

내분비-대사질환에서 NF- κ B의 최신 지견성균관대학교 의과대학 내과학교실, 동국대학교 의과대학 내과학교실¹이명식 · 김경아¹NF- κ B Pathway in Metabolic/endocrine DiseasesMyung-Shik Lee, Kyoung-Ah Kim¹*Department of Medicine, Samsung Medical Center, Sungkyunkwan University School of Medicine; and Department of Medicine¹, Ilsan International Hospital, Dongguk University School of Medicine*

서 론

NF- κ B는 1986년 David Baltimore 등에 의해 B 림프구에서 κ chain enhancer protein로 발견되었다. 당시 Baltimore 등은 electrophoretic mobility shift assay (EMSA)라는 검사 방법을 창안하여 enhancer element에 결합하여 전사(transcription)를 조절하는 전사인자라는 새로운 종류의 분자(molecule)를 발견하게 된 것이다[1]. 이는 그 후 수많은 종류의 전사인자를 발견하는 효시가 된 새 발견이었으며, 이미 1975년에 역전사효소(reverse transcriptase)의 발견으로 노벨 의학상을 수상한 David Baltimore의 또 하나의 기념비적 업적이라 할 수 있다. NF- κ B는 처음에는 B 림프구 특이인자로 생각되었으나, 추후의 연구에 의하여 극소수의 세포를 제외하고 각종 조직에서 거의 어디에나 발현되며 염증, 면역(immunity), 세포자연사(apoptosis), 발암(carcinogenesis), 조직재생 등 다양한 기능을 수행함이 알려지게 되었다. 특히 세포자연사에 관한 기능은 NF- κ B가 비면역계 세포(nonimmune cell)에서 어떠한 기능을 수행하는지에 대한 중요한 단서를 제공하는 것으로, 위에서 언급한 바와 같이 최초로 NF- κ B가 면역 세포에서 발견된 것으로부터 NF-B의 염증, 면역에 관한 기능이 유추될 수 있는 반면, 비면역계 세포에서도 NF- κ B가 발견되면서 그 기능에 관한 의문이 있어왔기 때문이다. 본 논문에서는 NF- κ B 활성화의 기본 개념을 소개하고 암, 당뇨병 및 죽상경화증 등 내분비 질환의 발병에 관련된 NF- κ B의 새로운 지견을 소개하고자 한다.

1. NF- κ B의 활성화 경로(activation pathway)와 염증

NF- κ B는 위에서 살펴본 바와 같이 EMSA를 통하여 B-cell-specific intronic light chain enhancer의 이동도

(mobility)를 지연하는 역할로 처음 기술되었으며, LPS (lipopolysaccharide), TNF (tumor necrosis factor), PMA (phorbol 12-myristate 13-acetate) 등 각종 자극에 의해 활성화되는 어디에나 있는 인자(ubiquitous factor)이다. NF- κ B의 구성 성분으로는 p65 (RelA), C-rel, RelB, NF-B1 (p50/105), NF-B2 (p52/100) 등이 있으며, 공통적으로 DNA 결합, 이합체화(dimerization), I κ B (inhibitor of NF- κ B)와의 상호작용 등의 기능을 수행하는 Rel homology domain (RHD)을 갖는다. NF- κ B의 활성화 경로는 오랫동안 수수께끼로 남아 있었으나, 1997년 Michael Karin 등에 의해 IKK (I κ B kinase)가 발견됨으로써 해결의 실마리가 풀리게 되었다[2]. 현재 NF- κ B의 상위 kinase인 IKK complex는 α , β , γ 3개의 성분으로 구성되어 있다고 생각되며, α , β 2개의 촉매 아단위(catalytic subunit) 중에서 IKK β 아단위는 NF- κ B의 정규(canonical) 활성화 경로에서 필수적인 역할을 하고, IKK α 는 비정규(noncanonical) 활성화 경로에 관여하며, 비촉매 아단위(noncatalytic subunit)인 IKK γ (NEMO)는 조절 역할을 한다고 생각된다[3]. 즉 정규 활성화 경로는 TNF α , IL (Interleukin)-1, LPS, dsDNA에 IKK β 가 활성화되어 I κ B를 세린인산화시키고, 인산화된 I κ B α 는 유비퀴틴화(ubiquitination)에 의해 분해되어 복합물을 이루고 있던 p65(RelA):p50 이합체(dimer)가 유리되어 세포질로부터 핵으로 이동하여 핵 안에서 전사인자로 작용하게 된다. 한편 lymphotoxin 또는 BAFF (B cell-activating factor)로 자극되는 비정규 활성화 경로에서는 IKK α 가 활성화되어 p100을 인산화, 분해시켜 p52로 변환시키고, 이에 따라 RelB:p52 이합체가 활성화된다. 정규 활성화 경로는 선천면역(innate immunity) 또는 염증에 관여하며, 비정규 활성화 경로는 임파계 기관형성(lymphoid organogenesis), B 세포성숙, 적응면역에 관여한다(Fig. 1).

최근에 IKK/NF- κ B 경로를 자극하는 대표적 물질인 LPS,

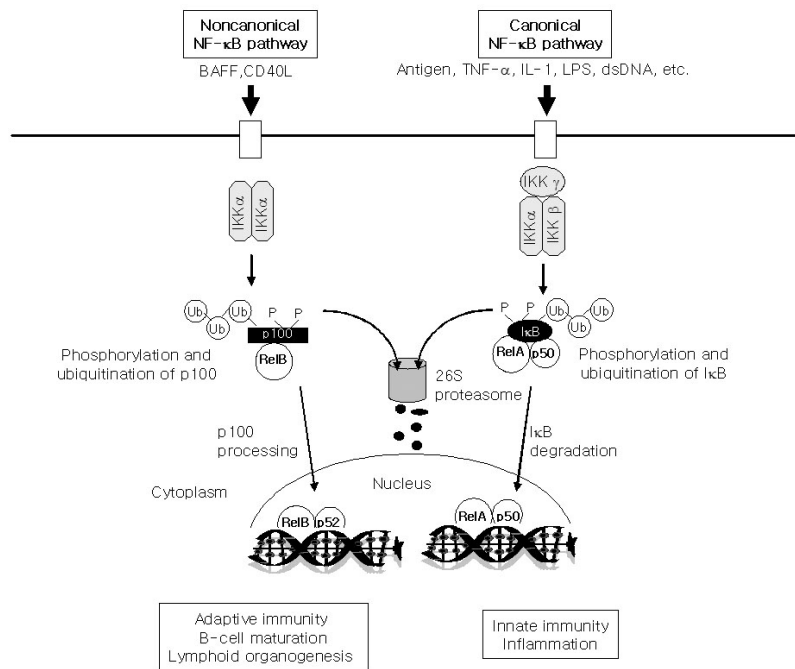


Fig. 1. Activation of two NF- κ B signaling pathways. Activation of NF- κ B by immune stimuli involves canonical and noncanonical pathways, which are based on degradation of I κ B or processing of p100, respectively. The canonical pathway is stimulated by diverse cellular stimuli, such as antigens and cytokines, and is dependent on the trimeric IKK complex. The noncanonical pathway responds to a subset of TNF family members, including BAFF and CD40L, and requires IKK α but not IKK γ or IKK β . BAFF; B cell activating factor.

dsDNA 등이 NF- κ B를 활성화시키는 수용체 및 그 기전이 소상히 밝혀지게 되었다. 즉 초파리(*drosophila*)에서 등-배극성(dorsal-ventral polarity)에 관련된 toll[4]의 mammalian paralogue인 toll-like receptor (TLR)가 상기 세균산물(bacterial product)의 수용체이고 자연 면역을 조절하는 중요한 수용체임이 밝혀졌으며[5], 그 하위(downstream)로 MyD88 (myeloid differentiation marker 88), TRIF (TIR domain-containing adaptor inducing interferon- β), IKK, NF- κ B, IRF-3 (interferon regulatory factor), STAT1 (signal transducer and activator of transcription) 등이 순차적으로 활성화됨이 밝혀지게 되었다[6].

2. 비면역계 세포에서 항세포자연사 인자로서의 NF- κ B (NF- κ B as an antiapoptotic factor in nonimmune cells)

NF- κ B가 면역 세포 이외에도 비면역계 세포에서 발현됨은 이미 알려져 왔으나, 비면역계 세포에서의 기능이 분명하게 밝혀지게 된 것은 knockout mouse 연구를 통해서였다. Beg 등은 p65 결핍생쥐를 제조한 결과 태생기에 죽는 것을 관찰하였는데, 그 원인은 간세포의 자연적인 세포자연사에 의한 간부전이었다[7]. 이후 연구에 의해 간 조직에서는 태

생기 및 태아기에 TNF α 가 다량 분비되며 이에 의해 간세포의 세포자연사가 올 조건이 형성되며, 이때 TNF α 에 의해 p65를 위주로 하는 NF- κ B 활성화가 동시에 일어나 TNF α 에 의해 유도되는 세포자연사가 억제되고 있음을 알게 되었다. 실제 거의 모든 일차 세포(primary cell) 또는 배양된 세포는 TNF α 에 의해 사멸되지 않는데, 그 이유는 바로 동시에 TNF α 에 의해 유도되는 NF- κ B의 활성화가 일어나기 때문이다[8~10]. 간세포 사멸에 의한 간부전 및 태생기 치사(embryonic lethality)는 IKK β 결핍생쥐에서도 관찰되어 IKK/NF- κ B 경로가 *in vivo*에서 세포사멸(cell death)을 막는 중요한 역할을 하는 것을 다시 한번 보여주고 있다[11]. 이 NF- κ B의 항세포자연사 활동(antiapoptotic activity)은 그 후 많은 세포 또는 조직의 *in vitro* 및 *in vivo* 실험에서 증명되어, 현재 비면역계 세포에서의 NF- κ B의 가장 중요한 기능 중의 하나는 항세포자연사임이 널리 인정되고 있다. 즉 *in vivo*에서 염증 또는 면역이 일어날 때 TNF α 등의 염증 매개체에 의해 주위의 비면역계 세포들이 손상을 받을 수 있으며, 이 비면역계 세포에 대한 방관자 세포상해(bystander cell injury)를 막는 기능을 NF- κ B가 수행한다고 볼 수 있다.

NF- κ B의 항세포자연사 기능은 비면역계 세포에만 국한되는 것은 아니고 면역 세포에서도 관찰된다. 즉 대식세포

(macrophage)가 탄저균 독소(anthrax toxin)에 의해 세포사멸을 거칠 때 NF- κ B가 항세포자연사 기능을 수행하는 것이 보고된 바 있다[12]. 그러나 LPS에 의한 TLR4 자극에 의해 대식세포가 자극되는 경우에는 NF- κ B 활성화가 항세포자연사 인자로서 중요한 역할을 수행하지 않고, caspase 활성화가 세포사멸을 막는 역할을 하여 caspase 억제제가 존재하면 대식세포가 급속한 괴사로 진행하게 되어, 기존에 caspase가 세포사멸을 일으킨다는 이론과는 다른 결과를 보여준다[13].

3. 갑상선암 세포사멸에서의 NF- κ B (NF- κ B in thyroid cancer cell death)

위에서 살펴본 NF- κ B의 항세포자연사 기능은 각종의 암 세포에서 뚜렷이 관찰되고 있으며, 바로 이 이유로 인해 암 세포는 대부분 TNF α 에 의한 세포사멸에 저항력이 있고 TNF α 발견 당시의 기대와 달리 TNF α 는 항암물질로 유용성이 없다. 한 예로서 ME-180 cervical cancer cell (자궁경부암세포)은 TNF α 단독으로는 세포 사멸을 유도할 수 없는데 nondegradable superrepressor I κ B α 로 핵산전달감염(transfection)시키든지 또는 I κ B α 의 프로테아좀 분해(proteasomal degradation)를 억제하는 MG132로 전처리 후 TNF α 처리를 하면 세포사멸이 유도되어 I κ B α 분해와 그에 의한 NF- κ B 활성화가 TNF α 에 의한 세포사멸을 억제함을 보여주었다[14]. 또한 TNF α 와 IFN γ (또는 IFN α)를 같이 처리하여도 ME-180 암세포 사멸을 일으킬 수 있는데, 이때 IFN γ 가 TNF α 에 의한 NF- κ B 활성화를 억제함으로써 TNF α 에 대한 저항을 극복함이 reporter assay를 통해 관찰되었다. 그러나 IFN γ 가 TNF α 처리 후의 p65의 핵전위(nuclear translocation)나 EMSA에서의 mobility shift를 직접 억제하지는 못하여, 아마도 IFN γ 에 의해 유도되는 STAT1 등의 전사인자 등이 squelching effect를 통하여 p65에 의한 전사촉진(transactivation)을 억제하는 것으로 생각된다[14,15].

TNF α 가 대부분의 암세포에서 세포사멸을 유도하지 못하는 것과는 달리 최근에 발견된 새로운 TNF계 구성원인 TRAIL (tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand)은 2종류의 death receptor (DR4, DR5)를 통하여 대부분의 암세포에 대하여 강력한 세포자연사 활동을 갖는다[16,17]. 반면에 정상세포에 대해서는 이러한 세포사멸을 유발하지 않아 진행된 암에 대한 새로운 치료제로서의 가능성이 매우 높은 유망한 물질로 생각된다[16,18]. TRAIL에 의한 세포자연사의 경우 caspase와 미토콘드리아가 중요한 역할을 한다고 알려져 있으나[19~21], 어떻게 TRAIL이 암세포에 선택적으로 세포자연사를 유도하는지 명확히 규명되지 않았으며, 더구나 특정 암세포는 TRAIL에 저항성을 나타내는데 그 분자 기전 또한 명확하지 않다. TRAIL에 의한 NF- κ B 활성화에 관해서도 처음에는 TNF α 와는 달리 NF- κ B 활성화

를 일으키지 않는다는 설이 우세하였으나[22,23], 그 후 NF- κ B가 delayed activation된다는 보고들도 있어 이론의 여지가 있다[22,24,25]. 저자들은 TRAIL이 FRO anaplastic thyroid cancer cell (갑상선 역형성암 세포)과 SK-Hep1 hepatoma cell (간암 세포)에서 NF- κ B 활성화를 시키는지 그리고 그것이 세포사멸과 어떠한 연관이 있는지 조사하였다. 그 결과 TRAIL이 p65를 Asp⁹⁷ 위치에서 분할(cleavage)시켜 NF- κ B의 활성화를 억제하고, 따라서 NF- κ B에 의한 항세포자연사가 차단되는 것이 밝혀졌으며, 결국 caspase에 의한 p65 분열 및 NF- κ B 활성화의 억제가 TRAIL이 강력한 세포자연사 활동을 갖는 하나의 이유가 됨을 알 수 있었다[26].

한편 NF- κ B 활성화의 항세포자연사 기능은 발암현상에서도 중요한 역할을 할 수 있는 것으로 생각된다. 즉 장상피 세포(intestinal epithelial cell)에 특이적으로 IKK β /NF- κ B가 억제되면 장상피세포의 세포자연사가 증가하며, 이때 대장염(colitis)에 의해 유발되는 대장암의 발생이 감소하게 되어 결국 NF- κ B에 의한 암세포의 세포자연사에 대한 저항성이 발암현상의 일정 단계에서 암세포 성장에 영향을 미치는 것으로 생각된다[27].

4. 제1형 당뇨병에서 NF- κ B (NF- κ B and type 1 diabetes)

TNF α 는 가장 중요한 세포사멸 효과물질(death effector molecule)의 하나이지만, 대개의 일차세포나 무한증식세포(immortalized cell)들은 TNF α 단독에 의한 세포자연사에 영향을 받지 않는데, 그 이유는 TNF α 에 의해 항세포자연사 과정의 활성화도 부수적으로 수반되기 때문이다[9,10,28]. NF- κ B가 TNF α 에 의해 유발되는 표적세포의 세포자연사를 방지하는데 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 왔다[8,29,30]. 그러나 이와는 반대로 신경세포나 림프구를 이용한 실험에서는 저산소손상(hypoxic injury) 또는 reactive oxygen species (ROS)에 의한 세포사멸 시 NF- κ B 활성화가 세포자연사를 조장한다는 것이 보고되었다[31,32]. 췌장 소도에서도 IL-1 β 에 의해 활성화된 NF- κ B는 세포자연사를 조장한다고 보고되어 있다[33~37]. 이러한 서로 상이한 결과는 세포사멸 효과물질, 세포 종류, 사용된 세포사멸의 방식 차이에 기인할 수 있다. 실제로 최근에는 UV나 항암제 처리 후 NF- κ B에 의해 항세포자연사 관련 유전자 표현이 억제됨이 보고되고 있는데 이는 TNF α 처리 때와는 다른 결과들이다[38].

NF- κ B의 역할에 대해서 상반된 보고들이 있기 때문에 본 실험실에서는 IFN γ /TNF α synergism 모델을 적용해 췌장 소도세포 사멸과 제1형 당뇨병에서 NF- κ B 활성화의 역할에 대해 연구했다. TNF α 는 MIN6N8 인슐린종(insulinoma) 세포주에서 I κ B 분해를 유발하고 p65을 세포질로부터 핵으로 전위시킨다. 또한 인슐린종 세포주에서 EMSA 실험을 통해

TNF α 에 의한 NF- κ B DNA-binding nuclear complex의 활성화를 볼 수 있었고, 이는 p65와 p50 아단위로 이루어져 있었다. IFN γ 로 전처리해 해도 TNF α 에 의해 유도된 NF- κ B 활성화에 영향을 미치지 못하였다. 한편 인슐린중 세포 또는 일차 췌도세포에서는 TNF α 에 의해 세포자연사가 일어나지 않지만, MG132로 전처리하여 p65의 핵전위 및 NF- κ B 활성화를 억제하는 경우에는 TNF α 에 처리에 의한 세포자연사가 유도되었다. 인슐린중 세포주에서 I κ B ‘superrepressor’ (I κ B α -SR)를 핵산전달감염 또는 아테노바이러스에 의한 형질 도입(transduction) 시 NF- κ B 활성화만 특이적으로 억제되는데, 이때 TNF α 에 의해 유도되는 세포자연사에 민감하게 됨을 알 수 있었다. 이러한 결과들은 TNF α 에 의한 췌장 베타세포 사멸에서 NF- κ B 활성화에 따른 보호 역할을 시사하며 NF- κ B가 TNF α 에 대하여 항세포자연사 역할을 하는 것을 의미한다. 위에서 언급된 *in vitro* 실험 결과처럼 *in vivo* 에서도 TNF α 에 의한 췌장 베타세포 사멸을 NF- κ B 활성화로 인해 막을 수 있다면, *in vivo*에서 제1형 당뇨병 발생 시 NF- κ B 활성화를 방지하는 기전이 존재해야 한다. 일부 세포 타입에서는 IFN γ 가 TNF α 에 의한 NF- κ B 활성화를 억제하지만[36,39], MIN6N8 인슐린중 세포주에서는 IFN γ 가 TNF α 에 의해 유도되는 NF- κ B 활성화에 영향을 미치지 못했다[40]. IFN γ 가 인슐린중 세포주에서 TNF α 에 의한 NF- κ B 활성화를 억제하지 못하지만, IFN γ 는 IAP (inhibitor of apoptosis) 또는 TRAF (tumor necrosis factor receptor-associated factors) 같은 NF- κ B에 의해 활성화되는 항세포자연사 기구를 억제시킬 수도 있다[41].

제1형 당뇨병의 베타세포 사멸에서 NF- κ B의 *in vivo* 역할을 규명하기 위해 본 실험실에서는 췌장 베타세포에서 ‘superrepressor’ I κ B α 를 발현시킨 생쥐(RIP-mI κ B α mice)를 만들었다. mI κ B α 생쥐의 췌장 소도세포는 TNF α 나 IFN γ /TNF α 에 의한 세포사멸에 민감하였으나, IFN γ /IL-1 β 에는 덜 민감하였다. RIP-mI κ B α 생쥐의 소도에 TNF α 처리 시 cIAP1, XIAP, TRAF2의 증가가 억제되었다. RIP-mI κ B α NOD mouse는 당뇨병 발생이 증가하였고, 베타세포의 세포자연사도 증가하였다. RIP-mI κ B α NOD mouse에 diabetogenic CD4⁺ T 세포를 입양전달(adoptive transfer) 시 당뇨병 발생이 증가하였고, 이때 항-TNF α 중화 항체(neutralizing anti-TNF α antibody)를 처리 시 당뇨병 발생이 줄었다. 이러한 결과는 *in vivo*에서 NF- κ B가 베타세포에 항세포자연사의 역할을 하며, 자가면역 당뇨병의 발병에 TNF α 가 중요함을 다시 한번 시사한다[42].

그러나 실제 *in vivo* 상황은 제1형 당뇨병 발생과정의 여러 단계에서 membranous/soluble (막/가용성) 형태의 시토카인(cytokine)과 다른 종류의 세포사멸 효과물질이 서로 다른 농도로 공존하는 등 다양한 자극이 존재한다. 기존의 보고들은 췌장 베타 세포사멸에서 IL-1 β 나 산화질소(nitric

oxide)를 세포사멸 효과 물질로 보고한 바 있다[43~45]. IL-1 β 가 *in vivo* 1형 당뇨병 발생의 췌장 베타 세포사멸에서 중요한 세포사멸 효과 물질이라면 IL-1 β 에 의한 NF- κ B 활성화는 췌장 소도 세포에 유해하여야 할 것이고[33,35~37], 이는 TNF α 에 의한 NF- κ B 활성화와는 반대로 작용하게 된다. 또한 동일한 무한증식세포로 구성된 인슐린중 세포주에 서와는 달리 일차 췌도 세포는 다양한 세포로 구성되어 있기 때문에 시토카인에 대한 반응이 다를 수 있다[46,47]. 예를 들어 췌장 소도에 존재 또는 침윤하는 단핵세포들은 TNF α 에 반응해 IL-1 β 같은 시토카인을 생성할 수 있다. 췌도 세포에서의 NF- κ B가 췌도 세포사멸을 방지하여 제1형 당뇨병의 발생을 억제할 수 있는 것과는 달리 염증세포에서의 NF- κ B 활성화는 염증의 증폭기(amplifier)로 작용하여 자가면역을 증가시키고 질병의 경과를 촉진할 가능성이 있다. 즉 NF- κ B의 역할은 다른 시스템과 마찬가지로 제1형 당뇨병에서도 면역 시스템과 비면역계 시스템에서 다를 가능성이 있는 것이다. 따라서 NF- κ B가 당뇨병의 발생에 기여할지 또는 억제할지는 아직 알 수 없는데, 이는 NF- κ B 활성을 조정하는 항당뇨병약물을 개발하는데 있어서 중요한 이슈가 될 수 있다.

5. NF- κ B와 제2형 당뇨병(NF- κ B and type 2 diabetes)

제2형 당뇨병과 NF- κ B가 연관이 있다는 사실은 2형 당뇨병의 발생이 많은 부분 인슐린저항성에 의하고 이는 경도의 염증과 연관이 있음에서 기인한다. 인슐린저항성과 염증과의 상관성은 Hotamisligil 등에 의해 제시되었는데, 이들은 지방조직에서 TNF α 가 생성되고 TNF α 가 인슐린수용체(insulin receptor, IR)와 인슐린수용체기질(insulin receptor substrate, IRS)의 신호전달을 억제한다는 것을 밝혔다[48~50]. 사람의 인슐린저항성을 매개하는데 있어 TNF α 가 어느 정도 관여할 것이냐는 아직 의견이 분분하지만, 이들의 발견은 인슐린저항성이 염증(TNF α)과 대사신호(metabolic signal) (IR/IRS) 간의 cross-talk에 기인한다는 것을 제시했다. 이런 배경에서 염증 매개자에 의해 활성화되는 IKK β /NF- κ B 염증 경로가 인슐린저항성을 유발할 수 있는 유력한 매개체로 알려졌다. 역사적으로도 20세기 초에 살리실산나트륨(sodium salicylate)이 당뇨병 치료제로 제시되었다[51]. 이후 IKK β 가 살리실산의 직접적인 표적임이 밝혀졌다[52]. 염증에 의해 다양한 serine-, threonine-directed kinase가 활성화되고(inflammation-activated kinase), 이는 IR 또는 IRS의 세린/트레오닌 인산화를 유발해 인슐린저항성을 일으킨다 (Fig. 2).

염증과 인슐린저항성의 상관관계를 보기 위한 후보물질로 IKK β 억제제인 살리실산을 이용한 실험모델이 제시되어 왔다[53]. 첫째, 심한 인슐린저항성을 보이는 obese

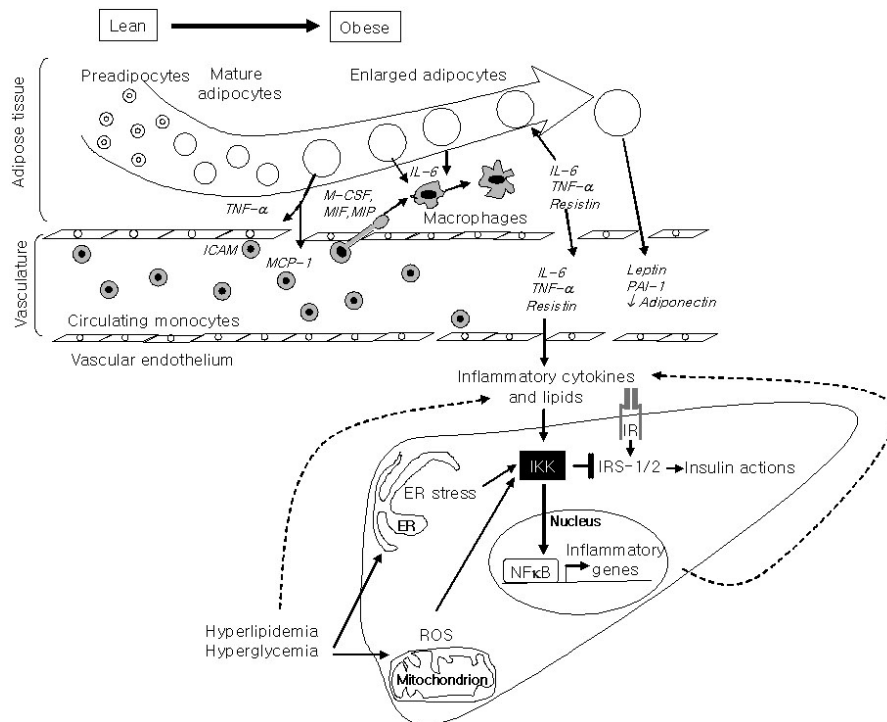


Fig. 2. Proposed model of metabolic and inflammatory signaling and sensing pathways in adipocytes, macrophages and hepatocytes. Adipocytes secrete factors that attract monocytes and lead to differentiation of monocytes into resident macrophages. Together, adipocytes and macrophages interact, increasing circulating proinflammatory cytokines, promoting a chronic, systemic inflammatory response that adversely affects metabolic function and leads to diabetes. Inflammatory pathways can be initiated by extracellular mediators such as cytokines and lipids or by intracellular stresses such as ER stress or excess ROS production by mitochondria. Signals from all of these mediators converge on inflammatory signaling pathways, including IKK. Key initiating events in the liver are 1) hepatic activation of serine/threonine kinases (IKK), which presumably caused insulin resistance at the IRS-1/2 level, and 2) the activation of the IKK/I κ B α /NF- κ B pathway (via PKC, ROS, or other mechanisms), leading to expression and secretion of inflammatory cytokines (TNF α , IL-1, IL-6, and MCP-1). ICAM, intercellular adhesion molecule; IL-6, interleukin-6; IR, insulin receptor; IRS, insulin receptor substrate; MCP-1, monocyte chemoattractant protein-1; M-CSF, macrophage colony-stimulating factor; MIF, macrophage migration inhibitory factor; PAI-1, plasminogen activator inhibitor-1; TNF- α , tumor necrosis factor- α .

rodent model (Zucker fatty rats, *ob/ob* mice)에서 아스피린과 살리실산은 인슐린저항성을 감소시키고, 이 동물모델의 간, 근육조직에서 인슐린 신호전달이 회복됨이 증명되었다. 둘째, 3T3-L1 (지방), Fao (간) 세포주에서 TNF α 와 calyculin A (세린/트레오닌 인산분해효소 억제제) 처리 후 살리실산이 인슐린저항성을 회복시킬 수 있었다. HEK 293 세포주에서 IKK β 를 과발현시키면 인슐린수용체 활성화를 억제하고 dominant inhibitory IKK β 는 TNF α 에 의한 인슐린저항성을 막을 수 있었다. 셋째, *in vivo*에서 IKK β level의 상대적인 감소에 의한 인슐린감수성 정도를 보기위해 이형(heterozygous) IKK $\beta^{+/-}$ 쥐에서 혈당과 인슐린이 감소했음이 증명되었고, IKK $\beta^{+/-}$ 생쥐와 *ob/ob* 생쥐를 교배 시에도 대조군에 비해 혈당이 낮았다. 따라서 IKK β 의 gene dosage, 단

백질의 감소에 의해 혈당의 감소와 인슐린감수성의 호전이 따른다는 것이 증명되었다[53].

지방주입에 의한 인슐린저항성 발생 모델에서 intralipid 주입에 따른 혈장 유리지방산의 급격한 상승은 간과 근육에서 인슐린저항성을 유발한다[54,55]. 이때 PKC isoform들이 활성화되고, 이는 IKK β /NF- κ B 경로를 활성화한다[56,57]. 쥐에서 살리실산 처리 후 지방주입시 또는 IKK β 이형 결핍 생쥐에서 지방주입 시 인슐린저항성 발생이 경미했다[58].

제2형 당뇨병 환자에 있어 고용량 아스피린(~7 g/day)을 사용한 인슐린저항성 개선에 있어서 basal hepatic glucose production이 ~20% 감소하고, insulin-stimulated peripheral glucose disposal이 ~20% 호전되었다. 또한 공복혈당, 총콜레스테롤, C-reactive protein, 공복 중성지방과 유리지방산의 감

Table 1. Comparison of NF- κ B tissue-specific knockout or transgenic mouse models

Tissue	Manipulation	Phenotype	Weight gain	Glucose, Insulin, FFA, Leptin	Cytokine (IL-1 β , IL-6, TNF α)	References
Myeloid	IKK β lacking in myeloid cells (Ikbbk Δ^{mye}) (on HFD)	Protected from hepatic insulin resistance	Same	S, \downarrow , n/c, n/c	\downarrow , S, S	[61]
Liver	(1)IKK β lacking in hepatocytes (Ikbbk Δ^{hep}) (on HFD)	Protected from hepatic insulin resistance	n/c	S, \downarrow , S, n/c	\downarrow , S, S	[61]
	(2)Liver-specific transgenic expression of activated IKK β (LIKK) (on a chow diet)	Develop insulin resistance in liver & muscle	Same	S, \uparrow , S, S	S, \uparrow , S	[60]
	(3)Liver-specific transgenic expression of activated I κ B superrepressor (LISR) (on HFD)	Protected from insulin resistance	Same	n/c, \downarrow , S, S (on chow)	n/c	[60]
	(4)Liver-specific transgenic expression of activated I κ B superrepressor (LISR) (on HFD)	Protected from insulin resistance	Same	n/c, \downarrow , S, S (on chow)	n/c	[60]
Muscle	(1)Muscle-specific IKK β knockout (on gold thioglucose treatment)	Develop insulin resistance Comparable to control	Same	S, S, n/c, S	n/c	[89]
	(2)Muscle-specific transgenic expression of activated IKK β (MIKK) (on a chow diet)	Muscle wasting Normal in terms of insulin sensitivity	Muscle dystrophy	S, S, \uparrow , n/c	n/c	[62]
Pancreas	Islet-specific transgenic expression of activated I κ B superrepressor (RIP-mI κ B α)	Protected against islet apoptosis	Same	n/c	n/c	[42]
Adipose tissue	Not reported					

The different mouse models have various age- and diet-dependent responses; therefore, for simplicity, the descriptions are for the adult phenotype on a described diet and compared to wild-type on the same diet.

HFD, high fat diet; FFA, free fatty acid; S, similar to control; n/c, no comment.

* plasma.

소가 관찰되어 인슐린저항성의 호전이 있음이 보고되었다[59].

그렇다면 IKK β 억제에 의한 인슐린감수성 개선에 있어 실제로 중요한 조직이 무엇인가에 대해 tissue-specific knockout 또는 overexpression mouse가 설명해 줄 수 있다 (Table 1). 인슐린저항성은 주로 인슐린 반응 조직인 간, 근육, 지방조직에서 문제를 일으킨다. Liver-specific IKK β transgenic mouse (LIKK)에서는 간, 근육 조직에서 인슐린 저항성이 발생하고, 혈장 IL-6이 증가하며 anti-IL-6으로 중화 시 인슐린저항성이 호전되었다고 보고되어 있다. 반면 liver-specific I κ B α superrepressor transgenic mouse는 고지방식으로 비만을 유발 시 같은 비만도의 대조군에 비해 인슐린저항성 발생이 경미했다[60]. Karin 등은 liver-specific IKK β deletion mouse 모델에서 고지방식이 또는 *ob/ob* 생쥐와의 교배로 비만 유발 시 같은 비만도의 대조군에 비해 인슐린저항성 발생이 경미하고 혈장 IL-1 증가도 경미하며, 간조직에서의 인슐린저항성 발생이 경미함을 보고하였다. 그러나 근육에서는 인슐린저항성 개선이 없었다[61]. 흥미롭게도 골수세포에서 IKK β 를 결핍시킨 생쥐 모델에서도 같은 현상을 보이며, 이 모델에서는 근육에서도 인슐린저항성 개선이 있으므로 골수 세포에서 생성되는 염증 매개자가 인슐

린 반응 조직에서 영향을 미칠 가능성이 있다[61].

반면 muscle-specific IKK β - transgenic mouse (MIKK) 또는 muscle-specific I κ B α superrepressor transgenic mouse (MISR)에서는 인슐린저항성이 발생 또는 억제되지 않았다. MIKK mouse에선 근육위축이 일어나며 MISR mouse는 근육에서 특별한 표현형이 관찰되지는 않았다[62].

한편, 고지방식이에 의한 비만 생쥐 또는 LIKK mouse의 간 조직에서는 NF- κ B 경로와 연관있는 수용체 중 IL-1, IL-6, IL-8, TNF 수용체외에 TLR2와 TLR4의 증가가 관찰되었다[60]. TLR4는 박테리아에서 유래되는 LPS 같은 외인성 리간드로도 활성화되지만, 호스트에서 유래되는 내인성 리간드인 HSP60 (heat-shock protein 60), fibronectin extradomain A, hyaluronan 등에 의해서도 활성화되어 NF- κ B를 활성화시키고 대표적인 염증 질환인 죽종형성 (atherogenesis) 발생에도 관여한다[63]. TLR4 $^{-/-}$ mouse는 식이에 의해 유도된 인슐린저항성 발생이 경미하다는 보고가 있어, TLR4가 특정한 내인성 리간드에 의해 활성화되고 그로 인한 NF- κ B의 활성화 이로 인한 인슐린저항성 발생 기전이 있음을 시사한다.

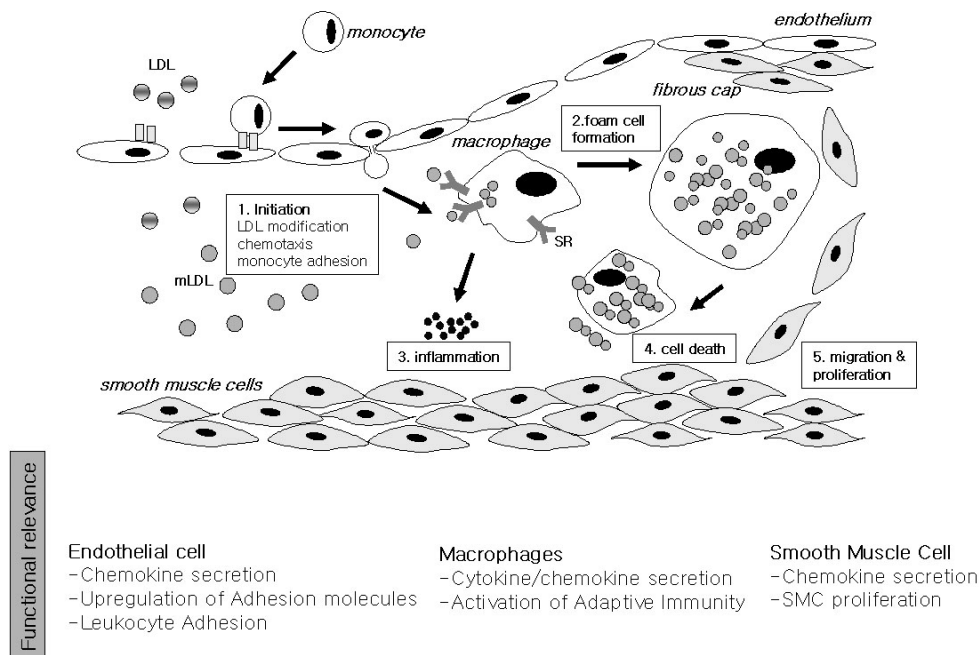


Fig. 3. Schematic representation of atherogenesis. Indicated are the different cell types involved and the different steps in the atherosclerotic process potentially affected by NF- κ B activation. (1)Initiation of atherosclerosis is characterized by the formation of modified LDL (mLDL), followed by the subsequent activation of endothelial cells and secretion of chemokines. On migration through the endothelial layer, the monocytes differentiate into macrophages and scavenge the modified LDL from the vessel wall, resulting in (2) foam cell formation. Persistent hypercholesterolemia leads to intracellular accumulation of cholesteryl esters and eventually apoptosis and release of proinflammatory oxidized lipid derivatives into the plaque, further exacerbating the (3)inflammatory responses. (4), (5) Later stages involve the formation of a fibrotic cap through proliferation and migration of smooth muscle cells and cell death resulting in a necrotic core. SR indicates scavenger receptor. Modified from reference[88].

6. NF- κ B와 죽상경화증 (NF- κ B and atherosclerosis)

죽상경화증은 일종의 경미한 염증질환(low-grade inflammatory disease)이라고 생각되므로, 생체 내의 죽상경화증에서 염증의 주요 매개자인 NF- κ B가 중요한 역할을 한다는 가설이 제시된 것은 이해가 되는 일이다. 혈액 중의 단핵세포 또는 일부 혈관평활근세포에서 유래된 지질을 섭취한 포말세포(foam cell)가 혈관벽에 침착되고, 여러 종류의 케모카인(chemokine), 시토카인과 성장인자를 생성한다. 이런 인자들이 이주세포(immigrating cell) 또는 상주세포(resident cell)의 전환과 분화를 조절하고 섬유판(fibrous plaque)형성에 관여하게 된다. 이러한 염증 과정에 관여된 주요 조절자로 NF- κ B가 proatherogenic 인자로 알려져 왔고 죽상경화증과 연관된 proinflammatory 유전자를 조절한다.

사람의 죽상경화증 병변에서 혈관내피세포, 대식세포, 혈관평활근세포에서 NF- κ B가 활성화되어 있다[64]. 또한 쥐의 대동맥에 풍선으로 손상을 준 후에 혈관평활근세포의 증식이 활발한 부위에서 NF- κ B의 활성이 관찰됨이 보고되어 있다[65].

죽상경화증은 오랜 기간을 걸쳐 발생하는데, 이에 (1)

초기 병변의 발생, (2)혈액중의 단핵세포 또는 일부 혈관평활근세포에서 유래된 지질을 섭취한 포말세포의 혈관벽 침착, (3)염증반응, (4)세포사멸, (5)혈관평활근세포 증식과 fibrous cap 형성의 단계가 있다(Fig. 3). NF- κ B의 역할도 이러한 각각의 단계와 또한 각각의 세포마다 달라서 죽상경화증의 초기병변 형성 단계에서는 내피세포 및 대식세포에서, 또한 후기병변에서는 혈관평활근세포에서 활성화되는데 이때에는 여러 자극에 의해 유도되며 이런 자극들에는 혈관 손상같은 국소적 인자, modified LDL (low-density lipoprotein), 병변에서 방출되는 시토카인, 고혈당에 의한 최종당화산물, cytomegalovirus나 chlamydia 같은 병원체들이 있다.

죽상경화증 발생의 초기 단계에서는 혈관벽에서 LDL의 변형(modification)이 일어나며, modified LDL은 혈관벽에서의 국소적 염증반응을 일으킨다. 이때 NF- κ B는 LDL 변형, 염증성 지방 매개체생성에 관여하는 group IIa secretory phospholipase A2[66], 5-lipoxygenase, 12-lipoxygenase[67]를 조절한다. Modified LDL은 내피세포에서 NF- κ B를 활성화시켜 monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) 분비

를 증가시켜 병변으로 단핵세포의 침투를 유도하고, P-selectin, E-selectin, intercellular adhesion molecule-1, vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) 같은 부착분자(adhesion molecule)를 조절한다.

단핵세포가 일단 내피세포층 밑으로 들어오게 되면 분화 과정을 거쳐 혈관조직의 대식세포의 특성을 지니게 되는데, 이때는 혈관내피세포나 대식세포 자체의 NF- κ B가 대식세포 자극인자(macrophage colony-stimulating factor)를 조절해 대식세포로의 분화를 촉진시킨다[68,69]. 한편 단핵세포/대식세포의 조직 침투를 위해선 세포외기질을 분해해야 되는데, 이때 NF- κ B가 metalloproteinase-9를 조절한다[70-72]. 또한 대식세포의 콜레스테롤 유입과 유출에 관여하는 scavenger receptor class A (SR-A), ATP-binding cassette transporter 1 (ABCA1)을 조절한다.

죽상경화증의 염증반응 단계에서는 NF- κ B가 활성화시키는 proinflammatory 또는 proatherogenic 시토카인으로 IL-1 β , IL-12, IFN γ 등이 알려져 있다. 그러나 염증 시토카인이 죽상경화증에 영향을 미치는 기전은 아직 잘 밝혀지지 않고 있다. IL-1 β 결핍 생쥐의 경우 죽상경화증 발생이 줄어드는데, 이 생쥐에선 MCP-1, VCAM-1의 감소가 동반되고 있다[73]. 반면 NF- κ B가 항염증(anti-inflammation) 과정에 관여한다는 보고가 있는데[74], 이는 죽상경화증 모델에서도 NF- κ B가 항염증 시토카인인 IL-10를 upregulation시켜 죽상경화증을 억제할 수 있다[75-79]. 또한 proinflammatory 시토카인인 IL-6는 항죽종형성(anti-atherogenic) 시토카인으로 알려져 있어[80], NF- κ B에 의해 조절되는 시토카인의 역할을 해석할 때는 전신적인 효과와 죽상경화증 병변에 국한되는 국소적 효과를 구별해야 할 필요가 있다.

죽상경화증 발생의 후기 단계에선 세포사멸이 중요한 이슈가 될 수 있는데, 이런 관점에서 NF- κ B는 포말세포의 세포자살을 방지해 죽상경화반의 안정성을 유지해서 항죽종형성 효과를 나타낼 수 있다[81]. 또한 상당히 진행된 죽상경화 병변에선 NF- κ B가 평활근세포의 증식을 일으키고[82-85], 이로 인해 fibrous cap 형성을 일으켜 동맥경화반의 안정성을 유지해 항죽종형성 효과로 나타난다.

한편 죽상경화증 발생의 주요 원인인 당뇨병에서는 병변의 진행이 빠른 것이 특징인데, 이에 기여하는 인자로는 고혈당, 과다응고(hypercoagulability), 이상지질혈증, 고인슐린혈증 등을 들 수 있다. 고혈당은 세포 내 ROS 생성을 증가시키며, 이에 따라 NF- κ B경로가 활성화되면 염증반응에 관련된 물질들의 분비가 증가되고 혈전 생성을 증가시키는 인자들이 증가하게 된다[86]. 쥐의 대동맥에서 혈관평활근세포를 채취하여 이를 다양한 농도의 포도당으로 처리하여 본 결과를 보면, 고농도 포도당에 의한 평활근세포의 증식에 있어 NF- κ B가 활성화되어 있고, 이를 I κ B α 'superrepressor' 아데노바이러스로 차단하면 평활근세포 증식 및 혈전 생성

을 증가시키는 인자인 plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1)의 발현이 억제되는 것이 관찰되고 있어[87], 고혈당에 의한 혈관 평활근세포의 증식 및 PAI-1 발현에 있어 NF- κ B가 중요한 역할을 할 가능성이 있다.

이와 같이 죽상경화증에서 NF- κ B는 proatherogenic으로 작용할 뿐만 아니라 antiatherogenic으로도 작용하므로 NF- κ B를 표적으로 하는 치료제 개발에 있어서는 세포-특이적 또는 질병발생단계-특이적 수준에서 고려가 되어야 할 것이다.

참 고 문 헌

1. Sen R, Baltimore D: Inducibility of kappa immunoglobulin enhancer-binding protein NF-kappa B by a posttranslational mechanism. *Cell* 47:921-928, 1988
2. DiDonato JA, Hayakawa M, Rothwarf DM, Zandi E, Karin M: A cytokine-responsive I κ B kinase that activates the transcriptional factor NF- κ B. *Nature* 388: 548-554, 1997
3. Lin A, Karin M: NF- κ B in cancer: a marked target. *Semin Cancer Biol* 13:107-114, 2003
4. Lemaitre B, Nicolas E, Michaut L, Reichhart JM, Hoffmann JA: The dorsoventral regulatory gene cassette spatzle/Toll/cactus controls the potent antifungal response in *Drosophila* adults. *Cell* 86:973-983, 1996
5. Medzhitov R, Preston-Hurlburt P, Janeway CA: A human homologue of the *Drosophila* Toll protein signals activation of adaptive immunity. *Nature* 388: 394-397, 1997
6. Beutler B: Inferences, questions and possibilities in Toll-like receptor signalling. *Nature* 430:257-263, 2004
7. Beg AA, Sha WC, Bronson RI, Ghosh S, Baltimore D: Embryonic lethality and liver degeneration in mice lacking the RelA component of NF- κ B. *Nature* 376: 167-170, 1995
8. Wang CY, Mayo MW, Korneluk RG, Goeddel DV, Baldwin AS: NF- κ B antiapoptosis: induction of TRAF1 and TRAF2 and c-IAP1 and c-IAP2 to suppress caspase-8 activation. *Science* 281:1680-1683, 1998
9. Wang CY, Mayo MW, Baldwin AS: TNF- and cancer-therapy-induced apoptosis: potentiation by inhibition of NF- κ B. *Science* 274:784-787, 1996
10. Beg AA, Baltimore D: An essential role for NF- κ B in

- preventing TNF-induced cell death. *Science* 274:782-784, 1996
11. Li Q, Van Antwerp D, Mercurio F, Lee KF, Verma IM: Severe liver degeneration in mice lacking the IkappaB kinase 2 gene. *Science* 284:321-325, 1999
12. Park JM, Greten FR, Li ZW, Karin M: Macrophage apoptosis by anthrax lethal factor through p38 MAP kinase inhibition. *Science* 297:2048-2051, 2002
13. Kim HS, Lee MS: Essential role of STAT1 in caspase-independent cell death of activated macrophages through p38 MAPK/STAT1/ROS pathway. *Mol Cell Biol* 25:6821-6833, 2005
14. Suk K, Chang I, Kim YH, Kim S, Kim JY, Kim H, Lee MS: Interferon gamma (INFgamma) and tumor necrosis alpha synergism in ME-180 cervical cancer cell apoptosis and necrosis. INFgamma inhibits cytoprotective NF-kappa B through STAT1/IRF-1 pathway. *J Biol Chem* 276:13153-13159, 2001
15. Suk K, Kim YH, Chang I, Kim JY, Choi YH, Lee KY, Lee MS: IFNalpha sensitizes ME-180 human cervical cancer cells to TNFalpha-induced apoptosis by inhibiting cytoprotective NF-kappaB activation. *FEBS Lett* 495:66-70, 2001
16. Griffith TS, Chin WA, Jackson GC, Lynch DH, Kubin MZ: Intracellular regulation of TRAIL-induced apoptosis in human melanoma cells. *J Immunol* 161: 2833-2840, 1998
17. Thomas WD, Hersey P: TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) induces apoptosis in Fas ligand-resistant melanoma cells and mediates CD4 T cell killing of target cells. *J Immunol* 161:2195-2200, 1998
18. Walczak H, Miller RE, Ariail K, Gliniak B, Griffith TS, Kubin M, Chin W, Jones J, Woodward A, Le T, Smith C, Smolak P, Goodwin RG, Rauch CT, Schuh JCL, Lynch DH: Tumoricidal activity of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand in vivo. *Nat Med* 5:157-163, 1999
19. Deng Y, Lin Y, Wu X: TRAIL-induced apoptosis requires Bax-dependent mitochondrial release of Smac/DIABLO. *Genes Dev* 16:33-45, 2002
20. Kandasamy K, Srinivasula SM, Alnemri ES, Thompson CB, Korsmeyer SJ, Bryant JL, Srivastava RK: Involvement of proapoptotic molecules Bax and Bak in tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL)-induced mitochondrial disruption and apoptosis: differential regulation of cytochrome c and Smac/DIABLO release. *Cancer Res* 63:1712-1721, 2003
21. Kim JY, Kim YH, Chang I, Kim S, Pak YK, Oh BH, Yagita H, Jung YK, Oh YJ, Lee MS: Resistance of mitochondrial DNA-deficient cells to TRAIL: role of Bax in TRAIL-induced apoptosis. *Oncogene* 21:3139-3148, 2002
22. Sheridan JP, Marsters SA, Pitti RM, Gurney A, Skubatch M, Baldwin D, Ramakrishnan L, Gray CL, Baker K, Wood WI, Goddard AD, Godowski P, Ashkenazi A: Control of TRAIL-induced apoptosis by a family of signaling and decoy receptors. *Science* 277:818-821, 1997
23. Pan G, O'Rourke K, Chinnaiyan AM, Gentz R, Ebner R, Ni J, Dixit VM: The receptor for the cytotoxic ligand TRAIL. *Science* 276:111-113, 1997
24. Hu WH, Johnson H, Shu HB: Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand receptors signal NF-kB and JNK activation and apoptosis through distinct pathways. *J Biol Chem* 274:30603-30610, 1999
25. Schneider P, Thome M, Burns K, Bodmer J, Hofmann K, Kataoka T, Holler N, Tschopp J: TRAIL receptors 1 (DR4) and 2 (DR5) signal FADD-dependent apoptosis and activate NF-kB. *Immunity* 7:831-836, 1997
26. Kim HS, Chang I, Kim JY, Choi KH, Lee MS: Caspase-mediated p65 cleavage promotes TRAIL-induced apoptosis. *Cancer Res* 65:6111-6119, 2005
27. Greten FR, Eckmann L, Greten TF, Park JM, Li JW, Egan LJ, Kagnoff MF, Karin M: IKKbeta links inflammation and tumorigenesis in a mouse model of colitis-associated cancer. *Cell* 118:285-296, 2004
28. Van Antwerp DJ, Martin SJ, Kafri T, Green DR, Verma IM: Suppression of TNF-induced apoptosis by NF-kB. *Science* 274:787-789, 1996
29. Chu ZL, McKinsey TA, Liu L, Gentry JJ, Malim MH, Ballard DW: Suppression of tumor necrosis factor-induced cell death by inhibitor of apoptosis c-IAP2 is under NF-kB control. *P Natl Acad Sci U S A* 94: 10057-10062, 1997
30. Manna SK, Aggarwal BB: Lipopolysaccharide inhibits TNF-induced apoptosis: role of nuclear factor-kB activation and reactive oxygen intermediates. *J Immunol* 162:1510-1518, 1999

31. Schneider A, Martin-Villalba A, Weih F, Vogel J, Wirth T, Schwaninger M: NF- κ B is activated and promotes cell death in focal cerebral ischemia. *Nat Med* 5:554-559, 1999
32. Dumont A, Hehner SP, Hofmann TG, Ueffing M, Droge W, Schmitz ML: Hydrogen peroxide-induced apoptosis is CD95-dependent, requires the release of mitochondria-derived reactive oxygen species and the activation of NF- κ B. *Oncogene* 18:747-757, 1999
33. Heimberg H, Heremans Y, Jobin C, Leemans R, Cardozo AK, Darville M, Eizirik DL: Inhibition of cytokine-induced NF- κ B activation by adenovirus-mediated expression of NF- κ B super-repressor prevents beta-cell apoptosis. *Diabetes* 50:2219-2224, 2001
34. Chen G, Hohmer HE, Gasa R, Tran VV, Newgard CB: Selection of insulinoma cell lines with resistance to interleukin-1 β - and gamma-interferon-induced cytotoxicity. *Diabetes* 49:562-570, 2000
35. Giannoukakis N, Rudert WA, Trucco M, Robbins PD: Protection of human islets from the effects of interleukin-1 β by adenoviral gene transfer of an IkappaB repressor. *J Biol Chem* 275:36509-36513, 2000
36. Sekine N, Ishikawa T, Okazaki T, Hayashi M, Wollheim CB, Fujita T: Synergistic activation of NF- κ B and inducible isoform of nitric oxidase synthase induction by interferon-gamma and tumor necrosis factor-alpha in INS-1 cells. *J Cell Physiol* 184:46-57, 2000
37. Han X, Sun Y, Scott S, Bleich D: Tissue inhibitor of metalloproteinase-1 prevents cytokine-mediated dysfunction and cytotoxicity in pancreatic islet and beta-cells. *Diabetes* 50:1047-1055, 2001
38. Campbell KJ, Rocha S, Perkins ND: Active repression of antiapoptotic gene expression by RelA(p65) NF- κ B. *Mol Cell* 13:853-865, 2004
39. Suk K, Kim S, Kim YH, Kim KA, Chang I, Yagita H, Shong M, Lee MS: IFN γ /TNF α synergism as the final effector in autoimmune diabetes: A key role for STAT1/IRF-1 in pancreatic β -cell death. *J Immunol* 166:4481-4489, 2001
40. Chang I, Kim S, Kim JY, Cho N, Kim YH, Kim H, Lee MK, Kim KW, Lee MS: Nuclear factor kappaB protects pancreatic beta-cells from tumor necrosis factor-alpha-mediated apoptosis. *Diabetes* 52:1169-1175, 2003
41. McMillan NAI, Carpick BW, Hollis B, Toone WM, Zamanian-Daryoush M, Williams BRG: Mutational analysis of the double-stranded RNA (dsRNA) binding domain of the dsRNA-activated protein kinase, PKR. *J Biol Chem* 270:2601-2605, 1995
42. Kim S, Millet I, Cho N, Kim E, Han M, Lee MK, Kim KW, Sherwin RS, Lee MS: NF-kappaB inhibits beta-cell death and prevents diabetes of NOD mice. *ADA 65th Scientific Meeting*:1614-P, 2005
43. Corbett JA, McDaniel ML: Does nitric oxide mediate autoimmune destruction of beta-cells? Possible therapeutic intervention in IDDM. *Diabetes* 41:897-903, 1992
44. Mandrup-Poulsen T: The role of interleukin-1 in the pathogenesis of IDDM. *Diabetologia* 39:1005-1029, 1996
45. Kaneto H, Fujii J, Seo HG, Suzuki K, Matsuoka T, Nakamura M, Tatsumi H, Yamasaki Y, Kamada T, Taniguchi N: Apoptotic cell death triggered by nitric oxide in pancreatic beta-cells. *Diabetes* 44:733-738, 1995
46. Irawaty W, Kay TW, Thomas HE: Transmembrane TNF and IFN γ induce caspase-independent death of primary mouse pancreatic beta cells. *Autoimmunity* 35:369-375, 2002
47. Arnush M, Heitmeier MR, Scarim AL, Marino MH, Manning PT, Corbett JA: IL-1 produced and released endogenously within human islets inhibits beta cell function. *J Clin Invest* 102:516-526, 1998
48. Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM: Adipose expression of tumor necrosis factor-alpha: direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science* 259:87-91, 1993
49. Hotamisligil GS, Spiegelman BM: Tumor necrosis factor alpha: a key component of the obesity-diabetes link. *Diabetes* 43:1271-1278, 1994
50. Hotamisligil GS: Molecular mechanisms of insulin resistance and the role of the adipocyte. *Int J Obes Relat Metab Disord* 24(suppl 4):S23-27, 2000
51. Williamson RT: On the treatment of glycosuria and diabetes mellitus with sodium salicylate. *BMJ* 1:760-762, 1901
52. Yin MJ, Yamamoto Y, Gaynor RB: The anti-inflammatory agents aspirin and salicylate inhibit the activity of I(kappa)B kinase-beta. *Nature* 396:77

- 80, 1998
53. Yuan M, Konstantopoulos N, Lee J, Hansen L, Li ZW, Karin M, Shoelson SE: Reversal of obesity- and diet-induced insulin resistance with salicylates or targeted disruption of Ikkbeta. *Science* 293:1673-1677, 2001
54. Boden G: Pathogenesis of type 2 diabetes. Insulin resistance. *Endocrinol Metab Clin North Am* 30:801-815, 2001
55. Petersen KF, Shulman GI: Pathogenesis of skeletal muscle insulin resistance in type 2 diabetes mellitus. *Am J Cardiol* 90:11G-18G, 2002
56. Griffin ME, Marcucci MJ, Cline GW, Bell K, Barucci N, Lee D, Goodyear LJ, Kraegen EW, White MF, Shulman GI: Free fatty acid-induced insulin resistance is associated with activation of protein kinase C theta and alterations in the insulin signaling cascade. *Diabetes* 48:1270-1274, 1999
57. Itani SI, Ruderman NB, Schmieder F, Boden G: Lipid-induced insulin resistance in human muscle is associated with changes in diacylglycerol, protein kinase C, and IkappaB-alpha. *Diabetes* 51:2005-2011, 2002
58. Kim JK, Kim YJ, Fillmore JJ, Chen Y, Moore I, Lee J, Yuan M, Li ZW, Karin M, Perret P, Shoelson SE, Shulman GI: Prevention of fat-induced insulin resistance by salicylate. *J Clin Invest* 108:437-446, 2001
59. Hundal RS, Petersen KF, Mayerson AB, Randhawa PS, Inzucchi S, Shoelson SE, Shulman GI: Mechanism by which high-dose aspirin improves glucose metabolism in type 2 diabetes. *J Clin Invest* 109:1321-1326, 2002
60. Cai D, Yuan M, Frantz DF, Melendez PA, Hansen L, Lee J, Shoelson SE: Local and systemic insulin resistance resulting from hepatic activation of IKK-beta and NF-kappaB. *Nat Med* 11:183-190, 2005
61. Arkan MC, Hevener AL, Greten FR, Maeda S, Li ZW, Long JM, Wynshaw-Boris A, Poli G, Olefsky J, Karin M: IKK-beta links inflammation to obesity-induced insulin resistance. *Nat Med* 11:191-198, 2005
62. Cai D, Frantz JD, Tawa NE, Jr., Melendez PA, Oh BC, Lidov HG, Hasselgren PO, Frontera WR, Lee J, Glass DJ, Shoelson SE: IKKbeta/NF-kappaB activation causes severe muscle wasting in mice. *Cell* 119:285-298, 2004
63. Michelsen KS, Doherty TM, Shah PK, Arditi M: TLR signaling: an emerging bridge from innate immunity to atherogenesis. *J Immunol* 173:5901-5907, 2004
64. Brand K, Page S, Rogler G, Bartsch A, Brandl R, Knuechel R, Page M, Kaltschmidt C, Baeuerle PA, Neumeier D: Activated transcription factor nuclear factor-kappa B is present in the atherosclerotic lesion. *J Clin Invest* 97:1715-1722, 1996
65. Breuss JM, Cejna M, Bergmeister H, Kadl A, Baumgartl G, Steurer S, Xu Z, Koshelnick Y, Lipp J, De Martin R, Losert U, Lammer J, Binder BR: Activation of nuclear factor-kappa B significantly contributes to lumen loss in a rabbit iliac artery balloon angioplasty model. *Circulation* 105:633-638, 2002
66. Ivandic B, Castellani LW, Wang XP, Qiao JH, Mehrabian M, Navab M, Fogelman AM, Grass DS, Swanson ME, de Beer MC, de Beer F, Lusis AJ: Role of group II secretory phospholipase A2 in atherosclerosis: 1. Increased atherogenesis and altered lipoproteins in transgenic mice expressing group IIa phospholipase A2. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 19:1284-1290, 1999
67. Zhao L, Funk CD: Lipoxygenase pathways in atherogenesis. *Trends Cardiovasc Med* 14:191-195, 2004
68. Smith JD, Trogan E, Ginsberg M, Grigaux C, Tian J, Miyata M: Decreased atherosclerosis in mice deficient in both macrophage colony-stimulating factor (op) and apolipoprotein E. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92:8264-8268, 1995
69. Rajavashisth T, Qiao JH, Tripathi S, Tripathi J, Mishra N, Hua M, Wang XP, Loussararian A, Clinton S, Libby P, Lusis A: Heterozygous osteopetrotic (op) mutation reduces atherosclerosis in LDL receptor-deficient mice. *J Clin Invest* 101:2702-2710, 1998
70. Bond M, Fabunmi RP, Baker AH, Newby AC: Synergistic upregulation of metalloproteinase-9 by growth factors and inflammatory cytokines: an absolute requirement for transcription factor NF-kappa B. *FEBS Lett* 435:29-34, 1998
71. Luttun A, Lutgens E, Manderveld A, Maris K, Collen D, Carmeliet P, Moons L: Loss of matrix metalloproteinase-9 or matrix metalloproteinase-12 protects apolipoprotein E-deficient mice against atherosclerotic media destruction but differentially

- affects plaque growth. *Circulation* 109:1408-1414, 2004
72. Galis ZS, Johnson C, Godin D, Magid R, Shipley JM, Senior RM, Ivan E: Targeted disruption of the matrix metalloproteinase-9 gene impairs smooth muscle cell migration and geometrical arterial remodeling. *Circ Res* 91:852-859, 2002
73. Kirii H, Niwa T, Yamada Y, Wada H, Saito K, Iwakura Y, Asano M, Moriwaki H, Seishima M: Lack of interleukin-1 β decreases the severity of atherosclerosis in ApoE-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 23:656-660, 2003
74. Lawrence T, Gilroy DW, Colville-Nash PR, Willoughby DA: Possible new role for NF- κ B in the resolution of inflammation. *Nat Med* 7:1291-1297, 2001
75. Xu LG, Wu M, Hu J, Zhai Z, Shu HB: Identification of downstream genes up-regulated by the tumor necrosis factor family member TALL-1. *J Leukoc Biol* 72:410-416, 2002
76. Kanters E, Pasparakis M, Gijbels MJ, Vergouwe MN, Partouns-Hendriks I, Fijneman RJ, Clausen BE, Forster I, Kockx MM, Rajewsky K, Kraal G, Hofker MH, de Winther MP: Inhibition of NF- κ B activation in macrophages increases atherosclerosis in LDL receptor-deficient mice. *J Clin Invest* 112:1176-1185, 2003
77. Mallat Z, Besnard S, Duriez M, Deleuze V, Emmanuel F, Bureau MF, Soubrier F, Esposito B, Duez H, Fievet C, Staels B, Duverger N, Scherman D, Tedgui A: Protective role of interleukin-10 in atherosclerosis. *Circ Res* 85:e17-24, 1999
78. Von Der Thusen JH, Kuiper J, Fekkes ML, De Vos P, Van Berkel TJ, Biessen EA: Attenuation of atherogenesis by systemic and local adenovirus-mediated gene transfer of interleukin-10 in LDLr^{-/-} mice. *Faseb J* 15:2730-2732, 2001
79. Caligiuri G, Rudling M, Ollivier V, Jacob MP, Michel JB, Hansson GK, Nicoletti A: Interleukin-10 deficiency increases atherosclerosis, thrombosis, and low-density lipoproteins in apolipoprotein E knockout mice. *Mol Med* 9:10-17, 2003
80. Elhage R, Clamens S, Besnard S, Mallat Z, Tedgui A, Arnal J, Maret A, Bayard F: Involvement of interleukin-6 in atherosclerosis but not in the prevention of fatty streak formation by 17 β -estradiol in apolipoprotein E-deficient mice. *Atherosclerosis* 156:315-320, 2001
81. Tabas I: Apoptosis and plaque destabilization in atherosclerosis: the role of macrophage apoptosis induced by cholesterol. *Cell Death Differ* 11(suppl 1):S12-16, 2004
82. Autieri MV, Yue TL, Ferstein GZ, Ohlstein E: Antisense oligonucleotides to the p65 subunit of NF- κ B inhibit human vascular smooth muscle cell adherence and proliferation and prevent neointima formation in rat carotid arteries. *Biochem Biophys Res Commun* 213:827-836, 1995
83. Hoshi S, Goto M, Koyama N, Nomoto K, Tanaka H: Regulation of vascular smooth muscle cell proliferation by nuclear factor- κ B and its inhibitor, I- κ B. *J Biol Chem* 275:883-889, 2000
84. Selzman CH, Shames BD, McIntyre RC Jr, Banerjee A, Harken AH: The NF κ B inhibitory peptide, IkappaB α , prevents human vascular smooth muscle proliferation. *Ann Thorac Surg* 67:1227-1231, 1999
85. Zuckerbraun BS, McCloskey CA, Mahidhara RS, Kim PK, Taylor BS, Tzeng E: Overexpression of mutated IkappaB α inhibits vascular smooth muscle cell proliferation and intimal hyperplasia formation. *J Vasc Surg* 38:812-819, 2003
86. Evans JL, Goldfine ID, Maddux BA, Grodsky GM: Oxidative stress and stress-activated signaling pathways: a unifying hypothesis of type 2 diabetes. *Endocr Rev* 23:599-622, 2002
87. Jeong IK, Chae MK, Choi MH, Kim S, Lee MS, Yoo HJ: Inhibition of NF- κ B activity protects proliferation and PAI-1 expression induced by high glucose in vascular smooth muscle cells. *Diabetologia* 47(suppl 1):A434, 2004
88. de Winther MP, Kanters E, Kraal G, Hofker MH: Nuclear factor κ B signaling in atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 25:904-914, 2005
89. Rohl M, Pasparakis M, Baudler S, Baumgartl J, Gautam D, Huth M, De Lorenzi R, Krone W, Rajewsky K, Bruning JC: Conditional disruption of IkappaB kinase 2 fails to prevent obesity-induced insulin resistance. *J Clin Invest* 113:474-481, 2004