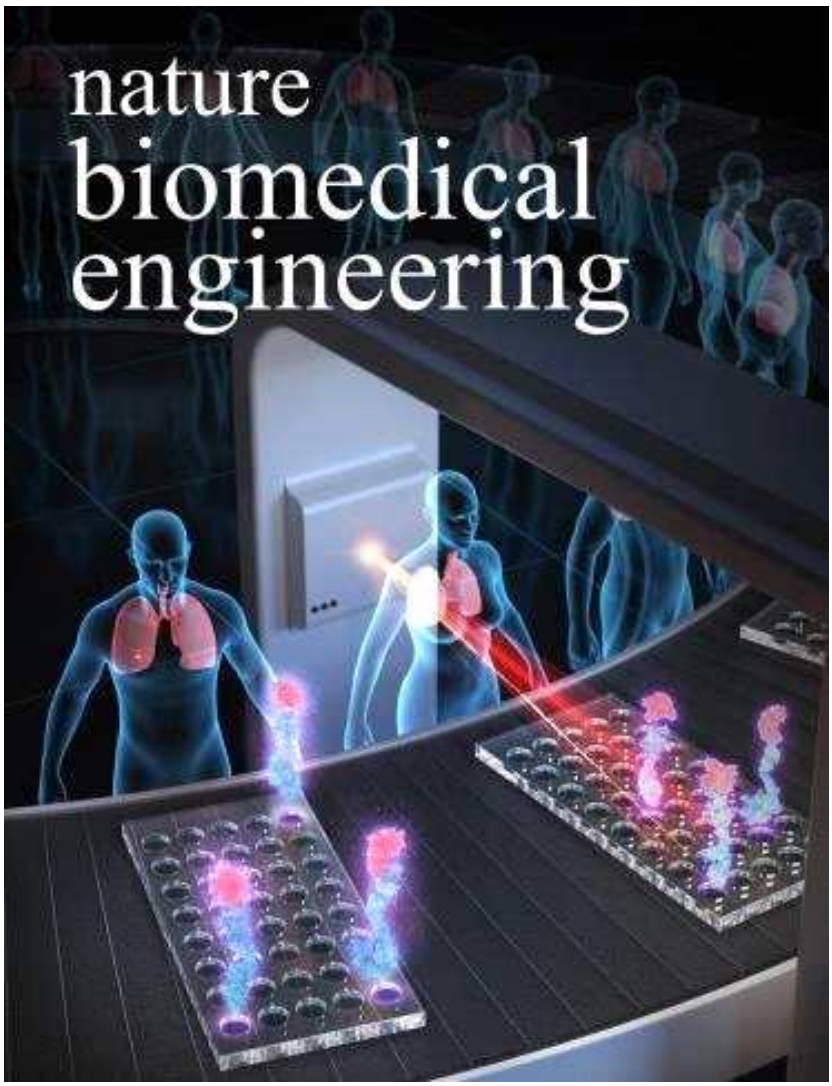
서 울 대 학 교 SEOUL NATIONAL UNIVERSITY **보 도 자 료** http://www.snu.ac.kr

문의 : 이홍원 연구원 (02-880-2247)
연구단장/연구책임자 생명과학부 윤태영 교수 (02-880-2246) / 교신저자
연구단/연구진 이홍원 연구원 (02-880-2247) / 제1저자

단백질 상호작용 기반의 항암표적치료 정밀진단 기술 개발

- 쌀 한톨 크기 암 조직에서 대규모 단백질 정보 분석 가능해져 -



개별 환자의 단백질 상호작용을 분석하는 정밀진단 컨셉아트

□ 서울대학교 생명과학부 윤태영 교수 연구팀은 **환자 조직 내에서 추출한 단백질의 상호작용을 측정**하여, **표적항암제에 대한 반응성을 정밀하게 예측할 수 있는 기술**을 개발함. 이번 연구는 **삼성미래기술육성재단이 한국 과학기술 발전을 위한 공익사업**으로 지원을 받아 수행되었으며, **연세대학교 세브란스병원 조병철 교수 연구팀, 서울대학교병원 임석아 교수 연구팀이 참여하여 공동연구를 진행**하였음.

□ 암을 보다 높은 효율과 적은 부작용으로 치료하기 위하여 개별 암 조직에서 비정상적으로 활성화된 단백질을 찾고 이를 특이적으로 저해하는 항암표적치료가 각광을 받고 있음.

□ 현재 항암표적치료의 대상이 되는 암 환자를 선별하기 위해서는, 치료의 표적이 되는 단백질을 생산하는 DNA에 돌연변이 유무를 조사함.

□ 그러나, DNA에 돌연변이가 있는 경우도 예측 성공률이 50%를 밑돌고 있음. 게다가 DNA 돌연변이가 발견되지 않는 암 환자도 항암표적치료에서 큰 효과를 보는 경우가 경험적으로 존재함.

□ 따라서 이러한 **현재의 항암표적치료의 한계를 극복하기 위해** 단백질 상호작용 기반의 새로운 정밀진단 기술을 개발함.

□ 새롭게 개발된 기술에서는 DNA 돌연변이 유무를 조사하지 않고, 표적 단백질의 단백질 간 상호작용, 즉 **단백질 활성을 직접적으로 측정**함. 이를 바탕으로 항암표적치료로부터 우수한 효과를 볼 암 환자를 예측할 수 있음. 또한 이러한 예측을 암 조직에 DNA 돌연변이가 없는 경우에도 할 수 있음.

□ 이러한 단백질 상호작용 기반의 예측기술을 개발하기 위하여 본 연구진이 개발한 단분자 공면역침강 기술을 응용함. 이를 바탕으로 **개별 환자 혹은 전임상 모델에서 표적항암제 반응성 예측 가능성 입증**함.

o 7종의 유방암 세포주, 6종의 폐선암 세포주에서 각각 HER2, EGFR의 단백질 상호작용 분석결과가 해당 단백질을 대상으로 하는 항암표적치료 효과와 밀접한 상관관계가 있음을 입증.

o 아바타 마우스 8종에 대해서도 EGFR 표적항암제에 대한 반응성이 EGFR 단백질 분석을 통해 예측될 수 있음을 입증함. 특히 EGFR 돌연변이 여부에 관계없이 본 진단기술 적용이 가능함을 증명.

o 2건의 실제 암 환자 조직에 대해서도 다각적인 단백질 정보 분석을 수행하여, 두 환자에서 EGFR 표적항암제에 대한 반응성 차이가 단백질 정보 분석을 통해 구분될 수 있음을 입증함.

□ Nature Biomedical Engineering (nature.com/natbiomedeng)에 **출판되며**, 이 분야 전문가인 Igor Stagljar 교수 (토론토 대학)의 별도 논평 논문을 통해 연구 내용을 조명할 예정임. 이는 본 연구의 중요성에 대한 저널 측의 견해를 나타냄. 또한, Nature 사에서 운영하는 community 사이트 nBME community (https://nbmecommunity.nature.com/)를 통해 연구기간 중 있었던 에피소드도 함께 다루어질 예정임.

[붙임] 1. 연구결과 2. 용어설명 3. 그림설명
4. 연구진 이력사항

연 구 결 과

Profiling of protein-protein interactions via single-molecule techniques predicts the dependence of cancers on growth-factor receptors

Hong-Won Lee*, Byoungsan Choi*, Han Na Kang*, Hyunwoo Kim*, Ahrum Min, Minkwon Cha, Ji Young Ryu, Sangwoo Park, Jinyoung Sohn, Kihyuk Shin, Mi Ran Yun, Joo Yeun Han, Min Ju Shon, Cherlhyun Jeong, Junho Chung, Seung-Hyo Lee, Seock-Ah Im, Byoung Chul Cho and Tae-Young Yoon

(Nature Biomedical Engineering, *in press*)

세포 내 발생된 유전자변이의 축적은 정밀하게 조절되는 단백질 간 상호작용 및 세포신호전달 교란을 통해 정상 세포를 암 세포로 변화시킨다. 그러므로, 개별 암 세포 혹은 환자의 고유한 단백질 상호작용 방식을 분석하면 개인의 특성에 맞는 치료법을 제안할 수 있게 되며 이는 곧 정밀의학으로 이어질 수 있다. 이번 연구를 통해, 연구단은 단백질 간 상호작용과 단백질 복합체 성분을 단분자 공면역침강 기법을 이용, 정밀하게 분석하여 암 조직에서 EGFR 단백질이 형성하는 특이적 복합체와 상호작용 체계를 규명하였다. 단백질 상호작용과 인산화상태 측정 등 다각적 분석을 통해, 발암성 활성돌연변이가 발생한 EGFR 유전자에서 발현된 변종 EGFR 단백질은 근처 단백질들과 상호작용하여 특이적인 신호전달 복합체를 형성함을 입증하였다. 이 변종 EGFR 복합체는 정상 EGFR 단백질과는 다르게 인산화상태에 의한 신호전달조절 기능을 상실하여 지속적인 성장신호를 송출, 암 세포 성장에 기여하는 것으로 나타났다. 또한, 연구단은 EGFR 단백질의 성장신호 송출세기가 해당 신호전달경로에 대한 의존성에 비례하는 것을 암 세포부터 실제 암 환자조직 등 다양한 환경에서 입증하였다. 또한, 단분자 상호작용 분석을 통해, 비소세포폐암에서 EGFR 표적항암제에 반응하는 집단을 선별해내어, 단분자 상호작용 분석 기반의 새로운 정밀진단 개념을 정립하였다. 이를 통해 특별한 유전자변이가 없는 환자에서도 단분자 상호작용 분석을 통한 표적항암제 반응성 예측 (소위, PPI진단) 할 수 있는 새로운 정밀의학 시장을 개척할 것으로 기대한다.

용 어 설 명

1. 단분자 공면역침강 기법 (단분자 co-immunoprecipitation)

○ 2013년 연구단이 처음 개발한 기법으로 (H.-W. Lee et al., Nat. Commun. 4, 1515 & H.-W. Lee et al., Nat. Protoc. 8, 2045), 두 단백질 사이의 상호작용을 사전 정제과정 없이도 단분자 형광현미경을 이용하여 정밀하게 측정할 수 있도록 해주는 기술이다.

2. EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor)

○ 수용체 세포막 단백질 (receptor protein)의 일종으로 타이로신 인산화효소 (tyrosine kinase) 기능을 가지고 있다. 세포 외부의 자극을 인지하여 타이로신 인산화효소 기능을 활성화시키게 되고 주위 타이로신기에 인산화를 유발한다. 이를 통해 단백질 상호작용을 유도하고, 세포 내 신호전달 경로를 조절하는 중요한 역할을 한다.

3. PPI 진단 (Protein-Protein Interaction 진단)

○ 개별 암 환자의 표적항암제에 대한 반응성을, 표적이 되는 해당 단백질의 상호작용 세기 측정을 통해 예측하는 기술로써, 이번 연구를 통해 연구단이 처음으로 제안하는 진단 기법. 단백질 상호작용 세기를 측정하기 위해 단분자 co-immunoprecipitation 기법이 사용된다.

그 림 설 명

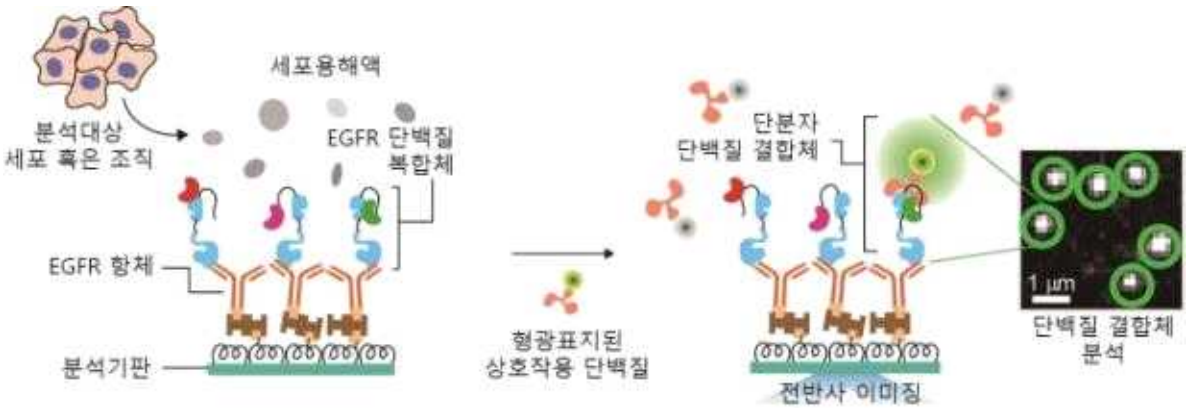


그림 1. 단분자 co-immunoprecipitation 실험 모식도. 분석대상이 되는 세포 혹은 조직을 용해하여 준비된 분석기판에 주입한다. 이 때 단백질은 원래 상태의 접힘/복합체/인산화 상태 등 최대한 원래 상태가 유지되는 조건으로 진행된다. 분석기판 표면에, 사전에 준비된 항체를 이용하여 원하는 표적단백질만 선택적으로 기판 표면으로 침강할 수 있다. 여기서는 EGFR 항체를 이용하여 EGFR 복합체를 기판 표면으로 침강시킨 것을 보여준다 (좌측). 이 후 세포용해액 내 포함된 필요없는 단백질은 세척과정을 통해 제거하고, 상호작용 하는 것으로 알려진 단백질을 주입한다. 이 때 해당 단백질에는 형광표지가 되어 전반사 형광이미징에서 관측될 수 있다. 형광표지된 상호작용 단백질이 기판 표면의 EGFR과 결합체를 형성하면 전반사 형광 현미경을 통해 형광신호를 관측하게 된다. 밝은 점으로 나타나는 결합체의 개수를 정량하여 EGFR 단백질 복합체와 상호작용 단백질 사이의 상호작용 세기가 얼마인지 단분자 수준에서 정밀하게 개량한다 (우측).

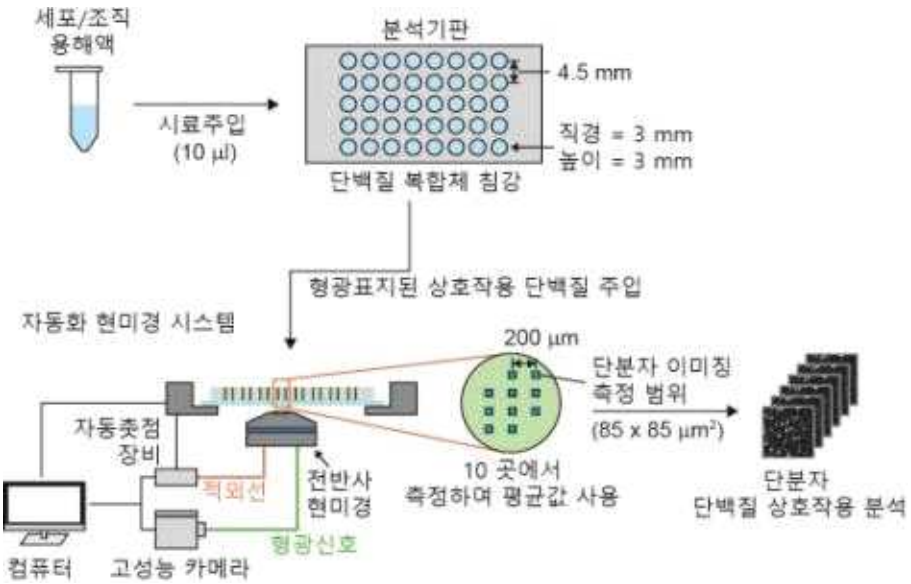


그림 2. 자동화 이미징 시스템 모식도. 단백질 주입 이후 모든 과정은 자동화된 시스템 위에서 컴퓨터로 조정되며, 단백질 상호작용 분석이 가능하게 된다.

그림 3. 분석기판 실사 모습. 하나의 분석기판에서 최대 40개의 각기 다른 조건을 1 시간 이내에 측정가능하다.

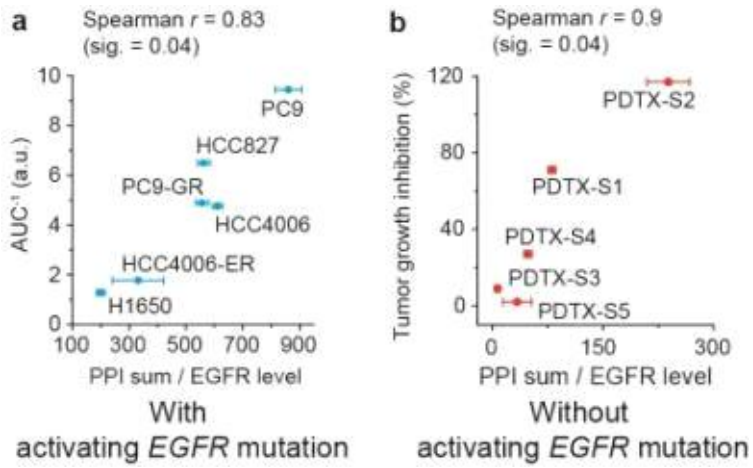


그림 4. 단분자 PPI 진단을 통한 항암제 반응성 예측 결과. (a) 폐선암 세포주 6종에 대한 PPI 진단 결과 (가로축)와 표적항암제 osimertinib 에 대한 반응성 (세로축) 사이의 상관관계 결과. PPI 결과가 높을수록 항암제에 대한 반응성이 높음을 볼 수 있다. 모든 세포주는 동일한 EGFR 표적항암제 민감성 돌연변이를 지니고 있음에도 불구하도 다양한 반응성을 나타낸다. (b) 5종의 아바타 마우스 (patient tumor derived xenograft)에 대한 PPI 진단결과 (가로축)와 표적항암제 gefitinib 에 대한 반응성 (세로축) 사이의 상관관계. 모든 동물 모델은 EGFR 유전자 변이가 없음에도 불구하고 역시 표적항암제에 대한 다양한 반응성을 보이고 있다. 이를 통해 PPI 진단이 유전자 변이 여부에 관계없이 새로운 진단 지표를 제공할 수 있을 것으로 생각된다.

연구자 이력사항

1. 인적사항

○ 소 속 : 프로티나 수석연구원 이홍원

○ 전 화 : 010-3883-4209

○ E-mail : hwlee@proteina.co.kr

2. 학력

○ 2004 - 2010 한국과학기술원 학사

○ 2010 - 2015 한국과학기술원 박사

3. 경력사항

◯ 2015-2016 한국과학기술원, 박사후연구원

◯ 2016-2017 연세대학교 Y-IBS 과학원, 박사후연구원

◯ 2017-현재 프로티나, 수석연구원

4. 기타 정보

◯ 2013 삼성전자 ‘휴먼테크논문대상’ 바이오부문 동상

연구자 이력사항

1. 인적사항

○ 소 속 : 단분자시스템생물학 연구단 단장
서울대학교 생명과학부 윤태영(부교수)

○ 전 화 : 02-880-2246

○ E-mail : tyyoon@snu.ac.kr

2. 학력

○ 1994 - 1998 서울대학교 학사

○ 1998 - 2000 서울대학교 석사

○ 2000 - 2004 서울대학교 박사

3. 경력사항

○ 2004-2005 서울대학교 반도체 공동 연구소, 박사후연구원

○ 2005-2006 어바나-샴페인 소재 일리노이 주립대학 물리학과, 박사후연구원

○ 2006-2007 어바나-샴페인 소재 일리노이 주립대학 하워드 휴즈 의학 연구소, 박사후연구원

○ 2007-2010 한국과학기술원(KAIST), 조교수

○ 2010-2014 한국과학기술원(KAIST), 부교수

○ 2011-현재 한국연구재단미래창조과학부 창의적 연구 진흥사업 (단분자 시스템 생물학), 연구단 단장

○ 2014-현재 삼성미래기술육성재단 기초과학부문 물리분야, 연구책임자

○ 2014-2016 한국과학기술원(KAIST), 영년직 부교수

○ 2016-2017 연세대학교 Y-IBS 과학원

○ 2017-현재 서울대학교, 부교수

4. 기타 정보

○ 경암상, 경암교육문화재단(2017)

○ 2017년 7월 이달의 과학기술인상, 과학기술정보통신부(2017)

○ 포항공과대학 개교 30주년 기념 선정, 한국을 빛낼 젊은 과학자 30인(2016)

○ 제2회 FILA 기초과학상, 한국과학기술한림원(2015)

○ Blue Ribbon Lecture, 한국분자세포생물학회(2015)

○ 2012 자연과학대학 우수강의 교원, KAIST(2012)

○ 2012 자연과학대학 우수연구 교원, KAIST(2012)

○ 기초연구부문 최우수성과(2011)

○ 기초연구 우수성과, 교육과학기술부(2011)

○ 이달의 과학기술인 상, 대전광역시 수여(2011)

○ 학술상, KAIST(2011)