

平成 22 年 5 月 1 日現在

研究種目：特定領域研究

研究期間：2005～2009

課題番号：17013017

研究課題名（和文） 細胞の癌化とその抑制における転写因子の役割

研究課題名（英文） Roles of transcription factors for carcinogenesis and carcinogenesis defense

研究代表者

山本 雅之 (MASAYUKI YAMAMOTO)

東北大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：50166823

研究成果の概要（和文）：本研究では、転写因子の機能と、転写因子自身の制御機構に着目して、転写因子群の発癌抑制における機能貢献を検証した。その結果、異物代謝系および酸化ストレス応答系遺伝子群の発現を統一的に誘導制御する Nrf2 と、その応答制御を調節する Keap1 の機能異常が生体防御系を攪乱し、発癌及び癌悪性化に寄与すること、および、造血系の増殖・分化・細胞死に関わる遺伝子発現を包括的に制御する GATA 因子の機能不均衡が、恒常性維持機構を破綻し、白血病発症の誘因となることを見いだした。

研究成果の概要（英文）：In this study, we investigated roles transcription factors play on carcinogenesis and carcinogenesis defense *in vivo*, focusing on the Nrf2 and GATA transcription factors. We have found that co-operative function of Nrf2 and Keap1, which mediates cellular stress response, is important for the cancer carcinogenesis defense so that the failure in Nrf2-Keap1 system leads to the onset of cancer and poor prognosis. We have further found that deregulated function of GATA factors, which act as key molecules in hematopoietic homeostasis, causes leukemogenesis.

交付決定額

（金額単位：円）

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|---------|-------------|------|-------------|
| 2005 年度 | 24,800,000 | 0 | 24,800,000 |
| 2006 年度 | 24,800,000 | 0 | 24,800,000 |
| 2007 年度 | 24,800,000 | 0 | 24,800,000 |
| 2008 年度 | 24,800,000 | 0 | 24,800,000 |
| 2009 年度 | 24,800,000 | 0 | 24,800,000 |
| 総計 | 124,000,000 | 0 | 124,000,000 |

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・医化学一般

キーワード：転写因子、発癌、癌抑制

1. 研究開始当初の背景

遺伝子突然変異や染色体構造異常が転写因子の機能失調を招来し、そのために細胞に内在する恒常性維持機構が破綻し、細胞癌化の過程が進行することが明らかにされつつある。我々は、転写因子 Nrf2 とその結合因子 Keap1 の協調作用が、統一的な第 2 相解毒酵素や抗酸化蛋白質遺伝子の発現制御を介して、生体

の発癌防御に重要な役割を担っていることを明らかにしてきた。その一方で、赤血球や巨核球分化に重要な遺伝子を包括的に制御する転写因子 GATA1 の発現低下が、造血系の増殖・分化・アポトーシスの均衡を破綻し、白血病の前癌病態を構築することも報告した。Gata1 遺伝子発現低下マウスは、1 つの転写因子が保持する複数の機能がその発現量によって分離された、きわめて独創的な白血病モ

デルを提供する。すなわち、これらの事象は、生体防御と恒常性維持のプロセスを巧妙に制御する転写因子の機能破綻や、これら転写因子自身の発現制御機構の破綻が発癌抑制機能の失調として顕在化することを示している。

2. 研究の目的

本研究では、転写因子の機能と転写因子自身の制御機構に着目して、転写因子の発癌抑制における機能貢献の検証を試みる。生体防御と恒常性維持のプロセスを巧妙に制御する転写因子の機能とその破綻が発癌抑制機能の失調として顕在化する様子を、これらの過程を制御する転写因子 Nrf2 をモデル系として検討する。Nrf2 は、親電子性化学物質および酸素ストレスにตอบสนองして、異物代謝系および酸化ストレス応答系遺伝子群の発現を統一的に誘導制御する。そこで、本研究では、Nrf2 とその抑制性制御因子 Keap1 の機能解析を中心にして、生体における化学発癌防御メカニズムの解明に取り組む。同時に、細胞分化プログラムとその制御の破綻が細胞癌化の引き金になる様子を、GATA 転写因子群をモデル系にして検討する。GATA1 と GATA2 は相互の遺伝子発現を制御しながら、血液細胞の分化プログラムを巧妙に進めている。そこで、本研究では造血器腫瘍の形成過程を、特に、両因子の有効存在量比に不均衡が生じた時に生ずる増殖・分化決定機構の破綻に焦点をあてて解析する。

3. 研究の方法

(1) Nrf2-小Maf群因子のヘテロ 2 量体の認識機構および配列の検討：Nrf2 は小Maf群因子とヘテロ 2 量体を形成することで ARE 配列と結合し標的遺伝子を活性化するが、このヘテロ 2 量体の認識配列の特異性は十分に解析されていない。そこで、TOYOBO との協力で新たに開発した表面プラズモン共鳴 (SPR) を利用したチップ法を用いて、Nrf2-小Maf群因子ヘテロ 2 量体の認識機構および配列の検討を行う。

(2) Keap1 分子の個体解析：Keap1 分子のシステイン残基は、親電子性物質により修飾されるので、ストレス感知に重要と考えられる。そこで、反応性システイン残基に変異をもつ Keap1 変異体のマウス個体内での機能解析を行う。具体的には、LacZ をレポーターとしたトランスジェニックマウスを作成し、内在性 Keap1 の発現を再現できる制御領域を決定する。引き続き、同制御領域による Keap1 変異体発現系を確立し、遺伝子相補レスキュー法を用いて、Keap1 欠損マウスに認められる上部消化管表現型および致死性を指標に Nrf2 抑制能やストレス応答の分子メカニズムを解析する。

(3) 構造生物学的解析による細胞応答制御機構の解明：Nrf2 は、非ストレス存在下では Keap1-Cul3 複合体によりユビキチン化を受け、速やかに分解されるが、ストレス存在化ではその分解が停止し、速やかに核内に蓄積して、

標的遺伝子を活性化する。そこで、結晶構造解析やカロリメトリーによる結合解析を行い、Keap1 による Nrf2 の制御メカニズムを解析する。

(4) Keap1-Nrf2 システムの破綻と発癌：ヒト癌細胞や癌細胞株を用いて、Keap1 および Nrf2 の遺伝子解析を行う。また、同定された遺伝子変異をマウス個体に再構築してモデル動物を作成し、Keap1-Nrf2 システムの破綻が関与する発癌の分子機構を解析する。

(5) Nrf2 活性変動の個体解析：Nrf2 の標的であるキノン酸化還元酵素 (NQO1) 遺伝子制御下にルシフェラーゼを発現するレポータートランスジェニックマウスを作成し、様々な化学物質や酸化ストレスが生体にどのような影響を与えるのかを、動物用ルミノメーター (IVIS) を用いて経時観察する。

(6) 白血病幹細胞の同定と解析：GATA1 発現低下ヘテロマウスでは、GATA1 機能の部分的阻害により蓄積した前赤芽球に遺伝子異常が集積して、高率に白血病を発症する。この白血病細胞は、免疫不全マウスに移植継代できることから、白血病幹細胞の存在が示唆されるので、白血病幹細胞を同定し、その特異性を検討する。

(7) ダウン症関連白血球の発症機序の解析：ダウン症患者は、一過性骨髄増殖症 (TMD) を経て、高率に巨核芽球性白血病 (AMKL) を発症するが、そのほぼ全例に GATA1 の部分欠失変異体が認められる。そこで、同様の変異体を持つ遺伝子改変マウスを作成し、白血病発症機序の分子メカニズムを解析する。

(8) GATA 因子発現量の不均衡が細胞の分化・増殖・癌化に及ぼす影響の解析：細胞分化プログラムとそのネットワーク制御の破綻が細胞癌化の引き金になる様子を、GATA 転写因子群をモデル系にして検討する。造血器腫瘍の形成過程において GATA 転写因子が果たす役割を、GATA1 と GATA2 両因子の存在量に依存した制御様式 (定量的制御機構) に、両因子の有効存在量比に不均衡が生じた時に生ずる増殖と分化決定機構の破綻に焦点をあてた解析を進める。

4. 研究成果

Keap1-Nrf2 システムによる発癌防御機構と癌悪性化機構

(1) Nrf2 および MafG の DNA 結合ドメインについて精製蛋白質を作製し SPR 解析を行った結果、その認識配列は Nrf2-MafG ヘテロ 2 量体を好むもの、MafG ホモ 2 量体を好むもの、両者が認識しうるものに分類されることを明らかにした。また、Nrf2 が属する CNC 因子群と Maf 因子群の DNA 結合領域の比較を行った結果、Nrf2 の 502 番目のアラニン(A)に対応する MafG の 64 番目のチロシン(Y)が決定的に異なっていることを見いだした。そこで、このアラニンとチロシンを交換した変異分子 Nrf2 A502Y と MafG Y64A を作製して検討し

たところ、Nrf2 A502Y-MafG ヘテロ 2 量体は MafG ホモ 2 量体と、MafG Y64A ホモ 2 量体は Nrf2-MafG ヘテロ 2 量体と、それぞれ類似した結合プロファイルを呈し、認識配列の特異性が入り替わっていることが確認された (Kimura et al, JBC 2007)。このことから、DNA 結合領域に存在する 1 アミノ酸が 2 量体の DNA 結合認識特異性の決定に大きく貢献していることが明らかになった。この成果は、生体防御に働く Nrf2 標的遺伝子の選択性の解明につながる重要な知見である。

(2) LacZ を用いたレポーター解析から、Keap1 遺伝子の第一エクソンを含む翻訳開始点上流約 5.7kb の領域 (KRD) を用いることにより、Keap1 遺伝子の発現を再現できることを見いだした。さらに、KRD を用いて野生型 Keap1 を発現するトランスジェニックマウスでは、Keap1 欠損マウスの消化管上部組織の角化亢進などの表現型を改善していることを確認した。そこで、同 KRD を用いて、各種 Keap1 変異体を発現するトランスジェニックマウス系統を樹立し、相補レスキュー法を用いて解析した結果、ストレス感知に重要なシステイン残基の重要性を明らかにした (Yamamoto et al, MCB 2008)。このことは、Keap1 が生体において実際にストレスセンサーとして働いていること示している。

(3) NMR の構造解析から、Nrf2 のアミノ末端領域 (Neh2 ドメイン) には、ETGE モチーフと DLG モチーフが存在し、これらのモチーフ間には、ユビキチン化の標的となる 7 つのリジン残基が存在していること、そのうちの 6 残基が α ヘリックスの片方の面に位置することを明らかにした。さらに、2 分子の Keap1 に対して 1 分子の Nrf2 が、その ETGE モチーフと DLG モチーフを介して異なる結合親和力により結合していることを明らかにした。これにより、DLG モチーフと ETGE モチーフの間に存在するユビキチン化の標的リジン残基が適切に配置され、Keap1-Cul3 複合体によるユビキチン化とそれに続くプロテアソームによる分解が可能となる。これが、非刺激存在下において、Keap1 により Nrf2 が迅速に分解されている状態である。親電子生物質が Keap1 のシステイン残基を攻撃し、共有結合を生じると、全体のコンフォメーションにゆがみが生じて低親和性結合部位である DLG モチーフが Keap1 から解離する。その結果、Neh2 の α ヘリックスの配向が変化して、ユビキチン化がおこらなくなり、Nrf2 の分解が停止するものと予想される。ETGE が蝶番、DLG が留め金という形になり、親電子性物質のセンサーとして機能するものと考えられる (図 1 参照) (Tong et al, MCB 2007; Ogura et al, PNAS 2010)。

(4) 肺癌由来の細胞株および肺癌患者検体の検索を国立がんセンターとの共同で行った結果、Keap1 の Nrf2 結合部位や Nrf2 の DLG/ETGE モチーフに、高率に体細胞変異が存在していることを見いだした。これらの癌細胞では、Keap1 による Nrf2 の活性化調節機

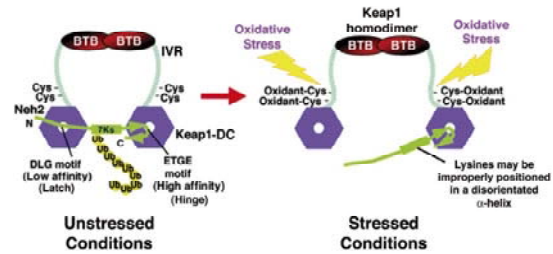


図 1 門と蝶番モデル

構が破綻し、恒常的な Nrf2 の活性化により、一連の解毒酵素・抗酸化蛋白質遺伝子・多剤耐性関連蛋白質群の発現が上昇し、抗がん剤に対する耐性を獲得していた。さらに、Keap1 遺伝子や Nrf2 遺伝子の変異が負の予後因子であることを見いだした (Padmanabhan et al, Mol Cell 2006; Shibata et al, PNAS 2008)。また、このような Nrf2 活性化は、細胞増殖促進にも働き、癌細胞の悪性化に寄与することを見いだした (Ohta et al, Cancer Res 2008)。一方、オートファジー系の異常により分解されずに蓄積した p62 が、Keap1 蛋白質の Nrf2 結合部位に競合的に結合し、Nrf2 の恒常的な活性化を惹起することを明らかにした (Komatsu et al, Nature Cell Biol 2010) (図 2 参照)。このことは、Keap1 遺伝子や Nrf2 遺伝子自身に変異が存在しなくても、Keap1 による Nrf2 の活性化調節機構の破綻が、癌化や癌悪性化の誘因となる可能性を示唆している。発癌予防や癌治療に向けて、Keap1-Nrf2 システムを標的とした臨床開発が期待される。

(5) NQO1 遺伝子レポータートランスジェニックマウスに、Nrf2 の活性化機序を介して発癌

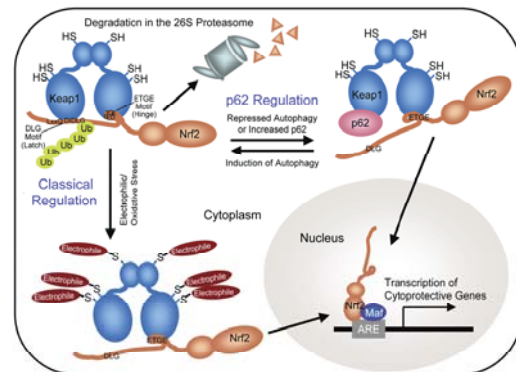


図 2 p62によるNrf2の活性化

予防に寄与する化合物 CDDO-Im を経口投与し、個体内で Nrf2 活性化を経時解析することに成功した。この解析系の樹立により、発癌予防効果が期待される化合物のスクリーニングを個体で行うことができるようになった。

GATA1 転写因子の機能破綻と白血病発症メカニズムの解析

(6) Gata1 遺伝子ノックダウンマウスヘテロ接合体に発症する白血病は、マウス系統によりその発症率が大きく異なり、Balb/c 系統では全く白血病を発症しないが C57BL/6 系統ではほぼ全例で発症すること、Balb/c 系統のノックダウンマウスを C57BL/6 系統に 2 世代戻し交配したマウスのほぼ半数が白血病を発症することを見いだした。以上の結果は、GATA1 関連白血病の発症に関与する遺伝子の存在を

示唆しており、白血病発症における GATA1 因子の役割を解析する上で重要な手がかりとなる。

(7) *Gata1* 遺伝子ノックダウンマウスヘテロ接合体に発症する白血病には白血病幹細胞 (LSC) が存在し、Hoechst 染色陰性の SP 分画に濃縮されていることを見いだした。LSC 細胞は、造血幹細胞 (HSC) の幹細胞性に関与すると報告されているいくつかの遺伝子を発現している一方で、赤血球前駆細胞特有の遺伝子も発現していることから、異常蓄積した赤血球前駆細胞が幹細胞性を獲得して白血病化したと考えられる。また、LSC は、HSC と同様に通常は静止期に存在し、抗がん剤治療に抵抗性であった。LSC は HSC と同様に抗がん剤治療からの回復期に細胞周期にはいり、すみやかに元の白血病状態に再燃する母体となった。ところが、HSC とは異なり、ひとたび細胞周期に入った LSC は、もとの白血病状態に至っても二度と静止期には戻らず、増殖を続けていた (図 3 参照)。ヒト白血病の再発症例が初発時の病態に比べて悪性度が増しているという事象は臨床的によく経験されるが、以上の結果から、この原因の一端に治療抵抗性で残存した白血病幹細胞自体の悪性化が関与している可能性が考えられる (Abe et al, *Exp Hematol* 2009)。

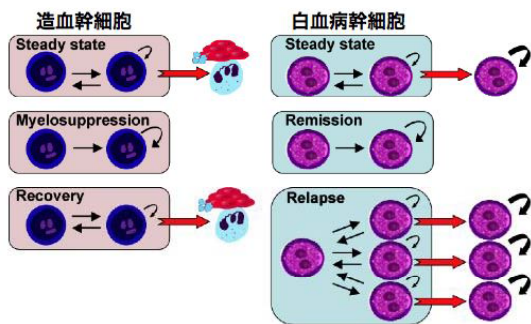


図3 白血病幹細胞の悪性化

(8) TMD や DS-AMKL と同様のアミノ末端欠失 GATA1 (\cdot NT-G1) を発現するマウスでは、TMD 患児と同様に、胎生期から新生児期に未熟な巨核芽球が著明に蓄積しているが、この表現型は出生後すみやかに消失することを見いだした。また、ヒト症例と異なり、成獣マウスでは AMKL を発症しないことを見いだした。このことは、GATA1 単独変異により TMD が発症しうるが、AMKL の発症には、21 番染色体トリソミーに起因する他の遺伝子異常が引き金となることを示唆している (Shimizu et al, *Genes Cells* 2009)。私たちは以前、GATA1 ノックダウンマウスの解析を通して、GATA1 の発現量の低下により、赤血球前駆細胞が蓄積し、その中の一部のマウスが前赤芽球性白血病を発症すること報告した。これらの結果は、GATA1 の量的異常 (発現量の低下) と質的異常 (構造異常) が、それぞれ系列特異的な未熟な前駆細胞の蓄積を招来し、白血病発症の素地を作ること、さらに、それぞれの白血病発症には、GATA1 変異にさらなる未知の

遺伝子変異が関与している可能性を示唆している (Shimizu et al, *Nature Rev Cancer* 2008)。

(9) Cre 酵素により、*Gata1* 遺伝子の翻訳領域とプロモーター領域をそれぞれ後天的に欠損させることのできる 2 種の条件付きターゲットマウスを作成したところ、前者では赤血球前駆細胞が減少したが、後者では TMD や DS-AMKL と同様の \cdot NT-G1 を少量発現するために、無効造血を伴った赤血球前駆細胞の蓄積を呈することを見いだした (Gutiérrez et al, *MCB* 2008; Kobayashi et al, *JBC* 2010)。また、GATA2 の後天的欠失マウスでは造血幹細胞のみならず全系列の前駆細胞が著減するが、GATA2 ノックダウンマウスではむしろ顆粒球系前駆細胞が蓄積した。これらの結果は、転写因子の有効存在量の不均衡が造血前駆細胞の異常蓄積を惹起し、白血病発症の温床となる可能性を示唆している。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 216 件; 全て査読有)

- Komatsu M, Kurokawa H, Waguri S, Taguchi K, Kobayashi A, Ichimura Y, Sou Y-S, Ueno I, Sakamoto A, Tong KI, Kim M, Iemura S, Natsume T, Ueno T, Kominami E, Motohashi H, Tanaka K, and Yamamoto M. Novel regulation of the Nrf2-Keap1 pathway by the selective autophagy substrate p62. *Nature Cell Biol* 12, 213-223 (2010)
- Takayama M, Fujita R, Suzuki M, Okuyama R, Aiba S, Motohashi H, and Yamamoto M. Genetic analysis of hierarchical regulation for Gata1 and NF-E2 p45 gene expression in megakaryopoiesis. *Mol Cell Biol*, 12, 3016-3026 (2010)
- Taguchi K, Maher JM, Suzuki T, Kawatani Y, Motohashi H, and Yamamoto M. Genetic analysis of cytoprotective functions supported by graded expression of Keap1. *Mol Cell Biol*, 2010 Apr 19.
- Kobayashi E, Shimizu R, Kikuchi Y, Takahashi S, and Yamamoto M. Loss of the Gata1 gene IE exon leads to variant transcript expression and the production of a GATA1 protein lacking the N-terminal domain. *J Biol Chem* 285, 773-783 (2010)
- Motohashi H, Kimura M, Fujita R, Takayama M, Pan XQ, Katsuoka F, Aburatani H, Bresnick EH, and Yamamoto M. NF-E2 domination over Nrf2 promotes ROS accumulation and megakaryocytic maturation. *Blood* 115, 677-686 (2010)
- Ogura T, Tong KI, Mio K, Maruyama Y, Kurokawa H, Sato C, and Yamamoto M. Keap1 homodimer is a forked-stem structure with two large spheres enclosing the intervening, double glycine repeat, and C-terminal domains. *Proc Natl Acad Sci USA* 107, 2842-2847 (2010)
- Kobayashi M, Li L, Iwamoto N, Nakajima-Takagi Y, Kaneko H, Nakayama Y, Eguchi M, Wada Y, Kumagai Y, Yamamoto M. The

- antioxidant defense system Keap1-Nrf2 comprises a multiple sensing mechanism for responding to a wide range of chemical compounds. *Mol Cell Biol* 29, 493-502 (2009)
8. Abe K, [Shimizu R](#), Pan X, Hamada H, Yoshikawa H, [Yamamoto M](#). Stem cells of GATA1-related leukemia undergo pernicious changes after 5-fluorouracil treatment. *Exp Hematol* 37, 435-445 (2009)
 9. Kadri Z, [Shimizu R](#), Ohneda O, Maouche-Chretien L, Gisselbrecht S, [Yamamoto M](#), Romeo PH, Leboulch P, Chretien S. Direct binding of pRb/E2F-2 to GATA-1 regulates maturation and terminal cell division during erythropoiesis. *PLoS Biol* 7, e1000123 (2009)
 10. [Shimizu R](#), Kobayashi E, Engel JD, [Yamamoto M](#). Induction of hyperproliferative fetal megakaryopoiesis by an N-terminally truncated GATA1 mutant. *Genes Cells* 14, 1119-1131 (2009)
 11. Kurokawa H, Motohashi H, Sueno S, Kimura M, Takagawa H, Kanno Y, [Yamamoto M](#), Tanaka T. Structural basis of alternative DNA recognition by Maf transcription factors. *Mol Cell Biol* 29, 6232-6244 (2009)
 12. Suzuki T, Kelly VP, Motohashi H, Nakajima O, Takahashi S, Nishimura S, [Yamamoto M](#). Deletion of the selenocysteine tRNA gene in macrophage and liver results in compensatory gene induction of cytoprotective enzymes by Nrf2. *J Biol Chem* 283, 2021-2030 (2008)
 13. Li L, Kobayashi M, Kaneko H, Nakajima-Takagi Y, Nakayama Y, [Yamamoto M](#). Molecular evolution of Keap1: Two Keap1 molecules with distinctive IVR structures are conserved among fish. *J Biol Chem* 283, 3248-3255 (2008)
 14. Yamamoto T, Suzuki T, Kobayashi A, Wakabayashi J, Maher J, Motohashi H, [Yamamoto M](#). Physiological significance of reactive cysteine residues of Keap1 in determining Nrf2 activity. *Mol Cell Biol* 28, 2758-2770 (2008)
 15. Shibata T, Ohta T, Tong KI, Kokubu A, Odogawa R, Tsuta K, Asamura H, [Yamamoto M](#), Hirohashi S. Cancer related mutations in NRF2 impair its recognition by Keap1-Cul3 E3 ligase and promote malignancy. *Proc Natl Acad Sci USA* 105, 13568-13573 (2008)
 16. Ohtsuji M, Katsuoka F, Kobayashi A, Aburatani H, Hayes JD, [Yamamoto M](#). NRF1 and NRF2 play distinct roles in activation of antioxidant response element-dependent genes. *J Biol Chem* 283, 33554-33562 (2008)
 17. Yoh K, Hirayama A, Ishizaki K, Yamada A, Takeuchi M, Yamagishi S, Morito N, Nakano T, Ojima M, Shimohata H, Itoh K, Takahashi S, [Yamamoto M](#). Hyperglycemia induces oxidative and nitrosative stress and increases renal functional impairment in Nrf2-deficient mice. *Genes Cells* 13, 1159-1170 (2008)
 18. [Shimizu R](#), Engel JD, [Yamamoto M](#), GATA1-related leukaemias. *Nature Reviews Cancer* 8, 279-287 (2008)
 19. Zhang J, Hosoya T, Maruyama A, Nishikawa K, Maher JM, Ohta T, Motohashi H, Fukamizu A, Shibahara S, Itoh K, [Yamamoto M](#). Nrf2 Neh5 domain is differentially utilized in the transactivation of cytoprotective genes. *Biochem J*, 404, 459-466 (2007)
 20. Aoki Y, Hashimoto AH, Amanuma K, Matsumoto M, Hiyoshi K, Takano H, Masumura K, Itoh K, Nohmi T, [Yamamoto M](#). Enhanced spontaneous and benzo[a]pyrene-induced mutations in the lung of Nrf2-deficient *gpt* delta mice. *Cancer Res* 67, 5643-5648 (2007)
 21. Iida K, Itoh K, Maher JM, Kumagai Y, Oyasu R, Mori Y, Fukushima S, Shimazui T, Akaza H, [Yamamoto M](#). Nrf2 and p53 cooperatively protect against BBN-induced urinary bladder carcinogenesis. *Carcinogenesis* 28, 2398-2403 (2007)
 22. Tong KI, Padmanabhan B, Kobayashi A, Shang C, Hirotsu Y, Yokoyama S, [Yamamoto M](#). Different electrostatic potentials define ETGE and DLG motifs as hinge and latch in oxidative stress response. *Mol Cell Biol* 27, 7511-7521 (2007)
 23. Watai Y, Kobayashi A, Nagase H, Mizukami M, McEvoy J, Singer JD, Itoh K, [Yamamoto M](#). Subcellular localization and cytoplasmic complex status of endogenous Keap1. *Genes Cells* 12, 1163-1178 (2007)
 24. Sawa T, Zaki MH, Okamoto T, Akuta T, Tokutomi Y, Kim-Mitsuyama S, Ihara H, Kobayashi A, [Yamamoto M](#), Fujii S, Arimoto H, Akaike T. Potential involvement of pathophysiologically formed 8-nitroguanosine 3',5'-cyclic monophosphate in nitric oxide-induced signal transduction. *Nature Chem Biol* 3, 727-735 (2007; cover article)
 25. Komatsu M, Waguri S, Koike M, Sou Y, Ueno T, Hara T, Mizushima N, Iwata J, Ezaki J, Murata S, Hamazaki J, Nishito Y, Iemura S, Natsume T, Yanagawa T, Uwayama J, Warabi E, Yoshida H, Ishii T, Kobayashi A, [Yamamoto M](#), Yue Z, Uchiyama Y, Kominami E, Tanaka K. Loss of p62/SQSTM1 suppresses cytoplasmic inclusion body formation and liver injury in autophagy-deficient mouse. *Cell* 131, 1149-1163 (2007)
 26. Kimura M, Yamamoto T, Zhang J, Itoh K, Kyo M, Kamiya T, Aburatani H, Katsuoka F, Kurokawa H, Tanaka T, Motohashi H, [Yamamoto M](#). Molecular basis distinguishing the DNA binding profile of NRF2-MAF heterodimer from that of MAF homodimer. *J Biol Chem* 282, 33681-33690 (2007)
 27. Motohashi H, [Yamamoto M](#). Carcinogenesis and transcriptional regulation through Maf recognition elements. *Cancer Sci* 98, 135-139 (2007)
 28. Kobayashi A, Kang MI, Watai Y, Tong KI, Shibata T, Uchida K, [Yamamoto M](#). Oxidative

- and electrophilic stresses activate Nrf2 through inhibition of ubiquitination activity of Keap1. *Mol Cell Biol* 26, 221-229 (2006)
29. Padmanabhan B, Tong KI, Ohta T, Nakamura Y, Scharlock M, Ohtsuji M, Kang M-I, Kobayashi A, Yokoyama S, Yamamoto M. Structural basis for defects of Keap1 activity provoked by its point mutations in lung cancer. *Mol Cell* 21, 689-700 (2006)
30. Tong KI, Katoh Y, Kusunoki H, Itoh K, Tanaka T, Yamamoto M. Keap1 recruits Neh2 through binding to ETGE and DLG motifs: characterization of the two-site molecular recognition model. *Mol Cell Biol* 26, 2887-2900 (2006)
31. Yamamoto T, Kyo M, Kamiya T, Tanaka T, Engel JD, Motohashi M, Yamamoto M. Predictive base substitution rules that determine the binding and transcriptional specificity of Maf recognition elements. *Genes Cells* 11, 575-591 (2006)
32. Motohashi H, Katsuoka F, Miyoshi C, Uchimura Y, Saitoh H, Francastel C, Engel JD, Yamamoto M. MafG sumoylation is required for active transcriptional repression. *Mol Cell Biol* 4652-4663 (2006)
33. Zhang J, Ohta T, Maruyama A, Hosoya T, Nishikawa K, Maher JM, Shibahara S, Itoh K, Yamamoto M. BRG1 Interacts with Nrf2 to selectively mediate *HO-1* induction in response to oxidative stress. *Mol Cell Biol* 26, 7942-7952 (2006)
34. Kobayashi M, Yamamoto M. Nrf2-Keap1 regulation of cellular defense mechanisms against electrophiles and reactive oxygen species. *Adv Enz Regl* Elsevier Science B.V., New York, vol. 46, pp. 113-140 (2006)
35. Tong KI, Kobayashi A, Katsuoka F, Yamamoto M. Two-site substrate recognition model for the Keap1-Nrf2 System: a hinge and latch mechanism. *Biol Chem* 387, 1311-1320 (2006)
36. Katsuoka F, Motohashi M, Engel JD, Yamamoto M. Nrf2 transcriptionally activates the *mafG* gene through an antioxidant response element. *J Biol Chem* 280, 4483-4490 (2005)
37. Suzuki T, Takagi Y, Osanai H, Li L, Takeuchi M, Katoh Y, Kobayashi M, Yamamoto M. Pi class glutathione S-transferase genes are regulated by Nrf2 through an evolutionarily conserved regulatory element in zebrafish. *Biochem J* 388, 65-73 (2005)
38. Kelly VP, Suzuki T, Nakajima O, Arai T, Tamai Y, Takahashi S, Nishimura S, Yamamoto M. The distal sequence element of the selenocysteine tRNA gene is a tissue-dependant enhancer essential for mouse embryogenesis. *Mol Cell Biol* 25, 3658-3669 (2005)
39. Hosoya T, Maruyama A, Kang M-i, Kawatani Y, Shibata T, Uchida K, Itoh K, Yamamoto M. Differential responses of the Nrf2-Keap1 system to laminar and oscillatory shear stresses in endothelial cells. *J Biol Chem* 280, 27244-27250 (2005)
40. Katsuoka F, Motohashi H, Ishii T, Aburatani H, Engel JD, Yamamoto M. Genetic evidence that small Maf proteins are essential for the activation of antioxidant response element-dependent genes. *Mol Cell Biol* 25, 8044-8051 (2005)
41. Tauchi M, Hida A, Negishi T, Katsuoka F, Noda S, Mimura J, Hosoya H, Yanaka A, Aburatani H, Fujii-Kuriyama Y, Motohashi H, Yamamoto M. Constitutive expression of aryl hydrocarbon receptor in keratinocytes causes inflammatory skin lesions. *Mol Cell Biol* 25, 9360-9368 (2005)
42. Iizuka T, Ishii Y, Itoh K, Kiwamoto T, Kimura T, Matsuno Y, Morishima Y, Hegab AE, Homma S, Nomura A, Sakamoto T, Shimura M, Yoshida A, Yamamoto M, Sekizawa K. Nrf2-deficient mice are highly susceptible to cigarette smoke-induced emphysema. *Genes Cells* 10, 1113-1125 (2005)
43. Yanaka A, Zhang S, Tauchi M, Suzuki H, Shibahara T, Matsui H, Nakahara A, Tanaka N, Yamamoto M. Role of the nrf-2 gene in protection and repair of gastric mucosa against oxidative stress. *Inflammopharmacology* 13, 83-90 (2005)
44. Kobayashi M, Yamamoto M. Molecular mechanisms activating Nrf2-Keap1 pathway in regulation of antioxidant genes. *Antioxidants Redox Signaling* 7, 384-395 (2005)
- [学会発表] (計 342 件)
 国際学会：計 146 件
 国内学会：計 196 件
- [図書] (計 6 件)
 編集：1 件
 分担執筆：計 5 件
- [その他]
 ホームページ：
<http://dmbc.med.tohoku.ac.jp/official/index.html>
6. 研究組織
- (1)研究代表者
 山本 雅之 (MASAYUKI YAMAMOTO)
 東北大学・大学院医学系研究科・教授
 研究者番号：50166823
- (2)研究分担者
 清水 律子 (RITSUKO SHIMIZU)
 東北大学・大学院医学系研究科・教授
 研究者番号：40226262
 大根田 絹子 (KINUKO OHNEDA)
 高崎健康福祉大学・薬学部薬学科・教授
 研究者番号：50323291