

패혈증 원인물질인 박테리아 내독소가 생체 내에서 인식되고 면역활성화를 유도하는 메커니즘 규명

의과학대학원 김 호 민

박테리아감염에 의한 혈액 내 내독소 다량 유입은 고열, 혈압저하, 장기손상 등 과도한 전신염증반응의 결과인 패혈증으로 이어질 수 있지만 내독소 인식 및 전달관련 구체적인 분자기전이 밝혀져 있지 않아 패혈증 치료제 개발에 한계가 있었다. 특히 패혈증은 에이즈, 뇌졸중, 심근경색보다 더 높은 발병율을 나타내며, 매년 전세계 1,800만명 이상이 패혈증을 진단받고, 패혈증 쇼크 환자의 치사율 또한 30~70%로 매우 높은 질병이다.

의과학대학원 김호민교수는 기존의 실험방법으로 접근이 어려웠던 내독소 및 LBP, CD14, TLR4/MD2 단백질들 간의 동적인 상호작용을 첨단 실험기법을 활용하여 분자수준에서 관찰함으로써, 패혈증의 주된 원인물질인 박테리아 내독소를 우리 몸이 인식하고 전달하는 메커니즘을 분자수준에서 규명하였다. 이 연구는 박테리아 감염에 의한 선천성 면역 활성화 연구에 새로운 방향을 제시하였으며, 패혈증 예방 및 치료제 개발에 크게 기여할 것으로 기대된다.



1. 연구배경

우리 몸의 면역체계는 크게 선천성 면역과 적응성 면역으로 분류된다. 이 중 선천성 면역은 박테리아나 바이러스에 감염되었을 때 초기에 빠르고 효과적으로 우리 몸이 대응하기 위해 활성화되는 면역 반응이다. 내독소 (endotoxin) 라고도 불리는 그람음성균의 외막성분인 지질 다당류 (Lipopolysaccharide, LPS)은 선천성 면역 반응을 활성화시키는 주요 원인물질이다. 하지만 박테리아 감염 및 급격한 증식에 따라 내독소가 혈액 내 다량 존재하게 될 경우 오히려 과도한 면역반응을 일으켜 발병율과 치사율이 매우 높은 패혈증으로 발전될 수도 있다. 내독소가 혈액 내 유입되면 생체 내 두 단백질 (LBP와 CD14)이 소량의 내독소를 신속히 인지하고, 효과적으로 내독소를 면역세포 표면의 TLR4-MD2 수용체로 전달하여 선천성 면역반응을 활성화시키게 된다. 그러므로 내독소 인식과 전달과정의 이해는 내독소에 의한 면역반응 유발 메커니즘뿐만 아니라 패혈증의 치료전략 수립을 위해서 매우 중요하다.

2. 연구내용

지난 20년간 단백질결정학 방법을 통한 LBP, CD14, TLR4-MD2 단백질들의 3차 분자구조 규명 및 다양한 생화학적 연구방법들을 이용하여 내독소 인식 및 전달 관련 많은 연구가 이루어져 왔다. 하지만 내독소 인식 및 전달은 매우 빠르고 동적인 단백질 상호작용에 의해 일어나기에 연구에 많은 어려움을 겪어 왔다.

본 연구에서는 최신 바이오투과전자현미경 기법과 단분자 형광기법을 이용하여 이러한 기술적 한계를 극복함으로써 LBP, CD14, TLR4-MD2 단백질들의 상호작용에 의한 박테리아 내독소 인식 및 전달과정의 핵심 분자메커니즘을 규명 하였다. 특히, 단백질 분자들의 투과전자현미경

영상을 찍은 후, 컴퓨터를 활용한 이미징 프로세싱을 통해 단백질 각각의 형태 및 동적 구조를 분석하는 첨단 바이오 투과전자현미경 기법을 본 연구에 활용하였다. 이를 통해, 박테리아 내독소와 결합한 LBP 단백질 구조, 내독소를 전달하기 위해 LBP와 결합한 CD14 단백질 구조 등을 세계 최초로 규명하였고 막대모양의 LBP 단백질이 그들의 N-도메인 끝을 통해 내독소 마이셀 표면에 결합함으로써 박테리아 내독소만을 특이적으로 인식하는 것을 발견할 수 있었다. 또한, 동적인 단백질 상호작용을 실시간으로 모니터링하고 정량화할 수 있는 단분자 형광 시스템을 새롭게 구축하여 활용함으로써 마이셀 형태로 존재하는 박테리아 내독소의 표면에 결합한 LBP 단백질의 C-도메인과 땅콩모양의 CD14 단백질이 정전기적 결합을 통해 빠르게 박테리아 내독소 한 분자만을 가져가는 동적인 상호작용을 규명하였다. 또한 하나의 LBP 단백질에 여러 CD14 분자가 붙었다 떨어졌다를 반복하면서 박테리아 내독소를 계속하여 하나씩 가져가는 분자메커니즘도 규명하였다. 마지막으로 마우스 면역세포인 수지상세포에 내독소 전달 길목을 차단하는 LBP 돌연변이를 처리하였을 때 박테리아 내독소에 의해 유도되는 선천성면역 활성이 현저히 억제됨을 확인함으로써 패혈증 치료제 개발을 위한 신규 전략을 선도적으로 제시하였다.

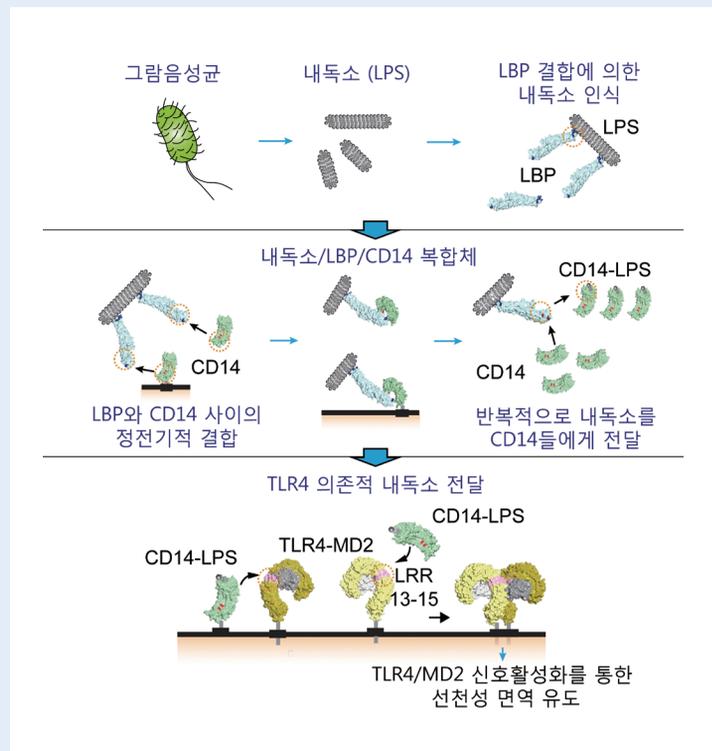


그림 1. 생체 내 박테리아 내독소 인식 및 전달 메커니즘 규명(Immunity, 2017)

3. 기대효과

그람음성균의 내독소가 LBP와 CD14를 거쳐 TLR4-MD2로 전달되는 핵심 분자메커니즘을 규명함으로써 박테리아 감염에 따른 선천성면역 관련 연구를 선도할 것으로 기대 된다. 또한 박테리아 감염에 따른 패혈증 발병기전 연구와 치료제 개발에 활용 될 수 있는 분자적, 구조적 기초지식을 제공하였다. 단백질의약품 제약 산업계의 중요 이슈인 내독소의 효과적인 제거를 위해서도 이 연구의 내독소 인식 메커니즘이 활용될 수 있을 것이다. 마지막으로 이 연구의 첨단 연구 기법들은 향후 선천성 면역 관련 다양한 동적인 단백질 상호작용을 이해하는데도 활용될 수 있을 것이다.

| 연구성과 |

[논문 1] Reconstruction of LPS transfer cascade reveals structural determinants within LBP, CD14 and TLR4-MD2 for efficient LPS recognition and transfer. *Immunity*. 2017 Jan 17;46(1):38-50

[논문 2] Dynamic lipopolysaccharide transfer cascade to TLR4/MD2 complex via LBP and CD14. *BMB Rep.* 2017 Feb;50(2):55-57

[수상] 한국구조생물학회 학술상 (2017)

[홍보] [논문 1]에 대하여 연합뉴스, YTN, 동아일보 등 20회 언론 보도