

가상세포를 활용한 항염증 효능 응용모델 연구

김 철¹, 예상준¹, 김진현¹, 김상균¹, 장현철¹, 김안나¹, 남기엽², 송미영¹

¹한국한의학연구원 정보연구센터, ²(사)분자설계연구소

ABSTRACT

Application model research on visualizing anti-inflammation effects by using the virtual cell

Chul Kim¹, Sang-Jun Yea¹, Jin-Hyun Kim¹, Sang-Kyun Kim¹, Hyun-Chul Jang¹,
An-Na Kim¹, Ky-Youb Nam², Mi-Young Song¹

¹Information Research Center, Korea Institute of Oriental Medicine

²Research Institute of Bioinformatics & Molecular Design

Objective : The purpose of this study was to develop the simulator which can analyze the anti-inflammatory effects of herbs based on e-cell, or the virtual cell.

Method : We have ensured the medical herbs and its active compounds by investigating the oriental medicine records and NBCI(Biomedicine database). Also we have developed the web-based search system for confirming database related to anti-inflammation. We have researched the cell signal pathway related with inflammatory response control and established the mathematical model of herb interaction on selected signal pathway in e-cell. Finally we have developed the prototype which can confirm the result of this model visibly.

Results : We constructed the database of 62 cases of anti-inflammatory active compounds in

-
- 교신저자 : 송미영
 - 대전시 유성구 전민동 엑스포로 483 한국한의학연구원 정보연구센터
 - Tel : 042-868-9454 Fax : 042-861-9421 E-mail : smyoung@kiom.re.kr
 - 접수 : 2010/ 10/ 18 수정 : 2010/ 11/ 08 채택 : 2010/ 11/ 30

61 cases of medical herbs which have been known anti-inflammation effects in the paper, 16 cases of inflammatory factors, 10 cases of signal pathways related with inflammatory response and 6,834 cases of URL(Uniform Resource Locator) of referenced papers. And we embodied the web-based research system, which can research this database. User can search basic and detailed information of medical plants related with anti-inflammatory by using information system. And user can acquire information on an active compounds, a signal pathway and a link URL of related paper. Among investigated ten pathways, we selected NF- κ B, which plays important role in activation of immune system, and we searched the mechanisms of actions of proteins which could be components of this pathway. We reduced total network into IKK- I κ B - NF- κ B, and completed mathematic modeling by using ordinary differential equations and response variables of I κ B-NF- κ B signaling model network which is suggested by Baltimore Group.

We designed OED(Ordinary Differential Equation) for response of IKK, I κ B, NF- κ B in e-cell's cytoplasm and nucleus, and measured whether an active compound of medicinal plants which is inputted by an user would have a anti-inflammation effects in obedience to change in concentration over time. The proposed model was verified by using experimental results of the papers which are listed on NCBI.

Key word : anti-inflammation, e-cell, NF- κ B, simulator, Signal pathway

1. 서 론

선진국들은 서양의학에서 해결할 수 없는 많은 의학적 문제들에 대한 해법을 전통의학에서 찾으려는 움직임과 함께 전통 의학을 미래 의료산업의 큰 축으로 인식하여 기술개발투자에 많은 예산을 투자하고 있으며, 특히 중국의 경우는 중의학분야를 국가 전략사업으로 육성하고 있다. 미국은 범정부차원에서 보완대체의학(CAM, Complementary & Alternative Medicine)의 육성을 추진하고 있는데, CAM의 치료법 및 관련 제품들의 안전성과 유효

성을 국가가 판단하여 정확한 정보를 제공할 수 있는 시스템을 구축하고 있으며, Botanical Drugs Guidance를 제정('00)하여 전통약물을 이용한 천연물 의약품 시장의 주도권 경쟁에 미리부터 대비하고 있는 상황이다. 또한 세계보건기구(WHO)에서도 전통의학의 긍정적인 효과를 좀 더 과학적으로 검증하고 체계적으로 수립하기 위하여 정책의 수립, 접근성 제고, 합리적 이용의 촉진을 우선적 추진전략으로 설정하고 있다.

이렇듯 전통의학에 대한 중요성이 부각되고 있는 동시에 WHO에서는 전통의학의 과학화를 위해

근거중심(Evidence-Based)에 의한 기술적 지침을 갖추도록 권고하고 있으며, 미국의 경우 만성 및 난치성 질환 치료에 새로운 치료방법으로 과학화와 근거에 입각한 다양한 CAM 연구 및 치료활동을 장려하는 등 전통의학의 과학화 및 효능에 대한 근거확보를 끊임없이 요구하고 있다.

우리나라 한의학에 있어서도 전통의 방제원리를 이해하여 역대 기성방들을 재평가하고 그 효능 및 새로운 응용법을 발굴하여 우수한 치료제로 재개발하는 연구, 방제의 현대적인 재해석 연구, 제형·보관·용법 연구, 객관적이고 과학적인 근거 마련을 위한 실험연구 등 방제학의 폭넓은 연구의 필요성이 어느 때 보다도 대두되고 있다¹⁾.

이러한 추세에 따라 최근 미국 및 일본에서는 직접실험을 통한 신약개발의 리스크를 줄이면서도 신약과 같은 과급효과를 낼 수 있도록 하는 약물 전달시스템(DDS, Drug Delivery System)기술 확보가 중요한 연구분야로 부각되고 있다.

DDS는 부작용을 최소화하고 효능 및 효과를 극대화시켜 필요한 양의 약물을 효율적으로 전달할 수 있도록 제형을 설계하여 약물치료를 최적화하는 기술인데, 이 기술의 일환으로 가상세포 또는 가상조직에 대한 연구들이 최근 수행되어 지고 있다.

본 연구는 이러한 가상 세포 기술을 도입하여 염증 질환에 대한 한약 소재의 효능을 예측 및 검증할 수 있는 시뮬레이터의 개발을 목표로 하고 있다. 염증 질환을 선택한 이유는 염증이 각종 질환의 원인과 밀접하게 관련되어, 항염증의 효능이 항알러지, 항아토피, 항암, 항관절염 등 다양한 용도로 응용되므로 실용화를 위한 소재 개발에 용이한 분야이기 때문이다. 따라서 본 연구에서는 시뮬레이터에 입력값으로 사용되어질 약재 DB를 구축하고, 염증반응에 유의하다고 알려진 여러 신호 전달경로 중에서 가장 유의한 세포신호전달 경로를 선정하여 항염증 효능을 가진 한약 소재의 경로내에서 반응을 수학적 모델링 하였으며 그 결과

를 가시적으로 확인할 수 있는 프로토타입 구축하였다.

II. 연구 방법

첫 번째 단계인 항염증 효능을 가진 약재 리스트를 추출하기 위한 방법으로서, 한국한의학연구원에서 항염증 효능 탐색 실험을 수행했던 결과와 한의과대학에서 사용되고 있는 본초학 서적에서 염증 질환에 사용되는 약재리스트, NDSL(과학기술정보통합서비스)³⁾에서 제공하는 연구보고서와 논문 검색, RISS(학술연구정보서비스)⁴⁾에서 제공하는 논문 검색을 통해 약재 리스트를 추출하였다.

항염증과 관련된 신호전달경로 정보는 KOSEN(한민족과학기술자네트워크)⁵⁾에 등재된 분석 보고서를 통해 수집하였다. 10종의 신호전달경로 중에서 대표 항염증 신호전달경로를 선정하였다.

실험, 한의학 문헌, 기타 논문과 보고서 데이터를 기반으로 추출된 약용식물 리스트를 Pathway Studio V.7이라는 data mining tool을 활용하여 논문검색 시스템(PubMed⁶⁾, RISS, NDSL)을 대상으로 검색하였으며, 선정된 세포신호전달경로에 영향을 미치는 약용식물의 유효성분, 구조에 관한 정보를 수집하였다. 이렇게 수집된 모든 data를 관리할 수 있는 Database를 구축하였으며, 검색할 수 있는 정보시스템을 구축하였다.

선정 세포신호전달경로 내에 있는 단백질과 입력된 약재의 유효성분의 반응을 설명할 수 있는 수학적 모델을 설계하고, DB에 있는 약재의 유효성분의 구조식을 input으로 처리하여 수학적 모델링 알고리즘을 시간에 따른 농도변화로 처리하여 그래프로 보여줄 수 있는 프로토타입을 구축하였다.

III. 연구 내용

1. 염증 정보 DB 구축 및 검색시스템 구현

오아시스⁷⁾(전통의학정보포털서비스)를 검색된 한국한의학회 연구원의 '한의본초 활용기반 구축' 연구과제의 결과⁸⁾를 이용하여 항염증 효능이 밝혀진 약재 26종에 대한 리스트를 수집하였다.

Macrophage 세포에 한약재와 염증 유도 물질 LPS를 처리한 후 염증 유발 인자인 TNF- α , IL-1, NO, PGE2의 분비량 변화를 assay kit을 이용하여 측정하는 세포기반 분석에 의한 항염증 효능 탐색 결과와 TPA를 처리하여 급·만성 귀부증을 유발한 뒤 부중개선율을 측정하는 염증 동물 모델에 의한 항염증 효능 탐색 결과 항염증 효능이 밝혀진 약재 26종 리스트를 확보하게 되었다(Table 1).

Table 1. 실험을 통해 항염증 효능이 밝혀진 약재 26종

약재명	약재명
황 금	금은화
진 피	백 럽
연 교	방 기
패장근	황 련
해동피(자동)	토복령
해동피(옴나무)	녹 두
대 계	방 풍
들국화	소 계
감 국	양 유
황 백	어성초
고 삼	우 슬
독 활	천 궁
구절초	포공영

11개 한의과대학의 본초학 공동교재로 사용되고 있는 본초학 서적에서 염증 질환에 사용되는 청열조습(淸熱燥濕), 청열망혈(淸熱涼血), 청열해독(淸熱解毒), 활혈거어(活血祛瘀), 청화열담(淸化熱痰), 거풍승습(祛風勝濕), 자보음혈(滋補陰血)등의 효능을 가진 102종의 약용식물 리스트를, NDSL에서 제공하는 연구보고서와 논문 검색, RISS에서 제공

하는 논문 검색을 통해 24종의 항염증 효능이 있는 약용식물 리스트를 추출하였다.

KOSEN에 등재된 항염증 신호전달 경로 분석 보고를 통해 염증 반응과 관련된 세포신호전달 경로에 대한 기초 데이터를 확보하고, Pubmed를 통해 논문 검색 및 분석을 실행하였다. 분석 결과 항염증 신호전달경로 중 NF- κ B 세포 신호전달 경로, Arachidonic acid 대사 네트워크에서 발생하는 COX-2와 PGE2, p38 MAPK 세포 신호전달 경로를 통해 발생하는 염증에 관한 연구가 활발하게 이루어지고 있으며(Table 2), 세 가지 신호전달 경로를 차단함으로써 염증인자들의 발현이 억제되어 항염증 효능을 나타내었다.

Table 2. 신호전달경로 논문검색 건수

염증 신호전달경로	논문건수(PubMed review)
NF- κ B	3,987건
Arachidonic acid	465건
p38 MAPK	223건
JNK	301건
JAK	362건
STAT	405건
IL-17	74건
T lymphocyte	400건
TLR	477건
NOD	140건

시뮬레이터 구현 대상이 되는 신호전달경로를 결정하기 위해서 10종의 신호전달경로 중 NF- κ B 세포신호전달경로를 대표 항염증 신호전달경로로 선정하였다. PubMed에서 NF- κ B에 대해 다룬 전체 논문은 약 39,000건으로 이는 NF- κ B가 많은 연구의 관심 분야임을 말해주며, 염증 반응 과정에서 활성화 되는 전사인자(NF- κ B)와 같은 신호전달 체계가 염증 질환 치료를 가능하게 하는 새로운 표적으로 인지되는 점, 항염제로 널리 사용되고 있는 부신피질 steroid 제제는 I κ B의 발현을 촉진하고, 활성화된 NF- κ B의 작용을 저해하는 두

가지의 기전을 통해 항염 작용을 나타냄이 밝혀진 것, 전사인자 NF- κ B는 발생, 면역반응 등의 정상 생리기능에도 중요하지만, 비정상적인 NF- κ B 활성화는 조절제 개발을 통하여 퇴행성·난치성 질환의 치료제 개발이 가능하므로 현재 의약품 개발의 Target으로서 주목을 받고 있는 점 등이 선정의 사유이다.

실험, 한의학 서적, 기타 논문과 보고서 데이터를 기반으로 추출된 약용식물 리스트에 대하여 논문검색 시스템(PubMed, RISS, NDSL)과 Pathway Studio V.7이라는 data mining tool을 통해 검색하여, NF- κ B 세포신호전달경로에 영향을 미치는 약용식물의 유효성분, 구조에 관한 정보를 수집하였다. 논문 분석 결과 초기에 확보된 약용식물 리스트 152종 중 NF- κ B 경로를 억제함으로써 항염증 효능을 나타내는 것으로 실험결과가 언급된 논문에 포함되는 약용식물이 61종이었다. 그 중 30종의 약제가 NF- κ B 경로를 억제함으로써 항염증 효능을 나타내는 62종의 유효성분을 가지고 있는 것으로 검색 되었다(Table 3).

시뮬레이터에 핵심적으로 사용한 데이터 이외에도 항염증 관련하여 검색하여 추출한 모든 데이터는 DBMS를 통해 관리를 하게 되는데, 관리하고자 하는 데이터의 속성에 따라서, 항염증 약용식물의 정보를 담은 테이블(HERB), 약용식물 성분 중 항염증에 효능이 있는 유효성분의 정보를 담은 테이블(ACTIVE_COMPOUND), 염증을 일으키는 신호전달경로 정보를 담은 테이블(PATHWAY), 신호전달경로 작용을 억제하는 염증조절인자 정보를 담은 테이블(INFLAMMATION), 데이터의 신뢰성을 위한 논문정보를 담은 테이블(THESIS), 약용식물 효능분류 정보를 담은 테이블(HERBCLASS),

관리자를 위한 정보를 담은 테이블(ADMIN)로 구성하여 해당 테이블에 적합한 데이터를 적재하고 각 테이블간 약제 코드를 활용하여 관계형 정보를 구축하였다.

논문과 공개 DB, 실험 data등을 비롯한 다양한 소스로부터 약용식물의 유효성분, 구조 및 대식세포의 신호전달경로 관련 염증유발·억제인자 등의 정보가 적재된 DB의 내용을 확인할 수 있도록 웹 기반 검색 시스템을 구현하였다.

이 정보검색시스템은 항염증 효능을 지닌 것으로 분석된 약제명, 학명, 효능분류, 유효성분, 관련 논문수 등을 표시하는 초기 리스트 페이지와 약제명을 클릭하였을 때 연결되는 약제 관점에서의 상세페이지, 유효성분을 클릭하였을 때 연결되는 유효성분의 상세정보 페이지, 논문수를 클릭하였을 때 이동되는 논문정보페이지, 유효성분의 상세페이지에서 신호전달경로를 클릭하였을 때 연결되는 신호전달경로 설명 페이지 등을 포함하고 있다.

상위 메뉴에 신호전달경로는 별도로 구성을 해놓아서 염증을 유발하는 신호전달경로의 이름과 이미지, 관련염증조절인자 정보를 알 수 있도록 하였다. 이름 또는 이미지를 클릭 시 신호전달경로 상세정보를 볼 수 있고, 염증조절인자 클릭 시 해당하는 염증조절인자 상세정보를 볼 수 있다. 염증조절인자 상세정보에 Entrez Gene링크가 존재하며 클릭 시 해당 페이지로 이동한다. 또한 논문 검색 메뉴를 이용해서 찾고 싶은 유효성분을 입력하고 신호전달경로를 선택하여 AND나 OR조건을 이용해 논문을 검색 할 수 있다. 논문의 제목을 클릭하면 원본페이지(RISS, NDSL, PubMed)로 이동한다.

Table 3. NF- κ B Signal pathway상에서 항염증 효능을 가지는 약재 및 유효성분 리스트

약재명	유효성분
황금	Wogonin, Baicalein, Baicalin
진피	Oleuropein
연교	arctigenin, arctiin
대계	hispidulin-7-neohesperidoside, linarin, pectolarin, silibinin, luteolin
황백	berberine
고삼	matrine
독활	rutin, β -sitosterol, ferulic acid, Ursolic acid, enti-pimara-8(14),15-dien-19-oic acid(pimaradienoic acid:PA), quercetin
금은화	luteolin, ochnaflavone, isoquercitrin, quercetin
황련	berberine
양유	Lancemaside A
들국화	bigelovin, ergolide
방기	sinomenine
천궁	Tetramethylpyrazine (TMP), Z-ligustilide, senkyunolide A, ligustrazine
해동피(음나무)	Liriodendrin, Kalopanaxsaponin A
울금	Bisacurone, curcumin
당귀	nadakenin, Decursinol angelate
백작약	paeoniflorin, 1,2,3,4,6-penta-O-galloyl-beta-D-glucose, Paeonol
자초	Shikonin
감초	glycyrol, Glycyrrhizin
오수유	Evodiamine, quinolone, Rutaecarpine
강활	Bisabolangelone
장뇌산삼	ginsenoside, 20(S)-Protopanaxatriol
시호	Saikosaponin-d
천련자	4,8-dimethoxy-1-vinyl-b-carboline, 4-methoxy-1-vinyl-b-carboline, 1-cinnamoyl-3,11-dihydroxymeliacarpin
생강	zingerone, [6]-gingerol, 6-shogaol
곰취, 호로칠	Furanoligularenone
호장근	trans-3,4',5-trihydroxystilbene, 3-methyl-1,6,8-trihydroxyanthraquinone
오리방풀	inflexinol, Inflexin
그늘쭉	arteminolide B, DMET



Fig. 1. 항염증 약재 상세정보

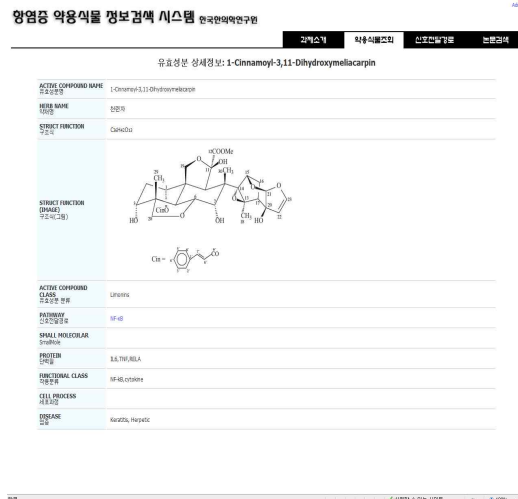


Fig. 2. 약재(천련자) 유효성분의 상세정보

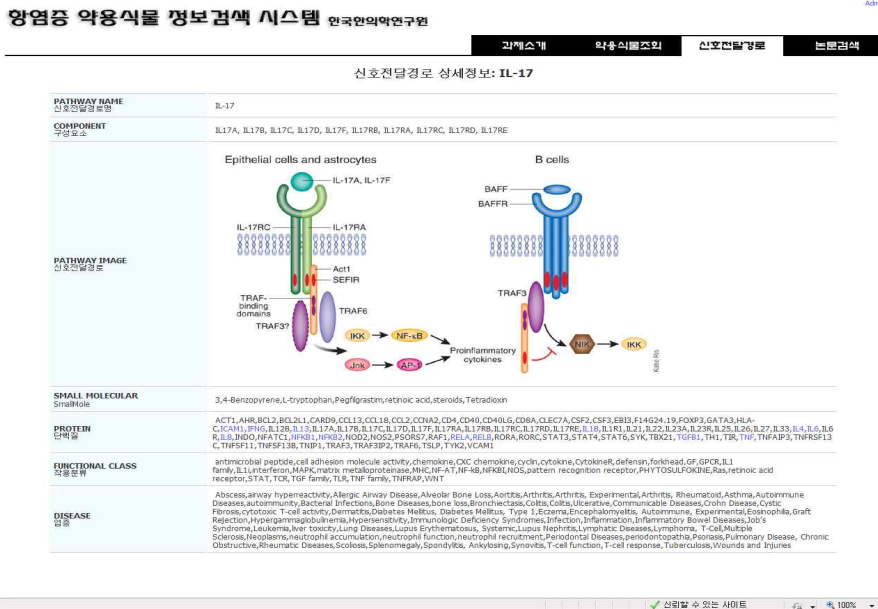


Fig. 3. 염증 질환 관련 신호전달경로 상세정보

2. 항염증 효능 예측 모델 프로토타입 구현
NF-κB의 활성화는 많은 종류의 암에서 과발현되

어 있으며, 암세포의 성장, 진행 및 화학요법의 내성을 보여주고 있으므로, NF-κB 신호전달체계는

약물 target으로 중요하다⁹⁾. NF-κB 활성화는 전형적으로 IKK(IκB kinase) 복합체에 의해 IκB의 인산화를 포함하며, 결국에는 IκB가 분해된다. 유전학적 실험에서 공인된 경로에서 IKKβ가 가장 많은 IκB kinase로 나타났다. 최근에 IKK-α과 IKK-β의 세포 내 기능이 단백질 구조 및 기능이 자세히 밝혀지면서 IKK-β가 NF-κB 활성화 경로에서 염증질환치료제개발의 가장 매력적인 타겟(target)으로 부각되어 IKK-β 저해를 통하여 생체 내 강한 항염증 및 면역조절효과를 야기시켜 각종 염증

질환 및 종양의 치료효과를 기대할 수 있다¹⁰⁾.

NF-κB 전체 신호 전달경로를 모델링하는 것은 시간적 경제적 소모가 너무 크다고 판단되어 가장 중요한 경로만을 축소하는 과정을 진행하였다. 전체 경로에서 어떠한 receptor를 거치더라도 세포질 내에서 IKKβ-IKKα 단계를 모두 지나게 되고 이후 몇 가지 경로로 분기되지만, IκB와 NF-κB 단계를 거쳐 세포핵 내로 NF-κB가 들어가고 있으므로 핵심경로만을 선정하여 전체 NF-κB 신호 전달경로 네트워크를 축소하였다(Fig. 4).

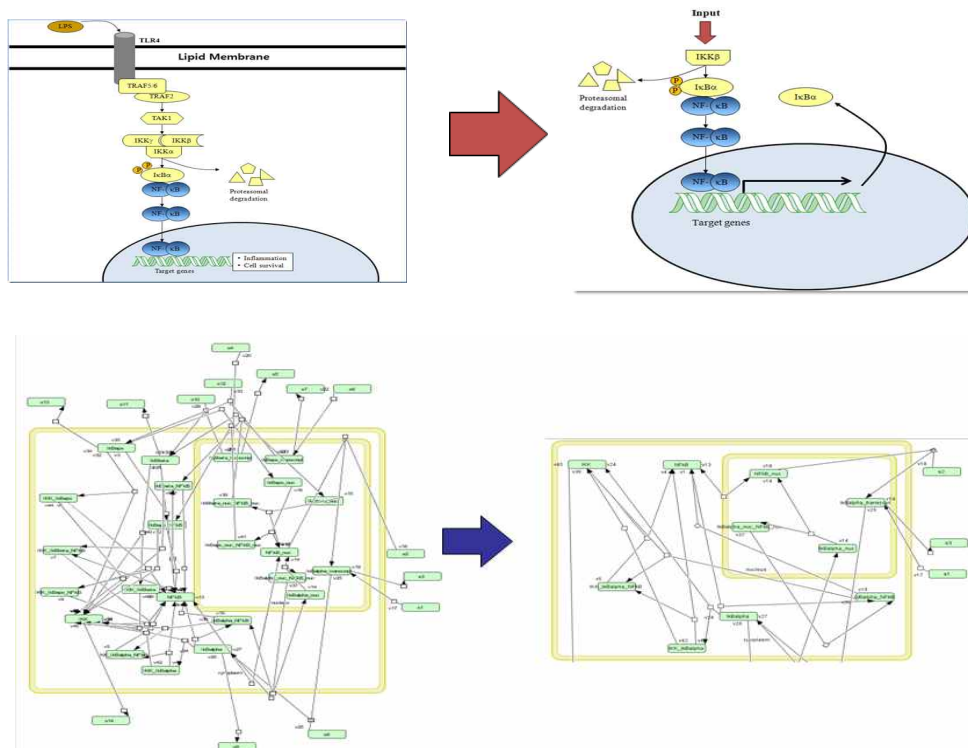


Fig. 4. NF-κB network의 축소 모델

NF-κB 세포신호전달경로를 모사하기 위해서 Baltimore Group에서 제안한 IκB-NF-κB 신호전달 모델 네트워크의 미분방정식 및 반응변수들을 사용하였다¹¹⁾. NF-κB 세포신호전달경로 모사하기 위해서 사용한 단백질 및 RNA의 종류는 NF-κB,

IκB, IKKβ 등 10종이며, 반응의 종류가 IκB_NF-κB, IκB_NF-κB_IKK 등 10종, 매개변수(Parameter) 종류는 25가지를 사용하였다.

사용된 ordinary differential equation(ODE)들은 다음과 같다.

- 유리된 세포질내 NF-κB 단백질(Free cytoplasmic NF-κB protein)의 농도

$$NF - \kappa B'(t) = -a_4 I\kappa B\alpha(t) \bullet NF - \kappa B(t) + d_4 I\kappa B\alpha_NF - \kappa B(t) - a_4 IKK_I\kappa B\alpha(t) \bullet NF - \kappa B(t) + d_4 IKK_I\kappa B\alpha_NF - \kappa B(t) + r_4 IKK_I\kappa B\alpha_NF - \kappa B(t) + deg_4 I\kappa B\alpha_NF - \kappa B(t) - k_1 NF - \kappa B(t) + k_{01} NF - \kappa B_{nuc}(t)$$
- 유리된 핵내 NF-κB 단백질(Free nuclear NF-κB protein)의 농도

$$NF - \kappa B'_n(t) = k_1 NF - \kappa B(t) - a_4 I\kappa B\alpha_n(t) \bullet NF - \kappa B_n(t) + d_4 I\kappa B\alpha_n_NF - \kappa B_n(t) - k_{01} NF - \kappa B_{nuc}(t)$$
- IκB mRNA 전사체(IκB mRNA transcript)의 농도

$$I\kappa B\alpha'_i(t) = tr2a + tr2k_1 NF - \kappa B_n(t)^2 - tr3I\kappa B\alpha_i(t)$$
- 유리된 세포질내 IκB 단백질(Free cytoplasmic IκB proteins)의 농도

$$I\kappa B\alpha'(t) = -a_1 IKK(t) \bullet I\kappa B\alpha(t) + d_1 IKK_I\kappa B\alpha(t) - a_4 I\kappa B\alpha(t) \bullet NF - \kappa B(t) + d_4 I\kappa B\alpha_NF - \kappa B(t) + tr1I\kappa B\alpha_i(t) - deg1I\kappa B\alpha(t) - tp1I\kappa B\alpha(t) + tp2I\kappa B\alpha_n(t)$$
- 유리된 핵내 IκB 단백질(Free nuclear IκB proteins)의 농도

$$I\kappa B\alpha'_n(t) = tp1I\kappa B\alpha(t) - tp2I\kappa B\alpha_n(t) - a_4 I\kappa B\alpha_n(t) \bullet NF - \kappa B_n(t) + d_4 I\kappa B\alpha_n_NF - \kappa B_n(t)$$
- 세포질내 IκB_NF-κB 복합체(Cytoplasmic IκB_NF-κB complexes)의 농도

$$I\kappa B\alpha_NF - \kappa B(t) = a_4 I\kappa B\alpha(t) \bullet NF - \kappa B(t) - d_4 I\kappa B\alpha_NF - \kappa B(t) - a_7 IKK(t) \bullet I\kappa B\alpha(t) \bullet NF - \kappa B(t) + d_1 IKK_I\kappa B\alpha_NF - \kappa B(t) + k_2 I\kappa B\alpha_n(t) \bullet NF - \kappa B_n(t) - deg_4 I\kappa B\alpha_NF - \kappa B(t)$$
- 핵내 IκB_NF-κB 복합체(Nuclear IκB_NF-κB complexes)의 농도

$$I\kappa B\alpha_n_NF - \kappa B'_n(t) = a_4 I\kappa B\alpha_n(t) \bullet NF - \kappa B_n(t) - d_4 I\kappa B\alpha_n_NF - \kappa B_n(t) - k_2 I\kappa B\alpha_n_NF - \kappa B_n(t)$$
- 유리된 세포질내 IKK 단백질(Free cytoplasmic IKK protein)의 농도

$$IKK'(t) = -k_{02} IKK(t) - a_1 IKK(t) \bullet I\kappa B\alpha(t) + (d_1 + r_1) IKK_I\kappa B\alpha(t) - a_7 IKK(t) \bullet I\kappa B\alpha(t) \bullet NF - \kappa B(t) + (d_1 + r_4) IKK_I\kappa B\alpha_NF - \kappa B(t)$$
- 세포질내 IKK_IκB 복합체(Cytoplasmic IKK_IκB complexes)의 농도

$$IKK_I\kappa B\alpha'(t) = a_1 IKK(t) \bullet I\kappa B\alpha(t) - (d_1 + r_1) IKK_I\kappa B\alpha(t) - a_4 IKK_I\kappa B\alpha(t) \bullet NF - \kappa B(t) + d_4 IKK_I\kappa B\alpha_NF - \kappa B(t)$$
- 세포질내 IKK_IκB_NF-κB 복합체(Cytoplasmic IKK_IκB_NF-κB complexes)의 농도

$$IKK_I\kappa B\alpha_NF - \kappa B'(t) = a_7 IKK(t) \bullet I\kappa B\alpha_NF - \kappa B(t) + a_4 IKK_I\kappa B\alpha(t) \bullet NF - \kappa B(t) - (d_1 + d_4 + r_4) IKK_I\kappa B\alpha_NF - \kappa B(t)$$

Fig. 5. NF-κB 신호전달경로를 표현하기 위한 상미분방정식

상기 상미분방정식에서의 kinetic 상수 및 기호의 값은 아래 표와 같다.

Table 4. IKK와 IκB의 Kinetic 상수

	$k_2(M^{-1}s^{-1})$	$k_d(s^{-1})$	$K_D^a(M)=k_d/k_2$
IκB	$22.5(\pm 2.5)\times 10^3$	$1.25(\pm 0.15)\times 10^{-3}$	56×10^3
	$K_M(M)$	$k_{cat}(s^{-1})$	$k_{cat}/K_M(M^{-1}s^{-1})$
IκB	$1.7(\pm 0.6)\times 10^{-6}$	3.7×10^{-2}	22×10^3
	$k_2(M^{-1}s^{-1})$	$k_d(s^{-1})$	
IκBa_NF-κB	$0.3\mu M^{-1}s^{-1}\sim 1\mu M^{-1}s^{-1}$	$0.0003s^{-1}\sim 0.001s^{-1}$	

Table 5. 2개 인자 및 3개 인자 상호작용

상호작용	기호	값	단위
IκBa-NF-κB 결합	a_4	0.5×10^0	$\mu M^{-1}s^{-1}$
IκBa-NF-κB 해리	d_4	0.5×10^{-3}	s^{-1}
IKK-IκBa 결합	a_1	22.5×10^{-3}	$\mu M^{-1}s^{-1}$
IKK-IκBa 해리	d_1	1.25×10^{-3}	s^{-1}
IKK-IκBa 촉매작용	r_1	4.07×10^{-3}	s^{-1}
IKK-IκBaNF-κB 결합	a_7	1.85×10^{-1}	$\mu M^{-1}s^{-1}$
IKK-IκBaNF-κB 해리	d_1	1.25×10^{-3}	s^{-1}
IKKIκBa-NF-κB 결합	a_4	0.5×10^0	$\mu M^{-1}s^{-1}$
IKKIκBa-NF-κB 해리	d_4	0.5×10^{-3}	s^{-1}
IKKIκBaNF-κB 촉매작용	r_4	2.04×10^{-2}	s^{-1}

Table 6. 합성 및 분해

합성 및 분해	기호	값	단위
IκBa 유도성(inducible) mRNA 합성	$tr2$	1.65×10^{-2}	$\mu M^{-1}s^{-1}$
IκBa 구성성(constitutive) mRNA 합성	$tr2a$	1.54×10^{-6}	μMs^{-1}
IκBa mRNA 분해	$tr3$	2.8×10^{-4}	μMs^{-1}
구성성 IκBa 번역 속도	$tr1$	4.08×10^{-3}	s^{-1}
유리된(free) 구성성 IκBa 분해	$deg1$	1.13×10^{-4}	s^{-1}
NF-κB와 복합체를 이룬 구성성 IκBa 분해	$deg4$	2.25×10^{-5}	s^{-1}

Table 7. 핵-세포질 수송

핵-세포질 수송	기호	값	단위
IκBa 핵 내 수송	$tp1$	3×10^{-4}	s^{-1}
IκBa 핵 외 수송	$tp2$	2×10^{-4}	s^{-1}
NF-κB 핵 내 수송	$k1$	0.9×10^{-1}	s^{-1}
NF-κB 핵 외 수송	$k01$	0.8×10^{-4}	s^{-1}
IκBa-NF-κB 핵 외 수송	$k2$	1.38×10^{-2}	s^{-1}

모사를 수행하기 위한 초기값 설정에서는 IKKβ의 경우 0.1uM과 NF-κB의 초기 농도 값은 0.1uM로 설정하였으며, 다른 분자들은 모두 0.0을 사용하였다. 또한 IKKβ의 농도는 시간에 따라 천천히 줄어드는 것을 채택하였다. ($k_{02} = 1.2 \times 10^{-4} s^{-1}$; 반감기- 2.3 시간)

이렇게 설계된 수학적 모델결과를 알고리즘으로 하여 전산적으로 가시화하는 것이 가상세포 기술이며, 본 연구에서는 초기 항염증 DB에 구축되었던 약제의 유효성분의 구조를 input값으로 하여 IKKβ(IκB kinase beta)의 IC₅₀(half maximal inhibitory concentration)을 예측하여 출력하는 단계, NF-κB(nuclear factor-kappa B) 신호전달체계의 파라미터로서 시토솔(cytosol)에 존재하는 NF-κB, IκBα(NF-κB inhibitor alpha), 및 IKKβ의 초기 농도와, 상기 약물의 NF-κB 신호전달의 저해율을 입력하는 단계, 시간에 따른 NF-κB 신호전달 단백질 또는 전사체의 농도 변화를 예측하여 출력하는 단계를 가지는 프로토타입을 개발하였다.

첫 번째 단계에는 왼쪽 프레임(frame)에 원하

는 유효성분의 화학구조식을 2D draw 기능을 통해 직접 입력하거나, mol 타입의 파일을 input으로 받아들여지게 되며, 오른쪽 프레임에는 NF-κB 신호전달체계에 대한 그림을 통하여 모사하고자 하는 시스템에 대한 설명이다. NF-κB 신호전달체계에서 중요한 IκB, IKKβ, NF-κB 단백질에 대하여 설명하는 Wikipedia 웹페이지를 링크하여 이용자가 신호전달경로에 대해서 보다 쉽게 이해할 수 있도록 하였다.

두 번째 단계에서는 입력된 유효성분을 근거로 저해율(% inhibition)을 표시하며, 그래프 출력에 관련하여 세포질 내 초기 IκB, IKKβ, NF-κB 농도와 시뮬레이션 시간을 설정할 수 있다. 초기 농도값은 자동적으로 처음에 셋팅이 되지만, 연구자가 실험환경에 맞추어 수정 가능하다. 또한 그래프 상에서 시간에 따른 농도 변화를 보고 싶은 단백질 10가지에 대해 선택할 수가 있다. 모든 옵션을 선택하고 draw chart라는 버튼을 클릭하게 되면 오른쪽 프레임에 시간에 따른 농도변화를 나타내주는 그래프가 표시된다.

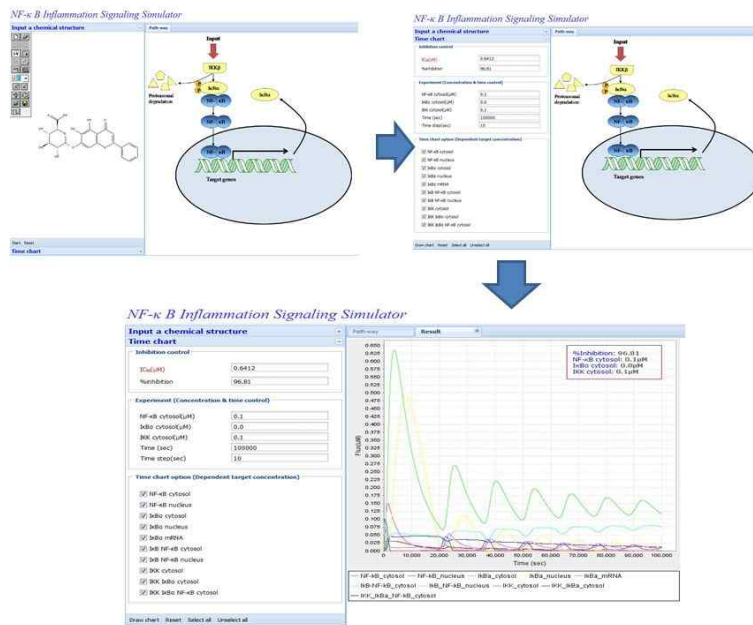


Fig. 6. NF-κB 항염증 효능 분석 프로토타입 이용 단계

IV. 결 론

최근의 시스템 생물학은 실험과 컴퓨터를 활용한 모델링과 모사를 같이 수행하고 있으며, 지난 반세기동안 얻어진 분자 수준의 데이터를 네트워크의 동력학적 변화와 연결시키는 연구는 미국이나 그 이외의 지역에서도 아직 초기 단계이며, 실험과 연계된 모델링은 제한적이다.

이러한 시대적 흐름속에서 한약재의 효능을 세포반응 네트워크를 통해 시각적으로 확인할 수 있는 가상실험 연구인프라 확보를 위해 우선적으로 염증 질환에 적용할 수 있는 가상 세포반응 신호 전달경로를 해석할 수 있는 수학적 모델링이 알고리즘으로 삽입된 프로토타입을 개발하였다. 프로토타입 개발 과정에 있어 가장 먼저 수행한 항염증 DB 구축과정에서 단일 성분에 대해 실험적으로 항염증 효능이 규명된 약제가 61종으로 분석되었다. 또한 DB에 구축된 데이터의 검증과 사용자의 정보 조회를 위해 웹기반 항염증 효능 정보 검색시스템을 개발하였으며, 최종적으로 실제 실험 단계에 앞서 항염증 효능을 스크리닝할 수 있는 프로토타입을 구현하였다.

개발된 프로토타입의 시뮬레이션을 통해 입력의 중요한 파라미터인 저해율을 각각 50, 90, 100%로 설정하였을 때 시토크린 내의 I κ B, IKK β , NF- κ B 단백질의 시간에 따른 농도의 변화를 모사할 수 있었으며, 시뮬레이션 시간 동안에 I κ B의 경우 11번의 파동(fluctuation)을 보여 주지만, 50% 저해의 경우 9번으로 줄어 들고, 90% 저해의 경우 7번, 100% 저해의 경우 6번으로 줄어들음을 확인할 수 있었고, 이러한 변화는 같은 시간 동안 NF- κ B 세포신호전달체계가 저해되었음을 정량적으로 설명이 가능함을 알게 되었다. 또한 IKK β 가 화합물에 의해 저해가 되지 않았을 때와 100% 저해되었을 때를 비교해보면, 핵 속의 NF- κ B 단백질 양이 두 그래프의 면적을 대조함으로써 확연히

차이가 남을 설명할 수 있으며, I κ B mRNA의 생성 또한 매우 느리게 생성된다는 것을 모사결과로 확인하였다.

본 연구에서 항염증 모든 신호전달경로에 대해서 완벽하게 구현된 것이 아니라 염증 질환과 관련된 대표적 신호전달경로로 NF- κ B만을 대상으로 하였으며, 또한 network를 일부 축소하여 모델링하였기에 프로토타입이라는 한계를 지니지만, 다음 연구과제로 기획하고 있는 Arachidonic acid 대사네트워크와 p38 MAPK 세포 신호전달경로를 추가적으로 수학적 모델링하고 각 신호전달간의 교호작용까지 표현해낼 수 있다면 실제 실험환경에서 보다 유용한 결과를 도출할 수 있을 것으로 기대된다. BT분야의 신약개발과 차별화되고, 한의약분야의 중요성이 더욱 부각되기 위해서는 가장 중요한 약재의 단일성분이 아닌 2가지 이상의 유효성분이 복합적으로 작용하는 기전을 전산모사할 수 있는 기술 확보 또한 목표로 하고 있다.

마지막으로 본 연구 결과에 추후 앞서 언급한 추가적인 보완을 하게 되면, 실효성 있는 한약재 천연물 신약과 같은 한방신소재 개발에 기초자료를 제공할 수 있는 유용한 정보 분석 도구로 활용될 수 있을 것으로 보인다.

감사의 글

이 연구는 한국과학기술정보연구원(KISTI)의 e-Science 연구 환경 구축 사업의 지원을 받아, 한국한의학연구원 '슈퍼컴퓨팅 기반 염증효능 규명 가상세포 적용모델 연구(G10020)' 과제로 수행된 연구임.

참고문헌

1. 李鍾馨. 方劑學의 重要性. 大韓韓醫學方劑學會誌. 1990;1:5-9.

2. 생명공학정책연구센터. 약물전달시스템 및 활용 기술. 2009.
3. <http://www.ndsl.kr>
4. <http://www.riss.kr>
5. <http://www.kosen21.org>
6. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>
7. <http://oasis.kiom.re.kr/portal/index.jsp>
8. 한국한의학연구원. 한의본초 활용기반 구축. 2008 :183-6.
9. Darnell JE Jr. Transcription factors as targets for cancer therapy. *Nat Rev Cancer*. 2002;2 :740-9.
10. Karin M, Yamamoto Y, Wang QM. The IKK NF-kappa B system: a treasure trove for drug development. *Nat Rev Drug Discov*. 2004;3(1):17-26.
11. Hoffmann A, Levchenko A, Scott ML, and Baltimore D. The IkappaB-NF-kappaB signaling module: temporal control and selective gene activation. *Science*. 2002; 298(5596):1241-5.