

The Role of Sodium-taurocholate Co-transporting Polypeptide as a Receptor during HBV Infection

So-Young Kim¹, Eungyeong Jang² and Kyung-Soo Inn^{1*}

¹Department of Pharmaceutical Science, College of Pharmacy, Kyung Hee University, Seoul; ²Department of Internal Medicine, College of Korean Medicine, Kyung Hee University, Seoul, Korea

According to World Health Organization, more than 200 million people suffer with chronic hepatitis caused by Hepatitis B virus (HBV) infection worldwide. Chronic hepatitis B causes various complications including liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma and approximately 0.5~4.2 million deaths occur annually due to HBV infection. Current therapies such as antivirals and vaccine are often hampered by drug intolerance, side effects, and long-time medication, therefore, the development of powerful anti-HBV drugs is demanded. Recently, sodium taurocholate co-transporting polypeptide (NTCP) receptor was revealed to play a pivotal role in HBV entry into hepatocytes. Cell lines transfected with NTCP receptor enables to analyze HBV life cycle by inducing HBV infection stably, but *in vivo* models still have some limitations such as high costs, restrictive differentiation, and unveiled cofactors related to human NTCP. Therefore, it requires well-established *in vivo* models to develop and evaluate novel therapeutic agents targeting NTCP receptor, and viral entry inhibitors that inhibit the early step of viral infection are potent sufficient to substitute for existing antivirals.

Key Words: Hepatitis B virus, Receptor, Sodium-taurocholate co-transporting polypeptide, Entry

INTRODUCTION

B형 간염 바이러스(Hepatitis B virus, HBV)는 간염 뿐 아니라 간경화, 간세포암 등의 원인이 되는 대표적인 바이러스로 전 세계인구의 3분의 1에 해당하는 약 20억명의 사람이 HBV에 감염된 적이 있을 정도로 유병률이 높다. 그 중 대부분은 경도 감염으로 수개월 이내 회복이 되지만, 약 3억 5천만명은 만성 감염으로 진행되어 간경화와 간암의 위험에 노출된다. 세계질병부담연구(Global Burden of Disease, GBD)에서 발표한 2013년 보고서에서는, HBV 감염으로 인한 사망자 수가 매년 78만 7천명 정도로 질병으로 인한 전체 사망원인 중 상당한 비중을 차지하고 있

음에도 불구하고 국제 질병 전문가들이 HBV 감염에 대한 적극적인 논의를 하고 있지 않다고 경고한다. 특히 우리나라의 경우, 1983년에 HBV 감염을 예방할 수 있는 B형 간염 백신이 도입되고 1995년부터 영유아 대상 정기 예방접종사업이 시행되면서 10대 이하의 유병률은 현격히 감소하였으나 여전히 매년 200여만 명이 HBV 감염으로 인한 만성 간질환으로 고통 받고 있다. 이렇게 전세계적으로 많은 사람이 HBV 감염으로 인한 만성 간질환의 위험에 노출되어 있는 것은 HBV가 '조용한' 바이러스로 감염 초기에 심각한 증상이 나타나지 않아 적기의 치료나 관리 없이 방치되면서 결국 간경화, 간암으로까지 진행하게 되기 때문이다 (1).

HBV는 간세포에 감염되어 염증을 일으키는 헤파드나

Received: December 7, 2016/ Revised: December 15, 2016/ Accepted: December 15, 2016

*Corresponding author: Kyung-Soo Inn. Department of Pharmaceutical Science, College of Pharmacy, Kyung Hee University, 26 Kyungheedaero, Dongdaemun-gu, Seoul, 02447, Korea.

Phone: +82-2-961-0368, Fax: +82-2-966-3885, e-mail: innks@khu.ac.kr

© This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>).

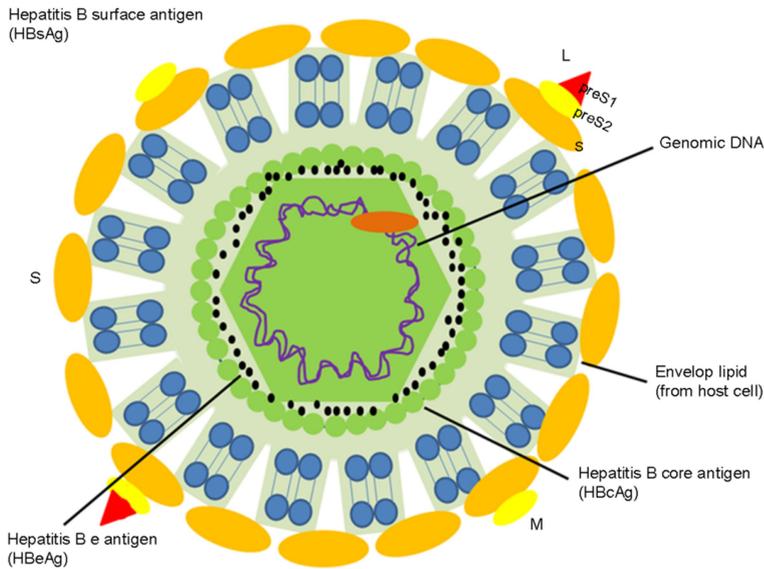


Figure 1. Structure of Hepatitis B virus. HBV consists of an outer envelope and inner nucleocapsid. The envelope contains HBsAg which comprises three proteins; the small (S), middle (S+preS2), large (S+preS2+preS1) surface protein. Among them, only the preS1 domain has an infectious capacity. The capsid encloses genomic DNA, DNA polymerase, HBeAg, and HBcAg.

바이러스과(Hepadnaviridae)의 DNA 바이러스로, 1965년 미국의 Blumberg가 오스트레일리아 원주민의 혈청에서 처음 발견하여 오스트레일리아 항원으로 명명하였다. 크기는 42 nm로 표면항원(HBsAg)이 발견되는 바이러스 바깥쪽 껍질(envelop)과 핵항원(HBcAg)이 있는 캡시드(capsid)의 이중 단백질 껍질로 구성되어 있으며 캡시드는 3.2 kbp 크기의 circular partial duplex DNA genome과 HBV polymerase 단백질을 둘러 싸고 있다. HBsAg은 캡시드 없이 단독으로 과잉 생산되어 내부 DNA 게놈이 없는 빈 원형이나 튜브모양의 입자의 형태로 말초 혈액 내에서 발견되기도 하는데 이 경우 전염성이 없기 때문에 서브바이러스 입자(subviral particles) 또는 공입자(empty particles)라고 부른다. 42 nm의 구형인 Dane 입자는 3.2 kbp의 이중가닥 DNA 게놈과 그것을 둘러싸는 캡시드 단백질 및 바깥쪽 껍질을 모두 갖추고 있기 때문에 전염성이 있는 완전한 형태의 비리온이다. HBsAg은 크기에 따라 L-, M-, S-HBsAg로 구분되며 각각 1:1:4의 비율로 구성되어 있다. S-HBsAg은 S domain만을, M-HBsAg은 pre-S2와 S domain을, L-HBsAg은 pre-S1, pre-S2, S domain을 가지며 특히 pre-S1 domain은 HBV 감염에 중요한 역할을 하는 단백질로 간세포의 receptor에 결합하는 바이러스 리간드 역할을 한다(Fig. 1)(2, 3).

최근의 연구에 따르면 HBV는 간세포막의 heparan sulfate proteoglycans (HSPGs)에 부착한 후 HBsAg의 pre-S1

domain이 간세포 수용체인 sodium taurocholate cotransport polypeptide (NTCP)에 결합하여 endocytosis를 통해 간세포 안으로 진입한다. 진입 후 uncoating 과정을 겪고 genomic DNA가 핵내로 이동한다. Genomic DNA는 핵 안에서 episome 형태로 유지되는 HBV DNA인 cccDNA (covalently closed circular DNA)로 전환된다. cccDNA는 subgenomic RNA (sgRNA)와 pregenomic RNA (pgRNA)로 전사되는 주형으로 사용되어 HBV 증식에 필수적인 형태이다. pgRNA는 세포질로 이동하여 HBV의 genome DNA 복제에 RNA 주형으로 활용되며 결합되어 있는 역전사효소에 의해 genomic DNA로 전환된다.

현재 임상적으로 사용되고 있는 만성 B형 간염 치료제로는 IFN- α , pegylated INF- α (peg INF- α)와 Nucleos(t)ide 유사체인 lamivudine, adefovir, entecavir, telbivudine, tenofovir 등이 있다. 다양한 항바이러스 작용을 나타내는 INF- α 는 만성 B형 간염 치료에 성공적으로 사용되어, 약제 내성 없이 조기 HBeAg 혈청전환과 높은 HBsAg 혈청소실률을 보이지만 피하주사의 불편함과 감기증상, 우울증 같은 부작용이 나타난다 (4). Nucleos(t)ide 유사체는 HBV polymerases의 작용을 경쟁적으로 저해하기 때문에 핵 안에서 relaxed circular DNA (rcDNA)의 cccDNA로의 전환을 억제하여 HBV 증식을 막는다. 이러한 Nucleos(t)ide 유사체는 피하주사가 아닌 경구복용 방법으로 투약되기 때문에 환자들의 약에 대한 거부감은 적지만 오랜 기간 동안

약을 복용하는 과정에서 발생하는 내성이나 약물 부작용 등을 피할 수 없는 상황이다 (5). 이와 같이 HBV에 대한 현 치료제의 여러 가지 한계점으로 인해 높은 치료율, 짧은 치료기간, 치료제에 대한 낮은 저항성과 부작용을 갖는 치료제의 개발이 시급한 상황이다.

한편 HBV는 종 특이적으로 오직 사람과 몇몇 영장류에만 감염이 된다고 보고되고 있어서 (6) HBV 치료제 개발을 위한 효율적인 동물 모델 개발이 쉽지 않다. 이로 인하여 바이러스의 간세포로의 진입 과정을 설명해줄 HBV의 생활사 등에 대한 제반 연구가 미흡할 수밖에 없다. 물론 사람의 일차 간 세포주(primary human hepatocyte, PHH)가 HBV의 복제 과정과 관련된 연구에 활용되고 있기는 하지만 이용성과 가변성 면에서 한계를 보이고 있다. 이러한 상황에서 최근 발견된 NTCP 수용체는 HBV가 숙주세포 안으로 들어가는 초기진입단계에 대한 실마리를 제공하고 (7), NTCP 수용체를 HepG2나 Huh7 등의 간암세포에 발현시켜 지속적으로 HBV를 복제할 수 있는 세포주를 만들어서 세포 연구의 한계를 극복하여 HBV 감염에 대한 새로운 치료제 개발을 앞당길 수 있다는 점에서 시사하는 바가 크다. 이러한 이유 때문에 본 종설에서는 현재까지 진행된 NTCP에 대한 발견 과정을 규명하고 그 구조와 기능을 살펴보고 지금까지 알려진 NTCP를 발현하는 실험 모델과 그 모델을 통해 밝혀진 NTCP에 특이적으로 결합하여 HBV 숙주세포로의 진입을 경쟁적으로 저해하는 저해제에 대한 전반적인 내용을 조사하였다.

NTCP의 발견과 규명

HBV가 숙주의 간세포에 감염되기 위해서는 간세포막에 존재하는 heparan surface proteoglycan에 부착하여 감염을 시작하는 것이 알려졌다 (즉, 기존 연구에서 HBV의 간세포 부착 단계에서 HSPGs가 주요 binding factor로 작용하여 HBV 감염에 핵심적인 역할을 한다고 밝혀진 바 있다) (8). 하지만 HBV가 숙주세포에 본격적으로 들어가기 위해서는 좀 더 높은 친화력을 가지는 간세포 특이적인 수용체가 필요하며 그 수용체를 밝히기 위한 연구가 계속되었다 (9). 1986년에 HepG2 세포에 결합하는 HBV L-HBsAg을 구성하는 Pre-S1 도메인 중 아미노산 서열 2-47번에 해당하는 부위(PLGFFPDHQLDPAFGANSNNPD-WDFNP)가 간세포에 결합하는 리간드 역할을 한다고 증명하였다 (10). 그러나 그 당시만 하더라도 HBV의 Pre-S1 도메인 이 간세포에 존재하는 어떠한 수용체에 결합하는

지에 대해서는 명확하게 규명하지 못하였으나 담즙산이 간세포 내로 흡수되는 것이 억제되는 것을 통해 HBV가 간세포의 안과 밖을 연결해주면서 담즙산을 흡수하는 수용체와 관련이 있을 것이라고 예측하였다 (10). 2005년에 이르러 HBsAg을 구성하는 pre-S1 도메인의 아미노산(amino acid, AA)을 분석하여 AA 9-18 부분이 간세포에 존재하는 수용체에 결합하는 데 필수적인 부분이며 AA 29-48 부분이 결합을 더 강화하여 B형 및 D형 간염 바이러스의 리간드 역할을 하여 감염을 일으킨다고 보고하였으며 (2) 2012년도에 드디어 특정 단백질에 결합하는 단백질을 정제해 내는 기술인 TAP (Tandem affinity purification)을 이용하여 HBV의 Pre-S1 도메인과 직접적으로 결합하는 숙주세포의 수용체인 NTCP를 규명하게 된다 (Fig. 2) (11). 더 나아가 NTCP 수용체가 종 특이적으로 HBV 감염을 유발하는 특징을 설명하기 위해 HBV pre-S1 도메인과 직접적으로 결합하는 NTCP 수용체의 필수적인 부분(AA157-163)과 HBV 감염을 유도하는 서열(AA 84-87)을 분석한 결과, 사람의 NTCP (hNTCP) 수용체의 경우는 두 시퀀스가 모두 존재하지만 마우스 NTCP의 경우에는 AA84-87 부분의 결핍되어 있음을 확인하였다 (3, 11~13).

NTCP의 구조와 기능

Solute carrier (SLC)는 세포막의 운송을 담당하는 단백질로 총 52 패밀리를 구성하는 300가지의 유전자로 구성되어 있으며 특히 담즙산의 운송을 담당하는 SLC10 패밀리 (SLC-10A1~7) 중 SLC10A1 유전자에 의해 hNTCP가 만들어진다 (14). 현재 NTCP의 구조가 완전하게 밝혀지지는 않았으나 주로 간세포의 기저막에 분포하는 당 단백질로서 hNTCP의 경우 349개의 아미노산으로 구성되어 있으며 질량은 56 kDa이다 (3). NTCP는 7~9 개의 세포막을 통과하는 도메인을 가지고 있는 것으로 추정되며 NTCP의 N 말단부위는 세포막 바깥쪽에 C 말단부위는 세포막 안쪽에 위치해 있다 (15, 16).

NTCP는 2개의 sodium ion과 1개의 담즙산인 taurocholate와 결합하는 폴리펩타이드이다. NTCP 수용체는 주로 간세포에서 sodium ion 의존적으로 담즙산을 흡수하는 세포 수용체의 역할 (17)과 HBV의 pre-S1 도메인과 결합하여 간염 바이러스의 유입통로를 제공하는 역할을 한다. 이는 hNTCP가 HBV의 pre-S1 도메인과 결합하였을 때 taurocholate의 흡수가 저해되고 몇 NTCP 기질들에 의해 HBV

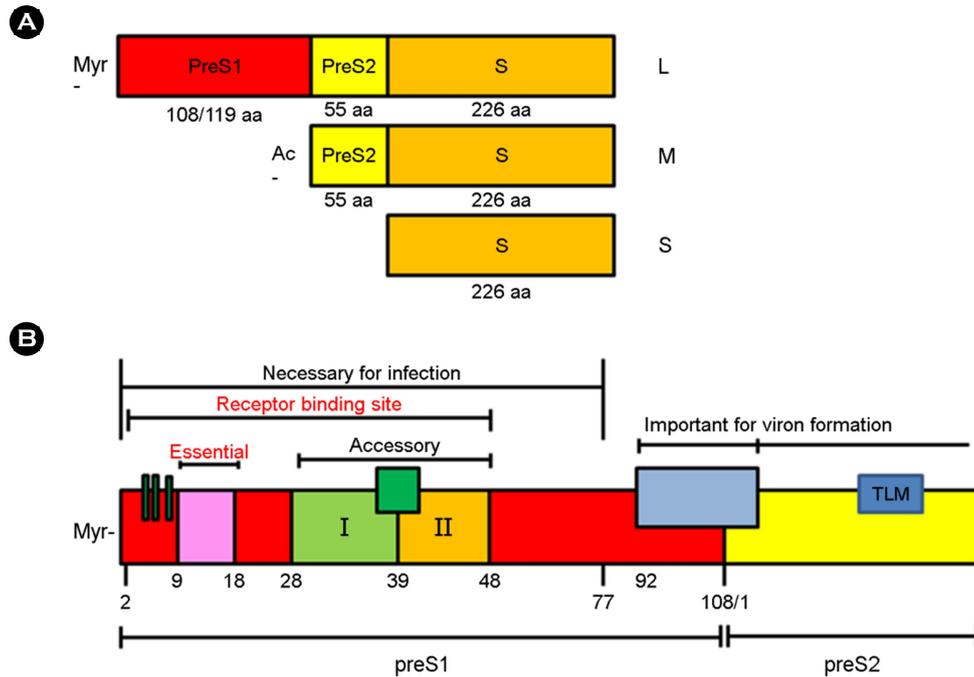


Figure 2. Hepatitis B virus S protein structure. (A) HBsAg consists of three surface proteins. The small S antigen has only S domain and the middle S antigen harbors preS2 and S domains. The large S antigen contains preS1, preS2, and S domains. (B) Schematic structure of preS1-S2 domains. preS1 domain amino acids 2-77 are necessary for viral infection. Among amino acid 2-48, amino acid 9-18 are essential binding sites of HBsAg for NTCP receptor of human hepatocyte, and amino acid 28-48 are accessory parts. Both preS1 and preS2 domains are important for virion formation.

의 간세포 내로의 진입이 저해되는 것을 통해 이 두 가지 기능을 하는 NTCP의 부분이 서로 독립적이지 않음을 연구결과로서 입증된 바 있다 (11, 17).

NTCP 발현 세포주 및 한계

HBV의 숙주세포로의 진입 과정에서 NTCP 수용체의 역할을 증명하기 위해 siRNA를 이용하여 NTCP의 발현을 억제시킨 PHH (18) 실험에서 HBV 감염률이 30~50% 정도 줄어드는 것을 확인하였다 (19). 이처럼 NTCP를 발현시킨 세포주에서는 HBV 감염률이 50~70% 정도로 비교적 높게 나타난 반면 NTCP 발현이 약한 HepG2, Huh7 세포나 간세포주가 아닌 HeLa 세포에서는 감염이 거의 나타나지 않았다. 하지만 lipofectamine을 이용하여 hNTCP 유전자를 사람의 간세포에 형질주입시킨 결과 hNTCP-HepG2, hNTCP-Huh7 세포는 HepG2, Huh7 세포와 비교하였을 때 HBV 감염 효율이 PHH와 비슷한 정도로 높게 나타남을 확인하였다 (5).

또한 HepG2 세포에 DMSO를 처리하였을 때 세포질 내

DNA가 증가한다는 이전 결과를 토대로 (20) 실험한 결과 hNTCP-HepG2 세포를 2%의 DMSO가 첨가된 배지에 배양하면 HBV 감염 정도가 10% 이하이나 DMSO를 2.5~3%로 증가시킨 배지에서는 감염 효율이 50~70% 정도로 상승됨이 관찰되었다 (5, 11). 이처럼 hNTCP-HepG2, hNTCP-Huh7의 형질주입 전에 DMSO를 처리하였을 경우 hNTCP와의 결합을 통한 HBV 감염 효율이 높아질 수 있다. 이러한 결과를 통해 DMSO가 세포에 발현되는 NTCP의 양, NTCP의 세포막에서의 발현 위치, NTCP의 post-translational modification에 영향을 준다는 것을 추측할 수 있다. 하지만 DMSO 증가에 따른 NTCP와 HBV의 결합에 의한 감염 효율 증대와 관련된 정확한 메커니즘은 아직 밝혀진 바가 없어서 더 많은 연구가 필요하다.

지금까지 살펴본 바와 같이 형질주입을 통해 hNTCP를 발현시키는 실험이 사람의 간세포에서만 진행된 것은 Hepa1-6, MMHD3과 같은 마우스 세포주에서는 hNTCP 유전자를 인위적으로 발현시켜도 hNTCP-HepG2, hNTCP-Huh7에서 관찰되는 수준의 HBV 감염이 나타나지 않기

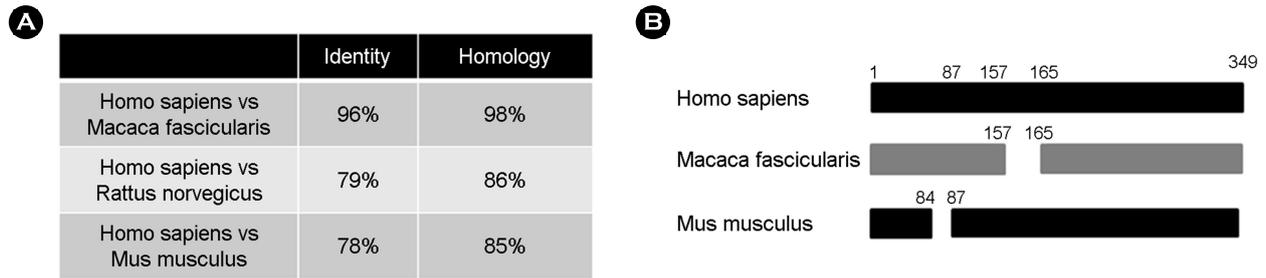


Figure 3. NTCP amino acid sequence homology between human and other species. (A) Identities and Homologies come from protein sequence Homo sapiens against Crab eating monkey, Rattus norvegicus and Mus musculus. (B) Schematic drawing of HBs domain of Homo sapiens, macaca fascicularis and mus musculus. Amino acid full sequence of Homo sapiens is in discord with that of macaca fascicularis and mus musculus. Amino acid 157-165 of macaca facicularis and amino acid 84-87 of mus musculus are different from Homo sapiens amino acids.

때문이다 (12).

또한, 마우스로부터 얻은 mNTCP를 사람의 간세포에 발현시키면 HBV의 pre-S1 도메인에 결합을 하지만 바이러스의 감염이 나타나지는 않으며 이는 mNTCP의 84-87 아미노산 서열이 hNTCP와 다르기 때문이다. 반면, 게택이 원숭이로부터 얻은 mkNTCP는 HBV의 preS1 도메인에 결합조차 하지 않는다(Fig. 3).

또한 간세포가 아닌 HeLa 세포에서도 hNTCP의 과발현이 HBV의 숙주세포 감염 효율을 올릴 수 없음이 확인되었다 (13). 이러한 결과를 통해 HBV가 숙주세포로 진입하는 단계에서 NTCP가 중요한 역할을 하기 위해서는 사람의 간세포에서만 특이적으로 존재하는 또 다른 주된 요소가 필요하다는 것을 예상할 수 있다. 최근 연구에 따르면 Glypican-5와 heparin sulfate의 일부분이 HBV와 hepatitis D virus (HDV)의 숙주세포로의 진입 시 NTCP와 함께 중요한 역할을 한다고 보고되었으며 Glypican-5의 발현을 저해하였을 때 HBV의 복제 시에 분비되는 HBsAg과 HBV pgRNA의 양이 감소됨을 확인한 바 있다(Fig. 4) (21). 현재 까지 밝혀진 hNTCP를 발현하는 세포주들에 대한 HBV 감염의 효율은 50~70% 정도로 낮기 때문에 HBV 감염의 효율을 높이기 위해서는 NTCP 이외의 또 다른 수용체나 다른 요소들에 대한 연구가 절실하게 요구된다.

HBV 실험에 사용되는 동물 모델과 한계점

기존에 HBV 감염 연구를 위한 마우스 모델의 경우 유체역학의 원리를 이용한 주입 모델(hydrodynamic injection), 인간화 마우스 모델, HBV 유전자 형질전환 마우스 모델 등이 주로 사용되어 왔다. Hydrodynamic 모델은 면역능력

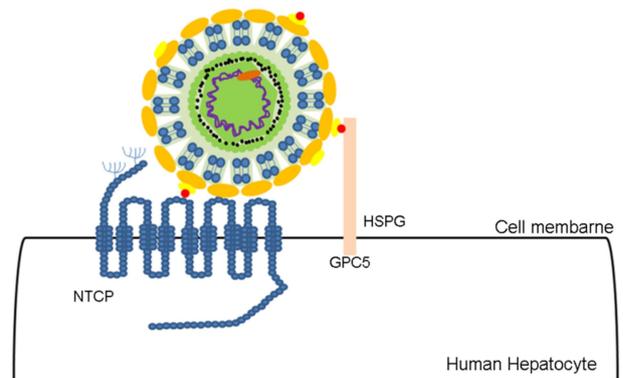


Figure 4. Schematic representation of the hepatitis B virus attachment. Heparan sulfate proteoglycan (HSPG) and Glypican5 (GPC5) help pre-S1 domain of HBsAg attach to NTCP receptor expressed in the surface of human hepatocyte.

을 갖는 마우스에 hydrodynamic injection 방법으로 HBV의 super-genomic DNA를 주입하여 급성 HBV를 유도하는 동물 모델이다. 이 모델에서는 마우스 무게의 10%에 해당하는 DNA를 꼬리 정맥에 4~7초 내로 빠르게 주입을 하면 주입된 유전자가 90%는 간에서 나머지 10% 정도는 간 이외 기관에서 발현을 한다 (22, 23). 인간화 마우스 모델은 사람의 간세포를 분리해서 uPA-SCID 마우스의 간에 이식을 하는 모델이다. 이 uPA-SCID 마우스는 면역력이 결핍된 SCID 마우스와 urokinase-type plasminogen activator transgenic mouse를 교배시켰기 때문에 hNTCP를 발현한다고 알려진 PHH를 마우스의 간에 이식하여도 면역 거부 반응 없이 HBV 감염이 유도된다 (24). 또한

uPA-SCID 마우스에서 혈청의 알부민 수치를 관찰하여 사람의 간세포가 마우스의 간에서 잘 정착하여 증식하고 있는지 확인할 수 있으며 본 마우스의 HBV life cycle이 사람과 동일하게 구현되어 현재 HBV 감염 모델로도 많이 활용되고 있다 (25). HBV의 DNA를 포함하는 형질전환 마우스는 HBV 발병 메커니즘에 대한 정보를 제공하고 바이러스 복제를 억제시키는 항바이러스제 효과를 관찰할 수 있는 모델로 유용하게 활용될 수 있으나 바이러스의 진입 단계와 전과단계를 확인할 수 없다 (26). 이러한 마우스 모델들은 감염 과정을 정확히 관찰할 수 없거나 면역 반응이 없는 상태에서의 감염만을 확인할 수 있는 한계를 지니고 있다. 이러한 한계를 극복하기 위해 hNTCP를 발현하는 형질전환 마우스가 제작되었지만 hNTCP에 바이러스가 결합하여 HDV 감염이 나타나지만 HBV 감염이 나타나지 않는다 (27). HBV는 hNTCP에 결합을 하나 HBV 감염에 있어 종 특이적인 특징으로 마우스의 간세포에는 존재하지 않지만 사람의 간세포에 존재하는 보조인자들이 추가적으로 필요한 것으로 판단되며 이러한 보조인자의 규명이 실질적인 동물모델구축에 필요할 것이다 (13).

NTCP 저해제

현재까지 밝혀진 대표적인 NTCP 저해제로는 myrcludex B, cyclosporin A 등이 있다. Myrcludex B는 HBV의 감염에 필수적인 pre-S1 도메인의 미리스토일화된 2-28번 아미노산으로부터 유래되어 합성된 지질 펩타이드이다. Myrcludex B는 HBV의 pre-S1 도메인과 경쟁적으로 hNTCP에 결합하여 HBV의 숙주세포 내로의 진입 및 감염을 저해하며 약 100 pM의 낮은 IC₅₀ 농도를 나타낸다. 또한 uPA-SCID 마우스가 HBV에 감염되기 전에 myrcludex B를 주입해주면 HBcAg 생성이 효과적으로 저해될 뿐 아니라 HBV 복제와 cccDNA의 생성도 억제된다고 보고되었으며 (25) 현재 유효성과 안전성을 검증하기 위한 phase Ib/IIa 임상 시험이 진행 중이다 (28). Cyclosporin A는 T 세포 활성화에 중요한 칼리뉴린의 활동을 억제하는 면역억제제로 알려져 있다. 2013년도에 밝혀진 연구결과에 따르면 cyclosporin A가 NTCP와 결합하는 HBV의 pre-S1 도메인과 경쟁이 가능하며 8 μM의 cyclosporin A에서 가장 효율적으로 결합을 억제함이 확인되었다 (29). hNTCP-HepG2 세포에 cyclosporin A와 myrcludex B를 병용 처리 시 두 약물이 경쟁적으로 작용하는데 이는 Myrcludex B와 cyclosporin A가 결합하는 NTCP 부분이 서로 일치함을 보여준

다 (29).

NTCP의 기질로 알려진 estrone-3-sulfate, dehydroepiandrosterone (DHEAS), bromosulphthalein와 같은 steroidal hormone, taurocholate, taurourosideoxycholate는 hNTCP-HepG cell, hNTCP-Huh7cell에서 HBV 감염과 동시에 처리하였을 때 hNTCP에 경쟁적으로 결합하여 HBV의 진입 과정을 억제하며 이는 hNTCP에 의한 taurocholate uptake가 줄어드는 것을 통해 확인되었다 (29). HBV 감염 환자들에게 간 기능 향상을 위해 사용되는 ursodeoxycholic acid (UDCA)는 hNTCP를 과발현 시킨 간세포에 처리하였을 때 또한 taurocholate uptake의 감소하는 것을 확인하여 잠재적으로 HBV 감염 진입을 막는 항바이러스제로 개발 가능할 것이다 (30).

HepG2, Huh7 cell에 hNTCP를 과발현한 세포주를 이용하면 NTCP를 치료타겟으로 작용하는 화합물들을 대량스 크리닝하는 데 유용하며 최근에 이 방법으로 Oxysterol 계열의 화합물들이 NTCP에 결합하여 HBV의 감염을 억제할 것이라는 연구가 보고된 바 있다 (5).

DISCUSSION

HBV는 급, 만성 간염, 간섬유화, 간경변 및 간암의 주 원인으로 IFN, nucleos(t)ide 계열의 항바이러스제와 백신이 개발되면서 HBV로 인한 유병률과 사망률이 일부 감소하고 있다. 그러나 여전히 이러한 치료제가 인체 내 감염된 HBV의 복제를 저해할 뿐 완전히 제거하지 못하는 한계점으로 인하여 장기간 투여에 따른 각종 내성과 부작용이 보고되고 있다. 따라서 기존 치료제의 한계를 극복하고 HBV 치료 효과를 극대화하기 위해서는 HBV의 간세포 안으로의 진입을 억제하는 치료제 및 백신의 개발이 매우 시급한 실정이다.

2012년도에 HBV가 숙주세포로 진입하는 데 필수적인 역할을 하는 NTCP 수용체가 처음 규명되었으나 NTCP에 대한 짧은 연구기간, 실제적인 바이러스 감염이 hNTCP와의 결합을 통해서만 발생하는 점, 동물 모델을 원활하게 확보할 수 없는 점 등의 어려움으로 인해 현재까지 효과적인 HBV 진입 억제제로서의 치료제 개발이 제대로 이루어지지 못하고 있다. 이러한 상황에서 무엇보다 필요한 것은 이런 과정에 관여하는 NTCP 이외의 다른 수용체나 요소들을 발견하기 위한 노력이다. 현재까지의 연구결과들은 NTCP 결합만으로는 바이러스감염이 이루어질 수

없으며 사람세포에서는 이의 endocytosis의 촉진 등의 역할을 수행하는 인자들이 있음을 시사하고 있다. 이러한 연구결과들이 뒷받침되면 기존 한계점을 극복한 동물 모델에서 다양한 HBV에 대한 연구가 가능할 것이다. 더 나아가 NTCP와 결합하여 바이러스의 진입 과정을 차단할 수 있는 새로운 기전의 항바이러스제의 개발을 기대해 볼 수 있다.

REFERENCES

- 1) Global Burden of Disease Study 2010 outlines present and future health priorities, both nationally and internationally. *Br J Hosp Med (Lond)* 2013;74:71.
- 2) Glebe D, Urban S, Knoop EV, Cag N, Krass P, Grun S, *et al.* Mapping of the hepatitis B virus attachment site by use of infection-inhibiting preS1 lipopeptides and tupaia hepatocytes. *Gastroenterol* 2005;129:234-45.
- 3) Watashi K, Urban S, Li W, Wakita T. NTCP and beyond: opening the door to unveil hepatitis B virus entry. *Int J Mol Sci* 2014;15:2892-905.
- 4) Dienstag JL. Hepatitis B virus infection. *N Engl J Med* 2008;359:1486-500.
- 5) Iwamoto M, Watashi K, Tsukuda S, Aly HH, Fukasawa M, Fujimoto A, *et al.* Evaluation and identification of hepatitis B virus entry inhibitors using HepG2 cells overexpressing a membrane transporter NTCP. *Biochem Biophys Res Commun* 2014;443:808-13.
- 6) Wieland S, Thimme R, Purcell RH, Chisari FV. Genomic analysis of the host response to hepatitis B virus infection. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;101:6669-74.
- 7) Urban S, Bartenschlager R, Kubitz R, Zoulim F. Strategies to inhibit entry of HBV and HDV into hepatocytes. *Gastroenterol* 2014;147:48-64.
- 8) Zoulim F, Locarnini S. Optimal management of chronic hepatitis B patients with treatment failure and antiviral drug resistance. *Liver Int* 2013;33 Suppl 1:116-24.
- 9) Zoulim F, Perrillo R. Hepatitis B: reflections on the current approach to antiviral therapy. *J Hepatol* 2008;48 Suppl 1: S2-19.
- 10) Neurath AR, Kent SB, Strick N, Parker K. Identification and chemical synthesis of a host cell receptor binding site on hepatitis B virus. *Cell* 1986;46:429-36.
- 11) Ni Y, Lempp FA, Mehrle S, Nkongolo S, Kaufman C, Falth M, *et al.* Hepatitis B and D viruses exploit sodium taurocholate co-transporting polypeptide for species-specific entry into hepatocytes. *Gastroenterology* 2014;146:1070-83.
- 12) Elinger S. HBV: Stowaway of NTCP. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2014;38:661-3.
- 13) Yan H, Peng B, He W, Zhong G, Qi Y, Ren B, *et al.* Molecular determinants of hepatitis B and D virus entry restriction in mouse sodium taurocholate cotransporting polypeptide. *J Virol* 2013;87:7977-91.
- 14) Hagenbuch B, Meier PJ. Molecular cloning, chromosomal localization, and functional characterization of a human liver Na⁺/bile acid cotransporter. *J Clin Invest* 1994;93: 1326-31.
- 15) Meier PJ, Stieger B. Bile salt transporters. *Annu Rev Physiol* 2002;64:635-61.
- 16) Anwer MS, Stieger B. Sodium-dependent bile salt transporters of the SLC10A transporter family: more than solute transporters. *Pflugers Arch* 2014;466:77-89.
- 17) Yan H, Peng B, Liu Y, Xu G, He W, Ren B, *et al.* Viral entry of hepatitis B and D viruses and bile salts transportation share common molecular determinants on sodium taurocholate cotransporting polypeptide. *J Virol* 2014;88: 3273-84.
- 18) Glebe D, Urban S. Viral and cellular determinants involved in hepadnaviral entry. *World J Gastroenterol* 2007;13:22-38.
- 19) Yan H, Zhong G, Xu G, He W, Jing Z, Gao Z, *et al.* Sodium taurocholate cotransporting polypeptide is a functional receptor for human hepatitis B and D virus. *Elife* 2012;1: e00049.
- 20) Gripon P, Diot C, Corlu A, Guguen-Guillouzo C. Regulation by dimethylsulfoxide, insulin, and corticosteroids of hepatitis B virus replication in a transfected human hepatoma cell line. *J Med Virol* 1989;28:193-9.
- 21) Verrier ER, Colpitts CC, Bach C, Heydmann L, Weiss A, Renaud M, *et al.* A targeted functional RNA interference screen uncovers glypican 5 as an entry factor for hepatitis B and D viruses. *Hepatology* 2016;63:35-48.
- 22) Huang LR, Wu HL, Chen PJ, Chen DS. An immunocompetent mouse model for the tolerance of human chronic hepatitis B virus infection. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103:17862-7.
- 23) Yang PL, Althage A, Chung J, Chisari FV. Hydrodynamic injection of viral DNA: a mouse model of acute hepatitis B virus infection. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002;99:

- 13825-30.
- 24) Tateno C, Yoshizane Y, Saito N, Kataoka M, Utoh R, Yamasaki C, *et al.* Near completely humanized liver in mice shows human-type metabolic responses to drugs. *Am J Pathol* 2004;165:901-12.
- 25) Volz T, Allweiss L, Ben MM, Warlich M, Lohse AW, Pollok JM, *et al.* The entry inhibitor Myrcludex-B efficiently blocks intrahepatic virus spreading in humanized mice previously infected with hepatitis B virus. *J Hepatol* 2013; 58:861-7.
- 26) Raney AK, Kline EF, Tang H, McLachlan A. Transcription and replication of a natural hepatitis B virus nucleocapsid promoter variant is regulated *in vivo* by peroxisome proliferators. *Virology* 2001;289:239-51.
- 27) Li N, Zhang P, Yang C, Zhu Q, Li Z, Li F, *et al.* Association of genetic variation of sodium taurocholate cotransporting polypeptide with chronic hepatitis B virus infection. *Genet Test Mol Biomarkers* 2014;18:425-9.
- 28) Warner N, Locamini S. The new front-line in hepatitis B/D research: identification and blocking of a functional receptor. *Hepatol* 2013;58:9-12.
- 29) Nkongolo S, Ni Y, Lempp FA, Kaufman C, Lindner T, Esser-Nobis K, *et al.* Cyclosporin A inhibits hepatitis B and hepatitis D virus entry by cyclophilin-independent interference with the NTCP receptor. *J Hepatol* 2014;60: 723-31.
- 30) Chen W, Liu J, Glud C. Bile acids for viral hepatitis. *Cochrane Database Syst Rev* 2003;CD003181.
-