

치아발생과정동안 FMRP과 MAP-1b의 발현양상에 대한 고찰

김현진

원광대학교 치과대학 구강해부학교실

접수: 2017년 10월 23일/ 수정접수: 2017년 11월 07일/ 게재 승인: 2017년 11월 14일/ 출간: 2017년 12월 31일

Fragile X Mental Retardation-1 (FMR-1) 유전자에 의해 형성되는 Fragile X mental retardation protein (FMRP)는 RNA-binding 단백질이며 번역 억제자 (translation repressor) 기능이 알려져 있다. 염색체 내 FMR-1 유전자 변이로 인한 FMRP 발현 감소는 희귀질환으로 분류되는 취약 X 증후군 (Fragile X Syndrome)을 유발하며 취약 X 증후군의 치아 형성단계에서 치아성숙이 가속화됨을 보고하였다. *Microtubule-Associated Protein 1b* (MAP-1b)는 신경세포의 신경돌기와 시냅스 형성에서 작용하며 FMRP에 의하여 번역 억제를 조절을 받는 표적 물질이다. 배양된 상아질모세포를 이용한 FMRP 발현 연구에서는 상아질모세포의 세포막과 세포돌기에서 관찰되었다. 면역조직화학법에서 MAP-1b는 종시기 치배의 교두정 상아질모세포에서 강한 발현을 시작하여 치경부에 이르는 단계적 감소를 제시하였다. 더불어 우식치아에서 수복상아질 형성을 위해 새롭게 분화하는 odontoblast-like cell에서 MAP-1b가 발현되었다. 본 종설에서는 선행 보고를 바탕으로 치아발생과정에서 발현되는 FMRP와 MAP-1b의 고찰을 통하여 치아 발생에서 관련성을 알아보하고자 한다.

주제어: FMRP, MAP-1b, 치아 발생

서론

치아발생 종시기에 상아질발생(dentino-genesis)은 구강상피로부터 유래한 법랑질기관의 내법랑상피조직(inner enamel epithelium)과 신경능선에서 유래한 치아유두의 외배엽성중간엽조직(ectomesenchyme) 사이의 상호작용을 통하여 개시된다. 교두가 형성되는 부위에서 치아유두에 존재하는 외배엽성중간엽줄기세포는 상아질모세포

로 분화하고, 법랑질기관의 내법랑질상피세포는 법랑질모세포로 분화하게 된다. 상아질모세포의 상아질 형성 후, 법랑질모세포는 법랑질을 형성하며 치관형성이 이루어진다^{1,2)}.

치아는 법랑질(enamel), 상아질(dentin), 그리고 백악질(cementum)의 세가지 경조직이 존재하는 기관이다. 그 중 법랑질과 백악질은 치아의 치관과 뿌리의 표면을 덮고 있다. 이와는 다르게 상아질은 치아 전반에 분포하여 상아질-치수 복합체를 형성하며 치아 내 결합조직을 둘러싸고 있다. 상아질모세포는 치수의 주변에 존재하며 상아질의 상아세관으로 세포 돌기를 형성하는 형태적 특징을 나타낸다³⁾. 상아질모세포는 세포 기원 및 형태

* 교신저자: 김현진

전라북도 익산시 신용동 원광대학교 치과대학 구강해부학교실

Tel: 82-63-850-6910, Fax: 82-63-850-6943,
e-mail: khjin1005@wku.ac.kr

와 더불어 기능에 있어서 다른 세포로 대체 될 수 없는 특징을 나타냄으로서 신경세포와의 유사성이 존재한다⁴⁾.

취약 X 증후군은 흔한 유전성 질환으로 다운 증후군(Down syndrome) 다음으로 가장 흔한 정신지체의 원인으로 알려져 있다. 임상적으로 나타나는 특징은 여성의 경우 대체적으로 지능저하를 보이며 조기난소기능저하증을 경험한다. 남성의 경우는 지능저하, 행동장애, 긴 얼굴, 크고 뚜렷한 귀, 큰 고환, 튀어나온 턱 그리고 높은 구개궁(high-arched palate)등의 특징을 나타낸다. 특히, 취약 X 증후군의 남성과 여성은 어린시기에 치아성숙이 가속화되었으며 일부에서는 성장 후 교합장애(malocclusion)를 경험한다⁵⁻⁷⁾.

취약 X 증후군의 원인으로는 염색체 내 FMR-1 유전자 변이로 인한 FMRP 발현이 저해되는 것으로 알려져 있다. 정상인의 경우 FMRP는 주로 뇌와 고환에 분포하며, 난소 및 치아를 포함한 다른 기관 내의 발현이 보고되어지고 있다^{5,6)}. 더불어 FMRP와 상호 작용하는 표적자들이 보고되면서 기관발생 및 기능과 관련된 연구가 이루어지고 있다. 특히, MAP-1b mRNA는 FMRP의 표적물질로 보고되었으며 세포 골격과 관련된 분자 조절 기전이 보고되었다⁸⁾. 희귀질환으로 분류되는 취약 X 증후군의 관심이 증가함에 따라 FMRP와 관련된 작용기전에 관한 연구도 증가하고 있다. 본 논문에서는 치아발생 과정에서 발현되는 FMRP와 MAP-1b의 고찰을 통하여 치아형성에 미치는 영향을 알아보하고자 한다.

본론

취약 X 증후군(Fragile X syndrome)

취약 X 증후군(Fragile X syndrome)은 X염색체에 위치한 FMR-1 유전자의 5'-UTR(5'-

untranslated region)에서 CGG 삼핵산 반복(trinucleotide repeat) 수가 비정상적으로 증가하여 정신지체가 발생하는 증후군이다. 1969년 Lubs는 정신지체를 보이는 남성과 몇 명의 여성 보인자(carrier)에서 X 염색체의 장완(long arm)에 취약한 부위(fragile site)가 존재하는 것을 보고하였다. 이 연구에서 X 염색체와 관련된 정신지체 가계에서 정신지체아의 핵형분석을 시행하였으며 처음으로 취약 X 염색체를 명명하였다. 1943년 Martin과 Bell이 X-연관열성유전방식으로 유전되는 정신지체의 큰 가계를 보고하면서 Martin-Bell증후군이라고도 일컬어진다. 1977년 Sutherland가 특수한 염색체 검사를 통하여 X 염색체 장완의 말단, 정확히 Xq27-q28 부위가 끊어져 존재함을 밝힘으로써 취약 X 증후군이 X-연관열성유전방식에 의하여 유전됨을 증명하였다. 1991년 Verkerk 등과 Yu 등의 두 연구 그룹에서 취약 X 증후군에서 중요한 유전자 FMR-1을 발견하였으며 X 염색체 장완의 27.3 부위(Xq27.3)에 위치한다는 것을 보고하였다⁹⁻¹²⁾.

Fragile X mental retardation protein (FMRP)

FMRP는 FMR-1 유전자에 의해 형성되는 RNA-binding 단백질로서 핵과 세포질 사이를 이동하며 기능을 나타내는 것으로 알려져 있다^{13,14)}. FMRP는 단백질 내 K-homology 도메인(KH domain)과 Arginine-Glycine-Glycine (RGG) box를 통하여 RNA와 결합한다. 일반적으로, KH 도메인은 RNA-binding 단백질에서 conserved 도메인이다. FMRP내 KH 도메인의 유전적 변이는 FMRP와 RNA의 결합을 차단한다. 즉, FMRP의 돌연변이는 FMRP의 결합으로 정상 상태의 번역 억제 기능을 수행할 수 없게 된다^{15,16)}. FMR-1 유전자의 DNA 염기서열에서 CGG 삼핵산 반복수가 비정상적으로 증폭되면 FMR-1 유전자로부터 FMRP

생성이 결여되며, 이러한 변이는 남자에서는 약 4,000명당 1명 그리고 여자에서는 약 8,000명당 1명으로 발생하는 취약 X 증후군에 직접적인 관련성이 있다¹⁷⁻¹⁹⁾. 보고에 의하면 취약 X 증후군 환자 및 *Fmr1* knock-out mouse를 이용한 연구에서 수상돌기 가지(dendritic spine) 성숙이 지연되었다. 이러한 연구 결과는 신경계에서 FMRP와 결합하는 mRNA 표적자의 번역 억제 조절 기전에 FMRP의 관련성을 제시하였으며 FMRP가 신경계 시냅스 발생(synaptic development) 및 가소성(plasticity)에 중요한 조절자임을 보고하였다²⁰⁻²⁴⁾.

Microtubule-Associated Protein 1b (MAP-1b)

MAP-1b는 신경계 발생과정에서 신경모세포(neuroblast)에서 발현되며 축삭발생 과정에 중요한 단백질이다²⁵⁻²⁷⁾. *MAP-1b* knock-out mouse를 이용한 연구에 따르면 축삭돌기의 발아가 손상됨을 보여주었고, 다른 MAP family (MAP-1a, MAP-1c, MAP 2, MAP-2c, MAP-4, tau)에 의하여 그 기능이 대체 될 수 없음을 제시하였다^{28,29)}. MAP-1b는 세포 내의 액틴과 미세소관의 조절 작용을 통한 축삭돌기 구조의 형성에 그 기능이 알려져 있다³⁰⁾. 세포 내에서 MAP-1b 인산화는 미세소관의 역동성과 안정성에 기여하며 미세소관과 액틴의 결합에 영향을 미침으로서 신경돌기의 성장원뿔 성장 및 발생을 조절한다³¹⁾. 바꾸어 말하면 MAP-1b는 신경세포에서 축삭 성장(growth), 발생(development), 가지(branch) 그리고 재생(regeneration)등의 형태 변화를 조절하는데 그 역할이 있다.

FMRP와 MAP-1b 결합

FMRP는 번역 억제자로서 현재까지 400개 이상의 mRNA가 FMRP와 결합하여 작용하는 것으로 알려져 있다. MAP-1b는 신경돌기와 시냅스

형성에 작용하며 FMRP에 의하여 번역 억제를 조절을 받는 표적자로 예측되었다. 2004년 Yue등은 Wild-type과 *Fmr1* knock-out mouse를 이용하여 뇌발생과정에 FMRP와 MAP-1b mRNA 관련성을 규명하였다. 면역침강반응의 실험을 이용하여 생후 7일 해마(hippocampus) 발생과정에 FMRP와 MAP-1b mRNA의 직접적인 결합을 제시하였다. 또한, FMRP 번역 억제를 통하여 시냅스형성동안 MAP-1b 단백질 감소를 보여주었다⁸⁾.

취약 X 증후군과 치아성숙도

통계 분석 연구에 따르면 연구에 참여한 취약 X 증후군의 남자 (4.9세-17.6세) 28명에서는 키, 골 성장에 비하여 치아성숙이 빨라짐을 보고하였고, 여자 보인자 (5.8세, 10.4세, 12.7세) 3명에서 유사한 양상으로 보고하였다⁷⁾. 이러한 연구 결과는 취약 X 증후군과 직접적으로 관련된 FMRP가 치아발생에 영향을 미칠 수 있는 근거로 제시 될 수 있다. 더 나아가 FMRP와 결합하여 작용하는 다양한 표적물질이 치아형성 과정에 관련되어 질 수 있음을 시사한다.

상아질형성에서 FMRP와 MAP-1b 발현

1) FMRP

상아질형성에 반드시 필수적인 상아질모세포에서 FMRP가 발현되었다. 배양된 상아질모세포를 이용한 면역조직화학법에서 FMRP는 상아질모세포 세포체의 세포막과 세포돌기에 발현되었다⁴⁾.

2) MAP-1b

중시기 치배의 교두정에서 치경부에 이르는 상아질모세포의 분포는 단계적인 상아질모세포 발생 과정을 나타낸다. MAP-1b 항체를 이용한 연구 결과는 교두정 부위의 상아질모세포에서 강한 발현을 시작하여 치경부까지의 단계적 감소를 제시하였다. MAP-1b anti-sense probe를 이용한 In situ

hybridization 결과는 상아질모세포의 세포체와 세포돌기에 분포하였다. 또한, 우식치아에서 수복상아질 형성을 위하여 새롭게 분화하는 odontoblast-like cell에서 MAP-1b가 발현되었다⁴⁾.

결론 및 고찰

FMR1 유전자의 산물인 FMRP는 FMR1 유전자 내의 결함으로 인해 유발되어 장애로 분류하는 취약 X 증후군의 대표적인 단백질이다. 외배엽으로부터 발생하는 신경세포의 축삭 조절에 FMRP의 역할은 상당히 중요한 부분을 차지한다. 신경계 발생과정을 살펴보면 신경관형성과정(neurulation)과 치아발생과 연관된 신경능선세포 사이의 관련성을 고려 할 수 있다. 발생 완료 후 나타나는 신경세포의 형태적 특징은 치아 형성 시 상아질형성을 유도하는 상아질모세포의 기원 및 형태의 유사성이 존재한다. 선행 보고의 연구 결과로부터 치아발생동안 상아질모세포에서 FMRP와 MAP-1b의 발현이 확인되었으나 상아질모세포에서의 직접적인 조절기전에 대한 연구는 미미한 실정이다. 따라서 치아발생에서 FMRP와 MAP-1b의 관련된 신호전달 기전을 밝혀냄으로서 상아질형성의 발생 및 수복에 대한 이해를 증가시키는데 매우 중요할 것이다.

참고문헌

1. Nanci A : Ten Cate's oral histology: development, structure, and function. 8th ed. Elsevier, St. Louis, MO, 2013.
2. Thesleff I and Sharp P: Signalling networks regulating dental development. *Mech Dev* 67:111-123, 1997.
3. Kawashima N and Okiji T: Odontoblasts: Specialized hard-tissue-forming cells in the dentin-pulp

- complex. *Congenit Anom* 56:144-153, 2016 doi: 10.1111/cga.12169.
4. Maurin JC, Couble ML, Staquet MJ, Carrouel F, About I, Avila J, Magloire H and Bleicher F: Microtubule-associated protein 1b, a neuronal marker involved in odontoblast differentiation. *J Endod* 35:992-996, 2009 doi: 10.1016/j.joen.2009.04.009.
5. Stone WL and Los E: Fragile X Syndrome. *Stat-Pearls* (Internet), 2017.
6. Ding Q, Sethna F, Wang H : Behavioral analysis of male and female Fmr1 knockout mice on C57BL/6 background. *Behav Brain Res* 27:72-78, 2014 doi: 10.1016/j.bbr.2014.05.046.
7. Kotilainen J and Pirinen S: Dental maturity is advanced in Fragile X syndrome. *Am J Med Genet* 83:298-301, 1999.
8. Lu R, Wang H, Liang Z, Ku L, O'donnell WT, Li W, Warren ST and Feng Y: The fragile X protein controls microtubule-associated protein 1B translation and microtubule stability in brain neuron development. *Proc Natl Acad Sci* 101:15201-15206, 2004 doi: 10.1073/pnas.0404995101.
9. Cassidy SB and Allanson JE: Management of genetic syndromes. 2nd ed. Wiley & Sons, 251-236, 2005.
10. Wattendorf DJ and Muenke M: Diagnosis and management of fragile X syndrome. *Am Fam Physician* 72:111-113, 2005.
11. Koukoui SD and, Chaudhuri A: Neuroanatomical, molecular genetic, and behavioral correlates of fragile X syndrome. *Brain Res Rev* 53:27-38, 2007.
12. Jacquemont S, Hagerman RJ, Hagerman PJ and Leehey MA: Fragile-X syndrome and fragile X-associated tremor/ataxia syndrome: two faces of FMR1. *Lancet Neurol* 6: 45-55, 2007.
13. Eberhart DE, Malter HE, Feng Y and Warren ST: The fragile X mental retardation protein is a ribonucleoprotein containing both nuclear localization and nuclear export signals. *Hum Mol Genet* 5:1083-1091, 1996.

14. Feng Y, Gutekunst CA, Eberhart DE, Yi H, Warren ST and Hersch SM: Fragile X mental retardation protein: nucleocytoplasmic shuttling and association with somatodendritic ribosomes. *J Neurosci* 17:1539-1547, 1997.
15. Ashley CT Jr, Wilkinson KD, Reines D and Warren ST: FMR1 protein: conserved RNP family domains and selective RNA binding. *Science* 262:563-566, 1993.
16. Siomi H, Siomi MC, Nussbaum RL and Dreyfuss G: The protein product of the fragile X gene, FMR1, has characteristics of an RNA-binding protein. *Cell* 74:291-295, 1993.
17. Jin P and Warren ST: New insights into fragile X syndrome: from molecules to neurobehaviors. *Trends Biochem Sci* 28:152-158, 1993 doi: 10.1016/S0968-0004(03)00033-1.
18. O'Donnell WT and Warren ST: A decade of molecular studies of fragile X syndrome. *Annu Rev Neurosci* 25:315-338, 2002. doi: 10.1146/annurev.neuro.25.112701.142909.
19. Bardoni B and Mandel JL: Advances in understanding of fragile X pathogenesis and FMRP function, and in identification of X linked mental retardation genes. *Curr Opin Genet Dev* 12:284-293, 2002.
20. Reiss AL, Aylward E, Freund LS, Joshi PK and Bryan RN: Neuroanatomy of fragile X syndrome: the posterior fossa. *Ann Neurol* 29:26-32, 1991.
21. Irwin SA, Galvez R and Greenough WT: Dendritic spine structural anomalies in fragile-X mental retardation syndrome. *Cereb Cortex* 10:1038-1044, 2000.
22. Nimchinsky EA, Oberlander AM and Svoboda K: Abnormal development of dendritic spines in FMR1 knock-out mice. *J Neurosci* 21:5139-5146, 2001.
23. Greenough WT, Klintsova AY, Irwin SA, Galvez R, Bates KE and Weiler IJ: Synaptic regulation of protein synthesis and the fragile X protein. *Proc Natl Acad Sci* 98: 7101-7106, 2001 doi: 10.1073/pnas.141145998.
24. Comery TA, Harris JB, Willems PJ, Oostra BA, Irwin SA, Weiler IJ and Greenough WT: Abnormal dendritic spines in fragile X knockout mice: maturation and pruning deficits. *Proc Natl Acad Sci* 94:5401-5404, 1997.
25. Black MM, Slaughter T and Fischer I: Microtubule-associated protein 1b (MAP1b) is concentrated in the distal region of growing axons. *J Neurosci* 14:857-870, 1994.
26. Nozumi M, Togano T, Takahashi-Niki K, Lu J, Honda A, Taoka M, Shinkawa T, Koga H, Takeuchi K, Isobe T and Igarashi M: Identification of functional marker proteins in the mammalian growth cone. *Proc Natl Acad Sci* 106:17211-17216, 2009. doi: 10.1073/pnas.0904092106.
27. González-Billault C1, Engelke M, Jiménez-Mateos EM, Wandosell F, Cáceres A and Avila J: Participation of structural microtubule-associated proteins (MAPs) in the development of neuronal polarity. *J Neurosci Res* 67:713-719, 2002 doi: 10.1002/jnr.10161.
28. Takei Y1, Teng J, Harada A and Hirokawa N: Defects in axonal elongation and neuronal migration in mice with disrupted tau and map1b genes. *J Cell Biol* 150:989-1000, 2000.
29. Teng J, Takei Y, Harada A, Nakata T, Chen J and Hirokawa N: Synergistic effects of MAP2 and MAP1B knockout in neuronal migration, dendritic outgrowth, and microtubule organization. *J Cell Biol* 155:65-76, 2001 doi: 10.1083/jcb.200106025.
30. Noiges R1, Eichinger R, Kutschera W, Fischer I, Nemeth Z, Wiche and Propst F: Microtubule-associated protein 1A (MAP1A) and MAP1B: light chains determine distinct functional properties. *J Neurosci* 22:2106-2114, 2002.
31. Cueille N, Blanc CT, Popa-Nita S, Kasas S, Catsicas S, Dietler G and Riederer BM: Characterization of MAP1B heavy chain interaction with actin. *Brain Res Bull* 71:610-618, 2007 doi: 10.1016/j.brainresbull.2006.12.003.

ABSTRACT

The expression pattern of FMRP and MAP-1b during tooth development

Hyun-Jin Kim

Department of Oral Anatomy, School of Dentistry, Wonkwang University

The FMRP (*Fragile X Mental Retardation Protein*) is the FMR-1(*Fragile X Mental Retardation-1*) gene product and a selective RNA-binding molecule as a translation repressor. The lack of FMRP caused by the disorder of FMR-1 gene results in fragile X syndrome (FXS) that exhibits advanced dental maturity. Microtubule-associated protein 1b (MAP-1b) plays important roles in synapse and neurite development in the nervous system. In a previous study, it was reported that FMRP controls MAP-1b translation during the neural development. In cultured odontoblasts, a positive immunoreactivity of FMRP was shown in the plasma membrane of the odontoblast cell bodies and at the base of odontoblast cell processes. The immunohistochemical staining of MAP-1b at the bell stage during tooth development was detected in polarized odontoblasts with a decreasing pattern from the tip of the cusp to the cervical region. In carious teeth, MAP-1b was positively expressed in the newly differentiated odontoblast-like cells. Therefore, this review suggests a close relationship between FMRP and MAP-1b during tooth development.

Keywords: FMRP, MAP-1b, Tooth development