

Application of omics technologies in preeclampsia

아주대학교 의과대학 산부인과학교실

양 정 인

인간 유전체 사업의 결과로 인간의 유전 정보가 모두 밝혀짐에 따라 인류 공동 자산인 유전체 지도를 공유하게 되고 인류를 괴롭히는 질환들의 정복이 가능하리라 여겨졌지만 실제 유전자의 개수는 예상보다 훨씬 적은 30000여개에 불과했고 2004년에는 약 20000에서 25000여개 정도로 발표되었다. 더욱이 하나의 유전자가 한 개의 단백질을 생성하고 이것이 하나의 질병과 연결될 것이라는 전제가 무너지고 한 개의 유전자가 posttranslational modification (PTM) 등의 과정을 거쳐 많게는 수백 가지의 단백질을 만들 수 있다는 사실을 확인하였다. 따라서 보다 중요한 것은 유전자 자체가 아니라 각각의 유전자가 복잡한 상호작용을 거쳐 만들어내는 단백질 조합이므로 궁극적으로 질병의 치료를 위해서는 단백질 연구가 필수일 뿐 아니라 더 나아가 대사물의 연구도 불가피해졌다.

Proteomics (단백체학)

단백체학 (proteomics)은 생명체내에 존재하는 모든 단백질을 연구하는 분야를 말하며 특정 조건 하에서 유전체 (genome)에 의하여 발현되는 단백질들을 단백질체 (proteome)라 한다. 어원은 “the set of PROTEins coded by a GenOME”에서 비롯되었다. 최근, Proteomics가 대두된 이유는 앞서 언급한 것처럼 첫째, mRNA의 발현으로 단백질의 발현을 예측할 수 없으며, 둘째, 단백질이 methylation, phosphorylation, glycosylation 등과 같은 과정을 거쳐 변화된 것을 gene sequence에서는 알 수 없으므로 단백체를 연구하게 된 것이다. 특히 단백질 분석은 특별한 정제 과정없이 조직, 개체 등 시료에 존재하는 모든 단백질을 펼쳐 분석할 수 있으며 유전자의 발현 정도를 한 눈에 알 수 있을 뿐만 아니라 유전자에 의한 현상과 유전자 외적요인에 의한 현상도 쉽게 추적이 가능하고 정상조직과 질병조직간 단백질 발현 차이를 한눈에 알아볼 수 있다. 단백질체학은 크게 expression 단백질체학과 cell-map 단백질체학으로 나눌 수 있다. Expression은 여러 다른 환경, 조건하에서 세포, 조직, 개체내 단백질 발현 정도를 분석 대상으로 하며 이러한 발현 차이에 따라 정상군과 특정 질환군 사이의 단백질 발현 변화를 나타내는 생물학적 표지물자를 찾아내 특정 질환의 발병 기전, 또는 조기 진단 및 치료 효과의 판정 등에 사용할 수 있으며 또 다른 영역으로는 후보 약물의 작용이 전체 단백질 발현 및 발병 억제 등에 미치는 영향을 확인함으로써 가장 좋은 조건의 약물을 선정하는데 이용된다. Cell-map은 세포 각 소기관 등에 위치하는 단백질의 종류와 기능을 밝히는데 있으며 각 소기관들이 각기 다른 환경에서 단백질 발현이 어떻게 변화하는지를 밝힐 수 있다. 단백질체의 전반적인 연구기법의 흐름은 세단계로 나눌 수 있다. 일 단계는 시료에서 단백질 얻기, 2차원 전기영동, 염색, 이미지 획득, 이미지 분석, 단백질 절단 과정이 포함된 단백질 분리이다. 2차원 전기영동은 단백질의 고유 특성인 분자량과 전하량의 차이에 따라 이차원으로 분리된다는 개념으로 이렇게 얻어진 단백질 spots을 식별하기위해 염색과정을 거쳐 각 젤들의 이미지를 분석한 후, 동정할 spots을 결정한다. 다음 2단계인 단백질

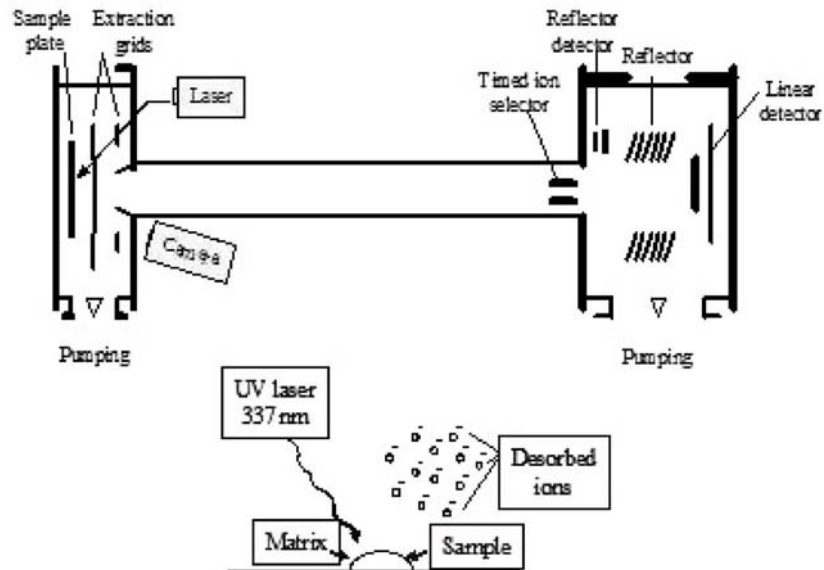


Fig. 1. MALDI-TOF (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization-Time Of Flight).

동정은 얻어진 단백질 spot을 작은 펩타이드로 분해한 다음 펩타이드 질량을 질량 분석기로 측정한다. 많이 쓰이고 있는 MALDI-TOF (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization-Time Of Flight)는 matrix와 혼합된 샘플이 레이저로부터 얻어진 에너지를 이용하여 고체 matrix에서 desorption되면서 이온화 과정을 거쳐 질량이 측정되는데 이때 측정된 질량은 아미노산 배열을 모르는 미지의 단백질이라 하더라도 각 아미노산은 정해져 있고 아미노산의 합인 펩타이드의 분자량 또한 정해져 있으므로 쉽게 단백질을 확인할 수 있다. 그 외 tandem mass spectrometer (MS/MS), LC/MS/MS 방법을 이용할 수 있다. 마지막 3단계는 얻어진 단백질을 bioinformatics를 이용하여 조회하는 과정으로 Swiss-Prot, ExPaSy, NCBI 등의 웹사이트를 이용할 수 있다.

Metabolomics (대사체학)

대사체학 (Metabolomics)은 세포, 조직, 기관 등 생체내의 유전인자 발현의 최종산물이라 할 수 있는 모든 대사물질 (metabolite)을 정량적으로 연구하는 분야로 대사물질 프로파일은 세포내에서 일어나는 모든 생리적 변화에 대한 정보를 매순간마다 알 수 있게 해준다. 대사물을 분석하는 방법은 일단 chromatography를 이용하여 분석대상을 분리한 후 mass spectrometry (MS)로 대사물의 동정 및 양을 측정한다. 흔히 사용되는 대사물은 지질대사, 당대사물, 독성물질들이다.

자간전증에서의 임상적 응용자간전증은 임신시 고혈압, 단백뇨 및 부종이 임상 양상으로 나타나는 질환으로 주산기 이환 및 사망의 주요 원인중 하나이다. 태반형성과정에서 cytotrophoblast의 부적절한 invasion을 포함한 어떤 원인에 의해서든지 발생한 태반 허혈로 인해 생성된 태반 인자들이 모성 순환계로 들어가 내피세포 이상기능을 초래하여 앞서 말한 특징적인 임상 양상을 일으키는 질환이다. 이러한 미상의 인자들을 발견하기 위해 Maynard 등 (2003)은 정상 임신군과 자간전증군의 태반 조직에서 마이크로어레이 기법을 이용하여 양군에서 다르게 발현된 유전인자들을 탐색하였다. 실제 VEGF, PlGF의 antagonist인 sFlt1이 자간전증 태반에서 upregulation됨을 발견하였고 궁극적으로 임신주에 투여하였을 때 고혈압, 단백뇨, 사구체의 endotheliosis가 발생함을 증명하였다. 그 외 생물학적 마커를 찾기 위한

노력의 일환으로 Watanabe 등 (2004)은 2DE와 MALDI-TOF를 이용하여 자간전증 환자의 sera에서 과다발현된 clusterin 을 보고하고 실제 혈중 농도가 증가함을 증명하였다. 그 외 임신 제 일삼분기 cytotrophoblast 배양 실험에서 저산소증에 의해 발현되는 단백질 중 glycolysis와 oxidative stress에 관여하는 단백질들을 보고하여 태반 저산소증과 관련한 병적 임신의 원인 규명 가능성을 제시하였다. 그러나 실제 자간전증에서의 단백체학의 적용은 아직 시작단계이다. 따라서 이제 막 탄생한 단백체학의 사춘기인 대사체학의 응용은 자간전증에서는 보고된바가 없지만 자간전증의 병태생리증증가된 lipid profile 등의 연구를 통해 보다 많은 정보를 제공하리라 여겨진다.

맺음말

인간 유전체 연구가 난치성 질환 원인 규명의 첫 번째 가능성을 제공하였다면 단백체학, 대사체학을 이용한 연구는 질환의 원인, 더 나아가 진단 및 치료, 예방까지도 가능하게 만들고 있다. 그러나 이러한 연구기법은 재현성이 어렵고 각각의 실험에서 오차 범위가 넓다는 커다란 단점이 있다. 그럼에도 불구하고 각 질환별 조기 진단을 위한 마커를 찾기 위한 노력은 이러한 대단위 연구기법을 통해서만이 가능케 되므로 앞으로 중요한 역할을 담당하리라 여겨진다.

참고문헌

1. Dietl J: The pathogenesis of pre-eclampsia: new aspects. J Perinat Med 2000; 28: 464.
2. Hoang VM, Foulk R, Clauser K, Burlingame A, Gibson BW, Fisher SJ. Functional genomics: examining the effects of hypoxia on the cytotrophoblast protein repertoire. Biochemistry 2001; 40: 4077.
3. Maynard SE, Min JY, Merchan J, Lim KH, Li JY, Mondal S, et al. Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. J Clin Invest 2003; 111: 649.
4. Reif DM, White BC, Moore JH. Integrated analysis of genetic, genomic, and proteomic data. Expert Rev Proteomics 2004; 1: 67.
5. Watanabe H, Hamad H, Yamada N, Sohda S, Yamakawa-Kobayashi K, Yoshikawa H, et al. Proteomic analysis reveals elevated serum levels of clusterin in patients with preeclampsia. Proteomics 2004; 4: 537.