

자가포식현상과 신경퇴행병

포천중문의과대학 진단검사의학과교실, 가톨릭대학교의과대학 신경과학교실^a

백진영 김범생^a

Autophagy and Neurodegenerative Diseases

Jinyoung Paek, MD, Beumsaeng Kim, MD^a

Department of Diagnostic Medicine, College of medicine, Pochon CHA University, Seoul, Korea

Department of Neurology^a, College of Medicine, The Catholic University of Korea, Seoul, Korea

Autophagy is a highly regulated cellular mechanism that results in the bulk degradation of long-lived proteins and organelles and which seems to be implicated in a variety of physiological and pathological conditions relevant to neurological diseases. The formation of intraneuronal mutant protein aggregates is a characteristic of several human neurodegenerative disorders such as Alzheimer's disease and Parkinson's disease, and polyglutamine disorders such as Huntington's disease (HD). Autophagy is a major clearance pathway for the removal of the mutant huntingtin protein associated with HD, and many other disease-causing, cytoplasmic, aggregate-prone proteins. Autophagy is negatively regulated by the mammalian target of rapamycin (mTOR) and can be induced in all mammalian cell types by the mTOR inhibitor rapamycin. It can also be induced by an mTOR-independent pathway, which has multiple drug targets, involving links between Ca^{2+} -calpain-Gs α and cAMP-Epac-PLC-e-IP3 signaling. Both pathways enhance the process of autophagy. In this review, we describe the various drugs and pathways that induce autophagy that are potential therapeutic approaches for neurodegenerative disorders.

J Korean Neurol Assoc 27(3):206-214, 2009

Key Words: Autophagy, Neurodegenerative disorders, mTOR, Rapamycin, mTOR-independent pathway

서 론

우리 몸에는 대사산물로 발생한 물질들을 제거하는 장기와 시스템이 존재하고 이것이 적절히 작동하지 못하면 병의 원인이 된다는 사실을 이미 알고 있다. 세포 내에도 이와 같은 세포내 대사산물과 단백질을 분해하여 제거하는 시스템이 존재하는데, 그 중 하나는 ubiquitin-proteasome 경로이다. Ubiquitin은 우리 몸 거의 모든 조직에 존재하며 수명이 다한 단백질에 꼬리표처럼 달라붙어 단백질분해효소인 proteasome으로 이동한 뒤, ubiquitin이 붙은 단백질을 조각조각 파괴해 제거한다. 단백질이 분해되는 것과 동시에 단백질에 붙어 있던 ubiquitin은 떨어

져 나와 다시 활동한다. 다른 경로는 autophagy-lysosome 시스템으로 알려져 있는 자가포식현상(autophagy)인데 단백질을 막으로 둘러싸 세포내부에서 lysosome과 융합하여 lysosome에서 분비되는 단백질분해효소에 의해 단백질을 분해시키는 과정이다.^{1,2} 단백질에서 DNA까지 많은 대분자들은 이러한 단일 막으로 구성된 산화성 세포기관에서 분해된다. 자가포식현상은 세포 내에서 역할을 다한 물질이나 잘못 만들어진 단백질 등을 분해하여 제거하는 작용으로서 손상을 입은 단백질이나 비정상적으로 변형된 단백질이 세포 내에 축적되어 세포의 기능이 손상되는 것을 막는다. 자가포식현상은 그 동안 non-apoptotic 혹은 제2형 프로그래밍된 세포사멸 과정(programmed cell death) 등으로 알려져 있었으나 자연사(apoptosis)나 괴사와는 차이가 있다. 자가포식현상은 세포사멸의 의미를 넘어서 세포가 끊임없이 죽고 재생되는 과정을 조정하는 세포 항상성(恒常性)에 관여하는 중요한 시스템으로 부각되고 있다.³ 최근 암, 신경퇴행병, 여러 면역질환 및 노화 등이 자가포식 기능의 이상과 관련이 있다는 사실이 알려지면서 자가포식현상에 대한 관심이

Received January 14, 2009 Revised February 10, 2009

Accepted February 10, 2009

* Beumsaeng Kim, MD

Department of Neurology, College of Medicine, The Catholic University

62 Yeouido-dong, Yeongdeungpo-gu, Seoul, 150-713, Korea

Tel: +82-2-3779-1378 Fax: +82-2-783-9532

E-mail: kbs@catholic.ac.kr

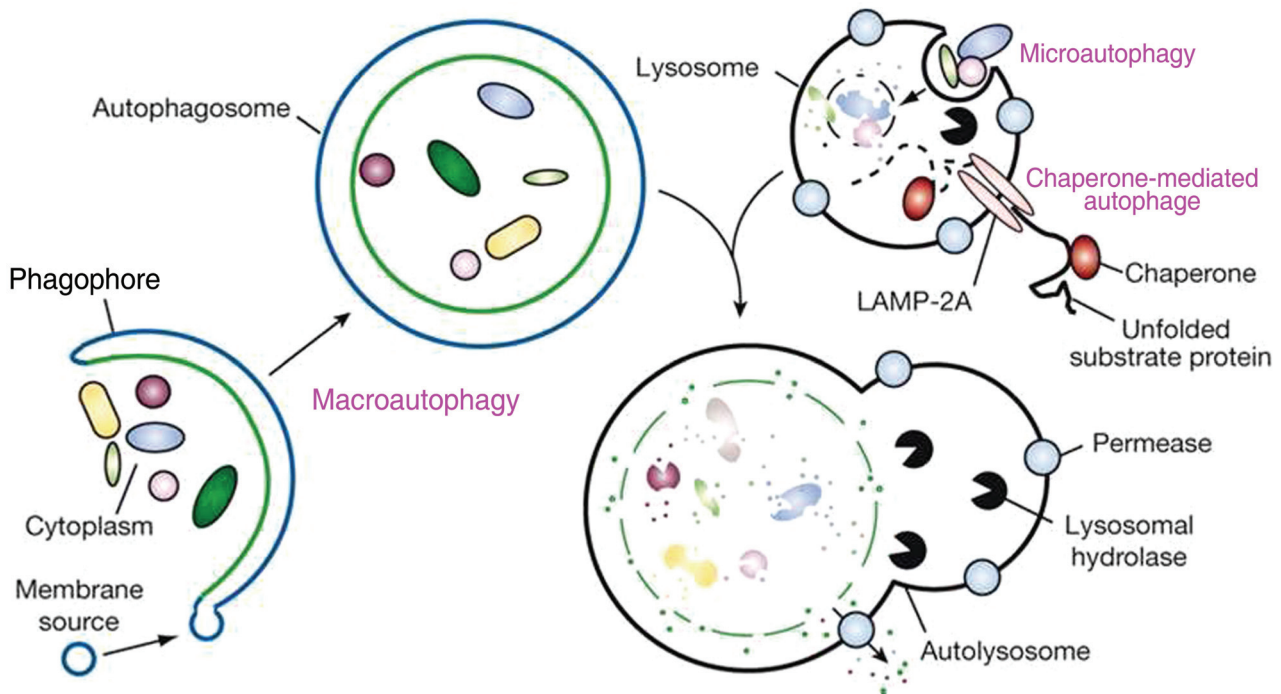


Figure 1. Different types of autophagy. Microautophagy refers to the sequestration of cytosolic components directly by lysosomes through invaginations in their limiting membrane. The function of this process in higher eukaryotes is not known, whereas microautophagy-like processes in fungi are involved in selective organelle degradation. In the case of macroautophagy, the cargoes are sequestered within a unique double-membrane cytosolic vesicle, an autophagosome. Sequestration can be either nonspecific, involving the engulfment of bulk cytoplasm, or selective, targeting specific cargoes such as organelles or invasive microbes. The autophagosome is formed by expansion of the phagophore, but the origin of the membrane is unknown. Fusion of the autophagosome with an endosome (not shown) or a lysosome provides hydrolases. Lysis of the autophagosome inner membrane and breakdown of the contents occurs in the autolysosome, and the resulting macromolecules are released back into the cytosol through membrane permeases. CMA (chaperon mediated autophagy) involves direct translocation of unfolded substrate proteins across the lysosome membrane through the action of a cytosolic and lysosomal chaperone hsc70, and the integral membrane receptor LAMP-2A (lysosome-associated membrane protein type 2A).

높아지고 있다.⁴⁻⁷ 특히 신경퇴행병 중에는 신경세포내 비정상 물질이 침착되어 이것이 신경독성을 유발하는 질환이 많은데 이러한 경우 자가포식현상을 활성화시킬 수 있다면 그 치료효과를 기대할 수 있다. 따라서 자가포식현상과 관련된 신경퇴행병을 중심으로 병태생리와 자가포식현상을 이용한 치료제 및 그 기전을 소개하고자 한다.

본 론

1. 세포사의 정의(Definition of cell death)와 자가포식현상

2009년 Nomenclature committee on Cell Death (NCCD)에서 제안한 새로운 정의와 분류에 따르면 자연사(apoptosis)는 세포가 사멸하는 한 형태로서 일명 프로그램화된 세포사멸

과정(programed cell death)이라고도 한다. 주로 유전적 프로그램에 의해 핵이 응축 및 절편화되고 미토콘드리아에서 시토크롬단백질이 세포질로 유출되어 여러 변화를 일으키는 반면 세포막은 끝까지 기능을 유지하고 있어 여러 염증유발물질이 세포 밖으로 유출되지 않아 염증을 일으키지 않기 때문에 조직학적으로 그 존재를 증명하기가 어려웠다. 그러나 20년 전부터 그 존재가 유전자 수준에서 확실하게 규명되기 시작하여 각종 질환에 결정적인 역할을 함이 알려지게 되었다. 괴사(necrosis)는 세포사멸의 한 형태로서 자연사와는 달리 유전적 프로그램 보다는 외부 자극에 의해 세포사멸이 유발되고, 초기에 세포막 기능에 이상이 생겨 세포내 염증유발물질이 조기에 세포 밖으로 유출되어 예전부터 조직병리학적으로 그 존재가 알려져 왔다.

자가포식현상은 자연사와 괴사 이외에 최근에 존재가 알려지기 시작한 세포사멸의 한 형태이며 자연사에 뒤 이은 제2형 프로그램화된 세포사멸 과정(type 2 programmed cell death)

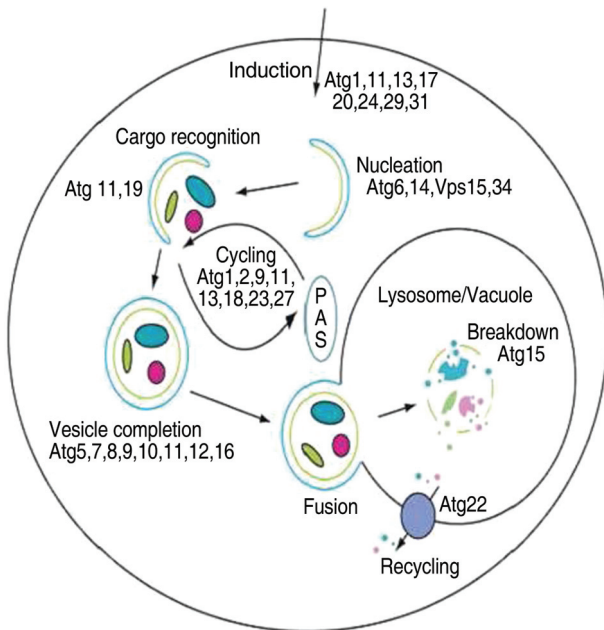


Figure 2. Schematic representation of the protein machinery involved in macroautophagy. The pathway can be dissected into several steps including induction, vesicle nucleation, cargo recognition, vesicle expansion and completion, cycling of Atg protein, fusion, breakdown and recycling of macromolecules. The Atg proteins involved in each step are shown at the corresponding sites; the Atg1 complex may act at multiple steps of the pathway including and Atg protein cycling. PAS, phagophore assembly site; thought to be the organizing site for phagophore formation.

이라고 불리기도 한다. 자연사(apoptosis; type I cell death)와 괴사 등이 세포 전체의 사멸만을 다루는 것과 달리, 자가포식현상은 세포사멸의 의미를 넘어서 세포가 끊임없이 죽고 재생되는 과정을 조정하는 세포 항상성(恒常性)에 관여한다. 미토콘드리아, 형질세망(endoplasmic reticulum) 등 세포내 소기관(organelle)들은 평상시 정적인 상태를 유지한다고 생각해 왔으나 끊임없이 죽고 재생되는 과정을 겪고 있음이 밝혀졌다. 이 과정을 통해 낡고 퇴행변화를 겪은 세포내 소기관은 소멸되어 새로운 세포내 소기관을 재생하는 데 필요한 영양공급원이 된다. 자가포식현상은 이러한 세포내 소기관의 사멸과 재생을 통해 세포 전체를 사멸에서 보호하기도 하고 세포 전체의 사멸을 유도하기도 한다. 즉, 상황에 따라 세포를 사멸로부터 보호하거나 세포사멸을 유발하기도 하는 등 복잡하고 다양한 기능을 수행하는 것으로 추정하고 있다.

자가포식현상은 자기 자신의 대사산물을 흡수하는 현상 즉 자기 자신을 섭취하는 작용으로 자기파괴(self-destruction)의 의미를 가진다. 세포 내에 침입한 세균, 바이러스는 물론 고장난 세포내 소기관, 역할을 다한 단백질을 제거하는 세포내 청소

경로에 해당한다. 세포가 증식하고 생존하기에 어려운 상황이 오면 즉, 오래된 기근, 고열에 노출될 때, 산화성 스트레스, 손상된 소체나 단백질이 많이 축적되는 등과 같은 세포내 스트레스가 증가하는 상황에서 활성화되는 일종의 세포방어기전이다. 예를 들어 세포가 기근에 직면하면 자가포식현상을 통하여 불요 불급한 요소를 분해시키고 세포를 재정비하여 세포가 생존모드(survival mode)로 전환하기 때문이다.⁸

그동안 자가포식현상에 의한 세포내 소기관의 끊임없는 사멸과 재생의 생리적 기능과 임상적 의미가 불분명했지만 최근에 자가포식현상이 세포의 성장과 노화의 진행, 항상성 유지 등에 관여하는 중요한 작용일 뿐만 아니라 자가포식현상에 이상이 있어 불필요한 단백질이 세포질 내에 축적되는 경우 각종 질환과 관련이 있다는 사실이 밝혀지면서 주목을 받고 있다.^{9,10}

자가포식현상은 기전과 기능에 따라 세 가지 형태로 분류한다. 샤프롱매개자가포식현상(chaperon mediated autophagy, CMA), 미세자가포식현상(microautophagy), 거대자가포식현상(macroautophagy)이 그것이다(Fig. 1).^{1,5,6} 거대자가포식현상 작용은 몇 가지 단계를 거치는데, 먼저 제거해야 할 단백질을 인식하게 되면 파고포아(phagopore)라는 독특한 형태의 이중막이 제거해야 할 물질을 둘러싸고 이것이 연장되어서 autophagosome을 만들고 이것이 lysosome과 융합하여 autolysosome이 만들어진다. 그러면 lysosome 내에 존재하는 분해효소가 분비되어 autolysosome 내의 단백질들이 분해된다. 이 중 일부 분해되고 남은 유효한 성분은 다시 소기관으로 흡수되어 재사용된다. CMA는 특별한 형태의 자가포식현상으로 샤프롱의 도움으로 단백질을 계속해서 lysosome으로 보내 제거하는 기작으로 lysosomal 단백질의 3분의 1이 이러한 기작을 따른다. CMA는 lysosome막 내에 존재하는 LAMP-2A (lysosomal-associated membrane protein-2A)라는 수용체가 필요하여 특별한 샤프롱이 인식한 단백질에 한해서 LAMP-2A 수용체를 통해 직접 lysosome 세포질 내로 이동하게 되어 단백질을 제거한다.^{1,11}

인간의 몸은 노화와 함께 세포 내에 다양한 변화가 나타난다. 즉, 노화에 따라 단백질 분해 능력이 저하되는데 이는 노화가 진행됨에 따라 lysosome막에 존재하는 LAMP-2A 수용체의 수가 감소할 뿐만 아니라 불안정하여 CMA 기능이 약화되어 잘못된 형성되고 독성이 있는 거대분자들을 처리하는 능력이 떨어진다. 특히 간세포 내에서 독성물질을 효과적으로 제거하지 못해 장기의 기능이 저하되는 것으로 보고되어 있다. 따라서 간세포 막의 LAMP-2A의 발현을 증가시키고 안정화시킴으로써 손상된 단백질의 세포내 축적을 낮추고 기관의 기능을 향상시킬 수 있고 이로 인해 노화도 지연할 수 있다고 하였다.¹² 자가포식현상 중

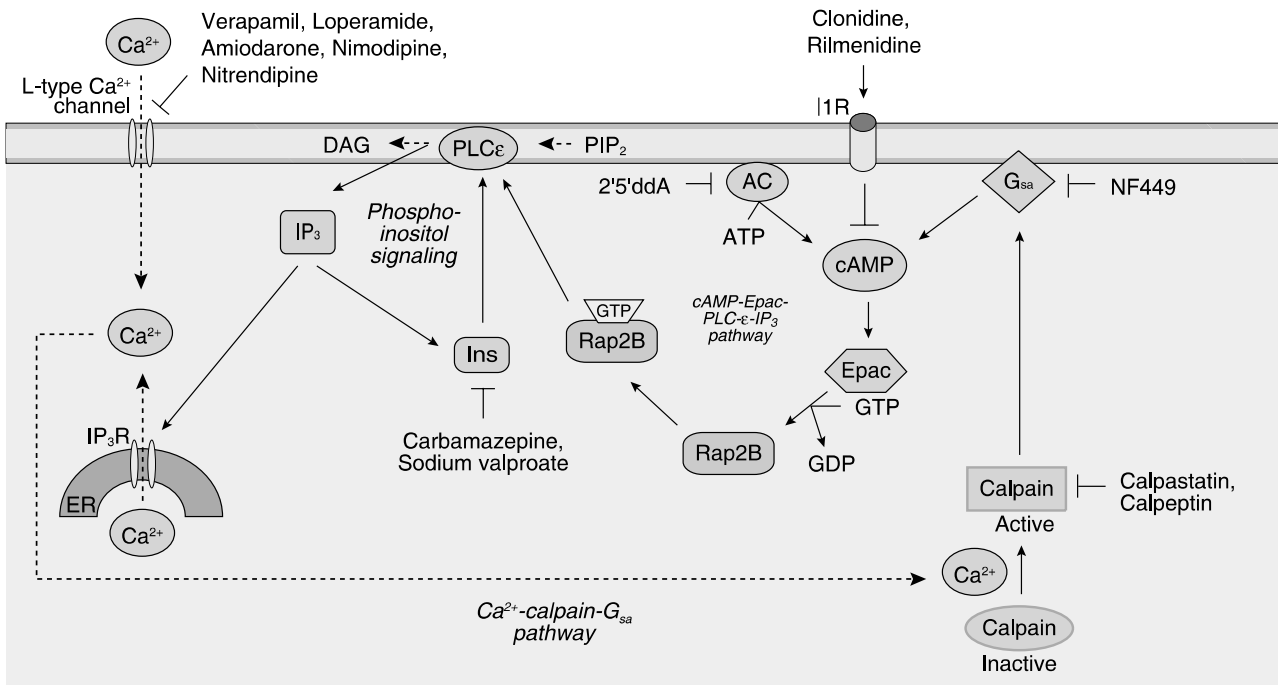


Figure 3. A cyclical mTOR-independent autophagy pathway. A cyclical mTOR-independent pathway regulating mammalian autophagy, comprising cAMP-Epac-PLC-e-IP₃ and Ca²⁺-calpains-G_{sa} pathways, which has multiple drug targets for neurodegenerative diseases. Intracellular cAMP levels are increased by adenylyl cyclase (AC) activity, thereby activating Epac. Epac then activates a small G-protein Rap2B, which activates PLC-e, resulting in the production of IP₃ consequently releasing Ca²⁺ from the endoplasmic reticulum (ER) stores. Intracytosolic Ca²⁺ levels are also increased by L-type Ca²⁺ channel agonists. An increase in intracytosolic Ca²⁺ activates a family of Ca²⁺-dependent cysteine proteases called calpains, which cleave and activate G_{sa}. Activation of G_{sa}, in turn, increases adenylyl cyclase activity to elevate cAMP levels, thereby forming a loop. Activation of this pathway inhibits autophagy. Multiple drug targets acting at distinct stages in this pathway induce autophagy, such as imidazole-1 receptor (I1R) agonists (clonidine and rilmenidine) and adenylyl cyclase inhibitor [2050-dideoxyadenosine (2050ddA)], which decrease the levels of intracellular cAMP, agents reducing inositol and IP₃ levels [carbamazepine (CBZ) and valproic acid (VPA)], L-type Ca²⁺ channel antagonists (verapamil, loperamide, amiodarone, nimodipine and nitrendipine), calpain inhibitors (calpastatin and calpeptin) and G_{sa} inhibitor (NF449). Upregulating autophagy through this pathway has been shown to be protective in cell, fly and zebrafish models of Huntington’s disease (HD).

미세자가포식현상의 이상은 질환과 관련이 적으나 거대자가포식현상과 CMA는 신경퇴행병을 비롯한 면역질환 등에서 정상이다. 특히 거대자가포식현상 단계 중 autosome과 lysosome의 융합(fusion)에 결함이 있거나, autolysosome이 형성되었으나 분해효소에 의한 파괴가 되지 않아 세포질 내에 축적되는 과정에 병리현상이 있다.⁴

자가포식현상에 관여하는 유전자는 다양한 이름으로 불리다가 최근 autophagy-related gene (ATG)로 통일하여 약 31개가 밝혀졌다. ATG 유전자는 대부분 효모에서 밝혀졌는데 효모와 사람 사이에 많은 부분이 일치하는 것으로 되어있고 아직까지 각 유전자의 역할과 기능이 완전히 밝혀지지는 않았다. 거대자가포식현상의 각 단계에 따라 관련된 유전자를 분류하고 있다. 소포체의 핵형성(vesicle nucleation)에는 Beclin 1 (Atg 6)과 class III PI3K가, 소포체신장(vesicle elongation)에는 Atg 12,

Atg 5, Atg 7과 Atg 10이, autophagosome 형성에는 Atg 9가, ubiquitin 결합시스템에는 Atg 8과 Atg 12가 관련된다(Fig. 2).¹³⁻¹⁹

2. 자가포식현상과 관련된 질환들

2006년 자가포식현상의 이상이 알츠하이머병이나 파킨슨병과 같은 신경퇴행병의 원인이 된다고 밝힌 이후²⁰ 자가포식현상을 촉진하는 것이 세포질 내의 비정상 단백질의 축적을 막을 수 있고 그렇기 때문에 병인을 제거할 수 있는 획기적인 치료방법으로 생각하여 현재 전 세계적으로 자가포식현상을 촉진하는 신약개발에 몰두하고 있다. 여기서는 지금까지 임상실험 중에 있는 새롭게 개발한 자식작용을 촉진하는 약물과 기존에 다른 목적으로 사용하고 있으나 자가포식현상을 촉진할 수 있는 약물을 중

Table 1. List of autophagy enhancers and their mode of action in neurodegenerative diseases

Mode of action	Autophagy enhancer	Protective effects in neurodegenerative diseases
mTOR dependent mechanism		
mTOR inhibit	Rapamycin, CCI-779, glucose, glucose-6-phosphate	Enhance clearance of mutant htt, α -syn, tau, ataxin and expanded poly A
mTOR independent mechanism		
Ca ²⁺ channel blocker	Verapamil, Loperamide, Amiodarone, Nimodipine, Nitrendipine, Niguldipine, Pimozide	Enhance clearance of mutant htt; reduce mutant htt aggregates, reduces expanded poly Q aggregates in cells
Lower inositol and IP3 levels	Carbamazepine, Sodium valproate	Enhance clearance of mutant htt, α -syn
Calpain inhibitor	Calpastatin, Calpeptin	Enhance clearance of mutant htt, α -syn
Imidazolin-1 receptor agonist; reduce cAMP	Clonidine, Rilmenidine, 2'5'-dideoxyadenosine	Enhance clearance of mutant htt, α -syn
Gsa inhibitor	NF449	Enhance clearance of mutant htt, α -syn
K ⁺ ATP channel opener	Minoxidil	Enhance clearance of mutant htt, α -syn

htt; Huntingtin, IP3; inositol 1,4,5-triphosphate, mTOR; mammalian target of rapamycin, polyA; polyaniline, polyQ; polyglutamine, α -syn; α -synuclein

심으로 소개하고자 한다.

자가포식현상과 세포주기를 조절하는 과정은 상당한 부분에서 서로의 경로를 공유한다. 세포의 성장과 증식을 조절하는 경로의 중심에 있는 mTOR (mammalian target of rapamycin)은 macrolide계 항생제인 rapamycin의 표적단백질로서 단백질인산화효소(protein kinase)의 활성을 가지고 있다. 세포 외부의 영양상태와 성장인자를 인지하여 세포내 신호전달(signal transduction) 경로를 통해 세포의 성장과 증식을 조절한다. 하지만 세포 내외의 상황에 따라 mTOR 작용이 멈추면 자가포식 경로가 유도된다. 그러므로 세포의 자가포식현상을 촉진하는 약물 중 mTOR 저해제인 리파마이신은 mTOR을 저해해서 자가포식현상을 활성화시킬 수 있으므로 유망한 후보약물이다.²¹⁻³¹

또한 편두통치료제, 고혈압치료제와 같은 기존의 다양한 약물들이 자가포식현상을 촉진하는데, 이는 칼슘이 세포 내로 유입되는 것을 저해하여 자가포식현상을 조절하거나 혹은 cAMP의 수준을 감소시킴으로써 자가포식현상에 영향을 주는 것으로 생각한다. 이 약물들은 mTOR과 독립적인 경로에서 자가포식현상을 조절하는 것으로 밝혀졌다. mTOR과 독립적인 자가포식 경로를 정리하면(cAMP→Ca²⁺→칼파인→Gsa) 다음과 같다 (Fig. 3).

① 세포 내의 cAMP 수준은 adenylyl cyclase에 의해 증가하는데, 이는 Epac를 활성화하고, Epac는 뒤이어 Rap2B를 활성화시킨다. Rap2B는 PLC-ε를 활성화시키는 작은 G protein이다. 활성화된 PLC-ε는 IP3를 생성하고 뒤이어 ER로부터 Ca²⁺를 유리시킨다.

② 세포 내의 Ca²⁺ 수준은 L형 Ca²⁺ 채널작용제에 의해서도 증가된다. 세포 내의 Ca²⁺가 증가하면 calpain이 활성화되고 이는 Gsa를 절단하여 활성화시키며, 활성화된 Gsa는 adenylyl cyclase를 활성화하여 cAMP를 증가시킨다. ①, ②의 과정을

종합하면 cAMP에서 시작하여 cAMP로 이어지는 순환고리를 형성한다.³²⁻⁴⁴

이상의 경로를 활성화하면 자가포식현상이 저해되며, 반대로 이 경로상의 다양한 약물표적에 작용하는 약물들은 자가포식현상을 유도하는데, 각 약물표적에 작용하는 약물들은 다음과 같다. 이미다졸린-1수용체길항제(클로니딘과 릴메니딘), adenylyl cyclase 저해제(2'5' 디옥시아데노신), 이노시톨과 IP3를 저하시키는 약물(카마제핀, 발프로산), L-type Ca²⁺ 채널길항제(베라파밀, 로페라미드, 아미오다론, 니모디핀, 니트렌디핀), calpain 저해제(칼파스타틴, 칼펩틴), Gsa저해제(NF449)(Table 1).

1) 헌팅톤병(Huntington's disease)

구조적으로 잘못 형성된 단백질은 자가포식현상으로 제거되어야 하지만 헌팅톤병은 헌팅톤단백질이 뇌세포, 주로 바닥핵과 대뇌겉질에 축적되는 퇴행병이다. 헌팅톤병과 알츠하이머병처럼 단백질 용해물을 만들어서 신경퇴행병을 초래하는 경우에 지금까지 많은 연구자들은 단백질간의 융합(aggregate)을 막거나 역행하는 화합물질을 찾는 것에 중점을 두었으나 최근 발표된 큰 단백질덩어리(largest inclusions)가 뇌에 치명적이지 않으며 오히려 뇌를 보호하는 역할을 한다는 연구결과에 따라 오히려 자가포식현상의 기능을 활성화시킴으로써 치료약제로서의 가능성을 시사한다.⁴⁵⁻⁴⁸ 또한 연구자들이 초파리의 자가포식현상 기능을 저하시킬 때마다 신경퇴화가 항상 악화되었으며, 그런 다음 리파마이신(rapamycin)이라는 약물을 초파리에게 먹여 자가포식현상을 활성화하면 신경퇴화가 개선되었다.⁴⁹ 그러므로 세포의 자가포식현상을 촉진하는 약물 중 mTOR 저해제인 리파마이신은 mTOR을 저해해서 자가포식현상을 활성화시킬 수 있어 헌팅톤병의 치료제로 유망한 후보약물이다.

또한 베라파밀(verapamil)은 현재 고혈압과 부정맥치료제로

사용하는데, 칼슘이 세포 내로 유입되는 것을 저해하여 자가포식 현상을 조절하는 것으로 보인다. 이와 마찬가지로 현재 고혈압이나 편두통치료제로 사용하는 클로니딘(clonidine)은 cAMP의 수준을 감소시킴으로써 자가포식현상에 영향을 주는 것으로 생각하고 있다. 이러한 약물들이 헌팅톤단백질의 독성을 완화시키는 것을 확인하였다.^{30,42}

2) 알츠하이머병(Alzheimer's disease, AD)

Aβ (β-amyloid A)와 타우단백, 이 두 가지 단백질이 알츠하이머병을 일으키는 물질로 알려져 있다. Aβ는 베타와 감마-시크리테이스(gamma-secretase)가 아밀로이드 전구단백질(amyloid precursor protein: APP)을 분해하여 베타아밀로이드 펩타이드가 되어 세포의 기질(extracellular matrix)로 분산된 후에 최종적으로 응집되어 알츠하이머병의 특징인 아밀로이드판(amyloid plaque)을 형성한다. Aβ의 대사과정은 Aβ를 생성하는 기전과 이를 제거하는 기전이 공존한다. 건강한 경우 Aβ의 제거기전이 월등한 상태로 균형을 이루지만, 노화, 질병 등의 원인으로 인하여 제거기전이 약화되면 Aβ가 축적되어 알츠하이머병을 초래하게 된다. 따라서 알츠하이머병을 치료하는 전

략은 Aβ의 생성을 감소시키거나 Aβ의 제거를 촉진하는 두 가지 방향에서 모색할 수 있다.

최근 알츠하이머병 치료제로 임상 연구가 진행되고 있는 약물은 아밀로이드 전구단백질에 결합하여 아밀로이드 생성을 억제하는 항체(바피네주맵, bapineuzumab), 감마-시크리테이스에 직접 작용하는 LY450139와 플루리잔(성분명: 타렌플루빌) 등이 있다. 아밀로이드 생성을 억제하는 항체는 아밀로이드 생성에 중요한 효소인 시크리테이스가 아밀로이드 전구단백질에 접근하는 것을 차단하여 Aβ 생산을 중단시킨다. 특히 바피네주맵은 동물모델에서 Aβ를 감소시켰고 알츠하이머병 환자에게 인간 항체를 주입하면 증상의 진행이 느려지고, 심지어 일부 환자는 증상이 개선되었다고 하였다. 특히 ApoE4 유전자가 결실된 환자들의 인지기능 감소를 개선하는 효과가 있었다. LY450139와 플루리잔은 감마-시크리테이스저해제로서 Aβ의 생성과 아밀로이드 플라크 형성을 줄여서 치료 효과를 나타낸다.⁵⁰⁻⁵³

Valproic acid는 항간질약인데 세포내 IP3 농도를 줄여주는 작용을 한다. 이는 mTOR과는 다른 기전으로 자가포식현상을 촉진하고 자가포식현상이 활발하면 Aβ의 분해효소를 활성화시킴으로써 Aβ의 제거를 촉진할 수 있다.^{39,40,45} Valproic acid는 GSK-3β를 저해함으로써 감마-시크리테이스의 APP 절단을 저해하고 Aβ의 생성을 억제한다고 발표한 바 있다.⁵⁴⁻⁵⁶ 또한, 뇌는 강력한 Aβ 분해효소를 이용하여 독소(Aβ)의 축적을 저지하는 자체적인 방어체계를 보유하고 있다. 뇌의 방어시스템을 활성화하여 Aβ의 분해를 촉진함으로써 Aβ의 축적을 막는 전략을 제시한다. 그런데 원칙적으로 Aβ의 분해를 촉진하는 방법은 두 가지가 있다. 첫째 방법은 Aβ 분해효소(카텝신: cathepsin B)의 활성을 증가시키는 것이며, 둘째 방법은 카텝신의 천연 저해제인 시스타틴(cystatin)의 활성을 감소시키는 것이다. 강력한 Aβ 분해효소인 카텝신의 내인성저해제인 시스타틴을 줄여서 카텝신의 활성을 증대시켜 Aβ를 감소시킬 수 있다.⁵⁷

다음으로 알츠하이머병에서 보이는 비정상적으로 인산화된 타우단백질이다. 최근 발표에 의하면 비정상 타우단백질의 인산화 과정에 Akt와 CHIP (carboxyl terminus of Hsc70-interacting protein)가 관련이 있다고 한다. Akt는 세포생존과 관련된 단백질로 암세포 성장과 분화에 중요한 단백질이다. Akt에 의해 발생하는 세포신호가 지나치게 활성화되면 비정상적인 기능을 하는 세포가 사멸되지 않고 살아남아 분화를 거듭하여 결국 암세포를 만들게 된다고 생각해왔다. 타우단백질의 대사를 연구하는 과정에서 타우단백질을 제거하는 ubiquitin ligase인 CHIP가 Akt 또한 제거함을 알 수 있었다. 세포내 존재하는 Akt 양과 CHIP의 양이 서로 밀접한 관계가 있고 Akt가

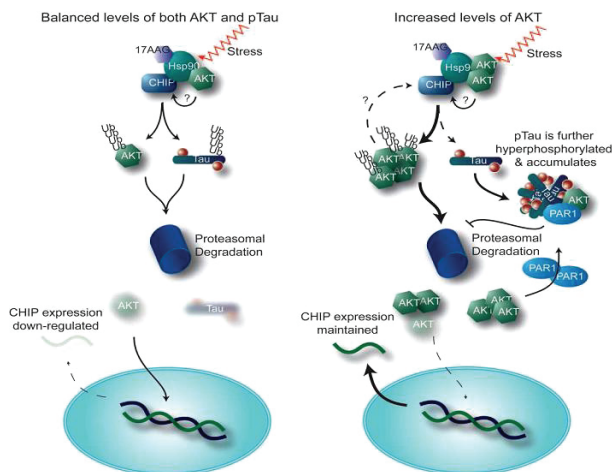


Figure 4. Proposed mechanism by which unconventional Akt activity affects tau degradation and CHIP (carboxyl terminus of Hsc70-interacting protein) regulation. (Left) Under normal conditions, stress or Hsp90 inhibition (17-AAG) stimulates the CHIP/ Hsp90 complex to recognize both Akt and phospho-tau, targeting them for proteasome-mediated degradation by ubiquitination. A consequence of reduced Akt levels would lead to decreased CHIP levels, either through direct transcriptional regulation or via a feedback mechanism. Akt may also regulate the CHIP/Hsp90 complex directly. (Right) As Akt levels increase with age or disease, the CHIP/ Hsp90 complex either targets Akt over phospho-tau or alters CHIP activity. As tau accumulates, Akt and PAR1 synergize to enhance tau phosphorylation. Increased levels of Akt maintain CHIP expression.

직접 또는 간접적인 방법으로 CHIP의 활성을 조절함으로써 타우단백질의 대사에 관여한다. 정상적인 세포에서는 CHIP가 Akt와 타우단백질 모두 세포에서 제거하지만 Akt의 양이 증가하면 Akt가 CHIP의 기능을 변형시켜서 CHIP의 타우단백질 제거 능력이 현저히 줄어들게 된다. 이렇게 타우단백질의 침착이 시작되면 타우단백질의 인산화효소로 알려진 다른 단백질들이 타우단백질을 인산화하고 이 과정에서 Akt가 타우단백질 인산화효소의 기능도 강화한다. 즉 세포 내에 지나친 Akt의 양이 정상적인 타우단백질 대사에 장애를 줌과 동시에 타우단백질의 인산화효소를 활성화함으로써 타우단백질의 비정상적 인산화가 촉진되는 결과를 초래한다. 특이한 점은 나이가 들어감에 따라 세포내 Akt의 양이 늘어난다는 것이다. 이러한 기존의 사실들은 Akt의 지나친 활성화와 노화의 상관관계를 암시해 주고 있다. 앞으로 알츠하이머병뿐만 아니라 기타 신경퇴행병의 연구에 있어서 Akt의 기능과 역할에 대한 새로운 조명이 필요함을 알 수 있다(Fig. 4).⁵⁸⁻⁶⁰

3) 파킨슨병(Parkinson's disease)

변이된 α -synuclein이라는 단백질이 세포에 축적되는 현상은 파킨슨병의 특징 가운데 하나이다. 이런 α -synuclein의 축적은 이들 유전자의 돌연변이에 의하며, 정상적으로 α -synuclein은 CMA를 통하여 분해된다. CMA는 세포내 단백질을 분해하는 선택적 lysosome 기작이다. 그러나 α -synuclein에 돌연변이가 발생하면 lysosome의 막수용체와 α -synuclein단백질 사이의 결합이 정상보다 강해져서 lysosome 내부로 이동하는 데 방해받는다. 그 결과 α -synuclein단백질이 제대로 분해되지 못하고 세포질에 축적된다. 또한 다른 단백질 분해에 할당되어야 할 lysosome 막수용체가 돌연변이 α -synuclein단백질에 이용됨으로써 다른 단백질 분해 경로까지 방해를 받게 된다.⁴⁵ 다른 연구에서는 α -synuclein이 소포체와 골지체 사이의 물질 이동을 차단함으로써 도파민을 생성하는 신경세포를 억제하여 도파민 함유세포의 파괴와 그 세포의 퇴화유도에 관련이 있다고 한다.⁶¹⁻⁶³ α -synuclein과 도파민의 상호작용으로 생긴 변이형 α -synuclein의 제거에 자가포식현상이 효과적이라고 밝힌 바 있으며 헌팅톤병에서 기술한 대부분의 약물이 자가포식현상을 촉진하기 때문에 변이된 α -synuclein을 제거하는 데 이용할 수 있다. 그러나 파킨슨병 환자들에서는 변이된 α -synuclein의 축적뿐만 아니라 이로 인한 도파민함유세포의 파괴라는 문제점이 있기 때문에 자가포식현상을 촉진하는 약물만으로 해결하기 어렵고 그 문제를 해결하는 데 상당한 시간이 소요될 것으로 예상하고 있다.

4) 뇌졸중(Stroke)

자가포식현상은 저산소증 상황에서 생존할 수 있는 중요한 기전 중에 하나이다. 뇌에 부분적인 허혈증이 있으면 뇌경색 반음영(penumbra)에 autophagosome과 autolysosome이 많이 증가된 것을 관찰할 수 있는데 이 사실로 보아 저산소에 의하여 허혈상태가 되면 뇌세포를 보호하기위해 자가포식현상이 증가되었음을 증명할 수 있다. 또한 산소 허혈에 의해 뇌손상을 입은 신생아에서 자가포식현상이 뇌세포를 보호하는 역할을 하는 것을 뇌조직에서 확인할 수 있다. 이런 뇌조직에서 자가포식현상의 표지자라고 할 수 있는 beclin 1이 증가되어 있고 Bcl-2와의 상호작용이 증가되어 있어서 유전자 수준에서 자가포식현상과 자연사가 증가되었음을 확인할 수 있었다.^{64,65} 자가포식현상에 관련된 Atg 7 혹은 Atg 5와 같은 유전자 일부가 결여된 동물에 대한 실험을 보면 일시적인 허혈상태를 견디지 못하고 심한 뇌손상이 발생하는 것을 볼 수 있었는데 이는 자가포식현상이 활성화되지 못하기 때문이라고 생각하고 있다.⁶⁶ 특히 산소농도에 민감한 심장세포뿐만 아니라 지속되는 저산소증이 있는 뇌세포에서도 자가포식현상이 증가되고 이는 뇌신경세포를 보호하는 역할을 하게 된다.⁶⁷ 뇌졸중은 뇌혈관이 막혀 허혈상태로 인한 저산소증이 원인이기 때문에 뇌혈관과 관련된 치료와 함께 자가포식현상 작용을 증대한다면 저산소증으로 인한 뇌세포의 손상을 줄여서 치료의 효과를 높일 수 있을 것이다.

결론

자가포식현상은 세포사멸의 한 형태로 세포 내에서 비정상적이거나 불필요한 단백질의 제거, 세포소기관의 제거와 재생에 관여하여 세포의 항상성 유지에 중요한 역할을 하는 기전이다. 최근 분자생물학적 수준에서 자가포식현상의 기능에 대한 이해와 관련된 유전자가 발견되면서 인간의 노화와 면역기능의 조절 등 전반적인 인간의 건강상태를 이해하는 데 도움을 주었다. 뿐만 아니라 암을 비롯한 당뇨병, 신경퇴행병의 원인과 자가포식현상의 이상이 밀접하게 관련되어 있음이 알려졌다. 아직은 자가포식현상이 완벽하게 밝혀지지는 않았지만 자가포식현상을 조절함으로써 이들 질환의 치료에 새로운 장을 열 수 있기를 기대한다.

REFERENCES

1. Mizushima N, Levine B, Cuervo AM, Klionsky DJ. Autophagy fights disease through cellular self-digestion. *Nature* 2008;451:1069-1075.
2. Saftig P, Eskelinen EL. Live longer with LAMP-2. *Nat Med* 2008;14:909-910.

3. Kroemer G, Galluzzi L, Vandenabeele P, Abrams J, Alnemri ES, Baehrecke EH, et al. Classification of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2009. *Cell Death Differ* 2009;16:3-11.
4. Huang J, Klionsky DJ. Autophagy and human disease. *Cell cycle* 2007; 6:1837-1849.
5. Massey AC, Zhang C, Cuervo AM. Chaperone-mediated autophagy in aging and disease. *Curr Top Dev Biol* 2006;73:205-235.
6. Cuervo AM, Dice JF. Age-related decline in chaperone-mediated autophagy. *J Biol Chem* 2000;275:31505-31513.
7. Cuervo AM, Bergamini E, Brunk UT, Dröge W, French M, Terman A. Autophagy and aging: the importance of maintaining "clean" cells. *Autophagy* 2005;1:131-140.
8. Scarlatti F, Granata R, Meijer AJ, Codogno P. Does autophagy have a license to kill mammalian cells? *Cell Death Differ* 2009;16:12-20.
9. Yorimitsu T, Klionsky DJ. Autophagy: molecular machinery for self-eating. *Cell Death Differ* 2005;12:1542-1552.
10. Levine B, Klionsky DJ. Development by self-digestion: molecular mechanisms and biological functions of autophagy. *Dev Cell* 2004;6: 463-477.
11. Vellai T. Autophagy genes and ageing. *Cell Death Differ* 2009;16:94-102.
12. Zhang C, Cuervo AM. Restoration of chaperone-mediated autophagy in aging liver improves cellular maintenance and hepatic function. *Nat Med* 2008;14:959-965.
13. Klionsky DJ, Cregg JM, Dunn WA, Emr SD, Sakai Y, Sandoval IV. A unified nomenclature for yeast autophagy-related genes. *Dev Cell* 2003; 5:539-545.
14. Geng J, Klionsky DJ. The Atg8 and Atg12 ubiquitin-like conjugation systems in macrophagy. 'Protein modifications: beyond the usual suspects' review series. *EMBO Rep* 2008;9:859-864.
15. Barth H, Thumm M. A genomic screen identifies AUT8 as a novel gene essential for autophagy in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Gene* 2001;274:151-156.
16. Barth H, Meiling-Wesse K, Epple UD, Thumm M. Autophagy and the cytoplasm to vacuole targeting pathway both require Aut10p. *FEBS Lett* 2001;508:23-28.
17. Funakoshi T, Matsuura A, Noda T, Ohsumi Y. Analysis of APG13 gene involved in autophagy in yeast, *Saccharomyces Cerevisiae*. *Gene* 1997;192:207-213.
18. Lang T, Schaeffeler E, Bernreuther D, Bredschneider M, Wolf DH, Thumm M. Aut2p and Aut7p, two novel microtubule associated proteins are essential for delivery of autophagic vesicles to the vacuole. *EMBO J* 1998;17:3597-3607.
19. Liang XH, Jackson S, Seaman M, Brown K, Kempkes B, Hibshoosh H, et al. Induction of autophagy and inhibition of tumorigenesis by beclin 1. *Nature* 1999;402:672-676.
20. Hara T, Nakamura K, Matsui M, Yamamoto A, Nakahara Y, Suzuki-Migishima R, et al. Suppression of basal autophagy in neural cells causes neurodegenerative disease in mice. *Nature* 2006;441:885-889.
21. Berger Z, Ravikumar B, Menzies FM, Oroz LG, Underwood BR, Pangalos MN, et al. Rapamycin alleviates toxicity of different aggregate-prone proteins. *Hum Mol Genet* 2006;15:433-442.
22. Ravikumar B, Berger Z, Vacher C, O'Kane CJ, Rubinsztein DC. Rapamycin pre-treatment protects against apoptosis. *Hum Mol Genet* 2006;15:1209-1216.
23. Ravikumar B, Stewart A, Kita H, Kato K, Duden R, Rubinsztein DC. Raised intracellular glucose concentrations reduce aggregation and cell death caused by mutant huntingtin exon 1 by decreasing mTOR phosphorylation and inducing autophagy. *Hum Mol Genet* 2003;12:985-994.
24. Sarkar S, Krishna G, Imarisio S, Saiki S, O'Kane CJ, Rubinsztein DC. A rational mechanism for combination treatment of Huntington's disease using lithium and rapamycin. *Hum Mol Genet* 2008;17:170-178.
25. Williams A, Sarkar S, Cudston P, Tfofi EK, Saiki S, Siddiqi FH, et al. Novel targets for Huntington's disease in an mTOR-independent autophagy pathway. *Nat Chem Biol* 2008;4:295-305.
26. Sarkar S, Davies JE, Huang Z, Tunnaclyffe A, Rubinsztein DC. Trehalose, a novel mTOR independent autophagy enhancer, accelerates the clearance of mutant huntingtin and alpha-synuclein. *J Biol Chem* 2007;282:5641-5652.
27. Tanaka M, Machida Y, Niu S, Ikeda T, Jana NR, Doi H, et al. Trehalose alleviates polyglutamine-mediated pathology in a mouse model of Huntington disease. *Nat Med* 2004;10:148-154.
28. Sarbassov DD, Ali SM, Sabatini DM. Growing roles for the mTOR pathway. *Curr Opin Cell Biol* 2005;17:596-603.
29. Kim DH, Sarbassov DD, Ali SM, King JE, Latek RR, Erdjument-Bromage H, et al. mTOR interacts with raptor to form a nutrient-sensitive complex that signals to the cell growth machinery. *Cell* 2002; 110:163-175.
30. Kim DH, Sarbassov DD, Ali SM, Latek RR, Guntur KV, Erdjument-Bromage H, et al. GbetaL, a positive regulator of the rapamycin-sensitive pathway required for the nutrient sensitive interaction between raptor and mTOR. *Mol Cell* 2003;11:895-904.
31. King MA, Hands S, Hafiz F, Mizushima N, Tolkovsky AM, Wytenbach A. Rapamycin inhibits polyglutamine aggregation independently of autophagy by reducing protein synthesis. *Mol Pharmacol* 2008;73:1052-1063.
32. Varadarajan N, Georgiou G, Iverson BL. An engineered protease that cleaves specifically after sulfated tyrosine. *Angew Chem Int Ed Eng* 2008; 47:7861-7863.
33. Vecsey CG, Hawk JD, Lattal KM, Stein JM, Fabian SA, Attner MA, et al. Histone deacetylase inhibitors enhance memory and synaptic plasticity via CREB: CBP-dependent transcriptional activation. *J Neurosci* 2007; 27:6128-40.
34. Pandey UB, Nie Z, Batlevi Y, McCray BA, Ritson GP, Nedelsky NB, et al. HDAC6 rescues neurodegeneration and provides an essential link between autophagy and the UPS. *Nature* 2007;447:859-863.
35. Sarkar S, Floto RA, Berger Z, Imarisio S, Cordenier A, Pasco M, et al. Lithium induces autophagy by inhibiting inositol monophosphatase. *J Cell Biol* 2005;170:1101-1111.
36. Zhang L, Yu J, Pan H, Hu P, Hao Y, Cai W, et al. Small molecule regulators of autophagy identified by an image-based high-throughput screen. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007;104:19023-19028.
37. Sarkar S, Perlstein EO, Imarisio S, Pineau S, Cordenier A, Maglathlin RL, et al. Small molecules enhance autophagy and reduce toxicity in Huntington's disease models. *Nat Chem Biol* 2007;3:331-338.
38. Berridge MJ. Inositol trisphosphate and calcium signalling. *Nature* 1993; 361:315-325.
39. Criollo A, Maiuri MC, Tasdemir E, Vitale I, Fiebig AA, Andrews D, et al. Regulation of autophagy by the inositol trisphosphate receptor. *Cell Death Differ* 2007;14:1029-1039.
40. Sarkar S, Rubinsztein DC. Inositol and IP3 levels regulate autophagy: biology and therapeutic speculations. *Autophagy* 2006;2:132-134.
41. Thomas RS, Liddell JE, Murphy LS, Pache DM, Kidd EJ. An antibody to the beta-secretase cleavage site on amyloid-beta-protein precursor inhibits amyloid-beta production. *J Alzheimers Dis* 2006;10:379-390.

42. Carmichael J, Sugars KL, Bao YP, Rubinsztein DC. Glycogen synthase kinase-3beta inhibitors prevent cellular polyglutamine toxicity caused by the Huntington's disease mutation. *J Biol Chem* 2002;277:33791-33798.
43. Inoki K, Ouyang H, Zhu T, Lindvall C, Wang Y, Zhang X, et al. TSC2 integrates Wnt and energy signals via a coordinated phosphorylation by AMPK and GSK3 to regulate cell growth. *Cell* 2006;126:955-968.
44. Triggler DJ. Calcium channel antagonists: clinical uses—past, present and future. *Biochem Pharmacol* 2007;74:1-9.
45. Sarkar S, Ravikumar B, Floto RA, Rubinsztein DC. Rapamycin and mTOR-independent autophagy inducers ameliorate toxicity of polyglutamine expanded huntingtin and related proteinopathies. *Cell Death Differ* 2009;16:46-56.
46. Rubinsztein DC, Gestwicki JE, Murphy LO, Klionsky DJ. Potential therapeutic applications of autophagy. *Nat Rev Drug Discov* 2007;6:304-312.
47. Shao J, Diamond MI. Polyglutamine diseases: emerging concepts in pathogenesis and therapy. *Hum Mol Genet* 2007;16:R115-R123.
48. Ravikumar B, Duden R, Rubinsztein DC. Aggregate-prone proteins with polyglutamine and polyalanine expansions are degraded by autophagy. *Hum Mol Genet* 2002;11:1107-1117.
49. Ravikumar B, Vacher C, Berger Z, Davies JE, Luo S, Oroz LG, et al. Inhibition of mTOR induces autophagy and reduces toxicity of polyglutamine expansions in fly and mouse models of Huntington disease. *Nat Genet* 2004;36:585-595.
50. Rakover I, Arbel M, Solomon B. Immunotherapy against APP beta-secretase cleavage site improves cognitive function and reduces neuroinflammation in Tg2576 mice without a significant effect on brain abeta levels. *Neurodegener Dis* 2007;4:392-402.
51. Arbel M, Solomon B. A novel immunotherapy for Alzheimer's disease: antibodies against the beta-secretase cleavage site of APP. *Curr Alzheimer Res* 2007;4:437-445.
52. Fleisher AS, Raman R, Siemers ER, Becerra L, Clark CM, Dean RA, et al. Phase 2 safety trial targeting amyloid beta production with a gamma-secretase inhibitor in Alzheimer disease. *Arch Neurol* 2008;65:1031-1038.
53. Siemers ER, Dean RA, Friedrich S, Ferguson-Sells L, Gonzales C, Farlow MR, et al. Safety, tolerability, and effects on plasma and cerebrospinal fluid amyloid-beta after inhibition of gamma-secretase. *Clin Neuropharmacol* 2007;30:317-325.
54. Qing H, He G, Ly PT, Fox CJ, Staufenbiel M, Cai F, et al. Valproic acid inhibits Abeta production, neuritic plaque formation, and behavioral deficits in Alzheimer's disease mouse models. *J Exp Med* 2008;250:2781-2789.
55. Shaltiel G, Shamir A, Shapiro J, Ding D, Dalton E, Bialer M, et al. Valproate decreases inositol biosynthesis. *Biol Psychiatry* 2004;56:868-874.
56. Belyaev ND, Nalivaeva NN, Makova NZ, Turner AJ. Neprilysin gene expression requires binding of the amyloid precursor protein intracellular domain to its promoter: implications for Alzheimer disease. *EMBO Rep* 2009;10:94-100.
57. Sun B, Zhou Y, Halabisky B, Lo I, Cho SH, Mueller-Steiner S, et al. Cystatin C-Cathepsin B Axis Regulates Amyloid Beta Levels and Associated Neuronal Deficits in an Animal Model of Alzheimer's Disease. *Neuron* 2008;60:247-257.
58. Dickey CA, Koren J, Zhang YJ, Xu YF, Jinwal UK, Birnbaum MJ, et al. Akt and CHIP coregulate tau degradation through coordinated interactions. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;9:3622-3627.
59. Dickey CA, Kamal A, Lundgren K, Klosak N, Bailey RM, Dunmore J, et al. The high-affinity HSP90-CHIP complex recognizes and selectively degrades phosphorylated tau client proteins. *J Clin Invest* 2007;117:648-658.
60. Dickey CA, Dunmore J, Lu B, Wang JW, Lee WC, Kamal A, et al. HSP induction mediates selective clearance of tau phosphorylated at proline-directed Ser/Thr sites but not KXGS (MARK) sites. *FASEB J* 2006;20:753-755.
61. Webb JL, Ravikumar B, Atkins J, Skepper JN, Rubinsztein DC. Alpha-Synuclein is degraded by both autophagy and the proteasome. *J Biol Chem* 2003;278:25009-25013.
62. Cuervo AM, Stefanis L, Fredenburg R, Lansbury PT, Sulzer D. Impaired degradation of mutant alpha-synuclein by chaperone-mediated autophagy. *Science* 2004;305:1292-1295.
63. Martinez-Vicente M, Tallozy Z, Kaushik S, Massey AC, Mazzulli J, Mosharov EV, et al. Dopamine-modified alpha-synuclein blocks chaperone-mediated autophagy. *J Clin Invest* 2008;118:777-788.
64. Carloni S, Buonocore G, Balduini W. Protective role of autophagy in neonatal hypoxia-ischemia induced brain injury. *Neurobiol Dis* 2008;32:329-339.
65. Uchiyama Y, Koike M, Shibata M. Autophagic neuron death in neonatal brain ischemia/hypoxia. *Autophagy* 2008;4:404-408.
66. Rami A, Langhagen A, Steiger S. Focal cerebral ischemia induces upregulation of Beclin 1 and autophagy-like cell death. *Neurobiol Dis* 2008;29:132-141.
67. Nishida K, Kyo S, Yamaguchi O, Sadoshima J, Otsu K. The role of autophagy in the heart. *Cell Death Differ* 2009;16:31-38.