

RNA Granules and Stress Granules in Virus Systems

Kyongmin Kim*

Department of Microbiology, Ajou University School of Medicine, Suwon, Korea

Viruses initiate a number of cellular stress responses and modulate gene regulation and compartmentalization of RNA upon infection to be successful parasites. Virus infections may induce or impair stress granule (SG) formation to maximize replication efficiency. SGs and processing bodies (PBs) are the RNA granules, which contain translationally inactive pool of transcripts as the mRNA silencing foci. PBs and SGs, the highly conserved macromolecular aggregates, can release mRNAs to allow their translations. Unlike constitutively existing PBs that can respond to stimuli and affect mRNA translation and decay, SGs are specifically induced upon cellular stress and can triggers a global translational silencing by several pathways, including phosphorylation of the key translation initiation factor eIF2 α , tRNA cleavage, and sequestration of cellular components and so on. The dynamics of PBs and SGs are regulated by several signaling pathways, including histone deacetylase 6, and depend on microfilaments and microtubules, and the cognate molecular motors myosin, dynein, and kinesin. SGs share features with aggresomes and related aggregates of unfolded proteins and may play a role in the pathology. The recent advances in understanding the relationship between viruses and mRNA stress granules are summarized.

Key Words: Virus infections, Stress granules, Processing bodies, Translation silencing, Microtubule transport

서 론

저자는 세포가 바이러스에 감염되었을 때 받는 스트레스의 결과로 형성하는 RNA 과립(RNA granules)의 하나인 스트레스 과립(stress granules)의 형성 및 조절 기전에 관한 논문 (1, 2)을 참고하여 저자의 견해를 기술합니다.

스트레스 과립의 형성과 구성성분

진핵세포에는 프로세싱 과립(processing bodies, PBs, 또는 GW bodies), 엑소좀 과립(exosome bodies), 신경 과립(neuronal bodies), 스트레스 과립(stress granules, SGs)과 같

이 세포질의 mRNA를 함유하는 다양한 입자가 있다. PB와 엑소좀 과립은 초점(foci)으로서 세포에 항상 존재하며 RNA의 파괴에 관여한다. SG는 스트레스에 의해서 단백질합성이 멈춘 48S 번역개시복합체의 거대분자 응집체로서, 번역되지 않은 안정적인 mRNA를 저장하고 분류하는 장소이다. PB와 SG는 구성하는 일부 단백질을 공유하며 mRNA는 PB와 SG를 왔다 갔다 할 수 있다. SG와 PB는 여러 다양한 세포에 존재하며 PB도 일부 바이러스에 의해 조절되지만, SG는 세포의 스트레스 상태에서 주로 유도되며 감염된 바이러스에 의해 더 많은 영향을 받는 것으로 알려졌다으므로 이 글에서는 SG를 중심으로 기술하였다.

진핵세포의 SG의 형성은 번역개시인자(eIF2 α)의 인산화효소인 PKR, PERK, GCN2 또는 HRI에 의해 eIF2가 인산화되는 것으로 시작한다. 즉, 증식 중간단계에 이중가닥RNA를 만드는 RNA 바이러스에 의해서는 인터페론 반응에 참여하는 PKR이 주로 활성화되고, 막단백질을 만드는 일부 바이러스(예, 헤르페스바이러스 등)의 경우

Received: July 16, 2012/ Revised: July 17, 2012

Accepted: July 23, 2012

*Corresponding author: Kyongmin Kim, Department of Microbiology, Ajou University School of Medicine, Woncheon-dong 5, Suwon 443-721, Korea.

Phone: +82-31-219-5072, Fax: +82-31-219-5079

e-mail: kimkm@ajou.ac.kr

에는 소포체(endoplasmic reticulum, ER) 스트레스에 의한 PERK가 활성화된다. 48S 번역개시전복합체가 농축된 초점인 SG에는 40S 리보솜 서브유닛, eIF2, eIF3, eIF4A, eIF4B, eIF4E, eIF4G, eIF5 등의 번역개시기구가 있다. 또한 T-세포제한 세포내항원-1(T-cell restricted intracellular antigen 1, TIA-1), TIA-1-관련 단백질(TIAR), RasGAP SH3-부위 결합단백질 1 (G3BP1) 같은 대표적인 특정 RNA-결합단백질(RNA-binding proteins, RBPs)이 있지만 SG에는 그 외에 다른 종류의 RBP가 존재한다 (2). SG에는 비활성인 안정적인 mRNA가 있으므로, 활발하게 단백질합성을 하는 polysome과 mRNA를 파괴하는 PB의 평형관계에서 SG가 중간단계의 역할을 할 것이다. 즉, 활발한 단백질합성을 위해서 SG는 RNA를 역동적으로 방출하며, mRNA의 카고(cargo)를 교환하기 위하여 PB와 상호작용한다. RBP의 구획간 이동은 빠르며, 1분 이내에 SG 내용물 일부를 완전히 교환할 수 있다. mRNA가 ER과 상호작용하고 있으면 SG에 들어가지 않는다. 따라서 SG 형성이 활발한 세포에서의 SG와 PB의 상호작용은 역동적이며, 일시적이지만 mRNP의 카고 교환 외에는 이러한 상호작용의 기전이나 그 목적에 대하여 잘 알려지지 않았다.

SG가 형성되는 구체적인 분자 기전에 대해서는 아직 잘 모르지만, 일부 RNA-결합단백질의 자가-올리고머화, 번역 후 변형(post-translational modifications), 미세소관(microtubules, MTs)을 통한 mRNP 이동 등의 복잡한 과정을 통해 SG가 형성된다. 이론적으로는 이러한 중요한 단계 중 하나를 바이러스가 억제하면 SG 형성을 억제하거나 변화시킬 수 있다. TIA-1나 TIAR 및 G3BP의 자가-올리고머화가 SG 응집 초기에 절대적인 역할을 하며, TIA-1나 TIAR 및 G3BP를 과발현시키면 자발적인 SG 형성이 유도된다. TIA 단백질의 C-말단에 글루타민이 풍부한 프리온연관 부위(C-terminal glutamine-rich prion related domain, PRD)를 발현시키면 SG 형성을 억제하며, PRD가 없는 TIA의 과발현은 자발적인 SG 형성을 유도하지 않는다. 또한 TIA-1나 TIAR이 없는 쥐배아섬유아세포(murine embryonic fibroblasts, MEF)는 여러 스트레스 상태에서도 SG를 형성할 수 없다. G3BP는 인산화-의존적으로 자가-올리고머를 생성할 수 있으며 아르기닌(arginine)이 풍부하고 PxxP 부위가 있는 G3BP 중앙 부위의 과발현은 SG 형성을 억제한다. TIA-1처럼, G3BP를 siRNA로 억제한 경우, 또는 G3BP^{-/-} MEF는 SG 형성을 할 수 없다.

비활성의 인산화효소인 MK-STYX에 의해서 G3BP가 격리되면 아비산염(arsenite)을 처리하거나 G3BP를 과발현하여도 SG 형성을 억제하므로, SG 형성에 G3BP가 중요하다는 것이 밝혀졌다. 또한 SG 형성을 매개하는 G3BP를 조절하기 위해서 G3BP의 세린(serine)149가 인산화되며 이 과정에 관여하는 인산화효소는 아직 밝혀지지 않았다. 그 외에도 인산화모방-변이단백질인 G3BP S149E를 과발현시키면 SG 형성을 억제하지만, 인산화불가능-변이단백질인 G3BP S149A를 외인성으로 발현시키면 wild type (wt)의 경우 SG가 위치하게 된다.

앞에서 언급한 것 외에도 SG의 역동성을 조절하는 여러 단백질의 번역 후 변형이 SG 형성에 관여한다. 이러한 번역 후 변형은 O-linked N-acetylglucosamine (O-Glc-Nac) 변화, 메틸화(methylation), 아세틸화(acetylation), 인산화 등이다. 이들 중 일부 단계는 아직 자세한 연구결과를 얻지 못했고, 또한 바이러스의 감염과 관련한 관점으로는 전혀 연구되지 않았으나, 바이러스에 의해 그 기전이 조절될 가능성이 있다. 마지막으로 MT과 MT 모터단백질인 다이닌/다이넥틴(dynein/dynactin)과 키네신(kinesin)이 SG 형성을 매개하는 것이다 (3). Tubulin과 heat shock protein 90 (HSP90)을 탈아세틸화하는 히스톤 탈아세틸화효소 6 (histone deacetylase 6, HDAC6)는 SG 성분이 MT 모터의 작용으로 MT을 따라 이동하게 하여 SG 형성에 관여한다고 알려졌다 (3). 따라서 MT을 해체시키면 SG 형성과 해산이 일어나지 않으며, 퍼진 상태의 작은 SG가 스트레스 시작단계에 형성되어 스트레스에서 회복되어도 그 상태의 SG가 지속된다. 그러나 일단 SG가 생기면 SG를 유지하는데 MT가 영향을 미치지 않는다. 즉, 다이닌/다이넥틴과 키네신 모터단백질을 억제하여도 SG가 작고 퍼진 점 모양으로 형성되어 이 후 스트레스에서 벗어나도 그 상태의 SG가 지속된다. 종합하면 SG 형성은 여러 종류의 주요한 표적단백질의 변형과 함께 RBP와 세포골격의 상호작용과 같은 여러 요인이 함께 관여한다. 바로 이러한 여러 단계가 바이러스에 의해 영향을 받아 조절되는 것이다.

스트레스 과립과 바이러스의 상호작용

단백질합성을 억제하는 SG 및 RNA를 파괴하는 PB의 기본적인 역할에서의 관점으로 보면, 숙주세포의 단백질합성억제와 RNA 파괴가 바이러스증식과정에 직접적인

영향을 미치므로 궁극적으로는 바이러스가 이 과정에 대해 적응(viral adaptation)하게 될 것이다. 또한 바이러스는 숙주세포의 여러 과정을 선택하거나 방해함으로써 다양한 단계에서의 스트레스 반응을 유도한다. 실제로 RNA 사일런싱(RNA silencing)과 RNA 저장에 SG가 관여하므로 여러 RNA 바이러스가 SG를 조작한다고 알려졌다, DNA 바이러스 역시 SG 반응을 조절한다. 바이러스가 SG 경로와 상호작용한 결과 여러 표현형이 만들어진다 (Table 1). 일반적으로 대부분의 바이러스는 감염기간 동안 SG 형성을 억제하지만, 일부 바이러스는 SG 형성을 유도하여 SG 반응의 일부를 감염과정에 이용하기도 한다 (Table 1). 그러나 이와 같은 바이러스와 SG의 상호작용 기전에 대해 전반적으로는 아직 잘 알려지지 않았으므로 계속해서 추가되어야 할 것이다.

감염의 시작 혹은 중간단계에서 바이러스에 의한 SG 억제 기전

포유류 오소레오바이러스(mammalian orthoreoviruses, MRV)는 선별적으로 세포에 침입하는 능력이 서로 다른 바이러스 종(strain)과 감염 세포형에 따라 eIF2 α 인산화-의존기전을 통해 SG 형성을 유도한다. 자외선 처리에 의해 불활성화된 입자나 중간 서브 비리온 입자(intermediate

subviriion particles, ISVPs)의 양(dose)에 따라서 SG 형성을 유도하므로, 바이러스 진입(감염단계)에서 SG를 유도한다 (4). SG 형성을 위해 바이러스 유전자가 발현될 필요는 없으나 그 대신 바이러스 감염이 진행되면서 SG를 억제한다 (4). 이 단계에서는 eIF2 α 인산화가 많이 되어 있어 SG 형성을 촉진하는 상태임에도 불구하고, 아미산염이나 그 외의 다른 처치를 하였을 경우 여러 종류의 MRV가 SG 형성을 억제하는 것으로 보아 MRV는 eIF2 α 인산화 이후의 SG 형성단계를 억제한다 (5). 또한 외부 요인에 의한 스트레스 상태에서도 MRV 감염세포가 단백질합성(translation)을 하는 것은 SG가 형성되지 않은 것과 관련된다. 즉, SG 형성 초기에는 세포 및 바이러스 단백질합성 모두가 억제되지만, SG가 억제되는 후기에는 바이러스의 단백질합성은 억제되지 않는다.

반면에 숙주세포의 단백질합성을 억제하는 2종류(clone 8 (c8) and c87)와 억제하지 않는 Dearing strain의 레오바이러스에서 SG가 감염기간 동안 계속 존재하였다. 또한 SG 형성을 유도하는 레오바이러스에서는 eIF2 α 인산화와 숙주세포 단백질합성 억제가 상관관계가 있다는 것이 밝혀졌다. 즉, Dearing strain은 eIF2 α 인산화의 정도를 매우 낮추어 SG의 발현을 낮춘다는 것이다 (6). 종합하면, 서로 다른 바이러스 종 및 숙주세포에서 SG 반응이 각각 다른 조절 기전을 통해 나타나므로, 이들을 실험적 도

Table 1. Virus infections may induce or block SG formations (Modified from Thomas *et al.*, Ref. 2)

Virus		eIF2 α phosphorylation	SG induction (marker)	SG inhibition (stressor : marker)	References
Positive stranded RNA	Mouse hepatitis virus	Yes	Yes (TIAR)	Unknown	15
	Semliki Forest virus	Yes	Yes (TIA-1, TIAR, eIF3)	Yes (arsenite : TIA-1)	7
	Poliovirus	Unknown	Yes (TIA-1, polyA+, mRNA, Sam68, G3BP, eIF4G, PABP)	No (heat shock : Sam68, Hsp27)	8, 9
	West Nile and Dengue viruses	No	No (TIAR)	Yes (arsenite : TIAR)	11
	HIV-1	No	No (PABP, Staufen1)	Yes (arsenite : PABP, Satufen1)	12
Double stranded RNA	Rotavirus (<i>Reoviridae</i>)	Yes	No (TIA-1, eIF4E, S6, PABP)	Yes (arsenite : TIA-1, eIF4E, S6)	10
	<i>Reoviridae</i>	Yes	Yes (TIA-1, TIAR, G3BP, eIF4G, eIF4E, eIF3, 7F4)	Unknown	4, 6
DNA	Herpes simplex virus 1	Unknown	No (TIA-1/R)	Unknown	14
	Human cytomegalovirus	Unknown	No (eIF4G)	Yes (tahpsigargin : eIF4G)	16

구로 사용하여 SG 반응의 조절 기전을 밝힐 수 있을 것이다.

알파바이러스(alphavirus)인 쉼리키 포리스트 바이러스(Semliki Forest virus, SFV)도 eIF2 α 인산화-의존적 방식으로 감염 초기에 SG 형성을 유도하며, 동시에 숙주의 단백질합성을 억제한다 (7). TIA-1이 없는 MEF에 감염되면 숙주의 단백질합성 억제가 늦어지므로, SFV는 숙주의 단백질합성을 억제하기 위해 SG 형성의 일부를 허용한다. MRV처럼 SFV는 감염 후기에 외부의 스트레스 요인에 의한 SG 형성을 억제한다. MRV와 달리 SFV는 바이러스 증식에 필요한 SG를 유도하며 바이러스RNA(vRNA)와 SG의 형성이 서로 상관관계가 있다. 즉, vRNA 양이 적은 세포에서는 vRNA와 가까운 근처가 아닌 세포질 부위에 SG가 있는 것으로서, 바이러스증식과 밀접하게 연관된 과정으로 SG 형성이 억제된다 (7).

MRV와 SFV와는 달리 회색척수염바이러스(소아마비 바이러스, poliovirus, PV)는 일부 세포에서 eIF2 α 인산화-비의존적 방식으로 감염 초기에 SG 형성을 유도한다. G3BP와 eIF4GI가 있는 SG는 감염 2~3시간 후 최고조에 이르며 (8), 감염이 진행되면 SG가 감소한다. MRV와 SFV처럼 PV도 아비산염 같은 외부스트레스에 의한 기본 SG (canonical SG) 형성을 억제한다. 이전에 알려진 PV에 의한 SG 형성 억제와는 달리 감염 후기에는 TIA-1이 있는 초점이 관찰되며 안정적인 SG와 연관되어 있다 (9). 그러나 PV-감염세포에 지속적으로 존재하는 TIA-1-양성 초점에는 SG 성분인 번역개시인자와 대부분의 mRNA가 없으므로 기본 SG는 아니다. PV의 유전자 산물은 단백질합성이 중지된 번역개시복합체를 격리시킴으로써 TIA-1 응집과정과 분리시킬 수 있으며, 격리된 번역개시복합체의 단백질합성 기구를 내보내서 바이러스증식을 돕는다. PV는 3Cpro(바이러스 단백질 분해 효소)가 SG 성분인 G3BP를 잘라서 G3BP RNA-결합 부위 및 단백질 상호작용 부위가 분리되도록 하여 SG를 억제한다(Fig. 1, Table 1). 분해되지 않는 쪼개짐-저항 G3BP Q326E를 발현하면 개시인자와 mRNA가 있는 기능적인 SG가 형성되고 바이러스증식이 대략 7배 감소하게 되므로 SG는 항 바이러스 능력이 있는 것으로 보인다 (8).

C형간염바이러스(hepatitis C virus, HCV)도 숙주세포에 감염되면 SG 형성을 유도하지만, 감염이 진행되면서 외부 스트레스 자극이 더해지면 SG 형성을 억제한다. 그러나 MRV, SFV, PV와는 달리, HCV는 필요한 SG 성분을 취

하여서 바이러스증식 공장(viral replication factories, RFs)에 사용하므로 스트레스 상태에서도 몇 가지의 SG 표지 인자가 HCV core 단백질과 계속 함께 위치하고 있다. 이것은 바이러스 유전체 RNA가 효율적으로 증식하기 위해서 바이러스 NS5B 단백질과 음성가닥 RNA의 5' 말단이 G3BP1 및 다른 인자들과 상호작용하기 때문일 것이다. 흥미롭게도 세포 내의 지방 과립(lipid droplets)을 둘러싸고 있는 반지모양의 구조에 SG 성분인 G3BP와 ataxin2와 PB 성분인 DDX6와 HCV core 단백질이 관찰되었다.

마지막으로 *Dicistroviridae*과의 cricket paralysis virus (CrPV)는 감염 동안에 초파리의 TIA-1 상동단백질인 Rox8와 G3BP 상동단백질인 Rin이 SG에 포함되는 것을 억제하여 SG 형성을 조절하지만(Fig. 1), polyA가 있는 mRNA나 poly(A)-결합단백질(poly(A)-binding protein, PABP)이 SG에 포함되는 것을 억제하지는 않는다. 다양한 스트레스 상태에서의 CrPV-감염세포가 polyA-와 PABP-양성 과립을 만들면서도 Rox8와 Rin이 분산되어 분포하고 있다는 점은, CrPV가 특징적인 SG 표지인자를 선택적으로 억제한다는 것이다. 따라서 바이러스의 종류에 따라 서로 차이가 있지만, 바이러스에 의한 SG 유도와 억제의 기본형이 곤충바이러스와 동물바이러스에서도 잘 보존되어 있다는 것을 알 수 있다.

전체 감염기간 동안의 바이러스에 의한 SG 억제 기전

많은 종류의 바이러스에서 야생형(wt)바이러스가 감염된 동안에는 SG가 쉽게 관찰되지 않으며, eIF2 α 인산화와 외부 스트레스 자극을 유도해도 SG 형성이 억제되지만 이것에 대한 자세한 기전은 잘 알려져 있지 않다.

로타바이러스(rotavirus, RV) 감염은 eIF2 α 를 인산화시키지만 SG 형성을 촉진하지 않으며 아비산염을 처리해도 SG를 형성하지 않는다(Table 1) (10). 흥미롭게도 효율적인 RV 증식에 eIF2 α 인산화가 필요하지 않지만 숙주 세포 단백질합성을 억제하기 위해 바이러스증식효율을 낮추는 손해를 감수하면서 eIF2 α 를 인산화한다 (10). 이 경우에는 인산화가 일어나지 않는 변이단백질인 eIF2 α S51A를 발현하면 감염된 MEF도 단백질합성이 활발하게 일어난다.

카디오바이러스(cardioviruses) 중, 특히 Theiler's murine encephalomyelitis virus (TMEV)에 감염되면 외부 스트레

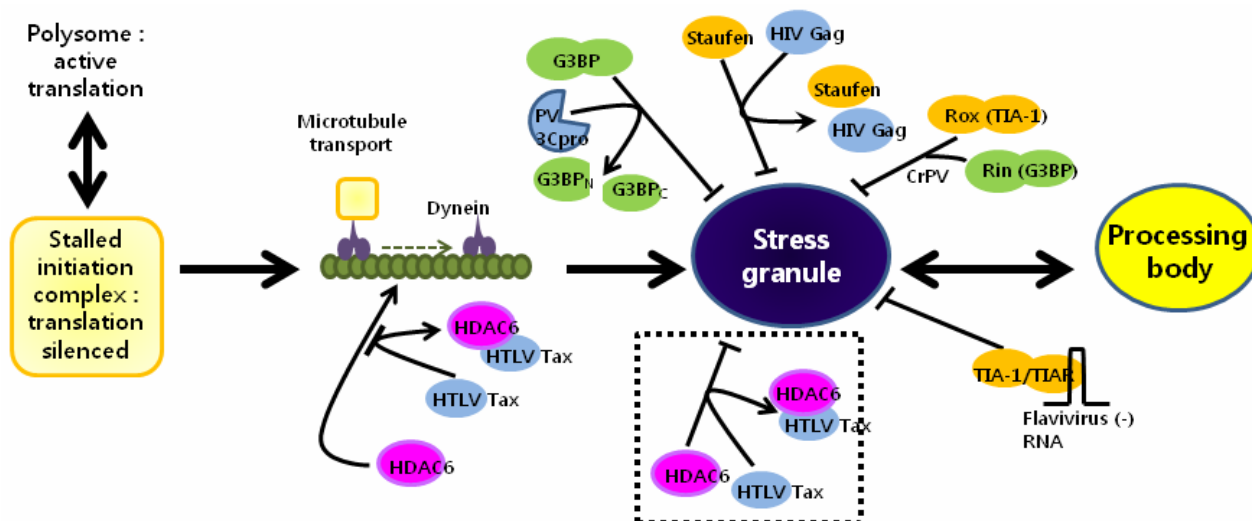


Figure 1. Several viruses inhibit stress granule (SG) formations (modified from White and Lloyd. Ref. 1). Sequestrations or cleavage of SG components are illustrated among several mechanisms. The inhibition of SG formations by the interaction of human T-cell leukemia virus type 1 (HTLV-1) Tax protein and histone deacetylase 6 (HDAC6) (dotted box) is emphasized to demonstrate that HDAC6 is required to localize SG by motor proteins associated microtubule transport. Deacetylase activity of HDAC6 may also function in SG assembly.

스를 주어도 SG 형성을 억제한다. 돌연변이 리더단백질 (leader protein, L)을 가진 TMEV는 감염기간 동안 내내 SG 형성을 유도하기 때문에, TMEV 리더단백질(leader protein, L)이 SG 억제와 관련되어 있다. TMEV 또는 다른 카디오바이러스(Mengovirus와 Saffold virus)의 L 단백질을 발현시키면 SG 형성을 억제한다.

급성으로 후닌바이러스(Junin virus)에 감염되면 nucleoprotein (N)이나 당단백질 전구체(glycoprotein precursor, GPC) 발현에 의존하는 것으로 추정되는 기전에 의해서 아비산염 처리 시, eIF2 α 의 인산화를 억제한다. 그러나 지속 감염된 Vero 세포에 일부 잘려진 N 단백질을 발현하고 GPC 발현 레벨이 낮은 경우에는 감염되지 않은 세포처럼 SG가 형성된다.

인플루엔자 A 바이러스(influenza A virus)에 감염되면 세포 내에서 SG 형성을 유도하지 못한다. 그러나 NS1 돌연변이가 있는 바이러스는 PKR-의존적 경로로 SG가 형성되므로, 인플루엔자바이러스 NS1 단백질이 PKR 활성화를 억제하여 SG 형성을 막는다. 그러나 SG 형성이 바이러스증식억제와 연관되지만, eIF2 α 인산화로 인한 바이러스 단백질합성의 억제효과와는 연관되지 않는다.

플래비바이러스과(Flaviviridae family)인 웨스트나일바이러스(west Nile virus, WNV)와 뎅기바이러스(dengue virus, DV)는 외부스트레스가 오면 음성가닥 RNA의 3'-말

단 머리핀구조(stem loop structure, 3'(-)SL)가 TIA-1 또는 TIAR와 특이적으로 결합하여서 TIA-1과 TIAR를 격리하여으로써 SG 형성을 억제하며 (11), 이 결합은 바이러스 증식에 반드시 필요하다(Fig. 1, Table 1). DV의 3' UTR과 5' UTR은 SG 단백질인 G3BP1, caprin1, USP10와 PB 표지 단백질인 DDX6 (RCK/p54)를 끌어내려서 이중가닥 RNA(dsRNA)가 위치하는 바이러스증식 부위에 일부가 존재하지만, SG 표지단백질이 SG-유사초점에 응집되어 있는 않은 것처럼 보인다. 다른 SG 단백질이 바이러스증식 부위에서 하는 역할은 모두 밝혀진 것은 아니지만, DDX6과 3' UTR의 상호작용은 DV 바이러스의 증식에 필요하다.

두 종류의 레트로바이러스는 SG 형성을 억제하는 것으로 알려졌다. 먼저 사람면역결핍바이러스-1(human immunodeficiency virus 1, HIV-1)는 많은 eIF2 α 가 인산화됨에도 불구하고 아비산염을 처리하였을 때 SG 형성을 억제하지만, 퓨로마이신을 처리하였을 때는 SG 형성을 억제하지 않는다(Table 1) (12). 이로써 HIV-1에 의한 SG 형성 억제가 eIF2 α 인산화 다음 단계에서 일어난다는 것을 알 수 있다. 또 다른 SG 표지단백질인 Staufen1은 바이러스의 Gag 단백질과 상호작용하여서 안정적인 HIV-1 ribonucleoproteins (RNPs)가 바이러스 캡시드로 encapsidation 되도록 한다(Fig. 1) (12).

또한 Human T-cell leukemia virus type-1 (HTLV-1)는 Tax 단백질을 발현하여서 SG 형성을 억제한다 (13). Tax가 세포 내 어디에 위치하느냐에 따라 SG 형성이 다르게 조절된다. 즉, Tax가 핵에 있으면 스트레스가 없어도 SG가 형성되지만, Tax가 세포질에 있으면 SG가 형성되지 않는다. 이 경우에는 또한 SG 형성과 유지에 절대적으로 중요한 히스톤 탈아세틸화효소6(HDAC6)와 Tax가 서로 상호작용하여 SG 형성이 억제된다(Fig. 1) (13).

마지막으로 단순헤르페스바이러스 1형(herpes simplex virus 1, HSV1)와 같은 DNA 바이러스는 돌연변이 바이러스만이 SG 또는 SG-유사구조를 유도한다. 야생주 HSV1에 감염되면 TIA-1와 TIAR은 세포질에 초점으로 위치하지만, 뚜렷한 SG 형성을 유도하지 않는다. 그러나 숙주세포 차단(shutoff, Vhs) 단백질이 없는 변이 HSV1 Δ UL41에 감염되면 숙주세포에 따라 eIF2 α 인산화와 무관하게 SG를 형성하게 한다(Table 1) (14). 즉 HSV는 eIF2 α 인산화로 숙주세포 단백질합성을 조절하면서도 SG 형성을 강하게 억제한다. 이 결과는 eIF2 α 인산화가 SG 형성을 시작하는 유일한 통로가 아니라는 것을 보여 주는 것이다.

SG 반응을 통한 바이러스 관용의 유도 혹은 또는 증식에 이용?

바이러스가 세포 내의 여러 과정들을 주도적으로 조작하기 때문에 앞에서 HCV와 플레비바이러스에서 언급했듯이 G3BP와 TIA-1같은 일부 SG 구성성분들이 바이러스 증식에 이용된다는 것은 놀랄 일이 아니다. 일부 바이러스는 자신의 증식을 위해 SG 형성을 유도하는 단계를 택한다. 일부의 경우에는 바이러스기능에 이용되는 일부 SG 구성성분의 응집과 eIF2 α 인산화가 연관되어 있지 않다.

RNA 바이러스인 호흡기세포융합바이러스(respiratory syncytial virus, RSV)와 코로나바이러스(coronaviruses) (15)는 숙주세포의 단백질합성을 억제하는 기전으로 SG 형성을 유도한다. RSV의 경우, 감염 후 24시간이 되면 감염된 세포의 ~30%가 SG 형성을 유도하여서 바이러스 증식을 촉진한다. SG가 없는 세포와 달리 SG가 있는 세포는 커다란 바이러스봉입체(inclusion bodies)가 생긴다. 이 때 G3BP를 감소(knockdown)시켜서 SG 형성을 억제하면 바이러스증식이 10배 감소한다. RSV는 PKR-의존적인 eIF2 α 인산화에 의해 SG를 유도하므로, RSV가

감염되어도 PKR를 녹아웃(knockout)시키면 SG 형성 능력이 감소된다. 그러나 SG가 없어도 RSV 바이러스증식이 감소되지는 않는다. 반면에 상반되는 결과도 있기 때문에 RSV 증식에서의 SG 역할은 아직 확립되지 않았다.

코로나바이러스인 mouse hepatitis coronavirus (MHV) (15)와 gastroenteritis coronavirus (TGEV)는 SG 형성을 유도하여 바이러스 유전자가 활발히 발현하는 동안이거나 혹은 감염이 지속되는 기간 내내 SG가 지속적으로 존재한다(Table 1). MHV는 감염 후 6시간에 SG와 PB 형성을 유도하여 eIF2 α 의 일부 인산화와 숙주세포 단백질합성 억제가 동시에 일어나지만, 바이러스 단백질합성을 억제하지는 않는다. 즉, 활발한 바이러스 단백질합성과 SG가 함께 존재하지만, MHV가 감염 후기에 SG를 억제하는지는 알지 못한다. eIF2 α 인산화 및 SG 형성이 되지 않는 세포에서 MHV 증식이 촉진된다 (15)는 것은 바이러스가 숙주세포 단백질합성을 억제하기 위해 eIF2 α 인산화를 유도하지만 이 때문에 바이러스의 단백질합성도 조금은 억제되기 때문이다. TGEV는 최소한 16시간 동안 SG가 증가하여 지속하도록 하는데, 이 시간은 자신이 증식하는데 필요한 시간이다. 이러한 SG에는 TIA-1, TIAR, 핵 단백질 PTB가 있으며 이러한 구조형성은 바이러스 RNA가 축적되지 못하도록 하는 것과 관련이 있다. PTB가 바이러스 RNA에 결합하여 TIA-1와 PTB가 있는 복합체에 바이러스의 gRNA와 subgenomic mRNA (sgmRNA)가 있지만, 바이러스의 dsRNA나 증식복합체가 있는 초점과 PTB가 있는 SG 구조는 구별된다. 이러한 관점에서 PTB 위치조절과 SG 유도는 바이러스 RNA 증식, 바이러스 단백질합성, 바이러스 입자로의 포장을 조절하는 역할을 할 수도 있다. 그러나 TGEV mRNA 발현을 SG가 억제하는지는 알 수 없고, PTB-양성 SG의 항 바이러스 작용을 배제할 수도 없다.

DNA 바이러스인 백신시아바이러스(vaccinia virus, VV)는 SG 구성성분을 파괴하여 새로운 응집체로 만들어서 SG 특성은 남아있지만 단백질합성이 억제된 mRNA는 없는, 근본적으로 다른 SG를 이용한다. VV가 eIF2 α 인산화를 억제하여도, 증식하는 동안에 세포질 증식장소(cytoplasmic replication factories, RFs) 내부나 주변에 SG-유사구조가 생긴다. G3BP, 세포질의 activation/proliferation-associated protein-1 (p137 or Caprin1)과 번역개시인자(initiation factors)인 eIF4G, eIF4E가 VV RNA와 함께 이 응집체에 있다. G3BP는 SG 형성의 필수단백질이고 G3BP:

Caprin-1 heterodimer는 SG에 있다. 그 곳이 바이러스 단백질합성의 중심지로 생각되며, 번역되지 않는 mRNA가 안정적으로 있는 전형적인 SG와는 다르다. 불완전한 SG 구조로 조립된 응집체가 바이러스의 RF에 있으며 여기에는 eIF4E와 eIF4G는 있으나 PABP나 TIA-1은 없다. VV가 숙주 mRNA를 파괴하는 과정에서 정상적인 SG를 파괴하게 되며, 이로 인해 응집된 SG 구성성분이 방출될 것으로 생각된다.

dsRNA 결합단백질 E3L이 없는 돌연변이(VV ΔE3L) VV에 감염되면 PKR 활성화 및 eIF2α 인산화를 억제하지 못한다. 이 때 만들어진 SG-유사구조에는 G3BP, TIA-1, USP10, 개시인자와 같은 특징적인 표지단백질이 있으며, RF를 둘러싸거나 꼬여있으며, eIF2α 인산화가 필요하다. 이러한 SG는 PKR 활성화 및 바이러스증식 감소와 연관되어 있으므로 항 바이러스 과립(antiviral granules, AVGs)이라고 명하였다. 종합하면, G3BP와 번역개시인자가 새로운 역할을 하도록 VV가 조종을 하지만, SG 내에서의 단백질합성은 억제하지 못한다. 그 이유는 eIF2α 인산화를 막는 E3L이 없는 VV ΔE3L이기 때문이지만, VV가 숙주 mRNA를 파괴하므로 대신에 RF 주변이나 RF 내에서 바이러스 단백질합성이 중점적으로 일어날 것으로 설명된다.

항 바이러스 반응의 중심인 SG의 기능

많은 바이러스들이 SG를 억제하므로, SG를 항 바이러스 기능이 있는 세포의 스트레스 반응으로 볼 수 있다. 즉, 바이러스증식에 필요한 세포의 구성성분에 결합하여 이들을 격리시킴으로써 SG는 항 바이러스 기능을 한다. 예를 들어 SG는 음성가닥 RNA에 상보적인 3' stem loop에 결합하여 플레비바이러스증식에 필요한 TIA-1과 TIAR을 격리시킨다 (11). G3BP 역시 HCV 증식복합체주변에 모여서 사용된다. 또한 바이러스가 효율적으로 증식하려면 번역개시인자가 필요하므로 40S 서브유닛과 eIF4G, eIF4A, eIF4B와 eIF3를 격리하는 것은 바이러스증식에 나쁜 영향을 미친다. 피코르나바이러스(picornavirus) 단백질합성을 자극하는 PTB, PCBP2와 UNR 같은 내부 리보솜 유입점(internal ribosome entry site, IRES) transactivating factor가 SG로 격리된다. 따라서 SG-매개 격리 작용으로 다양한 여러 인자들이 세포질의 전체 pool로부터 격리되는 것은 결과적으로 항 바이러스 작용을 나타내는 것

로 볼 수 있다.

어떤 경우에는 바이러스 RNA가 SG에 포함되어 바이러스증식을 억제한다는 증거가 있으나, 대부분의 바이러스 시스템에서는 증거가 아직 부족하다. 그러나 mRNP 복합체에 결합하여 SG와 PB 모두를 왕복하는 항 바이러스 단백질인 APOBEC3G와 APOBEC3F의 경우는 아마도 예외일 것이다. APOBEC3G는 HIV RNA에 결합하여 HIV RNA가 SG와 PB로 가도록 한다. 또한 SG 표지단백질과 결합하는 여러 바이러스의 유전체는 SG로 격리될 위험이 있다. TIA-1/TIAR에 결합하는 플레비바이러스 RNA가 그 예이며 최근에 HCV와 DV RNA가 G3BP에 결합하는 것으로 여겨진다고 위에서 언급하였다.

마지막으로 세포의 스트레스 반응인 SG는 항 바이러스 작용을 하지만, 그 외에도 세포예정사(apoptosis)를 억제하는 기능을 할 것이다. 세포의 스트레스에 의한 항 바이러스 작용의 하나인 세포예정사는 바이러스에게 훨씬 더 치명적이다. SG는 RACK1과 다른 세포예정사-촉진인자를 SG로 격리시키고 JNK/SAPK 경로를 억제하여 세포예정사를 억제할 수 있다. 따라서 바이러스는 바이러스 전구인자(pro-viral factors)와 번역기구를 지나치게 격리시키지 않으면서 세포예정사 전구인자(pro-apoptotic factor)를 SG로 충분히 격리시키도록 SG를 섬세하게 조절할 필요가 있다.

결론

바이러스와 SG의 상호작용에 관한 연구는 아직 초기 단계이며 더 많은 연구가 필요하다. 바이러스가 SG 구성성분인 G3BP, TIA-1, Staufen, HDAC6을 격리하거나 자른다는 초기 단서가 제시되었지만, 이들 단백질이 SG 형성과 조절에 어떠한 기능을 하는지는 거의 알지 못한다. 카디오바이러스(cardiovirus)와 후닌바이러스(Junin virus)와 같은 바이러스에서 SG를 억제하는 바이러스 산물이 밝혀졌으나, 이들의 표적이나 분자적 기전과 같은 자세한 내용은 아직 잘 알지 못한다. 또한 바이러스 감염에 의해 SG가 억제되어 SG가 없어지는 것이 SG 형성을 억제하기 때문인지 또는 SG 분해를 촉진하기 때문인지도 잘 알지 못한다. 그러나 SG 분해를 촉진하는 기능은 바이러스 감염 시 SG를 조절하는 새로운 기전으로 생각되므로 그 기전을 연구하면 SG 형성과정을 밝히는 중요한 단서가 될 것이다. 또한 바이러스 감염에 의한 미체소관 이동이

나 번역 후 변형(posttranslational modifications)과 같은 SG 조립의 다른 단계에 대해서도 아직 잘 알지 못한다. 그러나 이러한 모든 과정에서 바이러스 간섭이 SG 형성과 그 기능을 조절할 것이다. 마지막으로 PV, CrPV, HCV 감염은 SG와 함께 PB를 파괴한다. 이 경우에 어느 바이러스가 두 종류의 RNA 과립을 어떻게 억제하는지 혹은 통합적인 조절 기전이 있는지에 대한 연구가 필요하다. SG에 의한 항 바이러스 효과 및 SG가 관여하는 세포예정사 경로에서 바이러스가 어떻게 두 경로 사이의 균형을 이루는지에 대하여 더 연구할 필요가 있다. 예를 들어 세포 내의 여러 인자가 SG에 격리된다고 제안되었으나, 확실한 결과가 없으며 또한 일부에서는 SG 유도가 바이러스 증식을 촉진하므로 항 바이러스의 효과를 나타내지 않는다. 따라서 현재의 가설은 SG가 형성되면 그 다음 단계의 스트레스 신호가 전달되어 종합적인 스트레스 반응의 일부로서 자연면역의 항 바이러스 기전(innate antiviral mechanisms)이 활성화된다는 것이다. 이와 같이 바이러스는 세포 기능을 연구할 수 있는 훌륭한 탐침자이다. 바이러스가 SG 형성을 억제하는 기전에 대해 더 많이 연구함으로써 RNA 과립에 관한 세포생물학과 생화학에 관한 더 많은 지식을 얻게 될 것이다. 예를 들어 감염 후, 증식을 위해 MT 및 MT 모터 단백질을 이용하는 B형 간염바이러스(hepatitis B virus, HBV)의 경우, HBV와 PB, SG 또는 HDAC6와의 관계에 관한 연구는 전혀 되어 있지 않으므로, 앞으로 다양한 많은 연구를 할 수 있을 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

- White JP, Lloyd RE. Regulation of stress granules in virus systems. *Trends Microbiol* 2012;20:175-83.
- Thomas MG, Loschi M, Desbats MA, Boccaccio GL. RNA granules: the good, the bad and the ugly. *Cell Signal* 2011;23:324-34.
- Kwon S, Zhang Y, Matthias P. The deacetylase HDAC6 is a novel critical component of stress granules involved in the stress response. *Genes Dev* 2007;21:3381-94.
- Qin Q, Hastings C, Miller CL. Mammalian orthoreovirus particles induce and are recruited into stress granules at early times postinfection. *J Virol* 2009;83:11090-101.
- Qin Q, Carroll K, Hastings C, Miller CL. Mammalian orthoreovirus escape from host translational shutoff correlates with stress granule disruption and is independent of eIF2alpha phosphorylation and PKR. *J Virol* 2011;85:8798-810.
- Smith JA, Schmechel SC, Raghavan A, Abelson M, Reilly C, Katze MG, *et al.* Reovirus induces and benefits from an integrated cellular stress response. *J Virol* 2006;80:2019-33.
- McInerney GM, Kedersha NL, Kaufman RJ, Anderson P, Liljestrom P. Importance of eIF2alpha phosphorylation and stress granule assembly in alphavirus translation regulation. *Mol Biol Cell* 2005;16:3753-63.
- White JP, Cardenas AM, Marissen WE, Lloyd RE. Inhibition of cytoplasmic mRNA stress granule formation by a viral proteinase. *Cell Host Microbe* 2007;2:295-305.
- Piotrowska J, Hansen SJ, Park N, Jamka K, Sarnow P, Gustin KE. Stable formation of compositionally unique stress granules in virus-infected cells. *J Virol* 2010;84:3654-65.
- Montero H, Rojas M, Arias CF, López S. Rotavirus infection induces the phosphorylation of eIF2alpha but prevents the formation of stress granules. *J Virol* 2008;82:1496-504.
- Emara MM, Brinton MA. Interaction of TIA-1/TIAR with West Nile and dengue virus products in infected cells interferes with stress granule formation and processing body assembly. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007;104:9041-6.
- Abrahamyan LG, Chatel-Chaix L, Ajamian L, Milev MP, Monette A, Clément JF, *et al.* Novel Staufen1 ribonucleoproteins prevent formation of stress granules but favour encapsidation of HIV-1 genomic RNA. *J Cell Sci* 2010;123:369-83.
- Legros S, Boxus M, Gatot JS, Van Lint C, Kruys V, Kettmann R, *et al.* The HTLV-1 Tax protein inhibits formation of stress granules by interacting with histone deacetylase 6. *Oncogene* 2011;30:4050-62.
- Esclatine A, Taddeo B, Roizman B. The UL41 protein of herpes simplex virus mediates selective stabilization or degradation of cellular mRNAs. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;101:18165-70.
- Raaben M, Groot Koerkamp MJ, Rottier PJ, de Haan CA. Mouse hepatitis coronavirus replication induces host translational shutoff and mRNA decay, with concomitant formation of stress granules and processing bodies. *Cell Microbiol* 2007;9:2218-29.
- Isler JA, Maguire TG, Alwine JC. Production of infectious human cytomegalovirus virions is inhibited by drugs that disrupt calcium homeostasis in the endoplasmic reticulum. *J Virol* 2005;79:15388-97.