.2	0.31
<i>NCR3</i> , <i>AIF1</i> and <i>BAT2</i>	Natural cytotoxicity triggering receptor 3 precursor prolactin; allograft inflammatory factor 1; HLA-B associated transcript 2	6p21	1.07
<i>TNKS</i> and <i>MSRA</i>	Tankyrase-1 (TRF1-interacting ankyrin-related ADP-ribose polymerase); methionine sulfoxide reductase A gene	8p23	1.00
<i>PTER</i>	Phosphotriesterase-related	10p12	0.68
<i>BDNF</i>	Brain-derived neurotrophic factor	11p14	1.11
<i>MTCH2</i>	Mitochondrial carrier homologue 2	11p11.2	1.03
<i>FAIM</i> and <i>BCDIN3D</i>	Fas apoptotic inhibitory molecule; BCDIN3 domain containing	12q13	1.14
<i>SH2B1</i>	SH2B adaptor protein 1	16p11.2	1.11
<i>MAF</i>	V-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homologue	16q22	1.39
<i>FTO</i>	Fat mass and obesity associated	16q22.2	1.67
<i>NPC1</i>	Niemann-Pick disease type C1	18q11.2	0.75
<i>MC4R</i>	Melanocortin 4 receptor	18q22	1.12
<i>KCTD15</i>	Potassium channel tetramerization domain containing 15	19q13.11	1.04

^aThe effect size (also known as odds ratio) is a measure of relative risk for a disease association compared with controls. Eighteen additional obesity loci have now been identified (Speliotes *et al.*, 2010) for BMI, as well as 13 for body fat (Heid *et al.*, 2010).

자는 그 특성이 잘 알려져 시상하부에서 식품 섭취 조절에 관여하는 것으로 밝혀졌고 이 유전자의 단독 변이 하나만도 매우 심각한 소아 비만을 유발함이 보고되었다. 그러나 이렇게 확실한 질병 특이 유전자의 발견에도 불구하고 어떻게 해당 SNP를 보유한 DNA가 *MC4R* 발현이나 단백질 기능에 영향을 미치는지는 아직 밝혀지지 못했다. 어떻게 SNPs 또는 그들이 유도한 기능적 변이가 *MC4R* 및 BMI에 영향을 끼치는지 밝혀내는 것은 과학적으로 아주 중요한 문제이다. 이 유전자가 비만과 연관이 있다는 사실은 새로운 비만 치료 타겟으로서 *MC4R*의 가능성을 제시하기 때문이다. 비록 *MC4R* receptor agonist들이 사람에서 혈압의 상승을 유도함에도 말이다.

Locus 내 질병 특이 유전자 후보가 될만한 유전자가 전혀 없을 경우, 원인 유전자를 밝히는 연구는 난관에 부딪히게 된다. 이 때 활용되는 방법 중 하나가 eQTL 데이터를 이용하는 것이다. 이러한 데이터 세트는 대개 다양한 SNP를 highly parallel expression profiling 기법을 사용해 측정된 유전자 발현 상관성을 통해 구축된다. 개인간의 유전적 다형성을 활용하여 개인별 특정 유전자의 발현차이를 SNP와 연관시킬 수 있다. 이러한 SNP 중 상당수가(항상 그런 것은 아니지만) 타겟 유전자와 같은 쪽에 위치한다. 이러한 데이터 조합을 활용하여 SNP나 flanking DNA가 그 부분의 다른 유전자 발현과 연관되어 있는지 알 수 있다. 만일 GWAS-associated SNP의 genotype에 따라 조절되는 유전자가 있다면 이 유전자가 질병 특이 후보 유전자가 될 수 있다. 이 방법의 단점은 현재 활용할 수 있는 highly parallel expression 데이터의 상당수가 human lymphoblastoid cell line으로부터 나왔다는 것이

다. 즉 식욕을 조절하는 것이 뇌 시상하부의 뉴런이듯이 *in vivo*로 확대 시 결과가 일치하지 않게 나올 수 있다. 또한 많은 유전자들이 관련된 eQTL을 가질 수 있다. 즉 eQTL 데이터조합 사이즈가 증가함에 따라 trait-associated SNP와 eQTL 간의 상관성이 우연히 나타날 수도 있다. 이런 경우를 대비해 데이터 분석 시 LD를 활용하는 방법도 가능하다. 예를 들어 당뇨의 공복(fasting) 상태와 관련된 연구를 할 때, eQTL 분석을 통해 가장 깊게 관련된 SNP가 *FAQDS1* mRNA 수치를 조절하는데 관여하는 SNP를 보유한 LD 부위에 있기 때문에 *FAQDS1* 이 후보 유전자가 될 수 있다. 더욱이 최근의 제 2형당뇨 GWAS 연구결과 강력한 *IRS-1 cis* eQTL이 보고되었다.

위에 언급된 바와 같이, 질병 관련 SNP는 맵핑에 사용되는 SNP를 지닌 LD에 위치하는 기능적 변종(functional variants)을 생성할 수 있다. 소수의 유전자들의 경우, coding variant가 알려져 있고 LD에 위치한다. 예를 들어 제 2형당뇨와 관련되어 있고, glucokinase regulatory protein(GCKR) 유전자 근처에 위치하는 SNP는 공복혈당 및 인슐린 상승의 glucose phenotype과 관련이 있다고 이미 밝혀졌고 GCK 활성에 영향을 준다는 보고가 있는 P446L의 변종을 보유한 LD에 존재한다. 결론적으로 원인 유전자 변종을 구명하기 위한 다른 방법은 질병 특이 유전자가 될 가능성이 있는 부분에 대해서 정상인과 환자를 대상으로 염기서열 분석을 하는 것이다. 이런 경우 고중성지방혈증 연구에서 나타난 바와 같이 인종별 또는 케이스별로 다른 변종이 존재할 가능성이 있다.

원인유전자 규명을 위한 zebrafish를 이용한 새로운 시도가 Ragvin 그룹에 의해 최근 보고되었다.

Ragvin 그룹은 당뇨와 연관된 3개의 유전자좌(loci)에 해당하는 LD block의 염기서열을 분석한 뒤 종별 비교를 통해 게놈 조절 block 가능성이 있는 highly conserved noncoding element를 찾았다. 그런 뒤, zebrafish 배아를 활용해 transgenic reporter로 검사하여 상동영역(syteny)에서 다른 유전자와의 발현 패턴 상관성을 분석하였다. 한 예로, *CDKAL1* 유전자가 포함된 부분은 이 외에도 *SOX4*와 같은 다른 유전자들이 있는데 관련된 SNP는 *CDKAL1*의 5번째 인트론 부분 내 highly conserved element에 나타났다. Ragvin 그룹은 zebrafish 배아에서 이 부분의 증폭자(enhancer) 활성을 측정하였고 그 결과 발현 패턴이 *SOX4* 단백질 보다는 *CDKAL1* 단백질과 유사하게 나타났다. 이를 근거로 *CDKAL1* 보다는 *SOX4*가 당뇨의 원인 유전자인 것으로 결론 내렸고 이를 지지하는 *SOX4*가 인슐린 분비를 조절한다는 실험 결과도 보고하였다. 이는 배아를 사용해야 한다는 단점에도 불구하고 매우 흥미로운 시도였다. 게다가 테스트한 부위에 있는 다른 유전자들은 zebrafish에서 발현되지 않기 때문에 원인유전자에서 제외되었다.

위에서 언급한 연구 방법들은 모두 후보 유전자를 규명하기 위한 것으로 개별 유전자의 기능을 밝혀내는 것 또한 매우 중요해 이상적으로 SNP와 관련된 원인 유전자 변이의 정의, 또는 기능적 조절 인자, 이러한 변이가 타겟 유전자의 기능에 미치는 영향 등이 해당된다. 또한 생체(an intact organism)에서 해당 유전자의 기능 구명 및 질병 위험성 증가 원리 등도 밝혀져야 한다. 위에 설명한 바와 같이, 다른 보조적 방법으로는 인간 SNP의 기능적 다형성을 고려할 필요 없이 후보 유전자의 기능을 측정하는 것이다. 이 방법은 마우스와 같은 동물 모델

에서 매우 중요한 역할을 한다.

당뇨 및 비만 연구에 있어서 마우스 모델의 중요성

마우스 모델은 GWAS 데이터의 다음 연구 단계인 생체 내 관련된 유전자의 기능을 구명할 때 매우 도움이 된다. 여기서는 인체 대사성 질환 연구 모델로서 마우스의 사용에 대해 주로 설명하려고 한다. 마우스는 몇 가지 이유(① 게놈 서열 분석이 완성되었고 유전학적으로 한정된 종(genetically defined strains)이며 광범위한 유전자 조작 가능하다는 것, ② 쉽게 번식한다는 것, ③ 번식과 표현형 조절이 가능하다는 것, ④ 표현형 테스트를 위한 표준화된 상용 array 사용 가능 등) 때문에 매우 유용한 포유류 모델이다. 그렇다면 당뇨 및 마우스 연구에 있어서 마우스는 얼마나 유용할까? 아래 언급된 바와 같이 사람의 대사성 장애 시 나타나는 여러 생리학적 특성이 마우스에서도 유사하게 나타난다. 특히 당뇨의 경우 사람과 마우스 둘 다 내당능 장애를 보이고 혈당 상승 시 나타나는 증상도 같으며 같은 진단키트를 사용하여 진단이 가능하다.

제 2형당뇨 및 당대사 장애 관련 마우스 동물 모델

마우스와 사람의 흥미로운 차이는 마우스의 경우 항동맥경화 활성이 있는 혈중 HDL 콜레스테롤의 수치가 높다는 것이다. 이상지질혈증(dyslipidemia)은 사람의 대사성 질환에 있어서 중요한

요소이다. 이러한 차이는 최근에 발표된 두 논문 (Najafi-Shoushtari *et al.*, 2010; Rayner *et al.*, 2010)에 따르면 콜레스테롤 합성을 조절하는데 관여하는 SREBPs(sterol regulatory element-binding protein)를 코딩하는 2개의 유전자 내에 위치하는 *miR-33a*, *-33b* 때문인 것으로 보인다. 이 두 microRNA는 콜레스테롤 이동 및 간에서 HDL 생성에 필요한 *ABCA1* 유전자를 포함한 몇몇 mRNA를 타겟으로 해 파괴시킨다. 사람과 달리 마우스는 SREBP1 인트론 부분에 위치하는 *miR-33b7*가 없어 *ABCA1*이 과발현되어 HDL 콜레스테롤의 수치가 높게 나타나는 것으로 생각되며 이 가설이 진실인지 나아가 사람 대사성 질환에서 이러한 microRNA의 역할에 대해 구명할 필요가 있다.

마우스의 돌연변이는 사람의 돌연변이와 유사한 표현형으로 나타난다. 예를 들어 사람의 GCK 유전자의 point mutation은 성숙 개시 당뇨(maturity onset diabetes of the young 2, GCK-MODY2)를 유발하며 마우스에서도 유사한 표현형으로 나타난다. 마우스 경우 GCK 유전자의 돌연변이가 단 1개만 발생해도 homozygous로 나타나 heterozygous 마우스에 비해 훨씬 더 심각한 내당 장애 특징을 보이게 된다. 반면에 homozygous GCK knockout은 심각한 당뇨 증상으로 생후 1주 내에 사망한다. 이에 반해, 사람의 경우 homozygous mutation은 매우 드물고, 나타난다 하더라도 인슐린 처치와 같은 방법으로 치료할 수 있다. 그러므로 사람과 마우스에 있어서 질병 관련 유전자의 발현의 영향은 대립유전자의 특성에 따라 다소 다르게 나타날 수 있다.

마우스에서 나타나는 모든 변이가 사람에게서 질병 유발 변이로 확실히 나타나는 것만은 아니다. 일례로 K_{ATP} 채널 subunit인 *KCNJ11*의 비활성 변

이로 인한 유아 고인슐린 혈증(hyperinsulinism of infancy, HI)의 경우가 이에 해당된다. HI 환자는 치명적인 저혈당증을 보이거나 마우스의 경우, 좀더 다양한 증상을 나타내 어떤 경우는 일시적인 신생아 저혈당증을 유발하고, 다른 경우는 베타세포 사멸로 인한 뚜렷한 당뇨 증상을 나타냈다. 우리는 최근, 마우스의 *KCNJ11* homozygous point mutation이 어린 HI 환자에서도 나타나는 것을 확인하였다. 이런 변이를 지닌 환자와 달리 마우스는 인슐린 과발현이나 저혈당 증상을 보이지 않았으나 내당 장애와 인슐린 분비 저하가 관찰되었다. 반면 *KCNJ11* 변이를 과발현시킨 마우스는 사람과 유사한 질병 양상을 보였다. 이는 베타세포 특이 V59M *KCNJ11* 변이 과발현 마우스에서 나타나는 바와 같이 심각한 신생아 당뇨 증상이 관찰되며 이와 같이 *KCNJ11* 변이 마우스는 질병의 병리 및 생리학적 연구에 있어서 매우 가치 있는 틀이 된다. 더욱이 이러한 변이를 신경 및 근육 특이적으로 과발현시킨 마우스를 통해 태아 당뇨 증상의 몇몇 환자에서 관찰되는 근육 약화현상이 신경학적 근원에 의한 것임을 밝혀낼 수 있었다. 결론적으로 이러한 연구 결과들은 새로운 치료 전략이나 약물을 개발함에 있어서 조직 특이 마우스 모델의 중요성을 제시한다. 다시 말해, 태아 당뇨의 경우 근육 이상을 치료하기 위해서는 blood-brain barrier를 통과하는 약물이 필요함을 알 수 있다. 당뇨의 이환율 및 치사율은 심장, 신장, 망막, 말초 혈관과 같은 다양한 조직에서 나타나는 합병증과 매우 깊이 연관되어 있다. 마우스가 이러한 합병증 연구에 적절한 모델인지는 아직 확실치 않다. 이러한 합병증은 사람의 경우 장기간에 걸쳐 서서히 발병해 수명이 짧은 마우스에서 나타나기가 어렵다. 마우스 모델은 대개의 경우 생후

초기 몇 주령 마우스를 사용한다. 이상적으로는 당뇨 마우스 모델의 경우 1년 혹은 18개월 이상의 것이 합병증을 관찰하기에 적절할 것으로 생각된다. 당뇨병 신증(diabetic nephropathy)의 경우 적절한 마우스 모델이 다수 있어 FVB, db/db, DBA/2와 같은 당뇨 질환 모델 마우스들을 통해서 새로운 신증 관련 *Dnph1* 유전자가 규명되었다.

비만 관련 마우스 모델

마우스는 비만 연구 분야에서 매우 중요한 실험 모델이다. Friedman 그룹에 의해 밝혀진 당뇨 모델 (db/db; leptin receptor 결핍)과 비만 모델(ob/ob; leptin 결핍)은 식욕을 조절하는 시상하부 경로를 밝히는데 필수적 역할을 담당하였다. 간단히 말해, 마우스는 제 2형당뇨 및 비만 연구에 있어서 매우 유용한 동물 모델이며 질병 발병 기전 연구를 가능케 한다. 마우스와 인간은 명확한 차이가 있고 이는 *in vitro* 실험이나 다른 동물 모델의 경우도 마찬가지이나 결론적으로 마우스는 우리가 직면한 여러 장애를 극복하는데 큰 도움이 된다.

마우스 모델로 GWAS의 기능적 한계 극복

당뇨 및 비만 실험 동물 모델 마우스는 GWAS로 도출된 locus 내의 유전자의 기능을 연구하는데 활용될 수 있다. 이는 후보 유전자의 유전적 차이, 예를 들어 natural polymorphisms, knockout, overexpression, dominant negative allele, point mutation 등에 따른 표현형 결과를 비교함으로써 가능하다.

예를 들어 비만 및 당뇨와 관련된 SNP가 1번 인트론에 존재하는 *FTO* 유전자가 질병 원인 유전자 인지를 구명하기 위해 knockout allele을 만들면 Homozygous *Fto*-knockout 마우스는 lean phenotype(체질량 감소, 지방조직 감소, 자발성 운동 감소, 에너지 소비 증가, 식욕 증가)과 생후 치사율 증가 및 성장 저하 등의 특징을 보였다. 비록 치사율이나 성장 장애와 부가적 특징들도 나타났지만 결론적으로 *FTO* 유전자가 체내 adiposity를 결정하는데 관여한다는 것을 추측할 수 있다. *FTO* 유전자에 point mutation 유도 시 단백질의 demethylase 기능을 상실하고 다른 이상 없이 체내 지방만 감소하였으며 이 결과 또한 *FTO*가 BMI를 결정하는데 중요한 역할을 담당함을 증명한다. 또한 *FTO*를 과발현 시키면 마우스는 식욕 상승에 의한 비만이 유도된다. 사람 *FTO* 관련 다수의 연구 결과에 따르면 *FTO* major allele이 비만 위험군의 식욕 증진과 관계가 있음이 보고되었다. 비만 위험 유전자형이 *FTO* 발현에 어떤 영향을 미치는지는 아직 모호하다. 그러나 heterozygous 개체의 섬유아세포와 혈액 샘플을 분석한 결과 비만 위험 유전자형을 코딩하는 유전자 발현이 더 높게 나타나는 것으로 나왔다. 이 외에도 식욕과 관련된 신경 조직에서 *FTO* 발현 양상을 비교하는 것도 흥미로운 결과가 나올 수 있다. 다음 단계로 진행되어야 하는 것은 마우스 모델을 통해 *FTO* 유전자가 어느 조직에 작용하여 표현형의 변화를 유도하는 가이며 이는 조직 특이 유전자 knockout 또는 overexpression을 통해 가능할 것이다.

당뇨 GWAS 연구를 통해 췌장 랑게르한스 섬(islet)에만 존재하는 zinc transporter인 ZNT8을 코딩하는 *SLC30A8* 유전자가 발견되었다. *SLC30A8* 유

전자가 불활성화 되면 인슐린 분비 및 내당능 장애가 나타났다. 특히 췌장 islet에 특이적으로 *SLC30A8*를 억제시키면 내당능 장애 증상을 보였다. 이러한 결과를 토대로 *SLC30A8* 유전자는 당뇨 질병 감수성과 관련이 있는 것임을 추측할 수 있고 새로운 당뇨 치료 타겟으로서의 가능성이 대두되었다.

이러한 질병 특이 유전자들의 기능을 평가할 수 있는 동물 모델을 통해 마우스가 GWAS 결과 도출된 유전자의 기능 연구를 통해 질병 원인 유전자를 구명하는데 매우 유용함을 알 수 있다. 또한 마우스는 조직 분석이 가능하고 다양한 생리학적 분석이 가능하기 때문에 사람을 대상으로 하기 어려운 기전 연구에도 매우 유용하다.

질병 특이 유전자 연구를 위한 다양한 마우스 모델이 점점 증가하고 있는 추세다. IKMC(International Knockout Mouse Consortium)는 마우스의 단백질을 코딩하는 모든 유전자 변이 유도 및 유전자 타겟 C57BL/6N 배아 줄기 세포에서 gene-targeting, gene-trap construct 제조를 목적으로 삼고 있다 (<http://www.knockoutmouse.org/about> 참고). EUMODIC(<http://www.eumodic.org/>)이나 International Mouse Phenotyping Consortium같은 다른 기관들도 이러한 마우스들에 대해 high-throughput phenotyping을 수행 중이며 이를 통해 GWAS 결과 밝혀진 질병 특이 변이가 BMI나 혈당 변화에 어떠한 영향을 미치는지에 대한 데이터가 제공될 수 있다. 마우스 표현형 관련 자료는 많은 데이터베이스에서 수집되어 있고 대표적인 것으로 EURO-PHENOME(<http://www.europenome.org/>)와 Mouse Phenome Database(<http://phenome.jax.org/>)를 들 수 있다. 결론적으로 마우스의 유전자형 및 표현형 데이터 구축을 통해 GWAS 통해 도출된

질병 특이 후보 유전자의 기능을 검증하는데 부가적 증거들을 제시할 수 있다.

해석 난관 해결법

그렇다면 질병 원인 유전자를 밝히는 데 성공했을 경우, 이를 어떻게 질병 치료를 위해 적용할 수 있을까? 동물 실험 모델이 가능한 치료 전략을 테스트해 보는데 유용하다 하더라도 그 자체로 이러한 gap을 잇기에는 불충분하다. 질병 특이 유전자로서 기전이 명확히 밝혀지고 *in vivo*에서도 기능이 확인되었다면 질병 치료 타겟으로서 약물로 개발되어 산업화 가능성도 높을 것이다. 마우스 모델은 조직 분석이 가능하기 때문에 유전자 작용 기전 연구를 촉진시킬 수 있다. 또한 약리학적 또는 유전적으로 작용 기전 내 상위 및 하위 분자를 조절할 수도 있고 post-translational modification도 가능하다. 임상연구 그룹과 협력을 통해 마우스에서 관찰된 phenotype 변화와 사람의 질병 phenotype과 비교할 수도 있다.

FTO 유전자 기능 연구를 위한 마우스 모델을 통해 약리학적으로 단백질의 효소 활성을 억제시킬 경우 비만이 억제됨을 밝혀졌고 이는 항비만 약물 개발을 위한 기초 기전이다. 그러나 *Fto* knockout 마우스의 높은 생후 치사율과 *FTO* 유전자에 비활성 변이를 지닌 사람에게서 보이는 심각한 여러 장기 손상 및 발달 장애는 비만 치료를 위해 *FTO*를 억제하는 것이 치명적 부작용을 가져올 가능성도 있음을 제시한다. 그러므로 정확한 치료 타겟으로서 임상에 적용되기 위해서는 유전자의 기능에 대한 추가적 연구가 더 필요하다. 추가적으로 마우스를 활용한 유전적 조절 연구가 *FTO* 유전자의 조직

특이성 및 기능에 대한 우리의 이해의 폭을 넓혀줄 수 있을 것으로 사료된다.

obesity, Disease Models & Mechanisms, 4, 155-164, 2011

● 자료출처 ●

Cox RD, Church CD, Mouse models and the interpretation of human GWAS in type 2 diabetes and

안 지 윤 수의학박사

소 속 : 한국식품연구원 기능성연구단

전문분야 : 식품 소재의 생리 활성 연구

E-mail : jyan@kfri.re.kr

T E L : 031-780-9079

본 내용은 자료 출처의 원문을 번역 기술한 것입니다.