

APOPTOSIS

고신대학교 의과대학 미생물학교실
장 명 응

Apoptosis

Myung Woong Chang

Department of Microbiology, Kosin Medical College,
Pusan 602-702, Korea

서 론

최근 apoptosis란 말을 자주 듣게 되는데 이 말을 한마디로 표현하기는 어려우나 세포는 자기 스스로 죽을 수 있는 장치가 세포내에 예비되어 있으며, 세포의 죽음의 한 형태로서 이 기구를 이용한 “세포의 죽음”을 apoptosis라 한다. 이 말의 어원은 그리스어로 “αποπτωση”이며, apo(off : 벗어나다, 떨어지다)란 의미와 ptosis (falling : 떨어지다)란 의미를 가진 두 단어의 합성어로, 낙엽이 지거나 꽃이 지는 것과 같이 어디로부터 박리되어 떨어져 나가는 것을 뜻하는 말로 Hippocrates가 처음으로 사용하였다고 한다^{1 2 3)}.

Apoptosis란 세포의 죽음에 대한 개념을 의학에 도입하여 사용한 것은 1972년 Kerr, Wyllie, Currie등의 병리학자이며^{22 41)}, 이들은 세포가 괴사(necrosis)와는 다른 형태로 죽어가는 것을 관찰하고 이를 shrinkage necrosis(축소괴사)라고 하였다가 후에 세포분열과 대비되는 말로 apoptosis라 하였으나, 근년까지 주목받지 못하였었다. 그러나 최근들어 분자생물학적기법이 발전되면서 다세포생물의 분화발생과정이나

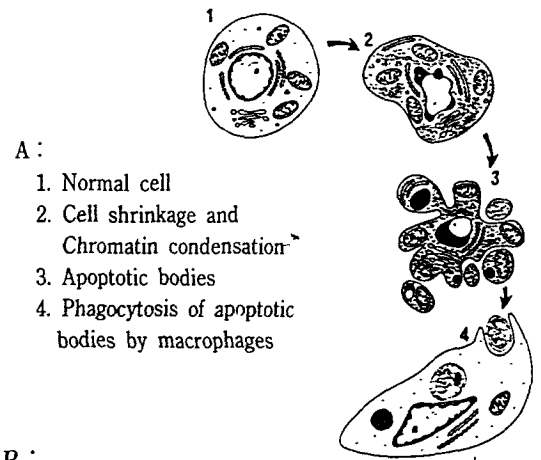
종양괴내에서 종양세포의 죽음 등 많은 세포들이 죽게되는 과정이 밝혀지면서 apoptosis에 대한 관심이 높아지게 되었다. 이에 Apoptosis의 정의, 생물학적 의미, 발생기전, 질병과의 관계 등에 관하여 문헌적인 고찰을 하고자 한다.

Apoptosis의 정의

Apoptosis에 대한 지금까지의 정의는 세포가 핵을 중심으로 일어나는 일련의 형태적 변화에 의한 형태적 정의와^{13 21)} 유전자 DNA의 nucleosome단위로 단편화되는 생화학적 변화에 따른 생화학적 정의의 두가지였으나(그림1)^{5 42)}, 이와같은 현상론적 정의는 불합리한 점이 많아 좀 더 본질적인 정의가 요망되어 왔다. 따라서 Apoptosis란 “세포가 스스로 여러가지 내외적인 정보를 종합적으로 판단하여 유전자에 의해 억제되어 있던 자살장치를 가동시킴으로서 세포가 죽게되는 과정”이며, 이를 한마디로 표현하면 “유전자에 지배된 세포의 죽음; programmed cell death”이라고 정의할 수 있다^{4 17 30 33 38)}.

이와는 달리 괴사는 정보가 돌발적이거나 과잉으로 들어오기 때문에 자살장치가 발동하지 못하고 수동적인 세포의 죽음이 일어나는 것이다. 따라서 괴사는 “유전자의 지배를 받지 않은 세포의 죽음”이라고 정의하고 있다^{7, 8, 42)}. 좀 무리가 있기는 하나 자기의 운명을 자기 스스로가 결정하여 죽는 자살의 경우가 apoptosis에 해당된다면, 타살에 해당되는 것이 괴사라고 할 수 있다.

유전자의 측면에서 유전변이체를 함유했거나 바이러스에 감염된 세포들과 같은 생체자신에게 해를 줄 수 있는 세포를 제거하기 위하여 apoptosis가 일어나는 것은 생명체를 유지하기 위해서는 매우 유익한 세포의 죽음이므로 *alt-ristic cell death*라 할 수 있다. 현재의 많은 다세포생물이 살아남아 있는 것은 이와같은 세포의 죽음이 있었기 때문이라고 하여도 과언이 아닐 것이다. apoptosis를 시공을 초월한 유전자의 전달이 “세포의 삶”이라고 하였을 때 “삶” 도중에 유전자의 죽음이나 유전자의 소실이 apoptosis라고 할 수 있다. 이 죽음은 새로운 유전자의 삶에 유리하게 작용하므로 이타적인 죽음이라 할 수 있다. 다세포 생물을 구성하고 있는 세포의 운명은 증식인자에 의하여 세포 분열을 거듭하여 증식되거나, 분화인자에 의하여 분화되어 특수한 기능을 부여받게 되며, 암화인자에 의하여 암세포로되어 암을 일으키는 것 뿐만 아니라 apoptosis인자에 의하여 스스로 죽을 수 있는 능력도 가지고 있다(그림 2)^{5, 38, 42)}. 세포가 과잉의 자극에 의하여 수동적으로 붕괴되는 과정인 괴사와는 달리 개체의 생명을 유지하기 위하여 유전자에 의해 제어되는 능동적인 세포의 죽음이 개체내에서 일어나고 있으며, 이와같은 자살이라고 할 수 있는 세포의 죽음이 apoptosis이다.



B:

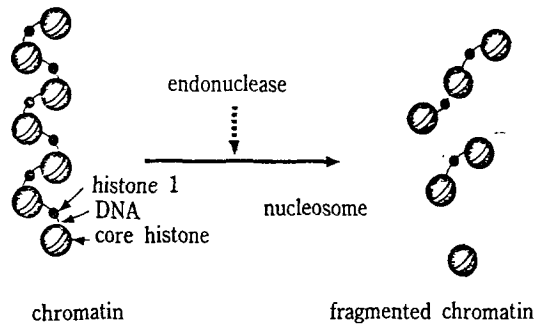


그림 1. Apoptosis의 특징인 세포형태(A) 및 DNA단편화(B)

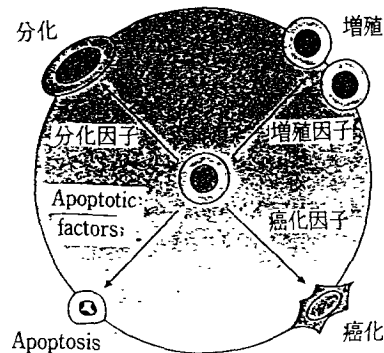


그림 2. 세포의 운명

그러나 이것은 세포가 스스로 자유롭게 죽을 수 있는 능력을 가진다는 의미라기보다는 각 세포는 세포사회의 일원으로 서로 정보를 주고 받으면서 살아가고 있으나 그 과정중 어떤 상황에서는 개체를 위하여 스스로 죽음을 택하게 되는 것이다. 따라서 apoptosis는 세포의 증식이나 분화, 암화 등과 같이 유전자에 의해 제어되는 일련의 현상이다. Apoptosis의 현상이 시간적으로 확실히 관찰되는 것은 배발생의 과정에서 볼 수 있는 신체의 형태형성과정이다. 예를 들면, 올챙이가 개구리로 될때 꼬리가 없어지는 것이나, 나비유충이 나비로 변태될때 유동운동을 하던 근육이 소실되는 것은 모두 apoptosis에 의한 것이다. 또한 손가락이나 날개의 형성시에도 손가락 사이나 날개 맥주위의 세포가 apoptosis에 의해 사멸되므로서 조각처럼 아름답고 정교한 날개의 형상이 이루어진다. 이와같이 Apoptosis는 발생과정중 뿐만 아니라 성숙개체에서도 정상적인 세포의 교체나 신경계의 유지, 내분비계에 의한 항상성 유지, 면역계의 다양성과 특이성의 성립 등에서 중요한 역할을 하고 있다(표 1)^{5, 17 30 33 38}.

표 1. Apoptosis 현상이 일어나는 경우

1) 생리적 현상 :

발생과정 : 형태형성, 변태, 신경계의 확립
정상세포의 교체 : 혈구세포, 표피세포, 소장이나 위의 상피세포
신경계 : 신경영양인자의 제거에 의한 신경세포의 죽음
내분비계 : glucocorticoid에 의한 흉선 세포의 죽음
androgen제거에 의한 전립선 세포의 죽음
면역계 : 자기면역세포의 세포의 죽음
세포상해성 T세포에 의한 종양 세포의 죽음

2) 병리적 현상 :

방사선 : 방사선에 감수성이 높은 흉선 세포의 죽음
virus감염 : AIDS나 influenzae virus에 감염된 세포의 죽음
암 : 암조직내에서의 종양세포의 죽음
약물,독물 : 제암제나 세균독소에 의한 세포의 죽음
열 : 온열요법을 받은 종양세포의 죽음

Apoptosis의 생물학적 의의

Apoptosis는 개체의 일생 중 즉 수정에서 성숙 후 노화까지의 복잡한 생명현상에 깊이 관여하고 있음이 확실하다. 이 기전에 이상이 생기면 기형, 암, 면역부전등의 다양한 질환의 원인이 된다는 것이 지적되고 있다. 이와같은 apoptosis 생물학적 의의는 크게 두가지로 생각해 볼 수 있다. 그 첫째는 발생과정이나 성숙한 개체에서 불필요하게된 세포를 제거하는 생체 제어기전으로서의 역할이고, 둘째는 돌연변이나 장애를 받아 이상이 생긴 유해한 세포를 적극적으로 배제하는 생체 방어기전의 역할이다. 이와같은 기능을 생각해 보면, apoptosis의 본질은 세포의 자기 소거기전이라고 할 수 있다. 이기전에 의하여 처음으로 세포사회의 통제가 이루어질 수 있었으며, 궁극적으로는 유전자형의 변이세포를 제거하므로써 종의 보존이 가능하게 되었다고 생각된다. 또한, 세포는 손상을 수복하는 능력을 갖추고 있으나, 개체의 존속, 종의보존에 있어서 위험성이 있는 이상세포는 수복하기보다는 차라리 스스로 죽는 방법을 택하는 것이 생체에 더 안전할 수도 있을것이다. 이와같은 견지에서 생각하면, apoptosis는 죽는다는 것 보다는 차라리 삶의 갱신을 위하여 다세포생물이 진화의 과정에서 획득한 삶의 전략이라고 생각된다. 생물의 종을 불문하고 다같이 존재하는 죽음의 기구를 세포가 활용하고 있는 것이 apoptosis에 의한 개체의 생명을 보장하는 것이며, 종의 보존에 적당한 방법이라고 생각된

다 4. 17. 30. 33).

표 2. Apoptosis의 생물학적 의의 및 기능과 이상

1) 생물학적 의의		
생체 제어	— 불필요한 세포 제거 — 개체의 유지 — 종의 보존	
생체 방어	— 이상 세포의 제거 — 개체의 유지 — 종의 보존	
2) 기능과 이상		
	수정 → 성숙 → 노화	
정상: 생체 제어	— 형태형성 — 내분비계에 의한 항상성 — 정상적 세포 교체	
	신경회로망의 형성 — 면역계의 성립 — 신경계의 유지	
생체 방어	— 암세포의 제거 — virus감염세포의 제거	
이상: 억제	— 기형 — 자기면역질환 — 암	
항진	— 신경변성 질환 — 면역 부전 — 조직의 위축	

Apoptosis와 necrosis의 차이점

세포의 죽음은 현재 apoptosis와 necrosis로 대별되지만 어느것이나 현상론적인 정의이므로 연구자에 따라 견해에 다소의 차이가 있으나 이 양자의 특징을 비교하면 표 3과 같다.

표 3. Apoptosis와 necrosis의 차이점

	Apoptosis	Necrosis
요 인	생리적, 병리적 hormone이상, 성장인자의 제거, 세포상해성 T세포의 공격. HIV감염, 방사선, 온열, 제암제	병리적, 비생리적 화상, 독물, 허혈, 보체공격 용해성 virus감염, 과잉의 약물투여나 방사선조사
과 정	세포체적의 축소 세포표면의 미용모소실 endonuclease활성에 의한 DNA손상 nucleosome 단위의 DNA 단편화 chromatid의 응축 세포의 단편화	mitochondria, 소포체의 팽윤 ion 수송계의 붕괴, ATP결손 free radical에 의한 막 손상 DNA의 임의적(random)분해 세포의 팽윤과 용해 세포내용물의 유출
특 성	조직내에서 산재적으로 발현 단시간에 단계적으로 진행 능동적 자괴과정	조직내에서 일제적 발현 장시간에 점진적으로 진행 수동적 붕괴과정
조직반응	비염증반응, phagocytosis of apoptotic bodies	염증반응
세포사망	유전자에 지배된 죽음	세포사망 유전자의 지배를 받지 않은 죽음

Apoptosis된 세포를 주사전자 현미경으로 관찰하면 세포표면에 존재하는 미음도가 소실되어 표면이 평활하게 되고, 세포체적이 감소(70%)한다. 투과전자현미경으로 관찰하면 핵내의 chromatin의 망상구조가 없어지고 핵막 주변에 반달모양으로 응축된 것을 볼 수 있다. 응축된 chromatin은 단편화되어 세포막으로 둘러싸여 혹과 같은 돌기로 불거져나와 떨어져 나오므로써 세포자체가 단편화되어 apoptotic body를 형성하고, 이 apoptotic body는 대식세포등에 의해 탐식되어 제거된다.

생화학적 특징으로는 형태학적인 변화보다 앞서 세포내 Ca^{++} 농도가 증가된후 apoptosis의 특징인 chromatin DNA가 nucleosome 단위로 단편화되어 응축된다. 이 단편화는 50 - 200Kb 로 잘라진 후 nucleosome(180bp) 단위로 단편화되는 2단계 과정으로 진행된다. Apoptosis의 진행시간에 비례해서 nucleosome의 단량체 또는 이량체의 짧은 DNA 단편의 비가 증가되며, 완전한 단량체가 될때까지 진행되는 것이 아니고, 어느정도의 상태에서 정지된다^{3, 4, 5, 31}.

Apoptosis는 핵에 현저한 변화가 일어나지만, 세포질중의 소포체들은 대부분 정상으로 존재한다. 이 과정은 많은 경우 RNA합성이나 단백질합성 저해제를 첨가하면 억제되는 것으로 보아 새로운 인자의 합성을 필요로하는 energy의 존성과정도로 생각된다. 이와같은 견지에서 apoptosis는 고도로 제어되고 있는 세포사망의 기전임을 알 수 있다. Apoptosis는 세포가 apoptotic body로 단편화되는 것만으로 세포의 내용물이 유출되지 않으므로 염증반응은 보이지 않으며, 인근의 조직세포는 정상적인 상태를 유지하게되고 apoptosis된 세포만 제거된다. 한편, 괴사의 경우에는 세포의 용해에 따라 유출된 세포 내용물에 의해 백혈구가 모여들게 되므로 조직주위에는 염증반응이 일어나는 특징을 나타낸다.

Apoptosis의 요인

Apoptosis의 요인으로서는 hormones이나 cy-

tokines 등에 의한 정보와 성장인자의 제거등의 생물학적 요인 외에도 방사선이나 열 등과 같은물리적 요인 또는 약물등과 같은 화학적 요인도 있다. 이와같은 다양한 정보를 세포자신이 스스로 종합 판단하여 세포내에 내장된 자살장치를 가동시켜 apoptosis를 일으킨다. 한편 괴사는 화상, 독물 허혈, 보체공격, 용해성 virus감염 등의 요인에 의해 일어난다. 이들 요인 중에는 apoptosis를 일으키는 것들도 있다. 이와같은 현상은 세포의 죽음을 유도하는 여러 가지 생리학적 또는 병리학적 요인의 차이에 따라 apoptosis나 괴사를 구별할 수는 없다는 것을 시사한다. 세포의 죽음에 있어서 apoptosis나 괴사의 어느 경과를 거칠까는 그 요인의 종류외에 그 자극의 정도나 세포의 상태에 의존하는 것으로 보고있다. 자극은 정(positive)과 부(negative)가 있으며, 예를 들면 hormone자극의 과잉과 부족, 열의 높고 낮음에 따라 서로 다르다^{4, 9, 16, 17}.

Apoptosis의 유도기전

Apoptosis의 분자생물학적 기전은 아직 불분명한 점이 많으나, 편의상 apoptosis의 진행과정을 3단계로 나누어 볼 수 있다.

- 1) 여러가지 정보전달에 의한 apoptosis의 유도과정 :
- 2) 세포상호간에 정보전달에 따라 apoptosis를 유발시키는 과정 : 이 두과정은 정보의 종류나 세포의 종류와 상태에 따라 다양성이 있다.
- 3) apoptosis가 가역적인 상황에서 불가역적인 상황으로 이행되어(point of no return) apoptosis가 실행되는 과정 : 주로 DNA의 단편화를 중심으로 하여 공통적인 현상이 나타나므로 아마도 하나의 공통적인 경로를 밟는것으로 생각된다.

1) apoptosis의 유도기전 : Apoptosis를 유도할 수 있는 제1차 정보의 대부분은 세포막상의 특이적인 receptor를 매개로 세포내에 죽음의 정보를 전달한다^{9, 11, 16}. 예를 들면, TNF, Fas

ligand는 각각의 특이적인 receptor를 매개로 apoptosis의 정보를 세포내로 전달한다. 그러나 세포내 정보전달계가 G-protein등과 같이 살아 있을 때의 경로를 이용하는지, 아니면 별도의 apoptosis 특유의 미지의 이차 정보전달계를 이용하는지는 아직까지는 불분명하다. Apoptosis를 일으키는 정보로는 이외에 glucocorticoid, virus감염이나, 세포의 증식과 분화에 필요한 interleukins, erythropoietin 등의 cytokines이나 신경성장인자나 증식인자, 영양인자의

제거등과 같은 생리적정보의 변화에 의하여 apoptosis가 유도된다. 그러나 방사선, 열, 제암제, calcium ionophores 등의 비생리적인 stress에 의하여도 유도된다. 한편, 내적인 유도 요인으로서 세포의 상태(증식상, 분화상)에 따른 세포내 Ca^{++} 농도, 핵산대사, 아미노산대사, energy대사 등의 변화에 의해서도 유도도 된다. 이와같이 apoptosis의 요인은 다양할 뿐만 아니라 그 정보전달 과정도 다양하고 복잡하다(그림 3).

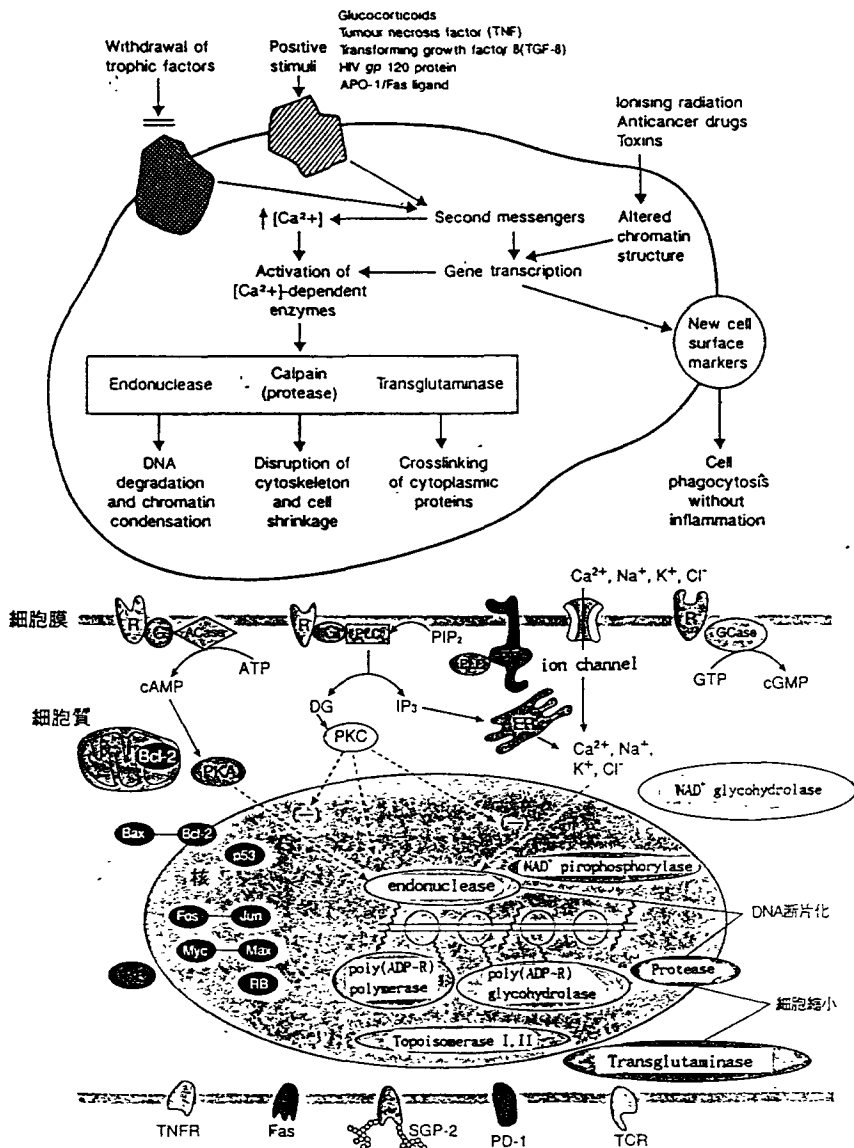


그림 3 Apoptosis의 분자생물학적 유도 기전

2) Apoptosis의 결정기전 : Apoptosis를 제어하는 유전자가 최근에 몇 가지 보고되어 있으며, 흥미있는 것은 그 대부분이 암고나련유전자(발암유전자, 암억제유전자)이다. 이들 암관련 유전자 산물에 의하여 apoptosis가 제어된다는 것에 대한 분자수준에서의 해명이 중요하다. c-myc유전자 산물인 myc protein은 증식에 필요한 유전자의 전사억제인자로 작용하며, 세포를 Go/G1기에서 S기로 이행시키므로써 세포증식을 바로 억제시키는 것으로 이해되어 왔다. 그런데 최근에 c-myc의 발현에 의하여 apoptosis가 유도된다는 보고가 있어, c-myc은 apoptosis를 촉진한다는 정반대의 기능이 있음이 밝혀지게 되었다.^{11, 17, 18, 19, 20}(그림 4)

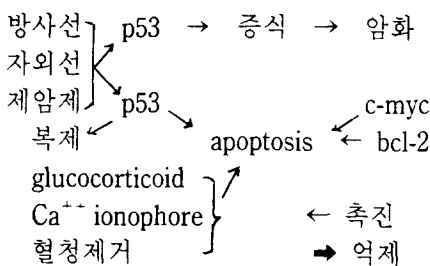


그림 4. 암관련 유전자와 apoptosis

p53은 발견당시는 발암유전자로 생각되었으나, 전환능력을 가지고 있는 p53은 변이형이며, 정상적인 p53은 세포증식을 억제하는 능력을 가진 것으로 밝혀졌다^{19, 19}. p53이 결실된 백혈병 세포주에 야생형의 p53을 도입 발현시킨 세포는 G1기에서 정지한 후에 apoptosis가 유도되는 것을 볼 수 있다. p53을 완전 결실한 knock-out 마우스를 만들면, 이 마우스는 정상으로 발생하고 면역계에도 이상이 발견되지 않으며, glucocorticoid에 의한 apoptosis의 유도도 정상마우스와 같으나, 방사선이나 alkil화에 의한 apoptosis의 유도가 잘 일어나지 않는다. 이와같은 현상으로 미루어 apoptosis경로에는 p53을 매개로하는 경로와 매개로 하지 않는 경로의 두가지가 있음을 시사한다³⁵. p53의

기능은 DNA에 손상이 생기면 세포주기를 중지시키고 손상을 수복하는 시간을 확보하는 것으로 생각된다. 그러나 수복이 불가능할 경우에 apoptosis의 경로로 들어가도록 유전자를 작동시키는 것으로 추정된다. 따라서 p53은 apoptosis의 제어에 관여하는 유전자로 현재 주목받고 있다.^{19, 37, 39, 43}

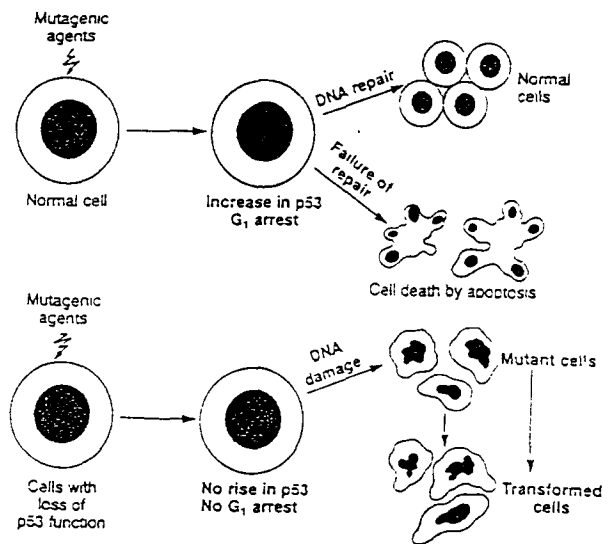


그림 5. 정상 및 변이된 p53역할

발암유전자로 발견된 bcl-2는 많은 발암유전자가 가지고 있는 세포증식의 촉진활성은 없고, 과잉발현은 대부분 apoptosis를 억제하는 것이 발견되어 주목되고 있다²¹. c-myc의 활성화에 따라 세포의 증식능이 높아지지만, 동시에 apoptosis에 빠질 위험도 높아진다. 이를 해소하여 암화로 유도하는 것이 bcl-2라고 생각하고 있다. 따라서 bcl-2가 apoptosis를 억제하는 기전은 bcl-2가 세포내막계에 존재하며, 항산화작용이 있으므로 활성산소의 포착이 가능할 것으로 생각하고 있으며, 세포내 Ca⁺⁺의 동원억제에 관여하는 것으로 추정된다^{12, 22, 37}.

3. Apoptosis의 실행기전 : apoptosis의 실행 과정은 DNA의 단편화를 중심으로하는 공통의

과정이 있는 것 같으며, 최종적으로 대식세포 등에 의한 apoptotic bodies의 탐식제거이다. 이 공통의 과정에 대한 분자생물학적 해석은 apoptosis의 전과정에 대한 분자생물학적 기전에 대한 이해가 있어야 가능하다.

Apoptosis에서는 세포내 Ca^{++} 농도의 상승과: Ca^{++} chelate, Zn^{++} 에 의해 apoptosis가 억제되는 것으로 보아 apoptosis의 endonucleases는 Ca^{++} 의존성이며, Zn^{++} 에 감수성인 효소일 것으로 추정된다. 여기에 가장 먼저 대두된 것이 Nuc 18이라는 이름의 endonuclease이다³⁹⁾. Nuc18은 백쥐의 흉선세포핵으로 부터 분리정제된 분자량 18kDa의 Ca^{++}/Mg^{++} 의존성 endonuclease이며, Zn^{++} 에 의해 활성이 저해되며, DNA의 절단양식은 아직 불분명하다. 다음으로 DNase I이며, DNase I은 원래 분비형의 endonuclease로 chromatin DNA를 약 10염기쌍으로 절단하는 효소이다. 그러나 apoptosis에서는 분비소포체내의 DNase I이 무엇인가의 cofactor와 결합하여 핵에 이행되어 DNA를 절단하는 것으로 추정된다^{29, 39)}. CHO세포에서는 DNase II와 유사한 산성 endonuclease가 apoptosis의 endonuclease인 것으로 추정되고 있다^{19, 26)}. 이외에 Ca^{++}/Mg^{++} 의존성²⁷⁾ 혹은 Ca^{++}/Mn^{++} 의존성²⁸⁾ endonuclease가 apoptosis의 endonuclease 후보로 주목되고 있다. 이와는 달리 새로운 endonuclease(DNase r)가 apoptosis를 유발시킨 백쥐와 소의 흉선세포핵에서 분리정제되었다. 이 효소는 Ca^{++}/Mg^{++} 의존성, Zn^{++} 고 감수성인 endonuclease이며, DNA 절단양식은 3'-OH/5'-P형이다^{6, 28, 36)}.

Apoptosis의 실행과정에서 어떤 종류의 protease가 관여하는지를 각종 protease 저해제를 사용하여 histone의 변화를 조사한바 Histone I이 선택적으로 분해되는 것을 알게되었다²⁷⁾. 이 분해는 serine protease 저해제에 의해 억제되며, DNA단편화도 저해되었다. 이외에 Ca^{++} 의존성 protease인 calpain, cysteine protease의 하나인 interleukin 1 β 변환효소가 관여된다

는 것이 보고되었다^{32, 33)}.

세포상해성 T세포에 의한 표적세포의 apoptosis 유발에는 세포질 단백질의 가교가 관찰되므로 이에 의하여 세포의 단편화와 apoptotic bodies의 안정화되는 것이 아닌가 추정되고 있다. Apoptosis에 의해 세포막에 출현하는 SGP-2(sulfaglycoprotein)은 보체와 결합하는 능력이 있으므로 apoptosis 세포가 보체의 공격을 받지 않는 것으로 생각된다^{7, 10)}.

Apoptotic body가 탐식세포에 의해 탐식제거되는 과정에서 탐식세포가 어떻게 이를 인식하느냐가 중요한 문제이다. Apoptosis를 일으킨 세포의 세포막 표면에는 당단백질의 당쇄구조에 현저한 변화가 초래되며, 새로운 단백질이 출현한다. 이와같은 세포막상의 변화는 apoptosis세포가 조직내에 유리되어 있을 때, 탐식세포에 의해 인식되는 과정에서 중요한 역할을 할 것으로 생각되고 있다^{7, 11)}.

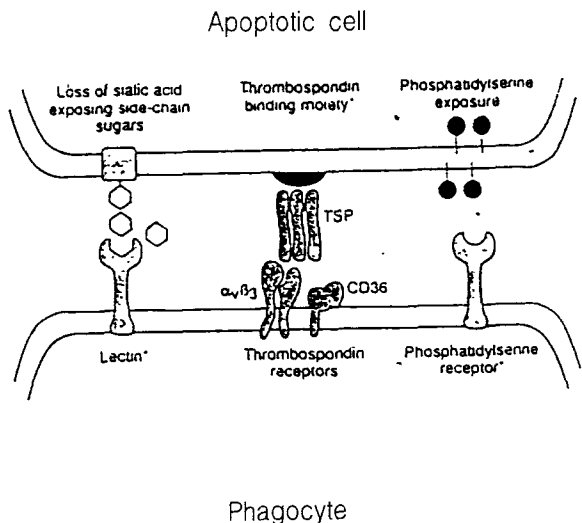


그림 6. Macrophage에 의한 apoptosis세포의 인식기전

표 4. Apoptois관련 단백질과 그 역할

단백질	세포내 존재 부위	기능
Apoptosis유도 물질		
Fas	세포막	Fas ligand 수용체
TNF-R	세포막	TNF 수용체
TCR	세포막	T세포 수용체
SGP-2	세포막	보체저해(sulfaglycoprotein)
PD-1	세포막	? (흉선에서 많이 발견)
Perforin	세포막	세포상해활성
Granzyme	세포질	세포상해활성(단백질분해)
fragmentin	세포질	세포상해활성(단백질분해)
Interleukin 1β	전환효소(ICE) 세포질, 핵	단백질분해
Euvichitin	세포질, 핵	단백질분해
Protease	세포질, 핵	단백질분해
NF-kB	세포질, 핵	전사억제
Fos	핵	전사억제
Jun	핵	전사억제
Myc	핵	전사억제
p53	핵	전사억제
E1A	핵	p53과 결합
RB	핵	세포주기조절
Cyclin D	세포질, 핵	세포주기조절
CDC2	세포질	세포주기조절
Endonuclease(DNase-r)	핵	DNA 단편화
transglutaminase	세포질, 핵	단백질가교
Apoptosis 억제		
Bcl-2	mitochondria내막 핵외막, 소포체막	활성산소포착(?) 림파구, 신경세포 에서 발견
Bcl-x	〃 〃	Bcl-2 유사단백질
Bax	세포질(?)	Bcl-2 결합단백질
LPM	세포막	Bcl-2생산증대
E1B	핵(?)	?

Apoptosis와 질병

Apoptosis는 기본적인 생명현상에 중요한 역할을 담당하는 것 뿐만 아니라 암, 자기면역 질환 등의 많은 질병의 발증에 깊이 관여하고 있음이 최근들어 명확히 밝혀지고 있다²⁸⁾. 질병의 본태를 apoptosis라는 관점에서 해석하므로써 새로운 치료약과 치료방법의 개발이 가

능하게 될 것으로 생각되어 앞으로 해결해야 할 중요한 연구과제중의 하나이다^{11 20 34 40)}.

1) 암

암의 발생과 성장에는 세포증식의 억제이상 이외에 apoptosis기구의 이상이 중요한 역할을 할 것으로 생각된다. 많은 종양세포는 c-myc의 발현이 높고, 이것이 세포증식의 촉진에 유리하게 작용하지만, 반면에 저혈청이나 방사선 등의 stress 상태에 약한 apoptosis에 빠지기도 쉽다³⁷⁾. 이와같은 상태에서 회피하는 역할이 bc1-2라고 생각된다. 정상상의 p53은 apoptosis의 유발과 관여하지만, 변이된 p53은 이 능력이 저하되어 있다²³⁾. 대장암을 위시하여 많은 암 환자에서 p53의 변이와 결실이 높은 빈도로 나타나고 있다.^{39, 40)} 이외에 Rb등의 암억제유전자의 변이와 결실이 많은 암에서 보고되고 있다⁴⁰⁾. 이와같이 apoptosis의 관점에서 암을 보면 암세포는 apoptosis의 억제기구를 가지고 있으므로 증식에서 우위성이 보장되므로써 발생하는 것이 아닌가 생각된다.

암의 치료법으로서 수술이외에 화학요법, 방사선요법, 온열요법 등이 있으나, 어느것이나, 종양세포에 apoptosis를 유발시키는 것이 작용기전으로 추측된다. 화학요법제로 이용되고 있는 5-fluorouracil 등의 대사길항제, cyclophosphamide 등과 같은 alkyl화제, pleomycin, adriamycin, DNA에 결합하는 Cisplatin 등은 어느 것이나 어떤 종류의 암세포에 apoptosis를 유도하는 것으로 보고되고 있다. 방사선요법은 X-선, r-선이 일반적으로 이용되고 있으나, 이와같은 전리밀도가 작은 방사선은 산소압이 높을수록 효과가 크게 나타난다(산소효과). 방사선가 작은 방사선은 산소압이 높을수록 효과가 크게 나타난다(산소 효과). 방사선에는 G2/M기나 G1기의 세포가 고감수성이며, S기 세포는 저항성이라는 것이 밝혀졌다. 방사선 조사에 의한 opotosis유발기전은 활성산소의 생성에 의한 것으로 생각되고 있다. 온열법에

서는 환부를 43-44°C로 가온함으로써 암세포에 apoptosis를 유발시킨다. 이 경우에 방사선과는 달리 저산소압의 경우가 더 효과적이며, S기의 세포가 감수성을 나타낸다. 따라서 방사선과 병용하면 양자의 결점이 보완되어 치료효과를 높일 수 있다^{8, 15)}.

2) 자기면역질환

자기면역질환은 systemic lupus erythematosus(SLE), rheumatoid arthritis, insulin의존성 당뇨병, 다발성경화증 등이 잘 알려져 있다(표 5). 이들 각 면역질환에서는 공격대상이 되는 조직이나 장기가 변이된 것이기 때문이다. 그 중요한 원인은 자기구성 성분이나 자기조직을 공격하는 자기반응성 T세포가 출현하였기 때문으로 생각된다. 자기반응성 T세포는 흉선에서 negative selection의 과정에서 apoptosis과정으로 제거된다. 그러나 무엇인가의 이상에 의하여 이 기구가 작동하지 못하므로 제거되지 않고 말초로 방출되어 자기에 대한 항체를 생산하는 것으로 생각된다. SLE와 유사한 증상을 일으키는 model mouse로 오래전부터 알려진 lpr변이 마우스는 fas를 code하는 유전자에 변이가 생긴 것이 밝혀졌다^{5, 8)}. Fas는 T세포의 apoptosis의 유도에 관여하는 중요한 세포막상의 receptor이므로, 이의 이상이 하나의 원인이 되어 흉선에서 negative selection이 일어나지 않는 것으로 생각된다. 자기면역질환은 광범위하게 보아야할 질병이므로 그 발병기전에 있어서도 apoptosis의 이상이 한 원인이 될 수 있을 것으로 생각된다. 또한 그 치료법에서도 자기면역성 T세포를 apoptosis의 기전으로 선택적으로 제거하든지, 아니면 그 활성화를 억제하는등의 연구가 뒤따라야 할것으로 생각된다.

표 5. 자기면역질환과 apoptosis

표적조직, 성분	질환
DNA	SLE
결합조직	rheumatoid arthritis
췌장β세포	insulin의존성 당뇨병
뇌, 척수	다발성 경화증
피부	건선

3) Virus 감염증

virus에 감염된 세포의 운명은 virus의 종류에 따라 다르다. 용해성 virus의 경우 감염된 세포는 기계적으로 파괴(용해), 괴사되어 사멸된다. 반대로 virus가 prophage로서 숙주세포 DNA에 삽입되어 세포가 증식성을 획득하여 암화되는 경우도 있다. 어떤 종류의 virus는 감염에 의해 숙주세포에 apoptosis를 유발시키는 것이 발견되었다. 이와같이 감염된 virus의 종류에 따라 세포는 죽거나 살거나하는 정반대의 운명에 처한다. HIV의 감염에 의하여 일어나는 AIDS는 중요한 문제이다. HIV가 가지고 있는 gp120 외피당단백질은 CD4+T세포의 표면에 있는 CD4분자와 특이적으로 결합하므로 감염이 성립된다. HIV를 생산하는 producer세포는 비감염 T세포와의 사이에 gp120과 CD4 분자를 매개로 세포융합을 일으켜 다핵거대세포를 형성한다. 이와같이 많은 미감염 T세포가 사멸되므로, 면역기구가 파괴되어 면역부전이 되는 것으로 알려져 있다^{8, 24, 25)}.

Burkitt's lymphoma나 상인두암의 원인이 되는 EB virus는 B세포에 감염되어 B세포를 암화한다. 이때, apoptosis를 억제하는 bcl-2의 발현을 유도하는 것이 밝혀졌다. 이 기전에 의하여 EB virus는 감염된 세포를 apoptosis로 부터 피할 수 있게 함으로써 암화되는 것으로 생각된다^{23, 43)}. Adenovirus의 경우는 virus가 가지고 있는 EIA나 EIB라는 암유전자가 주요한 역할을 하는데, EIA를 단독으로 발현시킨 세포는 세포의 증식능력이 증가되나, 완전히는 불사화

되지 않고, apoptosis가 유도되어 죽게된다. 그러나, 여기에 EIB가 활동을 하면 apoptosis가 억제되어 세포를 불사화 상태로 가게한다. 따라서 EIB는 bc1-2와 같이 apoptosis가 억제하여 세포를 불사화 상태로 가게하며, EIA의 발현에 의하여 세포의 증식성이 증가되어 세포가 암화로 가는 것이 아닌가 생각된다. 이는 c-myc나 bc1-2에 의한 발암기전과 같은 것으로 생각되며, 암화에는 세포의 높은 증식능의 획득과 apoptosis의 억제가 필요충분한 조건이라는 가설의 성립을 지지하게 한다^{24, 25, 42}.

표 6. virus 감염증과 apoptosis

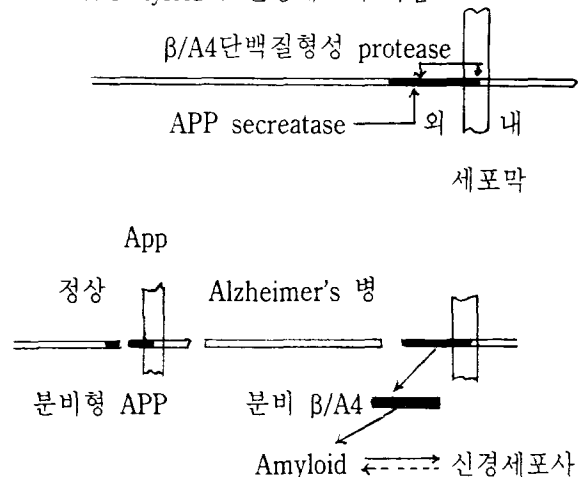
경로	virus	Diseases
Virus 감염 세포 (불사화) ↓ ↓ EIA ↓ Transformation(암화)	necrosis(용해) 용해성 virus	
	apoptosis촉진 HIV, Influenza	AIDS, Influenza
	apoptosis억제 EB virus	Burket lymphoma
	Adenovirus	인후두암
	human papiloma virus	호흡기감염증
	Human T lymphomavirus	자궁경부암 성인T세포백혈병

4) 신경변성질환

뇌는 전신의 조직중에서 산소소비량이 많고, 다량의 energy를 소비하는 장소이므로 허혈에 대하여 매우 취약한 신경세포사가 일어나기 쉽다. Alzheimer's 병이나, Parkinson's 병과 같은 신경변성질환은 대뇌의 신경세포가 이상으로 죽기 때문에 생기는 것으로 알려져 있다. Alzheimer's 병의 뇌는 위축되어 amyloid라고하는 단백질이 섬유상으로 침착하여 노인반이 나타나는 것이 특징이다. 이 amyloid섬유의 주위에는 변성된 신경돌기가 관찰되므로 이 amyloid 단백질이 신경세포사의 원인이 아닌가 생각하고 있다^{4, 8, 24}. Amyloid 섬유는 분자량 4000의 β /A4 단백질로서, 막결합형전구단백질인 amy-

loid protein precursor(APP)의 분해에 의하여 생기는 것으로 밝혀졌다. APP는 정상 경우에는 APP secretase에 의해 C말단의 세포외 부위가 절단되어 분비형으로 되지만, Alzheimer's 병의 경우는 세포외와 세포막의 별개의 2부위에서 절단되어 β /A4영역이 생성된다. 이 반응을 촉매하는 효소로 Cathepsin B 등이 보고되어 있다. Nerve growth factor(NGF)의 작용에 의하여 신경세포의 분화가 일어나는 것으로 알려진 PC12배양세포에 β /A4영역의 cDNA를 도입 발현시켜 NGF로 분화시키면 세포사가 유도된다. β /A4단백질에 의한 신경세포사의 기전은 아직 해명되지 않았지만, amyloid형성 이외에도 β /A4단백질 자체가 ionophore로서 작용하여 세포내 Ca^{++} 농도를 상승시키거나, 세포내정보 전달계의 하나인 G단백질공역계에 존재하는 Go단백질에 결합하는 것이 원인일 것으로 생각된다. 또한, β /A4단백질에 의한 amyloid형성이 반드시 신경세포사의 원인이 아니라, APP 대사이상에 의해 신경세포가 변성한 결과로서 amyloid가 축적되는 것도 생각해 볼수 있다. 다양한 병태에 따른 apoptosis의 관여에 대해서는 불분명한 점이 많으나, 연구가 진척되어 많은 업적이 쌓이면 분자수준에서의 해명이 가능할 것으로 생각된다.

표 7. Amyloid와 신경세포의 죽음



5. Apo-1항원

림프구의 성장조절 세포표면분자로 최근에 알려진 것이 Apo-1항원이다. 이 항원은 50kDa의 당단백질로 활성화된 사람 림프구, 사람의 악성림프종양 세포들, 백혈병 환자의 림프구들의 세포표면에서 발견된다. 사람 B-림프아세포종 세포인 SKW6.4를 면역접종하여 얻은 단클론 항체인 항-APO-1항체는 Apo-1에 친화력이 매우 높고, 적은 양으로도 Apo-1 양성세포들의 성장을 완전히 정지시킬 수 있다^{23, 37)}. 항-APO-1항체는 특이하게 활성화된 림프구나 림프계, 비림프계의 Apo-1 항원 양성세포들과 반응하여 이들 세포들의 성장을 저해하고, apoptosis를 유도한다. 그러나 TNF- α 를 생성하는 대식세포는 Apo-1항원 음성이므로 TNF 수용체는 아닌 것으로 추정된다.

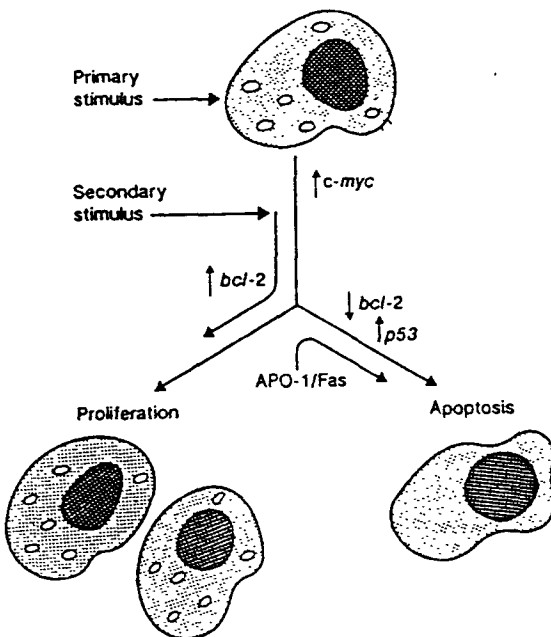


그림 6. 세포의 증식과 apoptosis

6. Apoptosis기구의 진화

Apoptosis의 과정에서 일련의 형태학적 변

화가 보이는데 하등이나 다세포생물인 선충종에 *Caenorhabditis elegans*(*C. elegans*)의 유전자지배에 의한 세포의 죽음은 apoptosis의 원형이라고 생각한다(그림 6)³⁸⁾. 그러나 이의 형태학적변화는 고등한 다세포생물인 포유류의 세포에서 볼 수 있는 전형적인 apoptosis와는 몇가지 상위점이 있다²²⁾. *C. elegans*에서는 죽음의 결정단계에서 *ces-1*, *ces-2*, *egl-1*이라는 유전자가 작동하여 *ced-9*의 발현에 조절역할(on/off)을 하는 것으로 추정된다. 흥미있는 것은 *ced-9*는 고등동물의 apoptosis를 억제하는 것으로 알려졌다며, 발암유전자 *bcl-2*의 유전자산물(*Bcl-2*)와 23%정도 상동성을 가지고 있다. 세포의 죽음에 직접관여하는 유전자로는 *ced-3*, *ced-4*가 있다. 이 두 유전자의 발현을 억제하는 것이 *ced-9*이다. 최근 *ced-3*은 *ced-4*가 있다. 이 두 유전자의 발현을 억제하는 것이 *ced-9*이다. 최근 *ced-3*은 cystine protease의 일종으로 사람의 interleukin 1 β 변환효소(ICE) 유전자와 상동성(28%)이 있는 것으로 알려졌다. 한편, *ced-4*는 Ca^{++} 결합 단백질일 것으로 추정된다. 죽은 세포는 최종적으로 인접세포에 의해 탐식 제거되며, 이 과정에 관여하는 유전자로는 *ced-1, 2, 5, 6, 7, 8, 10* 등이 알려져 있다. 탐식한 세포에서 죽은 세포의 처리에 관여하는 유전자로서는 *nuc-1*이 있다. 이 유전자에 code된 단백질은 DNA를 분해하는 것으로 생각되는 Ca^{++}/Mg^{++} 의존성 endonuclease와는 달리 Ca^{++} 비의존성이다. 여기에서 알 수 있는 바와같이 *C. elegans*의 경우에 죽은 세포의 DNA의 분해는 탐식한 세포내의 *nuc-1*에 의하여 행하여지는 반면에 고등동물의 apoptosis에서는 apoptosis세포자신이 가지고 있는 endonuclease에 의하여 단편화된 후에 탐식된다는 것이 큰 차이이다. 물론 *C. elegans*에서는 apoptotic body가 관찰되지 않는다.

*C. elegans*에서 유전자지배에 의한 세포의 죽음의 형태학적 변화는 확일적으로 진행되지만, 포유류세포에서는 apoptosis 유도인자가 작

동하여도 그 단계에서는 아직 가역성이 있으며, 결정된 직후에도 형태학적 변화가 관찰되지 않으나 그 후 시간이 경과되면서 apoptosis의 특징적인 세포의 위축과 핵의 응축이 관찰된다. 이와같은 변화는 세포의 종류와 상태에 따라서 공통적인 세포형태가 관찰됨으로써 고도로 통제되는 어떤 공통의 분자기전이 작동하고 있을 것으로 추정된다.

C. elegans로 부터 포유류까지의 사이에 있는 생물에서 세포의 죽음에 대한 기전의 진화적인 측면의 연구는 없으나, 세포의 죽음에 관여하는 기전은 계통발생상 아주 옛날부터 존재하였으며, 생물개체의 생명유지에 있어서 세포분열과 같이 필수적인 기능으로써 중요한 역할을 할 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

1. 김인경, 심봉섭 : 아포투토시스(Apoptosis) I, Medical Postgraduates, 5 : 237-22, 1992.
2. 김인경, 심봉섭 : 아포투토시스(Apoptosis) II, Medical Postgraduates, 6 : 301-316, 1992.
3. 田沼晴一等 : アポト - 実験シスプロト-ル, 秀潤社, 東京, p 1-30, 1994.
4. 田沼晴一 : アポト - シス - 細胞の生と死 - 東京大學出版會, 東京, 1994.
5. Arends MJ, Morris RG, Wyllie AH: Apoptosis: The role of the endonuclease. Am J Pathol, 136:593-601, 1990.
6. Barnes DM: Cells without growth factors commit suicide. Science, 242:1510-1511, 1988.
7. Bettuzzi S, Hipakka RA, et al: Identification of an androgen-repressed mRNA in rat ventral prostate as coding for sulphated glycoprotein 2 by CDNA cloning and sequence analysis. Niochem J, 257:293-296, 1989.
8. Bissonette RP, Zcheverri F, et al: Apoptotic cell death induced by C-myc is inhibited by bc1-2. Nature, 59:552-554, 1992.
9. Brown DG, Sun XM, Chen GM: Dexamethasone-induced apoptosis involves cleavage of DNA to large fragments prior to internucleosomal fragmentation. J Biol Chem, 268:3037-3097, 1993.
10. Buttyan R, Olsson CA, et al: Induction of the TRPN-2 gene in cells undergoing programmed cell death. Mol Cell Biol, 9:3473-3481, 1989.
11. Carson DA, Ribeiro JM: Apoptosis and disease. Lancet, 341:1251 - 1254,
12. Clarke AR, Purdie C, et al: Thymocyte apoptosis induced by p53 dependent and independent pathways. Nature, 362 : 849-852, 1993.
13. Cohn JJ: Overview: Mechanisms of apoptosis Immunol Today, 14 : 126-130, 1993.
14. Compton MM : Cancer Metastasis Rev, 11 : 105-119, 1992.
15. Cougeon ML, Montagnier L : Apoptosis in AIDS. Science, 260 : 1269-1270, 1993.
16. Duval E, Wyllie AH : Death and the cell. Immunol Today, 7 : 115-119, 1986.
17. Ellis RE, Yun J Horvitz HRA, Rev Cell Biol, 7 : 115-119. (Cited from 3)
18. Evan GI, Wyllie AH et al : Induction of apoptosis in fibroblasts by c-myc protein, Cell, 69 : 119-128, 1992.
19. Gaido ML, Cidlowski JA : Identification, purification, and characterization of a calcium-dependent endonuclease(NUC18) from apoptosis rat thymocytes. J Biol Chem, 266 : 18580-18585, 1991.
20. Cinsberg D, Michael-Michalovitz D, Oren M : Induction of growth arrest by a temperature-sensitive p53 mutant in correlated with increased nuclear localization and decreased stability of the protein. Mol Cell Biol, 11 : 582-585, 1991.
21. Golstein P, Ojcius DM, Young JD : Cell death mechanisms and the immune system. Immunol Rev, 121 : 29-65, 1991.
22. Kerr JFR, Wyllie AH, Currie AR : Apoptosis; a basic biological Phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. Br J Cancer, 26 : 239-257, 1972.

23. Kohler HR, Dhein J, et al : Ultrastructural analysis of apoptosis by the monoclonal antibody anti-Apo-1 on a lymphoblastoid B cell line(SKW6.4). *Ultrastruct Pathol*, 14 : 513-518, 1990.
24. Levine AJ, Momand J et al : The p53 tumor suppressor gene. *Nature*, 351 : 452-456, 1991.
25. Martin DP, Ito A, et al : Biochemical characterization of programmed cell death in NGF-deprived sympathetic neurons. *J Neurobiol*, 23 : 1205-1220, 1992.
26. Mattson MP, Cheng B, et al : Beta-amyloid peptides destabilize calcium homeostasis and render human cortical neurons vulnerable to excitotoxicity. *J Neurosci*, 12 : 376-389, 1992.
27. McConkey Dj, Sten O, et al : Cellular signalling in programmed cell death(apoptosis). *Immunol Today*, 11 : 120-121, 1990.
28. Miura M, Zhu H et al : Induction of apoptosis in fibroblasts by IL-1 β -converting enzyme, a mammalian homolog of the *C. elegans* cell death gene *ced-3*. *Cell*, 75 : 653-660, 1993.
29. Nikonova LV, Bellesky IP, Umansky SR : Properties of some nuclear nucleases of rat thymocytes and their changes in radiation-induced apoptosis. *Eur J Biochem*, 215 : 893-901, 1993.
30. Peitsch MC, Polzar B, et al : *EMBO J*, 12 : 371-377, 1993.
31. Raff MC : Social controls on cell survival and cell death T cellmediated cytotoxicity. *Nature*, 356 : 397-400, 1992.
32. Robbins SL, Cotran RS, Kumar V : *Pathologic Basis of Disease*, 5 th ed, p. 17-21, Saunders, 1994.
33. Rouvier A, Lucciani MF, et al : Fas involvement in Ca⁺⁺ independent. *J Exp Med*, 177 : 195-200, 1993.
34. Saunders JW : Death in embryonic systems. *Science*, 154 : 605-612, 1966.
35. Savill J, Fadk V, et al : Phagocytosis recognition of cells undergoing apoptosis. *Immunol Today*, 14 : 131-136, 1993.
36. Shi YF, Glynn JM et al : Role for c-myc in activation-induced apoptotic cell death in T cell hybridomas. *Science*, 257 : 212-214, 1992.
37. Tanuma S, Shiokawa D : Multiple form of nuclear deoxyribonuclease in rat thymocytes. *Biochem. Biophys Res Commun*, 203 : 789-797, 1994.
38. Trauth BC, Klas C et al : Monoclonal antibody mediated tumor regression by induction of apoptosis. *Science*, 245 : 301-303, 1989.
39. Tsujimoto Y, Cossmann J et al : Involvement of the bcl-2 gene in human follicular lymphoma. *Science*, 228 : 1440-1443, 1985.
40. Umansky SR, J Therr Biol, 97 : 591-602, 1982.(Cited from 3.)
41. Vaux DL, Corry S, Adams JM : Bcl-2 gene promotes haemopoietic cell survival and cooperates with c-myc to immortalize pre-B cells. *Nature*, 335 : 440-442, 1988.
42. Watanabe-Fukunaga R, Brannon CI, et al : Lymphoproliferation disorder in mice explained by defects in Fas antigen that mediates apoptosis. *Nature*, 356 : 314-317, 1992.
43. Wyllie AH, Kerr JFR, Macaskill IAM, Currie : Adrenocortical cell deletion : The role of ACTH. *J Pathol*. 111 : 85-94, 1973.
44. Wyllie, AH : Glucocorticoid-induced thymocyte apoptosis is associated with endogenous endonuclease activations. *Nature*, 284 : 555-556, 1980.
45. Yonishi-Rouach Z, Resnitzky D, et al : Wild type p53 induce apoptosis of myeloid leukaemic cells that is inhibited by interleukin-6. *Nature*, 325 : 345-347, 1991.