さまざまなストレスに応答する不思議な酵素：ヘムオキシゲナーゼ

藤田博美,^a 武田和久,^a 伊原直美,^b 三谷絹子^c

東北大学医学部応用生理学講座,^a 岡山大学医学部産科婦人科学講座,^b 東京大学医学部第
三内科学講座^c

Heme Oxygenase as a Shock Protein

HIROYOSHI FUJITA,^a KAZUHISA TAKEDA,^a NAOMI IHARA^b and KINUKO MITANI^c

Department of Applied Physiology and Molecular Biology, Tohoku University School of Medicine,^a

Department of Obstetrics and Gynecology, Okayama University School of Medicine^b and

The 3rd Department of Internal Medicine, University of Tokyo Faculty of Medicine^c

Heme oxygenase (HO: EC 1.14.99.3) is a key enzyme for heme catabolism and catalyzes the oxidative degradation of heme to form biliverdin IX α , an immediate precursor of bilirubin. The HO activity can be induced by treatment with hemin, the substrate itself, as well as with various other non-heme stress inducers. Recently, it has been shown that HO is a major 32 kDa stress protein inducible by treatments with heavy metals, heat shock, or acute phase inducers. The induction of HO is considered to be a member of the defense system against environmental hazards, because bilirubin is one of the antioxidants. Among two isozymes of HO, *i.e.*, HO-1 and HO-2, only HO-1 is inducible. In the present article, therefore, we described the molecular mechanisms of HO-1 gene activation by environmental hazards. We also discussed the HO-1 gene regulation during differentiation of erythrocytes and monocytes.

Keywords — heme oxygenase; isozyme; gene activation; heat shock; acute phase; heavy metal

1. ヘムオキシゲナーゼとは？

チトクロム P-450, ヘモグロビン等の補欠分子族であるプロトヘムは, ミクロソームに存在するヘムオキシゲナーゼ (HO: EC 1.14.99.3) により分解されてビリベルジン IX α , 鉄及び一酸化炭素 (CO) となり, ビリベルジンはさらにサイトゾール中のビリベルジンリダクターゼによりビリルビン IX α へと代謝される. HO はヘム分解系の律速酵素と考えられており, 基質であるヘム (あるいはヘミン) によって誘導されることが知られている.

通常, 酵素は基質に対する十分な capacity をもっている. 合成系の酵素においては基質量を変化させることが難しいので, 律速酵素の誘導 (言い替えれば Vmax の増加) が産物の量を調節するうえで重要な役割を果たしている. しかしながら, 分解系において基質量の増加は酵素が本来有している過剰な

capacity によりかなりな程度まで代謝可能な筈であり, HO がヘムにより著明に誘導される必然性がどこまで存在するかは疑問である. さらに HO は基質ばかりでなくコバルト, カドミウム, ヒ素, 亜鉛等の金属, あるいはプロモベンゼンによっても誘導されることが知られていたが, このような誘導が (i) どのような機構により起こるのか, (ii) どのような生理的意義が存在するのかは分かっていなかった.

例えばプロモベンゼンは HO を誘導してヘムの分解を亢進させるばかりでなく,¹⁾ ヘム合成系の δ -アミノレブリン酸脱水酵素の蛋白合成を低下させることによりヘムの合成そのものを阻害することが知られている.²⁾ このことはプロモベンゼン投与により, 基質であるヘムの合成量そのものが減少するにもかかわらず HO が誘導されることを示しており, なぜ誘導されるのか, あるいはどのような機構で誘

Fig. 1. Comparison of Human HO-1 and HO-2

■: Conserved domain whose homology between HO-1 and HO-2 is more than 60%.

▒: Domain whose homology between HO-1 and HO-2 is around 30%.

□: HO-1 or HO-2 specific domain whose homology is less than 10%.

His: Conserved histidine residue.

導されるのかという興味深い問題を提示している。

近年、柴原らにより HO 遺伝子がクローニングされ、^{3,4)} ラット HO が熱ショック蛋白であることが明らかにされて以来、急速に HO の研究が進展した。最近では、HO の産物のひとつである CO は一酸化窒素 (NO) との構造上の類似性から神経伝達物質ではないかとの指摘もなされており、^{5,6)} ビリルビンの抗オキシダント活性^{7,8)} による生態防御系としての HO, あるいは鉄の再利用系を構成する因子としての HO という観点をもふくめてその機能が見直されつつある。同時に骨髓細胞系の分化にともなう HO-1 発現の変化も明らかになってきており、その役割の解析も待たれる。

最近になって、従来知られていた誘導能のある HO (HO-1) だけでなく、誘導されないアイソザイム (HO-2) が存在し、^{9,10)} 機能をもつことが明らかとなった。¹¹⁾ ヒトでは HO-1 の分子量が 33 kDa であるのに対して HO-2 は C 末端に 20 アミノ酸残基多いため 36 kDa の分子量をもっており、両者の共通部位 288 アミノ酸残基における相同性は 45.8% であった (Fig. 1).^{12,13)} ことに活性に関係すると考えられる His 残基¹⁴⁾ のうち 4 個 (His^{25,84,119,132}) が HO-1, HO-2 の間で保存されているのが注目される。HO-1 はヒト染色体上では 22 q 12 に、HO-2 は 16 p 13.3 に存在する。^{15,16)} これらのアイソザイムの発現がどのように相互調節されているのか、あるいはアイソザイム間に機能分担はあるのかという問題は非常に興味深い。本稿では中毒学と関連の深い HO-1 とその誘導機構を中心に記述する。HO の全体像の詳細については柴原による最近の総説¹⁷⁾ を参照されたい。

2. HO-1 は熱ショックエレメント (HSE) をもつ

発見者の柴原の総説¹⁸⁾ にあるようにラット HO 遺伝子転写開始点の上流 -290/-276 bp には HSE

(GTTCTGGAACCTTCC) が存在しており、HO は熱ショックにより著明な誘導を受ける。³⁾ 最近になって -221/-212 bp の位置にも HSE (HSE-2: GTTCTGGAAA; 前者を HSE-1 として区別する) が存在することが分かった。¹⁹⁾ この HSE-2 は、単独では熱ショックによる HO 誘導をひきおこさないが、HSE-1 による誘導を増幅する。¹⁹⁾ 一方、ヒト HO においては HSE (-384/-370 bp: TTTCTCGGAACCTTCT) が存在するにもかかわらず多くの細胞系において熱ショックによる誘導は認められていなかった。我々は、ヒト hep 3 B 細胞においては熱処理により HO が誘導されるばかりでなく (Fig. 2A),²⁰⁾ 熱ショックにより結合活性の増加する HO-HSE を認識する蛋白因子が発現していること (Fig. 2B), この蛋白因子の結合活性の増加には新たな蛋白合成が必須であることを明らかにした。²¹⁾ ヒト hepG 2 細胞の熱処理では 70 kDa の熱ショック蛋白 (hsp 70) の誘導は認められるにもかかわらず、本蛋白因子は発現しておらず、HO の誘導も認められなかった。²²⁾ これらのことはヒトには HO-HSE を認識する特異的な因子が存在することを示唆している。ただ、ヒト HO の HSE は本来は Hep 3 B 細胞のように機能するものでありガン化の過程でその発現が失われたものなのか、あるいはその機能はサイレンサーによりあらかじめ抑制されているものなのかは未だに明らかではない。

3. HO-1 は急性期蛋白である

急性期反応は感染や組織傷害などに対する生体の初期防衛反応である。以前から HO は種々のストレス因子により誘導されることが知られており、²³⁾ 生体の防御機構の一端を担っているのではないかと考えられていた。そこで我々は HO が急性期蛋白である可能性を確かめるため、急性期反応の主要なメディエーターである IL-6 の HO に対する作用を調べた。その結果、IL-6 処理によりヒト hep 3 B 細胞において HO が誘導された (Fig. 3).²⁴⁾ この現象は cycloheximide により阻害されなかったので転写因子の新たな合成は必要ではないと考えられ、一方ではヒト HO 遺伝子転写開始点上流の -94/-85 bp に存在する IL-6 Response Element (IL-6 RE) が関与していることが示された。²⁵⁾ さらに急性期反応類似の反応を引き起こすことが知られている IL-1 あるいは腫瘍壊死因子 (TNF) を投与したマウス肝においても HO が誘導される。^{26,27)} したがって HO の誘導機序のうち少なくとも一部は、急性期反応を介することが明らかになった。

Fig. 2. Induction of HO-1 in human Hep3B cells

(A) Changes in HO-1 transcripts in Hep3B cells after heat treatment (43.5°C) was analyzed by Northern blot analysis.

(B) Identification of a heat-inducible nuclear protein-DNA complex in Hep3B cells. (a) DNA fragments used in gel mobility shift assay. (b) Gel-retardation analysis using nuclear extracts from Hep3B cells. (c) Gel-retardation analysis using nuclear extract from HepG2 cells. Heat treatment was at 43.5°C, for 60 min, followed by incubation at 37°C for 3 h. A specific protein-DNA complex is shown as Band H in (b).

Fig. 3. Induction of HO-1 mRNA (A) and Haptoglobin mRNA (B) by IL-6

Changes in mRNA for HO-1 and haptoglobin were determined in hep3B cells treated with IL-6 (100 U/ml). IL-6 treatment induced HO-1 mRNA and haptoglobin mRNA to 5-times and to 25-times respectively.

4. 重金属によるHO-1の誘導には少なくとも2つの機序がある

HO-1はカドミウム、コバルト、セレン、クロム、銅、亜鉛、ヒ素等の金属により転写レベルで誘導される。²⁸⁾ 金属により誘導される代表的蛋白としてメタロチオネイン(MT)が上げられるが、HOとMTの金属による誘導が同一の機構によるものか否かは興味深い問題であった。従来は、金属によるHOの誘導はMRE (Metal Response Element) を介していると考えられてきた。しかしながら、我々の得た結果によれば、スズやカドミウムはそれぞれ Sn^{2+} 及び Cd^{2+} としてHOを誘導できるにもかかわらず、コバルト、亜鉛はポルフィリン環に配位して始

めてHOを誘導する(Fig. 4)。²⁹⁾ しかもスズ、カドミウムはHOのみならず hsp 70 を誘導するが、コバルト、亜鉛及びヘムはHOのみを誘導する。これらのことは、コバルトあるいは亜鉛ポルフィリンはヘム(鉄プロトポルフィリン)と共通した機構で(Heme Response Element を介して)HOを誘導することを示唆している。コバルトポルフィリンによるHO誘導はcycloheximideにより阻害されず、本誘導機序においては新たな蛋白因子の合成は必要ではないことが示された。一方MTにおいては亜鉛及びカドミウムに共通のMREが同定されているので、これらの結果はMTとHOのこれらの金属による誘導機序が異なっていることを示唆していた。

これに関連して、金属ポルフィリンがエリスロポエチンを誘導することが知られており、したがって低酸素状態ではヘムはエリスロポエチンの酸素センサーとして機能していると考えられている。³⁰⁾ 一方、HOはCHO (Chinese hamster ovary) 細胞で低酸素状態に反応するORP 33 (33 kDaのoxygen regulated protein) であることが判明している。³¹⁾ とすれば、ヘムはエリスロポエチンのみならずHOにおいても低酸素状態での酸素センサーとしての役割を果たしている可能性がある。実際に低酸素状態にしたラット脳内では、NRF-1結合領域(AGCG-CATGCGCA)を介してヘム合成系の律速酵素である一般型δ-アミノレブリン酸合成酵素(ALAS-N)³²⁾の合成が抑制されるにもかかわらず、HOの合成が亢進するという一見矛盾したヘム代謝の調節が行われている(Fig. 5)。シトクロームP-450 2D4の発現が抑制されたのはHOの誘導とALAS-N発現の抑制の結果と考えられる。この実験ではhsp 70の誘導は認められず、ヘムがHOにおいても酸素センサーであるとすれば、ポルフィリンに配位した金属はHOだけを誘導するという観察結果と良く一致している。同様に低酸素状態にしたラット右心室においてHOだけの誘導が認められたが、左心室、肝、肺等では誘導は認められず、³³⁾ 組織特異性の問題も含め今後の検討が必要であろう。

最近、我々の研究室でカドミウムによるヒトHO誘導に関与するシスエレメントが同定された。³⁴⁾ この実験ではヒトHOのプロモーター領域を含む5'端上流域18 kbをクローニングしてホタル・ルチフェラーゼ遺伝子に連結した融合遺伝子を構築、HeLa細胞に遺伝子導入を行い、カドミウムによる誘導に必要なシスエレメントを解析した。その結果、HO転写開始点の上流約-4 kbの位置にAGGCG-

Fig. 4. Effect of ALA (100 μ M), CoCl_2 (100 μ M), and succinylacetone (SA, 0.5 mM) on the level of HO-1 transcript

(A) Spectrophotometric study to demonstrate the formation of Co-protoporphyrin in hepatoma cells. The formation of Co-protoporphyrin was inhibited by SA, the specific inhibitor of ALA dehydratase.

(B) HepG2 (a) or hep3B (b) cells were incubated with chemicals for 24 h. Remarkable induction of HO-1 was observed after Co-protoporphyrin formation. The induction was inhibited by the treatment with SA, suggesting that Co-protoporphyrin but not Co itself can induce HO-1.

Fig. 5. Changes in mRNAs for HO-1 (▼), ALA Synthase (ALAS-N: ■), Cytochrome P-450 2D4 (●), and Hsp70 (▽) in Rat Brain after Hypoxia

Rats were exposed to 10% O₂ as described previously,³³⁾ followed by Northern blot analysis.
Note: Effect of hypoxia on HO-1 (hsp32) is far different from that of hsp70.

GATTTTGCTAGATTTというカドミウム応答領域が見いだされた。本領域はコバルトポルフィリン、ヘムによるHO誘導にも関係せず、カドミウムに対する特異性の高いことが示唆された。この領域に特異的に結合する核蛋白がゲルモビリティシフトアッセイにより検出されたが、その結合活性はカドミウム処理の有無により変化せず、おそらくは転写活性の増減によりHOの誘導が引き起こされているものと考えられる。この20 bpのなかでTGCTAGATTT領域がカドミウムによるHO誘導に必須であった。高等動物のMTに存在するMREの共通配列はTGCRCNC (R=プリン)であり、³⁵⁻³⁷⁾ HOのカドミウムによる誘導機序がMTと異なることが明らかとなった。HOがなぜカドミウムにより誘導されるかという生理的意義は未だに不明であるが、今後HOと共通する機序により誘導される蛋白群を見いだすことによりその意義が解明されることが期待される。そうした意味において、カドミウムによりHOとともに誘導されるhsp70の解析に興味をもたれる。

5. 活性酸素はHO-1を誘導するか？

生体内では、様々な要因により活性酸素（あるいはフリーラジカル）による酸化ストレスが発生する。

（厳密には活性酸素の関与するものが酸化ストレスと呼ばれるが、本稿では広義に用いる。）このような酸化ストレスに対する防御系として、グルタチオンや、³⁸⁾カタラーゼ、スーパーオキシドディスムターゼ(SOD)、グルタチオンペルオキシダーゼ等の酵素が存在している。しかしながら有核細胞においては酸化ストレスによるこれらの酵素の誘導はあまり大きくないことが知られており、^{39,40)}哺乳類の酸化防御機構にストレスにより大きな誘導を受ける経路が存在するか否かに興味を持たれていた。そのような観点から、近紫外線、酸化剤である過酸化水素、カドミウムや銅などの重金属、SH試薬である亜硝酸ナトリウム等により誘導される32-34 kDaの蛋白が注目されていた。⁴¹⁻⁴⁷⁾1987年、柴原らによりラットHO遺伝子の構造が明らかにされ、⁴⁸⁾さらに熱ショック蛋白であること³⁾が発見されて以来、活性酸素を産生する12-O-テトラデカノイルホルボル-13-アセート (TPA)⁴⁹⁾あるいは近紫外線⁵⁰⁾により誘導されるショック蛋白のcDNAはHOをコードすること、32 kDaの蛋白がHOであることを証明する報告が相次いだ。^{28,49-51)}さらに1993年には、活性酸素を生成する虚血-再灌流⁵²⁾によってラットの肝臓⁵³⁾及び腎臓⁵⁴⁾のHOが誘導されるこ

とが報告された。Fig. 6は頸動脈の虚血-再灌流によりラット大脳皮質のHOのみならずALAS-Nが誘導されることを示している。

今日ではHOの誘導(抗オキシダント機能を有するビリルビン産生の増加^{7,8)})は酸化ストレスに対する防御反応の一環であり、生理的に合目的性をもつと考えられている。Tyrrellらは、HOの誘導は酸化ストレス一般に対する反応であるとして、そのストレスを(i)活性酸素あるいはラジカルを産生するもの、(ii)GSHレベルを低下させるものという2つのカテゴリーに分類している。⁵⁵⁾しかしながらヒトHO遺伝子発現調節機構の上では、亜硝酸ナトリウム、過酸化水素、ヘミン、カドミウム、TPAによるHO誘導の共通のシスエレメントは転写開始点上流-121 bpの中に存在するという報告のある⁵⁶⁾一方では、ヒトHOのTPA⁵⁷⁾に対するシスエレメント(GTCATATGAC:転写開始点上流-156/-147 bp)とカドミウム³⁶⁾に対するシスエレメント

(TGCTAGATTT:上流約-4 kb)は全く異なっていることが明らかにされている。またTPAに対するマウスHOのシスエレメントは上流約-4 kb離れた位置にあるAP-1結合領域であるという報告⁵⁸⁾の反面では、ヒト骨髄単球HOのTPAによる誘導にはAP-1結合領域は関与していないということ、TPAによるHOの誘導はむしろ細胞分化とかかわっていると考えられること(後述)が明らかにされており、⁵⁷⁾酸化ストレスという概念でHOの誘導を一括できるものか否か、今後の課題であろう。

一方、HOの産物である鉄はヒドロキシルラジカル(活性酸素の一種)を生成して細胞障害を起こす可能性がある。実際、ラット及びヒトの線維芽細胞あるいはブタ大動脈上皮細胞をヘミン、UV、ヒ素等により刺激すると、(i)まずHO、続いてフェリチンが誘導されること、⁵⁹⁻⁶¹⁾(ii)このフェリチンの誘導はHOの阻害剤あるいは鉄のキレート剤により阻害されること、したがってヘムから遊離した鉄がフェリチンを誘導していること、^{59,61)}(iii)突然変異を有するフェリチンには細胞を防御する能力がないこと、⁶⁰⁾したがってフェリチンが鉄による障害から細胞を防御していることが明らかにされている。また横紋筋融解症(Rhabdomyolysis)のモデルとしてグリセロールを投与したラット腎臓においてもHOのみならずフェリチンの誘導が認められており、過剰のミオグロビンから生体を防御していると考えられる。⁶²⁾

6. HOの発現調節は細胞分化と関連する

HOは以上に述べたようにストレス蛋白として発現調節されるばかりでなく、骨髄系細胞では分化に伴って調節されることが知られている。例えば赤血球分化のモデルとして用いられるマウスフレンド(MEL)細胞では、ジメチルスルフォキシド(DMSO)処理により赤血球型のヘム合成の開始よりも早くHOの発現が減少する(Fig. 7)。⁶³⁾このことは分化に必要なヘムを供給するうえでヘムの分解系の抑制は生物学的合目的性を有していると考えられる。さらに(i)DMSO処理したHepG2細胞ではHOはむしろ増加すること、(ii)分化誘導されていないMEL細胞ではヘムによりHOが誘導されること(Fig. 8)、(iii)赤血球分化にともないMEL細胞内のヘム濃度は50倍以上に増加するにもかかわらずHOが減少することを考え合わせれば、HO発現の抑制機構の解明は分化を理解するうえで意義があると考えられる。一方、hsp 70、ALAS-Nといったハウスキーピング型の蛋白もHOと同様に減少しており、⁶⁴⁾赤

Fig. 6. Effects of Ischemia/reperfusion on mRNAs for HO-1 and ALAS-N in the Brain

Not only HO-1, the key enzyme for heme catabolism, but also ALAS-N, the rate limiting enzyme for heme synthesis, were induced in rat brain after ischemia/reperfusion.

Fig. 7. Suppression of House Keeping Proteins during Erythroid Differentiation

Expression of hsp70 (●), HO-1 (○), and ALAS-N (□) were suppressed during the differentiation of mouse erythroleukemia (MEL) cells. Suppression of these mRNAs were observed after 6 to 12 h of treatment, while induction of enzymes for heme biosynthesis were observed after 12 h of treatment.

血球という特殊な細胞（通常の細胞では蛋白濃度は約15% (w/v) に過ぎないが、赤血球では35%以上 (w/v) がヘモグロビンという単一の蛋白で占められている）に分化するうえでハウスキーピング蛋白の発現抑制が先行することが重要なステップである可能性も存在する。赤血球型 ALAS の欠損のため赤血球分化の行えない MEL 細胞の DR (DMSO-resistant) 株においても、DMSO 処理による HO, ALAS-N の発現抑制は認められていること⁶⁵⁾はこの推測を裏付けている。

一方 TPA によりマクロファージ系に分化するマ

Fig. 8. Induction of HO-1 in MEL Cells by Hemin Treatment

Hemin treatment of MEL cells revealed that HO-1 in the cells can be induced by hemin. Thus, it is suggested that the mechanism to suppress HO-1 expression during erythroid differentiation is quite different from the HO-1 gene regulation by heme.

ウス M1 細胞,⁶⁶⁾ ヒト HL-60 細胞, ヒト U-937 細胞,^{67,68)} あるいは単球系に分化するヒト THP-1 細胞⁶⁹⁾ では、分化に伴い HO が著明に誘導される。⁵⁷⁾ この誘導現象は上述のごとく活性酸素を介する可能性もあるが、HeLa 細胞, メラノーマ系の MeWo, 線維芽細胞系の MRC-5 では TPA による HO の誘導は認められず、むしろ細胞分化に関連している可能性が高い。最近 THP-1 細胞分化に伴う HO 誘導の機序が明らかとなり、TPA による HO 誘導に参与するシスエレメントとして 5'-上流-156/-147 bp に存在する GTCATATGAC が同定された。⁵⁷⁾ さらにこのシスエレメントを認識する核蛋白のクローニングも行われており、興味深いことにラット胎生期肝, あるいはハーダー氏腺において HO の発現を調節する因子とファミリーを形成している可能性が示唆されている。今後 HO 発現が細胞分化とどのように関連しているかの解明が待たれる。

7. おわりに

以上述べてきたように HO はストレスあるいは細胞分化に関連する蛋白として分子生物学的のみならず、中毒学的にも臨床医学的にも興味深い存在であり、1987 年以来急速に研究が進展した。その一方では、ヘムによる誘導に参与するシスエレメント (HRE) が未だ同定されていないなど、今後に多くの課題が残されている。もしエリスロポエチンと HO の誘導機序がヘムを介して類似しているとすれば、エリスロポエチンの酸素センサーを介したシスエレメントは遺伝子の 3'-側下流に存在すること、⁷⁰⁾ 現在まで HO 発現に関する調節領域としては遺伝子の 5'-側上流だけを探索してきたことと関係するか

も知れない。

引用文献

- 1) P.S. Guzelian, N.A. Elshourbagy, *Arch. Biochem. Biophys.*, **196**, 178 (1979).
- 2) H. Fujita, N. Ishihara, *Brit. J. Indust. Med.*, **45**, 640 (1988).
- 3) S. Shibahara, R.M. Muller, H. Taguchi, *J. Biol. Chem.*, **262**, 12889 (1987).
- 4) S. Shibahara, M. Sato, R.M. Muller, T. Yoshida, *Eur. J. Biochem.*, **179**, 557 (1989).
- 5) S.H. Snyder, *Science*, **257**, 494 (1992).
- 6) A. Verma, D. Hirsh, C.E. Glatt, G.V. Ronnett, S.H. Snyder, *Science*, **259**, 381 (1993).
- 7) R. Stocker, A.N. Glaser, B.N. Ames, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **84**, 5918 (1987).
- 8) R. Stocker, Y. Yamamoto, A.F. McDonagh, A.N. Glaser, B.N. Ames, *Science*, **235**, 1043 (1987).
- 9) G.M. Trakshel, R.K. Kutty, M.D. Mines, *J. Biol. Chem.*, **261**, 11131 (1986).
- 10) I. Cruse, M.D. Maines, *J. Biol. Chem.*, **263**, 3348 (1988).
- 11) S. Shibahara, M. Yoshizawa, H. Suzuki, K. Takeda, K. Meguro, K. Endo, *J. Biochem. (Tokyo)*, **113**, 214 (1993).
- 12) T. Yoshida, P. Biro, T. Cohen, R.M. Muller, S. Shibahara, *Eur. J. Biochem.*, **171**, 457 (1988).
- 13) W.K. McCoubrey, J.F. Ewing Jr., M.D. Mines, *Arch. Biochem. Biophys.*, **295**, 13 (1992).
- 14) T. Yoshida, G. Kikuchi, *J. Biol. Chem.*, **253**, 4224 (1978).
- 15) A. Kuwano, H. Ikeda, K. Takeda, H. Nakai, I. Kondo, S. Shibahara, *Tohoku J. Exp. Med.*, **172**, 389 (1994).
- 16) R.K. Kutty, G. Kutty, I.R. Rodriguez, G.J. Chader, B. Wiggert, *Genomics*, **20**, 513 (1994).
- 17) S. Shibahara, "Regulation of Heme Protein Synthesis," ed. by H. Fujita, AlphaMed Press, Dayton, Ohio, 1994, pp.103-116.
- 18) 柴原茂樹, 生化学, **61**, 379 (1989).
- 19) S. Okinaga, S. Shibahara, *Eur. J. Biochem.*, **212**, 167 (1993).
- 20) K. Mitani, H. Fujita, S. Sassa, A. Kappas, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **165**, 437 (1989).
- 21) K. Mitani, H. Fujita, S. Sassa, A. Kappas, *Biochem. J.*, **277**, 895 (1991).
- 22) K. Mitani, H. Fujita, S. Sassa, A. Kappas, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **166**, 1429, (1990).
- 23) G. Kikuchi, T. Yoshida, *Mol. Cell. Biochem.*, **53/54**, 163 (1983).
- 24) K. Mitani, H. Fujita, A. Kappas, S. Sassa, *Blood*, **79**, 1255 (1992).
- 25) 福田好晃, 佐々 茂, 造血因子, **4**, 306 (1993).
- 26) L. Cantoni, C. Rossi, M. Rizzardini, M. Gadina, P. Ghezzi, *Biochem. J.*, **279**, 891 (1991).
- 27) M. Rizzardini, M. Terao, F. Falciani, L. Cantoni, *Biochem. J.*, **290**, 343 (1993).
- 28) S. Taketani, H. Kohno, T. Yoshinaga, R. Tokunaga, *Biochem. International*, **17**, 665 (1988).
- 29) K. Mitani, H. Fujita, Y. Fukuda, A. Kappas, S. Sassa, *Biocem. J.*, **290**, 819 (1993).
- 30) M.A. Goldberg, A. Glass, J.M. Cunningham, H.F. Bunn, *Science*, **242**, 1412 (1988).
- 31) B.J. Murphy, K.R. Laderoute, S.M. Short, R.M. Sutherland, *Brit. J. Cancer*, **64**, 69 (1991).
- 32) K. Yomogida, M. Yamamoto, T. Yamagami, H. Fujita, N. Hayashi, *J. Biochem. (Tokyo)*, **113**, 364 (1993).
- 33) D. Katayose, S. Isojima, H. Fujita, S. Shibahara, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **191**, 587 (1993).
- 34) K. Takeda, S. Ishizawa, M. Sato, T. Yoshida, S. Shibahara, *J. Biol. Chem.*, **269**, 22858 (1994).
- 35) M. Karin, A. Haslinger, A. Heguy, T. Dietlin, T. Cooke, *Mol. Cell. Biol.*, **7**, 606 (1987).
- 36) G.W. Stuart, P.F. Searle, R.D. Palmiter, *Nature (London)*, **317**, 828 (1985).
- 37) V.C. Culotta, D.H. Hamer, *Mol. Cell. Biol.*, **9**, 1376 (1989).
- 38) A. Meister, M.E. Anderson, *Ann. Rev. Biochem.*, **52**, 711 (1983).
- 39) T.M. Nicotera, A.W. Block, Z. Gibas, A.A. Sandberg, *Mutat. Res.*, **151**, 263 (1985).
- 40) J. Krall, A.C. Bagley, G.T. Mullenbach, R.A. Hallewell, R.E. Lynch, *J. Biol. Chem.*, **263**, 1910 (1988).
- 41) S.M. Keyse, R.M. Tyrrell, *J. Biol. Chem.*, **262**, 14821 (1987).

- 42) T. Hiwasa, S. Sakiyama, *Cancer Res.*, **46**, 2474 (1986).
- 43) D. Johnson, H. Oppermann, J. Jackson, W. Levinson, *J. Biol. Chem.*, **255**, 6975 (1980).
- 44) K.R. Shelton, J.M. Todd, P.M. Egle, *J. Biol. Chem.*, **261**, 1935 (1986).
- 45) M.M. Caltabiano, T.P. Koestler, G. Poste, R.G. Greig, *J. Biol. Chem.*, **261**, 13381 (1986).
- 46) M.M. Caltabiano, G. Poste, R.G. Greig, *Exp. Cell. Res.*, **176**, 31 (1988).
- 47) S.A. Whelan, L.E. Hightower, *J. Cell. Physiol.*, **122**, 205 (1985).
- 48) R.M. Muller, H. Taguchi, S. Shibahara, *J. Biol. Chem.*, **262**, 6795 (1987).
- 49) H. Kageyama, T. Hiwasa, K. Tokunaga, S. Sakiyama, *Cancer Res.*, **48**, 4795 (1988).
- 50) S.M. Keyse, R.M. Tyrrell, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **86**, 99 (1989).
- 51) S. Taketani, H. Kohno, T. Yoshinaga, R. Tokunaga, *FEBS Lett.*, **245**, 173 (1989).
- 52) D.A. Parks, G.B. Bulkley, D.N. Granger, S.R. Hamilton, J.M. McCord, *Gastroenterology*, **82**, 9 (1982).
- 53) L. Tacchini, L. Schiaffonati, C. Pappalardo, S. Gatti, A.B.-Zazzera, *Lab. Invest.*, **68**, 465 (1993).
- 54) M.D. Maines, R.D. Mayer, J.F. Ewing, W.K. McCoubrey Jr., *J. Pharm. Exp. Ther.*, **264**, 457 (1993).
- 55) L.A. Applegate, P. Luscher, R.M. Tyrrell, *Cancer Res.*, **51**, 974 (1991).
- 56) R.M. Tyrrell, L.A. Applegate, Y. Tromvoukis, *Carcinogenesis*, **14**, 761 (1993).
- 57) Y. Muraosa, S. Shibahara, *Mol. Cell. Biol.*, **13**, 7881 (1993).
- 58) J. Alam, D. Zhining, *J. Biol. Chem.*, **30**, 21894 (1992).
- 59) R.S. Eisenstein, D.G. Mayol, W. Pettingell, H.N. Munro, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **88**, 688 (1991).
- 60) G. Balla, H.S. Jacob, J. Balla, M. Rosenberg, K. Nath, F. Apple, J.W. Eaton, G.M. Vercellotti, *J. Biol. Chem.*, **267**, 18148 (1992).
- 61) G.F. Vile, R.M. Tyrrell, *J. Biol. Chem.*, **268**, 14678 (1993).
- 62) K.A. Nath, G. Balla, G.M. Vercellotti, J. Balla, H.S. Jacob, M.D. Levitt, M.E. Rosenberg, *J. Clin. Invest.*, **90**, 267 (1992).
- 63) H. Fujita, S. Sassa, *Brit. J. Haematol.*, **73**, 557 (1989).
- 64) H. Fujita, M. Yamamoto, T. Yamagami, N. Hayashi, T.R. Bishop, H. deVerneuil, T. Yoshinaga, S. Shibahara, R. Morimoto, S. Sassa, *Biochim. Biophys. Acta*, **1090**, 311 (1991).
- 65) H. Fujita, M. Yamamoto, T. Yamagami, N. Hayashi, S. Sassa, *J. Biol. Chem.*, **266**, 17494 (1991).
- 66) S.-I. Kurata, H. Nakajima, *Exp. Cell. Res.*, **191**, 89 (1990).
- 67) E. Huberman, M. Callahan, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **76**, 1293 (1979).
- 68) G. Rovera, D. Santoli, C. Dumsky, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **76**, 2779 (1979).
- 69) S. Tsuchiya, Y. Kobayashi, Y. Goto, H. Okumura, S. Nakae, T. Nakae, K. Tada, *Cancer Res.*, **42**, 1530 (1982).
- 70) A. Madan, P.T. Curtin, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **90**, 3928 (1993).
- 71) D. Katayose, M. Ohe, K. Yamauchi, M. Ogata, K. Shirato, H. Fujita, S. Shibahara, T. Taki-shima, *Amer. J. Physiol.*, **264**, L100 (1993).