

# 미토콘드리아 기능조절 질환치료 전략



**한진**  
인제대학교 심혈관대사질환 센터  
E-mail: phyhanj@inje.ac.kr

## ▶ 주요 질환 프로파일 변화

최근 고령화, 생활습관의 서구화, 비만·고지혈증 등의 증가로 심혈관질환, 퇴행성신경질환, 제2형 당뇨병, 대사증후군이 주요 사망원인이 되고 있다 (통계청, 2009). 심혈관질환은 연간 4,067만명이 내원치료, 363만명이 입원치료를 받고 있다 (건강보험통계연보, 2003). 당뇨병은 1995년 80만명이 진료를 받고, 총진료비는 2,142억 원, 2005년에는 233만명이 진료를 받고, 진료비도 1조 7,120억 원으로 증가해 환자수와 진료비가 10년 동안 각각 3배와 8배가 증가하고 있다 (대한당뇨병학회 및 건강보험심사평가원, Diabetes in Korea 2007, 2007). 당뇨병은 또한 대사질환과 더불어 합병증으로 심혈관질환을 야기해 유병률·사망률을 높이고 있다 (통계청, 2005; 대한순환기학회, 2004).

## ▶ 주요 질환들의 근본적인 병인: 미토콘드리아 기능이상

심혈관질환, 노화, 제 2형 당뇨병과 대사성질환, 암, 퇴행

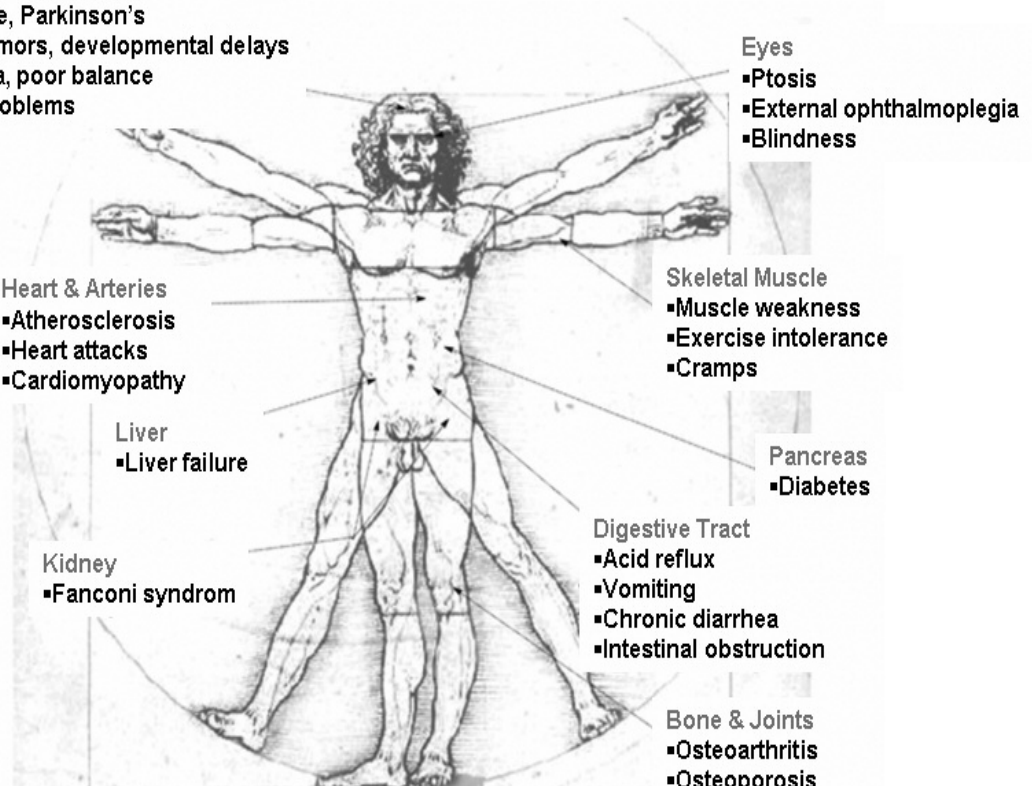
성뇌질환(알츠하이머병, 파킨슨병), 비만증, 약물중독 등의 주요 발생기작은 스트레스에 의한 미토콘드리아 손상에서 유래하는 것으로 생각되고 있다. 주요 질환들을 개시하고 진행시키는 주요 기여 인자: 세포 소실(죽음; 세포사멸이나 세포괴사)미토콘드리아는 인체 활동에 필요한 에너지(ATP)를 만드는 파워플랜트의 기능을 하지만 그 과정동안 유해 산소라디칼(활성산소)을 발생시킴. 이 산소라디칼은 DNA나 각종 단백질을 손상시켜 세포 소실을 일으켜 각종 질환을 야기한다 (Brown Lee, Nature, 2005).

## ▶ 새로운 질병 치료 타겟으로서 미토콘드리아: 미토콘드리아 기능부전을 제어할 통한 질환치료의 가능성

미토콘드리아 내부에 세포사와 밀접한 관계를 갖는 신호 전달기전들이 존재하고 우리가 이들 신호를 해석하고 제어할 수 있다면 질병치료에 응용할 수 있을 것이다 (Biochimica et Biophysica Acta, 2006; Cell, 2005; Trends Biochem Sci, 2005; Nature Med, 2005; Nature, 2005; J Clin

**Nervous System**

- Alzheimer's disease, Parkinson's
- Stroke, seizure, tremors, developmental delays
- Deafness, dementia, poor balance
- Peripheral nerve problems



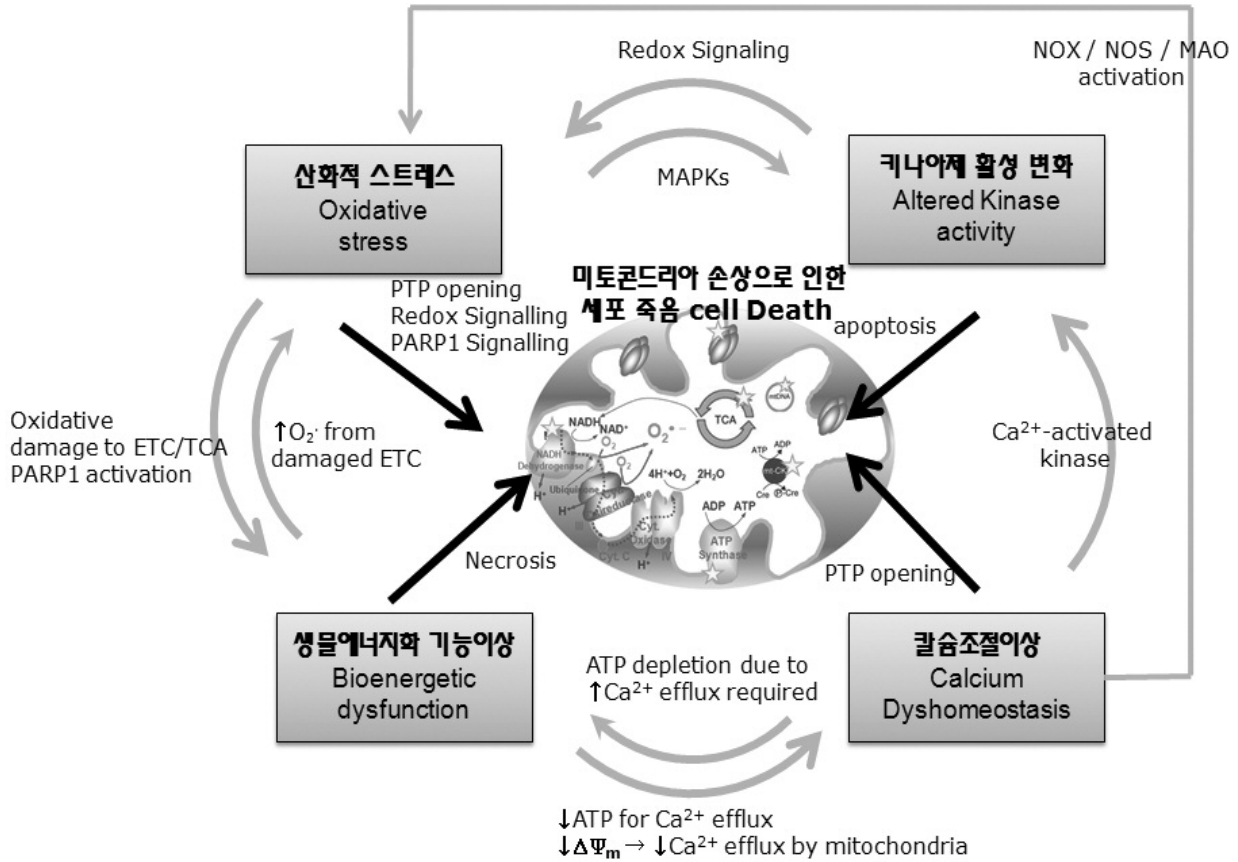
**그림 1.** 미토콘드리아 기능이상으로 인한 주요질환(Hutchin & Cortopassi, PNAS, 1995; Li et al., Cell, 2000; Jacobs, Aging Cell, 2003; Martin & Loeb, Nature, 2004; Chipuk et al., Science, 2004; Lakhani et al, Science, 2006; Lin & Beal, Nature, 2006; Chan, Cell, 2006; Park et al., Nature, 2006; Lane, Nature, 2006; Levine, Nature, 2007; Siegfried, Nature, 2007; Guarente, Nature 2007; Cipolat et al, Cell, 2007; Chan, Cell, 2007; Marx, Science, 2005; Schriener et al, 2005, Science)

Invest, 2005; Heart Lung Circ, 2005; J Nat Cancer Inst, 2005, Science, 2005). 미토콘드리아 기능부전은 단일한 증상이나 질병이 아닌 인체내 다양한 기관에서 다양한 질병으로 나타날 수 있어, 병든 미토콘드리아와 연관된 병소 및 질병 특이적이 치료법의 가능성이 제기되고 있으나 현재까지 정확한 타깃이나 합당한 치료기술 개발이 시급한 상태이다. 특히 세포내 증가한 활성산소종으로 인한 산화스트레스의 증가는 최근 심혈관·대사질환은 물론 퇴행성신경 질환에서의 세포학적·분자생물학적 근본 기전으로 제시되고 있으나, 현재까지 임상 및 전임상 단계에서 사용되는 대사성치료제 또는 항산화제 치료는 효과는 아직 논란의 여지가 있다. 미토콘

드리아 기능을 직접 제어할 수 있는 막단백질 및 기질 단백질의 발현을 조절할 수 있는 미세표적화치료(micro-targeting therapy)로서의 유전자 치료법은 영구적 또는 반영구적 치료법으로서 가능성이 높은 전략일 수 있을 것이다.

**▶ 미토콘드리아 기능회복 질병치료 전략의 아이디어: “the dream of the magic bullet”**

호흡사슬 물질, 호흡사슬복합체 등을 형성하는 단백질이나 유전자, 미토콘드리아 DNA 인코딩 조절물질, 미토콘드리아 단백질수송 관련 단백질이나 유전자, 미토콘드리아막 인지질



**그림 2.** 미토콘드리아에는 세포 에너지원이 되는 TCA회로와 전자전달계, 세포내외로 이동하는 각종 이온, 이에 따른 전자의 이동, 열의 이동이 존재한다. 미토콘드리아 기능을 이해하고 조절함에 있어 복잡한 미토콘드리아 생리에 대한 종합적인 이해와 이를 위한 다각적인 접근 방식이 요구된다.

을 구성하거나 합성하는 물질, 미토콘드리아 전기역동학에 필요한 단백질이나 유전자 등이 미토콘드리아 기능부전에 대한 치료 타깃으로 제안되고 있다. 특히, 심혈관질환 및 당뇨, 대사질환, 퇴행성질환에서 미토콘드리아 미세표적화치료가 필요하다. 그 이유는 미토콘드리아는 세포사멸기전과 세포보호기전을 함께 가지고 있기 때문이다. 내막의 산화적 인산화 과정을 통해 에너지를 생성하는 세포기관으로써, 체내 대사 과정의 주요 세포학적 조절자임과 함께 대사과정에서 발생한 부산물로서 반응성산소기를 생산하여 각종 질환을 야기할 수 있다. 세포죽음 중 세포사멸은 조절 가능한 기전이기 때문에 세포사멸 조절기술이 필요하다 하겠다. 미토콘드리아에서 생성되는 과도한 활성산소종을 줄이기 위해서는 호흡사슬의 복합

체 I에서의 산화/환원 상태와 미토콘드리아 막횡단전위 ( $\Delta \Psi_m$ ) 감소와 관계있는 부분적인 uncoupling이 필요하다. 대사성치료제 또는 항산화제들을 이용한 치료법은 미토콘드리아 기능제어를 직접적으로 하는 것이 아니라 이미 생성된 활성산소종을 제거하기 때문에 별로 효과를 입증하지 못하고 있다. 따라서 미토콘드리아 기능을 직접적으로 제어할 수 있는 타깃을 발굴하여 치료법을 개발하는 것이 필수적일 것이다. 미토콘드리아 관련단백질은 대부분 핵의 DNA에 의해 만들어지지만 1) 미토콘드리아 자체에도 원형의 DNA (인간 mtDNA, 16,569 bp)있어, 실제 mtDNA는 13개의 전자전달 체계에 관여하는 주요단백질과, 기질 내 단백질 합성을 위한 22개의 tRNA와 2개의 rRNA를 코딩하는 것으로 알려져 있

표 1. 국내외 연구동향

검색(주제)어	2005년	2006년	2007년	2008년	2009년	2010년	비고
Microenvironment (OR Micro environment)	1148	1346	2209	1865	2690	972	세포 전반의 연구와 미세환경
Mechanical stimuli	337	441	452	442	463	207	미세환경 중 기계적 자극
Mitochondria AND Mechanical stimuli	0	1	2	3	2	1	관련 연구가 미미함. 약물전달과 기계적 자극은 비교적 연구되고 있으나 미토콘드리아와의 결합은 극히 미미함
Drug delivery system (OR Drug delivery) AND Mechanical stimuli	3	6	4	10	7	2	
Mitochondria AND Mechanical stimuli AND Drug delivery system (OR Drug delivery)	0	0	0	0	0	0	
Mitochondria AND Stimuli AND Drug delivery system (OR Drug delivery)	0	1	0	1	3	3	

으며, 핵 유전체 유전체와 상호작용을 하여, 세포생사의 이해를 위하여 이 두 유전체의 상호작용을 알아야 하며, 2) 세포 에너지원이 되는 TCA회로와 전자전달계가 있고 세포내외로 이동하는 각종 이온과 이에 따른 전자의 이동, 열의 이동이 미토콘드리아 기능을 조절하고 있어 종합적인 이해와 이를 위한 다각적인 방면의 접근이 필요하다. 핵과 미토콘드리아 사이의 상호작용의 파악과 질환을 제어할 수 있는 타깃을 발굴하고 제어하기 위한 방법으로 가장 가능성 있는 유전자 조절을 통한 새로운 치료법 개발이 필수적이며 이를 위해서는 다양한 분야에서 축적된 노하우와 기존의 데이터를 종합분석·응용할 수 있는 다학제간의 유기적인 연구가 필요할 것이다.

일반적인 세포 연구에서 미세환경(생체모사 미세환경)과 접목된 연구결과는 해마다 증가하는 추세이며 미세환경 제공의 효용도는 국내외적으로 입증된 상황이다. 미토콘드리아, 약물전달 시스템연구에서 미세환경을 포함하는 연구는 아직 전무한 상태이다.

### ▶ 미토콘드리아 기능부전 관련 유전자, 단백질 타깃 발굴

미토콘드리아 기능부전 관련 질환에 따른 비교 유전체학,

단백질체학 데이터 확보: 프로테오믹스와 생물정보학기법을 이용하여 미토콘드리아 막 또는 내부에 존재하며 세포사와 밀접하게 미토콘드리아 기능을 조절하는 요인들을 여러 가지 질환 동물모델에서 미토콘드리아 유전체 및 단백질체 변화를 탐색한다. 그 다음 미토콘드리아 기능부전 연관 유전자의 스크리닝 및 유전자 과발현, 제거를 통한 1차 검증을 실시한다. 수백~수천개에 달하는 유전자 및 단백질 중 미토콘드리아 기능부전 회복에 유효한 타깃을 효율적으로 선별하는 것은 시간과 비용 등의 효과적 이용에 매우 중요함. 이를 위하여, 미토콘드리아 단백질, 유전자 맵상에서 타깃 단백질, 유전자의 조절시의 정확한 효과에 대한 예측과 검증이 필요하다. 단백질 유전자의 기능과 상호작용에 따라 core function 과 regulatory function 으로 분류하여 진행한다. core function 은 미토콘드리아의 산화적 인산화, TCA cycle 등 필수 기능이다. Core function의 직접적인 타깃팅은 미토콘드리아 기능의 전체적 불균형을 일으킬 수 있다. regulatory function 인 antioxidative function, membrane protein stabilization, mitochondria quality control 등의 기능을 가지는 단백질들을 일차 타깃으로 진행한다. 타깃 유전자를 이용, 심장 유래 H9C2 등의 세포에 유전자 조작의 방법으로

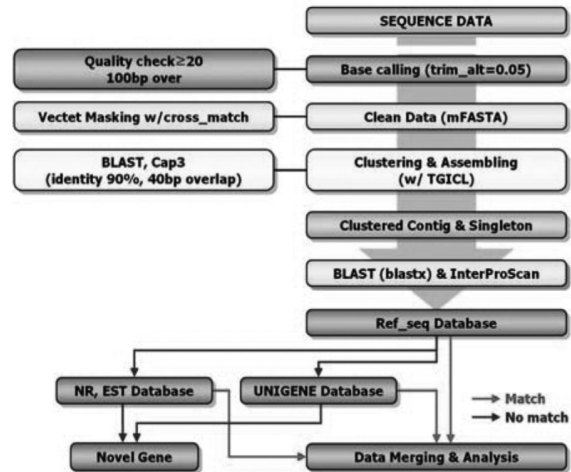
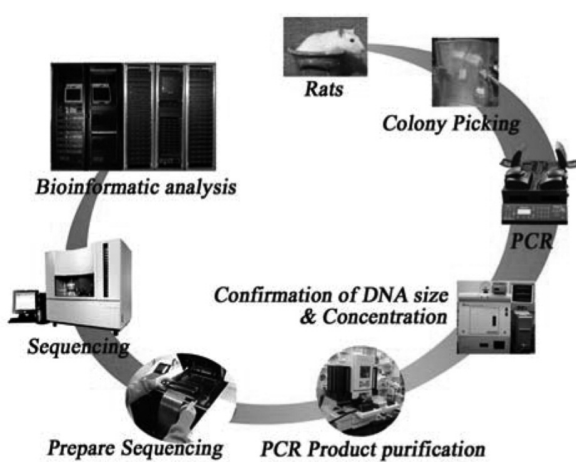


그림 3. 유전자 EST 연구 기법 (좌) 및 생물정보학을 이용한 EST 분석 schema (우)

통하여, over expression 혹은 siRNA 를 통한 gene knock down 등을 통해 1차 검증용 세포 모델을 제작, 이후 다음의 연구 기법을 통해 유전자, 단백질의 미토콘드리아 기능조절 유효성을 1차 검증한다.

### ▶ 생체모사 시스템

일반적으로 세포의 연구는 세포가 체외에서 분리되어도 실험기간 중 고유의 성질이 유지될 것이라는 가설을 바탕으로 수행되고 있다. 하지만, 세포는 연구를 위해 체외로 분리되는 순간 주변 환경(물리적, 생화학적 등) 변화가 필히 수반된다. 특히 plate에 안착되는 순간 cytoskeleton(세포골격)의 변화가 동반되며(Nature, 463:485-492, 2010) 이는 다양한 신호전달 체계를 비롯한 세포의 주요 반응에 변화를 일으키게 된다. 동일한 줄기세포를 재료의 강도가 다른 3종류에 안착시킬 경우 아무런 생화학적 조치가 없어도 각각 서로 다른 3종류의 세포로 분화되는 경향을 보이고 있다(Cell, 126:677-689, 2006). 이상의 결과를 요약하면, 세포의 체외 배양시 그 생화학적 환경과 더불어 물리적 환경에 따라 세포의 반응이 다르게 나타남을 의미한다. 체외에서 실험되는 세포는 생체내에서의 환경과 동일한 경우 가장 in-vivo에 가까

운 반응 및 결과를 제공할 수 있을 것이다. 이를 위해 체외에서 생체모사 환경을 제공하는 시스템이 필요하다 하겠다. 생체모사 환경의 구성 3가지 요소는 생화학적, 기하학적(세포가 처한 주변의 구조), 기계적 환경이다. 생화학적 환경은 배지의 구성 성분 조절로 가능하고, 형태학적 환경은 예를 들어 근육내의 세포, 심근 세포, 혈관내피 세포 등은 각각 주변의 구조가 다름. 즉 2, 3 차원으로 설명 가능하다. 기계적 환경은 인체의 모든 세포 및 조직은 일상생활을 통해 끊임없이 기계적 자극(인장, 압축, 전단력)에 노출되어 있다. 생체모사 환경의 체외 구현은 대상세포의 특징(genotype, phenotype)을 오랫동안 유지하며, 아울러 연구 수행 중 행하는 여러 처리에 대한 세포의 반응이 보다 in-vivo에 근접할 것이다.

### ▶ 미토콘드리아 타겟 약물전달 시스템

N-terminal에 표적화하는 신호로 비-미토콘드리아 물질의 전입할 수 있는 물질을 개발하여, small-single-and double stranded DNA, peptide nucleic acid-coupled oligonucleotides, liposome-encapsulated oligonucleotides 그리고 quantum dots에 결합할 수 있는 지를 탐색하고 표적화 배열의 전략적 치료의 후보물질로써 융합단백질 발현 백

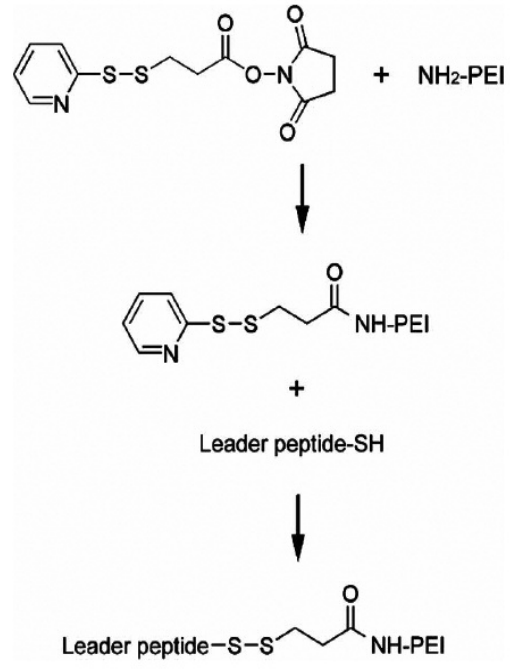
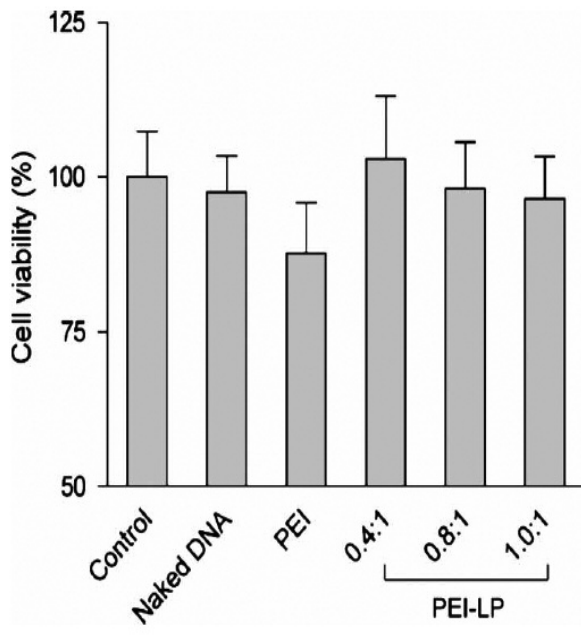


그림 4. PEI-LP/pDNA복합체와 PEI/pDNA 복합체를 각각 제작 후 0.4/1~1/1의 질량비로 A7R5세포에 이입하여 MTT 분석으로 세포독성을 비교하였을 때, PEI-LP/pDNA의 세포독성이 낮게 측정됨.

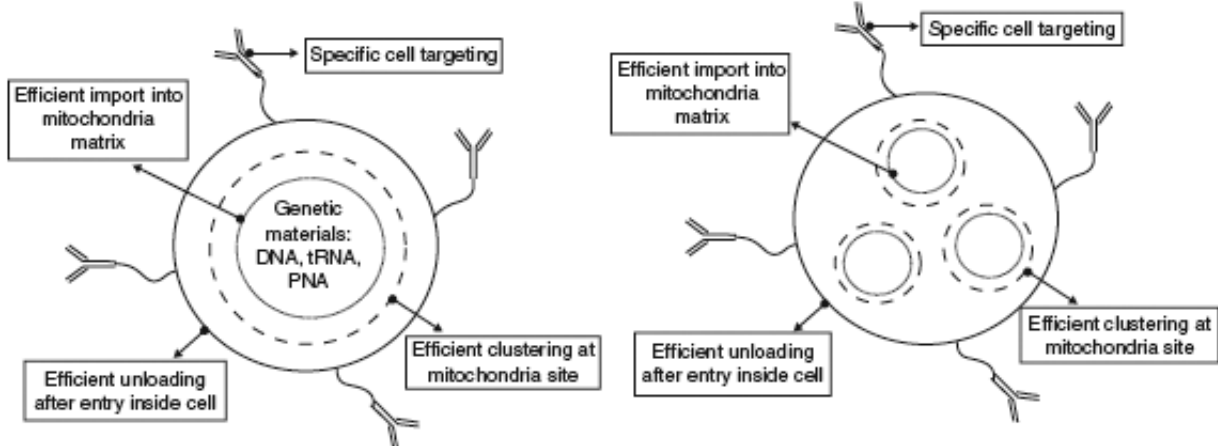


그림 5. 유전자 치료를 위한 미토콘드리아 기능 호전의 전략

터로서의 가능성을 비교 정량 분석(comparative quantitative analysis)한다. rhodamine 123(미토콘드리아 식별), ethidium bromide(mtDNA결핍 유도), DQAsomes(

막전하에 따른 plasmid DNA의 encapsulation, DNAase로부터의 보호, plasmid DNA의 전달), triphenylphosphonium 양전하(항산화 물질의 미토콘드리아 전달) 등과 비교하여 미

토콘드리아 내로 전입의 효율성을 평가한다. 미토콘드리아에 DNA를 전달하기 위해 mitochondrial leader-peptide와 polyethylenimine(PEI-LP/DNA) 복합체를 사용하였을 경우 미토콘드리아에 국한되고, 세포독성도 낮은 방법이 될 수 있다 (*J Drug Target*, 2007).

또한 미토콘드리아 내로의 유전자 치료 시 세포독성과 DNA/RNA의 방출 및 효율성에 대한 미검증된 결과들을 보완하기 위하여 MMV체계(multifunctional multilamella vesicular or multifunctional multivesicular)가 필요하다 (*Expert Opin Drug Deliv*, 2008). MMV의 첫번째 막은 세포막을 통과하기 위한 표적화 리간드 처리가 필요하며, 이후 endocytosis 또는 수용체에 의한 표적 세포질내로 이동 후 TPP, cationic bolaamphiphiles, 또는 Rhodamine 123과 같은 물질들을 이용하여 미토콘드리아에 표적화할 수 있는 물질의 처리가 필요하다. 세포질내 축적을 위해서는 세포내 골격구조(myotubules)에 표적화할 수 있는 물질과 미토콘드리아 내에 발현을 원하는 물질의 축적을 위해서는 carnitine shuttle를 매개로한 미토콘드리아 내 전달 체계가 필요하다.

▶ **맺음말**

미토콘드리아는 세포의 삶과 죽음을 결정하는 중요한 역할을 한다. 개개의 미토콘드리아 수준에서의 산화적 인산화 uncoupling, 미토콘드리아 전체 네트워크의 손상, 다시 세포의 기능이상으로 확장되고, 결국 전체 조직의 기능이상에 영향을 미칠 수 있다. 미토콘드리아에 대한 새로운 지식들을 새로운 치료의 전략으로 발전시키기 위해서는 지속적인 연구 노력이 필요하다. 미토콘드리아 기능보호, 이온 항상성,

손상 등에 관여하는 미토콘드리아 분자구조의 규명은 여전히 풀어야 할 숙제이다. 유전자 결실과 같은 유전자 재조합 기술과 같은 미토콘드리아 연구를 타겟으로 하는 유전제, 프로테오믹스의 새로운 연구방법들이 이 분야 연구에 진전을 가속화 할것으로 보인다. 또한 미토콘드리아 기능의 최적지표인 미토콘드리아 막전압의 조절기전 규명을 위해 막에 존재하는 이미 알려진 혹은 새로운 이온통로의 성질을 파악하기 위한 독창적인 연구방법이 요구된다. 세포의 다른 부위에 영향을 주지 않으면서, 미토콘드리아를 타겟하기 위한 물질을 디자인하는 것도 중요할 것이다. 에너지대사와 활성산소종 생산의 중요한 조절 부위를 찾아내는 것과 이들이 어떻게 질병에 의해 변화하는지를 알아내는 것도 절대적으로 필요하다. 삶에 대한 본질적인 질문에 초점을 맞추어 온 미토콘드리아 에너지대사의 오랜 물음에 대답할 수 있는 그 날이 오기를 기대한다.

저 | 자 | 약 | 력

**한 진**      연구책임자

1991	인제대학교 의과대학, 의학 학사
1993	서울대학교 의과대학, 의학 석사
2000	서울대학교 의과대학, 의학 박사
2003	Johns Hopkins Medicine, 방문교수
2006	인제대학교 심혈관·대사질환센터, 센터장
2010	인제대학교 의과대학 생리학교실 교수, 주임교수