

# 심혈관계 질환 모델에서의 microRNA 표적 치료법

손 조 은

The Hospital for Sick Children, University of Toronto

E-mail: [joe8601@gmail.com](mailto:joe8601@gmail.com)

## 요약문

심혈관계 질환은 인간의 주요한 사망 원인이며, 전세계 의료분야에 사회 경제적으로 큰 부담을 지우고 있다. microRNA (miRNA)는 다양한 질환의 병태생리학적 측면에 관여하는 새로운 부류의 특이한 분자이다. 지난 10년 사이, 여러 심혈관계 질환에서의 miRNA 특징이 밝혀졌으며, miRNA를 기반으로 한 여러 가지 치료 옵션들이 다양한 동물 모델에서 성공적으로 제시되었다. 이러한 실험 모델들에서 연구자들은 심혈관계 질환을 예방 혹은 치료하기 위해 miRNA들의 발현 및 그 하위 신호전달 체계들을 조절하였다. 본 총설논문에서는 miRNA 동물 모델과 miRNA 치료법의 발달에 대한 최신 보고들과 미래에 임상 적용 가능성에 대한 전망을 제시하고자 한다.

**Key Words:** microRNA, 심혈관 질환, miRNA 치료법, 동물 모델

본 자료는 MicroRNA therapeutics in cardiovascular disease models. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2014; 54: 185-203 의 논문을 한글로 번역, 요약한 자료입니다.

## 목 차

1. 서론
2. 체내에서 miRNA 유사체의 전달.
3. 심혈관 동물 모델
4. miRNA 치료제의 심장질환 모델 적용
5. 혈관 질환 모델에서의 miRNA 치료제
6. 심장 대사질환 모델에서의 miRNA 치료제
7. 결론

## 1. 서론

심혈관계 질환은 전 세계적으로 주요한 사망 원인으로 여겨지고 있으며 활용 가능한 다양한 치료 방법들이 있음에도 불구하고 심혈관 질환 발병률 및 그로 인한 사망률과 의료적 손실은 선진국 및 개발도상국 모두에서 증가하고 있다. 현재 심혈관계 질환에 대한 치료는 질병의 진행을 둔화시키는데 집중되어 있으며, 예방 및 개선등과 같은 새로운 치료 전략을 개발하기 위해서는 질병 발달의 병태 생리적 분자 기전을 이해하고 규명하는 것이 필수적이다.

현대 유전체 발견의 시대에서, 마이크로 RNA (miRNA)는 높은 수준으로 보존되고 내재적으로 발현되며, 짧은 단일 가닥 구조의 독특한 비번역 RNA들을 총칭한다. 이 miRNA들은 단백질로 발현되는 mRNA 전사체의 3' 비해석부위 (untranslated regions)에 결합할 수 있는 핵산 서열을 가지고 있어서, mRNA에 결합하여 유전자의 번역을 억제하고, 이를 통해 다양한 생물학적 기전에 영향을 미친다. 심장 질환 및 혈관 질환의 발병 과정에서 miRNA들의 발현 변화는 잘 알려져 있다. 그러나 특정 자극 조건에서만 중요하게 작용하는 여러 특이적인 miRNA나 miRNA 집단들의 분자적 작용기전이 확실히 밝혀져 있지 않은 점은 miRNA를 인간 질병의 치료 표적으로 사용하는데 어려움을 주고 있다. 실험적으로 유도된 여러 심혈관계 질환 동물 모델에서 진행된 miRNA의 기능 조절 실험들은 심혈관계 질환에서 miRNA의 병태생리학적 중요성을 성공적으로 나타내었으며, 연구자들로 하여금 miRNA를 기반으로 한 새로운 치료 전략을 개발하게끔 하였다.

기존의 전통적인 약물 분자들과는 달리, miRNA는 일반적인 세포 및 생물학적 기능에 기여하는 많은 유전자들의 mRNA들에 동시에 작용하여 유전자의 번역에 영향을 미친다. miRNA는 다양한 각 표적 mRNA 에 영향을 미치며 이로 인해 유전자의 최종 기능 단계에서 강한 효과를 나타나게 된다. 다른 한편으로는, 이러한 작용 기전으로 인해 여러 전통적인 약물에서 나타나는 단점 없이 강한 치료 효과를 보인다는 장점을 가지기도 한다. 반면에 치료용 miRNA는 순환기를 통해 인체 여러 조직에 작용하여 여러 비특이적 반응들을 나타낼 수도 있다.

심혈관계 질환의 발병과 진행을 주도하는 분자 기전을 규명하는 것은 치료를 위한 새로운 표적을 발견하는데 필수적이다. 현재까지 심혈관계 질환을 위한 치료법으로 임상시험 단계에 진입한 miRNA 치료법은 개발된 것이 없으나, 그럼에도 불구하고 전임상 동물실험에서 miRNA 기반 치료법의 적용은 미래에 이러한 치료법의 사용이 효과적일 것이라는 증거들을 제시해주고 있다. 본 총설 논문에서 우리는 miRNA 조절제들이 얼마나 효과적으로 여러 심혈관 질환 동물모델들의 구조적 기능적 문제를 되돌리는지에 대해 논하려고 한다.

## 2. 체내에서 miRNA 유사체의 전달

고혈압, 심근허혈증, 대동맥 협착증, 혈관신생성 및 동맥경화 등과 같은 여러 동물모델에서 miRNA의 기능을 규명하기 위해 화학적으로 변형이 가해진 여러 miRNA 유사체들을 이용한 실험이 진행되었다. 올리고핵산염의 형태는 물이나 식염수등에 잘 녹으며, 이러한 특징으로 인해 체내 여러 경로로 주사를 통한 적용이 용이하기 때문에 대부분의 사례에서 성공적으로 사용되었고, 하지만

아직까지 구강 섭취를 통한 적용은 개발되지 않았다. 국소 부위에 miRNA를 전달하는 방법은 심장이나 관상동맥에 직접 주사하는 방식으로 몇몇 심혈관 질환 모델에서 수행되었다. 비록 아직까지 miRNA의 체내 흡수에 대한 작용 기전은 잘 알려져 있지 않으나 여러 가지 miRNA 치료제들은 심혈관계 세포주 안으로 흡수될 수 있다는 것이 보여졌다. 세포 내 흡수 과정에서, miRNA 유사체들은 그들의 표적 miRNA에 결합하여 miRNA의 활성을 저해하고, 이를 통해 그 표적이 되는 mRNA의 활성을 증가시키게 된다.

### *화학적 miRNA 유사체*

올리고핵산염들은 질병 발달 단계에서 발현이 증가하는 miRNA들과 강한 힘으로 결합한다. 예를 들자면 상보적 서열의 올리고핵산염은 체내에서 표적이 되는 miRNA와 결합하고 활성을 저해한다. 전통적 저분자 약물과는 다르게 화학적으로 조작된 miRNA 저해제들은 체내 조직으로의 흡수로 인해 투여한 후 몇 시간 이내에 혈중 농도가 빠르게 떨어지는 모습을 보인다. 그래서 대부분의 miRNA 저해제들은 혈장 단백질과의 결합을 높이거나 핵산 가수분해 효소에 대한 저항력을 높이거나 혹은 세포 내 흡수를 증가시키는 방법을 통해 체내에서 배출되는 비율을 낮추기 위해 화학적으로 개선된다.

Antagomir로 알려져 있는 한 miRNA 저해제는 특정 miRNA의 전체 서열 혹은 중심이 되는 서열과 상보적인 작은 합성 RNA 이다. 이 저해제는 콜레스테롤 구조와 결합하고 있어서 세포 내 흡수가 용이하고, 체내 안정성이 증가된 성질을 나타낸다.

### *miRNA 미끼(Decoy)/스폰지*

miRNA 미끼/스폰지는 2007년도에 제시된 혁신적인 컨셉으로, 이는 표적하고자 하는 miRNA 집단의 핵심 서열과 상보적인 반복되는 서열로 구성된 RNA 조각들을 발현한다. 이를 통해 미끼/스폰지는 miRNA 핵심 서열에 결합할 때 왓슨-크릭 염기쌍 의존적인 결합에 의한 이점을 챙기게 되고, 이는 miRNA가 이 스폰지 구조물에 잘 결합하여 활성화된 miRNA들이 감소되게 한다. miRNA 스폰지 서열을 포함하는 바이러스를 활용한 기법은 miR-133 및 miR-21이 심장 비대증의 발달에 미치는 역할을 연구하기 위해서 사용되었다. 차세대 miRNA 미끼 구조는 RNA 중합효소III를 개선하여 전사 활성을 높이는 것이다. miRNA 스폰지 구조의 세포 핵 수송을 개선하여 세포질 내 발현을 높일 수 있으며, miRNA 스폰지 컨셉의 활용은 RNA 중합효소II 스폰지 벡터 시스템이나 화학적으로 처리된 RNA 올리고 핵산염을 일시적으로 처리하는 것과 비교해보았을 때 miRNA의 영구적인 저해가 가능하게 한다.

### *바이러스성 miRNA 전달*

아데노 바이러스 벡터는 심혈관계 질환 발달과정에서 증가 혹은 감소되는 miRNA를 조절하기 위한 miRNA 유사체나 miRNA 저해제 구조물을 전달하기 위한 방법으로 여러 동물

모델에서 성공적으로 사용되어져 왔다. 아데노 바이러스 감염을 통해 개의 심장이나 생쥐 모델에서 miR-328의 과발현을 유도하였을 때 심방세동 (Arterial fibrillation)의 병적 형태가 나타나는 것이 확인되었다. 다양한 아데노 바이러스 형태들이 활용가능해진 점과 조직 특이적 프로모터를 활용하여 발현을 조절하는 것들을 통해 특정 부위 및 특정 시점에 miRNA 치료제를 전달하는 것이 가능해졌다. 이렇게 치료 목적으로 활용 가능한 miRNA 바이러스 구조들이 성공적으로 개발됨에 따라 miRNA 치료는 고지혈증 및 동맥경화 등 심혈관계 질환의 예방에 쓰일 수 있는 잠재성이 있다는 것이 나타나고 있다.

#### *미세소포 (Microvesicle) 및 사멸체 (Apoptotic body)를 통한 전달*

miRNA는 세포에서 생성되어 미세소포 (Microvesicle), 엑소솜 (Exosome) 및 사멸체 (Apoptotic body)의 형태로 분비되어 혈액을 통해 순환된다. 심혈관계 질환에서 순환하는 miRNA의 수준이 변화되었는 것은 잘 알려져 있다. 따라서 순환하는 소포체는 miRNA 치료제를 표적부위로 효과적으로 전달하기 위한 방법으로 사용될 잠재성이 있다. Zernecke에 의해 진행된 ApoE 결손 생쥐 동맥경화 모델 연구에서 사멸체를 통한 miRNA의 전달이 효과적이라는 것을 보였으며, 혈관 내피세포로부터 분리한 사멸체를 통해 miR-126을 정맥주사로 고지방 식이를 하는 ApoE KO 생쥐에 투여하였을 때 혈관 내피 전구 세포의 수가 증가하고, 대식세포의 크기와 수가 줄어들었으며, 동맥경화 병변 부위에서 세포사멸이 개선된 것을 확인하였다.

### 3. 심혈관 동물 모델

인간과 유사한 질병 발달 증상을 보이는 동물모델을 활용하여 전임상 시험을 하는 것은 새로운 분자 표적을 개발하는데 있어서 필수적이다. 여러 사례들을 보았을 때, 동물 실험 모델은 인간에서의 질병 상태와 유사한 모습을 보이기도 하고 혹은 일부 모습만 대변하기도 한다. 더구나 심혈관 질환 발달에 관여되어있다고 밝혀진 유전자를 조작하여 질병 발달을 보이는 동물 모델의 경우 인간의 다양한 유전적 다양성을 대변하지는 못한다. 하지만 적절한 동물모델은 임상 관리의 진보를 위해서 중요한 도구가 될 수 있다. 설치류 동물모델 중에서 특히 생쥐 모델은 연구실 수준에서 잘 정립되어있고 유전자 조작 생쥐가 활용 가능하다는 측면에서 치료 후보 물질들을 시험하기 위해 널리 사용되고 있으며, 돼지, 개, 양과 같은 대형 동물 모델은 심장의 구조나 기능면에서 인간 심장과 높은 유사성을 보인다는 장점이 있다.

각각 miRNA나 miRNA 집단을 없애거나 과발현 시키는 유전자 조작은 심혈관 질환의 발병에 미치는 miRNA의 역할을 연구할 수 있도록 도움을 주며, 이러한 유전자 조작 동물 모델들은 miRNA연구에서 널리 사용되고 있다.

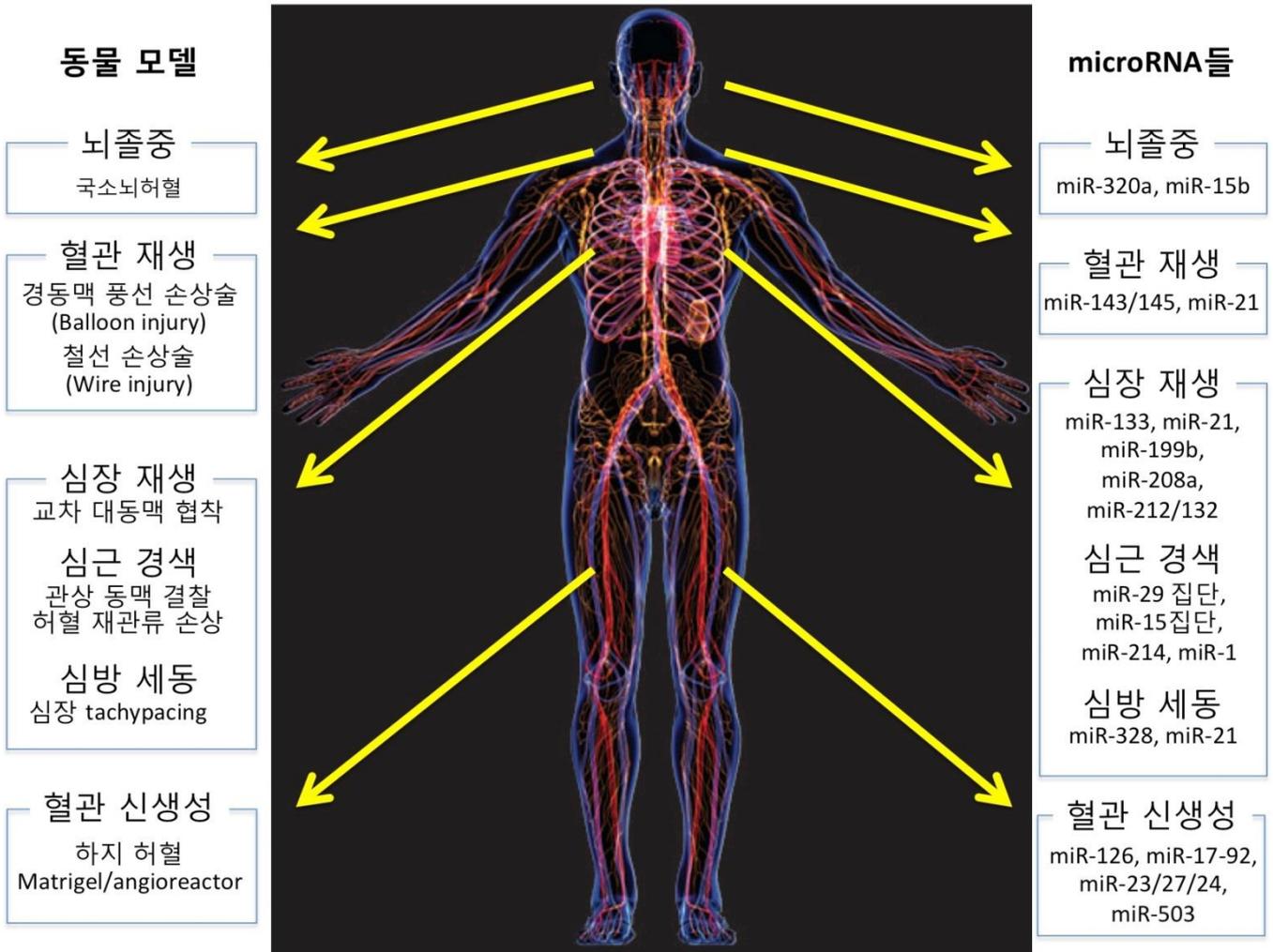


그림 1. miRNA 치료제의 전임상 시험을 위하여 사용된 다양한 심혈관계 질환 동물 모델

일반적으로 사용되는 동물 모델로는 TAC (Transverse aortic constriction), Angiotensin II 주입, 영구적 관상동맥 결찰, 약물 유도 심근 장애, 좌심실 압력 과부하, 신장 절제를 통한 고혈압, 허혈성 하지 등등이 있다. (그림 1) TAC은 갑작스런 좌심실 압력 과부하를 일으키고, 심실 기능부전, 심장 섬유화, 심근세포 비대화와 심장 박출률 (Ejection fraction) 감소를 유도한다. TAC 모델은 심부전, 급격한 수축에 의한 수술 후 사망 등을 유발하는 급격한 심장 재생을 연구하기 위한 도구이다. 심근 장애로 인한 심부전은 영구적 관상동맥 결찰, 약물 유도 심근 장애 등과 같은 다양한 실험 모델로 재현해 볼 수 있다. 그리고 돼지 심장을 활용한 모델은 병변 부위의 크기를 예측 가능하고, 인간의 허혈성 심근증 증상과 아주 유사하다는 특징이 있다. 또한 경동맥 풍선 손상술, 철선 손상술과 같은 기법을 통해 급성 혈관 혈전증 (Vascular thrombosis), 혈관 재생 및 하지 허혈 등과 같은 병적 형태를 유발 할 수 있다. 이러한 실험 모델들을 활용하여 혈관 신생성, 혈관 협착증, 동맥경화 발달에 미치는 miRNA의 역할에 대해 연구할 수 있다.

#### 4. miRNA 치료제의 심장질환 모델 적용

심혈관계에서 miRNA 발현의 조절은 여러가지 방법을 통해 이루어졌으며, 특히 역배열의

올리고 핵산염에 의한 조절 혹은 miRNA 유사체 과발현 기법등과 같은 약물적 방법을 통해 이루어졌다. 물론 miRNA 조절제를 심장에 전달 가능한 점과 효과적인 miRNA 활성 저해 등은 이들이 질환 발달 단계에 활용할 수 있는 치료제로의 잠재성이 있다는 것을 나타낸다. 또한 유전자 조작 생쥐나 miRNA 특이적 결손 생쥐의 개발은 miRNA가 심혈관계 질환 발생에서 중요한 역할을 담당한다는 사실을 강조해준다.

### 심장 비대증 및 심장 섬유화

다양한 심장 질환들은 비정상적인 세포 성장, 세포 사멸 등과 같은 일반적인 병리적 세포 반응에 기인한다. 고혈압이나 심근세포 사멸은 주변의 심근세포에 기능적 부하를 일으켜 수축을 일으키고 심장세포 크기의 병리적 증가를 일으키며, 섬유아세포의 활성화는 조직 내 섬유화를 일으키게 된다. 이러한 비대성 재생 반응은 급격한 혈류 변화에 대처하기 위함과 병리적 자극 아래에서 심장의 출력을 유지하기 위해 발생한다. 손상에 따른 심장 재생 반응은 miRNA 발현 조절 장애를 일으키게 되며, 유전자 조작을 통한 완성된 miRNA의 제거는 심부전과 사망을 일으킨다고 알려졌다. (그림 2)

Care와 그 동료들은 antagomir를 이용하여 miRNA를 저해하는 첫번째 실험을 진행하였으며, 그 결과로 심장 비대증이 증가된 결과를 보여 주었다. 그들은 피하 조직 내에 소형 삼투압 펌프를 삽입하여 콜레스테롤 구조 기반의 miR-133 유도체를 지속적으로 투여하였다. 그러나 miR-133의 유전자를 삭제한 생쥐에서 부분적으로 동물이 사망하고 확장성 심근병증 증상이 나타나는 상반된 결과가 1년 뒤에 Liu 등에 의해 제시되었다. 따라서 약리적인 접근과 유전자 조작에 의한 miRNA의 조절 연구는 때로는 비교하기 어렵다는 것을 보여준다.

심장 질환에서의 miR-21의 발현 조절은 miR-21이 잠재적인 심장질환 조절 활성이 있다는 것을 암시한다. 병리적 스트레스 조건에서 심장 섬유아세포의 miR-21 과발현은 심장 섬유증을 유발한다. 놀랍게도, miR-21 antagomir의 투여는 압력 과부하 TAC 모델에서 심장의 수축능력을 회복시켜 심장비대증 및 섬유화를 억제하는 효능을 보여주었다. 그러나 유전적인 miR-21의 결손은 심장 스트레스 조건에서 섬유화를 막지 못하였으며, 이는 배아상태의 miR-21의 결손은 miR-21의 기능을 대체하기 위한 또 다른 보상 기전을 일으키기 때문일 것으로 보인다. 또한 miR-21을 표적하기 위한 방법으로 어떤 화학적 변형을 사용하는지와 올리고핵산의 길이 차이 등에 따라서 각 효과가 다르다는 것이 보고되었으며, 이것은 서로 다른 용량에 따른 효능 차이, 세포 내로의 침투력 차이에 의해 효과가 차이난다는 것을 보여준다.

miR-199b는 실험적인 심부전 발달 조건에서 발현이 증가되는 것으로 보고되었으며, 따라서 심장 비대증 치료를 위한 표적 후보로 여겨지고 있다. miR-199b를 저해하기 위해 개발된 antigomer 구조를 복강 주사를 통해 투여한 결과 심장 비대증, 섬유화의 증상을 되돌린다는 것이 보여졌다. miR-208a의 심근세포 특이적인 역할은 심장 비대증 실험을 통해 밝혀졌다. miR-208a가 유전적으로 결손된 생쥐는 심장스트레스 조건 하에서 섬유화와 비대증이 감소하였으며, 이러한 효과는 myo-statin, Sox6, Purb 등과 같은 몇몇 표적 단백질을 통해 나타나는 것으로 밝혀졌다. 이러한 발견은 miR-208a의 약리학적 저해가 심장 질환에서 효과적일 수 있다라는 것을 증명해준다.

최근에 Ucar 등의 연구진은 약리적 적용과 유전자 조작 생쥐 두 가지 모델을 활용하여 miR-212/132가 심장 비대증과 심근세포의 자식작용(Autophagy)에 있어서 중요한 역할을 한다는 것을 확인하였다. miR-212과 miR-132는 심장비대증을 일으키는 자극에 의해 발현량이 증가되고, 심근세포의 비대성 성장을 일으킨다고 밝혀졌다. miR-212/132 결손 생쥐는 압력 과부하에 의한 심부전 발생이 감소되었으며, 심장세포 특이적으로 miR-212/132이 과발현된 생쥐에서는 심장비대증 및 심부전의 발병이 증가되었다. 뿐만 아니라 생쥐에서 antagomir 투여를 통해 miR-132를 약리적으로 저해하였을 때, 심장 비대증 및 심부전이 억제되는 것을 볼 때 miR-212/132 집단이나 혹은 각 miRNA들이 심장비대증 및 심부전을 예방하기 위한 하나의 치료 방법이 될 수 있다고 볼 수 있다.

### 심근경색 (Myocardial infarction) 및 허혈재관류 손상 (Reperfusion injury)

심근경색은 심근세포의 과사로 인한 과도한 ECM(세포외 기질)의 분비 및 침착에 따른 흉터 생성과 심장 섬유아세포의 활성화로 인해 생긴다고 볼 수 있다. 섬유아세포에서 많이 발현되는 miRNA 집단인 miR-29는 많은 ECM 유전자를 직접적으로 조절한다. (그림 2) ECM유전자의 발현 및 활성의 증가에 따른 콜라겐의 침착은 손상에 따른 경색 부위의 조직 재생에 있어서 필수적이며, 생쥐 심장 질환 모델에서는 miR-29의 발현이 감소되어있었다. miR-29 antigomir를 정맥주사를 통해 투여 하였을 때 miR-29를 억제하였고, 관련된 여러 표적 단백질들의 발현이 증가되었으며, ECM 재건과 관련된 유전자들을 포함하는 유전체에서 이 miRNA 유전자가 다수 발견되었다는 것도 miR-29가 섬유화에 큰 역할을 한다는 것을 보여준다. 따라서 miR-29 유사체는 섬유화 관련 유전자들의 번역을 억제하여 심장 섬유화 환자들에게 도움을 줄 수 있으나, ECM에 의한 조직 안정화가 필요한 대동맥 및 기타 큰 혈관들에게는 부작용을 나타낼 수도 있다.

miR-15 집단의 심장에서의 발현 증가는 심근경색에 대한 반응으로 일어나며, 여러 항 세포사멸 단백질 및 세포 주기 조절 단백질의 증가가 수반된다고 알려져 있다. 최근 연구에서는 miR-15 집단들에게서 핵심 염기서열의 중복이 나타난다는 것이 밝혀졌으며, 연구자들은 같은 miRNA 집단 내의 다양한 염기 서열을 극복하기 위해 이렇게 중복된 핵심 염기서열을 표적하여 저해할 수 있는 작은 8개 염기 서열로 이루어진 저해제를 활용하였다. 이를 통해 다양한 생물학적 기능을 가진 miRNA 집단 전체를 통합적으로 저해할 수 있게 되었다. 생쥐 허혈성 재관류 (Ischemia reperfusion damage)손상 모델에서 앞서 언급한 작은 miRNA 저해제를 통한 miR-15 집단의 약리학적 조절은 경색 부위의 크기를 감소시켰으며 심장의 기능을 정상화 시켰다. 상대적으로 길이가 긴 16개의 염기서열을 가지는 miR-15b 저해제보다 작은 8개 서열의 올리고 핵산 저해제가 더 강력한 효과를 나타내었다.

miRNA의 조절 장애는 허혈성 재관류 및 심근경색 설치류 실험 모델뿐만 아니라 심근경색 증상이 있는 인체 조직에서도 발견된다. miR-214는 허혈성 재관류를 가진 심장에서 강하게 증가되어 있으며, miR-214는 세포사멸 단백질을 저해하여 세포의 생존을 증가시킨다. miR-214의 유전자 삭제는 생쥐 모델에서 심근 허혈성 재관류에 따른 심장의 손상을 증가시켰으며, 치사율을 증가시켰다.

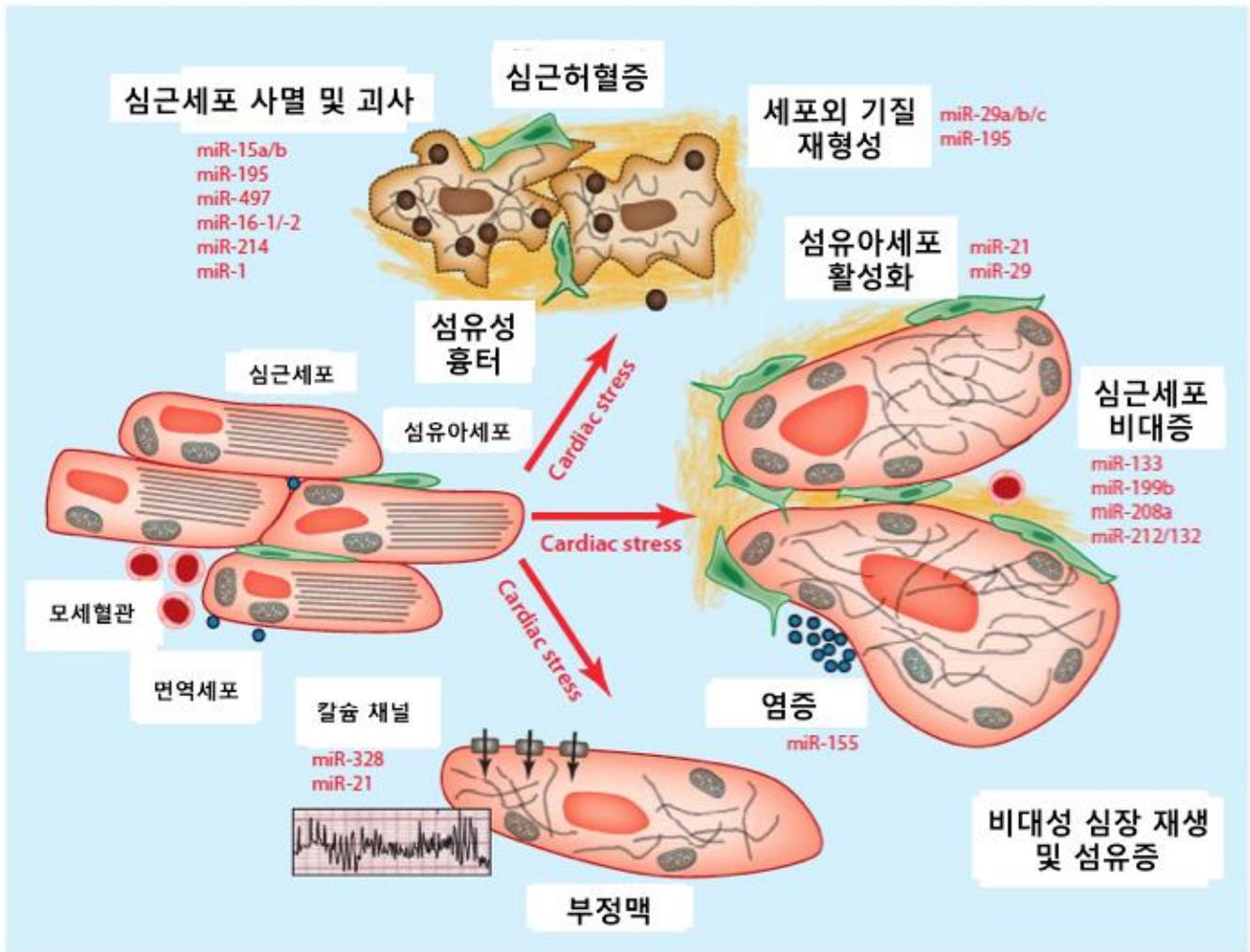


그림 2. 다양한 심장 병리 현상에 관여하는 microRNA

심장 부정맥 (Cardiac Arrhythmias)

심방세동 (Atrial fibrillation, AF)의 발달에서 심방 섬유화에 따른 심장 재생은 인체와 동물모델 모두에서 나타나는 특징이다. 개의 심방에 바이러스를 이용하거나 유전자 조작 생쥐를 통해 miR-328를 증가시켰을 때 AF의 병적 형태가 나타나는 것을 보아 miR-328이 심방의 전기적 신호 체계에 중요한 역할을 담당한다는 것을 보여주며, miR-328이 AF 치료를 위한 하나의 표적이 될 수 있다는 것을 제시한다. (그림 2) 최근 두 가지 다른 연구결과에 따르면 심근경색에 의한 심장 섬유화 설치류 실험모델에서 miR-21의 조절 장애가 AF와 관련이 있다는 것이 밝혀졌다. 심근경색을 가지고 있는 랫드의 심방 조직에서 miR-21의 증가가 그 표적 단백질 들의 조절 장애와 함께 나타났다. 또한 동물모델에서 miR-21저해제를 심방 근육에 직접 주사한 결과 심방 섬유화 및 AF의 지속시간이 감소되었다. 유사하게, Adam 등의 연구진은 miR-21과 그 하위 표적 단백질인 Sprouty1이 노화와 관련된 자연발생적인 AF생쥐 모델에서 중요한 역할을 한다는 것을 확인하였다. 이렇게 AF의 병리학적 특성에 있어서 miRNA의 중요한 역할은 miRNA 기반 치료제들이 심장 부정맥의 예방에 좋은 도구가 될 수 있음을 제시한다. (그림 2)

5. 혈관 질환 모델에서의 miRNA 치료제

몇몇 miRNA들은 혈관 세포에서 강하게 발현된다. 신생혈관 생성이나 혈관 재생, 혈관 장애, 혈관 내막 증식 (Neointimal hyperplasia), 재협착증 (Restenosis), 동맥경화 (Atherosclerosis) 등의 혈관 질환에서 miRNA의 조절 장애가 일어난다는 것은 명백한 사실이다. (그림 3)

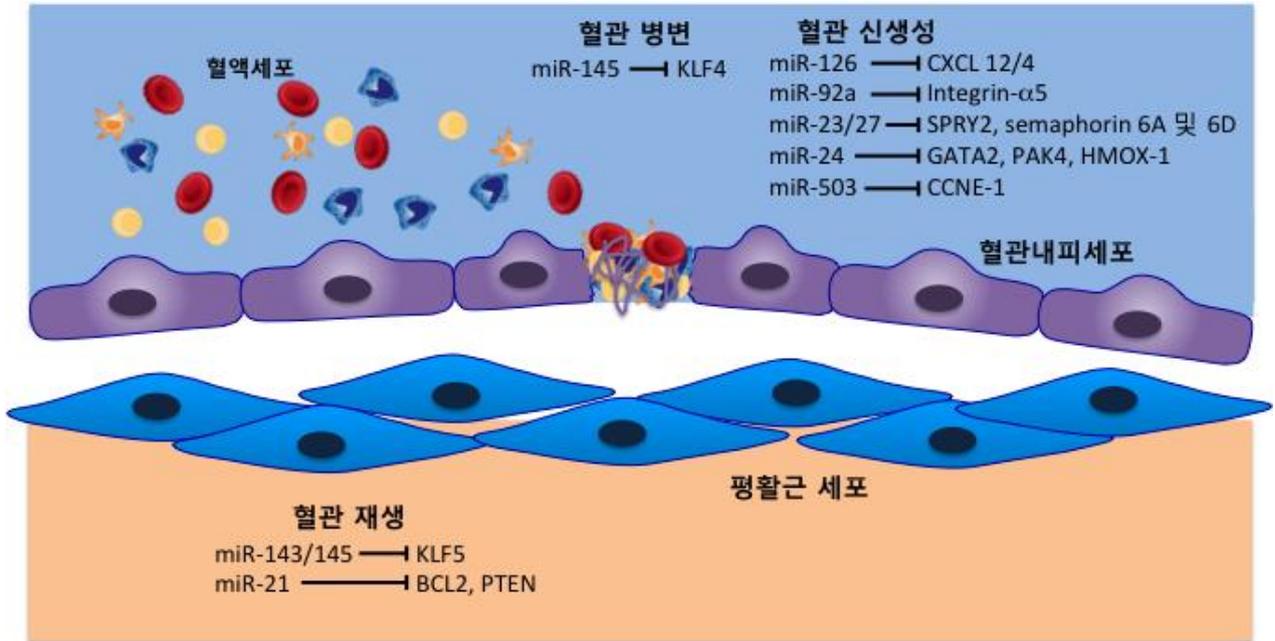


그림 3. 혈관세포 특이적인 miRNA들과 혈관 재생 및 혈관 신생성에 관여하는 miRNA표적 유전자들

혈관 재생

평활근세포 (Smooth Muscle Cells, SMC)에서 풍부하게 발현되는 miR-143/145의 기능을 조절하게 되면 SMC의 증식이 감소하게 되며, 결과적으로 혈관 손상 실험모델에서 혈관 내막 형성을 억제할 수 있다. 이 발견은 miR-143/145의 미세한 균형이 손상에 따른 세포의 증식에 중요하다는 것을 제시해준다. miR-145는 손상된 동맥에서 감소되어 있으며, 병변의 형성을 촉진한다. 아데노바이러스를 통해 miR-145를 랫드 경동맥 풍선 손상 모델에 과다발현 시켰을 때, SMC분화 관련 유전자들의 발현이 증가되었다. (그림 3) 이러한 발견과 같은 선상에서, miR-143/145 결손 생쥐에서는 혈관 중간층 (medial layer)이 얇아졌으며 혈압이 감소하였고 SMC 항상성이 심하게 망가진 현상이 발견되었다. miR-143/145 결손 생쥐의 SMC는 SMC 특이적인 수축관련 단백질과 액틴 섬유 조직 발현이 감소되는 등 부분적으로 탈분화 (Dedifferentiated) 되어 있었다. 렌티바이러스에 의해 miR-145를 ApoE 결손 생쥐에 과발현 시켰을 때, 동맥경화 병변의 크기가 비약적으로 감소되었다. 유사하게, 역배열 올리고핵산을 통해 miR-21을 광범위하게 저해했을 때도 혈관 풍선 손상에 의한 혈관내막형성을 감소시킨 것이 확인되었다.

## 혈관신생성 (Angiogenesis)

몇몇 miRNA는 혈관 내피세포의 기능에 영향을 미치는 혈관의 환경에 중요한 역할을 한다. (그림 3) 생쥐에서 내피세포 특이적인 miR-126의 유전자 결손은 혈관의 결속을 망가뜨리고 부분적인 배아 상태 치사성을 보이며, 살아난 생쥐 성체에 심근경색 수술을 하였을 때 신생혈관 형성에 결함이 나타났다. miR-126은 죽어가는 혈관 내피세포의 사멸체에 풍부하게 존재하며, 근거리 분비 (paracrine) 방법을 통해 주변의 혈관세포에 세포 자살을 억제하고 재생을 촉진하도록 신호 전달을 한다. ApoE 결손 동맥경화 생쥐 모델에 miR-126의 전구체를 직접 투여하거나 miR-126이 들어있는 사멸체를 주입하게 되면 동맥경화 병변의 크기를 감소시키고 병변을 안정화 시킨다.

유사하게, Bonauer 등의 연구진은 혈관 신생성에서 miR-92a의 역할을 연구하였으며, 혈관 내피세포 특이적으로 miR-92a를 과발현 시켰을 때 혈관 신생성이 억제되었으며, 반대로 miR-92a의 antagomir를 투여하였을 때는 새로운 혈관의 성장이 촉진되고 손상된 조직의 회복이 빨라졌다. 최근에는 miR-92a의 저해제가 대형 동물 연구 모델인 돼지 심근경색 모델에서도 효과가 있음이 밝혀졌다.

혈관 병리 분야에서 중요한 역할을 하는 것으로 연구가 많이 진행된 또 다른 miRNA 집단은 miR-23, miR-27 그리고 miR-24이다. 이 집단에 속하는 miRNA들은 여러 세포 종류에서 세포 주기의 조절과 세포 증식 및 세포의 분화에 관여되어 있으며, 혈관 신생성에 있어서 중요한 역할을 담당한다.

miR-24는 최근 심근경색 이후 심장의 혈관 신생성 및 심장 보호에 관련있음이 밝혀졌다. Fiedler 등의 연구진은 혈관 내피세포의 miR-24 수치가 심장 허혈 (Cardiac ischemia) 발생 이후에 증가한다고 보고하였으며, 내피세포의 miR-24를 저해하였을 때 세포사멸 억제 및 혈관 신생성 증가로 인해 경색증 부위의 크기가 효과적으로 줄어드는 것을 확인하였다. 흥미로운 점은, 형광 탐색자가 부착된 antagomir의 세포 흡수를 현미경으로 조사해 보았을 때, 저농도의 투여 조건 (5 mg/kg)에서 내피세포로의 선택적인 세포 흡수가 발견되었으며, 고농도의 투여조건 (80 mg/kg)에서는 심근세포와 내피세포 모두에 불특정하게 흡수된 것이 확인되었다. 이러한 발견은 세포의 종류에 특이적인 miRNA의 기능을 강조해 주며, miR-24 뿐만 아니라 모든 miRNA를 치료 표적으로 사용하기 위해서는 이러한 사실을 고려해야 한다는 것을 보여준다.

## 뇌졸중 (Stroke)

뇌졸중은 동맥경화, 당뇨병 및 고혈압 등의 질병을 앓고 있던 환자가 최종적으로 맞이하게 되는 다원적인 질병이다. 혈관 내피세포 조절 장애, 혈관 결속력 장애, 세포 사멸, 염증 및 ECM 재생 등에 관련된 몇몇 miRNA와 그 표적 단백질들은 뇌졸중의 병리적 현상 발생에 기여한다. miR-146a의 C>G 동질이상 (Polymorphism)과 miR-146aG/-149T/-196a2C/-499G 대립유전자 조합이 허혈성 뇌졸중 발생과 높은 상관관계가 있는 것으로 밝혀졌다. miR-320a의 저해제를 투여한 결과 경색 부위의 감소와 뇌 부종과 관련이 있는 표적 단백질의 발현이 증가하였다. 이러한 결과들은 허혈성 뇌 손상의 병리적 특성에 miRNA가 관여한다는 것을 보여주며, 뇌졸중을 위한 약리적 표적이

될 수 있음을 보여준다.

## 6. 심장 대사질환 모델에서의 miRNA 치료제

지방과 포도당 대사 조절 항상성의 변화는 개개인의 당뇨, 동맥경화와 같은 심장 대사 질환의 위험성을 높인다. 최근 miR-33a와 miR-33b는 세포의 콜레스테롤 방출을 조절하며, 또한 지방산의 분해를 조절한다는 것이 밝혀졌다. Rayner 등의 연구진은 생쥐의 miR-33a와 유인원의 miR-33a/b를 표적하는 miRNA 저해 올리고핵산을 투여한 결과 간에서 HDL의 생성을 조절하는 ABCA1의 발현이 증가하였으며, 그 결과로 혈중 HDL의 농도가 증가한 것을 발견하였다. 유인원에서의 miR-33의 저해는 지방산 산화 관련 유전자의 발현을 증가시켰고, 지방산 생성 유전자의 발현을 감소시켰으며, 결과적으로 혈중 VLDL 중성지방의 농도를 낮추게 되었다. 이 결과는 miR-33의 약리적 저해가 HDL의 농도를 높이고 VLDL 및 중성지방의 농도를 낮춤으로서 고지혈증을 치료하는데 전도유망한 방법이 될 수 있다는 것을 제시한다.

miR-33의 동맥경화 억제 효과는 유전자 조작 동맥경화 모델들을 통해 보여졌다. ApoE 결손 생쥐에서의 miR-33의 유전자 결손은 혈중 HDL-C의 농도를 높이고 콜레스테롤 방출 능력을 개선하였으며, 그 결과로 동맥경화 병변과 지방 축적이 줄어들었다. 이를 통해 miR-33이 동맥경화 예방을 위한 표적이 될 수 있음을 제시한다. 그러나 또 다른 연구진에 의해 진행된 연구에서는 Ldlr-/- 동맥경화 모델에서 miR-33 저해제의 투여가 어떠한 개선 효과도 보여주지 못하였다.

## 7. 결론

전임상 동물실험 모델에서 miRNA 치료제의 사용은 많은 심혈관계 질환 및 대사성 질환 실험 모델을 통하여 보여졌다. 합성 miRNA 저해제를 사용한 miRNA의 저해는 정맥주사나 심혈관 조직 특이적인 전달 시에 안정성을 증가시키며 지속적인 효과로 인해 촉망받는 접근 방식으로 여겨지고 있다. 반면에 감소되는 miRNA를 대체하거나 miRNA 발현을 증가시키는 방법은 급격한 분해와 작용 시간의 한계로 인해 치료용으로 쓰기에는 아직 도전해야 할 점이 많다. 따라서 miRNA 유사체의 사용을 위해서는 조직 특이적인 새로운 약물 전달 시스템이 필요하다. 비록 현재 우리는 장기간 투여 효과 및 miRNA 저해제의 안전성 등에 있어서 제한된 결과들을 가지고 있기는 하지만, 전세계적인 과학계와 제약산업에서는 miRNA기반 치료제에 열의를 가지고 있다. 이러한 새로운 종류의 약물들을 대표하여, miR-122의 저해제인 miravirsin은 C형 간염 바이러스의 감염 환자에게 시행된 임상 2차 시험을 성공적으로 통과하였다. 비록 아직 많은 도전 과제가 남아있지만, 다양한 소형 및 대형 동물 심혈관 질환 모델을 통한 연구는 miRNA 치료제의 임상 사용을 위한 중요한 사실들을 제공해 줄 것이다.

The views and opinions expressed by its writers do not necessarily reflect those of the Biological Research Information Center.

손조은(2015). 심혈관계 질환 모델에서의 microRNA 표적 치료법. BRIC View 2015-R25.  
Available from <http://www.ibric.org/myboard/read.php?Board=report&id=2450> (Jan 05, 2016)

Email: [member@ibric.org](mailto:member@ibric.org)

