

# 도약연구사업(舊 국가지정연구실) 최종보고서

① 부처사업명(대)	기초연구사업		보안등급(보안, 일반)	일반
② 사 업 명(중)	중견연구자지원사업		공개가능여부(공개, 비공개)	공개
③ 세부사업명(소)	도약연구사업			
④ 과제성격(기초, 응용, 개발)	기초	④-1 실용화 대상여부(실용화, 비실용화)		실용화
⑤ 과 제 명	국 문	인체혈관평활근세포 기능조절을 통한 혈관재형성제어 체계 구축		
	영 문	Regulation of vascular remodeling by controlling vascular smooth muscle cell function		
⑥ 주관연구기관	경북대학교			
⑦ 협동연구기관				
⑧ 주관연구책임자	성 명	이 인 규	직급(직위)	교수
	소속부서	의과대학	전 공	내과(내분비학)

# □ 연구의 개요 및 필요성

## 가. 연구개발의 배경

### (1) 동맥경화증 발생의 기전

당뇨병, 비만, 고혈압, 고지혈증 등과 같은 대사증후군 환자의 가장 중요한 사망원인은 동맥경화증으로 인한 심혈관 질환임. 이러한 위험인자들은 세포내 산화스트레스를 증가시켜 혈관내피세포 손상과 면역세포의 활성을 유발하고 염증과 혈관기능의 장애를 초래함(그림 1). 이 과정에서 산화된 LDL은 대식세포에 탐식되어 혈관내막에 축적되고 이것이 이차적으로 혈관내막을 손상시킴. 이와 같은 손상이 발생하면 그 손상부위에 혈소판의 침착과 응집이 일어나고 이어서 여러 가지 염증성 사이토카인, 혈관수축물질, prostaglandin, platelet derived growth factor 등의 분비가 유발되고 손상부위로 혈관평활근세포의 이주와 증식이 일어남(Coleman et al., Circ Res 1999).

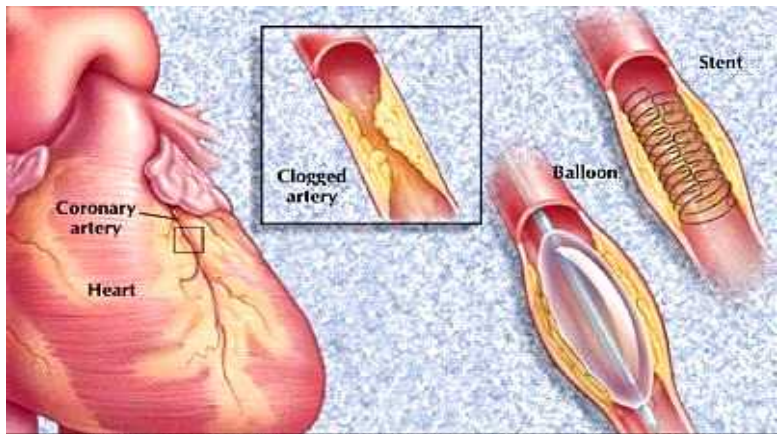
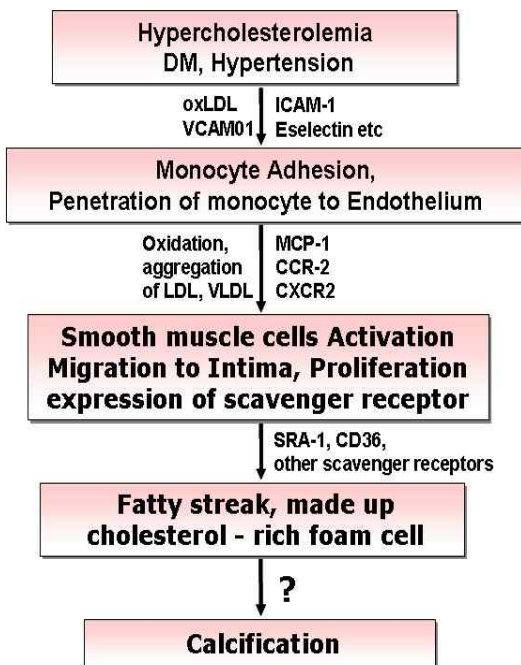


그림 1. 동맥경화증의 발생기전

그림 2. 관상동맥풍선확장술-현재까지 동맥경화증을 근본적으로 치료할 수 있는 방법은 없고 심근경색증과 같은 심각한 합병증 발생 후 막힌 혈관을 재개통시켜 주는 방법이 최선의 치료법임

### (2) 동맥경화증의 진행과 혈관평활근세포 증식의 중요성

- 동맥경화증에서 혈관평활근세포증식: 혈관내피손상이 유발되면 평활근세포가 혈관벽 중막에서 내막으로 이동함. 이동해 온 평활근세포는 빠른 속도로 증식하면서, proteoglycan, 콜라겐을 포함한 여러 종류의 결합조직기질을 분비하여 섬유반(fibrous cap)을 형성하게 됨. 이때 내막으로 이동한 혈관평활근세포는 자체적으로 여러 가지 성장인자와 cytokine을 분비하여 증식이 더욱 폭발적으로 일어나고 세포외 기질을 더 많이 생산하여 동맥경화반(atheromatous plaque)의 크기를 증가시키고 혈관 내경을 좁히게 됨 (Coleman et al., Cir Res 1999).
- 혈관재협착에서 혈관평활근세포증식: 최근 식생활의 서구화와 더불어 협심증과 심근경색증과 같은 관상동맥질환이 크게 증가하고 있음. 이 질환은 심장에 혈액을 공급하는 관상동맥이 좁아지거나 막혀서 발생하는 질환으로 현재까지의 최선의 치료법은 풍선이 달린 카테타를 막히거나 좁아진 혈관 안으로 넣은 후 풍선을 확장시켜 막힌 혈관을 뚫어 주는 것임(그림 2). 그러나 시술 후 1년 이내에 50%에서 재협착이 발

생하고 심근경색이 재발함. 재협착의 가장 중요한 발생기전은 혈관평활근세포의 이주와 증식(neointimal hyperplasia)임. 따라서 풍선확장술후 재협착 예방을 위하여 혈관평활근세포증식을 억제하는 연구가 필수적임.

○ **미토콘드리아/Enoplasmic reticulum (ER) 기능이상과 혈관평활근세포**: 대사성증후군의 주요 사망원인은 동맥경화증에 의한 혈관합병증이고 대사질환의 중요한 발병기전은 미토콘드리아 기능 장애에 의한 에너지 대사 이상과 산화스트레스의 생성 및 ER stress임. 또한, 최근 본 연구팀은 혈관세포에서 UCP2, AMPK 등과 같은 미토콘드리아 활성물질이 혈관평활근세포의 증식, 이주, PAI-1 발현, 세포기능이상에 중요한 역할을 함을 확인하였음 (Lee et al., Circ Res 2005, Lee et al., ATVB 2005, Park et al., Diabetologia 2005). 따라서 대사증후군의 중요한 병리기전인 미토콘드리아 기능이상은 혈관평활근세포의 기능에도 중요한 역할을 함. 결론적으로 혈관평활근세포에서의 미토콘드리아 기능이상에 대한 연구는 대사질환에서의 혈관합병증 발생기전을 규명하는데 필수적이라고 할 수 있음.

○ **동맥경화증에서 혈관평활근세포의 혈관석회화**: 대동맥 석회화는 대동맥 벽의 탄성을 감소시키고 관상동맥 혈류 공급에 장애를 초래하여 심근경색 및 심부전의 위험을 증가시킴 (Oxlund et al., Bone 2004, Egede et al., Arch Inter Med 2002). 5,209명을 대상으로 12년간 추적 관찰한 코호트인 Framingham 연구를 보면 혈관석회화가 동맥경화증에서 아주 중요함을 알 수 있음. 단순 흉부촬영상 흉부대동맥 석회화를 보이는 경우에는 관상동맥질환과 뇌혈관질환의 위험이 2배이고 사망률 또한 2배로 증가됨 (Witteaman et al., Am J Cardiol 1990). 현재까지의 대부분의 동맥경화 연구팀들은 혈관내피세포나 단핵구의 염증반응 및 거품세포형성(foam cell formation)기전을 규명하기 위한 연구에 집중하고 있음. 이에 반해 본 연구팀은 국내에서 유일하게 일차배양하고 있는 사람의 혈관평활근세포가 동맥경화증 발생에 미치는 역할에 관한 연구와 혈관평활근세포의 증식/이주 및 석회화 과정에 초점을 맞추어 연구를 진행하고 있음.

☞ 이상을 요약하면 혈관평활근세포기능을 제어할 수 있는 기술의 개발은 동맥경화증과 재협착을 성공적으로 치료 및 예방하기위한 핵심기술임. 이를 위해서는 동맥경화증의 중요 위험인자인 당뇨병, 비만, 고혈압 등과 같은 대사질환과 밀접한 관련이 있는 미토콘드리아 및 ER 기능이상인 혈관평활근세포의 증식, 염증반응, 석회화 및 거품세포형성에 어떠한 역할을 하는지를 규명하는 연구가 선행되어야 함.

## 나. 연구개발의 목표

본 연구의 목표는 동맥경화증과 혈관재협착의 발생에 중요한 혈관평활근세포의 기능을 제어할 수 있는 기술을 개발하는 것으로 이를 위해 동맥경화증 호발 대사질환에서 혈관평활근세포의 증식, 거품세포형성, 석회화의 발생기전을 규명하고 나아가 각각의 과정을 성공적으로 제어할 수 있는 신규생체활성물질을 발굴하고 혈관평활근세포기능의 제어를 통한 혈관질환과 대사질환의 혈관합병증의 치료 및 예방의 기반기술을 확보하고자 함.

## 다. 연구개발의 필요성

### ○ 기술적 측면

혈관재형성 제어의 핵심기술은 혈관평활근세포의 기능을 효율적으로 조절하는 것임. 그러나 현재까지 동맥경화증 연구는 혈관내피세포나 단핵구에 관한 연구가 대부분이고 혈관세포에서 대사증후군과 관련된 특정 세포내 소기관의 기능 제어기술을 개발하기 위한 연구는 없었음. 본 연구는 대사성질환의 발생과 밀접

한 관련이 있는 미토콘드리아-ER 기능조절을 통해 혈관평활근세포기능 제어기술과 재협착을 방지하는 기술을 개발하고자함. 이는 동맥경화증을 비롯한 대사성질환 치료제 개발의 핵심기술을 제공하게 될 것임.

- 현재까지 고지혈증, 고혈압, 고농도포도당 등 동맥경화증의 여러 위험인자들이 어떻게 동맥경화증의 발생기전에 연결되어 있는지 명확히 규명되어 있지 않아, 동맥경화증을 근본적으로 치료하기 보다는 동맥경화증의 위험인자를 제거하는데 치료의 초점이 맞추어져 있음. 따라서 심혈관 치료제로 현재 사용되고 있는 약제는 혈압강하제(칼슘차단제, 베타차단제, 전환효소저해제, 이뇨제 등), 항혈소판제제, 콜레스테롤 강하제(statin, fibrate) 등이 주를 이루 있음 (Scalia Am J Cardiovasc Drugs. 2005, Ocopien et al., J Cardiovasc Pharmacol. 2005).
- 그러나 이러한 약물들은 어느 정도 동맥경화증의 발병의 위험도를 감소시키는 효과가 있음이 증명되었으나 모든 환자에서 동맥경화증을 확실하게 예방할 수 있는 방법은 아님.
- 동맥경화증과 혈관재협착의 발병에 있어 혈관평활근세포에 의한 혈관재형성은 아주 중요함에도 불구하고 동맥경화 연구팀들은 혈관내피세포나 단핵구에서의 염증반응 및 거품세포형성기전을 규명하기 위한 연구에 집중하여 왔음. 이에 반해 본 연구팀은 국내에서 유일하게 인체 혈관평활근세포를 일차배양하고 있으며 사람의 혈관평활근세포가 동맥경화증 발생에 미치는 역할에 초점을 맞추어 연구를 진행하고 있음.
- 현 수준에서 동맥경화증의 최선의 치료법은 동맥경화증에 의해 막힌 혈관을 풍선성형술을 이용하여 넓혀주는 것이나 이 또한 높은 재협착률로 인해 완전한 치료법이 되지 못하고 있음.



그림 3. 혈관 성형술 후 재협착. 시술전 79%의 관상동맥의 협착부위가 풍선확장술 후 7%로 협착이 감소하였으나 시술 후 6개월째 55%의 재협착이 발생함.

- 따라서, 동맥경화증의 발병을 예방 및 치료하기 위해서는 혈관평활근세포의 기능을 효율적으로 제어할 수 있는 기술의 개발이 필수적임. 본 연구팀은 사람의 혈관평활근세포를 일차분리 배양하고 있으며 동맥경화증을 대사질환과 연관지어 미토콘드리아-ER 기능에 초점을 맞추어 연구를 진행하고 있음. 본 연구팀은 유전자전달 adenoviral vector 제작, HVJ-liposome/E-vector 제작기술, 전사인자 활성억제 decoy 제작기술을 확보하고 있음. 신규표적유전자 탐색을 위한 DNA microarray, proteomics, secretome 분석, phage display 등의 새로운 분석기법을 이용한 신규 분자표적 발굴과 제어시스템 연구를 진행하고 있어 국제적 경쟁력을 확보하고 있음. 본 과제를 통해 개발하고자 하는 혈관평활근세포 기능조절 기술과 혈관재형성 제어기술은 동맥경화증 신약개발에 핵심기술이 될 것임.

### ○ 경제·산업적측면

심혈관, 뇌혈관질환을 예방/치료하는 기술은 전 세계적으로 엄청난 규모의 투자가 이루어지고 있는 핵심 분야로, 심혈관치료제 세계시장규모는 2010년 약 1440억 달러의 시장을 형성하고 있으며, 관상동맥 혈관성형술은 2008년 한해 1,700,000 명이 시술을 하여 현재 1조원이상의 시장을 형성하고 있음. 그러므로 혈관평활근세포 기능제어기술을 개발을 통하여 혈관평활근세포 증식을 억제하고 성공적으로 재협착을 억제하는

기술이나 약물의 개발은 그 경제·산업적 가치가 엄청남.

- 항고혈압제 시장은 2010년 653억 달러 정도.
- 고지혈증 약물 시장은 2010년 324억 달러 정도.
- 항혈전제 시장은 2010년 263억 달러 정도임.
- 국내의 경우 2008년 기준으로 고지혈증치료제 시장은 약 1000억원대 규모로, 매년 마다 10% 이상의 고성장을 이어가고 있음. 현재 국내에서 출시되고 있는 고지혈증치료제는 한국화이자의 '리피토'와 한국MSD의 '조크' 등 스타틴제제가 전체 시장의 80% 이상을 차지하고 있는 것으로 알려졌다. 지난해에는 '조크'의 물질특허가 완료되면서 CJ주의 '심바스타'를 비롯해 종근당의 '심바로드', 한미약품이 '심바스트', 동아제약의 '콜레스논' 등 심바스타틴 성분의 제네릭 제품이 계속 출시되면서 시장 경쟁에 불을 붙였음 (약업신문). 통계청이 발표한 2001년 생명표에 따르면 동맥경화나 심근경색 등의 심혈관질환은 한국인의 사망원인 2위를 차지했다. 따라서 관련업계에서는 국내 고지혈증 치료제 시장이 매년마다 최소 10% 이상 확대될 것으로 보임.
- 특히 관상동맥 풍선확장술 후 재협착방지를 위하여 시술하는 sirolimus (rapamycin), taxol 등의 항혈관평활근세포 증식 약물을 방출하는 약물 코팅스텐트는 스텐트 한 개의 가격이 3-4백만 원에 이룸. 이러한 풍선 확장술은 우리나라에서 2004년 한해에만 일만 오천건(보건복지부 통계 참조) 이상이 시도되었음. 그러므로 혈관평활근세포 증식을 억제하여 효과적으로 재협착을 억제하는 기술이나 약물의 개발은 그 경제·산업적 가치가 엄청남.
- 본 연구는 혈관평활근세포제어기술의 개발을 통해 본격적인 신약개발에 필요한 기반지식을 확대함으로써, 이 분야의 연구 및 치료 수준을 한 단계 앞당기고, 향후 질병의 진단, 예측, 치료 시스템의 개발을 통하여 경제적, 산업적 효과를 극대화 시킬 수 있을 것임.

### ○ 사회·문화적측면

생활수준의 향상, 의료기술의 발전에 의한 노인인구의 증가로 당뇨병, 고혈압, 심장병 등의 만성 대사성 질환이 큰 사회 문제로 대두 되고 있음. 특히 심혈관질환은 사회적, 경제적 활동이 왕성한 40-50대에 집중적으로 발생함으로써 노동력의 소실로 인한 가정의 파괴와 사회 양극화의 주요 원인이 되고 있음. 본 기술의 성공적인 개발은 신 개념의 치료제 개발에 기초기술 정보를 제공하여 성인병 예방을 통한 국민보건 향상으로 인류건강 복지를 추구할 수 있을 것임.

- 생활수준의 향상, 경제 사회의 발달, 의료기술의 발전에 의한 노인인구의 증가와 서구식 식습관 등으로 우리나라에서도 비만, 당뇨병, 고혈압, 심장병 등의 만성 대사성질환이 큰 사회 문제로 대두 되고 있음.
- 동맥경화증으로 인한 심혈관 질환은 전 세계적으로 가장 중요한 사망원인으로 알려져 있음. 전 세계적으로 볼 때 1990-2020년 사이에 허혈성 심질환에 의한 사망은 여자에서 120%, 남자에서 137% 증가할 것으로 예상되고 있음 (Yach, et al, JAMA, 2004).
- 2002년 통계청의 사망원인통계를 보면 우리나라의 주요 사망원인으로 뇌혈관질환이 2위 심장질환이 3위로 나타나 동맥경화증이 국민건강에 큰 위협요소임을 알 수 있음.
- 따라서 본 기술의 개발은 동맥경화증 및 당뇨병, 비만 등 대사질환의 혈관합병증을 성공적으로 관리하기 위한 기반기술이 될 것이며 급속히 진행되고 있는 노령사회를 대비한 고효율적인 국가적 보건-의료체계를 갖추는데 기여할 것으로 기대됨.

## □ 연구성과의 활용 방안

### ○ 혈관질환 분야의 연구

- 본 연구를 통해 대사성질환의 원인인자들을 기본으로 하는 타겟분자와 선도물질 발굴은 혈관 풍선확장시술 후 재발하는 혈관재협착 분야와 혈관석회화에서 치료제개발에 중요한 기초지식 제공과 선도물질을 제시하였음.
- 특히 본 연구를 통해 발굴된  $\beta$ -lapachone 후보물질은 혈관평활근세포에서 NQO1과 AMPK의 활성을 통해 세포의 증식을 억제함을 분자적 수준에서 최초로 증명하였으며, 이러한 결과는 혈관재협착의 치료제개발에서 선도물질의 가능성을 입증 받아 특허출원과 산업하기 위해 기술이전을 하였음.
- Clusterin은 동맥경화증을 저해하는 유전자로써 동맥경화증 치료제 개발의 표적유전자임을 제시함과 Clusterin은 PAI-1 유전자의 발현을 감소시킴으로써, 동맥경화증의 발생을 억제할 수 있음을 제시함. 또한 Clusterin은 동맥경화증의 관계뿐만 아니라 대사질환의 지방간, 지방세포분화, 신장기능, 베타세포에서의 역할을 연구함으로써 앞으로 대사성질환과 동맥경화증의 관계를 이해하고 제어하는데 중요한 표적 유전자가 될 것으로 사료됨.
- 혈중에 증가된 포도당, 인슐린, 지질등에 의한 ROS의 증가는 PAI-1 발현을 증가시킴으로써 혈관질환을 유도하는데, Cilostazol은 이러한 과정에서 TNF- $\beta$ 의 신호전달 체계를 억제함을 규명함. 또한 혈관평활근세포에서 SHP가 TGF- $\beta$  /Smad3 및 AP-1의 활성도를 억제함으로써 PAI-1의 발현을 억제하는 것을 확인할 수 있었고, 혈관평활근세포에서 SHP의 발현을 증가시킬 수 있는 약제의 스크리닝은 동맥경화증의 치료제 개발에 새로운 타겟분자가 될 것으로 사료됨.
- 혈관평활근세포의 증식 및 이주에 있어 NFk-B의 활성의 중요성과 ALA에 의한 NFk-B 전사활성 능력이 저해됨을 관찰함. 이는 동맥경화증의 제어시스템을 개발하는데 중요한 단서가 될 것으로 사료됨. 또한 ALA가 혈관평활근세포의 증식억제 기작은 세포의 사멸을 유도함을 관찰하였으며, ALA의 혈관평활근세포의 apoptosis 유도는 핵 수용체인 Nur77의 유전자 발현조절과 위치변화 (핵에서 세포질)를 통해 유도됨을 관찰함. 혈관재협착 동물모델 Balloon injury에서 ALA효과를 분석한 결과 ALA 처리군에서 혈관평활근세포의 apoptosis의 증가를 관찰함과 혈관재협착이 저해됨을 관찰함. 최근 이슈화 되고 있는 혈관재협착의 치료 (stent 시술)에 본 연구의 결과를 Drug-eluting stent에 응용한다면 효과적으로 혈관재협착을 치료할 수 있을 것으로 사료됨.
- DMF에 의한 혈관평활근세포의 증식 억제효과는 FACS 결과에서 현저한 차이를 증명하였으며, 그 분자적 기작은 Nrf-2 활성조절을 통해 p21 유전자발현 감소와 세포증식 억제를 규명하였으며, 이러한 연구결과는 혈관재협착증의 치료제로서의 가능성을 보여줌.
- 혈관평활근세포에서 AG110을 처리해 보았을 때 20% FBS에 의해 증가하였던 세포의 증식이 농도 의존적으로 감소함을 확인하였음. 또한 혈관평활근세포에서의 AG110 처리는 세포증식에 관여하는 pRb의 인산화 및 Cyclin D의 양을 감소시키고, p21과 p27의 발현은 증가시킴을 증명하였음. 또한 이러한 AG110의 분자적 기작이 세포증식과 관계하는 STAT3의 활성을 제어함으로써 이루어짐을 증명함. 따라서 본 연구의 결과는 AG110이 혈관평활근세포의 증식과 이주를 제어하는 선도물질의 가능성을 입증함으로써 앞으로 동맥경화증의 치료제 개발 가능성을 보여줌.
- 미토콘드리아의 기능을 향상시키는 ALA가 in vitro에서 Pi의 처리 후 혈관평활근세포의 석회화를 관찰한 결과 비교군에 비해 ALA의 처리군에서 현저히 감소됨을 관찰함. 또한 ALA의 분자적인 기작은 항산화작용뿐만 아니라 Pi에 의해 유전자발현이 감소되었던 혈관평활근세포의 생존에 중요한 인자인 Gas6의 유전자 발현을 증가시킴을 증명하였음. 이러한 결과들은 동맥경화증의 발달과정에서 혈관석회화를 제어하는데 중요한 기초지식과 선도물질의 가능성을 시사하였음.
- 본 연구는 PDK4의 혈관평활근세포에서 석회화의 작용기전을 분자적인 수준에서 명확히 하였고, 나아가

PDK4의 제어를 통해 혈관석회화를 제어하는데 새로운 타겟분자 역할을 할 수 있을 것으로 사료됨. 현재 새로운 타겟분자를 증명하기 위해 PDK2, PDK4 K/O 동물모델을 미국의 인디애나 대학의 Robert Harris박사로부터 제공받아 in vivo 상태에서 혈관석회화를 세밀히 검토 중임. 앞으로 연구가 지속적으로 진행된다면, 대사성질환과 동맥경화증의 동시에 치료할 수 있는 새로운 시스템을 구축할 수 있을 것으로 사료됨.

## ○ 타 분야의 연구

- 본 연구를 통해 동맥경화증 분야의 연구에서 발굴된 타겟분자와 선도물질을 혈관질환이 아닌 다른 대사성질환에서 적응증을 확인한 결과 상당수의 타겟분자와 선도물질이 서로 공유함을 확인함. 이는 혈관질환 (동맥경화증)의 근본적인 원인이 대사성질환에서 기인하기 때문으로 사료됨. 따라서 본 연구결과에서 발굴된 타겟분자와 선도물질은 대사성질환의 전반적인 부분에서 적용될 것으로 사료됨.
- 에너지대사에 중요한 부분을 담당하는 세포소기관 중 미토콘드리아와 ER의 기능이상은 대사질환과 더 나아가 동맥경화증에 이르게 됨. 따라서 대사성질환에 의한 동맥경화증은 미토콘드리아와 ER의 기능이상을 분자적 수준에서 이해함이 필수적임. 이에 본 연구는 미토콘드리아의 기능에 관련하는 유전자 PGC-1, PDK, SHP, AMPK등과 ER의 기능이상 관련하는 유전자 ATF4, ATF6, CREBH, TRB3, SHP등의 분자적기작과 제어시스템을 탐색하였음. 이러한 연구결과는 다양한 연구분야에서 공통 타겟분자로 적응증을 확대하는 연구가 진행되는데 기초적인 지식을 제공할 것으로 사료됨.
- ALA의 미토콘드리아의 기능향상과 항산화효과를 통해 동맥경화증의 개선효과에 대한 연구와 대사성질환에 의한 간 질환에서 ALA의 효과를 동시에 관찰한 결과 ALA가 LXR, TGF- $\beta$  signaling과 PAI-1을 억제함으로써 지방간과 간 섬유화를 제어함을 보고하였음. 이는 강력한 항산화제인 ALA가 대사성질환에 의한 간질환의 치료제개발 가능성을 확인함.
- 신장섬유화 동물모델(UUO model)에서 SHP와 TGF- $\beta$ 의 유전자 발현을 조사한 결과 control 군에 대해 UUO 군에서 SHP의 발현이 감소하고, 반대로 TGF- $\beta$ 의 발현은 증가함을 관찰함. SHP의 K/O mice에 신장섬유화가 더 심화됨과 아덴노바이러스 SHP를 이용한 과발현에서 신장섬유화가 현저히 감소함을 동물실험을 통해 관찰함. 이러한 연구결과들은 SHP가 TGF- $\beta$ 의 신호전달을 제어함으로써 신장섬유화를 제어함을 증명하였으며, 앞으로 만성/급성 신장질환 섬유화의 치료제개발에 SHP의 타겟분자를 제공하게 될 것으로 사료됨.

## ○ 추가연구의 필요성

- 동맥경화증의 제어시스템을 개발하기 위해서는 혈관평활근세포의 기능을 효율적으로 조절하는 것임. 그러나 현재까지 동맥경화증 연구는 혈관내피세포나 단핵구에 관한 연구가 대부분이고 혈관세포에서 대사증후군과 관련된 특정 세포내소기관의 기능 제어기술을 개발하기 위한 연구는 없었음. 본 연구는 대사성질환의 발생과 밀접한 관련이 있는 미토콘드리아-ER 기능조절을 통해 혈관평활근세포기능 제어기술과 재협착을 방지하는 기술에 대해 연구하였음.
- 본 연구 “ 동맥경화증에서 혈관평활근세포의 기능제어에 대한 연구”의 연구결과는 동맥경화증의 발달 과정을 분자적인 수준에서 이해하기 위해 특히 혈관평활근세포의 기능을 미토콘드리아와 ER을 타겟하여 기초연구를 수행하였으며 기초지식을 바탕으로 치료제개발을 위해 타겟분자와 선도물질을 발굴하였음. 하지만 아직까지 발굴된 약물 타겟분자를 이용한 제어시스템의 개발은 지속적인 연구가 더 필요함.
- 또한 혈관평활근세포의 미토콘드리아와 ER의 기능이상에 대한 연구는 앞으로 대사성질환에 의한 타 조직 (Liver, Kidney, Adipocyte, muscle, heart, pancreas...)의 질환에서 응용연구가 진행된다면 미토콘드리아와 ER의 기능제어 시스템을 통해 대사성질환을 근본적으로 해결할 수 있을 것으로 사료됨.

- 본 연구책임자는 후속연구를 위해 본 연구를 통해 발굴된 타겟분자들의 knock-out mice (PDK2, PDK4, SHP, Nrf2, Clusterin 등)를 보유하고 있으며 앞으로 동물모델에서 이들 mouse를 이용하여 타겟분자의 분자적기작을 in vivo에서 명백히 하고자함.
- 본 연구결과에 대한 지속적인 연구는 국내 심혈관질환 관련 연구분야의 활성화를 통하여 관련 전문가 양성효과를 유발할 것이며 독창적인 혈관평활근세포 기능조절 및 혈관재형성 제어기술을 제시하여 특허권을 확보하고 동맥경화증의 진단, 예측, 치료를 위한 신물질 개발의 지적재산권을 선점하여 바이오산업의 국제경쟁에서 기술적 우위를 점하게 될 것임.
- 본 연구책임자는 지난 5년간 학술지에 대사성질환 및 혈관질환 분야에 대한 SCI 논문을 기초적인 분자적기작 연구와 제어시스템 연구에 대해 총 47편을 게재 하였으며, 교신저자 논문이 총 19편을 게재함. 질적인 면에서 SCI Impact factor 5.0 이상 저널에 총 30편중 교신저자 논문이 총 8편을 게재하였고, 지적재산권인 특허는 12건을 출원함. 계량화된 단순 비교는 어렵지만, 본 연구실의 연구결과가 이 분야에서 국제적으로 경쟁할 수 있는 기반을 마련하였으며, 앞으로 이 분야의 지속적인 연구가 진행된다면 치료제 개발을 선점할 수 있을 것으로 사료됨.

## □ 관련 해외과학기술정보

### ○ 혈관재협착 제어시스템에 대한 최근 연구동향

- 본 연구팀은 동맥경화증으로 좁아진 혈관을 넓히는 '풍선확장술'을 한 후 혈관이 다시 좁아지는 것을 억제하는 새 신호전달 메커니즘을 밝혀내고 이를 예방할 수 있는 신약물질을 개발하였음. 바이오벤처 머젠스 연구진과 공동연구를 통해 신약 후보물질( $\beta$ -lapachone, ALA)을 풍선확장술을 시술한 쥐에 2주간 투여한 결과 혈관재협착을 90% 이상 낮추는 효과를 얻었으며 이와 함께 세포증식을 억제하는 세포 신호전달 체계를 규명하였음.
- '혈관재협착'은 풍선확장술 시술 시 혈관 내피막의 상처로 시술부위 세포가 증식하면서 나타나는 현상으로 시술 후 1년 안에 50%가량에서 발생할 정도로 흔하지만, 현재까지 뚜렷한 치료제가 없고 재수술도 상당히 위험한 것으로 알려졌다.
- 신약후보물질  $\beta$ -lapachone은 운동모방 효과를 나타내는 효소인 'AMPK'를 활성화하는 물질로 이 물질을 투여하면 암 억제유전자인 p53의 활성을 증가시켜 세포증식을 억제하는 신호가 활성화됨으로써 혈관평활근세포의 증식과 이주가 억제됨을 보고하였음. 본 연구진은  $\beta$ -lapachone은 체내에서 항산화 작용하는 NQO1을 활성화하기 때문에 그에 따라 세포 내 에너지 대사소기관인 미토콘드리아가 활성화되고 에너지 소비가 증가, 동맥경화증과 고지혈증, 비만 등의 동시 치료 효과도 기대됨.
- 혈관평활근세포에서  $\beta$ -lapachone에 의한 AMPK의 활성화와 NQO1의 활성조절을 통한 세포증식 억제효과와 풍선확장술 동물모델에서 혈관신생내막 억제능을 규명하여, 새로운 동맥경화증 치료제의 발굴 가능성을 제안하고 이에 대한 연구결과를 특허출원 하였음. 또한 관련기술을 엠디바이오알파에 이전함으로써 기술이전료를 취득하여 후속 연구에 투자하고 있음. 동맥경화증과 관련하여  $\beta$ -lapachone의 활성을 밝힘으로써 동맥경화증 치료제 시장에서 경쟁력을 가지게 되었으며, 새로운 동맥경화증 치료제 개발로 인한 경제적 가치창출이 기대됨.
- 항산화 효과가 아주 강력한 ALA는 여러 연구자에 의해 혈관내피세포의 사멸을 방지함이 보고됨. 하지만 아직까지 혈관평활근세포에 대한 연구는 보고되지 않음. 본 연구의 결과에서는 혈관평활근세포의 증식과 Nur77과 apoptosis 기작을 통해 저해함을 증명하였으며, 혈관내피세포의 reendothelialization을 촉진함과 stent thrombosis가 억제됨을 보고하였음. 이는 기존 Drug Eluting Stent (DES)의 문제점을 보완할 수 있는 새로운 약제의 가능성을 시사하였고, ALA의 경우 본 연구책임자가 비만 치료제 개발을 위해 임상IIa를 진행중임. 임상실험 결과는 ALA를 섭취한 군에서 그렇지 않은 군에 비해 유효하게 몸무게가 감



소함을 관찰하였으며, 이러한 결과들은 Am J Med 저널에 수록예정임.

#### ○ 혈관석회화와 골형성에 대한 최근 연구동향

- 혈관석회화는 뼈 형성과 비슷하게 세포에 의해 매개되는 능동적 과정을 통해 인산칼슘과 같은 무기질이 혈관조직에 비정상적으로 침착되는 현상을 말함. 혈관석회화는 주로 노화, 당뇨병, 동맥경화, 만성신부전증 환자에서 주로 발생하며, 뇌졸중, 허혈성 심장병, 심근경색과 같은 뇌심혈관질환 유병율과 사망율을 높이는 독립적 위험인자임. 또한 혈관석회화와 골밀도 사이에 역 상관관계 (calcification paradox)가 입증되고 있음. 그러나, 혈관석회화가 뼈 형성과 비슷한 과정 및 인자들에 의해 조절된다는 사실을 고려해 볼 때, 이러한 calcification paradox의 원인 및 영향요소들을 규명하는 것은 골형성을 억제하지 않으면서 또는 개선하면서 혈관석회화를 치료 및 예방하기 위해 필수적이라 할 수 있음.
- 이러한 요소들 가운데, bone gla protein이라고도 하는 osteocalcin (OC)은 조골세포에서 분비되는 뼈에 존재하는 가장 많은 비 콜라겐성 세포외 기질 단백질로, 비타민 K 의존적으로 g-carboxylation (Gla)되는 glutamic acid 잔기를 가지고 있으며 이 Gla화 된 OC (Gla-OC)은 뼈 속의 hydroxyapatite와 결합하여 골 기질 중에 축적되어 골형성에 관여하고 미량만이 혈액으로 방출됨. 그러나 Gla화 되지 않거나 탈탄산된 OC (Glu-OC)은 골 기질과의 친화성이 약하여 혈액으로 방출되어 골 흡수의 지표가 됨. OC이 조골세포에서 분비됨으로 혈청 내 OC 농도를 뼈 형성 표지자로 삼고 있으나, OC 적중 (OC-/-)의 경우, 뼈 형성이 증가됨이 보고되어, OC의 뼈 형성 억제기능을 시사함. 이와 같은 맥락에서 OC이 높은 골교체를 및 골밀도 감소와 연관됨이 많은 임상적 결과로 입증되었음. 또한 OC은 혈관석회화가 일어나는 주요세포 중 하나인 혈관평활근세포에서도 발현됨.
- 설취류 모델에서 혈청 osteocalcin 농도와 혈관석회화사이의 양의 상관관계가 보고되었음. 또한 임상결과는 동맥경화반과 석회화된 심장판막에서 OC발현이 증가됨이 보고 된 바 있음. 따라서, 이러한 보고들은 혈청 내 OC농도의 혈관석회화 표지자로 사용 가능성을 제시함. 그러나 최근, Calcif Tissue Int. (2010, 86:185-191)와 Kidney Blood Press Res. (2010;33(1):66-71)에 발표된 두 논문은 서로 상반된 결과를 보여주었음. 전자의 경우 65세 이상 여성 환자 363명의 혈청 내 총 OC 농도와 복부대동맥 석회화를 조사한 결과 이들 간의 연관성이 없다고 보고하였음. 후자의 경우, 고혈압 환자 92명의 혈청 내 undercarboxylated OC (Glu-OC) 농도가 경동맥 석회화의 중요한 표지자로서의 기능을 보고 하였음. 그러나, 두 연구 모두 소그룹 연구라는 점과 전자의 경우 Gla-OC와 Glu-OC의 구별 없이 총 OC의 농도를 측정 한 한계점이 있음.
- 이 분야의 앞으로의 연구는 혈관석회화의 단계별로 혈청 내에서 Gla-OC와 Glu-OC의 농도를 조사함으로써 혈관석회화와 관계에 대해 연구가 진행될 것이며, OC의 혈관석회화 진단표지자로서의 가능성을 제시할 수 있을 것으로 사료됨. 또한 혈관석회화 과정에서 Gla-OC와 Glu-OC의 기능과 제어 시스템연구를 통해 골형성 억제 없는 혈관석회화의 치료제 개발에 응용될 것으로 사료됨.