

동물학 논문

사람세포의 노화와 불사화 (Ageing and lifespan of human somatic cells)



김진경

1991년 대구대 공과대 생물공학과(공학사)
 1994년 일본 히로시마대 의학부 종합약학과(약학석사)
 1997년 일본 히로시마대 의학부 종합약학과(약학박사)
 1997년-1998년 충남대 암공동연구소(박사후 연구원)
 1998년-2000년 일본 과학기술진흥사업단(연구원)
 현재 포천중문의과대 조교수

요약

사람의 체세포가 분열수명에 한계가 있다는 것은 1960년대 초기에 보고되었으며 이것은 artifact가 아니며 세포자신이 가지는 프로그램에 의한 것이 보고된 것은 최근의 일이다. 그러나 이 프로그램 안에 체세포가 실제로 증식을 정지하는 시기, 모든 세포노화의 타이밍이 어떻게 설정되는가? 에 대해서는 아직 알 수 없다. 한편 노화세포가 왜 증식할 수 없는가? 에 대해서는 세포주기를 조절하는 유전자에 관한 최근의 연구에 의해 상당부분 밝혀졌다. 또한 분열회수를 인식하는 분열시계의 진행은 세포증식을 억제하는 유전자의 발현을 촉진하여 증식을 정지시킨다. 분열시계를 정지시킨 세포는 기본적으로 무한히 분열하는 것이 가능하다. 분열시계를 정지시키는 주역은 telomerase이다. 정상세포에서는 생식소(生殖巢)에 존재한다. 대부분의 정상체세포, 세포조직에는 없으나 대부분의 암에서 존재한다. 본 논문에서는 전반부에 노화를 후반부

에 암에 관해서 분자세포생물학 차원에서 최근 연구성과를 중심으로 살펴보고자 한다.

서론

사람의 정상체세포를 배양하면 분열가능회수에 한계를 가진다는 사실은 1960년대에 보고되었다(Hayflick L, Moorehead PS, 1961 ; Hayflick L, 1965). 그러나 무한히 증식할 수 없는 성질이 부적합한 배양조건 때문이 아니고 세포자신이 가지는 성질에 의한 것으로 이해된 것은 최근의 일이다. 즉 진행세포가 가지는 linear DNA는 복제시 말단부분의 telomere DNA가 단축된 결과 염색체의 안정성이 상실되어 세포의 생존이 유지되지 않는다는 사실이 명확해졌으며 이것이 체세포의 분열가능회수의 절대적인 한계인 것으로 알려져 있다. 체세포의 분열가능회수는 세포자신이 미리(아마 발생과정의 어느 시기) 프로그램하고 있다. 분열수명이 나타나지 않는 단세포의 진행세포는 telomere DNA를 연장하는 효소인 telomerase를 가지기 때문에 telomere DNA가 단축되지 않는다. 주의하지 않으면 안 되는 것은 정상체세포를 배양할 때 보여지는 분열가능회수의 한계(분열수명, 세포노화)는 telomere DNA가 한계까지 단축되기 이전의 단계인 것이다. 현재 이 단계는 M1기(mortality 1 stage)라 불린다. SV40 등으로 transform된 세포는 정상세포의 분열수명을 넘어 증식을 계속하지만 결국 형태적으로 이상한 세포가 증가하여 사멸된다. 이 단계에는 telomere DNA가 기능의 한계까지 단축되어 있으며 염색체의 이상이 급속히 증가한다(Shy JW, Wright WE, Werbin H, 1991 ; Counter CM, et al, 1992). 이 단계는 M2기(mortality 2 stage)라 불린다(그림 1 a, b). 체세포의 분열가능회수의 절대적인 한계는 M2 기이며 이것은 미리 프로그램되어 있지만 정상세

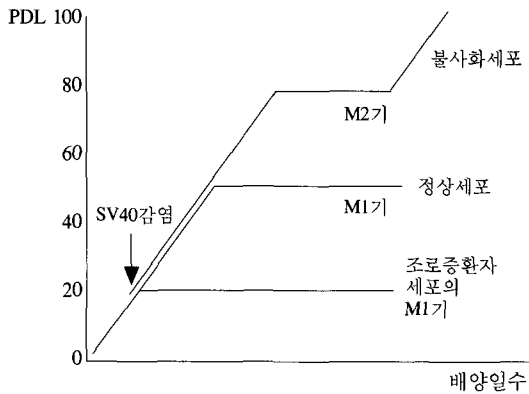


그림 1. a. 체외에서의 사람세포의 노화와 불사화
PDL : population doubling level

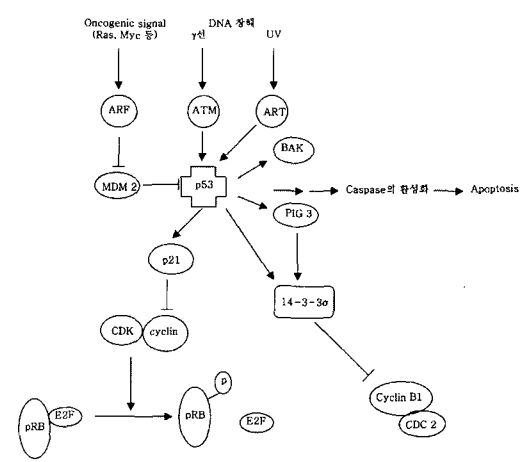


그림 2. p53, p21과 p16 family에 의한 세포주기의 제어

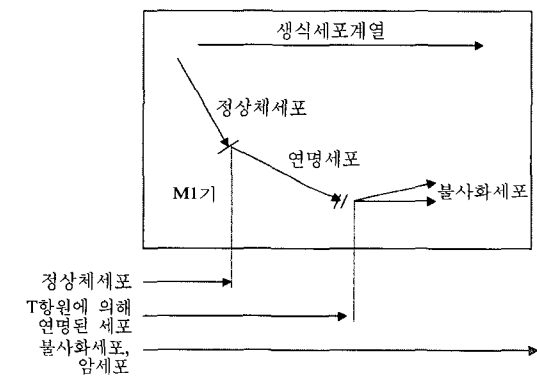


그림 1. b. 분열회수의 증가와 telomere DNA의 단축

포의 분열수명인 M1기의 타이밍이 어떻게 결정되는가? 에 대한 실험적인 근거는 없다. 여기서는 세포가 분열을 계속한 결과 증식을 할 수 없게 되는 M1기(세포노화)의 과정과 불사화에 대해서 현재까지 알려진 사실과 이후에 연구 되어야할 부분에 대해 소개하겠다. 한편 표현의 문제로서 여기서 말하는 분열가령(分裂加齡)이란 분열회수가 늘어가는 과정(사람의 연령증가와 같은 의미)으로, 분열수명이란 분열가능 한 한계(사람의 수명과 같은 의미)로서 표현하겠다.

본 론

1) M1기
정상체세포의 분열수명의 한계를 M1기라 부르며 이러한 세포를 노화세포라 한다. 섬유아 세포의 경

우, 노화세포는 증식할 수 없지만 배양액교환을 계속하면 1년 이상 생존하며 즉시 죽지 않는 것이 특징이다. 세포융합 등의 실험결과 노화세포의 표현형(증식불능)은 유아세포(증식가능)에 대해 우성이며 노화세포에는 증식을 억제하는(DNA합성유도를 억제)인자가 축적되어있는 것으로 여겨진다(Ide T, et al, 1983 ; Tsuji Y, et al, 1984). 하나의 후보는 p21(waf1/cip1/sdi1)으로 이것은 분열수명의 종말에 발현이 급격히 높아지며, Cyclin-Cdk복합체에 결합하여 그의 단백질인산화효소활성을 저해한다(Harper JW, et al, 1993) . 그 결과 Rb단백질이 인산화 되지 않아 S기 개시에 필요한 유전자의 발현이 억제되는 것으로 여겨진다. p21의 발현정도는 p53단백질에 의해 조절되지만 분열수명의 증가와 함께 발현이 증가하는 것은 p53에 지배되지 않는 듯하다(Atandia P, et al, 1995 ; Alison C, Lloyd, 2000.).

p21은 후보의 하나이며 증식억제에 관여하는 유전자는 이 이외에 상당히 많은 듯하다(Amancio C, et al, 2000). 이러한 유전자의 검색과 함께 분열수명의 증가와 함께 유전자가 발현 상승하는 기구에 대한 연구가 집중되고있다(그림 2).

2) 연명

노화세포는 어떠한 증식인자를 부여하여도 증식(DNA합성)을 개시할 수 없지만 DNA암비루스의 감염 또는 암유전자의 도입에 의해 DNA합성을 개

시한다. DNA 암비루스의 암유전자 산물은 p53와 Rb단백질에 결합하여 이들 단백질의 증식억제활성을 저해한다. 유아세포에 미리 SV40 등으로 transform 해 두면 정상세포의 분열수명의 한계(M1기)를 넘어 증식을 계속 할 수 있다(분열수명의 연명, 연장). SV40의 암유전자(T항원)로 transform한 세포의 경우, 정상세포의 분열수명의 이전 단계에서 T항원을 불활성화시키면 정상세포의 표현형을 나타내며 포화밀도까지 잘 증식하지만 정상세포의 분열수명을 넘은 단계(연명한계)에서 T항원을 불활성화시키면 즉시 증식을 정지하며 정상 노화세포의 표현형을 나타낸다(Ide T, *et al.*, 1984 ; Tahara H, *et al.*, 1995). p21 등의 증식억제유전자는 연명증식중의 세포에서도 분열회수의 증가와 함께 발현이 계속 상승한다. 섬유아세포에서는 Rb와 p53가 불활성화되지 않으면 M1기를 넘을 수 없지만 유선(乳腺)상피세포에서는 p53만을 불활성화시키는 것으로 M1기를 넘어 연명한다. 그리고 Keratinocyte의 경우는 Rb만을 불활성화시키는 것으로 M1기를 넘어 연명한다(Tahara H, *et al.*, 1995). 다른 세포에 있어서도 이러한 차가 있을지 모르며 여기에 대해서는 아직 알 수 없다.

3) M2기

이러한 연명세포도 언젠가 죽으며 영구적으로 증식하는 것은 극히 드물다. 연명세포의 증식한계를 M2기라 한다. M1기의 세포는 증식 할 수 없지만 장기간 생존할 수 있는 것에 비해, M2기에서는 핵과 세포형태의 이상이 두드러지며 결국 세포는 죽는다. 이것은 정상세포·연명세포가 분열증식을 함과 동시에 telomere DNA가 한계까지 단축되어 염색체의 안정성을 잃기 때문이다. 섬유아세포와 keratinocyte를 T항원으로 연명시킨 경우뿐만 아니라 B림프구를 EB비루스로 연명시킨 경우에도 telomere DNA의 단축이 보여진다. 즉 체세포에서는 telomere DNA의 단축은 불가피하며 암유전자에 의해 암세포와 같은 표현형이 부여된 경우에도 telomere DNA가 단축되며 M2기에 도달한다. 이것이 체세포의 분열가능회수의 절대적인 한계를 결정한다(Harley CB, *et al.*, 1990 ; Lindsey J, *et al.*, 1991). 다시 말해 세포가 지금까지 몇 회의 분열을 하였는지 앞으로 몇 회 분열 할 것인가를 telomere

DNA가 계측(計測)한다는 것이다(그림1 b).

4) 무한분열수명화(불사화)

사람세포의 경우에는 극히 드물게 연명세포 중에 영구히 증식 할 수 있는 불사화세포가 얻어진다. 암조직에서 수립된 배양세포, 배양계에서 수립된 배양세포의 불사화된(라고 판단되는)세포에서는 극소수를 제외하고 telomerase의 발현을 보인다.

Telomerase가 telomere DNA를 합성하기 때문에 증식을 반복하여도 telomere DNA의 길이는 유지되어 분열회수의 한계가 없어지게 된다. 그러나 정상체세포의 거의 모든 조직과 배양세포에 telomerase의 활성이 보이지 않는다. 다만 체세포 중에서 간(幹)세포에는 활성이 있을 가능성이 있다. 여기에 대해서 생식세포에는 telomerase활성이 보이며, 정자에서는 연령이 높아도 telomere DNA가 단축되지 않는다(Blackburn EH, 1994). 사람에서는 아직 증명되지는 않았지만 수정란에서 발생, 성장의 과정을 통하여 형성된 생식세포계열에는 telomerase가 계속 발현하고 있을 것으로 기대된다. 생식세포는 기본적으로 무한증식의 능력을 가지며 세대가 바뀌어도 telomere DNA가 단축되지 않는다. 체세포로 분화하는 군(群)의 세포만이 telomerase발현이 억제되어 유한의 분열수명을 나타내는 것으로 여겨지지만 억제 시기와 필연성에 대해서는 아직 알 수 없다(김 진경, 1997).

이상과 같이 적어도 사람에 한해서 유한의 분열수명을 가지는 세포(정상체세포)에는 telomerase의 활성이 보이지 않으며 무한의 분열수명을 가지는 세포(생식세포와 암세포)는 telomerase의 활성을 보인다는 관계는 거의 성립한다.

5) M1기와 M2기의 의존성과 독립성

Telomere DNA의 단축은 체세포의 분열가능회수의 절대적인 한계를 결정한다. Telomere DNA가 한계까지 단축되어 세포가 생존할 수 없는 단계가 M2기이다. 그러나 정상세포의 분열가능회수의 한계인 M1기는 telomere DNA가 한계까지 단축되기 이전이다. M1기의 시기는 어떻게 결정될까? 정상세포의 분열수명(M1기까지 앞으로 몇 회 분열가능할까?)은 세포공여자의 연령과 역 상관관계를 보이지만 같은 연령의 사람으로부터 얻어진 세포에서

도 그의 분열수명에는 큰 차(개체별)가 있다. 또 정상세포의 telomere DNA의 길이도 세포공여자의 연령과 역 상관의 관계가 있지만 이것도 같은 연령의 사람으로부터 얻어진 세포에서도 telomere DNA의 길이에는 큰 차이를 보인다. 그러나 분열수명의 길이와 telomere DNA길이의 사이에는 차가 거의 없는 상관관계가 성립된다. 이것은 telomere DNA의 길이가 M1기의 시기를 결정하는 중요한 역할을 시사한다. 유전병인 조로증환자의 세포는 같은 연령의 정상세포에 비해 분열수명이 짧으며 telomere DNA길이도 짧다. Telomere DNA가 한계까지 짧아진 상태가 M2기이며, 세포는 죽지만 도중에 일정한 길이까지 단축되었을 때 M1기를 나타내는 기구가 설정되어있는 듯하다. 이것이 사실이라면 M1기와 M2기는 telomere DNA길이에 의존하는 것이 된다.

한편 telomerase가 발현하여 telomere DNA가 유지되는 것만으로는 세포가 불사화되지 않는다. Telomere가 단축되지 않는 것은 불사화의 필요조건인 하나이지만 이것만으로는 불사화의 충분조건은 아니다. T항원에 의해 M1기를 넘은 후 telomerase가 발현하여 세포가 불사화된 후에도 T항원을 불활성화시키면 증식을 정지하여 정상의 노화세포와 같은 형태가 된다. 이 경우에도 telomerase활성은 보인다. 이것이 의미하는 것은 M1기를 넘는 기구와 M2기를 넘는 기구는 독립되어 있으며 양자가 동시에 성립하지 않으면 불사화(무한증식)되지 않는다는 것이다.

6) 사람 이외에서는 어떠한가?

단세포생물인 원생동물과 효모에는 telomerase가 발현하며 기본적으로 무한증식의 능력을 가진다. 원생동물 중에도 영양핵(대핵)과 생식핵(소핵)을 가지는 섬모충류의 대핵은 유한의 분열수명을 보이기 때문에 증식을 계속하기 위해서는 때때로 접합을 통해 대핵을 다시 만들 필요가 있으므로 이것은 telomerase의 문제가 아닌 듯하다.

그럼 생식세포와 체세포로 분화하고 있는 다세포생물에서, 체세포에는 telomerase활성이 없어 유한의 분열수명을 가진다고 단정해도 좋을까? 많은 다세포생물에 관해서 체세포에 telomerase가 발현하고 있는지 어떤지에 대해서는 아직 알 수 없다. 그

러나 극단적인 예일지 모르지만 삼목(귀뚜아)으로 무한히 증식이 가능한 듯한 식물(예를 들면 여름 굴의 대부분은 100년 정도 식목에서 증식한다)의 체세포에 분열수명이 있다고 생각하기 힘들다. 동물계에서도 출아와 같은 무성적(無性的)인 방법으로 개체를 늘이는 것과 개체에 부분적인 절단이 발생하여도 재생하는 예는 얼마든지 있다. 정말로 무한히 증식하는지 어떤지에 대해서는 알 수 없지만 적어도 사람의 체세포의 경우와는 큰 차이를 보인다.

어류의 체세포는 분열수명을 나타내지 않는다. 한편 닭의 배(胚)섬유아세포는 불사화한 예가 없는 것으로 알려져 있다. 포유류의 경우 거의 모든 체세포에 분열수명이 보여지지만 배양하는 것만으로 비교적 쉽게 불사화세포가 얻어지는 예가 많은 것으로 알려져 있다.

Mouse의 섬유아세포에서는 초대 배양세포에 telomerase가 발현한다. Mouse의 불사화세포는 많은 경우 p53가 불활성화되어 있으며 그로 인해 M1기를 넘을 수 있고, telomerase가 쉽게 발현하여 M2기도 넘을 수 있을지 모른다. 불사화세포를 획득하는 빈도가 극히 낮은 사람세포와는 큰 차이를 보인다. 극히 일부의 결과(현재까지 연구되어진 것이 전체적으로 보면 일부에 지나지 않는다)로서 결론을 내리는 것은 어렵지만, 현재까지 알려진 결과를 종합하면 체세포의 유한분열수명 (사람 체세포의 경우)은 엄격하게 보존되어 있는 것으로 사료된다 (그림3).

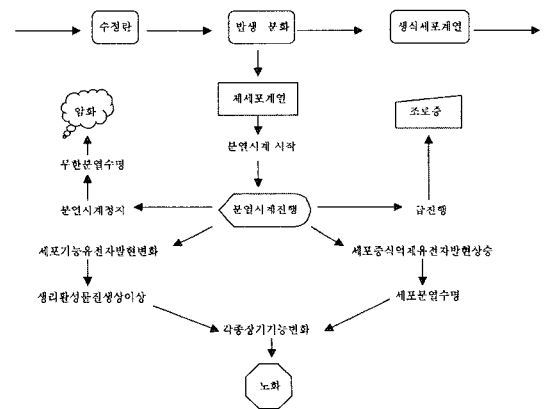


그림 3. 분열시계에 의한 노화, 암화, 조로증의 진행

장래의 전망

이상으로 사람의 정상체세포에서 나타나는 분열수명(세포노화, M1기)에 대한 최근의 성과를 서술하였다. 분열가령의 진행과 함께 결국 증식을 정지하는 기구에 대해 분자 level로서의 해석진행에 대해 이해될 것이다. 현재까지 알려진 것은 극히 일부이지만 어느 부분을 연구하여야 할 것인가에 대한 당면의 목표가 보이는 것이 몇 년 전과의 큰 차이점이다. 개인적인 관심으로는 세포의 분열가령과 함께 발현이 상승하는(또는 저하하는)생리활성물질에 관한 것이다. 분열가령과 세포노화라는 연구 영역 중 지금까지 주목되지 않은 부분이지만 사람의 노화현상의 진행, 노인성환자의 발생과 진행에 이들이 관여하고 있을 가능성이 매우 크다.

간(幹)세포에는 분열수명이 없다(불사화 하고 있다)라는 문제는 아직 해결되지 않고 있다. Telomere DNA를 연장하는 것에 의해 그의 단축을 방지시키는 효소인 telomerase의 발현이 사람의 배양세포에서는 불사화세포에만 보여지지만 유한분열수명의 정상세포와 transform세포에서는 보여지지 않는 점, 사람체내의 조직에는 생리세포와 암조직에는 보여지지만 다른 정상세포에서는 보여지지 않는다는 사실을 알았다. 체세포 중에서는 예외적으로 골수와 미소립프구에 약하지만 telomerase활성을 보이는 것으로 보고되어 이들의 세포에는 분열수명이 없을 가능성이 있다. 또 keratinocy 등의 상피계 세포에도 간(幹)세포를 농축하면 약하지만 telomerase활성을 보였다. 그러나 한편으로 골수의 간(幹)세포 분획(分割)의 telomere DNA가 분열가령과 함께 단축된다는 보고가 있으며 분열수명의 유무에 대해서는 결착이 보여지지 않는다. 여기서는 불사화에 관여하는 것으로 telomerase에 관해서 주로 서술하였으나, 이 이외에 불사화에 관여하는 유전자는 많을 것으로 예상된다(Pereira-Smith OM, Smith JR, 1988). 그 중의 하나의 후보가 *imup-1*, 2이다(김 진경, 카도 세이시, 2000). 이 유전자에 대한 해석은 현재 진행중이다(Kim JK, et al, 2000).

참 고 문 헌

- Alison C, Lloyd (2000) p53 : only ARF the story. *Nature Cell Biology* 2:E48-E50.
- Amancio C, James D, Hudson, Cathy M, Price, David H, Beach (2000) p16 and p19 act in overlapping pathways in cellular immortalization. *Nature Cell Biology* 2:148-155.
- Atandia P, Wong H, Gankavtser I, et al, 1995 Increased activity of p53 in senescing fibroblasts. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 92:8348-8352.
- Blackburn EH (1994) Telomerase : no end in sight. *Cell* 77:621-623.
- Counter CM, Avillion AA, LeFeuvre CE, Stewart NG, Greider CW, Harley CB, Bacchetti S (1992) Telomere shortening associated with chromosome instability is arrested in immortal cells which express telomerase activity. *The EMBO J.* 11:1921-1929.
- Harley CB, Futcher AB, Greider CW (1990) Telomeres shorten during ageing of human fibroblasts. *Nature* 345:458-460.
- Harper JW, Adami GR, Wei N, Keyomarsi K, Elledge S J (1993) The p21 Dck-interacting protein Cip1 is a potent inhibitor of G1 cyclin-dependent kinase. *Cell* 75:805-816.
- Hayflick L, Moorehead PS (1961) The serial cultivation of human diploid cell strains. *Exp. Cell Res.* 25: 585-621.
- Hayflick L (1965) The limited *in vitro* lifespan of human diploid cell strains. *Exp. Cell Res.* 37:614-636.
- Ide T, Tsuji Y, Ishibashi S, Mitsui Y (1983) Reinitiation of DNA synthesis in senescent human diploid cells by infection with simian virus 40. *Exp. Cell Res.* 143:343-349.
- Ide T, Tsuji Y, Nakashima T, Ishibashi S (1984) Progress of aging in human diploid cells transformed with a *tsA* mutant of simian virus 40. *Exp. Cell Res.* 150:321-328.

- Kim JK, Ryll R, Ishizuka Y, Kato S (2000) Identification of cDNAs encoding two novel nuclear proteins, IMUP-1 and IMUP-2, upregulated in SV40-immortalized human fibroblasts. *Gene* 257:327-334.
- Lindsey J, McGill NI, Lindsey LA, Green DK, Cooke HJ (1991) *In vivo* loss of telomeric repeats with age in human. *Mut. Res.* 256:45-48.
- Pereira-Smith OM, Smith JR (1988) Identification of four complementation group. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 85:6042-6046.
- Shy JW, Wright WE, Werbin H (1991) Defining the molecular mechanisms of uman cell immortalization. *Biochim. Biophys. Acta.* 1072:1-7.
- Tahara H, Kamada K, Sato E, Rsuyama N, Kim JK, Hara E, Oda K, Ide T (1995) Increase in expression levels of interferon-inducible genes in senescent human diploid fibroblasts and in SV40-transformed human fibroblasts with extended lifespan. *Oncogene* 11: 1125-1132.
- Tahara H, Sato E, Noda A, et al, (1995) Increase in expression level of p21 sdi 1/cip 1/waf 1 with increasing division age in both normal and SV40-transformed human fibroblasts. *Oncogene* 10:835-840.
- Tsuji Y, Ide T, Ishibashi S, Nishikawm K (1984) Loss of responsiveness in senescent human TIG-1 cells to the DNA synthesis-inducing effect of various growth factors. *Mech. Ageing Develop.* 27:219-232.
- 김진경 (1997) 돼지정소를 이용한 telomerase의 정제. 일본히로시마대학 박사학위.
- 김진경, 카또 세이시 (2000) 사람 핵단백질을 code 하는 cDNA. 일본(특허).
- 김진경, 정형민, 차광렬 (2001) SV40에 의해 발현이 상승하는 신규 핵단백질인 IMUP-1 및 이를 암호화하는 cDNA. 한국(특허).