

척수 운동신경원의 기능과 관련된 생존운동신경원 단백질의 역할

대구대학교 대학원 재활과학과 물리치료전공
송주영 · 권영실 · 남기원 · 송주민 · 김동현 · 김석범 · 문동철

영동전문대학 물리치료과

최진호

대구대학교 재활과학대학 물리치료학과

김진상

The Role of Survival Motor Neuron Protein associated with Function of Spinal Motor Neuron

Song, Ju-Young, P.T., M.S., Kwon, Young-Shil, P.T., Ph.D, Nam, Ki-Won, P.T., M.S.,
Song, Ju-Min, P.T., M.S., Kim, Dong-Hyun, P.T., Kim, Suk-Bum, P.T.,
Moon, Dong-Chul, P.T., M.S.

Major in Physical Therapy, Department of Rehabilitation Science, Graduate School, Taegu University

Choi, Ji-Ho, P.T., Ph.D.

Department of Physical Therapy, Yeongdong Junior College

Kim, Jin-Sang, D.V.M., Ph.D.

Department of Physical Therapy, College of Rehabilitation Science, Taegu University

< Abstract >

This review highlights the ontogenesis and the differentiation of motor neuron in spinal cord, and introduce the survival motor neuron(SMN) which is associated with growth and survival of motor neurons. The differentiation of floor plate cells and motor neurons in the vertebrate neural tube appears to be induced by signals from the notochord. This signal is Sonic hedgehog(Shh). The early development of motor neurons involves the inductive action of Shh. The SMN gene is essential for embryonic viability. SMN mRNA is also expressed in virtually all cell types in spinal cord, including large motor neurons. The SMN protein is involved in RNA processing and during early embryonic development is necessary for cell survival. Two SMN genes are present in 5q13 in humans: the telomeric gene(SMNt), which is the SMA-determining gene, and the centromeric analog gene(SMNC). The majority of transcripts from the SMNt gene are full length but, major transcripts of the SMNC gene have a high degrees of alternative splicing and tend to have little or no exon 7. The SMN is involved in the RNA processing(the biogenesis of snRNPs and pre-mRNA splicing), the anti-apoptotic effects, and regulating gene expression.

I. 서론

중추신경계는 다른 많은 생리학적 시스템들과 마찬가지로 항상성을 유지하는 수많은 신호전달 과정에 의존한

다. 발달과정에서의 신호, 급성 혹은 만성적 상해, 혹은 기억이나 인지를 형성하는 보다 미묘한 가소성 요인들에 대한 반응으로 변화할 수 있다.

먹고 걷기와 같은 일상에서의 기본적인 운동패턴이나

놀이 및 스포츠활동과 같은 보다 복잡한 운동 기술은 전신을 교차하는 근육들의 협응적 활성화를 최상으로 수반하기 위해서 광대한 변수들의 조절을 필요로 한다(Bizzi 등, 2000). 이러한 변수들은 표면적으로 중추성 요인들과 말초성 요인들로 분류될 수 있으며, 운동성 요인과 감각성 요인으로도 분류될 수 있을 것이다.

척수 운동시스템은 움직임을 생산하는데 있어 기본적인 구성요소이며 몇몇 측면에서 능동적인 참여를 하는 것으로 알려져 있다. 척수내 신경원은 상부척수 부위의 신경회로와 유사한 방법으로 움직임이 계획(planning)되는 동안 활성화되며, 척수 운동시스템은 운동 적응(adaptation)에 관여하고, 척수의 사이신경원 시스템에 의해 움직임의 조직화(organization)가 이루어진다는 것이다(Bizzi 등, 2000). 다시 말해서 척수 운동시스템은 우리의 움직임과 관련하여 움직임을 계획하고 움직임에 적응하며 조화로운 움직임을 하도록 능동적으로 작용한다.

이러한 능동적인 작용이 순행하기 위해서는 뇌 및 뇌간과 같은 상위 중추와 근육과 같은 하부시스템들뿐만 아니라, 척수 운동시스템을 구성하는 요인들의 원활한 상호 교통과 협응이 이루어져야 한다. 척수내 운동신경원은 움직임의 출력이 있어 기본적인 요소가 된다.

인간을 포함한 척추동물의 경우 중추신경계에서 신경회로의 집합은 특정 위치에 독특한 신경원 부류가 발생함으로써 시작되는데(Tanabe 등, 1998) 여기에 hedgehog 신호가 관여한다. Hedgehog(Hh)은 분비성 신호 단백질로 인체를 구성하는 많은 기관계의 발달을 조정하는 역할을 한다. 운동신경원을 비롯한 척수내 신경원의 발생과 관련하여 hedgehog 신호 중 Sonic hedgehog(Shh) 신호 단백질이 작용하며, 이것은 척수내 각각의 신경원들이 분화되고 제 위치를 잡는데 관여한다.

외부로부터의 감각과 중추로부터의 정보를 동작으로 출력하는 운동신경원의 기능과 관련하여, 생존운동신경원(survival motor neuron: SMN) 유전자 및 단백질은 주로 척수근위축증과 연관되어 연구되어져 왔으며, 하위 단위 유전자인 종말전 SMN(telomeric SMN: SMNt)과 중심질 SMN(centromeric SMN: SMNc)에 관한 정보 및 관련 질환의 회복에 관한 측면에서 연구되고 있다.

본 논문은 척수내 운동신경원의 발생 및 분화와 관련하여 Sonic hedgehog 신호에 대해 살펴보고, 운동신경원의 생과사, 그리고 성장과 기능적 측면에서 중요한 역

할을 담당하는 생존운동신경원 유전자의 발현과 생존운동신경원 단백질의 기능에 대해서 문헌고찰을 통하여 살펴보고자 한다.

Ⅱ. 운동신경원의 발생과 분화

성숙한 척수는 매우 분명한 상호결합에 의해 세포들과 신경섬유들이 특정한 위치 내에 배열된 복잡하게 구성된 집합체이다. 척수내 신경세포들은 운동신경원(motor neuron), 감각신경원(sensory neuron), 사이신경원(interneuron)의 몇가지 유형으로 나누어지며, 각각의 모양, 전기적 활동, 신경전달물질 유리, 그리고 그외 많은 측면들에서 다른 특성을 보인다. 척수에서 각기 다른 세포유형들이 다른 독특한 성질을 가지게되는 요인으로서는 세포계(cell lineage)와 발달하고 있는 태아 내로 부터의 신호를 들 수 있다(Litingtung과 Chiang, 2000b).

이 신호에는 두가지 주된 신호 시스템이 존재하는데 이것은 태아의 뇌와 척수세포들의 운명을 조절하는 중요한 역할을 한다. 여기서 축상 중배엽과 발달하고 있는 중추신경계의 복측 중심선 근처에서 분비되는 단백질인 Sonic hedgehog는 세포의 성장 패턴과 분화패턴의 중요한 조정자이다(Ericson 등, 1997). 첫번째 시스템은 척수의 횡단면을 따라 신경계의 특수화를 조절하는 것으로 배측-복측 축(dorsal-ventral axis)을 따르며 Sonic hedgehog 작용의 정도 차이에 의해 다양한 세포의 운명이 결정된다. 두번째 시스템은 뇌에서부터 척수를 통해 내려가는 장축 방향으로 신경계의 특수화를 조절하는 것으로 Sonic hedgehog의 역할은 전방-후방 축(anterior-posterior axis)을 따라 진행하는데 Sonic hedgehog 신호와 다른 신호경로 사이의 상호작용에 의해 보다 복잡하게 수행되는 것으로 생각된다(Collins, 2000).

척수내 세가지 세포 유형은 핵심 신호인 Sonic hedgehog 단백질에 의해 초기 태생기 척수의 복측에서 형성된다. 교세포(glial cells)는 대부분 바닥판(floor plate)이라 불리는 복측에서 형성되며, 운동신경원과 사이신경원은 보다 배측에서 형성된다. Sonic hedgehog 신호의 전도 경로 활성화는 발달하고 있는 중추신경계에서 정상적인 패턴을 형성하고 세포의 분화를 위해 필수적인 것이다(Rowitch 등, 1999). 발달하고 있는 태아에서의 상황을 가상하기 위해, 과학자들은 세포배양(cell culture)에 복측 척수 조각을 두었고 그것들을 다른 농

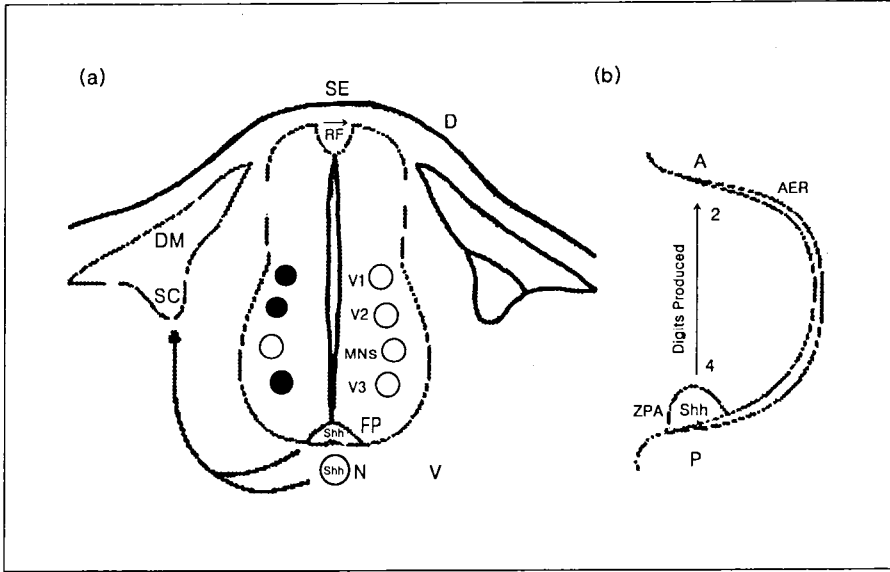


Figure 1. Schematic diagram of long-range effects of Shh in patterning the ventral neural tube and somite and the antero-posterior axis of the limb.

(a) Transverse section (dorsal-Ventral position)

(b) Dorsal view (Antero-Posterior position)

A, anterior; AFR, apical ectodermal ridge; D, dorsal; DM, dermomyotome; FP, floor plate; N, notochord; P, posterior; RF, root plate; SC, sclerotome; SE, surface ectoderm; V, ventral; ZPA, zone of polarizing activity(Current Opinion in Genetics & Development 2000, 10:518 참고).

도의 Sonic hedgehog 단백질에 노출시켰다. 세포들은 그들이 노출되었던 단백질 농도에 따라 운동신경원, 교세포, 사이신경원을 생성했다. 척수에서 Sonic hedgehog 단백질은 척삭(notochord)에서 유리되며 인접한 신경관(neural tube)내에 바닥판 형성을 유도하며 그 자체가 Sonic hedgehog의 이차적 자원이 된다(Echelard 등, 1993; Placzek 등, 1993; Roelink 등, 1994). Sonic hedgehog 단백질은 배측으로 확산되며 복측 중심선으로부터 떨어진 다른 거리에서 다른 종류의 복측 세포 유형을 유도한다(Orentas와 Miller, 1996; Poncet 등, 1996; Pringle 등, 1996; Ericson 등, 1997; Orentas 등, 1999). 척삭에 가장 가까이 있는 척수세포들은 가장 높은 신호농도에 노출되었으며 교세포가 되었다. 보다 배측에 위치한 세포들은 보다 적은 농도에 노출되었으며 각각 운동신경원, 사이신경원이 되었다(Litingtung과 Chiang, 2000a). 많은 과학자들이 발달하고 있는 척수에서 세포유형의 발생을 일으키는 신호들을 빠르게 밝히고 있지만 어떻게 세포가 농도의 작은 차이를 감지하는지, 특수화된 세포유형이 되기 위해

어떻게 반응하는지는 분명하지 않다.

Sonic hedgehog에 의한 운동신경원의 유도는 독특한 바닥판 유래 신호분자에 달려있다. 그러므로 Sonic hedgehog는 신경관의 전측부에서 발생하는 두가지 세포유형의 분화를 시작할 수 있다. 운동신경원의 초기 발달은 Sonic hedgehog의 유도적 작용을 수반하는 반면, 태아 발달의 후기 단계에서 운동신경원의 생존은 신경영양성 인자들을 필요로 한다(Tanabe 등, 1995). 또한 태아가 발달하는 과정 동안 척수 운동 신경원은 그들의 생존과 성장을 위해 근-유래 영양인자(muscle-derived trophic factors)를 필요로 한다. Jeong 등(1991)의 연구에 의하면 근-유래 신경돌기 촉진 인자(neurite promoting factor: NPF)는 배양에서 감각신경원과 교감신경원뿐만 아니라 척수 운동신경원의 생존과 성장을 촉진할 수 있었다.

그림 1을 참고로 설명하자면(Chuang 등, 2000), 그림 1의 (a)는 발달하고 있는 쥐나 닭 배아의 척수를 횡절단한 것으로 Sonic hedgehog 단백질은 척삭과 바닥판에 있는 세포에 의해 합성된다. 복측 신경관의 개별 배

측-복측 위치에서 사이신경원들과 운동신경원이 발생된다. 각 유형의 신경원이 존재하는 상대적인 위치는 Sonic hedgehog의 농도에 의해 유도되며 보다 높은 농도는 보다 복측에 자리하는 신경원을 발생시키기 위해 요구된다. Sonic hedgehog는 또한 복측 체벽에서 경절 운명(scclerotomal fate)을 유도한다. (b)는 초기 닭의 사지아(limb bud)에 관한 배측 그림으로 ZPA(zone of polarizing activity)에서 Sonic hedgehog 단백질의 위치를 보여주고 있다. ZPA로부터 분비된 Sonic hedgehog 신호에 의해 전방-후방 축을 따르는 다른 지질이 특수화된다. 이것도 역시 용량-의존적인(dose-dependent) 방법을 따르며, 보다 높은 농도에 노출된 지질이 보다 후방에 위치한 반면, 농도가 낮을수록 보다 전방에 위치했다.

III. 생존운동신경원(Survival motor neuron) 단백질

1. 척수근위축증(spinal muscular atrophy)과 관련된 생존운동신경원 단백질 연구

척수근위축증은 척수의 전각과 뇌간의 운동핵에 있는 하위운동신경원의 소실과 퇴행으로 특징되는 선천적 질환(Fredericks와 Saladin, 1996)으로 대칭적인 근약증, 위축, 수의근의 소실, 무반사가 나타나며 유아 사망의 일반적 원인(Bergin 등, 1997)이 되는 반면에 말초신경, 상위운동신경원, 혹은 감각신경로와 같은 다른 신경계 요소들은 직접적으로 영향을 받지 않는다

척수근위축증은 상염색체 열성 유전질환으로 임상적으로 다양한 상태의 신경근 질환을 보이는데, 앉거나 일어서는 능력에 따라 심한 정도를 세가지 유형으로 세분할 수 있다(Munsat, 1991). 가장 심한 유형은 유형 I로, Werding-Hoffman 질환이라고도 하며 생의 처음 6개월 내에 발생한다. 보조 없이 일어날 수 없으며, 호흡근의 심한 약증으로 인해 2세 이전에 사망한다(Bergin 등, 1997). 유형 II는 Dubowitz 질환이라고 하며, 보조 없이 일어날 수 있으나 호흡기 감염에 의해 일반적으로 소아기에 사망한다. 유형 III는 Kugelberg-Welander 질환이라 하며 후기에 발병하며 도움없이 걸을 수 있고 많은 경우 비교적 정상적인 일생을 살아간다(Talbot 등, 1997). 세가지 군 모두에서, 인지와 감각기능은 전형적

으로 보존되어 있다.

척수근위축증과 관련된 유전자 좌위는 5q13으로, 생존운동신경원(survival motor neuron: SMN) 유전자와 신경원 세포자멸사 억제단백질(neuronal apoptosis inhibitory protein: NAIP) 유전자인 두개의 후보(candidate) 유전자가 보고되며(Lefebvre 등, 1995; Roy 등, 1995), Cater 등(1995)과 Burglen 등(1997)에 의해 전사인자 TFIIF의 하위단위인 p44도 보고되고 있다.

Morrison(1996)은 SMN 유전자의 결손은 척수근위축증을 야기하는데 필수적이며, NAIP의 돌연변이를 질환의 심한 정도를 결정하는 요인으로 보았다. SMN 유전자의 결손은 척수근위축증 환자의 98%에서 발견되며 나머지 2%는 그외 내적으로 발생한 SMN 돌연변이가 존재한다(Lefebvre 등, 1995). NAIP 유전자 결손은 SMA 유형 I의 45%, 유형 II와 III의 18%에서 발견되어왔다(Roy 등, 1995).

진핵생물의 핵내 유전자들은 유전자의 내부에 아미노산을 실제로 암호화하는 부위인 exon과 아미노산 암호를 갖고 있지 않는 부위인 intron을 가지고 있는데, DNA가 mRNA로 전사되는 과정에서 비암호 부위인 intron은 떨어지고 exon 부위만 결합하게 되는 과정을 접합절단(splicing)이라고 한다.

SMN 유전자로는 종말절 SMN(SMNt)과 중심절 SMN(SMNC)이 있으며, 각각을 SMN1 유전자, SMN2 유전자라고도 한다. 이와 같이 두 개의 유전자가 존재하는 것은 조직-특이 교대성 접합절단(alternative splicing)을 통해 발생한다. 교대성(양자택일적) 접합절단은 동물의 생리, 발달, 그리고 질환에 지대한 영향을 미치는 것으로 하나의 유전자로부터 한 종류 이상의 폴리펩티드를 얻을 수 있는 방법이다. 신경계에서, 수천가지의 교대성 접합절단된 mRNA가 학습과 기억, 신경세포 인식, 신경전달물질, 이온채널 기능, 그리고 수용기 특이성에 중요한 역할을 하는 단백질로 전사된다(Grabowski와 Black, 2001). SMNt와 SMNC는 뇌, 심장, 신장, 소장, 폐, 골격근, 척수를 포함한 인간의 다양한 조직에서 전사된다(Jong 등, 2000). SMNC 유전자는 네 개의 RNA 동종체를 생성하는데 전장 SMN(full-length SMN), exon 5 결핍 SMN, exon 7 결핍 SMN, exon 5와 7 결핍 SMN을 만든다. SMNt 유전자는 두개의 RNA 동종인, 전장 SMN과 exon 5 결핍 SMN을 생성한다(Lefebvre 등, 1995; Gennarelli 등, 1995).

SMNt 유전자로부터의 대부분의 전사는 exon 7를 포함한 전장으로 척수근위축증을 결정하는 유전자이다 (Lefebvre 등, 1995; Bussaglia 등, 1995; Chang 등, 1997; Cobben 등, 1995, Rodrigues 등, 1995; Velasco 등, 1996; Wang 등, 1996). 그러나 SMNc 유전자의 주요 전사는 높은 정도의 교대용 접합절단을 가지며 exon 7을 포함하지 않는 경향이 있다. 기능적 전장 SMN 단백질의 부재나 감소는 척수근위축증에서 관찰되는 신경근 변성의 일차적 원인이 된다. 이러한 결과는 이 두개의 유전자가 RNA 수준에서 구분될 수 있으며 exon 7이 SMN 유전자의 기능을 유지하는데 중요한 역할을 한다는 것을 보여준다(Lefebvre 등, 1995).

맥동야 젤 전기영동(pulsed field gel electrophoresis)과 몇가지 중합효소 연쇄반응(polymerase chain reaction: PCR)에 기초한 연구들에 의하면 척수근위축증의 가장 경한 형태 중 일부는 초기 중합효소 연쇄반응 분석에서 제시되었던 것처럼 SMNt의 결손에 의한 것이 아니라 오히려 SMNt가 SMNc 유전자로 전환되는 것에 의한다고 한다(Campbell 등, 1997; Burghes, 1997; DiDonato 등, 1997; McAndrew 등, 1997; Taylor 등, 1998). 다시 말해서 SMNt가 exon 7이 결핍된 SMNc로 전환됨으로써 결과적으로 SMN protein의 발현이 감소하게 된다(그림 2).

전형적으로 중증인 유형 I 척수근위축증 환자의 경우 2개 혹은 3개의 SMNc 유전자를 가지고 있는데 최소한

2개의 SMNc 유전자가 불량한 예후에도 불구하고 몇 개 월까지 삶을 연장하기 위해 요구된다. 반면에 3개의 유전자가 있는 경우는 비교적 생존기간이 더 늘어난다. 단일 SMNc 유전자를 가지고 있는 경우는 매우 드물며 극도로 심한 표현형과 매우 불량한 예후를 보인다(Brahe, 2000). 그러나 SMNc 복제 수와 척수근위축증의 심한 정도 사이의 관계는 절대적이지 않다(Morrison 등, 1999).

질병의 심한 정도와는 관계없이, 모든 척수근위축증 환자의 90-98%는 exon 7 혹은 8이 영향을 받은 SMNt의 동형접합 결손을 보인다. 대부분의 중국인과 일본인, 그리고 한국의 환자들은 exon 7과 8이 함께 결손되어 있다(Tran 등, 2001).

이전의 연구와는 조금 다른 관점에서, 몇몇 연구들에 의하면 exon 7이 결핍된 SMN의 내인성 수준은 gems을 형성하며 운동신경원의 생존을 지지할 수 있다고 한다(Francis 등, 1998; Battaglia 등, 1997). 또한 SMN의 세포하 위치에 대한 exon 7의 영향에 대해 연구한 Dodds 등(2001)에 의하면, COS cells, 쥐의 일차 피질신경원, 그리고 척수근위축증 유형 II 환자의 섬유모세포에서 재조합 SMN이 높게 발현되었다는 것은 gem 형성이 SMN의 exon 7에 의존하지 않는다는 것과, exon 7 결핍 SMN은 SMNt-결핍 환자의 섬유모세포에서 gems을 회복할 수 있었다는 것을 보여주었다.

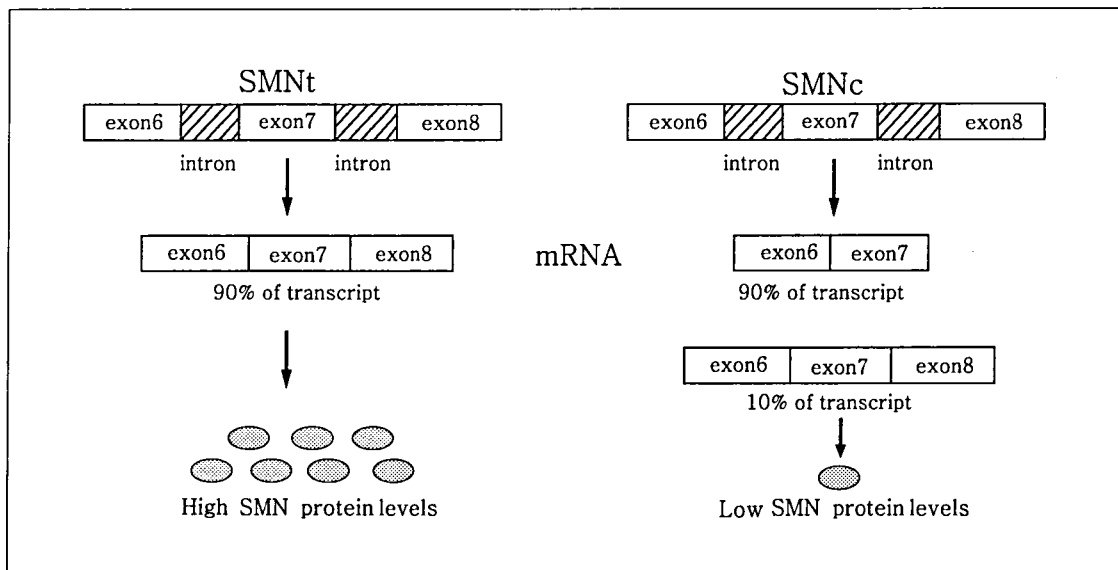


Figure 2. The difference between the SMNt and SMNc gene results in SMNc producing insufficient quantities of SMN.

2. 생존운동신경원 단백질의 발현과 분포

SMN 유전자는 294개 아미노산 잔기의 활성단백질로 발현되며 어떠한 알려진 단백질과도 동일하지 않다(Lefebvre 등, 1995). SMN 단백질은 다양한 조직에 편재되어 발현되는데 특히, 쥐와 원숭이의 뇌간과 척수 운동신경원에서 강하게 발현되었다(Battaglia 등, 1997). Bergin 등(1997)은 신경 조직에서 SMN mRNA의 발현 분포를 알아보기 위해 쥐의 뇌와 척수를 대상으로 *in situ hybridization* 분석을 하였다. 그 결과, 뇌의 전방적인 부분에서 SMN mRNA가 발현되었으며 특히 해마 신경원(hippocampal neurons)과 소뇌 과립세포(cerebellar granular cells)에서 상대적으로 보다 높게 발현되었다. 이 영역은 척수근위축증에 있어서 특징적으로 정상인 부위이다.

정상인과 비교했을 때 척수근위축증 환자의 경우, SMN 단백질의 상대적 발현 정도는 척수와 간(Coovert 등, 1997; Lefebvre 등, 1997)에서 상당히 감소되어 있으며 섬유모세포(fibroblasts), 림포사이트(lymphocytes), 골격근(Coovert 등, 1997)에서는 그보다 적게 감소되어 있다. 이와 같이 SMN 단백질의 정도가 목표조직에 따라 다른 것은 SMN의 특이성이 조직 특이인자(tissue specific factors)와 관련되거나 조직 특이기능(tissue specific functions)을 하는 것으로 보인다(Williams 등, 2000).

쥐의 출생후 발달과정 동안 척수내 SMN 단백질의 해부학적 분포에 대한 연구에 의하면(Pagliardini 등, 2000), SMN의 발현은 출생후 1일에서 성숙기에 이르기까지 점진적으로 감소되는 것으로 나타났다. 출생 1일경 척수에서의 발현은 뚜렷했으며 심지어 배측 층판(laminae)을 통해서도 분포했다. SMN의 면역반응성은 주로 배측과 중간 척수 층판의 대부분의 신경원 핵에 위치했는데 특히 층판 IX 운동신경원의 세포질에서 강하게 발현되었다. 전각에서는 층판 IX에서 전삭(ventral funiculus)으로 들어가는 많은 실모양의 돌기로 강하게 발현되었다. 층판 IX는 척수신경의 전근(ventral root)으로 축삭을 보내고 골격근에 종지하는 알파(α), 베타(β), 감마(γ) 운동신경원을 포함하고 있다. 출생후 8일과 15일경 SMN 반응성은 첫날과 비교해서 약간 감소되었지만 층판 IX 운동신경원과 신경원풀(neuropil)에서는 여전히 강하게 나타났다. 백질에서 SMN은 특히 피질척수로와 박속(gracile funicle)에서 강하게 나타났다. 성

숙기의 경우, SMN은 주로 운동신경원 구조에서 확인되었으며 외측 척수핵과 중간외측세포 주(column)에 있는 유사신경원에서도 확인되었다(Battaglia 등, 1997). 그러나 백질내 섬유로에서는 더 이상 감지되지 않았으며 층판 I, II, III의 신경원풀에서는 약간 더 강하게 발현되었다.

SMN 면역반응성의 패턴은 척수 운동신경원의 경우, 출생후 발달시기와 성숙기 동안 변하지 않았으며 일정하게 지속되었다. 면역반응성 집합체는 핵질에서는 주로 희박하지만 핵막의 내측부분을 따라 위치하거나 핵소체에 나란히 위치했다. SMN은 또한 세포질에서도 강하게 발현되었으며 미토콘드리아와도 관련이 있었다(Pons 등, 1996; Pagliardini 등, 2000). 전자현미경을 이용한 초구조적 분석을 통해 운동신경원에서의 SMN 발현과 관련된 중요한 양상을 살펴보면, 강한 SMN 면역반응성은 수지상돌기와 축삭 윤곽(profiles)에서 지속적으로 나타났다는 것과 출생후 발달과정 동안 척수 백질의 축삭 섬유로에 나타났다는 것이다. SMN은 미토콘드리아 외막과 형질막, 그리고 미세소관에 나란히 배열해서 다양한 크기의 수지상돌기에 존재했다(Bechade 등, 1999). 모든 연령에서 고려하였을 때, SMN 면역반응성은 주로 신경원 특이성이며, 희돌기교세포와 성상세포의 세포체에서는 발현되지 않았다.

SMN 발현은 쥐의 뇌, 척수, 비신경성 조직(La Bella 등, 1998), 그리고 인간의 골격근, 심장, 뇌(Burlet 등, 1998)에서 발달이 진행함에 따라 하향조정되는데 반해 운동신경원에서 SMN의 발현은 안정성있게 지속되는데 이것은 운동신경원이 초기 발달과정뿐만 아니라 기능하고 생존하는데 높은 정도의 SMN 단백질을 엄격히 요구하고 있다는 것을 보여준다(Pagliardini 등, 2000).

3. 생존운동신경원 단백질의 기능

신생척수 절단 이후 절단된 척수운동신경원의 죽음에 관한 이전의 논문들에 의하면, 신경영양성인자(neurotrophins)(Wong 등, 1993), 사이토카인(cytokinins)(Sendtner 등, 1990), 변형 성장인자 β (transforming growth factor β)(Iwasaki 등, 1997; Yan 등, 1995) 등이 운동신경원의 죽음을 방지하는 것으로 보고된다. 또한 글루타메이트 수용기 차단자(glutamate receptor blockers)(Greensmith 등, 1994)와 deprenyl(Ansari 등, 1993; Iwasaki 등,

1996), SR57746A(1-[2-(naphth-2-yl)ethyl]-4-(3-trifluoromethylphenyl)-1,2,5,6-tetrahydropyridine, hydrochloride)(Iwasaki 등, 1998)의 투여도 운동신경원의 죽음을 방지하는 것으로 보고된다.

SMN은 RNA 결합 단백질 fibrillarlin(Liu와 Dreyfuss, 1996), SIP1이라는 새로운 단백질(Liu 등, 1997), 항세포자멸사 단백질(anti-apoptotic protein) Bcl-2(Iwasaki 등, 1997), 그리고 papillomavirus의 핵전사 활성자 E2(Strasswimmer 등, 1999)와 상호작용하며 RNA 처리과정(Liu와 Dreyfuss, 1996; Liu 등, 1996; Fischer 등, 1997), 항세포자멸사 효과(anti-apoptotic effects)(Iwasaki 등, 1997), 그리고 유전자 발현 조절(Strasswimmer 등, 1999)에 관여한다.

SMN 단백질은 핵세포질 운송과 수지상돌기 운송에 있어 신경원 특이기능을 한다(Bechade 등, 1999). 태아조직에서는 SMN mRNA와 단백질이 모두 감지되는데, 초기 배아상태에서 SMN이 결핍된 쥐는 집단세포사를 경험하기 때문에(Schrank 등, 1997) SMN은 발달에 있어 중요한 역할을 한다.

SMN 단백질은 세포질과 새롭게 밝혀진 배양세포의 핵상 구조물인 gems에서 관찰된다. gems은 코일체(coiled body)와 관련되며 RNA 대사에 관여한다. gems내에 같이 존재하는 단백질 SIP1과 함께 SMN-SIP1 복합체를 구성하여 spliceosomal small nuclear ribonucleoproteins(snRNPs)의 생합성(Fischer 등, 1997; Pellizzoni 등, 1998; Buhler 등, 1999), RNA 중합효소 II 전사-처리과정의 구성요소를 소집하고 재생하는 pre-mRNA 접합절단에 수반된다(Liu 등, 1997; Fischer 등, 1997; Meister 등, 2000; Pellizzoni 등, 1998, 2001). SMN 단백질의 아미노말단 결손을 암호화하는 유전자의 일시적 발현은 gem/coiled body의 구조와 snRNP 위치결정 패턴을 변화시킨다(Pellizzoni 등, 1998). 다시 말해서 SMN은 신경원의 핵과 세포질에서 분자생물학적으로 중요한 기능을 함으로써 세포 생존에 기본적인 역할을 수행한다(Schrank 등, 1997).

SMN mRNA와 단백질의 발현은 발달상으로 조절된다. SMN mRNA는 빠르면 8주경의 인간 태아의 신경조직에서 감지되며 성인기를 포함한 출생후 전 기간에 걸쳐 존재하는 것으로 발견되었으며, 특히 태아의 두번째 삼개월동안 SMN mRNA가 신경모세포에서 감지되고 운동신경원에서의 발현은 신생아기에서부터 성인기까지 유지되었다(Tizzano 등, 1998).

운동신경원 SMN은 부분적으로 세포 소기관의 막과 관련해서 운동신경원의 기능에 중요한 역할을 수행하며, 신경원 발달의 특정 단계에 축삭형질의 흐름(axoplasmic flow)을 통해 능동적으로 운송된다.

운동신경원의 수지상돌기와 축삭의 주어진 길이와 복잡성에 의해 운동신경원의 핵주위부로부터 원위 수지상돌기와 신경근 접합부의 종말까지의 SMN 운송은 운동신경원이 그들의 목표를 발견하고 복잡한 지리적 구조를 갖추는 개체발생 단계 동안 특히 운동신경원의 발달과 생존을 위해 중요하다(Pagliardini 등, 2000). 다시 말해서, SMN 단백질의 감소는 원위 축삭말단과 신경근 접합부까지 특수한 mRNA들이 운송되는 것을 부족하게 만들며, 근육과 신경 사이의 상호작용을 손상시킨다.

이러한 가정은 척수근위축증에서 생존하는 운동신경원의 발아(sprout) 능력이 감소된 것(Hausmanowa-Petrusewicz, 1988)과 축삭의 신경병증이 나타나는 것(Korinthenberg 등, 1997)을 설명해준다. 이영양성 표현형(dystrophic phenotype)은 크레아틴 키나제(creatine kinase)의 활성 상승, 근섬유내 Evans blue 염료 착색, dystrophin 량 감소, 그리고 근섬유막 구성요소(sarcolemma components)의 불안정화를 야기하는 utrophin 발현의 상향조절과 관련된다(Cifuentes-Diaz 등, 2001).

또한 SMN은 일차 신경원과 분화된 신경원-유사 간세포(neuron-like stem cells)를 보호하며, 바이러스에 감염된 쥐의 생존율을 증가시킨다(Kerr 등, 2000).

IV. 결 론

세포들이 다른 유형을 가지고 각각 독특한 기능을 가지게 되는 것은 세포계뿐만 아니라 발달과 분화를 지시하는 신호에 의한다. 척수내 운동신경원의 발생과 분화는 척삭과 바닥판에서 분비되는 Sonic hedgehog 신호에 의하며, 이 신호의 활성화는 곧 발달하고 있는 중추신경계의 정상적인 패턴과 세포 분화 및 성장을 위해 필수적인 것이다.

생존운동신경원 유전자에는 종말절 SMN(SMNt)과 중심절 SMN(SMNc)이 있는데, SMNt는 exon 7을 포함하며 척수근위축증 결정 유전자라 하고, SMNc는 대부분이 exon 7이 결핍되어 있어 결과적으로 SMN 단백질의 발현이 낮다. SMN 유전자는 인간의 뇌, 심장, 신

장, 소장, 골격근, 척수를 포함한 다양한 조직에서 전사되지만 척수를 제외한 나머지 부분은 발달이 진행함에 따라 하향조정되는 경향을 보인다. 척수에서 SMN 단백질의 발현은 주로 층판 IX에서 두드러진다.

생존운동신경원 단백질은 RNA 처리과정, 항세포자멸사 효과, 그리고 유전자발현을 조절하는데 관여함으로써 세포의 생존에 기본적인 역할을 수행하며, 원위 축삭의 말단과 신경근 접합부에 특정 mRNA가 운송되는데 관여함으로써 신경과 근육의 상호작용에도 관여한다. 또한 분화된 혹은 분화되지 않은 신경원을 보호하는 역할도 수행한다.

생존운동신경원에 대한 연구는 1990년대 중반부터 활발히 진행되어 오고 있는 추세이다. 임상과 관련해서는 척수근위축증과 밀접한 관계가 있으며 현재까지 보고된 연구의 대부분도 척수근위축증과 관련한 것이 대부분이었다.

물리치료사는 임상에서 움직임, 운동출력에 관한 문제를 가진 환자들을 많이 보고 그 움직임의 패턴을 보다 정상적이고 기능적인 패턴으로 수행할 수 있게 도와주는 역할을 담당한다. 또한 우리가 제공하는 치료가 어떻게 인체에 영향을 미치는지, 인체가 자극을 어떤 기전을 통해 받아들이고 어떻게 반응하는지에 대한 경로를 아는 것도 중요한 부분이다.

본 논문은 운동신경원에 대한 이해에 도움이 되고자 최근의 문헌들을 고찰하여 척수내 운동시스템의 기본인 운동신경원에 대한 정보로, 운동신경원의 발생 및 분화와 관련된 신호 정보와 생존운동신경원 단백질의 분포 및 기능에 대해 살펴보았다.

〈 참고 문헌 〉

- Ansari KS, Tu PH, Kruk TPA, et al : Rescue of acotomized immature rat facial motoneurons by R(-)-deprenyl: stereospecificity and independence from monoamine oxidase inhibition, *J Neurosci*, 13, 4042-4053, 1993.
- Battaglia G, Princivale A, Forti F, et al : Expression of the SMN gene, the spinal muscular atrophy determining gene, in the mammalian central nervous system, *Hum Mol Genet*, 6, 1961-1971, 1997.
- Bechade C, Rostaing P, Cisterni C, et al : subcellular distribution of survival motor neuron(SMN) protein: possible involvement in nucleocytoplasmic and dendritic transport, *Eur J Neurosci*, 11, 293-304, 1999.
- Bergin A, Kim G, Price DL, et al : Identification and characterization of a mouse homologue of the spinal muscular atrophy-determining gene, survival motor neuron, *Gene*, 204, 47-53, 1997.
- Bizzi E, Tresch MC, Saltiel P, et al : New perspectives on spinal motor systems, *Nature Reviews Neurosci*, 1, 101-108, 2000.
- Brahe C : Copies of the survival motor neuron gene in spinal muscular atrophy: the more, the better, *Neuromuscular Disorders*, 10, 274-275, 2000.
- Buhler D, Raker V, Luhrmann R, et al : Essential role for the tudor domain of spliceosomal U snRNP assembly: implications for spinal muscular atrophy, *Hum Mol Genet*, 8, 2351-2357, 1999.
- Burghes AHM : When is a deletion not a deletion? When it is converted, *Am J Hum Genet*, 61, 9-15, 1997.
- Burglen L, Seroz T, Miniou P, et al : The gene encoding p44, a subunit of the transcription factor TFIIH, is involved in largescale deletions associated with Werdnig-Hoffman disease, *Am J Hum Genet*, 60, 72-79, 1997.
- Burlet P, Huber C, Bertrand S, et al : The distribution of SMN protein complex in human fetal tissues and its alteration in spinal muscular atrophy, *Hum Mol Genet*, 7, 1927-1933, 1998.
- Bussaglia E, Clermont O, Tizzano E et al : A frame-shift deletion in the survival motor neuron gene in Spanish spinal muscular atrophy patients, *Nat Genet*, 11, 335-337, 1995.
- Campbell L, Potter A, Ignatius J, et al : Genomic variation and gene conversion in spinal

- muscular atrophy: implications for disease process and clinical phenotype, *Am J Hum Genet*, 61, 40-50, 1997.
- Carter TA, Wang C, Bonnemann C, et al : Characterization of BTF2p44, a transcription factor localized to the SMA gene region, *Am J Hum Genet*, 57, A312, 1995.
- Chang JG, Jong YJ, Lin SP et al : Molecular analysis of survival motor neuron(SMN) and neural apoptosis inhibitory protein(NAIP) genes of spinal muscular atrophy patients and their parents, *Hum Genet*, 100, 577-781, 1997.
- Chuang P-T, Kornberg TB : On the range of Hedgehog signaling, *Current Opinion in Genetics & Development*, 10, 515-522, 2000.
- Cifuentes-Diaz C, Frugier T, Tiziano FD, et al : Deletion of murine SMN exon 7 detected to skeletal muscle leads to severe muscular dystrophy, *J Cell Biol*, 152(5), 1107-1114, 2001.
- Cobben JM, van der Steege G, Grootsholten P, et al : Deletions of the survival motor neuron gene in unaffected siblings of patients with spinal muscular atrophy, *Am J Hum Genet*, 57, 805-808, 1995.
- Collins B : Sim and sonic, *Nature Reviews Neurosci*, 1, 85, 2000.
- Coovert DD, Le TT, McAndrew PE, et al : The survival motor neuron protein in spinal muscular atrophy, *Hum Mol Genet*, 6, 1205-1214, 1997.
- DiDonato CJ, Ingraham SE, Mendell JR, et al : deletions and conversions in spinal muscular atrophy patients: is there a relationship to severity? *Ann neurol*, 41, 230-237, 1997.
- Dodds E, Dunckley MG, Roberts RG, et al : Overexpressed human survival motor neurons isoforms, SMN exon7 and SMN+exon7, both form intranuclear gems but differ in cytoplasmic distribution, *FEBS Letters*, 495, 31-38, 2001.
- Echelard Y, Epstein DJ, St-Jacques B, et al : Sonic hedgehog, a member of a family of putative signaling molecules, is implicated in the regulation of CNS polarity, *Cell*, 75, 1417-1430, 1993.
- Ericson J, Briscoe J, Rashbass P, et al : Graded sonic hedgehog signaling and the specification of cell fate in the ventral neural tube, *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*, 62, 451-466, 1997
- Ericson J, Rashbass P, Schedl A, et al : Pax6 controls progenitor cell identity and neuronal fate in response to graded Shh signaling, *Cell*, 90, 169-180, 1997.
- Fischer U, Liu Q, Dreyfuss G : The SMN-SIP1 complex has an essential role in spliceosomal snRNP biogenesis, *Cell*, 90, 1023-1029, 1997.
- Francis JW, Sandeok AW, Bhide PG, et al : Heterogeneity of subcellular localization and electrophoretic mobility of survival motor neuron(SMN) protein in mammalian neural cells and tissues, *Natl Acad Sci USA*, 95, 6492-6497, 1998.
- Fredericks CM, Saladin LK : Pathophysiology of the motor systems, FA Davis Company, 397-381, 1996)
- Gennarelli M, Lucarelli M, Capon F, et al : Survival motor neuron gene transcript analysis in muscles from spinal muscular atrophy patients, *Biochem Biophys Res*, 213, 432-348, 1995.
- Grabowski PJ, Black DL : Alternative RNA splicing in the nervous system, *Progress in Neurobio*, 65, 289-308, 2001.
- Greensmith L, Mentis GZ, Vrbova G, et al : Blockade of N-methyl-D-aspartate receptors by MK-801 (dizocilpine maleate) rescues motoneurons in developing rats, *Dev Brain Res*, 81, 162-170, 1994.
- Hausmanowa-Petrusewicz I : Electrophysiological findings in childhood spinal muscular atrophies, *Rev neurol*, 144, 716-720, 1998.

- Iwasaki Y, Ikeda K, Shiojima T, et al : Deprenyl and pergolide rescue spinal motor neurons from axotomy-induced neuronal death in the neonatal rat, *Neurol Res*, 18, 168-170, 1996.
- Iwasaki Y, Shiojima T, Tagaya N, et al : Effect of transforming growth factor β 1 on spinal motor neuron after axotomy, *J Neurol Sci*, 147, 9-12, 1997.
- Iwasaki Y, Shiojima T, Kinoshita M, et al : SR57746A: A survival factor for motor neurons in vivo, *J Neurol Sci*, 160, S92-S96, 1998.
- Jeong SJ, Oh TH, Markelonis G : A neurite-promoting factor from muscle supports the survival of cultures chicken spinal motor neurons, *J Neurobiol*, 22(5), 462-474, 1991.
- Jong YJ, Chang JG, Lin SP, et al : Analysis of the mRNA transcripts of the survival motor neuron(SMN) gene in the tissue of an SMA fetus and the peripheral blood mononuclear cells of normals, carriers and SMA patients, *J Neurol Sci*, 173, 147-153, 2000.
- Kerr DA, Nery JP, Traystman RJ, et al : Survival motor neuron protein modulates neuron-specific apoptosis, *Proceedings of the Nat Acad of Sci USA*, 97, 13312-13317, 2000.
- Korinthenberg R, sauer M, Ketelsen UP, et al : congenital axonal neuropathy caused by deletions in the spinal muscular atrophy region, *Ann Neurol*, 42, 364-368, 1997.
- La Bella V, Cisterni C, Salaun D, et al : Survival motor neuron(SMN) protein in rat is expressed as different molecular forms and is developmentally regulated, *Eur J Neurosci*, 10, 2913-2923, 1998.
- Lefebvre S, Burglen L, Reboullet S, et al : Identification and characterization of a spinal muscular atrophy-determining gene, *Cell*, 80, 155-165, 1995.
- Lefebvre S, Burlet P, Liu Q, et al : Correlation between severity and SMN protein level in spinal muscular atrophy, *Nature Genet*, 16, 265-269, 1997.
- Litingtung Y, Chiang C : Specification of ventral neuron types is mediated by and antagonistic interaction between Shh and gli3, *Nat Neurosci*, 3, 979-985, 2000a.
- Litingtung Y, Chiang C : Control of Shh activity and signaling in the neural tube, *Dev Dyn*, 219, 143-154, 2000b.
- Liu Q, Dreyfuss G : A novel nuclear structure containing the survival of motor neurons protein, *EMBO J*, 15, 3555-3565, 1996.
- Liu Q, Fischer U, Wang F, et al : The spinal muscular atrophy disease gene product, SMN and its associated protein SIP1 are in a complex with spliceosomal snRNP proteins, *Cell*, 90, 1013-1021, 1997.
- McAndrew PE, Parsons DW, Simard LR, et al : Identification of proximal spinal muscular atrophy carriers and patients by analysis of SMNT and SMNC gene copy number, *Am J Hum Genet*, 60, 1411-1422, 1997.
- Meister G, Buhler D, Lagerbauer, et al : Characterization of a nuclear 20S complex containing the survival of motor neurons(SMN) protein and a specific subset of spliceosomal Sm proteins, *Hum Mol Genet*, 9, 1977-1986, 2000.
- Morrison K : Advances in SMA research: review of gene deletions, *Neuromusc Disord*, 6(6), 397-408, 1996.
- Morrison KE, Steers G, Dubowitz V : No evidence of association between apolipoprotein E genotype and phenotypic severity in childhood onset proximal spinal muscular atrophy, *Neuromuscular Disorders*, 9, 372-375, 1999.
- Munsat T : Workshop report: International SMA consortium, *Neuromusc Disord*, 1(1), 81, 1991.
- Orentas DM, Hayes JE, Dyer KL, et al : Sonic hedgehog signaling is required during the appearance of spinal cord oligodendrocyte precursors, *Development*, 126, 2419-2429,

- 1999.
- Pagliardini S, Giavazzi A, Setola V, et al : Subcellular localization and axonal transport of the survival motor neuron(SMN) protein in the developing rat spinal cord, *Hum Mol Genet*, 9(1), 47-56, 2000.
- Pellizzoni L, Katoka N, Charroux B, et al : A novel function for SMN, the spinal muscular atrophy disease gene product, in pre-mRNA splicing, *Cell*, 95, 615-624, 1998.
- Pellizzoni L, baccon J, Charroux B, et al : The survival of motor neurons(SMN) protein interacts with the snoRNP proteins fibrillarin and GAR1, *Current Biol*, 11, 1079-1088, 2001.
- Pellizzoni L, Charroux B, rappsilber J, et al : A functional interaction between the survival motor neuron complex and RNA polymerase II, *J Cell Biol*, 152, 75-86, 2001.
- Placzek M, Jessell TM, Dodd J : Induction of floor plate differentiation by contact-dependent, homeogenetic signals, *Development*, 117, 205-218, 1993.
- Pons R, Andreetta F, Wang CH, et al : Mitochondrial myopathy simulating spinal muscular atrophy, *Pediatric Neurol*, 15(2), 153-158, 1996.
- Pringle NP, Yu WP, Guthrie S : Determination of neuroepithelial cell fate: induction of the oligodendrocyte lineage by ventral midline cells and Sonic hedgehog, *Dev Biol*, 177, 30-42, 1996.
- Rodrigues NR, Owen N, Talbot K, et al : Deletions in the survival motor neuron gene on 5q13 in autosomal recessive spinal muscular atrophy, *Hum Mol Genet*, 4, 631-634, 1995.
- Roelink H, Augsurger A, Heemskerk J, et al : Floor plate and motor neuron induction by *vhh-1*, a vertebrate homolog of hedgehog expressed by the notochord, *Cell*, 76, 761-775, 1994.
- Rowitch DH, St.-Jacques B, Lee SMK, Flax JD, Snyder EY, McMahon AP : Sonic hedgehog regulates proliferation and inhibits differentiation of CNS precursor cells, *J Neurosci*, 19(20), 8954-8965, 1999.
- Roy N, Mahadevan MS, Korneluk RG, et al : The gene for neuronal apoptosis inhibitory protein is partially deleted in individuals with spinal muscular atrophy, *Cell*, 80, 167-178, 1995.
- Schrank B, Gotz R, Gunnensen JM, et al : Inactivation of the survival motor gene, a candidate gene for human spinal muscular atrophy, leads to massive cell death in early mouse embryos, *Proc Natl Acad Sci USA*, 94, 9920-9925, 1997.
- Sendtner M, Kreutzberg GW, Thoenen H : Ciliary neurotrophic factor prevents the degeneration of motor neuron after axotomy, *Nature*, 345, 440-441, 1990.
- Strasswimmer J, Lorson CL, Breiding DE, et al : Identification of survival motor neuron as a transcriptional activator-binding protein, *Hum Mol Genet*, 8, 1219-1226, 1999.
- Talbot K, Rodrigues NR, Ignatis J, et al : Gene conversion at the SMN locus in autosomal recessive spinal muscular atrophy does not predict a mild phenotype, *neuromusc Disord*, 7, 198-201, 1997.
- Tanabe Y, Roelink H, Jessell TM : Induction of motor neurons by sonic hedgehog is independent of floor plate differentiation, *Current Biol*, 5(6), 651-658, 1995.
- Tanabe Y, William C, Jessell TM : Specification of motor neuron identity by the MNR2 homeodomain protein, *Cell*, 95, 67-80, 1998.
- Taylor JE, Thomas NH, Lewis CM, et al : Correlation of SMNt and SMNc gene copy number with age of onset and survival in spinal muscular atrophy, *Eur J hum Genet*, 6, 467-474, 1998.
- Tizzano EF, Cabot C, Baitget M : Cell-specific survival motor neuron gene expression during human development of the central nervous

- system: implications for the pathogenesis of spinal muscular atrophy, *Am J Pathol*, 153, 355-361, 1998.
- Tran TD, Kroepfl T, Saito M, et al : The gene copy ratios of SMN1/SMN2 in Japanese carriers with type I spinal muscular atrophy, *Brain & Devel*, 23, 321-326, 2001.
- Velasco E, Valero C, Valero A, et al : Molecular analysis of the SMN and NAIP genes in Spanish spinal muscular atrophy(SMA) families and correlation between number of copies of cBCD541 and SMA phenotype, *Hum Mol Genet*, 5, 257-263, 1996.
- Wang CH, Xu J, Carter TA, et al : Characterization of survival motor neuron(SMNT) gene deletions in asymptomatic carriers of spinal muscular atrophy, *Hum Mol Genet*, 5, 359-365, 1996.
- Williams BY, Hamilton SL, Sarkar HK : The survival motor neuron protein interacts with the transactivator FUSE binding protein from human fetal brain, *FEBS Letters*, 470, 207-210, 2000.
- Yan Q, Matheson C, Lopez O : In vivo neurotrophic effects of GDNF on neonatal and adult facial motor neurons, *Nature*, 373, 341-344, 1995.