



2021. 1. 5.(화)

문의 : 최지은 연락처(02-880-1261)
연구책임자 한호재 교수(02-880-1261) / 교신저자
연구진 최지은 연구원 / 제1저자

스트레스에 의한 기억력 저하 원인 규명 - 당류코르티코이드에 의한 미토콘드리아 자가탐식 억제 -

1. 연구의 필요성

- 스트레스로 인한 당질코르티코이드 분비 증가는 치매 질환을 유발하는 대표적인 원인 물질 중 하나이다. 이러한 스트레스 환경은 치매 발병 초기 단계 특징 중 하나인 미토콘드리아 기능의 손상을 유발한다. 당질코르티코이드는 미토콘드리아의 세포 내 이동을 억제, 과도한 미토콘드리아 분절화, 미토콘드리아 활성산소종 생성 등을 통해 미토콘드리아의 항상성을 깨뜨리는 반응을 유발한다고 알려져 있다.
- 보통 미토콘드리아는 세포 핵 주변부로 이동하여 리소솜에 의해서 제거되는 미토콘드리아 자가탐식 과정을 거치게 된다. 높은 농도의 당질코르티코이드는 신경세포 핵 주변부로 미토콘드리아의 축적을 유발하였다. 이는 당질코르티코이드가 신경세포 내 미세소관 의존적 미토콘드리아 세포 내 이동을 억제했을 가능성 뿐만 아니라 핵 주변에 있는 미토콘드리아의 제거를 빠르게 유도하지 않음에서도 기인한다. 미토콘드리아의 손상이 유발되면 미토콘드리아 자가탐식 과정을 통해서 미토콘드리아를 제거함으로써 정상적인 미토콘드리아의 숫자를 유지하고자 노력한다. 하지만 미토콘드리아 자가탐식 현상이 유발되지 않았기에 이와 관련된 연구의 필요성이 제기되었다.
- 미토콘드리아 막 전위가 떨어지게 되면 PINK1 매개 미토콘드리아 자가탐식 기전이 유발된다. 하지만 PINK1 매개 신호전달은 생리학적

미토콘드리아 자가탐식을 유지하는 데 있어 중요하지 않다는 연구결과가 밝혀졌다. 오히려 수용체 매개 미토콘드리아 자가탐식이 신경세포 내 미토콘드리아의 정상적 기능을 유지하는 데 있어서 중요하다. 이러한 수용체 매개 생리학적 미토콘드리아 자가탐식은 보통 에너지 소모가 많은 신장, 심장, 뇌 내에서 많이 유발되고, 관련된 만성질환에서도 주로 영향을 많이 받는다. 이에 따라 만성 스트레스 노출에 의한 증가된 당질코르티코이드는 신경세포 내 수용체 매개 미토콘드리아 자가탐식 작용을 억제할 가능성이 있지만, 관련 기전에 대한 보고는 현재까지 없었다.

- 따라서 한호재 교수 연구팀은 효과적인 스트레스가 유발하는 치매 질환의 예방 및 치료 전략 개발을 위해서 스트레스 유도 모델에서 수용체 매개 미토콘드리아 자가 탐식 억제 효과를 검증하고 자세한 메커니즘을 규명하기 위한 연구를 진행하였다.

2. 연구내용

- 연구진은 높은 농도의 당질코르티코이드 환경에 노출된 마우스 해마신경세포에서 초고해상도 이미징 분석을 통해 미토콘드리아가 핵 주변부로 축적되는 것을 확인하였다. 이로 인하여 신경세포의 시냅스 밀도 및 시냅스 소포 재흡수의 양이 감소된 것을 FM4-64염색과 초고해상도 이미징 분석을 통해 확인하였다.
- 높은 농도의 당질코르티코이드 환경에 노출된 신경세포 모델에서 mt-Keima 벡터를 이용하여 미토콘드리아 자가탐식이 감소됨을 확인하고 미토콘드리아 DNA 손상된 양이 증가됨을 TUNEL assay를 통해 확인하였다.
- 미토콘드리아 자가탐식 관련인자의 변화를 확인한 결과 높은 농도의 당질 코르티코이드에 의해 NIX단백질이 선택적으로 감소하는 것을 확인하였다. NIX는 parkin단백질과 상호작용을 하거나 이와 독립적으로 신호전달을 유발한다고 알려져 있다. 이를 구분하기 위하여 parkin의 발현을 억제하거나 촉진시킨 결과 NIX 단백질의 변화가 없음이 면역침강법을 통해 확인하였다. 이에 높은 농도의 당질 코르티코이드는 PINK1-parkin

매개 신호전달과는 독립적으로 NIX 매개 미토콘드리아 자가탐식을 억제한다는 것을 증명하였다.

- 당질코르티코이드에 의해 핵내로 이동 된 GR은 PGC1 α 의 전사를 억제하였다. 이에 따라 NIX 단백질의 발현이 억제되었으며 NIX 단백질 발현을 증가 시 당질코르티코이드에 의한 미토콘드리아 호흡 억제 기능 및 시냅스 기능 이상 유발 효과가 억제되었다. 또한 당질코르티코이드에 노출 된 마우스에서 NIX 단백질 발현을 증가 시 인지 기능 장애가 억제됨을 밝혔다. 이는 NIX가 당질코르티코이드 노출에 의한 시냅스 기능 및 인지기능 이상 시 직접적인 치료 타겟 단백질로 적용될 수 있음을 의미한다.

3. 연구성과/기대효과

- 이번 연구성과는 당질코르티코이드에 의해 수용체 매개 생리학적 미토콘드리아 자가 탐식 현상 제어 효과를 규명하고, NIX가 치매의 예방 및 치료 타겟으로 활용될 수 있음을 제시하였다.
- 연구진이 규명한 GR-PGC1 α -NIX 축은 미토콘드리아 자가탐식 억제 현상에 대한 새로운 치료전략을 제시하였다는 데에 학문적 의의가 있다.
- NIX 관련 효과적인 스트레스성 치매 질환 예방 및 치료를 위해서 NIX 발현 촉진제를 활용한 신약 개발 등에 이번 연구 성과가 활용될 것으로 기대된다.
- 해당 연구 성과는 한국연구재단 과학기술분야 기초연구사업 (중견연구)의 지원으로 수행해왔으며 저명 국제학술지인 'Nature Communications' 에 2021년 초 "BNIP3L/NIX-mediated mitophagy protects against glucocorticoid-induced synapse defects"의 논문명으로 게재를 앞두고 있다. 또한 2020년 7월 "NIX 단백질 발현을 증가시키는 물질을 포함하는, 신경퇴행성 질환의 예방 또는 치료용 조성물 및 치료방법"의 지적재산권명으로 특허 출원된 바 있다.

[붙임] 1. 연구결과 2. 용어설명 3. 그림설명

연구결과

BNIP3L/NIX-mediated mitophagy protects against glucocorticoid-induced synapse defects

Gee Euhn Choi, Hyun Jik Lee, Chang Woo Chae, Ji Hyeon Cho, Young Hyun Jung,

Jun Sung Kim, Seo Yihl Kim, Jae Ryong Lim, and Ho Jae Han*

(*Nature Communications*, in press)

- 만성적인 스트레스 환경은 높은 농도의 당질코르티코이드 분비를 통해 초기에 미토콘드리아 기능 손상을 거쳐 신경세포에서의 아밀로이드 침착, 타우 단백질 과인산화 및 응집, 신경세포 사멸 등을 일으키며 최종적으로 인지장애를 동반한 치매를 유발한다.
- 높은 농도의 당질코르티코이드에 의한 신경퇴행성 변화에 관한 연구를 수행하던 도중 미토콘드리아의 핵 주변부 축적 현상이 지속되었음에도 손상된 미토콘드리아의 제거가 뒤따르지 않았음에 착안하여 당질코르티코이드에 의한 미토콘드리아 자가탐식 기능 변화에 대한 기전을 밝혔다. 특히나 당질코르티코이드에 의한 미토콘드리아 자가탐식에 대한 선행 연구 자료가 전무하고, 치매 질환의 발병 단계에서 초기 병리학적 특징의 유발을 억제함으로써 보다 신속하게 치매 발병 기전을 억제할 수 있기 때문에 이 연구가 필수적이다.
- 당질코르티코이드에 의한 미토콘드리아 자가탐식 억제 기전을 규명하기 위해 다양한 분자생물학적 분석, 유전자 변이, 시냅스 소포 재흡수 분석, 미토콘드리아 산소소모량 측정, 인지기능 및 우울증상 행동 분석 등 다양한 실험분석기법들이 활용되었다. 연구에 활용된 모델로는 신경세포주와 마우스 해마신경 초대배양 세포가 사용되었고, 생체모델을 이용한 검증을 위한 당질코르티코이드에 노출된 마우스를 활용하였다.
- 연구팀은 당질코르티코이드가 NIX 단백질 감소효과를 통해 신경세포 내 미토콘드리아 자가탐식 억제 및 신경세포 퇴행이 유도되는 것을 최초로 규명하였다. 이는 기존에 PINK1-Parkin 의존적인 신호전달이 아닌 수용체 의존적인 미토콘드리아 자가탐식이 신경세포 내에서 우세할 수 있음을 보여주는 중요한 결과임에 동시에, 신경퇴행성 질환의 대표적 환경요인인 스트레스가 미토

콘드리아 자가탐식에 미치는 메커니즘을 처음으로 밝힌 결과임. 따라서 스트레스성 신경퇴행성 질환(대표적으로 알츠하이머 질환)의 치료를 위한 전략으로 NIX 조절을 통한 시냅스 손상 교정 효과를 제안하였다.

- 치매 질환의 발병 초기 단계 변화인 미토콘드리아 기능 이상 현상은 세포 내 독성 물질이 축적되기 이전에 쉽게 교정될 수 있으며 발병을 예방하는 데 있어 효과적이라고 알려져 있으며, 관련 타겟에 대한 연구도 다각적으로 연구되고 있다. 이번 연구 성과는 현대인이 상시 노출되어 있는 스트레스 상황에서 당질코르티코이드가 NIX억제를 통하여 신경퇴행성 변화를 유발하는 것을 밝힘으로써, 스트레스성 치매의 새로운 예방 및 치료 타겟을 제시하였다는 점에서 큰 의미가 있다.

용 어 설 명

1. NIX (BCL2/adenovirus E1B 19 kDa protein-interacting protein 3-like)

- 미토콘드리아 자가탐식 조절 단백질이며, 미토콘드리아 막에서 LC3과의 결합을 촉진 시켜주는 수용체 역할을 한다.

2. PINK1 (PTEN-induced kinase 1)

- 미토콘드리아 자가탐식 조절 단백질이며, 미토콘드리아 막전위가 감소 시 활성화 된다.

3. FM4-64 (Biotracker 640 red C2)

- 시냅스 소포의 재흡수 확인에 이용되는 염색시약이다.

4. mt-Keima (Mitochondria-targeted keima)

- 미토콘드리아 내로 들어가는 단백질로, 미토콘드리아의 pH에 따라서 색깔이 변화되기 때문에 미토콘드리아 자가탐식 유무를 확인할 수 있다.

5. TUNEL (Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling)

- 이중나선이 풀린 손상된 DNA에 결합하여 형광색을 나타내는 시약으로, 세포 사멸을 확인하는 데 주로 사용된다.

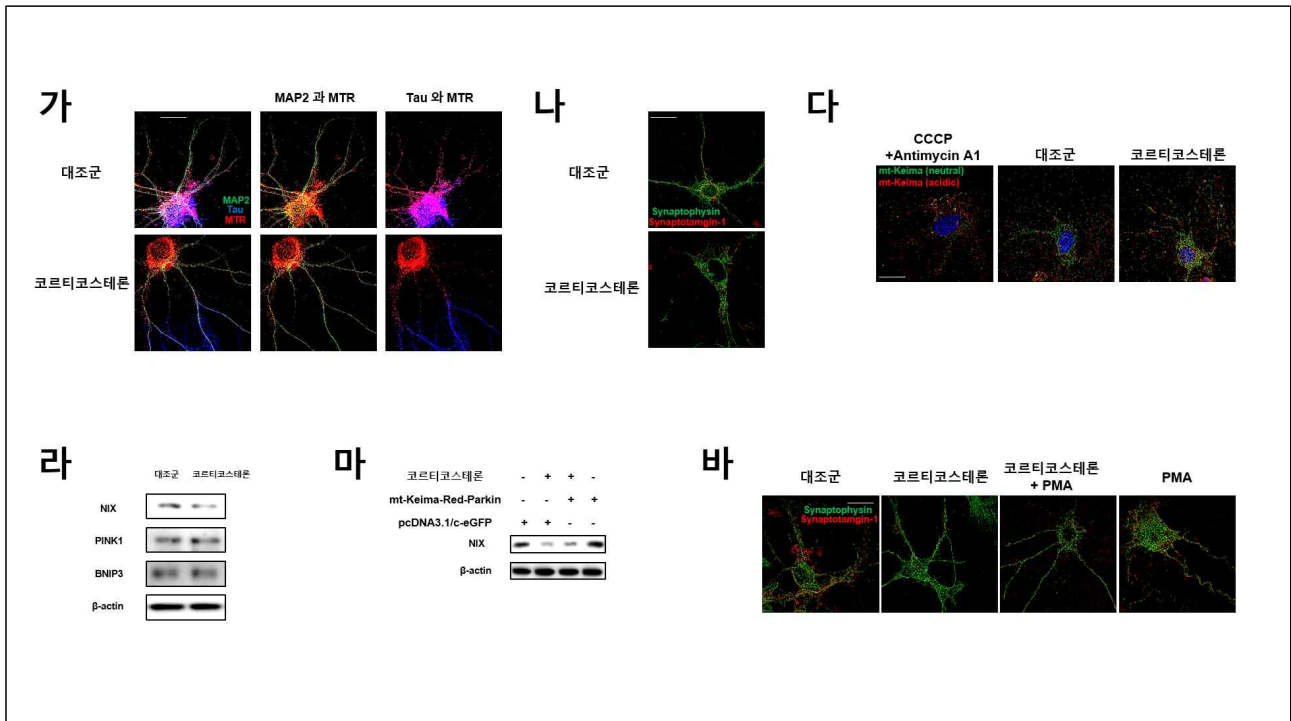
6. GR (Glucocorticoid receptor)

- 당질코르티코이드 수용체로, 당질코르티코이드의 농도가 높을 때 활성화 된다.

7. PGC1 α (Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1- α)

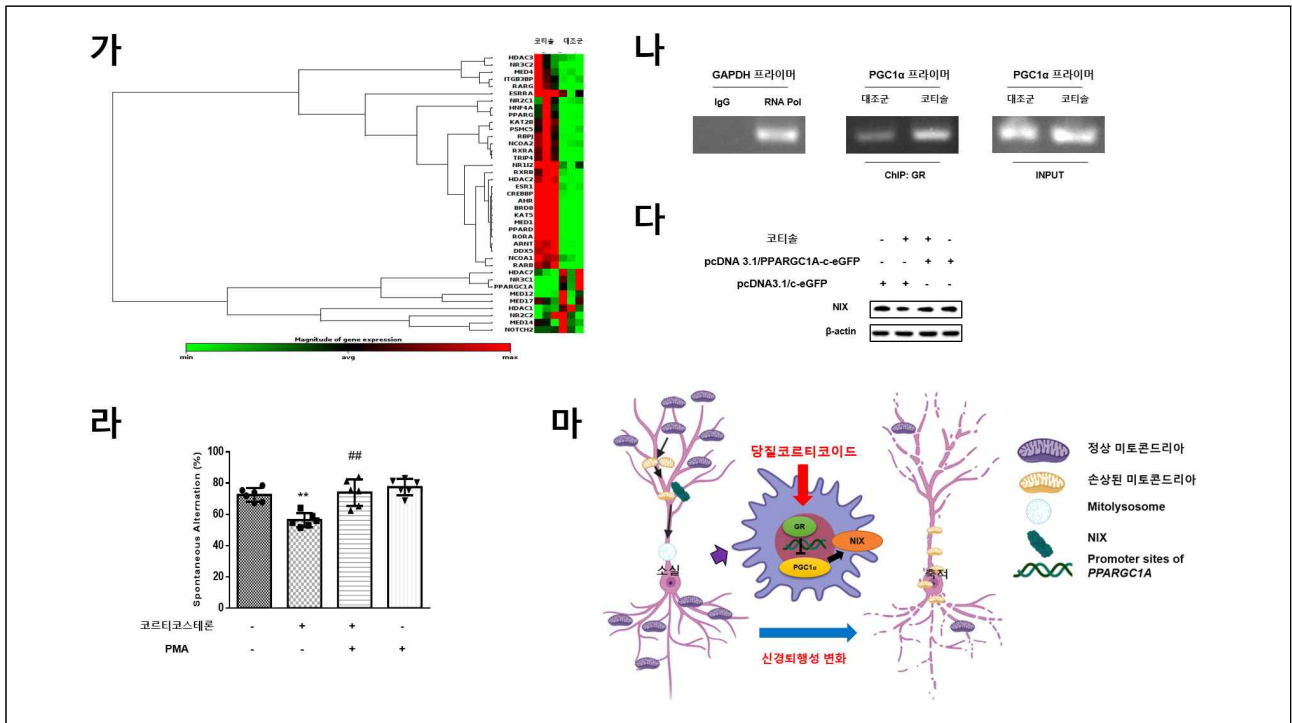
- 미토콘드리아의 신생에 관여하는 단백질로, 미토콘드리아 자가탐식을 조절하는 역할도 한다.

그림 설명



(그림1) 당질코르티코이드에 의한 NIX 의존적 미토콘드리아 자가탐식 억제 및 시냅스 기능 이상 조절

(가) 당질코르티코이드 중 하나인 코르티코스테론을 마우스 해마 뉴런에 처리 시 수상 및 축삭돌기 끝부분에 위치한 미토콘드리아는 감소했으나, 핵 주변부의 미토콘드리아는 증가되었다. (나) 이에 따라 코르티코스테론을 처리 시 마우스 해마 뉴런에서 시냅스 소포 재흡수가 감소되었다. (다) 미토콘드리아가 핵 주변부에 축적되었음에도 불구하고 미토콘드리아의 제거현상이 일어나지 않았다. 이는 코르티코스테론에 의해서 미토콘드리아 자가탐식 감소했기 때문이다. (라) 코르티코스테론은 NIX를 선택적으로 감소시켰다. (마) Parkin 발현을 증가시켰음에도 NIX의 발현의 변화가 없었다. 이는 당질코르티코이드에 의한 NIX감소는 PINK1-parkin 매개 신호전달과는 독립적으로 유발됨을 의미한다. (바) NIX 발현을 증가시키는 PMA를 전처리 하였을 때 코르티코스테론에 의해 감소된 시냅스 소포 재흡수가 정상화 되었다.



(그림2) 당질코르티코이드 매개 PGC1α 전사 억제로 인한 NIX 발현 억제

(가) PCR array를 진행 시 코티솔 처리는 PGC1α의 전사를 저해시켰다. (나) 이에 GR이 PPARGC1A 유전자의 프로모터에 붙는 것을 확인하였다. (다) PGC1α의 발현을 증가 시 NIX 단백질이 회복되었다. 이에 당질코르티코이드는 GR-PGC1α-NIX 축을 형성하고 있음을 알 수 있었다. (라) Y-maze 시험을 통하여 코르티코스테론에 노출된 마우스에서 기억력 형성이 억제되었으나, PMA 복합처리군에서 기억력 형성이 정상화되었다. (마) 따라서 이번 연구결과는 당질코르티코이드에 의한 NIX매개 미토콘드리아 자가탐식 억제와 순차적으로 시냅스 기능 이상 및 인지 기능 장애를 유발함을 규명하였다.