

Mitochondrial Permeability Transition Pore와 허혈-재관류 손상으로부터의 심근보호작용

Mitochondrial Permeability Transition Pore and Cardioprotection Against Ischemia-reperfusion Injury

이 중 화 · 심 연 희 | 연세의대 마취통증의학과/마취통증의학 연구소 | Jong Wha Lee, MD · Yon Hee Shim, MD

Department of Anesthesiology and Pain Medicine/Anesthesia and Pain Research Institute, Yonsei University College of Medicine

E-mail : tren125@yuhs.ac

J Korean Med Assoc 2009; 52(10): 1007 - 1019

Abstract

Opening of mitochondrial permeability transition pore (mPTP) was found to have a critical role in cell death from ischemia/reperfusion (I/R) injury experimentally in the late 1980's. Thereafter, tremendous efforts have been made to define the molecular composition of mPTP and underlying mechanisms of its opening. mPTP opening, so far, has been demonstrated with the conformational changes of the mitochondrial protein components including cyclophilin-D, adenine nucleotide translocase, and voltage-dependent anion channel, which were induced by the modification of the levels of Ca^{2+} , phosphate, mitochondrial membrane potential, intracellular pH and adenine nucleotide. At present, genetic modulation of the expression of protein components are being used in the investigation of its properties, presenting novel mechanisms of mPTP opening, including phosphate carrier. For therapeutic intervention, cyclosporin A and its analogues were first to be demonstrated to inhibit the opening of mPTP, affecting cyclophilin-D. There are numerous pharmacological substances that have direct or indirect effects on mPTP opening, including bongkrekic acid, reactive oxygen species scavengers, calcium channel blockers, and Na^+/H^+ exchanger-1 inhibitors, but only cyclosporin A was clinically tried to limit the myocardial infarction. Conditioning interventions, ischemic or anesthetic, have also been shown to be effective in limiting the detrimental effects of I/R injury. These interventions are commonly related to specific receptors on cell membrane and then signal transduction pathway consisting of many protein kinases, which eventually lead to mitochondria. And being presented are experimental evidences that inhibition of mPTP opening is a primary mechanism of these conditioning interventions. In conclusion, mPTP opening is now presented as primary mechanism and therapeutic target of I/R injury, but precise mechanism and standardized treatment method are needed to be clarified.

Keywords: Mitochondrial permeability transition pore; Cardioprotection; Ischemia/reperfusion injury; Myocardium

핵심용어: Mitochondrial permeability transition pore; 심근보호; 허혈-재관류 손상; 심근

서론

미토콘드리아는 세포내 “발전소”로 알려져 왔다. 대부분의 세포에서 미토콘드리아는 산화인산화(oxi-

datve phosphorylation)를 통해서 ATP를 만들어서 세포의 형태와 기능을 유지하는 데 필요한 에너지로 사용할 수 있게 공급한다. 심근세포 기능을 유지하는 데 필요한 ATP의 90% 이상은 미토콘드리아에서 생산된다. 그러나 최근에

는 세포의 생사를 결정하는 “통제자(controller)”로서 미토콘드리아가 재조명을 받고 있다. 허혈성 심질환이나 심부전 등이 미토콘드리아의 기능 부전에서 유래된다는 결과가 발표되면서 미토콘드리아의 기능을 조절하는 이온 통로나 운반체의 정체를 밝히려는 연구가 활발히 진행되고 있다.

40여년 전에 이미 Ca^{2+} 과부하가 미토콘드리아의 부종을 유발한다는 연구 결과가 발표되었고(1, 2) 이것이 미토콘드리아 내막의 투과성 변화와 연관이 있다고 추론하였으나(3) mitochondrial permeability transition pore (mPTP)로 불리는 통로의 존재에 대한 증거는 훨씬 뒤에야 제시되었다(4, 5). 특히 mPTP가 아데닌 뉴클레오티드(adenine nucleotide)의 고갈, Ca^{2+} 이나 phosphate(인산염) 증가, 산화 스트레스(oxidative stress) 증가 등 재관류 시기에 동반되는 조건들과 유사한 상황에서 열리면서 세포를 죽음으로 몰아간다는 증거가 제시되면서 mPTP에 대한 관심이 고조되고 있다.

mPTP의 일반적인 특성

mPTP는 스트레스 상황에서 미토콘드리아 내막에 형성되는 직경 2.3~3.0 nm의 통로로서 1.5 kDa 이하의 모든 분자를 비특이적으로 통과시킨다. Ca^{2+} 과부하, 산화 스트레스 증가, 인산염 증가, 아데닌 뉴클레오티드 감소 등은 이 통로를 개방하는 반면 ATP, ADP, 낮은 세포내 pH는 통로를 폐쇄된 상태로 유지한다(6~8). 건강한 세포 내에서의 역할은 아직 밝혀지지 않았지만 심장의 병리적 상태와의 관련성은 이미 많이 밝혀져 있다.

mPTP는 세포의 사멸에 결정적인 역할을 한다고 생각하고 있다. 이 통로가 열리면 H^+ 이동의 동력(proton motive force)인 막 전위와 pH 차이가 사라지면서 산화인산화가 안되고 결과적으로 ATP 합성이 중단될 뿐만 아니라 가수분해가 촉진된다. mPTP 개방이 광범위하게 일어나면 세포내 ATP를 급격하게 고갈시키고 종국에는 세포괴사(necrosis)를 통해 비가역적인 손상을 일으켜서 세포를 죽음으로 이끌게 된다. mPTP 개방이 부분적으로 일어나면 세포는 남아있는 ATP를 사용하여 세포자멸사(apoptosis)를 통

해서 세포를 죽음으로 이끈다. 뿐만 아니라 mPTP 개방은 분자량이 작은 물질들 간의 평형을 일으켜서 분자량이 작은 물질들은 미토콘드리아 안으로 들어올 수 있지만 비교적 분자량이 큰 미토콘드리아 내의 단백질들은 통과할 수 없어서 미토콘드리아 내에 남게 되므로 삼투압을 올려서 결국 미토콘드리아의 부종을 유발한다.

부종이 심화되면 내막에 비해 수용력이 크지 않은 외막이 터지면서 cytochrome C를 포함한 pro-apoptotic 단백질들이 세포질 내로 유리된다. 분리된 미토콘드리아에서 mPTP 개방을 유도하면 정상으로 남아있거나 부종이 생기며 그 중간 상태의 미토콘드리아는 존재하지 않는다(9). 일단 통로가 열리면 H^+ 이 미토콘드리아 내로 들어오면서 부종이 심화되는데 각각의 미토콘드리아에서 mPTP 개방의 민감도는 다르다. 이것은 아마도 미토콘드리아 노화나 산화 스트레스에의 노출 등과 관련 있을 것으로 생각된다. 열린 mPTP를 가진 미토콘드리아의 수가 닫힌 mPTP를 가진 미토콘드리아 수를 넘어서면 ATP 감소가 급격히 진행되고 Ca^{2+} 이 축적되어 결국에는 닫혔던 mPTP마저 열리면서 세포는 괴사될 것이다.

mPTP의 분자 조성

광범위한 연구가 진행되고 있음에도 불구하고 mPTP의 분자 조성은 아직 명확하게 밝혀지지 않았다. 이전에는 미토콘드리아 내막에 존재하는 adenine nucleotide translocase (ANT), 외막에 있는 voltage-dependent anion channel (VDAC, porin), 그리고 기질(matrix)에 존재하는 cyclophilin D (CyP-D)로 구성된다고 생각했으나 최근에는 VDAC는 필수요소가 아니라는 증거가 나오고 있고 ANT 역시 구성인자라기 보다는 조절인자(regulatory factor)로 여겨진다. 최근에 후보로 거론되는 단백질로 가장 유망한 것은 mitochondrial phosphate carrier (PiC)이다. 그 외에도 peripheral benzodiazepine receptor, creatine kinase, hexokinase, Bcl-2 family 등이 있다. mPTP의 조성을 밝히는 것은 mPTP가 치료의 표적으로 주목받으면서 더욱 중요하게 되었다(10).

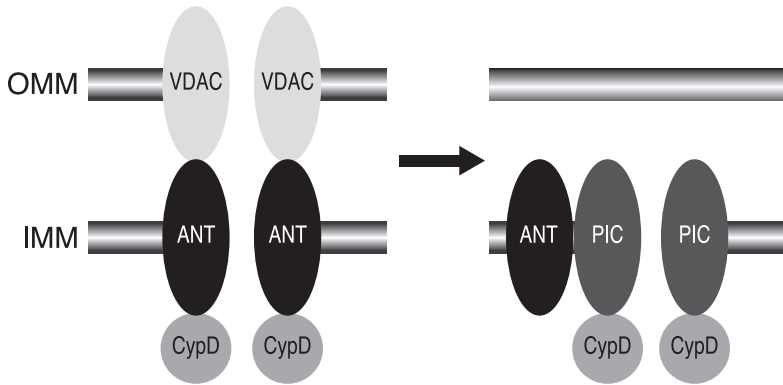


Figure 1. Molecular models for the mitochondrial permeability transition pore (mPTP). (Left) The original model for the mPTP, of the voltage-dependent anion channel (VDAC) in the outer mitochondrial membrane (OMM), the adenine nucleotide translocase (ANT) in the inner mitochondrial membrane (IMM), and cyclophilin-D (Cyp-D) in the matrix. (Right) Revised models in light of recent findings in gene-targeted mice. VDAC is no longer part of the model and it appears that an outer membrane component may not even be necessary for this process. ANT now appears to be more of a regulatory protein, and only Cyp-D remains as an established component. In contrast, the mitochondrial phosphate carrier (PIC) has been added to model as a potential candidate for the pore-forming unit of the mPTP. Figure is taken from reference (10).

1. The original paradigm

(1) cyclophilin D (CyP-D)

CyP-D는 18 kDa의 분자량을 가진 cyclophilin의 nuclear-encoded mitochondrial isoform으로 기질에 존재한다. 1988년 Crompton 등이 면역억제제인 cyclosporin A (CsA)가 mPTP 개방을 억제한다는 것을 보여 주었으며(11), 이후 CsA의 이러한 작용은 기질의 peptidyl-prolyl *cis-trans* isomerase (PPIase)를 억제함으로써 일어난다는 것이 증명되었다(12, 13). 그 후 그 단백질의 정체가 CyP-D임이 밝혀졌다. 최근까지 다양한 억제제와 유전자 조작방법을 이용한 실험 결과들이 CyP-D가 mPTP의 중요한 구성 요소라는 증거를 제시해 주고 있다. CsA는 또한 calcineurin (calcium activated protein phosphatase)의 활성도 억제하는데 이것은 mPTP 개방과는 무관한 것으로 보인다. 그 증거로는 다른 면역억제제인 sanglifehrin (SFA)와 CsA 유사물질들은 calcineurin 활성에는 영향을 미치지 않지만 mPTP 개방을 억제하는 효과가 있고(14~16) 반면에 다른 면역억제제인 FK506은 calcineurin 활성은 억제하지만 mPTP 개방에는 영향이 없다(17).

그러나 CyP-D knock-out mouse에서도 mPTP 개방이 완전히 억제되지 않고, CsA나 SFA로 처리된 야생형(wild-type) 미토콘드리아에서도 고농도의 Ca^{2+} 이 있을 때에는 mPTP 개방이 일어난다는 연구 결과가 발표되었다(14, 18, 19). 이것은 결국 mPTP 개방이 막 단백질의 형태적인 변화를 의미한다는 가설에 부합한다. 이러한 변화는 Ca^{2+} 에 의해 유발(trigger)되고 CyP-D에 의해 촉진(facilitate)되며 CsA나 그 유사물질들은 Ca^{2+} 에 대한 mPTP 개방의 민감도를 낮춘다는 것이 현재까지의 결론이다. 그러나 관련된 단백질의 정체에 대해서 알려진 것은 CyP-D를 제외하고는 거의 없다.

(2) Adenine nucleotide translocase (ANT)

ANT가 mPTP의 중요한 구성요소라는 가설은 ANT에 의해 운반되는 ATP와 ADP는 mPTP 개방을 억제하고, 마그네슘 이온과 결합한 ATP, ADP, 그리고 ANT를 통해 운반되지 않는 AMP, GDP, GTP 등에 의해서는 이러한 억제가 일어나지 않는다는 결과에 근거한다(5). 뿐만 아니라 아데닌 뉴클레오티드 부족이나 ANT의 thiol기 변형(modification) 등으로 ATP나 ADP가 ANT 결합에 방해를 받는 상황에서도 mPTP 개방은 증가되고 ANT 억제제인 bongkrekic acid (BKA)를 사용했을 때 mPTP의 개방은 억제된다는 결과가 이러한 가설을 뒷받침한다(20). 그러나 ANT의 또 다른 억제제인 carboxyatractyloside (CAT)는 BKA와는 반대로 mPTP 개방을 유발한다. 이것은 억제제들이 ANT의 형태를 각각 다르게 변화시키기 때문으로 여겨진다. 현재까지는 Ca^{2+} 존재 하에서 CyP-D가 ANT에 결합하면 ANT에 구조적인 변화가 오면서 mPTP가 열린다는 가설이 받아들여지고 있다(13, 21).

광범위한 연구 결과에도 불구하고 ANT가 mPTP의 필수적인 구성인자일 것이라는 주장은 받아들여지지 않고 있는

데, knock-out mouse를 이용한 실험 결과들이 그러한 주장을 뒷받침하고 있다. 즉, ANT를 knock-out한 세포 내에서도 여전히 CsA-sensitive pore는 존재하여 세포 손상을 유발하는 것을 볼 수 있었고, 다만 개방하는데 야생형에서 보다 고농도의 Ca^{2+} 이 요구되었다(22). 이러한 결과들은 ANT가 mPTP 형성에 필수적인 구성요소라기 보다는 조절 인자로 작용할거라는 주장을 설득력 있게 만든다.

(3) Voltage-dependent anion channel (VDAC, porin)

처음에는 VDAC가 mPTP와 유사한 전기생리화학적 특성을 보였고(23) VDAC에 대한 항체를 사용하거나(24) ubiquinone 0나 Ro 68-3400같은 VDAC1 결합 ubiquinone 유사물질들을 사용하였을 때 Ca^{2+} 에 의해 유도된 mPTP 개방이 억제되었으므로(25) VDAC은 mPTP를 형성하는 중요한 단백질로 생각되었다. 또한 CyP-D GST가 VDAC와 ANT에 결합하고 이 복합체가 mPTP처럼 Ca^{2+} 농도에 의존적으로 작용하였으며(26) protein kinase A, protein kinase C, glycogen synthetase kinase- β 에 의해 VDAC가 인산화되면 mPTP가 억제되는 등의 추가적인 결과들도 보고되었다. 그러나 VDAC 1, 2, 3 knock-out 미토콘드리아에서도 mPTP는 야생형 미토콘드리아에서만 큼 기능하였다(27). 그러므로 최근에는 VDAC가 mPTP의 중요한 구성인자는 아닐 것이라는 주장이 받아들여지고 있다.

2. 새로운 후보물질

(1) Phosphate carrier (PiC)

인산염이 mPTP 개방에 강력한 활성화제(activator)로 작용한다는 것은 이미 오래 전부터 알고 있었지만 PiC가 Ca^{2+} 에 민감하게 반응하여 CyP-D와 결합하고 이 결합이 산화 스트레스에 의해 증가하여 mPTP의 Ca^{2+} 민감도를 높여준다는 것이 최근에 밝혀지면서(28) PiC가 mPTP의 중요한 구성요소일 가능성이 제시되었다. mPTP 개방과 미토콘드리아로의 인산염 이동이 밀접하게 연관되어 있음이 밝혀지고(28) CyP-D를 통해서 mPTP개방을 억제하는 데에도 인산염이 필요하다는 것이 증명되면서 PiC에 대한 관심은 더욱 높아지고 있다(29). PiC knock-out HeLa cell은 staurosporine에 의한 세포자멸사에 저항성을 보이는 반면

PiC 과다발현은 세포자멸사를 유도한다는 유전자 조작 실험 결과는 mPTP 개방의 기전에 있어서 PiC의 중요성을 더욱 부각시키고 있다(30).

mPTP의 조절에 관계하는 비구조적인인자

1. 미토콘드리아 기질내 Ca^{2+} 농도

Ca^{2+} 은 mPTP 개방에 필수적인 인자이면서 다른 유발인자(inducer)들의 작용에 대해서 작용제(agonist)로 작용한다. 다른 2가 양이온, 예를 들면 Mg^{2+} , Sr^{2+} , Mn^{2+} 등이 mPTP 개방을 억제하는 방향으로 작용하므로 Ca^{2+} 의 mPTP의 개방에 대한 작용은 매우 독특하다고 하겠다. CyP-D가 억제제에 의해 막혀있거나(12, 31) knock-out된 상태에서는(18) Ca^{2+} 농도가 매우 높을 때에야 비로소 mPTP가 열린다는 점에서 mPTP의 Ca^{2+} 에 대한 감수성은 CyP-D에 의해 증가된다고 할 수 있다.

미토콘드리아 기질에 있는 Ca^{2+} 농도가 올라가는 것이 mPTP 개방을 용이하게 한다는 것은 이미 규명된 바이지만 개방에 필요한 Ca^{2+} 농도를 숫자로 제시하기는 어렵다. 왜냐하면 mPTP 개방에 필요한 Ca^{2+} 농도는 상황에 따라 매우 다르기 때문이다. 예를 들면 산화 스트레스가 가해진 조건에서는 mPTP에 있는 Ca^{2+} 결합 부위의 민감도가 변해서 쉽게 Ca^{2+} 과 결합하므로 Ca^{2+} 농도의 변화 없이도 mPTP가 열리게 된다(21, 32, 33). 반면 H^+ 은 trigger site에 Ca^{2+} 이 결합하는 것을 억제하므로 낮은 pH에서는 Ca^{2+} 에 대한 감수성이 저하된다(34, 35). 인산염 역시 mPTP의 Ca^{2+} 감수성을 증가시키므로 Ca^{2+} 의 농도 증가 없이도 Pi가 증가하면 mPTP는 개방된다(36).

2. 미토콘드리아 막 전위

mPTP는 미토콘드리아 막이 탈분극되었을 때 개방되는데 역치전위(threshold potential)가 변화하면 생리적인 범위의 막 전위($\Delta \Psi_m$)에서도 mPTP가 개방된다. mPTP의 개방은 호흡으로 생성되는 H^+ 의 전기화학적 차이(proton electrochemical gradient) 뿐만 아니라 미토콘드리아 내 막의 표면전위(surface potential)에 의해서도 조절된다

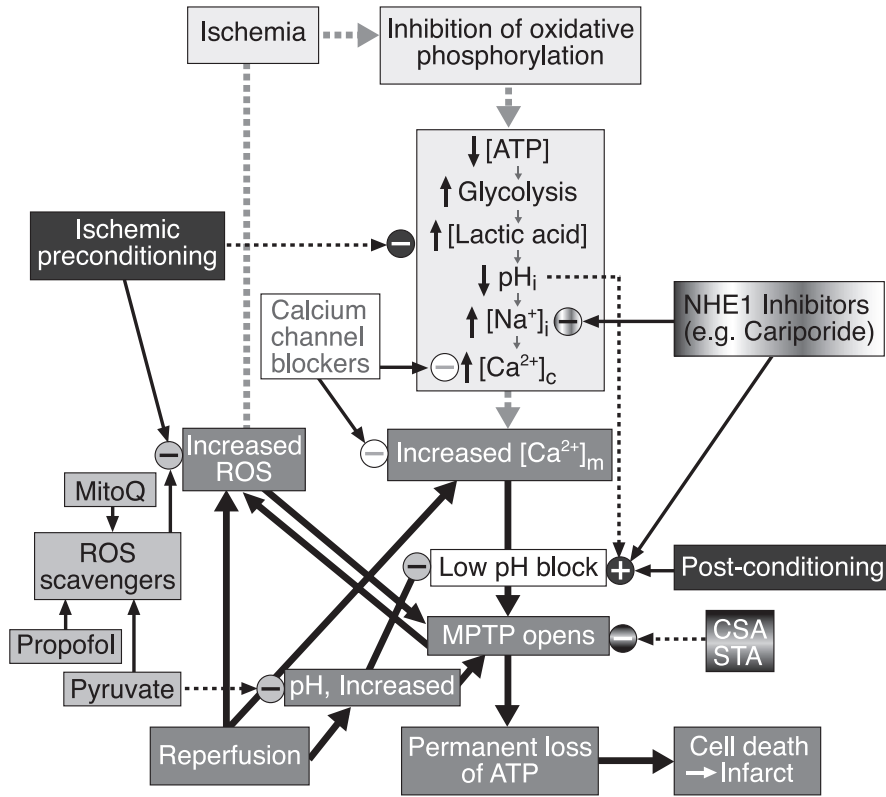


Figure 2. Scheme to illustrate the involvement of mPTP opening in reperfusion injury and how various cardioprotective agents may prevent this.
 ⋯→ represent changes that occur primarily in ischemia
 → depict changes that occur primarily during reperfusion whilst dotted
 ➡ indicate the locus of action of cardioprotective agents
 Figure is taken from reference (44).

(37). 여기서 한 가지 주목할 것은 Ca^{2+} 을 추가하기 전에 미토콘드리아가 이미 탈분극되어 있어야 Ca^{2+} 의 축적이 억제되고 Ca^{2+} 에 대한 민감도가 떨어진다는 것이다(19)

3. 세포내 pH

mPTP 개방에 적합한 pH는 7.3이고(38) pH가 7.0 이하면 mPTP의 개방은 강력하게 억제된다(4, 6, 34). 미토콘드리아 기질의 pH에 의한 조절은 Cyp-D와는 무관하게 진행된다(18).

4. 무기 인산염 (Pi)

Pi는 mPTP 개방을 유도하는 물질로 알려져 있는데(39)

그 작용기전은 단순하지 않다. Pi는 미토콘드리아 기질 내에서 음전하를 띠면서 Ca^{2+} , Mg^{2+} , H^+ 와 결합하여 완충작용을 한다. Pi는 미토콘드리아 내부가 허혈로 인하여 산성일 때, H^+ 과 결합하여 mPTP가 열리기에 적합한 pH 7.3을 만든다. 반면에 재관류 시기처럼 산소의 재공급으로 미토콘드리아가 호흡을 시작하는 상황에서 산중에 노출되어 있다면(40) 미토콘드리아로 Pi 흡수가 증가되어 mPTP 개방을 촉진시킨다. 그 외에도 mPTP 개방을 억제하는 Mg^{2+} 과 결합하거나(6) polyphosphate를 만들어서 mPTP를 형성한다(41). 또한 Pi는 칼슘 항상성에 관여하여 미토콘드리아내 Ca^{2+} 농도를 낮추는가 하면 축적된 Pi는 Ca^{2+} 흡수를 증진시킨다.

그러나 최근에는 Pi가 mPTP의 구성요소와 직접 작용하여

오히려 개방을 억제하는 방향으로 작용한다는 증거가 제시되고 있다. CsA를 처리하거나 CyP-D가 결손되었을 때 Pi는 mPTP 개방을 억제한다. 또한 Pi가 없으면, CsA나 CyP-D 결손으로 인한 mPTP 억제가 일어나지 않는다(29). 이러한 결과에 근거해서 CyP-D가 mPTP 유도물질이 아니라 mPTP에서 Pi가 결합하는 부위를 방해하여 Pi의 작용을 방해하는 것이 아니냐는 가설이 제시되고 있다. 그러나 앞서 말한 것처럼 Pi 농도는 Ca²⁺ 농도와 밀접하게 연관되므로 mPTP 개방을 억제한 것이 Pi 농도가 떨어진 것 때문인지 Ca²⁺ 흡수가 감소하기 때문인지는 단언하기 어렵다(42).

5. 그 외의 인자들

미토콘드리아 내막의 바깥 쪽에는 Ca²⁺ 이외의 다른 양이온이 결합하는 부위가 있어서 여기에 Mg²⁺, Sr²⁺, Mn²⁺와 같은 2가 양이온이 붙으면 mPTP의 개방이 억제된다(43).

심장의 허혈-재관류 손상에 있어서 mPTP의 역할

Crompton 등에 의해 처음으로 심근의 손상이 허혈 후에 따르는 재관류 시기에 일어난다는 것이 밝혀졌고 재관류 시기에 mPTP의 개방이 함께 일어나며 mPTP 개방을 억제함으로써 재관류 손상으로부터 심근을 보호할 수 있다는 결과를 얻었다(6, 44~48). 이후 재관류 손상에서 mPTP 개방의 중요성이 재차 확인되면서 mPTP는 허혈-재관류 손상으로부터 심근을 보호하는 치료의 표적으로 활발히 연구되고 있다.

심근 세포의 허혈은 산소의 공급이 부족해서 결국은 세포의 기능이나 대사에 이상이 초래되는 것인데, 산소부족으로 미토콘드리아가 ATP를 합성할 수 없게 되면 ATP가 급속하게 감소하고 AMP와 Pi가 증가하게 되며 젖산이 축적되어 대사성 산증이 유발된다. pH를 보상하기 위해서 Na⁺/H⁺ exchanger-1 (NHE-1)이 활성화 된다. 반면 Na⁺/K⁺-ATPase가 억제되어 미토콘드리아내 Na⁺이 축적된다. Na⁺의 축적은 Na⁺/Ca²⁺ exchanger (NCE)를 통해서 Ca²⁺을 증가시킨다. 또한 ATP의 고갈은 심근 세포막과 세포질 내에

존재하는 Ca²⁺-ATPase를 억제하여 Ca²⁺ 과부하를 더욱 조장한다. 허혈 기간에도 활성산소(reactive oxygen species, ROS)는 만들어져서 mPTP가 열리기에 좋은 환경이 만들어진다. 그러나 DOG method를 이용해서 심근에서의 mPTP의 개방을 측정해본 결과 재관류 시기에 mPTP의 개방은 더 많이 일어났다(49). 이것은 아마도 허혈 시기의 낮은 pH가 개방을 억제하였기 때문으로 여겨진다. 재관류 초기에 pH가 회복되면서 오히려 mPTP가 개방되었다가 재관류가 진행되면서 일부는 회복되는 양상을 보였고 회복은 허혈의 정도에 영향을 받았다. 즉 mPTP가 개방된 정도가 심근 손상의 정도를 결정짓는 것이다.

심근보호를 위한 치료 표적으로서의 mPTP

1. 약리학적 물질을 이용한 치료 방법

면역억제제인 cyclosporin A (CsA)가 mPTP의 개방을 억제한다는 연구결과가 발표되어(11) 약리학적 물질을 투여하여 허혈-재관류 손상을 막거나 경감시킬 수 있는 가능성이 제시되었다. 이어서 CsA를 미리 투여하면 허혈-재관류 손상 이후의 심근세포 생존을 개선시킬 수 있음이 보고되었고(47), 분리 관류 심장에서도 재관류와 함께 CsA를 투여하면 수축기능의 개선을 증진시키고 세포내 ATP 농도를 유지할 수 있다는 것이 보고되었다(50). 또한 mPTP가 개방되는 것은 재관류 시작 직후 몇 초간인 것을 알게 되면서(51) 허혈-재관류 손상을 막을 수 있는 약리학적 물질과 투여시기에 대한 실마리를 얻을 수 있게 된 것이다.

mPTP를 표적으로 하는 약리학적 물질을 이용한 심근보호 치료법은 그 기전에 따라 크게 두 가지로 나눌 수 있다. 첫째, mPTP를 이루는 주요 구성요소에 직접적으로 작용하는 약리학적 물질들을 사용하는 방법과 둘째, mPTP의 개방을 조절하는 인자들의 세포 내 농도를 조절함으로써 간접적으로 mPTP의 개방을 억제하는 방법으로 구분할 수 있다(52).

(1) mPTP에 직접적으로 작용하는 치료방법들

mPTP의 주요 구성요소로 알려진 것은 cyclophilin-D (CyP-D)와 adenine nucleotide translocase (ANT)의 2가지이다.

1) Cyclophilin-D

CyP-D에 작용해서 mPTP의 개방을 막는 것으로 처음 알려진 약제는 cyclosporin A (CsA)이다. 분리된 심근세포 및 분리 관류 심장 등 다양한 실험모형들에서 재관류 시에 나타나는 mPTP의 개방을 억제함으로써 허혈-재관류에 의한 심근손상을 방지한다는 것이 보고된 바 있다(47, 51~53). 또한, 면역억제작용을 보이지 않는 CsA 유사물질인 6-MeAla-CsA, N-Me-4-Ile-CsA (NIM811), D-3-MeAla-4-EtVal-CsA (Debio-025) 그리고 sanglifehrin-A (SFA) 등도 CsA와 비슷한 심근보호 효과를 보였다(51, 53~57).

또한 CyP-D knock-out mouse에서는 허혈-재관류에 의한 심근이나 뇌의 손상 정도가 야생형보다 경미하게 나타나고(58~60), 심근세포에서 분리한 미토콘드리아도 허혈-재관류에 의한 활성산소의 생산이 증가하는 산화 스트레스나 Ca^{2+} 부하 등에 의한 mPTP 개방에 보다 저항을 가지는 것으로 관찰되었으며(13), CsA를 투여하였을 때 부가적인 보호효과가 관찰되지 않아서(18) CsA가 CyP-D에 작용하여 심근보호 효과를 나타낸다는 것을 말해주는 또 다른 증거라고 할 수 있다.

최근에는 임상적인 사용이 시도되고 있는데, 특히 CsA와 그 유사물질들이 임상적 관점에서 가장 잠재력이 큰 후보들로 주목받고 있다. 심장수술을 받는 환자들에서 채취한 심방세포에 허혈을 유도하고 재관류를 시작할 때 CsA나 SFA를 투여한 경우 심방세포의 수축기능과 세포의 생존이 개선되는 것이 보고되었으며(61), ST 분절의 상승을 보이는 58명의 심근경색 환자들을 대상으로 한 소규모의 임상실험에서 PCI 시행 직전에 (즉, 재관류 직전에) CsA 2.5 mg/kg를 정맥내 일회 투여한 군에서 creatine kinase 농도로 측정된 심근경색의 정도가 약 40%까지 감소되었다는 결과가 발표된 바 있다(62).

2) Adenine nucleotide translocase (ANT)

최근 ANT가 실제로 mPTP를 이루는 주요 구성단위가 아니라 단지 mPTP의 기능을 조절하는 기능만을 가진다는 것이 알려지기는 했지만, 여전히 mPTP를 표적으로 하는 심근보호 치료법의 주요 작용대상으로 꼽힌다. ANT 억제제로는 bongkreik acid (BKA)와 atractyloside가 알려져 있는

데, BKA는 심장과 간에서 분리된 미토콘드리아에서 Ca^{2+} 에 의한 mPTP 개방을 차단한다고 보고된 데 비해(12), atractyloside는 오히려 Ca^{2+} 에 대한 감수성을 증가시킨다고 보고되고 있다(63~64). 이와 같은 상반된 효과는 두 가지 약제가 ANT를 미토콘드리아 내막의 어느 부위에 고정시켜 놓는가에 따라 결정되는데, BKA와 같이 기질 쪽에서 반응하는 약제는 mPTP 개방을 차단하고, atractyloside나 세포내 Ca^{2+} 농도의 증가와 같이 세포질 쪽에서 반응하는 경우에는 mPTP의 개방을 촉진하는 작용을 한다(20). BKA는 저산소증에 의한 mPTP의 개방과 미토콘드리아 막 전위의 소실 및 세포자멸사를 방지하지만, cytochrome c의 분비에는 아무런 작용을 하지 않는다(65). 이것은 저산소증에 의한 cytochrome c의 분비는 mPTP 개방이나 미토콘드리아 막 전위의 소실과 꼭 연관되어 있지는 않음을 시사한다고 할 수 있다.

(2) 간접적으로 mPTP에 작용하는 치료방법들

간접적으로 mPTP 개방을 억제하려는 치료방법들은 mPTP 개방을 유도하는 인자들(예: ROS, Ca^{2+})이 미토콘드리아 내에 축적되는 것을 막거나 mPTP를 차단하는 물질들(예: ATP, H^+ 등)의 세포내 농도를 증가시키는 것을 목표로 하고 있는 경우가 많다. 그런데 산화 스트레스 자체가 Ca^{2+} 과부하보다 더 강력하게 mPTP 개방을 유도하는 자극으로 작용하고(32), Ca^{2+} 의 효과는 mPTP에 영향을 미치는 다른 여러 요인들과 함께 전체적인 효과의 일부분으로만 작용하는 것으로 알려져 있다(19). 또한 mPTP는 세포내 pH가 감소될수록 개방이 차단되고 세포내 2가 양이온들(예: Mg^{2+} , Mn^{2+} , Sr^{2+})의 농도가 올라가면 Ca^{2+} 의 농도가 높아도 Ca^{2+} 가 mPTP에 결합하는 것을 방해하기 때문에 역시 개방이 차단된다고 보고된 바 있다(4~6). 위와 같이 보고된 결과들을 종합해 볼 때 Ca^{2+} 이나 세포내 pH 농도 등의 영향은 제한적일 수 밖에 없으므로 결국 활성산소 청소제(ROS scavenger)가 임상적으로 가장 유력한 후보로 생각되고 있다.

1) 활성산소 청소제

③ Propofol

현재 광범위하게 사용되는 정맥마취제이다. Propofol에 대해서는 뒤쪽에서 자세히 언급하기로 한다.

⑥ MCI-186

항산화제(antioxidant)로서 쥐 심장의 생체내 허혈-재관류 모형에서 mPTP 개방을 막고 심근경색의 범위를 감소시킨다고 알려져 있다(66).

◎ Pyruvate

쥐 심장에 대한 생체 밖 허혈-재관류 모형에서 mPTP 개방을 차단하고 심장 기능을 개선시키는 것으로 보고되었다(67). Pyruvate의 이러한 심근보호 기능은 활성산소 청소제로서 mPTP 개방을 억제하는 것에도 기인하지만, 그 외에도 ATP 생성을 위한 에너지원으로도 작용하고 세포내 산증을 유발하는 것도 크게 작용한다고 할 수 있다.

위와 같은 활성산소 청소제들은 mPTP 개방을 차단하는 기능 외에도 미토콘드리아에서 생성된 산화유리기(oxygen radical)를 제거하는 기능이 있어서 mPTP 차단 한 가지에 의존한 것보다 강화된 심근보호 작용을 나타낸다(68).

2) Ca^{2+} channel blockers (Ca^{2+} antagonists)-칼슘 통로 차단제(칼슘 대항제)

칼슘 통로 차단제의 심근보호 효과는 심장 질환 전반에 걸쳐 잘 알려져 있으나, 이러한 보호효과가 mPTP 개방에 미치는 영향에서 기인하는지는 아직까지 잘 알려져 있지 않다.

Ru360 (oxygen-bridged dinuclear ruthenium amine complex)은 미토콘드리아에 존재하는 Ca^{2+} uniport에만 특이하게 작용하는 대항제로서 심근세포막이나 세포질 세망을 통한 Ca^{2+} 의 이동에는 영향이 없으면서 미토콘드리아내 Ca^{2+} 농도를 감소시킴으로써 mPTP 개방을 차단한다. 또한 허혈 후에 나타나는 심장기능 저하의 회복을 빠르게 하는 효과도 같이 나타낸다고 보고된 바 있다(69).

3) Na^+/H^+ exchanger-1 (NHE-1) 차단제

NHE-1은 미래에 허혈-재관류 및 심부전에서 나타나는 mPTP 개방을 차단하는 약물로서 유망할 것으로 주목을 받고 있는 약물이며, 두 가지 기전에 의해 그 효과를 나타낸다고 알려져 있다. 첫 번째는 허혈-재관류로 인해 NHE-1의 활성이 증가함으로 인해 Ca^{2+} 과부하가 일어나는데 이를 차단함으로써 세포내 Ca^{2+} 농도를 감소시키는 것이며(70), 두 번째는 NHE-1을 억제함으로써 재관류가 시작되고 처음 몇 분간 세포내 pH의 회복을 느리게 함으로써 mPTP 개방을

차단하는 것이다. 여러 연구들을 통해서 NHE-1 차단제가 허혈-재관류 손상에 대해 보호효과를 가지는 것은 mPTP 개방을 차단하기 때문이라는 것이 알려져 있으며(71), 재관류에 의한 심근세포의 손상을 줄이고 심장 기능의 회복을 증진시킨다고 보고된 바 있다(72).

2. 조건화 중재술(Conditioning intervention)

(1) 허혈 조건화 중재술(Ischemic conditioning intervention)

약리학적 물질들을 이용하는 치료방법들 외에도 여러 가지 조건화 중재술(conditioning intervention)도 심근 보호 방법으로 주목을 받고 있다. 특히 본격적인 장기간의 허혈과 재관류에 앞서서 짧은 시간 동안 치명적이지 않은 정도의 허혈-재관류를 시행하면 이후의 본격적인 허혈-재관류로 인한 손상의 정도를 경감시킬 수 있다는 허혈 전조건화(ischemic preconditioning, IPC)는 개의 박동심장에서 연구에서 허혈로 인한 심근경색의 정도를 줄여주는 것이 처음으로 보고된 이후로(73) 현재까지 수 많은 연구들을 통해서 그 작용기전 및 세포내 신호전달체계(signal transduction pathway) 등이 조금씩 밝혀지고 있다. 특히 세포막의 G 단백질 연결 수용체(G protein coupled receptor)로부터 시작되는 신호전달체계는 결국 미토콘드리아까지 이어지고, 종말 효과기(end-effector)는 아직까지 밝혀지지 않았으나, mPTP 개방을 억제하는 것이 전조건화의 심근보호 효과를 나타내는 기전이라는 것이 보고가 이어지고 있다. 즉, 허혈-재관류 손상을 유도한 쥐의 분리 관류 심장에서 전조건화와 유사한 효과를 나타내는 약제(preconditioning mimetics)인 diazoxide가 미토콘드리아 내막에 있는 이온 통로인 ATP 민감성 칼륨 통로(ATP-sensitive potassium channel, K_{ATP} channel)의 개방을 유도하고 Ca^{2+} 부하에 의한 mPTP 개방을 억제하는 효과가 있음을 보고하였고, 이로 인해 전조건화와 mPTP 개방 억제 사이에 연관이 있음을 알게 되었다(74). 그러나 아직까지 전조건화와 mPTP 개방 억제 사이를 직접적으로 연결해 주는 작용기전에 대해서는 명확하게 밝혀져 있지 않다.

최근 주목받기 시작한 조건화 중재술의 하나는 허혈 후조 조건화(ischemic postconditioning, IPOC)로서 허혈 후 재관

류 시기에 짧은 시간 동안의 허혈을 일정한 시간 간격을 두고 반복함으로써 허혈에 의한 심근경색의 정도를 줄여준다는 것이 발표된 바 있다(75). 이후 그 작용기전 등에 관한 많은 연구가 이루어져 왔는데, 후조건화도 전조건화와 마찬가지로 세포막에 존재하는 adenosine, bradykinin, 아편양제제 등의 수용체들을 활성화시키고, 이어 세포질 내에 존재하는 수 많은 단백질 활성화소(protein kinase)들로 이루어진 신호전달체계를 거쳐 결국은 미토콘드리아에까지 이르는 작용기전을 가진다는 것이 알려져 있다. 그리고 후조건화 자극이 허혈-재관류 손상을 유도한 토끼 생체내 심장에서 미토콘드리아내 Ca^{2+} 축적 능력(Ca^{2+} retention capacity)을 증가시키는 효과를 보였다는 보고를 통해 후조건화와 mPTP 개방 억제 사이에도 연관이 있음을 알게 되었다(76).

최근의 연구 결과에서는 CyP-D knock-out mouse에서 허혈 전조건화 및 후조건화에 의한 심근경색 경감효과가 감소하는 것이 발견되어서 허혈 조건화 중재술에 의한 심근보호작용에 있어서 mPTP가 주요한 치료의 표적이 될 수 있음을 다시 한 번 보여주었다(56).

(2) 마취제 조건화 중재술

(Anesthetic conditioning intervention)

마취제도 약리학적 작용을 나타내는 물질이므로 마취제를 투여하여 나타나는 허혈-재관류 손상 방지 작용도 조건화 중재가 아닌 약리학적 물질의 투여에 의한 심근보호 방법으로 분류되어야 할 것으로 생각되나 흡입 마취제를 사용한 동물실험에서 허혈-재관류 후에 나타날 수 있는 심근 수축기능 이상을 방지해주고 회복을 증진시킨다는 것이 보고되었고(77), 이후 여러 연구들을 통해 대부분의 흡입마취제가 “허혈 전조건화(ischemic preconditioning)와 유사한” 심근보호작용을 하는 것이 알려지면서(78) 약리학적 전조건화(pharmacologic preconditioning)의 한 종류로서 마취제 전조건화(anesthetic preconditioning)라고 부르고 있다. 또한 허혈 조건화 중재술(ischemic conditioning intervention)에서의 마찬가지로 마취제를 이용한 후조건화, 즉 허혈 후 재관류시에 흡입마취제를 투여하는 것 역시 심근보호작용을 보이는 것으로 보고되고 있다(79). 이와 같은 마취제를 사용하는 조건화 중재술은 그 작용기전이 허혈

조건화 중재술과 유사한 것으로 밝혀지고 있는데, 특히 최근의 연구결과에 의하면 전조건화 뿐만 아니라 후조건화에서도 그 작용기전의 끝은 미토콘드리아에 이르며, 허혈-재관류에 의한 mPTP 개방을 억제하는 것이 심근 보호작용의 주요한 기전이라고 보고되고 있다(80~81).

흡입마취제 이외의 다양한 마취약제들도 심근보호작용을 하는 것으로 알려져 있는데, 그 중에서도 특히 morphine을 비롯한 아편양제제(opioid)들은 허혈 전조건화와 비슷한 심근 보호효과를 보이는 것으로 보고되고 있고(82) 흡입마취제와 같이 투여하는 경우 그 보호효과에 있어 상승작용을 나타내는 것이 관찰되었는데, 이것은 미토콘드리아의 칼륨 민감성 ATP 통로를 개방하는 작용을 공유하기 때문인 것으로 생각된다(83). 하지만, 아직까지 mPTP 개방에 미치는 아편양제제의 효과에 대해서는 직접적인 연구 결과가 보고되지는 않은 상태이다. Propofol은 정맥마취제로서 현재 광범위하게 사용되고 있는데, Vitamin E와 비슷한 분자구조를 가지는 관계로 활성산소 청소제로서의 효과를 나타낸다. 위의 분리 관류 심장에서 활성산소 부하에 대해 심근보호작용을 나타내며(84), 허혈-재관류 후의 mPTP 개방을 차단하고 허혈 후 심장 기능의 회복을 개선시켰다고 보고된 바 있다(85~86). 하지만, 임상적으로 사용되는 농도에서는 칼륨 민감성 ATP 통로를 활성화시키지 못한다는 보고가 있어서(87) propofol의 심근보호작용에 대해서는 아직까지 논란의 여지가 있는 것으로 보인다. 그 밖에도 수 많은 마취제나 기타 약리학적 물질들이 조건화 중재술과 비슷한 심근보호작용을 나타내는 것으로 보고되고 있으나 mPTP와 연관이 있는 것으로 명확하게 밝혀지지 않은 것이 많아서 본 review에서는 언급하지 않기로 한다.

3. 미래의 심근보호 치료방법의 지향점

현재로서는 조건화 중재술에 대해서도 표준화된 임상응용방법이 정해지지 않았고 마취제를 비롯한 약리학적 물질을 이용한 치료방법에 대해서도 단지 제한적인 임상자료만을 얻을 수 있을 뿐인 상태에서 벌써부터 미래의 심근보호 치료방법에 대해 논의하는 것은 시기상조가 아닐까 생각될 수도 있을 것이다. 하지만, 현재 실험적으로나마 발표되고

있는 결과에서 좀 더 간편하고 효과가 확실한 치료방법의 미래를 살펴보는 것은 그 나름대로의 의미가 있다고 생각한다. 전술한 바와 같이 mPTP의 조절단백질로서 중요한 CyP-D가 있는데 adenovirus를 이용하여 CyP-D의 발현을 막는 RNA 조각을 쥐의 심근세포에 넣어서 CyP-D의 생성을 억제한 결과 활성산소 부하에 대한 미토콘드리아 막 전위 손실이나 세포 독성에 대해 저항을 가지는 것을 볼 수 있었고, 위의 adenovirus를 쥐의 심장에 직접 주사하고 2~3일 뒤에 심장을 분리하여 Langendorff 장치에서 관류시키면서 관찰했을 때 허혈-재관류 손상이 유의하게 억제되는 것을 볼 수 있었다고 한다(88).

결론

mPTP의 개폐를 조절하는 것이 심근의 허혈-재관류 손상의 치료 표적으로 대두되고 있다. mPTP 개방을 억제하기 위해서 그 구성이나 조절인자에 대한 연구가 꾸준히 진행되어 왔으나 아직도 명확히 밝혀진 바는 없다. 현재까지의 연구결과로는 CyP-D가 비교적 유력한 구성인자 중 하나이고 ANT는 구성인자라기 보다는 조절인자로 인식되고 있다. 최근에는 Ca^{2+} 못지 않게 인산염의 역할에 관심이 집중되면서 PiC가 mPTP 구성인자 중 하나일 가능성이 제시되고 있다. 임상 영역에서는 허혈-재관류에 의한 활성산소를 감소 시켜서 mPTP 개방을 억제함으로써 심근 보호를 꾀하는 노력들이 지속되고 있다. 그 외에도 조건화 중재의 효과 및 기전에 대한 연구가 활발히 이루어 지고 있으며 임상 효과가 기대되고 있다.

참고문헌

- Crofts AR, Chappell JB. Calcium ion accumulation and volume changes of isolated liver mitochondria: reversal of calcium ion-induced swelling. *Biochem J* 1965; 95: 387-392.
- Chappell JB, Crofts AR. Calcium ion accumulation and volume changes of isolated liver mitochondria: calcium ion-induced swelling. *Biochem J* 1965; 95: 378-386.
- Gunter TE, Pfeiffer DR. Mechanisms by which mitochondria transport calcium. *Am J Physiol* 1990; 258: 755-786.
- Haworth RA, Hunter DR. The Ca^{2+} -induced membrane transition in mitochondria. II. Nature of the Ca^{2+} trigger site. *Arch Biochem Biophys* 1979; 195: 460-467.
- Hunter DR, Haworth RA. The Ca^{2+} -induced membrane transition in mitochondria. I. The protective mechanisms. *Arch Biochem Biophys* 1979; 195: 453-459.
- Bernardi P, Vassanelli S, Veronese P, Colonna R, Szabo I, Zoratti M. Modulation of the mitochondrial permeability transition pore. Effect of protons and divalent cations. *J Biol Chem* 1992; 267: 2934-2939.
- Crompton M. The mitochondrial permeability transition pore and its role in cell death. *Biochem J* 1999; 341: 233-249.
- Halestrap AP, Clarke SJ, Javadov SA. Mitochondrial permeability transition pore opening during myocardial reperfusion—a target for cardioprotection. *Cardiovasc Res* 2004; 61: 372-385.
- Bernardi P. Mitochondrial transport of cations: channels, exchangers, and permeability transition. *Physiol Rev* 1999; 79: 1127-1155.
- Baines CP. The molecular composition of the mitochondrial permeability transition pore. *J Mol Cell Cardiol* 2009; 46: 850-857.
- Crompton M, Ellinger H, Costi A. Inhibition by cyclosporin A of a Ca^{2+} -dependent pore in heart mitochondria activated by inorganic phosphate and oxidative stress. *Biochem J* 1988; 255: 357-360.
- Halestrap AP, Davidson AM. Inhibition of Ca^{2+} -induced large-amplitude swelling of liver and heart mitochondria by cyclosporin is probably caused by the inhibitor binding to mitochondrial-matrix peptidyl-prolyl cis-trans isomerase and preventing it interacting with the adenine nucleotide translocase. *Biochem J* 1990; 268: 153-160.
- Griffiths EJ, Halestrap AP. Further evidence that cyclosporin A protects mitochondria from calcium overload by inhibiting a matrix peptidyl-prolyl cis-trans isomerase. Implications for the immunosuppressive and toxic effects of cyclosporin. *Biochem J* 1991; 274: 611-614.
- Clarke SJ, McStay GP, Halestrap AP. Sanglifehrin A acts as a potent inhibitor of the mitochondrial permeability transition and reperfusion injury of the heart by binding to cyclophilin-D at a different site from cyclosporin A. *J Biol Chem* 2002; 277: 34793-34799.
- Waldmeier PC, Feldtrauer JJ, Qian T, Lemasters JJ. Inhibition of the mitochondrial permeability transition by the non-immunosuppressive cyclosporin derivative NIM811. *Mol Pharmacol* 2002; 62: 22-29.
- Hansson MJ, Mattiasson G, Mansson R, Karlsson J, Keep MF, Waldmeier P, Ruegg UT, Dumont JM, Besseghir K, Elmer E. The nonimmunosuppressive cyclosporin analogs NIM811 and UNIL025 display nanomolar potencies on permeability transition in brainer-derived mitochondria. *J Bioenerg Biomembr* 2004; 36: 407-413.
- Kay JE, Moore AL, Doe SE, Benzie CR, Schonbrunner R, Schmid FX, Halestrap AP. The mechanism of action of FK 506. *Transplant Proc* 1990; 22: 96-99.
- Basso E, Fante E, Fowlkes J, Petronilli V, Forte MA, Bernardi P. Properties of the permeability transition pore in mito-

- chondria devoid of Cyclophilin D. *J Biol Chem* 2005; 280: 18558-18561.
19. Halestrap AP, Woodfield KY, Connern CP. Oxidative stress, thiol reagents, and membrane potential modulate the mitochondrial permeability transition by affecting nucleotide binding to the adenine nucleotide translocase. *J Biol Chem* 1997; 272: 3346-3354.
 20. Halestrap AP, Brenner C. The adenine nucleotide translocase: a central component of the mitochondrial permeability transition pore and key player in cell death. *Curr Med Chem* 2003; 10: 1507-1525.
 21. Kokoszka JE, Waymire KG, Levy SE, Sligh JE, Cai J, Jones DP, MacGregor GR, Wallace DC. The ADP/ATP translocator is not essential for the mitochondrial permeability transition pore. *Nature* 2004; 427: 461-465.
 22. McStay GP, Clarke SJ, Halestrap AP. Role of critical thiol groups on the matrix surface of the adenine nucleotide translocase in the mechanism of the mitochondrial permeability transition pore. *Biochem J* 2002; 367: 541-548.
 23. Szabo I, De Pinto V, Zoratti M. The mitochondrial permeability transition pore may comprise VDAC molecules. The electrophysiological properties of VDAC are compatible with those of the mitochondrial megachannel. *FEBS Lett* 1993; 330: 206-210.
 24. Shimizu S, Matsuoka Y, Shinohara Y, Yoneda Y, Tsujimoto Y. Essential role of voltage-dependent anion channel in various forms of apoptosis in mammalian cells. *J Cell Biol* 2001; 152: 237-250.
 25. Cesura AM, Pinard E, Schubel R, Goetschy V, Friedlein A, Langen H, Polcic P, Forte MA, Bernardi P, Kemp JA. The voltage-dependent anion channel is the target for a new class of inhibitors of the mitochondrial permeability transition pore. *J Biol Chem* 2003; 278: 49812-49818.
 26. Crompton M, Virji S, Ward JM. Cyclophilin-D binds strongly to complexes of the voltage-dependent anion channel and the adenine nucleotide translocase to form the permeability transition pore. *Eur J Biochem* 1998; 258: 729-735.
 27. Baines CP, Kaiser RA, Sheiko T, Craigen WJ, Molkenin JD. Voltage-dependent anion channels are dispensable for mitochondrial-dependent cell death. *Nat Cell Biol* 2007; 9: 550-555.
 28. Leung AW, Varanyuwatana P, Halestrap AP. The mitochondrial phosphate carrier interacts with cyclophilin D and may play a key role in the permeability transition. *J Biol Chem* 2008; 283: 26312-26323.
 29. Basso E, Petronilli V, Forte MA, Bernardi P. Phosphate is essential for inhibition of the mitochondrial permeability transition pore by cyclosporin A and by cyclophilin D ablation. *J Biol Chem* 2008; 283: 26307-26311.
 30. Alcalá S, Klee M, Fernandez J, Fleischer A, Pimentel-Muinos FX. A high-throughput screening for mammalian cell death effectors identifies the mitochondrial phosphate carrier as a regulator of cytochrome c release. *Oncogene* 2008; 27: 44-54.
 31. McGuinness O, Yafei N, Costi A, Crompton M. The presence of two classes of high-affinity cyclosporin A binding sites in mitochondria. Evidence that the minor component is involved in the opening of an inner-membrane Ca^{2+} -dependent pore. *Eur J Biochem* 1990; 194: 671-679.
 32. Kim JS, Jin YJ, Lemasters JJ. Reactive oxygen species, but not Ca^{2+} overloading, trigger pH- and mitochondrial permeability transition-dependent death of adult rat myocytes after ischemia-reperfusion. *Am J Physiol, Heart Circ Physiol* 2006; 290: 2024-2034.
 33. Juhaszova M, Wang S, Zorov NH, Bradley DB, Gleichmann M, Mattson MP et al., The identity and regulation of the mitochondrial permeability transition pore: where the known meets the unknown. *Ann NY Acad Sci* 2008; 1123: 197-212.
 34. Halestrap AP. Calcium-dependent opening of a non-specific pore in the mitochondrial inner membrane is inhibited at pH values below 7-implications for the protective effect of low pH against chemical and hypoxic cell damage. *Biochem J* 1991; 278: 715-719.
 35. Szabo I, Bernardi P, Zoratti M. Modulation of the mitochondrial megachannel by divalent cations and protons. *J Biol Chem* 1992; 267: 2940-2946.
 36. Chalmers S, Nicholls DG. The relationship between free and total calcium concentrations in the matrix of liver and brain mitochondria. *J Biol Chem* 2003; 278: 19062-19070.
 37. Rasola A, Bernardi P. The mitochondrial permeability transition pore and its involvement in cell death and in disease pathogenesis. *Apoptosis* 2007; 12: 815-833.
 38. Nicolli A, Petronilli V, Bernardi P. Modulation of the mitochondrial cyclosporin A-sensitive permeability transition pore by matrix pH. Evidence that the pore open-closed probability is regulated by reversible histidine protonation. *Biochemistry* 1993; 32: 4461-4465.
 39. Hunter DR, Haworth RA, Southard JH. Relationship between configuration, function, and permeability in calcium-treated mitochondria. *J Biol Chem* 1976; 251: 5069-5077.
 40. Kristian T, Bernardi P, Siesjo BK. Acidosis promotes the permeability transition in energized mitochondria: implications for reperfusion injury. *J Neurotrauma* 2001; 18: 1059-1074.
 41. Abramov AY, Fraley C, Diao CT, Winkfein R, Colicos MA, Duchon MR, French RJ, Pavlov E. Targeted polyphosphatase expression alters mitochondrial metabolism and inhibits calcium-dependent cell death. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104: 18091-18096.
 42. Nicholls DG. The regulation of extramitochondrial free calcium ion concentration by rat liver mitochondria. *Biochem J* 1978; 176: 463-474.
 43. Bernardi P, Veronese P, Petronilli V. Modulation of the mitochondrial cyclosporin A-sensitive permeability transition pore. 1. Evidence for 2 separate Me^{2+} binding sites with opposing effects on the pore open probability. *J Biol Chem* 1993; 268: 1005-1010.
 44. Halestrap AP. Mitochondria and reperfusion injury of the heart—a holey death but not beyond salvation. *J Bioenerg Biomembr* 2009; 41: 113-121.
 45. Green DR, Kroemer G. The pathophysiology of mitochondrial cell death. *Science* 2004; 305: 626-629.

46. Crompton M, Costi A. Kinetic evidence for a heart mitochondrial pore activated by Ca^{2+} , inorganic phosphate and oxidative stress. A potential mechanism for mitochondrial dysfunction during cellular Ca^{2+} overload. *Eur J Biochem* 1998; 178: 489-501.
47. Nazareth W, Yafei N, Crompton M. Inhibition of anoxia-induced injury in heart myocytes by cyclosporin-A. *J Mol Cell Cardiol* 1991; 23: 1351-1354.
48. Leyssens A, Nowicky AV, Patterson L, Crompton M, Duchon MR. The relationship between mitochondrial state, ATP hydrolysis, $[\text{Mg}^{2+}]_i$, and $[\text{Ca}^{2+}]_i$ studied in isolated rat cardiomyocytes. *J Physiol* 1996; 496: 111-128.
49. Griffiths EJ, Halestrap AP. Mitochondrial non-specific pores remain closed during cardiac ischaemia, but open upon reperfusion. *Biochem J* 1995; 307: 93-98.
50. Griffiths EJ, Halestrap AP. Protection by Cyclosporin A of ischemia/reperfusion-induced damage in isolated rat hearts. *J Mol Cell Cardiol* 1993; 25: 1461-1469.
51. Griffiths EJ, Halestrap AP. Mitochondrial non-specific pores remain closed during cardiac ischaemia, but open upon reperfusion. *Biochem J* 1995; 307: 93-98.
52. Javadov S, Karmazyn M, Escobales N. Mitochondrial permeability transition pore opening as a promising therapeutic target in cardiac diseases. *J Pharmacol Exp Ther* 2009 Jun 9. (Epub ahead of print).
53. Hausenloy DJ, Duchon MR, Yellon DM. Inhibiting mitochondrial permeability transition pore opening at reperfusion protects against ischaemia-reperfusion injury. *Cardiovasc Res* 2003; 60: 617-625.
54. Argaud L, Gateau-Roesch O, Chalabreysse L, Gomez L, Loufouat J, Thivolet-Béjui F, Robert D, Ovize M. Preconditioning delays Ca^{2+} -induced mitochondrial permeability transition. *Cardiovasc Res*. 2004; 61: 115-122.
55. Gomez L, Thibault H, Gharib A, Dumont JM, Vuagniaux G, Scalfaro P, Derumeaux G, Ovize M. Inhibition of mitochondrial permeability transition improves functional recovery and reduces mortality following acute myocardial infarction in mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007; 293: 1654-1661.
56. Lim SY, Davidson SM, Hausenloy DJ, Yellon DM. Preconditioning and postconditioning: the essential role of the mitochondrial permeability transition pore. *Cardiovasc Res* 2007; 75: 530-535.
57. Javadov SA, Clarke S, Das M, Griffiths EJ, Lim KH, Halestrap AP. Ischaemic preconditioning inhibits opening of mitochondrial permeability transition pores in the reperfused rat heart. *J Physiol* 2003; 549: 513-524.
58. Baines CP, Kaiser RA, Purcell NH, Blair NS, Osinska H, Hambleton MA, Brunskill EW, Sayen MR, Gottlieb RA, Dorn GW, Robbins J, Molkenin JD. Loss of cyclophilin D reveals a critical role for mitochondrial permeability transition in cell death. *Nature* 2005; 434: 658-662.
59. Nakagawa T, Shimizu S, Watanabe T, Yamaguchi O, Otsu K, Yamagata H, Inohara H, Kubo T, Tsujimoto Y. Cyclophilin D-dependent mitochondrial permeability transition regulates some necrotic but not apoptotic cell death. *Nature* 2005; 434: 652-658.
60. Schinzel AC, Takeuchi O, Huang Z, Fisher JK, Zhou Z, Rubens J, Hetz C, Danial NN, Moskowitz MA, Korsmeyer SJ. Cyclophilin D is a component of mitochondrial permeability transition and mediates neuronal cell death after focal cerebral ischemia. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102: 12005-12010.
61. Shanmuganathan S, Hausenloy DJ, Duchon MR, Yellon DM. Mitochondrial permeability transition pore as a target for cardioprotection in the human heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2005; 289: 237-242.
62. Piot C, Croisille P, Staat P, Thibault H, Rioufol G, Mewton N, Elbelghiti R, Cung TT, Bonnefoy E, Angoulvant D, Macia C, Raczka F, Sportouch C, Gahide G, Finet G, André-Fouët X, Revel D, Kirkorian G, Monassier JP, Derumeaux G, Ovize M. Effect of cyclosporine on reperfusion injury in acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 2008; 359: 473-481.
63. Haworth RA, Hunter DR. Control of the mitochondrial permeability transition pore by high-affinity ADP binding at the ADP/ATP translocase in permeabilized mitochondria. *J Bioenerg Biomembr* 2000; 32: 91-96.
64. Xu M, Wang Y, Hirai K, Ayub A, Ashraf M. Calcium preconditioning inhibits mitochondrial permeability transition and apoptosis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001; 280: 899-908.
65. Gurevich RM, Regula KM, Kirshenbaum LA. Serpin protein CrmA suppresses hypoxia-mediated apoptosis of ventricular myocytes. *Circulation* 2001; 103: 1984-1991.
66. Rajesh KG, Sasaguri S, Suzuki R, Maeda H. Antioxidant MCI-186 inhibits mitochondrial permeability transition pore and upregulates Bcl-2 expression. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003; 285: 2171-2178.
67. Kerr PM, Suleiman MS, Halestrap AP. Reversal of permeability transition during recovery of hearts from ischemia and its enhancement by pyruvate. *Am J Physiol* 1999; 276: 496-502.
68. Adlam VJ, Harrison JC, Porteous CM, James AM, Smith RA, Murphy MP, Sammut IA. Targeting an antioxidant to mitochondria decreases cardiac ischemia-reperfusion injury. *FASEB J* 2005; 19: 1088-1095.
69. de Jesús García-Rivas G, Guerrero-Hernández A, Guerrero-Serna G, Rodríguez-Zavala JS, Zazueta C. Inhibition of the mitochondrial calcium uniporter by the oxo-bridged dinuclear ruthenium amine complex (Ru360) prevents from irreversible injury in postischemic rat heart. *FEBS J* 2005; 272: 3477-3488.
70. Karmazyn M, Sostaric JV, Gan XT. The myocardial Na^+/H^+ exchanger: a potential therapeutic target for the prevention of myocardial ischaemic and reperfusion injury and attenuation of postinfarction heart failure. *Drugs* 2001; 61: 375-389.
71. Javadov S, Choi A, Rajapurohitam V, Zeidan A, Basnakian AG, Karmazyn M. NHE-1 inhibition-induced cardioprotection against ischaemia/reperfusion is associated with attenuation of the mitochondrial permeability transition. *Cardiovasc Res* 2008; 77: 416-424.
72. Prendes MG, Torresín E, Gonzeález M, Fernández MA, Perazzo JC, Savino EA, Varela A. Protection of ischaemic-reperfused rat heart by dimethylamiloride is associated with inhibition of mitochondrial permeability transition. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2008; 35: 201-206.

73. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* 1986; 74: 1124-1136.
74. Hausenloy DJ, Maddock HL, Baxter GF, Yellon DM. Inhibiting mitochondrial permeability transition pore opening: a new paradigm for myocardial preconditioning? *Cardiovasc Res* 2002; 55: 534-543.
75. Zhao ZQ, Corvera JS, Halkos ME, Kerendi F, Wang NP, Guyton RA, Vinten-Johansen. Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning. *J Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003; 285: 579-588.
76. Argaud L, Gateau-Roesch O, Raisky O, Loufouat J, Robert D, Ovize M. Postconditioning inhibits mitochondrial permeability transition. *Circulation* 2005; 111: 194-197.
77. Wartier DC, al-Wathiqui MH, Kampine JP, Schmeling WT. Recovery of contractile function of stunned myocardium in chronically instrumented dogs is enhanced by halothane or isoflurane. *Anesthesiology* 1988; 69: 552-565.
78. Schlack W, Preckel B, Stunneck D, Thämer V. Effects of halothane, enflurane, isoflurane, sevoflurane and desflurane on myocardial reperfusion injury in the isolated rat heart. *Br J Anaesth* 1998; 81: 913-919.
79. Chiari PC, Bienengraeber MW, Pagel PS, Krolikowski JG, Kersten JR, Wartier DC. Isoflurane protects against myocardial infarction during early reperfusion by activation of phosphatidylinositol-3-kinase signal transduction: evidence for anesthetic-induced postconditioning in rabbits. *Anesthesiology* 2005; 102: 102-109.
80. Pravdic D, Sedlic F, Mio Y, Vlastic N, Bienengraeber M, Bosnjak ZJ. Anesthetic-induced Preconditioning Delays Opening of Mitochondrial Permeability Transition Pore via Protein Kinase C ϵ -mediated Pathway. *Anesthesiology* 2009; 111: 267.
81. Feng J, Lucchinetti E, Ahuja P, Pasch T, Perriard JC, Zaugg M. Isoflurane postconditioning prevents opening of the mitochondrial permeability transition pore through inhibition of glycogen synthase kinase 3 β . *Anesthesiology* 2005; 103: 987-995.
82. Bell SP, Sack MN, Patel A, Opie LH, Yellon DM. Delta opioid receptor stimulation mimics ischemic preconditioning in human heart muscle. *J Am Coll Cardiol* 2000; 36: 2296-2302.
83. Patel HH, Ludwig LM, Fryer RM, Hsu AK, Wartier DC, Gross GJ. Delta opioid agonists and volatile anesthetics facilitate cardioprotection via potentiation of KATP channel opening. *FASEB J* 2002; 16: 1468-1470.
84. Kokita N, Hara A, Abiko Y, Arakawa J, Hashizume H, Namiki A. Propofol improves functional and metabolic recovery in ischemic reperfused isolated rat hearts. *Anesth Analg* 1998; 86: 252-258.
85. Javadov SA, Lim KH, Kerr PM, Suleiman MS, Angelini GD, Halestrap AP. Protection of hearts from reperfusion injury by propofol is associated with inhibition of the mitochondrial permeability transition. *Cardiovasc Res* 2000; 45: 360-369.
86. Sztark F, Ichas F, Ouhabi R, Dabadie P, Mazat JP. Effects of the anaesthetic propofol on the calcium-induced permeability transition of rat heart mitochondria: direct pore inhibition and shift of the gating potential. *FEBS Letter* 1995; 368: 101-104.
87. Kawano T, Oshita S, Tsutsumi Y, Tomiyama Y, Kitahata H, Kuroda Y, Takahashi A, Nakaya Y. Clinically relevant concentrations of propofol have no effect on adenosine triphosphate-sensitive potassium channels in rat ventricular myocytes. *Anesthesiology* 2002; 96: 1472-1477.
88. Kato M, Akao M, Matsumoto-Ida M, Makiyama T, Iguchi M, Takeda T, Shimizu S, Kita T. The targeting of cyclophilin D by RNAi as a novel cardioprotective therapy: evidence from two-photon imaging. *Cardiovasc Res* 2009; 83: 335-344.



Peer Reviewers' Commentary

본 논문은 심근세포의 사멸과 관련하여 가장 활발히 연구가 진행되고 있는 분야의 하나인 사립체 투과전이공(mitochondrial permeability transition pore, mPTP)에 관하여 허혈-재관류의 관점에서 일반적인 특성과 분자조성, 이의 조절인자, 그리고 허혈-재관류 손상과 이의 치료에 있어서 mPTP의 역할에 관한 최신 지견들을 상세히 기술하고 있다. mPTP의 개방은 막전위를 없애고 호흡사슬고리를 끊으며 cytochrome c나 apoptosis-inducing factor를 방출하여 심근세포의 자멸사나 괴사를 초래한다. 그동안 허혈-재관류 손상으로부터 심근을 보호하는 여러 약제나 조건화 중재술들(허혈, 마취제 등)은 여러 수용체와 다양한 세포내 신호전달체계를 경유하여, 결국 mPTP의 개방을 억제함으로써 심근을 보호하는 것이 알려지고 있다. 앞으로 허혈-재관류시 mPTP가 개방되는 정확한 기전이 규명되고 이의 개방을 억제하여 심근을 허혈-재관류 손상으로부터 보호할 수 있는 표준화된 방법이 임상에 도입될 수 있도록 더 많은 연구가 필요하다 하겠다.

[정리: 편집위원회]