

Molecular Mechanism of Endoplasmic Reticulum Stress Transducer OASIS Family

Kisang Kwon¹, Seung-Whan Kim², Kweon Yu³ and O-Yu Kwon^{4*}

¹Department of Biomedical Laboratory Science, College of Health & Welfare, Kyungwoon University, Gumi 730-739, Korea

²Department of Emergency Medicine, Chungnam National University Hospital, Daejeon 301-721, Korea

³Korea Research Institute of Bioscience & Biotechnology, Daejeon 305-806, Korea

⁴Department of Anatomy, College of Medicine, Chungnam National University, Daejeon 301-747, Korea

Received March 16, 2015 /Revised April 12, 2015 /Accepted April 12, 2015

The endoplasmic reticulum (ER) in the eukaryotic cells is the first compartment in the secretory pathway. Almost secretory proteins and membrane proteins are secreted through the ER, in which post-translational modifications occur via diverse signals from the ER lumen to the cytoplasm and nucleus. Only then are correctly-folded proteins secreted to the outside cells. Unfolded proteins that accumulate in the ER cause a kind of intracellular stress, ER stress, and activate an unfolded protein response (UPR) system. The 3 major transducers of the UPR are inositol requiring 1 (IRE1), PKR-like ER kinase (PERK) and activating transcription factor 6 (ATF6), all of which are ER transmembrane proteins. Recently, novel types of a new ATF6 family have been identified. Those commonly have an ER-transmembrane domain, a transcription-activation domain and a basic leucine zipper (bZIP) domain—Luman, OASIS, BBF2H7, CREBH and CREB4. Each factor functions by regulating the UPR in specific organs and tissues. Although the detailed molecular mechanisms of OASIS family members are unknown, in this study we comprehensively introduce these molecular signals.

Key words : Endoplasmic reticulum (ER), old astrocyte specifically induced substance (OASIS), unfolded protein response (UPR)

서 론

Lasker Award는 미국의 노벨상으로 불리는 상이다. 왜냐하면 이 상은 노벨상의 지표로서 수상자의 86명이 노벨상을 수상했다. 2014년도 Basic Medical Research부분의 수상자는 Kazutoshi Mori교수(Kyoto University), Peter Walter교수(University of California, San Francisco)이다. 이들은 각각 독립적으로 unfolded protein response (UPR)관련 연구의 선구자들이다. 지금 우리가 이해하는 'mRNA에서 만들어진 단백질은 어떤 운명과정을 거치면서 완전한 단백질이 되는가?'라는 물음의 답은 거의 대부분이 이들의 연구결과를 바탕으로 하고 있다. 특히 각종질병과의 관계가 분명해지면서, UPR연구는 앞으로 가장 중요한 생명과학분야의 하나가 될 것이다.

인체는 약 270종류(70조 정도)의 세포가 다양한 형태 및 기능을 종합적으로 작동할 수 있도록 구성된 생명체이다. 특히 다양하게 발달하는 세포에 따라서 세포내소기관(organelle)의

형태와 기능이 아주 다양하다. 대부분의 분비단백질과 막형성 단백질은 소포체(ER, endoplasmic reticulum)에서 다양한 번역후변형과정(posttranslational modification step)을 거쳐서 기능을 가진 성숙한 단백질로 완성된다, 이 과정에서 소포체내(ER lumen)에 존재하는 여러 종류의 분자샤페론(ER molecular chaperone)이 단백질의 성숙과정에 직접적으로 관여한다. 결국 ER라는 세포내소기관은 단백질의 품질관리(ERQC, ER quality control)기관이다. 세포외부의 다양한 자극은 세포에게는 스트레스가 되어 세포내에 존재하는 단백질의 folding 및 assembly을 방해하여 소포체내에 불완전하게 folding된 단백질(unfolded proteins)이 축적된다, 이런 상태를 소포체스트레스(ER stress)라고 한다. 세포의 입장에서는 소포체기능이상은 아주 중요한 문제임으로 직접적으로 스트레스로 부터 방어할 수 있는 system을 작동시킨다, 이것을 UPR이라고 한다. 이 system은 단백질의 성숙과정을 총괄하며 비상시에는 세포사로 부터 세포를 보호하는 역할을 담당하기 때문에 효모에서 포유세포에 이르기까지 모든 진핵세포에 널리 잘 보존되어 있다. 최근에는 UPR과 각종질환의 직접적인 관계가 알려지면서 UPR signal 해명에 많은 과학자들이 관심을 보이고 있다[27, 28].

UPR에는 3종류의 transducers가 작동하는 것이 알려지고 있다. Inositol requiring 1 (IRE1), PKR-like ER kinase (PERK), activating transcription factor 6 (ATF6)이다[22]. 이들의 공통

*Corresponding author

Tel : +82-42-580-8206, Fax : +82-42-586-4800

E-mail : oykwon@cnu.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

점은 ER membrane에 위치하며 ER lumen의 신호를 cytoplasm과 nucleus에 전달하는 역할을 한다. IRE1는 ER에 존재하는 I형의 막관통단백질로서, ER lumen의 N-말단이 ER stress를 인식하면 2량화하여 세포질 쪽에 있는 kinase 도메인이 자기인산화함으로서 IRE1분자의 C-말단이 ribonuclease 도메인이 활성화된다. 그 결과 출아효모의 UPR에 특이적인 전사인자 Hac1p를 코드하고 있는 *Hac*유전자의 mRNA에서 이 번역을 강하게 억제하고 있는 intron이 제거되면서 Hac1p가 발현하여 표적유전자의 전사가 촉진된다. 포유동물에도 yeast *Ire1p*와 상동성을 보이는 막관통형 단백질이 2종류 (IRE1 α 와 IRE1 β)존재하여 UPR에 관여하는 것으로 알려져 있다. 활성화된 IRE1 2량체는 XBP1 전사인자의 mRNA를 splicing하여 만들어진 또 다른 mRNA가 번역된 단백질 XBP1만이 전사인자의 활성을 가진다. 최근 연구에 의하면 XBP1 단백질은 PI3K subunit인 p85가 전사인자가 되기 위하여 결합에 필수적인 것으로 ER 관련 질병연구에 새로운 실마리를 제공할 것이다. PERK는 일반적으로 번역은 개시단계에서 제어된다. 특히, eukaryotic initiation factor-2 (eIF-2)의 α subunit의 51번 째 serine이 인산화됨으로써 번역이 전반적으로 억제되는 것이 알려져 있다. ER stress에 응답하여 일어나는 번역억제의 문자기구는 PERK라고 이름 부쳐진 단백질이 분리됨으로 인하여 크게 진전되었다. PERK도 IRE1 α 와 IRE1 β 와 같이 ER의 막을 관통(I 형)하는 protein kinase이다. ER lumen에 변성단백질이 축적되면 2량체가 되어 활성화된다. 자기인산화를 통해서 활성화된 PERK의 세포질 측의 도메인은 eIF-2의 α subunit를 인산화하여 번역을 억제한다. ATF6은 II형의 막관통단백질로서 DNA결합도메인인 염기성 leusine zipper 영역은 세포질 쪽에 존재한다. ER lumen에 변성단백질이 축적되면 ATF6은 proteolysis를 받아서 활성화된다. 그래서 어떤 protease의 작용을 받아서 ATF6의 세포질 측의 1/2정도가 ER 막에서 끊겨나간다. 끊겨진 이 단편이 핵으로 이동하여 ERSE (ER stress element)의 CCACG염기부분에 결합함으로써 표적유전자의 전사가 활성화된다. ATF6이 ERSE에 결합하기 위하여 CCACG염기와 NF-Y가 결합하고 있는 CCAAT염기가 정확하게 9염기가 떨어져있는 것이 필수적으로 NF-Y와 ATF6은 전사복합체를 형성한다.

최근에 ATF6와 유사한 새로운 ER-resident transcription factors를 Data base search 방법으로 동정되었다. ER 막관통의 bZIP domain을 가진 것 혹은 kinase domain을 가진 구조적인 특성을 가진 유전자를 선발하였다[2, 13]. ATF6와 아주닮은 문자구조를 가진 5종류의 막관통형 bZIP전사인자이다. 이들을 일반적으로 old astrocyte specifically induced substance (OASIS) family라고 부른다(Luman, OASIS, BBF2H7, CREBH, CREB4). 진화적으로 ATF6와 OASIS family는 *C. elegans*이상의 개체에 존재한다. *C. elegans*에는 비록 포유동물의 것과는 상동성이 조금 떨어지지만 3종류의 basic leucine zip-

per (bZIP) domain 전사인자가 있으며, *Drosophila*에는 2종류가 존재하다. 본 논문에서는 OASIS family (Luman, OASIS, BBF2H7, CREBH, CREB4)의 signal pathway를 중심을 조직특이적인 발현특성에 관하여 포괄적인 설명을 한다.

OASIS family members (Fig. 1) [2, 13]

ER stress가 세포에 작용하면 세포는 자신의 생리현상을 변화시켜 환경에 대응한다. 그러나 도저히 생존이 어려울 것 같으면 apoptosis를 택하여 부분적인 손실을 통해서 세포전체의 안전을 도모하려고 최선을 다하여 항상성(homeostasis)을 유지하려고 노력할 것이다. 즉 내부에 축적되는 불량단백질(un-/misfolded protein)을 처리한다든지 세포전체의 단백질 합성능력을 저하시켜서 세포의 생존을 최대한 유지하려고 할 것이다. 동일한 ER stress를 받아도 여러 종류의 세포는 각각 받는 감수성이 다르다. 예를 들어서, 대뇌피질의 초기배양세포에 ER stress를 주면 신경세포들은 모두 죽지만 astrocyte는 살아남았다. 결국 ER stress를 받는 정도가 세포의 종류에 따라서 다르다. 이 가설에 바탕을 두고 신경세포와 astrocyte의 ER response차이와 genome sequence data를 바탕으로 하는 bioinformatics방법으로 새로운 ATF6 like ER stress sensor가 동정되었다. 포유동물에서 ER stress의 대표적인 sensor로는 PERK, IRE1, ATF6가 알려져 있다. 이들의 활성에 의해서 최종적으로 단백질 번역억제, ER chaperone 유도, ER-associated degradation (ERAD)기전을 작동시킨다. 새로운 5종류를 OASIS family (Luman, OASIS, BBF2H7, CREBH, CREB4)라고 부른다. 이들은 공통적으로 ER 막관통의 bZIP domain과 kinase domain을 가진 문자구조를 특성으로 가진 단백질들이다. 즉, 5종류의 ATF6 유사구조의 막관통형 bZIP transcriptional factor이다. 이들은 문자 진화적으로 아주 밀접한 관계이며, 공통된 단백질구조로 인하여 Golgi에서 site-1 protease (S1P) 및 site-2 protease (S2P)에 의해서 2단계 절단과정을 통해서 생성된 N-말단단편이 세포핵으로 이동하여 전사인자로서 작동하게 된다. 그러나 이들은 각각 조직특이적인 분포에 의한 미묘한 기능의 차이와 각각 다른 target 유전자 때문에 특징적인 세포내 기능을 보인다. 이들에 의해서 다양한 조직/세포특이적인 ER stress response가 가능하다고 생각된다.

Luman (Fig. 2) [15, 17]

Luman은 herpes simplex virus VP16의 cellular counterpart로서 처음 보고된 문자이다. Luman의 mRNA는 각종장기 및 조직에서 발현되지만 번역산물인 단백질발현은 trigeminal ganglion neuron, monocyte, dendritic cell에서만 확인된다. 다른 OASIS family와 동일하게 S1P가 인식하는 배열을 ER lumen domain에 가지고 있어서 RIP (regulated intramembrane proteolysis)작용에 의해서 막내절단이 일어남으로써 전사인자로 기능을 가지게 된다. 그러나 ER stress에 의해

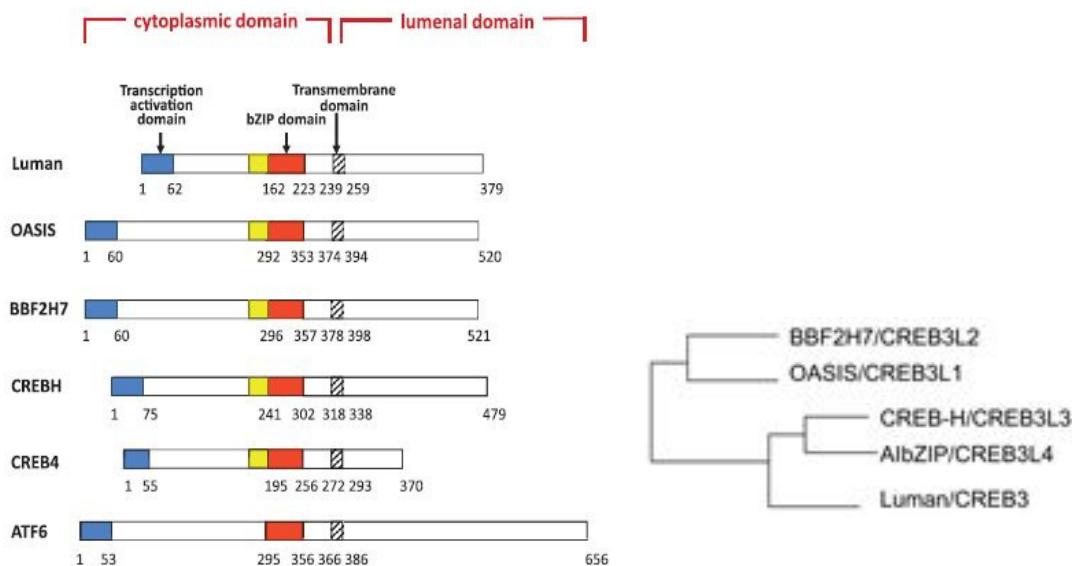


Fig. 1. Predicted peptide features of bZIP transmembrane transcription factors and those evolutionary relations. OASIS family members including Luman (CREB3), OASIS (CREB3L1), BBF2H7 (CREB3L2), CREBH (CREB3L3) and CREB4 (CREB3L4) share regions of high sequence similarity with ATF6. They have a transmembrane domain, a bZIP domain, and a transcription activation domain. About 30 amino acids adjacent to the N-terminal end of the bZIP region are conserved in the Luman, OASIS, BBF2H7, CREBH and CREB4 proteins, but are absent in ATF6 [22].

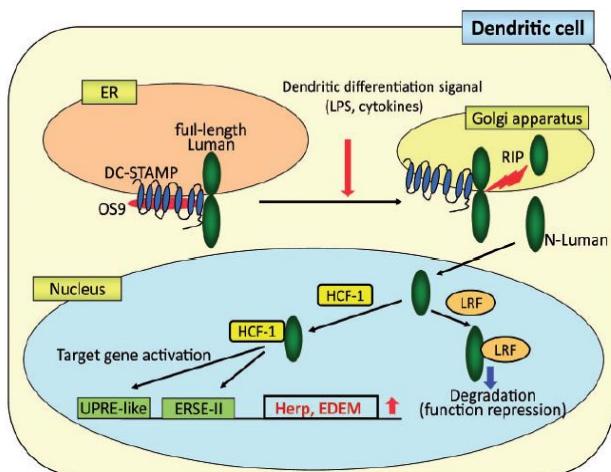


Fig. 2. The putative signalling pathways and cellular functions regulated by Luman. Luman, DC-STAMP and OS9 interact with each other at the cytosolic site of the ER. Upon dendritic maturation, the Luman/DC-STAMP complex translocates to the Golgi apparatus and Luman is subjected to RIP. The Cleaved N-terminal fragment of Luman is moved into the nucleus. In the absence of the interaction with LRF, Luman forms a complex with the co-factor HCF-1, and binds to UPRE-like or ERSE-II sequences to promote transcription of Herp and EDEM. When Luman interacts with LRF in the nucleus, Luman is rapidly degraded by the proteasome and transcription of the target genes is suppressed [2].

서 절단되지 않는다는 보고도 있어서 아직은 분명한 분자기전은 모르는 상태이다.

Luman에 결합하는 인자가 몇 종류 알려져 있다. 그 중의 하나가 dendritic cell-specific transmembrane protein (DC-STAMP)로서 osteosarcoma 9 (OS9)과 ER의 세포질 쪽 막에서 상호 결합한 상태로 존재한다. DC-STAMP는 dendritic cell에 발현하는 단백질로서 ER막에 수회막관통하는 형태로 존재하며 미분화 dendritic cell가 dendritic differentiation signal (LPS, cytokines)을 받아서 ER에서 Golgi로 이동과 동시에 막내 절단되어 N-말단 Luman이 핵으로 이동함으로써 분화가 진행된다. Host cell factor 1 (HCF-1)과 결합하여 UPRE-like 혹은 ERSE-II에 결합하여 ERAD에 관여하는 homocysteine-

induced ER protein (Herp), ER degradation enhancing α -mannosidase like protein (EDEM) 등의 유전자 전사를 촉진시킨다. 그러나 62 kDa Zn-finger protein (LRF)와 결합하면 proteasome에 의해서 분해되던지 아니면 target 유전자의 전사가 억제된다. 결국, Luman은 ERAD pathway를 활성화함으로써 stress를 받은 ER lumen의 환경을 개선하는 response 기능에 관여하는 것을 생각된다. Dendritic cell이 미분화상태일 때는 Luman과 DC-STAMP는 결합하여 ER에 있다가 분화가 시작되면 이들은 Golgi로 이동한다. 그 후에 Luman이 막내 절단되면 N-말단단편이 핵 내로 이동하여 dendritic cell의 분화를 촉진시킨다. 이와 같은 현상을 바탕으로 Dendritic cell에서 Luman의 기능을 여러 가지로 추측할 수 있다. 최근의 재미

있는 연구결과로, 활성화 Luman은 sensing nerve의 axonal ER의 injury 회복을 위한 regeneration signal을 제공하는 것 [14], nervous system을 기능적으로 조절하는 것[19], Jun activation domain-binding protein 1 (JAB1) 혹은 COP9 signalosome complex unit 5 (CSN5)가 Luman에 결합하여 Luman-degradation을 통해서 활성을 억제한다는 것[5] 등이 보고되고 있다. Dendritic cell의 분화시작을 Luman 혹은 DC-STAMP이 어떻게 감지하여 Golgi로 이동시키는지? Luman의 전사 target이 어떤 기전으로 dendritic cell의 분화시키는지? 이에 관한 해명은 dendritic cell의 분화에 작용하는 Luman의 생체 내 기능을 이해할 수 있는 중요한 과제이다.

Old astrocyte specifically induced substance (OASIS) (Fig. 3) (11, 16, 24)

OASIS는 오랜 시간 동안 배양한 astrocyte에서 특이하게 발현하는 전사인자이다. OASIS의 N-말단(transmembrane domain)은 ATF6와 31%의 상동성을 보이지만 C-말단(ER lumen domain)은 상동성을 보이지 않는다. 그러나 C-말단은 S1P에 인식되는 RSLL염기배열을 가지고 있다. CNS의 astrocyte이외에는 뼈조직(osteoblast), 소화관(goblet cells in the large intestine), salivary gland에서 강하게 발현한다. OASIS는 ER stress를 받으면 막내에서 절단되어 p50-OASIS가 만들어지는 것이 보고되어 있다. 생체 내에서는 미분화세포에서 분

비계통 세포로 분화할 때에 대량의 단백질생합성(bone matrix proteins)에 의하여 세포는 약하게 ER에 stress를 받게 된다[생리적 ER stress (physiological ER stress)], 이 같은 physiological ER stress에 대한 response로서 OASIS의 막내절단이 일어나는 것으로 생각된다. OASIS결손마우스는 야생 마우스에 비하여 체격은 조금 작아지만, 전체골격에서는 뼈 형성 기능이 현저하게 약해져서 femoral fracture가 관찰되기도 한다. Osteoblast에서 OASIS의 전사 target 중의 하나가 type-I collagen이다. Type-I collagen 유전자의 promotor영역에는 cyclic AMP-response element (CRE)와 유사한 배열(-1584~1591 nt)이 존재한다. OASIS는 CRE 유사배열에 결합하여 type-I collagen의 전사를 활성화하여서 bone matrix형성을 촉진하게 된다. Full-length OASIS는 normal condition에서는 쉽게 분해되지만 physiological ER stress에서 오히려 안정적인 상태를 유지한다.

사람의 질병 중에 type-I collagen 생합성결함에 의한 osteogenesis imperfecta (OI)이 보고되어 있다. OI의 가장 특징적인 장애는 불완전한 전신 골격형성이다. 흥미롭게 골 형성 결함과 함께 기관지염, 복부팽창, 비장비대증상이 관찰된다, 이 경우에 유전자분석 결과 OASIS유전자 전 영역의 결손이 확인되었다. OASIS는 CNS의 astrocyte에서도 발현하지만 OASIS결손마우스에서는 신경전구세포에서 astrocyte로의 분화가 지연된다. CNS에서 OASIS의 target gene은 신경전구세포에서 astrocyte분화에 필수적인 glial cell missing 1 (Gcm1)이다. 신경전구세포에서 astrocyte로 분화할 때에는 physiological ER stress가 일어나는 것으로 보아, OASIS는 약한 ER stress에 response하여 활성화되어 Gcm1의 발현수준을 조절함으로써 신경전구세포에서 astrocyte분화를 촉진시키는 것으로 생각된다. 그 외에 OASIS결손마우스는 large intestine의 goblet cell의 분화장애를 가진다. OASIS결손마우스에 dextran sulfate sodium (DSS)을 이용하여 대장염(DSS-induced colitis)을 유발시키면 goblet cell분비장애로 인하여 대장염이 극도로 심해진다[8]. 이런 상태에 chemical chaperone (taurooursodeoxycholic acid)을 처리하면 증상이 완화되는 것으로 보아 OASIS관련된 ER stress와 깊은 상관성이 있는 것으로 보인다. 최근의 관련 연구결과로는, OASIS가 injured cerebral cortex에서 chondroitin 6-O-sulfotransferase 1 (C6ST-1)의 유전자 전사를 조절하는 것[20] OASIS가 bone의 fracture healing에 중요한 역할을 하는 것[7], Apolipoprotein E4 (Apo-E4) domain이 OASIS와 결합하여 ER stress를 통해서 기능적인 astrocyte 손상을 초래하는 것[30] 등이 보고되어 있다. 이상과 같은 연구결과를 바탕으로 astrocyte분화에 관여하는 OASIS의 직접적인 기능연구가 필요하다.

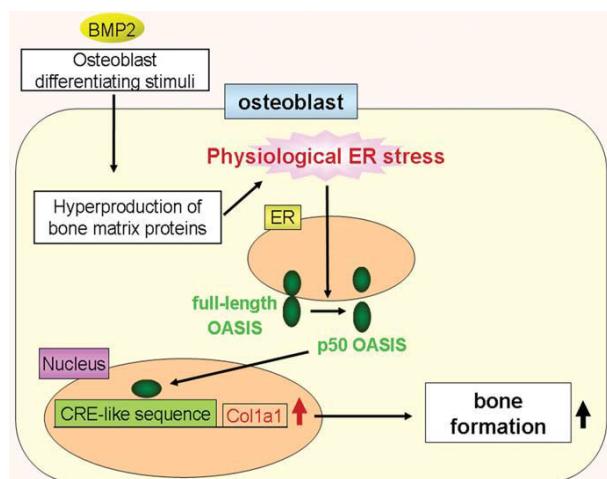


Fig. 3. Putative mechanisms responsible for bone formation by OASIS. During osteoblast differentiation after treatment of mesenchymal stem cells with BMP2, which is required for bone formation, mild ER stress is induced in osteoblasts and OASIS is activated in response to the ER stress. ER stress in osteoblasts induced by the BMP2 signalling pathway is associated with a high demand for synthesis and secretion of bone matrix proteins. Activated OASIS directly binds to the CRE-like sequence in the Col1a1 promoter region and induces its transcription in osteoblasts for osteogenesis [13].

B-box binding transcription factor 2 human homolog on chromosome 7 (BBF2H7) (Fig. 4) [12, 23]

BBF2H7는 구조적으로 OASIS에 아주 닮은 ER막관통형 전사인자이다. OASIS와 같이 ER stress 대 한 response로서 ER 막내결단이 이루어져 p60-BBF2H7 (N-말단)이 만들어진다. BBF2H7 관련 ER stress, 역시 physiological ER stress로서 sex determining region Y-box 9 (Sox9) signal의 작동의 의해서 만들어진 과량의 extracellular matrix (ECM)이 원인이다. BBF2H7 유전자 결손마우스는 긴 뼈의 성장연골발달, 특히 연골증식에 필요한 대량의 ECM을 생산하는 proliferative zone 이 현저히 나쁘다. 이곳에 존재하는 chondrocyte의 ER lumen에는 type-II collagen과 cartilage oligomeric matrix protein (COMP)등의 연골기질이 Golgi로 이동을 못한 상태로 대량으로 축적되어 있어서 비정상적으로 팽창된 모양으로 보인다. 즉, 전형적인 ER storage disease (ERSD)증상을 보인다. BBF2H7의 전사 target의 하나가 ER-Golgi사이의 소포수송 (vesicle traffic)에 필수적인 Sec23a이다. Sec23a에 의한 분비파립[coat protein complex II (COPII) vesicle]은 많은 양의 ECM

을 세포외공간에 만든다. 그러나 BBF2H7가 결손 되면 chondrocyte에서 Sec23a의 전사가 일어나지 않기 때문에 이미 만들어진 연골기질이 ER에서 Golgi로 이동할 수 없게 되어 ER에 머무르게 된다. 결과적으로 연골기질이 만들어지지 않게 된다. BBF2H7의 N-말단(전사인자)은 CRE-like domain에 결합하여 matrix 분비경로를 활성화하지만 BBF2H7의 ER lumen측 domain인 C-말단은 세포 밖으로 분비되어 세포질의 Indian hedgehog homolog (Ihh)와 결합하여 이웃한 chondrocyte의 protein patched homolog 1 (Ptch1)을 자극하여 paracrine 분비양식으로 세포증식을 돋는다. 결국 BBF2H7는 위와 같은 2가지 방법을 통해서 생장기의 연골성장에 필수적인 역할을 한다. 그러나 이들의 상호조절기전은 아직 잘 모르는 상태이다. 최근의 흥미로운 연구결과에 의하면 BBF2H7는 growth plate cartilage에서 ATF5-myeloid cell leukemia 1 (MCL1) pathway을 활성화함으로써 apoptosis를 억제한다는 것이다[9], 이 결과는 BBF2H7을 이용한 연골치료에 실마리를 제공 것으로 보인다.

cAMP responsive element-binding protein, hepatocyte specific (CREBH) (Fig. 5) [21, 29]

CREBH는 RIP-regulated liver-specific transcription factor로 처음 보고되었으며, liver에서 강하게 발현하고 OASIS와 BBF2H7과 동일하게 ER stress response로서 SIP와 S2P에 의해서 2단계결단을 받아서 활성화되는 형식을 취한다. Proinflammatory cytokine과 LPS의 자극에 의해서 발생한 ER stress에 의해서 만들어진 CREBH의 N-말단은 ATF6의 N-말단편과 몇 종류의 homo/heterodimer를 형성하여 acute inflammatory response때에 발현하는 serum amyloid P-component (SAP)과 C-reactive protein (CRP)의 유도를 positive하게 촉진 시킴으로써 간세포의 염증반응에 관여하는 것으로 생각된다. 그리고 이 과정에서 iron homeostasis를 제어하는 Hepcidin peptide hormone의 전사기능과 innate immunity을 조절한다는 보고도 있다. 이 같은 선택적인 조절과 다양한 N-CREBH/p50-ATF6의 복합체형성과 이들의 상호조절기전 및 RIP에 의한 CREBH와 ATF6의 상호조절기전이 간세포 특이적으로 일어나는지는 모르는 상태이다.

최근에 CREBH 관련 연구 중 주목할 만한 것으로는 아래와 같은 것들이 있다. CREBH의 활성을 통해서 Alpha lipoic acid 가 hepatic fibroblast growth factor 21 (FGF21) 유전자의 발현을 촉진하는 것[3], Melatonin이 reactive oxygen species (ROS)을 감소시키고 UPR을 상응시킴으로써 간세포의 stress를 조절한다는 것[10], CREBH이 hepatitis B viral protein (HBx)과 상호작용하여 hepatocellular carcinoma의 증식을 촉진시키는 것[4], CREBH이 fat specific protein 27 (Fsp27) 유전자의 전사를 활성화함으로써 lipid droplet형성과 hepatic steatosis를 촉진하는 것[6] 등이 있다. CREBH의 분자기전연

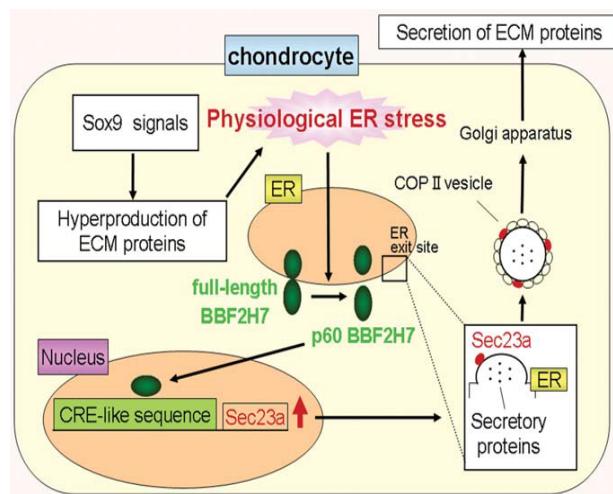


Fig. 4. Putative mechanisms responsible for cartilage formation by BBF2H7. Transcription factor Sox9 is essential for chondrocyte differentiation. Sox9 facilitates the synthesis of various proteins for chondrocyte differentiation and induces physiological ER stress in chondrocytes by hyperproduction of cartilage extracellular matrix (ECM). Physiological ER stress activates BBF2H7 during chondrocyte differentiation. Activated N-terminal BBF2H7, p60 BBF2H7, directly binds to the CRE like sequence within the Sec23a promoter region and facilitates its transcription in chondrocytes. Sec23a has crucial roles in COPII vesicle formation and anterograde transport of cargo proteins from the ER to the Golgi. Sec23a recruits other components of the COPII vesicle, including Sec13 and Sec31, and completes the complex before transporting secretory proteins from the ER to the Golgi. The axis of the BBF2H7-Sec23a pathway is essential for the ER stress-coupled protein transport system from the ER to the Golgi in chondrocytes [13].

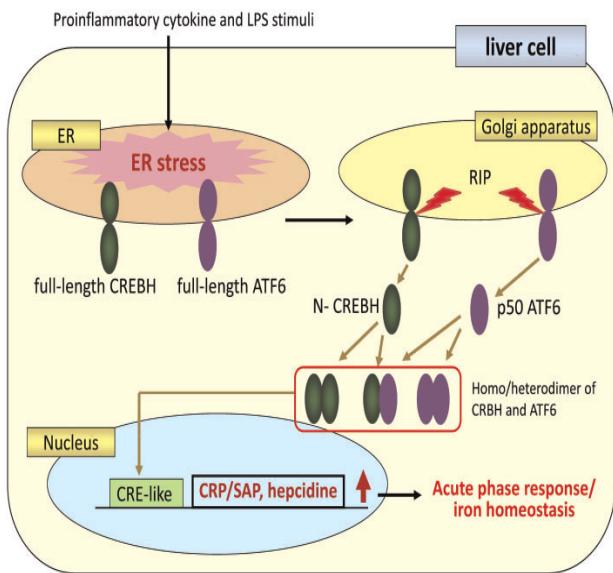


Fig. 5. Putative roles of CREBH in the APR and iron homeostasis. Proinflammatory cytokines and LPS induce ER stress followed by cleavage of CREBH and ATF6. These activated fragments of CREBH and ATF6 form homodimers/heterodimers and promote transcription of APR genes such as CRP and SAP. Hepcidine, which is a peptide hormone that is secreted by the liver, and controls body iron homeostasis, is also induced by CREBH after proinflammatory stimuli or ER stress [2].

구는 포괄적인 간질환학에 긍정적인 정보를 제공할 것이다.

Cyclic AMP-responsive element-binding protein 3-like protein 4 (CREB-4) (Fig. 6) [1, 18, 25, 26]

CREB-4는 사람의 spermatozoa에서 mouse CREB3 homolog (identity 62%)로 처음 알려졌다. CREB-4 유전자의 선택적 mRNA splicing에 의해서 각각의 isoform (CREB-4 alpha, CREB-4 beta)이 만들어진다. 이들은 모두 ER 막관통영역과 bZIP domain을 가지고 있지만 각각의 N-말단염기배열은 상이하다, 그리고 ER lumen에 S1P의 인식부위를 가지고 있지만 ER stress에 의해서 막내절단은 일어나지 않고 Golgi내의 negative regulator에 의해서 RIP절단이 일어난다. ER lumen의 C-말단을 결손 시킨 변이형 Δ CREB-4에서는 S1P에 의한 절단 현상이 일어난다. 이런 점으로 보아 CREB-4의 C-말단부위에 S1P의 존적으로 절단하는 것에 대하여 negative하게 작용하는 domain과 negative regulator의 존재가 추정될 뿐, 현재로서는 확실한 어떤 증거도 없다.

CREB-4 beta의 N-말단은 UPRE에 결합하여 전사활성을 촉진시키지만 CREB-4 alpha N-말단은 전사활성능력을 억제한다. 그리고 CREB-4 beta의 N-말단은 ribosome associated membrane protein 4 (RAMP4)의 전사능력도 촉진시킨다. 같은 현상은 세포가 변화하는 생리변화에 적응하기 위하여

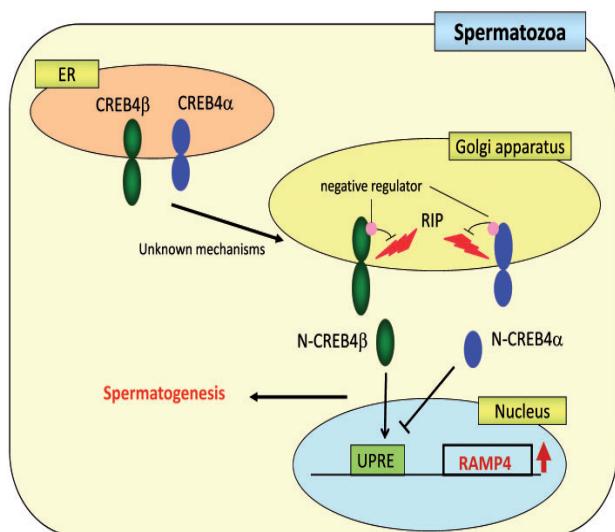


Fig. 6. Putative signalling mediated by CREB4 in spermatozoa. The murine CREB4 gene is preferentially expressed in testis and generates two types of proteins, CREB4a and CREB4b, differing by an N-terminal extension of 55 amino acids. C-terminal luminal domains of both isoforms act as negative regulators of S1P-mediated cleavage. CREB4b has the potential to bind to the UPRE sequence (TGACGTGG) and promote transcription of RAMP4 (ribosome associated membrane protein 4), which acts to stabilize transmembrane proteins. In contrast, CREB4a suppresses the transcription of RAMP4 by masking the UPRE in RAMP4's enhancer region. The number of spermatozoa in the epididymis of CREB4 knockout mice is significantly reduced, suggesting that CREB4 plays a role in male germ cell development [2].

mRNA splicing 제어 system을 통해서 homeostasis를 유지하려는 것으로 생각된다. 이에 대한 연구결과가 *in vitro*에서는 전사인자로서의 기능연구가 알려져 있지만, *in vivo*에서의 전사제어기전에 관해서는 잘 알지 못하고 있는 상태이다. CREB-4 결손마우스는 정상적으로 태어나 육안으로는 형태적인 변화를 구별할 수 없지만 조직학적인 연구결과 spermatogonia의 apoptosis에 의한 정자숫자의 현저한 감소가 관찰된다. 그 결과 CREB-4는 spermatogenesis에 중요한 역할을 하는 것으로 보인다[1]. 진화학적으로 CREB-4 alpha/beta의 형성, Golgi 내 negative regulator와 CREB-4의 negative site, CREB-4 alpha/beta의 N-말단의 상호견제작용 등은 앞으로 해결해야 할 중요한 문제들이다. 이런 현상에 의한 spermatogenesis의 조절기전도 남겨진 큰 숙제이다.

결 론

세포가 내외의 변화에 대응하기 위하여 unfolded protein response (UPR) system을 발전시킨 것으로 알려졌다. 그러나

최근의 여러 연구결과에 따르면 UPR은 단지 세포의 homeostasis 유지를 위한 기능 이외에 조직 특이적으로 중요한 생리 기능을 제어하는 것으로 알게 되었다. 여기에서는 UPR의 transducer중의 하나인 activating transcription factor 6 (ATF6)와 구조적으로 유사한 5종류의 old astrocyte specifically induced substance (OASIS family) [Luman, old astrocyte specifically induced substance (OASIS), B-box binding transcription factor 2 human homolog on chromosome 7 (BBF2H7), cAMP responsive element-binding protein, hepatocyte specific (CREBH), Cyclic AMP-responsive element-binding protein 3-like protein 4 (CREB-4)]의 분자기능을 소개한다. 이들 각각의 유전자 결손은 ER lumen에서 적극적인 mis-/unfolded protein의 제거에는 영향을 미치지 않지만 세포분화 및 성숙에 이상을 가져와 조직형성에 장애가 발생하는 등 다양한 세포에서 여러 종류의 세포생리현상을 조절하고 있다. 특히 아주 정교하게 세포생리를 조절하는 약한 ER stress 인 '생리적 ER stress (physiological ER stress)'가 어떻게 UPR을 조절되는지는 앞으로 해결해야 할 큰 과제이다. 그리고 OASIS family중에는 ER stress에 의해서 활성화되지 않는 것들의 기전, 꼭 OASIS family에 속하는 전사인자가 ER membrane에 있어야 하는 이유 등도 흥미로운 과제이다. ER 기능 조작에 의한 세포분화/성숙의 제거법이 확립된다면 여러 종류의 ER과 관련된 질환예방 및 치료 그리고 세포재생에 폭넓게 응용될 것으로 기대된다.

감사의 글

이 논문은 2014년도 정부(교육부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업임 (2013R1A1A2064049).

References

- Adham, I. M., Eck, T. J., Mierau, K., Müller, N., Sallam, M. A., Paprotta, I., Schubert, S., Hoyer-Fender, S. and Engel, W. 2005. Reduction of spermatogenesis but not fertility in Creb3l4-deficient mice. *Mol. Cell Biol.* **25**, 7657-7664.
- Asada, R., Kanemoto, S., Kondo, S., Saito, A. and Imaizumi, K. 2011. The signalling from endoplasmic reticulum-resident bZIP transcription factors involved in diverse cellular physiology. *J. Biochem.* **149**, 507-518.
- Bae, K. H., Min, A. K., Kim, J. G., Lee, I. K. and Park, K. G. 2014. Alpha lipoic acid induces hepatic fibroblast growth factor 21 expression via up-regulation of CREBH. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **455**, 212-217.
- Cho, H. K., Kim, S. Y., Kyaw, Y. Y., Win, A. A., Koo, S. H., Kim, H. H. and Cheong, J. 2014. HBx induces the proliferation of hepatocellular carcinoma cells via AP1 overexpressed by ER stress. *J. Biochem. [Epub ahead of print]*
- DenBoer, L. M., Iyer, A., McCluggage, A. R., Li, Y., Martyn, A. C. and Lu, R. 2013. JAB1/CSN5 inhibits the activity of Luman/CREB3 by promoting its degradation. *Biochim. Biophys. Acta.* **1829**, 921-929.
- Felmlee, D. J. and Baumert, T. F. 2013. Hepatitis C virus co-opts innate immunity component for lipid droplet formation. *J. Hepatol.* **59**, 1118-1120.
- Funamoto, T¹, Sekimoto, T., Murakami, T., Kurogi, S., Imaizumi, K. and Chosa, E. 2011. Roles of the endoplasmic reticulum stress transducer OASIS in fracture healing. *Bone* **49**, 724-732.
- Hino, K., Saito, A., Asada, R., Kanemoto, S. and Imaizumi, K. 2014. Increased susceptibility to dextran sulfate sodium-induced colitis in the endoplasmic reticulum stress transducer OASIS deficient mice. *PLoS One* **9**, e88048.
- Izumi, S., Saito, A., Kanemoto, S., Kawasaki, N., Asada, R., Iwamoto, H., Oki, M., Miyagi, H., Ochi, M. and Imaizumi, K. 2012. The endoplasmic reticulum stress transducer BBF2H7 suppresses apoptosis by activating the ATF5-MCL1 pathway in growth plate cartilage. *J. Biol. Chem.* **287**, 36190-36200.
- Kleber, A., Kubulus, D., Rössler, D., Wolf, B., Volk, T., Speer, T. and Fink, T. 2014. Melatonin modifies cellular stress in the liver of septic mice by reducing reactive oxygen species and increasing the unfolded protein response. *Exp. Mol. Pathol.* **97**, 565-571.
- Kondo, S., Murakami, T., Tatsumi, K., Ogata, M., Kanemoto, S., Otori, K., Iseki, K., Wanaka, A. and Imaizumi, K. 2005. OASIS, a CREB/ATF-family member, modulates UPR signalling in astrocytes. *Nat. Cell Biol.* **7**, 186-194.
- Kondo, S., Saito, A., Hino, S., Murakami, T., Ogata, M., Kanemoto, S., Nara, S., Yamashita, A., Yoshinaga, K., Hara, H. and Imaizumi, K. 2007. BBF2H7, a novel transmembrane bZIP transcription factor, is a new type of endoplasmic reticulum stress transducer. *Mol. Cell Biol.* **27**, 1716-1729.
- Kondo, S., Saito, A., Asada, R., Kanemoto, S. and Imaizumi, K. 2011. Physiological unfolded protein response regulated by OASIS family members, transmembrane bZIP transcription factors. *IUBMB Life* **63**, 233-239.
- Liang, G., Audas, T. E., Li, Y., Cockram, G. P., Dean, J. D., Martyn, A. C., Kokame, K. and Lu, R. 2006. Luman/CREB3 induces transcription of the endoplasmic reticulum (ER) stress response protein Herp through an ER stress response element. *Mol. Cell Biol.* **26**, 7999-8010.
- Lu, R., Yang, P., O'Hare, P. and Misra, V. 1997. Luman, a new member of the CREB/ATF family, binds to herpes simplex virus VP16-associated host cellular factor. *Mol. Cell Biol.* **17**, 5117-5126.
- Murakami, T., Kondo, S., Ogata, M., Kanemoto, S., Saito, A., Wanaka, A. and Imaizumi, K. 2006. Cleavage of the membrane-bound transcription factor OASIS in response to endoplasmic reticulum stress. *J. Neurochem.* **96**, 1090-1100.
- Myllyharju, J. 2014. Extracellular matrix and developing growth plate. *Curr. Osteoporos Rep.* **12**, 439-445.
- Nagamori, I., Yomogida, K., Ikawa, M., Okabe, M., Yabuta, N. and Nojima, H. 2006. The testes-specific bZip type transcription factor Tisp40 plays a role in ER stress responses

- and chromatin packaging during spermiogenesis. *Genes Cells* **11**, 1161-1171.
19. Oh-Hashi, K., Hirata, Y. and Kiuchi, K. 2013. Transcriptional regulation of mouse mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor in Neuro2a cells. *Cell Mol. Biol. Lett.* **18**, 398-415.
 20. Okuda, H., Tatsumi, K., Horii-Hayashi, N., Morita, S., Okuda-Yamamoto, A., Imaizumi, K. and Wanaka, A. 2014. OASIS regulates chondroitin 6-O-sulfotransferase 1 gene transcription in the injured adult mouse cerebral cortex. *J. Neurochem.* **130**, 612-625.
 21. Omori, Y., Imai, J., Watanabe, M., Komatsu, T., Suzuki, Y., Kataoka, K., Watanabe, S., Tanigami, A. and Sugano, S. 2001. CREB-H: a novel mammalian transcription factor belonging to the CREB/ATF family and functioning via the box-B element with a liver-specific expression. *Nucleic Acids Res.* **29**, 2154-2162.
 22. Saito, A. 2014. Physiological functions of endoplasmic reticulum stress transducer OASIS in central nervous system. *Anat. Sci. Int.* **89**, 11-20.
 23. Saito, A., Hino, S., Murakami, T., Kanemoto, S., Kondo, S., Saitoh, M., Nishimura, R., Yoneda, T., Furuichi, T., Ikegawa, S., Ikawa, M., Okabe, M. and Imaizumi, K. 2009. Regulation of endoplasmic reticulum stress response by a BBF2H7-mediated Sec23a pathway is essential for chondrogenesis. *Nat. Cell Biol.* **11**, 1197-1204.
 24. Saito, A., Hino, S., Murakami, T., Kondo, S. and Imaizumi, K. 2007. A novel ER stress transducer, OASIS, expressed in astrocytes. *Antioxid. Redox Signal.* **9**, 563-571.
 25. Saito, A., Kanemoto, S., Kawasaki, N., Asada, R., Iwamoto, H., Oki, M., Miyagi, H., Izumi, S., Sanosaka, T., Nakashima, K. and Imaizumi, K. 2012. Unfolded protein response, activated by OASIS family transcription factors, promotes astrocyte differentiation. *Nat. Commun.* **3**, 967.
 26. Stelzer, G. and Don, J. 2002. Atce1: a novel mouse cyclic adenosine 3',5'-monophosphate-responsive element-binding protein-like gene exclusively expressed in postmeiotic spermatids. *Endocrinology* **143**, 1578-1588.
 27. Wang, M. and Kaufman, R. J. 2014. The impact of the endoplasmic reticulum protein-folding environment on cancer development. *Nat. Rev. Cancer* **14**, 581-597.
 28. Yadav, R. K., Chae, S. W., Kim, H. R. and Chae, H. J. 2014. Endoplasmic reticulum stress and cancer. *J. Cancer Prev.* **19**, 75-88.
 29. Zhang, K., Shen, X., Wu, J., Sakaki, K., Saunders, T., Rutkowski, D. T., Back, S. H. and Kaufman, R. J. 2006. Endoplasmic reticulum stress activates cleavage of CREBH to induce a systemic inflammatory response. *Cell* **124**, 587-599.
 30. Zhong, N., Ramaswamy, G. and Weisgraber, K. H. 2009. Apolipoprotein E4 domain interaction induces endoplasmic reticulum stress and impairs astrocyte function. *J. Biol. Chem.* **284**, 27273-27280.

초록 : 소포체스트레스 센서 OASIS family의 분자기전

권기상¹ · 김승환² · 유 권³ · 권오유^{4*}

(¹경운대학교 임상병리학과, ²충남대학교병원 응급의학과, ³한국생명공학연구원, ⁴충남대학교 의학전문대학원 해부학교실)

진핵세포의 소포체는 분비를 담당하는 첫 번째 기관이다. 대부분의 분비단백질과 막 형성단백질은 소포체에서 세포질/핵으로 전달되는 신호전달에 의한 번역후수식에 의해서 소포체를 통해서 분비된다. 그 결과 완전하게 접 힘이 일어난 단백질만 세포 밖으로 분비된다. 소포체내에서 완전하게 접 힘이 일어나지 않아 축적된 단백질은 세포내스트레스(소포체스트레스)가 되어 unfolded protein response (UPR)시스템을 작동시킨다. UPR을 작동시키는 3종류의 소포체막단백질은 inositol requiring 1 (IRE1), PKR-like ER kinase (PERK), activating transcription factor 6 (ATF6)이 존재한다. 최근에 새로운 종류의 ATF6이 동정되었다. 이들은(Luman, OASIS, BBF2H7, CREBH, CREB4) 공통적으로 소포체막관통영역, 전사활성영역, bZIP영역을 가지며 특이조직과 세포내기관에서 기능을 가진다. 현재로서는 OASIS family의 정확한 분자기전 설명은 어렵지만, 본 리뷰에서 이들 분자신호를 포괄적으로 소개할 것이다.