

모델생물을 이용한 암 관련 유전체 기능 해석 연구

서울대학교 수의과대학
성 제 경

생물체의 유전 정보를 DNA가 담고 있는 것이 알려지고 그 구조가 밝혀진 이후, 생물학, 의학 분야의 연구는 유전 정보 해석이라는 커다란 질문을 마주하게 되었다. 사람과 몇몇 생물체의 기본적인 유전자 지도가 완성된 이후에도 여전히 생명체의 다양한 현상들을 유전자의 기능을 이해하여 설명하려는 노력이 꾸준히 시도되고 있다. 이러한 유전자의 기능을 이해하는 가장 기본적인 방법은 “loss of gene function”과 “gain of gene function”의 두가지 방법이다. 즉 유전자의 기능을 과도하게 발현시키거나 유전자의 기능을 제한시킨 모델 생물을 이용하여 유전자의 기능을 이해하는 것이다. 특정 유전자의 기능을 제한하거나 과발현 시킨 뒤 모델생물의 생물학적 변화를 관찰하고, 이와 더불어 다양하게 변화하는 다른 유전자의 발현 변화를 관찰하여 유전자의 기능을 이해하고 이를 토대로 사람의 질병원인을 분자적, 유전자적 수준에서 조기에 진단할 수 있는 biomarker를 개발하거나 신약의 개발 작용점으로 응용하는 것이 최근의 연구 동향이다.

모델생물체로 사용되는 것들은 전통적으로 실험실에서 손쉽게 다루고 연구된 세포모델이 근대적 의미의 시초이다. 그러나 세포 모델이 갖는 신속함, 간편함, 경제적인 우수성에도 불구하고 사람의 생명현상을 이해하는 데에는 사람과 같은 영양분의 섭취 및 대사 등이 유기적으로 이루어지는 동물에 대한 필요성이 대두되었다. 특히 세대 간의 기간이 짧고 유전적인 정보와 기본적인 해부, 생리학적인 특성이 잘 알려졌다 뿐 아니라, 유전적 조직 또한 비교적 간단한 C elegans, Drosophila 등은 매우 우수한 모델 생명체이다. 그래서 사람의 유전자 지도 해석과 더불어 가장 급속하게 유전자 지도 해석이 진행된 생물체들이 C elegans, Drosophila이다. 그러나 Drosophila의 유전자가 18,000~20,000 정도라는 것이 밝혀진 6개월 이후에 밝혀진 사람 유전자 숫자는 의외로 그 숫자가 적어 35,000 내외였다. 즉 유전자 숫자의 개수도 중요하지만 생명현상을 조절하는 유전자의 조합과 발현 조절이 더욱 중요하다는 사실이 알려졌다. 그럼에 따

라서 특히 유전자의 기능을 이해하기 위해서, 유전자의 발굴 못지 않게, 모델동물의 중요성이 더욱 주목을 받게 되었다. 이러한 모델동물은 “실험동물”로서 최근에 이르기까지 꾸준히 발달되어 온 시스템이다.

실험동물은 사람에게서 일어날 수 있는 다양한 생명현상을 이해하기 위한 유용한 도구로서, 사람을 대신하여 사람에서 직접 실험하기 어려운 조작이나 처치를 동물에게 가하여 그 결과를 바탕으로 사람에서의 결과를 예상하고 예측하는 데 이용된다. 특히 실험동물은 가축, 야생동물과 달리 연구 목적에 적합하도록 개량, 육성되어 온 동물로 현재 마우스, 랫드, 기니피그, 햄스터, 토끼 등의 소형 실험동물 이외에도 개, 돼지, 소, 영장류 등 중대형 실험동물로까지 그 사용 영역이 급속히 확산되고 있다. 실험에 이용될 수 있는 실험용동물의 범주에는 실험을 목적으로 개발된 실험동물 이외에도 산업적인 목적으로 개량, 번식되어 온 가축과 전혀 인위적인 컨트롤이 이루어지지 않은 야생동물까지를 모두 포함할 수 있다. 실험동물과 동물실험에 관한 필요성은 의과학, 생물학 등을 포함하는 생명과학의 발전에 따라 더욱 늘어날 전망이다.

사람에서 궁금한 연구관심 부분을 사람과 비슷한 동물을 이용하는 데서부터 동물실험이 시작되었다. 그러다가 최근 의과학 분야의 연구가 사람의 질환을 분자적, 유전자적 수준에서 탐구하게 되면서 실험동물을 대상으로 하는 연구영역도 실험동물의 분자적 유전적 관점으로 바뀌게 되었다. 잘 알려진 대로 마우스는 포유류에서 사람과 유전적으로 비교되기에 가장 좋은 실험동물 수단이다. 의약학 분야에서 모델생물은 사람과 유사한 포유류이면서 기본 생물학적

Gain of Function		Loss of Function	
Tg	Conditional TG	Spontaneous	Conditional KO
		Gene targeting	
		Chemical mutagenesis	
		Gene trap	
		New methods/Combination	

Fig. 1.

특성이 잘 알려져 있고, 유전자 조작이 가능한 마우스가 가장 각광을 받고 있다. 마우스의 유전자는 사람과 비교하여 매우 잘 밝혀져 있으며 유전적인 교배 혹은 genetically modified mouse(GMM)가 가능하여 포스트 게놈 시대의 가장 우수한 연구 수단으로 각광받고 있다. 이미 훌륭한 실험동물시설은 생명과학 분야에서 한 연구기관 및 연구집단의 연구력을 결정짓는 중요한 잣대가 되고 있다.

동물실험의 종류

실험동물을 이용한 동물실험은 동물을 대상으로 하는 직접적인 처치나 조작이외에도, 단순히 동물의 생태계를 관찰하여 자연계를 이해하는 것까지 포함하는 포괄된 범주이다. 미국의 National Research Council의 “Animal Use and Care Committee”에서는 동물실험을 Categories A에서 E의 5가지로 분류하고 있다. 이러한 고려는 실험동물의 윤리적 사용에 목적을 두고 있으며 나아가 연구자가 동물 실험을 계획할 때 적절한 지침을 삼게 하는 데 있다.

Categories A는 죽거나 살아있는 척추동물 및 식물, 세균류, protozoa를 포함하는 동물계에서 동물의 생태에 어떠한 위해 및 관련 요인을 맺지 않는 단순한 관찰 등의 실험이다. Categories B는 채혈, 주사, 순간 보정을 요하여 실험동물에 약간의 위해를 가하는 실험이다. Categories C는 척추동물에서 마취하의 cannulation, 혈관의 노출 등, 단기간의 음수 및 사료 공급의 제한 등을 포함하는 실험이다. Categories D는 척추동물에서 고통을 격감 시켜 줄 수 있는 약제 및 보조수단과 함께 수술, 심리적 억압 등의 스트레스를 동반하는 실험이다. Categories E는 척추동물에서 극심한 고통이 수반되며, 고통을 격감시켜 줄 수 없는 어떠한 수단도 제시되지 않는 실험으로 실험이 금지되고 있다. 이러한 동물실험에 관련된 실험의 분류 목적은 실험동물을 이용한 실험도 무제한, 무조건적인 실험이 아닌 실험목적과 의도가 인류복지에 공헌하며 뚜렷한 과학적 성과를 기대할 때에만 가능하다는 것을 시사하고 있다.

실험동물의 분류

실험동물은 동물종류에 따라 분류하기도 하고 크게 유전적, 미생물학적으로 분류된다. 유전적 컨트롤 방법의 차이나 계통 특유의 유전적 특성에 따라 실험동물을 유전적으로 분류하면 근교계(inbred), 폐쇄군(closed colony), 돌연변이계(mutant), 교잡군(F1 hybrid)과 유전적 컨트롤이

전혀 이루어지지 않은 잡종(mongrel)으로 크게 분류된다. 이러한 분류방법은 마우스, 랫드 이외에도 기니픽, 햄스터 등도 이 분류방식을 따르고 있다. 간혹 가축을 실험동물로 이용할 경우가 있는 데 가축에서 품종이라는 용어는 생물학적 분류상의 명칭이 아니라 일정한 품종에 특이한 유용한 생물학적 특성을 갖는 번식 집단을 의미한다.

근교계는 형매교배 혹은 친자교배를 20대 이상 진행하여 극도의 근교계수를 갖으며 계통 특이적인 유전적, 생물학적 특성을 갖는 계통이다. 이러한 인공적인 근친교배를 통하여 많은 유전자가 일정한 통일이 이루어져서 계통간의 유전적 특성을 계통 특이적으로 모니터링 할 수 있다. 간혹 congenic strain이라는 용어가 사용되는 데 congeneric strain은 마우스의 조직적합 유전자(Major histocompatibility)인 H-2 유전자 이외의 유전적 배경(genetic background)이 같은 계통이다. 폐쇄군은 외부로부터의 도입 동물이 없이 일정한 번식 집단 내에서 번식이 되는 동물로 ICR, ddy, Sprague Dawley 등의 계통이 대표적인 계통이다. 유전적 균일성은 근교계에 비하여 떨어지나, 사육관리가 쉽고 번식성이 우수하여 다수의 동물이 필요한 신물질의 안정성 평가 등 생물검정에 주로 이용된다. 돌연변이계는 유전자 기호로 명시할 수 있는 돌연변이 유전자를 보유하고 있는 동물로 대다수의 돌연변이계가 질환모델동물로 높은 효용성을 갖고 있다. obese 마우스, nude 마우스 등이 대표적인 예라 하겠다. 교잡군은 계통간의 잡종을 의미한다. 유전적 컨트롤이 전혀 이루어지지 않은 잡종(mongrel)과의 차이점은 부모의 유전적 특성을 알 수 있는 계통간의 잡종이라는 점이다. 잡종강세로 교잡군은 일반적으로 생물학적으로 저항성이 강하여 특히 오랜 기간 사육 유지가 요구되는 중기 및 장기 발암성 실험 등에 유용하게 사용된다.

미생물학적으로 실험동물은 Germ free, Gnotobiotics, SPF 및 conventional 동물로 분류된다. Germ free 동물은 완전한 무균동물로 외부와 미생물학적인 오염이 완전히 방지된 isolator에서 사육, 유지되며 현재의 검출 가능한 모든 방법으로 어떠한 종류의 미생물 감염도 검출되지 않는 동물이다. Gnotobiotics는 Germ free 동물에 정상적으로 생명활동을 유지하는 데 필요한 대장균 등의 미생물 등이 정착된 동물로 감염되어 있는 미생물이 어떠한 것인지를 알 수 있는 실험동물이다. SPF동물은 Specific Pathogen Free 동물로 동물실험에 영향을 미칠 수 있는 특정한 병원체 미생물들에 감염이 안된 것이 확인된 실험동물이다. 흔히 barrier 시설에서 사육되며 대부분의 동물실험에 널리 사용되고 있다. Conventional animal은 미생물학적인 어떠한 컨트롤도 이루어지지 않은 실험동물을 의미한다. Con-

ventional animal이라 하더라도 사육관리에 있어서는 위생적인 작업이 요구된다.

동물실험에 영향을 미치는 요인과 실험동물의 관리

동물실험에 영향을 미치는 요인을 이해하고 제어하는 것은 동물실험의 결과를 올바르게 얻을 수 있는 가장 중요한 점이다. 동물실험에 영향을 미치는 요인을 이해하고 제어하는 것은 동물실험의 결과를 올바르게 얻을 수 있는 가장 중요한 점이다. 동물실험에 영향을 미치는 요인은 크게 동물 자체에 관한 요인과 동물을 둘러싼 환경에 관한 요인으로 나눌 수 있다.

1. 동물측의 요인

- 1) 유전요인 - 동물의 종이나 계통
- 2) 생명요인 - 암, 수
- 3) 연령요인 - 태생기, 포유기, 성육기, 성시기, 노령기
- 4) 질병요인 - 각종 병원체에 의한 질병

2. 동물을 둘러싼 환경 측의 요인

- 1) 영양요인 - 사료, 물
- 2) 기상요인 - 온도, 습도, 기압, 바람
- 3) 물리화학요인 - 소리, 조명, 취기
- 4) 주거요인 - 건물, 케이지, 깔짚 등
- 5) 동종동물간의 요인 - 사회적 순위, 투쟁, 수용밀도
- 6) 이종동물간의 요인 - 바이러스, 세균, 기생충 등의 감염원, 사람 및 타종 동물

동물측의 요인은 동물의 생물학적 특성과 관계가 있는 것으로 비교생물학적 특성을 의미한다. 동물을 둘러싼 환경적 요인은 동물을 사육하는 조건과 관련된 무생물학적 요인과 동물간의 사회적 요인, 타종 생물간의 접촉을 통한 감염 등의 요인이 있다. 동물을 둘러싼 환경요인의 일정한 조절은 실험 성적의 재현성과 신뢰성을 높여준다.

동물실험의 결과 해석

실험동물을 이용한 동물실험의 궁극적 목적은 실험동물에게서 얻은 결과를 사람에게 적용하는 데 있다. 실험동물을 이용하여 얻은 성적을 사람에게 적용하는 것을 외삽이라 하며 그 차이를 줄이기 위하여 실험동물과 동물실험에 영향을 미치는 제반 요인을 관리하여야 한다. 외삽이 선행되기 전의 기본적인 고려사항은 현재 진행 혹은 계획하고 있는 동물실험에서 얻고자 하는 성적의 요인이 사람과 동물

간에 어떠한 개연성과 유사성을 갖느냐 하는 것이다. 일례로 혈중 cholesterol에 관한 결과를 얻고 싶다면, 사람과 동물간의 정상치에는 얼마큼 차이가 있는 지에 관한 정보를 필요로 하며 사람의 청년기에 관한 시기는 마우스 혹은 랫드 등에서 어떠한 시기에 해당하는 지를 알아야 한다. 담낭에 관한 실험을 계획하면서 담낭이 없는 랫드를 사용하려고 계획하는 것은 잘못된 것이다. 고중성지방혈증으로 유도되는 동맥경화증에 관한 실험을 계획하면서 고중성지방혈증에 저항성을 갖는 C3H/He를 실험에 사용하는 일은 없어야 하겠다.

질환모델동물의 분류 및 정의

사람의 특정질환을 연구하기 위하여 자연적 혹은 인위적으로 특정질환을 갖도록 개발된 동물을 질환모델동물, 혹은 모델동물이라고 한다. 질환모델동물은 사람을 대상으로 처치를 가하거나, 실험을 하거나 자료를 분석하기 어려운 질환을 대상으로 개발되어 왔으며 사람의 특정 질환과 병태양상이 매우 흡사하며 동시에 일정한 차이점을 갖고 있다. 반드시 모델동물과 사람 질환의 부분적 유사성을 이용하여 사람의 질환을 이해해야 하며, 실험동물을 통하여 얻은 결과는 사람과 모델동물 간의 여러 가지 차이점 등, 여러 요인을 고려하여 사람의 경우에 유추 해석하여야 한다. 인슐린 의존형 당뇨병의 병인을 이해하는데 NOD(Non-obese diabetic) 마우스, BB 랫드 등의 모델동물이 큰 공헌을 한 것은 널리 알려진 사실이며, 국제당뇨병학회의 satellite meeting으로 "Lessons from animal diabetes"에 관한 symposium 및 workshop이 개최되거나, 가까운 일본의 경우에도 의과학 분야 중 특히 아직껏 정복되지 않은 난치질환을 해결하기 위하여 정부 후원으로 난치질환모델조사연구반 등의 모임이 활발히 이루어지고 있는 것은 모델동물을 통한 사람 질환의 이해가 얼마나 중요한 것인가를 말해주고 있다.

질환모델동물은 크게 유발모델동물(Induced animal model)과 자연발증모델동물(Spontaneous animal model)로 나뉘며 gene targeting 방법을 응용한 모델동물이 있다. 유발모델동물로는 신장의 부분적 절출을 통하거나 신동맥 결찰 등으로 신성 고혈압을 유발하는 등의 1) 수술적인 모델동물, 발암물질 등을 투여하여 암을 유발하거나 streptozotocin을 투여하여 인슐린의존형 당뇨병을 유발하는 등의 2) 화학물질 투여에 의한 모델동물, slow virus 투여로 transmissible spongiform encephalopathy를 유발하거나 *Helicobacter pylori*를 nude 마우스에 감염시켜 위궤양 모델을

만드는 등의 3) 미생물 유발 모델동물 등이 있다. 이외에도 위의 방법 중 2가지 이상의 방법을 사용하여 모델동물을 유발하기도 하며 *nude* 마우스 혹은 *scid*(severe combined immune deficiency) 마우스 등의 면역부전 동물에 암세포를 이식하여 암 발생 모델동물을 작출해 내기도 한다. 자연적인 질환모델동물로는 single gene이 원인이거나 혹은 polygenic이 원인인 동물로 크게 나뉘며 최근에는 gene targeting 방법에 의한 transgenic, knock-out 마우스 등의 방법으로 자연계에 존재하지 않던 질환모델동물이 작출되고 있다.

이러한 질환모델동물을 이용한 실험 시에는 동물에서 보이는 특정한 질환은 사람에서 보이는 질환과 부분적인 유사성을 갖는 다는 것을 염두에 두어야 한다. 즉 병의 원인, 경과, 증세 및 예방법 등의 모든 것이 동물과 사람간에 모두 일치하지 않는다는 점이다. 그러므로 의도하는 동물실험의 내용이 사람 질환의 어떠한 부분을 밝혀려고 하는지를 분명히 해 두어야 한다.

모델동물을 이용하여 실험을 계획할 때는 몇가지 사항이 고려되어야 한다.

첫째, 특정한 연구를 위하여 반드시 동물실험이 필요하고 사람에게서 그 연구결과를 기대할 수 없는가?

둘째, 적당한 모델동물이 이미 개발되어 있는가?

셋째, 적절한 모델동물이 있다면 연구하려는 내용이 실험동물에서 이미 시도된 적이 있는가?

넷째, 모델동물에서 연구하려는 내용이 사람의 질환과

얼마만한 개연성 및 연관성이 있는가?

다섯째, 사람과 모델동물과의 차이점을 극복하고 동물실험에서 얻은 결과를 설명해줄 만한 요인은 무엇인가?

여섯째, 실험기간 동안 모델동물의 사육 유지 및 실험적 처치가 가능한가?

성공적인 연구성과를 기대하기 위해서는 위의 사항이 고려된 뒤 실험을 계획하고 진행하여야 한다.

GEM 마우스의 활용

유전자 변형 마우스(Genetically modified mouse, 이하 GEM)은 genetically engineered mouse로서 GMM으로도 불리운다. 유전자의 기능을 과발현하거나 적중시켜서 제한한 모델동물로서 암 관련 연구 분야에서도 활발하게 사용되고 있다. 특히 기존에는 신약을 개발하고 이러한 신약의 안정성 검사 및 약리적인 유효성 검사에 마우스를 비롯한 실험동물이 사용되는 빈도가 높았다면 최근에는 유전자 변형 마우스를 이용하여 유전자의 기능을 검증하고, 신약의 분자 TARGET을 발굴할 뿐 아니라, GEM을 이용하여 약물의 안정성 검사까지도 하는 추세이다. 더욱이 미국 Foundation for Biomedical Research(FBR)의 총재는 “GEM은 인간 질병을 극복하려는 전투의 선봉에 있으며, GEM의 사용 없이는 Human genome project는 완전히 비실용적이다.”라고 천명함으로써 그 동안 마우스는 신약 개발의 일부 도구로 인식되던 수준에서 벗어나 신약 개발의 핵심적

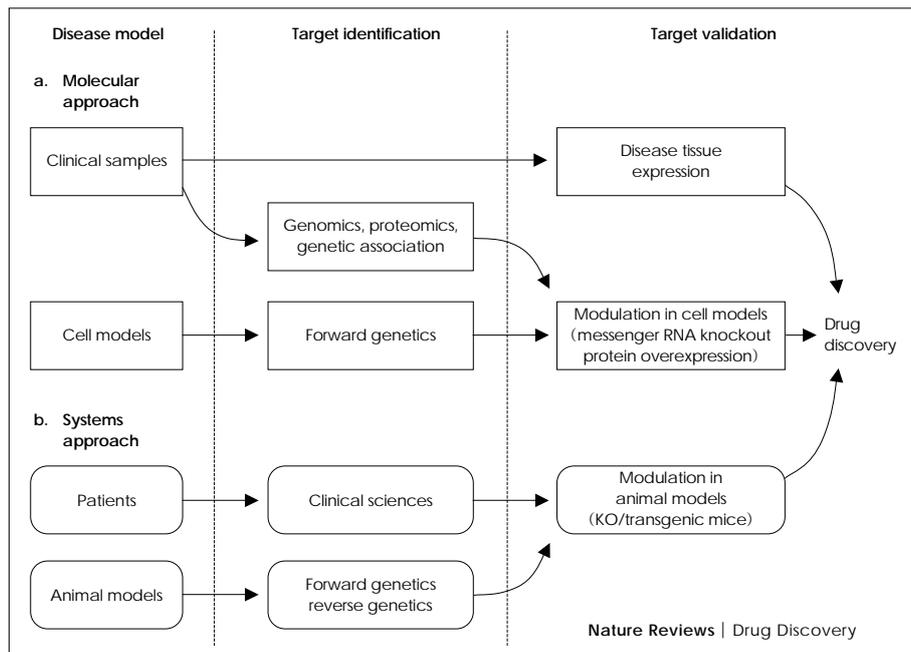


Fig. 2.

인 요소로 인식되고 있다.

GEM은 유전자를 과발현 시키거나(transgenic), 유전자의 정상적인 발현을 억제(knock-out) 마우스를 말한다. 1982년 사람의 성장 호르몬을 마우스에서 과발현 시켜서 얻은 최초의 transgenic mouse 이래로 최근까지 급속하게 GEM을 이용하는 연구가 증가하고 있다.

동물모델은 분자적 접근 방법에서 신약개발 표적이 정해진 뒤에 개발되어 신약개발 표적의 유효성을 validation 하는 방법이 주로 사용되었다면 system 접근 방법에서는 신약개발의 표적 발굴 단계부터 동물모델이 사용되고 있다. 이러한 GEM을 이용한 신약 개발 전략은 매우 경제적인 가치 또한 이는 것으로 전망되고 있다. 한국신약개발연구조합(1999)에 의하면 신약 1개의 경제적 가치는 연간 5~40 억불 판매에 순이익 연간 1~15억불 을 얻을 수 있는 최고의 부가가치 창출 상품으로 추정되고 있으며, 이를 환산해보면 유전자변형마우스를 이용한 신약타겟 발굴은 신약 1개당 1조원 이상의 가치로 잠정적으로 추정할 수 있다.

최근 동물실험은 이제 실험동물을 단순히 사육하여 실험에 사용하는 것보다는 하나의 실험동물에서 적절하고 합리적인 실험결과를 완전하게 뽑아내는 것으로 목표로 하고 있다. 더욱이 Post-genome 시대의 유전자 기능해석을 위한 중요한 수단으로 실험동물이 더욱더 각광받고 있다. 적절한 질환모델의 보유 및 개발과 이를 이용한 질환원인의 유전적 해석이 더욱더 요구되고 있다.

References

1) 성제경: 실험동물의 유전적 관리. 대한의학협회지. 1996;39 (9): 1054-1060

2) Chang-Hoon Kim, Do Kyun Kim, Seung Jin Choi, Kun Ho Choi, Kyoung Seob Song, Janghoon Chi, Ja Seok Koo, Seung Yong Hwang, Joo-Heon Yoon, Je Kyung Seong: *Proteomic and transcriptomic analysis of interleukin-1 α treated lung carcinoma cell line. Proteomics. 2003;3 (12):2454-2471*

3) Jong-Min KiM, Young-Min Yun, Seung Hyun Oh, Dong-Woo Chang, Ji-Young Park, Yeo-Sung Yoon, Kil-Soo Kim, Oh-Kyung Kweon, Je Kyung Seong: *Fas-mediated apoptosis is not essential for cutaneous wound healing in mice. Kor J Lab Anim Sci. 2001; 17 (3):225-235*

4) Lim HW, Lee JE, Shin SJ, Lee YE, Oh SH, Park JY, Seong JK, and Park JS: *Identification of differentially expressed mRNA during pancreas regeneration of rat by mRNA differential display. Biochem Biophys Res Commun. 2002;299 (5):806-812*

5) Ryu JH, Kim SJ, Kim SH, Oh CD, Hwang SG, Chun CH, Oh SH, Seong JK, Huh TL, Chun JS: *Regulation of the chondrocyte phenotype by beta-catenin. Development. 2002;129 (23):5541-5550*

6) Hwu Y, Tsai WL, Je JH, Seol SK, Kim B, Margaritondo G, Lee KH, Seong JK: *Synchrotron microangiography with no contrast agent. Phys Med Biol. 2004;49:501-508*

7) YH, Kim H, Seong JK, Yu DY, ChoH, Lee MO, Lee JM, Ahn Y, Kim SJ, Park JH: *Hepatitis B virus X protein modulates peroxisome proliferator-activated receptor gamma through protein-protein interaction. FEBS Lett. 2004;557 (1-3):73-80*

8) Park JY, Seong JK, Paik YK: *Proteomic analysis of diet-induced hypercholesterolemia mice. Proteomics. 2004;4:514-523*