

단백질 분해 조절을 통한 인슐린 신호전달의 조절

포천중문 의과대학교 세포유전자치료연구소

이 민 영 · 백 광 현

Regulation of Insulin Signaling through Protein Degradation

Min-Young Lee, Kwang-Hyun Baek

Cell and Gene Therapy Research Institute, Pochon CHA University

서 론

인슐린은 세포의 대사, 성장 분화를 조절하는 가장 기본적인 호르몬으로 탄수화물, 지방, 단백질의 합성과 저장을 증진시킨다. 췌장세포 내에서 인슐린분비가 감소되면 인슐린 저항성이 생기고 결과적으로 제2 당뇨병이 발병하게 된다. 인슐린 신호전달은 세포의 항상성을 유지하기 위하여 엄격하게 조절되는데 이는 다양한 신호전달 경로를 포함하고 있다. 이처럼 매우 다양한 신호전달 경로에 관계된 단백질들의 합성과 분해를 조절함으로써 세포 내의 인슐린 활동이 조절되게 된다. 최근에 진행세포에서 단백질들이 프로테아좀에 의해 선택적으로 분해됨이 밝혀졌다. 이는 첫 번째로 유비퀴틴(ubiquitin) 결합 효소에 의해 목표 단백질에 유비퀴틴이 결합된 후, 두 번째로 프로테아좀(proteasome)에 의해 인지되고 분해되는 과정으로 유비퀴틴-프로테아좀(ubiquitin-proteasome pathway) 경로이다. 이러한 유비퀴틴-프로테아좀 경로가 인슐린 신호전달에 중요한 역할을 하기 때문에 본 논문에서는 인슐린 신호전달, 유비퀴틴화 과정, 인슐린에 의해 활성화되는 다양한 신호전달 경로에 관계된 물질 중 유비퀴틴화되어 프로테아좀에 의해 조절되는 물질들에 대해 최근의 연구 동향을 중심으로 소개하고자 한다.

유비퀴틴화 과정

세포 내의 단백질은 키나제(kinase)에 의해 인산화과정 이 일어나며, 포스파타제(phosphatase)에 의해 탈인산화 과정이 일어남으로써 그 양이 조절된다. 이와 대등한 개념으로 세포 내 대부분의 단백질은 유비퀴틴 결합 효소(ubiquitin-conjugating enzyme)에 의해 유비퀴틴화 과정(ubiquitination)이 일어나며 탈유비퀴틴 효소(deubiquitinating enzyme)에 의해 탈유비퀴틴화 과정(deubiquitination)이 일어

남으로써 그 양이 조절된다. 유비퀴틴은 매우 잘 보존된 76 개의 작은 아미노산으로 구성된 단백질로, 거의 모든 진핵 세포에 존재하며, 1980년대 초에 Hershko, Ciechanover 그리고 Rose는 공동연구를 통해, 유비퀴틴이 ATP-의존성 반응을 통해 단백질에 결합되며, 이것은 선택적으로 단백질을 분해하기 위한 표지과정이라는 것을 제안하였다[1,2]. 이러한 표지 과정에는 일련의 효소계(E1, E2, E3, E4)가 관여한다. 유비퀴틴 활성화 효소(ubiquitin-activating enzyme)(E1)가 ATP-의존성 반응을 통해 유비퀴틴 카복시-말단 글라이신과 E1의 시스테인을 연결하는 고에너지의 thiol ester bond를 통해 유비퀴틴을 활성화 시킨다. 유비퀴틴 결합 효소(ubiquitin-conjugating enzyme)(E2)는 ubiquitin-conjugating (UBC) 도메인 내의 시스테인에 E1으로부터 활성화된 유비퀴틴을 받아서 다시 고에너지의 thiol ester를 형성하고, 이를 유비퀴틴 연결효소(ubiquitin ligase)(E3)에 전달하거나 기질 단백질의 라이신 잔기에 직접 전달한다. 이러한 반응을 유비퀴틴화 과정이라 한다. 최근에 효모에서 새로운 유비퀴틴화 요소(ubiquitination factor)인 E4가 보고되었다[3]. 이 E4는 효과적인 polyubiquitination에 꼭 필요하며, E1, E2, E3와 함께 유비퀴틴화 과정에 중요하다. 최근에 종양억제유전자인 p53이 E3 유비퀴틴 연결효소인 MDM2에 의해 다양한 라이신 잔기에 mono-ubiquitination 되며, E4 결합효소인 p300에 의해 polyubiquitination 됨이 밝혀졌다[4]. 이 p300은 약 300 kDa의 큰 단백질로 p53 : MDM2: p300의 복합체를 형성하여 p53을 polyubiquitination 시켜 분해를 증진시킨다. 이처럼 유비퀴틴화된 단백질은 하나의 proteolytic core catalytic complex (20S)와 2개의 regulatory complex (19S)로 구성된 26S 프로테아좀에 의해 인식되어 선택적으로 분해된다[5,6]. 이 과정이 유비퀴틴-프로테아좀 경로이다 (Fig. 1).

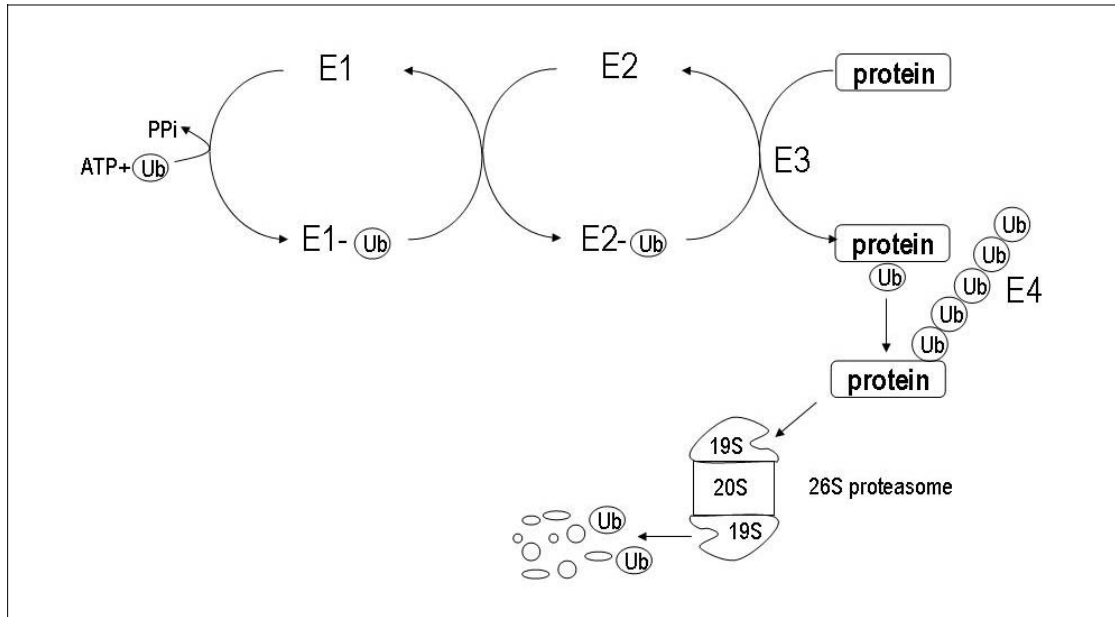


Fig. 1. Ubiquitin-proteasome pathway. Ubiquitination requires a series of enzymes, which include ubiquitin activating enzymes (E1), ubiquitin conjugating enzymes (E2), ubiquitin ligases (E3), and ubiquitin factor (E4) which are essential for efficient polyubiquitination. Ubiquitinated proteins are recognized and degraded by 26S proteasome through the process known as ubiquitin-mediated proteolysis in an ATP dependent manner.

탈유비퀴틴화 과정

유비퀴틴화 과정을 통한 세포 내 단백질의 분해조절은 인산화 과정과 탈인산화 과정의 경우에서처럼 표적 단백질로부터 유비퀴틴을 제거하는 탈유비퀴틴 과정에 의해 역조절될 수 있으며, 이 반응을 촉매하는 효소군을 탈유비퀴틴 효소라 한다. 이러한 탈유비퀴틴 효소를 암호화하는 많은 유전자들이 다양한 진핵세포에서 발견되었으며, 크게 5가지 ubiquitin C-terminal hydrolase (UCH) family, ubiquitin-specific processing protease (UBP or USP) family, Jab1/Pad1/MPN-domain-containing metallo enzymes (JAMM), Otu-domain ubiquitin-aldehyde-binding proteins (Otabain), Ataxin-3/Josephin으로 나눌 수 있다[7]. 일반적으로 UCH family member는 발생과 신경 기능에 중요한 역할을 하며, UBP family member는 신호전달, 성장, 발생을 조절한다[8]. 이 두 가지는 효소 활성에 꼭 필요한 잘 보존된 시스테인, 아스파라진산 (I), 히스티딘, 아스파라진 / 아스파라진산 (II)의 도메인을 가지고 있다. JAMM isopeptidase는 cullin을 deneddylation 시키는 효소로 보고되었으며, Otabain family 효소는 알려진 탈유비퀴틴 효소와 염기 서열 상동성이 없음에도 불구하고 ubiquitin isopeptidase에 높은 특이성을 가지고 있으므로 OTU (ovarian tumor) superfamily 단백질로 분류된다[9]. Josephin 도메인을 가지고 있는 Ataxin-3는 spinocerebellar ataxia type 3라 불리는 neur-

odegenerative polyglutamine expansion disease에서 발견되었으며, ubiquitin-7-amido-4-methyl-coumarin (ubiquitin-AMC)를 자르고 탈유비퀴틴 효소 억제물질인 ubiquitin aldehyde (Uba1)와 결합하기 때문에 새로운 탈유비퀴틴 효소로 분류된다[8].

인슐린 신호전달

인슐린은 인슐린 목표 조직인 골격근, 지방조직, 간에 있는 인슐린 수용체와 결합하게 되면 일차적으로 글루코스나 아미노산, 지방산 같은 영양물질을 혈액에서 각 조직으로까지 옮기는 기능을 하는 신호전달 경로를 활성화시킨다. 그 후 이차적으로 이러한 영양물질을 글리코겐, 단백질, 지방과 같은 고분자 저장물질로 변환시킨다. 음식을 섭취했을 때 이러한 영양물질의 흡수와 저장을 효과적으로 하지 못할 때 당뇨병이 발병한다. 인슐린이 세포 표면에 있는 타이로신 키나제 수용체 (tyrosine kinase receptor)에 결합하게 되면 세포 안에 위치한 여러 곳의 타이로신 잔기들이 인산화된다. 그 결과 세포 내에 phosphatidylinositol 3-kinase (PI3-K)가 보충되어 기질인 phosphatidylinositol(4,5) biphosphate (PtdIns(4,5)P₂)의 inositol ring 내의 D3 position에서 인산화가 일어난다. 그 결과 PtdIns(3,4,5)P₃가 생성되며 이 PtdIns(3,4,5)P₃는 인슐린 신호전달 경로에서 중요한 두 번째 메신저 역할을 한다. PtdIns(3,4,5)P₃가 Akt라고 알려진

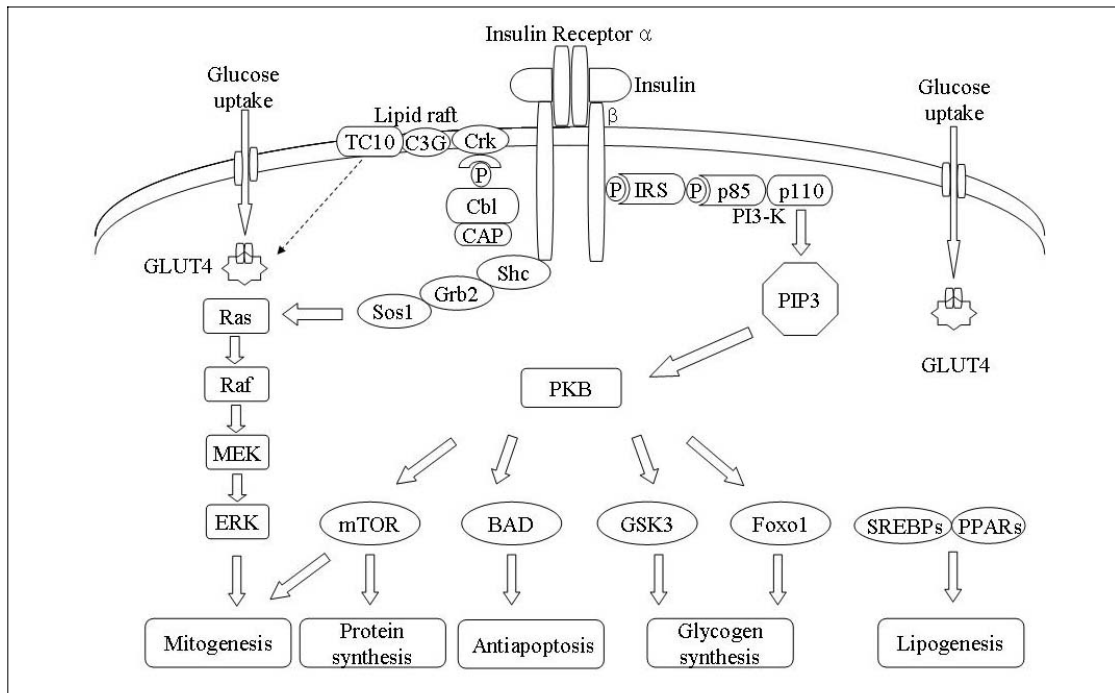


Fig. 2. Insulin signaling pathway. Binding of insulin to its receptors induces autophosphorylation at a number of tyrosine residues. The insulin receptor then phosphorylates IRS molecules at numerous tyrosine residues, some of which are recognized by the Src homology 2 (SH2) domain of the p85 regulatory subunit of a lipid kinase, PI3-kinase. The catalytic subunit of PI3-kinase then phosphorylates PtdIns(4,5)P₂ at the plasma membrane of cells to generate the second messenger PtdIns(3,4,5)P₃ (PIP3) which stimulates insulin-dependent processes. BAD, BCL2 antagonist of cell death; CAP, c-Cbl-associated protein; CBL, CAS-BR-M murine ecotropic retroviral transforming sequence homolog; FOXO, Forkhead transcription factor; GSK3, GS kinase; PIP, phosphatidylinositol polyphosphate; PK, protein kinase; PPAR, peroxisome proliferator-activated receptor; SREBP, sterol regulatory element-binding protein.

protein kinase B (PKB)의 pleckstrin homology domain과 결합하게 되면 PKB는 세포질에서 세포막으로 이동하게 되고 308번째 트레오닌과 473번째 세린이 인산화 되어 활성화된다[10]. 활성화된 후에 PKB는 세포막에서 분리되어 세포질이나 핵 내의 많은 기질을 인산화 시킨다. PKB의 기질 중 하나인 glycogen synthase kinase-3 (GSK3)는 PKB에 의해 인산화 되어 비활성화된다[11]. GSK3의 가장 중요한 기질은 glycogen synthase로 GSK3에 의해 glycogen synthase가 인산화되면 글리코겐 합성이 저해된다. 따라서 PKB에 의해 GSK3가 비활성화되면 glycogen synthase가 탈인산화되어 글리코겐 합성을 활성화시키게 된다. 또한 GSK3는 guanine nucleotide exchange factor인 eIF2B를 인산화시켜 단백질 번역의 초기 단계를 조절한다. 즉, 인슐린은 GSK3에 의해 인산화된 eIF2B를 탈인산화시켜 아미노산에서 단백질로의 합성을 증진시킨다. PKB는 또한 전사인자인 forkhead family를 인산화 시킨다. 즉, PI3-K와 PKB는 인슐린 의존 유전자 발현을 조절하게 된다. 인슐린은 글루코스 수용체인 GLUT4를 세포막으로 이동시킴으로써 세포

내의 글루코스를 공급하게 된다. PKB의 isoform인 PKBβ와 Ark2가 결합된 쥐는 당뇨병에 걸렸으며, 간이나 근육조직으로의 글루코스 공급이 줄어들게 되었다. 최근에 또 다른 PI3-K 비의존성 경로가 존재하여 인슐린에 의해 GLUT4가 세포막으로 보강되는데 중요한 역할을 할 것이라고 보고하였다[12]. 이러한 경로는 인슐린 수용체를 활성화시켜 E3 ligase의 하나인 c-Cbl을 바로 인산화 시킨다. 이 인산화된 c-Cbl은 Rho GTP-binding family 단백질의 하나인 TC10을 활성화시킴으로써 아직 알려지지 않은 effector 단백질과 결합하여 GLUT4가 이동하게 만든다 (Fig. 2).

인슐린 수용체의 유비퀴틴화

인슐린이 인슐린 수용체 알파 subunit에 결합하게 되면 베타 subunit 키나제 도메인 내에 있는 활성고리의 타이로신을 인산화 시킨다. 이로써 수용체 타이로신 키나제 (RTK)를 활성화시키고, insulin receptor substrate (IRS)나 Shc 같은 세포 내 기질의 타이로신을 인산화 시킨다. 인슐린 수용

체가 신호를 전달하기 위해 IRS나 Shc과 같은 intermediate 기질의 타이로신을 인산화 시켰는데 최근의 연구에서는 신호를 전달하기 위해 인슐린 수용체가 활성고리의 타이로신을 인산화하여 signaling adapter를 보강할 수 있음이 보고되었다[13]. Proto-oncogene c-Cbl은 variant SH2 domain과 인슐린 수용체의 인산화 되는 부위와 상호작용 하게 되면 인산화가 일어난다. 이러한 현상은 3T3-L1 지방세포(adipocyte)에서 인슐린 자극에 의해 나타나지만 3T3-L1 지방전구세포(pre-adipocyte)에서는 인슐린 자극에 의해 나타나지 않는다. 3T3-L1 지방세포에서는 c-Cbl의 variant SH2 domain과 인슐린 수용체의 인산화 되는 부위가 바로 결합하지 않기 때문에 인슐린 자극에 의해 c-Cbl이 인산화 되기 위해서는 accessory adapter나 docking 단백질을 필요로 한다. 이러한 adapter 단백질은 인슐린 수용체와 바로 결합할 수 있으며, 인슐린 목표 조직에서 주로 발현된다[14]. 그 중 adapter protein containing a PH and SH2 domain (APS) 단백질은 c-kit과 상호작용하는 단백질로 밝혀졌으며, 인슐린 수용체 활성고리와 상호작용함이 알려졌다[15]. 이 APS는 인슐린 수용체와 c-Cbl의 결합을 촉진시켜 줌으로써 인슐린 신호전달에서 인슐린 자극에 의한 유비퀴틴화를 증진시키는 역할을 하고 있다. 따라서 인슐린 수용체와 APS를 같이 발현하는 인슐린 목표 조직은 RING- type E2-dependent ubiquitin protein ligase의 역할을 하는 c-Cbl과 인슐린 수용체의 결합이 증가함으로써 인슐린 신호전달을 조절할 수 있는 능력을 가지게 된다[16]. c-Cbl과 관계된 CAPS 단백질 역시 c-Cbl과 결합하여 인슐린 수용체와 복합체를 형성한다[17]. 이 인슐린 수용체와 CAPS, c-Cbl의 신호전달 경로는 인슐린 sensitivity를 증진시키는 역할을 한다.

인슐린 수용체 기질 (Insulin Receptor Substrate : IRS)의 분해

인슐린과 수용체가 결합하게 되면 세포 내의 단백질 타이로신 키나제(protein tyrosyl kinase)를 활성화시키고 인슐린 수용체 기질(IRS)의 타이로신을 인산화 시킨다. IRS는 인슐린 신호전달에서 중요한 물질이며, 세포 내의 IRS 농도가 감소하면 인슐린 저항성을 보일 수 있는데 세포 내의 적절한 IRS 농도가 보통의 인슐린 조절에 의한 물질대사를 유지하는데 중요하다[18,19]. 활성화된 IRS는 IRS와 phosphatidylinositol 3-kinase (PI3-K)와 같은 SH2 도메인을 포함하는 단백질과의 상호작용을 증진시킨다. 활성화된 PI3-K는 IRS 단백질의 세린 / 트레오닌을 인산화 시키고 세린 / 트레오닌 인산화는 IRS-1의 타이로신 인산화를 저해하여 인슐린 신호전달을 감소시킨다[20]. 세포 내의 IRS-1의 농도는 성장인자(growth factor)나 사이토카인(cytokine)에 영향을 받는데 인슐린 자극은 프로테아좀 분해를

증진시킴으로써 IRS-1의 농도를 줄이게 된다. 따라서 세린 / 트레오닌 인산화와 타이로신 인산화의 조절은 IRS-1 단백질의 분해를 조절할 수 있다. 최근의 연구에서 신호전달 경로는 유비퀴틴화를 활성화 시키고, IRS-1 단백질을 프로테아좀을 통해 분해시키며, IRS-1이 분해에 중요한 구조적 요소를 가지고 있다는 것이 밝혀졌다[21].

IRS-1과 인슐린 수용체를 과발현하는 Chinese hamster ovary cell에서 인슐린 자극에 의해 IRS-1이 인산화 되어 분해된다. 프로테아좀 저해제를 처리했을 때에는 IRS-1의 프로테아좀에 의한 분해를 저해했다. 즉 인슐린 수용체는 IRS-1의 타이로신 인산화를 매개하고, 프로테아좀을 통한 분해 과정을 활성화시켜 IRS-1을 특이적으로 분해시킨다. 타이로신 인슐린 수용체 베타-subunit에서 아미노산 960번째 타이로신을 알라닌으로 돌연변이 시킨 인슐린 수용체를 과발현하는 Chinese hamster ovary cell에는 인슐린 수용체의 돌연변이로 인한 인산화 능력이 감소되었다. 인산화 능력의 감소로 인하여 IRS-1의 타이로신 인산화가 줄어들게 되고 그로 인하여 IRS-1의 분해도 줄어들게 된다. 즉, IRS-1의 분해에 타이로신 인산화가 필요하다. 프로테아좀을 통한 IRS의 분해가 IRS-1에 특이적이기 때문에 IRS-1과 IRS-2의 키메라를 가지고 실험한 결과 IRS-1의 아미노 말단 부위를 가지고 있는 키메라만이 프로테아좀 분해가 일어난다[22]. 즉 IRS-1의 유비퀴틴화와 프로테아좀을 통한 분해에는 특별한 구조적 요소가 필요하다. IRS-2의 경우 마우스 배아 섬유아세포에서는 인슐린 처리에 의해 프로테아좀을 통한 분해가 일어남을 확인하였다[23]. 따라서, IRS-1, IRS-2 모두 인슐린 처리에 의해 유비퀴틴-프로테아좀 시스템에 의한 분해가 일어난다.

유비퀴틴-프로테아좀 시스템에 의한 글루코스 수송체의 조절

인슐린 목표 조직인 골격근이나 지방 조직에서는 글루코스 수송을 위하여 글루코스 수송체(GLUT)인 GLUT1과 GLUT4를 발현한다. GLUT1과 GLUT4는 당단백질로 GLUT1은 인슐린이 없을 때 세포 표면에 존재하여 기본적인 글루코스 수송에 관여하며, GLUT4는 세포 안에 존재하여 인슐린에 의해 글루코스를 세포 안으로 빠르게 수송하는 역할을 한다. 즉, GLUT4는 인슐린에 의해 세포 표면으로 이동하게 되며, 세포 안과 세포 밖의 GLUT4의 농도를 증가시키고 글루코스의 수송물도 지속적으로 증가시킨다[24]. 이러한 글루코스 수송체와 결합하는 센트린 활성 효소(sentrin conjugation enzyme)인 mUbc9이 밝혀졌는데, 이 mUbc9은 인슐린 목표조직에서 GLUT1과 GLUT4와 결합하여 글루코스 수송을 조절한다[25]. mUbc9은 유비퀴틴 활성효소와 구조적으로 높은 상동성을 가지고 있으며, 이 효

소의 기질인 센트린은 SUMO-1, PIC1, GMP1으로 알려진 ubiquitin-like 단백질이다[26,27]. mUbc9은 GLUT1과 GLUT4의 공통적인 11개의 아미노산 서열에 바로 결합함으로써 센트린을 연결시킨다. mUbc9을 과발현하는 골격근 세포에서 세포 내 GLUT1의 농도가 65% 감소되고, GLUT4의 농도는 8배 증가됨을 확인하였다[25]. 그 결과 기본적인 글루코스 수송은 감소하게 되고, 인슐린 처리에 의한 글루코스 수송은 증가하게 된다. 또한 활성 부위가 결여된 돌연변이 mUbc9에 의해서는 이와는 반대의 결과가 나타남을 확인하였다[25]. 즉, mUbc9의 발현이나 활성을 조절할 수 있는 새로운 물질을 개발한다면 mUbc9에 의한 글루코스 수송을 조절하는데 중요한 역할을 할 것이다.

SOCS 단백질의 E3 ligase로서의 역할

최근에 IRS 단백질의 프로테아좀에 의한 분해가 suppressor of cytokine signaling (SOCS)에 의해 조절된다고 보고되었다[28]. SOCS 단백질은 아미노 말단 부위의 SH2 도메인과 카복시 말단 부위의 SOCS box를 가진 8개의 isoform이 있으며, SH2 도메인을 통해서 활성화된 인슐린 수용체와 결합하여 인슐린 신호전달을 방해한다[29]. 또한 SOCS box내의 BC box는 elongin C와 결합할 수 있다. Elongin C는 cullin2나 cullin5 그리고 RING-box protein 1으로 구성되어 있어 다양한 단백질 복합체를 형성하여 E3 ubiquitin ligase의 역할을 하게 된다[30]. Elongin C는 E3 ubiquitin ligase와 복합체를 이룬 elongin B와 또한 안정한 복합체를 형성한다. 이 elongin BC ubiquitin ligase가 IRS-1과 IRS-2의 유비퀴틴화를 통한 분해를 매개하게 된다. 아미노산 167번에서 212번의 SOCS box를 제거하여 돌연변이 시켰을 경우 IRS의 유비퀴틴화를 통한 분해를 매개하지 못하였다[28]. 또한 elongin BC 결합부위에 꼭 필요한 아미노산인 175번째 류신과 179번째 시스테인을 프톨린과 페닐알라닌으로 돌연변이 시켰을 때 약하게 IRS를 분해시킨다[31]. SOCS box가 돌연변이 되어도 IRS-1과 IRS-2는 결합은 하지만 elongin BC based E3 ubiquitin ligase가 없어서 IRS-1과 IRS-2를 분해시키지는 못한다. 즉, SOCS 1,3는 ubiquitin ligase 복합체와 IRS가 결합하는 부위를 가지고 있으며, SOCS 1, 3의 elongin BC binding motif가 IRS-1과 IRS-2의 유비퀴틴화를 통한 분해에 필요하다.

전사요소인 FOXO의 유비퀴틴화

Forkhead transcription factor인 FOXO subfamily는 Foxo1, Foxo3a, Foxo4로 구성되어 있으며, 인슐린의 다양한 효과를 매개하는 중요한 역할을 한다. 그 중 Foxo1은 글루코스 항상성, 세포 주기 진행, 세포 사멸을 조절하는 역할을

한다. Foxo1은 인슐린이나 성장인자 신호전달 경로에 의해 인산화 된다. 인산화된 Foxo1은 cytoplasmic retention이 일어나고 표적 유전자의 발현을 억제한다. 인슐린이 수용체에 결합하게 되면 downstream signaling cascade인 phosphatidylinositol 3-kinase (PI3-K) - protein kinase B (PKB) 경로를 활성화시킨다. PKB는 세포 생존과 분열을 증진시키고, 인산화를 통하여 FOXO subfamily의 전사활동을 조절함으로써 물질 대사 항상성을 조절한다[32, 33]. 인산화가 되지 않을 때 FOXO는 핵 안에 존재하여 다양한 표적 유전자 promoter의 인슐린 반응 서열 (insulin response sequence) 과 상호 작용을 한다. 이 때 FOXO가 인슐린 반응 서열과 결합하면 FOXO는 전사활동 인자로 작용한다. 인슐린에 의해 PKB가 활성화되면 FOXO 단백질은 바로 인산화되고 14-4-4 protein에 의해 cytoplasmic retention이 일어나고 표적 유전자의 발현을 억제한다[34,35]. Foxo1은 아미노산 24번째 세린, 253번째 트레오닌, 316번째 세린의 인산화되는 부위를 가지고 있어 PKB에 의해 핵 안에서 인산화되면 세포질로 나오게 되고 세포질에서 유비퀴틴화 되어 26S 프로테아좀에 의해 인지되고 분해된다. 최근의 연구에서 유비퀴틴화된 Foxo1은 프로테아좀 저해제에 의해 분해가 억제됨을 확인하였으며, 인산화 되는 부위를 돌연변이 시켜 실험한 결과 유비퀴틴화 되지 않았으며, 이 돌연변이의 위치를 확인한 결과 핵 안에 있었음을 알 수 있었다[36]. 즉, 인슐린에 의해 Foxo1이 유비퀴틴화 되고 프로테아좀에 의해 분해되는데 이때 Foxo1의 인산화와 cytoplasmic retention이 꼭 필요하다.

인슐린 유도관련 유전자 발현을 매개하는 핵 수용체의 유비퀴틴화

많은 핵 수용체들도 유비퀴틴화 되는데, 핵 수용체 군에 속하는 peroxisome proliferator activated receptor α (PPAR α)도 유비퀴틴-프로테아좀 경로에 의해 분해된다. 이 PPAR α 는 미토콘드리아와 퍼옥시좀에서 지방산의 분해와 이동을 하거나 유전자를 조절함으로써 세포 내 지방산 대사와 트리글리세라이드 대사에서도 중요한 역할을 한다[37]. 또한 지방과 단백질 대사에도 관여한다. PPAR α 는 PPAR response elements (PPRE)에 retinoid X 수용체와 결합하여 heterodimer를 형성하여 표적 유전자의 전사를 활성화시킨다. PPAR α 에 리간드가 결합하게 되면 PPAR α 의 표적 유전자가 발현하게 되는데, PPAR α 의 단백질 농도는 유비퀴틴-프로테아좀 경로에 의해 분해됨으로써 PPAR α 의 단백질 농도를 조절하게 된다. 즉, PPAR α 의 단백질 농도를 조절함으로써 표적 유전자의 발현을 조절하게 된다. PPAR α 의 대표적인 표적 유전자는 apoA-II와 fatty acid transport protein (FATP) 유전자로 PPAR α 의 분해를 막음으로써 전사 활성이 증가하

고 표적 유전자의 발현이 증가하게 된다. 매우 짧은 반감기를 가지고 있는 이 PPAR α 단백질은 리간드와의 상호 작용에 의해 반감기도 길어지며, PPAR α 단백질의 유비퀴틴화가 줄어들게 되고 그 결과 분해되는 양도 줄어들게 된다. 비록 리간드에 의한 PPAR α 단백질의 보호 역할은 매우 빠르고 일시적이지만, PPAR α 의 리간드인 natural fatty acid, leukotriene B $_4$, 8-S-hydroxyeicosatetraenoic acid, oxidized phospholipid와 같은 물질을 사용하여 PPAR α 의 유비퀴틴화를 조절할 수 있을 것이다.

결 론

두 종류의 당뇨병과 관련되어 인슐린 신호 전달은 지금 까지 많은 연구가 진행되어 왔다. 인슐린 신호 전달은 다양한 신호 전달 경로를 포함하고 있으며 이처럼 다양한 신호 전달 경로에 관계된 일부의 단백질들은 유비퀴틴-프로테아좀 경로에 의해 분해되어 세포 내의 인슐린 활동을 조절함이 밝혀졌다. 이러한 단백질들의 유비퀴틴-프로테아좀 경로에 의한 분해는 탈유비퀴틴 효소를 이용하면 효과적으로 막을 수 있으며, 탈유비퀴틴 효소에 의해 단백질의 운명을 바꾸게 된다면 인슐린의 활동을 증진시키고 그로 인해 인슐린 저항성이나 당뇨병을 치료하는데 중요한 역할을 할 것이다. 인슐린 표적 세포에서 인슐린 신호 전달에 관계된 단백질들의 분해를 막기 위하여 이러한 단백질들을 표적으로 하는 탈유비퀴틴 효소를 찾아 활성화할 수 있는 신약을 발굴한다면 당뇨병을 치료할 수 있는 새로운 방법을 개발하는데 중요한 단서를 제공할 것이다.

감사의 글

이 논문은 2004년도 한국학술진흥재단의 지원에 의하여 연구되었음. (KRF-2004-041-E00053)

참 고 문 헌

- Hershko A, Ciechanover A, Heller H, Haas AL, Rose IA: *Proposed role of ATP in protein breakdown: conjugation of proteins with multiple chains of the polypeptide of ATP-dependent proteolysis. Proc Natl Acad Sci USA* 77:1783-1786, 1980
- Ciechanover A, Heller H, Elias S, Haas AL, Hershko A: *ATP-dependent conjugation of reticulocyte proteins with the polypeptide required for protein degradation. Proc Natl Acad Sci USA* 77:1365-1368, 1980
- Koegl M, Hoppe T, Schlenker S, Ulrich HD, Mayer TU, Jentsch S: *A novel ubiquitination factor, E4, is involved in multiubiquitin chain assembly. Cell* 96: 635-644, 1999
- Grossman SR, Deato ME, Brignone C, Chan HM, Kung AL, Tagami H, Nakatani Y, Livingston DM: *Polyubiquitination of p53 by a ubiquitin ligase activity of p300. Science* 300:342-344, 2003
- Hershko A: *Lessons from the discovery of the ubiquitin system. Trends Biochem Sci* 21:445-449, 1996
- Leggett DS, Hanna J, Borodovsky An, Crosas B, Schmidt M, Baker RT, Walz T, Ploegh H, Finley D: *Multiple associated proteins regulate proteasome structure and fuction. Mol Cell* 10:495-507, 2002
- Kim MS, Kim YK, Kim YS, Seong M, Choi JK, Baek KH: *Deubiquitinating enzyme USP36 contains the PEST motif and is polyubiquitinated. Biochem Biophys Res Commun* 330:797-804, 2005
- Amerik AY, Hochstrasser M: *Mechanism and function of deubiquitinating enzymes. Biochim. Biophys. Acta* 1695:189-207, 2004
- Balakirev MY, Tcherniuk SO, Jaquinod M, Chroboczek J, Otubains: *a new family of cysteine proteases in the ubiquitin pathway. EMBO Rep* 4:517-522, 2003
- Brazil DP, Hemmings BA: *Ten years of protein kinase B signaling: a hard Akt to follow. Trends Biochem Sci* 26:657-664, 2001
- Frame S, Cohen P: *GSK3 takes center stage more than 20 years after its discovery. Biochem J* 359:1-16, 2001
- Satiel AR, Kahn CR: *Insulin signaling and the regulation of glucose and lipid metabolism. Nature* 414: 799-806, 2001
- Wilden PA, Kahn CR, Siddle K, White MF: *Insulin receptor kinase domain autophosphorylation regulates receptor enzymatic function. J Biol Chem* 267:16660-16668, 1992
- Ahmed Z, Smith BJ, Kotani K, Wilden P, Pillay TS: *APS, an adapter protein with a PH and SH2 domain, is a substrate for the insulin receptor kinase. Biochem J* 341:665-668, 1999
- Yokouchi M, Suzuki R, Masuhara M, Komiya S, Inoue A, Yoshimura A: *Cloning and characterization of APS, an adaptor molecule containing PH and SH2 domains that is tyrosine phosphorylated upon B-cell receptor stimulation. Oncogene* 15:7-15, 1997
- Joazeiro CA, Wing SS, Huang H, Leversson DJ, Hunter T, Liu YC: *The tyrosine kinase negative reg-*

- ulator c-Cbl as a RING-Type, E2-dependent ubiquitin-protein ligase. Science* 286: 309-312; 1999
17. Ribon V, Printen JA, Hoffman NG, Kay BK, Saltiel AR: A novel, multifunctional c-Cbl binding protein in insulin receptor signaling in 3T3-L1 adipocytes. *Mol Cell Biol* 18: 872-879, 1998
18. White MF: The insulin signalling system and the IRS proteins. *Diabetologia* 40 (Suppl. 2): S2-S17, 1997
19. White MF: The IRS-signaling system: a network of docking proteins that mediate insulin and cytokine action. *Recent Prog hormone Res* 53:119-138, 1998
20. Perderon TM, Kramer DL, Rondinone CM: Serine/threonine phosphorylation of IRS-1 triggers its degradation: possible regulation by tyrosine phosphorylation. *Diabetes* 50:24-31, 2001
21. Sun XJ, Goldberg JL, Qiao LY, Mitchell JJ: Insulin induced insulin receptor substrate-1 degradation is mediated by the proteasome degradation pathway. *Diabetes* 48:1359-1364, 1999
22. Zhande R, Mitchell JJ, Wu J, Sun XJ: Molecular mechanism of Insulin Induced degradation of insulin receptor substrate 1. *Mol Cell Biol* 22:1016-1026, 2002
23. Rui L, Fisher TL, Thomas J, White MF: Regulation of insulin/insulin-like growth factor-1 by proteasome-mediated degradation of insulin receptor substrate 2. *J Biol Chem* 276: 40362-40367, 2001
24. Rodnick KJ, Slot SW, Studelska DR, Hanpeter DE, Robinson LJ, Geuze HJ, James DE: Immunocytochemical and biochemical studies of GLUT4 in rat skeletal muscle. *J Biol Chem* 267:6278-6285, 1992
25. Giorgino F, Robertis OD, Laviola L, Montrone C, Perrini S, McCowen KC, Smith RJ: The sentrin-conjugating enzyme mUbc9 interacts with GLUT4 and GLUT1 glucose transporters and regulates transporter levels in skeletal muscle cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97:1125-1130, 2000
26. Kamitani K, Nguyen HP, Yeh ETH: Preferential modification of nuclear proteins by a novel ubiquitin-like molecule. *J Biol Chem* 272:14001-14004, 1997
27. Mahajan R, Delphin C, Guan T, Gerace L, Melchior F: A small ubiquitin-related polypeptide Involved in targeting RanGAP1 to nuclear pore complex protein RanBP2. *Cell* 88:97-107, 1997
28. Rui L, Yuan M, Frantz D, Shoelson S, White MF: SOCS-1 and SOCS-3 block insulin signaling by ubiquitin-mediated degradation of IRS1 and IRS2. *J Biol Chem* 277:42394-42398, 2002
29. Krebs DL, Hilton DJ: SOCS: physiological suppressors of cytokine signaling. *J Cell Sci* 113:2813-2819, 2000
30. Kamura T, Sato S, Haque D, Liu L, Jr. Kaelin WG, Conaway RC, Conaway WC: The Elongin BC complex interacts with the conserved SOCS-box motif present in members of the SOCS, ras, WD-40 repeat, and ankyrin repeat families. *Genes Dev* 12:3872-3881, 1998
31. Kamura T, Sato S, Haque D, Liu L, Jr. Kaelin WG, Conaway RC, Conaway JW: The Elongin BC complex interacts with the conserved SOCS-box motif present in members of the SOCS, ras, WD-40 repeat, and ankyrin repeat families. *Genes Dev* 12:3872-3881, 1998
32. Burgering BM, Kops GJ: Cell cycle and death control: long live Forkheads. *Trends Biochem Sci* 27: 352-360, 2002
33. Birkenkamp KU, Coffey PJ: Regulation of cell survival and proliferation by the FOXO (Forkhead box, class O) subfamily of Forkhead transcription factors. *Biochem Soc Trans* 31:292-297, 2001
34. Brunet A, Bonni A, Zigmond MJ, Lin MZ, Juo P, Hu LS, Anderson MJ, Arden KC, Blenis J, Greenberg ME: Akt promotes cell survival by phosphorylating and inhibiting a Forkhead transcription factor. *Cell* 96:857-868, 1999
35. Rena G, Guo S, Cichy SC, Unterman TG, Cohen P: Phosphorylation of the Transcription Factor Forkhead Family Member FKHR by Protein Kinase B. *J Biol Chem* 274:17179-17183, 1999
36. Matsuzaki H, Daitoku H, Hatta M, Tanaka K, Fukamizu A: Insulin-induced phosphorylation of FKHR (Foxo1) targets to proteasomal degradation. *Proc Natl Acad Sci USA* 100:11285-11290, 2003
37. Blanquart C, Barbier O, Fruchart JC, Staels B, Glineur C: Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) turnover by the ubiquitin-proteasome system controls the ligand-induced expression level of its target genes. *J Biol Chem* 277:37254-37259, 2002