

Physiological Function of the Syntrophins, Members of the Dystrophin-associated Proteins

Hye Sun Kim,¹ Marvin E. Adams,² and Stanley C. Froehner²

¹*Department of Biological Science, Ajou University, Suwon 442-749, Korea and*

²*Department of Physiology and Biophysics, University of Washington, Seattle, WA 98195, USA*

디스트로핀 (dystrophin)은 X 염색체에 존재하는 유전자의 단백질 산물로서 근육에서 발생하는 대표적인 유전 질병인 근위축증 (muscular dystrophy)의 원인 단백질로 알려져 있다 [1]. 이 유전자가 소실되어 근육에서 단백질 산물이 생성되지 못하는 경우를 Duchenne muscular dystrophy (DMD)라 하고 (Fig. 1), 유전자는 존재하나 돌연변이로 인해 정상적인 단백질 산물이 만들어지지 못한 경우를 Becker muscular dystrophy (BMD)라 이른다. DMD 환자는 근육이 점차 소실되고 (necrosis) 심장이나 호흡계 이상으로 인해 결국 10대 후반이나 20대 초반에 치명적인 결과에 이르게 된다. BMD는 DMD보다 발생 빈도가 낮고, 증상도 덜 심각하고 늦게 발병하며 생존 기간도 좀 더 길다. 1987년 디스트로핀 유전자가 밝혀진 이후로 이 단백질의 구조와 생리적 기능에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있지만, 아직도 발병과 진행 기작에 대해서는 충분히 알려져 있지 않다 [2].

Duchenne Muscular Dystrophy

- ✦ **Characterized by progressive muscle weakness and pseudohypertrophy**
- ✦ **X-linked disease, occurs in 1/3500 male births**
- ✦ **Mainly affects skeletal muscle, but some cardiac involvement**
- ✦ **Caused by a defect in the gene encoding dystrophin**
- ✦ **1/3 of new cases occur due to new mutation**

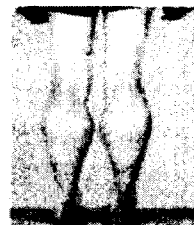


Fig 1. Duchenne muscular dystrophy

디스트로핀은 분자량 427-kDa의 세포골격 단백질이다. 유전자의 크기는 2.5-mb 이상이며, 79개의 exons을 가지고 있다. mRNA는 14-kb 크기인데, 주로 골격근과 심장근, 그리고 내장근에서 발현되고, 뇌에서는 일부 신경세포에서 발현되는 것으로 보고되어 있다. 디스트로핀의 아미노 말단은 actin과 결합하고 있다. Cysteine이 풍부한 카르복실 말단은 여러 종류의 막 관통 단백질들과 결합하고 있으며 이 부위가 근위축증과 직접 관련이 있는 것으로 생각하고 있다 [3]. 최근에는 디스트로핀과 유사한 단백질 구조를 가지고 있는 단백질들이 알려지고 있는데 대표적인 것이 유티로핀 (utrophin), 디스트로브레빈 (α -, β -dystrobrevins)이다 (Fig. 2). 현재 이들을 디스트로핀이 결합된 자리에 과발현시킴으로써 근위축증을 완화 또는 치료하고자 하는 연구가 진행 중이다.

The Dystrophin Family

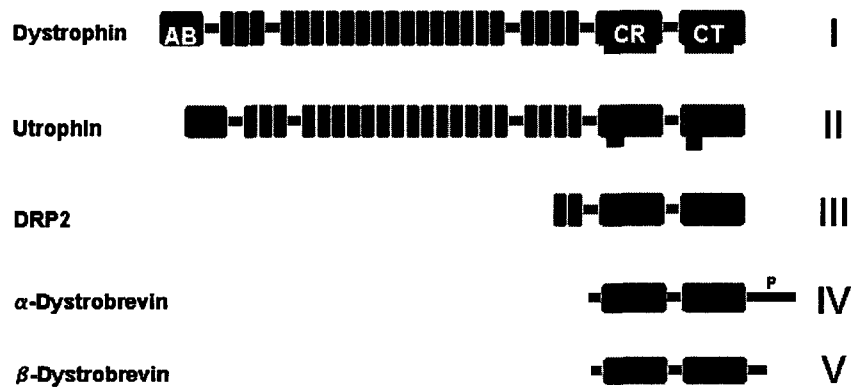


Fig 2. Dystrophin family proteins

디스트로핀은 분자량이 크며 가늘고 긴 형태로 세포막과 결합하고 있기 때문에 순수 분리하기가 어려운 단백질이지만 detergent를 이용하여 근육 조직에서 분리하면 다른 여러 단백질들과 같이 분리된다 (Fig 3). 이들은 디스트로핀과 특이적 결합을 하는 단백질 집단인 것으로 밝혀졌고, 디스트로핀 결합 단백질 (dystrophin-associated proteins)이라 부른다 [4,5]. 신티로핀 (syntrophin)은 디스트로핀 결합 단백질의 한 종류로서 디스트로핀이 근소포체의 막에 존재하지 않을 경우 신티로핀도 막에서 사라지는 것으로 보아 디스트로핀의 기능과 밀접한 관련이 있을 것으로 생각되고 있다 [6]. 초기에 신티로핀은 *Torpedo*의 electrocytes에서 아세틸콜린 수용체 (nicotinic acetylcholine receptor)가 집중된 시냅스 후 세포막으로부터 분리되었다. 그 후 단일클론 항체 (mAb 1351)를 이용한 실험에서 이 단백질이 골격근이나 심장근의 근소포체에도 다량 분포한다는 것이 알려졌다 [7]. 현재까지 포유동물에서 신티로핀의 유전자는 5 종류가 밝혀져 있으며 그 단백질을 각각 α -, β 1-, β 2-, ν 1-, ν 2-신티로핀이라 부른다. 이 단백질들은 단백질 구조, 생화학적 특성, 조직 분포 등에서 다소 차이를 보이고 있으며, 이에 따라 크게 α -, β 1-, β 2-신티로핀을 포함하는 그룹과, ν 1-, ν 2-신티로핀을 포함하는 그룹으로 나눈다.

The Dystrophin Complex

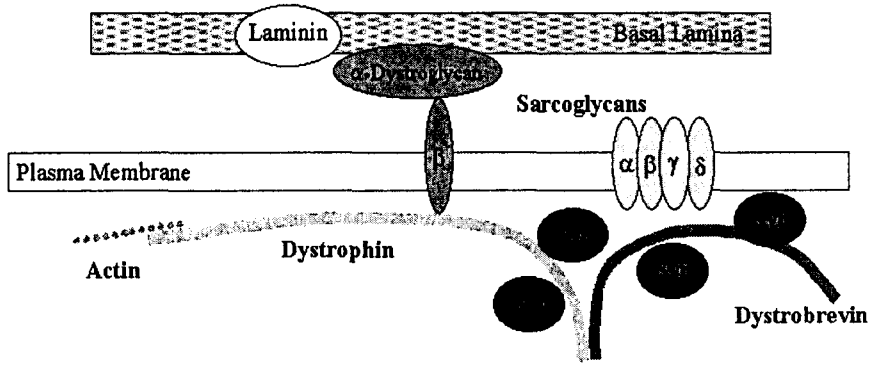


Fig 3. Dystrophin-associated proteins

신트로핀 단백질의 구조를 살펴보면 (Fig. 4), 2개의 pleckstrin homology (PH) 도메인과 PDZ 도메인 그리고 신트로핀에 특이적이며 고도로 보존된 부위 (syntrophin-unique, SU)가 있다 [8,9]. 이 도메인들은 세포 골격 단백질이나 신호전달 물질에서 자주 나타나는 것들이다. 이 사실은 신트로핀이 신호전달 단백질들을 디스트로핀 구조물에 결합시키는 연결 단백질로서 작용할 수 있음을 시사한다. 신트로핀은 PH2 도메인과 SU 도메인을 통해 디스트로핀의 카르복실 말단 부위에 있는 exon 74에 의해 인코딩되는 부분에 직접 결합하고 있다. 이 결합에는 Ca^{2+} 이 필요한 것으로 제안된 바 있으나 아직 그 작용은 불확실하다 [10]. PDZ 도메인은 처음에 구조적으로 유사성이 있는 단백질인 PSD-95/SAP90, DLG, ZO1 등에 공통적으로 존재하는 것으로 알려졌으며, 90 여 개의 아미노산으로 구성되어 있다. PDZ 도메인은 카르복실 말단에 "S/T-X-V", 혹은 내부에 "S-X-V" 배열을 가진 단백질과 결합하거나 PDZ 도메인을 가진 다른 단백질과 PDZ-PDZ 결합을 할 수 있다. 현재까지 신트로핀의 PDZ 도메인에 결합하는 단백질로는 voltage-activated sodium channels, neuronal nitric oxide synthase (nNOS), stress-activated protein kinase-3 (SAPK-3), 그리고 microtubule-associated protein kinase 등이 보고되어 있다 [11].

최근에 Dr. Froehner의 연구실에서는 α -신트로핀이 근육에서 발현되지 않는 형질 전환 쥐를 제작하는데 성공하였다. 그러나 기대와는 달리 α -신트로핀 결핍 쥐는 근위축증을 나타내지 않았고, 운동성에서도 정상 쥐와 비교하여 큰 차이가 없었다. 그러나 신경-근육 접합부의 구조가 비정상적으로 발생하였으며, 그 곳에 존재하는 아세틸콜린 수용체와 아세틸콜린 가수분해효소 (acetylcholine esterase)의 수가 정상 수준에 비해 감소되어 나타났다. 또한 근소포체에는 nNOS와 물 운반단백질인 aquaporin-4가 존재하지 않았다 (Fig 5). 이 결과는 신트로핀의 PDZ 도메인에 결합하는 이 단백질들이 α -신트로핀의 PDZ 도메인을 통해 근소포체에 위치한다는 것을 보여주는 것이다 [11,12].

Syntrophin-associated Signaling Proteins

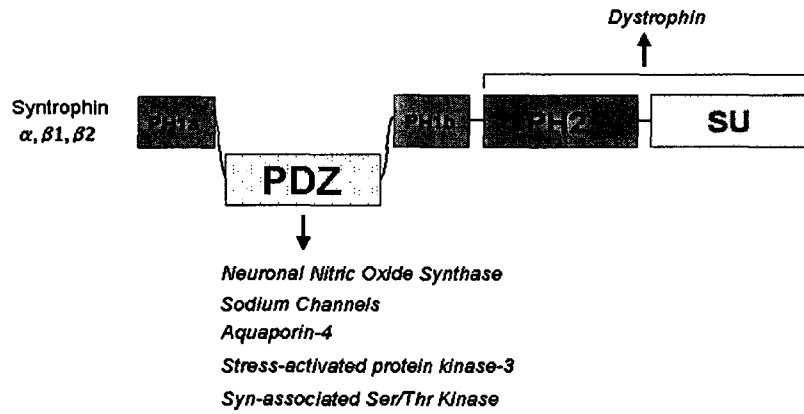


Fig 4. Syntrophin-associated signaling proteins

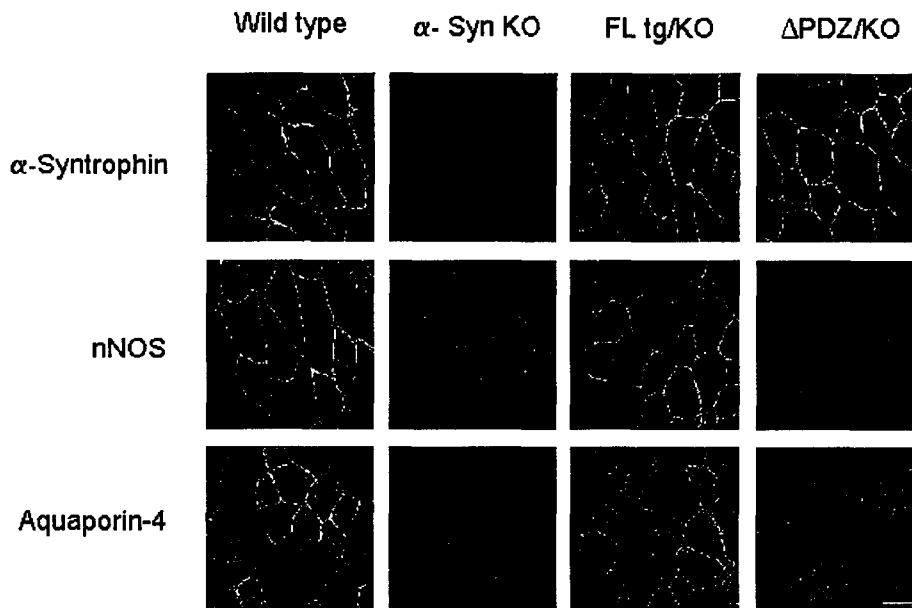


Fig 5. Sarcolemmal expression of nNOS and aquaporin-4 in α -syntrophin-null mice (Adams et al., 2001, J Cell Biol.)

디스트로핀과 그에 결합하는 단백질들로 이루어진 구조물은 근육 조직의 막을 안정화시키는 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 그러나 신트로핀이 nNOS, SAPK3 등 신호전달 단백질들과 결합할 수 있다는 보고는 이 구조물이 구조적 기능 외에 신호전달자로서의 역할도 할 것이라는 것을 시사하는 것이다. 이에 따라 신트로핀에 결합하는 단백질을 통한 신호전달 과정을 밝히고, 신트로핀에 결합하는 단백질들을 새로이 찾는 연구가 진행 중이다. 디스트로핀 단백질의 결핍에 의한 근위축증의 진행 과정이 충분히 밝혀지지 않은 현실에서 신트로핀을 통한 신호전달 과정을 연구하는 것은 근육 조

직의 성장과 발생, 퇴화 과정을 이해하는데 도움이 될 것으로 보인다.

참 고 문 헌

- [1] Blake, D. J., Tinsley, J. M. and Davies, K. E. (1994) *Trends Cell Biol.* 4, 19-23.
- [2] Hoffman, E. P., Brown, R. H., and Kunkel, L. M. (1987) *Cell* 51, 919-928.
- [3] Tinsley, J. M. Blake, D. J., Zuellig, R. A., and Davies, K. E. (1994) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91, 8307-8313.
- [4] Campbell, K. P., and Kahl, S. D. (1989) *Nature* 338, 259-262.
- [5] Yoshida, M., Ozawa, E. (1990) *J. Biochem (Tokyo)* 108, 748-752.
- [6] Froehner, S. C., Adams, M. E., Peters, M. F., and Gee, S. H. (1997) *Cytoskeletal regulation of membrane function.* (Froehner, S. C., and Bennett,, V. ed) The Rockefeller University Press, New York. pp 197-207.
- [7] Froehner, S. C. Murnane, A. A., Tobler, M. Peng, H. B., and Sealock, R. (1987) *J. Cell Biol.* 104, 1633-1646.
- [8] Adams, M. E., Butler, M. H., Dwyer, T. M., Peters, M. F., Murnane, A. A., and Froehner, S. C. (1993) *Neuron* 11, 531-540.
- [9] Kachinsky, A. M., Froehner, S. C. and Milgram, S. L. (1999) *J. Cell Biol.* 145, 391-402.
- [10] Madhavan, R., and Jarrett, H. W. (1999) *Biochem. Biophys. Acta.* 1434, 260-274.
- [11] Adams, M. E., Kramarcy, N., Krall, S. P., Krall, S. G., Rotundo, R. L., Sealock, R. and Froehner, S. C. (2000) *J. Cell Biol.* 1385-1397.
- [12] Adams, M. E., Mueller, H. A., and Froehner, S. C. (2001) *J. Cell Biol.* 155, 113-122.