

Regulation of the stress activated MAP kinase

한효과학 기술원

최 의 주

세포내에서의 유전자 발현의 다양성은 여러 종류의 외부자극에 의해 항상 조절되어 지고 있다. 유전자 발현의 조절기전과정에서 여러 transcription factor들이 중심적 역할을 하는 것이 알려져 있다. Transcription factor의 활성도는 원핵 생물과 진핵 생물 공히 protein phosphorylation과정을 통하여 조절되어지는 공통의 경로를 거치게 된다. 이러한 protein 인산화과정은 상황에 따른 post-translational modification 과정으로서 세포표면에 위치한 각각의 수용체(receptor)들이 신호를 인지하여 그 반응으로서 신속하게 transcription factor의 활성을 조절하기위한 것이다.

protein kinase cascade 활성화의 기작에 있어서 외부신호는, ternary complex factor(TCF)/Elk-1, AP-1 등과 같은 transcription factor들에 의해 조절되는 de novo protein 합성과는 상관없이, growth factor 수용체를 거쳐 여러 자극에 의해 유도 되는 immediate-early gene 으로 전달된다. 이러한 cascade가 수행되기 위해서는 serine/threonine protein kinase중 mitogen-activated protein kinase(MAPK) family의 여러 kinase들과 ribosomal S6 kinase(RSK/MAPKAP kinase-1)와 MAPK-activated protein kinase-2(MAPKAP kinase-2)(1,2) 등과 같은 down stream protein kinase들의 활성화가 필수적이다.

Mitogen-activated protein kinase(MAPK) cascade는 세포에 있어 외부신호로부터 세포내부의 반응을 유도하는 주요 신호 전달 체계로서 cascade의 여러단계는 yeast, *Caenorhabditis elegans*, *Drosophila melanogaster*와 mammalian cell에서도 유사하다(2-6). MAPK cascade는 yeast경우의 mating pheromone, 삼투성자극(osmotic stress)(3), *Drosophila*경우의 cell 간 접촉(4), mitogen(5), cytokine(2, 6-9), UV 조사, 그외 척추동물에서 여러 다양한 stress에 의해서 활성화 된다.

최근 척추동물에서 세가지 구분되는 MAPK 가 알려져 있으며 yeast에서는 적어도 4가지의 MAPK signaling pathway가 알려져 있다. 척추동물의 경우 MAPK family에는 extracellular signal-regulated kinase(ERK), Jun N-terminal kinase(JNK)/stress-activated protein kinase(SAPK), p38/Mpk2/Cytokine-suppressive anti-inflammatory drug binding protein(CSBP; *S. cerevisiae* kinase Hog1와 관련)등이 있으며 각각의 경우

MAPK는 dual-specificity MAPK kinase(MAPKK)활성화의 결과로서 활성화 된다(1, 3, 5, 6, 8, 9, 10, 13,14). 활성화된 MAPKK는 target MAPK의 아미노산 잔기를 사이에 두고 있는 threonine과 tyrosine을 인산화시킨다. 이러한 활성화과정중에 MAPK의 ERK group들과 MAPKAP kinase의 RSK group은 세포질에서 핵내로 이동하는 반면, ERK의 윗쪽 단계에서 작용하는 MAPKKK, MAPKK, Raf, MEK는 활성화 되었을때도 세포내의 여러 scaffold protein과 결합하고 있음으로 인해 세포질 내에 남아있게 된다(15-19).

ERK가 일단 핵내로 들어가게 되면 c-fos를 유도하는 transcription factor인 TCF등과 같은 여러가지 기질을 인산화 한다(18, 19). TCF의 인산화는 c-terminal쪽의 여러 serine residue에서 일어나는데 반응기작은 매우 빨라서 5분이내에서 감지할수 있을 정도이며 인산화된 TCF는 c-fos promoter에서 SRF(SRE-binding factor)와 함께 SRE-bound-ternary complex를 형성하게 되는 SRE(serum response element)와 결합함으로써 c-fos의 발현을 매개하게 된다(20). In vitro에서 TCF활성을 촉진하는 site가 ERK1과 ERK2(21)에 의해서 효과적으로 인산화되는 것이 알려졌는데, 더우기 ERK1과 ERK2의 비활성 mutant를 overexpression시키면 mitogenic signal에의한 c-fos promoter의 활성화가 저해되는것이 밝혀졌다(22).

최근 MAPK의 두번째 subfamily에 속하는 JNK/SAPKs(20, 22, 26)가 발견되었다(18). human liver cDNA library로부터 유래한 JNK1, JNK2로 명명된 분자량 46kDa과 55kDa인 두 kinase 외에도 rat brain cDNA library에서의 SAPK α 와 SAPK β 경우 JNK2와 크기가 비슷한 55kDa이며 SAPK γ 는 JNK1의 경우처럼 약 45kDa의 분자량을 가진다.

ERK와 마찬가지로, JNK/SAPKs는 Ras에의한 경로를 통하여 growth factor에의해서 활성화될 수있다. UV조사, 단백질 합성 inhibitor, TNF- α 등 여러 stress성 자극에 의해 활성화될 수 있다(6, 8, 10-12, 23, 24). JNK/SAPK가 Ras-dependent경로를 통하여 활성화 될때는 MEKK1와 SEK1/ MKK4/ JNKK라고 알려진 MEK-related kinase를 필요로 한다. 많은 isoform이 존재하는 MEKK의 대부분은 아직 각 특성이 규명되지 않았으며 어떤기작을 통하여 조절되어지는 지는 확실하지는 않다.

p38은 또다른 MAPK subfamily로서 화학물질과 heat stress에의해 활성화되는데 yeast의 HOG1과 51%정도의 유사한 아미노산 sequence를 가지며 ERK의 TEY대신 domain VIII의 TGY sequence에 의해서 구분된다(36).

여러가지 다양한 agonist에 의해서 활성화되는 개개의 MAPK subtype

의 TEY, TPY 그리고 TGY motif를 인산화 시키는 upstream dual-specific kinase들의 특징들을 보면 우선 ERK에 대한 MEK는 JNK/SAPKs나 p38에 대하여는 활성화 시키지 못한다. JNK/SAPK cascade에 있어 MEK에 해당하는 것은 SEK1이며, p38 kinase는 RK kinase(RKK)에 의해 선택적인 활성화가 일어난다. 또한 SEK1/MKK4/JNKK1도 또한 p38/Mpk2/CSBP를 활성화시킬수 있다. p38은 또다른 MAPK subfamily로서 화학물질과 heat stress에 의해 활성화되는데 yeast의 HOG1과 51% 정도의 유사한 peptide sequence를 가지며 ERK의 TEY대신 domain VIII의 TGY sequence에 의해서 구분된다(34).

MEKK는 MEK를 활성화 시킬수 있음에도 불구하고 과발현되지 않는한 ERK pathway를 활성화시키지 못한다. MEKK의 기작에서의 이러한 특이성은 scaffolding protein의 존재에 기인한다고 할수 있다.

JNK/SAPKs는 c-Jun의 활성화부위의 ser63과 ser73을 인산화시킴으로써 c-Jun transcription활성을 촉진한다. 이 두 serine은 모두 proline을 다음 residue에 가지고 있음으로서 MAPK target이 될수 있지만, ERK나 p38이 이 site를 효과적으로 phosphorylation시키지는 않는다(1, 23). 실제 ERK는 c-Jun의 DNA결합억제와 관련되어 있는 c-Jun carboxyl-terminal domain에 위치한 site를 인산화시킨다. 지금까지는 c-Jun 활성화부위에 결합할 수 있는 JNK/SAPKs만이 c-Jun activating site를 효과적으로 인산화시킬수 있음이 알려졌다(6, 8, 10, 14, 28). 이러한 상호작용은 주로 in vitro에서 증명되었지만 아미노산 30번과 60번 사이에 있는 다양한 JNK/SAPK docking site를 deletion시키면 다양한 JNK/SAPK activator에 의한 c-Jun의 인산화 정도가 in vivo에서도 현저히 감소한다(25-27). 이런 mutant들은 JNK/SAPKs를 활성화 시킬수 있는 신호에 의해 더 이상 활성화 되지 않는다. c-Jun의 N-terminal인산화에 의한 활성화는 아주 빨리 일어나며, JNK/SAPK의 활성화도 밀접하게 연관되어 있다.

c-Jun은 c-Fos와 heterodimer를 형성, AP-1을 구성한다(35). 또한 c-Jun homodimer도 c-Jun-c-Fos heterodimer만큼 안정성이 높지는 않지만 AP-1 site에 결합할 수 있다. AP-1의 작용을 증가시키는 데는 post-translational modification 뿐만 아니라 다른 여러 경로 및 작용기작이 관여하며, c-Fos나 c-Jun의 증가도 이들중 하나다. 각각의 경로가 모두 AP-1 활성화에 어느정도 관여한다고 볼수 있지만 특정한 gene이 특정한 인자에 보다 민감하게 반응하리라 보는것도 가능하다. 즉, 어떤 gene은 c-Fos증가와 ERK 활성화에 보다 민감하게 반응하는 반면 다른 gene은 c-Jun의 인산화와 JNK/SAPK 활성화에 보다 더 민감하게 반응할수 있다.

JNK/SAPK경로에서 target으로 여겨지는 것들 중에 가장 가능성이 큰

것은 c-Jun의 promoter로서, 이 promoter의 induction은 ERK 활성화보다는 JNK/SAPK의 활성화와 관계가 있다(23, 25, 27). c-Jun-ATF2 heterodimer에 의해 인지될 것으로 생각되는 것중 가장 가능성이 큰 것은 c-Jun TRE(TPA response element)이며 이는 c-Fos SRE와 마찬가지로 지속적으로 transcription factor들과 작용한다(28). 따라서 protein kinase가 활성화 되었을때 빠르게 gene induction을 일으키는 일반적인 기작은 target promoter에 이미 결합되어 있는 transcription factor의 인산화이다. CREB에서 볼수 있는 것과 마찬가지로 c-Jun은 ser73번이 인산화 됨으로써 CBP와 결합할 수 있게 되고 그 결과 CBP의 발현이 증가되면 transcription도 활성화된다(37). N-terminal부분이 JNK/SAPK대신 PKA에 의해 인산화 되도록 변화된 c-Jun mutant는 JNK/SAPK 활성화를 일으키는 신호전달에 대해서는 더이상 반응하지 않으며 대신 PKA 활성화에 의해 자극을 받는다(29). 이러한 사실은 c-Jun의 transcription을 증가시키는 것은 c-Jun의 activation domain과 작용하는 다른 단백질에 의해서가 아니라 c-Jun 자체의 인산화라는 것을 시사한다. 흥미롭게도 JNK/SAPK는 ATF의 transcription활성을 일으키는 부위를 인산화 한다(30, 31). 그 뿐만 아니라 JNK/SAPK는 TCF/Elk-1도 인산화시켜 활성화 할 수 있으며, 이 작용은 c-Fos의 발현을 증가시켜, AP-1을 활성화 시킬 수도 있다. 이것은 UV나 다른 stress에 의해 c-Fos가 증가되는 현상을 설명하는데 중요한 작용기전이 될 수있다.

AP-1의 활성화는 c-Fos induction 뿐만아니라 c-Fos의 Thr232가 인산화 됨으로써도 일어날수 있는데 growth-factor에 의해 Ras가 활성화 될때 이러한 현상이 일어남으로써 transcription을 증가시킨다(32). c-Fos의 Thr232는 그 주변의 아미노산 배열이 c-Jun이나 c-Fos에서 활성화가 일어할 때 인산화되는 부위와 매우 유사하지만 JNK/SAPK나 ERK MAPK에 의해서는 인산화되지 않으며 FRK(fos-regulatory kinase)와 명명된 새로운 88kD의 Ras-activated protein kinase에 의해서 인산화된다(32). FRK는 아직 cloning되지는 않았으나 growth factor에 의해 빠르게 activation되는 현상이나 proline에 이어진 threonine이나 serine을 인지한다는 점들을 볼 때 MAPK family의 하나로 생각된다.

3가지 type의 MAPK는 모두 AP-1의 활성화를 유도하지만 이들 MAPKs는 각기 특이한 활성화 경로를 거쳐, 다층화된 조절작용을 통하여 외부자극에 대한 AP-1 활성을 증가시키게 된다. 이 중 여러 다양한 외부의 stress성 자극에 의하여 활성화 되는 JNK/SAPK가 다른MAPK와는 구별되는 경로를 거쳐 AP-1의 활성뿐 아니라 세포내의 여러 조절 작용기전에 있어서도 핵심적인 기능을 할 것으로 생각되고 있다.

참고 문헌

1. Rouse, J. *et al. Cell* 78:1027-1037, 1994.
2. Freshney N. W. *et al. Cell* 78:1039-1049, 1994.
3. Ammerer, G. *Curr Opin Genet Dev* 4:90-95, 1994.
4. Brunner, D. *et al. Cell* 76:875-888, 1994.
5. Ahn, N. G. *et al. Curr Opin Cell Biol* 4:992-999, 1992.
6. Kyriakis, J. M. *et al. Nature* 369:156-160, 1994.
7. Westwick, J. K. *et al. J Biol Chem* 269:26396-26401, 1994.
8. Sluss, H. K. *et al. Mol Cell Biol* 14:8376-8384, 1994.
9. Lee, J. C. *et al. Nature* 372:739-746, 1994.
10. Derjard, B. *et al. Cell* 76:1025-1037, 1994.
11. Pombo, C. M. *et al. J Biol Chem* 269:26546-26551, 1994.
12. Cano, E. *et al. Mol Cell Biol* 14:7352-7362, 1994.
13. Han, J. *et al. Science* 265:808-811, 1994.
14. Kallunki, T. *et al. Genes Dev* 8:2996-3007, 1994.
15. Chen, R. H. *et al. Mol Cell Biol* 12:915-927, 1992.
16. Lenormand, P. *et al. J Cell Biol* 122:1079-1088, 1993.
17. Gonzalez, F. A. *et al. J Cell Biol* 122:1098-1101, 1993.
18. Gille, H. *et al. Nature* 358:414-417, 1992.
19. Marais, R. *et al. Cell* 73:381-393, 1993.
20. Herrera, R. E. *et al. Nature* 340:68-70, 1989.
21. Gille, H. *et al. EMBO J* 14:951-962, 1995.
22. Kortjenann, N. *et al. Mol Cell Biol* 14:4815-4824, 1994.
23. Minden, A. *et al. Mol Cell Biol* 14:6683-6688, 1994.
24. Coso, O. A. *et al. J Biol Chem* 270:5620-5624, 1995.
25. Hibi, M. *et al. Genes Dev* 7:2135-2148, 1993.
26. Adler, V. *et al. Proc Natl Acad Sci USA* 89:5341-5345, 1992.
27. Su, B. *et al. Cell* 77:727-736, 1994.
28. Rozek, D. *et al. Mol Cell Biol* 13:5490-5491, 1993.
29. Smeal, T. *et al. EMBO J* 13:6006-6010, 1994.
30. Gupta, S. *et al. Science* 267:389-393, 1995.
31. van, Dam. H. *et al. EMBO J* 14:1798-1811, 1995.
32. Deng, T. *et al. Nature* 371:171-175, 1994.
33. Elion, E. A. *et al. Mol Biol Cell* 4:495-510, 1993.
34. Lin, A. *et al. Science* 268:286-290, 1995.
35. Arias, J. *et al. Nature* 370:226-229, 1994.