

극지 유래 천연물 Ramalin의
항치매 기전 규명

Molecular mechanism of Ramalin-mediated
anti-Alzheimer's effects



성균관대학교 산학협력단

제 출 문

극지연구소장 귀하

본 보고서를 “극지적응 고유생물 유래 대사체의 상용화 구축사업” 과제의 위탁연구 “극지 유래 천연물 Ramalin의 항치매 기전 규명” 과제의 최종보고서로 제출합니다.



총괄연구책임자 : 임 정 한

위탁연구기관명 : 성균관대학교 산학협력단

위탁연구책임자 : 조 동 규

위탁참여연구원 : 이 정 미

“ : 김 학 균

“ : 설 재 훈

“ : 한 지 훈

“ : 김 준 식

요 약 문

I. 제 목

극지 유래 천연물 Ramalin의 항치매 기전 규명

II. 연구개발의 목적

항치매 효능을 가지는 극지 생물 유래 화합물 Ramalin의 작용점을 규명하고, Ramalin의 항치매 효과에 대한 작용기전 규명을 목표로 한다.

III. 연구개발의 내용 및 범위

1. 극지 유래 Ramalin의 작용 타겟 규명
 - Ramalin의 타겟 HDAC 스크리닝 및 타겟 검증
2. 극지 유래 Ramalin의 항치매 효능 기전 규명
 - Ramalin의 BACE1 발현 억제 확인
 - Ramalin의 Tau 응집 억제 및 미토콘드리아 수송 개선 확인
 - Ramalin의 항염증 효능 및 염증관련 단백질의 발현 변화 확인
 - Ramalin의 타겟 HDAC과 BACE1 조절 상관관계 규명
 - Ramalin의 타겟 HDAC과 염증인자 조절 상관관계 규명

IV. 연구개발결과

1. 극지 유래 Ramalin의 작용 타겟 규명
 - 1) Ramalin의 타겟 HDAC 스크리닝 및 타겟 검증
 - Ramalin이 타겟으로 하는 HDAC을 찾기 위해 HDAC Fluorescent activity assay 진행
 - Ramalin 처리에 따른 HDAC 타겟 단백질의 아세틸레이션 변화 확인

2. 극지 유래 Ramalin의 항치매 효능 기전 규명

1) Ramalin의 타겟 HDAC과 BACE1 조절 상관관계 규명

- Ramalin 처리에 따른 BACE1 발현량 변화 확인
- HDAC6 과발현 또는 발현 억제에 따른 BACE1 발현량 변화 확인
- HDAC6와 BACE1의 단백질-단백질 상호작용 확인
- HDAC6에 의한 BACE1 탈아세틸화 확인

2) Ramalin의 Tau 응집 억제 및 미토콘드리아 수송 개선 확인

- 알츠하이머 치매 모델 마우스에 Ramalin 투여 후 Tau 응집 개선 효과 확인
- 신경세포에 Ramalin 처리에 의한 미토콘드리아 수송 개선 측정

3) Ramalin의 항염증 효과 확인

- 알츠하이머 치매 모델 마우스에 Ramalin 투여 후 항염증 효과 확인
- 미세교세포주에서 Ramalin 처리에 의한 염증관련 단백질 발현 변화 확인
- HDAC6 발현 억제에 따른 염증 관련 인자 발현 변화 확인

V. 연구개발결과의 활용계획

알츠하이머 치매는 수명의 증대로 인해 꾸준히 발병률이 높아지고 있는 질환이다. 현재 알츠하이머 치매에 대한 치료제는 콜린성 신경계 조절 물질만이 유일하게 승인되어 판매되고 있지만 근본적인 치료효과는 보이지 못하고 있다. 따라서 항치매 효과를 보이는 Ramalin의 작용기전을 밝히고, 알츠하이머 치매 치료의 새로운 타겟을 찾아낸다면 새로운 알츠하이머 치매 치료제 개발의 가능성을 보일 것으로 기대한다.

S U M M A R Y

(영 문 요 약 문)

I. Title

Molecular mechanism of Ramalin-mediated anti-Alzheimer's effects

II. Purpose of R&D

The purpose of this study is to identify the target of the Antarctic organism-derived compound Ramalin and investigate the mechanism of Ramalin-mediated anti-Alzheimer's effects.

III. Contents and Extent of R&D

1. Identify the molecular targets of Ramalin

- HDACs screening for Ramalin and target validation

2. Find out the mechanism of anti-Alzheimer's effects of Ramalin

- Confirm the Ramalin-mediated regulation of BACE1 expression
- Inhibition of Tau aggregation and improvement of mitochondrial transport by Ramalin
- Confirm the anti-inflammatory effects of Ramalin
- Correlation of HDAC6 with BACE1 expression
- Correlation of HDAC6 with inflammatory factors

IV. R&D Results

1. Identify the molecular targets of Ramalin

1) HDACs screening for Ramalin and target validation

- HDAC Fluorescent activity assay to find the HDAC targeted by Ramalin
- Confirm the acetylation of HDAC target protein by Ramalin treatment

2. Find out the mechanism of anti-Alzheimer's effects of Ramalin

1) Determine the role of HDAC6-mediated BACE1 regulation in AD

- Confirm the Ramalin-mediated regulation of BACE1 expression
- BACE1 expression level according to HDAC6 overexpression or knock-down
- Confirm the protein-protein interaction of HDAC6 and BACE1
- Confirm the BACE1 deacetylation by HDAC6

2) Inhibition of Tau aggregation and improvement of mitochondrial transport by Ramalin

- Investigate the improvement of Tau aggregation in Alzheimer's disease model mice after administration of Ramalin
- Identify the improvement of mitochondrial transport by Ramalin treatment in primary neurons

3) Investigate the mechanism of HDAC6-mediated microglial inflammation in AD

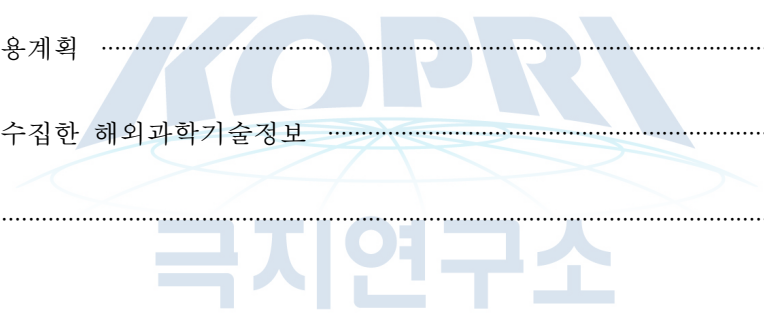
- Investigate the anti-inflammatory effects in Alzheimer's disease model mice after administration of Ramalin
- Investigate the expression level of inflammatory factors by Ramalin treatment in primary microglia
- Identify the expression level of inflammatory factors by inhibition of HDAC6 expression

V. Application Plans of R&D Results

As the population ages rapidly, the number of Alzheimer's disease patients is increasing, but there have not yet been fully satisfactory therapeutic agents. Therefore, if Ramalin's mechanism of anti-Alzheimer's disease is identified and new targets for Alzheimer's disease treatment are identified, it is expected to develop a novel treatment modality for Alzheimer's disease.

목 차

1. 서론	8
2. 국내외 기술개발 현황	10
3. 연구개발수행 내용 및 결과	17
4. 연구개발목표 달성도 및 대외기여도	33
5. 연구개발결과의 활용계획	35
6. 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보	36
7. 참고문헌	37



제 1 장 서론

제 1 절. 연구개발의 목적 및 필요성

1. 연구개발의 목적

극지 생물 유래 화합물인 Ramalin의 항치매 효과를 확인하고, Ramalin의 타겟을 스크리닝하여 작용점을 규명한다. 또한, Ramalin의 타겟 단백질과 치매 인자들의 상관관계를 분석함으로써 Ramalin의 항치매 효과에 대한 작용기전 규명을 목표로 한다.

2. 연구개발의 필요성

가. 알츠하이머 치매 환자 증가

인구의 고령화가 급속하게 진행됨에 따라 알츠하이머 치매 환자수와 비용이 증가하고 있다. 'Alzheimer's Disease International'에 따르면 2015년 전 세계 사회 및 경제 비용은 8,180억 달러, 즉 세계 GDP의 1.09%로 추정되며, 한국의 경우 2019년에 매년 160억 달러가 소비된 것으로 추정된다. 또한, 직접 비용이외에 치매로 인한 간접비용은 치매 환자의 주변사람들에게 매우 높은 부담을 주게 된다. 이러한 간접비용은 정서적 부담과 함께 알츠하이머 치매 환자를 돌보는 사람들에게 불안, 우울증 등 큰 영향을 미치며 삶의 질을 떨어뜨릴 수 있다 [1].

우리나라는 2018년 기준, 65세 이상 인구가 약 670만 명이며, 그 중 750,000명(10.16%)이 알츠하이머병으로 추정되고 있다 [2]. 현재 수준의 간병을 지속하려면 정부는 지원 금액을 계속해서 늘려야한다. 또한, 알츠하이머 치매 진단과 치료 사이의 시간 간격이 줄어들어 따라 앞으로 비용이 크게 증가 할 수 있다. 따라서 알츠하이머 치매의 조기 진단 및 치료에 대한 연구 및 개발에 지금 투자함으로써 미래의 사회 비용을 절감 할 수 있다. 이것은 알츠하이머 치매의 발병을 예방하거나 늦출 수 있는 약물 개발 및 의료 기술뿐만 아니라 예방 조치에 대한 정보를 제공하고 정확하고 시기적절한 진단의 속도를 높일 수 있는 데이터 생산도 포함된다.

나. 알츠하이머 치매 치료약물의 부재

알츠하이머 질환은 치매의 가장 일반적인 형태로서, 환자 뇌조직의 퇴행으로 인해 인지 능력 및 기억력 손상이 점진적으로 진행되며, 발병 10년 후 완전한 뇌기능의 상실로 사망

에 이르게 된다. 현재 상용되는 치매 치료제로서 아세틸콜린 에스테라아제(Acetylcholine esterase) 억제제인 도네페질(Donepezil), 갈란타민(Galantamine), 리바스티그민(Rivastigmine)이 있으며, 증세가 극심할 경우 NMDA 수용체 길항제인 메만틴(Memantine)을 병용하고 있다. 그러나 지금까지 미국식품의약국(FDA, Food and Drug Administration) 허가를 받은 약물들은 단순히 증상을 경감시키는 것이기 때문에 알츠하이머 치매에 대한 근본적인 치료제가 필요하다.

알츠하이머 치매 약물에 대한 기존의 FDA 승인은 인지기능의 개선 여부로 결정됐다. 이 접근법은 인지 기능 개선과 함께 기능적 이점을 보여줌으로써 임상적으로 의미 있는 효과가 있음을 보여주었다. 그러나 지난 2018년 2월 FDA는 알츠하이머 치매의 각 단계마다 다른 임상 중점을 제시하는 새로운 지침을 발표했다 [3]. 알츠하이머 치매에 대한 연구가 진행됨에 따라, 연구자들은 인지 기능 장애가 없을 수 있는 질병의 초기 단계에서 알츠하이머 치매의 근본적인 병리 생리학적 변화를 반영하는 바이오 마커를 사용하려고 시도했다. 알츠하이머 치매의 초기 단계에서의 개입이 질병의 진행을 지연시킬 것이기 때문에 이러한 노력은 매우 중요하다. 알츠하이머 치매에 대한 새로운 가이드라인을 통해 FDA는 알츠하이머 치매에서 바이오 마커의 역할을 이해하기 위한 연구를 장려하고, 알츠하이머 치매의 초기 단계에서 효과적인 치료법을 개발하는 것의 중요성을 강조하고 있다.



제 2 장 국내외 기술개발 현황

제 1 절 알츠하이머 치매 치료제 개발 현황

1. 알츠하이머 치매 치료제 종류 (FDA 승인 약물)

성분명	상품명	회사	작용기전	치료제 형태
Donepezil	Aricept, Eranz	Eisai Co., Ltd., Pfizer	Cholinergic System	Small molecule
Galantamine	Razadyne, Reminyl, Nivalin	Janssen, Ortho-McNeil Pharmaceutical, Sanochemia Pharmazeutika, Shire, Takeda Pharmaceutical Company	Cholinergic System	Small molecule
Memantine	Ebixa, Namenda, Axura, Akatinol, Menary	Forest Laboratories, Inc., H. Lundbeck, Merz Pharma	NMDA receptor antagonist	Small molecule
Rivastigmine	Exelon, Rivastach, Prometax	Novartis Pharmaceuticals Corporation	Cholinergic System	Small molecule
Tacrine	Cognex	Pfizer, Shionogi Pharma	Cholinergic System	Small molecule

표 1. 알츠하이머 치매에 대한 FDA 승인 약물 [4]

현재 알츠하이머 치매 치료 가이드라인으로, 초기/중기에는 아세틸콜린 에스터레이즈 (Acetylcholine esterase, AChE) 억제제인 도네페질(Donepezil), 갈란타민(Galantamine), 리바스티그민(Rivastigmine)이 사용되고 있으며, 중기/말기에는 NMDA 수용체 길항제인 메만틴(Memantine) 병용을 권고하고 있다. 이는 알츠하이머 치매에서 대뇌기저부의 콜린성 신경세포의 손상이 일어나 신경전달물질인 아세틸콜린의 농도가 낮아져있는 것을 타겟으로 한 약물이다. 아세틸콜린 에스터레이즈 억제제는 아세틸콜린의 분해를 막아 시냅스에서의 아세틸콜린의 농도를 높여 치매의 악화를 늦추고 있다.

2. 알츠하이머 치매 신약 개발 현황

가. 임상 4상 진행 중인 약물

성분명	상품명/동의어	회사	작용기전	치료제 형태
AVP-923	Nuedexta, Zenvia	Avanir Pharmaceuticals	Other Neurotransmitters	Combination, Small Molecule
Carvedilol	Coreg, Artist , Aucardic, Dilatrend, Kredex	Procter & Gamble	-	Small Molecule
Docosahexae noic acid (DHA)	Omega 3 fatty acid	Martek Biosciences Corporation, NeuroBioPharm, Inc.	-	Supplement, Dietary
Ketasyn	Axona, Caprylic Acid, AC-1202	Accera, Inc.	-	Supplement, Dietary
Methylpheni date	Ritalin, Concerta	-	Other Neurotransmitters	Small molecule
Prazosin	Minipress, Hypovase, Vasoflex	-	Other Neurotransmitters	Small molecule
Resveratrol	trans-3,4',5-trihy droxystilbene	-	-	Small Molecule, Supplement, Dietary
Simvastatin	Zocor®, Lipex®, Lipovas®, Denan®	Merck	Cholesterol	Small molecule

표 2. 알츠하이머 치매에 대한 임상 4상 진행 약물 [4]

알츠하이머 치매에서 뇌혈관 기능장애, 특히 고혈압 및 뇌졸중이 깊이 연관되어 있다는 것은 여러 차례 보고된바 있다 [5, 6]. 카르베딜롤(Carvedilol)은 현재 고혈압과 협심증에 사용되는 약물로서, 비선택적으로 α/β 교감신경 수용체를 차단하여 혈관의 수축을 억제한다. 혈관을 확장시켜 혈압을 낮출 뿐만 아니라 심근 수축력과 심장 박동수를 감소시켜 심부전 치료에도 효과적이다. 지난 2011년, 미국 Pasinetti 연구팀은 카르베딜롤이 아밀로이드 베타 플라크의 생성을 줄이고 알츠하이머 치매 모델 마우스에서 인지기능 개선 효과를 보

였다고 보고하였다 [7].

프라조신(Prazosin)은 선택적 α_1 교감신경 수용체 차단제이며, 이 약물이 타겟으로 하는 수용체는 뇌혈관 평활근에 많이 발현하고 있다. 프라조신은 현재 고혈압, 전립선비대증, 외상후 스트레스 장애 치료제로 허가받은 약물이다. 2013년에 영국 Sastre 연구팀에서 프라조신이 알츠하이머 치매 모델 마우스의 인지기능을 개선시키고, 아밀로이드베타 플라크의 생성을 감소시킨다고 발표하였으며 [8], 독일의 Wallukat 연구팀은 아밀로이드베타 펩타이드가 α_1 교감신경 수용체를 활성화시킨다고 보고하였다 [9].

심바스타틴(Simvastatin)은 콜레스테롤 합성 효소인 HMG-CoA reductase 억제제로서 고지혈증 치료제로 사용되고 있다. 심바스타틴은 혈액-뇌 장벽(Blood-Brain-Barrier, BBB)을 통과할 수 있으며, 고지혈증 치료를 위해 장기간 심바스타틴을 투여한 그룹에서 알츠하이머 치매의 발병률이 낮음이 보고되었다. 또한, 임상결과에 따르면 심바스타틴을 투여한 그룹에서 뇌척수액의 아밀로이드베타 40과 아밀로이드베타 42의 양에 변화는 없었으나, 인지기능이 개선되었다고 밝혔다 [10].

나. 임상 3상 진행 중인 약물

성분명	상품명/동의어	회사	작용기전	치료제 형태
ALZT-OP1	Cromolyn sodium, Intal, Ibuprofen	AZTherapies, Inc.	Amyloid-Related, Inflammation	Combination, Small Molecule
AVP-786	-	Avanir Pharmaceuticals, Concert Pharmaceuticals, Inc., Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd.	Other Neurotransmitters	Combination, Small Molecule
Aducanumab	BIIB037	Biogen, Neurimmune	Amyloid-Related	Immunotherapy (passive)
Alpha-Tocopherol	Vitamin E	-	-	Supplement, Dietary
Aripiprazole	Abilify, BMS-337039	Bristol-Myers Squibb, Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd.	Other Neurotransmitters	Small Molecule
BAN2401	mAb158	Biogen, Eisai Co., Ltd.	Amyloid-Related	Immunotherapy (passive)

Brexpiprazole	Rexulti, OPC 34712	H. Lundbeck, Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd.	Other Neurotransmitters	Small Molecule
Citalopram	escitalopra m, Celexa, Lexapro , Cipralext	-	Other Neurotransmitters	Small Molecule
Continuous Positive Airway Pressure	CPAP	-	-	Procedural Intervention
GV-971	sodium oligomanna te, sodium oligo-man nururate	Shanghai Green Valley Pharmaceuticals	Amyloid-Related, Inflammation	Small Molecule
Gantenerumab	RO4909832, RG1450	Chugai Pharmaceutical Co., Ltd., Hoffmann-La Roche	Amyloid-Related	Immunotherapy (passive)
Guanfacine	Intuniv, SPD503, Afken, Estulic, Tenex	-	Other Neurotransmitters	Small Molecule
LMTM	TRx0237, LMT-X, Methylene Blue, Tau aggregatio n inhibitor (TAI)	TauRx Therapeutics Ltd	Tau	Small Molecule
Levetiracetam	Keppra	UCB S.A.	Amyloid-Related, Other	Small Molecule
Lumateperone	ITI-007	Bristol-Myers Squibb,	Other Neurotransmitters	Small Molecule

		Intra-Cellular Therapies, Inc.		
Masitinib	Masivet, Kinavet, AB1010, Masitinib mesylate	AB Science	-	Small Molecule
Pioglitazone	AD4833, Actos®, Glustin™, Piozone®	Takeda Pharmaceutical Company, Zinfandel Pharmaceuticals Inc.	Inflammation, Other	Small Molecule
Solanezumab	LY2062430	Eli Lilly & Co.	Amyloid-Related	Immunotherapy (passive)

표 3. 알츠하이머 치매에 대한 임상 3상 진행 약물 [4]

성분명	상품명/동의어	회사	작용기전	치료제 형태
Azeliragon	PF-04494700, TTP488	Pfizer, TransTech Pharma, Inc., vTv Therapeutics LLC	Amyloid-Related, Inflammation	Small Molecule
Epigallocatechin Gallate(EGCG)	Sunphenon EGCg	Taiyo International	Amyloid-Related, Inflammation, Other	Supplement, Dietary
Gamunex	Intravenous Immunoglobulin, Human Albumin Combined With Flebogamma	Grifols Biologicals Inc.	Amyloid-Related, Inflammation	Combination, Immunotherapy (passive)
Thalidomide	Thalomid®	Celgene Corporation	Amyloid-Related, Inflammation	Small Molecule
Tricaprilin	AC-1204, Caprylic	Accera, Inc.	-	Supplement, Dietary, Other

	triglyceride			
Troriluzole	BHV-4157, trigriluzole, FC-4157	Biohaven Pharmaceuticals	Other Neurotransmitters	-
Umibecestat	CNP520, BACE Inhibitor	Amgen, Inc., Novartis Pharmaceuticals Corporation	Amyloid-Related	Small Molecule

표 4. 알츠하이머 치매에 대한 임상 2/3상 진행 약물 [4]

기준에 다른 적응증으로 FDA 승인을 받은 약물을 알츠하이머 치매에 적용하는 것 이외에, 아밀로이드베타 플라크를 직접적으로 타겟하는 약물도 있다. 현재 임상 3상 진행 중인 아두카누맙(Aducanumab)은 아밀로이드베타를 잡는 항체로서 스위스 Neurimmune 회사에서 개발하였다. 2013년, AD/PD 2013 국제 학술대회에서 알츠하이머 치매 모델 마우스에 아두카누맙을 13주간 투여하였을 때 아밀로이드베타 플라크의 사이즈가 줄어들었다고 보고되었다 [11]. 2019년 진행한 임상 3상 분석 결과, 아두카누맙이 아밀로이드베타를 줄였으며, 2020년 초에 미국에서 제한적으로 FDA 허가를 받을 수 있을 것이라고 예측되고 있다 [11, 12].

제 2절 알츠하이머 치매 발병 기전 연구

1. 알츠하이머 치매 발생 가설

알츠하이머 치매는 매우 복잡적이고 원인이 다양한 난치성 질환으로서 아직까지 알츠하이머 치매의 발병 기전은 명확히 밝혀지지 않았다. 대표적인 알츠하이머 치매의 발병기전으로 아밀로이드베타 가설과 타우 단백질 가설이 있다.

알츠하이머 치매 환자의 뇌 조직에서 산화스트레스(oxidative stress) 및 아밀로이드 베타(A β) 플라크가 매우 증가해있으며 이는 신경세포의 사멸을 유도한다. 아밀로이드베타 플라크는 노화 과정 중에 증가하며, 알츠하이머 치매 환자들에서 더욱 급격하게 증가된다. 알츠하이머 치매 환자의 2%의 경우는 특정 유전자(APP, MAPT, PSEN, APOE 등)의 돌연변이에 의해서 유발되며, 나머지 대부분의 경우는 산화스트레스가 가장 중요한 원인으로 추정되고 있다. 알츠하이머 치매 초기에는 아밀로이드베타 플라크가 증가하지만, 실제로 치매 증상을 더욱 촉발시키는 것은 타우 단백질 엉킴의 확산이라는 연구결과가 2016년 Science Translational Medicine에 발표되었다 [13].

한편, 알츠하이머 치매 발병 기전에서 아밀로이드베타 가설과 타우 단백질 가설에 이어

NLRP3 inflammasome에 의한 염증반응이 치료 타겟으로 주목받고 있다. 알츠하이머 치매에서 아밀로이드베타에 의해 미세교세포의 NLRP3 inflammasome이 활성화되고, 이는 IL-1 β 와 caspase-1를 활성화시키며 면역반응을 더욱 촉진한다 [14]. 또한, 바이러스 가설도 매우 유력한 가설 중 하나이다. 특히 헤르페스 바이러스(Herpes viruses)가 알츠하이머 치매와 매우 높은 연관성을 보이고 있다. 알츠하이머 치매 환자 뇌조직에서 헤르페스 바이러스 특이적 유전체가 발견되었으며, 알츠하이머 치매 모델 마우스에서 헤르페스 바이러스가 아밀로이드베타 플라크의 형성을 더욱 촉진시키는 것으로 보고되었다 [15, 16].



제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1 절 연구내용 및 결과

1. 극지 유래 Ramalin의 작용 타겟 규명 연구

가. Ramalin의 타겟 HDAC 스크리닝 및 타겟 검증

연구 내용	연구 결과
<p>○ Ramalin의 타겟 HDAC을 찾기 위해 HDAC Fluorescent Activity Assay 진행</p> <p>○ Ramalin을 농도별로 처리하여 HDAC1~11의 활성도 변화를 측정</p>	<p>The figure displays eight graphs, each representing the activity of a different HDAC (HDAC1 to HDAC8) in response to increasing concentrations of Ramalin. The x-axis for all graphs is Log [Compound] (M), ranging from -8 to -3. The y-axis is Activity (%), with scales of 0-100 for HDAC1-5 and 0-150 for HDAC6-8. HDAC1, 3, 5, 7, and 8 show a clear dose-dependent decrease in activity, with HDAC8 showing the most significant drop. HDAC2, 4, and 6 show activity that is relatively constant or slightly increases with concentration.</p>

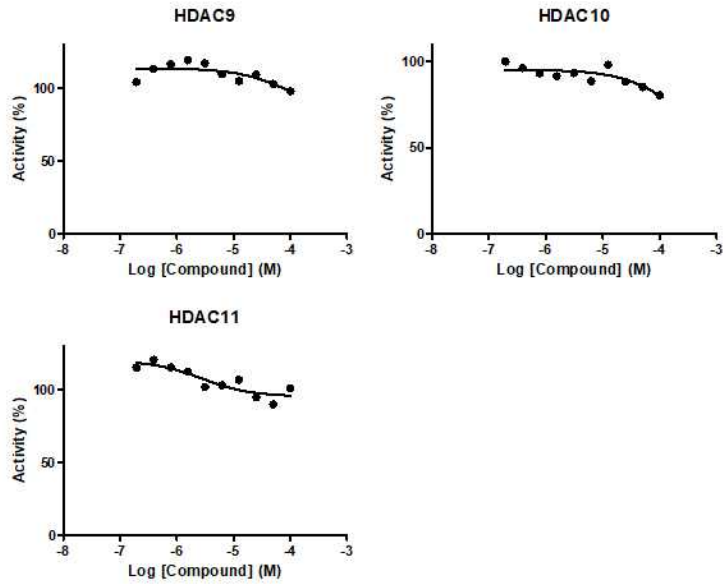


그림1. Ramalin 농도에 따른 HDAC 활성화도 분석 1차 결과

Ramalin의 농도(195nM~100μM)에 따른 HDAC Fluorescent Activity Assay 결과, HDAC6에 대한 Ramalin의 IC50값이 38μM, HDAC8에 대한 Ramalin의 IC50값이 85μM이었다(그림1). 그러나 HDAC6, HDAC8를 제외한 다른 HDAC에서는 Ramalin에 의한 억제 효과가 크게 나타나지 않았다.

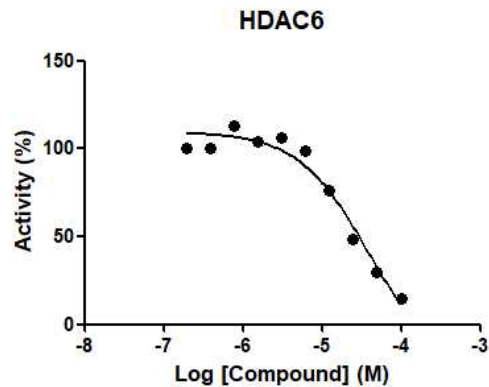
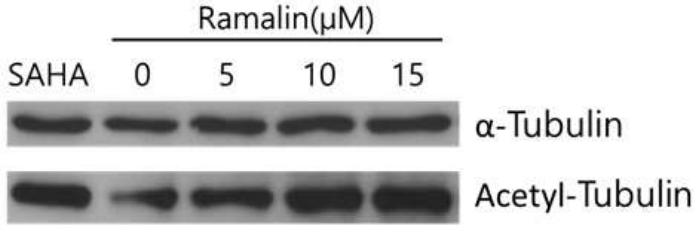


그림2. Ramalin 농도에 따른 HDAC6 활성화도 분석 2차 결과

1차 HDAC Fluorescent Activity Assay 결과, Ramalin의 억제효과가 HDAC6에서 가장 크게 나타났기 때문에 2차로 HDAC6 Fluorescent Activity Assay를 진행하였다. HDAC6에 대한 Ramalin의 IC50값이 25μM로, 1차 결과보다 더 낮은 농도에서 HDAC6를 억제하는 것을 확인하였다(그림2). 따라서 HDAC 효소 중에서 Ramalin이 HDAC6를 선택적으로 억제함

	을 확인하였다.
<p>○ Ramalin 처리 후, HDAC6의 타겟 단백질의 아세틸레이션 변화 확인</p>	<div style="text-align: center;">  <p>Ramalin(μM) SAHA 0 5 10 15</p> <p>α-Tubulin Acetyl-Tubulin</p> </div> <p>그림3. Ramalin 처리시 HDAC6의 기질 변화</p> <p>HDAC6의 대표적인 기질로 Tubulin 단백질이 있으며, HDAC6는 해당 단백질을 탈아세틸화 시키는 것으로 알려져 있다. SH-SY5Y 신경세포에 Ramalin을 처리했을 때 Tubulin 단백질의 아세틸화된 정도가 농도 의존적으로 증가하는 것을 확인하였다(그림3). 이 때 HDAC 억제제로 잘 알려진 SAHA(100nM)를 Positive control로서 사용하였다. 이를 통해 Ramalin이 HDAC6를 억제하여 HDAC6의 타겟 단백질인 Tubulin의 아세틸레이션이 증가한 것을 확인하였다.</p>

2. 극지 유래 Ramalin의 항치매 효능 기전 규명 연구

가. Ramalin 타겟 HDAC과 BACE1 조절 상관관계 규명

연구 내용	연구 결과
<p>○ Ramalin 처리에 따른 BACE1 발현량 확인</p>	<p>SH-SY5Y 신경세포 또는 Primary Rat 신경세포에 Ramalin을 처리하였을 때 BACE1 단백질 발현량이 감소하는 것을 확인하였다(그림4A). 그러나 Ramalin 처리에 의해 BACE1의 mRNA 발현량은 변화가 없었다(그림4B).</p> <p>또한, Ramalin에 의한 BACE1 프로모터 활성도 조절을 확인하기 위해 Luciferase 발현 벡터에 BACE1 프로모터를 넣어 BACE1/Luciferase reporter construct를 제작하였다(그림4C). HEK293T 세포에 plasmid vector를 transfection 시킨 뒤 Ramalin 10μM을 처리하였다. 세포를 harvest하여 Luminescence를 측정한 결과, Ramalin의 처리에 의한 Luminescence 값의 차이는 없었다.</p> <p>이를 통해 Ramalin이 BACE1의 전사과정을 조절하는 것이</p>

아니라 단백질 발현량을 조절하는 것을 확인하였다.

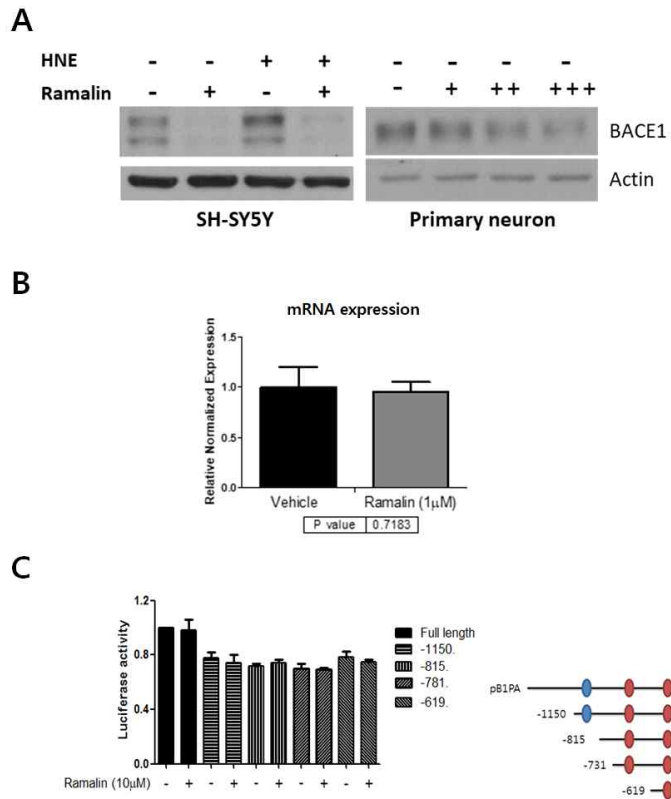


그림4. Ramalin 처리에 따른 BACE1의 mRNA 및 단백질 발현량 변화

○HDAC6 과발현 및 발현 억제에 따른 BACE1 발현량 확인

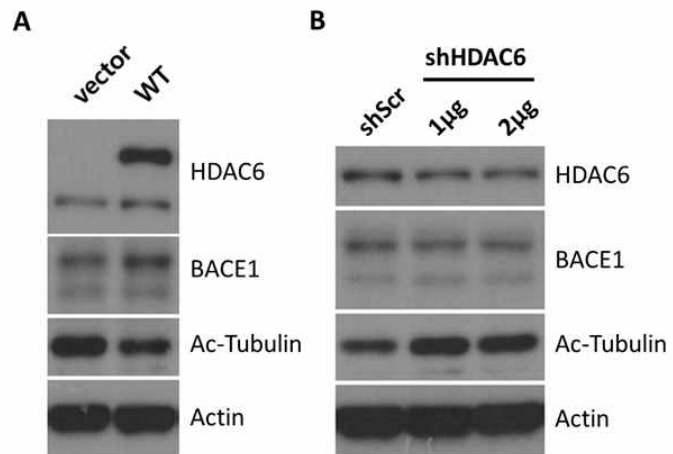


그림5. HDAC6 과발현 및 발현 억제에 따른 BACE1 단백질 발현량 변화 확인

SH-SY5Y 신경세포에 HDAC6를 과발현 시켰을 때 BACE1 단백질 발현량이 증가하는 것을 확인하였다(그림5A). 또한, shRNA HDAC6를 transfection시켜 HDAC6의 발현을 억제시

켰을 때 BACE1 단백질 발현량이 감소하는 것을 확인하였다 (그림5B).

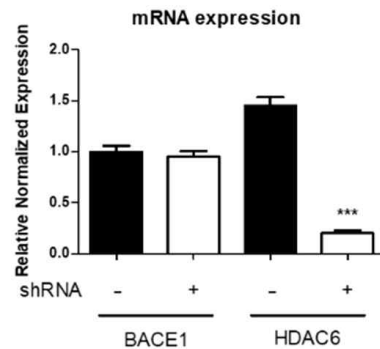


그림6. HDAC6 발현 억제에 따른 BACE1 전사 정도 확인

그러나 SH-SY5Y 신경세포에서 HDAC6의 발현을 억제시켰을 때 BACE1의 mRNA양은 변화가 없었다(그림6). 따라서 Ramalin의 타겟인 HDAC6가 BACE1의 전사를 조절하는 것이 아니라, 단백질 발현량을 조절하는 것을 확인하였다.

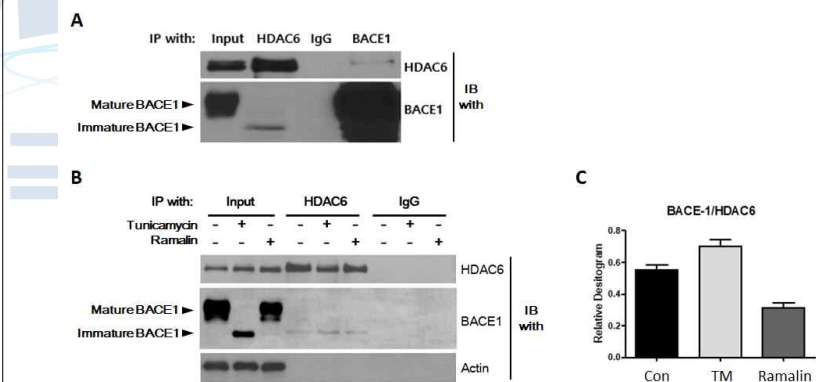


그림7. HDAC6와 BACE1의 단백질-단백질 상호작용 확인

○ HDAC6와 BACE1의 단백질-단백질 상호작용 확인

HDAC6가 BACE1의 단백질 발현량을 조절하는 것을 확인한 후, HDAC6와 BACE1이 단백질-단백질 상호작용을 하는지 확인하기 위해 Immunoprecipitation을 진행하였다. Anti-HDAC6 항체를 사용하여 HDAC6를 면역침전 시킨 후 Western blotting을 통해 BACE1이 HDAC6와 결합하고 있는 것을 확인하였다(그림7A). 이때 Immature BACE1 밴드만 detection되는 것으로 보아 HDAC6가 특히 Immature BACE1에 결합하는 것을 알 수 있다. 또한, Anti-BACE1 항체를 사용하여 BACE1을 면역침전 시킨 후 HDAC6를 Immunoblot 했을 때에도 밴드를

확인했다. 이를 통해 HDAC6가 immature BACE1에 결합하여 번역 후 단계에서 발현을 조절하는 것을 알 수 있다.

Ramalin에 의한 HDAC6-BACE1 상호작용 변화를 확인하기 위해 Ramalin을 처리한 후 Immunoprecipitation을 진행하였다. Ramalin을 처리한 샘플에서 HDAC6와 immature BACE1의 결합량이 감소하는 것을 확인하였다(그림7B,7C). 따라서, Ramalin이 HDAC6와 BACE1의 단백질-단백질 상호작용을 방해하는 것을 알 수 있다.

○HDAC6에 의한 BACE1의 탈아세틸화 확인

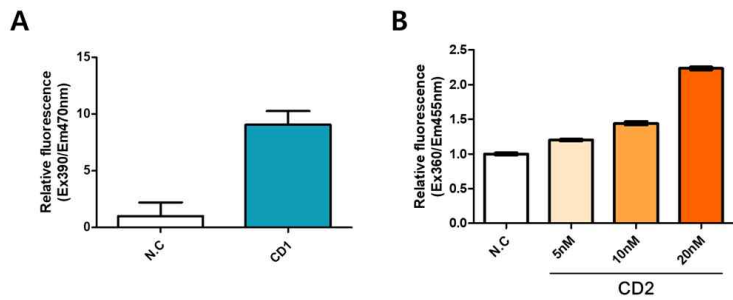


그림8. HDAC6에 의한 BACE1 탈아세틸화 확인

HDAC6 효소는 다른 HDAC과 달리 두 개의 효소활성 도메인(CD1, CD2)을 가지고 있다. *In vitro*에서 각각의 HDAC6 효소 활성 도메인과 BACE1의 말단 펩타이드를 인큐베이션 시켰을 때, HDAC6의 CD1, CD2 도메인에 의해 BACE1이 탈아세틸화 되는 것을 확인하였다(그림8A, B). 이를 통해, BACE1이 HDAC6의 기질이 될 수 있는 가능성을 확인하였다.

○HDAC6에 의한 BACE1 단백질 안정성 변화 확인

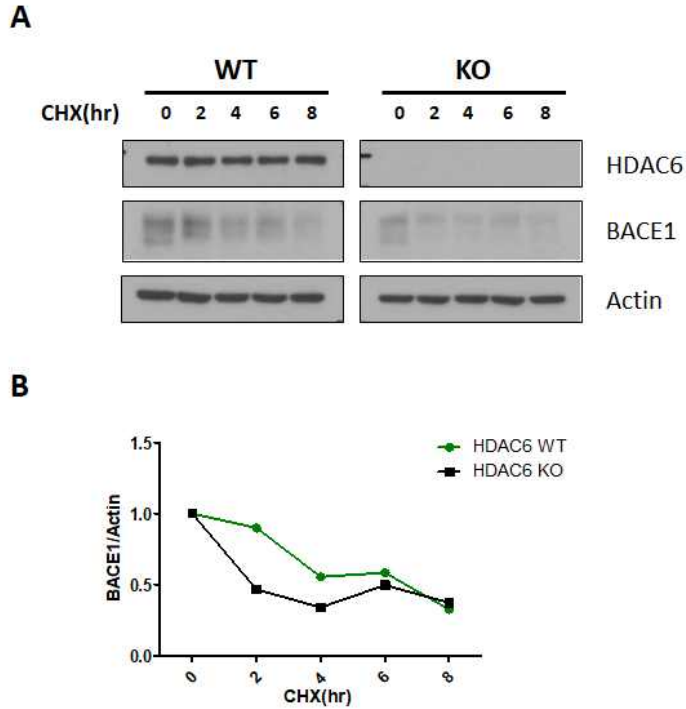
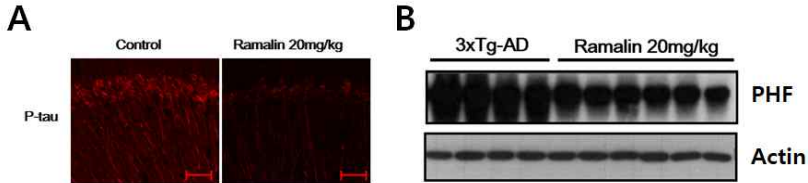
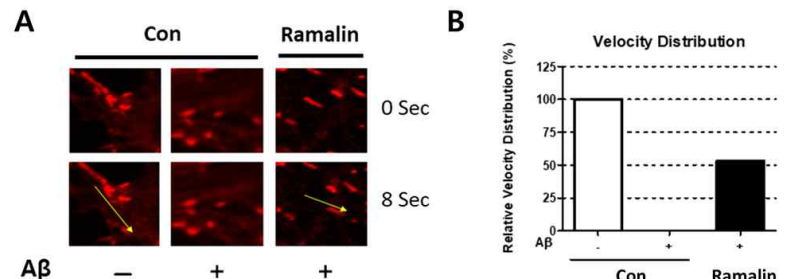


그림9. HDAC6에 의한 BACE1 단백질 안정성 변화 확인

HDAC6가 BACE1에 직접 결합하고(그림7), BACE1의 말단 펩타이드를 탈아세틸화 시키는 것을 확인하였다(그림8). HDAC6에 의한 BACE1의 탈아세틸화가 BACE1의 발현을 어떻게 조절하는지 확인하기 위해 BACE1 단백질 안정성 실험을 진행하였다. HDAC6 WT 또는 KO MEF 세포를 각각 60mm plate에 5판씩 seeding하였다. 단백질 합성 억제제인 Cycloheximide을 100 μ g/mL로 처리한 후, 0, 2, 4, 6, 8시간 후 harvest하였다. 단백질을 추출하여 BACE1의 발현량을 Western blotting으로 확인하였다(그림9). HDAC6 WT 세포에 비해 HDAC6 KO 세포에서 BACE1 단백질이 빠르게 감소하는 것을 확인하였다. HDAC6 WT에서 BACE1의 반감기는 대략 4시간 정도이며, HDAC6 KO에서는 BACE1의 반감기가 대략 2시간이었다(그림9B).

따라서, HDAC6가 BACE1의 안정성을 높여서 단백질 발현을 증가시키는 것을 알 수 있다.

나. Ramalin의 Tau 응집 억제 및 미토콘드리아 수송 개선 확인

연구 내용	연구 결과
<p>○ 알츠하이머 모델 마우스에 Ramalin 투여 후 Tau 응집 개선 효과 확인</p>	<div style="text-align: center;">  </div> <p>그림10. 3xTg-AD 마우스에 Ramalin 투여 후 Tau 발현량 확인</p> <p>알츠하이머 치매 모델 중 대표적인 마우스인 3xTg-AD 마우스에 Ramalin을 하루 한 번, 4주간, 20mg/kg를 경구 투여하였다. 이후 마우스 뇌조직을 적출하여 뇌조직 절편과 단백질 샘플에서 Tau 인산화 정도를 확인하였다(그림10). Control군과 비교했을 때, Ramalin을 투여한 그룹에서 Tau의 인산화 정도가 감소한 것을 IHC, Western blotting으로 확인할 수 있었다.</p>
<p>○ 신경세포에서 Ramalin 처리에 의한 미토콘드리아 수송 개선 측정</p>	<div style="text-align: center;">  </div> <p>그림11. Primary culture 신경세포에서 미토콘드리아 수송 측정</p> <p>Primary Rat 신경세포를 7일간 배양한 후 베타아밀로이드 올리고머 1μM을 처리하였다. 이 때 측삭을 통한 미토콘드리아의 수송이 현저히 떨어지는 것을 확인할 수 있었다(그림11). 그러나 Ramalin을 처리한 그룹은 베타아밀로이드 올리고머에 의해 손상된 미토콘드리아 수송이 회복되는 것을 확인하였다.</p>

다. Ramalin의 항염증 효능 및 염증관련 단백질의 발현 변화 확인

연구 내용	연구 결과
<p>○ 알츠하이머 모델 마우스에 Ramalin 투여 후 항염증 효과 확인</p>	<div data-bbox="625 389 1377 862"> <p>A</p> <p>3xTg-AD Ramalin 20mg/kg</p> <p>iNOS COX-2 Actin</p> <p>B</p> <p>■ 3xTg-AD □ Ramalin 20mg/kg</p> <p>iNOS level (%)</p> <p>C</p> <p>■ 3xTg-AD □ Ramalin 20mg/kg</p> <p>COX-2 level (%)</p> </div> <p>그림12. 3xTg-AD 마우스에 Ramalin 투여 후 염증인자 발현량 확인</p> <p>알츠하이머 치매 모델 3xTg-AD 마우스에 Ramalin을 하루 한 번, 4주간, 20mg/kg를 경구 투여하였다. 이후 마우스 뇌조직을 적출하여 단백질 샘플을 추출한 후, 염증관련 인자인 iNOS, COX-2의 발현량을 확인하였다(그림12). Control군과 비교했을 때, Ramalin을 투여한 그룹에서 iNOS, COX-2의 단백질 발현량이 감소한 것을 확인할 수 있었다.</p>

○ 미세교세포에서 Ramalin
처리에 의한 항염증 효능 및
염증관련 단백질 발현 변화
확인

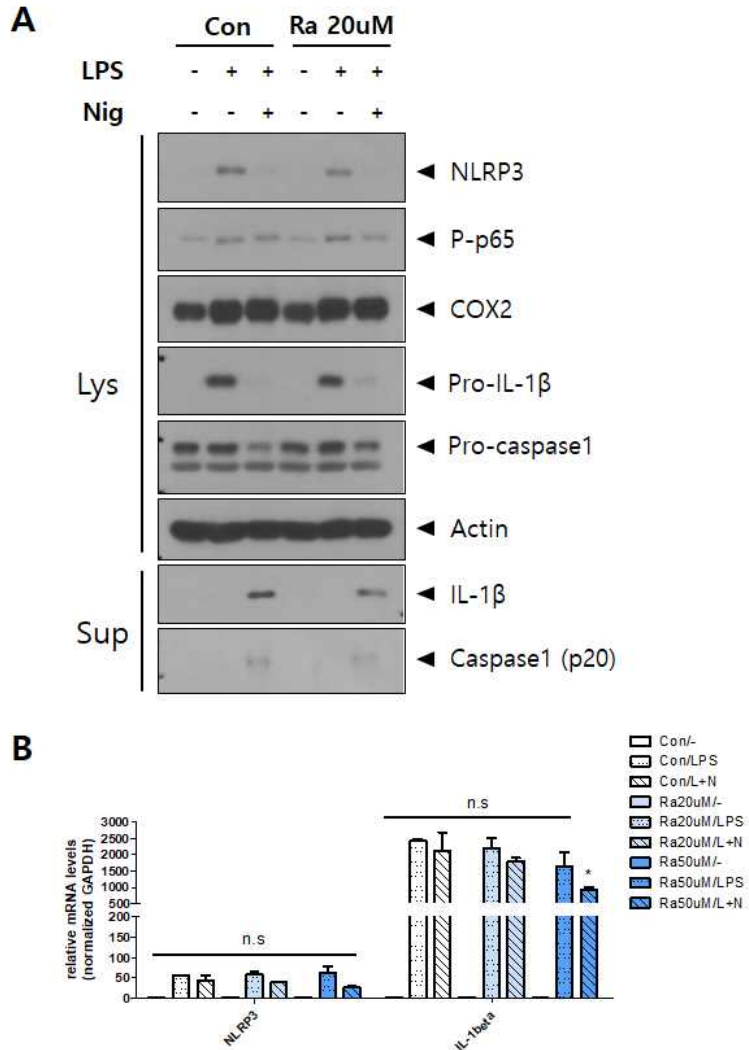


그림13. Primary culture 미세교세포에서 Ramalin에 의한 항염증 효과 확인

Primary mouse 미세교세포에 Ramalin을 24시간 처리한 후 LPS, Nigericin을 처리하여 미세교세포를 활성화 시켰다. 이 때 Ramalin을 처리한 그룹이 대조군에 비해 NLRP3, p-P65, Pro-IL-1β, IL-1β, Caspase1의 발현량이 감소한 것을 확인하였다(그림13A). 그러나 같은 조건에서 Realtime-PCR로 mRNA 발현량을 확인하였을 때 Ramalin 처리에 의한 Nlrp3, Il-1β의 mRNA 발현량 변화는 없었다(그림13B). 이를 통해 Ramalin이 염증인자들의 단백질을 조절하는 것을 밝혔다.

○ 미세교세포에서 HDAC6 발현 억제에 따른 염증관련 단백질 발현 변화 확인

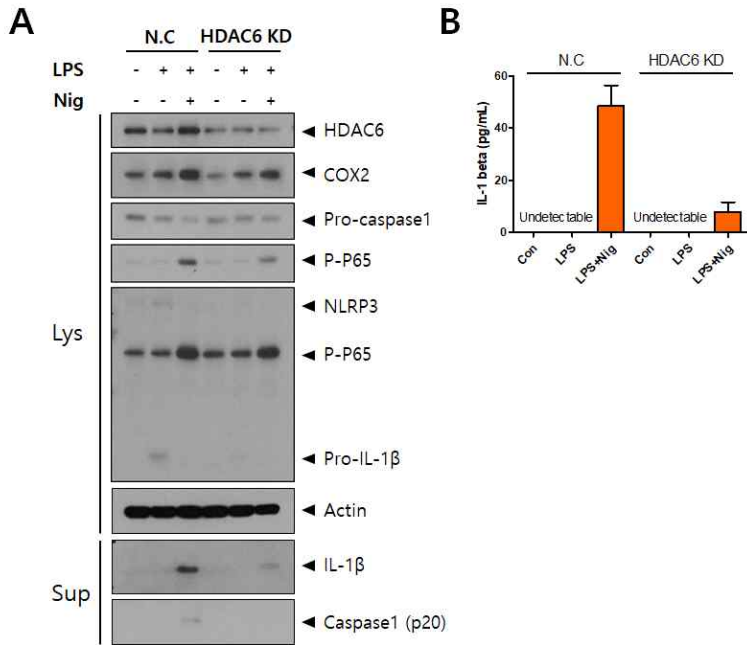


그림 14. Primary culture 미세교세포에서 HDAC6 발현억제에 따른 염증인자 발현 확인

Primary mouse 미세교세포에 siRNA HDAC6를 transfection 시켜 HDAC6의 발현을 억제시킨 후 LPS, Nigericin을 처리하여 미세교세포를 활성화 시켰다. 이 때 HDAC6 Knock-down 그룹이 대조군과 비교하여 COX2, p-P65, Pro-IL-1β, NLRP3, IL-1β, Caspase1의 발현량이 감소한 것을 확인하였다(그림14A). 또한, 미세교세포를 활성화시켰을 때 세포 밖으로 분비되는 IL-1β의 양을 ELISA로 확인하였다(그림14B). 대조군과 비교하여 HDAC6의 발현을 억제시켰을 때 세포 밖으로 분비되는 IL-1β의 양이 감소하는 것을 확인하였다. 이를 통해, 미세교세포에서 HDAC6의 발현을 억제시키면 염증관련 인자 및 NLRP3 inflammasome의 활성이 감소하는 것을 알 수 있다.

제 2 절 이론적·실험적 접근 방법

성과목표	세부목표	연구수행방법 (이론적·실험적 접근방법)	구체적인 내용
1. 극지 유래 Ramalin의 작용 타겟 규명 연구	1-1. Ramalin의 타겟 HDAC 스크리닝 및 타겟 검증	HDAC Fluorescent Activity Assay 진행(HDAC1~11)	<ul style="list-style-type: none"> - HDAC1~11의 기질에 형광원을 결합시켜, 각각의 HDAC에 의해 기질이 탈아세틸화될 때 형광을 나타내는 시스템을 이용함. - Ramalin(195nM~100μM)을 각각의 HDAC에 처리한 후 기질과 반응시킴. 그 후 형광의 세기를 측정(Ex 360/Em 460nm)하여 HDAC의 활성도를 확인.
		HDAC6 기질인 Tubulin의 아세틸화 확인(Western Blot)	<ul style="list-style-type: none"> - SH-SY5Y 신경세포에 Ramalin을 5, 10, 15μM 처리한 후 Acetyl-tubulin, α-tubulin 단백질 발현 확인. - Acetyl-tubulin/α-tubulin 값을 측정함으로써 HDAC6의 활성도를 확인.
	1-2. Ramalin 타겟 HDAC과 BACE1 조절 상관관계 규명	Ramalin 처리에 따른 BACE1 발현량 확인(Western Blot, qPCR) Ramalin 처리에 따른 BACE1 프로모터 활성도 변화 확인 (Luciferase assay)	<ul style="list-style-type: none"> - SH-SY5Y 신경세포 또는 Primary culture 신경세포에 Ramalin 1, 10, 25μM을 처리한 후 BACE1 단백질, mRNA 발현량 확인. - Luciferase를 발현하는 벡터에 BACE1 프로모터를 클로닝하여 BACE1 프로모터의 활성도에 따른 Luciferase reporter 시스템을 구축함. - 96-well-plate에 HEK293T 세포를 seeding함. 24시간 37도씨에서 incubation 후, 플라스미드 벡터 20ng을

			<p>transfection 함. 3시간 후 Ramalin 10μM을 처리하고 24시간 37도씨에서 incubation 함.</p> <p>- Dual-Luciferase Reporter Assay System을 이용하여 Ramalin 처리에 따른 BACE1 promoter 활성도를 측정.</p>
		<p>HDAC6 과발현 및 발현 억제에 따른 BACE1 발현량 확인 (Western Blot, qPCR)</p>	<p>- SH-SY5Y 신경세포에 HDAC6 cDNA 플라스미드 벡터를 transfection시켜 과발현 시킨 후 BACE1 단백질 발현량 확인.</p> <p>- SH-SY5Y 신경세포에 HDAC6 shRNA를 transfection 시켜 HDAC6의 발현을 억제한 후, BACE1의 단백질 및 mRNA 발현량 확인</p>
		<p>HDAC6와 BACE1 단백질-단백질 상호작용 확인 (Immunoprecipitation)</p>	<p>- SH-SY5Y 신경세포를 100mm plate 3판에 seeding 하여 키움. BACE1 cDNA를 transfection 시켜 과발현 시킴. Tunicamycin, Ramalin을 각각 처리한 후 24시간 37도씨에서 incubation 함. Lysis buffer(20mM HEPES pH7.4, 0.5mM EDTA, 150mM NaCl, 0.1% Triton X-100, protease inhibitor, HDAC inhibitor)를 넣고 단백질을 추출함.</p> <p>- IgG, Anti-HDAC6, Anti-BACE1 항체를 넣고 4도씨에서 overnight으로</p>

			<p>incubation함. Agarose A/G bead를 넣고 4도씨에서 4시간 incubation함. Lysis buffer로 3번 washing한 후 Spin-down하여 상층액만 얻어냄.</p> <p>- Anti-BACE1, Anti-HDAC6 항체로 Immunoblotting하여 HDAC6와 BACE1의 결합여부를 확인.</p>
	<p>HDAC6에 의한 BACE1 카르복시 말단 펩타이드의 탈아세틸화 확인(HDAC6 Activity Assay)</p>		<p>- HDAC6의 2개의 효소활성도메인이 각각 mutation된 단백질을 이용(CD1: H611A, CD2 활성 없음, CD2: H216A, CD1 활성 없음).</p> <p>- BACE1의 카르복시 말단 펩타이드 서열(DISLLK-Ac) 이용.</p> <p>- Lysine이 탈아세틸화 되면 1차 아민기가 생성되고, 1차 아민과 Fluorescamine이 반응하여 형광을 나타냄.</p> <p>- 형광의 세기를 측정 (Ex 390/Em 470nm) 하여 HDAC6에 의한 BACE1 말단 서열의 탈아세틸화 활성 확인.</p>
	<p>HDAC6에 의한 BACE1 단백질 안정성 변화 확인</p>		<p>- HDAC6 WT 또는 KO MEF 세포를 60mm plate에 각각 5판씩 seeding함. 다음날, cycloheximide 100µg/mL를 처리한 뒤 0, 2, 4, 6, 8시간 후 harvest함. 단백질을 추출하여 Western blot으로 BACE1의 발현량을 확인함.</p>

2. 극지 유래 Ramalin의 항치매 효능 기전 규명 연구	2-1. Ramalin의 Tau 응집 억제 및 미토콘드리아 수송 개선 효과 확인	3xTg-AD 마우스에 Ramalin 투여 후 Tau 응집 개선 효과 확인(IHC, Western Blot)	<ul style="list-style-type: none"> - 3xTg-AD 마우스 7개월령에 Ramalin 20mg/kg을 하루 한번, 4주간 경구 투여함. - 뇌조직을 적출하여 각각의 반구를 IHC용, WB용으로 사용.
		Primary culture 신경세포에 Ramalin 처리 후 미토콘드리아 수송 측정(MitoTracker)	<ul style="list-style-type: none"> - Rat 태아(E17)의 뇌조직으로부터 얻은 신경세포를 7일간 배양. - Primary culture 신경세포에 베타아밀로이드 올리고머 1μM을 24시간 처리한 후, Ramalin 5μM을 3시간 처리함. - MitoTracker Red CMXRos를 0.1μM로 15분간 처리한 후, Live Cell Imaging chamber를 이용하여 미토콘드리아의 움직임을 촬영함.
	2-2. Ramalin의 항염증 효능 및 염증관련 단백질의 발현 변화 확인	3xTg-AD 마우스에 Ramalin 투여 후 염증인자 발현 확인(Western Blot)	<ul style="list-style-type: none"> - 3xTg-AD 마우스 7개월령에 Ramalin 20mg/kg을 하루 한번, 4주간 경구 투여함. - 뇌조직을 적출하여 단백질을 추출한 후 염증관련 인자 발현량 확인.
		Primary culture 미세교세포에 Ramalin 처리 후 염증인자 및 NLRP3 inflammsome 인자 확인(Western Blot, qPCR)	<ul style="list-style-type: none"> - ICR mouse 생후 1일령의 뇌조직으로부터 교세포 배양. 16일 후, CD11b 항체를 이용하여 미세교세포 분리. - 미세교세포에 Ramalin 20μM을 24시간 처리한 뒤, LPS 0.2μg/mL 6시간, Nigericin 20μM 1시간 처리함. - 염증관련 인자 및 NLRP3 inflammasome 인자들의 단

		<p>Primary culture 미세교세포에 HDAC6 발현 억제 후 염증인자 및 NLRP3 inflammsome 인자 확인(Western Blot, ELISA)</p>	<p>백질, mRNA 발현량 확인.</p> <ul style="list-style-type: none"> - ICR mouse 생후 1일령의 뇌조직으로부터 교세포 배양. 16일 후, CD11b 항체를 이용하여 미세교세포 분리. - 미세교세포에 HDAC6 siRNA 20nM을 transfection 함. 24시간 이후, LPS 0.2μg/mL 6시간, Nigericin 20μM 1시간 처리함. - 염증관련 인자 및 NLRP3 inflammasome 인자들의 단백질 발현량을 확인. - IL-1β ELISA kit를 이용하여 미세교세포를 배양한 배지에 있는 IL-1β 양 확인.
--	--	---	---



제 4 장 연구개발목표 달성도 및 대외기여도

제 1 절 연구개발목표 달성도

1. 연도별 연구목표 및 평가착안점

년도	성과목표	세부목표	가중치	평가의 착안점 및 척도
1차년도(2019)	1. 극지 유래 Ramalin의 작용 타겟 규명 연구	○ Ramalin의 타겟 HDAC 스크리닝 및 타겟 검증	20%	1. 공동 연구 수행 능력 2. 기초 분석 및 해석 능력 3. 연구결과의 적용가능성
		○ Ramalin 타겟 HDAC과 BACE1 조절 상관관계 규명	30%	
	2. 극지 유래 Ramalin의 항치매 효능 기전 규명 연구	○ Ramalin의 Tau 응집 억제 및 미토콘드리아 수송 개선 효과 확인	20%	
		○ Ramalin의 항염증 효능 및 염증관련 단백질의 발현 변화 확인	30%	

2. 연구개발목표 및 달성도

성과목표	세부목표	달성 주요내용	달성도(%)
1. 극지 유래 Ramalin의 작용 타겟 규명 연구	1-1 Ramalin의 타겟 HDAC 스크리닝 및 타겟 검증	- Ramalin이 타겟으로 하는 HDAC 스크리닝 - HDAC 타겟 단백질의 아세틸레이션 확인	100%
	1-2 Ramalin 타겟 HDAC과 BACE1 조절 상관관계 규명	- Ramalin 처리에 따른 BACE1 발현량 확인 - HDAC6 과발현 또는 발현 억제에 따른 BACE1 발현량 확인 - HDAC6에 의한 BACE1의 탈아세틸화 확인	100%

2. 극지 유래 Ramalin의 항치매 효능 기전 규명 연구	2-1	Ramalin의 Tau 응집 억제 및 미토콘드리아 수송 개선 확인	<ul style="list-style-type: none"> - Ramalin 처리에 따른 Tau 응집 개선 효과 확인 - Ramalin 처리에 따른 mitochondria movement 개선 측정 	100%
	2-2	Ramalin의 항염증 효능 및 염증관련 단백질의 발현 변화 확인	<ul style="list-style-type: none"> - 미세교세포주에서 Ramalin 처리에 의한 염증관련 단백질 발현 변화 확인 - HDAC6 발현 억제에 따른 염증 관련 인자 발현 변화 확인 	100%

제 2 절 대외기여도

1. 학술적 기여도

- AD/PD 2019 국제학술대회에서 Ramalin의 항치매 효과에 대한 포스터 발표
- EMBO Workshop “Proteostasis: From organelles to organisms”에서 Ramalin의 항치매 효과에 대한 포스터 발표
- 알츠하이머 치매에서 증가되어 있는 것으로 알려진 인자들(BACE1, Tau 응집, 염증반응)을 감소시킬 수 있는 치료물질 개발의 가능성 제시
- Ramalin의 작용 타겟을 발굴하여 알츠하이머 치매의 발병 기전에 대한 새로운 이론 제시

2. 경제적 기여도

- Ramalin의 알츠하이머 치료제로서의 가능성을 보여줌
- Ramalin의 타겟인 HDAC6와 알츠하이머 치매의 연관성을 규명함으로써 알츠하이머 치매 치료 타겟으로 HDAC6를 제시. 이를 통해 알츠하이머 치매의 치료제로서 HDAC6 억제제 개발의 필요성을 강조.

제 5 장 연구개발결과의 활용계획

제 1 절 추가연구의 필요성

문제점 또는 원인	개선방향 또는 대책
-Ramalin의 항치매 효과가 HDAC6 의존적임을 밝혀야 함.	- Ramalin이 HDAC6의 직접적 억제제임을 검증하기 위해 결합 확인 및 결합 위치 규명이 필요함. - HDAC6와 Ramalin 간의 결합을 확인하기 위해 SPR assay를 진행할 예정.
-HDAC6에 의한 BACE1 및 NLRP3 발현 조절 기전 연구가 더 필요함.	- HDAC6 도메인 mutant structure를 이용하여 조절에 관여하는 HDAC6 도메인을 밝히려함. - HDAC6와 BACE1 또는 NLRP3 간의 단백질-단백질 상호작용을 확인할 것임.



제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

제 1 절 해외과학기술정보

1. iPSC 유래 인간 미세교세포를 이식시킨 알츠하이머 마우스 모델 [17]

- AD/PD 2019 국제학술대회에 참여하여 해당 과학기술내용 습득
- 2019년 9월, “Neuron”에 게재됨
- iPSC 유래 조혈전구세포를 MITRG(Rag2^{-/-}, IL2ry^{-/-}, hCSF1, hCSF2, hTPO) 마우스 뇌에 이식시켜 인간 미세교세포로 분화시키는 데 성공함
- 알츠하이머 치매인 MITRG 마우스(5x-MITRG)에서 iPSC 유래 조혈전구세포를 인간 미세교세포로 분화시킴으로써 알츠하이머 치매 환경에 의해 변화되는 인간 미세교세포의 반응을 확인할 수 있음



제 7 장 참고문헌

1. Assessing the socioeconomic impact of Alzheimer's in Western Europe and Canada. The Economist Intelligence Unit. 2017.
2. 남효정 외 3인. 대한민국 치매현황 2018. 보건복지부 중앙치매센터. 2018
3. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration. Early Alzheimer's Disease: Developing Drugs for Treatment Guidance for Industry. 2018.
4. THERAPEUTICS. Alzforum. 2020.01.27. <https://www.alzforum.org/therapeutics>
5. Dunn KM et al. Neurovascular signaling in the brain and the pathological consequences of hypertension. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2014. 306(1):H1-14.
6. Rosenberg PB et al. Effects of cardiovascular medications on rate of functional decline in Alzheimer disease. *Am J Geriatr Psychiatry*. 2008. 16(11):883-92.
7. Wang J et al. Carvedilol as a potential novel agent for the treatment of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*. 2011. 32(12):2321.e1-12.
8. Katsouri L et al. Prazosin, an $\alpha(1)$ -adrenoceptor antagonist, prevents memory deterioration in the APP23 transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*. 2013. 34(4):1105-15.
9. Haase N et al. Amyloid- β peptides activate $\alpha 1$ -adrenergic cardiovascular receptors. *Hypertension*. 2013. 62(5):966-72.
10. Carlsson CM et al. Effects of simvastatin on cerebrospinal fluid biomarkers and cognition in middle-aged adults at risk for Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*. 2008. 13(2):187-97.
11. THERAPEUTICS - Aducanumab. Alzforum. 2020.01.27. <https://www.alzforum.org/therapeutics/aducanumab>
12. Jeff S et al. The antibody aducanumab reduces A β plaques in Alzheimer's disease. *Nature*. 2016. 537:50-56.
13. Brier MR et al. Tau and A β imaging, CSF measures, and cognition in Alzheimer's disease. 2016. *Science Translational Medicine*. 8(338).
14. Heneka MT et al. NLRP3 is activated in Alzheimer's disease and contributes to pathology in APP/PS1 mice. 2013. *Nature*. 493(7434):674-678.
15. Readhead B et al. Multiscale Analysis of Independent Alzheimer's Cohorts Finds Disruption of Molecular, Genetic and Clinical Networks by Human Herpesvirus. *Neuron*. 2018. 99(1):64-82.
16. Eimer WA Vijaya Kumar DK Navalpur Shanmugam NK et al. Alzheimer's

disease-associated β -amyloid is rapidly seeded by Herpesviridae to protect against brain infection. Neuron. 2018; 99: 56-63.

17. Jonathan H et al. Development of a chimeric model to study and manipulate human microglia in vivo. Neuron. 2019; 103: 1016-1033.

