

Stress-Activated MAP kinases의 기능과 조절

최의주

한효과학기술원 세포생물학실

머리말

생명체를 이루고있는 세포들은 끊임없이 여러 생리활성물질들 (예를들면, hormones, neurotransmitters, peptide growth factors), 혹은 그외 외부인자들에 의해 조절을 받고 있다. 이들 세포외부인자들이 갖고있는 여러 정보들은 세포내에 존재하는 특정한 signal transduction pathways를 통해 세포내부로 전달된다. 이와관련된 세포내 신호전달체계들 중 가장 널리 연구되고 있는 signaling pathway 중 하나는 mitogen-activated protein (MAP) kinase cascade이다. MAP kinase pathway는 세포외부로부터의 신호들을 세포내, 특히, 세포 핵으로 전달하여 gene expression 등을 조절하게된다. MAP kinase는 proline-directed protein kinase의 일종으로서, serine/threonine-proline을 포함하는 단백질들을 인산화시킬 수 있는 protein kinase이다. 최근, 새로운 종류의 MAP kinase 그룹들이 발견되고, 이에따른 MAP kinase들의 새로운 기능들이 밝혀짐에따라, 많은 관심을 모으고 있다. 현재, MAP kinase family에는 extracellular signal-regulated kinase (ERK) group, stress-activated protein kinase/c-Jun N-terminal kinase (SAPK/JNK) group, p38 kinase group등이 있다. 이들 각 그룹들은 각기 다른 경로를 통해 조절되고, 세포의 성장, 분화, 발생등에서 각기 특이적인 기능들을 수행할것으로 생각되어진다.

Extracellular Signal-Regulated Kinases (ERK)

척추동물세포에 존재하는 MAP kinases 중 가장 먼저 발견되어, 많은 연구가 이루어진 그룹으로서, 대표적으로 ERK1 (44 kDa), ERK2 (42 kDa) 등이 있다. epidermal growth factor 등 많은 세포조절인자들은 Ras의 활성화와, 그에따른 Raf-MEK-ERK pathway의 활성화를 통해 다양한 세포기능들을 조절하게된다. Ras의 target protein인 Raf는 인산화를 통해 활성화되는 것으로 알려져있으나, 어떤 protein kinase가 이 과정에 관여하는지는 분명치않다. 다만, protein kinase c-alpha에의해 Raf가 인산화될 수 있음이 알려져있다 (Kolch *et al.*, 1993). 활성화된 Raf는 serine phosphorylation을 통해 MAPK/ERK kinase (MEK)을 활성화시킨다. 활성화된 MEK는 dual specificity kinase로 작용하여, target protein인 ERK의 domain VIII의 TEY motif에 위치하는 threonine과 tyrosine을 인산화시켜, ERK를 활성화시킨다 (Ahn *et al.*, 1992; Kyriakis *et al.*, 1994; Sluss *et al.*, 1994; Lee *et al.*, 1994; Derjard *et al.*, 1994; Han *et al.*, 1994; Kallunki *et al.*, 1994). ERK는 여러 단백질들을 인산화시킬 수 있다. 예를들

어, p90^{rsk} (Blenis *et al.*, 1993), MAPKAP kinase (Minden *et al.*, 1994) 등의 downstream protein kinase들의 인산화뿐만 아니라, 여러 transcription factor들을 인산화시킬 수 있다. ERK pathway의 신호전달과정에서, ERK와 RSK는 활성화과정을 통하여 세포질에서 세포핵안으로 이동할 수 있는 반면, ERK의 upstream kinase들인 Raf, MEK는 여러 scaffold protein들과 결합하고 있기 때문에 활성화된 이후에도 세포질에 남아있게된다 (Chen *et al.*, 1992; Lenormand *et al.*, 1993; Gonzalez *et al.*, 1993; Gille *et al.*, 1992; Marais *et al.*, 1993). 세포핵으로 이동된 ERK는 핵내에 존재하는 여러 target protein들, 특히 transcription factor들의 인산화를 통하여 여러 유전자들의 발현을 조절하게된다 (Gille *et al.*, 1992; Marais *et al.*, 1993). 대표적인 예로는 Elk-1을 통한 c-fos의 발현조절을 들 수 있다. ERK에 의해 활성화될 수 있는 transcription factor중의 하나인 Elk-1은 SRE-binding factor (SRF)와 함께 c-fos promoter에 존재하고 있는 SRE (serum response element)와 결합함으로써 c-fos발현을 유도한다 (Herrera *et al.*, 1989; Gille *et al.*, 1995; Kortenjann *et al.*, 1994). 이러한 ERK 신호전달 과정을 통하여, mitogenic signal에 의한 c-fos의 발현이 이루어진다.

Stress-Activated Protein Kinases 와 p38 HOG1 Kinase

MAP kinase family의 새로운 종류로 최근에 stress-activated protein kinase (SAPK) 그룹 (Herrera *et al.*, 1989; Kortenjann *et al.*, 1994; Adler *et al.*, 1992) 과 p38 kinase (Han *et al.*, 1994) 이 발견되었다. SAPK는 c-Jun N-terminal kinase (JNK)와 동일한 protein kinase로서, 여러 isoform들이 존재한다. SAPK/JNK는 tumor necrosis factor, interleukin-1-beta 등의 proinflammatory cytokine들이나, 여러 stress성 자극 (X-선, 자외선, alkylating agents, heat shock, hypoxia, free radicals 등) 에 의해 활성화된다. 특정한 조건하에서는, Ras를 통하여 epidermal growth factor 등에 의해서도 부분적으로 활성화될 수 있다 (Kyriakis *et al.*, 1994; Sluss *et al.*, 1994; Derjard *et al.*, 1994; Pombo *et al.*, 1994; Cano *et al.*, 1994; Minden *et al.*, 1994; Coso *et al.*, 1995). p38 kinase는 SAPK/JNK의 경우와 유사한 조건들에 의해 활성화될 수 있다. yeast의 HOG1과 51 % 정도의 아미노산 배열 유사성을 갖고있어, p38은 척추동물세포에 존재하는 HOG1 counterpart으로 여겨진다.

SAPK와 p38 kinase도 ERK와 마찬가지로, upstream kinase들 (MAPKK, MAPKKK)에 의해 활성화된다. SAPK를 활성화시킬 수 있는 MAPKK로는 SEK (JNKK/MKK4와 동일한 효소) 이 알려져있으며 (Lin *et al.*, 1995; Derjard *et al.*, 1995; Sanchez *et al.*, 1994), p38 kinase에 대한 MAPKK는 MKK3와 MKK6가 있다 (Derjard *et al.*, 1995; Raingeaud *et al.*, 1996). 최근에는, small molecular weight G protein들 중 Raf family에 속하는 Rac1과 Cdc42가 SAPK/JNK group과 p38 kinase의 신호전달체계를 활성화시킬 수 있음이 밝혀졌다 (Minden *et al.*, 1995). Rac1과 Cdc42는 p21-activated kinase (p65^{PAK})를 활

성화시키고, 활성화된 $p65^{PAK}$ 는 MEKK-SEK-SAPK 또는 MAPKKK-MKK3/6-p38 cascade를 활성화시킨다. MKK3 혹은 MKK6를 활성화시키는 MAPKKK는 아직 확실치않다. 그러나, 최근에, TGF-beta에 의해 활성화가 유도될 수 있는 TAK-1이 MKK3/MKK6의 upstream kinase로 작용할 수 있다는 보고가 있다 (Moriguchi *et al.*, 1996). 활성화된 SAPK 혹은 p38 kinase는 특히 transcription factor들을 인산화시킬 수 있다. SAPK는 c-Jun, ATF2, Elk-1 등을 인산화시킴으로써, 이들 transcription factor들을 활성화시키는 반면에, p38 kinase는 ATF2를 활성화시킬 수 있다. 특히, SAPK는 c-fos 발현을 유도할 수 있는 TCF/Elk-1의 활성을 촉진시킬 수 있기 때문에, SAPK signaling cascade는 c-Jun과 c-Fos의 heterodimer로 구성된 AP-1의 중요한 활성조절기전으로 생각되어진다. 즉, 여러 stress 자극에 의해 AP-1이 활성화되는 현상을 설명할 수 있는 주된 작용기전이 될 수 있을 것이다.

SAPK / p38 kinase 와 Cell Death

SAPK 또는 p38 kinase cascade의 생리학적 기능은 아직 분명치않다. 그러나, SAPK와 p38이 다양한 종류의 스트레스에 의해 활성화될 수 있는 효소들이므로, 스트레스에 의해 발생하는 세포조직내의 여러 생리학적 현상의 조절기전에 SAPK와 p38이 중추적 역할을 할 것이라 추정할 수 있다. 특히, 이들 protein kinase들을 활성화시킬 수 있는 대부분의 스트레스들이 apoptosis를 유도할 수 있기 때문에, SAPK 또는 p38 kinase pathway가 apoptosis 조절기전에 깊이 관여될 것이라 생각된다. 이 점에 있어서, 최근에 발표된 PC12 세포에서의 apoptosis와 MAP kinase들과의 연관관계는 매우 흥미롭다. nerve growth factor (NGF) withdrawal에 의해 PC12세포의 apoptosis를 유도하게 되는 경우, 세포내에 존재하는 MAP kinase들 중 ERK는 survival signal, SAPK와 p38 kinase는 apoptotic signal로서 역할을 하고 있음이 발표되었다 (Xia *et al.*, 1995). 또한, 세포사멸에 관련된 대표적인 신호전달물질들중 하나인 ceramide에 의한 apoptosis인 경우에도, SAPK signaling cascade가 주된 역할을 하고있음이 발표되었다 (Verheij *et al.*, 1996). 또한, SAPK pathway의 negative regulator로 작용할 수 있는 sphingosine-1-phosphate는 ceramide-mediated apoptosis를 억제하였다 (Cuvillier *et al.*, 1996). 그러나, 아직 ERK/SAPK의 세포내 balance가 세포의 생존과 사멸을 결정짓는 중요한 인자로 작용 할 것인지의 여부는 분명치 않으며, 앞으로 이에대한 많은 연구가 요구된다.

p21(WAF1/CIP1/SDI1)에 의한 SAPK/JNK Signal 조절작용

염색체 손상을 유발시키는 여러 스트레스 자극들은 p53의 활성화를 통하여 p21의 유전자발현을 촉진시켜, 세포내의 p21단백질 농도를 높일 수 있다. p21 단백질은 그 기능상 두가지 중요한 생화학적 성질을 갖고 있다 (El-Deiry *et al.*,

1993; Harper *et al.*, 1993; Xiong *et al.*, 1993). 첫째로, p21은 cyclin-dependent kinases (CDK) 들에대한 강력한 억제제로 작용한다. 특히, 세포분열과정 중 G1/S 전환에 필요한 CDK2, CDK4/6 등의 활성을 억제함으로써, 세포성장을 억제한다. 둘째로, p21은 세포분열과정중 S phase의 DNA replication에 중요한 proliferating cell nuclear antigen (PCNA)의 기능을 차단할 수도 있다.

최근, p21(WAF1/CIP1/SDI1) 의 새로운 생화학적 기능이 발표되었다. 스트레스 자극에 의해 활성화된 SAPK에 대해 p21이 강력한 억제단백질로 작용할 수 있다는 것이다 (Shim *et al.*, 1996). CDK에 대한 억제기전과 유사하게, p21은 SAPK를 non-competitive mode로 억제한다. SAPK에 대한 억제효과와는 반대로, p21은 ERK group의 MAP kinase들에는 별 영향을 주지않음이 밝혀졌다. 즉, p21은 스트레스에 의해 활성화될 수 있는 MAP kinase들에 대해서만 억제효과를 나타낸다. 이런 p21의 새로운 기능은 CDK 억제단백질들의 공통적인 성질은 아닌 것 같다. 예를들면, CDK4 와 CDK6의 억제단백질인 p16^{INK4} 인 경우, SAPK는 p16에 의해 별 영향을 받지않았다.

SAPK를 활성화시키는 여러 스트레스 조건들은, 많은 경우 p21의 발현도 유도할 수 있다. 이와같이, 스트레스 자극에 의해 SAPK의 활성화와 더불어 p21의 발현이 증가되는 경우, 세포내 농도가 높아진 p21은 이미 활성화된 SAPK signaling pathway를 억제할 수 있을 것이다. 이와같은 p21에 의한 SAPK의 억제작용기능은 세포내 stress-activated signaling의 조절기전에 중요한 역할을 할 것으로 추측된다. 또한, p21의 SAPK에 대한 억제기능은 MAP kinase signaling pathway의 새로운 조절기전을 제시해주고 있다.

맺는말

세포외부인자들로부터의 여러 자극에 의한 신호전달과정에서 MAP kinase signaling cascade는 중추적 역할을 담당하고 있다. 현재까지, 척추동물의 MAP kinase family에는 ERK, SAPK, p38 kinase 등의 3 그룹이 알려져있다. 이들 각 MAP kinase member들은 유사하지만, 각기 다른 활성화과정을 통하여 그 신호전달체계가 조절되고 있다. 특히, 스트레스성 자극에 의해 활성화되는 SAPK/JNK pathway인 경우, Rac1/Cdc42-p65^{PAK}-MEKK-SEK-SAPK의 경로를 거쳐 그 신호전달이 조절된다. 이러한 phosphorylation/dephosphorylation에 의한 조절기전과는 별도로, p21을 통하여 SAPK pathway를 조절할 수 있는 새로운 조절기전이 최근 발표되었다. p21은 MAP kinase들 중 SAPK에 특이적으로 작용하므로, 각 MAP kinase member (ERK, p38, SAPK) 들의 세포내 역할을 연구하는데 있어 p21은 유용한 tool이 될 것이다. 또한, p21은 cell cycle, tumorigenesis, senescence등 여러 분야에 관여하므로, p21에 의한 SAPK 억제효과는 이들 분야 상호간의 연관관계 연구에 중요한 단서를 제공할 수 있을 것이다.

참고 문헌

- Adler, V. *et al.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:5341-5345, 1992.
- Ahn, N. G. *et al.* Curr. Op. Cell Biol. 4:992-999, 1992.
- Blenis, J. *et al.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5889-5892, 1993.
- Cano, E. *et al.* Mol. Cell. Biol. 14:7352-7362, 1994.
- Chen, R. H. *et al.* Mol. Cell. Biol. 12:915-927, 1992.
- Coso, O. A. *et al.* J. Biol. Chem. 270:5620-5624, 1995.
- Derijard, B. *et al.* Cell 76:1025-1037, 1994.
- Derijard, B. *et al.* Science 267:682-685, 1995.
- El-Deiry, W. S. *et al.* Cell 75:817-825, 1993.
- Gille, H. *et al.* Nature 358:414-417, 1992.
- Gonzalez, F. A. *et al.* J. Cell Biol. 122:1098-1101, 1993.
- Han, J. *et al.* Science 265:808-811, 1994.
- Han, J. *et al.* Characterization of the structure and function of a novel MAP kinase kinase (MKK6). **J. Biol. Chem.** 271:2886-2891, 1996.
- Harper, J. W. *et al.* Cell 75:805-816, 1993.
- Herrera, R. E. *et al.* Nature 340:68-70, 1989.
- Kallunki, T. *et al.* Genes & Dev. 8:2996-3007, 1994.
- Kolch, W. *et al.* Nature 364:249-252, 1993.
- Kortenjann, N. *et al.* Mol. Cell. Biol. 14:4815-4824, 1994.

- Kyriakis, J. M. *et al.* Nature 369:156-160, 1994.
- Lee, J. C. *et al.* Nature 372:739-746, 1994.
- Leevers, S. J. *et al.* Nature 369:411-414, 1994.
- Lenormand, P. *et al.* J. Cell Biol. 122:1079-1088, 1993.
- Lin, A. *et al.* Science 268:286-290, 1995.
- Marais, R. *et al.* Cell 73:381-393, 1993.
- Minden, A. *et al.* Mol. Cell Biol. 14:6683-6688, 1994.
- Minden, A. *et al.* Cell 81:1147-1157, 1995.
- Moriguchi, T. *et al.* J. Biol. Chem. 271:13675-13679, 1996.
- Pombo, C. M. *et al.* J. Biol. Chem. 269:26546-26551, 1994.
- Raingaud, J. *et al.* Mol. Cell. Biol. 16:1247-1255, 1996.
- Sanchez, I. *et al.* Nature 372:794-798, 1994.
- Shim, J. *et al.* Nature 381:804-807, 1996.
- Sluss, H. K. *et al.* Mol. Cell Biol. 14:8376-8384, 1994.
- Stokoe, D. *et al.* Science 264:1463-1467, 1994.
- Verheij, M. *et al.* Nature 380:75-79, 1996.
- Xia, Z. *et al.* Science 270:1326-1331, 1995.
- Xiong, Y. *et al.* Nature 366:704-707, 1993.