

신경세포 칼슘신호 조절에 있어서의 미토콘드리아의 병태생리적 기능 및 분자기전

은 수 용, 정 성 철

제주대학교 의학전문대학원 생리학교실

Abstract

Pathophysiological roles and the molecular mechanism of mitochondria in neuronal calcium regulation

Su-Yong Eun, Sung-Cherl Jung

Department of Physiology, Jeju National University School of Medicine, Jeju, Korea

Calcium is an important signaling molecule involved in the regulation of many physiological as well as pathological cellular responses. Especially, the spatiotemporal pattern of local calcium signaling is critical for the specificity of cellular responses. We reviewed here pathophysiological roles and the molecular mechanism of mitochondria as well as endoplasmic reticulum (ER) in neuronal calcium regulation. The living cells evoke calcium influx outside the cells and also induce calcium release from ER in response to many stimuli. However, severe and sustained calcium release from ER induces calcium uptake into mitochondria. Pathologically elevated mitochondrial calcium responses are accompanied by mitochondria depolarization, mitochondria permeability transition pore (mtPTP) opening and subsequent mitochondria-dependent apoptosis. Ratiometric realtime measurements of intramitochondrial local Ca suggest that high mitochondrial Ca²⁺ is the crucial factor determining whether cells undergo apoptosis. On the other hand, calcium depletion in ER also induces ER stress which evokes protein folding defects and ER stress-dependent apoptosis. The recent growing body of evidences on pathophysiological roles and the molecular mechanism of mitochondria as well as ER could provide an insight for the development of new drug to treat neurodegenerative diseases in which pathogenesis either calcium overload or oxidative stress is involved. (J Med Life Sci 2009;7:200-205)

Key Words : Mitochondria, Endoplasmic reticulum, Local calcium, Reactive oxygen species

서 론

미토콘드리아는 ATP (adenosine triphosphate)를 합성하는 세포내 소기관이며 동시에 세포내 칼슘이온의 완충고로서 칼슘 신호전달계 조절에도 관여하는 것으로 잘 알려져 있다. 또한 미토콘드리아는 미토콘드리아 투과성전이구멍 (mtPTP)를 통한 cytochrome c의 방출을 통해 미토콘드리아 의존성 세포고사 (apoptosis)를 유발시킴으로서 세포의 생존 및 사멸과정을 조절하는 중요한 세포내 소기관이다^{1, 2)}.

내형질세망 (endoplasmic reticulum: ER)은 세포내의 일차적인 칼슘이온 완충고이며 mRNA에서 단백질 합성이 이루어지는

세포내 소기관으로 새로 합성된 막단백질 또는 분비단백질의 접힘 (folding)과 처리과정 (processing)을 담당하지만 ER의 칼슘 고갈과 과도한 단백질 합성 부하에 따라서는 ER 스트레스에 의한 세포고사를 유발시킬 수 있다. 이러한 ER과 미토콘드리아는 세포 내에서 구조적 연결 하에 밀접한 상호작용을 통하여 세포의 생리적 기능 수행 뿐 만 아니라 질병의 발병기전에도 깊숙이 관여하고 있다. 최근 ER과 미토콘드리아에서의 구역성 칼슘 (local calcium) 농도 변화와 미토콘드리아 막전압 변화를 형광표지자를 이용하여 실시간으로 측정하는 실험방법들이 개발이 되어 두 소기관의 상호작용 및 연관성 연구가 더욱 활발해졌다³⁻⁵⁾. 본 논문을 통하여 미토콘드리아와 ER 간의 칼슘신호전달계의 상호작용 (cross-talk)에 관한 최신 연구결과와 논쟁점들을 아래의 주제별로 살펴보고자 한다.

Address for correspondence : Su-Yong Eun
Department of Physiology, Jeju National University School of Medicine, 66 Jejudaehakno, 690-756, Jeju, Korea
E-mail : syeun@jejunu.ac.kr

This work was supported by a grant from Jeju National University Medical Research Fund in 2009.

1. 미토콘드리아와 ER의 구조적 연결성
2. 세포막, ER, 미토콘드리아의 칼슘이온 통로
3. ER, 미토콘드리아의 칼슘 이동기전
4. 미토콘드리아 전자전달계

- 5. 미토콘드리아에서의 칼슘과 ROS의 상호작용
- 6. 미토콘드리아-의존성 세포고사 (apoptosis)
- 7. 미토콘드리아와 ER 스트레스
- 8. 신약개발의 관점

미토콘드리아와 ER의 구조적 연결성

미토콘드리아 외막과 ER 사이의 거리의 근접성 (close proximity, juxtaposition)은 칼슘 신호전달계를 위해서 생리학적 으로 매우 중요하다⁶⁾. 칼슘이온은 세포 내에서 주로 ER에 저장 이 되어 있지만 ER의 칼슘 신호전달계가 자극을 받게 되면 칼슘 이온을 방출하게 되고 이는 미토콘드리아외막의 voltage-dependent anion channel (VDAC)과 calcium uniporter를 통하여 미토콘드리아로 유입하게 된다. 실제로 세포내에서 중요한 특 정 기능과 대사활동을 변경하기 위해서는 구역성 칼슘 농도의 신속하고 역동적인 변화가 중요하다. 고농도의 변화를 신속하게 유도 하기 위해서는 확산 거리를 짧게 해주어야 한다. 실제로 세포 내에서 칼슘은 확산방식에 의해서 이동을 하기 때문에 거리의 근 접성을 확보하는 것이 ER의 칼슘 신호를 미토콘드리아에 효율적 이고 빠르게 전달하는 방식이 될 것이다.

이렇게 상호작용을 하는 물질 들이 한 곳에 존재함으로써 효 율적인 신호전달을 달성하는 예로서 세포막의 lipid raft 등을 들 수 있을 것이다. 넓은 세포막 중에서 콜레스테롤 성분이 상대적 으로 많은 이 부위는 세포막이라는 바다에 떠 있는 뗏목과 같다고 하여 그러한 명칭이 붙여졌는데 이 곳에서 특정 수용체, G protein, PLC (phospholipase C), AC (adenyl cyclase) 등 많 은 서로 상호작용을 하는 신호전달물질, 세포골격단백질 (cytoskeleton) 등이 거리의 근접성을 유지하여 lipid raft내에 공 존함으로써 확산에 의한 시간 소모와 농도 감소에 의한 신호전달 의 비효율성을 최소화한다.

최근에 Brito와 Scorrano는 미토콘드리아의 mitofusin 2 (MFN2) 단백질이 ER막을 미토콘드리아에 잡아매두어(ER tethering) 미토콘드리아와 ER의 거리적 근접성을 확보한다는 것 을 발표했다⁷⁾. MFN1과 MFN2는 미토콘드리아 외막에 발현되어 있는 dynamin-like GTPase로서 동종 혹은 이종유형 이종체로 결합하여 미토콘드리아 융합(fusion)과 분리(fission)을 통한 미토 콘드리아 모양 및 크기의 변화조절을 가능하게 한다. 또한 ER막 에 존재하는 MFN2는 미토콘드리아에 표면에 존재하는 MFN1 혹은 MFN2와 결합하여 ER과 미토콘드리아의 거리의 근접성을 확보한다고 보고되었다^{6, 7)}.

세포막, ER, 미토콘드리아의 칼슘이온 통로

1. 세포막의 칼슘이온 통로

세포막을 경계로 세포 밖의 칼슘이온의 농도는 대략 10,000 배나 높아 세포내칼슘 이온 농도는 세포 신호전달계에서 이차 전 령계로서 매우 중요한 역할을 한다. 세포막에 존재하여 세포 외 부의 칼슘을 세포내부로 유입시키는 칼슘 투과도가 높은 대표적

인 이온통로는 막전압-의존성 칼슘이온 통로(voltage-dependent calcium ion channel)로 L-유형, T-유형, N-유형이 있고, TRP 이온통로, NMDA 이온통로를 들 수 있다. 이 외에도 알츠하이머 병의 원인 물질과 관련이 있을 것으로 보는 beta amyloid가 세 포 주변에 축적이 되는 병적인 상황에서 calcium pore가 막에 생겨 세포 내 칼슘이온 증가를 유도한다는 보고도 있다⁸⁾. 세포 내의 항상성 유지를 위하여 PMCA (plasma membrane Ca²⁺ ATPase) 통로나 Na⁺/Ca²⁺exchanger (NCX)를 통하여 세포질 내 부의 칼슘이 세포 밖으로 유출되기도 한다.^{1, 2)}

2. ER 막의 칼슘이온 통로

ER 막에는 IP3 (inositol triphosphate) 수용체, ryanodine 수 용체가 ER에서 세포질로의 칼슘이온 방출 이온통로로서 존재한 다. 또한 sarco-endoplasmic reticulum Ca²⁺ ATPase (SERCA) 펌프가 존재하여 ER에 칼슘이 고갈하면 세포질 내에서 ER에 칼슘을 채워 넣어주는 기능을 한다. Thapsigargin과 같은 SERCA 저해제를 사용하면 ER에 칼슘이온을 고갈시키고 세포 내에 높고 지속적인 칼슘이온 농도 증가를 유도할 수 있다. G 단백질 연계 된 phospholipase C (PLC)가 활성화되는 신호전달계에서 세포 막 인지질인 PIP2 (phosphatidyl inositol 4,5-bisphosphate)를 IP3와 DAG (diacyl glycerol)로 분해하면 IP3가 ER에서 칼슘이 온 방출 이온통로인 IP3 수용체에 작용하여 세포 내 칼슘이온 농 도를 증가시킨다. Ryanodine 수용체는 칼슘 자체가 이온통로를 여는 효현제가 되어 세포 내 칼슘이온이 증가하면 ryanodine 수 용체에서 ER 내부의 칼슘이온을 세포 내부로 방출하게 되는데 이를 CICR (calcium-induced calcium release)이라고 한다.^{1, 2)}

3. 미토콘드리아 막의 칼슘이온 통로

미토콘드리아에는 외막과 내막이 존재하는데 외막에는 VDAC 이 존재하고 내막에는 calcium uniporter가 세포질 내에 증가된 칼슘이온을 미토콘드리아 내막 내로 이동시키는 이온통로가 된 다. 또한 내막에는 Na⁺/Ca²⁺exchanger (NCX), Na⁺/H⁺ exchanger (NHX), H⁺/Ca²⁺exchanger (HCX), 등이 존재하여 미 토콘드리아 내부, 기질(matrix)의 칼슘을 세포질로 다시 유출시키 거나 H⁺를 기질 내부로 유입시키는 통로도 존재한다.^{1, 2)}

ER에서 미토콘드리아로의 칼슘 이동, when, why, how

칼슘-의존성 칼슘 방출 (CICR)이나 IP₃ 신호전달계에 의해 ER을 통해 칼슘이온이 방출되면 mitofusin에 의해 구조적으로 연결된 미토콘드리아에서 칼슘이온을 흡수한다. 거리의 근접성 때문에 확산에 의한 농도 감소의 영향을 덜 받을 수 있다. 이러 한 칼슘의 이동은 일차적으로 세포내 칼슘이온 농도 증가의 완충 작용으로 이해되며 따라서 세포내 칼슘이온 농도 증가에 의해서 유발될 수 있는 단백질분해효소 활성화에 의한 세포손상 등을 억 제하거나 지연시킬 수 있는 기능을 할 수 있다고 본다. 또한 이 러한 완충시스템으로 신속한 칼슘 증가 신호를 종료할 수 있어 보다 정밀한 신호전달계의 수행을 완수할 수 있을 것이다. 이러

한 생물학적 조절시스템은 신경세포의 시냅스에서 신경전달물질이 방출되면 시냅스틈새에서 신경전달물질 운반체에 의하여 바로 재흡수기작이 작동하여 신경전달물질의 작용을 최대한 신속하게 종료하는 기작과 일맥상통한다.

또한 미토콘드리아 칼슘은 미토콘드리아에서 ATP 생산에 필수적이다. 미토콘드리아 기질에 존재하는 pyruvate-, α -ketoglutarate- and isocitrate-dehydrogenase는 칼슘의존성 미토콘드리아 탈수소효소로 시트르산 회로의 반응속도를 결정하는 중요한 효소들로 전자전달계에 전자 공여 속도를 조절할 수 있다. 미토콘드리아에 칼슘 농도가 생리적 농도 범위 내에서 증가하면 기질 내의 ATP 농도가 증가한다⁹⁾.

그러나 ER에서의 칼슘 방출량이 과도하게 많고 지속적인 경우 미토콘드리아의 VDAC 및 calcium uniporter를 통한 칼슘이온 이동량이 병적으로 증가하게 되는데 이러한 칼슘 과부하는 완충 작용이라는 본래의 순기능을 넘어서 미토콘드리아 자체에 손상을 주게 된다. 병적으로 증가한 미토콘드리아 칼슘은 mtPTP를 열어 미토콘드리아 막전압을 탈분극시키고 mitochondria swelling을 유발시키며 이에 따른 미토콘드리아의 전자전달계 이상은 전자전달계를 통한 전자의 이동에 장애를 유발시켜 불완전한 O₂의 환원작용을 유발시키고 이 과정에서 활성산소종(reactive oxygen species: ROS)이 많이 발생하게 되어 세포의 산화적 손상(oxidative stress)이 발생하게 된다. 또한 mtPTP를 통한 cytochrome c, apoptosis-inducing factor (AIF)의 유출을 유도하여 미토콘드리아-의존성 세포사멸의 신호전달계를 작동시키게 된다^{10, 11)}.

미토콘드리아 전자전달계

시트르산 회로에서 형성된 NADH와 FADH₂는 각각 높은 이동 에너지를 가진 한 쌍의 전자들을 가지고 있는 고에너지 분자들이다. 미토콘드리아의 내막에 자리 잡은 단백질 복합체를 통하여 NADH 또는 FADH₂로부터 O₂로 전자가 이동함으로써 H⁺이 미토콘드리아 기질 밖으로 펌프질하여 나가게 된다. 그 결과 생기는 양성자 농도경사를 원동력으로 하여 ATP가 합성된다. 미토콘드리아의 전자전달계(electron transport chain)는 시트르산 회로와 연결되어 있고 complex I, II, III, IV로 4가지 복합체로 구성되어 있는데 이 중 complex I, III, IV 세 가지는 H⁺ 펌프의 기능을 갖는다. Complex I은 NADH-Q 산화환원효소 혹은 NADH 탈수소효소(NADH-Q oxidoreductase), complex II는 숙신산-Q 환원효소, complex III은 시토크롬 c 산화환원효소(Q-cytochrome oxidoreductase), complex IV는 시토크롬 c 산화효소(cytochrome c oxidase)이다. 전자운반계의 맨 마지막 단계는 복합체 III에서 생성된 시토크롬 c가 산화되고 이 과정이 O₂가 두 분자의 H₂O로 환원되는 반응과 짝지어지는 것이다. 막을 가로지르는 이 전자전달계 복합체 내에서의 전자의 이동으로 인하여 H⁺들이 미토콘드리아 내막을 가로질러서 펌프질 된다¹²⁾.

ATP 합성효소는 H⁺ 이온 농도 경사가 원동력이 되어서 활성화되기 때문에 이러한 전자전달계의 이상은 H⁺ 유출 감소로 인해 미토콘드리아 내 ATP 합성 감소를 초래하여 세포 기능의 손

상을 초래할 수 있다. ATP 결합은 많은 ATP를 소모하는 반응들의 활성을 저하시키게 되며, 특히 Na⁺/K⁺ pump의 작동을 억제시켜 세포막의 안전막 전압을 탈분극시키는 작용을 하며 이는 막전압 의존성 이온통로에 작용하여 세포내 칼슘 농도의 증가를 유도하며, 과도한 칼슘 농도의 증가로 인하여 세포사멸 과정은 가속화한다.

미토콘드리아에서의 칼슘과 ROS의 상호작용

산화물 촉진하는 물질은 주로 활성산소종으로는 superoxide O₂⁻, hydroxyl radical ·OH, H₂O₂ 등을 들 수 있다. ·NO도 산화적 스트레스를 유발시키는 free radical로 활성질소종(reactive nitrogen species; RNS)라고도 불리는데 특히 superoxide와 결합하면 가장 독성이 강한 peroxyntrite (ONOO-)가 된다. H₂O₂는 free radical은 아니지만 분해과정에서 superoxide와 hydroxy radical을 유도하여 산화적 스트레스를 유발시킨다. 이러한 세포내 ROS를 제거하는 항산화제에 해당하는 것으로는 과산화수소 분해효소(catalase)와 superoxide dismutase (SOD), glutathione, glutathione peroxidase (GSH) 등을 들 수 있다. 자유라디칼(free radical) 들은 전자쌍을 이루지 못해 매우 불안정한 높은 에너지전위를 가지고 있어 전자를 가져올 수 있는 물질들을 무작위 공격하여 세포의 지질막, 단백질, DNA 등의 무차별 파괴를 가져올 수 있어 암, 죽상경화증, 염증, 퇴행성 뇌질환, 노화 등 많은 질병의 병인기전에 관여하고 있다.

일반적으로 산화적 스트레스라 하면 ROS의 생성과 소멸의 생리적인 균형이 와해되어 세포의 손상을 초래할 때를 이른다. NO는 특히 낮은 농도에서 뇌에서 신경전달물질로서 작용하거나 혈관 평활근 이완의 기능을 수행하기도 하는 등 기본적인 생리적인 기능 수행에 필수적이다. 다른 ROS도 기저 농도에서 생리적인 기능을 수행하는 것으로 알려져 있다¹⁾.

이러한 활성산소종이 생성되는 세포의 주요한 소기관은 미토콘드리아이다. 미토콘드리아에서 전자전달계를 통한 전자의 이동 과정을 거쳐 O₂가 두 분자의 H₂O로 환원되는 반응에서 정상적인 상태에서도 ROS가 일부 발생하게 된다. 그러나 과도하게 ROS가 생성시키는 병적 상황 및 ROS를 소멸시키는 항산화기작에 결합이 오게 되면 산화적 손상과 관련된 질병들이 유발되게 된다. 세포내 칼슘의 병적 부하는미토콘드리아에서의 ROS 생성의 병적 증가를 유발시킬 수 있다. ER에서의 칼슘 방출량이 과도하게 많고 지속적인 경우 미토콘드리아의 칼슘 과부하는 미토콘드리아의 mtPTP를 열어 미토콘드리아 막전압을 탈분극시키고 mitochondria swelling을 유발시키며 이에 따른 미토콘드리아의 전자전달계 이상은 불완전한 O₂의 환원작용을 유발시키고 이 과정에서 활성산소종이 많이 발생하게 되어 세포의 산화적 손상이 발생하게 된다^{10, 11)}.

미토콘드리아-의존성 세포고사 (apoptosis)

미토콘드리아 막에 미토콘드리아 투과성 변화 구멍

(mitochondrial permeability transition pore, mtPTP)이 형성되면 미토콘드리아 기능 이상을 초래하게 되는데 mtPTP 형성 이전에는 병적으로 증가한 미토콘드리아 칼슘이 결정적인 요인으로 작용하며 그 이전에는 Cyclophilin D과 VDAC이 관여하는 것으로 알려져 있으나 자세한 작용기전은 아직 잘 밝혀져 있지 않다.²⁴⁻³⁰⁾ 미토콘드리아 mtPTP는 VDAC과 Bcl family를 포함한 몇 가지 미토콘드리아 단백질로 구성되는 것으로 보인다¹²⁾. 이러한 mtPTP의 형성은 미토콘드리아 swelling, 미토콘드리아 막전압의 탈분극, ATP 생성 장애, ROS 생성을 동반하며 세포고사를 유발시킨다.

미토콘드리아 내막의 정상적인 막전압은 대략 -180 mV에서 -60 mV에서 -90 mV의 일반적 다른 세포막전압에 비해 정상적인 상태에서 상당한 과분극(hyperpolarization)을 유지한다. 이는 전자전달계를 통한 전자의 이동과 연계된 H⁺의 내막의 유출과 관련이 있다. 미토콘드리아 전자전달계의 손상에 의하여 충분한 전자공여가 이루어지지 않으면 O₂의 불완전한 환원으로 인해 ROS 생성이 증가하며 이는 전자전달계에서 세포 내막 밖으로 H⁺의 이동에 장애를 주고, 미토콘드리아 내막을 통한 양성자 농도경사의 소실은 ATP 합성에 장애를 초래된다.

미토콘드리아의 기능 손상에 따라 형성된 mtPTP를 통하여 미토콘드리아 내의 cytochrome c가 세포질 내부로 유출하게 되면 세포고사가 유도된다. 이 cytochrome c는 시스테인 단백질분해효소(cysteine protease)인 caspase 9를 활성화하고 이어서 caspase 3가 활성화되며 이는 세포 구조단백질들을 파괴하고, DNA 복구효소인 PARP와 같은 세포의 생존에 중요한 단백질들을 파괴하여 세포고사를 유발시킨다. 이것이 미토콘드리아-의존성 세포사멸사의 과정이다.^{1, 2, 12)}

미토콘드리아와 ER 스트레스

ER은 칼슘저장고로서 세포내 칼슘 신호전달계에 기여하는 기능 외에도 새로 생성된 막단백질 혹은 분비단백질의 post-translational folding과 processing과정을 담당하는 세포내 소기관으로서의 중요한 기능이 있다. 후자의 과정은 전적으로 칼슘의 존재 반응으로 정확한 기능 수행을 위하여 ER 내의 높은 칼슘 농도가 요구된다^{13, 14)}. ER에 칼슘을 재보충하는 SERCA 펌프의 저해제인 thapsigargin을 사용하여 ER 칼슘을 고갈시키면 실제로 unfolded protein response (UPR)과 세포고사가 모두 나타난다. 이러한 ER의 기능이 손상되어 ER 내강에 unfolded protein이 축적되는 현상을 ER 스트레스라 하며 세포는 이를 극복하기 위하여 UPR이라는 보상기전이 작동하게 된다. ER의 과도한 칼슘 방출로 인해 ER 내 칼슘이 고갈되거나 단백질 처리과정의 부하가 지나치게 증가하여 folding 과정이 정상적으로 이루어지지 않아 unfolded protein의 축적이 매우 심각하고 지속적이어서 ER 기능을 복구하지 못하면 ER 스트레스-유도성 세포고사 과정이 작동하게 된다^{15, 16)}.

UPR의 주요 목적은 ER에서 처리될 단백질의 부하를 줄여 ER 기능을 복구하는데 있으며 이에에는 double-stranded RNA-

activated protein kinase (PKR)-like ER kinase (PERK), 전사인자 ATF4와 ATF6, inositol-requiring enzyme (IRE1) 등 다양한 효소와 전사인자가 관여한다. 정상시에는 PERK, ATF6, IRE1은 ER chaperone glucose regulated protein 78 (GRP78, Bip)과 결합되어 있어 활성이 억제되어 있다가 ER에 unfolded protein이 축적되면 GRP78은 PERK, ATF6, IRE1으로부터 해리되어 축적된 unfolded protein과 결합하여 refolding를 촉진시킨다. 이 때 GRP78과 분리된 PERK나 IRE1은 oligomerization되고 자가인산화되고 ATF6는 단백질분해효소에 의해 분리되어 하나의 전사인자로 작용하게 된다. PERK는 eukaryotic initiation factor 2의 알파 성분(eIF2 α)을 인산화시켜 더 이상의 단백질 합성의 개시과정을 중단시켜 ER 내의 단백질 처리과정의 부하를 줄이려 한다. IRE1이 인산화되면 핵산분해효소로서 작용하여 XBP의 mRNA 전사과정에서 frame shift를 유발시켜 spliced XBP mRNA 발현 증가를 유도하게 되고, XBP의 증가는 GRP78 (Bip) 등의 ER chaperone 단백질의 전사를 활성화시켜 UPR를 증진시킨다¹⁷⁾. GADD34는 eIF2 α 를 탈인산화시켜 단백질합성과정의 재복구에 관여한다. ER 기능 복구에 실패하고 ER 스트레스가 지속되면 ER 스트레스-유도 세포고사의 주요한 GADD153 (CHOP)이 활성화되고¹⁸⁾, 또한 단백질분해효소인 caspase 12가 관여하게 된다¹⁹⁾.

이상과 같이 ER이 세포고사에 이르게 하는 과정은 두 가지가 있는데 하나는 ER의 칼슘 방출이 미토콘드리아에 칼슘 부하를 유도하여 mtPTP를 통해 cytochrome c를 방출하여 caspase 9가 활성화되고 차례로 caspase 3을 활성화시켜 세포고사과정을 유도하는 소위 미토콘드리아-의존성 세포사멸사(mitochondria-dependent apoptosis)에 관여하는 것이고, 다른 하나는 위에서 기술한 ER 스트레스에 의한 세포고사 (ER stress-induced apoptosis)이다. 이는 ER과 미토콘드리아의 상호작용 속에서 존재하는 세포고사 신호전달계의 네트워크로 볼 수 있다.^{1, 2, 4)}

미토콘드리아-의존성 세포고사 (apoptosis)

신경세포의 시냅스에서 글루타메이트(glutamate)의 생리적인 농도는 신경세포의 원활하고 정밀한 기능을 위해서 필수적이지만, 병적인 상황에서의 발생한 고농도의 glutamate는 신경세포 손상/사멸의 원인이 되며 이중 특히 산화적 글루타메이트 독성(oxidative glutamate toxicity)는 그 주요한 기전으로 평가되고 있다. 과도한 glutamate로 인한 신경세포 손상 및 사멸에서 오는 신경흥분 독성(excitotoxicity) 혹은 glutamate 독성 관련 뇌질환으로는 급성질환으로 뇌졸중(stroke), 뇌손상(brain trauma), 간질경련(seizure), 만성질환으로는 ischemic reperfusion injury(일시적 뇌허혈손상), Alzheimer's disease(알츠하이머병), Parkinson's disease(파킨슨병), ALS (amyotrophic lateral sclerosis, 근위축성 측삭 경화증), MS (multiple sclerosis 다발성 경화증) 등의 퇴행성 뇌질환 등을 들 수 있다^{20, 21)}. 고령화 사회에서 증가하는 퇴행성 뇌질환의 병인기전을 이해하고 그 예방 및 치료제 개발의 표적 지표물질을 발굴하기 위해서 신경세포 사

멸에 있어서의 산화적 글루타메이트 독성의 역할과 신호전달기전 규명에 관한 연구는 매우 필요하다.

신경세포의 산화적 손상기전의 중요한 예로서 뇌졸중은 혈전 경색에 의한 혈액공급이 차단되거나 뇌출혈로 인해 신경세포가 손상/사멸되는 과정에서 손상된 신경세포막은 투과도가 커지며 이를 통해 glutamate가 세포 밖으로 다량 유출된다. 이는 주변 신경세포의 NMDA 이온통로/수용체를 통하여 다량의 칼슘이온을 세포내로 유입시켜 calpain 등 칼슘-의존성 단백질분해효소를 활성화를 통해 세포사멸을 유발시키거나 ER을 통한 칼슘-의존성 칼슘방출(CICR)과 미토콘드리아 칼슘 증가에 의한 미토콘드리아-의존성 세포고사사 산화적 손상을 유도한다.

또 다른 기전으로, 과도한 glutamate가 뇌조직에 유출이 되면 신경세포 주변에 높아진 glutamate의 농도로 인하여 신경세포막에 존재하는 glutamate-cysteine antiporter 운반체가 억제되고 이는 세포질 내 cysteine 결핍을 유도하며 이어서 발생하는 미토콘드리아의 cyteine 결핍은 신경세포의 강력한 항산화물질인 anti-oxidant tripeptide (gamma-L-glutamyl-L-cysteinylglycine) glutathione의 미토콘드리아 내 합성을 억제한다. 생체는 항산화 미토콘드리아의 전자전달계 반응을 통하여 활성 산소종이 정상적으로도 소량 발생하지만, 산화적 스트레스를 유발하는 신호계와 항산화물질 및 항산화효소에 의한 방어적 신호계가 균형을 이루게 되어 있어 산화적 스트레스의 조절이 이루어진다. 그런데 glutamate toxicity에 의한 신경세포의 주요 항산화물질인 glutathione의 합성 장애는 결국 증가한 ROS에 의한 mitochondria의 손상을 유도한다^{22, 23}. 이상과 같이 glutamate toxicity와 관련된 산화적 스트레스에 있어서 미토콘드리아의 기능 손상과 미토콘드리아-의존성 세포사멸 신호전달계의 조절을 통한 신경세포의 손상 및 사멸 억제는 이와 관련된 뇌졸중, 간질 및 치매, 파킨슨 병 등의 퇴행성뇌질환의 예방 및 치료제 개발의 타겟이 될 수 있다.

미토콘드리아를 표적화하여 미토콘드리아 내의 항산화 방어제의 활성을 증가시켜 인체의 항산화 용량을 증가시킬 수 있다면 산화적 손상과 관련된 질병을 예방하거나 치료할 수 있을 것이다. 미토콘드리아에서 비정상적으로 증가된 ROS 생성을 감소시키거나 항산화물질이나 항산화효소의 활성을 증가시키는 방향으로 작용할 수 있는 타겟 발굴은 매우 중요하다. VDAC이나 calcium uniporter를 통한 미토콘드리아 내부로의 칼슘 이동이 원충작용을 넘어설 때 미토콘드리아 내부에서 과도하고 지속적으로 증가된 칼슘이온에 대한 내성 시스템이 존재한다면 미토콘드리아 전자전달계의 이상을 막을 수 있을 것이다.

다음 단계에서 mtPTP의 개폐를 조절할 수 있거나, mtPTP를 통해 세포질 내부로 유출된 cytochrome c의 저해제를 개발할 수 있거나 그 하위 신호전달계 단백질분해효소 caspase 저해제를 개발할 수 있다면 미토콘드리아 의존성 세포사멸 신호전달계를 억제할 수 있을지도 모른다^{5, 24}. 그러나 이러한 세포고사 자체가 손상된 세포를 사멸시켜 조직 전체의 생존과 건강을 유지하려는 순기능이 있는 만큼 세포고사자체의 방지를 단순하게 접근하는 것은 효과적인 치료법이 될 수 없을 수 있다. 세포사멸사

과정으로 방향을 틀기 전에 그 신호를 억제하는 것이 효과적인 방법이 될지도 모른다.

세포내 칼슘이 적당한 농도로 짧게 peak 형태로 증가가 되어야 신경가소성 유도를 통해 인지기능이 잘 작동하는데, 너무 많은 칼슘이 지속적으로 증가하는 형태에서 칼슘 부하는 세포 사멸을 유발시킨다. 특히 이러한 칼슘 유입과 관련된 이온통로의 발현이 많은 신경세포에서는 그 영향력이 클 것이다. 세포막 수준에서 세포내 칼슘이 과도로 증가하지 않도록 하기 위해서는 NMDA 수용체 차단제, 칼슘통로 차단제가 필요할지도 모른다. 그러나 NMDA 수용체와 칼슘 통로는 그 자체가 신경세포의 생리적인 기능을 완수하기 위해 필수적이기 때문에 그 차단제의 단순한 사용은 많은 부작용을 초래할 것이다. 이렇게 칼슘 기능의 양면성은 신약 개발의 타겟 설정을 더욱 난해하게 하는 점이 있으나 구형성 칼슘과 관련 신호전달물질들의 정밀하고도 역동적인 상호작용에 대한 이해는 신약 개발의 실마리를 풀 수 있게 하리라 본다.

고령화 시대가 도래하여 노인 인구가 급속도로 증가하고 이에 따라 퇴행성뇌질환 치료제에 대한 수요와 의료시장은 확장되어 가지만 아직까지 퇴행성 뇌질환에 대한 확실한 치료제는 개발되지 못한 실정이다. 이를 감안할 때 미토콘드리아 활성제어기술과 산화적 스트레스 제어시스템, ER과 미토콘드리아에서 공통적 신호전달계로 작용하는 칼슘이온의 신호조절에 관한 심도 있는 연구는 퇴행성뇌질환의 신약개발연구의 한 축으로서 매우 전망이 높은 분야가 될 것이다.

참 고 문 헌

- 1) Csordás G, Hajnoózy G. SR/ER-mitochondrial local communication: Calcium and ROS. *Biochem Biophys Acta* 2009;1787(11):1352-62.
- 2) Rizzuto R, Marchi S, Bonora M, Aguiari P, Bononi A, Stefani DD, et al. Ca²⁺ transfer from ER to mitochondria: When, How and Why. *Biochim Biophys Acta* 2009;1787(11):1342-51.
- 3) Paschen W, Mengesdorf T. Endoplasmic reticulum stress response and neurodegeneration. *Cell Calcium* 2005;38:409-15.
- 4) Ruiz A, Matute C, Alberdi E. Endoplasmic reticulum Ca²⁺ release through ryanodine and IP₃ receptors contributes to neuronal excitotoxicity. *Cell Calcium* 2009;46(4):273-81.
- 5) Baumgartner HK, Gerasimenko JV, Thorne C, Ferdek P, Pozzan T, Tepikin AV, et al. Calcium elevation in mitochondria is the main Ca²⁺ requirement for mitochondrial permeability transition pore (mPTP) opening. *J Biol Chem* 2009;284:20796-803.
- 6) Merkwirth C, Langer T. Mitofusin 2 builds a bridge between ER and mitochondria. *Cell* 2008;135:1165-7.
- 7) Brito OM, Scorrano L. Mitofusin 2 tethers endoplasmic

- reticulum to mitochondria. *Nature* 2008;456:605-11.
- 8) Sanz-Blasco S, Valero RA, Rodríguez-Crespo I, Villalobos C, Núñez L. Mitochondrial Ca²⁺ overload underlies A β oligomers neurotoxicity providing an unexpected mechanism of neuroprotection by NSAIDs. *PLoS ONE* 2008;3:e2718.
 - 9) Jouaville LS, Pinton P, Bastianutto C, Rutter GA, Rizzuto R. Regulation of mitochondrial ATP synthesis by calcium: evidence for a long-term metabolic priming. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:13807-12.
 - 10) Krieger C, Duchen MR. mitochondria, Ca²⁺ and neurodegenerative disease. *Eur J Pharmacol* 2002;447:177-188.
 - 11) Giorgi G, Romagnoli A, Giorgi C, Pinton P, Rizzuto R. Ca²⁺ signaling, mitochondria cell death. *Curr Mol Med* 2008;8:119-130.
 - 12) Berg JM, Tymoczko TL, Stryer L. *Biochemistry*. W.H. Freeman, 5th eds. 2003; pp. 491-526.
 - 13) Lodish HF, Kong N, Wikstrom L. Calcium is required for folding of newly made subunits of the asialoglycoprotein receptor within the endoplasmic reticulum. *J Biol Chem* 1992;267:12753-760.
 - 14) Kuznetsov G, Brostrom MA, Bbrostrom CO. Demonstration of a calcium requirement for secretory protein processing and export. Differential effects of calcium and dithiothreitol. *J Biol Chem* 1992;265:3932-39.
 - 15) Marciniak SJ, Ron D. Endoplasmic stress signaling in disease. *Physiol Rev* 2006; 86:1133-49.
 - 16) Verkhratsky A. Physiology and pathophysiology of the calcium store in the endoplasmic reticulum of neurons. *Physiol Rev* 2005;85:201-79.
 - 17) Yoshida H, Matsui T, Yamamoto A, Okada T, Mori K. XBP1 mRNA is induced by ATF6 and spliced by IRE1 in response to ER stress to produce a highly active transcription factor. *Cell* 2001;107:881-891.
 - 18) Oyadomari S, Mori M. Roles of CHOP/GADD153 in endoplasmic reticulum stress. *Cell Death Differ* 11 2004;11:381-89.
 - 19) Nakagawa T, Zhu H, Miroshima N, Li E, Xu J, Yankner BA, Yuan JY. Caspase-12 mediated endoplasmic reticulum-specific apoptosis and cytotoxicity by amyloid-beta. *Nature* 2000;403:381-9.
 - 20) Gonsette RE. Neurodegeneration in multiple sclerosis: the role of oxidative stress and excitotoxicity. *J Neurol Sci* 2008;274:48-53.
 - 21) Mosley RL, Benner EJ, Kadiu I, Thomas M, Boska MD, Hasan K, et al. Neuroinflammation, oxidative stress and pathogenesis of Parkinson's disease. *Clin Neurosci Res* 2006;6:261-81.
 - 22) Ha JS, Park SS. Glutamate-induced oxidative stress, but not cell death, is largely dependant upon extracellular calcium in mouse neuronal HT22 cells. *Neuroscience* 2006;393:165-9.
 - 23) Seo YJ, Lee JW, Lee EH, Lee HK, Kim HW, Kim YH. Role of glutathione in the adaptive tolerance to H₂O₂. *Free radical Biology & Medicine* 2004;37:1272-81.
 - 24) Schaffer SW, Suleiman MS. Mitochondria, advances in biochemistry in health and disease. Springer 2007:241-70.
 - 25) Martinou JC, Desagher S, Antonsson B. Cytochrome c release from mitochondria: all or nothing. *Nat Cell Biol* 2000;2(3):E41-3.
 - 26) Giacomello M, Drago I, Pizzo P, Pozzan T. Mitochondria Ca²⁺ as a key regulator of cell life and death. *Cell Death Differ* 2007;14(7):1267-74.
 - 27) Hajnóczky G, Csordás G, Das S, Garcia-Perez C, Saotome M, Sinha Roy S, et al. Mitochondrial calcium signaling and cell death: approaches for assessing the role of mitochondrial Ca²⁺ uptake in apoptosis. *Cell Calcium* 2006;40(5-6):553-60.
 - 28) Csordás G, Renken C, Varnai P, Walter L, Weaver D, Buttle KF, et al. Structural and functional features and significance of the physical linkage between ER and mitochondria. *J Cell Biol* 2006;174(7):915-21.
 - 29) Basso E, Fante L, Fowlkes J, Petronilli V, Forte MA, Bernardi P. Properties of the permeability transition pore in mitochondria devoid of Cyclophilin D. *J Biol Chem* 2005;280(19):1858-61.
 - 30) Schlattner U, Dolder M, Wallimann T, Tokarska-Schlattner M. Mitochondrial creatine kinase and mitochondrial outer membrane porin show a direct interaction that is modulated by calcium. *J Biol Chem* 2001;276(51):48027-30.