

β ig-h3 절편-RGD 재조합단백의 만성염증성 관절염 치료효과

이 명 수

원광대학교 의과대학 내과학교실

Therapeutic Effect of a Recombinant β ig-h3 Fragment-RGD Peptide for Chronic Inflammatory Arthritis

Myeung Su Lee

Department of Internal Medicine, College of Medicine, Wonkwang University, Iksan, Korea

류마티스관절염은 관절과 전신을 침범하는 만성 염증성 질환으로서 활막조직이 비후되며 염증세포의 침윤과 혈관 신생 등의 조직학적인 소견을 보인다. 이러한 활막의 이상 비후 및 만성 염증의 중요한 인자로 Tumor necrosis factor (TNF)- α 와 Interleukin (IL)-1, IL-6 등의 염증성 사이토카인이 주목을 받아왔고 이를 기반으로 한 생물학적 약물 등이 개발되어 왔다. 최근 류마티스관절염의 발병 기전에 대한 이해의 증진과 분자 생물학적인 기술의 발달로 유전자 조작이 가능해 지면서 이를 응용한 새로운 치료 약물 개발이 시도되고 있다. 류마티스관절염의 활막조직에는 섬유아세포양 활막세포가 증식되어 있을 뿐 아니라 세포 외 기질 단백질의 발현이 증가되어 있는 것으로 알려져 있는데, 이들 중 대표적인 단백질이 glycoaminoglycan (GAG)와 fibronectin 등으로 관절액에서도 증가되어 있다 (1). 세포 외 기질 단백질은 주로 세포의 부착이나 이동에 연관되어 있다. 염증성 질환에서 세포 외 기질 단백질 역할의 중요성이 대두되고 있는데 최근 연구에서 Lefebvre 등 (2)은 fibronectin의 도메인이 Toll-like receptor 4의 활성화를 통해 류코트리엔의 합성과 백혈구의 이동에 중요한 역할을 한다고 보고하였다. 류마티스관절염의 활막에서 발현이 현저히 증가하는 세포 외 기질 단백질 중 Transforming growth factor (TGF)- β -inducible gene-h3 (β ig-h3)는 TGF- β 에 의해 유도되는

데, 다른 세포 외 기질 단백질에 비해 상대적으로 작은 크기 (68 kDa)를 가지며, 상동 도메인인 4개의 fas-1 도메인과 Arg-Gly-Asp (RGD) motif로 구성되어 있고, laminin과 제 1,4형 콜라겐 및 fibronectin과 직접적인 원섬유를 형성함으로써, 염증세포나 거주세포의 이동시 어댑터의 역할을 담당하는 것으로 알려져 있다 (3). 세포 외 기질 단백질 중 β ig-h3에 관한 연구를 지속적으로 시행해 왔던 Jang 등은 지난 호에 만성 염증성 관절염에서 β ig-h3 절편 RGD 재조합 단백을 합성하여 세포의 이주 실험과 동물 실험 및 염증의 표지자 발현을 연구함으로써 세포 외 기질 단백질의 중요성과 이를 응용한 치료 가능성을 제시하였다 (4). 이전에 주로 β ig-h3는 안과나 내분비 영역 및 종양 연구 영역에서 세포의 부착과 분화, 자연사 등과 연관되어 연구되어 오던 물질이었으나, Nam 등 (5)이 β ig-h3 단백질의 발현이 류마티스관절염 환자의 활막조직에서 현저하게 증가되어 있으며 α v β 3 인테그린과의 상호 작용을 통해 활막세포의 이주나 부착에 영향을 미침을 보고하면서 류마티스관절염 영역에서 주목을 받기 시작하였다. β ig-h3의 각 도메인에는 인테그린을 통한 세포와의 결합에 필수 부위가 존재하고, 이 부위가 tyrosine (Y)과 histidine (H)을 중심으로 양측에 leucine과 isoleucine을 포함한 18개의 아미노산으로 이루어진 YH motif인데, 같은 논문에서 4번째 fas-1 도메인에

<Received : June 4, 2012, Revised : June 13, 2012, Accepted : June 13, 2012>

Corresponding to : Myeung Su Lee, Department of Internal Medicine, College of Medicine, Wonkwang University, 344-2, Shinyong-dong, Iksan 570-711, Korea. E-mail : ckhms@hanmail.net

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

Copyright © 2012 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.

위치한 YH motif가 활막세포의 부착에 중요하게 관여함을 보고하였다 (5). 또한 Jang 등 (6)은 2008년 후속 연구를 통해 활막세포의 부착에서 β ig-h3에 의한 세포의 부착 작용이 fibronectin이나 vitronectin에 비해 상대적으로 높지 않으나, β ig-h3에 의한 부착 작용이 사이토카인이나 성장인자들에 의해 영향을 받지 않는 반면, fibronectin과 같은 주위 물질에 의해 상승 하며 세포의 종류에 따라 부착에 관여하는 β ig-h3의 주요 motif가 다르다는 것을 보고하였다. 지난 호에 Jang 등은 효과적인 기능 조절을 위해 β ig-h3의 네 번째 fas-1도메인에서 H1 및 H2 서열을 제거한 dhfas-1과 RGD 펩타이드를 연결한 재조합 단백질(MFK12)을 클로닝하여 β ig-h3의 기능을 조절함으로 collagen induced arthritis 모델에서 관절염의 발생이 억제되고, 부종과 염증이 현저하게 줄어들음을 확인 하였을 뿐만 아니라 마우스의 섬유아세포주인 NIH3T3 세포의 이주가 억제됨이 보고되었다. 또한 MFK12는 염증세포의 침윤을 억제하고 관절 조직에서 신생혈관의 생성을 억제하며 혈관벽에서 ICAM-1의 발현도 억제하는 결과를 보였을 뿐만 아니라 TNF- α , IL-1 β , IL-6, RANKL, CCL-2, VCAM-1, MMP-1, MMP-3의 발현도 억제하는 것으로 나타났다. RGD 펩타이드는 여러 가지 세포 외 기질 단백질의 구성 요소로서 다양한 인테그린과 결합함으로써 세포의 이주와 성장, 분화 및 세포 사멸에 조절 작용을 하는 것으로 알려져 있는데 (7), Nam 등은 연구에서 RGD 펩타이드와 기존 연구를 통해 β ig-h3의 작용에 중요하다고 알려진, 4번째 fas-1 도메인을 조절하여 만든 dhfas-1을 결합시켜 인테그린의 결합능을 높이는 방법으로, 상대적으로 소량에 의해서도 세포와 기질간의 상호작용을 조절하여 효과를 나타내는 것으로 추정하였다. 이처럼 세포 외 기질 단백을 기반으로 추출한 펩타이드 중 대표적인 물질이 plasminogen에서 추출한 angiostatin인데 angiostatin이 VEGF의 발현을 조절하여 비정상적으로 자라는 종양과 같은 조직에서 혈관 신생을 억제하는데 연구되었다 (8). 지난 호에 발표되었던 Jang 등의 연구는 그동안 류마티스관절염의 병리 기전을 이해하는데 상대적으로 조명 받지 않았던 세포 외 기질 단백질의 중요성과 이를 이용한 치료 가능성을 획기적으로 제시한 것이라 할 수 있겠다. 더욱 목표 작용 부위를 선별하고 유전자 조합을 통해 적은 농도에서 효과적으로 활성이 가능한 펩타이드를 개발하여 향후 유전자 조합을 응용한 관절염의 효과적 치료에 대한 방향성을 제시한 것이라 할 수 있다. 특히 유전자 조합 물질에서 RGD 펩타이드를 이용한 것은 여러 가지 세포 외 기질에 연결되어 있는 RGD motif가 중요한 세포 조절 기능을 하며 (9), 내부에서 기질로부터 만들어진 RGD 펩타이드 뿐만 아니라 인위적인 조작을 통해 외부에서 주입된 RGD를 포함하는 펩타이드 역시 세포에서 생물학적인 역할을 하는 것을 응용한 것으로 생각되며, 이를 통해 훌륭한 연구 결과를 발표한 것이다. 향후 세포 외 기질 단백질의 역할에 관한 자세한 규명을 통해, 보다

종합적인 염증성 관절염에 대한 접근이 이루어지고 이를 기반으로 새로운 류마티스관절염의 병인이 밝혀질 뿐만 아니라 다양한 치료적인 접근이 가능해질 것으로 기대된다. 이를 위해서는 β ig-h3가 TGF- β 에 의해 발현이 증가되므로 류마티스관절염에서 아직 명확한 기능이 밝혀지지 않은 TGF- β 에 관한 연구와 재조명이 필요할 것으로 생각된다. 또한 이전의 연구에서 알려진 것 처럼 류마티스관절염의 활막에는 β ig-h3와 fibronectin 등의 세포 외 기질 단백질 발현이 증가되고, 이러한 단백질들이 서로 상호작용하는데, 염증성 활막에서 현저히 증가하고, 관절 파괴의 중요한 역할을 수행하는 metalloproteinase 같은 물질과의 상호작용에 대한 연구가 보완적으로 이루어지는 것이 좋을 것으로 생각된다. 그리고 염증 상황에서 β ig-h3의 세포 이주 및 접착에 대한 역할 이외에 다른 염증의 주요 기전에 참여할 가능성에 대해서도 자세한 연구가 필요할 것으로 판단된다. 최근 siRNA를 치료에 응용하려는 연구들이 진행되고 있고, 일부 항암제에서 임상 시험 중인 점을 감안하면 siRNA를 이용한 β ig-h3의 작용 규명 및 치료에의 적용도 고려해 볼만 하겠다. 또한 β ig-h3의 knock-out 마우스나 transgenic 마우스를 통해 생체 내 염증 상황에서의 표현형이나 연관 물질의 발현을 관찰하는 것도 만성 염증성 관절염에서의 β ig-h3를 응용한 기전 연구 및 치료의 유용성을 가늠하는 좋은 방법이 될 수 있겠다. 기존에 류마티스관절염의 치료약제들은 단일 표적을 차단하는 것에 초점이 맞춰지고 있지만, 좀 더 작용 범위가 넓은 약제의 개발이 필요한 상황이다. 아직까지도 류마티스관절염 환자의 활막에서 현저히 증가되어 있는 β ig-h3를 이용한 연구는 부족한 상황이지만, 지난 호에서 Jang 등에 의해 발표된 유전자 조합으로 만들어진 MKF12를 바탕으로 좀 더 낮은 농도에서, 보다 효과적인 작용을 나타낼 수 있는 새로운 구조의 β ig-h3 기반 재조합 단백질에 대한 연구가 필요한 실정이다.

감사의 글

이 논문은 2010학년도 원광대학교 교비 지원에 의해서 연구되었습니다.

참고문헌

1. Clemmensen I, Hølund B, Andersen RB. Fibrin and fibronectin in rheumatoid synovial membrane and rheumatoid synovial fluid. *Arthritis Rheum* 1983;26:479-85.
2. Lefebvre JS, Lévesque T, Picard S, Paré G, Gravel A, Flamand L, et al. Extra domain A of fibronectin primes leukotriene biosynthesis and stimulates neutrophil migration through activation of Toll-like receptor 4. *Arthritis Rheum* 2011;63:1527-33.
3. Kim JE, Kim SJ, Lee BH, Park RW, Kim KS, Kim IS. Identification of motifs for cell adhesion within the repeated domains of transforming growth factor-beta-induced gene, betaig-h3. *J Biol Chem* 2000;275:30907-15.
4. Jang JA, Kang JH, Sa KH, Han SW, Seo JS, Kim KH,

- et al. Therapeutic effect of a recombinant β ig-h3 fragment-RGD peptide for chronic inflammatory arthritis. *J Rheum Dis* 2012;19:73-81.
5. Nam EJ, Sa KH, You DW, Cho JH, Seo JS, Han SW, et al. Up-regulated transforming growth factor beta-inducible gene h3 in rheumatoid arthritis mediates adhesion and migration of synoviocytes through alpha v beta3 integrin: Regulation by cytokines. *Arthritis Rheum* 2006;54: 2734-44.
 6. Nam, EJ, Song EJ, Kim JM, Seo JS, Sa KH, Cho HJ, et al. β ig-h3-Mediated Adhesion of Fibroblast-Like Synoviocytes in Rheumatoid Arthritis. *J Korean Rheum Assoc* 2008;15:222-9.
 7. Yoon SH, Mofrad MR. Cell adhesion and detachment on gold surfaces modified with a thiol-functionalized RGD peptide. *Biomaterials* 2011;32:7286-96.
 8. Rinaldi N, Barth T, Henne C, Mechtterscheimer G, Möller P. Synoviocytes in chronic synovitis in situ and cytokine stimulated synovial cells in vitro neo-express alpha 1, alpha 3 and alpha 5 chains of beta 1 integrins. *Virchows Arch* 1994;425:171-80.
 9. Ruoslahti E. RGD and other recognition sequences for integrins. *Annu Rev Cell Dev Biol* 1996;12:697-715.