

만성퇴행성 신경질환과 Apoptosis

계명대학교 자연과학대학 생물학과,
의과대학 신경과학교실* 및 의과학연구소

신송우 · 유민 · 정영주* · 박영춘*

I 서 론

만성퇴행성 신경질환이란 신경세포나 그 섬유소들이 알려지지 않은 원인에 의해 점차 사멸하면서 기능을 상실하는 현상으로, 그 기전들의 대부분이 밝혀지지 않고 있다. 이러한 퇴행성 질환 중에는 이미 잘 알려진 치매, 파킨슨질환, 근위축증 등이 있으나 실제로는 아직까지도 밝혀지지 않은 질환이 더 많이 존재할 것으로 추정되고 있다.

오늘날 분자생물학적 연구기법의 발달에 힘입어 이들 질환의 발병 기전들이 일부 밝혀지고 있는 가운데 특히 주목할 점은 이들 질환에 관여하는 원인 세포들이 공통적으로 apoptosis 과정을 겪는다는 점이다. 따라서 본 논문에서는 치매, 파킨슨질환 및 근위축증 등과 같은 만성퇴행성 신경질환과 apoptosis의 관계에 대하여 최신 연구 결과들을 보고하고자 한다.

II 본 론

1. Alzheimer's disease

Alzheimer's disease(AD)에 대한 역사적 배경은 1907년 Alois Alzheimer가 대뇌피질에 특이적으로 나타나는 질환에 대해 처음으로 보고함으로서 시작되었다.

당시 환자는 51세의 여성으로 기억장애와 망상을 보였으며 공간을 구별하지 못하고 쉽게 혼분하는 반응을 보였다. 그리고 언어 이해력과 구사력은 현저하게 떨어졌으나 몸의 움직임은 비교적 정상상태를 보였다.

이 환자는 약 4년 6개월 후에 사망하였으며, 뇌 절편의 도은 염색 결과 신경원섬유 변화가 대뇌피

질에 다수 출현함을 발견하였다. AD 환자는 주로 40대 후반부터 발병되기 시작하여 단순한 치매증상 뿐 아니라 망상, 기억장애를 동반하는 경우가 많다. AD 환자 뇌의 전형적인 병리학적 특징으로는 (가) β -amyloid의 응집 축적에 의한 노인반(senile plaque)의 출현, (나) 과잉 인산화된 τ (tau) 단백질과 PFA(paired helical filament)로 구성된 변성 신경원섬유의 세포체내 축적, (다) 신경세포사에 의한 뇌의 위축 등을 들 수 있다.

오늘날 분자유전학의 발전에 따라 현재까지 AD를 지배하는 4가지 유전자들, 즉 β -amyloid precursor protein(APP), apolipoprotein E(ApoE), 7 transmembrane domain proteins S182과 STM2 등이 밝혀졌다. 본 논문에서는 AD에 있어서 이들 유전자와 신경세포 변성 기전에 대한 최신 연구 결과들을 중심으로 요약하고자 한다.

1985년 Glenner 등은 뇌 혈관에 침착한 amyloid를 추출 정제하여 40~42 아미노산으로 구성된 peptide(분자량 약 4kd)의 amyloid β protein(A β)를 분리하였다(Fig. 1).

그리고 이에 대한 항체를 얻어 뇌 조직을 면역화학적 방법으로 검색한 결과 이 항체가 뇌 혈관 amyloid 뿐 아니라 노인반(senile plaque)과 결합함을 관찰하였다(Wong et al., 1995). 그 이후 계속된 연구 결과에 따라 A β 는 amyloid precursor protein (APP)들에서 유래되었으며 770, 751 그리고 695 아미노산으로 구성된 작은 peptides임이 밝혀졌다.

이 중에서 695 아미노산의 APP는 neuron에서 고농도로 생산되어 anterograde나 retrograde axonal transport로서 또는 transcytosis에 의해 neuron 세포체로 전달된다.

일반적으로 APP는 90~100kDa의 큰 단백질로서 생산되어 A β domain을 중심으로 끊어진 형태

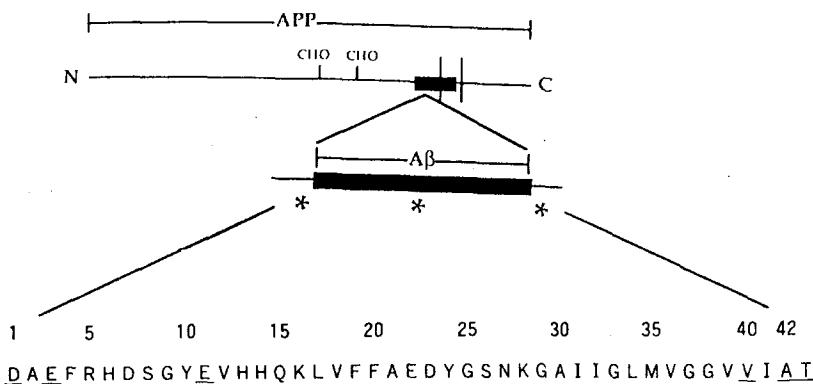


Fig. 1. Inherited Mutations That Cause AD APP. Sites of inherited mutations surrounding or within the $\text{A} \beta$ domain are shown with asterisks. The mutations either increase $\text{A} \beta$ production, alter the length of $\text{A} \beta$, or increase $\text{A} \beta$ aggregation.

로서 세포체에 분포한다. 그러나 alternative processing에 의하여 extracellular 및 transmembrane domain 등을 포함한 형태로 끊어져 soluble A β , 즉 senile plaque에 해당하는 A β 가 생성된다. APP processing 및 분비 조절과정등은 상세히 알려져 있다(Selkoe, 1994). 분비형 APP의 기능은 세포-기질 접착에 관여하거나, neurite outgrowth 또는 세포증식을 증진하는 것으로 추정되며, neurotrophic factor에 대한 감수성을 항진시킨다고 하는 보고 등이 있다. 분자 수준의 실험 등에서는 APP와 heterotrimeric G proteins의 결합, MAP kinase와의 결합 또는 K⁺ 통로 투전도를 높인다는 등의 보고들이 있으나, 이들 활성의 생물학적 기능은 확실히 알려지지 않고 있다. 정상 APP의 기능을 추정하는 또 다른 실험으로 homozygous APP-knockout mouse를 만든 것이 있는데, APP는 신경 세포를 포함한 세포 분화과정에서는 아무런 역할을 하지 않는 것으로 추정된다.

그러나 자라면서 이들 생쥐는 15~20% 정도의 체중 감소와 운동 기능, 특히 앞발의 운동 기능 이상이 관찰되었다. 뇌 조직에 비만성 gliosis가 있는 것 외에는 neuron의 감소나 변성을 전혀 볼 수 없었다(Zheng et al., 1995). 그러나 APP를 과잉 발현하는 transgenic mouse 모델을 만들었을 때는 cortical synapses 수의 증가를 관찰할 수 있었을 뿐 아니라 HIV gp120 protein에 의한 신경 독성으로부터 보호 받을 수 있음을 관찰할 수 있었다 (Mucke et al., 1994; 1995).

그리고 AD 환자의 척추액에는 APP의 감소를 볼 수 있는 반면 APP를 neuronal culture에 첨가해 주었을 때 glucose deprivation, oxidative stress, excitotoxicity 등 각종 stress에서 neuron의 생존을 도우고 있는 것도 알려져 있다. APP와 관련된 AD 유발 요인으로는 APP의 변이, APP의 과잉 생산, A β fibrils의 신경세포 독성 등이 추정되고 있다. Autosomal dominant familiar AD에 있어서 APP 변이는 A β domain에서 일어나고 있다. Codon 717에 일어난 변이의 경우에는 A β C-terminus에 가까운 cleavage site에 위치하고 있으며, 이 변이 APP cDNA transfectants는 highly aggressive 42 amino acid A β 를 생산하는 것으로 알려져 있다.

다른 위치에 APP 변이형의 경우 APP 생산 과다를 일으켰고, 또 다른 뇌맥관계에 까지 A β 침착을 볼 수 있는 A β 변이의 경우에는 A β fibril 형성 촉진현상을 *in vitro* 계에서 볼 수 있었다. 이 결과들은 모두 APP 변이가 A β 생산 항진 또는 aggregation 촉진 등의 효과로서 AD 형성에 관여하고 있음을 시사하고 있다(Yankner, 1996).

변이형 A β peptide의 신경독성은 여러 실험들에서 관찰되었으나 그 기전에 관하여서는 아직 일치된 의견이 없다. A β sequence를 포함하고 있는 APP C-terminal fragment는 배양 신경세포들에게 신경독성을 나타내는 것으로 보고된 바 있고 (Yankner, 1996), 독성을 나타내기 위하여서는 A β 가 amyloid fibrils 형태로 aggregation되어야 하며, non-fibrillar form 또는 amorphous aggregate의 형

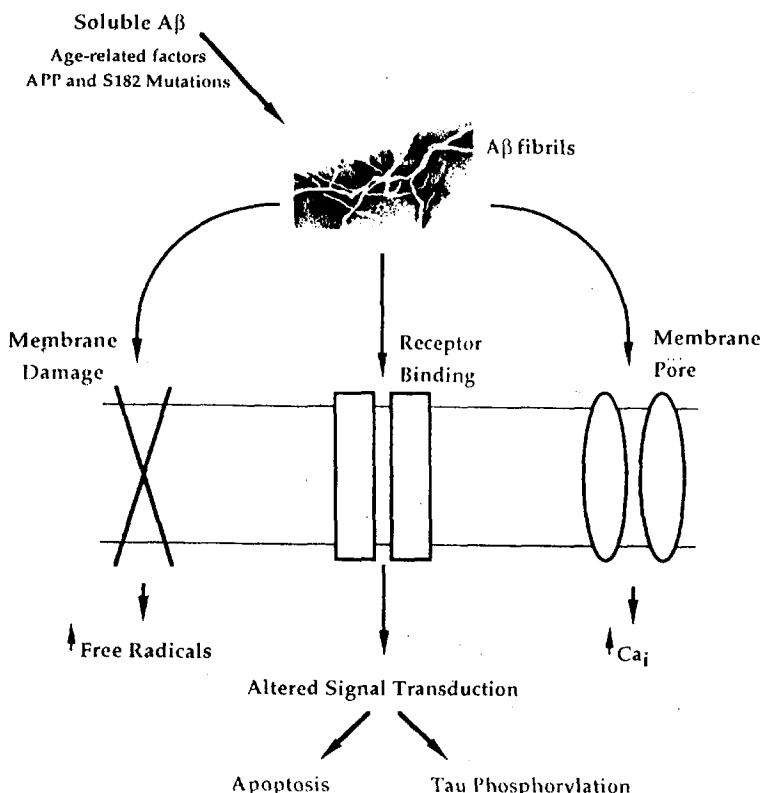


Fig. 2. $\text{A}\beta$ Fibril Formation and Potential mechanisms of Neurotoxicity. Age-related factors or inherited mutations induce the formation of $\text{A}\beta$ fibrils, which may cause neuronal degeneration through several potential cellular mechanisms.

태로서는 신경독성을 나타내지 않는다. $\text{A}\beta$ peptide는 그 자체의 직접적인 세포독성을(Loo et al., 1993) 이 외에 많은 다른 신경상해기전, 예를 들면 흥분성 아미노산, 저혈당, oxidative stress 등과 함께 세포독성을 증가시키기도 한다. $\text{A}\beta$ 세포독성의 기전으로서 신경세포내 Ca^{++} 증가(Anispe et al., 1993), mitochondrial redox potential의 증가, 또는 free radical 증가 등을 들고 있다(Fig. 2).

최근의 연구에 의하면 가장 흔히 보이는 late onset AD의 susceptibility gene으로 ApoE가 알려졌다(Strittmatter et al., 1993; Utermann, 1994). ApoE는 very low density lipoprotein(VLDL)와 high density lipoprotein(HDL) complexes의 구성원으로서 세포의 cholesterol 섭취와 대사에 관여하고 있음은 잘 알려진 사실이다.

ApoE는 중추 또는 말초신경 neuron axonal injury에 있어서 중요한 역할을 하고 있음이 알려

져 있다. Neuron이 ApoE-lipoprotein complex를 섭취하면 세포 체내에서 cholesterol이 유리되고 운반되어 neuron 말단에서 neurite outgrowth나 synaptogenesis에 이용되는 것으로 추정되는 가운데 흥미로운 점은 ApoE3-VLDL complex는 neurite outgrowth를 촉진시키는 반면에 ApoE4-VLDL complex는 오히려 이를 저해한다고 한다. 이 두 평형관계가 neuron의 기능적 노쇠, 재생 등에 밀접히 관여하고 있는 것으로 추정된다(Fig. 3). ApoE4 allele을 가진 AD 환자들의 경우 amyloid plaque의 증가가 뚜렷한데, ApoE4 allele을 가진 정상 노인의 경우에도 amyloid plaque수가 증가되어 있었다. ApoE는 가용성 $\text{A}\beta$ 와 결합하는 것이 알려졌으며, ApoE4는 ApoE3보다 amyloid fibril 형성을 더 증가시킨다고 한다(Strittmatter et al., 1993).

이러한 *in vitro* binding assay 이 외에 amyloid plaque의 조직면역학적 검사상으로도 ApoE가

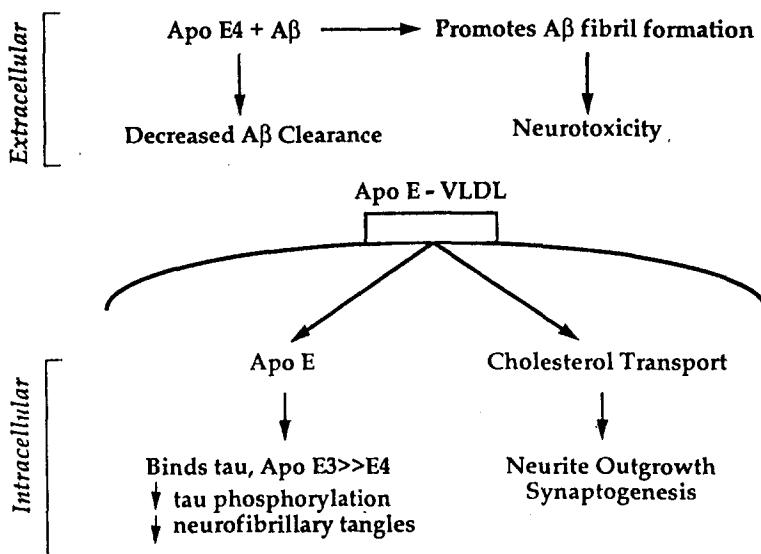


Fig. 3. Potential Pathogenic Mechanisms Involving ApoE. Individuals carrying the E4 allele of ApoE are at increased risk of developing AD. The E3 and E4 alleles may differentially affect A β fibril formation, tau phosphorylation, or cholesterol transport involved in neurite outgrowth and synaptogenesis.

amyloid plaque의 구성원으로 검출되고 있다. 또 다른 흥미스러운 관찰은 ApoE의 microtubule-associated protein τ 와의 *in vitro* binding이다. ApoE3는 nonphosphorylated τ 에 대하여 ApoE4보다 높은 친화성을 나타내는 것으로 보아 ApoE3의 기능이 τ hyperphosphorylation을 방지하는 것으로 추정하고 있다. 그 이유로서는 hyperphosphorylated τ 는 microtubules와 결합하여 cytoskeletal system을 파괴하고 neurofibrillary tangles를 만드는 것으로 생각되기 때문이다. ApoE는 신경세포 질에서 증명되었고 AD 환자 neurofibrillary tangles에서도 증명되었으나, ApoE와 정상 τ 와의 결합물이 정상 neuron에서 검색된 바는 없다.

최근의 연구에서는 early onset familial AD와 관련된 2가지 유전자들, 즉 S182와 STM-2가 새로이 발견되었다. S182 유전자(Sherrington *et al.*, 1995)는 467 아미노산의 막단백질을 지정하며, early onset aggressive AD의 경우 S182 단백질에 다발성 변이가 관찰되었다. STM-2는 1번 염색체에 존재하고, S182처럼 막단백질을 지정한다(Levy-Lahad *et al.*, 1995; Rogeav *et al.*, 1995; Li *et al.*, 1995). S182와 STM-2는 presenilins라고도 부르는데, 이들의 세포 체내 분포는 endoplasmic

reticulum과 Golgi 소체들이며, 이들이 apoptosis 관련 신호전달계 단백질 중의 하나로 추정되고 있다.

현재까지의 분자유전학적 연구 결과 AD의 병인에 관여하는 여러 가지 유전자들이 알려졌고, 여기에 환경인자들까지 추가되어 여러 가지 형태의 AD를 일으키는 것으로 추정된다. 그러나 공통적인 병리과정은 A β 축적 \rightarrow τ 단백질 인산화 \rightarrow 신경세포사 등으로 생각된다.

2. Parkinson's disease

Parkinson's disease(PD)란 50대 이후에 발병되어 점차 진행되는 퇴행성 질환으로서, 진전(resting tremor), 경직(rigidity), 운동 둔화(bradykinesia) 등의 3대 증상 뿐 아니라 보폭이 좁고 끄는 듯한 걸음걸이, 높낮이가 없는 음성, 무표정 등을 증상으로 나타내고 있다. 진전이란 사지, 두부, 경부 등에 불수의적으로 출현하는 규칙적인 반복 운동으로서, 인간에게는 오래전부터 관찰되었을 것이나 1817년 James Parkinson이 처음으로 논문으로 발표하였다.

발병 빈도는 미국의 경우 60대의 1%, 80대 이상의 2.6%를 나타내고 있다. 1849년 Blocq와 Marinesco가 PD 환자 뇌의 부검 결과 substantia

nigra에 퇴행성 병변이 있음을 보고하였으며, 1913년 Lewy가 substantia nigra neuron에 cytoplasmic inclusion이 있다는 것을 발견함에 따라 substantia nigra neuron의 퇴행성 병변이 특발성(idiopathic) PD의 병리학적 특징으로 인식되었고, 퇴행성 병변부위는 매우 선택으로 진행함이 알려졌다 (Fearnley & Lees, 1994). 따라서 특발성 PD는 현재 nigrostriatal dopaminergic neuron의 apoptosis에 의한 질환으로 정의될 수 있으며, 이에 대해 최근의 연구 결과를 중심으로 요약하고자 한다.

사람의 움직임이란 운동영역에서 시작하는 corticospinal pathway program, 축두부 및 전두부의 sensorimotor cognitive program, 그리고 본능, 욕망, 소망의 limbic program 등이 가미된 복잡한 coordinated program 등의 network에 의하여 수행되고 있음이 알려져 있다. 여기서 크기로는 매우 작은 mesostriatal dopamine계 neuron들이 이 hierachial motor system에 아주 중요한 조절기능을 하고 있다. mesostriatal dopaminergic neuron들은 motor neuron이 아니지만 motor system의 autopilot과 같은 control device의 역할을 하기 때문에 이 neuron들의 apoptosis의 결과는 결국 motor system의 dysregulation을 초래할 수밖에 없는 것이다.

PD는 뇌 세포 노화와 관련하고 있다는 것 이외에 이 질환의 유전성을 시사하는 연구 결과들은 아직 없다. 그러나 PD 증상과 병변들을 흡사하게 재현시킬 수 있는 neurotoxin들의 개발에 따라 동물 모델이 생겼고 PD에 대한 방대한 연구가 이루어졌다. 1982년 불순한 meperidine 유도체를 사용한 heroin 상습 복용자가 심한 PD 증세를 나타내었고 이 환자의 혈중에서 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine(MPTP)를 분리한 것이 단서가 되었다(Langston et al, 1983). MPTP는 특발성 PD의 임상증상이나 조직 병변을 유사하게 재현시킬 수 있는 neurotoxin으로서, 거의 모든 실험동물에서 nigrostriatal dopamine depletion이나 dopamine neuron들의 변성을 일으킨다.

예를 들면 MPTP를 원숭이에게 투여하였을 경우 locus coeruleus에 neuronal degeneration을 일으키며 사람의 특발성 PD와 같은 증세를 나타낸다. MPTP에 의한 nigrostriatal neuron 사멸의 주요 원인은 MPTP 산화 대사물 N-methyl-4-phenylpyridinium(MPP⁺)에 의한 mitochondrial NADH-Q oxidoreductase(NADH dehydrogenase,

complex I) 저해에 있다. 이 저해의 결과로서 oxidative phosphorylation에 의한 ATP 생산이 불가능해지며 결국 세포막의 이온 평형유지가 불가능 해지므로 세포사에 이르게 된다고 한다(Singer et al, 1987). 한편 특발성 PD의 병태생리학적 기전 연구에서는 superoxide 형성이 더 중요한 세포사의 원인이 된다고 생각하고 있다(Cleeter et al, 1992). MPTP의 산화 뿐 아니라 dopamine의 산화에도 monoamine oxidase(MAO)가 관여하고 있으나, MPTP의 경우에는 bioactivation mechanism에 의하여 MPP⁺를 생산하게 되고, 아마 특발성 ID의 경우에는 dopamine의 과잉 산화의 결과에서 free radical, superoxide를 생산하여 신경 독성을 발현하는 것으로 생각되고 있다.

그러나 두 기전이 서로 관여할 수도 있을 것이다. 혹질, 특히 pars reticulata에 철이온의 축적이 있다는 것은 잘 알려진 사실이며 이를 철 이온은 neuromelanin과 결합하고 있다고 한다. iron-cysteine complexes의 MAO에 의한 산화에서 oxy radical이 생산되므로, 이러한 substantia nigra의 조직학적 특이성들이 이를 superoxide free radical에 대한 특이한 감수성을 조성하고 있을까 하는 추측들이 있다. MPTP의 발견은 PD의 동물모델의 발견이란 입장에서 크게 병태생리학적 연구에 기여하였으며, 또한 PD를 유발할 수 있는 물질로서 6-hydroxydopamine(6-HODA)이 발견되었다. 6-HODA는 norepinephrine과 dopamine의 analogue로서 dopamine에서 norepinephrine이 생산되는 과정에서 생산되는 것이다. Substantia nigra나 striatum 근처에 6-HODA를 주입하면 dopaminergic neuron의 변성을 유도할 수 있다. 따라서 6-HODA가 대사산물로서 뇌 세포들에 의하여 생산될 수 있으므로, 앞으로 PD와 6-HODA의 연관을 규명하는 연구 성과들이 기대된다.

3. Amyotrophic lateral sclerosis.

Amyotrophic lateral sclerosis(ALS)는 motor neuron의 사멸에 따른 근무력증에 의해 사망하게 되는 대표적인 운동신경원 질환 중의 하나이다. 발병 빈도는 매년 평균 10,000명 가운데 1~2명 정도이며, 대부분 중년 이후에 발병되어 거의 5년 이내 사망하게 된다.

발병 요인에 대해서는 바이러스 요인(Polio virus), 환경 요인(납, 수은 등의 중금속), 유전적 요인(가계) 그리고 다른 병력(정신적 쇼크, 고혈압,

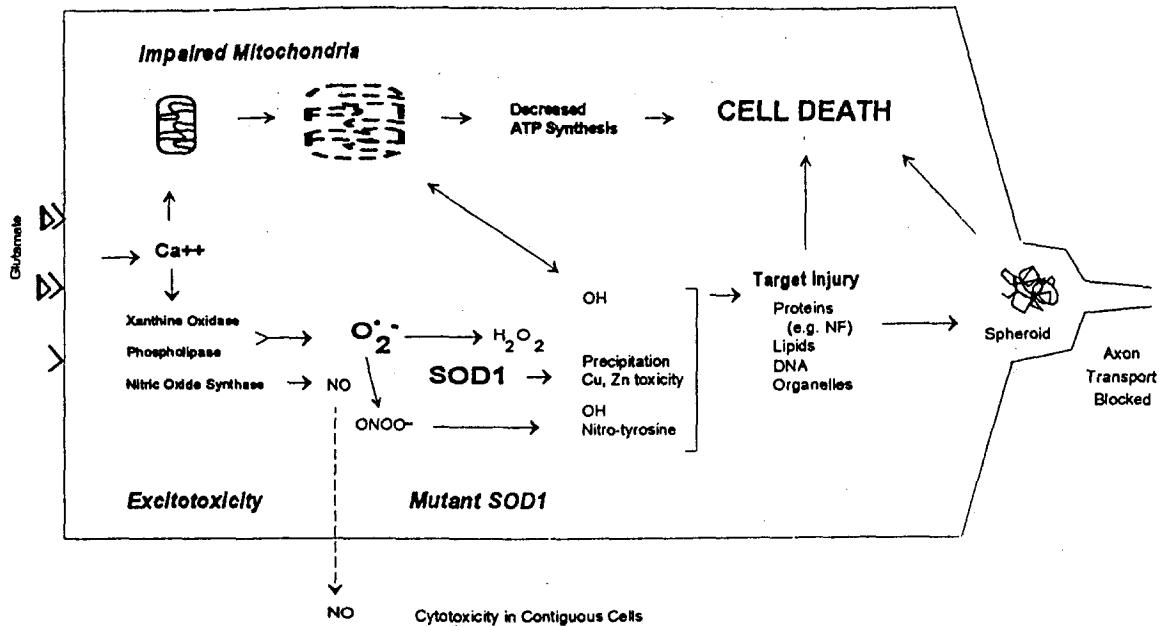


Fig. 4. Relationship among SOD1 Mutations, Excitotoxicity, Mitochondrial Function, and Neurodegeneration in ALS

In the normal neuron, superoxide is detoxified by SOD1 to hydrogen peroxide that is converted to water by catalase and glutathione. The mechanism whereby mutant SOD1 is toxic is not understood. It may be toxic because it is unstable and precipitates within the cytoplasm and axoplasm; alternatively, the mutant protein may fail to buffer the neurotoxic metals zinc and copper. Mutant SOD1 may also be cytotoxic because its activity is reduced; in this case, increased levels of superoxide anion enhance formation of peroxynitrite that may induce oxidative injury by itself or through either the formation of hydroxyl radicals or nitration of tyrosine residues on critical motor neuron protein. One such set of protein targets are the neurofilaments (NF) whose injury (by mutation, oxidative degradation, or extrinsic insults) results in formation of fibrillary spheroids that may disrupt axonal transport. In this model, excitatory neurotransmitters such as glutamate augment any of these forms of toxicity by increasing levels of free cytosolic calcium and thereby enhancing formation of superoxide and nitric oxide and impairing mitochondrial function. This process of neuronal injury may be self-sustaining. Free radicals may compromise the structural integrity of mitochondria and the neuronal membrane. This leads, respectively, to enhanced mitochondrial release of hydroxyl radicals and other reactive oxygen species and to increased fluxes of calcium into the neuron from the extracellular space. Moreover, because it is highly lipophilic, nitric oxide can diffuse from one cell to another, thereby triggering cell-to-cell spread of the pathologic process (dashed arrow). Conceivably, extrinsic factors such as exogenous toxins might also initiate this cascade of events.

당뇨병, 심장병)과 연계하여 진행되는 복합적 요인 등 여러 방면에서 조사되었으나 그 정확한 원인을 규명하지는 못하고 있다. 따라서 그 동안 ALS는 원인불명으로 취급되어 왔으나 1979년에 비로소 이 질환의 근원이 motor neuron의 사멸에 있음을 알게되어 운동신경원 질환으로 규정되었고, 1991년에 ALS의 영역이 chromosome 21q 위에 있음이 밝혀졌다. 최근의 분자유전학적 연구에 따르면 일부 ALS의 경우 superoxide dismutase(SOD)와 neurofilament에 결합이 있는 것으로 밝혀져 관심을 모으고 있다(Robert, 1995).

신경 연접에서의 신호전달은 여러 가지 수용체에 의해 중개되며, 각각의 수용체들은 특정 신경전달물질과 상호작용함으로서 목적세포에 정보를 전달하게 된다. 중추신경계의 신경 연접에서는 신경 홍분을 발생시키는 신경전달물질로서는 주로 glutamate를 사용한다.

그러나 만일 과량의 glutamate가 전달될 경우에는 오히려 신경세포들이 사멸하게 되는데 그 이유는 glutamate 수용체를 통하여 신경세포내로 다량의 Ca^{++} 이온이 유입되기 때문이다. 이렇게 유입된 Ca^{++} 이온들은 calcium dependent 효소들(protease,

xanthine oxidase, phospholipase A2, nitric oxide synthase 등)을 활성화시킨다. 이 효소들은 세포 독성물질인 superoxide anion(O_2^-), nitric oxide($NO\cdot$), peroxynitrite($ONOO^-$) 등을 생산한다. 이 물질들에 의하여 세포내의 고분자물질들(protein, DNA, lipid)이 변성되어 결국 세포는 사멸하는 것으로 추정하고 있다.

ALS의 병태생리학적 기전은 그 원인이 되는 motor neuron의 퇴행성 변화에서 찾아야 할 것이다. 신경세포들 가운데서도 특히 motor neuron의 퇴행성 변화가 두드러지게 나타나는 이유에 대해서는 여러학자들의 수많은 연구를 통하여 다음과 같은 몇 가지 가능성이 제시되고 있다(Fig. 4). 첫째, sensory neuron과는 달리 motor neuron에는 흥분성 신경연접이 많이 존재한다는 점이다.

따라서 흥분성 신경전달물질인 glutamate가 과잉 방전될 경우 glutamate 수용체를 통하여 세포내로 다량의 Ca^{2+} 이온이 유입될 가능성이 높으며, 결국 세포는 퇴행성 변화를 일으켜 사멸하게 된다(Coyle et al., 1993). 둘째, motor neuron의 구조상 특징은 세포체에 비해 매우 가늘고 긴(최대 1:10,000) 축삭을 가진다는 점이다. 이러한 motor neuron의 형태를 유지하기 위하여 cytoskeletal protein은 매우 중요하다.

그러나 세포내 독성물질이 많이 생산될 경우 neurofilament와 같은 cytoskeletal protein이 산화변성되어 axon으로의 물질이동이 방해받을 가능성이 높으며, 결국 세포는 퇴행성 변화를 일으켜 사멸하게 된다(Hirano, 1991). 셋째, motor neuron은 Ca^{2+} 이온에 대한 감수성이 매우 높다는 점이다. 신경세포에 존재하는 calcium binding protein으로는 calbinden D-28k, parvalbumin 등이 알려져 있다. Motor neuron의 경우 다른 neuron에 비해 이들의 함량이 매우 낮은 것으로 조사되었으며, 따라서 세포내로 유입된 다량의 Ca^{2+} 이온을 원만히 처리하지 못할 가능성이 높으며, 결국 세포는 퇴행성 변화를 일으켜 사멸하게 된다(Ince et al., 1993). 이러한 motor neuron의 사멸 기전은 apoptosis의 한 형태로서 자발적으로 사멸되는 것이 특징이며 necrosis에 의한 일반적인 세포 사멸과는 구별되어 진다.

전체 ALS 가운데 약 10~15%가 familial form(FALS)이며, 특히 FALS 가운데 약 20~25% 정도가 superoxide dismutase(SOD)와 관련되어 있는 것으로 밝혀졌다(Martina et al., 1996). 전핵세포에

서 발현되는 SOD enzyme에는 cytosolic copper-zinc SOD(SOD1), mitochondrial manganese-dependent SOD (SOD2) 그리고 extracellular copper-zinc SOD(SOD3) 등의 3가지가 알려져 있다. 세포 독성물질인 superoxide anion(O_2^-)은 세포내에서 nitric oxide($NO\cdot$)와 결합하여 새로운 독성물질인 peroxynitrite($ONOO^-$)를 형성하고 이는 다시 또 다른 독성물질을 생산하는 연쇄반응을 일으켜 결국 세포는 사멸하게 된다. 이러한 superoxide anion(O_2^-)을 hydrogen peroxide(H_2O_2)로 무독하게 바꾸어 주는 것이 SOD1의 기능이다. 이처럼 일부 FALS 경우에는 SOD1에 결함이 있는 것이 밝혀졌으며 이에 따라 motor neuron이 점차 사멸하는 것으로 추정하고 있다(Jeffrey et al., 1994).

한편, 일부 ALS 경우 motor neuron의 cell body와 axon에 neurofilament가 풍쳐져 있을 뿐 아니라, 세포체내에 정체불명의 단백질 덩어리가 많이 존재하는 것이 확인되었다(Leight et al., 1991). 그리고 일부의 경우에는 neurofilament의 heavy chain에 mutation이 나타났으며, 생쥐를 이용한 동물실험에서도 neurofilament에 mutation이 나타났을 때 사람의 ALS와 같은 양상을 보임을 확인하였다(Lee et al., 1994). 이처럼 일부 ALS 경우에는 neurofilament와 같은 cytoskeletal protein의 변성에 의해 axon으로의 물질이동이 원만하지 못하여 motor neuron이 점차 사멸하는 것으로 추정하고 있다.

현재까지의 연구 결과에 따른 ALS의 기전을 살펴보면 motor neuron 세포체내의 SOD1 mutation에 의해 여러 가지 독성물질이 생산, 축적되고 이들이 연쇄반응을 일으키거나 cytoskeletal protein 등을 변성시켜 세포가 사멸하는 것으로 추정되고 있다.

4. Spinal muscular atrophy

Spinal muscular atrophy(SMA)는 spinal cord에 있는 motor neuron의 퇴행성 병변에 의해 근육이 위축되어 점진적으로 마비증세를 나타내는 열성 유전병이다. 이 질환의 발병빈도는 약 6,000명 가운데 1명 정도이며, 신생아 사망율이 매우 높다. 이 질환은 발병 시기에 따라 세가지 형태로 분류된다.

Type I SMA(Werdnig-Hoffmann disease)는 출생 후부터 6개월 이전에 발병되는 형태로, 중세

가 매우 심각하여 주위의 도움없이는 혼자 앉아있을 수 없으며, 호흡근육의 약화로 인해 2세 이전에 거의 사망하게 된다.

Type II SMA(intermediate form)는 다소 만성적이어서 생후 18개월 이전에 발병되는 형태로, 혼자 앉을 수는 있으나 도움없이는 걸을 수 없는 정도이다.

Type III SMA(Kugelberg-Welander)는 생후 18개월 이후에 발병되는 형태로, 중세는 다소 경미하여 혼자 걸을 수는 있으나 근무력증이 수반된다 (Christina et al., 1994). 최근까지도 이 질환은 원인 불명으로 기술되어 왔으나, SMA 환자들의 척수 병리 조직검사 결과 척수 전각세포들의 핵질 swelling, chromolysis 등이 발견되어 apoptosis를 겪고 있는 세포의 증상과 유사한 것으로 나타났다. 따라서 SMA는 motor neuron의 apoptosis에 의한 퇴행성 질환으로 밝혀졌으며, 본 논문에서는 최신 분자유전학적 연구 결과를 중심으로 SMA와 apoptosis의 관계에 대하여 요약하고자 한다.

그동안 몇몇 연구팀들의 노력에 의해 SMA 관련 유전자들의 영역이 chromosome 5q11.2-q13.3에 있음을 찾아내었다. 이런 가운데 1995년에는 두 연구팀이 독자적으로 SMA를 결정하는 유전자를 밝혔다고 보고하였는데, 이 중의 한 팀인 카나다-일본 공동연구팀은 neuronal apoptosis inhibitor protein(NAIP) 유전자를 보고하였으며(Natalie et al., 1995), 또 다른 팀인 프랑스 연구팀은 survival motor neuron(SMN) 유전자를 보고하였다(Suzie et al., 1995). 특히 이들이 보고한 유전자들은 motor neuron의 survival과 apoptosis에 관련있는 것으로 조사되어 관심을 모으고 있다.

먼저, 프랑스 연구팀의 연구 결과를 살펴보면 이들은 human fetal brain cDNA library를 screening 하여 SMN 유전자를 분리하였으며, 이를 분석한 결과 이 유전자는 chromosome 5q13의 telomere 쪽에 위치하고 있고, 크기는 약 20kb이고 8개의 exon으로 구성되어 있는 것으로 나타났다.

그리고 centromere 쪽에도 이 유전자와 유사한 pseudogene이 발견되었는데 exon 7과 exon 8의 5개 염기만 다르기 때문에 95%의 homology를 보이는 것으로 조사되었다. SMN cDNA의 크기는 약 1.6kb이며, 882bp의 nucleotide가 294개의 아미노산을 지정하고 있었다. SMA 환자를 대상으로 telomere 쪽 SMN 유전자의 이상을 조사한 결과 93%가 exon 7과 exon 8이 결손되었고, 5.7%는

exon 7만 결손되었으며, 1.3%는 point mutation을 나타내고 있었다.

한편 카나다-일본 공동연구팀의 연구 결과를 살펴보면 이들 역시 human fetal brain cDNA library를 screening하여 NAIP 유전자를 분리하였으며, 이를 분석한 결과 이 유전자는 chromosome 5q13.1에 위치하고 있으며, 60kb이고 최소한 16개의 exon으로 구성되어 있는 것으로 나타났다. 그리고 동일 chromosome 상에 최소한 한 개 이상의 pseudogene이 존재하는 것으로 추정되었다. NAIP cDNA의 크기는 5.5kb이며, coding region은 exon 5에서 exon 16까지 12개로서 크기는 3,696bp이고 이들에 의해 1,232 개의 아미노산이 지정되고 있었다. SMA 환자를 대상으로 유전자 결손을 조사한 결과 SMA type I 환자의 경우 약 67%가 그리고 type II와 type III SMA 환자의 경우 42%가 exon 5와 exon 6이 결손된 것으로 조사되어 정상인의 경우인 2%에 비해 매우 높은 수치로 나타났다. 또한 RT-PCR 분석에서도 정상인들은 제대로 증폭되는 것에 반해 type I SMA 환자들은 75%가 유전자의 일부가 결손되어 있거나 변형된 것으로 조사되었다.

NAIP의 결함은 motor neuron의 apoptosis를 억제하지 못하고 결국 SMA를 일으키는 것으로 추정되었다. 특히 NAIP는 *Cydia pomonella* baculovirus에서 분리한 apoptosis 억제 유전자 Cp-IAP(Norman et al., 1993) 및 *Orgyia pseudotsugata* baculovirus에서 분리한 apoptosis 억제 유전자 Op-IAP(Mark et al., 1993)와도 상당히 homology가 높은 domain을 포함하는 것으로 밝혀졌다.

그리고 mammalian cell에 대한 NAIP 유전자의 apoptosis 억제 영향을 조사한 결과 NAIP 유전자가 실제로 apoptosis 억제에 관여하는 것으로 조사되었다(Peter et al., 1996). NAIP 유전자를 expression plasmid에 실은 다음 mammalian cell에 transfor mation시켰다. 그리고 이 transformant에 NAIP, antisense NAIP, Lac Z를 각각 발현하는 adenovirus와 자연상태의 adenovirus를 감염시켰다. 이들이 NAIP 유전자를 발현하는 것은 western blot analysis와 immunofluorescence를 통하여 확인하였다. Apoptosis를 유도하기 위하여 serum deprivation 처리한 다음 48시간후의 mammalian cell 생존율을 조사하였다. 그 결과 adenovirus-NAIP는 83%, adenovirus-antisense NAIP는 45%

adenovirus-Lac Z는 51% 그리고 adenovirus는 48%를 나타내었다. 이 실험결과를 볼 때 NAIP 유전자가 apoptosis 억제에 분명히 관여하는 것으로 추정된다.

비록 SMN의 경우 유전자의 기능이 아직 상세히 규명되지 않아 SMA pathogenesis의 전모를 설명하기에는 미흡하지만 NAIP의 경우에서는 mammalian cell의 programmed cell death에 관여하는 것이 조사되었다. 결국 SMA는 motor neuron의 생존과 사멸에 관여하는 유전자인 SMN 혹은 NAIP 유전자의 결손에 의해 motor neuron이 생존하지 못하고 apoptosis로 진행되는 것으로 추정된다.

III 결론 및 고찰

근세기까지도 대부분의 만성퇴행성 신경질환은 발병 기전이 전혀 밝혀지지 않아 치료로의 접근이 거의 불가능하였다. 하지만 오늘날에는 진보된 분자생물학적 연구기법에 힘입어 일부 질환들에 대한 발병 기전이 서서히 밝혀지고 있다. 특히 최신 연구 결과에 따르면 치매, 파킨슨질환, 근위축증 등에 관여하는 원인 세포들이 공통적으로 apoptosis과정을 겪는다는 사실이 알려졌다.

AD는 APP, ApoE, S182, STM2 등의 유전자들이 관여하는 것으로 밝혀졌으며, 이들에 의해 soluble A β 이 생성되고 amyloid fibril 형태로 aggregation되어 신경세포내 Ca $^{2+}$ 및 free radical이 증가하여 세포는 결국 사멸에 이를 것으로 생각된다. PD는 MPTP이나 dopamine의 산화에 의해 생성된 free radical, superoxide 등이 신경 세포의 apoptosis를 유도하는 것으로 생각된다. ALS의 경우 SOD mutation에 의한 독성물질의 축적과 neurofilament의 결합에 의한 물질이동의 방해가 motor neuron의 사멸을 유도하는 것으로 추정된다. SAM는 SMN 혹은 NAIP 유전자의 결손에 따라 programmed cell death가 진행되는 것으로 추정된다.

이상의 결과에서 치매, 파킨슨질환, 근위축증 등과 같은 만성퇴행성 신경질환의 경우 신경 세포의 사멸은 일반 세포의 사멸과는 다른 programmed cell death, 즉 apoptosis의 형태로 진행되는 것을 알 수 있으며, 특히 각각의 질환에 대해서 특정 유전자들이 관여하는 것을 확인되었다. 따라서 앞으로는 이들 질환에 대한 유전자 차원에서의 연구가

계속되어야 할 것이며, 만일 실험동물에서 이 유전자들이 분리된다면 지금까지 환자에게만 의존하던 실험적 제약을 벗어나 보다 다양한 실험 조작을 통해 이 질환에 대한 많은 정보가 밝혀질 수 있을 것이다. 또한 이 유전자들의 발생시기별 neuron의 분화 및 분화가 끝난 중추신경계에서 발현되는 부위와 기능까지도 신경 세포 집단 수준에서 살펴야 할 것이며, 최종적으로는 이를 질환의 치료 뿐 아니라 유전자 결합시의 유전자요법의 가능성까지도 연구되어야 할 것이다.

참 고 문 헌

1. Alzheimer's disease

Arispe, N., Rojas, E., and Pollard, H.B. Alzheimer disease amyloid β protein forms calcium channels in bilayer membranes: Blockade by tromethamine and aluminum. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 567-571.

Levy-Lahad, E., Wasco, W., Poorkaj, P., Romano, D.M., Oshima, J., Pettingell, W.H., Yu, C.-E., Jondro, P.D., Schmidt, S.D., Wang, K., Crowley, A.C., Fu, Y.-H., Guenette, S.Y., Galas, D., Nemens, E., Wijsman, E.M., Bird, T.D., Schellenberg, G.D., and Tanzi, R.E. Candidate gene for the chromosome 1 familial Alzheimer's disease locus. *Science* (1995) 269: 973-977.

Li, J., Ma, J., and Potter, H. Identification and expression analysis of a potential familial Alzheimer disease gene on chromosome 1 related to AD3. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 12180-12184.

Loo, D.T., Copani, A., Pike, C.J., Whittemore, E.R., Walencewicz, A.J., and Cotman, C.W. Apoptosis is induced by β -amyloid in cultured central nervous system neurons. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 7951-7955.

Rogaev, E.I., Sherrington, R., Rogaeva, E.A., Levesque, G., Ikeda, M., Liang, Y., Chi, H., Lin, C., Holman, . K., Tsuda, T., Mar, L., Sorbi, S., Nacmias, B., Placentini, S., Amaducci, L., Chumakov, I., Cohen, D., Lannfelt, L., Fraser, P.E., Rommens, J.M., and St George-Hyslop, P.H. Familial Alzheimer's disease in kindred with missense mutations in a gene on

- chromosome 1 related to the Alzheimer's disease type 3 gene. *Nature* 1995; 376: 775-778.
- Schellenberg, G.D., Dird, T.D., Wijsman, E.M., Orr, H.T., Anderson, L., Nemens, E., White, J.A., Bonnycastle, L., Weber, J.L., Alonso, M.E., Potter, H., Heston, L.L., and Martin, G.M. Genetic link age evidence for a familial Alzheimer's disease locus on chromosome 14. *Science* 1992; 258: 668-671.
- Selkoe, D.J. Cell biology of the amyloid β protein precursor and the mechanism of Alzheimer's disease. *Annu Rev Cell Biol* 1994; 10: 373-403.
- Sherrington, R., Rogaeva, E.I., Liang, Y., Rogaeva, E.A., Levesque, G., Ikeda, M., Chi, H., Li, G., Holman, K., Tsuda, T., Mar, L., Foncin, J.-F., Bruni, A.C., Montesi, M.P., Sorbi, S., Rainero, I., Pinessi, L., Nee, L., Chumakov, I., Pollen, D., Brookes, A., Sanseau, P., Polinsky, R.J., Wasco, W., Da Silva, H.A., Haines, J.L., Pericak-Vance, M.A., Tanzi, R.E., Roses, A.D., Fraser, P.E., Rommens, J.M., and St George-Hyslop, P.H. Cloning of a gene bearing missense mutations in early-onset familial Alzheimer's disease. *Nature* 1995; 375: 754-760.
- St George-Hyslop, P.H., Haines, J., Rogaeva, E., Mortilla, M., Vaula, G., Pericak-Vance, M., Foncin, J.-F., Montesi, M., Bruni, A., Sorbi, S., Rainero, I., Pinessi, L., Pollen, D., Polinsky, R., Nee, L., Kennedy, J., Macciardi, F., Rogaeva, E., Liang, Y., Alexandrova, N., Lukiw, W., Schlumpf, K., Tanzi, R., Tsuda, T., Farrer, L., Cantu, J.-M., Duara, L., Amaducci, L., Bergamini, L., Gusella, J., Roses, A., and Crapper McLachlan, D. Genetic evidence for a novel familial Alzheimer's disease locus on chromosome 14. *Nature Genet* 1992; 2: 330-334.
- Strittmatter, W.J., Weisgraber, K.H., Huang, D.Y., Dong, L.M., Salvesen, G.S., Pericak-Vance, M., Schmechel, D., Saunders, A.M., Goldgaber, D., and Roses, A.D. Binding of human apolipoprotein E to synthetic amyloid β -peptide: isoform-specific effects and implications for late-onset Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 8098-8102.
- Utermann, G. The apolipoprotein E connection. *Curr Biol* 1994; 4: 362-365.
- Wong, C.W., Quaranta, V., and Glenner, G.G. Neuritic plaques and cerebrovascular amyloid in Alzheimer disease are antigenically related. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985; 82: 8729-8732.
- Yankner, B.A. Mechanisms of neuronal degeneration in Alzheimer's disease. *Neuron* 1996; 16: 921-932.
- Zheng, H., Jianng, M., Trumbauer, M.E., Sirinathsinghji, D.J.S., Hopkins, R., Smith, D.W., Heavens, R.P., Dawson, G.R., Boyce, S., Conner, M.W., Stevens, K.A., Slunt, H.H., Sisodia, S.S., Chen, H.Y., and Van der Ploeg, L.H.T. β -Amyloid precursor protein-deficient mice show reactive gliosis and decreased locomotor activity. *Cell* 1995; 81: 525-531.
- ## 2. Parkinson's disease
- Cleeter, M.W.J., Cooper, J.M., and Schapira, A.H.V. Irreversible inhibition of mitochondrial complex I by 1-methyl-4-phenylpyridinium: Evidence for free radical involvement. *J Neurochem* 1992; 58: 786-789.
- Fearnley, J., and Lee, A. Pathology of Parkinson's disease in Neurodegenerative Diseases. Calne DB. ed. WB Saunders Company, 1994, pp545-554
- Langston, J.W., Ballard, P.A., Tetrud, J.W., and Irwin, I. Chronic parkinsonism in humans due to a product of meperidine analogue synthesis. *Science* 1983; 219: 979-980.
- Singer, T.P., Castagnoli, N., Jr., Ramsay, R.R., and Trevor, A.J. Biochemical events in the development of parkinsonism induced by 1-methyl, 4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP). *J Neurochem* 1987; 49: 1-8.
- ## 3. Amyotrophic lateral sclerosis
- Coyle, J.T., and Puttfarcken, P. Oxidative stress, glutamate and neurodegenerative disorders. *Science* 1993; 262: 689-695.
- Jeffrey, D.R., Lynn, A.B., Betsy, H., Robert, H.B., Jr., and Ralph, W.K. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 4155-4159.
- Lee, M.K., and Cleveland, D.W. A mutant

- neurofilament subunit causes massive, selective motor neuron death: implications for the pathogenesis of human motor neuron disease. *Neuron* 1994; 13: 975-988.
- Leight, P.N., and Swash, M. Cytoskeletal pathology in motor neuron disease. *Adv Neurol* 1991; 56: 115-124.
- Martina, W.P., Joy, J.G., Shahrooz, R., Edith, B.G., James, A.R., Michael, K.L., Joan, S.V., and Dale, E.B. Altered Reactivity of Superoxide Dismutase in Familial Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Science* 1996; 271: 515-518.
- Robert H. Brown, Jr. Amyotrophic Lateral Sclerosis: Recent Insights from Genetics and Transgenic Mice. *Cell* 1995; 80: 687-692.
4. Spinal muscular atrophy
- Christina, B., Isabella, V., Gerrit, S., Stefania, Z., Anneke, Y.V., Jan, O., Carli, M.T., Riccardo, F., Khan, P.M., Charles, H.B., and Giovanni, N. (1994) Mapping of two new markers within the smallest interval harboring the spinal muscular atrophy locus by family and radiation hybrid analysis. *Hum Genet* 1994; 93: 494-501.
- Mark, J.B., Rollie, J.C., and Lois, K.M. (1993) An Apoptosis-Inhibiting Gene from a Nuclear Polyhedrosis Virus Encoding a Polypeptide with Cys/His Sequence Motifs. *J Virol* 1993; 68: 2521-2528.
- Natalie, R., Mani, S.M., Michael, M., Gary, S., Zahra, Y., Reza, F., Stephen, B., Anne, B.J., Charles, L., Xiaolin, K., Maysoon, S., Huguette, A., Katsuyuki, T., Xiaoping, G., Panayiotis, I., Thomas, O.C., Pieter, J.J., Linda, S., Ikeda, J.E., Robert, G.K., and Alex, M. (1995) The Gene for Neuronal Apoptosis Inhibitory Protein Is Partially Deleted in Individuals with Spinal Muscular Atroph. *Cell* 1995; 80: 167-178.
- Norman, E.C., Rollie, J.C., and Lois, K.M. (1993) An Apoptosis-Inhibiting Baculovirus Gene with a Zinc Finger-Like Motif. *J Virol* 1993; 67: 2168-2174.
- Peter, L., Natalie, R., Katsuyuki, T., Charles, L., Stephen, B., Gabriele, C.H., Reza, F., Michael, M., Ikeda, J.E., Alex, M., and Robert, G.K. (1996) Suppression of apoptosis in mammalian cells by NAIP and a related family of IAP genes. *Nature* 1996; 379: 349-353.
- Suzie, L., Lydie, B., Sophie, R., Olivier, C., Phillippe, B., Louis, V., Bernard, B., Corinne, C., Phillippe, M., Massimo, Z., Denis L.P., Jean, F., Daniel, C., Jean, W., Arnold, M., and Judith, Melki. (1995) Identification and Characterization of a Spinal Muscular Atrophy-Determining Gene. *Cell* 1995; 80: 155-165.