

세포주기조절과 apoptosis

계명대학교 의과대학 미생물학교실, 의과학연구소 분자의학연구부
및 의학유전연구소 유전자치료연구부

서민호. 백원기

1. 서 론

최근 몇 년간에 걸쳐 apoptosis(programmed cell death)에 대하여 세포생물학 및 분자생물학적으로 많은 연구가 이루어지고 있다(Chinnaiyan et al, 1996; Fraser et al, 1996; Williams et al, 1993). apoptosis는 외부인자의 자극이나 내적인 변화에 의해서, 원래 가지고 있던 세포사의 경로가 활성화되어 그 세포가 죽게 되므로써 개체의 항상성 유지와 손상세포의 제거를 효율적으로 수행하는 생리학적 반응이다(Martin et al, 1995; White, 1993). 특히 세포의 DNA가 심한 손상을 입었거나, 세포 증식조절에 이상이 생겼거나, 세포성장에 불균형이 초래된 채로 세포가 증식하게 되면 종양세포로 발전할 가능성이 높아지므로, apoptosis에 의해 세포가 죽게 됨으로써 개체를 보호하는 중요한 생존 수단이라고 볼 수 있다(Carr et al, 1995; Steller, 1995; White, 1993).

세포가 증식할 것인지(proliferation), G1에 머물면서 분화할 것인지(differentiation), 영구적으로 G1에 머물 것인지(senescence), 아니면 죽을 것인지(apoptosis) 여부는 세포내외의 수많은 인자의 영향을 받아서 결정된다. 그중에서도 특히 retinoblastoma protein(RB), p53, cyclins, cyclin-dependent kinases (CDKs) 및 CDK inhibitors (CKIs) 등의 세포주기조절에 관여하는 분자들이 세포의 나아갈 방향을 결정하는 핵심적인 인자들임으로, 세포주기조절과 apoptosis는 불가분의 관계를 가지고 있다(Heintz, 1993; Martin et al, 1995; Steller, 1995).

세포는 개체가 살아있는 동안은 꾸준히 분열, 증식 및 분화를 반복하게 되는데, 수 많은 세포주기

조절인자들에 의하여 외부환경 및 내부인자들의 상태를 정확히 인지하고 종합판단하여 적절한 시기에 적절히 분열 혹은 분화하도록 조절되고 있다(Hunter et al, 1991; Jacks et al, 1996; Sherr, 1993).

세포의 외부환경에 성장인자가 충분할 때는, 성장인자가 세포막의 수용체를 자극하고, 그 결과 세포내 신호전달 체계가 활성화되어 핵내에 성장 촉진신호가 도달하면 세포는 신호를 인지하여 Gap 1 (G1) phase에서 Synthetic (S) phase로 들어가서 DNA가 복제된 후 G2 phase를 거쳐서 Mitotic (M) phase로 들어가서 두 개의 세포로 분열한 후 다시 G1 phase로 들어가서 다음번 세포 분열을 위한 신호를 기다리게 된다(Hunter, 1993; Sherr, 1993; Sherr et al, 1995).

세포가 분화할 때는 여러 가지 분화유도신호에 의해 G1 phase에 머물면서 분화관련 유전자들이 순차적으로 발현되어 최종분화에 도달하게 되며, 세포가 G1 phase에 영구적으로 머물게 되면 결국 노화(Senescence)에 이르게 된다(Heintz, 1993; Sherr et al, 1995; Weinberg, 1995).

최근들어서 이러한 세포주기 조절에 관여하는 많은 유전자들이 발견되었고(Peter et al, 1994; Sherr, 1993) 그 유전자 산물들간의 분자생물학적 조절기전이 급속히 밝혀지고 있어서, 의학 및 생물학의 많은 연구분야 중에서도 최대의 관심분야 중의 하나가 되고 있으며, 그중에서도 G1 phase에서 S phase로 이행되도록 결정하는 과정인 G1 checkpoint 조절에 대한 분자생물학적 연구가 대단히 활발히 진행되고 있다(Peters, 1996; Sherr, 1993; Sherr et al, 1995). 왜냐하면 세포가 S phase로 들어가서 증식할 것인지, G1에 머물면서 분화할 것인지, 아니면 DNA손상이나 기타의 장애가 너무 심해서 apoptosis로 죽을 것인지 여부가 주로 이 단

계에서 결정되기 때문이다(Steller, 1995; Weinberg, 1995; Wyllie, 1995).

특히 E2F, Elf-1, c-Abl 등의 전사조절인자와 결합하여 억제하므로써 세포를 G1 phase에 머물게 하는 RB에 결합하여 RB기능을 소실시킨다고 알려진 adenovirus E1A, human papilloma virus (HPV) E7 등의 바이러스성 암단백질들(Chellappan et al, 1992; DeCaprio et al, 1988; Whyte et al, 1988)이, 어떤 경우에는 종양을 유발하는 것이 아니라 apoptosis를 일으킨다는 사실이 최근에 보고되었으며(Debbas et al, 1993; Howes et al, 1994; Pan et al, 1994), RB의 인산화를 촉진시켜 RB기능을 억제함으로써 세포증식을 촉진하는 cyclin 및 CDK들의 과발현도 경우에 따라서는 오히려 apoptosis를 촉진시킨다는 것이 보고되어서(Bortner et al, 1995; Hoang et al, 1994; Kranenberg et al, 1996) 세포주기 조절인자가 apoptosis의 유도 혹은 억제에 깊이 관여하고 있음을 알 수 있다.

2. 세포주기 조절의 분자생물학적 기전

세포의 핵내에는 cyclin이라는 단백질이 주기적으로 증가, 감소하고 있으며, cyclin의 증가에 의하여 CDK가 활성화되고, 활성화된 CDK는 RB의 serine 및 threonine을 인산화시킨다. 그 결과 RB가 억제하고 있던 E2F나 c-Abl, Elf-1과 같은 transcription factor들이 활성화되면서 세포는 G1 phase에서 S phase로 들어가게 되고, 결국 G2 phase와 M phase를 거쳐 세포가 분열증식하게 된다(Chellappan et al, 1991; Moreno et al, 1990; Sherr, 1993).

세포가 증식할 때 증식촉진인자인 mitogen들의 최종 target 중의 하나가 cyclin D이며, cyclin E도 관여할 것으로 추정되고 있다(Ohtsubo et al, 1995). mitogen들에 의해 cyclin D의 발현이 촉진되어 일정량에 이르게 되면 cyclin D는 CDK4 혹은 6와 결합하고 CDK Activating Kinase (CAK)가 CDK의 threonine (160번째 아미노산)을 인산화시켜서 CDK가 활성을 띠게 되며, CDK는 RB를 인산화시켜 불활성화시킨다(Ewen et al, 1993; Sherr, 1993; Sherr et al, 1995). cyclin D-CDK4 이외에도 cyclin E-CDK2 complex가 활성화되므로써 cyclin D에 이어서 RB의 인산화를 더욱 가속시키게 되어(Ohtsubo et al, 1995) 결국은 RB에 의해 억제되고 있던 E2F, Elf-1, c-Abl 등의 전사조절인자가 활성-

을 띠게 되어 세포는 G1 phase에서 S phase로 이행되고 DNA합성이 시작되게 된다(Chellappan et al, 1991; Hiebert et al, 1991; Wang et al, 1993).

세포의 주기를 정확히 조절하기 위해서 세포는 cyclin이나 CDK 같은 positive regulator이외에도 p27, p15, p16, p21 등의 CKI들을 가지고 있으며 이를 CKI의 작용은 적절한 세포주기 조절에 negative regulator로서 필수적인 인자들이다(Hunter, 1993; Peters, 1994; Sherr et al, 1995).

CKI중에서 p27은 세포내에서 항상 일정량으로 발현되고 있는데, p27은 cyclin 혹은 cyclin-CDK 복합체와 결합하며, cyclin A, B, D 및 E와 결합할 수 있다(Peters, 1994). p27은 cyclin D-CDK4 복합체 및 cyclin E-CDK2복합체에 결합하여 CDK의 활성을 억제함으로써 RB의 인산화를 억제한다. mitogen의 자극으로 세포의 주기가 G1에서 점차 S phase로 진행됨에 따라 cyclin D 및 cyclin E의 량이 계속 증가하여, 상대적으로 일정량으로 존재 하던 p27은 회색되게 되어 결국 어느선 이상에서는 CDK의 억제 효과가 사라지고, RB의 인산화 및 불활성화가 가속되어 E2F의 활성으로 S phase로 진행된다(Chellappan et al, 1991; Peters, 1994; Sherr et al, 1995).

RB의 인산화가 촉진되면 여러 가지 유전자의 전사가 증가하게 되는데 주로 DNA합성에 관여하는 유전자의 발현이 증가되고, 그 뿐만 아니라 특이하게도 p16의 발현이 증가된다(Peters, 1994; Sherr et al, 1995). 합성된 p16은 CDK4 및 6와 결합하고 그 결과 cyclin D는 CDK의 보호를 받지 못하고 따로 떨어지게 되어 분해되고 사라지게 된다(Peters, 1994; Sherr et al, 1995).

그런데 TGF- β 1이나 세포간의 접촉에 의한 억제(Contact inhibition) 등의 신호가 오게되면 p15의 발현이 증가하게 된다(Peters, 1994; Sherr et al, 1995). p15는 CDK4 및 6와 결합하여 억제하며, 동시에 CDK 4, 6를 p27로 부터 격리시키는 효과를 나타내어 p27은 cyclin E-CDK2에 집중적으로 결합하여 억제하므로써 RB의 인산화가 억제된다. 그 결과 RB는 E2F 등의 전사조절인자를 계속 억제하여 세포는 G1 phase에 정지되게 된다(Peter, 1994; Sherr et al, 1995; Weinberg, 1995). 세포주기의 분자생물학적 조절기전을 요약하면 Fig. 1과 같다.

그리고 자외선이나 화학물질, 기타 원인에 의해 세포의 DNA에 손상이 오게 되면 p53 항암단백질

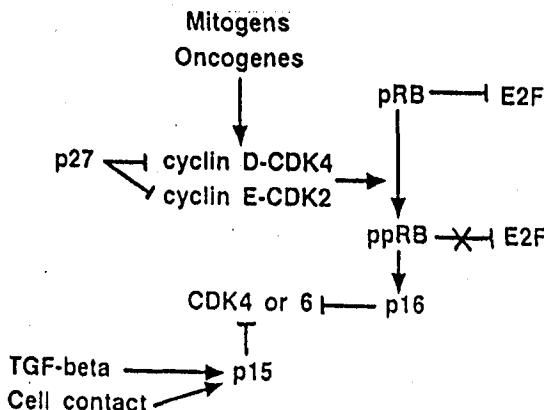


Fig 1. Molecular control of cell cycle. CDK:cyclin dependent kinase;p15, p16, p27:CDK inhibitors; RB:retinoblastoma protein.

의 작용으로 p21의 발현이 촉진된다(Ko et al, 1996).

p21은 cyclin E-CDK2, cyclin D-CDK4 및 기타 CDK들을 억제하여 RB의 인산화를 억제하고, RB는 E2F 등을 계속 억제하여 그 결과 세포는 G1 phase에 정지하게 된다(Bates et al, 1996). 동시에 p53, GADD45 등의 DNA수리 체계들에 의해 손상된 DNA가 복구되며, 복구가 끝나면 p21기능이 사라지고 세포는 S phase로 넘어가게 된다 (Bates et al, 1996; Sherr et al, 1995; Weinberg, 1995).

이때 DNA의 손상정도가 너무 심하거나, 복구 도중에 c-myc이나 E2F 등의 성장촉진 신호가 과잉하게 와서 세포의 수리가 덜 끝난 상태에서 S phase로 들어가게 되면 암세포와 같은 이상세포가 생길 위험이 크므로 세포는 apoptosis를 일으켜 조용히 죽어버리게 되며 이 과정에 p53가 중요한 역할을 한다(Bates et al, 1996; Wu et al, 1994). p53에 의한 G1 phase정지 및 apoptosis과정을 요약하면 Fig. 2와 같다.

이상과 같이 cyclin-CDK들과 E2F는 세포주기의 G1/S이행을 촉진시켜 세포의 분열증식을 촉진시키고, p27, p21, p15 및 p16 등의 CDK inhibitor들은 cyclin-CDK들의 기능을 억제시켜 RB로 하여금 세포를 G1에 머물게 한다(Fig. 1).

이러한 세포주기 조절인자들이 apoptosis조절에 미치는 분자생물학적 기전은 잘 알려져 있지 않은데, 최근에 와서 cyclin A의 과발현이 생쥐의 mammary gland에 apoptosis를 일으킨다는 것 (Bortner et al 1995)과, cyclin D의 과발현이 신경세

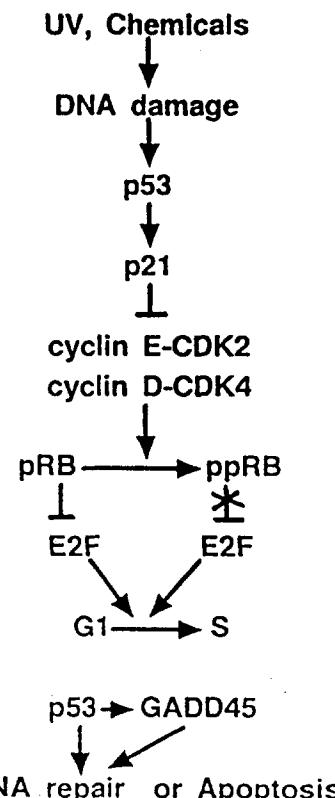


Fig 2. p53 functions in G1 arrest, DNA repair and apoptosis. CDK:cyclin dependent kinase; p21: CDK inhibitor; pRB: hypophosphorylated retinoblastoma protein; ppRB: hyperphosphorylated retinoblastoma protein; UV:ultra-violet light.

포에 apoptosis를 초래한다는 현상(Freeman et al, 1994; Kranenberg et al, 1996), 그리고 E2F의 과발현이 apoptosis와 관계되며, p53에 의한 apoptosis에 동참한다는 사실(Shan et al, 1996; Wu et al, 1994)이 보고되었으며, p21이 신경아세포의 분화 시에 apoptosis를 억제한다는 현상(Polula et al, 1996)이 보고되었다.

세포주기조절인자들이 apoptosis를 어떻게 조절하는지에 대한 분자생물학적 연구는 암발생기전과 세포분화과정을 이해하는데 중요한 자료를 제공해줄 뿐 아니라, 세포주기조절인자들의 apoptosis 조절과정이 밝혀짐으로써 새로운 항암 target을 제시하고 apoptosis조절을 통한 새로운 항암치료의 아이디어를 제공할 수 있을 것이다. 그뿐 아니라 세포주기조절인자들의 apoptosis 조절과정

이 자세히 규명되게 되면, apoptosis에 의해 조직이 파괴됨으로써 발생하는 여러 가지 퇴행성 질환 및 신경질환의 경우에 세포주기조절인자들을 효율적으로 자극 혹은 억제하여 apoptosis를 최소한으로 줄임으로써 조직손상을 최소화 시킬 수 있을 것이다.

3. Retinoblastoma protein(RB)

세포가 G1 phase에 머물게 되는 주역은 RB 항암단백질이다(Hamel et al, 1993; Zackenhaus et al, 1993). RB는 원래 retinoblastoma 환자 세포의 염색체 연구에서 13번 염색체의 q14 부위가 소실된 것이 그 원인임이 밝혀지면서 발견된 유전자로서 그 후 Lee 등(Lee et al, 1987)에 의해 유전자가 cloning되어 RB단백질의 특성과 기능이 밝혀지게 되었고, 항암유전자로서는 최초로 발견된 유전자이다(Hamel et al, 1993; Wang et al, 1994).

그 후 DNA 종양바이러스의 암 단백질들(adenovirus의 E1A, SV40 virus의 large T, HPV의 E7, Epstein-Barr virus의 EBNA)이 RB에 결합한다는 사실이 밝혀지면서 RB가 세포증식조절 및 발암과정에 중요한 기능을 수행할 것으로 주목되었다(Chellappan et al, 1992; DeCaprio et al, 1988; Whyte et al, 1988). 그리고 Nevins 등에 의해 pRB가 세포의 S phase 이행 및 전사조절에 결정적으로 중요한 역할을 하는 E2F와 결합하여 세포를 G1에 머물게 한다는 사실(Chellappan et al, 1991; Kaelin

et al 1992; Nevins, 1992)이 밝혀지고, CDK에 의해 RB는 세포주기에 따라 주기적으로 인산화가 된다는 사실(Hamel et al, 1993; Lees et al, 1991)이 밝혀짐으로써 RB의 세포주기조절기능 및 항암기능이 분자생물학적으로 규명되기 시작하였다.

그리고 앞서 기술한 바와 같이 세포주기의 positive controller들인 cyclin D와 cyclin E의 세포주기조절 기전이 CDK4(혹은 6) 혹은 CDK2와 결합하여 RB를 인산화 함으로써 RB를 불활성화시키고 E2F 등의 전사조절인자를 활성화시켜 S phase로 이행하게 됨이 밝혀졌다(Chellappan et al, 1991; El-Deiry et al, 1994; Sherr, 1993).

그뿐 아니라 세포주기의 negative controller들인 p27, p15 및 p16 등의 CKI들의 기능도 결국은 RB의 인산화를 억제시켜 RB로 하여금 E2F 등의 전사조절인자를 효과적으로 억제하도록 하는데 있으며, DNA손상으로 활성화된 p21도 결국은 RB의 인산화를 억제시키는데 있는 것이다(Peters, 1994; Peter et al, 1994; Sherr et al, 1995).

그런데 RB는 retinoblastoma 때와 같이 유전자 소실 뿐만이 아니라 세포외부의 과다한 mitogen의 작용이나, 세포내 암 유전자들의 비정상적 활성에 의한 과한 신호전달, 혹은 DNA종양바이러스의 암 단백질들의 작용에 의해 G1 phase의 제라는 고유의 기능을 잃어버리고 과도한 세포분열이 초래될 수 있다(Hunter et al, 1991; Marx, 1994; Verma et al, 1995).

RB는 928개의 아미노산으로 구성되어 있으며

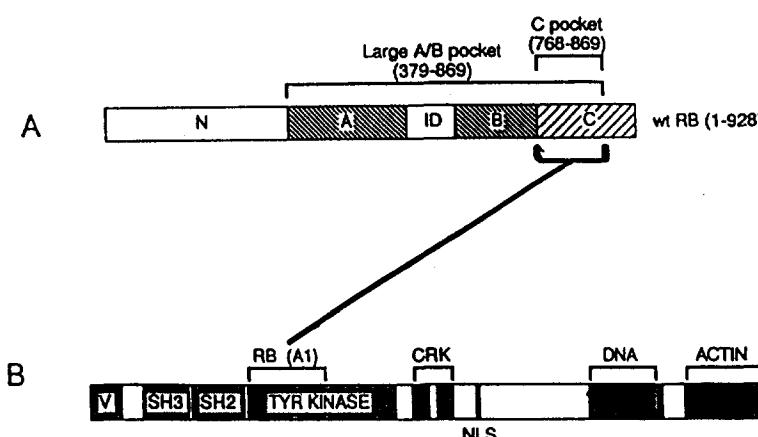


Fig 3. A. Structure of retinoblastoma protein (RB), B. structure of c-Abl tyrosine kinase. Large A/B pocket of RB binds E2F and C pocket of RB binds tyrosine kinase domain of c-Abl.

아미노산 379-869까지의 domain이 Large A/B pocket으로서 E2F와 결합하여 억제하므로써 세포를 G1 phase에 머물게 한다(Hamel et al, 1993). RB 항암단백질의 구조는 Fig. 3과 같다.

E1A, T, E7 및 EBNA 등의 DNA virus 성 암단백질들은 RB의 Large A/B pocket에 결합하여 pRB의 기능을 억제시키므로써 E2F가 RB로 부터 해방되어 전사활성이 일어나고 세포는 S phase로 이행되어 과도한 세포분열을 초래하게 된다(Hamel et al, 1993; Weinberg, 1995).

그리고 RB의 생물학적 기능은 단순히 E2F나 c-Abl과 같은 target 분자를 억제하여 세포를 G1에 정지시키는 것만이 아니고, 핵내에서 세포주기조절에 관여하는 여러 가지 인자들, 즉 E2F나 cyclin D, c-Abl 등을 RB가 매개하여 적절한 다단백질 복합체(multiple protein complexes)를 형성하여 G1정지 기능을 수행함이 최근에 보고되었다(Hunter, 1996; Wang et al, 1994; Weinberg, 1995). 이러한 현상은 G1 정지를 위해서는 pRB결합단백질들을 단순히 억제하는 것만으로는 부족하며 pRB가 매개하는 다단백질 복합체 형성이 적절하게 이루어져야 한다는 것을 뜻하는 것이다. 즉 RB는 핵내에서 molecular matchmaker의 역할을 수행하는 것으로 추측되고 있다(Hunter, 1996; Wang et al, 1994; Weinberg, 1995).

RB는 세포의 분화에도 깊이 관련되어 있는데, 세포가 분화되기 위한 전제조건으로서 RB에 의한 세포의 G1 phase 정지가 필수적이다(Mihara et al, 1989; Richon et al, 1992; Szekely et al, 1992). 예를 들면 피부의 basal keratinocyte 분화와 대장의 crypt 세포 분화시에 RB의 기능증가에 의한 G1 phase정지를 볼 수 있고, erythroleukemia 세포 분화시에 RB 인산화의 중요인자인 CDK4가 혈저히 저하되어 있으며, 골수의 stem cell이 neutrophil로 분화할 때 cyclin D와 CDK4가 저하되어 RB 기능이 증가된다(Mihara et al, 1989; ; Richon et al, 1992; Szekely et al, 1992).

RB는 세포의 노화에도 깊이 관련되어 있다 (Smith et al, 1996). 사람의 염색체들은 그 양쪽 말단에 telomere라는 DNA-단백질 복합구조물을 가지며 이 telomere는 염색체의 안전유지에 매우 중요하다(Lange, 1992). 사람의 염색체 DNA는 linear double-stranded DNA이며 DNA는 복제시에 반드시 5'-3' 방향으로 합성되고, DNA 합성시 5'에 RNA primer를 사용한 후 나중에 이것을 제거하고

DNA로 채우게 된다. 그런데 template DNA의 3' - end에 붙는 마지막 RNA primer는 DNA복제후 제거되지만 하고 DNA로 채워질 수가 없으므로 결국 염색체 DNA는 한번 복제할 때마다 15-40개의 염기쌍이 소실되게 되며, 그 결과 세포는 분열을 거듭하면서 telomere의 길이가 점점 짧아지게 되는 것이다(Harley et al, 1995). 만일 세포가 계속 분열하여 telomeric DNA가 모두 소실되고 나면 염색체 DNA는 보호장치를 잃어버리게 되어 결국 염색체 DNA 그 자체가 파괴되는 지경에 처하게 된다(Hanish et al, 1994).

그런데 telomeric DNA에 어느정도 이상의 소실이 발생하면 세포는 DNA에 손상이 일어났음을 감지하여 즉시 세포를 G1 phase에 머물게 함으로써 더 이상의 DNA 손상을 막는다(Carr et al, 1995; Smith et al, 1996). telomeric DNA의 소실로 인해 세포가 G1에 정지하게 되는 중요한 기전으로서 p53와 RB가 관여한다(Smith et al, 1996). 즉 telomeric DNA 소실도 일종의 DNA손상이기 때문에 p53 항암단백질이 활성화되어 p21의 발현을 촉진하고, p21은 cyclin E-CDK2, cyclin D-CDK4 및 기타 CDK들을 억제하므로써 RB의 인산화를 억제하고, RB는 E2F 등을 계속 억제하여 그 결과 세포는 G1 phase에 정지하게 되어(Fig. 2) 더 이상의 DNA 소실을 방지하게 된다(Smith et al, 1996). 세포가 계속 G1에 머물게 되면 결국은 노화(senescence)로 접어들게 된다. 노화라는 것은 세포가 불가역적으로 G1에 머물게 되는 것을 말하며 RB가 깊이 관여하고 있는 것이다(Smith et al 1996; Weinberg, 1995).

그리고 RB의 기능이 소실되면 단순히 G1 phase 정지기능의 소실로 세포의 과다분열이 초래되는 것만이 아니고, 세포내외의 상태에 따라서 RB기능의 소실이 오히려 apoptosis에 이르게 됨을 시사하는 보고들이 최근에 발표되고 있다. 예를 들면 adenovirus E1A로 transformed된 BRK(primary baby rat kidney) 세포 및 생쥐 섬유아세포가 apoptosis를 일으켰고(Debbas et al, 1993; Lowe et al, 1994), HPV E7으로 transformed된 생쥐 망막의 photoreceptor 세포가 apoptosis를 일으켰으며 (Howes et al, 1994), 역시 E7으로 transformation된 생쥐의 lens fiber cell이 분화에 장애를 일으키고 apoptosis를 일으켰다(Pan et al, 1994). 그리고 SV40 virus large T로 transformed된 생쥐 brain choroid plexus epithelium이 apoptosis를 일으켰다

(Symond et al, 1994).

이 모든 연구들은 RB기능소실이 apoptosis와 관계된다는 것을 시사한다. 왜냐하면 adenovirus의 E1A나, HPV E7, 그리고 SV40 virus의 T 단백질이 모두가 RB와 결합하여 RB기능을 소실시키기 때문이다(Lowe et al, 1994; Weinberg, 1995). RB가 apoptosis에 관여함을 더 적극적으로 시사하는 자료로서는, RB유전자를 gene targeting법으로 불활성화시킨 생쥐의 수정체에 분화장애가 초래되고 apoptosis가 일어났다는 연구보고(Morgenbesser et al, 1994)가 있다.

이와같이 RB는 apoptosis에도 깊이 관련되어 있으나 RB기능 소실로 인한 apoptosis과정에는 p53 항암단백질이 관여할 것이라는 추측만 있을 뿐(Debbas et al, 1993; Howes et al, 1994; Symonds et al, 1994), 복잡한 apoptosis 진행과정의 어느단계에 RB가 관여하는지, 그리고 어떤 유전자들이 RB와 상호관계되어 apoptosis를 조절하고 있는지는 아직 잘 알려져 있지 않은 실정이다. RB기능의 소실은 세포주기조절에 엄청난 재앙을 초래할 수 있기 때문에 아마도 p53가 심각한 DNA손상으로 인지하여 apoptosis를 시작시키는 것으로 생각된다.

이상과 같이 RB는 G1 checkpoint의 수호자로서 세포를 G1 phase에 머물게 하고, 세포증식 억제를 통한 종양억제기능과 세포분화 촉진기능을 수행하며, 핵내의 주요 신호전달물질을 적절히 조립시키는 molecular matchmaker기능을 가진다. 그뿐 아니라 RB는 apoptosis조절과 노화과정에도 깊이 관여함으로서 세포의 '생-노-병-사'의 전 과정을 조절하는 핵심적인 유전자로 간주되고 있다(Bartek et al; 1996; Sherr et al, 1995; Weinberg, 1995). RB 항암단백질이 apoptosis를 어떻게 조절하는지에 대한 연구는 암억제기전을 규명하는데 중요한 자료를 제공해줄 뿐 아니라, 세포의 분화기전 규명과 세포의 노화기전 연구에도 매우 중요한 정보를 제공해줄 것이다.

4. p53 tumor suppressor protein

p53 gene은 chromosome 17p13에 위치하고 있으며 393개의 아미노산으로 구성된 p53 항암단백질을 지령한다(Ko et al, 1996). p53 단백질은 원래 1979년에 SV40 virus에 의해 transformed된 세포에서 처음 발견되어서 종양항원으로 분류되기도 하였고, 쥐의 섬유아세포에서 ras 암유전자에 의한

세포의 transformation을 촉진하는 것이 확인되어 p53유전자는 암유전자로 간주되었다. 그러나 1989년에 대장암을 연구하던 학자들이 암세포에 있는 p53는 돌연변이된 것이며, 정상 p53는 세포의 성장을 억제하고 실현동물의 종양형성을 억제하므로 p53는 종양억제 단백질이라는 사실을 밝히게 되었다(Prives et al, 1993). 즉 p53는 RB와 아울러 암의 증식을 억제하는 중요한 브레이크 역할을 하고 있으며, p53에 돌연변이가 생기거나 기능에 장애가 생기면 암세포로 진행될 위험이 높아지는 것이다. 실제로 암의 55%에서 p53의 돌연변이가 관찰되는 테, 대장암의 70%, 폐암의 50%, 유방암의 40%가 p53의 돌연변이를 가진다(Haffner et al, 1995; Ko et al, 1996; Prives et al, 1993).

p53 항암단백질은 세부분으로 구성되어 있는데 첫 번째인 아미노 말단부위는 전사활성(촉진)영역이고, 중간부위는 sequence-specific DNA-binding영역이며, carboxyl 말단부위는 다양한 기능을 가지고 있다(Ko et al, 1996). p53 항암단백질의 구조는 Fig. 4와 같은데 전사활성 영역은 아미노산 1-43까지로 되어있으며 중간의 특정 DNA 결합영역은 아미노산 100-300, 카복시 말단부위는 아미노산 300-393까지로 되어있다.

전사 활성 영역인 아미노 말단부위는 transcription factor인 TFIID components (TBP, TAF40, TAF60)와, TFIID component (p62), mdm-2, RP-A 및 adenovirus E1B oncoprotein 등이 결합한다(Ko et al, 1996). 그리고 double-stranded DNA protein kinase (dsDNA-PK)와 casein kinase I (CKI)에 의해 인산화 되는 곳이 네곳이 있다. p53는 이 전사활성 영역을 통하여 p21, GADD45, cyclin G, Bax, insulin-like growth factor binding protein 3 (IGF-BP3), mdm-2 gene 등의 발현을 촉진시킨다(Ko et al, 1996).

특정 DNA 결합영역인 중간부위는 SV40 T antigen, p53BP1, P53BP2 등이 결합한다. 그리고 P53에 돌연변이가 있는 암세포들의 돌연변이 위치는 거의 대부분이 바로 이 중간부위에 위치하고 있는데 특히 아미노산 248, 273, 175, 245, 249 및 282에 집중되어 있다(Haffner et al, 1995; Ko et al, 1996; Prives et al, 1993).

carboxyl 말단 부위는 p53 molecule들이 tetramerization되는 영역과 non-specific DNA interaction영역을 갖고 있으며, CDK에 의해 인산화되는 곳 한 개, PKC 인산화 장소 한 개, casein

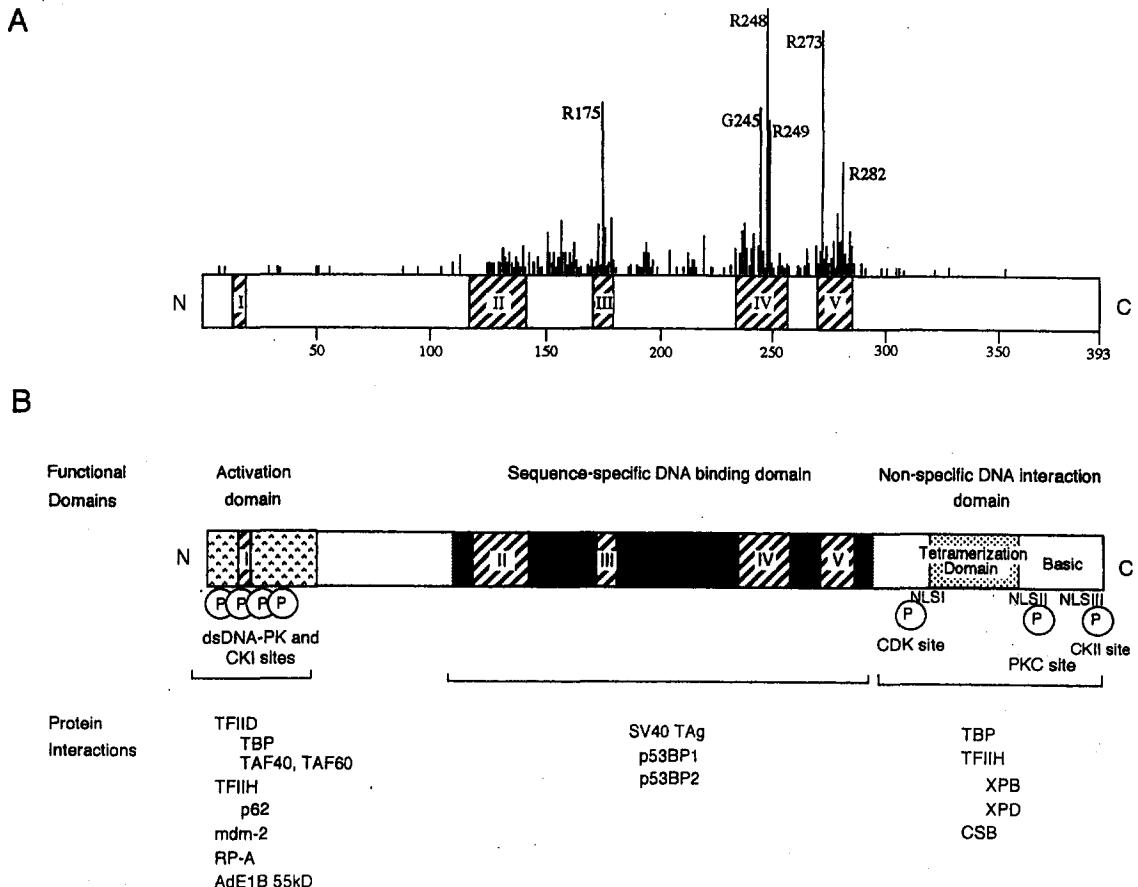


Fig 4. Landmarks of the human p53 protein. (A) P53 mutations found in human cancer. Hatched boxes represent conserved regions. Vertical lines above represent the frequency at which mutations are found at each particular residue and are clustered in conserved regions II - V. Several hot spots for mutations 175, G245, R248, R249, R273, and R282 are also indicated. (B) Structural organization of the p53 protein. Hatched boxes represent conserved regions. (Basic) The extreme carboxyl terminus, which contains several basic residues. Nuclear localization sequences (NLSs) and phosphorylation sites (circled P's) are shown below. Additionally, analysis of murine p53 has also identified phosphorylation sites for JNK kinase at amino acid 34 and MAP kinase at amino acids 73 and 83. However, corresponding residues in the human protein are not conserved acceptor sites for Ser/Thr phosphorylation. Of the many proteins demonstrated to interact with p53, a subset of them is known to interact with particular regions of p53, these are shown at the bottom.

kinase II (CKII) 인산화 장소 한 개를 가진다. 그리고 nuclear localization signal (NLS)을 가지는 곳이 세군데 있다(Ko et al, 1996). 또한 HPV E6 oncoprotein이 결합하는 곳도 이곳이다. HPV E6는 E6-AP와 협작하여 p53를 ubiquitin-mediated로 degradation시킨다(Rolfe et al, 1995).

자외선이나 화학물질, telomere길이의 과잉단축 및 기타 원인에 의해 세포의 DNA에 손상이 오게 되면 p53 항암단백질의 생산이 촉진되고 p53의 전사촉진 작용으로 p21의 발현이 촉진된다(Bates et al, 1996). p21은 cyclin E-CDK2, cyclin D-CDK4 및

기타 CDK들을 억제하여 RB의 인산화를 억제한다 (Fig. 2). 그 결과 RB는 E2F 등을 계속 억제하여 세포는 G1 phase에 정지하게 되고 동시에 p53, GADD45 등의 DNA수리 체계들이 활성화되어 손상된 DNA를 복구하게 되며, 복구가 끝나면 p21이 능이 사라지고 세포는 S phase로 넘어가게 된다 (Haffner et al, 1995).

DNA의 손상정도가 너무 심하거나, 복구 도중에 c-myc이나 E2F 등의 성장촉진 신호가 과잉하게 와서 세포의 수리가 덜 끝난 상태에서 S phase로 들어가게 되면 암세포와 같은 이상세포가 생길 위

힘이 크므로 세포는 apoptosis를 일으켜 조용히 죽어버리게 되며 이 과정에 p53가 중요한 역할을 한다(Bates et al, 1996; Wu et al, 1994). RB기능소실이나 비정상적인 세포주기조절신호가 왔을때도 p53는 apoptosis를 시작시키는 것 같다.

p53가 apoptosis를 유도하는 기전으로서 중요한 것은 Bax단백질 산생을 통한 Bcl2 기능억제이다 (Bates et al, 1996). Bax는 Bcl2와 결합하여 Bax-Bcl2 heterodimer를 형성하는데 이것은 apoptosis를 억제한다. 그러나 p53가 Bax단백질을 증가시키게 되면 Bax는 자기들끼리 결합하여 Bax-Bax homodimer를 형성하게 되며 이것은 Bcl2의 기능을 억제하여 apoptosis를 촉진하게 되는 것이다 (Bates et al, 1996).

5. Abl tyrosine kinase

tyrosine kinase들은 세포외부 환경의 여러가지 신호를 세포내로 전달하는데 중요한 기능을 수행하는 것으로 알려져 있으며 주로 세포막에서 수용체로 작용하고 있지만 세포내 tyrosine kinase들도 중요한 역할을 하고 있다(Verma et al, 1995; Wang, 1993; Wang et al, 1994). 그 대표적인 예가 Abl family의 tyrosine kinase들이다(Wang, 1993; Wang et al, 1994).

c-Abl (type IV)는 1097개의 아미노산으로 구성된 tyrosine kinase로서 N-말단 부위에는 SH3 (Src Homology 3) 및 SH2구조를 가지며, C-말단부위에는 DNA와 결합하는 곳이 있으며, DNA와의 결합 능은 세포주기에 의해 조절받고 있다(Kipreos et al, 1990; Kipreos et al, 1992; Wang, 1993). 즉 세포주기의 interphase때는 c-Abl 단백질의 세균데가 CDK에 의해 인산화되며, mitosis때는 일곱군데가 추가적으로 인산화 된다(Kipreos et al, 1990; Kipreos et al, 1992). 특히 mitosis때 serine 852, 883 부위가 인산화 되므로써 DNA에 결합되어 있던 c-Abl이 떨어져 나오게 되고, 다음번 세포주기를 대비한다(Kipreos et al, 1990; Kipreos et al, 1992). 그리고 C-말단의 끝부분은 F-actin과 결합하는 부위이다(McWhirter et al, 1991; Wang, 1993). 또한 최근의 연구에 의해서 c-Abl의 tyrosine kinase부위의 ATP결합장소는 RB의 C-말단부위와 결합할 수 있으며(Fig. 3), 이것은 세포주기조절에 의한 RB의 인산화 정도에 따라 주기적으로 결합된다는 것이 밝혀졌다(Welch et al, 1993). RB가 c-Abl과

결합하는 부위를 RB의 C pocket으로 명명하였으며, RB는 c-Abl과 결합하고 있다가 cyclin-CDK에 의해 RB가 인산화됨으로써 c-Abl은 RB로 부터 유리되어 활성을 나타내게 된다(Welch et al, 1993).

c-Abl의 세포내 기능은 아직 정확히 알려져 있지 않으나, 최근에 c-Abl이 RNA polymerase II (RNAP II)와 결합하여 C-말단영역(Carboxyl-terminal domain; CTD)을 인산화 시킴이 발견되었고(Baskaran et al, 1993), RNAP II의 CTD 인산화는 전사과정의 initiation단계에서 elongation단계로의 이행에 필요한 것으로 알려져서 결국 c-Abl기능의 일부는 전사과정을 촉진시키는 것임을 알 수 있다(Baskaran et al, 1993).

그리고 c-Abl의 tyrosine kinase부위를 src의 그것으로 치환시킨 tyrosine kinase기능은 남아있지만 RB와의 결합능은 소실되어, 결국 세포주기 조절에 의한 RB의 간섭으로부터 해방되어 독자적인 tyrosine kinase기능을 수행하게 된다(Welch et al, 1995).

c-Abl과 유사하며 Abelson murine leukemia virus에서 발견된 v-abl은 c-Abl N-말단부가 소실되고 virus의 gag단백이 결합된 변이형으로서 tyrosine kinase의 활성이 아주 높고, F-actin과 결합하는 능력이 매우 강하여 v-abl은 강력한 transforming activity를 가진다(Kipreos et al, 1988; Wang, 1993; Wang et al, 1994).

그리고 만성골수성 백혈병 (chronic myelogenous leukemia; CML)세포에서 발견된 bcr-abl은 22번 염색체의 bcr (breakpoint cluster region)유전자와 9번 염색체의 c-abl 유전자가 합쳐져서 특이한 Philadelphia염색체를 만들고, 그 결과 Bcr-Abl tyrosine kinase를 산생한다(Daley et al, 1991; Wang, 1993). Bcr-Abl도 v-Abl과 유사하게 tyrosine kinase기능이 아주 강하고, F-actin과의 결합능이 강하며 강력한 transforming activity를 나타낸다(Daley et al, 1988; McWhirter et al, 1991; Wang, 1993). Bcr-Abl의 transforming activity를 나타내는 주된 능력은 Bcr단백질의 N-말단부위(특히 아미노산 1-63)에 있음이 밝혀졌다(McWhirter et al, 1991). Bcr-Abl은 CML의 발암과정에 중요한 인자로 간주되고 있다(Daley et al, 1991; Wang, 1993).

v-Abl이나 Bcr-Abl에 의해 transformed된 세포들은 원래 자신들이 의존하고 있던 interleukin 3 (IL-3) 등의 성장인자(혹은 생존인자; survival

factor)에 독립성을 갖게 됨이 발견되었다(Kipreos et al, 1988; Martin et al, 1995). 그런데 주목할 사실은 성장인자가 없는 상태에서 세포증식이 정상적으로 진행되는 것은 아니고 다만 원래는 죽어야 할 세포들이 죽지 않고 계속 생존하고 있음이 알려져서, 결국 v-Abl이나 Bcr-Abl tyrosine kinase가 성장인자 결핍으로 유도되는 세포사를 억제할 것이라는 추측이 나오게 되었다(Daley et al, 1988; Evans et al, 1993; Kipreos et al, 1987). 또한 Bcr-Abl을 발현하는 백혈병세포인 K562세포 등은 항암 화학요법에 내성이 강하는 사실에 착안하여 분석한 결과 Bcr-Abl이 화학요법제에 의한 apoptosis를 억제한다는 사실도 밝혀졌다(Martin et al, 1995; McGahon et al, 1994).

이와같이 v-Abl 및 Bcr-Abl의 apoptosis 억제현상은 종양치료에 어려움을 초래하고 있으며, 종양 발생과정에 깊이 관여할 것이 분명하다(Martin et al, 1995; McGahon et al, 1994). 그러나 v-Abl과 Bcr-Abl이 apoptosis의 어느 단계를 억제하는지, 혹은 tyrosine kinase로서 생존인자(survival factor)를 대신하여 생존신호(survival signal)로서만 작용하는지는 아직 잘 알려져 있지 않다. 특히 정상세포가 가지고 있는 c-Abl이 apoptosis에 어떤 영향을 미치는지, 그리고 c-Abl은 RB에 의해 세포주기에 따라 조절되므로, RB에 독립적인 상태에서 c-Abl이 apoptosis에 미치는 영향이 어떠한지 등에 대한 연구는 abl의 apoptosis조절기전 규명에 매우 흥미로운 정보를 제공해줄 것으로 생각된다.

6. 결 론

세포는 개체가 살아있는 동안은 꾸준히 분열, 증식 및 분화를 반복하게 된다. 세포가 증식할 것인지(proliferation), G1에 머물면서 분화할 것인지(differentiation), 영구적으로 G1에 머물 것인지(senescence), 아니면 죽을 것인지(apoptosis) 여부를 결정하는 핵심인자들은 RB, p53, cyclins, CDKs 및 CKIs 등의 세포주기조절에 관여하는 분자들이다. 그러므로 세포주기조절과 apoptosis는 밀접한 관계를 가지고 있으며 사실 apoptosis는 세포주기 조절의 한 부분이라고 볼 수 있다(Heintz, 1993; Martin et al, 1995; Steller, 1995).

최근들어서 세포주기 조절에 관여하는 많은 유전자들이 발견되었고(Peter et al, 1994; Sherr, 1993) 그 유전자 산물들간의 분자생물학적 조절기

전이 활발히 연구되고 있으며, 세포주기조절의 핵심인자인 RB, p53, cyclin-CDKs, CDK inhibitors 및 Ab1 tyrosine kinase들이 apoptosis조절에 어떻게 관여하고 있는지가 분자생물학적 및 세포생물학적으로 계속 밝혀지고 있다(Heintz, 1993; Steller, 1995).

apoptosis와 관련된 세포주기조절의 연구는 암발생기전과 세포분화 및 노화과정에 관한 생물학적 이해를 크게 도울 수 있을 것이다. 그뿐 아니라 이분야의 연구는 더욱 효율적인 항암제 개발을 위한 새로운 therapeutic target의 발견을 가속화 시킬 것이며, apoptosis를 조절함으로써 항암치료의 효과를 높이고자 하는 여러가지 아이디어를 제공할 수 있을 것이다.

또한 세포주기조절인자들의 apoptosis 조절과정이 규명되게 되면 apoptosis에 의해 조직이 파괴됨으로써 발생하는 여러 가지 퇴행성 질환, 신경질환 및 ischemic diseases에 대한 새로운 치료법의 등장, 즉 세포주기 조절인자들을 효율적으로 자극 혹은 억제하여 apoptosis를 최소한으로 줄임으로써 조직손상을 최소화 시키도록 하는 분자의학적 치료법이 등장할 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

- Almasan A, Yin Y, Kelly RE et al:Deficiency of retinblastoma protein leads to inappropriate S-phase entry, activation of E2F-responsive genes, and apoptosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995;92:5436-5440.
- Bartek J, Bartkova J, Lukas J: The retinoblastoma protein pathway and the restriction point. *Curr Opin Cell Biol* 1996;8:805-814.
- Baskaran R, Dahmus ME, Wang JYJ:Tyrosine phosphorylation of mammalian RNA polymerase II carboxyl-terminal domain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993;90:11167-11171.
- Bates S, Vousden KH: p53 in signaling checkpoint arrest or apoptosis. *Curr Opin Genet Dev* 1996;6:12-18.
- Bortner DM, Rosenberg MP:Overexpression of cyclin A in the mammary glands of transgenic mice results in the induction of nuclear abnormalities and increased apoptosis. *Cell Growth Differ* 1995;6:1579-1589.

- Carr AM, Hoekstra MF: The cellular responses to DNA damage. *Trends Cell Biol* 1995;5:32-40.
- Chellappan S, Kraus VB, Kroger B et al: Adenovirus E1A, simian virus 40 tumor antigen, and human papillomavirus E7 protein share the capacity to disrupt the interaction between transcription factor E2F and the retinoblastoma gene product. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992; 89:4549-4553.
- Chellappan SP, Hiebert S, Mudryj M, Horowitz JM, Nevins JR: The E2F transcription factor is a cellular target for the RB protein. *Cell* 1991; 65:1053-1061.
- Chinnaiyan AM, Dixit VM: The cell-death machine. *Curr Biol* 1996;6:555-562.
- Daley GQ, Baltimore D: Transformation of an interleukin 3-dependent hematopoietic cell line by the chronic myelogenous leukemia-specific P210bcr/abl protein. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1988;85:9312-9316.
- Daley GQ, Ben-Neriah Y: Implicating the bcr/abl gene in the pathogenesis of philadelphia chromosome-positive human leukemia. *Adv Cancer Res* 1991;57: 151-184.
- Debbas M, White E: Wild-type p53 mediates apoptosis by E1A, which is inhibited by E1B. *Genes Dev* 1993;7:546-554.
- DeCaprio JA, Ludlow JW, Figge J et al: SV40 large tumor antigen forms a specific complex with the product of the retinoblastoma susceptibility gene. *Cell* 1988;54:275-283.
- Dyson N, Howley PM, Munger K, Harlow E: The human papilloma virus-16 E7 oncoprotein is able to bind to the retinoblastoma gene product. *Science* 1989;243:934-937.
- El-Deiry WS, Harper JW, O'connor PM et al: WAF1/CIP1 is induced in p53-mediated G1 arrest and apoptosis. *Cancer Res* 1994;54:1169-1174.
- Evans CA, Owen-Lynch PJ, Whetton AD, Dive C: Activation of the abelson tyrosine kinase activity is associated with suppression of apoptosis in hemopoietic cells. *Cancer Res* 1993;53:1735-1738.
- Ewen ME, Sluss HK, Sherr CJ, Matsushime H, Kato J, Livingston DM: Functional interactions of the retinoblastoma protein with mammalian D-type cyclins. *Cell* 1993;73:487-497.
- Field SJ, Tsai FY, Kuo F et al: E2F-1 functions in mice to promote apoptosis and suppress proliferation. *Cell* 1996;85:549-561.
- Fraser A, Evan G: A license to kill. *Cell* 1996; 85:781-784.
- Freeman RS, Estus S, Johnson EM: Analysis of cell cycle-related gene expression in postmitotic neurons: Selective induction of cyclin D1 during programmed cell death. *Nature* 1994;12:343-355.
- Friend SH, Bernard R, Rogelj S et al: A human DNA segment with properties of the gene that predisposes to retinoblastoma and osteosarcoma. *Nature* 1986;323:643-646.
- Haffner R, Oren M: Biochemical properties and biological effects of p53. *Curr Opin Genet Dev* 1995;5:84-90.
- Hamel PA, Phillips RA, Muncaster M, Gallie BL: Speculations on the roles of RB1 in tissue-specific differentiation, tumor initiation, and tumor progression. *FASEB J* 1993;7:846-854.
- Hanish JP, Yanowitz JL, Lange T: Stringent sequence requirements for the formation of human telomeres. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994;91:8861-8865.
- Harley CB, Villeponteau B: Telomeres and telomerase in aging and cancer. *Curr Opin Genet Dev* 1995;5:249-255.
- Haviv I, Vaizel D, Shaul Y: The X protein of hepatitis B virus coactivates potent activation domains. *Mol Cell Biol* 1995;15:1079-1085.
- Heintz N: Cell death and the cell cycle: a relationship between transformation and neurodegeneration? *Trends Biochem Sci* 1993; 18:157-159.
- Hiebert SW, Blake M, Azizkhan J, Nevins JR: Role of E2F transcription factor in E1A-mediated trans-activation of cellular genes. *J Virol* 1991;65:3547-3552.
- Hoang AT, Cohen KJ, Barrett JF, Bergstrom DA, Dang CV: Participation of cyclin A in Myc-induced apoptosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994;91:6875-6879.

- Howes KA, Ransom N, Papermaster DS, Lasudry JGH, Albert DM, Windie JJ: Apoptosis or retinoblastoma: alternative fates of photoreceptors expressing the HPV-16 E7 gene in the presence or absence of p53. *Genes Dev* 1994;8:1300-1310.
- Hui R, Cornish AL, McClelland RA et al: Cyclin D1 and estrogen receptor messenger RNA levels are positively correlated in primary breast cancer. *Clin Cancer Res* 1996;2:923-928.
- Hunter T: Braking the cycle. *Cell* 1993;75:839-841.
- Hunter T: Solid-state protein networks. *Trends Cell Biol* 1996;6:254-255.
- Hunter T, Pines J: Cyclins and cancer. *Cell* 1991;66:1071-1074.
- Jacks T, Weinberg RA: Cell-cycle control and its watchman. *Nature* 1996;381:643-644.
- Kaelin WG, Krek W, Sellers WR et al: Expression cloning of a cDNA encoding a retinoblastoma-binding protein with E2F-like properties. *Cell* 1992;70:351-364.
- Kipreos ET, Wang JYJ: Reversible dependence on growth factor interleukin-3 in myeloid cells expressing temperature sensitive v-abl oncogene. *Oncogene Res* 1988;2:277-284.
- Kipreos ET, Wang JYJ: Differential phosphorylation of c-Abl in cell cycle determined by cdc2 kinase and phosphatase activity. *Science* 1990;248:217-220.
- Kipreos ET, Wang JYJ: Cell cycle-regulated binding of c-Abl tyrosine kinase to DNA. *Science* 1992;256:382-385.
- Ko LJ, Prives C: p53: puzzle and paradigm. *Genes Dev* 1996;10:1054-1072.
- Kranenburg O, Alex J, Zantema A: Cyclin D1 is an essential mediator of apoptotic neuronal cell death. *EMBO J* 1996;15:46-54.
- Lange T: Human telomeres are attached to the nuclear matrix. *EMBO J* 1992;11:717-724.
- Lee WH, Bookstein R, Hong F, Young LJ, Shew JY, Lee EYHP: Human retinoblastoma susceptibility gene: Cloning identification, and sequence. *Science* 1987;235:1394-1399.
- Lees JA, Buchkovich KJ, Marshak DR, Anderson CW, Harlow E: The retinoblastoma protein is phosphorylated on multiple sites by human cdc2. *EMBO J* 1991;10:4279-4290.
- Lowe SW, Jacks T, Housman DE, Ruley HE: Abrogation of oncogene-associated apoptosis allows transformation of p53-deficient cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994;91:2026-2030.
- Lukas J, Petersen BO, Holm K, Bartek J, Helin K: Deregulated expression of E2F family members induces S-phase entry and overcomes p16-mediated growth suppression. *Mol Cell Biol* 1996;16:1047-1057.
- Lydall D, Weinert T: From DNA damage to cell cycle arrest and suicide: a budding yeast perspective. *Curr Opin Genet Dev* 1996;6:4-11.
- Martin SJ, Green DR: Apoptosis and cancer: the failure of controls on cell death and cell survival. *Crit Rev Oncol* 1995;18:137-153.
- Marx J: How cells cycle toward cancer. *Science* 1994;263:319-321.
- McGahon A, Bissonnette R, Schmitt M, Cotter KM, Green DR, Cotter T: BCR-ABL maintains resistance of chronic myelogenous leukemia cells to apoptotic cell death. *Blood* 1994;83:1179-1187.
- McWhirter JR, Wang JYJ: Activation of tyrosine kinase and microfilament-binding functions of c-abl by bcr sequences in bcr/abl fusion proteins. *Mol Cell Biol* 1991;11:1553-1565.
- Mihara K, Cao XR, Yen A et al: Cell cycle dependent regulation of phosphorylation of the human retinoblastoma gene product. *Science* 1989;246:1300-1303.
- Moreno S, Nurse P: Substrates for p34cdc2: In vivo veritas? *Cell* 1990;61:549-551.
- Morgenbesser SD, Williams BO, Jacks T, Depinho RA: p53-dependent apoptosis produced by Rb-deficiency in the developing mouse lens. *Nature* 1994;371:72-74.
- Nevins JR: E2F: A link between the Rb tumor suppressor protein and viral oncoproteins. *Science* 1992;258:424-429.
- Ohtsubo M, Theodoras AM, Schumacher J, Roberts JM, Pagano M: Human cyclin E, a nuclear protein essential for the G1-to-S phase transition. *Mol Cell Biol* 1995;15:2612-2624.
- Pan H, Griep AE: Altered cell cycle regulation in the lens of HPV-16 E6 or E7 transgenic mice:

- Implications for tumor suppressor gene function in development. *Genes Dev* 1994;8:1285-1299.
- Peter M, Herskowitz L: Joining the complex: cyclin-dependent kinase inhibitory proteins and the cell cycle. *Cell* 1994;79:181-184.
- Peters G: Stifled by inhibitions. *Nature* 1994;371:204-205.
- Philip WH, Robert AW: Tumor suppressor genes. *Curr Opin Genet Dev* 1994;4:135-141.
- Poluha W, Poluha DK, Chang B et al: The cyclin-dependent kinase inhibitor p21 is required for survival of differentiating neuroblastoma cells. *Mol Cell Biol* 1996;16:1335-1341.
- Prives C, Manfredi JJ: The p53 tumor suppressor protein: meeting review. *Genes Dev* 1993;7:529-534.
- Qin XO, Livingston DM, Ewin M, Sellers WR, Arany Z, Kaelin WG: The transcription factor E2F-1 is a downstream target of RB action. *Mol Cell Biol* 1995;15:742-755.
- Reichel R, Kovacs I, Nevins JR: Activation of a preexisting cellular factor as a basis for adenovirus E1A-mediated transcription control. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1988;85:387-390.
- Reingold AL, Kane MA, Murphy BL, Checko P, Francis DP, Maynard JE: Transmission of hepatitis B by an oral surgeon. *J Infect Dis* 1982;145:262-268.
- Richon VM, Rifkind RA, Marks PA: Expression and phosphorylation of the retinoblastoma protein during induced differentiation of murine erythroleukemia cells. *Cell Growth Differ* 1992;3:413-420.
- Rolfe M, Beer-Romero P, Glass S et al: Reconstitution of p53-ubiquitylation reactions from purified components: The role of human ubiquitin-conjugating enzyme UBC4 and E6 associated protein (E6AP). *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995;92:3264-3268.
- Sherr CJ: Mammalian G1 cyclins. *Cell* 1993; 73:1059-1065.
- Sherr CJ, Roberts JM: Inhibitors of mammalian G1 cyclin-dependent kinases. *Genes Dev* 1995; 9:1149-1163.
- Slebos RJC, Lee MH, Plunkett BS et al: p53-dependent G1 arrest involves pRB-related proteins and is disrupted by the human papillomavirus 16 E7 oncoprotein. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994;91:5320-5324.
- Smith JR, Pereira-Smith OM: Replicative senescence: Implications for in vivo aging and tumor suppression. *Science* 1996;273:63-67.
- Sopta M, Gallie BL, Gill RM et al: The retinoblastoma protein and cell cycle. *Cancer Biol* 1992;3:107-112.
- Steller H: Mechanisms and genes of cellular suicide. *Science* 1995;267:1445-1449.
- Symonds H, Krall L, Reimington L et al: p53-dependent apoptosis suppresses tumor growth and progression in vivo. *Cell* 1994;78:703-711.
- Szekely L, Selivanova G, Magnusson KP, Klein G, Wiman K: EBNA-5, an Epstein-Barr virus-encoded nuclear antigen, binds to the retinoblastoma and p53 proteins. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993;90:5455-5459.
- Szekely L, Jiang WQ, Bulic-Jakus F et al: Cell type and differentiation dependent heterogeneity in retinoblastoma protein expression in SCID mouse fetuses. *Cell Growth Differ* 1992;3:149-156.
- Verma IM, Vogt PK: Oncogenes: 20 years later. *Genes Dev* 1995;9:1289-1301.
- Wang CY, Petryniak B, Thompson CB, Kaelin WG, Leiden JM: Regulation of the Ets-related transcription factor Elf-1 by binding to the retinoblastoma protein. *Science* 1993;260:1330-1335.
- Wang JYJ: Abl tyrosine kinase in signal transduction and cell-cycle regulation. *Curr Opin Genet Dev* 1993;3:35-43.
- Wang JY, Knudsen ES, Weich PJ: The retinoblastoma tumor suppressor protein. *Adv Cancer Res* 1994;64:25-85.
- Wang JYJ, McWhirter JR: Tyrosine-kinase-dependent signaling pathways. *Trends Cardiovasc Med* 1994;4:264-270.
- Weinberg RA: The retinoblastoma protein and cell cycle control. *Cell* 1995;81:323-330.
- Weintraub SJ, Prater CA, Dean DC: Retinoblastoma protein switches the E2F site from

- positive to negative element. *Nature* 1992; 358:259-262.
- Welch PJ, Wang JYJ:Abrogation of retinoblastoma protein function by c-abl through tyrosine kinase -dependent and-independent mechanisms. *Mol Cell Biol* 1995;15:5542-5551.
- Welch PJ, Wang JYJ:A C-terminal protein-binding domain in the retinoblastoma protein regulates nuclear c-Abl tyrosine kinase in the cell cycle. *Cell* 1993;75:779-790.
- White E:Death-defying acts: a meeting review on apoptosis. *Genes Dev* 1993;7:2277-2284.
- Whyte P, Buchkovich KJ, Horowitz JM et al: Association between an oncogene and an antioncogene: the adenovirus E1A proteins bind to the retinoblastoma gene product. *Nature* 1988;334:124-129.
- Williams GT, Smith CA: Molecular regulation of apoptosis: genetic controls on cell death. *Cell* 1993;74:777-779.
- Wu X, Levine AJ:p53 and E2F-1 cooperate to mediate apoptosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994;91:3602-3606.
- Wyllie AH:The genetic regulation of apoptosis. *Curr Opin Genet Dev* 1995;5:97-104.
- Yuan J:Molecular control of life and death. *Curr Opin Cell Biol* 1995;7:211-214.
- Zacksenhaus E, Bremner R, Jiang Z et al: Unraveling the function of the retinoblastoma gene. *Adv Cancer Res* 1993;61:115-141.