

Roles of Mannose-Binding Lectin on Innate Immunity and Disease

Ho Jung Jang, Jeonghae Park¹ and Kyung Tae Chung^{1*}

Department of Life Science and Biotechnology,

¹Department of Clinical Laboratory Science, Dong-Eui University, Busan, 614-714, Korea

Received September 15, 2010 / Accepted September 27, 2010

Innate immunity is the first line of host defense consisting of various molecules against infectious challenges. Mannose-binding lectin (MBL) belongs to the collectin protein family which takes part of innate immunity and is able to recognize specific carbohydrates on the surface of a variety of infectious agents acting as a pattern recognition molecule. In this way, MBL differentiates self from non-self and interacts with other molecules of the immune system. MBL genotype shows various MBL polymorphisms which are responsible for MBL deficiency in a substantial portion of the entire human population and for susceptibility to infectious disease. Therefore, it has been highlighted in the relationship between genetic variants and clinical significance. Here we focus on presenting an overview of our understanding of MBL structure and functions.

Key words : Mannose-binding lectin, innate immunity, C-type lectin, infectious disease

서 론

면역(Immunity)이라는 용어는 '면제하다'를 뜻하는 라틴어 'immunis'에서 유래하였다. 면역이라는 개념은 기원전 430년 경으로 거슬러 올라가면 아테네에 흑사병이 유행했을 당시 흑사병에서 회복된 사람은 병자를 간호하더라도 이차 감염이 되지 않는다고 기록되어 있다[14]. 역사적 관점으로 면역을 정의하자면 감염성 질병으로부터 면제를 받는 수단이라고 할 수 있으며, 면제를 받도록 해주는 면역체계(immune system)와 면역반응(immune response)을 과학적으로 연구하는 것이 면역학이라고 할 수 있다.

사람을 포함하는 동물계에 속하는 생명체는 미생물, 기생충, 바이러스에 대한 감염으로부터 자신을 보호하는 면역체계를 진화적으로 발전시켰다. 자기 자신을 다른 생명체로부터 보호하기 위해서는 우선적으로 자기(self)를 비자기(non-self)로부터 구별하여야 한다. 자기-비자기가 구별되기 위해서는 비자기를 인식 또는 비자기의 표식을 감지하여야 하는데 지난 30여 년 동안 이것에 대한 연구가 분자 수준에서 비약적으로 발전하였다[4].

면역반응은 선천성 면역(innate immunity)과 획득면역(acquired immunity)으로 구분된다. 획득면역은 특이적 면역(specific immunity)라고도 하며, 외래 생물 및 분자를 특이적으로 인식하고 선택적으로 제거할 수 있는 기능을 가지고 있다. 획득면역이 가지는 특이성은 항원의 아미노산 하나가 다른 것도 구분할 수 있을 만큼 세밀하다. 획득면역은 또한 기억

기능을 가진다. 동일한 항원을 이차적으로 만나면 더욱 강한 면역 반응성으로 나타낸다.

이에 반해 선천성 면역은 공통적인 방식으로 외래 생물을 인식하는 비특이적 면역 반응이라고도 한다. 장기간 기억되는 기능이 없이 감염에 대한 즉각적인 반응으로 일어난다. 진화적으로 더욱 오래된 방어 전략으로 식물, 곤충뿐만 아니라 원시적인 다세포 생물의 주된 면역 반응이다. 선천성 면역의 중요한 기능 중의 하나는 획득면역을 유도하는 것이다. 식균작용과 그 과정에서 분비되는 싸이토카인(cytokine)이 획득면역을 유도하는 역할을 한다. 선천성 면역 반응 중에는 염증반응(inflammation)도 포함되며, 간에서는 혈청 단백질인 acute-phase protein이 합성된다.

Acute-phase protein은 혈청 내 농도가 증가하는 것과 감소하는 것 두 종류가 있다. 농도가 감소하는 것으로는 antithrombin, albumin, transferrin, transcortin, transthyretin과 같은 단백질 등이 있으며, 농도가 증가하는 것으로는 C-reactive protein, serum amyloid P component, complement factors, mannan-binding lectin, alpha 1-antitrypsin, 등이 있다[15]. 이들 중에 감염된 미생물과 직접적인 반응을 하는 것으로는 C-reactive protein, complement factors, mannose-binding lectin으로, 본 총설에서는 mannose-binding lectin (MBL 또는 mannose-binding protein, MBP)에 대해 보다 자세하게 서술하고자 한다.

MBL 구조

유전자 구조

사람 MBL 유전자는 MBL2라고 명명되며 10번 염색체에 존재한다. 단백질을 지령하는 지역(coding region)은 3 개의 intron에 의해 분리되어 있는 불연속적인 4 개의 exon으로 구성

*Corresponding author

Tel : +82-51-890-2681, Fax : +82-51-890-2622

E-mail : kchung@deu.ac.kr

되어 있다(Fig. 1). Exon 1은 소포체 표적 신호서열(signal sequence), cysteine-rich 영역, 일곱 개의 Gly-X-Y 반복구조를 지령한다. Exon 2는 12개의 Gly-X-Y 반복구조를 지령하여 collagen 영역을 완성하고, exon 3은 collagen 영역과 탄수화물 인식영역(carbohydrate recognition domain, CRD)을 연결하는 neck region을 지령한다. Exon 4는 CRD를 지령한다. 또한 사람은 MBL2의 유사 유전자 MBL1도 가지고 있다. 이들 두 유전자 MBL1과 MBL2는 각각 10q11.2와 10q21 사이에 아주 가깝게 위치하고 있다[9]. 그러나 MBL1은 exon 3과 4에 nonsense 돌연변이(stop codon)가 존재하고, intron 1의 splicing 결여로 발현이 되지 않는다[22].

사람과 달리 생쥐(mouse)는 두 개의 MBL 유전자를 가지고 있으나 이들 두 유전자는 뚜렷이 구분되며 둘 다 발현되는 기능성 유전자이다. 이 두 유전자를 MBL1과 MBL2라고도 하지만 다른 이름으로 MBL-A와 MBL-C라고도 하며, 각각 염색체 14번과 19번에 존재한다. 생쥐와 쥐(rat)의 경우 상동성이 매우 높으나 염색체의 위치가 다르다. 쥐의 경우는 각각 염색체 16번과 1번에 존재한다[17]. MBL의 생화학적 특성 연구를 위해 쥐의 MBL-A 유전자를 사용하는 경우가 많으며, 이는 생산된 단백질이 사람의 MBL2 단백질과 마찬가지로 혈청에 존재하며, 기능적으로도 세균과 결합하기 때문이다 [11,18].

단백질 구조

성숙된 MBL monomer 단백질은 4개의 영역으로 나누어지며, monomer 3 개가 모여 trimer를 형성하고, 그 이상의 oligomer 구조를 형성한다. Monomer 단백질은 N-말단 쪽 짧은 영역으로 cysteine을 함유하고 있으며, trimer와 그 이상의 oligomer를 형성할 때 이황화 결합을 형성하는 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 두 번째 영역은 N-말단과 alpha-hel-

ical 영역 사이에 존재하는 collagen 유사(collagen-like) 영역이다. 이 영역은 세 개의 아미노산 Gly-X-Y이 반복되는 구조로 되어 있고, trimer를 형성할 때 collagen triple helix 구조를 만든다. 그 다음으로 alpha-helix 구조를 가진 영역(neck region)이 있으며, 이것은 MBL이 trimer를 형성할 때 alpha-helix coiled-coil 구조를 만든다. 마지막으로 탄수화물 인식 영역(carbohydrate recognition domain, CRD)인 lectin domain이 C-말단에 위치해 있다(Fig. 2)[21]. CRD는 calcium 존재 하에 탄수화물과 결합하므로 MBL을 C-type lectin (Ca²⁺-dependent manner)이라 한다. MBL은 collectin family에 속한다. Collectin family는 MBL 외에도 conglutinin, CL-43, CL-46, 허파 surfactant protein A와 D (SP-A, SP-D), CL-L1, CL-P1, CL-K1 단백질을 포함한다[10,12].

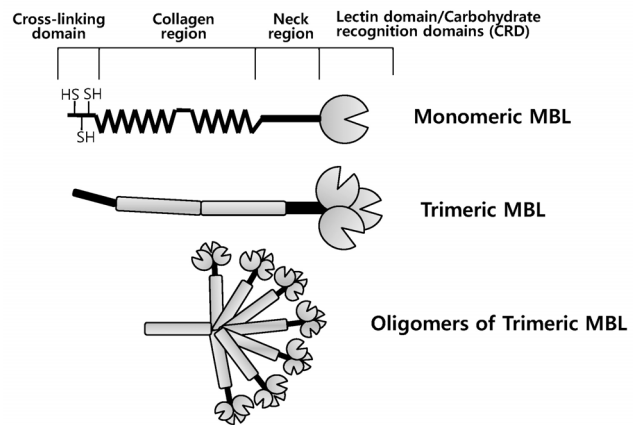


Fig. 2. Structure of mannose-binding lectin molecule. Monomer MBL has 4 domains: Cross-linking domain, collagen region, neck region, and carbohydrate recognition domain.

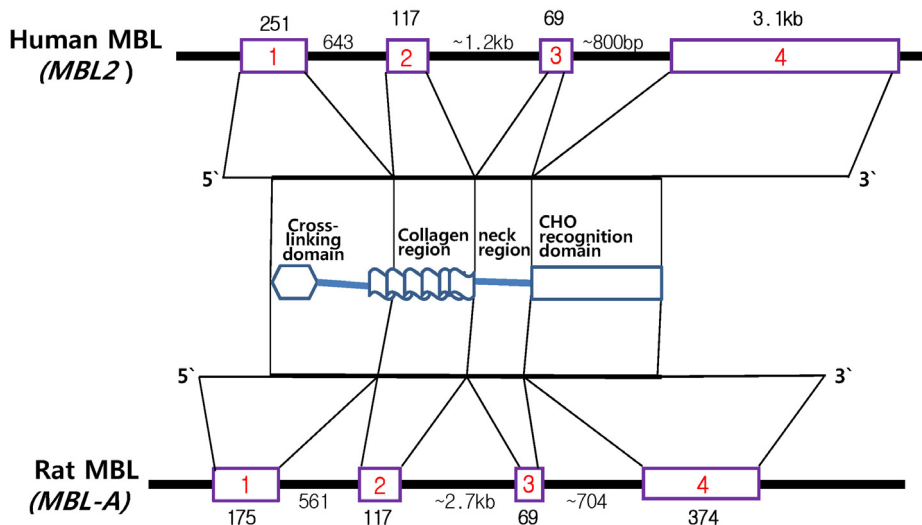


Fig. 1. Schematic structure and organization of mannose-binding lectin gene. Human MBL2 gene consists of 4 exons and 3 introns as does rat MBL-A.

MBL은 N-linked 당쇄(N-linked glycosylation)는 존재하지 않으나 O-linked 당쇄가 존재한다. Collagen 유사 영역에는 collagen처럼 lysine과 proline에 OH기가 첨가된 hydroxyproline과 hydroxylysine이 존재한다[22]. MBL monomer는 세 개가 모여 trimer를 형성하고, 3-6개의 trimer가 모여 다시 고차의 oligomer를 형성한다[28].

MBL 기능

Self vs. Non-Self

MBL은 선천성 면역체계를 구성하는 분자로서, 병원성 인자(pathogens)를 병원성과 연관된 분자 패턴(pathogen-associated molecular patterns, PAMPs)을 통해 구분하는 패턴 인식 분자(pattern recognition molecule)로의 기능을 한다. 패턴 인식 분자로는 Toll-like receptor, complement, MBL이 대표적이다[15,27].

PAMPs는 병원성 인자들의 다양한 표면 구조분자들로서 lipopolysaccharide (LPS), peptidoglycan, mannan, 이중가닥 RNA, 세균의 methylated DNA 등을 말한다. 선천성 면역체계에서 PAMPs는 병원성 인자가 non-self로 구분되도록 하여 준다. MBL이 패턴 인식 분자 기능을 수행할 수 있는 것은 다양한 병원성 인자의 특징적인 D-mannose, L-fucose, N-acetylglucosamine (GlcNAc)으로 구성된 탄수화물 PAMPs를 인식하기 때문이다[27]. 특히 MBL은 mannose의 3번과 4번 탄소에 결합된 equatorial orientation된 OH기를 인식하는데 이런 배열은 기생충, 효모, 그람 음성과 양성 세균의 세포벽에 존재하는 mannose, 포도당, N-acetylglucosamine에서 나타난다[5]. MBL의 탄수화물 인식 특이도(selectivity)는 GlcNAc > mannose, N-acetylmannosamine, fucose > maltose > glucose >> galactose, N-acetylgalactosamine 순서로 알려져 있다[29].

MBL이 자기 탄수화물 구조(self carbohydrate structure)를 인식 못하는 또 다른 이유는 GlcNAc, mannose 또는 fucose에 galactose와 sialic acid가 부가되어 인식을 방해하기 때문이다[6]. 그러나 MBL은 변형된 자기 구조(altered-self)는 인식하는 것으로 알려져 있다. 세포사멸(apoptosis)로 죽어가는 세포는 세포골격 단백질의 말단 당인 GlcNAc가 노출되면 이와 결합한다. 즉, 세포사멸 또는 세포괴사의 후기 세포와 결합하여 대식세포에 의한 식세포 작용을 촉진시켜 non-inflammation 반응을 제공 한다고 알려져 있다[16].

병원성 인자와의 결합

MBL은 그람양성 세균일 경우 lipoteichoic acid, 그람음성 세균일 경우 LPS를 인식하여 제거한다. 여러 연구가 보고 되었지만 여기서는 항생제 내성균 확산으로 문제가 되고 있는 *Staphylococcus aureus*의 연구결과를 소개하고자 한다.

*Staphylococcus aureus*에 MBL이 결합하여 C4와 C3 보체 인자의 *S. aureus* 침착을 증가시키면, C3가 흡수된 작용을 하게 되고, 결과적으로 호중구세포가 *S. aureus*를 식균하는 것을 증

가 시킨다. 또한, FITC-labeled *S. aureus*를 사용한 실험에서 보체 활성화와는 독립적으로 MBL은 대식세포의 식균작용을 증가시키는 것으로 나타났다[18].

MBL-null mice를 사용한 *in vivo* 실험에서 MBL이 정상인 mice가 45% 사망률을 나타낸 것에 비해 MBL-null mice는 감염 48시간 이내에 100% 사망률을 나타내었다[24]. 이러한 결과는 MBL이 *S. aureus* 감염을 제한하는데 중요한 역할을 하는 것을 보여주고 있다.

바이러스는 보체의 작용을 피해가는 여러 가지 전략을 발전시켰으나, herpes simplex virus, human immunodeficiency virus (HIV), influenza A virus 등은 MBL에 쉽게 인식된다. 바이러스에 감염된 세포나 바이러스 lysate의 경우 mannose를 다량 함유하고 있는 glycan이 MBL의 표적이 된다. 예로서 HIV의 당단백질인 gp120에 MBL이 결합하고, 연이어 보체를 활성화하게 된다[6].

곰팡이 세포벽의 중요한 성분은 mannan이다. 따라서 MBL은 *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Aspergillus fumigatus* 등과 같은 곰팡이에 아주 친화력이 높게 결합하여 항곰팡이 반응에 중요한 기능을 한다. *Candida*를 감염시킨 쥐에서 MBL의 혈청 농도는 한 시간 이내에 25%로 감소한 반면 mannan 특이 IgG와 IgM의 농도는 변화하지 않았는데 이는 MBL은 *Candida*와 결합하여 감소한 반면 항체는 결합을 하지 못한 것으로 해석되며, MBL이 항체보다 항곰팡이 반응에 더 중요하다는 것을 시사한다[26].

MBL의 보체 활성화 기능

보체(complement system)는 선천성 면역을 담당하는 중요한 일련의 생화학적 반응으로 병원성 인자를 제거하는데 아주 중요한 역할을 한다. C1에서 C9로 구성된 단백질로 혈액 내에서 불활성화 상태로 존재하다가 여러 요인에 의해 활성화가 개시되면, 각 구성 단백질의 연속적인 활성화가 이루어져 표적 세포막을 파괴하게 된다[14]. 활성화 경로는 classical pathway, alternative pathway, lectin (MBL) pathway 세 가지가 있으나 여기서는 MBL과 관련된 경로에 대해 서술하도록 하겠다.

MBL은 mannan-coated 적혈구를 보체가 용혈시키는데 필요한 것으로 발견되었고[20], 초기 연구결과는 이 과정에 C4가 필요하며 MBL과 보체와 밀접한 관계가 있다는 것을 보여 주었다[13]. 보다 명확한 MBL의 보체활성 메커니즘 분석은 mannan-associated serine protease (MASP)라는 새로운 단백질 분해효소가 발견된 이후이다. 생쥐의 MASP는 C1r과 C1s와 38-39%의 상동성을 가지고 있다. 이들 세 단백질은 C-말단에 serine protease domain을 가지고 있으며, N-말단에는 epidermal growth factor (EGF)-like domain을 가지고 있다. 기능적으로 MASPs는 활성화된 C1s와 같이 C4와 C2를 절단할 수 있어 C3 convertase 활성을 가지는 C4b2a 복합체를 형성한

- 145-157.
5. Fraser, I. P., H. Koziel, and R. A. Ezekowitz. 1998. The serum mannose-binding protein and the macrophage mannose receptor are pattern recognition molecules that link innate and adaptive immunity. *Semin. Immunol.* **10**, 363-372.
 6. Gadjeva, M., K. Takahashi, and S. Thiel. 2004. Mannan-binding lectin-a soluble pattern recognition molecule. *Mol. Immunol.* **41**, 113-121.
 7. Garred, P., J. Strøm, L. Quist, E. Taaning, and H. O. Madsen. 2003. Association of mannose-binding lectin polymorphisms with sepsis and fatal outcome, in patients with systemic inflammatory response syndrome. *J. Infect. Dis.* **188**, 1394-1403.
 8. Garred, P. 2008. Mannose-binding lectin genetics: from A to Z. *Biochem. Soc. Trans.* **36**, 1461-1466.
 9. Guo, N., T. Mogues, S. Weremowicz, C. C. Morton, and K. N. Sastry. 1988. The human ortholog of rhesus mannose-binding protein-A gene is an expressed pseudogene that localizes to chromosome 10. *Mamm. Genome* **9**, 246-249.
 10. Gupta, G. and A. Suroliia. 2007. Collectins: sentinels of innate immunity. *Bioessays* **29**, 452-464.
 11. Heise, C. T., J. R. Nicholls, C. E. Leamy, and R. Wallis. 2000. Impaired secretion of rat mannose-binding protein resulting from mutations in the collagen-like domain. *J. Immunol.* **165**, 1403-1409.
 12. Hoppe, H. J. and K. B. Reid. 1994. Collectins: soluble proteins containing collagenous regions and lectin domains and their roles in innate immunity. *Protein Sci.* **3**, 1143-1158.
 13. Ikeda, K., T. Sannoh, N. Kawasaki, T. Kawasaki, and I. Yamashina. 1987. Serum lectin with known structure activates complement through the classical pathway. *J. Biol. Chem.* **262**, 7451-7454.
 14. Kuby, J. 1994. *Immunology*. pp. 2-10, W.H. Freeman and Company, New York.
 15. Mogensen, T. H. 2009. Pathogen recognition and inflammatory signaling in innate immune defenses. *Clin. Microbiol. Rev.* **22**, 240-273.
 16. Nauta, A. J., N. Raaschou-Jensen, A. Roos, M. R. Daha, H. O. Madsen, M. C. Borrias-Essers, L. P. Ryder, C. Koch, and P. Garred. 2003. Mannose-binding lectin engagement with late apoptotic and necrotic cells. *Eur. J. Immunol.* **33**, 2853-2863.
 17. NCBI UniGene. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/unigene/?term=mb12>.
 18. Neth, O., D. L. Jack, M. Johnson, N. J. Klein, and M. W. Turner. 2002. Enhancement of complement activation and opsonophagocytosis by complexes of mannose-binding lectin with mannose-binding lectin-associated serine protease after binding to *Staphylococcus aureus*. *J. Immunol.* **169**, 4430-4436.
 19. Nuytinck, L. and F. Shapiro. 2004. Mannose-binding lectin: laying the stepping stones from clinical research to personalized medicine. *Personalized Med.* **1**, 35-52.
 20. Ohta, M., M. Okada, I. Yamashina, and T. Kawasaki. 1990. The mechanism of carbohydrate-mediated complement activation by the serum mannan-binding protein. *J. Biol. Chem.* **265**, 1980-1984.
 21. Presanis, J. S., M. Kojima, and R. B. Sim. 2003. Biochemistry and genetics of mannan-binding lectin (MBL). *Biochem. Soc. Trans* **31**, 748-752.
 22. Seyfarth, J., P. Garred, and H. O. Madsen. 2005. The 'involution' of mannose-binding lectin. *Hum. Mol. Genet.* **14**, 2859-2869.
 23. Seyfarth, J., P. Garred, and H. O. Madsen. 2006. Extra-hepatic transcription of the human mannose-binding lectin gene (mb12) and the MBL-associated serine protease 1-3 genes. *Mol. Immunol.* **43**, 962-971.
 24. Shi, L., K. Takahashi, J. Dundee, S. Shahroor-Karni, S. Thiel, J. C. Jensenius, F. Gad, M. R. Hamblin, K. N. Sastry, and R. A. Ezekowitz. 2004. Mannose-binding lectin-deficient mice are susceptible to infection with *Staphylococcus aureus*. *J. Exp. Med.* **199**, 1379-1390.
 25. Steffensen, R., S. Thiel, K. Varming, C. Jersild, and J. C. Jensenius. 2000. Detection of structural gene mutations and promoter polymorphisms in the mannan-binding lectin (MBL) gene by polymerase chain reaction with sequence-specific primers. *J. Immunol. Methods* **241**, 33-42.
 26. Tabona, P., A. Mellor, and J. A. Summerfield. 1995. Mannose binding protein is involved in first-line host defence: evidence from transgenic mice. *Immunology* **85**, 153-159.
 27. Takahashi, K., W. E. Ip, I. C. Michelow, and R. A. Ezekowitz. 2006. The mannose-binding lectin: a prototypic pattern recognition molecule. *Curr. Opin. Immunol.* **18**, 16-23.
 28. Turner, M. W. 1994. Mannose binding protein. *Biochem. Soc. Trans.* **22**, 88-94.
 29. Turner, M. W. 1996. Mannose-binding lectin: the pluripotent molecule of the innate immune system. *Immunol. Today* **17**, 532-540.
 30. Wallis, R. and J. Y. Cheng. 1999. Molecular defects in variant forms of mannose-binding protein associated with immunodeficiency. *J. Immunol.* **163**, 4953-4959.
 31. Wallis, R., D. A. Mitchell, R. Schmid, W. J. Schwaeble, and A. H. Keeble. 2010. Paths reunited: Initiation of the classical and lectin pathways of complement activation. *Immunobiology* **215**, 1-11.

초록 : Mannose-binding lectin의 선천성 면역과 질병에 대한 역할장호정 · 박정혜¹ · 정경태^{1*}(동의대학교 생명응용학과, ¹임상병리학과)

선천성 면역이란 감염성 질환에 대응하는 분자들의 네트워크가 반응하는 숙주의 첫 번째 방어 메커니즘이다. 간에서 만들어져 혈액에 존재하는 Mannose-binding lectin (MBL)은 선천성 면역에 관여하는 단백질군인 collectin에 속하는 분자로서 감염성 질병을 유발하는 다양한 세균, 바이러스, 효모, 곰팡이 및 원생동물의 표면에 존재하는 특징적인 당쇄를 인식한다. 이런 감염성 인자들의 표면에 드러난 당쇄의 공통적인 패턴을 MBL이 인식하여 자기(self)와 비자기(non-self)를 구분하기 때문에 MBL을 패턴 인식 분자(pattern recognition molecule)라고 한다. MBL은 *MBL2* 유전자에 의해 만들어지며, *MBL2* 유전형은 여러 가지 다형성(polymorphisms)이 있는 것으로 나타났다. *MBL2* 유전자의 변이는 상당히 많은 사람에서 나타나며, MBL 결여의 원인이다. MBL 결여는 감염성 질환에 대한 감수성을 증가시키므로, MBL의 유전적 변이와 임상적 중요성에 대해 많은 연구가 진행 되어져 왔다. 이 총설은 현재 우리가 알고 있는 MBL의 구조와 기능에 대해 전반적으로 논의하고자 한다.