

## Apoptosis

계명대학교 의과대학 면역학교실, 미생물학교실\* 및 의과학 연구소

최병길 · 서민호\*

### 1. Apoptosis란?

외적 상해에 의한 세포사 즉 괴사(necrosis)라는 개념은 고전병리학 시기부터 학문의 중심이 되어 왔으며, 발생과정에서 조직의 불필요한 부분이 퇴화 소멸해가는 과정은 옛날부터 기술되어 오기는 하였으나, 당연한 과정이라고 생각했는지 크게 연구자들의 관심을 끌지 못하고 있었다. 따라서 Kerr 와 Wyllie가 1972년에 병리형태학적 관찰에서 apoptosis의 개념을 발표한후 오늘날의 폭발적 관심사가 될 때까지 거의 20년의 세월이 필요하였다. Apoptosis가 오늘날의 관심사가 된 이유는 세포사의 적극적인 의의를 묻고 이에 해답을 줄 수 있는 과학적 방법론의 발달에 힘입은 것이라고 하겠지만, 또 다른 이유는 apoptosis에 의한 세포사가 세포 분화, 노화, 암화 또는 세포증식의 조절이라는 생명현상의 근원적인 문제에 뿌리를 두고 있다는 점의 인식 때문이라고 할 수 있다.

처음에는 apoptosis를 외적 상해에 의한 세포사, 즉 괴사(necrosis)에 대한 하나의 대조(antithesis)로서, 내적 환경 규제에 의한 programmed cell death(PCD)로서 구분하는 경향이 있었으나, apoptosis의 유발점(triggering mechanism)이 세포 내부뿐만 아니라 외부에도 있음이 밝혀지고, 수많은 자극, 특히 항암제나 방사선조사 apoptosis를 유발하는 것이 알려졌다. 또 한편 세포주기에는 종식이라는 본무대 이외에 분화, 노화, 암화, 그리고 apoptosis라는 세트들이 있는 또 다른 무대들이 연결되어 있다는 것이 알려짐에 따라 apoptosis는 세포생리학 및 병리학의 주요한 연구분야가 되었다.

Fig. 1에 도식화한 바와 같이 괴사(necrosis) 세포에 있어서는 미토콘드리아 및 세포막의 종창으로 시작하여 핵과 organelles의 붕괴에 이르는 형태학적 변화들이 특징이고, 이 결과로서 단백질, 핵산 및 지질분해 효소 등이 주위조직에 산포(spread)되어 주위 세포에게 상해를 일으킬 수 있는 반면에, 생체내에서는 이를 과정들에 따르는 염

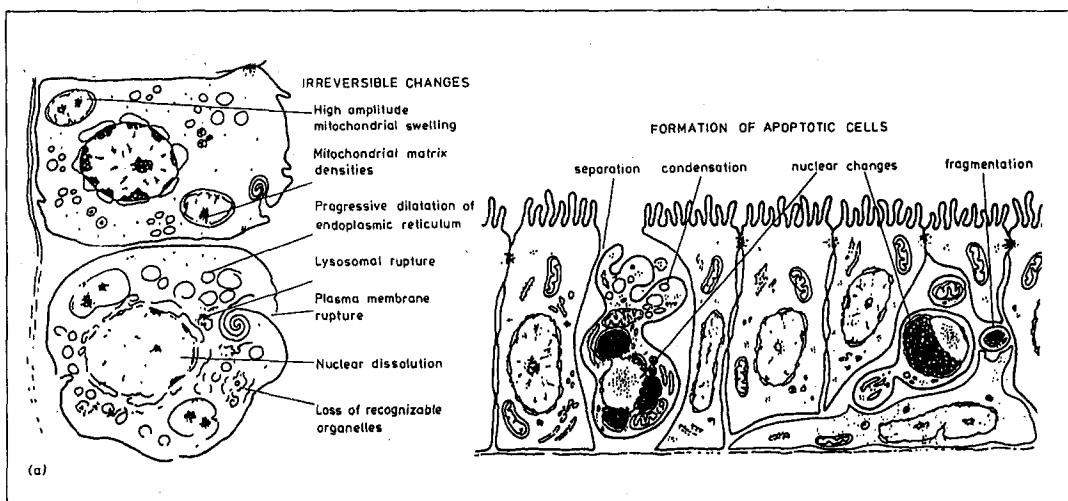


Fig 1.

증반응이 병리조직학적 주요 소견이 된다. 그러나 apoptosis를 겪는 세포의 경우에는 세포막은 온전하고 세포체의 축소로서 시작하여 세포막이 주름지게 되며(ruffle), 때로는 탐식세포에게 일찍 인지되어 탐식되기도 하나, 대부분은 핵내 염색체들의 응집 및 해질의 분단 소포화(apoptosis body)로 끝난다. 생체내에서 이 과정의 특색은 탐식세포들이 관여하지만 염증반응은 없고, 뚜렷한 병리조직학적 소견을 남기지 않는다는 것이다. 예를 들면 백혈병환자에게 화학요법을 시작하면 말초혈액이나 골수에서 백혈병세포는 사라지기 시작하나, 이들 도말표본중에서 apoptotic cells를 관찰할 수 있는 경우는 거의 없다. 다만 조직배양 세포계에서 apoptosis 유발물질들을 가한후 일정시간부터는 apoptosis를 일으키고 있는 세포들을 관찰할 수 있을 뿐만 아니라, apoptotic nuclei에서 일어나고 있는 nucleosome 단위에서의 DNA 절단편(fragmentation)을 전기영동법으로 증명할 수 있다.

Apoptosis 기전에 의하여 세포사한 세포집단을 정량화하는데 이용되는 두가지 방법을 소개하자면 우선 TUNEL 법은 조직절편에서 apoptotic cells를 관찰 정량할 수 있는 방법이며, FDA/PI 염색법(Ross et al., 1989)은 부유세포집단에서 apoptotic cells를 flow cytometry에 의하여 정량하는 검색법이다. 1992년 Gavrieli(Gavrieli et al., 1992)등이 발표한 Tunel 법(TdT-mediated biotinylated-dUTP nick end labelling method)은 nucleosome 단위(약 180bp)로 절단된 DNA fragments의 3'-OH기 말단에 TdT(terminal deoxynucleotidyl transferase)를 이용하여 template-independent 하게 염기(여기서는 dUTP 유도체)를 결합시키고 조직화학적 또는 면역화학적 기법으로써 새로이 결합된 dUTP 표식을 지표로 apoptosis를 관찰하는 기법이다. Tunel법은 formalin 고정한 Paraffin section이나 cytopspin 표본 등에도 응용할 수 있다. 한편 FDA/PI 염색법은 apoptotic cell 들의 세포막기능은 온전하나 세포내효소, 예컨대 esterase 효소활성이 소실하고 있다는 점을 이용한 것이다. 세포에게 fluorescein diacetate(FDA)를 섭취시키면, viable cell에서는 esterase에 의하여 FDA가 형광성 FDA(즉 FDA+ cell)로 변환하고, esterase 활성이 없어진 apoptotic cell은 형광성 FDA(즉 FDA- cell)가 없는 세포로서 검색된다. 또한 세포막 기능을 잃은 necrotic cell(또는 dead cell)은 propidium iodide(PI)를 투과시키므로 PI positive cell로서 나

타나고 apoptotic cell 들의 세포막기능은 온전하므로 PI를 투과시키지 않은 PI staining-negative cell로서 나타난다. Argon laser를 써서 525nm(형광성 FDA) 및 630nm(PI)에서 flowcytometer에 의하여 정량한다.

## 2. Apoptosis 억제 유전자(bcl-2 family)

bcl-2 유전자는 1984년 Tsujimoto(Tsujimoto et al., 1984)등이 여포성임파종에서 14번과 18번 염색체의 상호전좌(t(14;18)(q32;q21))가 일어난 것을 발견하고 18번 염색체 절단축(q21)에서 분리한 유전자이다. bcl-2 유전자는 세 개의 exon으로 구성되어 있으며 splicing mechanism의 차이로서 bcl-2  $\alpha$ (26kd)와 bcl-2  $\beta$ (21kd)라는 두 종류의 단백질을 지령하고 있고, c-말단 소수성 영역을 가지는 bcl-2  $\alpha$  단백질은 mitochondria 내막과 endoplasmic reticulum, nuclear membrane 등에 분포하는 반면, C-말단이 결여된 bcl-2  $\beta$ 는 세포질에 분포한다. 생체내 bcl-2 단백질의 존재는 면역조직화학적 기법에 의하여 임파조직외에도 선상피, 피부, 소장상피 등 turnover가 심한 조직들이나, 휴지기 기간세포를 가진 조직들에서 확인되고 있고, 또한 종말분화 세포인 neuron 등에서 볼 수 있다(Hockenberry et al., 1991).

1988년 Vaux 등(1988)은 c-myc 또는 E1A 유전자들과 더불어 bcl-2 유전자를 섭유아세포에 transfection 시켰을 때, transfectant fibroblasts가 immortalize되어 계대배양주로 변할 수 있는 것을 보였다. McDonnell 등(1989)은 bcl-2-Ig gene transgenic mouse를 만들었을 때, 이를 동물에서 polyclonal B cell hyperplasia의 현상을 관찰하고, 이를 비장 B cell들은 아무런 증식인자 없이 장기간 in vitro culture에서 생존할 수 있음을 발견하였다. 더구나 이를 transgenic mouse중 약 10%의 생쥐들에서 B cell hyperplasia가 악성 임파종으로 진전해나가는 것을 보였다. 이밖에도 여러 조직세포계에서 bcl-2 유전자의 apoptosis 억제기능을 증명하는 많은 실험들이 보고되었다.

이상과 같이 bcl-2 유전자는 apoptosis를 유발할 수 있는 많은 스트레스 아래에서 세포를 연명시키는 기능을 가지고 있는 것이 확실하나, 그 상세한 작용기전은 여전히 불분명하다. 또한 bcl-2 유전자 도입으로서도 억제되지 않는 apoptosis 경로들로서는 cytotoxic T cell killing이나 cytokine-

Table 1. Characteristics of the Bcl-2 and Related Gene Products

Gene	Gene product	Function	Expression	Subcellular location
bcl-2	Bcl-2 <sub>a</sub>	Blocks apoptosis	Widespread in embryonic tissues	Outer mitochondria, nuclear envelope, ER
bcl-x	Bcl-x <sub>L</sub>	Blocks apoptosis	Highly restricted in postnatal tissues	Outer mitochondria, nuclear envelope
	Bcl-x <sub>S</sub>	Promotes apoptosis	Widespread in embryonic tissues	Unknown
	Bcl-x <sub>B</sub>	Blocks apoptosis	Highly restricted in postnatal tissues	Unknown
bax	Bax <sub>a</sub>	Promotes apoptosis	Human thymus	Unknown
A1	A1	Blocks apoptosis	Same as Bcl-x <sub>L</sub>	Unknown
mcl-1	Mcl-1	Blocks apoptosis	Widespread	Unknown
			Hematopoietic tissues	Unknown
			Myeloid cells	Unknown

dependent cell line을 이들 cytokine-deficient medium에 옮겼을 때 유발되는 apoptosis 등을 들 수 있다. 이 사실들은 bcl-2 유전자가 apoptosis의 최종단계인 endonuclease 활성화에 이르는 여러 경로들 가운데서 그 일부를 억제할 수 있다는 것을 시사하고 있다.

bcl-2 단백질의 아미노산 서열에 있어서, 생리적 활성이 확정되어 있는 이미 알려진 많은 단백질들과는 homology를 찾아볼 수 없으나, 최근 bcl-2 유전자와 homology를 가질 뿐만 아니라 apoptosis 억제 또는 촉진기능을 가진 관련 유전자군이 발견되어 이들이 모두 bcl-2 family를 형성하고 있음이 알려졌다. bcl-2 family는 구조적으로 bcl-2 homology domains 1 & 2(BH1 & BH2)로 알려진 두 보존된 영역을 가지고 있으며, 대표적인 것들은 bcl-2, bcl-x, Bax 등이며, 이들은 각자 homodimer나 서로 heterodimer를 형성한다. bcl-x(Boise et al., 1993)는 bcl-xL과 bcl-xs의 두 종류가 존재하며, bcl-xL은 apoptosis 억제기능을 가지고 neuron과 같은 긴 수명을 가지는 세포들에서 고농도로 표현되는 반면, bcl-xs는 apoptosis 촉진기능을 가지며 bcl-2에 길항적으로 기능하는 듯하며, 임파구 같은 급속히 증식하고 있는 세포에서 발현되고 있다. Bax(Oltavai et al., 1993)는 21Kd 단백질로서, splicing mechanism에 의하여 막결합형 Bax<sub>a</sub>, 세포질형 Bax<sub>B</sub>, Bax<sub>C</sub> 등이 산생되며, bcl-2의 apoptosis 억제효과에 길항하여 apoptosis 촉진기능을 발휘한다(Table 1).

또한 최근에는 Bad, Mcl-1, A1이라는 bcl-2와 유사한 새로운 유전자 family가 발견되었다. 그밖에 Adenovirus, Epstein-Barr virus, Baculovirus, Cowpox virus 등에서도 bcl-2와 homology를 가진 apoptosis 억제유전자들이 발견되어 앞으로 이들의 상호 제어작용이 밝혀질 듯하다(Table 1).

### 3. p53 유전자 및 세포주기

p53은 1979년에 SV40 virus T antigen에 결합하는 단백질로서 발견되어, oncogene일 가능성이 높다고 생각되다가, 80년대 중반기에 접어들어 tumor suppressor gene으로 재발견된 유전자이다. 90년에 이르러 Wild type p53을 과잉생성하는 종양세포주는 그 배양조건에 따라 (가) 증식정지, (나) apoptosis 유발 또는 (다) 분화유도를 일으킬 수 있음이 밝혀지자 p53의 연구들은 결국 세포주기 진행과 세포분화-apoptosis의 갈림길을 해명하는 역할을 하였다.

임상암의 거의 50%가 p53 gene mutation을 가지고 있다는 사실과, inherited human cancer syndrome으로 알려진 Li-Fraumeni syndrome의 원인이 p53 gene mutation이란 사실, 그리고 p53 knockout mouse model에서 암 발생빈도가 높다는 관찰 등으로서 p53의 항암유전자 기능은 널리 받아들여져 왔다. 그러나 정상세포들이 DNA 상해 또는 DNA 합성 저해가 있을 때 세포주기진행을 정지하든가 apoptosis를 택하는 반면, p53 mutation을 가진 종양세포들은 이러한 증식조절신호에 응하지 않고 cycling cell로서 증식을 계속 한다(Kastan et al., 1991)는 관찰은 p53 연구의 새로운 국면을 열었다. 우선 세포주기 진행에 관여하는 많은 조절점(check points)을 Figure 2에 요약하였다. 세포주기 진행에 있어서 retinoblastoma 단백질(Rb)의 인산화상태가 중추적인 조절기능을 수행하는데, 여기서 cyclin과 cyclin dependent kinase(CDK)의 역할은 Rb의 인산화에 있다는 것은 잘 알려진 바이다. 이 인산화 과정을 조절하는 많은 조절단백질들 가운데 p21을 p53단백질이 조절하고 있다. 그뿐만 아니라 p53은 Bax와

### Cell Cycle Regulators in G1 Nuclei (Rb and Cyclin/CDK)

- (a) Dephosphorylated Rb blocks the transcription of Immediate Early Genes(e.g. e-fos, c-jun, c-myc).
- (b) Dephosphorylated Rb is complexed with transcription factors(e.g. E2F, PCNA, p21 etc), but release these factors after phosphorylation by cyclin/CDK.
- (c) Four cycle braking systems are known in G1:Probably cells make decision to undergo apoptosis or commit differentiation pathway utilizing these systems.

#### Braking the Cycle

1. p16/MTS binds CDK4 and depletes CDK4, therefore Rb remains dephosphorylated.
2. p53 induces Pic gene and Pic gene products (p21/Cip-1/WAF-1/Sdi-1) inhibit cyclin(D, E, A)/CDK(2, 4, 5).
3. TGF- $\beta$  induces p27/Kip-1 and Kip 1 inhibits cyclin D/CDK4.
4. p24/Cdi inhibits cyclin E/CDK2

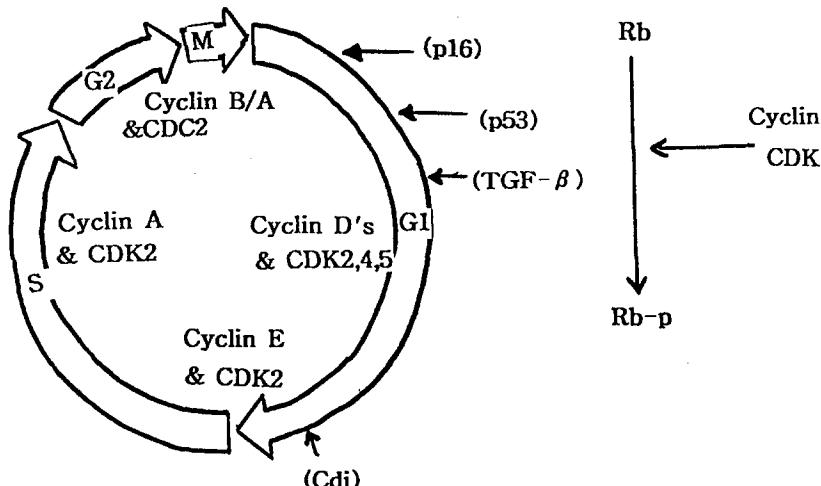


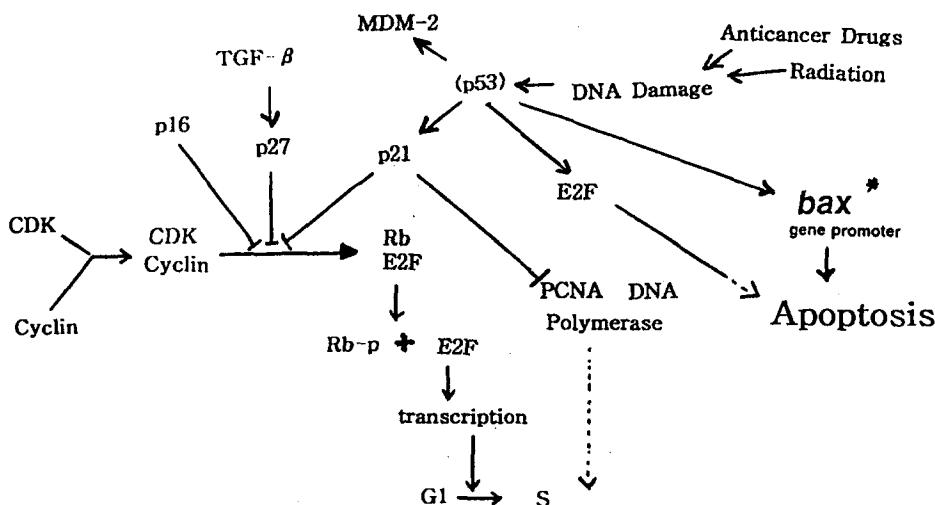
Fig 2.

(Miyashita et al., 1994), Fas(Owen-Schaub et al., 1995), 또는 E2F를 통하여 cell cycle arrest 또는 apoptosis 유도를 지령하게 된다(Chernova et al., 1995). 이들 관계를 Figure 3에 요약하였다. p53에 의하여 유도된 cell cycle arrest는 G1-S 경계에서만 일어나는 것으로 생각해 왔으나, p53는 G2-M transition에서도 역시 세포주기 진행을 조절하는 것이 최근 밝혀졌다.

p53와 더불어 cycling cell들에서 apoptosis를 유발하는 세포주기진행인자 단백질들로서는 c-myc과 E2F-1들이 알려져 있다. Nuclear protooncogene c-myc은 helix-loop-helix(HLH) family 전사조절 인자로서 p53와 함께 G1-S 경계에서 세포주기진행을 조절하는 것 같다. Wild type c-myc을 표현하는 섬유아세포들은 저혈청배지에서 증식증지(growth arrest) 상태에 들어가지만, c-myc mutant를 가진 섬유아세포들은 같은 상황에서 증식증지 상태에 들어가지 못하고 apoptosis를 유발한다

(Evan et al., 1992). T cell 수용체를 항체로 cross-linking 시키므로써 T cell hybridoma 세포들에서 apoptosis를 유발시킬 수 있는데, 이 때 c-myc antisense oligonucleotide를 주입해주면, 이를 주입 받은 세포들만은 apoptosis를 모면할 수 있다(Shi et al., 1992). c-myc-induced apoptosis의 기전은 밝혀지지 않았으나, 다른 HLH transactivator들과 더불어 c-myc 단백질이 p53 유전자 promoter와 결합하여 이를 활성화시키는 것으로 보아, 아마 c-myc-p53 system은 세포주기 조절에서 negative feedback loop를 이루고 있는 것이 아닐까 추측된다. c-myc이나 p53 mRNA의 turnover가 빠르고, oligomerization 되거나 다른 조절 인자들과 complexing 하는 것 등으로 보아 이들 조절기능의 복잡성은 아직 더 이해되어야 할 것으로 생각된다. E2F-1이 apoptosis와 관련되어 있다는 보고(Field et al., 1996)나 oncogene으로만 알려졌던 c-abl gene이 세포증식에 있어 negative regulator로 작용

## Growth Inhibition and Apoptosis by p53



### Growth Inhibition

Fig 3. Growth Inhibition and Apoptosis by p53

\* Toshiyuki Miyashita and John C. Reed

Cell, Vol. 80, 293-299, January 27, 1995.

한다는 보고(Sawyers et al., 1994)는 모두 이러한 조절기능의 일원으로 생각되고 있다.

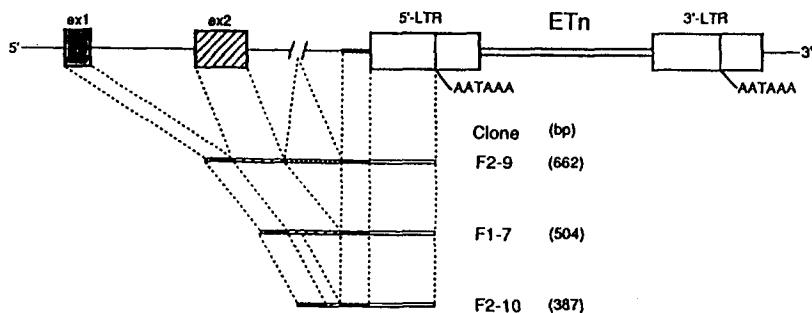
#### 4. Apoptosis 유도 유전자: Fas/Fas Ligand

세포주들의 표면항원을 검색할 목적으로 생산한 단구항체들이 뜻밖에도 그 세포들에 대하여 cell-killing activity가 있다는 것을 인식하여, 그 단구항체 표적항원을 Fas(또는 APO-1)항원이라 부르고 그 cDNA cloning을 시도하여 이에 성공한 것 이 apoptosis-inducing gene, Fas의 발견이 되었다 (Trauth et al., 1989; Itoh et al., 1991). Fas 항원은 36kd의 막단백질로서 Fas유전자는 tumor necrosis factor receptor(TNFR)와 homology가 높고 TNFR family에 속하는 것이 그 이후 밝혀졌다(TNF/TNFR에 대해서는 다음 항에서 언급하기로 한다). Fas 표현세포에게 Fas 항체를 주므로써 apoptosis를 유도할 수 있는 점으로 미루어 Fas는 수용체(receptor)이고 이에 대한 생리적 effector(즉 ligand)가 존재할 것을 예상하고 이를 연구한 결과, Fas ligand가 40kd의 막단백질로서 밝혀지고, 이에 해당하는 cDNA cloning에 성공하였다(Suda et al., 1993). 사람과 생쥐의 FasL은 76.9% homology를 보이고 TNF family와도 homology를 보이며 Fas-

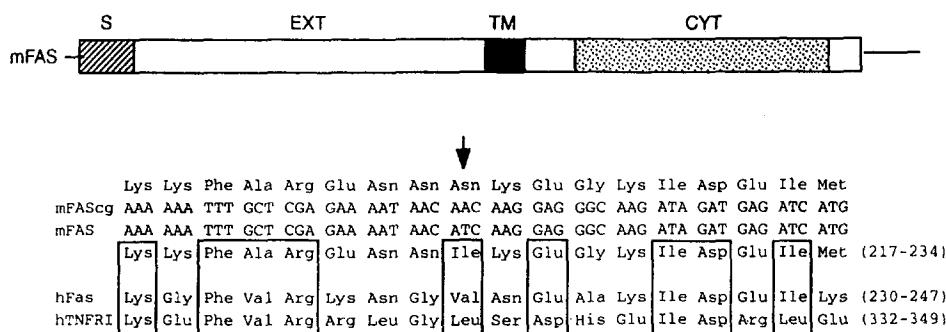
FasL interaction에 있어서 아무런 종속특이성(species specificity)을 보이지 않는다. Fas는 흉선, 간, 심장, 폐, 신장, 난소 등에서 현저히 발현되고 있고 기타 조직세포 등에서도 표현되고 있다. FasL 발현은 임파조직 및 정소에서 볼 수 있을 뿐만 아니라 신장, 소장, 및 폐 등 여러조직에서 다소 발현되고 있으므로 Fas/FasL계는 정상조직세포의 turnover를 조절하고 있을 것으로 추정된다. 특히 비장과 흉선에서는 constitutive expression을 볼 수 있으나 concanavalin A 또는 phorbol ester 등과 Ca<sup>++</sup> ionophore로서 자극하면 FasL 표현이 크게 유도된다. Fas/FasL계는 TNF/TNFR계와 아울러 CTL-mediated cytotoxicity에 직접 관여하고 있을 뿐만 아니라 activation-induced cell death(AICD)에서 임파구의 population control에 중심이 되고 있다. 임파계 이외에도 간암의 병리기전, 종양면역학적 기전들에 관여하고 있다는 증거들이 있다.

생쥐 변이종의 연구들에서 lymphadenopathy와 splenomegaly를 주증으로 하는 제19번 염색체 autosomal recessive mutant들이 발견되어 lpr(for lymphoproliferation)라고 불려왔다. 이와 흡사하면서도 autosomal recessive mutation이 제1번 염색체에 발견된 변이종 생쥐들이 발견되어 이들 genotype를 gld(for generalized lymphoproliferative

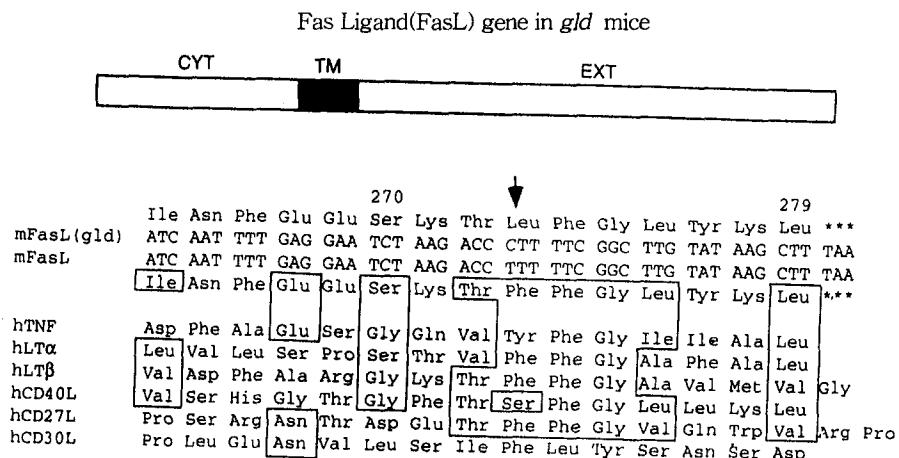
Fas antigen gene in *lpr* mice



A Aberrant transcripts of the Fas antigen gene in *lpr* mice.



B A point mutation in the cytoplasmic region of the Fas gene of *lpr<sup>g</sup>* mice.



C A point mutation in the extracellular region of FasL of *gld* mice.

Fig 4.

Table 2.

PCD-inhibiting gene product	Characteristics
Adenovirus E1B(19kDa, 55kDa)	Block E1A-induced PCD; thought to function by different mechanisms
African swine fever virus LMW5-HL	Has homology to Bcl-2
Bcl-2 family(Bcl-2, Bcl-x, Ced-9, Mcl-1)	Dimerize with and inhibit the function of pro-death Bcl-2 family members
Cowpox virus crmA	Cowpox virus serpin that inhibits ICE/Ced-3 proteases
IAP family	Inhibitor of apoptosis proteins having homology to baculoviral IAPs
Epstein-Barr virus LMP-1	Epstein-Barr viral protein that up-regulates host cell Bcl-2 expression
Baculovirus p35	Protein inhibitor of ICE/Ced-3 proteases; distinct from IAP proteins

PCD-promoting gene product	Characteristics
Adenovirus E1A	Stabilizes p53 protein, which might in turn induce PCD
Bcl-2 family(Bax, Bcl-X <sub>s</sub> )	Promote PCD in damaged and senescent cells
c-Myc	Induces PCD in growth-factor deprived cells
Cytokines(Fas ligand, TNF)	Induce PCD in hemopoietic cells via receptor activation
ICE/Ced-3 family	Cysteine proteases involved in the execution of PCD
p53	Tumor suppressor associated with hypoxia- and DNA damage-induced PCD
RB-1	Tumor suppressor that induces PCD when hypophosphorylated
Reaper	Universal activator of PCD in Drosophila

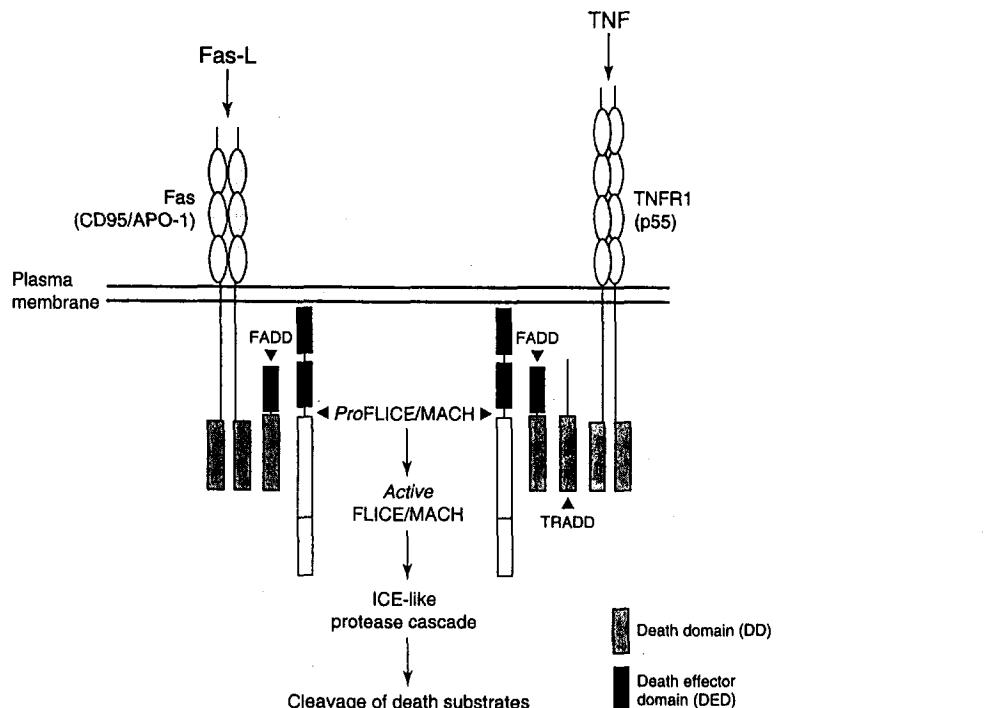
**FIGURE 1**

Fig 5. Model of how ligation of a death receptor (CD95/TNFR1) may induce ICE-like protease activity and apoptosis by recruitment of FLICE/MACH.

Table 3. Pharmacological tools for inducing programmed cell death<sup>a</sup>

Site of perturbation	Possible mechanism	Example(s)
Cell surface	Activate cell membrane receptors Disrupt regulation of plasma membrane solute flux · Membrane perturbation(?)	Excitotoxins:glutamate, NMDA, kainate Ionophores:A23187, ionomycin Transporter inhibitors:amiloride, ouabain Detergents:Triton X-100 Tissue amyloid
Cytosol and organellar compartments	Intracellular oxidants Metal ion chelators Alter protein synthesis Disrupt intracellular membrane ion gradients	Menadione TPEN, desferrioxamine Inhibit transcription:actinomycin-D Inhibit translation:cycloheximide, puromycin Endoplasmic reticulum:thapsigargin Vacuoles:bafilomycin, concanamycin A Mitochondria:MPTP
Cytoskeleton	Alter microtubule organization Disrupt actin networks	Taxol, colchicine, colcemid, vincristine Cytochalasins
Nucleus	Perturb DNA integrity Affect gene expression	Alter structure:adriamycin, camptothecin etoposide, teniposide Inhibit nucleotide synthesis:fluorinated pyrimidines, methotrexate Nuclear hormones:vitamin D, glucocorticoids, retinoids
Intracellular signaling	Alter protein phosphorylation Alter signal transduction Putative second messenger in TNF, Fas, and radiation-induced PCD	Enhancement:okadaic acid, PMA Inhibition:staurosporine, genistein Enhancement:cAMP analogues, forskolin Inhibition:flutamide, tamoxifen Ceramide

<sup>a</sup>Abbreviations used:MPTP, N-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine;NMDA, N-methyl-D-aspartate;PCD, programmed cell death;PMA, phorbol 12-myristate-13-acetate;TNF, tumor necrosis factor, TPEN, N,N,N',N'-tetrakis(2-pyridylmethyl) ethylenediamine.

disease)라고 불렀다. lpr mouse의 유전자변이 분석의 결과 이것이 바로 Fas antigen gene의 splicing anomalies에서 유래한 변이임을 알게 되었다. 그 이후 lpr mouse의 경우와는 달리 Fas gene의 point mutation으로 오는 변이종도 발견되었다 (Figure 4 A & B). 뒤이어 gld mouse의 유전자분석의 결과 이것이 Fas ligand gene의 point mutation의 결과임도 밝혀졌다 (Figure 4C). MRL 주 lpr mouse나 gld mouse는 lymphadenopathy와 splenomegaly 이외에 다량의 IgG 및 IgM anti-DNA antibody와 rheumatoid factor 등의 자가항체를 생산하여 생후 약 5개월에는 nephritis 또는 arthritis로서 죽게 된다.

이런 점들은 사람의 전신성 낭창과 흡사하므로 SLE 모델로서 많은 관심을 모이고 있다. 특히 SLE 환자에서 혈중 soluble Fas가 보고되어 Fas와 SLE 병리기전과의 관련점이 제기되어 관심을 모았다.

Fas(APO-1/CD95)와 TNFR1(p55)들은 각각 FasL와 TNF 등의 ligands(effectors)와 결합하므로 세포질내에 apoptosis 신호를 전달한다. Fas와 TNFR1들의 cytoplasmic domain 들은 "death domain"이라고 부르는 *Drosophila*의 reaper gene과 homology를 가진 conserved sequence가 있으며 이들 domain에는 세포질내에 존재하는 각각의 결합 분자들이 있음이 밝혀졌다. TNFR1에는 TRADD (TNFR1-associated death domain protein)가, Fas에는 FADD/MORT1 (Fas-associated protein with death domain) 및 RIP(receptor interacting protein)가 결합한다. 최근에 apoptosis 유도유전자(Fas, TNFR1), FADD 또는 TRADD와, apoptosis 경로에 관여하는 proteinase(ICE)를 연결시킨다고 생각되는 분자 FLICE/MACH1(FADD-like ICE/MORT1 associated CED-3 homologue)이 발견되었다 (Boldin et al., 1996; Muzio et al., 1996).

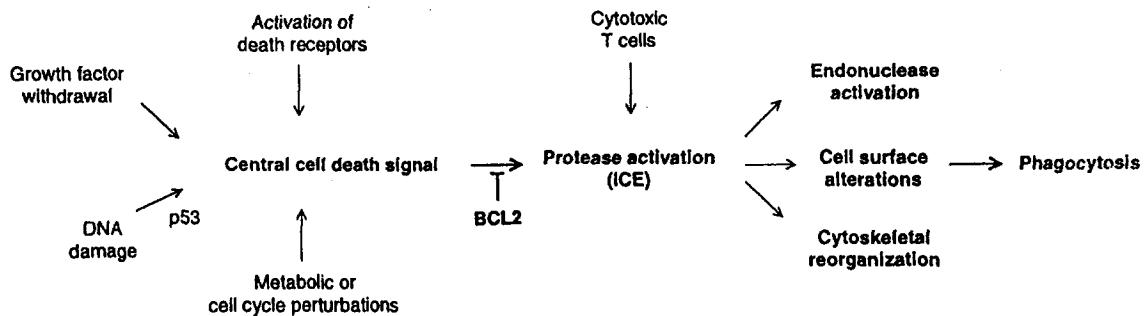


Fig 6.

### 5. Apoptosis 기전 연구의 전망

정상조직 세포들의 population dynamics의 입장에서 볼 때 apoptosis는 생리현상의 일부이겠지만, 생체의 대사이상 또는 다른 질병상태에 따라서 내적인 또 외적인 apoptosis 유도 인자들이 표현됨으로써 조직의 수복 과정에 있어서 apoptosis 현상은 중요한 역할을 하고 있을 것이다. Apoptosis 또는 programmed cell death(PCD)의 연구는 의학적 모델(즉 태생학 및 병리학)에서뿐만 아니라 하등동물 발생유전학에서도 깊이 연구되어 왔으며, 토양에 있는 nematode *Caenorhabditis elegans*의 발생기에 PCD를 지령하는 ced 유전자들이나, *Drosophila* 발생기에서 PCD를 지령하는 유전자 reaper도 apoptosis 해명에 기여하였다(Osborne & Schwartz, 1994).

수많은 apoptosis 유발인자들이 발견되었으며 (Table 2 & 3), 이들 내적 또는 외적인 자들의 신호 전달 경로의 해명도 점차 이루어지고 있으나, apoptosis의 공통적 경로는 단백질 분해효소의 활성화에 있는 것 같다. 현재까지 apoptosis 유발 단백질 분해효소로서 처음 알려진 것은 interleukin-1  $\beta$ -converting enzyme(ICE)이나, 앞으로 더 많은 protease가 발견될 것으로 생각된다(Figure 6).

### 참 고 문 헌

- Boise LH, Gonzalez-GM, Postema CE, Ding L, Lindsten T, Turka LA, Mao X, Nunez G, Thompson CB: bcl-x, a bcl-2-Related Gene That Functions as a Dominant Regulator of Apoptotic Cell Death. *Cell* 1993;74:597-608.
- Boldin MP, Goncharov TM, Goltsev YV, Wallach D: Involvement of MACH, a Novel MORT1

/FADD-Interacting Protease, in Fas/APO-1- and TNF Receptor-Induced Cell Death. *Cell* 1996;85:803-815.

Chernova OB, Chernov MV, Agarwal ML, Taylor WR, Stark GR: The role of P53 in regulating genomic stability when DNA and RNA synthesis are inhibited. *TIBS* 1995;20:431-434.

Evan GI, Wyllie AH, Gilbert CS, Littlewood TD, Land H, Brooks M, Waters CM, Penn LZ, Hancock DC: Induction of apoptosis in fibroblasts by c-myc protein. *Cell* 1992;63:119-128.

Field SJ, Tsai FY, Kuo F, Zubiaga M, Kaelin Jr WG, Livingston DM, Orkin SH, Greenberg ME: E2F-1 Functions in Mice to Promote Apoptosis and Suppress Proliferation. *Cell* 1996;85:549-561.

Gavrieli Y, Sherman Y, Ben-Sasson SA: Identification of programmed cell death in situ via specific labeling of nuclear DNA fragmentation. *J Cell Biol* 1992;119:493-501.

Hockenberry DM, Zutter M, Hickey W, Nahm M, Korsmeyer SJ: BCL2 protein is topographically restricted in tissues characterized by apoptotic cell death. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88:6961-6965.

Itoh N, Yonehara S, Ishii Ai, Yonehara M, Mizushima SI, Sameshima M, Hase A, Seto Y, Nagata S: The Polypeptide Encoded by the cDNA for Human Cell surface Antigen Fas Can Mediate Apoptosis. *Cell* 1991;66:233-243.

Kastan MB, Onyekwere O, Sidransky D, Vogelstein B, Craig RW: Participation of p53 protein in the Cellular Response to DNA

- Damage. *Cancer Res* 1991;51:6304-6311.
- McDonnell TJ, Deane N, Platt FM, Nunez G, Jaeger U, McKeam JP, Korsmeyer SJ: bcl-2-Immunoglobulin Transgenic Mice Demonstrate Extended B Cell Survival and Follicular Lymphoproliferation. *Cell* 1989;57:79-88.
- Miyashita T, Krajewski S, Krajewska M, Hong GW, Lin HK, Liebermann DA, Hoffman B, Reed JC: Tumor suppressor p53 is a regulator of bcl-2 and box gene expression in vitro and in vivo. *Oncogene* 1994;9:1799-1805.
- Muzio M, Chinnaiyan AM, Kischkel FC, O'Rourke K, Shevchenko A, Ni J, Scaffidi C, Bretz JD, Zhang M, Gentz R, Mann M, Krammer PH, Peter ME, Dixit VM: FLICE, A Novel FADD-Homologous ICE/CED 3-like Protease, Is Recruited to the CD95(Fas/APO-1) Death-Inducing Signaling Complex. *Cell* 1996;5:817-827.
- Nunez G, Clarke MF: The Bcl-2 family of proteins: regulators of cell death and survival. *Trends in Cell Biol* 1994;4:399-403.
- Oltavai ZN, Milliman CL, Korsmeyer SJ: Bcl-2 Heterodimerizes In Vivo with a Conserved Homology, Bax, That Accelerates Programmed Cell Death. *Cell* 1993;74:609-619.
- Osborne BA, Schwartz LM: Essential genes that regulate apoptosis. *Trends in Cell Biol* 1994;4:394-399.
- Owen-Schaub LB, Zhang W, Cusack JC, Angelo LS, Santee SM, Fujiwara T, Roth JA, Deisseroth AB, Zhang WW, Kruzel E, Fadinsky R: Wild-Type Human p53 and a Temperature Sensitive Mutant Induce Fas/APO-1 Expression. *Mol Cell Biol* 1995;15:3032-3040.
- Ross DD, Joneckis CC, Ordonez JV, Sisk AM, Wu RK, Hamburger AW, Nora RE: Estimation of Cell Survival by Flow Cytometric Quantification of Fluorescein Diacetate/Propidium Iodide Viable Cell Number. *Cancer Res* 1989;49:3776-3782.
- Sawyers CL, McLaughlin J, Goga A, Havlik M, Witte O: The Nuclear Tyrosine Kinase c-Abl Negatively Regulates Cell Growth. *Cell* 1994;77:121-131.
- Shi Y, Glynn JM, Guilbert LJ, Cotter TG, Bissonnette RP, Green DR: Role for c-myc in Activation-Induced Apoptotic Cell Death in T Cell Hybridomas. *Science* 1992;257:212-214.
- Suda T, Takahashi T, Golstein P, Nagata S: Molecular Cloning and Expression of the Fas Ligand, a Novel Member of the Tumor Necrosis Factor Family. *Cell* 1993;75:1169-1178.
- Trauth BC, Klas C, Peters Anke MJ, Matzku S, Möller P, Falk W, Debatin KM, Krammer PH: Monoclonal antibody-Mediated Tumor Regression by Induction of Apoptosis. *Science* 1989;245:301-305.
- Tsujimoto Y, Finger LR, Yunis J, Nowell PD, Croce CM: Cloning of the Chromosome Breakpoint of Neoplastic B cells with the t(14;18) Chromosome Translocation. *Science* 1984;226:1097-1099.
- Vaux DL, Cory S, Adams JM: Bcl-2 gene promotes haemopoietic cell survival and cooperates with c-myc to immortalize pre-B cells. *Nature* 1988;335:440-442.