

## Examining the Role of ZO Protein in the Cancer Microenvironment

Min-Hye Kim<sup>1,2</sup> and Hee-Jae Cha<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Parasitology and Genetics, Kosin University College of Medicine, Busan 49267, Korea

<sup>2</sup>Department of Biomedical Sciences, Dong-A University, Busan 49315, Korea

Received February 27, 2024 / Revised March 20, 2024 / Accepted April 11, 2024

The zonula occludens (ZO) protein serves as a scaffolding protein, providing structural support at the junctions between cells and the cytoplasmic surface. It acts as a bridge between integral membrane proteins and the cytoskeleton. Besides its structural role, it also participates in regulating cell growth and proliferation. Recent studies have highlighted the involvement of ZO protein in various diseases, including cancer. Specifically, research has indicated that ZO protein influences the cancer microenvironment surrounding cancer cells, thereby facilitating their growth and development. ZO proteins exert diverse functions in the cancer microenvironment, impacting processes such as angiogenesis, inflammatory responses, the epithelial-mesenchymal transition, and interactions with mesenchymal stem cells. The specific mechanisms vary depending on the type of cancer and environmental conditions. Recent research unveiled several signaling pathways involving ZO protein, which could potentially impede cancer progression in the tumor microenvironment. Consequently, these insights open avenues for novel treatment strategies. While the numerous physiological, structural, and morphological roles of ZO protein have been observed at the cellular and *in vivo* levels, understanding the signaling mechanisms it operates *in vivo* and how these mechanisms influence the cancer microenvironment remains a challenge. In this review, we delineate the characteristics and regulatory mechanisms of ZO protein in the context of the cancer microenvironment. Additionally, we propose leveraging the properties of ZO protein to devise defense mechanisms within the cancer cell environment and provide an overview of its *in vivo* role.

**Key words :** Cancer microenvironment, cancer progression, *in vivo*, mechanism, zonula occludens (ZO)

### 서 론

밀착 접합(Tight junctions, TJs), 부착 접합(Adherens junctions, AJs), 그리고 데스모솜(Desmosomes)은 다세포 생물에서 중요한 보호 장벽으로 작용하며 상피세포 및 내피세포에 존재한다. 밀착 접합은 세포 간의 의사소통과 수송을 조절하는 역할을 하며, 클라우딘(Claudins), 오클루딘(Occludins), 싱굴린(Cingulin), PALS1 (Protein associated with LIN7 1), MUPP1 (Multiple PDZ domain crumbs cell polarity complex component) 그리고 ZO-1, ZO-2, ZO-3 등의 단백질이 관련되어 있다. ZO 단백질은 PDZ 도메인 (Postsynaptic density protein of 95 kDa, PSD95; *Drosophila*

disc large tumor suppressor, DlgA; and zonula occludens-1 protein, ZO-1)과 클라우딘의 C-말단과 직접 상호작용하여 세포 간의 밀착 연결에 중요한 역할을 한다. 뿐만 아니라, 암세포의 다양한 신호 전달 경로를 조절하는 것으로 알려져 있다.[19]. 대표적으로 ZO 단백질과 관련된 암 종류는 유방암[23], 간암[37], 대장암[5], 방광암[3], 비소세포폐암 [25] 그리고 위장관간질종양[28] 등으로 보고되어 있다. ZO 단백질의 발현 양상은 암 종류에 따라 영향을 주는 것이 다르며 이는 다양한 암에 대한 영향을 보여준다. 최근 연구에서는 ZO 단백질이 암 그 자체뿐만 아니라 암 미세환경에서도 중요한 역할을 하는 것으로 나타났다. 암 미세환경(Cancer environment)은 종양 세포, 종양 간질 세포, 내피 세포 및 면역 세포, 콜라겐, 세포 외 기질 등을 포함하는 암세포 주변의 조직과 단백질을 가리킨다[1]. 마찬가지로 암 미세환경에서도 ZO 단백질은 암 특이적 특징을 가지고 있어 폐암에서는 EMT (Epithelial-mesenchymal transition)와 암 미세환경을 억제하는 역할을 하고[14], 유방암에서는 종양 신생혈관 형성을 촉진하는 역할을 하는 것으로 보고되었다[20]. 이러한 연구 결과는 ZO 단백질이 암 미세환경에서 상당한 영향을 미치고 있음을 보여준다.

#### \*Corresponding author

Tel : +82-51-990-6428, Fax : +82-51-990-3081

E-mail : [hcha@kosin.ac.kr](mailto:hcha@kosin.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.

하지만 아직 ZO 단백질이 암 미세환경과 관련된 다양한 단백질과 신호 전달 경로에 미치는 영향에 대한 추가 연구가 필요하다. 따라서 본 리뷰는 암 미세환경에서 ZO 단백질 역할의 관련성을 탐색하고 작용 메커니즘을 고찰하고자 한다.

## 본 론

### 암 미세환경에서의 ZO 단백질

ZO 단백질은 막횡단 단백질과 액틴 세포골격 사이에 위치하여 지지체를 형성하고 세포 접합을 조절하며 액틴, 오클루딘, 클라우딘과 결합하는 역할을 하는 것으로 잘 알려져 있다. 그러나 최근 선행연구들을 통해서 여러 질병뿐만 아니라 암 미세환경에도 관여한다는 보고가 있다 [8]. 이에 따라 지금까지 알려졌던 암에서의 ZO 단백질의 역할이 아닌 암세포 주변에서 작용 기작에 관한 다양한 가능성을 살펴볼 필요가 있다. 암은 종양 세포와 다수의 정상 조직 세포로 구성된 복잡한 생태계를 형성하는데 이것을 암 미세환경이라고 한다. 암 미세환경에는 다양한 면역 세포, 암 관련 섬유아 세포, 내피 세포, 혈관 주위 세포 및 다양한 조직 세포 등이 포함된다. 이러한 세포들은 종양 발생에 중요한 역할을 하며, 암 미세환경의 구성과 기능은 종양의 발생 부위, 암세포의 특성 및 단계, 그리고 환자의 특성에 따라 다양하다[7]. ZO 단백질의 발현은 암 미세환경 관련 인자들에 영향을 줄 수 있으며 그 반대로 가능하다고 알려져 있다. 최근에 보고된 연구에 따르면, ZO 단백질의 유전자인 Tjp1 (Tight junction protein 1) 및 Tjp2 (Tight junction protein 2)를 녹아웃(Knockout)한 흑색종 세포의 종양 형성 특성에 미치는 영향을 조사했을 때, Tjp1 및 Tjp2가 녹아웃되면 세포 증식, 이동, 침입, 종양 성장 및 전이 가능성이 유의하게 증가했으며, 차세대 염기서열 분석(Next-generation sequencing, NGS) 결과 세포주기, 세포 이동, 혈관 신생 및 세포-세포 접착 관련 유전자가 크게 연관되어 있다는 것을 알 수 있다[15].

지금까지 연구된 암 미세환경에서 ZO 단백질 관련 요소는 혈관신생(Angiogenesis), 염증 반응(Inflammation response), 상피-중간엽 전이(Epithelial-mesenchymal transition) 및 중간엽 줄기 세포(Mesenchymal stem cell)가 있다. 혈관신생은 기존의 혈관에서 새로운 혈관이 형성되는 과정으로 암세포의 성장과 전이에 필수적이다. 염증 반응은 신체에서 조직의 손상이나 항원 침입에 의한 조직의 반응을 의미하며 만성 염증일 경우 암을 유발할 수 있다고 알려져 있다. 상피-중간엽 전이는 상피 세포가 세포간의 접착성을 잃고 이동성과 침투성을 획득하여 중간엽 줄기 세포가 되는 과정을 말한다. 중간엽 줄기 세포는 다양한 세포로 분화할 수 있는 다분화 가능한 기질 세포로, 암세포의 전이와 침투에 중요한 역할을 한다. 암 환경에

서는 암 관련 섬유아세포와 같은 기질 세포로 분화되어 영향을 줄 수 있다고 보고된다. 따라서, 이러한 암 미세환경 요소에서 ZO 단백질의 역할에 대해서 세부적으로 논의하고자 한다.

### 혈관신생(Angiogenesis)

최근 연구에 따르면 ZO 단백질이 혈관신생에 관여한다는 보고가 있다[20]. 혈관신생은 기존의 혈관에서 새로운 혈관이 형성되는 과정으로 성장과 발달, 상처 치유 및 육아 조직 형성 등에 중요하다. 그러나 암에서는 암세포가 영양분을 공급받고 전이하기 위해 주변 혈관을 이용하거나 새로운 혈관을 형성하는 과정에 관여하여 악성 상태로 전환되기도 한다. 혈관 형성에는 VEGF (Vascular endothelial growth factor), FGF (Fibroblast growth factor), EGF (Epidermal growth factor)와 같은 성장인자가 필요한데, 이중 FGF가 ZO 단백질과 연관이 있다는 보고가 있다. ZO-1 발현이 억제된 인간 피부 미세혈관 세포(Human dermal microvascular EC, HDMEC)를 C57BL/6 마우스 피부에 주사하여 매트릭스 플러그 모델(Matrigel plug model)을 만든 결과, ZO-1의 억제는 FGF의 발현 감소와 함께 혈관신생이 감소하는 것으로 확인되었다[33]. 또한, ZO-1이 사이토카인(CXC motif chemokine ligand 8, CXCL8; Interleukin 8, IL-8)을 조절하여 유방암 및 폐암에서 혈관신생을 간접적으로 촉진한다는 연구도 보고되었다[20]. 이와 같이 암 미세환경에서 ZO 단백질이 성장 인자 및 사이토카인과 같은 주변 인자들을 조절하거나 기작에 관여하여 암세포의 혈관신생을 유도한다는 것을 시사한다.

### 염증 반응(Inflammation response)

염증 반응은 비특이적인 면역 세포, 혈관, 염증 매개체들이 관여하여 매개되는 선천 면역의 보호 반응을 나타내며, 이는 세포를 보호하고 조직 손상을 예방하는 중요한 기능을 한다. 이러한 염증과 관련된 질환으로서 염증성 장질환(Inflammatory bowel disease, IBD), 천식 및 만성 폐쇄성 폐질환(Chronic obstructive pulmonary disease, COPD) 등이 있으며, 이러한 질환들이 ZO 단백질과 관련되어 있다는 연구가 많이 있다[13, 16-18, 30]. 최근 연구에서는 암세포 환경에서 염증 반응에 대한 ZO 단백질의 영향에 대해 조금씩 알려지고 있다. 간세포암종(Hepatocellular carcinoma, HCC)에서는 밀착 접합 구성요소가 발암 및 종양 발생과 관련이 있음을 보여주는 증거가 있어 ZO-1과의 연관성을 확인하는 연구가 있었다. 이 연구에서는 ZO-1이 HCC 환자에서 유의하게 증가하고 염증 지표와 양의 상관관계를 나타냄으로써 염증 반응이 혈장 ZO-1의 농도를 촉진시킨다는 결과를 얻었다. 이는 ZO-1이 잠재적인 바이오마커로 사용될 수 있음을 시사한다[27]. 폐암 종류 중 80-85%를 차지하는 비소세포폐암(Non-small cell lung

cancer, NSCLC)에서도 ZO 단백질과의 연관성이 보고되었다. 선행 연구에서는 ZO-1의 세포핵 함량이 여러 염증성 케모카인의 분비 조절에 영향을 미친다는 결과를 바탕으로 폐암에서 높은 밀도를 가지는 CD8 세포독성 T 세포(CD8 cytotoxic T cell)와 FOXP3 (Forkhead box P3) 면역억제 조절 T 세포(Regulatory T cell, Treg)가 ZO-1의 세포핵 발현과 관련되어 있음을 입증하였다. 이는 ZO-1 단백질이 암의 세포핵에서 면역 세포를 모집하는데 관여할 수 있다는 것을 제시하였다[25]. 또한 다른 폐암에서도 ZO 단백질의 중요성이 확인되었다. 폐 선암종과 폐 편평 세포 암종을 포함한 폐암에서는 ZO-1, ZO-2의 발현이 낮은 연구 결과가 있었다. ZO-1 또는 ZO-2 발현을 감소시킨 Calu-1세포(Human lung squamous cell carcinoma cell)와 M0 대식세포(Macrophage)를 공동 배양을 시켰더니 M2 유사 분극화(M2-like polarization)가 유도되었고 반대로 M0 THP-1세포(Human monocytic cell)와 ZO-1 또는 ZO-2 발현된 세포를 공동 배양한 경우 M2 분화가 크게 감소했음을 밝혀냄으로써 ZO-1 및 ZO-2의 발현이 비정상적인 경우 폐암 발병과 암 미세환경 조절에 관여할 수 있음을 시사하였다[14]. 이를 통해 ZO 단백질이 암 미세환경의 염증 반응에 밀접하게 관여하고 있음을 알 수 있다. 하지만 암 세포 주변 환경에서 발생하는 염증 반응에 대한 ZO 단백질의 작용 메커니즘과 역할에 대한 추가적인 연구가 필요하다.

### 상피-중간엽 전이(Epithelial-mesenchymal transition)

ZO 단백질은 암세포 환경에서 발생하는 상피-중간엽 전이(Epithelial-mesenchymal transition, EMT)와도 연관이 있다는 보고가 있다. EMT는 많은 종류의 암에서 침습적으로 발생하는 과정 중 하나로, 상피 세포가 중간엽 세포의 특성을 가지게 되면서 이동성이 높아져 암을 다른 곳으로 전이시키는 특징을 가지고 있다. EMT의 첫 단계는 상피 세포 간의 접촉을 분해하는 것인데, 이때 상피 세포 구조는 밀착 접합, 부착 접합, 데스모솜으로 연결되어 있다. 그 중에서도 ZO-1은 세포 골격 조립 또는 역학을 조절하여 밀착 접합과 부착 접합을 조절하는 역할을 하고 있다. 이에 기반하여 유방암에서 RBM38 (RNA binding motif protein 38)이 ZO-1의 발현을 조절하여 EMT를 촉진한다는 보고가 있다[35]. 또 다른 연구에서는 원발성 유방암 발병에 IGF-IR (Insulin-like growth factor I receptor)의 과발현이 E-cad (E-cadherin)를 통한 세포 간 접착을 조절하는 메커니즘 중 하나로 ZO-1의 과발현에 영향을 미친다는 것을 발견했다. 이는 활성화된 IGF-IR이 E-cad 복합체와 액틴 세포 골격 사이의 연결을 강화시킴으로써 세포 간 접착을 조절하는데 ZO-1이 관여한다는 것을 시사한다[24]. 또한, 흑색종 세포에서도 ZO 단백질과 EMT의 연관성이 보고되

었다. 대부분의 암에서 ZO-1의 발현이 감소하여 암세포의 이동성이 증가한다고 알려져 있지만 흑색종 세포에서는 ZO-1의 발현이 높고 중간엽 마커로 알려진 N-cad (N-cadherin)과 같은 위치에서 높게 발현하여 흑색종의 발암성을 촉진한다는 것을 제시하였다[31]. 이를 통해 암 미세환경에서 EMT에 대한 ZO 단백질의 역할이 중요하다는 것을 확인할 수 있으며 더 많은 종류의 암에서 조사되어야 함을 보여준다.

### 중간엽 줄기 세포(Mesenchymal stem cell)

중간엽 줄기 세포는 조골 세포, 연골 세포, 지방 세포로 분화할 수 있는 능력을 가진 다능성 줄기세포이다. 이러한 중간엽 줄기 세포는 다양한 암 종류에서 종양 성장을 촉진하는데 관련되어 있다고 알려져 있다. 또한 중간엽 줄기 세포는 골수에서 유방암 미세환경에 집합하여 섬유아세포와 같은 간질 세포로 분화하는 것이 관찰되었다고 보고되었다. 이를 바탕으로, 골수 유래 중간엽 줄기 세포가 유방암 미세환경으로의 집합을 증대하는 내재적 메커니즘을 밝히는 연구가 진행되었고 그 과정에서 ZO-1이 연관되어 있다는 것이 확인되었다. 이 연구팀은 ZO-1이 유방암 세포의 중간엽 줄기 세포의 집단적 이동을 증대하고 성장인자베타(Transforming growth factor beta, TGF- $\beta$ )를 전환시키는 중요한 역할을 한다는 것을 확인했으며, 중간엽 줄기 세포 사이의 접촉에서 부착 접합으로 집결된다는 것을 발견했다. 그리고 ZO-1이  $\alpha$ -카테닌( $\alpha$ -catenin)과 협력해서 ZO-1 단백질의 SH3 (SRC homology 3 domain) 및 GUK (Guanylate kinase 1) 도메인으로 부착 접합을 조절하는 것을 발견했다. 이 메커니즘을 통해 ZO-1 단백질이 중간엽 줄기 세포의 이동에 영향을 줄 수 있다는 것을 제시하였다[26]. 이와 같이 암 미세환경에서 ZO 단백질이 중간엽 줄기 세포에 직접적으로 관여하는 연구는 처음으로 보고되었다. 최근까지는 손상된 인간 폐 미세혈관 내피 세포에서 ZO 단백질이 중간엽 줄기 세포와 함께 간접적으로 영향을 준다는 연구만이 있었다[11]. 따라서 앞으로 암 미세환경에서 ZO 단백질이 중간엽 줄기 세포에 미치는 영향과 새로운 역할에 대한 조사가 더 필요한 것으로 보인다.

### 그 외 다른 인자들과 ZO 단백질의 연관성

ZO 단백질은 암 미세환경에 존재하는 다른 요소들과도 연관성을 가지고 있는 것으로 나타났다. 그 중 하나로는 글루코코르티코이드(Glucocorticoids)가 있다. 글루코코르티코이드는 부종, 뇌종양, 다발성 경화증과 같은 손상된 혈액뇌장벽(Blood-brain barrier, BBB)과 관련된 중추 신경계 장애에서 중요한 역할을 한다. 덱사메타손(Dexamethasone, DEX)을 사용한 치료가 시험관 내 마우스 뇌 내피 세포로 구성된 BBB 모델의 회복을 강화한다는 가설을

가지고 연구하는 중에, DEX를 처리하고 회복하는 과정에서 ZO-1의 발현이 증가한다는 것을 확인했고 BBB 회복과 구조적 연관성이 있음을 제시하였다[12]. 또한, 전사 인자에 의해 암 미세환경에 영향을 주는 경우도 있다. 전사 인자인 ZO-1 관련 핵산 결합 단백질(ZO-1-associated nucleic-acid-binding protein, ZONAB)은 밀착 연결과 핵 사이를 왕복하면서 세포 증식과 세포 핵 항원(Proliferating cell nuclear antigen, PCNA)의 발현을 촉진하는 것으로 알려져 있다. ZONAB은 상피 세포 밀도를 인식하고 증식과 분화 사이의 전환을 조절하는 전사 네트워크에 참여하여 메커니즘의 중요한 요소로 보고되었다[21]. 한 연구에서는 ZONAB의 과발현이 성숙한(Mature) 단층의 세포 밀도를 증가시키고 ZONAB의 손실 또는 ZO-1 과발현은 세포 밀도를 감소시킨다는 것을 확인했다. 그리고 ZONAB이 CDK4 (Cyclin-dependent kinase 4)와 상호작용하여 핵에 축적되어 세포 증식을 촉진한다는 것을 밝히면서 밀착 연결이 잠재적으로 CDK4 핵 위치를 조절하고 ZONAB/ZO-1 경로를 통해 세포 증식을 조절할 수 있다는 것을 시사하였다[2]. 이러한 결과들을 통해 암 미세환경에서 ZO 단백질을 조절하거나 상호작용하는 인자가 존재한다는 것을 확인할 수 있으며, ZO 단백질 독단적으로 활동하는 것 외에도 다른 인자들과 함께 작용하여 충분히 암세포 환경에 영향을 줄 수 있다는 것을 고려할 수 있다.

### ZO 단백질을 이용한 암 미세환경 내 기작 방어

위에서 언급한 대로 ZO 단백질은 암 미세환경에서 다양한 역할을 수행하며 암 진행과 발달을 가속화시킬 수 있다. 따라서, ZO 단백질을 타겟으로 하여 암 미세환경에서 일어나는 메커니즘을 방어할 수 있다면 암세포의 발달을 억제할 수 있을 것으로 기대된다.

ZO 단백질에는 세포 간 통신 및 분극에서부터 단백질 수송과 단백질 대사 조절을 해주는 PDZ 도메인이 있다. 이 도메인은 단백질 복합체 형성 및 안정성에 중요하고 막횡단 수용체에 의해 감지되는 세포 외 자극과 세포 내 반응 사이에 중요한 연결 고리를 설정한다고 알려져 있는데 실제로 여러 질병에서 잠재적 치료제로 제안되고 있다[6]. 선행 연구에 따르면 ZO 단백질에 PDZ 도메인의 결실 및 변형이 염증 반응과 EMT 과정에 영향을 줄 수 있다고 보고되고 있다[18, 29, 34]. 특히, 암 특이적으로 ZO 단백질의 PDZ 도메인을 이용한다면 암 진행을 방어해주는 치료제로 사용할 수 있을 것으로 생각한다.

천연물(Natural compounds)을 사용하여 ZO 단백질의 발현을 조절할 수도 있다. 천연물은 자연에서 발견되는 물질을 화학적 합성을 통해 제조되어 기초 연구 및 건강 보조 식품으로 사용되고 있다. 천연물 중에서 커큐민(Circummin)과 레스베라트롤(Resveratrol)이 ZO 단백질의 발현과 관련이 있다고 보고되고 있다. 커큐민은 항염증 특성을 가진

강황의 주요 생리 활성 물질이다. 커큐민을 장 손상 및 장 점막 장벽에 처리하여 효과를 조사하는 연구에서 커큐민 전처리 후 ZO-1의 발현 증가를 유도했고 그로 인해 상피 구조가 복원되고 손상으로부터 장을 보호할 수 있었다고 보고된다[32]. 레스베라트롤은 식물이 곰팡이나 해충 같은 안 좋은 환경에 직면했을 때 만들어내는 물질로 항암, 항바이러스, 항노화 등에 효과가 있다고 알려져 있다. 레스베라트롤이 염증을 억제하는 성질로 궤양성 대장염(Ulcerative colitis, UC) 치료에 대한 연구 중 LPS (Lipopolysaccharide)에 의해 유도된 염증의 HT-29 세포(Colon adenocarcinoma cell) 모델에서 레스베라트롤이 ZO-1의 발현을 감소시키고 Notch1 (Notch receptor 1) 경로를 억제하여 염증 인자 IL-6 (Interleukin-6) 및 TNF- $\alpha$  (Tumor necrosis factor- $\alpha$ )의 발현을 감소시킨다는 것을 발견하였다. 이는 레스베라트롤이 Notch1 경로를 약화시켜 ZO-1 단백질을 조절할 수 있다는 것을 시사한다[22]. 따라서 천연물을 사용하여 ZO 단백질의 발현을 조절함으로써 암 미세환경에 내재된 메커니즘을 방어해서 암 진행과 발달을 억제할 수 있을 것으로 보인다.

### 진행중인 연구과제

지금까지 ZO 단백질은 암을 포함한 여러 질병에서 널리 연구되어 왔다. 특히 세포-세포 사이를 연결하고 신호를 전달하는 역할을 함으로써 주로 전이 및 침습과 관련된 연구들이 보고되었다[4, 9]. 최근에는 세포 수준의 연구를 넘어서 ZO 단백질을 녹아웃(Knockout)시킨 마우스를 사용하여 생체 내에서의 연구가 진행되고 있다. 이러한 연구를 통해 병리생리학과 구조 및 형태학에서 ZO 단백질이 중요한 역할을 하고 있다는 것을 확인할 수 있다[10, 36]. 그러나 ZO 단백질이 생체 내에서 형태학적 또는 생리학적으로 하는 역할이 어떤 메커니즘을 통해서 작용하는지는 명확하게 밝혀져 있지 않은 상황이다. 따라서 추가 연구로 생체 내 ZO 단백질의 작용 메커니즘과 암 미세환경에 어떻게 영향을 미치는지에 대한 고찰이 필요하다.

## 결론

현재까지 보고된 바에 따르면, ZO 단백질은 암 미세환경에서 중요한 역할을 하고 있다. 이를 Fig. 1에서 간략하게 설명하였다. ZO 단백질은 암세포 주변에서 지지체를 형성하여 세포 접합을 조절하고, 다양한 세포와 상호작용하여 암 발생 및 전이에 영향을 미칠 수 있다. 특히, 혈관 신생, 염증 반응, 상피-중간엽 전이, 중간엽 줄기 세포와의 상호작용을 통해 다양한 기능을 수행한다는 것이 확인되었다. 그러나 이러한 작용 메커니즘은 암의 종류와 환경적 조건에 따라 달라질 수 있으므로, 암 특이적인 ZO 단백질 역할을 고려하여 암세포 환경에서의 방어적 전략이

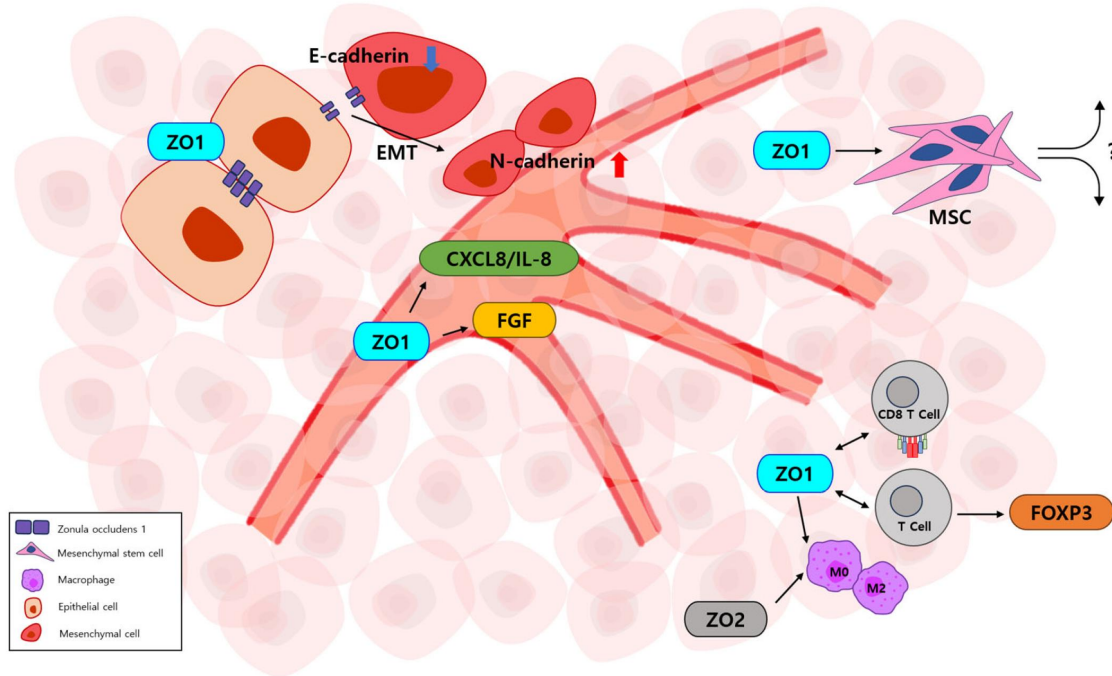


Fig. 1. Schematic diagram of the role of ZO protein in the cancer microenvironment.

필요하다. 또한, 생체 내에서 ZO 단백질이 활동하는 구체적인 메커니즘과 이러한 활동이 암 미세환경에 미치는 영향에 대한 명확한 규명이 되지 못하고 있어 추가 연구가 필요한 실정이다.

### 감사의 글

이 논문은 한국정부의 지원을 받는 한국연구재단(NRF)의 연구비 지원으로 수행되었습니다(NRF-2021R1A4A1 031380).

### The Conflict of Interest Statement

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

### References

1. Baghba, R., Roshangar, L., Jahanban-Esfahlan, R., Seidi, K., Ebrahimi-Kalan, A., Jaymand, M., Kolahian, S., Javaheri, T. and Zare, P. 2020. Tumor microenvironment complexity and therapeutic implications at a glance. *Cell Commun. Signal.* **18**, 10.1186/s12964-020-0530-4.
2. Balda, M. S., Garrett, M. D. and Matter, K. 2003. The ZO-1-associated Y-box factor ZONAB regulates epithelial cell proliferation and cell density. *J. Cell Biol.* **160**, 423-432.
3. Chen, B. B., Bu, R. G. and Xu, X. W. 2020. Expression

of tight junction proteins is altered in bladder cancer. *Anal. Cell Pathol.* **2020**, 10.1155/2020/6341256.

4. Chen, X. W., Zhao, M., Huang, J., Li, Y. H., Wang, S. Q., Harrington, C. A., Qian, D. Z., Sun, X. X. and Dai, M. S. 2018. microRNA-130a suppresses breast cancer cell migration and invasion by targeting FOSL1 and upregulating ZO-1. *J. Cell Biochem.* **119**, 4945-4956.
5. Chen, Y., Tang, L. Y. W., Ye, X. R., Chen, Y. M., Shan, E. F., Han, H. Y. and Zhong, C. Y. 2022. Regulation of ZO-1 on  $\beta$ -catenin mediates sulforaphane suppressed colorectal cancer stem cell properties in colorectal cancer. *Food Funct.* **13**, 12363-12370.
6. Christensen, N. R., Calyseva, J., Fernandes, E. F. A., Lüchow, S., Clemmensen, L. S., Haugaard-Kedström, L. M. and Stromgaard, K. 2019. PDZ domains as drug targets. *Adv. Ther.* **2**, 10.1002/adtp.201800143.
7. de Visser, K. E., Joyce, Johanna A. 2023. The evolving tumor microenvironment From cancer initiation to metastatic outgrowth. *Cancer cell.* **41**, 374-403.
8. Ellaine, S., Malgorzata, B., Carola, Y. F. 2016. Tight Junctions and the tumor microenvironment. *Curr. Pathobiol. Rep.* **4**, 135-145.
9. Ghosh, D., Dutta, A., Kashyap, A., Upmanyu, N. and Datta, S. 2021. PLP2 drives collective cell migration via ZO-1-mediated cytoskeletal remodeling at the leading edge in human colorectal cancer cells. *J. Cell Sci.* **134**, 10.1242/jcs.253468.
10. Haas, A. J., Zihni, C., Krug, S. M., Maraspini, R., Otani, T., Furuse, M., Honigsmann, A., Balda, M. S. and Matter, K. 2022. ZO-1 guides tight junction assembly and epithelial morphogenesis via cytoskeletal tension-dependent

- and independent functions. *Cells*. **11**, 10.3390/cells11233775.
11. Hu, S. L., Park, J., Liu, A. R., Lee, J., Zhang, X. W., Hao, Q. and Lee, J. W. 2018. Mesenchymal stem cell microvesicles restore protein permeability across primary cultures of injured human lung microvascular endothelial cells. *Stem Cells Transl. Med.* **7**, 615-624.
  12. Hue, C. D., Cho, F. S., Cao, S. Q., Bass, C. R., Meaney, D. F. and Morrison, B. 2015. Dexamethasone potentiates *in vitro* blood-brain barrier recovery after primary blast injury by glucocorticoid receptor-mediated upregulation of ZO-1 tight junction protein. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* **35**, 1191-1198.
  13. Ibrahim, S., Zhu, X., Luo, X. L., Feng, Y. D. and Wang, J. 2020. PIK3R3 regulates ZO-1 expression through the NF- $\kappa$ B pathway in inflammatory bowel disease. *Int. Immunopharmacol.* **85**, 10.1016/j.intimp.2020.106610.
  14. Kim, H. S., Lee, S. I., Choi, Y. R., Kim, J., Eun, J. W., Song, K. S. and Jeong, J. Y. 2023. GNAQ-regulated ZO-1 and ZO-2 act as tumor suppressors by modulating EMT potential and tumor-repressive microenvironment in lung cancer. *Int. J. MolSci.* **24**, 10.3390/ijms24108801.
  15. Ko, E. J., Kim, D., Kim, M. H., An, H., Kim, J., Jeong, J. Y., Song, K. S. and Cha, H. J. 2024. Functional analysis of membrane-associated scaffolding tight junction (TJ) proteins in tumorigenic characteristics of B16-F10 mouse melanoma cells. *Int. J. Mol. Sci.* **25**, 10.3390/ijms25020833.
  16. Landy, J., Ronde, E., English, N., Clark, S. K., Hart, A. L., Knight, S. C., Ciclitira, P. J. and Al-Hassi, H. O. 2016. Tight junctions in inflammatory bowel diseases and inflammatory bowel disease associated colorectal cancer. *World J. Gastroenterol.* **22**, 3117-3126.
  17. Lee, S. H. 2015. Intestinal Permeability Regulation by Tight Junction: Implication on Inflammatory Bowel Diseases. *INTEST. RES.* **13**, 11-18.
  18. Lee, T. J., Choi, Y. H. and Song, K. S. 2020. The PDZ motif peptide of ZO-1 attenuates *Pseudomonas aeruginosa* LPS-induced airway inflammation. *Sci. Rep.* **10**, 10.1038/s41598-020-76883-9.
  19. Lee, Y. C., Tsai, K. W., Liao, J. B., Kuo, W. T., Chang, Y. C. and Yang, Y. F. 2022. High expression of tight junction protein 1 as a predictive biomarker for bladder cancer grade and staging. *Sci. Rep.* **12**, 10.1038/s41598-022-05631-y.
  20. Lesage, J., Suarez-Carmona, M., Neyrinck-Leglantier, D., Grelet, S., Blacher, S., Hunziker, W., Birembaut, P., Noel, A., Nawrocki-Raby, B., Gilles, C. and Polette, M. 2017. Zonula occludens-1/NF- $\kappa$ B/CXCL8: a new regulatory axis for tumor angiogenesis. *Faseb. J.* **31**, 1678-1688.
  21. Lima, W. R., Parreira, K. S., Devuyst, O., Caplanusi, A., N'Kuli, F., Marien, B., Van Der Smissen, P., Alves, P. M. S., Verroust, P., Christensen, E. I., Terzi, F., Matter, K., Balda, M. S., Pierreux, C. E. and Courtoy, P. J. 2010. ZONAB promotes proliferation and represses differentiation of proximal tubule epithelial cells. *J. Am. Soc. Nephrol.* **21**, 478-488.
  22. Luo, Y. H., Yu, X. Y., Zhao, P. Z., Huang, J. and Huang, X. 2022. Effects of resveratrol on tight junction proteins and the Notch1 pathway in an HT-29 cell model of inflammation Induced by Lipopolysaccharide. *Inflammation.* **45**, 2449-2464.
  23. Martin, T. A., Watkins, G., Mansel, R. E. and Jiang, W. G. 2004. Loss of tight junction plaque molecules in breast cancer tissues is associated with a poor prognosis in patients with breast cancer. *Eur. J. Cancer.* **40**, 2717-2725.
  24. Mauro, L., Bartucci, M., Morelli, C., Ando, S. and Surmacz, E. 2001. IGF-I receptor-induced cell-cell adhesion of MCF-7 breast cancer cells requires the expression of junction protein ZO-1. *J. Biol. Chem.* **276**, 39892-39897.
  25. Neyrinck-Leglantier, D., Lesage, J., Blacher, S., Bonnomet, A., Hunziker, W., Noel, A., Dormoy, V., Nawrocki-Raby, B., Gilles, C. and Polette, M. 2021. ZO-1 intracellular localization organizes immune response in non-small cell lung cancer. *Front. Cell Dev. Biol.* **9**, 10.3389/fcell.2021.749364.
  26. Park, A., Choi, S., Do, J., Kim, Y., Kim, K. S., Koh, E. and Park, K. S. 2024. ZO-1 regulates the migration of mesenchymal stem cells in cooperation with  $\alpha$ -catenin in response to breast tumor cells. *Cell Death Discov.* **10**, 10.1038/s41420-023-01793-4.
  27. Ram, A. K., Pottakat, B. and Vairappan, B. 2018. Increased systemic zonula occludens 1 associated with inflammation and independent biomarker in patients with hepatocellular carcinoma. *BMC Cancer.* **18**, 10.1186/s12885-018-4484-5.
  28. Ram, A. K. and Vairappan, B. 2022. Role of zonula occludens in gastrointestinal and liver cancers. *World J. Clin. Cases.* **10**, 3647-3661.
  29. Reichert, M., Müller, T. and Hunziker, W. 2000. The PDZ domains of zonula occludens-1 induce an epithelial to mesenchymal transition of Madin-Darby canine kidney I cells -: Evidence for a role of  $\beta$ -catenin/Tcf/Lef signaling. *J. Biol. Chem.* **275**, 9492-9500.
  30. Seo, H., Lee, H. C., Lee, K. C., Kim, D., Kim, J., Kang, D. H., Chung, H. J., Cha, H. J., Kim, J. and Song, K. S. 2023. PDZ Peptide of the ZO-1 protein significantly increases UTP-Induced MUC8 anti-inflammatory mucin overproduction in human airway epithelial cells. *Mol. Cells.* **46**, 700-709.
  31. Smalley, K. S. M., Brafford, P., Haass, N. K., Brandner, J. M., Brown, E. and Herlyn, M. 2005. Up-regulated expression of zonula occludens protein-1 in human melanoma associates with N-cadherin and contributes to invasion and adhesion. *Am. J. Pathol.* **166**, 1541-1554.
  32. Tian, S. Y., Guo, R. X., Wei, S. C., Kong, Y., Wei, X. L., Wang, W. W., Shi, X. M. and Jiang, H. Y. 2016. Curcumin protects against the intestinal ischemia-reperfusion injury: involvement of the tight junction protein ZO-1 and TNF- $\alpha$  related mechanism. *Korean J. Physiol. Pharmacol.* **20**, 147-152.
  33. Tornavaca, O., Chia, M., Dufton, N., Almagro, L. O., Conway, D. E., Randi, A. M., Schwartz, M. A., Matter,

- K. and Balda, M. S. 2015. ZO-1 controls endothelial adherens junctions, cell-cell tension, angiogenesis, and barrier formation. *J. Cell Biol.* **208**, 821-838.
34. Utepbergenov, D. I., Fanning, A. S. and Anderson, J. M. 2006. Dimerization of the scaffolding protein ZO-1 through the second PDZ domain. *J. Biol. Chem.* **281**, 24671-24677.
35. Wu, J., Zhou, X. J., Sun, X., Xia, T. S., Li, X. X., Shi, L., Zhu, L., Zhou, W. B., Wei, J. F. and Ding, Q. 2017. RBM38 is involved in TGF- $\beta$ -induced epithelial-to-mesenchymal transition by stabilising zonula occludens-1 mRNA in breast cancer. *Br. J. Cancer.* **117**, 675-684.
36. Xu, J. L., Kausalya, P. J., Ong, A. G. M., Goh, C. M. F., Ali, S. M. and Hunziker, W. 2022. ZO-2/Tjp2 suppresses Yap and Wwtr1/Taz-mediated hepatocyte to cholangiocyte transdifferentiation in the mouse liver. *NPJ Regen Med.* **7**, 10.1038/s41536-022-00251-6.
37. Zhang, X. L., Wang, L., Zhang, H. T., Tu, F., Qiang, Y. and Nie, C. F. 2019. Decreased expression of ZO-1 is associated with tumor metastases in liver cancer. *Oncol. Lett.* **17**, 1859-1864.

### 초록 : 암 미세환경에서 ZO 단백질의 역할 고찰

김민혜<sup>1,2</sup> · 차희재<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>고신대학교 의과대학 기생충유전학 교실, <sup>2</sup>동아대학교 바이오메디컬학과)

Zonula occludens (ZO) 단백질은 세포 간의 접합 및 세포질 표면에서 구조적으로 기초를 제공하는 스캐폴딩 단백질로 통합 막 단백질과 세포골격 사이를 연결해주는 역할을 하며 구조적 기능 이외에도 세포 성장 및 증식 조절에도 참여를 한다. 최근 연구들에 따르면 ZO 단백질이 여러 질병 중에서도 암에 관여를 한다는 사실을 보여주고 있다. 특히, ZO 단백질은 암 미세환경에서 암세포의 성장과 발달에 영향을 주고 있다고 보고되고 있다. ZO 단백질은 혈관신생, 염증 반응, 상피-중간엽 전이, 중간엽 줄기 세포와의 상호작용을 통해 암 미세환경에서 다양한 기능을 수행한다. 이런 작용 메커니즘은 암의 종류 및 환경적 조건에 따라 달라질 수 있어 최근까지도 이와 관련된 연구들이 진행되면서 ZO 단백질이 참여하는 여러 신호전달기작들이 밝혀지고 있다. 이를 통해 암세포 환경에서 암 성장과 발달을 늦춰줄 수 있는 새로운 치료법도 고려해볼 수 있다. 또한 ZO 단백질의 세포 및 생체 내 역할에 대한 연구는 계속되고 있지만, 신호전달 기작들이 생체 내 암 미세환경에서 어떻게 작용하는지에 대한 이해는 아직 부족하다. 따라서, 본 리뷰에서는 ZO 단백질 관련 암 미세환경의 특징 및 조절 기작을 소개하고 ZO 단백질의 특성을 활용하여 암 세포 환경을 억제하고 생체 내 ZO 단백질의 역할을 고찰하고자 한다.