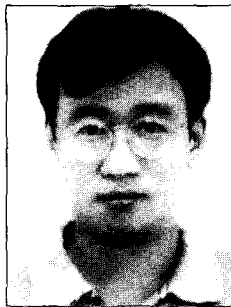


## 동물학 논문

### 신경세포 성장인자 (nerve growth factor, NGF)에 의한 신경돌기의 형성 기전



박재봉

1977-1981 서울대학교 생물교육과 (이학사)  
 1981-1983 한국과학기술원 생물공학과 (이학석사)  
 1986-1992 한국과학기술원 생물학과 (이학박사)  
 1993-1996 Howard Hughes Medical Institute (U. Washington, Seattle) 연구원  
 1983-현재 한림대학교 의과대학 생화학교실 (부교수)

가 1960년대 말에 발견된 이래 폭 넓게 연구되어 왔다. 최초로 증식된 뇌 세포 중의 일부는 죽게 되는데, 이때 세포 성장인자에 의해 자극된 세포들은 세포사멸을 거치지 않고 살아 남으며 신경세포는 세포분열이 끝나면 더 이상 증식되지 않는다. 신경세포 성장인자는 광범위한 역할을 하는데 (Table I), 예를 들면 신경전달 물질의 합성 및 방출, 시냅스 가성형 (plasticity), 시냅스 접촉의 안정화 등에 기여한다 (Landreth, 1999). 본 논문에서는 NGF에 의한 pheochromocytoma PC12 세포의 신경돌기 형성의 분화기전을 중심으로 NGF 기능을 살펴보고자 한다.

#### II. 본 론

##### 1. 신경세포 성장인자 수용체

신경세포 친화성 인자 (neurotrophin)는 두 종류의 수용체에 결합하여 신호를 전달하는데, 친화도와

#### I. 서 론

신경세포의 성장인자는 nerve growth factor (NGF)

Table I. Growth Factors Acting in the Nervous System

Growth factor	Receptor	Growth factor	Receptor
<b>Neurotrophins</b>			
Nerve growth factor	TrkA	<b>Transforming growth factor <math>\beta</math> superfamily</b>	TGF $\beta$ RI and R II
Brain-derived neurotrophic factor	TrkB		
Neurotrophin 3	TrkC		
Neurotrophin 4/5	TrkB		
<b>Neurokinins</b>			
Ciliary neurotrophic factor	CNTFR $\alpha$ + LIFR $\beta$ + gp130	<b>Epidermal growth factor superfamily</b>	EGFR
Leukemia inhibitory factor	LIFR $\beta$ + gp130	Transforming growth factor $\alpha$	EGFR
Interleukin(IL-6)	IL6 $\alpha$ + gp130	Neuregulins(GGF, ARIA, SMDF, etc.)	erbB2, 3, 4
Cardiotrophin 1	LIFR $\beta$ + gp130 + ?	<b>Other growth factors</b>	
<b>Fibroblast growth factors</b>			
FGF-1 (acidic FGF)	FGFR1-4	Platelet-derived growth factor	PEGFR $\alpha$ AND $\beta$
FGF-2 (basic FGF)	FGFR1-3	Insulin-like growth factor I	IGFRI

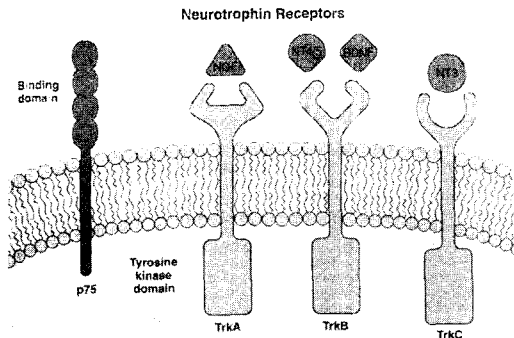


Fig. 1. Neurotrophin receptors. Neurotrophin family members bind specifically to cognate Trk receptors. The low-affinity neurotrophin receptor p75 promiscuously binds all of the neurotrophins. NT, neurotrophin: BDNF, brain-derived neurotrophic factor, NGF, nerve growth factor.

선택성이 낮은 p75<sup>NTR</sup>에는 여러 인자들이 결합하고 Trk수용체들에는 높은 친화력을 통해 특이적으로 특정인자가 결합한다. 예를 들어 NGF는 TrkA와 결합하고, brain-derived neurotrophic factor (BDNF)와 neurotrophin (NT)4/5는 TrkB와 결합하며, neurotrophin3 (NT3)은 TrkC와 결합한다. Trk 수용체는 neurotrophin과 결합하면 세포 내 도메인의 Tyr 잔기가 인산화된다 (Fig. 1). NGF를 교감신경절 (sympathetic ganglia)에 처리하면 극적으로 신경돌기가 형성된다. 또한 교감신경세포 및 분화 중에 있는 감각신경세포의 생존에도 필수적이다. TrkA는 140 kDa의 세포표면에 있는 단백질이며, cell body나 신경돌기에 위치한다. Tyrosine kinase 활성이 p75<sup>NTR</sup>의 sphingomyelin 가수분해 활성을 저해한다.

## 2. Caveolae를 통한 신호전달

Caveolae는 50-100 nm 정도의 크기를 가진 소포체 기관으로 세포막이나 세포막 근처에 존재한다. Caveolae는 여러 가지 세포기능에 필수적인 역할을 수행한다고 알려졌다. 즉 신호전달, 지질대사, 세포성장의 조절, 세포사멸과 같은 현상이 모두 caveolae와 연관되어 일어난다. Caveolae에서 주요한 단백질 구성성분은 caveolin 단백질족의 caveolin-1, -2, -3가 알려져 있다. Caveolin-2는 caveolin-1과 같은 조직에 분포하며, 시험관 내에서 caveolin-1과

hetero-oligomeric 복합체를 형성한다. 대조적으로 caveolin-3는 근육에 특이적인 단백질로 심장이나 뼈의 근육세포에서 발현한다. Caveolin족 단백질들은 베타 단백질로서 기능을 하여, cholesterol/glycosphingolipid 등과 같은 특정 지질이나 신호전달 분자들을 조직하고 농축시키는 일을 한다. Caveolin은 직접적으로 caveolae에 회합된 신호전달 분자들과 상호관계가 있다. 즉 H-Ras, heterotrimeric G-단백질, epidermal growth factor 수용체, protein kinase C, Src-family tyrosine kinase, nitric oxide synthase 등과 결합되어 있다. 많은 경우 이런 신호 분자들에 caveolin이 결합하면 이런 분자들의 효소활성이 효과적으로 저해된다. Caveolae와 caveolin-1은 v-Abl, H-Ras 등과 같은 oncogene의 활성화에 대응하여 조절되는 하위 단백질이다. 따라서 발암유전자의 형질전환으로 변화된 세포에 caveolin-1을 과발현시킬 경우 형질전환 억제자로서 이용 가능할 것이라 평가되고 있다. V-Abl, H-Ras로 형질전환된 NIH3T3 세포에 caveolin-1을 발현시키면, 이 세포의 무접착 증식을 사라지게 하고 caveolae 형성을 초래한다. 그러므로 caveolin-1과 caveolae를 낮게 발현시키는 것이 형질전환된 표현형을 유지시키는데 결정적이다. 이러한 관찰들에 근거하여 caveolae 신호전달 가설이 주장되었다. 즉 어떤 비활성의 신호전달 분자가 caveolae에 위치하면 활성화가 조절되며 다른 신호전달 경로와의 상호 대화를 매개해준다. 그러므로 caveolin은 특별한 caveolin 결합 motif의 인식을 통하여 많은 다른 종류의 신호전달 분자들의 negative 조절자로서 작용한다 (Smart *et al.*, 1999: minireview). 이러한 것들이 신경에서의 신호전달과도 관계가 있을까? Caveolin의 mRNA와 단백질은 northern blot이나 western blot을 통하여 조사해보면 실제로 뇌에서 잘 나타나지 않는다. 그래서 뇌에서는 caveolin이 발현되지 않는 것으로 생각되어 왔다. 심지어는 neuroblastoma 세포주에서도 관찰되지 않았다. 이는 세포의 형질전환 때문에 caveolin-1과 caveolae가 낮게 발현되기 때문이다. 최근에는 분화되는 PC12 세포와 dorsal root ganglion neuron에서 caveolin-1과 2의 발현이 이들의 항체를 이용하여 검사되었다 (Galbiati *et al.*, 1998). 이런 관찰을 뒷받침하기 위하여 caveolae-like domain이 neuron의 원형질막으로부터 tyrosine kinase 수용체와 함께

정제되었다. 여기에는 다른 단백질들 (즉 scrapie prion 단백질을 포함하여 insulin 수용체, neurotrophin 수용체, TrkB, p75<sup>NTR</sup> NGF 수용체 등)도 발견되었다. p75<sup>NTR</sup> NGF 수용체는 caveolae 막과 결합되어 있고 caveolin-1과 coimmunoprecipitation 된다. Caveolae와 저분자 GTP-결합 단백질인 Ras와의 관계가 최근에 보고되었다 (Roy *et al.*, 1999). Caveolin-1 단백질의 dominant negative mutant인 CavDGV는 H-Ras에 의하여 활성화되는 Raf의 활성화를 완전히 저해한다. 그러나 CavDGV의 저해효과는 세포막에 cholesterol을 보충해주면 완전히 회복된다. 반대로 막의 cholesterol을 고갈시키는 cyclodextrin을 처리하면 CavDGV 효과가 나타난다. 이러한 결과로 미루어 보아 caveolin은 cholesterol에 의해 이동되며, cholesterol이 풍부한 세포막 표면을 통하여 신호전달에 관여한다는 것을 알 수 있다 (Roy *et al.*, 1999).

### 3. NGF receptor와 caveolae의 관계

Caveolae의 표지 단백질인 caveolin은 p75<sup>NTR</sup>의 신호전달 부위에 위치하며, caveolin이 직접적으로 p75<sup>NTR</sup>과 결합한다. PC12 세포에 caveolin을 과발현시키고, NGF를 처리하면 PC12 세포의 neurite 형성이 일어나지 않으며, TrkA 활성의 크기와 작용 기간이 줄어드는데 이것은 caveolin과 TrkA의 직접적인 결합 때문에 일어난다. 실제로 caveolin과 TrkA는 coimmunoprecipitation되며, NGF에 의한 TrkA의 자가인산화 활성이 감소한다. Caveolin이 과발현된 PC12 세포에서는 NGF 신호에 의한 TrkA의 tyrosine kinase 활성은 저해되고 p75<sup>NTR</sup>의 sphingomyelin 가수분해활성이 증가한다. 이로 미루어보아 caveolin이 neurotrophin 수용체와 결합하면 p75<sup>NTR</sup> 및 TrkA를 경유하는 신호전달의 기능들을 조절한다는 것을 알 수 있다 (Bilderback *et al.*, 1999; Huang *et al.*, 1999).

### 4. MAP kinase

Ras 단백질은 여러 종류의 하위 표적 단백질을 가진다: 즉 Raf kinase, phosphatidylinositol-3-phosphate (PI3) kinase, 그리고 Ral-specific guanine nucleotide exchange factors (Ral-GEFs) 등이 여기에 속한다. NIH3T3 세포에서는 Raf나 PI3-kinase의 활성을 매개로 하여 Ras는 세포증식이나 암 변이를 유도한

다. PC12 세포에서는 Ras에 의해 유도되는 세포성장억제 및 신경세포 형태로의 분화를 활성화된 Raf와 PI3-kinase 등이 매개한다. 이중에 먼저 Mitogen-activated protein kinase (MAP kinase) 경로를 알아보면, 이는 neurotrophin들의 작용에 중요한 역할을 한다고 보고되었다. PD98059는 선택적으로 MAP kinase kinase (MEK)를 저해한다. NGF에 의하여 MEK의 활성이 4배정도 증가되지만, 이것이 PD98059에 의하여 완전히 억제된다. PD98059는 NGF에 의하여 활성화되는 p140 Trk 수용체와 수용체의 기질인 Shc의 Tyr 인산화에 아무런 영향을 주지 않으며, NGF-의존적 PI3-kinase 활성화를 저해하지는 않는다. 그러나 PD98059는 생존률에는 영향을 끼치지 않으면서 NGF에 의한 신경돌기의 형성을 완전히 저해한다. 따라서 이러한 결과는 MAP kinase 경로가 NGF에 의한 PC12 세포의 신경분화에 절대적으로 필요한 것임을 나타내 준다 (Pang *et al.*, 1995).

### 5. P38 Pathway

NGF는 ERK/MAP kinase를 지속적으로 활성화시켜 PC12 세포의 분화를 촉진하는데 반하여 epidermal growth factor (EGF)는 ERK/MAP kinase를 일시적으로 활성화시켜 세포성장을 촉진한다. 그러나 지속적으로 ERK/MAP kinase의 활성을 저해하여도 NGF에 의한 신경세포 분화는 저해되지 않는데, 이것은 다른 신호전달 경로가 있음을 암시한다. 즉 NGF는 p38이라는 또 다른 분자를 지속적으로 활성화시킨다. 따라서 p38이 저해되면 신경돌기의 성장이 저해된다. 항상 활성형의 ERK/MAPK kinase (MAPKK, MEK)를 세포 내에 발현시키면 ERK/MAPK 뿐만 아니라 p38도 활성화되는데, 이때 발생하는 신경돌기는 p38의 저해제에 의해 저해된다. Constitutive positive mutant의 p38은 EGF가 처리된 PC12 세포에서도 신경돌기를 형성한다. 이것으로 보아 p38은 신경돌기 형성에 필수적인 역할을 담당함을 알 수 있다 (Morooka and Nishida, 1998).

### 6. PI3-kinase

PI3-kinase를 저해하면 NGF에 의해 유도되는 신경돌기의 성장이 저해된다. PI3-kinase의 역할을 더

조사하기 위하여 PI3-kinase를 PC12 세포에서 발현 시키면 PI 3,4-diphosphate와 PI 3,4,5-triphosphate가 증가되어 신경돌기 유사체가 생성된다. 이런 돌기의 형성은 PI3-kinase의 선택적 저해제인 wortmannin에 의하여 저해된다. 이로 보아 PI3-kinase의 활성이 이러한 돌기 유사체의 형성에 중요하다는 것을 알 수 있다. 돌기 유사체의 말단에는 F-actin이나 GAP-43이 축적되어 있지 않은데, 이는 돌기 유사체가 신경돌기와 비교하여 불완전하기 때문이다. 대신 돌기 유사체에는 microtubule이 발달되어 있다. PI3-kinase가 유도되면 Jun N-terminal kinase (JNK)가 활성화되며, mitogen-activated protein kinase (MAPK)나 protein kinase B/Rac protein kinase/Akt 등은 활성화되지 않는다. 이상으로 보아 PC12 세포에서 신경돌기의 성장은 PI3-kinase의 활성화와 JNK의 활성이 중요하다는 것을 알 수 있다 (Kobayashi *et al.*, 1997).

### 7. RalA pathway

PC12 세포에서 Ral-GEF 활성은 다른 Ras effector 단백질과는 반대의 기능을 한다. Ral-GEF를 주로 활성화시킬 수 있는 돌연변이 Ras 단백질을 트랜스펙션 시키거나 Ral-GEF의 촉매 부위인 Rgr을 트랜스펙션시켜 Ral-GEF의 활성을 증가시키면, NGF에 의해 유도되는 신경돌기의 성장이나 세포 성장 정지가 억제된다. 부가하여 Raf kinase를 선호하는 돌연변이 Ras 단백질에 의해 유도되는 신경돌기의 성장도 Rgr에 의하여 감소된다. 더구나 dominant negative Ral 돌연변이를 발현시켜 Ral-GEF의 활성을 저해시키면, 성장정지가 가속되고 NGF 처리에 의한 신경돌기의 성장이 증가된다. Ral-GEF의 활성은 Cdc42와 Rac과 같은 Rho족의 저분자 GTP-결합 단백질을 저해함으로써 그 기능을 나타낼 수 있다. NGF에 의하여 수 시간 동안 활성화되는 Ras와는 달리 Ral은 약 20 분 정도 활성화된다. 이러한 관찰로 미루어 보아 NGF에 의해 유도되는 Ral-GEF의 신호전달 기능 중 한가지는 다른 Ras effector에 의해 유도되는 세포 성장 정지 및 신경돌기의 성장을 연기시키는 것이다. 또한 이러한 사실들로 미루어 보아 Ras 단백질은 서로 다른 effector 단백질을 통하여 분화 저해신호 및 분화 촉진신호를 동

시에 가질 수 있다. 그래서 어떤 세포에서는 Ras effector 단백질간의 활성의 비율 및 순간적인 조절이 세포가 성장하거나 분화하는 세포의 운명을 결정하는데 매우 중요한 것으로 생각된다 (Goi *et al.*, 1999). 또한 RalA는 calmodulin과 결합하여 막으로부터 해리 되는데, 이는 세포내 Ca<sup>2+</sup>의 존재에 의해 RalA의 기능이 변화된다는 것을 암시하며, Ca<sup>2+</sup>에 의해서도 신경돌기의 형성이 조절되리라 여겨진다 (Park *et al.*, 1999).

### 8. Cell cycle의 정지

세포의 발달과정 중 신경세포의 분화는 성장의 정지와 긴밀히 연결되어 있다. PC12세포의 NGF에 의한 분화를 모델로 하여 세포 성장을 저해하는 새로운 신호전달 경로를 찾아낼 수 있다. PC12를 NGF로 처리하면 nitric oxide synthase (NOS)가 유도된다 (Peunova and Enikolopov, 1995). 생성된 nitric oxide (NO)는 2차 전령으로 작용하여 p21<sup>WAF1</sup>의 promotor를 활성화시켜 p21<sup>WAF1</sup> cyclin-dependent kinase inhibitor의 발현을 촉진한다. NO는 p53-의존적 및 -비의존적 기전으로 p21<sup>WAF1</sup> promotor를 활성화시킨다. NOS의 저해제를 사용하여 NO의 합성을 저해하면, p53의 축적이 감소하고 p21<sup>WAF1</sup> promotor가 활성화되며, 신경세포의 표식자가 발현되고 신경돌기가 성장한다. p21<sup>WAF1</sup>이 신경돌기의 성장에 필요한가를 조사하기 위하여 p21<sup>WAF1</sup> 유도 발현벡터를 PC12 세포에 트랜스펙션하여 그 효과를 보았다. NOS를 저해제로 저해하면 신경돌기의 성장이 저해되지만, p21<sup>WAF1</sup>의 발현을 유도하면 신경돌기의 성장이 원래대로 회복한다. 유도된 p21<sup>WAF1</sup>은 NGF에 의해 유도되는 p21<sup>WAF1</sup>의 양과 비슷하다. 이로 보건데 NGF의 신호는 NOS, p53, p21<sup>WAF1</sup>을 거쳐 세포의 성장을 저해할 뿐만 아니라, 이들은 또한 PC12 세포의 신경세포로 분화에도 필요하다라는 것을 알게 되었다 (Poluha, *et al.*, 1997).

한편, Rho의 신호전달이 저해되면 constitutive positive mutant의 Ras가 p21<sup>Waf1/Cip1</sup>의 발현을 유도하며 DNA 합성을 유도하는 세포주기로의 진입이 억제된다. 반면에 Rho가 활성화되면 Ras에 의한 p21<sup>Waf1/Cip1</sup>의 유도가 억제되며 DNA 합성이 시작된다. p21<sup>Waf1/Cip1</sup>이 결여된 세포는 Ras의 활성화에 의

해 유도되는 DNA 합성에 Rho를 필요로 하지 않는다. 이것으로 보아 일단 Ras가 활성화되면 Rho 신호의 일차적인 필요성은 p21<sup>Waf1/Cip1</sup>의 유도를 억제하는 것이다 (Olson *et al.*, 1998).

### 9. 신경세포 돌기 형성에서 Cdc42/Rac1/RhoA의 연관

Rho족 단백질들은 신경세포가 아닌 세포들에서 actin에 의한 세포형태의 조절에 중요한 역할을 한다 (Hall, 1994). Cdc42와 Rac1을 neuroblastoma인 N1E-115 세포에 미세주입하면 세포의 신경돌기를 따라 filopodia 및 lamellipodia가 생성된다. RhoA의 기능을 저해하는 C3 exoenzyme을 세포에 미세주입하면 세포 내 actin의 구조가 유도된다. C3 exoenzyme과 dominant negative 돌연변이인 Cdc42T17N을 함께 미세주입하면 C3의 효과가 사라진다. Acetylcholine은 neuroblastoma의 성장돌기 (growth cone)에 filopodia 및 lamellipodia를 형성시키는데, 이 때 dominant negative 돌연변이인 Cdc42T17N 및 Rac1T17N을 미세주입하면 이들이 형성되지 않는다. Lysophosphatidic acid (LPA)는 RhoA를 자극하여 신경돌기를 회수하는데 반하여 RhoA를 저해하는 C3은 신경돌기를 성장시킨다 (Kozma *et al.*, 1997). Cdc42/Rac1의 dominant negative mutants, C3 transferase 및 RhoGAP p190 등이 nonpyrimidal 신경세포의 일차 돌기의 형성을 저해하는 반면, constitutive mutant인 Rho, Rac, Cdc42 등은 일차 신경돌기의 형성을 증가시킨다 (Threadgill *et al.*, 1997). RhoA의 역할에 대해서는 서로 다른 결과를 얻었지만 이런 사실들로부터 Cdc42/Rac1 및 RhoA가 신경세포의 형태변화를 유도하는 신호전달 경로에 관여하고 있음을 알 수 있다.

### 10. Downstream of Cdc42/Rac1

Rho족의 GTPase는 여러 종류의 세포들에서 세포 골격의 동적 상태를 조절한다. p21-activated kinase (PAK)도 Rac과 Cdc42의 downstream effector 단백질 중 하나로서 섬유세포의 극성 골격의 변화에 관여되어 있다. NGF에 의한 PC12 세포의 신경돌기의 형성은 dominant negative 돌연변이인 Rac2 및 Cdc42에 의해 저해된다. 이것은 NGF 신호전달에 Rac2 및 Cdc42이 필요하다는 것을 나타내준다.

PAK의 C-말단에 isoprenylation이 되도록 하면 PAK이 막으로 이동하고 NGF 효과와 비슷하게 신경돌기를 유도한다. 이것은 PAK의 kinase 활성 때문이 아니라 N-말단 및 C-말단의 구조 때문이다. PAK의 N-말단 및 C-말단이 세포 내에 있으면 NGF에 의한 신경돌기의 성장을 저해하는 dominant negative 저해제로서 작용한다. 이로 미루어 보아 PAK은 Rac 및 Cdc42의 downstream에 있는 단백질로 NGF에 의한 신경돌기 형성의 신호전달 경로에 작용한다는 것을 나타내 준다 (Daniels *et al.*, 1998).

## III. 결 론

본 총설에서는 NGF에 의한 PC12 세포의 신경돌기 형성기전을 살펴보고자 하였다. NGF가 caveolae에 존재하는 p75나 TrkA수용체에 결합하면 수용체의 세포 내 도메인에 자가인산화가 일어나고 MAPK 경로, p38 경로, PI3-Kinase 경로 및 RalA 경로 등을 통하여 신호전달이 일어난다. 이때 세포의 성장은 멈춰지게 되는데, 이는 p21<sup>WAF1</sup>의 역할과 깊은 관계가 있다. 세포의 분화에 따른 세포 모양의 변화에는 Cdc42/Rac1, RhoA 등과 같은 저분자 GTP-결합 단백질들이 관여하며, down-stream쪽에는 저분자 GTP-결합 단백질들에 의해 영향을 받는 PAK과 같은 단백질들이 관여한다. 그러나 아직 PC12 세포의 neurite 형성에 세포골격을 어떻게 조절하는지는 자세히 알려지지 않았다.

## 참 고 문 헌

- Bilderback, T. R., Gazula, V. R., Lisanti, M. P., Dobrowsky, R. T. (1999) Caveolin interacts with TrkA and p75<sup>NTR</sup> and regulates neurotrophin signalling pathways. *J. Biol. Chem.* **274**: 257-263.
- Daniels, R. H., Hall, P. S., and Bokoch, G. M. (1998) Membrane targeting of p21-activated kinase 1 (PAK1) induces neurite outgrowth from PC12 cells. *EMBO J.* **17**: 654-764.
- Galbiati, F., Volonte, D., Gil, O., Zanazzi, G., Salzer, J. L., Sargiacomo, M., Scherer, P. E., Engelman, J. A., Schlegel, A., Parenti, M.,

- Okamoto, T., and Lisanti, M. P. (1998) Expression of caveolin-1 and 2 in differentiating PC12 cells and dorsal root ganglion neurons: Caveolin-2 is up-regulated in response to cell injury. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **95**: 10257-10262.
- Goi, K., Rusanescu, G., Urano, T., and Feig, L. A. (1999) Ral-specific guanine nucleotide exchange factor activity opposes other Ras effectors in PC12 cells by inhibiting neurite outgrowth. *Mol. Cell. Biol.* **19**: 1731-1741.
- Hall, A. (1994) Small GTP-binding proteins and the regulation of the actin cytoskeleton. *Ann. Rev. Cell Biol.* **10**: 31-54.
- Huang, C., Zhou J., Feng, A. K., Lynch, C. C., Klumperman, J., DeArmond, S. J., and Mobley, W. C. (1999) Nerve growth factor signaling in caveolae-like domains at the plasma membrane. *J. Biol. Chem.* **274**: 36707-36714.
- Landreth, G. E. (1999) *Growth Factors in Basic Neurochemistry* (Siegel, G. J., Agranoff, B. W., Albers, R. W., Fisher, S. K., and Uhler, M. D. eds.), Lippincott-Raven Publisher, Philadelphia, pp384-398.
- Morooka, T., and Nishida, F. (1998) Requirement of p38 mitogen-activated protein kinase for neuronal differentiation in PC12 cells. *J. Biol. Chem.* **273**: 24285-24288.
- Kobayashi, M., Nagata, S., Kita, Y., Nakatsu, N., Ihara, S., Kaibuchi, K., Kuroda, S., Ui, M., Iba, H., Konishi, H., Kikkawa, U., Saitoh, I., Fukui, Y. (1997) *J. Biol. Chem.* **272**: 16089-16092.
- Kozma, R., Sarner, S., Ahmed, S., and Lim, L. (1997) Rho family GTPases and neuronal growth cone remodelling: Relationship between increased complexity induced by Cdc42Hs, Rac1, and acetylcholine and collapse induced by RhoA and lysophosphatidic acid. *Mol. Cell. Biol.* **17**: 1201-1211.
- Olson, M. F., Paterson, H. F., and Marshall, C. J. (1998) Signals from Ras and Rho GTPases interact to regulate expression of p21<sup>Waf1/Cip1</sup>. *Nature* **394**: 295-299
- Pang, L., Sawada, T., Decker, S. J., and Saltiel, A. R. (1995) Inhibition of MAP kinase kinase blocks the differentiation of PC-12 cells induced by nerve growth factor. *J. Biol. Chem.* **270**: 13585-13588.
- Park, J. B., Lee, J. Y., and Kim, J. W. (1999) Dissociation of RalA from synaptic vesicle membranes by Ca<sup>2+</sup>/calmodulin. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **263**: 765-769.
- Peunova, N., and Enikolopov, G. (1995) Nitric oxide triggers a switch to growth arrest during differentiation of neuronal cells. *Nature* **375**: 68-73.
- Poluha, W., Schonhoff, C. M., Harrington, K. S., Lachyankar, M. B., Crosbie, N. E., Bulseco, A. A., and Ross, A. H. (1997) A novel, nerve growth factor-activated pathway involving nitric oxide, p53, and p21<sup>WAF1</sup> regulates neuronal differentiation of PC12 cells. *J. Biol. Chem.* **272**: 24002-24007.
- Roy, S., Luetterforst, R., Harding, A., Apolloni, A., Etherridge, M., Stang, E., Rolls, B., Hancock, J. F., and Parton, R. G. (1999) Dominant-negative caveolin inhibits H-Ras function by disrupting cholesterol-rich plasma membrane domains. *Nature Cell Biol.* **1**: 98-105.
- Smart, E. J., Graf, G. A., McNiven, M. A., Sessa, W. C., Engelman, J. A., Scherer, P. E., Okamoto, T., and Lisanti, M. P. (1999) Caveolins, Liquid-ordered domains, and signal transduction. *Mol. Cell. Biol.* **19**: 7289-7304.
- Threadgill R., Bobb, K., and Ghosh A. (1997) Regulation of dendritic growth and remodeling by Rho, Rac, and Cdc42. *Neuron* **19**: 625-634.