

Transthyretin in a PKU Mouse Model

박주원 · 이미희 · 최진옥 · 박혜영 · 정성철

이화여자대학교 의학전문대학원 생화학교실

연구배경

페닐케톤뇨증 (PKU)은 상동염색체 열성 유전병으로 페닐알라닌 (Phenylalanine)을 타이로신 (Tyrosine)으로 변환하는 페닐알라닌 수산화효소 (Phenylalanine hydroxylase)의 결핍으로 인해 생긴다. 과다하게 축적된 페닐알라닌은 연한 담갈색 피부와 모발, 지능 장애, 경련 등의 신경 행동학적 이상을 야기한다. 본 연구에서는 페닐알라닌이 신경손상을 일으키는 병리 현상을 밝히고 신경손상과 관련된 생화학적 지표를 찾고자 페닐케톤뇨증 쥐 모델 (BTBR-*Pah*^{enu2})의 뇌 유전자 발현을 분석하였다.

실험방법

마이크로어레이 (Microarray) 실험방법을 이용하여 페닐케톤뇨증 쥐 모델의 뇌 유전자 발현 변화를 분석하였고, 변화된 유전자 발현은 실시간 PCR (Real-time PCR)과 웨스턴 블로팅법 (Western blot)으로 확인하였다. 신경학적 손상과 관련된 지표를 찾기 위해 웨스턴 블로팅법을 이용하여 쥐 혈청에서 Transthyretin (TTR)의 발현을 확인하였고, 또한 TTR이 주로 간에서 합성 되기 때문에, 간에서의 TTR 발현을 확인하였다. 페닐알라닌과 페닐알라닌 대사체인 페닐피루브산 (Phenylpyruvic acid)을 각각 처리한 HepG2 세포에서 TTR의 발현 변화를 살펴본 후, *Ttr* 유전자의 전사적 조절을 확인하기 위해 루시퍼라아제 실험 (Luciferase assay)을 시행하였다. Mitogen activated protein kinase (MAPK) 활성화 역시 웨스턴 블로팅법을 이용해 확인하였다.

실험결과

페닐케톤뇨증 쥐 모델의 뇌 유전자 발현을 분석한 결과 transthyretin (*Ttr*), sclerostin domain containing 1 (*Sostdc1*), alpha-Klotho (*Kl*), prolactin receptor (*Prlr*), early growth response 2 (*Egr2*)의 발현이 증가되어 있었다. TTR이 페닐케톤뇨증 쥐 뇌에서의 발현이 증가한 것에 반해, 페닐알라닌 제한 식이를 시행하지 않았음에도 불구하고 페닐케톤뇨증 쥐의 간 조직과 혈청에서의 TTR 발현은 감소하였다. HepG2 세포에 페닐알라닌을 처리하자 TTR의 발현이 시간 비례적으로 감소하였다. 마찬가지로, 0.9 mM 페닐알라닌과 1.2 mM 페닐피루브산을 HepG2 세포에 처리하자 *Ttr* 유전자의 전사가 감소하였으며, TTR promoter 부위의 전사 활성도가 떨어졌다. 페닐알라닌과 페닐피루브산을 HepG2 세포에 처리하자 Jun NH2-terminal kinase/stress-activated kinase (JNK/SAPK)의 활성이 증가하였고, 핵 단백질 HNF4 α 는 감소하였다. 이와 반대로, 0.9 mM 페닐알라닌과 1.2 mM 페닐피루브산을 PC12 세포에 처리하자 extracellular signal regulated kinase 1/2 (ERK1/2)의 활성이 증가되었으며, 페닐케톤뇨증 쥐 뇌간 (Brain stem)에서의 ERK1/2의 활성 역시 증가되어 있었다.

결 론

본 연구는 페닐케톤뇨증(PKU)의 병리기전에 *Ttr*, *Sostdc1*, *Kl*, *Prlr*, *Egr2*가 관련되어 있음을 암시하며, 페닐알라닌과 페닐알라닌 대사체인 페닐피루브산이 조직 특이적으로 MAPK 활성화에 영향을 미친다는 것을 밝혀냈다. 이러한 조직 특이적 MAPK 활성화는 페닐케톤뇨증 쥐 모델에서 transthyretin을 포함한 여러 유전자들이 조직 특이적으로 발현하는 것에 기여할 것으로 생각된다.