

신약모달리티 개발동향 분석 – TPD(Targeted Protein Degradation) 2 부

국가신약개발사업단 R&D기획팀 박영숙 연구원

Overview

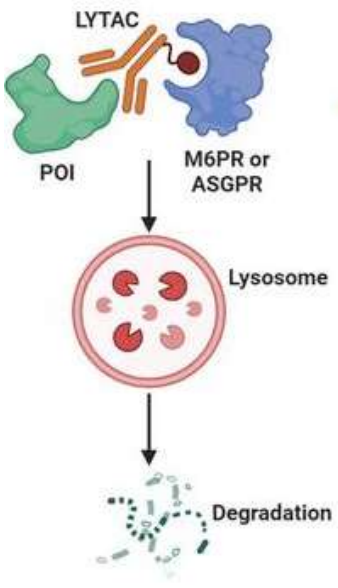
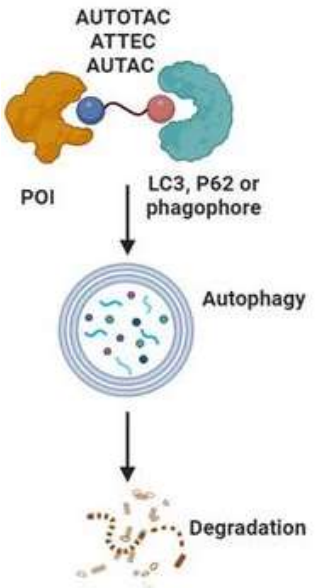
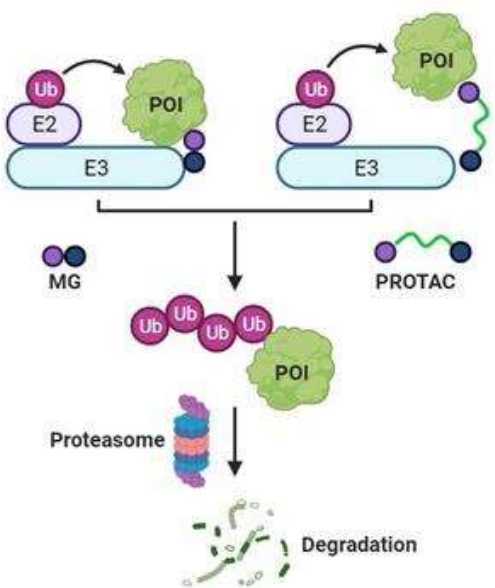
1부에서는 유비퀴틴-프로테아좀 시스템(Ubiquitin-Proteasome System; UPS)을 이용한 표적단백질 분해에 대한 개발 동향과 주요 Deal 사례를 소개하였다. 2부에서는 리소좀 시스템(Lysosome System)을 이용한 TPD 연구개발 현황을 소개한다. 앞선 유비퀴틴-프로테아좀 시스템(UPS)은 세포내(intracellular) 단백질만 표적 가능하다는 한계가 있었다. 반면 리소좀 시스템을 이용한 TPD는 세포 외 단백질(secreted), 세포 표면에 위치한 수용체(membrane) 단백질을 표적 할 수 있다. 리소좀 시스템을 이용한 TPD 기술의 종류와 특징을 소개하고, 각 시스템의 한계점과 이를 극복하기 위한 최신 LYTAC 연구 동향을 살펴보고자 한다.

Lysosome system TPD 기술 분류 및 특징

리소좀을 이용한 표적 단백질 분해 기술(TPD)은 신약 개발 분야에서 주목받고 있다. LYTAC(Lysosome-Targeting Chimeras)과 AUTAC(Autophagy-Targeting Chimeras)은 리소좀의 산성 환경(pH 4.0-5.0)과 다양한 가수분해 효소를 활용하여 기존의 PROTAC(Proteolysis Targeting Chimeras)으로는 다루기 어려웠던 다양한 단백질과 세포 구조물을 효과적으로 표적화하고 분해할 수 있다.

단백질 분해는 수많은 병리학적 프로세스에 관여하며, 세포의 항상성 유지에 중요한 역할을 한다. 유비퀴틴-프로테아좀 시스템이 주로 세포 내 단백질을 조절하는 데 반해, 리소좀을 이용한 분해 방법은 세포 외 단백질과 세포 표면에 위치한 수용체 단백질의 분해에 이용된다. <표1>에 TPD system의 메커니즘을 나타내었다.

<표 1. TPD system 메커니즘>

Category	Lysosome system		Ubiquitin-Proteasome system
	LYTAC(Lysosome targeting chimeras)	AUTAC(Autophagy targeting chimeras)	
메커니즘	엔도솜-리소솜 경로 활용	오토파지-리소솜 경로 활용	유비퀴틴-프로테아좀 시스템 활용
모식도	 <p>Science bulletin (2024)</p>	 <p>Science bulletin (2024)</p>	 <p>Science bulletin (2024)</p>
주요타겟	세포 외부 및 막 단백질 분해	세포 내부 단백질 및 세포 소기관 분해	세포 내부 단백질 분해

리소좀 시스템을 이용하는 다양한 표적 단백질 분해 기술의 종류를 살펴보면 아래 <표2>과 같다.

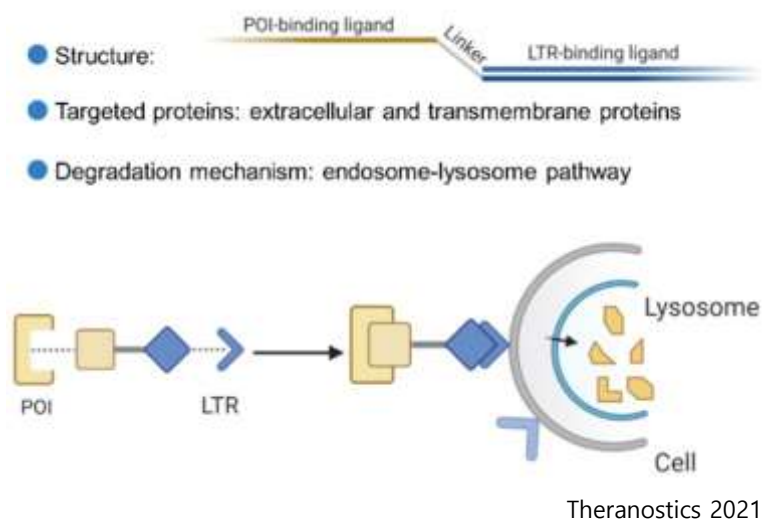
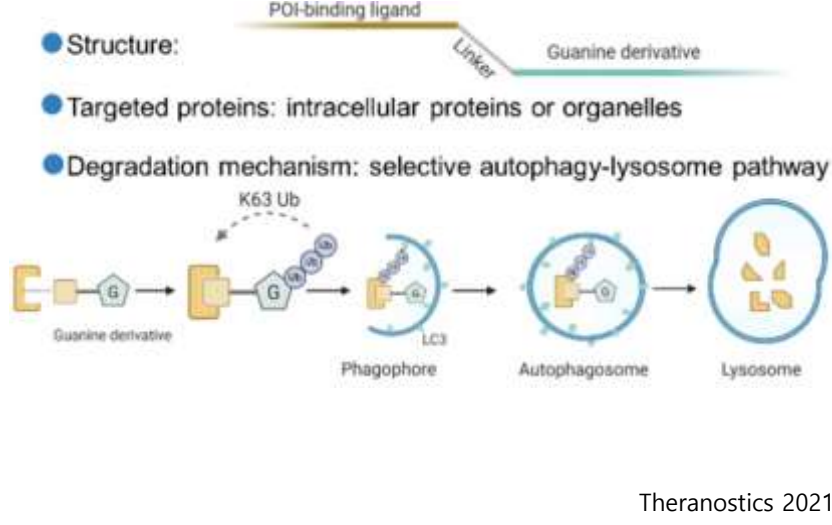
<표 2. Lysosome 을 이용한 TPD 기술들>

기술	분자 구성	표적 단백질 위치	분해 메커니즘
Endosome-Lysosome system			
LYTAC	M6Pn 리코펩타이드 리간드(CI-M6PR 표적)와 POI에 대한 항체를 링커로 연결	세포외 및 막 단백질	CI-M6PR 매개 내재화 및 리소좀 분해
	Tri-GalNAc 리간드(ASGPR 표적)와 POI에 대한 항체를 링커로 연결	세포외 및 막 단백질	ASGPR 매개 내재화 및 리소좀 분해
BIAC	IGF2R 압타머와 막 POI 압타머를 링커로 연결	막 단백질	IGFIIR 매개 내재화 및 리소좀 분해
GlueTAC	GluBody(특이적 공유 나노바디)와 CPP-LSS 연결	막 단백질	CPP-LSS 매개 내재화 및 리소좀 분해
MoDE-As	ASGPR 결합 모티프와 POI 결합 모티프를 PEG 링커로 연결	세포외 단백질	ASGPR 매개 내재화 및 리소좀 분해
AbTAC/PROTAB	완전 재조합 이중특이적 항체(BsIgGs) ; POI 결합 팔과 막 E3 리가아제 결합 팔 조합	막 단백질	막 E3 리가아제(RNF43 또는 ZNRF3) 매개 리소좀 분해
KineTAC	완전 재조합 이중특이적 항체(BsIgGs) ; POI 결합 팔과 사이토카인 결합 팔 조합	세포외 및 막 단백질	사이토카인 매개 내재화 및 리소좀 분해
Autophagy-lysosome system			
AUTAC	cGMP 기반 분해 태그, 링커를 POI 또는 세포소기관 리간드와 연결	세포내 단백질 및 세포소기관	cGMP 매개 리소좀 분해
ATTEC	POI 리간드를 LC3-리간드와 링커로 연결	세포내 단백질 및 세포소기관	LC3 매개 자가포식-리소좀 분해
AUTOTAC	POI 리간드를 p62-리간드와 링커로 연결	세포내 단백질	LC3 매개 자가포식-리소좀 분해

LYTAC, BIAC, GlueTAC, MoDE-As, AbTAC/PROTAB, KineTAC 등의 기술들은 주로 세포외 및 막 단백질을 표적으로 하며, 다양한 수용체(CI-M6PR, ASGPR, IGF1R 등)를 매개로 내재화 및 리소좀 분해를 유도한다. 반면 AUTAC, ATTEC, AUTOTAC, CMA 기반 분해제는 세포내 단백질이나 세포소기관을 표적으로 하며, 자가포식 경로를 통해 리소좀 분해를 유도한다. 위 Lysosome system 기술들은 특정 리간드나 항체를 사용하여 표적 단백질(POI)에 결합하고, 이를 리소좀으로 유도하는 다양한 분자 구성을 가지고 있다. 이는 기존의 프로테아좀 기반 분해 기술의 한계를 극복하고, 더 넓은 범위의 단백질을 표적화할 수 있는 가능성을 갖고있다..

위의 기술 중 LYTAC과 AUTAC에 대해 주요 구성요소와 장단점, 활용가능성을 <표3>과 같이 정리하였다.

<표 3. LYTAC 과 AUTAC 비교>

Category	Lysosome system TPD (Targeted protein degradation)	
	LYTAC	AUTAC
주요 구성요소	<ul style="list-style-type: none"> ● Structure: POI-binding ligand / Linker / LTR-binding ligand ● Targeted proteins: extracellular and transmembrane proteins ● Degradation mechanism: endosome-lysosome pathway  <p>Theranostics 2021</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● Structure: POI-binding ligand / Linker / Guanine derivative ● Targeted proteins: intracellular proteins or organelles ● Degradation mechanism: selective autophagy-lysosome pathway  <p>Theranostics 2021</p>

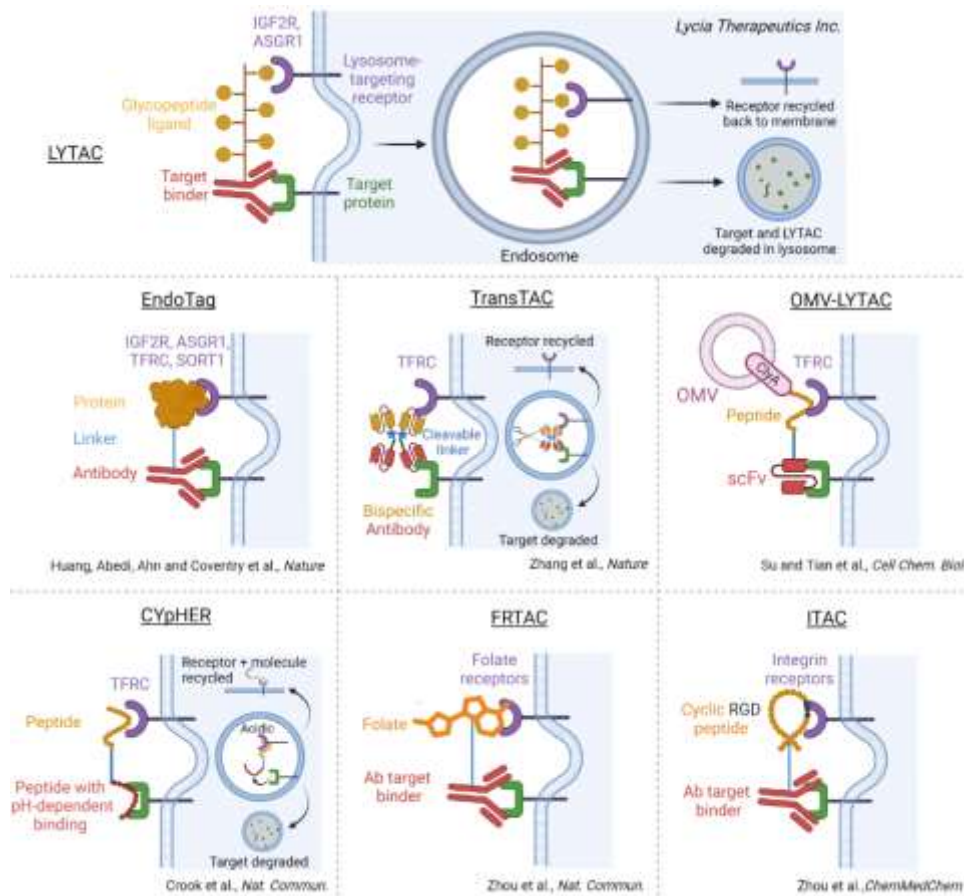
<p>장점</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1) 표적단백질을 빠르게 고갈시켜, molecular compensation과 세포적응으로부터 비교적 자유로움 (CRISPR-Cas9 대비) 2) 단백질 분해로 기존에 발생할 수 있던 Downstream 경로 활성화 빠르게 차단 (inhibitor약물 대비) 3) 단백질 재합성되어 기능을 재개하기 까지 시간이 오래걸려 단백질 제거 효능이 오래감 (inhibitor약물 대비) 4) POI(관심 단백질)와 세포 유형에 대한 높은 선택성 	<ol style="list-style-type: none"> 1) 세포 소기관 및 세포 내 단백질 분해가능 2) 크기가 큰 응집체 단백질 제거에 유리 3) 선택적 자가포식 : 세포 내 구성 요소를 선택적 분해 가능 4) Proteasome 비의존적
<p>단점</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1) 낮은 조직 투과성 2) native ligand와 LYTAC사이의 한정된 세포 내 수용체 결합을 둘러싼 경쟁으로, 효율성 저하 3) 리소좀 표적 수용체(LTR) 화학적 변형으로 유전적 encoding의 어려움, 복잡합 제조과정과 비용증가 4) 새로운 리소좀 표적 수용체(LTR) 발견필요 (IGF2R, ASGR1 외) 5) 생체내 면역반응 가능성 	<ol style="list-style-type: none"> 1) 낮은 단백질 분해 속도 (PROTAC 대비) 2) K63 유비퀴틴화 의존성으로, 일부 표적 단백질에 대해 효과적이지 않음 3) 오프 타겟 이펙트 가능성 4) 불완전한 단백질 분해 5) 세포핵 내 작용하지 않음 6) 단백질 분해 메커니즘에 대한 추가 연구 필요
<p>활용가능성</p>	<p>성장인자, 사이토카인 억제로 관련 질환 적용 가능성 높음</p>	<p>타우, 알파시누클레인 등 응집 단백질에 의한 퇴행성 뇌질환에 적용 가능성 높음</p>

위와 같이 리소좀 시스템을 이용한 기술의 장점과 더불어 해결해야 할 한계 또한 명확하다. 이러한 도전과제를 어떻게 해결해 나가는지 최근의 연구들을 통하여 알아보고자 한다.

LYTAC 최근 연구 동향

최근 여러 학술 그룹들이 세포외 단백질을 분해하는 새로운 기술들을 발표했다. 이 기술들은 기존 방법의 문제점들을 해결하고 제조 과정 간소화, 효능 증가, 세포 특이성 향상 등의 이점을 갖고있다. 최근 발표된 6가지 새로운 기술은 <그림1>,<표4>와 같다.

<그림 1. Extracellular protein degradation mechanisms>



<표 4. 세포외 단백질 분해 최근기술>

기술 종류	표적 수용체	주요 장점	분해 표적
EndoTag	IGF2R, ASGR1, TFRC, SORT1	단백질 기반 설계-제조 단순화, 유전자 인코딩 가능, 조직 특이적 분해	EGFR, PD-L1, CTLA4
TransTAC	TFRC	Cathepsin 민감성 링커로 표적 재활용 감소, 분해 효율 증가	EGFR, PD-L1, CD20
OMV-LYTAC	TFRC	OMV로 반감기 연장, 종양내 축적 가능, 암에 대한 선천성 면역 활성화	PD-L1
Cypher	TFRC	하나의 약물 분자가 다수의 표적 분자 제거, 효능 증가	EGFR, PD-L1
FRTAC	Folate Receptors	암 선택적 표적화 및 분해	EGFR, PD-L1, CD47
ITAC	Integrins	암 선택적 표적화 및 분해	EGFR

BioCentury 재구성

Stanford 대학의 Bertozzi, Washington 대학의 Baker, Novo Nordisk 연구진으로 이루어진 그룹은 EndoTags라는 계산 설계 기반의 내포작용 유발 결합 단백질을 개발했다. 이 기술은 IGF2R, ASGR1, TFRC, SORT1 등 다양한 수용체를 표적화할 수 있으며, 표적 특이적 결합체와 융합하여 단백질-LYTAC (pLYTAC)을 생성한다. 특히 이 방법은 제조 과정을 간소화하고 유전자 인코딩이 가능하다는 장점이 있다.

Dana-Farber Cancer Institute은 TransTACs라는 TFRC 표적 이중특이적 항체 단편을 개발했으며, cathepsin 민감성 링커를 도입하여 분해 효율을 향상시켰다. Yunnan Agricultural University은 PD-L1 분해를 위한 TFRC-LYTAC을 개발하여 외막 소포체(OMV)에 부착함으로써 항종양 활성을 증가시켰다. Cyclera Therapeutics는 pH 의존적 표적 방출을 활용한 CyPHER 기술을 통해 효능을 향상시켰다.

ChimerGen Therapeutics는 두 가지 기술을 개발했다. FRTAC은 엽산 수용체를 이용하여 정상 조직에서는 접근이 불가능하지만 종양 형성 시에만 노출되어 암세포 특이적 효과를 보장하고, ITAC은 인테그린을 표적으로 하는 환형 Arg-Gly-Asp (RGD) 펩타이드-항체 접합체로, 인테그린 매개 내포작용을 통해 리소좀 분해를 유도한다.

이러한 새로운 기술들은 세포외 단백질 분해 분야에 큰 진전을 가져올 것으로 기대되며 암, 신경퇴행성 질환, 자가면역 질환 등 다양한 질병 치료에 적용될 수 있을 것이다. 특히 TFRC를 이용한 기술들은 혈액-뇌 장벽 통과에도 활용될 수 있어 중추신경계 질환 치료에도 큰 가능성을 보여준다.

LYTAC 분야는 초기단계 기술로 현재 공개된 DEAL과 공동개발 현황은 제한적이다. 주목할만한 DEAL은 LYTAC 기술을 개발한 Lycia Therapeutics와 Eli Lilly 간 2021년 8월 16.35억 달러 규모의 파트너십을 들 수 있다. 계약금 3,500만 달러와 최대 16억 달러의 마일스톤을 포함하는 대규모 계약이었다. 이 계약을 통해 LYTAC 플랫폼을 활용하여 면역학 및 통증 분야에서 최대 5개의 표적에 대한 새로운 분해제를 공동 개발하기로 했다. Eli Lilly는 이후 21년 9월 Series B 라운드, 24년 5월 Series C 라운드에서도 기존 투자자로서 지속적인 참여를 이어가고 있다. 최근 유치한 1억 660만 달러 규모의 Series C 투자는 회사가 임상 단계로 진입하는 중요한 시점에서 이루어진 투자로 보이며 귀추가 주목된다.

Outro

이번 뉴스레터에서는 리소좀 시스템을 이용한 혁신적인 단백질 분해 기술인 LYTAC과 AUTAC에 대해 살펴보고 최근 LYTAC 연구동향을 알아보았다. 이러한 리소좀 기반 기술들은 기존 약물로는 '언드러거블(undruggable)'로 여겨졌던 표적들에 대한 새로운 접근법을 제시하고 있다. 특히 암, 신경퇴행성 질환, 자가면역 질환 등 난치성 질환 영역에서 큰 잠재력을 보이고 있어, 제약 업계의 관심이 집중되고 있다. PROTAC과 대비하여 아직 상당수가 초기 연구단계에 머물러 있지만, 미래에 등장할 표적 단백질 분해 기반 신약을 기대해 본다.

<문의> 국가신약개발사업단 R&D 기획팀 박영숙 연구원(yspark@kddf.org)

Reference

1. 바이오사이언스의 이해. 2판. BIOSPECTATOR
2. New frontiers in extracellular protein degradation. BIOCENTURY. (2024)
3. Lysosome-targeting chimaeras for degradation of extracellular proteins. Nature. (2020)
4. 표적 단백질 분해기술(TPD)을 활용한 신약 개발 전략. 생명공학정책연구센터 (2023)
5. 표적 단백질 분해기술 및 그 파생기술 연구 동향. BRIC view (2022)
6. A novel cereblon modulator recruits GSPT1 to the CRL4CRBN ubiquitin ligase. Nature (2016)
7. Lysosome-targeting chimaeras for degradation of extracellular proteins. Nature (2020)
8. LYTACs that engage the asialoglycoprotein receptor for targeted protein degradation. Nat Chem Biol. (2021)
9. AUTACs: cargo-specific degraders using selective autophagy. Molecular cell (2019)
10. Development of triantennary N-acetylgalactosamine conjugates as degraders for extracellular proteins. ACS Cent Sci. (2021)
11. Pharmacological perturbation of CDK9 using selective CDK9 inhibition or degradation. Nat Chem Biol. (2018)
12. Emerging protein degradation strategies: expanding the scope to extracellular and membrane proteins. Theranostics (2021)
13. Targeting the undruggables—the power of protein degraders. Science bulletin (2024)
14. Beyond canonical PROTAC: biological targeted protein degradation (bioTPD). Biomaterials Research. (2023)
15. New Developments in an Old Lysosomal Storage Disorder. Biomolecules. (2020)
16. Glucocerebrosidase and its relevance to Parkinson disease. Mol Neurodegener. (2019)

17. Ubiquitin-Proteasome Pathway and Muscle Atrophy. *Adv Exp Med Biol.* (2018)
18. Autophagosome-Lysosome Fusion. *J Mol Biol.* (2020)
19. Regulation of selective autophagy: the p62/SQSTM1 paradigm. *Essays Biochem.* (2017)
20. Early Endosome Morphology in Health and Disease. *Adv Exp Med Biol.* (2018)
21. Designed endocytosis-inducing proteins degrade targets and amplify signals. *Nature.* (2024)
22. Transferrin receptor targeting chimeras for membrane protein degradation. *Nature.* (2024)
23. Anti-tumor immunotherapy using engineered bacterial outer membrane vesicles fused to lysosome-targeting chimeras mediated by transferrin receptor. *Cell Chemical Biology.* (2024)
24. CYpHER: catalytic extracellular targeted protein degradation with high potency and durable effect. *Nature Communications.* (2024)
25. Development of folate receptor targeting chimeras for cancer selective degradation of extracellular proteins. *Nature Communications.* (2024)
26. Development of Integrin Targeting Chimeras (ITACs) for the Lysosomal Degradation of Extracellular Proteins. *ChemMedChem.* (2024)