

Mitochondrial Reactive Oxygen Species Production Mediated by Romo1 Expression

Young Do Yoo

Laboratory of Molecular Cell Biology, Graduate School of Medicine, Korea University College of Medicine, Seoul, Korea

Release of reactive oxygen species (ROS) generated in the mitochondria to the cytosol is well controlled by various proteins in order to maintain and regulate redox homeostasis and cellular signaling pathways, however, the exact mechanisms by which the proteins located in the mitochondrial membrane control ROS release still remains to be identified. Although there are reports that several proteins play a role in mitochondrial ROS release to the cytosol, little is known about how it is released into the cytosol or its origin. Recently, several reports demonstrated that the ROS modulator 1 (Romo1) protein located on the mitochondrial membrane modulates ROS release into the cytosol and that these ROS are indispensable for survival in both normal cells and tumor cells. If these ROS are over-produced or dysregulated in pathological conditions, they may cause oxidative damages resulting in a variety of diseases. Therefore, understanding and identifying the mechanisms by which ROS are released to the cytosol may offer new strategies for pharmaceutical therapy of diseases related to oxidative stresses.

Key Words: Reactive Oxygen Species; Mitochondria; Oxidative Stress

Correspondence to: Young Do Yoo
우136-705, 서울시 성북구 인촌로73,
고려대학교 의과대학 대학원 의학과
본관 715호
Graduate School of Medicine, Korea
University College of Medicine, 73 Incheon-
ro, Seongbuk-gu, Seoul 136-705, Korea
Tel: +82-2-2286-1362
E-mail: ydy1130@korea.ac.kr

Received 7 March 2013
Revised 24 April 2013
Accepted 28 April 2013

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

서 론

활성산소는 세포 내 미토콘드리아 내막에 위치하는 respiratory chain의 complex I, III에서 leakage로 인한 전자(electron)가 산소 분자와 반응을 하여 생성된다. 미토콘드리아에서 생성된 활성산소는 크게 superoxide, hydroxyl radical 그리고 hydrogen peroxide (H_2O_2) 세 종류가 있다. 이 중 superoxide와 hydroxyl radical은 미토콘드리아 막을 통과하지 못하지만 H_2O_2 는 단순한 확산에 의하여 막을 통과한다. 지나친 활성산소는 세포 내에서 DNA, RNA, 단백질, 세포 내 소기관 등에 손상을 주며 지속적인 때 여러 질병을 일으킨다. 활성산소는 내부 또는 외부 신호에 의하여 생성이 되는데 세포 내에서 생성된 활성산소는 대부분 제거되지만, 지속적인

활성산소가 발생하여 만성적인 상태가 유지되면 인체에 각종 염증과 질병을 일으키게 된다. 염증으로 인하여 직접적으로 발병하는 질병은 암(cancer), 간섬유증(liver fibrosis), 염증성 통증(inflammatory pain), 글루탐산염유도 통증과민증(glutamate-induced hyperalgesia), 신경병성통증(neuropathic pain), 섬유근통(fibromyalgia), 만성췌장염(chronic pancreatitis) 등으로 매우 다양하다 [1]. 이와 같이 활성산소는 세포와 생명체에 수 많은 질병의 원인이 되지만 활성산소는 세포 내에서 신호 전달에 중요한 매개체로 작용하며 세포의 생존과 성장에 중요한 역할을 한다 [2,3]. 세포 내 H_2O_2 의 농도는 $0.001 \mu M$ 에서 높게는 $0.7 \mu M$ 까지 존재하는 것으로 알려져 있다 [4]. 지금까지 신호전달에서 역할을 하는 활성산소는 주로 nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) oxidase

와 같은 세포 내 효소에 의해서 생성된다고 많이 알려져 있지만 최근에 미토콘드리아에서 유래하는 활성산소도 세포의 생존과 성장에 중요한 역할을 한다고 알려지기 시작하였다. 이와 같이 생명체는 미토콘드리아에서 생성된 적절한 양의 활성산소를 세포의 여러 기능에 유용하게 이용하지만 이에 대한 자세한 분자생물학적인 작용기전은 현재 많이 알려져 있지 않다. 최근에 reactive oxygen species modulator 1 (Romol)이라는 단백질이 발견되었고, Romol은 미토콘드리아 막에 존재하면서 미토콘드리아 respiratory chain의 complex III에서 생성되는 활성산소를 이용하여 세포질에서의 활성산소의 양을 증가시킨다고 보고되고 있다[5]. 본 고에서는 미토콘드리아 respiratory chain의 complex III에서의 활성산소 생성 기전과 여기서 생성되는 활성산소를 생명체가 어떻게 적절히 이용하는지 지금까지 보고된 논문을 바탕으로 고찰하고자 한다. 더 나아가 과도하고 지속적인 미토콘드리아 유래 활성산소가 인체의 질병에 미치는 영향을 살펴보고자 한다.

본 론

1. 미토콘드리아 respiratory chain에서 활성산소 생성

세포 내 미토콘드리아의 가장 주요한 기능은 ATP 생산이다. ATP 생산은 respiratory chain에서 일어나며 다섯 개의 다단위체(multisubunits; respiratory complexes I-IV와 F₁F₀-ATP synthase)와 두 인자(cytochrome c [Cyt c]와 coenzyme Q10)로 이루어져 있으며 미토콘드리아 내막에 위치한다[6,7]. 이 과정 중에서 전자가 미토콘드리아 respiratory chain에서 방출되어 산소 분자를 불완전 환원시켜 superoxide를 생성시키고 superoxide는 H₂O₂로 전환된다. 호흡에 필요한 산소 중 약 1-2%가 불완전 환원이 되어 superoxide를 생성시키는 것으로 알려져 있다[8,9]. Superoxide는 미토콘드리아 matrix에 있는 manganese superoxide dismutase (Mn-SOD)에 의하여 또는 intermembrane space (IMS)에 존재하는 copper/zinc-superoxide dismutase (Cu/Zn-SOD)에 의하여 H₂O₂로 변한다. 미토콘드리아 내에서 superoxide가 발생하는 곳은 많이 알려져 있고, 이들 중 가장 중요한 장소는 respiratory chain의 complex I과 III이다[10,11]. 본고에서는 미토콘드리아 활성산소 생성 장소 중에서 complex I과 III에 대하여 고찰하고자 한다.

1) Complex I (NADH-ubiquinone oxidoreductase)

Complex I은 NADPH로부터의 전자를 coenzyme Q를 통하여 complex III로 전달하는 역할을 한다. Complex I에서의 superoxide 생성은 두 작용기전(NADH-linked forward electron transport, succinate-linked reverse electron transport)이 보고되고 있다[12-14]. Complex I에서의 superoxide 생성에 관한 연구는 주로 미토콘드리아를 분리한 후 이루어졌다. 이 경우 NADH/NAD⁺ ratio가 높

을 때 또는 succinate에서 NAD⁺로의 reverse electron transport일 경우 활성산소의 생성이 높았다. 그렇지만 실제로 physiological condition에서의 정확한 작용기전은 더 많은 연구를 필요로 하고 있다. Complex I에서 발생하는 superoxide는 matrix 방향으로 방출된다[15].

2) Complex III (ubiquinol-cytochrome c oxidoreductase)

Superoxide 발생은 미토콘드리아의 여러 장소에서 발생하지만 이 중 respiratory chain의 complex III가 중요한 장소로 알려져 있고 superoxide는 Q-cycle에서 발생한다[10,16,17]. Complex III는 11개의 단백질, 3개의 헴(heme) 그리고 Fe-S center로 이루어져 있으며 coenzyme Q (ubiquinol, QH₂)로부터 전자를 받아서 Cyt c로 전달하는 역할을 한다[18]. Q-cycle을 간략하게 설명하면 coenzyme Q (ubiquinone, Q)는 complexes I 또는 II로부터 두 개의 전자를 받아서 reduced coenzyme Q (ubiquinol, QH₂)로 된다. QH₂는 complex III의 IMS-proximal Q_o site (Q_o site)에서 전자를 Cyt c로 전달한다. 그런데 QH₂는 두 개의 전자를 포함하고 있지만 Cyt c는 한 개의 전자만을 받을 수 있다. 그렇기 때문에 QH₂는 한 개의 전자만을 Rieske iron-sulfur protein (RISP)을 통하여 Cyt c₁으로 전달한다. 이때 QH₂는 일시적으로 ubisemiquinone (QH[•])으로 바뀐다. Cyt c₁의 전자는 Cyt c를 통하여 complex IV (cytochrome oxidase)로 전달된다. 나머지 전자의 전달을 해결하기 위하여 생명체는 Q-cycle을 이용한다. Ubisemiquinone의 한 개의 전자는 RISP에 의하여 cytochrome b로 전달된다. 전자는 cytochrome b_L과 cytochrome b_H를 통과하여 matrix-proximal Q_i site에 위치에서 ubiquinone을 환원시켜 ubisemiquinone이 되고 ubisemiquinone은 이어서 ubiquinol이 된다. 이러한 Q-cycle 과정에서 ubisemiquinone에서의 자유전자(free electron)가 산소와 결합하여 superoxide가 발생한다. 또한 이 과정에서 antimycin은 Q_i site의 cytochrome b center에서 ubiquinone로의 전자 전달을 차단하여 결과적으로 superoxide의 발생을 촉진시킨다[19]. 반면에 myxothiazol과 stigmatellin은 Q_o site에서 superoxide의 발생을 낮추게 한다[16,20].

3) 기타 인자

미토콘드리아에서 활성산소의 발생은 위에서 언급한 complex I과 complex III 이외에도 여러 장소에서 만들어진다. Brand 등은 complex I (site IQ), complex III (site IIIQ_o), glycerol 3-phosphate dehydrogenase, flavin in complex I (site IF), electron transferring flavoprotein: Q oxidoreductase (ETFQOR) of fatty acid beta-oxidation, pyruvate and 2-oxoglutarate dehydrogenase의 7 장소에서 활성산소가 만들어지며 미토콘드리아 matrix 방향으로 활성산소를 방출시킨다고 발표하였다[10,11]. 이 중 complex III와 glycerol 3-phosphate dehydrogenase는 IMS로도 방출시킨다[19,21,22].

2. 미토콘드리아 유래 활성산소 생성 조절인자

미토콘드리아 활성산소는 세포에 손상을 주는 동시에 세포의 성장, 사멸, 세포 분열, redox homeostasis에 기여하는 것으로 알려져 있다[1]. 이때 미토콘드리아 complex III에서 발생한 활성산소는 단순한 확산에 의하여 세포질로 전달된다. 또한 세포는 이 과정을 능동적으로 진행한다. 지금까지 이 과정에 작용하는 작용 기전과 단백질은 일부 알려져 있고, 정확한 작용 기전은 많은 연구를 필요로 한다. 이 과정에 작용하는 단백질을 세포는 미토콘드리아가 아닌 세포질에서 합성하여 미토콘드리아로 수송하게 된다. 본고에서는 이 과정에 작용하는 단백질 중 특히 Romo1에 대하여 알아보려고 한다.

1) Romo1

Romo1은 2006년에 처음 보고되었으며 항암제 내성 관련 유전자를 발견하기 위하여 항암제 치료 동안에 항암제에 내성을 보여 주는 환자의 조직에서 발현이 증가한 유전자를 탐색 중에 확인하였다. 이 유전자는 미토콘드리아에 위치하며 발현이 증가할 경우 세포 내 활성산소를 증가시켰다[23]. Romo1은 NADPH oxidase나 xanthine oxidase, cyclooxygenases, lipoxygenases와 달리 활성산소를 생성하는 효소 특징을 갖고 있지 않고 미토콘드리아 막에 위치하며 8.9 kDa의 분자량을 가진 transmembrane 단백질이기 때문에 효소보다는 막에 위치하는 통로(channel)로서 작용을 하여 미토콘드리아에서 발생하는 활성산소를 세포질로 수송하는 역할을 갖고 있을 것으로 생각된다[5,7].

(1) Romo1의 생리학적 기능에 관한 연구

Small interfering RNA (siRNA)를 이용하여 Romo1의 발현을 감소시켰을 경우 immortalized 세포인 WI VA13 세포의 활성산소의 basal levels를 감소시켰다[24]. 이러한 사실은 Romo1의 세포 내에서의 일정한 발현이 세포의 redox homeostasis에 중요하다는 것을 의미한다. Romo1의 발현을 감소시켰을 경우 extracellular signal-regulated kinase (ERK)활성화를 저해하였고 p27^{Kip1}의 발현을 감소시켰다. 이러한 사실은 Romo1 발현에 의하여 유지되는 redox homeostasis가 세포의 생존(survival), 증식(proliferation), 세포주기 진행(cell cycle progression)에 중요하다는 것을 의미한다. 두 번째 Romo1의 생리학적 역할은 tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) 유도 미토콘드리아 ROS 생성 신호 전달 경로에서 Romo1은 중요한 매개체이다[5]. Fig. 1에서와 같이 TNF- α 신호에 반응하여 TNF complex II는 Romo1의 C-말단에 결합한다. Romo1은 동시에 Bcl-X_L에 결합하여 미토콘드리아의 막전위(mitochondrial membrane potential, $\Delta\Psi_m$)를 감소시킨다. 이어서 활성산소가 증가하고 세포자멸사(apoptosis)에 의한 세포사멸(apoptotic cell death)이 일어난다. 이때 Bax 단백질이 Bcl-X_L로부터 방출된다. 또 다른 Romo1의 기능은 c-Myc의 음성적 피드백 조절자(negative feedback regula-

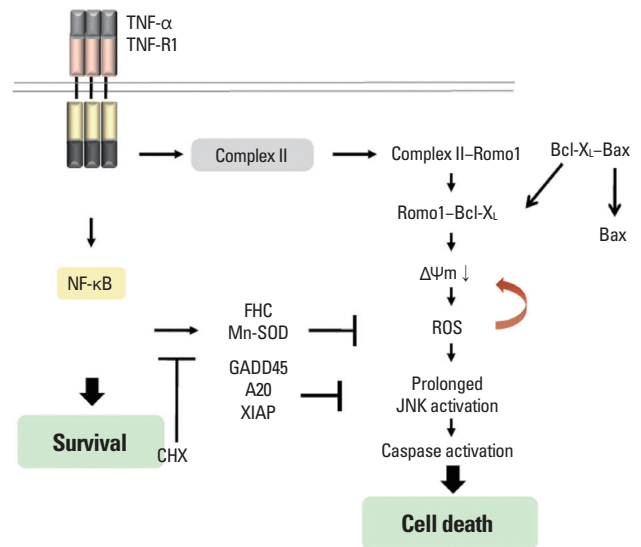


Fig. 1. A signaling pathway for TNF- α -induced ROS production through Romo1. TNF, tumor necrosis factor; TNF-R, TNF receptor; NF- κ B, nuclear factor-kappaB; FHC, ferritin heavy chain; Mn-SOD, manganese superoxide dismutase; GADD, growth arrest and DNA-damage-inducible; A20, tumor necrosis factor inducible protein A20; XIAP, X-linked inhibitor of apoptosis protein; JNK, c-Jun N-terminal kinase; CHX, cycloheximide.

tor)로 작용하는 것이다[25]. c-Myc은 세포 성장 신호를 받아 단백질의 양이 증가하고 G1에서 S phase로의 세포주기 진행을 유도한다. 곧이어 c-Myc turnover를 위하여 c-Myc은 Romo1 발현을 증가시키고 Romo1은 세포 내 활성산소를 증가시켜 S-phase kinase-associated protein 2, E3 ubiquitin protein ligase (Skp2) 매개 c-Myc 분해(Skp2-mediated c-Myc degradation)를 유도한다.

(2) Romo1과 질병과의 연관성

Romo1의 질병과의 연관성 연구로 종양과의 연관성이 많이 연구되었다. 초기 연구에서 대부분의 종양세포에서 Romo1의 발현이 증가한 것을 확인하였다[23]. 많은 암세포에서 활성산소의 양이 높게 관찰되었는데 Romo1 siRNA를 이용하여 Romo1의 발현을 knock-down하였을 경우 종양세포에서의 ROS가 감소하였다. 이러한 사실은 암세포에서의 높은 활성산소의 원인이 증가한 Romo1 발현에 기인한다는 것을 의미한다[26]. 종양세포에서 Romo1의 발현을 감소시켰을 경우 ERK활성화를 저해하였고 이러한 사실은 Romo1 발현에 의하여 유지되는 redox homeostasis가 암세포의 생존, 증식, 세포주기 진행에 중요하다는 것을 말하여 준다. 이 밖에도 Romo1을 인위적으로 과 발현하였을 경우 암세포는 항암제인 fluorouracil (5-FU)과 시스플라틴(cisplatin)에 내성을 보였다[27].

종양세포뿐만 아니라 환자의 암조직에서 Romo1의 발현이 증가하는지를 검색하기 위하여 간암 환자 조직에서 Romo1 과발현(over-

expression)을 조사하였는데 95명 간암 환자의 종양 조직의 60%에서 Romo1의 발현이 증가하였고 종양 조직에서 Romo1 과발현이 발견된 환자의 생존율이 낮았다[28]. 그뿐만 아니라 Romo1의 과발현이 종양 크기 및 종양침습(tumor invasion)과 직접적인 연관성이 있다. 암세포에서 활성산소는 증가한 상태이며 종양의 개시(initiation), 증진(promotion), 진행(progression)에 관여하며 특히 종양세포침습에 관여하는데[29] 종양세포에 Romo1을 과발현 시켰을 경우 종양침습이 증가하였고 종양침습이 증가된 암세포에 Romo1의 발현을 감소시켰을 경우 종양침습이 감소됨을 관찰하였다[28].

종양 이외의 질병과의 연관성에 관한 연구는 초기 상태이며 지금까지 밝혀진 결과로 세포 노화와 TNF- α 유도 질병과의 연관성이 일부 알려져 있다. Romo1은 노화가 일어난 세포에서 발현이 증가하였는데 Romo1을 과발현 하였을 경우 세포 노화가 촉진되었고 Romo1의 발현 감소는 세포의 노화 진행을 차단하였다[30]. 또한 TNF- α 에 의하여 유도되는 지나친 세포사(cell death)는 염증을 유발하고 각종 질병에 직접적인 연관성이 있는데 TNF- α 유도 미토콘드리아 ROS 생성 및 세포사에서 Romo1이 중요한 역할을 한다[5].

2) 기타 인자

미토콘드리아 활성산소를 세포질로의 수송에 역할을 하는 인자의 작용 기전은 일부 밝혀지고 있지만 이에 대한 연구는 아직 활발하게 이루어지고 있지 않다. 최근에 p66^{Shc}가 미토콘드리아 활성산소 생성에 역할을 한다는 것이 보고되었다. p66^{Shc} 단백질은 자외선이나 활성산소 자극에 의하여 세린(serine)이 인산화되며 p53에 의하여 유도되는 활성산소 생성, Cyt c 방출, 세포자멸사에서 매개체로 역할을 한다[31]. p66^{Shc}가 결여된 마우스(p66^{Shc}^{-/-} mice)는 수명이 30% 증가하였고 p66^{Shc}가 결여된 세포에서 스트레스(stress)에 의한 세포자멸사가 방해되었다[31]. p66^{Shc}는 스트레스에 의해 활성화된 인산화효소인 protein kinase C-beta (PKC- β)에 의하여 인산화 되면 미토콘드리아의 IMS로 이동한다[32]. 이때 p66^{Shc}는 Cyt c를 산화시켜 H₂O₂를 생성시키고 protein tyrosine phosphatase (PTP)를 개방하여 세포자멸사를 유도한다[33].

미토콘드리아 활성산소를 세포질로의 수송에서 Bcl-2 family도 역할을 한다. Bcl-2 family는 Bcl-2 homology domain (BH 영역)을 포함하는 단백질로 anti-apoptotic과 pro-apoptotic 단백질로 분류된다. Anti-apoptotic 단백질인 Bcl-2와 Bcl-X_L는 4개의 BH 영역(BH1-4)을 포함하고 pro-apoptotic 단백질인 Bax와 Bak은 3개의 BH 영역(BH1-3)을 포함하며 Bad와 Bid 단백질은 BH3 영역을 포함한다[34]. Bcl-2는 antioxidant 기능과 anti-apoptotic 기능을 하는 것으로 보고되었지만 활성산소 생성에서 정확한 작용 기전은 아직 잘 규명되지 않았다[35]. Bcl-X_L 단백질도 antioxidant 기능과 anti-apoptotic 기능을 갖고 있고 TNF- α 에 의하여 일어나는 $\Delta\Psi_m$ 감소를 차단하고 mitochondrial homeostasis의 역할을 수행한다

[36]. Bax 단백질은 stress를 받아서 mitochondrial outer membrane permeabilization (MOMP), Cyt c 방출을 유도한다[37]. Bax 단백질이 활성산소 생성에 관여하지만 정확한 작용 기전은 아직 규명되지 않았다[38].

p53은 세포주기 정지(cell-cycle arrest), DNA 회복(repair), 세포자멸사, 노화(senescence)에서 중요한 역할을 한다[39]. p53은 활성산소 생성에 양성적(positive) 또는 음성적(negative) 역할을 하며 이러한 작용은 전사의존적(transcription-dependent) 또는 비의존적(independent) 기전에 의하여 일어난다. p53은 ROS 생성(ROS-generating)효소인 quinine oxidoreductase (NQO1, PI3G), proline oxidase (POX, PI6G)의 발현을 증가시켜 세포자멸사를 유도한다[40]. 또한 p53은 Bax, p53 upregulated modulator of apoptosis (PUMA), p66^{Shc}의 발현을 증가시켜 세포자멸사를 유도한다[33]. p53은 반대로 항산화 유전자인 sestrin 1 (SESN1), SESN2, glutathione peroxidase-1 (GPX1), tumor protein p53 inducible nuclear protein 1 (TP53INP1)의 발현을 증가시켜 redox homeostasis를 유지하는 역할을 한다[41].

3. 미토콘드리아 활성산소와 관련 질병

인체에서 unbalanced ROS level은 만성 염증질환을 포함하는 각종 질병의 원인으로 작용하며 특히 미토콘드리아에서 ROS의 leakage가 일어나면 인체의 각종 질병을 유도하게 된다[1]. 현재까지 암, 노화 과정(aging process), 신경변성장애(neurodegenerative disorders)를 포함하여 관절염(arthritis), 죽상동맥경화증(atherosclerosis), 폐섬유증(pulmonary fibrosis) 등이 ROS와 관련되어 있는 것으로 알려져 있다[42].

1) 암

활성산소는 주로 미토콘드리아 respiratory chain에서 발생하며 대부분의 활성산소는 세포 내 항산화효소 등에 의하여 바로 제거된다. 그렇지만 외부 스트레스나 유전적 결함에 의하여 활성산소의 양이 과도하게 또는 지속적으로 증가하였을 경우 활성산소는 DNA 손상(damage)과 다수의 임의 유전자 돌연변이(multiple random genetic mutations) 및 유전체불안정성(genomic instability)을 유도하여 암의 개시, 증진, 진행에 기여한다[1].

지나친 활성산소는 외부 스트레스 이외에도 여러 발생 경로가 있다. H-Ras 또는 c-Myc과 같은 종양유전자(oncogene)는 다량의 활성산소를 발생시켜 유전적 안정성(genetic stability)을 유도한다[3]. 일반적으로 종양세포에서의 활성산소의 세포 내 양은 증가되어 있다[43]. 종양세포에서 증가한 활성산소의 근원과 역할에 대하여 Laurent 등은 NIH 3T3 세포와 같이 비형질전환(nontransformed) 세포에서의 활성산소의 양은 적으며 NADPH oxidase로부터 유래하지만 종양세포에서의 활성산소의 양은 높고 미토콘드리아에서

유래한다고 보고하였다[44]. 활성산소의 양이 증가된 종양세포에 항산화제를 처리하였을 경우 종양세포의 성장을 저해한 결과로부터 종양세포에서의 활성산소는 세포 성장에 필수적이라고 보고하였다[44]. 종양세포의 증가된 활성산소는 종양세포의 증식, DNA 손상 이외에도 종양침습과 같은 종양진행(tumor progression)에도 기여를 한다. 활성산소를 상피세포에 지속적으로 처리하였을 경우 악성세포전환(malignant transformation)과 침습 잠재력(invasion potential)을 증가시켰다[45].

2) 신경변성(neurodegeneration)

신경변성은 뉴런의 사멸 또는 기능 상실이 원인이며 신경변성질환으로는 파킨슨병(Parkinson's disease), 알츠하이머병(Alzheimer's disease), 헌팅톤병(Huntington's disease)이 있다. 이러한 신경변성질환의 원인은 다양하지만 이 중 미토콘드리아의 기능이상(dysfunction)과 산화스트레스(oxidative stress)도 주요한 원인으로 알려져 있다[46]. 미토콘드리아는 세포 내 ATP 생성의 주요 기관이며 세포의 생과 사멸에 중요한 역할을 한다. 그런데 뉴런은 에너지 요구량(energy demands)이 매우 높기 때문에 미토콘드리아 기능이상에 매우 취약하다. 뉴런의 미토콘드리아 기능이상으로 ATP 생성이 저해 되고 활성산소의 발생이 초래된다. 증가된 활성산소는 미토콘드리아 DNA를 손상하고 산화적 손상(oxidative damage)을 가속시켜 뉴런의 사멸과 신경변성을 유도한다.

3) 죽상동맥경화증(atherosclerosis)

죽상동맥경화증은 혈관 내피(endothelium)에 지방과 콜레스테롤 등이 침착하여 혈관이 좁아지거나 막히게 되어 발생하는 혈관 질환이다. 증상으로 협심증, 심근경색증, 뇌졸중, 신부전 등의 질환을 일으킨다. 죽상동맥경화증의 원인으로 다양한 인자가 알려져 있는데 그 중 미토콘드리아 기능이상도 죽상동맥경화증의 발생과 진행에 중요한 역할을 한다. 미토콘드리아 기능상상은 활성산소의 발생을 초래하고 지질, 단백질 그리고 미토콘드리아 DNA에 손상을 주며 산화적 손상을 가속시켜 죽상동맥경화증을 유도한다[47].

4) 폐질환

만성 산화스트레스는 특발폐섬유증(idiopathic pulmonary fibrosis, IPF), 만성폐쇄폐질환(chronic obstructive pulmonary disease, COPD), 폐암 등 폐손상과 관련된 폐질환의 주요 병인기전이 된다. COPD는 폐장의 만성 염증 질환으로 흡연, 대기 오염 등의 다양한 환경적인 요인과 노화 등이 주된 원인으로 알려져 있으며 발병 기전에 대한 연구가 활발하게 이루어지고 있으나 아직도 질병의 발병 기전 규명에 있어 많은 연구가 필요하다. 흡연과 COPD의 발생에 대한 역학적인 측면 및 폐기능 저하에 대하여는 역학적인 연구를 통하여 많은 것이 알려져 있다. 흡연 및 여러 스트레스에 의하

여 유도되는 만성 염증 반응은 COPD 발병 및 진행에 중요한 역할을 한다. 흡연은 ROS의 증가를 유도하며 흡연에 노출된 마우스에서 oxidant-damage의 증가가 관찰된다. 특히 흡연은 TNF- α , interleukin (IL)-1 β , IL-8 같은 pro-inflammatory mediators의 발현을 증가시키며 TNF- α 는 산화스트레스를 유도하고 미토콘드리아 유래 활성산소를 유도한다[48-50].

각종 염증자극(inflammatory stimuli)에 의해 폐의 내피세포, 폐포세포 및 기도의 상피세포와 대식세포(macrophage)에 의해 ROS가 발생한다. 이러한 oxidant-antioxidant 간의 불균형이 transforming growth factor (TGF)-beta 등 염증성시토카인(inflammatory cytokine)과 성장인자생성에 영향을 줌으로써 특발폐섬유증 등 많은 섬유질환(fibrotic disease)의 병인기전에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 섬유폐질환(fibrotic lung disease) 중 대표적인 질환인 IPF는 만성적으로 진행되는 간질폐질환의 하나로, 병의 경과가 좋지 않고 증명된 치료 방법이 없는 질환이다. IPF는 그 병인이 제대로 밝혀져 있지는 않지만, 흡연력이 있는 중년의 연령대에 발생하며 흡연과 IPF의 발생에 대한 역학적인 측면 및 폐기능 저하에 대하여는 역학적인 연구를 통하여 많은 것이 알려져 있다.

결론

신규 단백질 Romo1이 미토콘드리아에서 활성산소를 증가시키는 정확한 작용 기전은 아직 잘 모른다. Romo1은 미토콘드리아 막에 존재하며 통로를 구성할 수 있는 oligomerization sequence인 GXXXG motif를 포함하고 있다. 그렇기 때문에 Romo1은 미토콘드리아 막의 새로운 통로로서 미토콘드리아와 세포질과의 활성산소, 이온 등의 이동에 관여할 가능성이 있고, Romo1의 기능에 이상이 있을 경우 각종 질병을 유발할 가능성이 높다. 만약 Romo1이 미토콘드리아 막의 통로이고, 이와 관련된 정확한 구조와 기능이 확실히 규명되면 가장 근본적인 원인을 차단하여 관련 질병에 대한 신약 개발에서의 신규 표적으로 이용이 가능하다. 많은 신약개발에서 신호 전달 경로의 수용체의 활성도를 조절하여 이루어지고 있다. 그렇지만 수용체를 표적으로 하는 신약 개발의 문제점은 다른 신호 전달 경로의 비이상적인 증폭을 유발하여 원하지 않는 부작용이나 다른 정상세포의 신호 전달을 억제할 가능성이 크다는 것이다. 시토카인 또는 스트레스에 일차 반응하는 수용체는 세포 내에 여러 신호를 전달에 관여하기 때문에 질병 유도에 직접 연관되어 있는 비정상적으로 활성화된 중간 매개체를 조절하여 질병의 예방 및 치료가 가능하다.

REFERENCES

1. Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function. Physi-

- ol Rev 2002;82:47-95.
2. Bae YS, Kang SW, Seo MS, Baines IC, Tekle E, Chock PB, et al. Epidermal growth factor (EGF)-induced generation of hydrogen peroxide. Role in EGF receptor-mediated tyrosine phosphorylation. *J Biol Chem* 1997;272:217-21.
3. Irani K, Xia Y, Zweier JL, Sollott SJ, Der CJ, Fearon ER, et al. Mitogenic signaling mediated by oxidants in Ras-transformed fibroblasts. *Science* 1997;275:1649-52.
4. Stone JR, Yang S. Hydrogen peroxide: a signaling messenger. *Antioxid Redox Signal* 2006;8:243-70.
5. Kim JJ, Lee SB, Park JK, Yoo YD. TNF-alpha-induced ROS production triggering apoptosis is directly linked to Romo1 and Bcl-X(L). *Cell Death Differ* 2010;17:1420-34.
6. Galluzzi L, Morselli E, Kepp O, Vitale I, Rigoni A, Vacchelli E, et al. Mitochondrial gateways to cancer. *Mol Aspects Med* 2010;31:1-20.
7. Bae YS, Oh H, Rhee SG, Yoo YD. Regulation of reactive oxygen species generation in cell signaling. *Mol Cells* 2011;32:491-509.
8. Chance B, Sies H, Boveris A. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiol Rev* 1979;59:527-605.
9. Kudin AP, Bimpong-Buta NY, Vielhaber S, Elger CE, Kunz WS. Characterization of superoxide-producing sites in isolated brain mitochondria. *J Biol Chem* 2004;279:4127-35.
10. Andreyev AY, Kushnareva YE, Starkov AA. Mitochondrial metabolism of reactive oxygen species. *Biochemistry (Mosc)* 2005;70:200-14.
11. Brand MD. The sites and topology of mitochondrial superoxide production. *Exp Gerontol* 2010;45:466-72.
12. Hansford RG, Hogue BA, Mildaziene V. Dependence of H₂O₂ formation by rat heart mitochondria on substrate availability and donor age. *J Bioenerg Biomembr* 1997;29:89-95.
13. Kwong LK, Sohal RS. Substrate and site specificity of hydrogen peroxide generation in mouse mitochondria. *Arch Biochem Biophys* 1998;350:118-26.
14. Lambert AJ, Brand MD. Superoxide production by NADH:ubiquinone oxidoreductase (complex I) depends on the pH gradient across the mitochondrial inner membrane. *Biochem J* 2004;382:511-7.
15. St-Pierre J, Buckingham JA, Roebuck SJ, Brand MD. Topology of superoxide production from different sites in the mitochondrial electron transport chain. *J Biol Chem* 2002;277:44784-90.
16. Turrens JF, Alexandre A, Lehninger AL. Ubisemiquinone is the electron donor for superoxide formation by complex III of heart mitochondria. *Arch Biochem Biophys* 1985;237:408-14.
17. Hamanaka RB, Chandel NS. Mitochondrial reactive oxygen species regulate cellular signaling and dictate biological outcomes. *Trends Biochem Sci* 2010;35:505-13.
18. Iwata S, Lee JW, Okada K, Lee JK, Iwata M, Rasmussen B, et al. Complete structure of the 11-subunit bovine mitochondrial cytochrome bc₁ complex. *Science* 1998;281:64-71.
19. Chen Q, Vazquez EJ, Moghaddas S, Hoppel CL, Lesnefsky EJ. Production of reactive oxygen species by mitochondria: central role of complex III. *J Biol Chem* 2003;278:36027-31.
20. Ksenzenko M, Konstantinov AA, Khomutov GB, Tikhonov AN, Ruuge EK. Effect of electron transfer inhibitors on superoxide generation in the cytochrome bc₁ site of the mitochondrial respiratory chain. *FEBS Lett* 1983;155:19-24.
21. Muller FL, Liu Y, Van Remmen H. Complex III releases superoxide to both sides of the inner mitochondrial membrane. *J Biol Chem* 2004;279:49064-73.
22. Miwa S, Brand MD. The topology of superoxide production by complex III and glycerol 3-phosphate dehydrogenase in *Drosophila* mitochondria. *Biochim Biophys Acta* 2005;1709:214-9.
23. Chung YM, Kim JS, Yoo YD. A novel protein, Romo1, induces ROS production in the mitochondria. *Biochem Biophys Res Commun* 2006;347:649-55.
24. Chung JS, Lee SB, Park SH, Kang ST, Na AR, Chang TS, et al. Mitochondrial reactive oxygen species originating from Romo1 exert an important role in normal cell cycle progression by regulating p27(Kip1) expression. *Free Radic Res* 2009;43:729-37.
25. Lee SB, Kim JJ, Chung JS, Lee MS, Lee KH, Kim BS, et al. Romo1 is a negative-feedback regulator of Myc. *J Cell Sci* 2011;124:1911-24.
26. Na AR, Chung YM, Lee SB, Park SH, Lee MS, Yoo YD. A critical role for Romo1-derived ROS in cell proliferation. *Biochem Biophys Res Commun* 2008;369:672-8.
27. Hwang IT, Chung YM, Kim JJ, Chung JS, Kim BS, Kim HJ, et al. Drug resistance to 5-FU linked to reactive oxygen species modulator 1. *Biochem Biophys Res Commun* 2007;359:304-10.
28. Chung JS, Park S, Park SH, Park ER, Cha PH, Kim BY, et al. Overexpression of Romo1 promotes production of reactive oxygen species and invasiveness of hepatic tumor cells. *Gastroenterology* 2012;143:1084-94 e7.
29. Wu WS. The signaling mechanism of ROS in tumor progression. *Cancer Metastasis Rev* 2006;25:695-705.
30. Chung YM, Lee SB, Kim HJ, Park SH, Kim JJ, Chung JS, et al. Replicative senescence induced by romo1-derived reactive oxygen species. *J Biol Chem* 2008;283:33763-71.
31. Migliaccio E, Giorgio M, Mele S, Pelicci G, Reboldi P, Pandolfi PP, et al. The p66shc adaptor protein controls oxidative stress response and life span in mammals. *Nature* 1999;402:309-13.
32. Pinton P, Rimessi A, Marchi S, Orsini F, Migliaccio E, Giorgio M, et al. Protein kinase C beta and prolyl isomerase 1 regulate mitochondrial effects of the life-span determinant p66Shc. *Science* 2007;315:659-63.
33. Giorgio M, Migliaccio E, Orsini F, Paolucci D, Moroni M, Contursi C, et al. Electron transfer between cytochrome c and p66Shc generates reactive oxygen species that trigger mitochondrial apoptosis. *Cell* 2005;122:221-33.
34. Reed JC. Proapoptotic multidomain Bcl-2/Bax-family proteins: mechanisms, physiological roles, and therapeutic opportunities. *Cell Death Differ* 2006;13:1378-86.
35. Hockenbery DM, Oltvai ZN, Yin XM, Millman CL, Korsmeyer SJ. Bcl-2 functions in an antioxidant pathway to prevent apoptosis. *Cell* 1993;75:241-51.
36. Vander Heiden MG, Chandel NS, Williamson EK, Schumacker PT, Thompson CB. Bcl-xL regulates the membrane potential and volume homeostasis of mitochondria. *Cell* 1997;91:627-37.
37. Wolter KG, Hsu YT, Smith CL, Nechushtan A, Xi XG, Youle RJ. Movement of Bax from the cytosol to mitochondria during apoptosis. *J Cell Biol* 1997;139:1281-92.
38. Kirkland RA, Franklin JL. Evidence for redox regulation of cytochrome C release during programmed neuronal death: antioxidant effects of protein synthesis and caspase inhibition. *J Neurosci* 2001;21:1949-63.
39. Levine AJ. p53, the cellular gatekeeper for growth and division. *Cell* 1997;88:323-31.
40. Polyak K, Xia Y, Zweier JL, Kinzler KW, Vogelstein B. A model for p53-induced apoptosis. *Nature* 1997;389:300-5.
41. Sablina AA, Budanov AV, Ilyinskaya GV, Agapova LS, Kravchenko JE, Chumakov PM. The antioxidant function of the p53 tumor suppressor. *Nat Med* 2005;11:1306-13.
42. Martindale JL, Holbrook NJ. Cellular response to oxidative stress: signaling for suicide and survival. *J Cell Physiol* 2002;192:1-15.
43. Szatrowski TP, Nathan CF. Production of large amounts of hydrogen per-

- oxide by human tumor cells. *Cancer Res* 1991;51:794-8.
44. Laurent A, Nicco C, Chereau C, Goulvestre C, Alexandre J, Alves A, et al. Controlling tumor growth by modulating endogenous production of reactive oxygen species. *Cancer Res* 2005;65:948-56.
45. Mori K, Shibamura M, Nose K. Invasive potential induced under long-term oxidative stress in mammary epithelial cells. *Cancer Res* 2004;64:7464-72.
46. Correia SC, Santos RX, Perry G, Zhu X, Moreira PI, Smith MA. Mitochondrial importance in Alzheimer's, Huntington's and Parkinson's diseases. *Adv Exp Med Biol* 2012;724:205-21.
47. Madamanchi NR, Runge MS. Mitochondrial dysfunction in atherosclerosis. *Circ Res* 2007;100:460-73.
48. Shakibaei M, Schulze-Tanzil G, Takada Y, Aggarwal BB. Redox regulation of apoptosis by members of the TNF superfamily. *Antioxid Redox Signal* 2005;7:482-96.
49. Schulze-Osthoff K, Bakker AC, Vanhaesebroeck B, Beyaert R, Jacob WA, Fiers W. Cytotoxic activity of tumor necrosis factor is mediated by early damage of mitochondrial functions. Evidence for the involvement of mitochondrial radical generation. *J Biol Chem* 1992;267:5317-23.
50. Fiers W, Beyaert R, Declercq W, Vandenabeele P. More than one way to die: apoptosis, necrosis and reactive oxygen damage. *Oncogene* 1999;18:7719-30.