



세포사멸 기전: 예정세포사, 세포괴사 및 예정세포괴사

최상돈* · 권혁권** · 신현준**

The Mechanisms of Cell Death: Apoptosis, Necrosis and Necroptosis

Sangdun Choi* · Hyuk-Kwon Kwon* · Hyeon-Jun Shin*

ABSTRACT

The deregulation of cell death can cause a variety of diseases such as neurodegeneration, autoimmunity, cancer and developmental disorders. Therefore, to elucidate its mechanism is of crucial importance. To study cell death mechanisms began when the apoptosis was discovered in 1972. Before this, all the cell deaths were considered as the result of detrimental and fatal changes, which cannot be regulated. However, the induction of necrosis by tumor necrosis factor (TNF) was unveiled in 1988 that uncovered the regulatory mechanisms of the necrosis, which resulted in a new concept known as programmed necrosis or necroptosis. This new phenomenon, necroptosis, received a great attention and a number of studies have been performed to elucidate the detailed mechanism. In this

* 이주대학교 分子科學技術學科 教授

** 이주대학교 分子科學技術學科 博士課程

접수일 2013년 11월 25일

review, we will try to cover the historical background and the mechanisms involved in programmed cell death (apoptosis), necrosis, and programmed necrosis (necroptosis). We will also highlight the recent research trends in this field and the outcome of the cell death researches.

Key words : apoptosis, cell death, necroptosis, necrosis

초 록

세포사멸 조절의 이상은 암, 신경퇴화, 면역질환이나 발생장애 등 다양한 질병을 유발할 수 있기 때문에 생물학자들에게 있어 세포사멸 기전 연구는 매우 중요하다. 세포사멸 연구의 역사는 1972년 예정세포사(apoptosis)의 발견으로부터 시작된다. 이전의 세포사멸은 모두 세포괴사(necrosis)로 여겨졌으며 조절할 수 없는 것이라 믿어졌다. 하지만 1988년 TNF(tumor necrosis factor)에 의한 세포괴사 유도가 보고되고 이의 조절 기전들이 밝혀지면서 예정세포괴사(programmed necrosis 또는 necroptosis) 개념이 형성되었다. 현재 예정세포괴사는 세포사멸 연구분야 중 큰 주목을 받고 있으며 그 기전을 밝히기 위해 많은 연구가 진행되고 있다. 본 리뷰에서는 기존에 보고된 내용을 바탕으로 세포사멸 연구의 발달과정과 예정세포사, 세포괴사, 예정세포괴사의 세포사멸 기전을 소개하고, 최근의 연구동향, 연구가치 및 미래의 기대효과에 대하여 논의하고자 한다.

주제어 : 예정세포사, 세포사멸, 예정세포괴사, 세포괴사

차 례

I. 서론	IV. NECROPTOSIS (예정세포괴사)
II. APOPTOSIS (예정세포사)	V. 결론
III. NECROSIS (세포괴사)	참고문헌

I. 서론

인간은 다양한 자극과 스트레스에 노출되어 있으며 이에 의해 여러 가지 건강상의 문제와 질병이 야기된다. 특정 요인에 의해 손상 또는 신호를 받은 세포 및 세포내 소

기관은 분자적 메커니즘에 의해 세포사멸이 유도되는데, 이는 우리 몸을 보호하거나 발생학적으로 전개시키기도 하지만 각종 병리학적 문제를 유발시킬 수 있기 때문에 이에 대한 연구는 생명과학에 있어 매우 중요하다.

1970년대 초반, Kerr와 그의 동료들은 핵과 세포질의 응축 및 파손을 보이는 특이한 형태의 동물세포 사멸을 발견하고 이를 'apoptosis(예정세포사)'라고 명명하였으며(Kerr *et al.* 1972), 이후 *Caenorhabditis elegans*(예쁜꼬마선충)를 통한 연구로 apoptosis의 정형화된 특징들이 제안되었고 세포사멸 과정이 조절될 수 있다고 여겨지게 되었다(Lettre and Hengartner 2006). 한편, 1973년 Schweichel과 Merker는 세포사멸을 형태학적으로 분류하였는데, type I 세포사멸은 'heterophagy', type II 세포사멸은 'autophagy'와 연관성이 있고, type III 세포사멸은 소화과정이 없는 사멸이라고 정의하였다(Schweichel and Merker 1973). 현재 type I 세포사멸을 apoptosis, type II 세포사멸을 autophagy(자가소화작용), type III 세포사멸은 necrosis(세포괴사)라고 구분하고 있다(Kroemer *et al.* 2009).

Necrosis는 감염, 독소, 외상 등에 의해 세포사멸이 발생하는 과정으로 특별히 조절되지 않는 기전으로 알려져 왔으나, 1988년 tumor necrosis factor(TNF)에 의해 necrosis가 유도될 수 있다는 발견은 apoptosis 연구에 몰두했던 생물학자들에게 새로운 과제를 던져 놓았다(Laster *et al.* 1988). 돌연 세포사로 여겨지던 necrosis가 예정사(programmed death)할 수 있다는 증거들이 계속 등장하면서 2003년 Chan은 'programmed necrosis'라는 개념을 소개하여 조절 가능한 세포사멸의 범주에 necrosis를 포함시켰으며(Chan *et al.* 2003), 곧이어 apoptosis처럼 조절 가능한 necrosis라는 의미의 'necroptosis(예정세포괴사)'라는 개념이 생겨나게 되었다(Degterev *et al.* 2005).

II. APOPTOSIS (예정세포사)

Apoptosis는 1972년 Kerr와 그의 동료들에 의해 형태학적으로 알려졌으며(Kerr *et al.* 1972), 일반적으로 세포 수축, 핵의 응축 및 세포막 기포형성이 특징적이다. 세포 수축은 세포골격의 손상에 의한 세포 크기 감소, 세포질 응집 및 세포내 소기관들의 밀집을 의미한다. 핵 응축은 단백질분해효소와 핵산분해효소에 의한 핵 파괴 및 염색

질(chromatin)이 응축되는 일련의 과정을 말하며, apoptosis가 진행되는 세포는 세포막에 기포가 발생하고 전체적으로 apoptotic body(예정세포사체)라 불리는 소체를 형성한다. Apoptosis에 조절 장애가 생겨 이상세포가 축적하면 암 등의 질환으로, 또는 지나친 세포 손실의 경우 뇌졸중, 심장 마비, 신경 퇴화 등의 질환을 일으키는 것으로 알려져 있다(Reed 2000).

Apoptosis를 유발하는 경로는 내인성 경로와 외인성 경로로 구분된다. 내인성 경로는 DNA 손상, 사이토카인, 활성산소종(reactive oxygen species; ROS) 등의 자극에 의해 유발되며 이런 자극은 mitochondrial permeability transition pore(미토콘드리아 투과도 전이 미세공)를 열리게 함으로써 미토콘드리아막의 전위조절 능력을 파괴하면서 cytochrome c, second mitochondria-derived activator of caspases(Smac; direct IAP binding protein with low pI [DIABLO]라고도 함), high temperature requirement protein A2(HtrA2; Omi라고도 함)와 같은 apoptosis 개시단백질들을 세포질로 유출시킨다(Du *et al.* 2000; Saelens *et al.* 2004; Garrido *et al.* 2006). Cytochrome c는 apoptotic protease activating factor 1(APAF1) 및 caspase-9과 결합하여 'apoptosome'을 형성한 후 caspase-3를 활성화시켜 세포사멸을 유도한다(Hill *et al.* 2004).

외인성 경로는 FAS(TNF receptor superfamily member 6) receptor(FasR), tumor necrosis factor receptor 1(TNFR1) 및 tumor necrosis factor receptor superfamily member 25(TNFRSF25; DR3), 10A(TNFRSF10A; DR4), 10B(TNFRSF10B; DR5)와 같은 death receptor에 의해 개시된 후 Fas-associated protein with death domain(FADD) 또는 TNFRSF1A-associated via death domain(TRADD) adaptor와 결합하여 apoptosis 신호를 세포 내로 전달한다. 전달된 신호는 death-inducing signaling complex(DISC)와 apoptosis 관련 시스테인 펩티다제인 caspase-8/caspase-3 경로를 통해 세포사멸을 유도한다(Kischkel *et al.* 1995).

이외에도 세포독성 T세포에 의해 생성된 perforin/granzyme에 의한 세포사멸도 보고되었다(Trapani and Smyth 2002; Goping *et al.* 2003). 활성화된 세포독성 T 세포는 perforin을 만들어 세포막에 구멍을 뚫고 안쪽으로 granzyme을 유입시킨다. 유입된 granzyme은 caspase-10을 이용하거나 직접 caspase-3를 활성화시켜 여러 가지 단백질을 분해함으로써 세포사멸을 진행한다. 이처럼 apoptosis는 다양한 자극에 의해 유발되고 조직적인 신호전달경로를 통하여 조절된다.

III. NECROSIS (세포괴사)

Necrosis는 apoptosis와는 달리 조직적으로 조절되지 않는 세포 사고사 또는 돌연사로 간주되었으며, 세포괴사가 진행중인 세포는 초기에 세포막이 파괴되고 삼투압의 불균형에 따른 세포 외부로부터의 수분 유입에 의해 세포 전체 및 미토콘드리아와 핵의 손상이 apoptosis와는 뚜렷이 구별되는 형태학적 변화를 나타내고 있다(Edinger and Thompson 2004; Kroemer *et al.* 2005). 또한 necrosis는 세포가 파괴되면서 빠져 나온 손상된 세포내 소기관들에 의해 국소적 염증반응을 일으키기 때문에 염증반응과 연관성이 깊은 선천면역계(innate immune system)에서 특히 중요한 역할을 하고 있다(Savill and Fadok 2000; Zitvogel and Kroemer 2008).

1988년 Laster와 그의 동료들에 의해 TNF가 세포주에 따라 apoptosis와 necrosis 모두를 유도할 수 있다는 발견은 기존의 형태학적 특징만으로 구분 지어졌던 necrosis의 전환점이 되었다(Laster *et al.* 1988; Vandenabeele *et al.* 2010). 1992년 TNF가 유도하는 세포독성에서 미토콘드리아에서 생성된 산소라디칼이 주된 요인임을 보고하였으며(Schulze-Osthoff *et al.* 1992), 글루타민의 산화적 대사과정이 necrosis와 연관성이 있다는 연구(Goossens *et al.* 1996), 산화적 스트레스가 apoptosis나 necrosis의 원인이라는 연구(Tan *et al.* 1998; Choi *et al.* 2009) 및 쥐의 섬유아세포 L929에서 caspase 억제에 의해 TNF 매개 necrosis가 증가한다는 결과(Vercammen *et al.* 1998) 등이 발표되었다. 이와 같이 지속적인 연구가 진행되면서 necrosis는 전부 비조절적 세포사멸이라는 과거의 인식에서 벗어나 apoptosis처럼 분자적 메커니즘에 의해 조절될 수 있는 부분이 있다는 것을 인정하면서, 이를 'programmed necrosis' 또는 'necroptosis' 영역으로 구분하기 시작하였다.

IV. NECROPTOSIS (예정세포괴사)

1. Necroptosis의 역사

1988년 TNF에 의해 necrosis가 체계적으로 유도된다는 보고가 있었다(Laster *et*

al. 1988). 이후 TNF나 TNF-related apoptosis-inducing ligand(TRAIL)에 의한 necrosis에서 receptor-interacting protein(RIP)이 필요하다는 사실을 밝혀냈고(Holler *et al.* 2000), TNFR과 RIP을 통한 necrosis 유도 연구를 통해 necrosis가 잘 통제되고 있다는 의미에서 'programmed necrosis'란 용어가 제안되었다(Chan *et al.* 2003). 이전의 programmed cell death는 apoptosis의 전유물로 생각하였으나 necrosis도 조절된 세포사멸이며 이와 관련된 메커니즘의 중요성이 본격적으로 논의되기 시작한 것이다. 2004년에는 DNA 손상에 의해서도 necrosis가 유도될 수 있음이 보고되었고(Zong *et al.* 2004), 2005년에는 necrostatin-1 단백질의 발견과 함께 이제는 necrosis의 형태학적 특징이 보이면서 절도 있게 자가포식이 활성화 되는 현상을 'necroptosis'라고 처음으로 명명하였다(Degterev *et al.* 2005). 2006년에는 adenosine diphosphate(ADP)와 adenosine triphosphate(ATP)를 교환해 주는 효소인 adenine nucleotide translocase가 억제되면 RIP을 매개로 하는 necroptosis가 유도된다는 보고가 있었고(Temkin *et al.* 2006), 이어 necroptosis를 시스템생물학적인 방법으로 접근하여 기존의 apoptosis와는 다른 분자적 신호전달경로 및 관련 유전체에 대한 연구결과가 발표되었다(Hitomi *et al.* 2008). 또한 necrostatin-1이 RIP1에 특이적으로 결합하여 RIP1의 활성을 억제한다는 것이 발표되었고(Degterev *et al.* 2008), RIP1/RIP3의 결합 및 RIP3에 의한 necroptosis 과정이 발표되기도 하였다(Cho *et al.* 2009; He *et al.* 2009; Zhang *et al.* 2009).

RIP1/3 외의 다양한 necroptosis 조절요인들, 예를 들면 caspase 억제제(Vercammen *et al.* 1998), ubiquitin E3 ligases와 deubiquitylating 효소(Hitomi *et al.* 2008; He *et al.* 2009), 미토콘드리아나 NADPH oxidase 1(NOX1)에 의해 생성된 ROS(Goossens *et al.* 1999b; Kim *et al.* 2007; Yazdanpanah *et al.* 2009), B cell lymphoma 2(BCL-2) 계열(Hitomi *et al.* 2008), poly(ADP-ribose) polymerase 1(PARP-1) (Zong *et al.* 2004) 등에 대한 분자적 기전이 보고되었다. 최근에는 RIP1/3에 의한 necrosome 형성 및 PARP-1, JNK(c-Jun N-terminal kinase), calpain, cathepsin, AIF(apoptosis-inducing factor) 등이 관여하는 necroptosis 역시 보고되었으며(Li *et al.* 2012; Sosna *et al.* 2013), DNA 손상에 의해 유도된 necroptosis가 PARP-1/AIF 신호전달경로를 통하여 진행된다는 발견도 있었다(Baritaud *et al.* 2012; Cabon *et al.* 2012). 면역세포의 Toll-like receptor(TLR) 신호전달경로에 의해 활성화된 RIP, cathepsin D, JNK, ROS를 통한 necroptosis도 등

장하였다(Kim and Li 2013; Zou *et al.* 2013). 이와 같이 necroptosis는 지속적으로 연구가 거듭되어 오면서 이제는 분자적 메커니즘에 의해 잘 조절되고 있는 necrosis를 종합적으로 지칭하는 하나의 큰 개념이 되었다.

2. Necroptosis 신호경로 (그림 1 참조)

1) TNF에 의한 necroptosis

RIP 단백질은 TNF가 유도하는 'necrosome' 형성에 있어 가장 핵심적인 분자이다. RIP1은 TNFR 신호경로에서 처음 발견되었으며 nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (NF- κ B) 신호경로와 necroptosis에서 다양한 기능을 하는 것으로 알려져 있다(Hsu *et al.* 1996a). RIP3도 apoptosis와 NF- κ B 활성화 연구에서 처음으로 보고 되었고(Yu *et al.* 1999), 새로운 apoptosis 유도 kinase로서의 기능도 밝혀졌다(Sun *et al.* 1999). 최근에는 necroptosis가 일어나는 과정에서 necrosome 형성을 위해 RIP1과 RIP3 복합체 형성이 선행되어야 한다는 발표가 있었다(Li *et al.* 2012). 이외에도 necrosome과 상호작용하여 직간접적으로 영향을 미치는 분자로 TRADD, TNF receptor-associated factor 2(TRAF2), FADD 등도 제시되었다. 예를 들면, TRADD는 TNFR1과 함께 세포사멸과 NF- κ B 활성을 유도하며(Hsu *et al.* 1995), TRAF2와 결합하거나 FADD와 상호작용하여 각기 다른 신호전달경로를 유도하는 것으로 알려져 있다(Hsu *et al.* 1996b).

TNF에 의한 necroptosis 경로는 어떤 복합체를 형성하느냐에 따라 크게 두 가지로 나뉜다. 첫째, TNF 리간드가 TNFR1과 결합하여 TRADD, RIP1, cellular inhibitor of apoptosis protein (cIAP), TRAF2, TRAF5 등과 TNFR complex I 복합체를 형성하면 cIAP에 의해 RIP1의 Lys63 ubiquitylation이 유도되고, 이로 인해 transforming growth factor- β activated kinase 1 (TAK1), TAK1-binding protein 2 (TAB2), TAB3 복합체가 형성되어 NF- κ B 활성화 경로를 개시한다. 활성화된 NF- κ B는 핵내로 이동하여 면역, 염증반응, 세포사멸, 세포생존, 세포분화와 관련된 각종 전사인자 및 신호단백질들을 발현시킨다. 이때 riboflavin kinase(RFK) 단백질은 TNFR1과 p22phox를 구조적으로 연결시킴으로써 ROS 생성을 촉진하여 TNF가 유도하는 necroptosis를 유발시키게 된다. 두 번째는, TRADD, FADD, caspase-8, RIP1, RIP3가 복합체를 이루어 complex II를 구성하는 경우이다. Complex II는

caspase-8 활성화 유무에 따라 각기 다른 신호를 전달하게 되는데, caspase-8이 활성화 되면 RIP1과 RIP3를 억제하여 caspase 의존적 apoptosis를 유도하지만, caspase-8 활성이 차단되면 RIP1과 RIP3는 인산화에 의해 necrosome을 형성한 후 necroptosis를 유도한다(Vandenabeele *et al.* 2010).

2) DNA 손상에 의한 necroptosis

DNA 손상이란 DNA 나선구조의 파괴, DNA에서의 염기 실종, 비정상적 염기로의 치환 등과 같은 DNA의 화학적 또는 구조적 변화를 의미한다. DNA 손상은 대사과정에서 발생한 ROS, reactive nitrogen species(RNS), 지질 과산화 산물들과 알킬화제들에 의해 유발될 수 있으며, 가수분해 과정 또한 DNA의 화학결합을 절단함으로써 DNA를 손상시킬 수 있다(De Bont and van Larebeke 2004). 이 중 ROS에 의한 DNA 손상이 비교적 잘 알려져 있는데, ROS는 화학적 반응성이 있는 산소포함 분자(과산화수소, 수퍼옥사이드 라디칼, 히드록실 라디칼)들의 총칭이며 manganese superoxide dismutase와 glutathione peroxidase 등의 효소에 의해 분해된다. 하지만 많은 양의 ROS와 분해효소들의 감소에 의해 불가피하게 증가된 ROS는 DNA 손상, 미토콘드리아의 기능장애, 산화적 스트레스를 초래하여 apoptosis뿐만 아니라 necroptosis를 유발한다(Devasagayam *et al.* 2004; Murphy 2009). L929나 mouse embryonic fibroblast(MEF) 세포에서 TNF 자극에 의해 ROS가 발생한다는 보고가 있다(Goossens *et al.* 1999a; Lin *et al.* 2004).

DNA 손상에 의해 유발되는 세포사멸의 가장 핵심적인 분자로 PARP가 잘 알려져 있다(Zong *et al.* 2004). PARP-1과 PARP-2를 포함한 PARP family는 ATP로부터 유래한 β -NAD⁺(β -nicotinamide adenine dinucleotide)를 기질로 하여 ADP-ribose 중합체를 합성하거나 글루타민산, 아스파르트산 등에 poly(ADP-ribose)(PAR)를 붙이는 효소이다(Chambon *et al.* 1963). PARP는 DNA 단일가닥 손상을 인지하고 DNA 수선을 위한 단백질들을 유도한다(Schreiber *et al.* 2006). PARP가 과활성화되거나 과발현되면 ATP의 과다한 소모로 인해 necrosis(현재의 necroptosis)를 유발할 수 있다는 연구도 보고되었다(Los *et al.* 2002). 알킬화에 의한 DNA 손상은 PARP-1을 활성화시키는데, 이는 NAD의 손실과 PAR의 축적을 일으켜 AIF를 미토콘드리아의 막사이 공간으로부터 세포질로 방출시키며 이 과정은 calpain(Ca²⁺에 의해 활성화되는 non-caspase Cys protease) 의존적으로 일어난다(Yu *et al.* 2002;

Cao *et al.* 2007; Moubarak *et al.* 2007). 세포질로 빠져 나온 AIF는 빠르게 핵으로 이동하여 비교적 큰 규모로 DNA를 절단 하고(Kroemer *et al.* 2007), 절단된 DNA로 인해 다시 PARP 활성화가 이뤄지는 악순환이 반복된다. 이와 관련하여 최근에는 알킬화에 의해 DNA 손상을 일으키는 약물인 MNNG(N-methyl-N'-nitro-N'-nitrosoguanidine)가 유발하는 necroptosis에서, PARP-1의 과활성화를 통해 세포질로 방출된 AIF가 caspase 비의존적으로 작용한다는 연구가 보고 되었다(Cabon *et al.* 2012). 이 보고에 따르면 MNNG에 의한 DNA 손상이 PARP를 활성화시키고 PARP로 인해 NAD와 ATP가 손실되면서 PAR 중합체가 핵 내에 축적된다. PAR의 축적은 calpain 활성화에 기여하고 calpain은 미토콘드리아 내로 들어가 AIF를 이동할 수 있도록 잘라주거나 BID를 truncated Bid(tBID)로 만들어 활성화시킨다. 활성화된 BID는 BAX로 하여금 미토콘드리아로부터 AIF가 빠져 나올 수 있도록 통로를 만들게 한다. 최근 보고에 따르면, 미토콘드리아의 기능장애로 인해 발생한 ROS가 DNA 손상과 함께 PARP-1의 과발현을 유도 하고 ATP 손실을 불러와 5' AMP-activated protein kinase(AMPK)를 활성화시키며, 이는 autophagosome 형성을 억제하는 mammalian target of rapamycin complex 1(mTORC1)을 억제함으로써 결과적으로 autophagy에 의한 세포사멸을 유도하고 있다(Rodriguez-Vargas *et al.* 2012).

3) Toll-like receptor를 통한 necroptosis

TLR은 선천면역의 핵심역할을 하는 수용체로서, TLR 신호경로는 lipopolysaccharide(LPS), 세균의 메틸화되지 않은 CpG DNA, 바이러스 RNA 등 다양한 병원성 성분들을 인식하여 NF- κ B를 활성화시킴으로써 염증성 사이토카인들을 유도한다. 하지만 과도한 TLR의 활성화는 자가면역질환이나 염증성질환으로 이어지는 세포사멸을 초래하기도 한다(Huang *et al.* 2011).

Polyinosinic-polycytidylic acid[poly(I:C)]의 자극에 의해 TLR3/TRIF(TIR-domain-containing adapter-inducing interferon- β)를 매개로 유도된 NF- κ B 활성이 RIP1에 의존적이라고 확인되었으며(Meylan *et al.* 2004), poly(I:C)/RIG-I-like receptor(retinoic acid-inducible gene 1-like receptor)의 신호를 통하여 세포질로 유출된 cathepsin D와 mitochondrial adaptor IPS-1(IFN- β promoter stimulator 1)의 결합에 의해 수지상세포의 necroptosis가 유도된다는 보고도 있었다(Morato *et al.*

2010). LPS/TLR4/TRIF의 신호전달은 RIP1 의존적으로 NF- κ B 활성을 유도하거나, RIP1 비의존적으로 IRF3의 활성을 조절하기도 한다(Press *et al.* 2012). TLR3와 TLR4의 경우 직접적인 RIP1/RHIM(RIP homotypic interaction motif)/RIP3의 결합을 통하여 necroptosis가 유도됨이 밝혀졌다(Krishnan *et al.* 2012). Poly(I:C) 또는 LPS를 TLR3 또는 TLR4가 인지하였을 때 발생한 TNF에 비의존적으로 RIP3가 necrosis를 매개한다는 것이 생쥐의 대식세포에서 발견되기도 하였다(He *et al.* 2011). 이 보고에 따르면, TLR adaptor 분자로 알려진 TRIF/TICAM-1(TIR-domain-containing adapter molecule-1)은 TLR3/TLR4 활성화에 의해 RIP3와 결합하며 이 복합체는 TLR3/TLR4가 유도하는 necrosis에서 필수적인 역할을 수행한다. 한편 UV 투사에 의해 발생한 necroptosis는 TLR4 신호경로 중 myeloid differentiation primary response 88(MyD88)에 의해 매개 된다는 연구결과가 최근 보고되었다(Harberts *et al.* 2013).

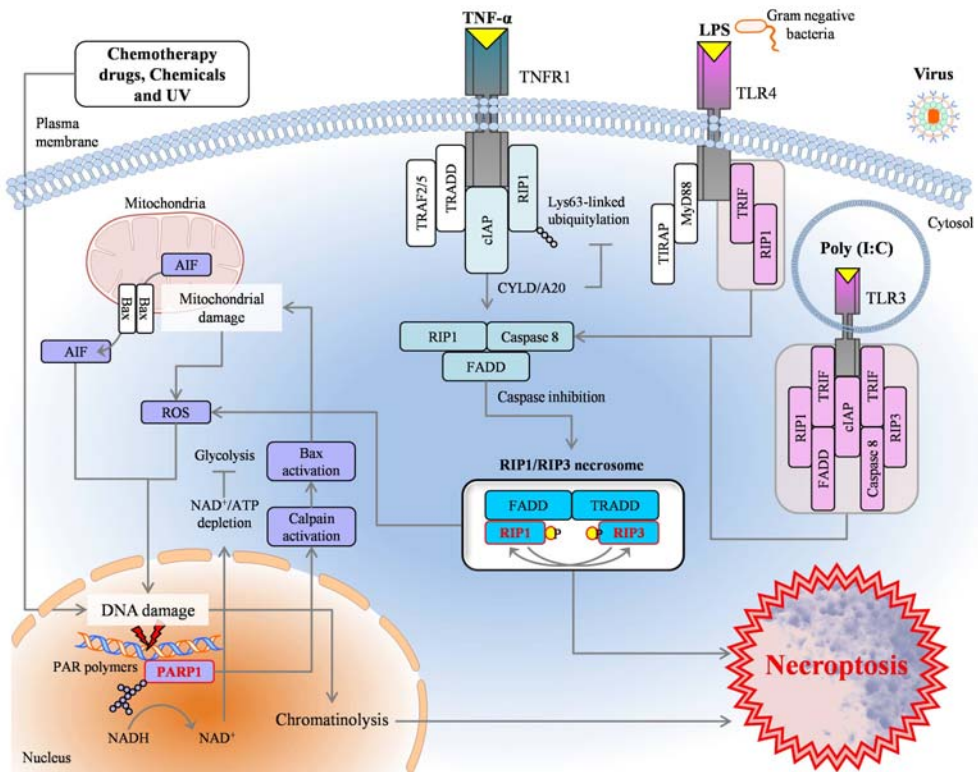


그림 1. Necroptotic signaling pathways

V. 결론

세포사멸에 대해 연구하는 궁극적인 목적은 부적절한 세포사멸로 인해 유발되는 여러 가지 질병에 대해 효과적인 치료방법을 개발하는데 있다. 실제로 세포사멸 중 가장 먼저 알려진 apoptosis를 표적으로 하는 물질들이 임상에서 환자들에게 치료제로 사용되고 있다. 그 중 rasagiline(상품명 Azilect)은 미토콘드리아의 외막에 존재하면서 미토콘드리아 내로 콜레스테롤을 전달해주는 peripheral benzodiazepine receptor(PBR)에 결합하여 apoptosis를 저지하고 그로 인해 뇌세포의 사멸을 방지하는 파킨슨병 치료제로 사용된다(Green and Kroemer 2005; Oldfield *et al.* 2007). 이밖에 apoptosis를 억제해 세포사멸을 막는 치료제로 FDA 승인을 받은 것들은 p53를 표적으로 하는 amifostine, ROS를 표적으로 하는 edaravone, 26S proteasome을 표적으로 하는 bortezomib 등이 있다(Green and Kroemer 2005). 이런 약물들이 개발 될 수 있었던 것은 세포사멸 연구를 통해 내인성/외인성 경로와 같은 분자적 메커니즘 및 주요 표적분자들의 기능을 규명했기 때문에 가능한 일이었다. 반면에 necroptosis와 관련된 임상 적용은 TNF 억제를 통한 관절염 완화 정도에 그치고 있는 실정이다(U.S. Food and Drug Administration: <http://www.fda.gov/drugs/drugsafety/ucm250913.htm>). Necroptosis 경로의 중요 단백질 및 기전을 표적으로 하는 약물 개발을 통해 관련 질환들의 치료 가능성이 크게 기대되는 시기이다.

사 사

이 논문은 2013년도 정부(미래창조과학부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임(2012R1A2A2A02016803).

參 考 文 獻

Baritaud, M., Cabon, L., Delavallee, L., Galan-Malo, P., Gilles, M.E., Brunelle-Navas, M.N. and Susin, S.A. 2012. AIF-mediated caspase-independent

- necroptosis requires ATM and DNA-PK-induced histone H2AX Ser139 phosphorylation. *Cell Death Dis* 3: e390.
- Cabon, L., Galan-Malo, P., Bouharrou, A., Delavallee, L., Brunelle-Navas, M.N., Lorenzo, H.K., Gross, A. and Susin, S.A. 2012. BID regulates AIF-mediated caspase-independent necroptosis by promoting BAX activation. *Cell death and differentiation* 19: 245-256.
- Cao, G., Xing, J., Xiao, X., Liou, A.K., Gao, Y., Yin, X.M., Clark, R.S., Graham, S.H. and Chen, J. 2007. Critical role of calpain I in mitochondrial release of apoptosis-inducing factor in ischemic neuronal injury. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 27: 9278-9293.
- Chambon, P., Weill, J.D. and Mandel, P. 1963. Nicotinamide mononucleotide activation of new DNA-dependent polyadenylic acid synthesizing nuclear enzyme. *Biochemical and biophysical research communications* 11: 39-43.
- Chan, F.K., Shisler, J., Bixby, J.G., Felices, M., Zheng, L., Appel, M., Orenstein, J., Moss, B. and Lenardo, M.J. 2003. A role for tumor necrosis factor receptor-2 and receptor-interacting protein in programmed necrosis and antiviral responses. *The Journal of biological chemistry* 278: 51613-51621.
- Cho, Y.S., Challa, S., Moquin, D., Genga, R., Ray, T.D., Guildford, M. and Chan, F.K. 2009. Phosphorylation-driven assembly of the RIP1-RIP3 complex regulates programmed necrosis and virus-induced inflammation. *Cell* 137: 1112-1123.
- Choi, K., Kim, J., Kim, G.W. and Choi, C. 2009. Oxidative stress-induced necrotic cell death via mitochondria-dependent burst of reactive oxygen species. *Current neurovascular research* 6: 213-222.
- De Bont, R. and van Larebeke, N. 2004. Endogenous DNA damage in humans: a review of quantitative data. *Mutagenesis* 19: 169-185.
- Degterev, A., Hitomi, J., Gernscheid, M., Chen, I.L., Korkina, O., Teng, X., Abbott, D., Cuny, G.D., Yuan, C., Wagner, G., Hedrick, S.M., Gerber, S.A., Lugovskoy, A. and Yuan, J. 2008. Identification of RIP1 kinase as a specific cellular target of necrostatins. *Nature chemical biology* 4: 313-321.
- Degterev, A., Huang, Z., Boyce, M., Li, Y., Jagtap, P., Mizushima, N., Cuny, G.D., Mitchison, T.J., Moskowitz, M.A. and Yuan, J. 2005. Chemical inhibitor of nonapoptotic cell death with therapeutic potential for ischemic brain injury. *Nature chemical biology* 1: 112-119.
- Devasagayam, T.P., Tilak, J.C., Bloor, K.K., Sane, K.S., Ghaskadbi, S.S. and

- Lele, R.D. 2004. Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *The Journal of the Association of Physicians of India* 52: 794-804.
- Du, C., Fang, M., Li, Y., Li, L. and Wang, X. 2000. Smac, a mitochondrial protein that promotes cytochrome c-dependent caspase activation by eliminating IAP inhibition. *Cell* 102: 33-42.
- Edinger, A.L. and Thompson, C.B. 2004. Death by design: apoptosis, necrosis and autophagy. *Current opinion in cell biology* 16: 663-669.
- Garrido, C., Galluzzi, L., Brunet, M., Puig, P.E., Didelot, C. and Kroemer, G. 2006. Mechanisms of cytochrome c release from mitochondria. *Cell death and differentiation* 13: 1423-1433.
- Goossens, V., De Vos, K., Vercaemmen, D., Steemans, M., Vancompernelle, K., Fiers, W., Vandenabeele, P. and Grooten, J. 1999a. Redox regulation of TNF signaling. *BioFactors* 10: 145-156.
- Goossens, V., Grooten, J. and Fiers, W. 1996. The oxidative metabolism of glutamine. A modulator of reactive oxygen intermediate-mediated cytotoxicity of tumor necrosis factor in L929 fibrosarcoma cells. *The Journal of biological chemistry* 271: 192-196.
- Goossens, V., Stange, G., Moens, K., Pipeleers, D. and Grooten, J. 1999b. Regulation of tumor necrosis factor-induced, mitochondria- and reactive oxygen species-dependent cell death by the electron flux through the electron transport chain complex I. *Antioxidants & redox signaling* 1: 285-295.
- Goping, I.S., Barry, M., Liston, P., Sawchuk, T., Constantinescu, G., Michalak, K.M., Shostak, I., Roberts, D.L., Hunter, A.M., Korneluk, R. and Bleackley, R.C. 2003. Granzyme B-induced apoptosis requires both direct caspase activation and relief of caspase inhibition. *Immunity* 18: 355-365.
- Green, D.R. and Kroemer, G. 2005. Pharmacological manipulation of cell death: clinical applications in sight? *J Clin Invest* 115: 2610-2617.
- Harberts, E., Fischelevich, R., Liu, J., Atamas, S.P. and Gaspari, A.A. 2013. MyD88 mediates the decision to die by apoptosis or necroptosis after UV irradiation. *Innate Immun.*
- He, S., Liang, Y., Shao, F. and Wang, X. 2011. Toll-like receptors activate programmed necrosis in macrophages through a receptor-interacting kinase-3-mediated pathway. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108: 20054-20059.
- He, S., Wang, L., Miao, L., Wang, T., Du, F., Zhao, L. and Wang, X. 2009. Receptor

- interacting protein kinase-3 determines cellular necrotic response to TNF-alpha. *Cell* 137: 1100-1111.
- Hill, M.M., Adrain, C., Duriez, P.J., Creagh, E.M. and Martin, S.J. 2004. Analysis of the composition, assembly kinetics and activity of native Apaf-1 apoptosomes. *The EMBO journal* 23: 2134-2145.
- Hitomi, J., Christofferson, D.E., Ng, A., Yao, J., Degterev, A., Xavier, R.J. and Yuan, J. 2008. Identification of a molecular signaling network that regulates a cellular necrotic cell death pathway. *Cell* 135: 1311-1323.
- Holler, N., Zaru, R., Micheau, O., Thome, M., Attinger, A., Valitutti, S., Bodmer, J.L., Schneider, P., Seed, B. and Tschopp, J. 2000. Fas triggers an alternative, caspase-8-independent cell death pathway using the kinase RIP as effector molecule. *Nature immunology* 1: 489-495.
- Hsu, H., Huang, J., Shu, H.B., Baichwal, V. and Goeddel, D.V. 1996a. TNF-dependent recruitment of the protein kinase RIP to the TNF receptor-1 signaling complex. *Immunity* 4: 387-396.
- Hsu, H., Shu, H.B., Pan, M.G. and Goeddel, D.V. 1996b. TRADD-TRAF2 and TRADD-FADD interactions define two distinct TNF receptor 1 signal transduction pathways. *Cell* 84: 299-308.
- Hsu, H., Xiong, J. and Goeddel, D.V. 1995. The TNF receptor 1-associated protein TRADD signals cell death and NF-kappa B activation. *Cell* 81: 495-504.
- Huang, Y., Temperley, N.D., Ren, L., Smith, J., Li, N. and Burt, D.W. 2011. Molecular evolution of the vertebrate TLR1 gene family- a complex history of gene duplication, gene conversion, positive selection and co-evolution. *BMC Evol Biol* 11: 149.
- Kerr, J.F., Wyllie, A.H. and Currie, A.R. 1972. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *British journal of cancer* 26: 239-257.
- Kim, S.J. and Li, J. 2013. Caspase blockade induces RIP3-mediated programmed necrosis in Toll-like receptor-activated microglia. *Cell Death Dis* 4: e716.
- Kim, Y.S., Morgan, M.J., Choksi, S. and Liu, Z.G. 2007. TNF-induced activation of the Nox1 NADPH oxidase and its role in the induction of necrotic cell death. *Molecular cell* 26: 675-687.
- Kischkel, F.C., Hellbardt, S., Behrmann, I., Germer, M., Pawlita, M., Krammer, P.H. and Peter, M.E. 1995. Cytotoxicity-dependent APO-1 (Fas/CD95)-associated proteins form a death-inducing signaling complex (DISC) with the receptor. *The EMBO journal* 14: 5579-5588.

- Krishnan, J., Danzer, C., Simka, T., Ukropec, J., Walter, K.M., Kumpf, S., Mirtschink, P., Ukropcova, B., Gasperikova, D., Pedrazzini, T. and Krek, W. 2012. Dietary obesity-associated Hif1alpha activation in adipocytes restricts fatty acid oxidation and energy expenditure via suppression of the Sirt2-NAD+ system. *Genes & development* 26: 259-270.
- Kroemer, G., El-Deiry, W.S., Golstein, P., Peter, M.E., Vaux, D., Vandenabeele, P., Zhivotovsky, B., Blagosklonny, M.V., Malorni, W., Knight, R.A., Piacentini, M., Nagata, S., Melino, G. and Nomenclature Committee on Cell, D. 2005. Classification of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death. *Cell death and differentiation* 12 Suppl 2: 1463-1467.
- Kroemer, G., Galluzzi, L. and Brenner, C. 2007. Mitochondrial membrane permeabilization in cell death. *Physiological reviews* 87: 99-163.
- Kroemer, G., Galluzzi, L., Vandenabeele, P., Abrams, J., Alnemri, E.S., Baehrecke, E.H., Blagosklonny, M.V., El-Deiry, W.S., Golstein, P., Green, D.R., Hengartner, M., Knight, R.A., Kumar, S., Lipton, S.A., Malorni, W., Nunez, G., Peter, M.E., Tschopp, J., Yuan, J., Piacentini, M., Zhivotovsky, B. and Melino, G. 2009. Classification of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2009. *Cell death and differentiation* 16: 3-11.
- Laster, S.M., Wood, J.G. and Gooding, L.R. 1988. Tumor necrosis factor can induce both apoptic and necrotic forms of cell lysis. *Journal of immunology* 141: 2629-2634.
- Lettre, G. and Hengartner, M.O. 2006. Developmental apoptosis in *C. elegans*: a complex CEDnario. *Nature reviews. Molecular cell biology* 7: 97-108.
- Li, J., McQuade, T., Siemer, A.B., Napetschnig, J., Moriwaki, K., Hsiao, Y.S., Damko, E., Moquin, D., Walz, T., McDermott, A., Chan, F.K. and Wu, H. 2012. The RIP1/RIP3 necrosome forms a functional amyloid signaling complex required for programmed necrosis. *Cell* 150: 339-350.
- Lin, Y., Choksi, S., Shen, H.M., Yang, Q.F., Hur, G.M., Kim, Y.S., Tran, J.H., Nedospasov, S.A. and Liu, Z.G. 2004. Tumor necrosis factor-induced nonapoptotic cell death requires receptor-interacting protein-mediated cellular reactive oxygen species accumulation. *The Journal of biological chemistry* 279: 10822-10828.
- Los, M., Mozoluk, M., Ferrari, D., Stepczynska, A., Stroh, C., Renz, A., Herceg, Z., Wang, Z.Q. and Schulze-Osthoff, K. 2002. Activation and caspase-

- mediated inhibition of PARP: a molecular switch between fibroblast necrosis and apoptosis in death receptor signaling. *Molecular biology of the cell* 13: 978-988.
- Meylan, E., Burns, K., Hofmann, K., Blancheteau, V., Martinon, F., Kelliher, M. and Tschopp, J. 2004. RIP1 is an essential mediator of Toll-like receptor 3-induced NF-kappa B activation. *Nature immunology* 5: 503-507.
- Morato, R., Izquierdo, D., Paramio, M.T. and Mogas, T. 2010. Survival and apoptosis rates after vitrification in cryotop devices of in vitro-produced calf and cow blastocysts at different developmental stages. *Reprod Fertil Dev* 22: 1141-1147.
- Moubarak, R.S., Yuste, V.J., Artus, C., Bouharrou, A., Greer, P.A., Menissier-de Murcia, J. and Susin, S.A. 2007. Sequential activation of poly(ADP-ribose) polymerase 1, calpains, and Bax is essential in apoptosis-inducing factor-mediated programmed necrosis. *Molecular and cellular biology* 27: 4844-4862.
- Murphy, M.P. 2009. How mitochondria produce reactive oxygen species. *The Biochemical journal* 417: 1-13.
- Nakagawa, T., Shimizu, S., Watanabe, T., Yamaguchi, O., Otsu, K., Yamagata, H., Inohara, H., Kubo, T. and Tsujimoto, Y. 2005. Cyclophilin D-dependent mitochondrial permeability transition regulates some necrotic but not apoptotic cell death. *Nature* 434: 652-658.
- Oldfield, V., Keating, G.M. and Perry, C.M. 2007. Rasagiline: a review of its use in the management of Parkinson's disease. *Drugs* 67: 1725-1747.
- Press, V.G., Arora, V.M., Shah, L.M., Lewis, S.L., Charbeneau, J., Naureckas, E.T. and Krishnan, J.A. 2012. Teaching the use of respiratory inhalers to hospitalized patients with asthma or COPD: a randomized trial. *J Gen Intern Med* 27: 1317-1325.
- Reed, J.C. 2000. Mechanisms of apoptosis. *The American journal of pathology* 157: 1415-1430.
- Rodriguez-Vargas, J.M., Ruiz-Magana, M.J., Ruiz-Ruiz, C., Majuelos-Melguizo, J., Peralta-Leal, A., Rodriguez, M.I., Munoz-Gamez, J.A., de Almodovar, M.R., Siles, E., Rivas, A.L., Jaattela, M. and Oliver, F.J. 2012. ROS-induced DNA damage and PARP-1 are required for optimal induction of starvation-induced autophagy. *Cell research* 22: 1181-1198.
- Saelens, X., Festjens, N., Vande Walle, L., van Gorp, M., van Loo, G. and Vandenabeele, P. 2004. Toxic proteins released from mitochondria in cell

- death. *Oncogene* 23: 2861-2874.
- Savill, J. and Fadok, V. 2000. Corpse clearance defines the meaning of cell death. *Nature* 407: 784-788.
- Schreiber, V., Dantzer, F., Ame, J.C. and de Murcia, G. 2006. Poly(ADP-ribose): novel functions for an old molecule. *Nature reviews. Molecular cell biology* 7: 517-528.
- Schulze-Osthoff, K., Bakker, A.C., Vanhaesebroeck, B., Beyaert, R., Jacob, W.A. and Fiers, W. 1992. Cytotoxic activity of tumor necrosis factor is mediated by early damage of mitochondrial functions. Evidence for the involvement of mitochondrial radical generation. *The Journal of biological chemistry* 267: 5317-5323.
- Schweichel, J.U. and Merker, H.J. 1973. The morphology of various types of cell death in prenatal tissues. *Teratology* 7: 253-266.
- Sosna, J., Voigt, S., Mathieu, S., Lange, A., Thon, L., Davarnia, P., Herdegen, T., Linkermann, A., Rittger, A., Chan, F.K., Kabelitz, D., Schutze, S. and Adam, D. 2013. TNF-induced necroptosis and PARP-1-mediated necrosis represent distinct routes to programmed necrotic cell death. *Cellular and molecular life sciences : CMLS*.
- Sun, X., Lee, J., Navas, T., Baldwin, D.T., Stewart, T.A. and Dixit, V.M. 1999. RIP3, a novel apoptosis-inducing kinase. *The Journal of biological chemistry* 274: 16871-16875.
- Tan, S., Wood, M. and Maher, P. 1998. Oxidative stress induces a form of programmed cell death with characteristics of both apoptosis and necrosis in neuronal cells. *Journal of neurochemistry* 71: 95-105.
- Temkin, V., Huang, Q., Liu, H., Osada, H. and Pope, R.M. 2006. Inhibition of ADP/ATP exchange in receptor-interacting protein-mediated necrosis. *Molecular and cellular biology* 26: 2215-2225.
- Trapani, J.A. and Smyth, M.J. 2002. Functional significance of the perforin/granzyme cell death pathway. *Nature reviews. Immunology* 2: 735-747.
- Vandenabeele, P., Galluzzi, L., Vanden Berghe, T. and Kroemer, G. 2010. Molecular mechanisms of necroptosis: an ordered cellular explosion. *Nature reviews. Molecular cell biology* 11: 700-714.
- Vercammen, D., Beyaert, R., Denecker, G., Goossens, V., Van Loo, G., Declercq, W., Grooten, J., Fiers, W. and Vandenabeele, P. 1998. Inhibition of caspases increases the sensitivity of L929 cells to necrosis mediated by tumor necrosis factor. *The Journal of experimental medicine* 187: 1477-1485.

- Yazdanpanah, B., Wiegmann, K., Tchikov, V., Krut, O., Pongratz, C., Schramm, M., Kleinriders, A., Wunderlich, T., Kashkar, H., Utermohlen, O., Bruning, J.C., Schutze, S. and Kronke, M. 2009. Riboflavin kinase couples TNF receptor 1 to NADPH oxidase. *Nature* 460: 1159-1163.
- Yu, P.W., Huang, B.C., Shen, M., Quast, J., Chan, E., Xu, X., Nolan, G.P., Payan, D.G. and Luo, Y. 1999. Identification of RIP3, a RIP-like kinase that activates apoptosis and NFkappaB. *Current biology : CB* 9: 539-542.
- Yu, S.W., Wang, H., Poitras, M.F., Coombs, C., Bowers, W.J., Federoff, H.J., Poirier, G.G., Dawson, T.M. and Dawson, V.L. 2002. Mediation of poly(ADP-ribose) polymerase-1-dependent cell death by apoptosis-inducing factor. *Science* 297: 259-263.
- Zhang, D.W., Shao, J., Lin, J., Zhang, N., Lu, B.J., Lin, S.C., Dong, M.Q. and Han, J. 2009. RIP3, an energy metabolism regulator that switches TNF-induced cell death from apoptosis to necrosis. *Science* 325: 332-336.
- Zitvogel, L. and Kroemer, G. 2008. The immune response against dying tumor cells: avoid disaster, achieve cure. *Cell death and differentiation* 15: 1-2.
- Zong, W.X., Ditsworth, D., Bauer, D.E., Wang, Z.Q. and Thompson, C.B. 2004. Alkylating DNA damage stimulates a regulated form of necrotic cell death. *Genes & development* 18: 1272-1282.
- Zou, J., Kawai, T., Tsuchida, T., Kozaki, T., Tanaka, H., Shin, K.S., Kumar, H. and Akira, S. 2013. Poly IC triggers a cathepsin D- and IPS-1-dependent pathway to enhance cytokine production and mediate dendritic cell necroptosis. *Immunity* 38: 717-728.