

류마티스질환에서 후성유전체 변화

이주하¹ · 김해림² · 이상현² · 김호연²

가톨릭대학교 의과대학 내과학교실 류마티스내과¹, 건국대학교 의과대학 내과학교실 류마티스내과²

Epigenetic Modification in Systemic Rheumatic Diseases

Jennifer Lee¹, Hae-Rim Kim², Sang-Heon Lee², Ho-Youn Kim²

*Division of Rheumatology, Department of Internal Medicine, College of Medicine,
The Catholic University of Korea¹, Division of Rheumatology, Department of Internal Medicine,
College of Medicine, Konkuk University², Seoul, Korea*

Epigenetics is defined as an inheritable effect that influences gene activity, but does not involve a change in DNA sequence. Epigenetic gene regulation has an essential role in determining individual gene function and activity in each specific cell type. Epigenetics includes four predominant mechanisms: DNA methylation, histone modification, nucleosome positioning and microRNA (miRNA). These mechanisms influence gene expression, cell differentiation, proliferation, DNA repair and replication. Epigenetic modifications are far more sensitive to environmental stimuli than DNA sequence alterations. Candidate gene approaches have identified a small set of genes that undergo epigenetic changes, such as aberrant DNA demethylation, histone modification, as well as regulation by miRNA in rheumatic diseases. It is well known that T cells from patients with SLE or RA, as well as synovial fibroblasts from individuals with RA, have sequences undergoing DNA hy-

pomethylation and/or histone modifications. In addition, miRNA regulates the gene expression by pairing with its target mRNAs and is often deregulated in systemic rheumatic diseases. High-throughput approaches are necessary for screening the epigenetic alterations, and it is essential to screen the specific tissue and cell types that are relevant to the disease pathogenesis. Identification of cell-specific targets of the epigenetic deregulation in rheumatic disorders will provide clinical markers for the diagnosis, disease progression and response to therapy. Our understanding of epigenetics is in its infancy. New generation of pharmaceuticals, which manipulate the epigenome to the switch targeted genes on or off are under investigation. The new field of repairing or optimizing the epigenome through epigenetic modifier and/or diet is wide open.

Key Words. Epigenomics, DNA methylation, Histone code, MicroRNAs, Autoimmune diseases

후성유전학(Epigenetics)이란?

후성유전학은 1940년 초반에 Conrad Waddington에 의해 처음 소개되었지만 최근에 들어서야 활발하게 연구되고 있는 학문으로서, DNA의 염기서열 변화 없이 유전체 기

능이 변화를 일으키는 기전을 밝히고, 이를 가역적으로 조절하고, 다음 세대로 유전되는 현상을 연구하여, 질병의 병인을 밝히고 치료 기법을 연구하는 학문이다 (1). 2003년 인간 게놈 프로젝트가 완료된 이후 그 동안 베일에 쌓여

<Received : April 19, 2013, Revised (1st: April 22, 2013, 2nd: May 2, 2013), Accepted : May 4, 2013>

Corresponding to : Ho-Youn Kim, Division of Rheumatology, Department of Internal Medicine, Konkuk University, 120-1 Neungdong-ro, Hwayang-dong, Gwangjin-gu, Seoul 143-729, Korea. E-mail : ho0919@catholic.ac.kr

pISSN: 2093-940X, eISSN: 2233-4718

Copyright © 2013 by The Korean College of Rheumatology

This is a Free Access article, which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

있던 인간 유전체의 염기서열과 유전자변이에 대한 정보가 속속 밝혀짐에 따라 유전자 기능에 대한 의문들이 하나 둘씩 벗겨지게 되었다. 인간 유전자 지도의 완성으로 모든 질병의 원인과 치료에 획기적인 변화가 가능할 것으로 기대되었으나, 이 유전자 지도만으로는 인간의 다양성을 설명하기에는 너무나 부족하다는 것이 밝혀졌다. 유전자 결합으로 인하여 발생하는 여러 질병들도 사람에 따라 어떤 경우에는 병이 나타나고, 또 다른 경우에는 전혀 발병하지 않아, 아직 잘 밝혀지지 않은 여러 환경적인 요인들이 질병의 발병에서 중요한 역할을 할 것으로 생각되었다. 그리하여 환경적인 요인에 의해 조절되는 후성유전체가 중요한 개념으로 대두되었다.

후성유전체의 실체는 우리 일상 생활에서 흔히 관찰된다. 예를 들어, 동일 유전자를 가진 일란성 쌍둥이가 전혀 다른 환경에서 성장하면, 얼굴 모양과 성격이 몰라보게 달라지고 질병의 발생도 달라지게 된다. 동일 유전자를 가진 개가 다른 털 색깔을 가지고 태어나고, 계절에 따라 똑같은 꽃도 그 색깔이 다르게 변하는 현상도 후성유전체에 의해 일어나는 현상으로 설명되고 있다. 후성유전체에 의해 DNA 염기서열 변화 없이도 고유 유전 기능이 주로 환경에 의해 변경될 수 있고, 그 변화된 유전체 기능이 다음 세대로 전달될 수 있다. 즉, 환경적 요인이 유전자에 흔적을 남기고, 그 흔적이 다음 세대로 유전되어, 유전된 세포에서도 대물림된 유전자가 그 환경의 흔적을 기억하게 된다는 것이다. 그렇다면 과연 어떤 환경적인 변화들이 후성유전체에 변화를 초래하는 것인가? 왜 동일 유전자 혹은 유사한 유전자를 가진 사람들이 어떤 경우에는 암이 발생하고, 다른 경우에는 자가면역 질환이 발생하는 것인가? 일란성 쌍생아의 경우, 동일한 DNA 염기 서열을 가지고 있지만 서로 다른 여러 환경적인 스트레스에 의해 DNA methylation이

나 Histone modification의 양상이 달라지게 되고, 이것이 동일 류마티스질환의 발생률이 달라지는 원인이 된다. 일란성 쌍둥이에서 류마티스질환이 동시에 발병할 확률은 약 25%를 넘지 못한다(Table 1). 물론 쌍둥이가 아닌 친척에서의 류마티스관절염 동시발생을 보다는 현저히 높지만, 동일 유전자를 가진 일란성 쌍둥이라는 점을 감안한다면 환경적인 요소가 질환의 발병에 매우 중요한 요소라는 것을 시사하는 것이라 하겠다.

인간은 후성유전체 변화를 일으키는 환경적인 요인에 일상생활에서 거의 매일 노출되고 있다. 이러한 환경적인 요인은 매일 먹는 음식물, 특히 인공 조미료나 화학 물질과 담배 연기 그리고 직장이나 생활 스트레스 등을 포함한다. 그 외에도 거의 매년 겪고 있는 감기나 병원체 감염, 호르몬 변화, 약물 등도 후성유전체 변화를 일으킬 수 있는 환경적 요인에 포함된다. 또한 나이에 따른 노화, 계절에 따른 기온변화나 중금속 혹은 방사선 노출 등도 중요한 환경적인 요인으로 알려지고 있다. 인간은 태어날 때부터 성인이 되고 생을 마감할 때까지 후성유전체 변화의 환경적인 원인에 노출되고 있다(Figure 1).

이렇게 여러 환경 요인에 따라 다른 종류의 질병이 발생하는 원인을 후성유전학의 개념으로 해석하려는 노력은 최근 미국과 유럽, 일본 및 중국에서 게놈시대 이후(post genome period) 새로운 개념의 의학 연구와 신약 개발을 위해 앞 다투어 정부 차원에서 전략적이고 계획적으로 지속되고 있다.

후성유전체 발생 기전

후성유전체는 유전체 내적인 구성 성분에 변화를 초래하여 고유 유전자 발현에 영향을 끼칠 뿐만 아니라, 유전자의 고유의 기능을 새롭게 결정하고 그 기능을 후세에 대물림하게 된다. 그렇다면 후성유전체 변화는 과연 어떤 기전에 의해 발생할까? 유전자 발현을 억제하거나 활성화하는 후성유전체 발생기전은 크게 다음과 같은 네 가지 기전으로 설명된다(Figure 2).

- 1) Methylation: DNA의 생화학적 변화
- 2) Histone modification: DNA가 싸고 있는 histone의 변형
- 3) Nucleosome positioning
- 4) RNA interference: microRNA (miRNA)에 의한 전사 후 발현 조절(posttranscriptional modification)

이 네 가지 후성유전체 변화는 세포 분열에 따라 후세에 대물림되고 세포의 형태와 기능 유지에도 작용하게 된다. 최근 연구에 따르면 이 후성유전체 변화는 세포의 성장과 증식 그리고 세포 계열화 등의 핵심적인 과정에 관여하여 세포 분열 표적 유전자의 transcriptional regulatory machinery의 구성에 연관되어 있음을 보여 주고 있다.

DNA methylation

DNA methylation은 후성유전체 변화 중 가장 오래 전부

Table 1. Concordance rate of autoimmune diseases between monozygotic twins

Disease	Concordance rate	References
Systmeic lupus erythematosus	11 ~ 25%	(2, 3)
Rheumatoid arthritis	12 ~ 22%	(4-6)

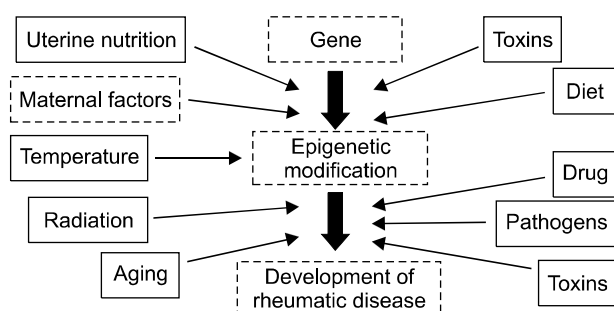


Figure 1. Environmental factors affecting epigenetic modification.

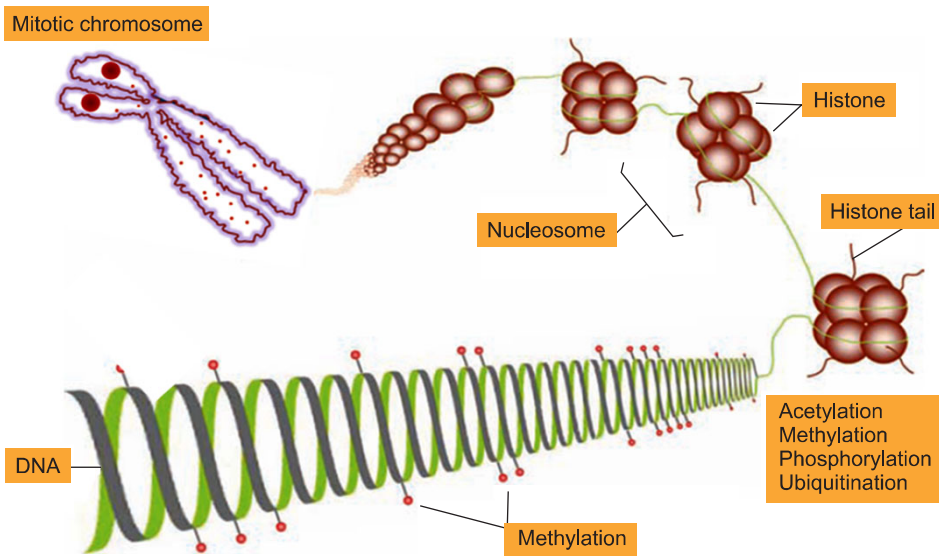


Figure 2. Mechanism by which epigenetic changes are inherited.

터 널리 알려진 기전이다. DNA methylation은 게놈의 여러 다른 부위에서 일어나며 배아형성, 세포분화 그리고 조직 발생에 매우 중요하다. 특정 조직이나 세포 종류에 따라 DNA methylation이 역동적으로 다양하게 변하게 되는데, DNA methylation이 정상적으로 작동하지 않을 때 질병이 일어나게 된다. DNA methylation이란 cytosine이 DNA methyltransferase (DNMT)에 의해 하나의 methyl group을 받아 5-methyl-cytosine 변하는 과정을 말한다. 정상 세포에서는 cytosine-guanine (CpG) dinucleotide의 약 70~80% 가량에 DNA methylation이 일어나 있고 주로 유전자 발현을 억제하는데 관여하고 있다. 어떤 요인에 의해 methylation된 CpG island에 demethylation이 일어나면 억제된 유전자 발현이 증가되어 세포가 활성화되거나, 비정상적인 기능 변화가 일어나게 된다. DNA methylation은 세포나 조직의 특성에 따라 methylation과 demethylation이 활발하게 가역적으로 일어나는 특성을 가지고 있다. DNA methylation이 일어나면 전사가 억제되고, 반대로 unmethylated 상태에서는 전사가 일어나게 된다. 여러 전사인자들은 주로 CpG 서열에서 인식된다. 그래서 이 서열이 methylation되면 전사인자들은 DNA와 결합하지 못하게 된다. 또 다른 전사 억제기전으로 methylated CpG 서열에만 특이적으로 결합하는 단백질들이 존재한다. 이들은 methyl-CpG-binding domain (MBD)을 가지고 있어 MBD가 methylated 서열을 인식하고 co-repressor complex를 형성하여 chromatin 구조를 변화시키는 신호를 제공하는 기능을 하게 된다 (7). 이러한 연구를 배경으로 후성유전체 변화는 자가 면역 질환의 생물표지자로서 임상에 응용이 가능하게 되었다. 그리고 세포의 분화 과정이나 면역 세포의 활성화 과정에서 passive demethylation 혹은 active demethylation에 관여하는 물질, 즉 DNA methylation-associated protein에 관한 연구를 통해 질병의 예후나 치료 전 후의 반응성 평가가 가능해졌다.

DNMT를 억제하는 물질이나 약제들이 비정상적인 hypermethylation을 제거하여 질병 치료에 이용되거나, demethylation을 일으켜 면역 세포의 분화를 촉진하는데 이용되기도 한다 (8).

Histone modification

Nucleosome은 chromatin의 기본단위로서 histone과 DNA의 복합체이며, 각 세포당 천 만개 정도로 존재한다. Histone은 DNA가 싸고 있는 conserved protein으로 4개의 core protein (H2A, H2B, H3 and H4)과 linker histone (H1 and H5)로 나뉜다. 각 2개씩의 histone class (H2A, H2B, H3 and H4)가 octamer의 구조로 DNA를 감싸고 있다. Histone은 acetylation, methylation, ubiquitination, phosphorylation, sumoylation, deamination/citrullination, ADP-ribosylation, proline isomerization 등으로 변화되어 필요에 따라 그 고유의 기능인 전사조절, DNA복구, DNA복제, chromosomal condensation 등의 중요한 기능을 수행하고 있다 (9). 가장 잘 알려진 histone modification은 lysine acetylation 반응이다. 이 반응은 histone acetyltransferase (HAT) 혹은 histone deacetylase (HDAC)에 의해 lysine (K) residue에서 발생한다. HAT는 lysine에 acetyl group을 붙여 유전자 발현을 촉진시키고, HDAC는 lysine tail로부터 acetyl group을 제거함으로써 유전자 발현을 억제한다. Acetylation뿐 아니라 methylation도 histone modification에 관여하고 있다. 예를 들어, H3K9 acetylation은 전사를 증가시키고, H3K9 methylation은 전사를 억제한다 (10). 이렇게 histone tail에서 발생하는 여러 posttranslational modification에 의해 유전자 발현이 활성화되거나 제어되는 것이다.

Nucleosome positioning

앞서 언급한 바와 같이 nucleosome은 chromatin의 기본 단

위로서 histone과 DNA의 복합체이다. Nucleosome positioning 양상은 전사조절에서 중요한 역할을 한다. 즉, nucleosome이 얼마나 transcription start sites (TSSs)에 가까이 붙어 있느냐에 따라 transcription machinery의 작동이 결정된다는 것이다 (11). 예를 들어 nucleosome이 TSS의 upstream에 있으면 전사인자가 TSS에 결합하는 것을 방해하여 유전자 발현이 일어나지 못한다. 또한 DNMT가 nucleosome-bound DNA에 쉽게 작용하기 때문에, nucleosome이 TSS upstream 붙어 있는 유전자는 methylation 기전에 의해서도 전사가 억제된다 (12).

MicroRNA

MiRNA는 18-23 염기쌍의 길이로 구성되고 유전자 발현의 posttranscriptional regulator로서의 기능을 한다. 대부분의 miRNA는 intergenic region이나 protein-coding gene의 intron 으로부터 전사된다. 약 1/3의 인체 transcriptome이 1,000여 종류의 miRNA에 의해 조절된다고 한다. miRNA의 전사억제와 target degradation은 miRNA strand와 3'-UTR target 자리간의 상보성의 정도에 따라 이루어진다. miRNA는 또한 target 유전자의 promoter 자리의 DNA methylation이나 histone modification을 일으킬 수 있다. 이런 기능은 RNA-induced transcriptional silencing (RITS) complex라는 단백질 복합체의 도움으로 일어난다. RITS complex는 miRNA와 결합하여 H3K9 methylation 같은 posttranslational modification을 일으켜 target 유전자의 전사를 억제한다 (13).

후성유전체와 류마티스질환

류마티스질환은 유전적 요인과 환경적 영향이 동시에 병인으로 작용하는 복합 질환으로 역학이나, 병리학적인 변화 혹은 원인 물질이 매우 다양하다. 비록 면역학적인 기전이 비슷하더라도, 여러 다양한 유전자 변화가 연관되어 있을 수 있어 이에 대한 연구(유전자 변이, 다양성, 그리고 환경적인 요인 등)가 오랫동안 이루어져 왔다. 최근 류마티스질환에서 후성유전체 현상에 대한 연구 결과가 나오고 있지만, 데이터 스케일이나 내용적인 측면에서 아직 한계가 있다.

류마티스질환에서 흥미로운 것은 세포 분화 과정에서 유전자 발현의 제한 양상이 세포 특이적으로 관찰되며, 이 과정이 후성유전학적인 기전에 의해 조절된다는 것이다. 즉, 특정 질병 병인 세포에서는 그 세포에 특이적인 histone modification이나 DNA methylation양상을 보인다는 특징이 있다. 예를 들면, naive T cell이 type 1 helper T (Th1) cell로 분화할 때에는 interferon (IFN)- γ promoter에 histone acetylation변화가 일어나는데, 이러한 변화는 histone과 DNA간의 친화성을 감소시켜 전사인자의 결합을 증가시키고, Th1 cell에서의 IFN- γ 생산을 촉진시키게 된다. 즉, 류마티스질환에서 후성유전체를 연구하려면, 특정 질병 병인 세포를 분리/확인하고, 이 세포에 초점을 맞추어 후

성유전체 변화를 조사하는 것이 중요하다는 것이다. 류마티스질환에서 현재까지 알려진 후성유전학적 변화는 Table 2에 요약되어 있다.

DNA methylation과 류마티스질환

후성유전체 변화의 기전 중에서는 DNA methylation이 가장 많이 연구 되어 왔다. 전신홍반루푸스와 류마티스관절염 환자에서 표적 병인세포의 DNA promoter부위에서 global hypomethylation이 관찰된다(Table 3).

자가면역 류마티스질환에서 DNA methylation 감소의 원인은 무엇일까? 첫째는 DNMT 효소기능의 감소이다. 전신홍반루푸스에서의 T 세포와 류마티스관절염의 활막세포에서는 이 효소의 기능 감소로 인해 DNA methylation이 안정적으로 유지되지 않는다. 둘째는 miRNA에 의한 DNMT의 양적 감소이다. 전신홍반루푸스 환자의 CD4⁺ T 세포에는 miR-21과 miR-148a이 과발현되어 있는데, 이 miRNA들은 DNMT의 발현을 억제하여 DNA hypomethylation을 촉진시키는 것으로 알려져 있다 (31). 셋째, active demethylation을 야기시키는 인자, 즉 GADD45a (37)나 activation-induced cytidine deaminase (AICDA) (38)에 의한 작용이다. 이러한 변화는 보통 chromatin modification과 연관하여 동시에 발생한다(Figure 3).

전신홍반루푸스: 여러 연구자들이 전신홍반루푸스에서 과발현되고 있는 유전자들, 즉 *ITGAL*, *CD40LG*, *PRF1*, *CD70*, *IFNGR2*, *MMP14*, *LCN2*, ribosomal RNA gene (18S and 28S)의 promoter 부위에서의 global hypomethylation을 보고하였다 (14-18). 이 유전자들의 DNA hypomethylation은 T 세포의 chromatin 구조에 영향을 주어 유전자가 과발현되고, 그 산물은 세포 활성화와 면역반응 증가와 함께 염증을 초래하게 된다. 또한 B 세포 promoter (E1B promoter of CD5)에도 hypomethylation이 일어나 그 결과 CD5가 과발현되어 cell receptor signaling에 장애를 일으켜 자가면역 반응을 촉진한다 (19). Procainamide나 hydralazine는 약물유발루푸스를 일으킬 수 있는 약물인데 이들은 DNA methylation 억제제이다. Procainamide는 DNMT1의 경쟁억제제로서 (39), hydralazine은 methylation을 조절하는 데 중요한 역할을 하는 signal-regulated kinase pathways를 억제함으로써 DNA hypomethylation을 조장한다 (40). 이런 기전으로 DNMT가 감소되어 약물유발루푸스의 림프구에서 부작분자의 발현이 증가한다고 한다 (41).

류마티스관절염: 류마티스관절염에 관한 후성유전체 연구는 주로 활막세포에 초점을 맞추어 왔다. 이 세포가 global hypomethylation되어 있어 관절 내 염증성 사이토카인이 과발현된다는 것이다 (42). 또한 류마티스관절염 환자의 관절 내 단핵구에서는 IL-6 promoter 유전자나 L1 open-reading frame의 upstream에 위치한 CpG island내의 hypomethylation이 뚜렷이 관찰된다. L1은 repetitive element의 주요 물질로 정상 활막 조직에서는 methylation이 되어 있는 대

Table 2. Epigenetic modification in autoimmune diseases

Mechanisms	Diseases	Details	References
DNA methylation	Systemic lupus erythematosus	Global hypomethylation of promoter regions of genes:	
		ITGAL	(14)
		CD40LG	(15)
		PRF1	(16)
		CD70	(17)
		IFGMR2	(18)
		MMP14	(18)
		LCN2	(18)
		Ribosomal RNA gene promoter	(18)
		e1B promoter of CD5 in resting B cells	(19)
	Rheumatoid arthritis	Hypomethylation:	
		CpG islands upstream of an L1 open-reading frame	(20)
		IL-6 promoter gene in monocytes	(21)
		Hypermethylation:	
	Systemic sclerosis	Promoter of death receptor 3 (DR-3)	(22)
		Hypermethylation:	
		CpG islands in Fli1 promoter	(23)
Histone modification	Systemic lupus erythematosus	Predisposition to apoptotic nucleosomes:	
		H3K4me3	
		H4K8 triacetylation	(24)
		H3K27me3	(25)
		H2BK12ac	
	Rheumatoid arthritis	Global acetylation:	
		Histone H3 and H4 in active CD4 ⁺ T cells	(26)
		HDAC inhibitors:	
		Block induction of MMPs	(27)
		Repress ADAMTs enzymes	(27)
microRNA	Systemic lupus erythematosus	Hyperacetylation of histones induces p16 and p21	(28)
		Decreased expression:	
		miR-146a	(29)
		miR-125a	(30)
		Upregulation:	
	Rheumatoid arthritis	miR-21 and miR-148a	(31)
		Decreased expression:	
		miR-124	(32, 33)
		Overexpression:	
		miR-203	(34)
	Sjögren's syndrome	miR-146	(35)
		miR-155	(35)
		Overexpression:	
		miR-547-3p and miR-168-3p	(36)
		miR-150 and miR-149	(36)

H: histone, K: lysine, HDAC: histone deacetylase, miR: microRNA, MMP: matrix metalloproteinase

Table 3. Hypomethylated genes in autoimmune diseases

Genetic element	Disease	Cell type	Product and/or Function	References
CD70	SLE	CD4 ⁺ T cell	T cell proliferation	(17)
CD40LG	SLE	CD4 ⁺ T cell	IgG overproduction of B cell	(15)
CD5	SLE	CD19 ⁺ B cell	Cytokine production and BCR signaling regulation of T cell	(19)
<i>il6</i>	RA	PBMC	IL-6	(21)
miRNA-203	RA	SFMC	MMP, IL-6	(34)
Ribosomal DNA (18S, 28S)	SLE	PBMC	Part of ribosomal particles	(18)

BCR: B cell receptor, MMP: matrix metalloproteinase, PBMC: peripheral blood mononuclear cell, RA: rheumatoid arthritis, SFMC: synovial fluid mononuclear cell, SLE: systemic lupus erythematosus

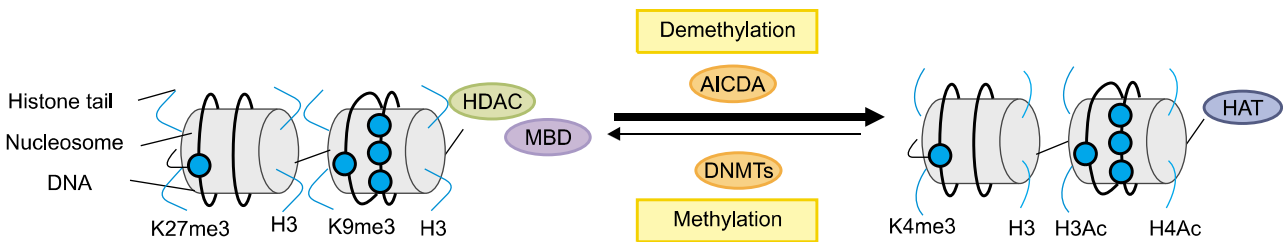


Figure 3. DNA methylation and histone modification.

표적인 물질이다. 이 L1이 DNMT 감소의 결과로 hypomethylation되면, 염증 반응이 촉진되고 성장인자나 수용체, 부착분자 및 시토카인 등의 발현이 증가된다 (20). 마찬가지로 IL-6 promoter 유전자 내의 CpG island가 hypomethylation되면서 IL-6가 과발현되어 관절 내 염증을 활성화 시키기도 한다 (21). 이와는 반대로 hypermethylation이 병인으로 작용하는 경우도 있다. 단백질에서 death receptor-3 (DR-3)의 promoter 부위 내에 위치한 CpG islands에서는 hypermethylation이 관찰된다. DR-3는 세포 사멸과 nuclear factor-kappa-B (NF- κ B)의 활성화에 관여하는 물질이다. 이 단백질이 억제되면서 류마티스관절염 활막세포는 세포사멸 없이 증식이 지속되어 만성염증을 일으키는 것으로 생각된다 (22).

Histone modification과 류마티스질환

전신흡반루푸스: 전신흡반루푸스에서 Histone modification은 세포 사멸이 일어나는 동안에 잘 발생한다. 세포 사멸이 발생하는 동안, histone을 포함한 핵 성분이 노출되어 면역반응이 일어나게 되는데, 그 결과 핵 성분에 대한 항체가, 특히 modified histone에 대한 항체가 형성된다. 그리고 세포사멸이 일어나는 동안 nucleosome도 후성유전학적인 변화를 일으켜 자가 면역 반응을 더 강하게 일으키는 immunogenic epitope를 만들게 된다 (43). 그 결과 epitope spreading 현상이 일어나 chromatin 성분에 대한 새로운 자가항체 형성이 일어나게 된다 (25). H3K4 trimethylation (H3K4me3), H4K8 triacetylation, H3K27me3 및 H2BK12 acetylation 같은 histone modification은 apoptotic nucleosome을 증가시키는데, 이 apoptotic nucleosome이 또다른 자가항원으로 작용하여 염증을 촉진시킨다. 또 다른 보고에 의하면, 활성화된 전신흡반루푸스 환자의 CD4⁺ T 세포에서는 histone H3와 H4의 acetylation이 증가되어 있다고 한다. 그리고 단핵구에서도 histone H4의 acetylation이 변화되어 루푸스신장염의 병인에 연관된 interferon (IFN) genes 발현이 증가되는 것이 보고되었다 (44,45).

류마티스관절염: 류마티스관절염의 활막조직은 HAT과 HDAC 활성사이의 불균형에 의해 변화가 일어나는 특징이 있다. 연골의 파괴는 matrix metalloproteinases (MMPs)와 a dis-

integrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs (ADAMTS) 효소에 의해 매개되는데, 이 효소 관련 유전자들도 histone acetylation을 포함한 chromatin modification에 의해서 조절된다 (27). 활막세포 histone의 hyperacetylation은 p16과 p21 (cyclin-dependent kinase inhibitors)을 유도하고 (28) Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α) 합성을 감소시키며, hypoxia inducible factor-1 α (HIF-1 α)와 vascular endothelial growth factor (VEGF)를 억제하여 활막세포의 혈관형성을 제어하는 것으로 알려져 있다 (46). 실제로, HDAC 억제제는 활막조직에서 MMP와 ADAMTS의 발현을 억제하여 류마티스관절염 동물모델에서 관절 손상을 감소시켰으며 (47), 최근에는 HDAC 억제제를 처리하였을 때 류마티스관절염 활막세포의 IL-6 생산이 줄어든다는 보고도 있었다 (48). 따라서 HDAC 억제제를 사용한 새로운 류마티스관절염 치료제 개발도 가능할 것으로 전망된다.

Nucleosome positioning과 류마티스질환

Nucleosome positioning과 류마티스질환과의 연구는 별로 없는 실정이다. 한 연구에서 histone variant macroH2A가 염색성 시토카인의 전사에 중요한 전사인자인 NF- κ B의 결합을 방해하고 nucleosome을 재구성하는 단백질의 작용을 저해한다고 보고된 바 있으나 (49), 임상적으로 어떤 의미를 가지고 있는지 등에 관하여 앞으로 더 많은 연구가 요구된다.

MicroRNA와 류마티스질환

전신홍반루푸스: miR-146a는 toll-like receptor 신호전달의 억제제로서 전신홍반루푸스 환자에서 그 발현이 감소되어 있다. 이 miRNA는 type I IFN pathway의 억제제로서 IFN regulatory factor-5 (IRF-5)과 Signal transduction and transcription protein (STAT)-1을 표적물질로 하여 그 기능을 수행하는 것으로 알려져 있어, 전신홍반루푸스 환자의 말초 혈액 세포에서는 miR-146a 발현이 감소해 있기 때문에 type I IFN의 생산이 증가하여 전신홍반루푸스 발생에 관여하는 것으로 보인다 (29). miR-125a는 전신홍반루푸스에서 감소되어 있어 RANTES가 T 세포에서 증가된다고 보

고되었다 (30). 그 외에도 miR-21와 miR-148a가 전신홍반 루푸스 환자의 CD4⁺ T 세포에서 증가되어 있는데, 이들의 작용을 통해 autoimmune-associated methylation-sensitive gene인 CD70과 lymphocyte function-associated antigen의 발현이 촉진된다고 한다 (31).

류마티스관절염: 류마티스관절염 혈액 내에는 miR-155과 miR-146가 과발현되어 있어 TNF- α 와 IL-1 β 가 증가하는 것으로 알려져 있다 (35). 특히 miR-146은 TNF- α (50), IL-17 (51)의 농도와 양의 상관관계를 보였다. miR-203은 류마티스관절염 활막세포에서 그 발현이 증가되고 MMP-1과 IL-6와 양의 상관관계를 보였으며 (34), miR-124은 원래 cyclin-dependent kinase 2 (CDK-2)를 억제하고 monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1)을 억제하는데, 류마티스관절염 환자에서는 감소되어 있어 병적으로 관절 조직 세포들이 증식하고 MCP-1이 증가하는데 작용하는 것으로 보고되었다 (32,33).

쇼그렌 증후군: 현재까지 쇼그렌 증후군과 연관되어 알려진 miRNA에는 miR-547-3p, miR-168-3p, miR-150, miR-149이 있다. 이들은 침샘조직에서 과발현되어 있지만 그 명확한 기능은 밝혀지지 않았다 (36). 이들 miRNA의 증가는 면역 기능 조절을 위한 보상성 증가일수도 있고, 발병을 초래하는 비 정상적인 발현일수도 있어 그 기능에 대한 추후 더 깊은 연구가 필요할 것으로 사료된다.

후성유전학의 발전과 앞으로의 전망

1965년 DNA methylation 현상이 처음으로 발견된 이후 후성유전학은 유전체 연구에 밀려 거의 정지 상태로 깊은 잠에 빠져 있었다. 약 30여년이 지나서야 비로소 HAT, HDAC, HMT, DNMT 등의 후성유전체를 조절하는 효소들이 발견되면서 세포 및 조직의 분화, 발생 그리고 유전자 조절에 관한 연구가 급속도로 발전하게 되었다. 인간 게놈 유전자 지도가 완성된 2000년대 초반에 demethylase의 역할을 하는 유전자들이 발견되고 methylation 및 acetylation 등을 조절할 수 있는 물질들이 질병 치료 표적 물질로 FDA 승인을 받게 되어 재도약의 발판이 마련되었으며, 2006년 이후에는 암환자를 중심으로 후성유전체를 활용한 R&D 성과가 축적되어 메틸화에 기반을 둔 암 진단(및 치료) 표지자나 신약에 대한 개발이 활성화되기 시작하였다. 유전체 연구 발달과 더불어 차세대 염기서열 분석 기술의 발달로 High-throughput DNA methylation과 histone modification 정보 분석이 급속히 빨라지면서, 병적인 후성유전체 변화와 유전적인 연관성을 체계적으로 규명할 수 있게 되었다. 이런 배경을 바탕으로 한 후성유전체 연구를 통해 첫째, 동일질병에서 임상적 양상과 치료 약제에 대한 반응에 따라 환자를 재 분류하고 둘째, 후성유전학적인 변화에 따른 새로운 치료 약제를 개발할 수 있을 것으로 기대된다. 자가면역 류마티스질환의 치료제 개발은 DNA hypomethylation을 유발하는 기전이나 HDAC 억제제의 작용 등

에 대한 깊은 이해를 통해 후성유전체를 기반으로 한 새로운 치료 표적물질을 찾을 때 이루어질 수 있을 것으로 본다.

요 약

류마티스질환에서 기존에 알려진 질병 관련 유전 정보들은 상당수가 질병의 임상상과 병인을 명확하게 설명하지 못했다. 류마티스질환에서의 후성유전체 연구는 매년 급속히 성장하고 있고 새로운 비전을 보여 주고 있다. 류마티스 질병의 면역학적인 병인을 규명하고 이를 근거로 하여 유전적, 환경적인 요인과 후성유전학적인 변화를 이해하고 해석하는 것은 질병의 병태생리를 정확히 파악하고 새로운 치료 약제를 개발함에 있어 매우 중요하다. 질병 병인 세포나 질병 특이 표적 조직에서 일어나는 후성유전체 변화에 대한 지식이 축적되면서 임상 증상을 이해하고, 질병 유형을 분류하고, 치료 약제에 대한 반응을 해석하는데 핵심적인 정보가 제공되고 있다. High-throughput approach를 통해 질병 특이 세포나 조직에서 후성유전학적인 변화를 탐색하는 등 차세대 맞춤의학에 따른 신약 개발에 필요한 기초 자료를 마련하기 위한 지속적인 연구 노력이 필요하겠다.

참고문헌

- Quintero-Ronderos P, Montoya-Ortiz G. Epigenetics and autoimmune diseases. *Autoimmune Dis* 2012;2012:593720.
- Deapen D, Escalante A, Weinrib L, Horwitz D, Bachman B, Roy-Burman P, et al. A revised estimate of twin concordance in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1992;35:311-8.
- Järvinen P, Kaprio J, Mäkitalo R, Koskenvuo M, Aho K. Systemic lupus erythematosus and related systemic diseases in a nationwide twin cohort: an increased prevalence of disease in MZ twins and concordance of disease features. *J Intern Med* 1992;231:67-72.
- Aho K, Koskenvuo M, Tuominen J, Kaprio J. Occurrence of rheumatoid arthritis in a nationwide series of twins. *J Rheumatol* 1986;13:899-902.
- Bellamy N, Duffy D, Martin N, Mathews J. Rheumatoid arthritis in twins: a study of aetiopathogenesis based on the Australian Twin Registry. *Ann Rheum Dis* 1992;51:588-93.
- Silman AJ, MacGregor AJ, Thomson W, Holligan S, Carthy D, Farhan A, et al. Twin concordance rates for rheumatoid arthritis: results from a nationwide study. *Br J Rheumatol* 1993;32:903-7.
- Fan S, Zhang X. CpG island methylation pattern in different human tissues and its correlation with gene expression. *Biochem Biophys Res Commun* 2009;383:421-5.
- Ooi SK, Bestor TH. The colorful history of active DNA demethylation. *Cell* 2008;133:1145-8.
- Kouzarides T. Chromatin modifications and their function. *Cell* 2007;128:693-705.
- Gregory PD, Wagner K, Hörz W. Histone acetylation and chromatin remodeling. *Exp Cell Res* 2001;265:195-202.

11. Schones DE, Cui K, Cuddapah S, Roh TY, Barski A, Wang Z, et al. Dynamic regulation of nucleosome positioning in the human genome. *Cell* 2008;132:887-98.
12. Chodavarapu RK, Feng S, Bernatavichute YV, Chen PY, Stroud H, Yu Y, et al. Relationship between nucleosome positioning and DNA methylation. *Nature* 2010;466:388-92.
13. Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* 2004;116:281-97.
14. Lu Q, Kaplan M, Ray D, Ray D, Zacharek S, Gutsch D, et al. Demethylation of ITGAL (CD11a) regulatory sequences in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2002;46:1282-91.
15. Lu Q, Wu A, Tesmer L, Ray D, Yousif N, Richardson B. Demethylation of CD40LG on the inactive X in T cells from women with lupus. *J Immunol* 2007;179:6352-8.
16. Kaplan MJ, Lu Q, Wu A, Attwood J, Richardson B. Demethylation of promoter regulatory elements contributes to perforin overexpression in CD4+ lupus T cells. *J Immunol* 2004;172:3652-61.
17. Oelke K, Lu Q, Richardson D, Wu A, Deng C, Hanash S, et al. Overexpression of CD70 and overstimulation of IgG synthesis by lupus T cells and T cells treated with DNA methylation inhibitors. *Arthritis Rheum* 2004;50:1850-60.
18. Javierre BM, Fernandez AF, Richter J, Al-Shahrour F, Martin-Subero JI, Rodriguez-Ubreva J, et al. Changes in the pattern of DNA methylation associate with twin discordance in systemic lupus erythematosus. *Genome Res* 2010;20:170-9.
19. Garaud S, Le Dantec C, Jousse-Joulin S, Hanrotel-Saliou C, Saraux A, Mageed RA, et al. IL-6 modulates CD5 expression in B cells from patients with lupus by regulating DNA methylation. *J Immunol* 2009;182:5623-32.
20. Neidhart M, Rethage J, Kuchen S, Künzler P, Crowl RM, Billingham ME, et al. Retrotransposable L1 elements expressed in rheumatoid arthritis synovial tissue: association with genomic DNA hypomethylation and influence on gene expression. *Arthritis Rheum* 2000;43:2634-47.
21. Nile CJ, Read RC, Akil M, Duff GW, Wilson AG. Methylation status of a single CpG site in the IL6 promoter is related to IL6 messenger RNA levels and rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2008;58:2686-93.
22. Takami N, Osawa K, Miura Y, Komai K, Taniguchi M, Shiraishi M, et al. Hypermethylated promoter region of DR3, the death receptor 3 gene, in rheumatoid arthritis synovial cells. *Arthritis Rheum* 2006;54:779-87.
23. Kubo M, Czuwara-Ladykowska J, Moussa O, Markiewicz M, Smith E, Silver RM, et al. Persistent down-regulation of Fli1, a suppressor of collagen transcription, in fibrotic scleroderma skin. *Am J Pathol* 2003;163:571-81.
24. Dieker JW, Fransen JH, van Bavel CC, Briand JP, Jacobs CW, Muller S, et al. Apoptosis-induced acetylation of histones is pathogenic in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2007;56:1921-33.
25. van Bavel CC, Dieker JW, Tamboer WP, van der Vlag J, Berden JH. Lupus-derived monoclonal autoantibodies against apoptotic chromatin recognize acetylated conformational epitopes. *Mol Immunol* 2010;48:248-56.
26. Hu N, Qiu X, Luo Y, Yuan J, Li Y, Lei W, et al. Abnormal histone modification patterns in lupus CD4+ T cells. *J Rheumatol* 2008;35:804-10.
27. Young DA, Lakey RL, Pennington CJ, Jones D, Kevorkian L, Edwards DR, et al. Histone deacetylase inhibitors modulate metalloproteinase gene expression in chondrocytes and block cartilage resorption. *Arthritis Res Ther* 2005;7:R503-12.
28. Nishida K, Komiyama T, Miyazawa S, Shen ZN, Furumatsu T, Doi H, et al. Histone deacetylase inhibitor suppression of autoantibody-mediated arthritis in mice via regulation of p16INK4a and p21(WAF1/Cip1) expression. *Arthritis Rheum* 2004;50:3365-76.
29. Tang Y, Luo X, Cui H, Ni X, Yuan M, Guo Y, et al. MicroRNA-146A contributes to abnormal activation of the type I interferon pathway in human lupus by targeting the key signaling proteins. *Arthritis Rheum* 2009;60:1065-75.
30. Zhao X, Tang Y, Qu B, Cui H, Wang S, Wang L, et al. MicroRNA-125a contributes to elevated inflammatory chemokine RANTES levels via targeting KLF13 in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2010;62:3425-35.
31. Pan W, Zhu S, Yuan M, Cui H, Wang L, Luo X, et al. MicroRNA-21 and microRNA-148a contribute to DNA hypomethylation in lupus CD4+ T cells by directly and indirectly targeting DNA methyltransferase 1. *J Immunol* 2010;184:6773-81.
32. Nakamachi Y, Kawano S, Takenokuchi M, Nishimura K, Sakai Y, Chin T, et al. MicroRNA-124a is a key regulator of proliferation and monocyte chemoattractant protein 1 secretion in fibroblast-like synoviocytes from patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2009;60:1294-304.
33. Kawano S, Nakamachi Y. miR-124a as a key regulator of proliferation and MCP-1 secretion in synoviocytes from patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2011;70 Suppl 1:i88-91.
34. Stanczyk J, Ospelt C, Karouzakis E, Filer A, Raza K, Kolling C, et al. Altered expression of microRNA-203 in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts and its role in fibroblast activation. *Arthritis Rheum* 2011;63:373-81.
35. Stanczyk J, Pedrioli DM, Brentano F, Sanchez-Pernaute O, Kolling C, Gay RE, et al. Altered expression of MicroRNA in synovial fibroblasts and synovial tissue in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2008;58:1001-9.
36. Alevizos I, Illei GG. MicroRNAs in Sjögren's syndrome as a prototypic autoimmune disease. *Autoimmun Rev* 2010;9:618-21.
37. Barreto G, Schäfer A, Marhold J, Stach D, Swaminathan SK, Handa V, et al. Gadd45a promotes epigenetic gene activation by repair-mediated DNA demethylation. *Nature* 2007;445:671-5.
38. Fritz EL, Papavasiliou FN. Cytidine deaminases: AIDing DNA demethylation? *Genes Dev* 2010;24:2107-14.
39. Lee BH, Yegnasubramanian S, Lin X, Nelson WG.

- Procainamide is a specific inhibitor of DNA methyltransferase 1. *J Biol Chem* 2005;280:40749-56.
40. Deng C, Lu Q, Zhang Z, Rao T, Attwood J, Yung R, et al. Hydralazine may induce autoimmunity by inhibiting extracellular signal-regulated kinase pathway signaling. *Arthritis Rheum* 2003;48:746-56.
 41. Yung R, Chang S, Hemati N, Johnson K, Richardson B. Mechanisms of drug-induced lupus. IV. Comparison of procainamide and hydralazine with analogs in vitro and in vivo. *Arthritis Rheum* 1997;40:1436-43.
 42. Fu LH, Ma CL, Cong B, Li SJ, Chen HY, Zhang JG. Hypomethylation of proximal CpG motif of interleukin-10 promoter regulates its expression in human rheumatoid arthritis. *Acta Pharmacol Sin* 2011;32:1373-80.
 43. Bruns A, Bläss S, Hausdorf G, Burmester GR, Hiepe F. Nucleosomes are major T and B cell autoantigens in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2000;43:2307-15.
 44. Dai Y, Zhang L, Hu C, Zhang Y. Genome-wide analysis of histone H3 lysine 4 trimethylation by ChIP-chip in peripheral blood mononuclear cells of systemic lupus erythematosus patients. *Clin Exp Rheumatol* 2010;28:158-68.
 45. Zhang Z, Song L, Maurer K, Petri MA, Sullivan KE. Global H4 acetylation analysis by ChIP-chip in systemic lupus erythematosus monocytes. *Genes Immun* 2010;11:124-33.
 46. Manabe H, Nasu Y, Komiyama T, Furumatsu T, Kitamura A, Miyazawa S, et al. Inhibition of histone deacetylase down-regulates the expression of hypoxia-induced vascular endothelial growth factor by rheumatoid synovial fibroblasts. *Inflamm Res* 2008;57:4-10.
 47. Nasu Y, Nishida K, Miyazawa S, Komiyama T, Kadota Y, Abe N, et al. Trichostatin A, a histone deacetylase inhibitor, suppresses synovial inflammation and subsequent cartilage destruction in a collagen antibody-induced arthritis mouse model. *Osteoarthritis Cartilage* 2008;16:723-32.
 48. Grabiec AM, Korchynskiy O, Tak PP, Reedquist KA. Histone deacetylase inhibitors suppress rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocyte and macrophage IL-6 production by accelerating mRNA decay. *Ann Rheum Dis* 2012;71:424-31.
 49. Angelov D, Molla A, Perche PY, Hans F, Côté J, Khochbin S, et al. The histone variant macroH2A interferes with transcription factor binding and SWI/SNF nucleosome remodeling. *Mol Cell* 2003;11:1033-41.
 50. Li J, Wan Y, Guo Q, Zou L, Zhang J, Fang Y, et al. Altered microRNA expression profile with miR-146a up-regulation in CD4+ T cells from patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2010;12:R81.
 51. Niimoto T, Nakasa T, Ishikawa M, Okuhara A, Izumi B, Deie M, et al. MicroRNA-146a expresses in interleukin-17 producing T cells in rheumatoid arthritis patients. *BMC Musculoskelet Disord* 2010;11:209.