

Physiological Roles of Phospholipase C γ and Its Mutations in Human Disease

Hyun-Jun Jang¹, Jang Hyun Choi¹ and Jong-Soo Chang^{2*}¹School of Life Sciences, Ulsan National Institute of Science and Technology, Ulsan 44919, Korea²Division of Life Science and Chemistry, College of Science and Technology, 1007 Hoguk-Ro, Daejin University, Pocheon-Si, Gyeonggi-Do 11159, Korea

Received September 9, 2020 / Revised September 22, 2020 / Accepted September 22, 2020

Phospholipase C gamma (PLC γ) has critical roles in receptor tyrosine kinase- and non-receptor tyrosine kinase-mediated cellular signaling relating to the hydrolysis of phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate [PI(4,5)P₂] to produce inositol 1,4,5 trisphosphate (IP₃) and diacylglycerol (DAG), which promote protein kinase C (PKC) and Ca²⁺ signaling to their downstream cellular targets. PLC γ has two isozymes called PLC γ 1 and PLC γ 2, which control cell growth and differentiation. In addition to catalytically active X- and Y-domains, both isotypes contain two Src homology 2 (SH2) domains and an SH3 domain for protein-protein interaction when the cells are activated by ligand stimulation. PLC γ also contains two pleckstrin homology (PH) domains for membrane-associated phosphoinositide binding and protein-protein interactions. While PLC γ 1 is widely expressed and appears to regulate intracellular signaling in many tissues, PLC γ 2 expression is restricted to cells of hematopoietic systems and seems to play a role in the regulation of immune response. A distinct mechanism for PLC γ activation is linked to an increase in phosphorylation of specific tyrosine residue, Y783. Recent studies have demonstrated that PLC γ mutations are closely related to cancer, immune disease, and brain disorders. Our review focused on the physiological roles of PLC γ by means of its structure and enzyme activity and the pathological functions of PLC γ via mutational analysis obtained from various human diseases and PLC γ knockout mice.

Key words : Disease-associated mutation, knockout mice, Phospholipase C gamma, structure

서 론

Phospholipase C (PLC)는 다양한 세포 신호에 반응하여 phosphatidylinositol-4, 5-bisphosphate [PI(4,5)P₂]를 가수분해하여 inositol-1,4,5-trisphosphate [I(1,4,5)P₃]와 DAG를 만드는 효소이다. Phosphatidylinositol을 가수분해하는 효소로서 PLC의 존재가 1950~60년대 알려진 후[6, 18, 23] PLC를 정제하고 cloning하기 위한 많은 시도들이 이어졌고, PLC가 처음에는 phosphoinositidase C 혹은 polyphosphoinositide phosphodiesterase (PPI-PDE)라고도 불렸다. PLC가 정제되기 전 PLC의 산물인 IP₃ [43]와 DAG [46]의 second messenger로서의 역할이 먼저 규명되었으며 PLC 조절인자로서 G-protein [5]이 밝혀졌다. 1980년대 68 kDa의 PLC가 처음 정제된[48] 이후 80년대 말 여러 PLC (β , γ , δ)가 정제되고 cloning되었다 [38, 45]. 이후 여러 연구를 통해 PLC enzyme activity를 가지

는 conserved X, Y domain을 가지는 6 subtype (β , γ , δ , ϵ , η , ζ)의 13 isozyme이 밝혀졌다[44]. 2012년 catalytic domain만을 가지는 새로운 7번째 PLC subtype의 3 isozyme이 cloning되었다[14]. 이 새로운 PLC는 bacterial PI-PLC와 더 유사하며 catalytic domain중 X domain에만 유사성을 가져 phospholipase C X-domain containing protein (PLC-XD)으로 명명되었다.

PLC subtype들은 각자의 구조적 특징을 가지고 있으며 동일한 enzyme activity를 가지면서도 서로 다른 조절 작용과 기능을 가지고 있다. 특히 PLC β 와 PLC γ 는 각각 G-protein-coupled receptors (GPCR)과 receptor tyrosine kinases (RTK)에 의해 활성화되며 외부 세포 자극에 일차적으로 반응하여 primary PLC로 인식되며 PLC ϵ 은 Ras, Rap, Rho와 같은 small GTPase와 G $\beta\gamma$ 를 통해 GPCR과 RTK 모두에 의해 활성화되고 PLC ϵ , PLC ζ , PLC η 는 Ca²⁺에 의해 활성화되며 primary PLC 신호를 비롯하여 신호전달과정을 증폭시키는 역할을 하는 secondary PLC로서 작용할 것으로 생각되고 있다[56]. 본 리뷰에서는 primary PLC중 PLC γ 에 주목하여 최근에 밝혀진 PLC γ 의 구조적 특징과 조절 기전, 그리고 질병과 관련된 돌연변이와 knockout 마우스를 활용한 연구 결과에 대해 고찰하고자 한다.

***Corresponding author**

Tel : +82-31-539-1853, Fax : +82-31-539-1850

E-mail : jchang@daejin.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.

본 론

PLC γ 의 구조적 특징과 autoinhibition에 의한 활성 조절

PLC-XD를 제외한 전형적인 PLC들은 N-말단의 pleckstrin homology (PH) domain과 EF hand, catalytic X, Y domain, C2 domain을 순서대로 가지고 있다. PLC γ 는 이들 PLC-core 구조 이외에 split PH (spPH) domain과 2개의 Src homology 2 (nSH2와 cSH2) domain 그리고 하나의 Src homology 3 (SH3) domain을 catalytic domain 사이에 가지고 있으며 이러한 구조는 γ -specific array (γ SA)라고 알려져 있다. 이 γ SA는 RTK와 Rac, Jak2 등 여러 인자와 상호작용하여 PLC γ 의 활성을 조절하거나 다른 인자들의 활성을 조절하게 된다.

PLC-core는 전형적인 PLC에 공통으로 존재하며 서로 결합되어 하나의 complex를 이루고 각 domain의 상대적인 orientation과 상호작용으로 PLC의 positioning과 activity를 조절되게 된다. C2 domain은 catalytic domain 그리고 EF hand와 각각 상호작용한다. 다른 domain과 달리 EF hand는 catalytic domain과 결합하지 않고 PH domain은 다른 domain들과 유연하게 상호작용하며 특히 PLC γ 에서는 catalytic domain과 EF hand와 광범위하게 결합한다. EF hand와 C2 domain은 Ca²⁺와 결합하여 PLC의 활성을 조절하지만 이는 PLC δ 1에서

만 명확한 작용으로 다른 PLC들에서는 명확하지 않다. 이와 유사하게 PH domain은 inositol lipid headgroup과의 상호작용에 참여할 것으로 예상되지만 이는 PLC δ 1에서 밝혀진 것으로[17, 36] PLC γ 1의 경우 최근에 전체 구조가 X-ray crystallography를 통해 밝혀지면서 PH domain에 의해 membrane으로의 이동이 이루어질 것이라는 기존의 생각[9]과는 달리 PLC γ 1의 PH domain이 negative charge를 띠며 inositol lipid와의 결합이 이루어지지 못할 것으로 예상되고 있다[16] (Fig. 1).

γ SA는 PLC γ 의 특징적인 구조로 RTK와의 상호작용과 autoinhibition에 중요한 역할을 가지고 있다(Fig. 2). γ SA를 이루는 nSH2 domain은 PLC γ 를 RTK로 유도하는 역할을 가지고 있다. RTK와 non-receptor tyrosine kinase 혹은 이들과 연결된 adapter protein에 존재하는 인산화된 tyrosine 잔기를 nSH2 domain이 인식하여 PLC γ 를 유도하게 된다. PLC γ 1의 활성을 조절하는 주요기전은 γ SA에 의한 autoinhibition이다. PLC γ 1의 구조가 밝혀지기 전 여러 연구들에서 γ SA가 active site를 가림으로써 autoinhibition이 이루어지며 cSH2/SH3 linker에 존재하는 tyrosine의 인산화에 의해(pY783) 구조적 변화가 일어나 active site가 열려 autoinhibition이 풀리는 조절기전이 제시되었다[4, 15]. 최근의 연구에서 거의 온전한

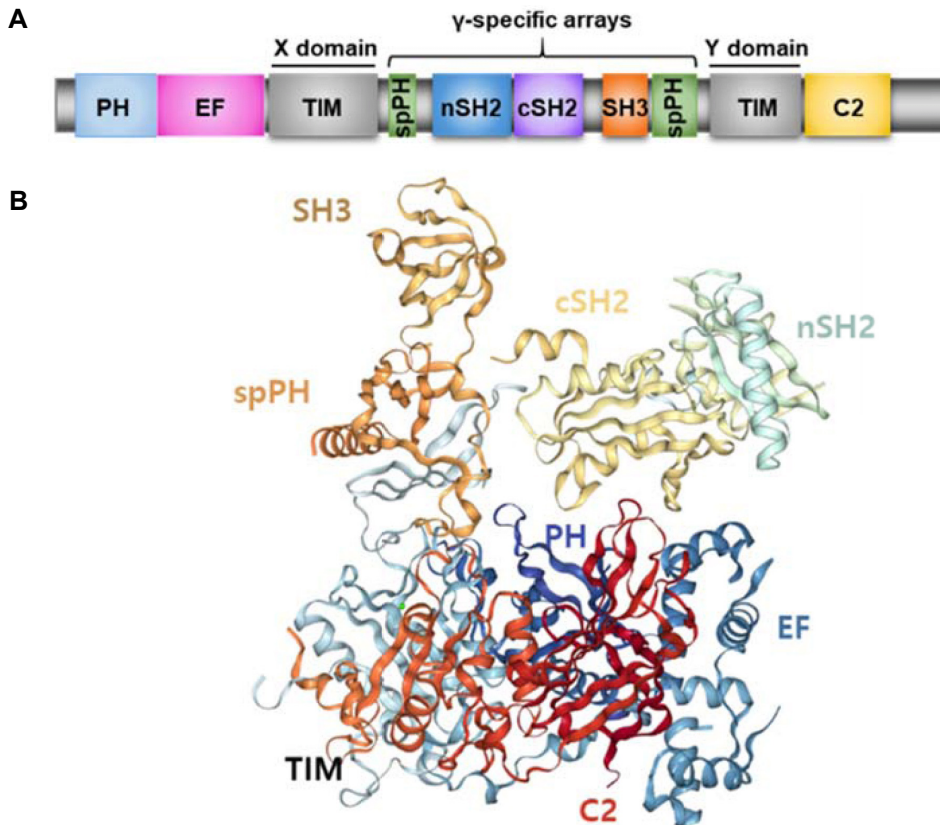


Fig. 1. PLC γ structure. (A) PLC γ has PLC-core (PH, EF-hand, TIM (X-Y domain), C2 domain) and characteristic γ -specific arrays (spPH, nSH2, cSH2, SH3, spPH). (B) PLC γ crystal structure. Image from the RCSB PDB (rcsb.org) of PDB ID: 6PBC [3, 16].

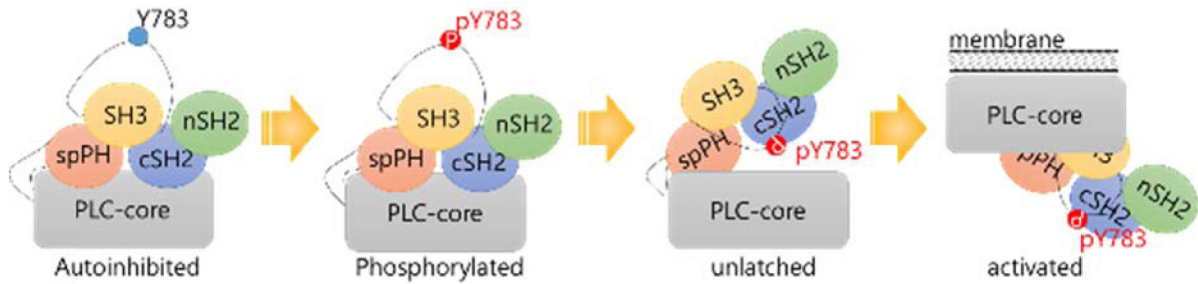


Fig. 2. Schematic diagram of activation of PLCγ1. In autoinhibition state, γ-specific arrays (γSA) covers the PLCγ1 active site and blocks contact with the substrate of plasma membrane. When nSH2 domain recognized and bound the phosphorylation site of activated receptor tyrosine kinases (RTK) (for example, pY766 of FGFR1), the kinase domain of RTK weakens the binding of cSH2 domain to C2 domain of PLC-core and phosphorylates Y783. Phosphorylated Y783 binds to the cSH2 domain and separates the cSH2 domain from the C2 domain, allowing the active site to access the membrane, thereby activating PLCγ1.

PLCγ1의 구조가 밝혀지고 FGFR1의 intracellular 부위와 전체 PLCγ1 complex 구조가 규명되면서 γSA의 구조적 기능이 명확해졌고 γSA에 의한 조절기전이 검증 되었다[16, 27]. Catalytic domain이 이루는 TIM barrel의 hydrophobic ridge는 PLC의 enzymatic function을 위해 lipid bilayers에 끼어들어야 하는데[8] γSA의 spPH가 이 ridge와 interface를 이루고 C2 domain loop와 cSH2 domain의 loop가 앞선 interface와 서로 겹치지 않는 두번째 interface를 이루면서 γSA가 active site를 가려 autoinhibition을 이루게 된다. cSH2/SH3 linker상의 인산화된 tyrosine (pY783 for PLCγ1, pY759 for PLCγ2)은 cSH2 domain과 결합하게 되는데 이때 C2 domain에 대한 경쟁적인 결합으로 구조적 변화와 함께 cSH2 domain과 C2 domain을 분리시켜 active site를 노출시키게 된다. 또한 SH2 domain은 RTK의 인산화 부위를 인식하여 RTK와 결합하게 되는데 이러한 RTK와 SH2 domain 간의 결합이 allosteric하게 autoinhibitory interface에 영향을 주는 것으로 생각된다. FGFR과 PLCγ1은 nSH2 domain과 cSH2 domain간에 이러한 결합이 이루어 질것으로 예상되었으나 실제 cryo-EM을 활용한 연구에서 nSH2 domain에서만 이루어짐이 확인 되었다[1, 16]. PLCγ2의 경우 spPH domain에 Rac이 결합함으로써 autoinhibitory interface에 allosteric한 변화를 유도하여 인산화 비의존적 활성화를 일으킨다[37]. Immune receptors와 연결된 soluble tyrosine kinases에 의한 PLCγ1의 활성화는 Y783외에 인접한 Y775 (Y753 for PLCγ2)의 인산화를 필요로 한다. 아직까진 Y775의 인산화가 가지는 명확한 기전이 제시되지는 않았으나 Y783과 유사한 방식으로 활성화를 조절할 것으로 예상되고 있다[40]. 이외에도 Y186, Y472, Y481, Y771, Y775, Y959, Y977, Y1254의 인산화가 보고되고 있으나 PLCγ의 활성화에 필수요소는 아닌 것으로 생각되고 있다[4].

여러 질병에서 PLCγ의 돌연변이

PLCγ1과 PLCγ2는 구조와 조절 기전에서 상당한 유사성을

가지지만 발현 양상에서는 뚜렷한 차이를 보인다. PLCγ1은 대부분의 세포에서 발현이 되며 특히 embryonal cortical structures와 neurons, oligodendrocytes, astrocytes에서 높게 발현된다. 반면 PLCγ2는 immune 세포와 hematopoietic 세포에서 주로 발현 되고 anterior pituitary와 cerebellar Purkinje cell, granule cells에서도 발현되고 있다[44]. 여러 cancer와 immune disorder, inflammation, brain disorder에서 PLCγ의 발현 변화와 돌연변이가 보고되고 있다[2, 7, 34, 42, 58].

Aggressive한 혈관내피세포 cancer인 angiosarcoma에서 PTPRB와 함께 PLCG1에 recurrent somatic R707Q 돌연변이가 나타나는 것으로 밝혀졌다[2]. R707은 cSH2 domain에 위치하여 PLCγ1의 지속적인 활성화를 가져온다. 이와 유사하게 T-cell lymphoma에서 S345F 돌연변이가 보고 되었으며 이는 catalytic domain에 영향을 주어 substrate에 대한 접근성을 향상시켜 활성을 촉진하는 것으로 생각된다[52]. 이외에도 T-cell lymphoma에서 D1163K, D1165H/G/V, S520F 돌연변이가 흔하게 나타나 autoinhibition을 망가뜨려 PLCγ1의 활성을 증가시키는 것으로 보고되었다. R48W는 nPH domain에서 앞선 돌연변이와는 다른 기전으로 PLCγ1의 활성을 증가시키며 Q1016L, F1167I, M1166R, pVYEEDM1161V indel 돌연변이가 T-cell lymphoma에서 간혹 발견되기도 한다. 이러한 PLCγ1 활성을 증가시키는 돌연변이들은 환자들의 생존율 감소와 연결되어 있으며 PLCγ1을 oncogene으로 인식하게 해주었다[30, 50]. 하지만 일부 보고에서는 PLCγ1이 growth signal을 억제하고 세포분열을 억제하는 효과를 가짐이 제시되고 있어 cancer에서의 PLCγ1 작용에 대한 보다 깊이 있는 연구가 필요하다[20].

B-세포에서의 PLCγ2 돌연변이(R665W, L845F)는 chronic lymphocytic leukemia (CLL)의 drug resistance와 연관되어 있다[55]. CLL의 효과적인 치료제로써 Brutons’s tyrosine kinase (BTK) irreversible inhibitor인 ibrutinib이 사용되고 있지만 80% 정도의 환자에서 BTK의 돌연변이와 함께 resistance가

나타난다. 이때 PLC γ 2 돌연변이에 의해서도 ibrutinib의 resistance가 유발됨이 밝혀졌다. PLC γ 2는 BTK에 의해 인산화되어 BCR signal을 매개하는 주요인자로 PLC γ 2의 활성화를 촉진하는 돌연변이가 ibrutinib에 의해 BTK가 억제 되더라도 BCR signal을 강화시켜 resistance를 가져온다. 이러한 drug resistance를 가져오는 PLC γ 2 돌연변이는 S707Y, A708P, D993G, M1141K가 추가로 확인되었다[53]. Myelodysplastic syndrome (MDS)에서도 resistance를 나타내는 환자들에서 Q548R 돌연변이가 확인이 된다. 하지만 아직 그 영향에 대한 연구는 이루어지지 않았다[10].

PLC γ 2 돌연변이는 cold urticaria를 특징으로 하는 PLC γ 2-associated antibody deficiency and immune dysregulation (PLAID)를 일으킬 수 있다. Mast cell에서 일어나는 PLC γ 2 frame deletion은 cSH2 domain에 의한 autoinhibition이 일어나지 못하고 환자의 체온이 떨어지면 PLC γ 2가 활성이 증가하며 발병하게 된다. 추가적인 돌연변이가 PLAID의 PLC γ 2에서 확인이 되었으며 spPH domain 변화를 통한 활성화가 증가하는 것으로 제시되었다[34, 39]. 이와 유사한 immune disorder인 autoinflammation, antibody deficiency, and immune dysregulation (APLAID)에서도 PLC γ 2의 돌연변이가 확인되었다. 특히 CLL에서 나타나는 돌연변이 중 일부(S707Y, A708P, M1141K)가 APLAD에서도 확인 되었고 L848P, L845-L848 del 돌연변이도 나타났다. APLAID에서는 이들 돌연변이에 의한 BCR signal의 증가가 B-세포의 발달을 저해하여 immunodeficiency를 일으킨다. 또한 Ca²⁺ signal의 증가를 통해 NLRP3 inflammasome 활성화와 pro-inflammatory cytokine 증가에도 기여할 것으로 생각되고 있다[31-33, 58]. PLC γ 2 돌연변이는 다른 immune disorder인 inflammatory bowel disease (H244R, R286W)와 steroid-sensitive nephrotic syndrome (R268W, P522R)에서도 확인 되었지만 그 영향에 대한 연구는 아직 이루어지지 않았다[7, 13, 35].

PLC γ 는 brain에서도 중요한 역할을 하고 있으며 bipolar disorder (BD)와 Alzheimer's disease (AD)에서 유전적 관련성이 제시되었다. BD 치료제 중 하나로 phosphatidylinositol cycle을 억제하는 lithium이 사용되는데 lithium의 효과가 잘 나타나는 환자들에서 PLC γ 1의 dinucleotide repeat이 나타나고 3개의 polymorphic sites (PLCG1_9, PLCG1_26, PLCG1_31)가 확인 되었다[11, 28, 49]. PLC γ 1을 활성화 시키는 BDNF/TrkB signal과 함께 BD 발병에 관여할 것으로 예상되나 아직 명확한 관련성이 제시되지는 못하고 있다. AD에서는 PLC γ 2의 돌연변이가(P522R) AD의 발병 억제와 관련 있을 것으로 제시되고 있다[42]. PLC γ 2가 brain의 microglia에서 발현이 되는데 돌연변이에 의한 PLC γ 2 활성의 미약한 증가가 ITAM receptor signal 조절 및 amyloid- β 축적과 TAU pathology에 관여하면서 AD를 비롯한 퇴행성 뇌 질환을 억제하는 하고 수명 증가의 효과를 가져오는 것으로 예상되고 있다[29, 41,

47, 51].

Knockout마우스를 이용한 PLC γ 의 기능 연구

PLC γ 1 knockout 마우스는 embryonic day 9.0에 발달단계에서 혈관과 적혈구 생성에 결함이 있어 embryonic lethality를 나타내기 때문에[21, 26] PLC γ 1의 생리적 연구를 위해 conditional PLC γ 1 knockout 마우스가 만들어졌다. T-cell antigen receptor (TCR) 신호의 매개자로서 PLC γ 1의 중요성이 이전의 연구들에서 제시되었기에 conditional PLC γ 1 knockout 마우스를 이용한 첫 연구는 T-세포에서 이루어졌다[12]. PLC γ 1의 결핍은 T-세포의 발달과 활성화, tolerance에 이상을 가져왔다. T-세포의 positive selection과 negative selection 모두에 이상이 있었으며 특히 single-positive thymocyte와 peripheral T 세포의 수가 감소했다. 또한 TCR에 의한 ERK, JNK, AP-1, NFAT, NF- κ B의 활성화가 이뤄지지 못했으며 그 결과 proliferation과 cytokine 생산이 정상적으로 이루어 지지 않았다. 또한 FoxP3⁺ regulatory T 세포의 발달이 정상적으로 이루어지지 않으면서 염증과 자가면역질환의 양상이 나타났다.

최근에는 PLC γ 1이 neuronal stem cell과 forebrain, GABAergic neurons에서 제거된 마우스를 통해 brain에서의 PLC γ 1의 기능이 연구되었다. PLC γ 1결핍에 의해 netrin-1/DCC signal에 의한 axon guidance이 정상적으로 이루어지지 못하면서 mesencephalon dopaminergic system의 구조가 정상적으로 발달하지 못하고 corpus callosum, substantia innominata, olfactory tubercle의 구조에 이상이 나타났다[22].

앞서 언급한 바와 같이 BD에서 PLC γ 1의 유전적 변형이 나타나는 것처럼 forebrain 특이적인 PLC γ 1 knockout 마우스는 조증(mania)과 유사한 증상을 나타내었다[57]. 이 마우스는 외형과 brain의 구조적인 차이는 나타나지 않았지만 BDNF에 의한 TrkB receptor signal이 정상적으로 이루어지지 못하면서 GABAergic inhibitory synapse의 기능에 결함이 생기고 hyperactivity가 나타났다. 이러한 행동이상은 BD의 치료제로 쓰이는 lithium에 의해 개선이 됨으로써 BD와 PLC γ 1의 관련성을 더욱 명확히 보여주었다. 한편 GABAergic neuron에서의 PLC γ 1 결핍은 노화에 따른 간질 발작에 더 높은 감수성을 나타내었다[25]. Knockout 마우스의 Hippocampus subregions에서 inhibitory synapses가 감소하고 inhibitory synaptic transmission도 억제됨으로써 hypoactivity가 나타나고 anxiety가 감소했으며, fear memory 이상과 함께 handling에 의한 발작이 나타났다.

PLC γ 2 knockout 마우스는 lethality를 보이지 않았으나 성숙한 B-세포의 수가 감소해 있었으며 mast cell과 natural killer (NK) cell, platelet의 기능이 저해되어 있었다[54]. BCR의 신호전달이 정상적으로 이루어지지 못하면서 B-세포의 발달이 저해되었으며 collagen에 의한 platelet의 aggregation도 일어나지 않았다. Fc receptor의 신호전달에도 결함이 생겨 mast

cell이 antigen에 반응하지 못했으며 NK cell도 정상적으로 작동하지 못했다. 또한 PLC γ 2 knockout 마우스는 basal 상태의 bone resorption 저하를 가져와 trabecular bone mass가 증가해 있었다[24]. Adhesion receptor 신호전달에 결합이 있어 osteoclast의 발달이 정상적으로 이루어지지 못했다. 하지만 ovariectomy에 의한 bone 감소에는 영향을 미치지 않았고 폐경에 의한 골다공증에는 PLC γ 2가 관여하지 않아 기저상태에서와는 다른 PLC γ 2를 거치지 않는 조절 기전이 존재함을 보여주었다. PLC γ 2는 림프관의 형성과 부고환의 발달에도 중요한 역할을 하고 있음이 conditional knockout 마우스 연구를 통해 제시되었다[19, 24].

결론

PLC γ 는 다른 PLC subtype과 함께 1980년대 정제와 cloning이 이루어지면서 활발히 연구되어 RTK 및 non-receptor tyrosine kinase signal을 매개하는 주요인자로서 proliferation, migration 및 differentiation 등 다양한 세포활동을 조절하는 것이 밝혀졌다. 최근까지 cancer와 immune disease 및 brain disorder 등 여러 질병에서 PLC γ 1과 PLC γ 2의 돌연변이가 병의 발병 및 진행에 관련 있다는 보고들이 발표되고 있다. 또한 각각의 knockout 마우스가 제작되어 PLC γ 의 생리적·병리적 역할이 다양한 *in vivo* 모델에서 연구되고 있으며 최근에 전체 PLC γ 의 구조 및 FGFR과 상호작용하는 PLC γ 의 구조가 X-ray crystallography와 cryo-EM 연구를 통해 밝혀지면서 PLC γ 의 활성 조절과 기능에 보다 깊이 있는 연구가 가능해졌다. 하지만 유전학적 연구와 knockout 마우스 연구를 통해 질병 치료 표적으로서 PLC γ 의 가능성이 증가하는데 반해 PLC γ 를 특이적으로 억제 할 수 있는 억제제의 개발은 이루어지지 않아 치료 표적으로서 PLC γ 를 활용하기 위해 PLC γ 에 대한 특이적 억제제 개발이 앞으로 해결해야 할 숙제로 남아 있다.

감사의 글

본고 작성에 도움을 주신 울산과학기술원(UNIST) 당뇨 및 대사질환 연구팀에 감사드립니다.

The Conflict of Interest Statement

The authors declare that they have no conflicts of interest with the contents of this article.

References

- Bae, J. H., Lew, E. D., Yuzawa, S., Tome, F., Lax, I. and Schlessinger, J. 2009. The selectivity of receptor tyrosine kinase signaling is controlled by a secondary sh2 domain binding site. *Cell* **138**, 514-524.
- Behjati, S., Tarpey, P. S., Sheldon, H., Martincorena, I., Van Loo, P., Gundem, G., Wedge, D. C., Ramakrishna, M., Cooke, S. L. and Pillay, N., et al. 2014. Recurrent ptpnb and plcg1 mutations in angiosarcoma. *Nat. Genet.* **46**, 376-379.
- Berman, H. M., Westbrook, J., Feng, Z., Gilliland, G., Bhat, T. N., Weissig, H., Shindyalov, I. N. and Bourne, P. E. 2000. The protein data bank. *Nucleic Acids Res.* **28**, 235-242.
- Bunney, T. D., Esposito, D., Mas-Droux, C., Lamber, E., Baxendale, R. W., Martins, M., Cole, A., Svergun, D., Driscoll, P. C. and Katan, M. 2012. Structural and functional integration of the plcgamma interaction domains critical for regulatory mechanisms and signaling deregulation. *Structure* **20**, 2062-2075.
- Cockcroft, S. and Gomperts, B. D. 1985. Role of guanine nucleotide binding protein in the activation of polyphosphoinositide phosphodiesterase. *Nature* **314**, 534-536.
- Dawson, R. M. 1959. Studies on the enzymic hydrolysis of monophosphoinositide by phospholipase preparations from *p. Notatum* and *ox pancreas*. *Biochim. Biophys. Acta.* **33**, 68-77.
- De Lange, K. M., Moutsianas, L., Lee, J. C., Lamb, C. A., Luo, Y., Kennedy, N. A., Jostins, L., Rice, D. L., Gutierrez-Achury, J. and Ji, S. G., et al. 2017. Genome-wide association study implicates immune activation of multiple integrin genes in inflammatory bowel disease. *Nat. Genet.* **49**, 256-261.
- Ellis, M. V., James, S. R., Perisic, O., Downes, C. P., Williams, R. L. and Katan, M. 1998. Catalytic domain of phosphoinositide-specific phospholipase c (plc). Mutational analysis of residues within the active site and hydrophobic ridge of plcdelta1. *J. Biol. Chem.* **273**, 11650-11659.
- Falasca, M., Logan, S. K., Lehto, V. P., Baccante, G., Lemmon, M. A. and Schlessinger, J. 1998. Activation of phospholipase c gamma by pi 3-kinase-induced ph domain-mediated membrane targeting. *EMBO J.* **17**, 414-422.
- Follo, M. Y., Pellagatti, A., Armstrong, R. N., Ratti, S., Mongiorgi, S., De Fanti, S., Bochicchio, M. T., Russo, D., Gobbi, M. and Miglino, M., et al. 2019. Response of high-risk mds to azacitidine and lenalidomide is impacted by baseline and acquired mutations in a cluster of three inositide-specific genes. *Leukemia* **33**, 2276-2290.
- Ftouhi-Paquin, N., Alda, M., Grof, P., Chretien, N., Rouleau, G. and Turecki, G. 2001. Identification of three polymorphisms in the translated region of plc-gamma1 and their investigation in lithium responsive bipolar disorder. *Am. J. Med. Genet.* **105**, 301-305.
- Fu, G., Chen, Y., Yu, M., Podd, A., Schuman, J., He, Y., Di, L., Yassai, M., Haribhai, D. and North, P. E., et al. 2010. Phospholipase c{gamma}1 is essential for t cell development, activation, and tolerance. *J. Exp. Med.* **207**, 309-318.
- Gbadegesin, R. A., Adeyemo, A., Webb, N. J., Greenbaum, L. A., Abeygunawardena, A., Thalagahagoda, S., Kale, A., Gipson, D., Srivastava, T. and Lin, J. J., et al. 2015. Hla-dqa1 and plcg2 are candidate risk loci for childhood-onset steroid-sensitive nephrotic syndrome. *J. Am. Soc. Nephrol.* **26**,

- 1701-1710.
14. Gellatly, S. A., Kalujnaia, S. and Cramb, G. 2012. Cloning, tissue distribution and sub-cellular localisation of phospholipase c x-domain containing protein (plcxd) isoforms. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **424**, 651-656.
 15. Hajicek, N., Charpentier, T. H., Rush, J. R., Harden, T. K. and Sondek, J. 2013. Autoinhibition and phosphorylation-induced activation of phospholipase c-gamma isozymes. *Biochemistry* **52**, 4810-4819.
 16. Hajicek, N., Keith, N. C., Siraliev-Perez, E., Temple, B. R., Huang, W., Zhang, Q., Harden, T. K. and Sondek, J. 2019. Structural basis for the activation of plc-gamma isozymes by phosphorylation and cancer-associated mutations. *Elife* **8**.
 17. Harlan, J. E., Hajduk, P. J., Yoon, H. S. and Fesik, S. W. 1994. Pleckstrin homology domains bind to phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate. *Nature* **371**, 168-170.
 18. Hokin, L. E. and Hokin, M. R. 1953. The incorporation of ³²p into the nucleotides of ribonucleic acid in pigeon pancreas slices. *Biochim. Biophys. Acta.* **11**, 591-592.
 19. Ichise, H., Ichise, T. and Yoshida, N. 2016. Phospholipase cgamma2 is required for luminal expansion of the epididymal duct during postnatal development in mice. *PLoS One* **11**, e0150521.
 20. Jang, H. J., Suh, P. G., Lee, Y. J., Shin, K. J., Cocco, L. and Chae, Y. C. 2018. Plcgamma1: Potential arbitrator of cancer progression. *Adv. Biol. Regul.* **67**, 179-189.
 21. Ji, Q. S., Winnier, G. E., Niswender, K. D., Horstman, D., Wisdom, R., Magnuson, M. A. and Carpenter, G. 1997. Essential role of the tyrosine kinase substrate phospholipase c-gamma1 in mammalian growth and development. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **94**, 2999-3003.
 22. Kang, D. S., Yang, Y. R., Lee, C., Park, B., Park, K. I., Seo, J. K., Seo, Y. K., Cho, H., Lucio, C. and Suh, P. G. 2018. Netrin-1/dcc-mediated plcgamma1 activation is required for axon guidance and brain structure development. *EMBO Rep.* **19**.
 23. Kemp, P., Hubscher, G. and Hawthorne, J. N. 1961. Phosphoinositides. 3. Enzymic hydrolysis of inositol-containing phospholipids. *Biochem. J.* **79**, 193-200.
 24. Kertesz, Z., Gyori, D., Kormendi, S., Fekete, T., Kis-Toth, K., Jakus, Z., Schett, G., Rajnavolgyi, E., Dobo-Nagy, C. and Mocsai, A. 2012. Phospholipase cgamma2 is required for basal but not oestrogen deficiency-induced bone resorption. *Eur. J. Clin. Invest.* **42**, 49-60.
 25. Kim, H. Y., Yang, Y. R., Hwang, H., Lee, H. E., Jang, H. J., Kim, J., Yang, E., Kim, H., Rhim, H. and Suh, P. G., et al. 2019. Deletion of plcgamma1 in gabaergic neurons increases seizure susceptibility in aged mice. *Sci. Rep.* **9**, 17761.
 26. Liao, H. J., Kume, T., McKay, C., Xu, M. J., Ihle, J. N. and Carpenter, G. 2002. Absence of erythropoiesis and vasculogenesis in plcg1-deficient mice. *J. Biol. Chem.* **277**, 9335-9341.
 27. Liu, Y., Bunney, T. D., Khosa, S., Mace, K., Beckenbauer, K., Askwith, T., Maslen, S., Stubbs, C., De Oliveira, T. M. and Sader, K., et al. 2020. Structural insights and activating mutations in diverse pathologies define mechanisms of deregulation for phospholipase c gamma enzymes. *EBioMedicine* **51**, 102607.
 28. Lovlie, R., Berle, J. O., Stordal, E. and Steen, V. M. 2001. The phospholipase c-gamma1 gene (plcg1) and lithium-responsive bipolar disorder: Re-examination of an intronic dinucleotide repeat polymorphism. *Psychiatr. Genet.* **11**, 41-43.
 29. Magno, L., Lessard, C. B., Martins, M., Lang, V., Cruz, P., Asi, Y., Katan, M., Bilsland, J., Lashley, T. and Chakrabarty, P., et al. 2019. Alzheimer's disease phospholipase c-gamma-2 (plcg2) protective variant is a functional hypermorph. *Alzheimers Res. Ther.* **11**, 16.
 30. Manso, R., Rodriguez-Pinilla, S. M., Gonzalez-Rincon, J., Gomez, S., Monsalvo, S., Llamas, P., Rojo, F., Perez-Callejo, D., Cereceda, L. and Limeres, M. A., et al. 2015. Recurrent presence of the plcg1 s345f mutation in nodal peripheral t-cell lymphomas. *Haematologica* **100**, e25-27.
 31. Martin-Nalda, A., Fortuny, C., Rey, L., Bunney, T. D., Alsina, L., Esteve-Sole, A., Bull, D., Anton, M. C., Basagana, M. and Casals, F., et al. 2020. Severe autoinflammatory manifestations and antibody deficiency due to novel hypermorphic plcg2 mutations. *J. Clin. Immunol.* **40**, 987-1000.
 32. Moran-Villasenor, E., Saez-De-Ocariz, M., Torreló, A., Arostequi, J. I., Yamazaki-Nakashimada, M. A., Alcantara-Ortigoza, M. A., Gonzalez-Del-Angel, A., Velazquez-Aragon, J. A., Lopez-Herrera, G. and Berron-Ruiz, L., et al. 2019. Expanding the clinical features of autoinflammation and phospholipase cgamma2-associated antibody deficiency and immune dysregulation by description of a novel patient. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* **33**, 2334-2339.
 33. Neves, J. F., Doffinger, R., Barcena-Morales, G., Martins, C., Papapietro, O., Plagnol, V., Curtis, J., Martins, M., Kumararatne, D. and Cordeiro, A. I., et al. 2018. Novel plcg2 mutation in a patient with aplaid and cutis laxa. *Front. Immunol.* **9**, 2863.
 34. Ombrello, M. J., Remmers, E. F., Sun, G., Freeman, A. F., Datta, S., Torabi-Parizi, P., Subramanian, N., Bunney, T. D., Baxendale, R. W. and Martins, M. S., et al. 2012. Cold urticaria, immunodeficiency, and autoimmunity related to plcg2 deletions. *N. Engl. J. Med.* **366**, 330-338.
 35. Parker, L., Bahat, H., Appel, M. Y., Baum, D. V., Forer, R., Pillar, N., Goldberg, M. and Goldman, M. 2019. Phospholipase c-gamma 2 activity in familial steroid-sensitive nephrotic syndrome. *Pediatr. Res.* **85**, 719-723.
 36. Paterson, H. F., Savopoulos, J. W., Perisic, O., Cheung, R., Ellis, M. V., Williams, R. L. and Katan, M. 1995. Phospholipase c delta 1 requires a pleckstrin homology domain for interaction with the plasma membrane. *Biochem. J.* **312(Pt 3)**, 661-666.
 37. Piechulek, T., Rehlen, T., Walliser, C., Vatter, P., Moepps, B. and Gierschik, P. 2005. Isozyme-specific stimulation of phospholipase c-gamma2 by rac gtpases. *J. Biol. Chem.* **280**, 38923-38931.
 38. Ryu, S. H., Suh, P. G., Cho, K. S., Lee, K. Y. and Rhee, S. G. 1987. Bovine brain cytosol contains three immunologically distinct forms of inositolphospholipid-specific phospholipase c. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **84**, 6649-6653.
 39. Schade, A., Walliser, C., Wist, M., Haas, J., Vatter, P., Kraus,

- J. M., Filingeri, D., Havenith, G., Kestler, H. A. and Milner, J. D., et al. 2016. Cool-temperature-mediated activation of phospholipase c-gamma2 in the human hereditary disease plaid. *Cell Signal*. **28**, 1237-1251.
40. Serrano, C. J., Graham, L., Debell, K., Rawat, R., Veri, M. C., Bonvini, E., Rellahan, B. L. and Reischl, I. G. 2005. A new tyrosine phosphorylation site in plc gamma 1: The role of tyrosine 775 in immune receptor signaling. *J. Immunol.* **174**, 6233-6237.
41. Sierksma, A., Lu, A., Mancuso, R., Fattorelli, N., Thrupp, N., Salta, E., Zoco, J., Blum, D., Buee, L. and De Strooper, B., et al. 2020. Novel alzheimer risk genes determine the microglia response to amyloid-beta but not to tau pathology. *EMBO Mol. Med.* **12**, e10606.
42. Sims, R., Van Der Lee, S. J., Naj, A. C., Bellenguez, C., Badarinarayan, N., Jakobsdottir, J., Kunkle, B. W., Boland, A., Raybould, R. and Bis, J. C., et al. 2017. Rare coding variants in plcg2, abi3, and trem2 implicate microglial-mediated innate immunity in alzheimer's disease. *Nat. Genet.* **49**, 1373-1384.
43. Streb, H., Irvine, R. F., Berridge, M. J. and Schulz, I. 1983. Release of ca2+ from a nonmitochondrial intracellular store in pancreatic acinar cells by inositol-1,4,5-trisphosphate. *Nature* **306**, 67-69.
44. Suh, P. G., Park, J. I., Manzoli, L., Cocco, L., Peak, J. C., Katan, M., Fukami, K., Kataoka, T., Yun, S. and Ryu, S. H. 2008. Multiple roles of phosphoinositide-specific phospholipase c isozymes. *BMB Rep.* **41**, 415-434.
45. Suh, P. G., Ryu, S. H., Moon, K. H., Suh, H. W. and Rhee, S. G. 1988. Cloning and sequence of multiple forms of phospholipase c. *Cell* **54**, 161-169.
46. Takai, Y., Kishimoto, A., Iwasa, Y., Kawahara, Y., Mori, T. and Nishizuka, Y. 1979. Calcium-dependent activation of a multifunctional protein kinase by membrane phospholipids. *J. Biol. Chem.* **254**, 3692-3695.
47. Takalo, M., Wittrahm, R., Wefers, B., Parhizkar, S., Jokivarsi, K., Kuulasmaa, T., Mäkinen, P., Martiskainen, H., Wurst, W. and Xiang, X., et al. 2020. The alzheimer's disease-associated protective plcy2-p522r variant promotes beneficial microglial functions. *Mol. Neurodegener.* **15**, 52.
48. Takenawa, T. and Nagai, Y. 1981. Purification of phosphatidylinositol-specific phospholipase c from rat liver. *J. Biol. Chem.* **256**, 6769-6775.
49. Turecki, G., Grof, P., Cavazzoni, P., Duffy, A., Grof, E., Ahrens, B., Berghofer, A., Muller-Oerlinghausen, B., Dvorakova, M. and Libigerova, E., et al. 1998. Evidence for a role of phospholipase c-gamma1 in the pathogenesis of bipolar disorder. *Mol. Psychiatry* **3**, 534-538.
50. Vallois, D., Dobay, M. P., Morin, R. D., Lemonnier, F., Missiaglia, E., Juilland, M., Iwaszkiewicz, J., Fataccioli, V., Bisig, B. and Roberti, A., et al. 2016. Activating mutations in genes related to tcr signaling in angioimmunoblastic and other follicular helper t-cell-derived lymphomas. *Blood* **128**, 1490-1502.
51. Van Der Lee, S. J., Conway, O. J., Jansen, I., Carrasquillo, M. M., Kleineidam, L., Van Den Akker, E., Hernandez, I., Van Eijk, K. R., Stringa, N. and Chen, J. A., et al. 2019. A nonsynonymous mutation in plcg2 reduces the risk of alzheimer's disease, dementia with lewy bodies and frontotemporal dementia, and increases the likelihood of longevity. *Acta Neuropathol.* **138**, 237-250.
52. Vaque, J. P., Gomez-Lopez, G., Monsalvez, V., Varela, I., Martinez, N., Perez, C., Dominguez, O., Grana, O., Rodriguez-Peralto, J. L. and Rodriguez-Pinilla, S. M., et al. 2014. Plcg1 mutations in cutaneous t-cell lymphomas. *Blood* **123**, 2034-2043.
53. Walliser, C., Wist, M., Hermkes, E., Zhou, Y., Schade, A., Haas, J., Deinzer, J., Desire, L., Li, S. S. C. and Stilgenbauer, S., et al. 2018. Functional characterization of phospholipase c-gamma2 mutant protein causing both somatic ibrutinib resistance and a germline monogenic autoinflammatory disorder. *Oncotarget* **9**, 34357-34378.
54. Wang, D., Feng, J., Wen, R., Marine, J. C., Sangster, M. Y., Parganas, E., Hoffmeyer, A., Jackson, C. W., Cleveland, J. L. and Murray, P. J., et al. 2000. Phospholipase cgamma2 is essential in the functions of b cell and several fc receptors. *Immunity* **13**, 25-35.
55. Woyach, J. A., Furman, R. R., Liu, T. M., Ozer, H. G., Zapatka, M., Ruppert, A. S., Xue, L., Li, D. H., Steggerda, S. M. and Versele, M., et al. 2014. Resistance mechanisms for the bruton's tyrosine kinase inhibitor ibrutinib. *N. Engl. J. Med.* **370**, 2286-2294.
56. Yang, Y. R., Follo, M. Y., Cocco, L. and Suh, P. G. 2013. The physiological roles of primary phospholipase c. *Adv. Biol. Regul.* **53**, 232-241.
57. Yang, Y. R., Jung, J. H., Kim, S. J., Hamada, K., Suzuki, A., Kim, H. J., Lee, J. H., Kwon, O. B., Lee, Y. K. and Kim, J., et al. 2017. Forebrain-specific ablation of phospholipase cgamma1 causes manic-like behavior. *Mol. Psychiatry* **22**, 1473-1482.
58. Zhou, Q., Lee, G. S., Brady, J., Datta, S., Katan, M., Sheikh, A., Martins, M. S., Bunney, T. D., Santich, B. H. and Moir, S., et al. 2012. A hypermorphic missense mutation in plcg2, encoding phospholipase cgamma2, causes a dominantly inherited autoinflammatory disease with immunodeficiency. *Am. J. Hum. Genet.* **91**, 713-720.

초록 : Phospholipase C γ 의 생리적 기능과 질병과 연관된 돌연변이

장현준¹ · 최장현¹ · 장종수^{2*}

(¹울산과학기술원 생명과학부, ²대진대학교 생명화학부)

Phospholipase C gamma (PLC γ)는 phosphatidylinositol을 가수분해하여 신호전달 과정에 참여하는 PLC의 주요한 isotype으로 γ -specific array의 특징적인 구조를 바탕으로 receptor tyrosine kinases 및 non-receptor tyrosine kinase 신호를 주로 매개한다. PLC γ 1과 PLC γ 2의 두 isozyme이 존재하며 다양한 세포에서 발현하여 cell proliferation, migration 및 differentiation 등 여러 세포작용을 조절하고 있다. 최근의 연구들에서 PLC γ 돌연변이가 cancer와 immune disease 및 brain disorder 등에 연관된다는 것이 밝혀지고 있으며 genetic model을 통해 PLC γ 의 생리적·병리적 기능이 제시되었다. 본 리뷰에서는 최신의 연구 결과들을 바탕으로 PLC γ 의 구조와 활성 조절 기전에 대해 기술하고 나아가 여러 질병의 발병과 진행에서 보고된 PLC γ 의 돌연변이와 knockout 마우스를 활용한 연구 결과를 바탕으로 생리적·병리적 관점에서 PLC γ 의 역할에 대해 고찰하였다.