

# 보도자료



미래를 개척하는 지식 공동체

서울대학교  
SEOUL NATIONAL UNIVERSITY

보도일시	즉시 보도
	2023. 12. 27.(수)
문의	담당자: 약학대학 김진영 (02-880-7863)
	연구책임자 약학대학 이정원 교수(02-880-2495) / 교신저자
	연구진: 김지언 박사후과정 (02-880-2496) / 제1저자

## TM4SF5가 매개하는 포도당 분해의 에너지화 과정 조절을 통한 간암세포의 정상화 단서 규명 - TM4SF5가 매개하는 미토콘드리아-리소좀 접촉 부위에서의 콜레스테롤 이동에 따른 암세포-특이적 미토콘드리아 기능조절 -

### ■ 요약

연구 필요성	<ul style="list-style-type: none"><li>세포 내부의 소기관은 물리적인 접촉을 통해 세포 내부의 다양한 기능을 담당함. 세포 내부의 대사 조절과 관련되는 미토콘드리아, 리소좀 두 소기관 사이의 접촉 및 상호작용에 대해서는 최근 영상 연구기술의 발달에 따라 알려지기 시작됨.</li><li>미토콘드리아-리소좀 접촉 부위를 매개하는 단백질과, 그 접촉 형성을 조절하는 분자적인 메커니즘, 및 세포 대사기능과의 관련성에 대해서 잘 알려지지 않았음.</li><li><b>간암 발병에 중요한 것으로 확인된 TM4SF5 막단백질이 미토콘드리아-리소좀 접촉 부위에 위치함으로써, 두 소기관 사이의 접촉 형성 및 세포 대사 기능 조절에 대한 역할 및 간암발병 기전에서의 역할이 연구된 바가 없었음.</b></li></ul>
연구성과/ 기대효과	<ul style="list-style-type: none"><li>리소좀과 미토콘드리아를 매개하는 단백질로 리소좀 막에 존재하는 TM4SF5 막 단백질과 미토콘드리아 외막의 FKBP8 단백질이 서로 결합하여 두 소기관의 접촉을 형성함을 밝힘.</li><li>간암 세포에서 포도당 유입이 늘어남을 확인할 수 있는데, 이때 미토콘드리아-리소좀 접촉 부위의 발생이 TM4SF5 발현에 의존적으로 늘어남을 밝힘.</li><li>미토콘드리아-리소좀 접촉 부위를 통해 리소좀에 저장되어 있던 콜레스테롤이 미토콘드리아로 이동 수송됨으로써, 미토콘드리아의 TCA(tricarboxylic acid) 회로는 온전하나, 막에서 일어나는 전자전달계의 기능은 결함이 유도됨.</li><li>간암 세포는 포도당을 이용하여 에너지 생산을 하기 위한 미토콘드리아의 기능이 저하되어있는 반면, 해당과정을 통한 에너지 생산에 의존하는 현상(와버그 효과, Warburg effect)이 잘 알려져 있음. 본 연구는 이 현상에 대한 분자적인 메커니즘을 밝힌 바가 됨.</li><li>뿐만 아니라, TM4SF5에 의한 미토콘드리아-리소좀 접촉부위의 형성 혹은 TM4SF5와 콜레스테롤의 결합을 제어하여 궁극적으로 미토콘드리아로의 수송을 억제할 수 있는 약물을 개발하면, 간암의 에너지 생산 과정의 재구성을 통한 간암 치료 및 암세포의 정상화 가능성이 예상됨.</li></ul>

## ■ 본문

### □ 미토콘드리아-리소좀 접촉 부위를 매개하는 단백질을 규명함.

- 본 연구팀은 여러 첨단 현미경들을 이용하여 미토콘드리아-리소좀 접촉 부위를 가시화함. 공초점 현미경을 이용해 관찰했을 때, 리소좀 막에 위치하는 TM4SF5 단백질의 발현에 의존적으로 미토콘드리아-리소좀 접촉 부위가 형성됨을 밝힘.
- 또한 세포 외부의 포도당 조절을 통해 TM4SF5 단백질의 세포 내 위치 변화가 일어나며, 미토콘드리아-리소좀 접촉 부위가 포도당이 풍부한 환경에서 증가함을 밝힘.
- 근접하는 단백질들을 표지화하고 분석가능케하는 TurboID를 이용한 단백질체 분석을 통해 리소좀의 TM4SF5가 미토콘드리아 외막의 FKBP8와 물리적인 결합을 통해 미토콘드리아-리소좀 접촉을 매개함을 밝힘.

### □ 리소좀의 콜레스테롤이 미토콘드리아-리소좀 접촉 부위를 통해 미토콘드리아로 이동·수송됨을 밝힘.

- 본 연구팀은 TM4SF5 유전자가 결여된 녹아웃 (Knockout) 마우스의 간조직을 RNA 시퀀싱 분석하여서 TM4SF5와 관련성이 높은 생물학적 경로를 찾는 과정에서 콜레스테롤 대사와 연관성이 높음을 확인함.
- 리소좀에 존재하던 콜레스테롤이 다른 소기관으로 전달될 때 역할하는 단백질들 중에, NPC1 및 STARD3가 TM4SF5 단백질과 결합함을 확인함.
- TM4SF5 발현 및 비발현 유전자 변형동물로부터 확보한 간상피세포에서 미토콘드리아를 분리한 후 미토콘드리아 내부의 콜레스테롤을 GC/MS를 통해 분석했을 때, TM4SF5를 발현하는 세포에서 얻은 미토콘드리아 내부에 더 많은 콜레스테롤이 발견됨.
- 세포에서 형광이 표지된 콜레스테롤을 처리 후 리소좀과 미토콘드리아를 각각 분리하여서 in vitro에서 미토콘드리아-리소좀 접촉 부위를 모방했을 때, TM4SF5가 발현하는 세포에서 리소좀을 얻은 경우 미토콘드리아로 더 많은 형광-표지된 콜레스테롤이 이동·수송되었음을 확인함.

### □ 미토콘드리아-리소좀 접촉 부위를 통한 미토콘드리아의 콜레스테롤 축적이 전자전달계의 기능 저하, 호흡 저하에 따라 에너지 생산 저하로 이어짐을 밝힘.

- 세포의 호흡 능력을 볼 수 있는 mito-stress test 실험을 통해 TM4SF5가 발현되는 세포에서, 발현하지 않는 세포에 대비하여 세포 호흡 기능이 저하됨을 확인함. 특히 콜레스테롤 처리에 의해서 더 저하 심화됨을 밝힘.
- 미토콘드리아 내부의 전자전달계의 기능을 확인하는 실험에서 특히 complex 1의 기능이 저하되어 (ATP 형태의) 에너지 생산이 저하됨을 밝힘. 하지만, 세포의 해당과정 및 TCA 회로는 정상적이어서, 그 에너지 생산이 해당과정에 의존적이게 되고, 또한 TCA 회로의 중간 산물들은 제대로 생성되어 세포들의 증식 과정에서 필요한 다양한 구성요소로의 전환이 가능함을 확인함.

- **미토콘드리아-리소좀 접촉 부위 형성 및 미토콘드리아로의 콜레스테롤 이동·수송을 위한 TM4SF5 기능을 억제하는 것은 간암 억제·치료 및 간암세포의 정상화 가능성 시사.**
  - 이러한 연구 성과는 암세포에서 흔히 보이는 와버그 효과(세포의 에너지 생성과정이 주로 해당과정에 의해 이루어지고 미토콘드리아의 전자전달계를 통한 산화적인산화에 의한 과정은 미약해짐)에 대한 분자적인 메커니즘을 밝힌 것이라 할 수 있음. 암세포에서 미토콘드리아에 의한 에너지 생산이 떨어지는 원인으로 콜레스테롤 축적에 따른 미토콘드리아 전자 전달계의 결함을 제시함.
  - 이러한 **TM4SF5에 의한 미토콘드리아-리소좀 접촉 부위 형성 및 미토콘드리아로의 콜레스테롤 이동·수송을 억제할 수 있는 약물 개발은 간암의 억제 및 치료 혹은 간암세포의 정상화 가능성을 시사함.**

## □ 연구결과

### **Glucose-mediated mitochondrial reprogramming by cholesterol export at TM4SF5-enriched mitochondria-lysosome contact sites**

Ji Eon Kim, So-Young Park, Chulhwan Kwak, Yoonji Lee, Dae-Geun Song, Jae Woo Jung, Haesong Lee, Eun-Ae Shin, Yangie Pinanga, Kyung-hee Pyo, Eun Hae Lee, Wonsik Kim, Soyeon Kim, Chang-Duck Jun, Jeanho Yun, Hyun-Woo Rhee, Kwang-Hyeon Liu, and Jung Weon Lee

세포 소기관은 각각 특이적인 기능을 가짐이 알려짐. 최근 많은 연구들에서 소기관들 사이의 상호 작용에 대한 연구가 많이 시작되어짐. 그러나 세포 내부에서 대사와 관련해 많은 기능을 한다고 알려진 미토콘드리아(에너지 생산 공간)와 리소좀(분해 공간)의 접촉에 대해서는 많이 알려진 바가 없음. 본 연구진은 여러 현미경을 이용하여 두 소기관 사이의 접촉 생성이 세포 대사 상태와 연결될 수 있음을 관찰함. 특히 미토콘드리아-리소좀 접촉을 매개하는 두 단백질로서 리소좀의 TM4SF5과 미토콘드리아 외막의 FKBP8이 서로 결함함을 밝힘. 또한 두 소기관 사이 접촉이 세포외부 포도당의 농도 수준에 따라 변화하는 것을 확인함. 미토콘드리아-리소좀 접촉을 통해 리소좀의 콜레스테롤이 미토콘드리아로 이동함을 in vitro 환경에서 확인하고, GC/MS 분석을 통해서도 확인함. 미토콘드리아의 콜레스테롤 축적은 미토콘드리아 세포 호흡 저하에 기여하고, 특히 미토콘드리아 전자전달계의 결함을 야기함. 기능이 저하된 미토콘드리아는 미토콘드리아 fission, mitophagy 등으로 이어짐을 관찰함. 암 세포는 정상 세포와 대사 과정이 다른 것을 흔히 볼 수 있는데, 특히 미토콘드리아의 세포 호흡이 떨어져 있음 (와버그 효과). 간암 세포에서 과발현되는 TM4SF5 단백질이 포도당 유입이 늘어난 상태에서 미토콘드리아-리소좀 접촉을 유발하고, 리소좀에서 미토콘드리아로 콜레스테롤 이동을 유도함.

이러한 분자적인 메커니즘을 통해 미토콘드리아 세포 호흡 저하가 일어나고 간암 세포에서의 대사 변화가 일어나고 간암세포의 생존/증식을 위한 기전을 제시함. 따라서 TM4SF5-특이적

억제제를 사용하여, 미토콘드리아-리소좀의 접촉 형성 혹은 그 접촉부위에서의 콜레스테롤 이동·수송을 억제할 수 있다면 간암세포의 증식/생존을 억제할 뿐만 아니라, 간암세포의 정상화의 가능성이 시사됨

본 연구결과는 2023년 12월 22일 암세포생물학 관련 권위지인 Cancer Communications (Impact factor, 16.2, 2022 JCR)에 온라인으로 게재되었으며, 과학기술정보통신부의 연구재단이 지원한 바이오·의료기술개발사업 (차세대바이오) 및 (유형2) 중견연구의 지원을 받아 수행된 것임.

## □ 용어설명

- 1. TM4SF5 (Transmembrane 4 L six family member 5):** 세포막을 네 번 통과하는 막단백질 그룹 중 하나. 정상적 간상피세포에서 다소 발현하지만, 과다 염증의 상황에서는 발현이 과하게 높아져 여러 지방간, 지방간염, 간섬유화 및 간암 등의 간질환이 유발될 수 있음이 확인되었음.
- 2. 리소좀 (Lysosome):** 세포 소기관 중 하나로 단백질 분해 효소가 들어 있음. 세포 내 소화 기관으로 작용할 뿐만 아니라 대사 조절 신호 전달도 매개함.
- 3. 미토콘드리아 (Mitochondria):** 산소 호흡이 일어나는 세포 소기관으로 이중막 구조로 구성됨. TCA(구연산) 회로, 전자전달계의 산화적인산화를 통해 세포 내부의 에너지를 ATP를 생성함.
- 4. 콜레스테롤 (Cholesterol):** 스테롤의 한 종류로 동물 세포의 세포막에서 발견되는 지질. 세포막에 많이 존재할 경우 막의 성질이 바뀔 수 있음. 세포막 합성 뿐만 아니라 호르몬 생산을 위해서도 필수적인 물질.
- 5. 전자 전달계 (Electron transport chain):** 미토콘드리아 내막에 존재하는 단백질 복합체로, 산화환원반응을 통해 전자가 운반되면서 수소 이온의 전기화학적 기울기를 생성함. 이는 에너지원이 되고, ATP의 형태로 저장되어서 생물 내부에서의 에너지로 쓰이게 됨.
- 6. TCA (tricarboxylic acid) 회로 (구연산회로 혹은 크렙스회로):** 산소 호흡을 하는 생물에서 탄수화물, 지방, 단백질, 같은 호흡 기질을 분해해서 얻은 아세틸-CoA를 CO<sub>2</sub>로 산화시키는 과정에서 방출되는 에너지를 ATP(또는 GTP)에 일부 저장하고, 나머지 에너지를 NADH<sup>+</sup> H<sup>+</sup>, FADH<sub>2</sub>에 저장하는 일련의 화학 반응
- 7. ATP (Adenosine triphosphate):** 살아있는 세포에서 다양한 생명 활동을 수행하기 위해 에너지를 공급하는 유기 화합물
- 8. TurboID (터보ID):** 세포 내부의 근접하게 서로 위치하여 단백질-단백질 결합의 가능성이 높은 단백질들을 표지화하여 동정하는 단백질 조합체
- 9. mito-stress test (미토콘드리아 스트레스 테스트):** 세포는 미토콘드리아의 정상적 기능을 통해 산소가 소모되어 (호흡이 일어나) 에너지를 생산함. 이때, 산소의 소모량을 측정함으로써, 세포의 미토콘드리아의 기능을 직접적으로 측정하는 방법
- 10. FKBP8 (FK506 binding protein 8; FKBP prolyl isomerase 8):** 미토콘드리아 외막 단백질로 mitophagy를 조절함.
- 11. NPC1 (Niemann-Pick disease, type C1):** 동물세포에서 세포 내부 콜레스테롤의 이동을

담당하는 막단백질. 리소좀 막에도 존재.

12. **STARD3 (StAR Related Lipid Transfer Domain Containing 3):** 세포 내부의 콜레스테롤 수송에 관여하는 스테롤-결합 단백질
13. **GC/MS (기체크로마토그래피 질량분석법):** 복잡한 성분들이 섞인 세포 혹은 소기관 추출물 샘플로부터 지방산 혹은 호르몬과 같은 작은 유기물을 분리할 때 사용하는 기술
14. **미토콘드리아 fission:** 미토콘드리아가 세포의 대사 및 에너지 상태에 따라 조각나거나 쪼개지는 현상
15. **Mitophagy:** 세포가 대사 상태가 불리할 경우 오토파지의 과정을 통해 불필요하거나 손상된 세포의 부분을 분해하여 에너지 상태를 호전시키는 데, 특히 손상되거나 스트레스 상황의 미토콘드리아를 분해하는 과정임.