

## 세포주기조절에 관한 최근 연구

최영현\* · 최혜정

동의대학교 한의과대학 생화학교실 및 한의학연구소

## Significance of Cell Cycle and Checkpoint Control

Yung Hyun Choi\* and Hye Joung Choi

*Department of Biochemistry, College of Oriental Medicine, Dong-Eui University and  
Research Center for Oriental Medicine, 614-052, Pusan, Korea*

### Abstract

Regulation of cell proliferation is a complex process involving the regulated expression and/or modification of discrete gene products, which control transition between different stages of the cell cycle. The purpose of this short review is to provide an overview of somatic cell cycle events and their controls. Cyclins have appeared as major positive regulators in this network, because their association to the cyclin-dependent kinases (Cdks) allows the subsequent activation of the Cdk/cyclin complexes and their catalytic activity. In mammalian cells, early to mid G1 progression and late G1 progression leading to S phase entry are directed by D-type cyclins-Cdk4, 6 and cyclin E-Cdk2 both of which can phosphorylate the retinoblastoma protein (pRB). pRB, is a transcriptional repressor which, in its unphosphorylated state, binds to members of the E2F transcription factor family and blocks E2F-dependent transcription of genes controlling the G1 to S phase transition and subsequent DNA synthesis. Cyclin A is produced in late G1 and expressed during S and G2 phase, and expression of B-type cyclins is typically maximal during the G2 to M phase transition and it controls the passage through M phase. They primarily associate with and activate Cdk2, and Cdc2, respectively. On the other hand, the Cdk inhibitors negatively control the activity of Cdk/cyclin complex by coordinating internal and/or external signals and impending proliferation at several key checkpoints. These current and further findings will provide novel approaches to understanding and treating major diseases.

**Key words** – cell cycle, checkpoint, cancer

### 서 론

세포주기에 관한 개념은 20세기 이전에 광학 현미경의 관찰을 통한 간기세포와 유사 분열기 세포들의 구별이 가

능해진 후, 1950년대에 Swift 및 Howard 등에 의해 G1 (Gap 1), S (DNA 합성기), G2 (Gap 2) 및 M (유사분열기) 기 대한 정의가 내려지면서 성립되었다고 할 수 있다[20]. 세포생물학에 있어 세포주기를 정립한 선구적인 연구 결과들은 포유동물의 세포가 대략 하루(평균적으로 G1 및 S기가 8시간, G2기가 2시간 그리고 M기가 1시간 전후)를 주기로 지속적인 분열을 한다는 점의 재조명이라 할 수 있다[19].

\*To whom all correspondence should be addressed  
Tel : (051) 850-7413, Fax : (051) 853-4036  
E-mail : choiyh@hyomin.dongueui.ac.kr

한편 1971년에 Masui와 Markert에 의해 *Xenopus* 난모세포에서 유사분열 세포주기 진행에 중요한 인자인 maturation promoting factor (MPF)가 동정되면서 세포주기 조절이 가능하다는 인식이 자리잡기 시작하였다. 이러한 생각은 1974년에 세포 분열에 이상이 있는 돌연변이[cell division cycle (cdc) mutants]를 이용한 유전학적 분석을 시도했던 Hartwell 등과, 이후 암세포에서 G1기 성장 조절의 교란에 관한 연구를 했던 Pardee 등에 의해 더욱 더 구체화되었다[17,36]. 그후 생화학 및 분자생물학적 실험방법들의 폭발적인 성장과 더불어 1983년 세포주기조절의 양성인자라 할 수 있는 cyclin들이 동정되었다. Hunt, Ruderman 및 그들 공동 연구자들은 cyclins의 합성, 인산화 및 분해 과정 등의 연구를 통해서 이들이 전 세포주기를 걸쳐 매우 다양하게 존재한다는 것을 발견하였다[30]. 그 후 Nurse 등에 의해 세포주기 특이적인 cyclin-dependent kinase (Cdks)들의 기능적 활성이 세포주기의 진행에 필수적임이 밝혀졌고, 이것이 cyclins에 의해 활성화된다는 것도 알려지게 되었다[33]. 본 총설에서는 체세포 주기조절에 관여하는 주요인자들의 기능과 그들의 의미를 최근 연구결과를 중심으로 고찰하고자 한다.

### 체세포 주기의 기본 개념

#### G1기

*In vivo*에서 대부분의 체세포는 휴지기 상태(G0기)이고 소수의 세포만이 세포분열을 한다. 세포배양에서 세포의 밀도 증대로 인한 세포들간의 접촉증가 또는 성장인자나 영양분의 소실로 인하여 세포들은 휴지기 상태가 될 수도 있다. 어떤 세포들은 표면에 부착되어 자라지 못할 경우 휴지기에서 성장이 멈출 수도 있는데, 휴지기 세포들은 대개 DNA를 복제하지 못한다. G0기의 세포들은 epidermal growth factor (EGF), insulin-like growth factor (IGF) 등과 같은 성장인자에 의해서 다시 세포분열을 할 수 있게 된다. 즉, 성장인자들이 세포막에 존재하는 특이적인 수용체와 결합하게 되어 그 신호가 세포 내로 전달되면, 여러 단계의 신호전달 kinase cascade를 거쳐 *ras*, *fos*, *myc*, mitogen-activated protein (MAP) 및 phosphatidylinositol-3 (PI-3) kinase 등 세포의 성장에 필요한 많은 유전자들이 발현하게 된다. 특히, *ras*-proto oncogene은 세포가 휴지기

상태에서 벗어나서 G1/S기 전이까지 매우 중요한 역할을 한다[21]. 이러한 신호전달 cascade는 최소한 100여 개의 유전자 발현을 통하여 G1기 활성을 유도하는 것으로 알려져 있다. 그 중 가장 중심이 되는 신호전달 체계는 G1기초기에 성장인자나 *ras*의 영향을 받아 D-type cyclins의 발현이 증가되어 Cdk4와 Cdk6를 활성화시키는 경로이다. 이는 cyclin D와 Cdks의 결합을 통하여 이루어지며, 활성화된 cyclin D/Cdk4/6 복합체는 retinoblastoma 단백질(pRb)을 인산화시킨다[44, Fig. 1].

pRb는 종양억제인자로서 인산화의 정도에 따라 전사조절인자 E2F family와의 결합을 통해 E2F 인자들의 활성을 조절한다. 최근 인산화되지 않은 pRb는 histone deacetylase (HDAC) 1과 복합체를 이루고 염색질의 구조 변형(염색질을 매우 밀집시켜 전사인자의 접근을 막는 역할)을 유도하여 전사작용을 억제하는 것으로 알려졌다[29,53].

pRb가 인산화되면 E2F가 유리되며, 유리된 E2F 전사인자는 DNA 합성과 연관된 많은 유전자들의 발현을 촉진시키게 된다(Fig. 2. G1기에서 pRb와 HDAC를 포함하는 repressor 복합체로 인해서 E2F에 의해 발현되는 S기 특이적인 유전자들의 발현이 억제된다. Cyclin D/Cdk4/6 복합체는 pRb를 인산화 시킴으로써 E2F 전사인자가 S기 특이적인 유전자의 발현을 유발하게 한다. 비록 pRb에 대한 인산

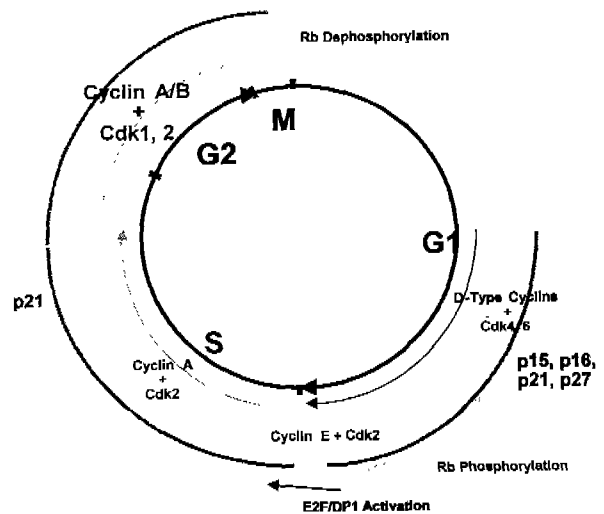


Fig. 1. Schematic view showing the four phases of the cell cycle and some of the many molecules important for progression.

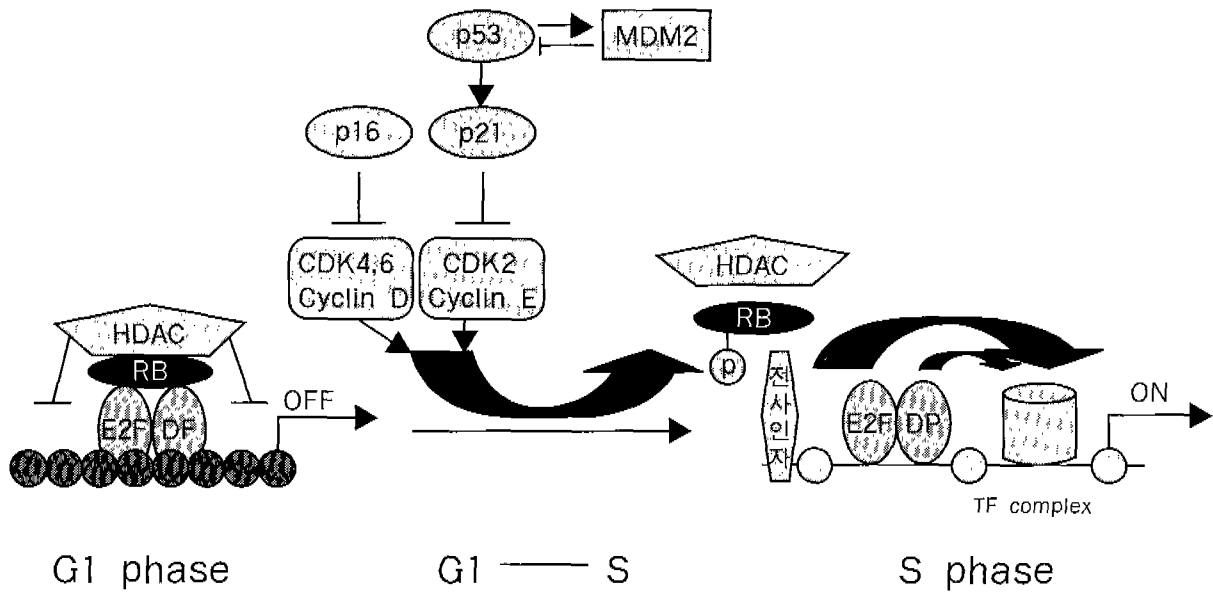


Fig. 2. A model for pRb function. Phosphorylation of pRb by cyclin D and cyclin E leads to gene expression.

화 장소는 다르지만 또 다른 경로인 cyclin E/Cdk2 복합체에 의한 pRb의 인산화도 위와 같은 결과를 낳는다. DNA 손상이나 분화와 같은 성장 억제 신호는 p21을 증가시켜 cyclin E/Cdk2의 활성을 억제하고 결국 pRb의 작용을 통해 S기로 전이되지 못하게 된다. 세포주기에서 cyclin D/Cdk cascade의 주 표적인자는 Cdk2와 DNA 합성을 활성화시키는 cyclin E이다[11]. G1기에서 Cdk를 활성화시키는 새로운 cyclins의 합성에 부가적으로 kinases의 인산화 또한 다른 수준에서의 조절 단계가 된다. 예를 들어 cyclin activating kinases (CAKs)는 세포주기 진행에 필수인자로서 Cdk의 T-loop에 위치한 threonine을 인산화시켜 기질과 결합할 수 있는 자리를 제공할 수 있도록 하여준다 [10]. Cdk의 인산화는 세포주기 상 G1/S기 및 G2/M기 전이과정 모두에서 발견된다. 세포 내에서 cyclin/Cdk 복

합체들의 구획화 또한 세포주기 조절에 중요한 단계이며, 이들의 조절 기전에 대해서는 차후 논의 될 것이다.

Cyclins가 Cdk를 활성화시키는 반면, cyclin/Cdk 복합체와 결합을 하여 G1/S기로의 진행을 억제할 수 있는 Cdk 활성의 억제인자(inhibitors of the Cdk, CKIs) 또한 동정되어졌다. CKIs는 발생 및 발암과정에서 cyclins와 Cdk의 활성을 조절하는 중요한 역할을 하게된다. 이들 억제인자들은 현재 두 가지 family (INK4 및 CIP/KIP family)로 분류되어지고 있다. INK4 family에는 p15, p16, p18 및 p19가 포함되며 주로 D-type cyclins/Cdk4/6 복합체에 작용하며, p21, p27 및 p57을 포함하는 CIP/KIP family는 몇몇 cyclin/Cdk 복합체의 활성을 저해할 수 있다(Table 1). 예를 들면 G1기를 지나는 동안 증가된 cyclin D 및 E는 CKIs에 의한 Cdk의 활성 억제를 극복하여 S기로 진행을

Table 1. Major cyclin-Cdk cell cycle complexes

cell cycle stage	cyclin/Cdk complexes	Cdk inhibitors						
		INK4 family				CIP/KIP family		
		p15	p16	p18	p19	p21	p27	p57
G1	Cyclin D/Cdk4(6)	+	+	+	+	+	+/-	+/-
G1/S	Cyclin E/Cdk	-	-	-	-	+	+	+
S	Cyclin A/Cdk2	-	-	-	-	+	-	+
G2/M	Cyclin B/Cdc	-	-	-	-	+	-	-

할 수 있게 한다[16].

한편 성장인자나 영양물질의 결여로 세포들은 G1기의 특별한 시기(포유동물에서는 restriction point (R-point), 효모에서는 START)를 통과할 수 없으며, 대신에 휴지기로 접어들게 된다. 그러나 일단 이 시기를 통과한 세포들은 세포주기를 진행하는데 더 이상의 세포 외부 성장인자를 필요로 하지 않으며, 후기 G1기에서 이 R-point를 지나기 위한 마지막 단계는 cyclin E와 같은 불안정한 단백질의 합성이다. 이 단백질은 R-point와 거의 유사한 시기에 합성되기 시작하며 대부분의 종양세포에서 높은 양적 발현을 보여준다. Rb 유전자가 결여된 세포에서 G1/S기 전이에 cyclin D1/Cdk4 복합체는 없어도 되지만 cyclin E/Cdk2 복합체가 필수적인 것은 세포주기진행에서 cyclin E의 중요성을 잘 나타내어 준다고 할 수 있다[48]. 최근 Geng 등은 cyclin D1 유전자 결손 생쥐에서 비록 pRb의 인산화가 없을지라도 cyclin E의 발현에 의해 세포주기가 정상적으로 유지될 수 있음을 보여준 바 있다[11]. 이러한 연구결과 역시 cyclin E가 R-point 단백질로서의 중요성을 잘 나타내어 준다고 할 수 있다(Fig. 2).

### S기

S기의 가장 큰 특징인 DNA 복제는 100 kb 정도 떨어져 있는 50,000개 가량의 복제 개시점에서 시작된다. 각각의 유전자들은 시간적인 차이를 두고 복제되는데, 일반적으로 전사가 활발하게 일어나는 진정염색질(euchromatin) 부위는 S기 초기에, 전사가 일어나지 않는 이질염색질(heterochromatin) 부위는 S기 후기에 복제된다[13]. 최근 효모를 대상으로 한 연구에서 DNA 복제 개시에 중요한 몇 가지 단백질들이 동정되었다. S기 초기에 cyclin D와 E는 ubiquitination이 일어나 proteasome에 의해 분해(또는  $Ca^{2+}$  의존성 calpain의 활성화에 의해)된다[2,12,49]. 이 때 cyclin A의 발현이 증가해서 Cdk2를 활성화시키면 S기로 진행할 수 있게 된다. 게다가 DNA 합성에 필요한 다른 단백질뿐 아니라 여러 효소들 또한 S기 초기에 발현이 증가하는데, 여기에는 histones, proliferating cell nuclear antigen (PCNA), thymidylate synthase, ribonucleotide reductase 등이 포함된다. Thymidine kinase의 전사는 G1기에서 S기로의 진행시점에 Rb family에 속하는 p107, cyclin A 및 Cdk2를 포함하는 promoter 복합체에 의하여 조절되는데,

이는 세포주기 조절 단백질과 S기 유전자들의 전사활성 사이에 밀접한 관계가 있음을 시사한다[20,26]. 아울러 이들 단백질들은 아직 밝혀지지 않은 어떤 기전에 의해 G1기 및 S기 사이에 세포질에서 핵 내로 이동된다. 이러한 모든 조절 작용이 S기로의 진행을 촉진시킨다.

### G2기

세포들은 후기 S기에서 G2기 동안 부분적이긴 하지만 cyclin A와 B의 발현 증가를 통해 유사분열을 준비한다. 현재 cyclin B가 주된 유사분열 cyclin이라 생각하고 있지만 cyclin A 역시 세포들이 유사분열기로 접어들기 위해 필수적이다[35,37]. Cyclin B의 발현이 증가되면서 Cdc2 (Cdk1)와 복합체를 이루고 CAK에 의해서 인산화되어 cyclin B/Cdc2 복합체는 활성을 나타낼 수 있는 상태로 된다. 그러나 G2기에서 이 복합체는 kinase 활성 자리인 14, 15번째 아미노산 threonine과 tyrosine이 인산화되어 불활성화 상태로 남게된다[23,42]. Thr14와 Tyr15의 인산화를 조절하는 효소는 Wee1 kinase와 cdc25 phosphatase로서, G2기 동안 Wee1 kinase 활성이 cdc25 phosphatase 활성보다 더 크므로 cyclin B/Cdc2 복합체는 불활성 상태로 유지된다[7,32]. 이후 cyclin B/Cdc2 복합체의 활성은 이들 복합체의 세포 내 위치의 변동에 의하여 조절되어지는데, G2기에 형성된 이 복합체는 세포질에 존재하고 있다가 유사분열 시기에 핵으로 이동하게 된다.

### M기와 세포질 분열

유사분열은 S기가 완결되어야 진행이 되지만, 어떤 종류의 약물을 처리하게 되면 S기의 완결과는 무관하게 진행될 수 있다. 세포가 유사분열기로 들어가기 위해서는 cdc34의 존재를 통한 Wee1 kinase의 단백질 분해가 요구되지만, DNA 복제를 억제하면 이 분해과정을 막을 수 있다. Wee1의 분해에 부가적으로 유사분열 전기에 cdc25가 인산화되어 cyclin B/Cdc2를 활성화 시키게 된다[32]. 이와 거의 동시에 cyclin B/Cdc2는 핵 안으로 빠르게 이동된다. 따라서 cyclin B/Cdc2의 활성은 세포 내 위치 및 인산화의 두 가지 모두에 의해서 조절된다고 할 수 있다[15,27]. Cyclin B/Cdc2 복합체가 완전히 활성화되어 발생하는 세포 내 kinase/phosphatase 비율의 급격한 증가는 유사분열에 수반되는 극적인 세포 형태변화에 매우 중요한 역할을

하는 것으로 알려져 있다. 이 변화에는 핵막의 붕괴, microtubule 망의 해리에 이은 방추사의 재배열, 세포내 골격계 재구성 및 염색체 응축 등이 포함되며, 이러한 변화는 세포의 분열을 위한 준비단계이다. 유사분열 자체의 존재 뿐 아니라 유사분열의 진행은 ubiquitin 경로에 의한 단백질 분해 기능을 하는 anaphase-promoting complex (APC)/cyclosome에 의해 조절된다[6,51]. 이것은 cyclin A, B와 같은 유사분열 cyclin들의 destruction box라 불리는 잘 보존된 9개의 잔기를 인지한다. 아직 그 기전은 정확하지 않으나 cyclin A가 cyclin B보다 먼저 분해되는 것처럼 cyclin들은 정해진 순서에 따라 분해된다. 결국 cyclin B의 분해로 인해 세포는 유사분열기를 벗어날 수 있게 된다[24].

#### DNA 합성을 위한 다음 단계 : Licensing

DNA 합성은 유사분열이 완전히 끝나거나 유사분열 cyclins의 분해가 이루어지기 전에는 일어나지 않는다. 즉 DNA의 합성은 세포주기 당 단 한번만 일어나도록 되어 있으며, 이러한 현상을 1996년 Chong 등에 의해 'licensing'이라 명명되었다[3]. DNA licensing에는 minichromosome maintenance (MCM) 단백질, 복제 개시점에 결합하는 ORC (origin of replication) 단백질 및 Cdks가 관여한다. 최근 *Xenopus*에서 제시된 한 모델에 의하면 유사분열 후, Cdks 활성의 감소로 인해 MCM 단백질이 ORCs와 결합하게 되고, 이어서 Cdc6/cdc18 단백질을 포함한 전복제개시 복합체 (prereplicative complex)를 형성하게 된다. 이후 G1기 후기에 Cdks의 활성이 증가되면서 DNA 복제가 이루어지며, 복제개시 복합체가 활성화된 후 Cdc6/cdc18 단백질은 분해되어 사라지고, 이 복합체는 불활성화 된다. Cdks의 활성이 떨어지면서 유사분열기의 완결이 되고 나서야 MCM 단백질은 탈인산화상태로 되어 ORC와의 결합에 이은 세포주기를 다시 시작할 수 있게 된다[40,50].

p21이 결여된 세포에서 staurosporine과 같은 약물을 처리하면, G2기와 비슷한 상태에서 M기를 거치지 않고도 부가적인 S기를 수행할 수 있어서 polyploid nuclei를 형성하게 되며 결국 apoptosis를 통해서 세포는 죽게 된다. 이렇게 S/M uncoupling을 일으키는 DNA-damaging agent들은 선택적으로 암세포를 사멸시킬 수 있어 임상에 많이 적용될 수 있을 것이다[47].

## 세포주기의 조절

### DNA 손상과 Checkpoint

보통의 세포주기 외에, DNA 손상에 의해 R-point 또는 START에서 세포주기가 멈춰지는 현상을 checkpoint라 한다. R-point는 cyclin D 의존적 kinase 활성을 억제하여 pRb의 인산화와 불활성을 유도하는 INK4 유전자 산물들에 의해 조절되며, 이로 인하여 cyclin E의 합성과 활성이 억제된다. Deoxynucleotides의 고갈 또는 DNA 이중나선의 파괴 등도 주 checkpoint를 일으킬 수 있다. 이 checkpoint들은 세포주기를 정지시켜 세포들이 S기나 유사분열로 들어가기 전에 DNA 수선에 필요한 시간을 확보함으로써 돌연변이를 막는데 필수적인 역할을 한다. DNA의 손상이 일어나면 ATM (ataxia telangiectasia mutated, 돌연변이가 일어났을 때 X-ray에 대한 높은 감수성을 가지게 되며, 발암유발원인이 되는 유전자)과 같은 유전자가 활성화되고, 이 단백질에 의해 종양억제유전자 p53 단백질이 인산화된다. 이것은 Cdk 억제인자인 p21을 활성화시키는 p53의 생물학적 활성에 중요한 역할을 한다. p21은 cyclin/Cdk 복합체의 활성을 방해하여 G1기에서 세포의 성장(G1 arrest)을 멈추게 하며, 나아가 PCNA에 결합하여 DNA 수선에도 관여하는 것으로 알려져 있다[25]. 아울러 p53은 DNA 수선에 관련된 또 다른 단백질인 GADD45의 발현을 증가시킨다[41].

DNA 손상은 G2/M기에서 두 번째 checkpoint를 만들어 낸다. G1/S기와 G2/M기 checkpoint 모두 p53, GADD45와 같은 유사한 인자와 다양한 약물에 의해 영향을 받는다. 비록 p53이 G2기 지연을 유발시킬지라도 G2/M checkpoint에는 필요하지 않은데, 그것은 p53이 결손된 세포에서도 여전히 arrest가 일어나기 때문이다. 대신에 p53은 G2 arrest를 지속시키는데 필요하다. 이와 같이 DNA 손상으로 유도되는 G1/S와 G2/M arrest가 원활하게 조절되지 못하는 p53이 결핍된 세포들은 약한 유전자적 불안정에도 치명적인 영향을 받게 된다. DNA 손상에 따른 G2/M arrest의 가장 중요한 단계는 Chk1 kinase의 활성화인데, 이것은 cdc25 phosphatase를 인산화시켜 그 기능을 억제하는 역할을 한다[52]. 이 인산화는 14-3-3 단백질과의 결합을 가능하게 하여 주는데, 이로써 cdc25가 핵으로 들어가지 못해 Cdc2를 탈인산화시킬 수 없게 된다. Cdc2는 14, 15번째 아

미노산인 Thr14와 Tyr15에 인산화가 일어날 수 있는데, 이 자리에서 탈인산화가 되지 않아 불활성 상태에서 cyclin B와 결합을 유지하게 된다(Fig. 3. DNA의 손상을 Rad 단백질이 감지하여 Chk1의 인산화를 일으키며, Chk1은 cdc25 phosphatase를 인산화하여 불활성화 시킨다. 이로 인해 cyclin B/Cdc2 복합체가 불활성 상태인 인산화 형태로 되어 세포가 M기로 넘어가지 못한다.).

세포주기 조절자로서 생각되지 않는 전형적인 다른 분자들 또한 DNA 손상에 의한 G2/M arrest에 관련되어 있다. 여기에는 HOX11, HSIX1과 같은 발생과정에 관련되는 전사인자인 몇 개의 homeobox gene이 포함되어 있다. 과다발현 되었을 때, 이들 두 유전자는 DNA 손상에 의해 유도된 G2/M checkpoint를 약화시킬 수 있다. 이것은 HOX11과 HSIX1에 의한 기전이 암에서 중요한 역할을 한다는 것을 의미한다[9]. 세포가 DNA 손상을 받게되면 초기에 손상된 DNA를 수선하기 위한 시간을 벌기 위해서 checkpoint arrest를 일으킨다. 하지만, 수선이 빨리 끝나지 않으면 세포는 돌연변이를 유지하거나 apoptosis를 일으키게 된다. p53을 포함하는 G1 checkpoint 유전자는 apoptosis와도 관련되어 있다. 정상 종양억제유전자 p53은 apoptosis의 유발에 관여하는 Bax 유전자를 활성화시키는데, Bax는 apoptosis로부터 세포를 보호하는 역할을 하는 Bcl-2의 작용을 억제한다[34]. 또한 p53이 활성화되면 Bcl-2 mRNA의 발현이 감소될 수도 있다. 그러므로 p53 의존적 apoptosis

는 Bax/Bcl-2 비율의 증가에 의해 일어나게 된다. 세포의 종류에 따라 동일한 apoptotic 반응은 매우 다양하게 관찰되어지고 있으며 관여하는 유전자들의 발현에도 많은 차이가 있다. 동일한 DNA 손상에 반응하여 어떤 세포는 세포주기가 arrest되고, 어떤 세포는 apoptosis를 일으키는지, 그리고 두 현상 사이에는 서로 의존적인지에 관한 논란의 여지는 여전히 남아 있다[46].

유사분열 동안 정확한 염색체의 분리는 자매 염색분체(sister chromatid) 분리를 유도하는 cyclin 단백질 분해 기전이 활성화되기 전에 유사분열 방추사의 부착과 정렬에 의존적이다. 이 과정이 정확하게 진행되기 위해서는 spindle assembly checkpoint가 모든 염색체에 mitotic spindle이 부착될 때까지 후기(anaphase)에서 지연된다. 이 checkpoint에 관련된 단백질은 효모에서 처음으로 동정된 MAD (mitotic arrest-deficient)와 BUB (budding uninhibited by benzimidazole) family이다. 이들 단백질은 방추사가 연결되지 않은 동원체에 결합하여 APC 의존적 단백질 분해과정을 억제함으로써 세포분열 진행을 막는다[1].

#### 세포노화와 암

전반부에서 살펴본 정상적인 세포주기는 여러 가지 인자들에 의해 변형되어질 수 있다. 이중 하나가 세포의 수명이다. Hayflick의 실험에 의하면 *in vitro*에서 배양된 정상인간세포들은 약 50회 분열 후 성장을 멈추었다. Telomere의 크기가 세포 주기의 진행과 더불어 감소한다는 실험결과는 노화에 대한 "clock" 개념 도입에 결정적인 단서를 제공하였으며, 노화된 세포에서 Cdks 억제인자중의 하나인 p21의 높은 발현(특히 이들 세포의 마지막 G1기에서)은 세포주기와 연관된 노화 억제연구에 새로운 개념을 제시하는 것으로 해석할 수 있다[14,18].

암의 특징은 성장 조절의 교란이라 할 수 있다. 즉 암세포는 checkpoints의 결함과 관계가 있다. 일반적으로 돌연변이에 의한 조절 기능의 결손으로, 예를 들어, 많은 암세포들은 p53 유전자가 변이 또는 결여되어 있거나 pRb 경로와 연관된 인자들이 변형되어 있다. 그 외에도 p53과 pRb의 기능에 이상을 일으키는 SV40과 같은 암 유발 바이러스에 의해 생산되는 T 항원 단백질 등에 의해서도 암이 유발될 수 있다[38]. DNA 수선의 이상 뿐 아니라 암세포에서 checkpoint 기전의 결함은 염색체 이상과 genomic

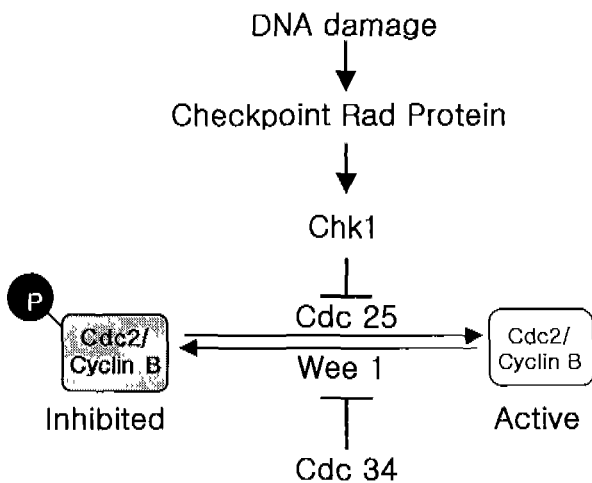


Fig. 3. Overview of the mammalian DNA damage checkpoints during G2 phase and mitosis.

instability를 야기한다. 따라서 checkpoint 조절은 유전적 변이의 출현과 암 진행의 경계가 된다. Caffeine 또는 2-aminopurine은 G2/M기 경계에서의 checkpoint를 제거하여 세포가 사멸되게 한다[5]. 그러나, 어떤 세포는 그러한 처리에도 살아남아서 염색체 이상을 수반하게 된다. 이러한 결과들은 손상에 의해 유도된 염색체상의 돌연변이에 대한 G2/M checkpoint의 방어 역할을 설명해주는 것이다.

Checkpoint 조절이 유전적으로 결핍되어 있으면 암이 유발되기 쉬운데, 이는 세포가 DNA 손상을 제대로 수선하지 못한 상태에서 세포분열을 계속하여 돌연변이율이 높아지기 때문이다. 예를 들면, checkpoint의 결함을 일으키는 비정상적인 p53은 종양억제 유전자 BRCA1 (breast cancer gene 1) 결손의 빈도 및 유방암의 비율 증가와 연관되어 있다[4,43]. 또한 Ataxia telangiectasia, Nijmegen breakage 증후군, Li-Fraumeni 증후군, Fanconi 빈혈, Bloom 증후군 등은 모두 세포주기 checkpoint의 결핍과 암의 감수성과 연관되어 있다[22,39,45]. 결함이 있는 세포주기 조절과 checkpoint 기전은 암의 발견과 치료에 대한 정보를 제공하여 준다. 예를 들어, cyclin D와 cyclin E의 전사는 많은 암에서 증가되기 때문에 이들을 진단 목적으로 사용할 수 있게 된다. 게다가 치료의 목적이 종종 checkpoint 기전이 결핍된 암세포만을 선택적으로 죽이는 것이므로, 이들 암세포는 보통의 세포보다 DNA에 손상을 주는 물질들에 매우 민감하게 반응할 것이다. 즉, 암세포에서 생성되는 checkpoint 기전의 결핍은 DNA 손상을 일으키는 약물에 의한 암세포의 선택적인 치사에 적용될 수 있는 것이다[8].

세포주기 checkpoint 외에, cyclins와 Cdks도 암 치료의 새로운 표적으로 제공된다. 최근 cyclin/Cdk2 복합체에 대한 결합 부위를 제공하는 새로운 peptide가 합성되었는데, 이 peptide는 cyclin/Cdk 복합체의 역할을 억제하여 암세포가 선택적으로 apoptosis를 일으키게끔 한다. 그리고  $\beta$ -lapachone과 taxol의 조합에서 보여준 것처럼, G1/S기와 G2/M기 checkpoint 모두에 관여해서 세포주기를 멈추게 하는 약물을 이용한 치료방법은 매우 유망할 것으로 보인다[28,31].

## 결 론

암과 같은 비정상적 세포와 정상적인 세포의 성장을 조

절하는 기전이 최근 10년 동안 매우 상세하게 밝혀지고 있다. 물론 세포주기와 연관된 전사 조절, 단백질의 인산화, RNA와 단백질의 분해, 조절인자들의 구획화에 포함된 분자들에 대해서는 여전히 상당히 많은 연구가 진행되어야 한다. 이들에 대한 최근 그리고 앞으로의 발견은 주요 질병을 이해하고 치료하는데 새로운 접근 방법을 제공하게 될 것이다.

## 감사의 글

최혜정선생은 2000년 한국과학재단지원 인턴연구원 지원사업의 지원을 받았으며 논문에 필요한 자료를 정리해주신 정정원군에게 감사드립니다.

## 참 고 문 헌

1. Brady, D.M. and K.G. Hardwick. 2000. Complex formation between Mad1p, Bub1p and Bub3p is crucial for spindle checkpoint function. *Curr. Biol.* **10**, 675-678.
2. Choi, Y.H., S.J. Lee, P. Nguyen, J.S. Jang, J. Lee, M.L. Wu, E. Takano, M. Maki, P.A. Henkart and T.B. Trepel. 1997. Regulation of cyclin D1 by calpain protease. *J. Biol. Chem.* **272**, 28479-28484.
3. Chong, J.P. and J.J. Blow. 1996. DNA replication licensing factor. *Prog. Cell Cycle Res.* **2**, 83-90.
4. Deng, C.X. and S.G. Brodie. 2000. Roles of BRCA1 and its interacting proteins. *Bioessays* **22**, 728-737.
5. Dimitrova, D.S. and D.M. Gilbert. 2000. Temporally coordinated assembly and disassembly of replication factories in the absence of DNA synthesis. *Nat. Cell Biol.* **2**, 686-694.
6. Fang, G., H. Yu and M.W. Kirschner. 1999. Control of mitotic transitions by the anaphase-promoting complex. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* **354**, 1583-1590.
7. Fattaey, A. and R.N. Booher. 1997. Myt1: a Wee1-type kinase that phosphorylates Cdc2 on residue Thr14. *Prog. Cell Cycle Res.* **3**, 233-240.
8. Flatt, P.M. and J.A. Pietsenpol. 2000. Mechanisms of cell-cycle checkpoints: at the crossroads of carcinogenesis and drug discovery. *Drug Metab. Rev.* **32**, 283-305.

9. Ford, H.L. 1998. Homeobox genes: a link between development, cell cycle, and cancer? *Cell Biol. Int.* **22**, 397-400.
10. Garrett, S., W.A. Barton, R. Knights, P. Jin, D.O. Morgan and R.P. Fisher. 2001. Reciprocal activation by cyclin-dependent kinases 2 and 7 is directed by substrate specificity determinants outside the T loop. *Mol. Cell. Biol.* **21**, 88-99.
11. Geng, Y., W. Whoriskey, M.Y. Park, R.T. Bronson, R.H. Medema, T. Li, R.A. Weinberg and Sicinski P. 1999. Rescue of cyclin D1 deficiency by knockin cyclin E. *Cell* **97**, 767-777.
12. Germain, D., A. Russell, A. Thompson and J. Hendley. 2000. Ubiquitination of free cyclin D1 is independent of phosphorylation on threonine 286. *J. Biol. Chem.* **275**, 12074-12079.
13. Goldman, M.A., G.P. Holmquist, M.C. Gray, L.A. Caston and A. Nag. 1984. Replication timing of genes and middle repetitive sequences. *Science* **224**, 686-692.
14. Goyns, M.H. and W.L. Lavery. 2000. Telomerase and mammalian ageing: a critical appraisal. *Mech. Ageing Dev.* **114**, 69-77.
15. Hagting, A., M. Jackman, K. Simpson and J. Pines. : Translocation of cyclin B1 to the nucleus at prophase requires a phosphorylation-dependent nuclear import signal. *Curr. Biol.* **9**, 680-689.
16. Harper, J.W. and S.J. Elledge. 1996. Cdk inhibitors in development and cancer. *Curr. Opin. Genet. Dev.* **6**, 56-64.
17. Hartwell, L.H. and T.A. Weinert. 1989. Checkpoints: controls that ensure the order of cell cycle events. *Science* **246**, 629-634.
18. Hayflick, L. 1998. How and why we age. *Exp. Gerontol.* **33**, 639-653.
19. Heichman, K.A. and J.M. Roberts. 1994. Rules to replicate by. *Cell* **79**, 557-562.
20. Howard, A. and S.R. Pelc. 1953. Synthesis of deoxyribonucleic acid in normal and irradiated cells and its relation to chromosome breakage. *Heredity* **6**, 261.
21. Kerkhoff, E. and U.R. Rapp. 1998. Cell cycle targets of Ras/Raf signalling. *Oncogene* **17**, 1457-1462.
22. Khanna, K.K. 2000. Cancer risk and the ATM gene: a continuing debate. *J. Natl. Cancer Inst.* **92**, 795-802.
23. Kikuchi, K., K. Naito, J. Noguchi, A. Shimada, H. Kaneko, M. Yamashita, H. Tojo and Y. Toyoda. 1999. Inactivation of p34cdc2 kinase by the accumulation of its phosphorylated forms in porcine oocytes matured and aged *in vitro*. *Zygote* **7**, 173-179.
24. Koepp, D.M., J.W. Harper and S.J. Elledge. 1999. How the cyclin became a cyclin: regulated proteolysis in the cell cycle. *Cell* **97**, 431-434.
25. Lavin, M.F. and K.K. Khanna. 1999. ATM: the protein encoded by the gene mutated in the radiosensitive syndrome ataxia-telangiectasia. *Int. J. Radiat. Biol.* **75**, 1201-1214.
26. Li, L.J., G.S. Naeve and A.S. Lee. 1993. Temporal regulation of cyclin A-p107 and p33cdk2 complexes binding to a human thymidine kinase promoter element important for G1-S phase transcriptional regulation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **90**, 3554-3558.
27. Li, J., A.N. Meyer and D.J. Donoghue. 1997. Nuclear localization of cyclin B1 mediates its biological activity and is regulated by phosphorylation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **94**, 502-507.
28. Li, C.J., Y.Z. Li, A.V. Pinto and A.B. Pardee. 1999. Potent inhibition of tumor survival *in vivo* by  $\beta$ -lapachone plus taxol: combining drugs imposes different artificial checkpoints. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **96**, 13369-13374.
29. Magnaghi-Jaulin, L., R. Groisman, I. Naguibneva, P. Robin, S. Lorain, J.P. Le Villain, F. Troalen, D. Trouche and A. Harel-Bellan. 1998. Retinoblastoma protein represses transcription by recruiting a histone deacetylase. *Nature* **391**, 601-605.
30. Minshull, J., J. Pines, R. Golsteyn, N. Standart, S. Mackie, A. Colman, J. Blow, J.V. Ruderman, M. Wu and T. Hunt. 1989. The role of cyclin synthesis, modification and destruction in the control of cell division. *J. Cell Sci. Suppl.* **12**, 77-97.
31. Moran, P. 2000. Cellular effects of cancer chemotherapy administration. *J. Intraven. Nurs.* **23**, 44-51.
32. Nakanishi, M., H. Ando, N. Watanabe, K. Kitamura, K. Ito, H. Okayama, T. Miyamoto, T. Agui and Sasaki, M. 2000. Identification and characterization of human Wee1B, a new member of the wee1 family of cdk-inhibitory kinases. *Genes Cells* **5**, 839-847.
33. Norbury, C. and P. Nurse. 1992. Animal cell cycles and their control. *Annu. Rev. Biochem.* **61**, 441-470.
34. O'Connor, P.M. 1997. Mammalian G1 and G2 phase checkpoints. *Cancer Surv.* **29**, 151-182.
35. Ohi, R. and K.L. Gould. 1999. Regulating the onset of mitosis. *Curr. Opin. Cell Biol.* **11**, 267-73.



36. Pardee, A.B. 1989. G1 events and regulation of cell proliferation. *Science* **246**, 603-608.
37. Pines, J. and T. Hunter. 1992. Cyclins A and B1 in the human cell cycle. *Ciba Found. Symp.* **170**, 187-196.
38. Pipas, J.M. 1998. Molecular chaperone function of the SV40 large T antigen. *Dev. Biol. Stand.* **94**, 313-319.
39. Prime, S.S., N.S. Thakker, M. Pring, P.G. Guest and I.C. Paterson. 2001. A review of inherited cancer syndromes and their relevance to oral squamous cell carcinoma. *Oral. Oncol.* **37**, 1-16.
40. Prokhorova, T.A. and J.J. Blow. 2000. Sequential MCM/P1 subcomplex assembly is required to form a heterohexamer with replication licensing activity. *J. Biol. Chem.* **275**, 2491-2498.
41. Rathmell, W.K., W.K. Kaufmann, J.C. Hurt, L.L. Byrd and Chu, G. 1997. DNA-dependent protein kinase is not required for accumulation of p53 or cell cycle arrest after DNA damage. *Cancer Res.* **57**, 68-74.
42. Rime, H., C. Jessus and R. Ozon. 1995. Tyrosine phosphorylation of p34cdc2 is regulated by protein phosphatase 2A in growing immature *Xenopus* oocytes. *Exp. Cell Res.* **219**, 29-38.
43. Schuyer, M. and E.M. Berns. 1999. Is TP53 dysfunction required for BRCA1-associated carcinogenesis? *Mol. Cell. Endocrinol.* **155**, 143-152.
44. Sherr, C.J. 1995. Mammalian G1 cyclins and cell cycle progression. *Proc. Assoc. Am. Physicians* **107**, 181-186.
45. Shiloh, Y. 1997. Ataxia-telangiectasia and the Nijmegen breakage syndrome: related disorders but genes apart. *Annu. Rev. Genet.* **31**, 635-662.
46. Smith, D.M., G. Gao, X. Zhang, G. Wang and Q.P. Dou. 2000. Regulation of tumor cell apoptotic sensitivity during the cell cycle. *Int. J. Mol. Med.* **6**, 503-507.
47. Waldman, T., C. Lengauer, K.W. Kinzler and B. Vogelstein. 1996. Uncoupling of S phase and mitosis induced by anticancer agents in cells lacking p21. *Nature* **381**, 713-716.
48. Winston, J.T., C. Chu and J.W. Harper. 1999. Culprits in the degradation of cyclin E apprehended. *Genes Dev.* **13**, 2751-2757.
49. Won, K.A. and S.J. Reed. 1996. Activation of cyclin E/CDK2 is coupled to site-specific autophosphorylation and ubiquitin-dependent degradation of cyclin E. *EMBO J.* **15**, 4182-4193.
50. Wuarin, J. and P. Nurse. 1996. Regulating S phase: CDKs, licensing and proteolysis. *Cell* **85**, 785-787.
51. Yanagida, M., Y.M. Yamashita, H. Tatebe, K. Ishii, K. Kumada and Y. Nakaseko. 1999. Control of metaphase-anaphase progression by proteolysis: cyclosome function regulated by the protein kinase A pathway, ubiquitination and localization. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* **354**, 1559-1569.
52. Zeng, Y., K.C. Forbes, Z. Wu, S. Moreno, H. Piwnicka-Worms and T. Enoch. 1998. Replication checkpoint requires phosphorylation of the phosphatase Cdc25 by Cds1 or Chk1. *Nature* **395**, 507-510.
53. Zhang, H.S., M. Gavin, A. Dahiya, A.A. Postigo, D. Ma, R.X. Luo, J.W. Harbour and D.C. Dean. 2000. Exit from G1 and S phase of the cell cycle is regulated by repressor complexes containing HDAC-Rb-hSWI/SNF and Rb-hSWI/SNF. *Cell* **101**, 79-89.

(Received June 5, 2001; Accepted July 30, 2001)