

알츠하이머병의 진단표적 연구

손지훈* · 홍현주* · 진석민*[†]
묵인희*

서울대학교 의과대학 생화학교실*
아주대학교 신경과학 협동과정[†]

Address for correspondence

Inhee Mook-Jung, Ph.D.
Department of Biochemistry & Cancer Research
Institute, Seoul National University College of
Medicine, 28 Yeongeon-dong, Jongno-gu, Seoul
110-799, Korea
Tel: +82-2-740-8245
Fax: +82-2-3672-7352
E-mail: inhee@snu.ac.kr

*이 연구는 21C Frontier Functional Proteomics
Project와 서울대학교 신임교수 정착연구비(2004)
로 수행되었습니다.

Biomarkers for Alzheimer's Disease

Ji-Hoon Sohn, Ph.D.*, Hyun Joo Hong, Ph.D.*, Seok Min Jin, Ph.D.*[†],
Inhee Mook-Jung, Ph.D.*

Department of Biochemistry & Cancer Research Institute*, College of Medicine, Seoul National
University, Seoul; Neuroscience Program[†], Ajou University, Suwon, Korea

Alzheimer's disease (AD) is a neurodegenerative disorder. The number of patient is rapidly increasing with the aging society. Thus, there is a pressing need for early diagnosis and prevention of AD. AD is characterized by two major neurological features; abundant deposition of senile plaques, which is regarded as a pivotal participant in the neuropathology in AD, and neurofibrillary tangles in the brain. The heterogeneity and complexity of the disease, however, seem not to allow a sole maker to discriminate AD patients from normal with a sufficient specificity and sensitivity. Although their accuracy is still controversial, several biochemical markers for AD are now available, including reduced A β protein, increased phosphorylated tau protein in cerebrospinal fluid, and elevated level of glial fibrillary acidic protein (GFAP) autoantibody in the serum. Not only that, some remarkable progress also has been made in brain imaging fields with an aid of swiftly developing technologies. Here, we overlook both biochemical markers, rather focus on A β and tau related ones, and imaging techniques for the diagnosis of AD. Some areas where more work is required are discussed as well.

Key Words: Alzheimer's disease, Biomarker, CSF, Serum, Plasma, Brain Imaging, A β , Tau

서론

의학기술의 발전에 따른 급속한 고령화 사회로의 진입은 여러 가지 노인성 질환의 증가라는 새로운 문제를 야기하게 되었다. 따라서, 노인성 질환의 진단과 예방 그리고 치료를 위한 준비는 탄탄한 기초 연구와 임상 테스트 기간이 필요한 만큼 한시 바빠 준비해야 할 시급한 문제이다. 이 중, 가장 많은 관심과 연구가 수행되고 있는 질병의 하나가 알츠하이머병(Alzheimer's Disease: AD)이다. AD는 현재, 전세계적으로 2400만 명 이상의 환자가 있는 질병으로서, 65세 이상의 고령인구 군에서는 4-5세가 증가할 때 마다 그 환자수가 2배 가까이 늘어나며, 80세 이상 노인의 30%가 AD로 발전하게 될 가능성이 있는 것으로 보고되고 있다[1]. AD를 일으키는 주된 위험요소로서는 나이와 가족력을 들 수 있는데, 크게 전체의 5% 정도를 차지하는 가족성 AD (familial AD: FAD)와 산발성 AD (sporadic AD: SAD)의 두 가지 카테고리로 나뉘며 AD환자 대부분의 경우는 산발성 AD에 해당한다. AD환자에서 나타나는 조직병리학적 특징으로는 세포막에 결합되어 있는 당 단백질인 아밀로이드 전구단백질(amyloid beta precursor protein: APP)이 β -, γ -

secretase에 의해 순차적으로 절단되어 생성되는 베타 아밀로이드 펩타이드(A β peptide)가 세포외부에 침착되어 형성되는 노인반(senile plaque)과 미세소관연관단백질(microtubule-associated protein)인 타우(tau) 단백질이 세포내부에 응집되어 나타나는 신경섬유덩어리(neurofibrillary tangle)를 들 수 있다 [2]. 현재, AD는 환자의 뇌 조직에서 위의 두 가지 병변을 확인하는 방법 이외에는 간단한 생화학적 방법으로 초기단계에서 확진을 내릴 수 있는 수단이 없는 상태이며, 원인을 근본적으로 치료하는 치료제 역시 아직 개발되어 있지 못한 실정이다. 따라서, 치매의 초기단계에 일어나는 병리학적 변화나, 질병의 진행 정도를 추적할 수 있는 진단방법을 찾는 일은 치료제 개발에 못지 않게 중요한 연구 분야이다. AD진단마커를 찾기 위한 일련의 연구들은 크게 2가지 접근방식으로 진행되고 있는데, AD환자에서 관찰되는 뇌의 구조적, 대사적 변화를 시각적으로 확인할 수 있는 효율적인 뇌영상화(brain imaging)기법의 개발과, 혈액이나 뇌척수액 등의 체액에서 변화를 보이는 특이 단백질을 생화학적 분석 방법으로 발굴해 내려는 시도가 그것이다(Fig. 1). 본 논문에서는 현재 진행되고 있는 치매진단제의 개발동향과 전망을 고찰해 보고자 한다.

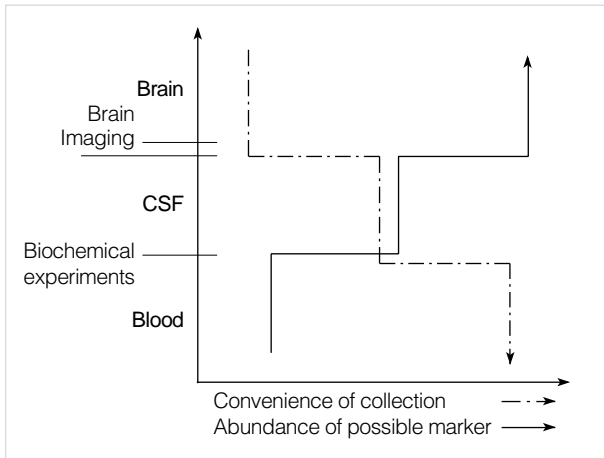


Fig. 1. 뇌영상화 기법과 체액을 이용한 AD진단 표적 발굴.

뇌척수액 내의 생화학적 AD진단 표적

뇌척수액은 뇌 속의 뇌량(colloid plexus)에서 70-80% 그리고 세포외액(extracellular fluid: ECF)에서 소량 생성됨으로써 [3], 뇌의 세포간극(interstitial space)에 존재하는 다양한 단백질의 조성을 가장 근접하게 반영하는 체액이다. 따라서, 치매 환자의 경우 치명적인 영향을 받는 뇌조직의 생화학적 변화를 직접적으로 반영할 뿐만 아니라, 가장 방대한 단백질 정보를 제공한다라는 이점을 가지고 있다. 뇌척수액에서 AD진단마커의 후보물질로 가장 집중적인 연구가 수행된 것은 타우 단백질, 인산화 타우 단백질(Phosphorylated Tau), 그리고 $A\beta$ 이다. Tau는 미세소관(microtubule) 형성에 관여하는 축삭 미세소관(axonal microtubule)의 tubulin에 결합하여 미세소관의 형성과 안정화를 촉진시켜, 축삭의 수송기능에 중요한 역할을 담당한다[4]. 한편, 30개 이상의 인산화 자리가 존재하는 인산화 단백질로, AD환자의 뇌조직에서 관찰되는 신경섬유 엉킴의 tau의 비정상적인 과인산화로 인한 자기결합에 의해 형성된다[5, 6]. Vandermeeren 등(1993)은 AD환자의 뇌척수액에서 tau의 양이 증가되어 있다는 것을 보고하였고, 그 이후 다른 연구자들에 의하여 동일한 결과가 관찰되었다. 또한, AD의 발병에 관여하는 주된 위험요소의 하나인 ApoE e4 대립형질 유전자를 가진 환자에서 Tau의 농도가 더욱 증가되어 있음이 보고된 바 있다 [7, 8]. 하지만 뇌척수액 내, 전체 tau의 양은 신경계의 손상과 퇴화 정도를 반영하여, AD와 유사한 신경계 손상을 수반하는 타 퇴행성 신경계 질환 환자에서 역시 유의한 증가를 보이며 특히, 뇌손상(head trauma)이나 크로이츠펠트-야콥병(Creutzfeldt-Jakob disease)병 환자에게서 가장 높은 증가를 나타내므로 AD 특이적인 진단 마커로서의 효용성이 떨어진다[9, 10].

Tau의 인산화는 AD환자의 뇌에서 초기에 일어나는 병리학 적 변화로 현재까지 각기 다른 인산화 자리에 인산화가 이루어

진 타우 단백질의 양을 측정할 수 있는 6가지의 효소면역분석법(enzyme-linked immunosorbent assay: ELISA)이 개발되어 있는 상태이다[11]. 일련의 실험결과, AD환자의 뇌척수액에서 인산화된 tau가 정상인에 비하여 2-3배 가까이 증가하여 있었으며, 타우 단백질의 threonine 181번과 serine 199번의 위치에 인산화가 이루어진 tau의 양과 전체 tau의 양 사이에 밀접한 상관관계가 있음이 보고되어 있다[12, 13]. 인산화된 tau의 증가는 전체 tau의 증가와는 달리 급성발작(acute stroke)이나 크로이츠펠트-야콥병환자에게서 유의한 증가를 보이지 않으므로 보다 변별력 있는 AD진단마커로 받아들여지며, 이는 인산화된 tau의 증가가 단순한 신경계 손상 정도의 측정이 아닌, tau의 인산화에서 유도된 신경섬유 엉킴의 형성 정도를 반영하기 때문이라고 생각된다[14, 15].

$A\beta$ 는 $A\beta 40$ 과 $A\beta 42$ 형태로 주로 존재하는데, 정상적인 세포 내 대사과정을 거치면서 생성되어 수용성 단백질의 형태로 뇌척수액으로 흘러 들어간다[16]. 과거, 전체 $A\beta$ 의 양이 AD환자의 뇌척수액에서 감소되어 있다는 보고들이 있었으나 정상군과 비교하여 유의한 차이를 보이지는 않았으며, 이후 연구에서 확인된 바에 따르면 $A\beta 40$ 과 $A\beta 42$ 중, $A\beta 40$ 만을 측정하였을 때 AD환자와 정상군 사이에서 변화 양상을 발견할 수 없었으므로 감소된 전체 $A\beta$ 의 양은, $A\beta 42$ 에서 기인했을 것이다[8, 17]. 보다 높은 세포독성을 나타내며, 노인반의 침착을 촉발하는데 더 중요하게 작용할 것이라고 여겨지는 $A\beta 42$ 의 양만을 측정된 연구결과, AD환자에게서 50% 정도의 감소가 확인되었다[18, 19]. 하지만 감소된 $A\beta 42$ 역시, 정상인과 AD환자 간의 비교가 아닌, 혈관성치매나 다른 요인으로부터 유래한 치매환자들에서 AD환자를 변별해 내는 능력은 떨어지는 것으로 보고되어 있다 [20, 21].

AD환자의 뇌에서 발견되는 tau와 $A\beta$ 라는 두 가지 특징적인 단백질 이외에도, 몇몇 다른 가능성 있는 진단마커들이 일부 연구그룹들에 의해 제안되어 왔다. GAP43은 시냅스 전 말단과 피질 신경세포의 축삭에 존재하는 신경 조절 물질로서, AD환자에서는 노인반 주변의 dystrophic neurite에서 발견되며, 전두엽과 해마에서 발현량이 줄어들어 있다는 보고가 있다[22, 23]. 따라서, 시냅스의 분해 정도나 가소성을 측정하는 표적으로 제안되어 왔는데, AD환자의 뇌척수액에서 GAP43의 증가가 확인되었으며, tau와 GAP43의 양 사이에도 상관관계가 있는 것으로 보고되고 있다[24, 25]. Ubiquitin은 인체 내에서 자연적으로 분해되어야 할 단백질의 lysine에 공유 결합하여, 단백질 분해효소에 의한 분해를 촉발하는 역할을 하는데, AD환자의 뇌에서 발견되는 tangle의 PHF (paired helical filaments)에서 ubiquitin에 의한 공유결합이 발견되었다[26, 27]. 이후, AD환자의 뇌 조직에서 분리한 PHF를 항원으로 사용하여, 단백질에 결합한 Ubiquitin의 64-76 서열을 인지할 수 있는 항체가 제작되었으며, 이 항체를 이용한 ELISA 실험결과 AD환자의 뇌척수액에서 상대적으로 많은 PHF 항원이 존재함이 밝혀졌고, 뇌척수

Table 1. AD환자의 CSF와 혈액에 존재하는 생화학적 진단 표적들

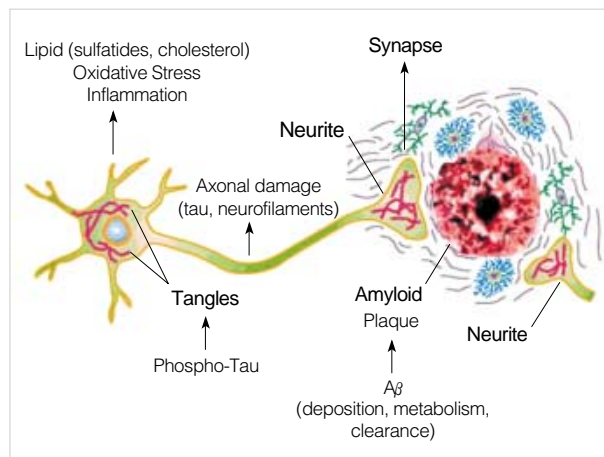
Source	Marker	Level	References
CSF	Tau	▲	[7]
	P-tau	▲	[12], [13]
	Total A β	▼	[17]
	A β 40	=	[8]
	A β 42	▼	[19]
	Gap43	▲	[25]
	Ubiquitin	▲	[29-31]
	AD7C-NTP	▲	[32], [33]
	A β 40	▲	[36], [37]
	A β 42	=/▲	[36], [37]
Serum/Plasma	Anti-A β antibody	▼	[41]
	IL-6	▲	[42]
	8,12-iso-iPF 2α -V1	▲	[44]
	Vitamin A, C, E	▼	[45]
	APP 751,695 ratio	▲	[34], [46]
	Cholesterol	▲	[47], [48]

액과 뇌에 존재하는 Ubiquitin의 양은 동일한 경향을 보였다[28-30]. 뿐만 아니라, 단백질에 결합해 있지 않은 상태의 Ubiquitin 역시 AD환자에게서 정상인 보다 높음이 확인되었다[31]. 신경 돌기의 발아에 관여하는 AD7C-NTP의 경우, AD환자의 CSF에서 정상인과 비교해 그 발현량이 증가해 있었으며, 2000년 Kahle 등에 의해 tau와 AD7C-NTP사이의 밀접한 상관관계가 확인되었으나, 이는 환자의 인지능력장애 정도를 반영하지는 못하였다[32, 33](Table 1).

혈액 내의 생화학적 AD진단 표적

혈액 속에 존재하는 다양한 단백질 중, 뇌의 병리학적 변화를 반영하는 마커를 찾는 작업은 뇌와 혈관 사이에 존재하는 혈액 뇌관문(blood brain barrier: BBB)의 존재로 인하여 몇 가지 한계가 있다. BBB를 자유로이 통과할 수 있는 작은 분자들이나 소수성 물질, 혹은 BBB를 선택적으로 통과시킬 수 있는 특정한 전달자를 가지는 단백질로 그 후보물질의 범위가 한정되며, 이러한 단백질들은 뇌에서 혈관으로 흘러 들어오는 과정에서 크게 희석되어 혈중에서 낮은 농도로 존재한다. 하지만, 전체 AD환자의 90% 이상을 차지하는 산발성 AD환자의 대부분이 60세 이상의 노인이라는 견지에서, 뇌척수액을 얻기 위한 요부천공(Lumbar puncture)에서 오는 위험요인의 제거와 혈액채취의 편리성 그리고 검사의 경제성이라는 강력한 이점도 동시에 가지고 있다.

혈액 속 A β 의 공급원은 아직 정확히 밝혀지지 않은 상태이나, 혈소판에서 생산된 A β 가 주요한 공급원의 하나일 것이라고 생각되고 있으며, A β 와 A β -ApoJ가 이루는 복합체가 BBB를 통과할 수 있다는 보고에 따라 혈액 속 A β 와 AD환자의 뇌조직에서 관찰되는 노인반과의 상관관계도 배제할 수 없는 상태이다

**Fig. 2.** AD환자의 신경세포에서 나타나는 병리학적 특징.

[34, 35]. 혈액 속에 존재하는 A β 는 CSF와 비교하여 100배정도 낮은 농도로 존재하여, 민감한 실험적 정량이 어려운 상태이나, A β 40과 A β 42 모두 프리시닐린(presenilin) 유전자의 변이가 일어난 가족성 AD환자에게서 정상인이나 산발성 AD환자에서 보다, 2-3배 가량 증가해 있다는 보고가 있으며, Mehta 등 (2000)은 A β 40이 ApoE ϵ 4 대립형질유전자를 가지는 AD환자에게서 증가되어 있다는 연구결과를 발표하였으나, 이는 다른 연구 그룹에서 재현성 있게 확인되지는 못하였다[36, 37].

A β 에 관련된 새로운 진단마커는 A β 를 표적으로 하는 치료제 연구를 기초로 하여 제안되었다. 1999년 미국의 Elan 제약회사에서 치매동물모델 쥐에 A β 에 대한 항체를 접종하였을 때, 뇌 조직내의 노인반이 현저히 감소한 실험 결과 보고 이후, A β 항체를 접종하거나, A β 를 접종하여 체내에서 A β 항체의 증가를 유도하는 시도가 다각도로 이루어져 왔다[38]. 최근 AD환자를 대상으로 한 임상실험 결과, A β 를 접종하여 면역반응이 유도된 일부 환자군에서 인지능력이 호전됨이 관찰되었으나, 그에 따른 부작용으로 아급성 수막뇌염(subacute meningoencephalitis)이라는 치명적인 염증반응도 수반되었다[39, 40]. 이들 실험결과에서 착안하여, 혈중에 존재하는 A β 항체의 양을 측정하여 이를 진단마커로 사용하려는 시도가 이루어지고 있으며, 치매환자의 혈액에서 베타 아밀로이드 항체의 양이 상대적으로 줄어들어 있음이 국내의 연구그룹에 의하여 확인되었다[41].

AD환자의 뇌에 생성되는 노인반은 신경세포 주위의 astrocyte나 microglia들을 자극하여 염증반응을 유발하거나, 그에 관련된 다양한 염증유발 물질들의 분비를 촉진한다(Fig. 2). 뇌에서 생성된 염증유발 물질들은 BBB의 존재로 인하여 혈액 내에서 그 농도를 정확히 측정할 수 없으나, C-reactive protein (CRP), Interleukin (IL)-6, Tumor necrosis factor (TNF) IL-1 β , TNF- α , α_1 -antichymotrypsin (α -ACT), Haptoglobin 2-1 (Hp 2-1) 등의 interleukin들이 혈중에서 증가되어 있음이 알려져 있다. 이는 뇌에서 일어나는 염증반응이 신체 전반적인

면역체계에 영향을 미쳐 혈중 interleukin의 농도 변화를 유발했거나, AD환자에서 일어나는 전반적인 interleukin의 농도변화가 뇌조직에서 좀 더 특이적으로 영향을 미치기 때문이라고 생각된다. AD환자에서 증가되어 있는 염증 유발물질들 중에서는, IL-6에 대한 연구가 가장 활발하게 이루어져 있으며, 그 증가가 여러 연구그룹에서 확인되었다[42]. AD환자의 뇌에서 증가되어 있는 ROS (reactive-oxygen species)에 의하여 일어나는 단백질과 지질, 핵산 등의 산화 그리고 저하되어 있는 항산화효소로 인한 산화적 스트레스는 AD에서 일어나는 신경퇴화를 설명하는 또 하나의 중요한 기전이다[43](Fig. 2). 뇌에 상대적으로 많이 존재하며, 산화적 스트레스에 쉽게 영향을 받는 polyunsaturated fatty가 산화될 때 생성되는 F2-isoprostanes의 양이 AD환자의 혈액에서 증가되어 있으며, 항산화 효소의 양을 측정 한 실험결과들은 AD환자에서 Vitamin A, C, E 등의 농도가 저하되어 있음을 확인하였다[44]. 관련된 임상보고로서, 2000 IU Vitamin E를 2년간 매일 복용한 AD환자군에서 병의 진행이 늦추어진다는 결과가 있었으나, 이는 환자의 인지능력을 호전시키지는 못하는 것으로 밝혀졌다[45]. Vitamin계열의 항산화효소를 측정함으로써 AD환자를 분류해 내려는 연구는 혈중 vitamin의 농도가 환자의 나이나 성별, 식습관 등에 의해 다양하게 영향을 받음으로 그 신뢰성이 떨어지는 문제점을 해결해야 할 것이다. AD환자의 혈소판 내에 존재하는 APP isoform의 존재비율 변화 역시 일부 연구그룹에 의해 보고되어 있다[34]. APP는 alternative splicing에 의해 6가지 isoform이 생성되며 이 가운데, 여러 조직에서 발현되고 있는 APP770, APP751과 뇌 특이적으로 발현하는 APP695의 3가지가 주된 형태로 존재한다[2]. AD환자 그리고, 아직 AD로 진행되지는 않았으나 AD로의 진전 가능성이 높은 초기 인지 능력 장애(mild cognitive impairment: MCI)환자에서 혈소판에서 생성되는 APP770이 감소함에 따라 APP751과 APP695의 상대적 비율이 증가되었으며, 이러한 경향은 AD의 진행상태와 심각도와도 유의한 상관관계를 보인다[46]. 이외에도, 콜레스테롤과 AD와의 연관성이 밝혀지면서 고농도의 혈중 콜레스테롤이 AD와 인지능력 장애를 일으킬 수 있는 위험요소임이 보고되었으며, Statin복용 환자와 AD발병과의 상관관계를 연구한 역학보고들에 의하면, Statin계열의 콜레스테롤 저해제를 복용한 사람들에서 AD진행이 늦추어졌음이 확인된 바 있다[47, 48](Table 1).

뇌 영상화 기법을 이용한 AD진단

최근 의공학의 발전과 함께 자기공명영상(magnetic resonance imaging: MRI)이나 양전자방사단층촬영(positron emission tomography: PET), 핵의학단층촬영(single photon emission computed tomography: SPECT)을 이용한 뇌영상 기법(brain imaging)이 새로운 AD진단마커로 각광받고 있다.

비교적 초기에 이루어진 연구들은 AD환자의 뇌에서 나타나는 구조적인 변화나 대사율의 저하를 관찰하였다. vMRI (volumetric magnetic resonance imaging)연구결과 AD환자의 뇌에서는 정상적인 노화단계에서 진행되는 뇌조직의 축소와 비교하여 2배 이상 빠른 부피감소를 보였는데, 초기 인지 능력 장애 환자군에서 이미 뇌조직의 전체적인 부피의 감소가 관찰되며, 차후 AD로 진전되었음이 확인된 MCI 환자군에서는 그렇지 않은 환자군에서 보다 더 빠른 감소율을 보였다[49]. ^[18]fluoro-deoxy-glucose (FDG) PET을 이용한 당 대사율(cerebral metabolic rate for glucose: CMRgl) 측정 결과는, AD의 심각도와 진행 정도에 비례하여 뇌의 posterior cingulate와 대부분의 피질 부위에서 당대사율이 저하됨을 보여주었다[50, 51].

좀 더 진보된 AD진단 방법으로는 뇌조직에 침착되어 있는 노인반의 주 구성성분인 A β 를 인지할 수 있는 항체를 제작하거나, 소형화합물을 합성하여 이들이, 응집된 A β 가 이루는 베타 평면구조(β -sheet)에 결합한 정도를 MRI나 PET으로 영상화하는 방법이 주류를 이루고 있다. A β 에 대한 항체를 이용한 연구의 일환으로 1994년, A β 28을 인지하는 단일클론항체 ⁹⁹Tc-10H3가 개발되었으나 BBB 투과율이 낮은 문제점을 보여, 이후 Wengenack 등(2000)이 A β 40에 대한 항체를 ¹²⁵I로 표지하여 치매동물모델 쥐에서 뇌조직의 노인반에 결합함을 확인하였고, Bornebroek 등(1996)은 ¹²³I로 표지한 serum amyloid P component (SAP)가 유전성 cerebral amyloid angiopathy 환자의 cerebral cortex에 결합함을 SPECT로 확인하였다[52-54]. 노인반에 결합할 수 있는 소형화합물을 합성하는 분야는 인체에 무해한 미세농도에서 높은 결합율을 보이며, BBB에 대한 투과율이 높은 화합물을 개발하는데 초점이 맞추어져 있다. 현재까지 수많은 화합물들이 개발되어 왔으며, 낮은 BBB 투과율과 노인반에 결합하여 충분한 신호를 발산하지 못하는 등의 문제점을 해결하려는 노력의 결과 피츠버그 화합물(Pittsburgh Compound-B: PIB)과 FDDNP 등이 임상시험에서 긍정적인 결과를 보이고 있다[55, 56]. FDDNP의 경우, 9명의 치매환자와 7명의 정상인을 대상으로 한 임상실험에서 AD환자의 해마와 편도체, 그리고 entorhinal cortex에서 가장 높은 결합능을 보임이 보고 되었으며, AD환자의 사후 뇌조직 절편을 이용한 결합 실험에서는 neurofibrillary tangle과 prion plaque에도 결합할 수 있음이 확인되었다[57, 58]. 아밀로이드가 가지는 베타 평면구조를 인식하여 결합하는 염색물질인 Thioflavin에서 유래한 PIB의 경우 임상실험결과 뇌조직으로 빠르게 흡수되어 cortex와 striatum에서 유지됨이 관찰되었으며, 정상인과 비교하여 AD환자에서는 뇌 부위별로 1.5-1.9배까지 결합능이 증가되었음이 보고되었다[55]. PIB를 이용한 임상실험결과는 AD환자의 노인반 형성정도, 그리고 인지능력저하 정도와는 유의한 상관관계를 입증하지는 못하였으나, 뇌영상기법을 이용한 가장 가능성 있는 AD진단 방법의 하나로 평가되고 있다. 그러나, 뇌영상기법을 통한 AD의 진단은 이미 치매가 진행되어 그 결과로 파생되는

뇌의 구조적, 대사적 변화를 측정하는 단계이므로, 향후 노인반이 형성되기 전 단계의 amyloid에도 결합할 수 있는 능력을 가지는 화합물이나, AD의 진행상황을 추적할 수 있는 향상된 화합물의 개발이 요구된다.

결론

AD는 환자의 뇌조직에서 일어나는 한가지 변화로 설명되지 않으며 환경적 요인을 포함한 다양한 병인학적 요소들이 복합적으로 작용하여 발병하는 질병이다. 더욱이 AD의 정확한 발병원인과 관련된 분자적 기전이 아직 명확하게 규명되지 않은 현 시점에서는 한가지 표적으로 AD를 확진할 수 있는 이상적인 진단마커를 찾는다는 것은 한계가 있다. 지금까지 밝혀진 다양한 마커들을 조합하여, 하나의 마커로서는 측정하지 못했던 AD의 여러가지 병리학적 변화들을 생화학적, 분자생물학적, 그리고 영상학적 방법들을 이용하여 측정함으로써, 진단의 변별력을 높이는 노력과, 아직 알려지지 않은 전혀 새로운 진단마커를 찾기 위한 시도가 계속 이루어지고 있다.

새로운 진단마커는 그 동안의 연구를 통하여 축적된 지식을 바탕으로, AD와의 관련성이 확인된 가능성 있는 단백질들을 연구해 나가는 과정에서 발견될 수 있을 것이며, 환자와 정상인의 체액을 대량 비교, 분석하여 발현의 차이를 보이는 새로운 단백질을 발굴한 후, AD와의 연관성을 역추적해 나가는 방법도 가능할 것이다. 후자의 경우는, 유전자 단계에서의 차이를 연구하는 유전자 assay 혹은 유전자 chip 기술이나, 이차원전기영동(2-dimensional electrophoresis), LC-mass 등을 통한 genomics, proteomics의 급속한 발전이 방대한 생체정보의 data-base를 구축한 생물정보학(bioinformatics)의 발전과 맞물리며 가능하게 되었다. 이러한 다각도의 접근을 통하여 AD를 보다 정확하게 진단할 수 있는 마커를 찾을 수 있을 것이라 기대되나, 앞으로의 연구에서 가장 중요하게 고려돼야 할 부분은 현재 가지고 있는 정보를 바탕으로 하여, AD환자와 정상인을 가능한 정확하게 선별하는 일이다. AD환자를 대상으로 하는 연구에서 환자와 정상인 간의 분류는 대부분 환자의 IQ나 나이, 교육 정도에 의해 많은 영향을 받는 MMSE (mini-mental state examination)나 CERAD (consortium to establish a registry for alzheimer's disease) test 등의 인지능력검사를 통하여 이루어지고 있으므로 정상군에서 차후 AD로의 진행 가능성이 높은 초기단계의 AD환자들을 완전히 배제하지 못하며, AD로 진단된 환자에서 유사치매질환인 Vascular Dementia나 Lewy body Dementia가 함께 나타나고 있는 경우도 적지 않다. 동일한 단백질을 표적으로 하여 각기 다른 연구그룹에서 수행된 이전의 연구결과들이 일관되게 재현되지 않은 것은 상당부분 이러한 환자군의 순도(purity)에 기인한 것이라고 생각된다.

앞으로 개발되어야 할 이상적인 AD진단마커는 환자와 정상

인에서 높은 변별력을 보여야할 것이며, 진단결과의 재현성, 검사의 편리성과 안정성, 경제성 등의 다양한 요구를 두루 만족시킬 수 있어야 할 것이다. 특히나 AD환자에서 보이는 병리학적 특징들을 반영하여 질병의 진행 상황을 추적할 수 있는 진단표적이 개발된다면 현재 개발되고 있는 치료제의 효능을 확인하는데 응용되어 AD치료제 개발에도 획기적인 도움을 줄 수 있을 것으로 기대된다.

참고문헌

1. Ritchie K, Lovestone S. *The Dementias*. Lancet 2002; 360: 1759-66.
2. Selkoe D. Normal and abnormal biology of the β -amyloid precursor protein. *Annu Rev Neurosci* 1994; 17: 489-517.
3. Segal MB. Extracellular and cerebrospinal fluids. *J Inher Metab Dis*. 1993; 16: 617-38.
4. Goedert M, Spillantini MG, Potier MC, Ulrich J, Crowther RA. Cloning and sequencing of the cDNA encoding an isoform of microtubule-associated protein tau containing four tandem repeats: differential expression of tau protein mRNAs in human brain. *EMBO J* 1989; 8: 393-9.
5. Buee L, Bussiere T, Buee-Scherrer V, Delacourte A, Hof PR. *Tau protein isoforms, phosphorylation and role in neurodegenerative disorders*. Brain Res Brain Res Rev 2000; 33: 95-130.
6. Grundke-Iqbal I, Iqbal K, Tung YC, Quinlan M, Wisniewski HM, Binder LI. Abnormal phosphorylation of the microtubule-associated protein (tau) in Alzheimer cytoskeletal pathology. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83: 4913-7.
7. Vandermeeren M, Mercken M, Vanmechelen E, Six J, van de Voorde A, Martin JJ, et al. Detection of τ proteins in normal and Alzheimer's disease cerebrospinal fluid with a sensitive sandwich enzyme-linked immunosorbent assay. *J Neurochem* 1993; 61: 1828-34.
8. Tapiola T, Pirttilä T, Mikkonen M, Mehta PD, Alafuzoff I, Koivisto K, et al. Three-year follow-up of cerebrospinal fluid tau, β -amyloid 42 and 40 concentrations in Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* 2000; 280: 119-22.
9. Zemlan FP, Rosenberg WS, Luebbe PA, Campbell TA, Dean GE, Weiner NE, et al. Quantification of axonal damage in traumatic brain injury: affinity purification and characterization of cerebrospinal fluid tau proteins. *J Neurochem* 1999; 72: 741-50.
10. Otto M, Wiltfang J, Cepek L, Neumann M, Mollenhauer B, Steinacker P, et al. Tau protein and 14-3-3 protein in the differential diagnosis of Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurology* 2002; 58: 192-7.
11. Braak H, Braak E. Staging of Alzheimer's disease-related neurofibrillary changes. *Neurobiol Aging* 1995; 16: 271-8.
12. Vanmechelen E, Vabderstichele H, Davidsson P, Van Kerschaver E, van Der Perre B, Sjögren M, et al. Quantification of tau phosphorylated at threonine 181 in human cerebrospinal fluid: a sandwich ELISA

- with a synthetic phosphopeptide for standardization. *Neurosci Lett* 2000; 285: 49-52.
13. Itoh N, Arai H, Urakami K, Ishiguro K, Ohno H, Hampel H, et al. Large-scale, multicenter study of cerebrospinal fluid tau protein phosphorylated at serine 199 for the antemortem diagnosis of Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 2001; 50: 150-6.
 14. Hesse C, Rosengren L, Andreasen N, Davidsson P, Vanderstichele H, Vanmechelen E, et al. Transient increase in CSF total tau but not phospho-tau after acute stroke. *Neurosci Lett* 2001; 297: 187-90.
 15. Riemenschneider M, Wagenpfeil S, Vanderstichele H, Otto M, Wiltfang J, Kretschmar H, et al. Phospho-tau/total tau ratio in cerebrospinal fluid discriminates Creutzfeldt-Jakob disease from other dementias. *Mol Psychiatry* 2003; 8: 343-7.
 16. Seubert P, Vigo-Pelfrey C, Esch F, Lee M, Dovey H, Davis D, et al. Isolation and quantitation of soluble Alzheimer's A β -peptide from biological fluids. *Nature* 1992; 359: 325-7.
 17. Farlow M, Ghetti B, Benson MD, Farrow JS, van Nostrand WE, Wagner SL. Low cerebrospinal-fluid concentrations of soluble β -amyloid protein precursor in hereditary Alzheimer's disease. *Lancet* 1992; 340: 453-4.
 18. Iwatsubo T, Odaka A, Suzuki N, Mizusawa H, Nukina N, Ihara Y. Visualization of A β 42(43) and A β 40 in senile plaques with end-specific A β monoclonals: evidence that an initially deposited species is A β 42(43). *Neuron* 1994; 13: 45-53.
 19. Tamaoka A, Kondo T, Odaka A, Sahara N, Sawamura N, Ozawa K, et al. Biochemical evidence for the long-tail form (A β 1-42/43) of amyloid β -protein as a seed molecule cerebral deposits of Alzheimer's disease. *Biochem Biophys Res Commun* 1994; 205: 834-42.
 20. Hulstaert F, Blennow K, Ivanov A, Schoonderwaldt HC, Riemenschneider M, De Deyn PP, et al. Improved discrimination of AD patients using beta amyloid (1-42) and tau levels in CSF. *Neurology* 1999; 52: 1555-62.
 21. Kanamaru K, Kameda N, Yamanouchi H. Decreased CSF amyloid beta42 and normal tau levels in dementia with Lewy bodies. *Neurology* 2000; 54: 1875-6.
 22. Benowitz LI, Perrone-Bizzozero NI, Finklestein SP, Bird ED. Localization of the growth-associated phosphoprotein GAP-43 (B-50, F1) in the human cerebral cortex. *J Neurosci* 1989; 9: 990-5.
 23. Masliah E, Mallory M, Hansen L, Alford M, Albright T, De-Teresa R, et al. Patterns of aberrant sprouting in Alzheimer's disease. *Neuron* 1991; 6: 729-39.
 24. Davidsson P, Punchedades M, Blennow K. Identification of synaptic vesicle, pre- and postsynaptic proteins in human cerebrospinal fluid using liquid phase isoelectric focusing. *Electrophoresis* 1999; 20: 431-7.
 25. Sjogren M, Minthon L, Davidsson P, Granérus AK, Clarberg A, Vanderstichele H, et al. CSF levels of tau, β -amyloid1-42 and GAP-43 in frontotemporal dementia, other types of dementia and normal aging. *J Neural Transm* 2000; 107: 563-79.
 26. Monia BP, Ecker DJ, Crooke ST. New perspectives on the structure and function of ubiquitin. *Biotechnology* 1990; 8: 209-15.
 27. Mori H, Kondo J, Ihara Y. Ubiquitin is a component of paired helical filaments in Alzheimer's disease. *Science* 1987; 235: 1641-4.
 28. Wang GP, Grundke-Iqbal I, Kascsak RJ, Iqbal K, Wisniewski HM. Alzheimer neurofibrillary tangles: monoclonal antibodies to inherent antigen(s). *Acta Neuropathol (Berl)* 1984; 62: 268-75.
 29. Mehta PD, Thal L, Wisniewski HM, Grundke-Iqbal I, Iqbal K. Paired helical filament antigen in CSF. *Lancet* 1985; 2: 35.
 30. Kudo T, Iqbal K, Ravid R, Swaab DF, Grundke-Iqbal I. Alzheimer disease: correlation of cerebrospinal fluid and brain ubiquitin levels. *Brain Res* 1994; 639: 1-7.
 31. Blennow K, Davidsson P, Wallin A, Gottfries CG, Svennerholm L. Ubiquitin in cerebrospinal fluid in Alzheimer's disease and vascular dementia. *Int Psychogeriatr* 1994; 6: 13-22.
 32. De la Monte SM, Ghanbari K, Frey HM, Boheshti I, Averback P, Hauser SL, et al. Profiles of neuronal thread protein expression in Alzheimer disease. *J Clin Invest* 1997; 100: 3093-104.
 33. Kahle PJ, Jakowec M, Teipel SJ, Hampel H, Petzinger GM, Di Monte DA, et al. Combined assessment of tau and neuronal thread protein in Alzheimer's disease CSF. *Neurology* 2000; 54: 1498-504.
 34. Rosenberg RN, Baskin F, Fosmire JA, Risser R, Adams P, Svetlik D, et al. Altered amyloid protein processing in platelets of patients with Alzheimer disease. *Arch Neurol* 1997; 54: 139-44.
 35. Zlokovic BV, Ghiso J, Mackic JB, McComb JG, Weiss MH, Frangione B. Blood-brain barrier transport of circulating Alzheimer's amyloid β . *Biochem Biophys Res Commun* 1993; 197: 1034-40.
 36. Scheuner D, Eckman C, Jensen M, Song X, Citron M, Suzuki N, et al. Secreted amyloid beta-protein similar to that in the senile plaques of Alzheimer's disease is increased in vivo by the presenilin 1 and 2 and APP mutations linked to familial Alzheimer's disease. *Nat Med* 1996; 2: 864-70.
 37. Mehta PD, Pirttila T, Mehta SP, Sersen EA, Aisen PS, Wisniewski HM. Plasma and cerebrospinal fluid levels of amyloid β proteins 1-40 and 1-42 in Alzheimer disease. *Arch Neurol* 2000; 57: 100-5.
 38. Schenk D, Barbour R, Dunn W, Gordon G, Grajeda H, Guido T, et al. Immunization with amyloid- β attenuates Alzheimer-disease-like pathology in the PDAPP mouse. *Nature* 1999; 400: 173-7.
 39. Hock C, Konietzko U, Streffer JR, Tracy J, Signorell A, Muller-Tillmanns B, et al. Antibodies against β -amyloid slow cognitive decline in Alzheimer's disease. *Neuron* 2003; 38: 547-54.
 40. Orgogozo JM, Gilman S, Dartigues JF, Laurent B, Puel M, Kirby LC, et al. Subacute meningoencephalitis in a subset of patients with AD after A β 42 immunization. *Neurology* 2003; 61: 46-54.

41. So JO, Huh JY, Sim HJ, Kim JW, Na DL, Lee PH, et al. Measurement of Anti-amyloid Beta Antibody in Serum of Alzheimer's Disease Patients: Development of Biomarker for Alzheimer's Disease Diagnosis. *Dementia and Neurocognitive Disorders* 2004; 3: 37-41.
42. Kalman J, Juhasz A, Laird G, Dickens P, Jardenhazy T, Rimanoczy A, et al. Serum interleukin-6 levels correlate with the severity of dementia in Down syndrome and in Alzheimer's disease. *Acta Neurol Scand* 1997; 96: 236-40.
43. Pratico D, Sung S. Lipid peroxidation and oxidative imbalance: early functional events in Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 2004; 6: 171-5.
44. Pratico D, Delanty N. Oxidative injury in diseases of the central nervous system: focus on Alzheimer's disease. *Am J Med* 2000; 109: 577-85.
45. Sano M, Ernesto C, Thomas RG, Klauber MR, Schafer K, Grundman M, et al. A controlled trial of selegiline, alpha-tocopherol, or both as treatment for Alzheimer's disease. The Alzheimer's Disease Cooperative Study. *N Engl J Med* 1997; 336: 1216-22.
46. Padovani A, Pastorino L, Borroni B, Colciaghi F, Rozzini L, Monastero R, et al. Amyloid precursor protein in platelets: a peripheral marker for the diagnosis of sporadic AD. *Neurology* 2001; 57: 2243-8.
47. Hofman A, Ott A, Breteler MM, Bots ML, Slieter AJ, van Harskamp F, et al. Atherosclerosis, apolipoprotein E, and prevalence of dementia and Alzheimer's disease in the Rotterdam Study. *Lancet* 1997; 349: 151-4.
48. Jick H, Zornberg GL, Jick SS, Seshadri S, Drachman DA. Statins and the risk of dementia. *Lancet* 2000; 356: 1627-31.
49. Jack CR Jr, Slomkowski M, Gracon S, Hoover TM, Felmlee JP, Stewart K, et al. MRI as a biomarker of disease progression in a therapeutic trial of milameline for AD. *Neurology* 2003; 60: 253-60.
50. Minoshima S, Frey KA, Koeppe RA, Foster NL, Kuhl DE. A diagnostic approach in Alzheimer's disease using three-dimensional stereotactic surface projections of fluorine-18-FDG PET. *J Nucl Med* 1995; 36: 1238-48.
51. Alexander GE, Chen K, Pietrini P, Rapoport SI, Reiman EM. Longitudinal PET evaluation of cerebral metabolic decline in dementia: a potential outcome measure in Alzheimer's disease treatment studies. *Am J Psychiatry* 2002; 159: 738-45.
52. Friedland RP, Majocha RE, Reno JM, Lyle LR, Marotta CA. Development of an anti-A beta monoclonal antibody for in vivo imaging of amyloid angiopathy in Alzheimer's disease. *Mol Neurobiol* 1994; 9: 107-13.
53. Wengenack TM, Curran GL, Poduslo JF. Targeting alzheimer amyloid plaques in vivo. *Nat Biotechnol* 2000; 18: 868-72.
54. Bornebroek M, Verzijlbergen JF, Haan J, Van Scheyen EJ, Verhoeff NP, Pauwels EK, et al. Potential for imaging cerebral amyloid deposits using 123I-labelled serum amyloid P component and SPET. *Nucl Med Commun* 1996; 17: 929-33.
55. Klunk WE, Engler H, Nordberg A, Wang Y, Blomqvist G, Holt DP, et al. Imaging brain amyloid in Alzheimer's disease with Pittsburgh Compound-B. *Ann Neurol* 2004; 55: 306-19.
56. Shoghi-Jadid K, Small GW, Agdeppa ED, Kepe V, Ercoli LM, Sridhar P, et al. Localization of neurofibrillary tangles and betaamyloid plaques in the brains of living patients with Alzheimer disease. *Am J Geriatr Psychiatry* 2002; 10: 24-35.
57. Agdeppa ED, Kepe V, Liu J, Flores-Torres S, Satyamurthy N, Petric A, et al. Binding characteristics of radiofluorinated 6-dialkylamino-2-naphthylethylidene derivatives as positron emission tomography imaging probes for beta-amyloid plaques in Alzheimer's disease. *J Neurosci* 2001; 21: RC189.
58. Bresjanac M, Smid LM, Vovko TD, Petric A, Barrio JR, Popovic M. Molecular-imaging probe 2-(1-[6-[(2-fluoroethyl)(methyl) amino]-2-naphthyl]ethylidene) malononitrile labels prion plaques in vitro. *J Neurosci* 2003; 23: 8029-33.