

## ヒト遺伝子プロモーターに存在する重複 GGAA 配列の生物学的役割

内海文彰,<sup>\*,a,e</sup> 宮崎 智,<sup>b</sup> 田沼靖一<sup>c,d,e</sup>

## Biological Functions of the Duplicated GGAA-motifs in Various Human Promoter Regions

Fumiaki UCHIUMI,<sup>\*,a,e</sup> Satoru MIYAZAKI,<sup>b</sup> and Sei-ichi TANUMA<sup>c,d,e</sup>

<sup>a</sup>Department of Gene Regulation, <sup>b</sup>Department of Bioinformatics, <sup>c</sup>Department of Biochemistry, Faculty of Pharmaceutical Sciences, <sup>d</sup>Genome and Drug Research Center, and <sup>e</sup>Research Center for RNA Science, RIST, Tokyo University of Science, 2641 Yamazaki, Noda, Chiba 278-8510, Japan

(Received April 27, 2011; Accepted September 5, 2011; Published online September 9, 2011)

Transcription is one of the most fundamental cellular functions and is an enzyme-complex mediated reaction that converts DNA sequences into mRNA. TATA-box is known to be an important motif for transcription. However, there are majority of promoters that have no TATA-box. They are called as TATA-less promoters and possess other elements that determine the transcription start site (TSS) of the genes. Multiple protein factors including ETS family proteins are known to recognize and bind to the GGAA containing sequences. In addition, it has been reported that the ETS binding motifs play important roles in regulation of various promoters. Here, we propose that the duplication and multiplication of the GGAA motifs are responsible for the initiation of transcription from TATA-less promoters.

**Key words**—GGAA motif; ETS family protein; TATA-less promoter

## 1. はじめに

真核細胞の転写が TATA ボックス付近から始まることは既に知られている。本総説では、12-O-テトラデカノイル-ホルボル-13-アセテート (TPA) 応答性のエレメントを探る研究を通して、重複あるいは近接して存在する GGAA 配列が転写開始に重要であるという仮説に至った。これは今後の医療に関連した転写機構の解明をするための非常に重要な指針となるはずである。例えば最近、体細胞に OCT4, SOX2, KLF4 あるいは c-MYC 等の転写因子をコードする遺伝子発現ベクターやタンパク質を導入することによって万能幹 (iPS) 細胞を作製できることが示され、非常に注目を集めている。<sup>1,2)</sup> つまり転写制御システムを操作して細胞の運命を変え、可能性が示された。一方、がん研究の分野では、以前から「脱がん」の概念による制がん方法が研究されてきた。その1つとして強い制がん効果を持つ

薬物を用いずに TPA のような悪性腫瘍やがん細胞の増殖を停止し、分化状態に導く効果を持つ薬物を用いた方法も試みられてきた。ここでは、TPA によって誘導 (抑制) される転写制御シグナル伝達のシステムを詳しく解析することが重要課題となっている。

ヒト骨髄性白血病細胞株 HL-60 を TPA やオールトランスレチノイン酸 (ATRA) で処理し、マクロファージ様又は顆粒球様の細胞へと人為的に分化させる系は細胞分化誘導の研究において最もよく用いられてきた実験系である。<sup>3-5)</sup> 特に、TPA 処理によってマクロファージ様細胞に分化を誘導した場合、多種の遺伝子発現の増大することが既に報告されている。<sup>6)</sup> さらに、TPA には骨髄性白血病患者に対する症状を軽減する効果のあることも報告されている。<sup>7,8)</sup> この治療法は、白血病細胞が TPA によって分化誘導され、それに伴って増殖が抑制されることを応用している。<sup>9)</sup> しかしながら、TPA は発がん誘導物質としての作用を持つ物質である<sup>3)</sup>ため、TPA を臨床応用する場合には注意深く使用する必要がある。

これまでにわれわれは、ポリ (ADP-リボース)

<sup>a</sup>東京理科大学薬学部遺伝子制御学, <sup>b</sup>同ゲノム情報科学, <sup>c</sup>同生化学/分子生物学, <sup>d</sup>同ゲノム創薬研究センター, <sup>e</sup>同 RNA 科学総合研究センター (〒278-8510 千葉県野田市山崎 2641)

\*e-mail: uchiumi@rs.noda.tus.ac.jp

代謝に関連する遺伝子発現の研究を進めてきた。そしてヒト *PARG* 遺伝子や *IGHMBP2* 遺伝子のプロモーター領域のクローニングに成功し、HL-60 細胞を TPA 処理によってマクロファージ様細胞へ分化誘導した場合にそれらプロモーター活性が顕著に増大することを観察した。<sup>10-12)</sup> *PARG* はポリ(ADP-リボース)の分解系に中心的な働きをする酵素であり、<sup>10)</sup> *IGHMBP2* は MMTV のロングターミナルリピート (LTR) の *PARG* 活性阻害物質タンニン酸に感受性のある 50 bp 領域に結合することが示されている。<sup>11)</sup> これら 2 つの遺伝子の 100-150 bp のコアプロモーター領域には、興味深いこととともに転写開始点 (TSS) 付近に TATA ボックスや CCAAT 配列は認められず、その代わりに GGAA をコアとする ETS 結合配列が重複して存在する。<sup>10,12)</sup> このような配列には、ETS ファミリータンパク質等が塩基配列特異的に結合して、転写を制御することが知られており、本総説の後半で解説する。さらに、変異導入実験によって、この重複 GGAA 配列が転写活性に必須であることと、TPA に対する応答性に関係することも示された。以上の事実を考え合わせると、重複 GGAA 配列を持った遺伝子群の転写制御メカニズムが解明できれば、(TPA 等を使用せずに) それらの遺伝子群を制御する発現ベクターを白血病あるいはがん細胞に導入してがん細胞の増殖を阻止し、分化誘導 (脱がん) するための新たな方略を得られると期待される。

## 2. TPA に誘導される遺伝子 5'-上流領域付近に存在する重複 GGAA 配列

GGAA 配列は *IL2RB* (*IL2 Receptor  $\beta$ -chain*), *ETS2*, *MMP3* (*stromelysin-1*), そして *NFAT1* 遺伝子プロモーターや *TCR $\alpha$*  や *TCR $\beta$*  遺伝子エンハンサー等に存在する。<sup>13)</sup> そして、ヒト T 細胞株 Jurkat を用いたとき、*IL2RB* プロモーター中の GGAA 配列に変異を導入するとプロモーター活性も TPA に対する応答性もともに消失する。われわれの実験結果<sup>10,12)</sup> を併せて考え、ヒト遺伝子プロモーター TSS 付近に存在する GGAA 配列はプロモーター活性に必須で、かつ TPA に誘導された細胞内シグナルに応答するという仮説が得られる。

最近、われわれは種々の DNA ヘリカーゼや DNA 修復酵素をコードする遺伝子プロモーター領域の単離にも成功しており、*XPB*, *RTEL*, そして

*RBI* 遺伝子プロモーター中に重複 GGAA 配列を確認している。<sup>14)</sup> この *RBI* 遺伝子は HL-60 細胞を TPA 刺激して約 24 時間後に発現が誘導される後期応答グループに属することが示されている。<sup>6)</sup> また、これまでにわれわれが解析してきた *PARG* あるいは *IGHMBP2* 遺伝子は、この後期応答性グループの発現誘導パターンを示すものである。われわれは、PU.1 が *PARG* と *IGHMBP2* プロモーター中の重複 GGAA 配列に結合することを確認しており、PU.1 発現ベクター導入実験から PU.1 のプロモーター抑制的効果を観察した。<sup>10,12)</sup> PU.1 はヒト *ITGAX* (*CD11c*) プロモーターに対して抑制的であると報告されているが、これは GA-結合性転写因子 (GABP) と PU.1 の競合的な結合によって説明される。<sup>15)</sup> この GABP の  $\beta$  サブユニット 2 は、TPA に対する初期応答グループに分類されており、<sup>6)</sup> PU.1 よりもマクロファージ細胞分化に大きく寄与していると考えられる。さらに、免疫組織化学的研究でマクロファージ様細胞分化マーカーとして広く用いられているヒト *CD68* 遺伝子プロモーター領域には、GGAA 配列がクラスターとなって存在し、ELF1, PU.1, そして IRF4 等による制御を受けている。<sup>16)</sup> われわれがヒト *CD68* 遺伝子 5'-上流領域約 450 bp をクローニングして Luc レポーターアッセイを行ったところ、HL-60 細胞を TPA 処理すると非常に強く応答した (未発表データ)。

以上より、重複 GGAA 配列は TPA に対する後期応答性、あるいはマクロファージ様の細胞分化に係わる遺伝子の発現制御に深く関与すると考えられる。そこでわれわれは、DNA マイクロアレイ解析で TPA により誘導される 19 個の TPA 後期応答性遺伝子<sup>6)</sup> の 5'-上流域の DNA 塩基配列に対して TF-SEARCH 解析を行い、主要なエレメントを調べた。このうち 8 個の遺伝子 (*RBI*, *PECAM1* (*CD31*), *IL1R1*, *IL1R2*, *IL1RAPL2*, *S100A3*, *EIF3A*, *ECM1*) のプロモーターには TATA ボックスがなく、代わりに重複 GGAA 配列が存在する。<sup>17)</sup> 他の 2 つ (*INHBA* と *RPS6KA6* (*S6 kinase*)) のプロモーター領域には GGAA のクラスターが存在する。<sup>14)</sup> IL-1 シグナル伝達に関与する *IL1R1*, *IL1R2*, *IL1RAPL2* 遺伝子のプロモーターにもまた重複 GGAA 配列が含まれている。<sup>17)</sup> GGAA 配列は、*PEA15*, *ANXA5*, *RFC-1* 遺伝子プロモーターの TSS 付近に存在が認

められるが、*LGALS3*, *PREP*, *CHST10*, *RFXA*, *P2Y5*, *KCNMA1* 以上 6 つの遺伝子プロモーターの TSS の上流 300 bp には認められなかった。したがって、重複 GGAA 配列以外の *cis*-エレメントが TPA に対する後期応答性の遺伝子発現の制御に係わっている場合も考えられる。

### 3. サイトカインシグナル関連タンパク質をコードする遺伝子のプロモーターに存在する重複 GGAA 配列

ヒト *IL2RB* 遺伝子プロモーター中の GGAA 配列が TPA に対して応答することは先に述べた。<sup>13)</sup> 複数の GGAA 配列は CD41 という細胞接着や血小板凝集を制御する巨核球 (megakaryocyte) マーカー分子をコードするヒト及びマウスの *ITGA2B* 遺伝子のプロモーター領域に存在する。<sup>18,19)</sup> 巨核球の分化においては MAP キナーゼシグナル伝達経路や ELK1 あるいは ETS タンパク質等の転写因子が重要な役割を果たしている。<sup>18,20)</sup> また、IRF2 が結合し *ITGA2B* 遺伝子の転写を活性化するために必要なインターフェロン (IFN) 刺激応答配列 (ISRE) 様配列の内部にも重複 GGAA 配列が見い出される。<sup>21)</sup> IRF2 は トロンボポエチン受容体をコードする *TPOR* 遺伝子を活性化し、巨核球細胞の分化を誘導する。<sup>22)</sup> これらのことから重複 GGAA 配列の *cis* の作用による転写活性化は、マクロファージ様の細胞への分化だけでなく巨核球への分化過程においても重要な役割を果たしていることが示唆される。マウスの CD28 ファミリーに属する免疫制御受容体をコードする *PDCD1* 遺伝子プロモーターの ISRE にある重複 GGAA (TTCC) 配列は IFN- $\alpha$  に対する応答性に関係する。<sup>23,24)</sup> また、ヒト *ISG15* 遺伝子と TNF 受容体スーパーファミリーをコードする *CD40* (*TNFRSF5*) 遺伝子プロモーター領域にも重複 GGAA 配列が存在する。<sup>17)</sup> さらに、重複 GGAA 配列は、*FASLG* プロモーターの NFAT-1 及び NFAT-2 結合部分や *TAPI* プロモーターの IFN- $\gamma$  活性化応答配列にも見い出される。<sup>25)</sup> 結核患者の好中球における転写産物の分析から、IFN が JAK/STAT シグナル伝達系を經由して種々の IFN 誘導遺伝子 (ISG) 群の発現を増大させることが示された。<sup>26)</sup> この報告の ISG 群とウイルス複製に対する影響が解析された ISG 群<sup>27)</sup> の cDNA の 5'-上流 500 bp の領域を併せて調査したところ、ほぼすべ

てに重複 GGAA 配列が存在することが判明した (Table 1)。

既に述べた通り、重複 GGAA 配列は *IL1R1*, *IL1R2*, *IL1RAPL2* 等の遺伝子プロモーター領域に共通して見い出される<sup>17)</sup>ばかりでなくヒト *IL1B*,<sup>28)</sup> *IL2*,<sup>29)</sup> そして *IL2RB*<sup>13)</sup> プロモーター領域中にも存在する。<sup>17)</sup> また、ELK1 や SRF は、IL-1 依存性の ETS 結合配列を含む *ZC3H12A* 遺伝子プロモーター活性を制御している。<sup>30)</sup> したがって、IL-1 シグナル伝達系は、GGAA 配列の影響を強く受ける可能性がある。T 細胞系では、GABP がマウスの *I17r* 遺伝子の転写を制御する。<sup>31)</sup> ヒト *IL7R* 遺伝子プロモーター領域には 5'-CAGACTTCCTGTTTCTGG-AACTTGC-3' という配列が存在しており、ヒト T 細胞において、*IL7R* (CD127) の発現は ETS1 に制御されることが強く示唆された。<sup>32)</sup> 興味深いことに、GABP が T 細胞受容体 (TCR) の再配列 (rearrangement) に必要なことも明らかとなっている。<sup>33)</sup> ノックアウトマウスを用いた研究では、ETS ファミリーに属する *ERG* がマウス胚における *Runx1* (*AML-1*) と *Gata2* の転写を調節し、血球系幹細胞の維持において重要な役割を果たしていることが示されている。<sup>34)</sup> また、ヒト *RUNX1* 遺伝子の 5'-上流領域にも 5'-GCTGTGGAAAGGGGAA-CAGTT-5' という配列が見い出される。

内分泌系における ETS タンパク質の働きも研究されており、<sup>35)</sup> インスリン誘導性遺伝子 2 (*INSIG2*) のプロモーターに存在する 2 つの ETS 結合配列に転写因子 SAP1a (ELK4) が作用するとインスリンに対して応答することが示された。<sup>36)</sup> 血糖濃度が増大した場合に膵臓の  $\beta$  細胞に作用してインスリンの分泌を活性化するヒトグルコース依存性インスリン放出ポリペプチドをコードする *GIP* 遺伝子の第一イントロン中のプロモーター機能領域にも重複 GGAA 配列が存在する。<sup>37)</sup> さらに、エストロゲン受容体 (*ER- $\alpha$ 66*) 遺伝子の第一イントロンに存在する *ER- $\alpha$ 36* プロモーターの転写開始点付近にも重複 GGAA 配列が見い出される。<sup>38)</sup> このように GGAA 配列には (血球系の) 細胞分化に係わる遺伝子ばかりでなく、免疫・内分泌応答に係わる遺伝子の発現を制御する機能があることも示唆される。

Table 1. GGAA Motifs Located in the 5'-Upstream Regions of Various Human Interferon Inducible Genes

Gene	Sequence
<i>CD274</i>	5'-AAAGCTTCGCGGATTCACCGAAGGTCAGGAAAGTCC-3'
<i>CCDC75</i>	5'-AGTCTGGAAGGGAAGATCA-3', 5'-CTGCAGGAAACAAGGGAAGAGCG-3'
<i>CXCL10</i>	5'-CAGAGGGAAATTCCGTAAC-3', 5'-GGGACTTCCCCAGGAACAGCC-3'
<i>DDX58</i>	5'-AGCAATTCTAGGGTCTCTCCGTTCCCGGGCTTCTCGGTGCGGAGGGAACGAA-3'
<i>DDX60</i>	5'-TGAAGGGAAGGATGCTAAACTTTCCACGAA-3'
<i>FAM46C</i>	5'-AGATGGGAAAAGCCTGGGGAAGAGAGAGTTATGCGGCAGGAATAGCA-3'
<i>GBP2</i>	5'-ATCTTTTCCAATGATAAAGTGGAAAGTTCCTGGTT-3'
<i>HPSE</i>	5'-GAGTCGGAACGCTGGGTTCACGAA-3'
<i>IFI4</i>	5'-GGAGGGGAAGGCTTTCCGAGGAAACGAA-3'
<i>IFI6</i>	5'-AAATGTTCCCGCTGGGCGGAGCTGGGAGAGAGGGGAAAATGA-3'
<i>IFI27</i>	5'-TCGGTTTCTGGAAAATGA-3'
<i>IFI44</i>	5'-TTTTCTTCCCTCTGACTTCAATTCCTTGAT-3'
<i>IFI44L</i>	5'-TTCTCTTCTAGTGAGGAAAAAGA-3', 5'-TTCTTCTCTAGTGAGGAAAAAGA-3'
<i>IFIH1</i>	5'-TCGCTTTCCTTTTCTGTTTCCCGCGG-3'
<i>IFIT3</i>	5'-AGTAATTCAAAAGGAAAAGG-3', 5'-CATTAGGAATGCTTCCACATT-3'
<i>IFIT5</i>	5'-GGAGTGGAAAGCAGGGACTTAAGTTTCCGCCTG-3'
<i>IFITM2</i>	5'-TGCCAGGAAGAGGAAACTGTTGAGAAAACGGAAGTACTGGGGAAAGGGA-3'
<i>IFITM3</i>	5'-CCTCAGGAATTTGTTCCGCGCCT-3', 5'-TGCCAGGAAAAGGAAACTGT-3'
<i>IRF7</i>	5'-CGCCCTTCCCGGAAACTCC-3'
<i>MAP3K14</i>	5'-CGCCCTTCTTCCCGTAA-3', 5'-CGTCCGAAATAGTGCCCATTTCTGGAAACCAG-3'
<i>MB21D1</i>	5'-GCGACTTCCAGCCTGGGGTTCCCTTC-3'
<i>MCOLN2</i>	5'-AGCGTGGAAATAAGTCCCCTAGGACCCCAACTGGGGAAGCTCC-3'
<i>MX1 (IFI78)</i>	5'-GACTTTTCTTTCTGGAAACCAG-3'
<i>MOV10</i>	5'-TGAGCTTCCCCATTCCGGCCG-3'
<i>NAMPT</i>	5'-CCAGCTTCCCAGAGCTGGCGTCTGGGAGGAAGAGCG-3'
<i>OAS1</i>	5'-GATCTTTCCACTTCCCTGGTT-3'
<i>OAS2</i>	5'-CCATTTTCCCCCAGCTTACAGATGGGGGAATTGAG-3'
<i>OAS3</i>	5'-AGCAGGGAATTTCCCAAGTTTGGGGAAGACAGGAACTGCA-3'
<i>OASL</i>	5'-GTCCCTTCCGTTCCCAAGCCTCAATTTCCCTTAGA-3'
<i>PLSCR1</i>	5'-TGACTTTCCAGTTCCAGTTAGTGTCGGAGTCCCAGTTCCCTCTCC-3'
<i>PSMB8</i>	5'-ACCTTTTCCCTTAAGCTTTTTAATTCCTATGAGGCCCTTCCACTTCCCTAT-3'
<i>STAT1</i>	5'-CCGCCGGAAGCCGCGGAAATACC-3'
<i>STAT2</i>	5'-GGCTGGGAATGGGGCCGCTCCGGACTTCCGCTGC-3'
<i>TAPI</i>	5'-GGGTGGGAAAAGTGGTGAAGTGGAAAGGCA-3'
<i>TREX1</i>	5'-CTTGAGGAAGGAGCCCTGCCCTGCCTGTGGAATTGTC-3'

Duplicated GGAA (TTCC) motifs within 500 bp upstream from the transcription start sites (TSS) of ISGs are shown. *TAPI* and *CCDC75* genes are head-head bounded to *PSMB9* and *HEART5B*, respectively. Overlapped GGAA (TTCC) motifs are located in the down stream of the TSS of the *IFI4 (ADAR)* variant1-3, *IFITM2*, *MB21D1*, and *MOV10* genes.

#### 4. ヒトゲノムにおける EWS/FLI がん関連タンパク質標的—GGAA マイクロサテライト

エーウイング肉腫 (Ewing's Sarcoma) では、染色体の転座が原因で ETS ファミリータンパク質に異常がみられる.<sup>39)</sup> その悪性肉腫では染色体の t (11; 22) (q24; q12) 転座が生じており、EWS/FLI がん関連タンパク質が異常な転写因子として働いている。<sup>40)</sup> EWS/FLI は複数の GGAA 配列に結合することによって、*TGFβ2*, *CCND1* (*cyclin*

*D1*), *ID2* 及び *CMYC*, *IGFBP3*, *PTPL1*, *CCNE1* (*cyclin E*), *MK-STYX* 等の種々の遺伝子発現を上昇させる。<sup>41)</sup> この繰り返し GGAA 配列は GGAA マイクロサテライトと呼ばれており、異常な融合タンパク質 EWS/FLI が作用するゲノム上の領域である。それが DNA に結合すると近傍にある遺伝子の転写活性化の起こる可能性がある。<sup>40,42)</sup> 例えば、GGAA マイクロサテライトは *DAX1/NR0B1*, *FCGRT*, *CAVI (caveolin 1)*, *CACNB2*, *FEZF1*, *KIAA1797*,

そして *GSTM4* 等の遺伝子プロモーター中に存在する.<sup>41,43,44</sup> しかし、これら GGAA マイクロサテライトが転写調節領域に存在する遺伝子の発現は ETS ファミリータンパク質に属する ETS1 や ELK1 によって影響を受けないので、正常な ETS タンパク質によっては制御されていないと考えられる.<sup>45,46</sup>

### 5. 種々のヒト遺伝子 5'-上流域に見い出される重複 GGAA 配列

われわれの研究では PARG, IGHMBP2, ATR, XPB, RTEL そして RB1 等の DNA 修復や転写調節に係わる因子をコードするヒト遺伝子プロモーター中の重複した GGAA 配列に変異を導入すると、プロモーター活性が劇的に消失した.<sup>10,12,14</sup> そこで、以上の遺伝子のプロモーターに存在する GGAA 配列を比較したところ、5'-(A/G/C)N(A/G/C)(C/G)(C/G)GGAA(A/G)(C/T)(G/C/T)(A/G/C)(A/G/C)-3' という 14 bp のコンセンサス配列が得られた.<sup>14</sup> この配列が 50 bp 以内の領域で重複して存在する確率は非常に低く稀である。

そこで、われわれは Ensemble に登録されているヒトの 47553 個の遺伝子の TSS の上流 2000 bp から下流の 200 bp の領域内にこの 14 bp 配列が重複して存在するものを抽出した。まず 469 個の遺伝子が得られ、このうち 234 個は機能又は構造が既知あるいは推定され得るものであった。上記のコンセンサス 14 bp を TSS 上流 2000 bp までに含んでいる遺伝子のうち TATA ボックスを持たないものは 80% (372/469) で、74% は TSS 上流 500 bp 以内に GGAA (TTCC) の重複が認められた。<sup>17</sup> さらに、上記の機能既知の 234 遺伝子の TSS 上流 450 bp 以内の領域に重複 GGAA 配列が含まれるという条件を加えてさらに絞り込みを行ったところ、173 個が選択された。<sup>17</sup> これら 173 個の遺伝子群には *IFITM5/Bril*,<sup>47</sup> RB 結合性タンパク質 5 (*RBBP5*),<sup>48</sup> 成長因子受容体結合タンパク質 2 (*GRB2*)<sup>49</sup> そして小分子ユビキチンモディファイヤー 1 (*SUMO1*)<sup>50</sup> 等が含まれている。非分解系ユビキチンシグナル因子、FANCD2 は DNA 複製や修復に関係することが示唆されており、<sup>51</sup> この遺伝子プロモーター領域にも重複 GGAA 配列が見い出される。腫瘍抑制因子 BRCA1 は、細胞周期や DNA 修復や DNA の損傷応答に関与しており、<sup>52</sup> E3 リガーゼ活性を

持っている。<sup>52,53</sup> *BRCA1* プロモーター領域には GABP の認識する UP 配列の約 150 bp 上流に ETS2 が結合する。<sup>53</sup> FANCD2 は Fanconi anaemia シグナル伝達経路に含まれている因子であるが、<sup>51</sup> これはモノユビキチン化されて FANCI とともに Fanconi anaemia コア複合体を形成する。<sup>53,54</sup> 最近、OUT ドメイン-ユビキチンアルデヒド結合因子、OTUB1 がポリ-ユビキチン化を抑える DNA 損傷応答抑制因子であることが示された。<sup>55</sup> この *OTUB1* 遺伝子プロモーター領域にも重複 GGAA 配列がある。<sup>17</sup> 以上より、重複 GGAA 配列は非分解系ユビキチン化関連遺伝子の発現を制御する可能性がある。その他、TNF シグナル関連分子、TRAF1, TNFSF12 (TWEAK) や TNFSF13 (APRIL) をコードする遺伝子プロモーターも含まれている。<sup>17</sup> 興味深いことに、*TNF* 遺伝子のプロモーター領域にも重複 GGAA 配列が存在する。<sup>56</sup> また、*G6PD*, *GYS1* や *SLC2A13* 等のグルコース代謝関連遺伝子 TSS の上流 450 bp 領域にも重複 GGAA 配列が見い出される。<sup>57-59</sup> われわれのバイオインフォマティクス解析<sup>17</sup> では抽出されなかったが、グルコース代謝に係わる *NR1H2 (LXRB)* プロモーター領域には複数の GGAA 配列があり、ELK1 や SRF による制御を受けている。<sup>60</sup> このように重複 GGAA 配列は TNF シグナル伝達や糖代謝に関連する遺伝子の発現調節への関与も示唆されている。ヒト遺伝子 5'-上流領域の ETS 結合配列の報告<sup>61</sup> も含めて TSS 付近に重複 GGAA 配列が存在する例を Table 2 にまとめた。

### 6. ヒトゲノムにおける重複 GGAA 配列の分布

クロマチン免疫沈降 (ChIP) 解析の結果、ヒトゲノム中の遺伝子プロモーターでは ETS1, ELK1 あるいは GABP $\alpha$  等複数の ETS タンパク質の結合が見い出されている。<sup>46</sup> この分析によって、*COX17* 及び *DFFA* 遺伝子<sup>17</sup> のプロモーターに ETS ファミリータンパク質の結合することが示されている。<sup>46</sup> さらに、*BRTC* プロモーターは、*TCR $\alpha$*  や *TCR $\beta$*  プロモーターと同様に ETS1-RUNX1 の重複結合が確かめられている。<sup>17,46</sup> 以上のゲノムワイドな ChIP 解析によって、17000 種のヒト遺伝子プロモーターのうち 5-15% に複数の ETS タンパク質が結合していることが判明した。また、バイオインフォマティクス解析でもヒト遺伝子のプロモーター中

Table 2. Human Genes That Contains Duplicated GGAA Motifs in the 5'-Flanking Regions

Functions	Genes
DNA repair	<i>XPB, RTEL, PARP1, PARG, ATR, BRCA1, TERT, TERC</i>
Tumor suppressor	<i>RBI, TP53, CDKN1A (p21), INHBA, RBBP5</i>
Tumor invasion	<i>MMP3, MMP7</i>
Transcription	<i>IGHMBP2, SPI1 (PU.1), TBP, TAF1, TAF12, GTF2A1, GTF2B, BTAFL1, RUNX1, MYBBP1A</i>
Ubiquitination	<i>BTRC, FANCD2, OTUB1, UBXN1, USP19, USP28, USP32</i>
Sumoylation	<i>SUMO1</i>
Macrophage marker	<i>CD68</i>
Megakaryocyte marker	<i>ITGA2B (CD41)</i>
Interleukin signal	<i>IL1R1, IL1R2, IL1RAPL2, IL1B, IL2, IL2RB, IL7R</i>
Cell adhesion	<i>CTGF (CCN2), ICAM2, CDH5, UTRN</i>
IFN response	<i>CD40 (TNFSF5), IRF2BP2, ...etc. (Shown in Table 1)</i>
TGF-beta signal	<i>TGFBR2</i>
TNF signal	<i>TNF, TRAF1, TNFSF12, TNFSF13</i>
Apoptosis	<i>FASLG (TNFSF6), DFFA, AEN, DAPK, CASP1, PDCD1, BCL2, FAS (TNFRSF6), PIM3</i>
Endocrine system	<i>INSIG2, GIP, LXR (NR1H2)</i>
Glucose metabolism	<i>G6PD, GYS1, SLC2A13</i>
Other	<i>PSEN1, GRB2, S100A3, EIF3A, RPS6KA6, PF4, DEFA1, DEFA1B, COX17, TRAC (TCRA), CRYAB, DEAF1, GPPD2</i>

に ETS 結合配列が非常に高頻度で認められている。<sup>62-64)</sup> われわれの解析<sup>17)</sup>では 195 の遺伝子が候補として挙げたが、これは全遺伝子の 1% に過ぎない。この非常に低い数値は *PARG/IGHMBP2* 型の 14 bp 配列が TSS 付近に複数存在するという条件で検索したためかもしれない。ETS ファミリータンパク質それぞれがもし異なった 14 bp 配列を認識するならば、それらの配列も検索条件に追加しなければならないだろう。最近、ChIP 解析によって ETS ファミリータンパク質の細胞株特異的な組み合わせが調べられた。<sup>65)</sup> 異なる ETS ファミリータンパク質の結合が同一プロモーターで検出されることは、同一の GGAA 配列に対する競合的な結合、<sup>46)</sup> 又は別々の ETS ファミリータンパク質が別々の GGAA 配列に結合する可能性があるが、ともに転写を微調整するのに有利なシステムであると考えられる。

#### 7. GGAA 配列結合タンパク質の生物学的特性—発がんメカニズムとの関連

*v-ets* は 1983 年に E26 トリ白血ウイルスから発見されたオンコジーンで、体細胞には *ETS* 遺伝子群がある。<sup>66,67)</sup> 遺伝子相同組換え実験によって *ETS*

遺伝子群のコードする ETS ファミリータンパク質の胚発生や血球系細胞の分化における生物学的重要性が示されている。<sup>66,68)</sup> ETS ファミリータンパク質の ETS ドメインには高いアミノ酸配列類似性が保存されており、それらが認識する DNA 塩基配列にも類似性がある (Table 3)。<sup>46,66)</sup> さらに、ETS ファミリータンパク質が細胞死や細胞がん化に係わる分子機構もまた明かとなりつつある。<sup>68)</sup> 最近の研究から、*hTERT* 遺伝子プロモーター中には 2 つの生物学的に重要な ETS 結合配列 (EtsA と EtsB) が存在しており、ETS2 と c-MYC が協調して乳がん細胞内での *hTERT* 遺伝子発現を維持することが示されている。<sup>69)</sup> EtsB 配列中には *eIF3A* 遺伝子プロモーター中の配列と同じ 5'-TTCCTTCC-3' が含まれている。<sup>17)</sup> また、非小細胞肺癌 (non-small cell lung cancer) ゲノムにおける *hTERT* 遺伝子プロモーターの配列を解析した結果、TTCC 配列の変異があるとテロメラーゼ活性が低下していた。<sup>70)</sup>

ヒト *TP53* (*p53*) 遺伝子のプロモーター領域にも ETS1 結合配列がある。<sup>61,71)</sup> 胚性幹細胞が紫外線照射されてアポトーシスに導かれる場合、ETS1 が

Table 3. Classification of Human Ets Family Proteins

Protein	Type	Protein	Type
ETS1	I	EHF (ESE3)	IIa
ETS2	I	ELF1	IIa
ETV1	I	ELF2 (NERF)	IIa
ETV2	I	ELF3 (ESE1)	IIa
ETV3	I	ELF4 (MEF)	IIa
ETV4	I	ELF5 (ESE2)	IIa
ETV5	I	ETV6 (TEL)	IIb
ELK1	I	ETV7 (TEL2)	IIb
ELK3 (NET)	I	SPI1 (PU.1)	III
ELK4 (SAP1)	I	SPIB	III
ERF	I	SPIC	III
ERG	I	SPDEF	IV
FEV	I		
FLI1	I		
GABPA	I		

Twenty seven Ets family proteins have been classified into five types I, IIa, IIb, III, and IV<sup>65)</sup> according to the consensus binding sequences; Type I; 5'-ACCGGAA (G/A) (T/C)N-3', Type IIa; 5'-CCCGGAA (G/A) (T/C)N-3', Type IIb; 5'-CCCGGAA (G/A) (T/C)N-3', Type III; 5'-NG (A/G)GGAA (G/A) (T/C)N-3', Type IV; 5'-(A/C)CCGGAT (G/A) (T/C)N-3'.

TP53 遺伝子プロモーター活性を制御するという報告がなされている。<sup>72)</sup> AEN (アポトーシス増強性ヌクレアーゼ) 及び DAPK (細胞死誘導型プロテインキナーゼ) 遺伝子は、われわれの遺伝子検索で発見されているが、<sup>17)</sup> AEN 遺伝子発現が p53 に制御されること<sup>73)</sup>や DAPK ファミリーが MDM2 と p21 タンパク質をリン酸化することは既に報告されている。<sup>74)</sup> したがって、p53 やその関連タンパク質をコードする遺伝子プロモーターは、重複 GGAA 配列によって同調した転写制御を受けることが示唆される。さらに、CRYAB ( $\alpha$ B-Crystallin) 遺伝子プロモーター中の ETS 結合配列は乳がん細胞で ETS タンパク質により正に制御されている。<sup>75)</sup> 上皮特異的 ETS ファミリータンパク質の ELF3 (ESE1) はヒト乳がん細胞で高く発現しているが、それはヒト乳腺上皮細胞由来の MCF-A 細胞をトランスフォームする。<sup>76)</sup> また、TGF- $\beta$  シグナルによって発現誘導される血管新生関連成長因子をコードする CTGF (CCN2) プロモーター領域にも重複 GGAA 配列が存在する。<sup>77)</sup> 最近、ETV1 ががん関連遺伝子産物の KIT と協調して消化管間質腫瘍制御因子として働くことが示された。<sup>78)</sup> また、ヒト前立腺がんの全ゲノムシーケンス分析から、遺伝子再配列により生

ずる TMPRSS2-ERG 融合タンパク質が転写やクロマチン構造に異常を起こし、腫瘍形成の原因となることも示唆されている。<sup>79)</sup> さらに、先に述べた DNA 修復に係わる遺伝子、PARG<sup>10)</sup> のほか、PARP1,<sup>80)</sup>そして CDKN1A (p21)<sup>81)</sup>プロモーター領域にも重複 GGAA 配列が存在する。<sup>10)</sup> 以上より、ETS ファミリータンパク質は細胞増殖、がんや腫瘍の形成に係わる遺伝子群の発現を制御する転写因子であると考えられる。

## 8. ETS ファミリータンパク質のアポトーシス制御因子としての働き

アポトーシスあるいはプログラム細胞死は種々の因子によって制御されており、<sup>82)</sup> ETS ファミリータンパク質は細胞死制御においても重要な役割を担っている。<sup>66)</sup> 炎症応答 (反応) やアポトーシスを制御する機能を持ち、IL-1 $\beta$  変換酵素として知られる caspase-1 をコードする CASP1 遺伝子の発現は ETS1,<sup>83)</sup>そして PU.1 により制御されている。<sup>84,85)</sup> さらに、ETS ファミリータンパク質は、内皮細胞のアポトーシス制御にも関係する。<sup>85)</sup> ヒト CDH5 (VE-cadherin) 遺伝子プロモーター中には重複 GGAA 配列が含まれており、ERG が結合することも示されている。<sup>86)</sup> その他、受容体チロシンキナーゼや ICAM2 等の血管新生や形成に係わる因子もまた ETS ファミリーによって制御されるが、マウスの *Flk-1* 遺伝子やヒト *ICAM2* 遺伝子等の 5'-上流領域にも重複 GGAA 配列が見いだされる。<sup>87)</sup> また、*BCL2L1* (*Bcl-XL*) や *BIRC3* (*cIAP2*) 等の抗アポトーシス遺伝子の発現は胚発生時に ETS1 及び ETS2 により制御されている。<sup>88)</sup> ヒト中胚葉由来腫瘍では ETS2 と PU.1 が *BCL2L1* の転写を増大させてアポトーシスを抑制すると報告されている。<sup>89)</sup>

TXNIP (Thioredoxin-binding protein 2) 遺伝子プロモーター中にも複数の ETS 結合配列が含まれているが、MG-63 という骨肉腫由来細胞種では ETS1 がその転写を調節している。<sup>90)</sup> この TXNIP タンパク質は ASK1 や JNK を活性化してアポトーシスを誘導すると考えられる。<sup>91)</sup> プロトオンコジーン *PIM3* 遺伝子プロモーター中にも ETS1 結合配列が存在しており、<sup>92)</sup> ETS1 により *PIM3* 遺伝子発現が増大するとがん細胞のアポトーシスが抑制される。また、アポトーシス関連遺伝子 *PDCD-1*<sup>23)</sup> や *DFFA* (*ICAD*),<sup>93)</sup> *BCL2*,<sup>94)</sup> *FAS* (*CD95*),<sup>95)</sup> そし

て *FASLG*<sup>96)</sup> プロモーター領域にも重複 GGAA 配列が存在する。以上より、ETS タンパク質はアポトーシス関連遺伝子の発現調節に強く関与すると考えられる。

### 9. TATA レスプロモーターにおける重複 GGAA 配列の基本転写エレメントとしての機能

真核細胞において巨大なタンパク質複合体を形成して機能する RNA ポリメラーゼ II (RNA pol II) による転写開始のメカニズムは非常によく研究がなされてきた。<sup>97)</sup> TATA ボックスの近傍に存在する TSS で起こる一連の複合体形成のプロセスは次のようになる。まず、TATA 結合タンパク質 (TBP) と TFIID の複合体が TATA ボックスを認識結合し、次に、TFIIA, TFIIIB, RNA pol II/TFIIF, TFIIE, さらに、DNA ヘリカーゼである TFIIF が集合して巨大なタンパク質複合体 (転写開始装置) を形成するモデルである。<sup>98)</sup> この RNA pol II による転写開始における最初のステップは、TBP タンパク質が TATA ボックスを認識結合することである。しかしながら、ヒトの遺伝子では、その cDNA の最も 5'-上流付近に TATA ボックスがかならずしも認められているわけではない。ヒト遺伝子のコアプロモーターの約 76% に TATA ボックスが存在しないと報告されている。<sup>99)</sup> われわれのバイオインフォマテフィクス解析から、ヒト遺伝子 TSS より 2000 bp 上流までの領域にコンセンサス 14 bp が 2 つ存在するもののうち 81% (279/345) が TSS の上流 500 bp 以内に重複 GGAA (TTCC) を持っていることが示された。<sup>17)</sup> このように TSS 付近に TATA ボックスの存在しないプロモーターは通常 TATA レスプロモーターと呼ばれており、GC 含量が多く Sp1 結合配列や SCGGAAGY あるいは TGCGCANK 配列等が見い出される。<sup>99)</sup> もし、真核細胞において基本転写装置を構成する因子が TATA レスプロモーターの TSS 付近に集合しなければならないとすると、TATA ボックス以外の *cis*-エレメントとそれに結合するタンパク質因子が必要である。TBP 遺伝子プロモーター領域には重複 GGAA 配列、5'-CCTATGGAAACACAGGAAGTGAC-3' が存在しており、しかもそれが本質的に重要な役割を果たしている。<sup>100)</sup> さらに、定量的 ChIP 解析結果から ELK1 が TBP のほか、TAF1, TAF12, GTF2A1, GTF2B, BTAF1 等の基本転写因子の遺伝子プロ

モーター領域に結合することも示されており、<sup>101)</sup> TBP プロモーターと同様に TSS 付近に重複 GGAA 配列が存在する。

上皮特異的 ETS ファミリーの ESX (ELF3) は TBP と相互作用し、同じく ETS ファミリーに属する ERM (ETV5) は、TBP だけでなく TAFII40 あるいは TAFII60 とも相互作用する。<sup>102,103)</sup> また、PU.1 が TBP/TFIID 複合体を *DEF1A1* (*Defensin1*) 遺伝子プロモーターの TSS 付近に誘導して結合を促進することも示されている。<sup>104)</sup> この *DEF1A1* 遺伝子プロモーター中にもまた重複 GGAA 配列が含まれている。<sup>17,105)</sup> このように、ETS ファミリータンパク質は、TBP と基本転写因子群の遺伝子転写を調節制御するばかりでなく、TBP を含む基本転写装置の構成タンパク質を重複 GGAA 配列の近傍に運ぶ機能のあることが示唆されている。ELF3 (ESE1) タンパク質の結晶構造解析から、その ETS ドメイン近くの部分が *TGFBR2* 遺伝子プロモーターに存在する重複 GGAA 配列の A 及び B 部位を認識、結合することが明らかとなった。<sup>105)</sup> 以上をまとめると、重複 GGAA 配列は基本転写因子が TSS 付近に集合するための足場であると考えられる。言い換えれば、この重複 GGAA 配列は、TATA レスプロモーターの TSS 近傍にプレイニシエーション複合体が結合するべき場所を提示する機能を持つということである。

この重複 GGAA 配列は、細胞が増殖、分化、アポトーシス等の誘導、あるいは IFN 誘導シグナルなどに応答する上で有利なシステムとして高度に保存されてきたと考えられる (Fig. 1)。このシステムが働くと、同一遺伝子のプロモーターであっても GGAA 配列結合タンパク質発現プロファイルに依存して、ある細胞では転写が起こるが他の細胞では抑制される。これまでに ETS ファミリータンパク質に属する 4 つの因子、YAN, ERF, NET (ELK3), そして TEL (ETV6) の転写抑制機能が報告されている<sup>106)</sup> が、転写抑制効果を持つものだけでなく転写活性化因子であったとしても、非常に強い転写活性化機能を持つ GGAA 配列結合因子と競合すれば、結局遺伝子発現は低下する。これは、2. で述べたような転写因子 GABP と PU.1 の競合的結合の例が当てはまるかもしれない。このように、細胞 (核) に存在する ETS ファミリータンパク質の種類

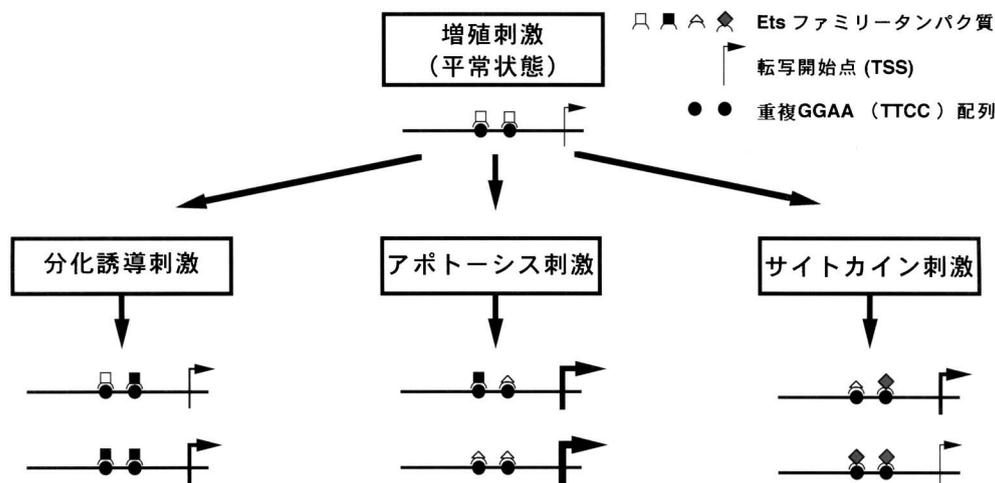


Fig. 1. Possible Mechanism of Transcriptional Control System Driven by Duplicated GGAA Motifs

The GGAA motifs are illustrated by closed circles (●). Promoter activities after stimulation of the cells are indicated by the thick arrows. In this model, 5'-upstream region of the apoptosis signal-responding gene is shown schematically. The binding affinities of those GGAA motif-binding proteins may depend on DNA sequences around the core GGAA motif. Therefore, the responses of those GGAA-duplication containing promoters would be different from each other.

と存在比に応じて重複 GGAA 配列が種々の遺伝子の転写開始を微調整することが可能である。もしかすると重複 GGAA 配列は遺伝子進化の過程で確立された遺伝子発現の（デジタルではなく）アナログ的変換制御システムかもしれない。

#### 10. GGAA 配列と TSS 付近の cis-エレメントに結合する他の転写因子との協調作用

重複 GGAA (TTCC) 配列は、ヒト *IL1B* 遺伝子のプロモーター領域に存在する。*IL1B* 遺伝子の場合、その TSS 上流 2.8 kb に存在する PU.1/IRF 結合配列にそれら因子が結合することによって、相加的に制御されている。<sup>107)</sup> このように、GGAA 配列結合因子と他の転写因子の協調的な転写調節が種々の遺伝子プロモーターにおいて見い出されている。例えば、Sp1 は GC ボックス配列 5'-(G/T)GGGCGG(G/A)(G/A)(C/T)-3' あるいは 5'-(G/T)(G/A)GGCG(G/T)(G/A)(G/A)(C/T)-3' に結合する転写因子である。<sup>108)</sup> ヒト *CDH5* 遺伝子<sup>86)</sup> や *PSEN1* (*presenilin 1*) 遺伝子<sup>109)</sup> の転写において、Sp1 結合配列と GGAA 配列が協調的に働いている。マウスの guanylyl cyclase/natriuretic peptide 受容体 A をコードする *Npr1* 遺伝子プロモーター領域では、Sp1 と ETS1 の相互作用による調節機能が観察されている。<sup>110)</sup> また、ヒト *HPSE* (*Heparanase-1*) 遺伝子プロモーターでは、GABP と Sp1 による協調的制御がなされている。<sup>111)</sup> OCT1 は、AT-GCAAAT 配列を認識、結合することによって転写

を活性化する POU-ホメオドメインファミリーに属する転写因子で、<sup>112)</sup> PU.1 とともにマウス *Ptprc* (*CD45*) 遺伝子プロモーター活性を制御する。<sup>113)</sup> そして *FGL2* 遺伝子プロモーター領域では OCT1, ETS1, Sp1/Sp3 結合エレメントが協調して転写を調節している。<sup>114,115)</sup> 同様に、重複 GGAA 配列が存在するヒト *BTK* 遺伝子プロモーターも、Sp1/Sp3, PU.1 と OCT1 により調節されている。<sup>116,117)</sup> また、ETS タンパク質と POU ホメオドメイン転写因子の GHF-1/Pit-1 は、Ras/Raf シグナル伝達系を増強してラット *Prl* (*prolactin family 1*) 遺伝子プロモーターを活性化する。<sup>118)</sup> さらに、ヒト *PTGIR* (*prostacyclin receptor*) 遺伝子プロモーター中にも、Sp1, PU.1 そして OCT1 結合エレメントが存在し、Sp1-PU.1-OCT1 複合体がプレイニシエーション複合体を転写開始点付近に誘導するモデルが提唱されている。<sup>119)</sup> ヒト遺伝子プロモーターで ETS1 と RUNX1 が協調的に働く例や、頻りに ELK1 と SRF, あるいは ETS1 と CBP の共結合する例が報告されている。<sup>46,101,120)</sup> さらに、コラゲナーゼ等のがんの浸潤・悪性化に関連するタンパク質をコードする *MMP* 遺伝子群プロモーター領域には ETS 結合配列付近に AP1 エレメントがある。<sup>121)</sup> このように、ETS ファミリータンパク質の転写活性は、GC ボックス結合因子や OCT1 等からも影響を受ける可能性がある。

## 11. 結論

種々の遺伝子の TSS から上流 500 bp 以内に重複した GGAA 配列が存在する。これらのうちいくつかの遺伝子は、HL-60 細胞を TPA 処理してマクロファージ細胞へと分化誘導した際に、中間期から後期（処理後 12-24 時間後にピークを迎える）応答性の遺伝子発現様式を示すものが含まれている。この重複 GGAA 配列は、Table 2 に示されるような種々の遺伝子の 5'-上流領域にみられる。このようなプロモーターではほとんどの場合、明確な TATA ボックスが存在しないことから、重複 GGAA 配列が転写のプレイニシエーション複合体を TSS 付近へと正しく導くための重要な役割を果たしているものと考えられる。重複 GGAA 配列に対する種々の ETS ファミリータンパク質の結合選択メカニズムはまだ十分に理解されてはいないが、細胞内シグナルに対して応答をするとき、細胞核内での ETS ファミリータンパク質の発現量と組み合わせのバリエーションでプロモーター活性を微調整できる制御システムであると考えられる (Fig. 1)。さらに、TATA ボックスに結合するタンパク質をコードする TBP と他の基本転写因子群をコードする遺伝子プロモーター領域に重複 GGAA 配列が見い出される。現在までに、転写反応開始は主として TBP が TATA ボックスを認識、結合することから始まると説明されてきた。本総説でわれわれは、重複 GGAA 配列が真核細胞における TSS 決定や細胞分化、増殖、アポトーシス等を誘導する刺激により種々の遺伝子発現を制御する重要な役割を果たしている可能性について述べた。この分子メカニズムが解明されれば、ETS ファミリータンパク質の発現（抑制）ベクターを用いたがんや白血病あるいは免疫系の疾患等に対する新たな治療が可能になるかもしれない。

**謝辞** 本稿作成にあたり、インターフェロン応答遺伝子についての研究の展開をご教示下さった国立感染症研究所益見厚子博士に感謝いたします。また、執筆にあたって赤坂志津さんのデータ解析の協力を感謝いたします。

## REFERENCES

1) Takahashi K., Yamanaka S., *Cell*, **126**, 663-

676 (2006).

- 2) Takahashi K., Tanabe K., Ohnuki M., Narita M., Ichisaka T., Tomoda K., Yamanaka S., *Cell*, **131**, 861-872 (2007).
- 3) Huberman E., Callahan M. F., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **76**, 1293-1297 (1979).
- 4) Koefler H. P., *Semin. Hematol.*, **23**, 223-236 (1986).
- 5) Collins S. J., *Blood*, **72**, 567-572 (1988).
- 6) Zheng X., Ravatn R., Lin Y., Shih W.-C., Rabson A., Strair R., Huberman E., Conney A., Chin K. V., *Nucleic Acids Res.*, **30**, 4489-4499 (2002).
- 7) Han Z. T., Zhu X. X., Yang R. Y., Sun J. Z., Tian G. F., Liu X. J., Cao G. S., Newmark H. L., Conney A. H., Chang R. L., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **95**, 5357-5361 (1998).
- 8) Han Z. T., Tong Y. K., He L. M., Zhang Y., Sun J. Z., Wang T. Y., Zhang H., Cui Y. L., Newmark H. L., Conney A. H., Chang R. L., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **95**, 5362-5365 (1998).
- 9) Strair R. K., Schaar D., Goodell L., Aisner J., Chin K. V., Eid J., Senzon R., Cui X. X., Han Z. T., Knox B., Rabson A. B., Chang R., Conney A., *Clin. Cancer Res.*, **8**, 2512-2518 (2002).
- 10) Uchiumi F., Sakakibara G., Sato J., Tanuma S., *Genes Cells*, **13**, 1229-1248 (2008).
- 11) Uchiumi F., Komuro M., Mizuta R., Tanuma S., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **321**, 355-363 (2004).
- 12) Uchiumi F., Enokida K., Shiraishi T., Masumi A., Tanuma S., *Gene*, **463**, 8-17 (2010).
- 13) Lin J.-X., Bhat N. K., John S., Queale W. S., Leonard W. J., *Mol. Cell. Biol.*, **13**, 6201-6210 (1993).
- 14) Uchiumi F., Watanabe T., Tanuma S., *Exp. Cell. Res.*, **316**, 1523-1534 (2010).
- 15) López-Rodríguez C., Corbí A. L., *Eur. J. Immunol.*, **27**, 1843-1847 (1997).
- 16) O'Reilly D., Quinn C. M., El-Shanawany T., Gordon S., Greaves D. R., *J. Biol. Chem.*, **278**, 21909-21919 (2003).
- 17) Uchiumi F., Miyazaki S., Tanuma S., *Cell. Mol. Life Sci.*, **68**, 2039-2051 (2011).
- 18) Sevinsky J. R., Whalen A. M., Ahn N. G., *Mol. Cell. Biol.*, **24**, 4534-4545 (2004).
- 19) Phillips D. R., Charo I. F., Parise L. V., Fit-

- gerald L. A., *Blood*, **71**, 831–843 (1998).
- 20) Dorsey J. F., Cunnick J. M., Mane S. M., Wu J., *Blood*, **99**, 1388–1397 (2002).
- 21) Masumi A., Hamaguchi I., Kuramitsu M., Mizukami T., Takizawa K., Momose H., Naito S., Yamaguchi K., *FEBS Lett.*, **583**, 3493–3500 (2009).
- 22) Stellacci E., Testa U., Petrucci E., Bendetti E., Orsatti R., Feccia T., Stafnes M., Marziali G., Battistini A., *Biochem. J.*, **377**, 367–378 (2004).
- 23) Cho H. Y., Lee S. W., Seo S. K., Choi I. W., Choi I., Lee S. W., *Biochim. Biophys. Acta*, **1779**, 811–819 (2008).
- 24) Chen L., *Nat. Rev. Immunol.*, **4**, 336–347 (2004).
- 25) Rouyez M. C., Lestingi M., Charon M., Fichelson S., Buzyn A., Dusanter-Fourt I., *J. Immunol.*, **174**, 3948–3958 (2005).
- 26) Berry M. P., Graham C. M., McNab F. W., Xu Z., Bloch S. A. A., Oni T., Wilkinson K. A., Banchereau R., Skinner J., Wilkinson R. J., Quinn C., Blankenship D., Dhawan R., Cush J. J., Mejias A., Ramilo O., Kon O. M., Pascual V., Banchereau J., Chaussabel D., O’Garra A., *Nature*, **466**, 973–977 (2010).
- 27) Schoggins J. W., Wilson S. J., Panis M., Murphy M. Y., Jones C. T., Bieniasz P., Rice C. M., *Nature*, **472**, 481–485 (2011).
- 28) Yang Z., Wara-Aswapati N., Chen C., Tsukada J., Auron P. E., *J. Biol. Chem.*, **275**, 21272–21277 (2000).
- 29) Avots A., Hoffmeyer A., Flory E., Cimanis A., Rapp U. R., Serfling E., *Mol. Cell. Biol.*, **17**, 4381–4389 (1997).
- 30) Kasza A., Wyrzykowska P., Horwacik I., Tymoszek P., Mizgalska D., Palmer K., Rokita H., Sharrocks A. D., Jura J., *BMC Mol. Biol.*, **11**, 14 (2010).
- 31) Xue H. H., Bollenbacher J., Rovella V., Tripuraneni R., Du Y. B., Liu C. Y., Williams A., McCoy J. P., Leonard, W. J., *Nat. Immunol.*, **5**, 1036–1044 (2004).
- 32) Grenningloh R., Tai T. S., Frahm N., Hongo T. C., Chicoine A. T., Brander C., Kaufmann D. E., Ho I. C., *J. Immunol.*, **186**, 969–976 (2011).
- 33) Yu S., Zhao D. M., Jothi R., Xue H. H., *J. Biol. Chem.*, **285**, 10179–10188 (2010).
- 34) Taoudi S., Bee T., Hilton A., Knezevic K., Scott J., Willson T. A., Collin C., Thomas T., Voss A. K., Kile B. T., Alexander W. S., Pimanda J. E., Hilton D. J., *Genes Dev.*, **25**, 251–262 (2011).
- 35) Guitierrez-Hartmann A., Duval D. L., Bradford A. P., *Trends Endocrinol. Metab.*, **18**, 150–158 (2007).
- 36) Fernandez-Alvarez A., Soledad Alvarez M., Cucarella C., Casado M., *J. Biol. Chem.*, **285**, 11765–11774 (2010).
- 37) Hoo R. L. C., Chu J. Y. S., Yuan Y., Yeung C. M., Chan K. Y. Y., Chow B. K. C., *Gene*, **463**, 29–40 (2010).
- 38) Zou Y., Ding L., Coleman M., Wang Z., *FEBS Lett.*, **583**, 1368–1374 (2009).
- 39) Delattre O., Zucman J., Plougastel B., Desmaziere C., Melot T., Peter M., Kovar H., Joubert I., de Jong P., Rouleau G., Aurias A., Thomas G., *Nature*, **359**, 162–165 (1992).
- 40) Gangwal K., Sankar S., Hollenhorst P. C., Kinsey M., Haroldsen S. C., Shah A. A., Boucher K. M., Watkins W. S., Jorde L. B., Graves B. J., Lessnick L., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **105**, 10149–10154 (2008).
- 41) Guillon N., Tirode F., Boeva V., Zynovyev A., Barillot E., Delattre O., *PLoS One*, **4**, e4932 (2009).
- 42) Kovar H., *Genome Med.*, **2**, 8 (2010).
- 43) Luo W., Gangwal K., Sankar S., Boucher K. M., Thomas D., Lessnick S. L., *Oncogene*, **28**, 4126–4132 (2009).
- 44) Garcia-Aragoncillo E., Carrillo J., Lalli E., Agra N., Gomez-Lopez G., Pestana A., Alonso J., *Oncogene*, **27**, 6034–6043 (2008).
- 45) Gangwal K., Close D., Enriquez C. A., Hill C. P., Lessnick S. L., *Genes Cancer*, **1**, 177–187 (2010).
- 46) Hollenhorst P. C., Shah A. A., Hopkins C., Graves B. J., *Genes Dev.*, **21**, 1882–1894 (2007).
- 47) Moffatt P., Gaumond M.-H., Salois P., Sellin K., Bessette M.-C., Godin E., de Oliveira P. T., Atkins G. J., Nanci A., Thomas G., *J. Bone Mineral Res.*, **23**, 1497–1508 (2008).
- 48) Riemenschneider M., Buschges R., Wolter M., Reifenberger J., Bostrom J., Kraus J. A., Schlegel U., Reifenberger G., *Cancer Res.*, **59**, 6091–6096 (1999).

- 49) Lowenstein E. J., Daly R. J., Batzer A. G., Li W., Margolis B., Lammers R., Ullrich A., Skolnik E. Y., Bar-Sagi D., Schlessinger J., *Cell*, **70**, 431–442 (1992).
- 50) Geiss-Friedlander R., Melchior F., *Nat. Rev. Mol. Biol.*, **8**, 947–956 (2007).
- 51) Ulrich H. D., Walden H., *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **11**, 479–489 (2010).
- 52) Morris J. R., Boutell C., Keppler M., Den-sham R., Weekes D., Alamshah A., Butler L., Galanty Y., Pangon L., Kiuchi T., Ng T., Solomon E., *Nature*, **462**, 886–890 (2009).
- 53) Huen M. S. Y., Sy S. M. H., Chen J., *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **11**, 138–148 (2010).
- 54) Alpi A. F., Patel K. J., *DNA Repair*, **8**, 430–435 (2009).
- 55) Nakada S., Tai I., Panier S., Al-Hakim A., Iemura S., Juang Y.-C., O'Donnell L., Kumakubo A., Munro M., Sicheri F., Gingras A.-C., Natsume T., Suda T., Durocher D., *Nature*, **466**, 941–946 (2010).
- 56) Steer J. H., Kroeger K. M., Abraham L. J., Joyce D. A., *J. Biol. Chem.*, **275**, 18432–18440 (2000).
- 57) Amir-Ahmady B., Salati L. M., *J. Biol. Chem.*, **276**, 10514–10523 (2001).
- 58) Irimia J. M., Meyer C. M., Peper C. L., Zhai L., Bock C. B., Previs S. F., McGuinness O. P., DePaoli-Roach A., Roach P. J., *J. Biol. Chem.*, **285**, 12851–12861 (2010).
- 59) Di Daniel E., Mok M. H. S., Mead E., Mutinelli C., Zambello E., Caberlotto L. L., Pell T. J., Langmead C. J., Shah A. J., Duddy G., Kew J. N. C., Maycox P. R., *BMC Cell Biol.*, **10**, 54 (2009).
- 60) Nilsson M., Dahlman-Wright K., Karelmo C., Gustafsson J., Steffensen K. R., *Nucleic Acids Res.*, **35**, 4858–4868 (2007).
- 61) Sementchenko V. I., Watson D. K., *Oncogene*, **19**, 6533–6548 (2000).
- 62) Bina M., Wyss P., Ren W., Szpankowski W., Thmas E., Randhawa R., Reddy S., John P. M., Pares-Matos E. I., Stein A., Xu H., Lazarus S. A., *Genomics*, **84**, 929–940 (2004).
- 63) FitzGerald P. C., Shlyakhtenko A., Mir A. A., Vinson C., *Genome Res.*, **14**, 1562–1574 (2004).
- 64) Xie X., Lu J., Kulbokas E. J., Golub T. R., Mootha V., Lindblad-Toh K., Lander E. S., Kellis M., *Nature*, **434**, 338–345 (2005).
- 65) Wei G. H., Badis G., Berger M. F., Kivioja T., Palin K., Enge M., Bonke M., Jolma A., Varjosalo M., Gehrke A. R., Yan J., Talukder S., Turunen M., Taipale M., Stunnenberg H. G., Ukkonen E., Hughes T. R., Bulyk M. L., Taipale J., *EMBO J.*, **29**, 2147–2160 (2010).
- 66) Oikawa T., Yamada T., *Gene*, **303**, 11–34 (2003).
- 67) Hsu T., Trojanowska M., Watson D. K., *J. Cell. Biochem.*, **91**, 896–903 (2004).
- 68) Bartel F. O., Higuchi T., *Oncogene*, **19**, 6443–6454 (2000).
- 69) Xu D., Dwyer J., Li H., Duan W., Liu J. P., *J. Biol. Chem.*, **283**, 23567–23580 (2008).
- 70) Hsu C. P., Hsu N. Y., Lee L. W., Ko J. L., *Eur. J. Cancer*, **42**, 1466–1474 (2006).
- 71) Baillat D., Laitem C., Leprivier G., Margerin C., Aumercier M., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **378**, 213–217 (2009).
- 72) Xu D., Watson T. J., Chan D., De Luca E., Zhou J., Herzog P. J., Kola I., *EMBO J.*, **21**, 4081–4093 (2002).
- 73) Kawase T., Ichikawa H., Ohta T., Nozaki N., Tashiro F., Ohki R., Taya Y., *Oncogene*, **27**, 3797–3810 (2008).
- 74) Burch L. R., Scotto M., Pohler E., Meek D., Hupp T., *J. Mol. Biol.*, **337**, 115–128 (2004).
- 75) Bosman J. D., Yehiely F., Evans J. R., Cryns V. L., *Breast Cancer Res. Treat.*, **119**, 63–70 (2010).
- 76) Prescott J. D., Koto K. S. N., Singh M., Gutierrez-Hartmann A., *Mol. Cell. Biol.*, **24**, 5548–5564 (2004).
- 77) Nakerakanti S. S., Kapanadze B., Yamasaki M., Markiewicz M., Trojanowska M., *J. Biol. Chem.*, **281**, 25259–25269 (2006).
- 78) Chi P., Chen Y., Zhang L., Guo X., Wongvipat J., Shamu T., Fletcher J. A., Dewell S., Maki R. G., Zheng D., Antonescu C. R., Allis C. D., Sawyers C. L., *Nature*, **467**, 849–853 (2010).
- 79) Berger M. F., Lawrence M. S., Demichelis F., Drier Y., Cibulskis K., Sivachenko A. Y., Sboner A., Esgueva R., Pflueger D., Sougnez C., Onofrio R., Carter S. L., Park K., Habegger L., Ambrogio L., Fennell T., Parkin M., Saksena G., Voet D., Ramos A. H., Pugh T. J., Wilkinson J., Fisher S., Winckler W., Ma-

- han S., Ardlie K., Baldwin J., Simons J. W., Kitabayashi N., MacDonald T. Y., Kantoff P. W., Chin L., Gabriel S. B., Gerstein M. B., Golub T. R., Meyerson M., Tewari A., Lander E. S., Getz G., Rubin M. A., Garraway L. A., *Nature*, **470**, 214–220 (2011).
- 80) Soldatenkov V. A., Albor A., Patel B. K., Dreszer R., Dritschilo A., Notario V., *Oncogene*, **18**, 3954–3962 (1999).
- 81) Park J. S., Qiao L., Gilfor D., Yang M. Y., Hylemon P. B., Benz C., Darlington G., Firestone G., Fisher P. B., Dent P., *Mol. Biol. Cell*, **11**, 2915–2932 (2000).
- 82) Zhivotovsky B., Orrenius S., *Exp. Cell Res.*, **316**, 1374–1383 (2010).
- 83) Pei H., Li C., Adereth Y., Hsu T., Watson D. K., Li R., *Cancer Res.*, **65**, 7205–7213 (2005).
- 84) Kihara-Negishi F., Yamada T., Kubota Y., Kondoh N., Yamamoto H., Abe M., Shirai T., Hashimoto Y., Oikawa T., *Int. J. Cancer*, **76**, 523–530 (1998).
- 85) Oikawa T., Yamada T., Kihara-Negishi F., Yamamoto H., Kondoh N., Hitomi Y., Hashimoto Y., *Cell Death Differ.*, **6**, 599–608 (1999).
- 86) Birdsey G. M., Dryden N. H., Amsellem V., Gebhardt F., Sahnun K., Haskard D. O., Dejana E., Mason J. C., Randi A. M., *Blood*, **111**, 3498–3506 (2008).
- 87) Dejana E., Taddei A., Randi A. M., *Biochim. Biophys. Acta*, **1775**, 298–312 (2007).
- 88) Wei G., Srinivasan R., Cantemir-Stone C. Z., Sharma S. M., Santhanam R., Weinstein M., Muthusamy N., Man A. K., Oshima R. G., Leone G., Ostrowski M. C., *Blood*, **114**, 1123–1130 (2009).
- 89) Cao X., Littlejohn J., Rodarte C., Zhang L., Martino B., Rascoe P., Hamid K., Jupiter D., Smythe W. R., *Am. J. Pathol.*, **175**, 2207–2216 (2009).
- 90) Hashiguchi K., Tsuchiya H., Tomita A., Ueda C., Akechi Y., Sakabe T., Kurimasa A., Nozaki M., Yamada T., Tsuchida S., Shiota G., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **391**, 621–626 (2010).
- 91) Matsuoka S., Tsuchiya H., Sakabe T., Watanabe Y., Hoshikawa Y., Kurimasa A., Itamochi H., Harada T., Terakawa N., Masutani H., Yodoi J., Shiota G., *Cancer Sci.*, **99**, 2485–2490 (2008).
- 92) Li Y. Y., Wu Y., Tsuneyama K., Baba T., Mukaida N., *Cancer Sci.*, **100**, 396–404 (2009).
- 93) Omata K., Suzuki R., Masaki T., Miyamura T., Satoh T., Suzuki T., *Apoptosis*, **13**, 929–937 (2008).
- 94) Frampton J., Ramqvist T., Graf T., *Genes Dev.*, **10**, 2720–2731 (1996).
- 95) Li X. R., Chong A. S., Wu J., Roebuck K. A., Kumar A., Parrillo J. E., Rapp U. R., Kimberley R. P., Williams J. W., Xu X., *J. Biol. Chem.*, **274**, 35203–35210 (1999).
- 96) Chow W., Fang J., Yee J., *J. Immunol.*, **164**, 3512–3518 (2000).
- 97) Carey M. F., Peterson C. L., Smale S. T., “Transcriptional Regulation in Eukaryotes, Chapter 12, Transcription and preinitiation complex assembly *in vitro*,” 2nd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Plainview, 2009, pp. 439–538.
- 98) Turner B. M., “Chromatin and Gene Regulation: Mechanisms in Epigenetics, Chapter 2, Transcription in eukaryotes: The problems of complexity,” Blackwell Publishing Ltd., Malden, 2001, pp. 25–43.
- 99) Yang C., Bolotin E., Jiang T., Sladek F. M., Martinez E., *Gene*, **389**, 52–65 (2007).
- 100) Foulds C. E., Hawley D. K., *Nucleic Acid Res.*, **25**, 2485–2494 (1997).
- 101) Boros J., Donaldson I. J., O’Donnell A., Odrowaz Z. A., Zeef L., Lupien M., Meyer C. A., Shirley Liu X., Brown M., Sharrocks A. D., *Genome Res.*, **19**, 1963–1973 (2009).
- 102) Chang C. H., Scott G. K., Baldwin M. A., Benz C. C., *Oncogene*, **18**, 3682–3695 (1999).
- 103) Defossez P. A., Baert J. L., Monnot M., de Launoit Y., *Nucleic Acids Res.*, **25**, 4455–4463 (1997).
- 104) Yaneva M., Kippenberger S., Wang N., Su Q., McGarvey M., Nazarian A., Lacomis L., Erdjument-Bromage H., Tempst P., *J. Immunol.*, **176**, 6906–6017 (2006).
- 105) Agarkar V. B., Babayeva N. D., Wilder P. J., Rizzino A., Tahirov T. H., *J. Mol. Biol.*, **397**, 278–289 (2010).
- 106) Mavrothalassitis G., Ghysdael J., *Oncogene*, **19**, 6524–6532 (2000).
- 107) Marecki S., Riendeau C. J., Liang M. D., Fen-

- ton M. J., *J. Immunol.*, **166**, 6829–6838 (2001).
- 108) Wieratra I., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **372**, 1–13 (2008).
- 109) Pastorcic M., Das H. K., *Eur. J. Biochem.*, **271**, 4485–4494 (2004).
- 110) Kumar P., Garg R., Bolden G., Pandey K. N., *J. Biol. Chem.*, **285**, 37521–37530 (2010).
- 111) Jiang P., Kumar A., Parrillo J. E., Dempsey L. A., Platt J. L., Prinz R. A., Xu X., *J. Biol. Chem.*, **277**, 8989–8998 (2002).
- 112) Kemler I., Schaffner W., *FASEB J.*, **4**, 1444–1449 (1990).
- 113) Kwon U. K., Yen P. H., Collins T., Wells R. A., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **344**, 146–154 (2006).
- 114) Liu M., Leibowitz J. L., Clark D. A., Mendicino M., Ning Q., Ding J. W., D’Abreo C., Fung L., Marsden P. A., Levy G. A., *Eur. J. Biochem.*, **270**, 2274–2286 (2003).
- 115) Liu M., Mendicino M., Ning Q., Ghanekar A., He W., McGilvray I., Shalev I., Clark D. A., Phillips M. J., Levy G. A., *J. Immunol.*, **176**, 7028–7038 (2006).
- 116) Muller S., Maas A., Islam T. C., Sideras P., Suske G., Philipsen S., Xanthopoulos K. G., Hendriks R. W., Smith C. I. E., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **259**, 364–369 (1999).
- 117) Brunner C., Wirth T., *Nucleic Acids Res.*, **34**, 1807–1815 (2006).
- 118) Bradford A. P., Conrad K. E., Wasylyk C., Wasylyk B., Gutierrez-Hartmann A., *Mol. Cell. Biol.*, **15**, 2849–2857 (1995).
- 119) Turner E. C., Kinsella B. T., *J. Mol. Biol.*, **386**, 579–597 (2009).
- 120) Hollenhorst P. C., Chandler K. J., Poulsen R. L., Johnson W. E., Speck N. A., Graves B. J., *PLoS Genet*, **5**, e1000778 (2009).
- 121) Oikawa T., *Cancer Sci.*, **95**, 626–633 (2003).