

200400059B

厚生労働科学研究 研究費補助金

ヒトゲノム・再生医療等研究事業

薬物代謝系の制御機構の解明と薬剤に対する
生体側の感受性決定因子の探索

平成 14 年度～16 年度 総合研究報告書

主任研究者 山本 雅之

平成 17 (2005) 年 3 月

目 次

I. 総合研究報告	1
薬物代謝系の制御機構の解明と薬剤に対する 生体側の感受性決定因子の探索 山本雅之	
研究目標1 薬剤の急性毒性・晩発性毒性の 発症におけるNrf2-Keap1制御系の関与を明らか にする	3
研究目標2 Nrf2-Keap1制御系におけるNrf2 活性化機構を解明する	21
II. 研究成果の刊行に関する一覧表	31
III. 研究成果の刊行物・別刷	37

厚生労働科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）

総合研究報告書

薬物代謝系の制御機構の解明と薬剤に対する

生体側の感受性決定因子の探索

主任研究者 山本雅之（筑波大学・人間総合科学研究科・教授）

I. 総括研究報告

研究要旨

近年、様々な医薬品開発が進み、生活習慣病に対する薬剤治療が成功裏に行われるようになりつつある。また、生活習慣病以外の疾患に対しても、投薬治療が有効に行われている。しかしながら、薬剤には期待される効果と同時に、毒性・副作用が付随するのが常であり、個人によってはその発生が重大問題となる。したがって、今後の高齢化社会においては、薬剤急性毒性を未然に防止し、個人の体質に応じて適切な薬剤を適正な投薬量で処方する体制づくりが急務である。

本研究の目的は、薬物代謝に関わる酵素群の遺伝子発現制御機構を転写因子レベルで包括的に解明することである。この目的で、動物個体を用いた発生工学実験と分子生物学実験を行う。また、その制御に関与する因子群のヒトにおける機能と遺伝子多型を解析することを通して、個人ごとの薬剤に対する感受性を予測し、投薬量の最小化や薬剤急性毒性の発症を最小限に食い止める方策を開発することである。本研究は、厚生労働省の掲げる「個人の特徴に応じた革新的な医療の実現」の課題に、生命科学の最先端から挑むものであり、本領域の世界標準の形成を目指すものである。

本研究における、Nrf2とKeap1による生体防御系酵素群の発現制御システムの分子機能

解析は、薬物代謝機構・酸化ストレス応答機構の解明において、世界的な最先端を形成しており、医薬品開発や食生活改善による健康増進という点に大きく貢献するものと考えられる。すなわち、急性毒性発症機構を分子レベルで解明することにより、それを回避するための補助薬などを開発することが可能になる。また、食品中にそのような生体防御活性を誘導する成分を含めることができれば、食生活の改変により代謝能の向上、酸化ストレス応答能の向上を図ることが可能になる。また、ヒトの疾患と*nrf2*及び*keap1*遺伝子の機能の関連性が確認できれば、低レベル薬物代謝能と関連する制御因子の遺伝子多型を予め調べることにより、薬剤感受性の高い個人を予測することが可能となる。さらに、Nrf2-Keap1制御系の分子機構の一層の解明により、外界や細胞内の刺激に対する新規の応答機構の同定、薬剤の新たな標的の同定が可能になるものと期待される。

本研究では、

研究目標 1 薬剤の急性毒性・晩発性毒性の発症におけるNrf2-Keap1制御系の関与を明らかにする

研究目標 2 Nrf2-Keap1制御系におけるNrf2活性化機構を解明する

を掲げて、前者に対しては、遺伝子改変マウスの作成と解析・ヒト疾患サンプルの収集と解析を行い、後者に対しては、生化学的・構造生物学的な実験、培養細胞を用いた*in transfecto*実験、マウス個体を用いた*in vivo*実験系を構築することにより、解析に取り組んできた。その結果、薬剤の急性毒性・晩発性毒性に対する防御機構としてNrf2-Keap1制御系の重要性が明らかとなり、Nrf2により統一的に制御されている遺伝子群の大きな貢献が示された。また、定常状態においてKeap1がNrf2の機能を抑制するメカニズムが明らかになり、次なる課題である刺激にともなう脱抑制のメカニズムの解明にむけた大きな進展となった。

研究目標 1 薬剤の急性毒性・晩発性毒性の発症におけるNrf2-Keap1制御系の関与を明らかにする

A. 研究目的

異物代謝系第1相酵素群と第2相酵素群の協調的な作用により、体内に摂取された薬物は代謝され、体外に排泄される。第1相酵素群は、主として、チトクロームP450群により触媒されており、薬物を酸化、あるいは、水酸化することにより、反応性の高い代謝中間産物を形成する。摂取された薬剤が、第1相酵素群の誘導的な発現をもたらすが、その作用は、ステロイドホルモン受容体に類似した受容体型転写因子により実現されている。芳香族炭化水素類は、ダイオキシン受容体(AhR)を活性化することにより、CYP1族の酵素群を誘導し、フェノバルビタール類はCARを介してCYP2族酵素群を誘導する。また、PXRは合成ステロイド剤を含む様々な化合物により活性化されて、CYP3族の発現をもたらす。PPARはペルオキシソーム増殖剤や非遺伝毒性発癌剤などにより活性化されてCYP4族の酵素群を誘導することが、報告されている。第1相反応により生成した活性化代謝中間産物は、第2相酵素群の発現を誘導し、第2相反応により水溶性の高い硫酸基、グルタチオン基、あるいは、グルクロン酸基などと抱合され、排泄される。これまでの我々の研究から、第2相酵素群の統一的な制御因子がNrf2であることが明らかになった。すなわち、我々の作製した*nrf2*遺伝子破壊マウスではアセトアミノフェン等の薬物に対する感受性が亢進しており、Nrf2が薬剤の急性毒性に対する生体防御に重要であることが明らかになったのである。さらに、我々は、Nrf2の抑制性制御因子としてKeap1を単離し、同分子がNrf2機能を制御していることを生化学的・遺伝学的に証明した。

本研究の目的は、これら異物代謝系が、薬物による急性毒性や慢性毒性、晩発性障害である発癌などの副作用の発現の防止にどのように貢献しているのかを、それらの統一的な制御因子の機能を操作することを通して明らかにすることである。さらに、ヒトにおけるこれら制御因子の遺伝子多型が存在するかどうかの検討を行い、薬剤に対する反応の個人

差の発生に、こうした遺伝子多型がどれほど貢献しているのかを明らかにすることである。そして、ひいては、個人の特徴的な反応性に応じた薬剤を適切な投薬量で処方するという、オーダーメイドの薬物治療を可能にすることである。

B. 研究方法

薬剤の究極の慢性毒性ともいえる化学発癌の防御に対して、Nrf2 により制御される遺伝子群が果たす役割を明らかにするために、Nrf2 欠損マウスおよび第 1 相酵素群の過剰誘導が認められる AhRR 欠損マウスに対する発癌実験を行った。さらに、恒常的に Nrf2 の機能を亢進させることが、薬剤毒性に対する防御能の向上につながるかどうかを明らかにするために、肝細胞特異的 *keap1* 遺伝子破壊マウスの作成を行った。また、Nrf2 を誘導する親電子性物質の生成反応を触媒する第 1 相酵素群の統一的な制御因子の一つである AhR に注目し、その活性の種差についての検討を行うと同時に、AhR と Nrf2 の両制御系統が欠損した場合の応答反応を検討した。そして、ヒト検体を用いたこれら遺伝子多型解析を行った。

(1) Nrf2 欠損マウスの発癌性の検討

第 1 相反応により形成される活性型代謝中間産物は、蛋白質や核酸などの生体高分子に対して障害性を示し、組織障害や発癌を惹起する。Nrf2 が統一的に制御している第 2 相酵素群はこれらの中間産物を抱合反応などにより無毒化して排泄を促す。Nrf2 により制御される生体防御酵素群が、薬物の急性毒性のみならず、晩発性影響である発癌に対してどのような貢献を果たしているかを明らかにするために、*nrf2* 欠損マウスに対する発癌実験を行った。*nrf2* 欠損マウスに対して、ベンツピレンの皮下投与を行い、皮下腫瘍の形成までの期間と、形成数、生成後の腫瘍の増殖を観察した。また、*nrf2* 欠損マウスに対してニトロサミンを投与し、その代謝産物の定量と膀胱がんの発生率、腫瘍の悪性度を調べた。さらに、オルティプラッツという第 2 相酵素群の誘導剤が抗ガン作用を

示すかどうかを、ニトロサミンとオルティプラッツの同時投与実験により検討した。

(2) AhRR 遺伝子欠損マウスの発癌性の検討

薬剤の毒性発現に対する第1相酵素群の役割を明らかにするため、第1相酵素群の誘導に関わる制御因子のうち AhR に注目し、同因子の抑制性制御因子として同定された AhR リプレッサー (AhRR) の遺伝子欠損マウスを作製し、その発癌性をベンツピレンの皮下投与実験により調べた。AhRR 遺伝子の欠損マウスでは、AhR 機能に対する抑制がかけられない状態になっているために、皮下にベンツピレンを投与すると、その酸化が亢進し、DNA 障害性を有するエポキシドの生成が増加して、発癌が促進されるものと予想した。

(3) 肝臓特異的 *keap1* 遺伝子欠損マウスに対するアセトアミノフェン投与実験

Nrf2 の恒常的な活性化を実現するために、その抑制性制御因子である Keap1 の遺伝子破壊マウスを作成したが、同マウスでは確かに Nrf2 が恒常的に活性化され、その標的遺伝子群の発現が野生型に比べて顕著に上昇していた。しかし、上部消化管扁平上皮の異常な角化亢進に伴う摂食障害のために、生後3週以内に致死となってしまう、Nrf2 制御下にある生体防御酵素群の発現上昇と生体のストレス抵抗性との関連を十分に検討することはできなかった。そこで、異物代謝に重要な役割を果たす肝臓において、特異的に *keap1* 遺伝子を欠失する条件付き遺伝子破壊マウスを樹立し、その薬剤耐性について検討した。

(4) ヒト AhR ノックインマウスの作製と薬剤反応性の検討

薬剤の毒性発現に対する第1相酵素群の役割を明らかにするために、AhRの機能を個体レベルにおいて検討することを試みた。AhR分子の性質には種差が大きいことが知られており、そのためにダイオキシンなど芳香族炭化水素に対する反応は、種により質的・量的に大きく異なっているものと推測されている。*in vitro*実験系で計測されたTCDDとの親和性は、C57BL6のAhR (AhR^{b1}) で高く、DBA/2のAhR (AhR^d) で低い。ヒト型のAhR

(hAhR) 親和性は、後者のものと同程度である。しかし、AhR分子のC末端側はhAhRとAhR^dとは大きく異なっており、それぞれの分子に特有の性質を担っている可能性が示唆される。そこで、hAhRを有するhAhRノックインマウスを作製し、その薬剤に対する反応性を調べた。マウスAhR遺伝子のプロモーター領域の下流にヒトAhR cDNAが連結されるようにターゲティングベクターを構築し、胚性幹 (ES) 細胞に導入して相同組み換え体を得た。こうして得られたクローンを胎胚期胎児に顕微注入してキメラマウスを得て、さらに、これらを野生型C57BL6マウスと交配することにより、C57BL6の遺伝的背景を有するhAhRノックインマウスを作製した。このマウスに対して、hAhRの組織における発現の確認を行った後、3-メチルコラントレン (3-MC) と2,3,7,8-TCDDの投与実験をおこない、肝臓におけるCYP1A遺伝子群の誘導的発現の検討と、催奇形性の検討を行った。

(5) AhRとNrf2の2重欠損マウスの作製と薬剤に対する応答性の検討

Nrf2欠失マウスでは、異物代謝系第2相酵素群の誘導が欠落していることから、様々な外来化学物質により障害を受けやすいことが、次のような解析から明らかにされている。解熱鎮痛消炎剤として頻用されているアセトアミノフェンをNrf2欠失マウスに投与したところ、急性肝障害が高頻度に誘発された。また、同マウスをディーゼルエンジンの排気ガスに曝露したところ、DNAの塩基修飾 (DNAアダクト) が高頻度に生成された。つまり、Nrf2は実際に生体内において外来の化学物質の代謝に重要な役割を果たす鍵因子であることが強く示唆される。そこで、AhRとNrf2により制御される第1相と第2相酵素群が、実際に薬剤の毒性発現にどのように貢献するのかを明らかにするために、また、これらの酵素群の機能に依存しない薬物代謝系の実体を明らかにするために、AhR欠損マウスとNrf2欠損マウスを交配することにより、これらが制御する酵素群の誘導発現がおこらないAhRとnrf2の2重欠失マウスを作製し、同マウスの薬剤に対する反応性を検討した。

(6) ヒト *nrf2* 遺伝子と *keap1* 遺伝子の多型解析

ヒトの様々な疾患感受性に Nrf2/Keap1 制御系の機能の個体差が関与している可能性を

考えて、ヒトの癌組織や皮膚疾患、自己免疫疾患、慢性呼吸器疾患の患者血液など、様々なサンプルを用いて、ヒト *nrf2* 遺伝子と *keap1* 遺伝子の多型解析を行った。それぞれの遺伝子上にプライマーを設計し、ヒトサンプルから得られた DNA を鋳型に PCR を行い、その後にダイレクトシーケンス反応によりゲノム DNA の配列を決定した。これらから同定された遺伝子多型の出現頻度が、さらに、薬剤投与の副作用による肝障害や急性呼吸不全の発症、あるいは、外来化学物質との関連が深いとされている肺癌の発症と関係があるかどうかを検討した。

倫理面への配慮

本研究では、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」を遵守し、患者に末梢血の提供を依頼した。この際、事前に本研究の趣旨を患者本人（患者が未成年者の場合はその保護者）に直接説明し、理解と承諾が得られた場合にのみ提供をうけた。なお、採血は熟練した医師が行った。血液の提供に同意しない患者が、治療の上で不利益を被ることがないように十分に配慮し、また、得られた検体は、番号を付して提供者の氏名は一切同定不可能とすることによりプライバシーを保護した。なお、この研究の一部は、研究協力者 楊 景堯 講師・小山哲夫 教授により、筑波大学倫理委員会に申請され、承諾を得ている。

本研究では、遺伝子組換えマウスを実験に使用したが、その飼育、薬剤投与、屠殺にあたっては、動物愛護の精神にのっとり、与える苦痛が最小限になるように配慮した。また、無駄な屠殺を行うことがないように計画を十分に吟味してから実験を行った。本実験計画は、筑波大学動物実験委員会及び遺伝子組換え安全委員会に申請をおこない、それぞれから承認されている。

C. 研究結果

(1) *nrf2* 欠損マウスの発癌性の検討

ベンツピレンを投与された *Nrf2* 欠損マウスは、野生型マウスに比べて早い時期に皮下腫瘍を形成し、その後の腫瘍増殖も早い傾向にあることが明らかになった。また、ニトロサミン投与を受けた *nrf2* 欠損マウスでは、膀胱癌の発生率が上昇し、腫瘍の悪性度も増悪している傾向が認められた。野生型マウスにオルティプラッツとニトロサミンを同時投与すると、発癌作用を有するニトロサミンの代謝中間産物が減少し、膀胱発癌の頻度も顕著に減少したが、*nrf2* 欠損マウスにおいてはオルティプラッツの発癌抑制効果が観察されず、ニトロサミン代謝中間体のレベルと膀胱癌発生頻度は高いままであった。以上の結果から、皮膚と膀胱において、*Nrf2* により制御される酵素群が、発癌抑制に重要であること、また、オルティプラッツの発癌抑制効果は *Nrf2* 制御系に依存していることが明らかになった。

(2) *AhRR* 遺伝子欠損マウスの発癌性の検討

AhRR の遺伝子破壊マウスを作製し、その発癌性を調べた。同マウスでは、3-メチルコラントレン (3-MC) 投与による *CYP1A1* の誘導発現が遷延しており、*AhR* の機能に対する抑制がかからない状態になっている。そのために、皮下にベンツピレンを投与した場合、その酸化が亢進し、DNA 障害性を有するエポキシド生成が増加し、発癌が促進されるものと予想した。しかし、この予想に反して、*AhRR* 遺伝子欠損マウスでは、腫瘍の発生により長い時間がかかるという結果であり、発癌抵抗性を獲得していることが明らかになった。より詳細に調べたところ、同マウスでは、*CYP1A1* をはじめとする異物代謝系第 1 相酵素群の誘導が促進されていると同時に、第 2 相酵素群の誘導も認められていることが明らかになった。持続的な第 2 相酵素群の誘導の影響で、かえって化学発癌に対して抵抗性を獲得したものと考えられる。興味深いことに、*AhRR* と *nrf2* の 2 重欠損マウスを作製したところ、同マウスではこのような抵抗性は認められなかった。これは、*Nrf2* により低レベルながら誘導されている酵素群が、やはり発癌に対する防御機構において重要であること

を示す結果である。

(3) 肝臓特異的 *keap1* 遺伝子欠損マウスに対するアセトアミノフェン投与実験

肝臓特異的な *keap1* 遺伝子欠損マウスは、*keap1* 遺伝子全破壊マウスと異なり生存・生殖がともに可能であった。肝特異的に Nrf2 の核への蓄積が認められ、非ストレス下においても第2相異物代謝酵素群の発現が上昇していた。この肝特異的 *keap1* 欠損マウスを用いてアセトアミノフェン肝毒性試験を行ったところ、本変異マウスと野生型マウスでは致死量に明らかな差が見られ、病理組織学的にも、また、生化学的にも、著明に前者の肝障害が軽症であった。

(4) ヒトAhRノックインマウスの作製と薬剤反応性の検討

hAhRマウスは生存可能で、生殖能も正常であった。3-MC投与による肝臓でのCYP1A1およびCYP1A2の誘導強度は、AhR^{b-1}マウス>>AhR^dマウス=hAhRマウスという順序であり、hAhRマウスとAhR^dマウスの反応性はほぼ等しかった。一方、TCDD投与による誘導の強度は、AhR^{b-1}マウス>AhR^dマウス>hAhRマウスであり、hAhRマウスは3-MCに比べてTCDDに反応しにくいことが明らかになった。TCDDに対する催奇形性も、この結果と一致した。すなわち、口蓋裂はAhR^{b-1}マウスで100%、AhR^dマウスで30%、hAhRマウスで0%という発生率であった。水腎症の発生率は、いずれの系統においても8割前後であったが、重症度はAhR^{b-1}マウス>AhR^dマウス>hAhRマウスという傾向が認められた。

(5) AhRとnrf2の2重欠損マウスの作製の薬剤に対する応答性の検討

AhRとnrf2の2重欠損マウスの薬剤に対する反応性を調べたところ、AhRリガンドである3-MCやNrf2の活性化剤であるBHAに対する反応は著しく低下していたが、フェノバルビタールに対する反応は保たれており、むしろ、増強していた。

(6) ヒト *nrf2* 遺伝子と *keap1* 遺伝子の多型解析

ヒトの癌組織、皮膚疾患、自己免疫疾患、慢性呼吸器疾患の患者血液細胞を用いたDNA塩基配列の解析から、ヒト *nrf2* 遺伝子のプロモーター領域と *keap1* 遺伝子のアミノ

酸翻訳領域とに遺伝子多型が存在することが明らかになった。しかしながら、これらの疾患群と同定された遺伝子多型の頻度との間には、有意な相関を認めることが出来なかった。例外は、*keap1* 遺伝子のアミノ酸翻訳領域におけるアミノ酸置換を伴う多型で、肺癌組織において特徴的に検出された。さらに、薬剤投与の副作用による肝障害の発症とこれらの遺伝子多型との相関を検討したが、今回調べたサンプルでは有意な相関を認めなかった。

D. 考察

オルティプラッツの代謝促進機能・発癌抑制機能が、ともにNrf2に依存していることが明らかになった。すなわち、Nrf2の標的遺伝子群が、薬剤による急性毒性・慢性毒性からの生体の防御に重要であることが個体レベルで確認された。この結果は、Nrf2の選択的活性化剤が、がん予防の薬として利用可能であることを示唆しており、Nrf2活性化剤の開発に向けてのよりどころを与えるものといえる。

*AhRR*遺伝子欠損マウスで認められた化学発癌に対する抵抗性は、*AhRR*と*nrf2*の2重欠失マウスでは観察されなかった。これは、Nrf2により制御されている遺伝子群が*AhRR*欠損マウスにおける癌抵抗性の実現に大きく貢献していることを示すものであり、薬剤に対する抵抗性が、Nrf2機能に大きく依存していることを示唆するものである。

肝臓特異的*keap1*遺伝子欠損マウスでは、アセトアミノフェンの急性毒性に対する抵抗性が向上していた。この結果は、肝細胞におけるNrf2活性の亢進が標的遺伝子の発現誘導を介して実際に薬物代謝の促進に働いていることを明解に示すものであり、異物代謝・解毒におけるNrf2-Keap1系の重要性を個体レベルで実証するものである。したがって、肝臓においてNrf2を恒常的に活性化させられる薬剤は、薬剤耐性の増強に有効であることが強く示唆される。

以上3つの実験結果はいずれも、薬物の毒性に対する生体防御反応におけるNrf2-Keap1

制御系の重要性を強く示唆するものである。

hAhRマウスに対して様々な薬剤を投与して、個体に及ぼす影響とその感受性を明らかにしていくことにより、hAhRの基質特異性と影響の及ぶ組織特異性が明らかになると思われる。こうしたAhRの活性や特異性の違いが、Nrf2活性化とそれに続く第2相酵素群の機能発現にどのように影響してくるかは、興味深い課題である。同マウスの解析は、ヒトの反応を予測し、それを予防するための基準作りに大きく貢献できるものと期待される。そして、同マウスから得られる実験結果は、これら化学物質の毒性の適切な評価を行う上で、非常に有用な情報を提供するものと思われる。一方、AhRとNrf2の2重欠失マウスは、AhRとNrf2に制御される酵素群の薬物代謝と毒性の発現における貢献を明らかにするためのモデル動物として有用であると考えられる。同マウスに対して様々な薬剤を投与し、さらに、その薬剤の代謝経路、代謝産物、毒性発現を調べることにより、AhRとNrf2両制御系に依存しない応答システムの詳細が明らかになるものと期待される。

多型解析において、ヒト *nrf2* 遺伝子ではプロモーター領域に複数の多型が、*keap1* 遺伝子ではアミノ酸翻訳領域に様々な多型が存在することが確認された。疾患群との間に有意な相関は認められなかったが、今回解析した疾患群サンプル数は20検体であり、数として十分であったとはいいいにくい。共同研究を実施している Kleeberger らは、薬剤投与に起因する急性呼吸不全を来した症例群を調べることにより、*nrf2* 遺伝子のプロモーター領域の遺伝子多型との相関を検出することに成功している。今後例数を増やす、あるいは、より適切な疾患群を選択することにより、有意な相関が得られる可能性があるものと期待される。ヒトにおいて、Nrf2-Keap1 制御系の機能レベルと、薬剤易感受性、あるいは、疾患感受性との相関を明らかにし、今後の本研究の社会に対する貢献度をより大きなものにする必要があると考えている。

E. 結論

nrf2 遺伝子欠損マウスに対して、ベンツピレンやニトロサミンなどの化学物質を投与し、同マウスがこれらの化学物質に対して、易発癌性を示すかどうかを検討した。その結果、*nrf2* 遺伝子欠損マウスではベンツピレンやニトロサミンなどの化学物質による発癌性が著明に亢進していることが観察された。一方、肝臓特異的に *keap1* 遺伝子を欠損したマウスを作成したところ、同マウスは薬剤に対する抵抗性が著明に増大していることが明らかになった。これらの結果から、Nrf2-Keap1 制御系は、薬剤の毒性発現抑制と化学発癌抑制において極めて重要な役割をはたしていることが確認された。また、肝細胞において、Nrf2 を恒常的に活性化することが薬剤耐性を増強する上で有効であることが明らかになった。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

(原著論文)

1. Solution structure of the DNA-binding domain of MafG. Kusunoki, H., Motohashi, H., Katsuoka, F., Morohashi, A., Yamamoto, M. and Tanaka, T. *Nature Str. Biol.* **9**, 252-256 (2002)
2. A sulforaphane analogue that potentially activates the Nrf2-dependent detoxification pathway. Morimitsu, Y., Nakagawa, Y., Hayashi, H., Fujii, H., Kumagai, T., Nakamura, Y., Osawa, T., Horio, F., Itoh, K., Iida, K., Yamamoto, M. and Uchida, K. *J. Biol. Chem.* **277**, 3456-3463 (2002)
3. Nrf2 transactivator-independent GSTP1-1 expression in 'GSTP1-1 positive' single cells inducible in female mouse liver by DEN: a preneoplastic character of possible initiated cells. Satoh, K., Itoh, K., Yamamoto, M., Tanaka, M., Hayakari, M., Ookawa, K., Yamazaki, T., Sato, T., Tsuchida, S. and Hatayama, I. *Carcinogenesis* **23**, 457-462 (2002)
4. A functional role of Stat3 in *in vivo* megakaryopoiesis. Kirito, K., Osawa, M., Morita, H., Shimizu, R., Yamamoto, M., Oda, A., Fujita, H., Tanaka, M., Nakajima, K., Miura, Y., Ozawa, K. and Komatsu, N. *Blood* **99**, 3220-3227 (2002)
5. Linkage analysis of susceptibility to hyperoxic lung injury: role of Nrf2 as a candidate gene. Cho, H.Y., Jedlika, A.E., Reddy, S.P.M., Zhang, L.Y., Yamamoto, M., Kensler, T.W. and Kleeberger, S.R. *Am. J. Res. Cell Mol. Biol.* **26**, 175-182 (2002)
6. Regulation of the expression of Nrf2 transcription factor by cancer chemopreventive agents through antioxidant response element (ARE)-like sequences in its proximal promoter region. Kwak, M.K., Itoh, K., Yamamoto, M.

- and Kensler, T. *Mol. Cell. Biol.* **22**, 2883-2892 (2002)
7. L-arginine rescues decreased erythropoietin gene expression by stimulating GATA-2 with L-NMMA. Imagawa, S., Tarumoto, T., Suzuki, N., Mukai, H.Y., Hasegawa, Y., Higuchi, M., Neichi, T., Ozawa, K., Yamamoto, M. and Nagasawa, T. *Kidney Int.* **61**, 396-404 (2002)
 8. Prepro-orexin gene regulatory region that activates gene expression in the lateral region and represses it in the medial region of the hypothalamus. Moriguchi, T., Sakurai, T., Takahashi, S., Goto, K. and Yamamoto, M. *J. Biol. Chem.* **277**, 16985-16992 (2002)
 9. Effect of growth factors on ex vivo bone marrow cell expansion using three-dimensional matrix support. Tun, T., Miyoshi, H., Aung, T., Takahashi, S., Shimizu, R., Kuroha, T., Yamamoto, M. and Ohshima, N. *Artificial Organs* **26**, 333-339 (2002)
 10. Elimination of *Pasteurella pneumotropica* from a contaminated mouse colony by oral administration of enrofloxacin. Ueno, Y., Shimizu, R., Nozu, R., Takahashi, S., Yamamoto, M., Sugiyama, F., Itoh, T. and Yagami, K. *Exp. Animals* **51**, 401-405 (2002)
 11. GATA suppresses erythropoietin gene expression through GATA site in mouse erythropoietin gene promoter. Imagawa, S., Suzuki, N., Ohmine, K., Obara, N., Mukai, H.Y., Ozawa, K., Yamamoto, M., and Nagasawa, T. *Int. J. Hematol.* **75**, 376-81 (2002)
 12. Erythroid-specific expression of the erythropoietin receptor rescued its null mutant mice from lethality. Suzuki, N., Ohneda, O., Takahashi, S., Higuchi, M., Mukai, H.Y., Nakahata, T., Imagawa, S. and Yamamoto, M. *Blood* **100**, 2279-2288 (2002; *Plenary paper with commentary*)
 13. Identification of Nrf2-regulated genes induced by the chemopreventive agent sulforaphane by oligonucleotide microarray. Thimmulappa, R.K., Mai, K.H., Srisuma, S., Kensler, T.W., Yamamoto, M. and Biswal, S. *Cancer Res.* **62**, 5196-5203 (2002)
 14. Activation of Maf/AP-1 repressor Bach2 by oxidative stress promotes apoptosis and its interaction with PML nuclear bodies. Muto, A., Tashiro, A., Tsuchiya, H., Kume, A., Kanno, M., Ito, E., Yamamoto, M. and Igarashi, K. *J. Biol. Chem.* **277**, 20724-20733 (2002)
 15. A candidate erythroid embryonic/ fetal globin gene repressor contains a nuclear orphan receptor TR2/TR4 heterodimer. Tanabe, O., Katsuoka, F., Campbell, A. D., Yamamoto, M., Tanimoto, K. and Engel, J.D. *EMBO J.* **21**, 3434-3442 (2002)
 16. Identification of the interactive interface and phylogenetic conservation of the Nrf2-Keap1 system. Kobayashi, M., Itoh, K., Suzuki, T., Osanai, H., Nishikawa, K., Katoh, Y., Takagi, Y. and Yamamoto, M. *Genes Cells* **7**, 807-820 (2002)
 17. Essential and instructive roles of GATA-1 in eosinophil development. Hirasawa, R., Shimizu, R., Osawa, M., Takayanagi, S., Kato, Y., Onodera, M., Minegishi, N., Takahashi, S., Yamamoto, M., Fukao, K., Nakauchi, H. and Iwama, A. *J. Exp. Med.* **195**, 1379-1386 (2002)
 18. GATA-2 regulates cytokine-dependent growth of hematopoietic cells through accumulation of p21WAF1 and p27Kip1 proteins. Ezoe, S., Matsumura, I., Nakata, S., Gale, K., Ishihara, K., Minegishi, N., Machii, T., Kitamura, T., Yamamoto, M., Enver, T. and Kanakura, Y. *Blood* **100**, 3512-3520 (2002)
 19. Direct evidence that sulfhydryl group of Keap1 are the sensors regulating induction of phase 2 enzymes that protect against carcinogens and oxidants. Dinkova-Kostova, A. T., Holtzclaw, W. D., Cole, R. N., Itoh, K., Wakabayashi, N., Katoh, Y., Yamamoto, M. and Talalay, P. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **99**, 11908-11913 (2002)
 20. Electrophile response element mediated regulation of the expression of the cystine/glutamate exchange transporter. Sasaki, H., Sato, H., Kuriyama-Matsumura, K., Sato, K., Maebara, K., Wang, H., Tamba, M., Itoh, K., Yamamoto, M. and Bannai, S. *J. Biol. Chem.* **277**, 44765-71 (2002)
 21. Isolation and characterization of zebrafish NFE2. Pratt, S.J., Drejer, A., Foott, H., Barut, B., Brownlie, A., Postlethwait, J., Katoh, Y., Yamamoto, M. and Zon, L.I. *Physiol. Genomics* **11**, 91-98 (2002)
 22. Loss of the Nrf2 transcription factor causes a marked reduction in constitutive and inducible expression of the glutathione S-transferase Gsta1, Gsta2, Gstm1, Gstm2, Gstm3 and Gstm4 genes in the livers of male and

- female mice. Chanas, S.A., Jiang, Q., McMahon, M., McWalter, G.K., McLellan, L.I., Elcombe, C.R., Henderson, C.J., Wolf, C.R., Moffat, G.J., Itoh, K., Yamamoto, M. and Hayes, J.D. *Biochem. J.* **365**, 405-416 (2002)
23. Hemoprotein Bach1 regulates enhancer availability of heme oxygenase-1 gene. Sun, J., Hoshino, H., Nakajima, O., Muto, A., Suzuki, H., Tashiro, S., Takahashi, S., Shibahara, S., Alam, J., Taketo, M. M., Yamamoto, M. and Igarashi, K. *EMBO J.* **21**, 5216-5224 (2002)
24. A minigene containing four discrete cis elements recapitulates GATA-1 gene expression *in vivo*. Ohneda, K., Shimizu, R., Nishimura, R., Muraosa, Y., Takahashi, S., Engel, J.D. and Yamamoto, M. *Genes Cells* **7**, 1243-1254 (2002; cover photo)
25. Small Maf compound mutants display CNS neuronal degeneration, aberrant transcription and Bach protein mislocalization coincident with myoclonus and abnormal startle response. Katsuoka, F., Motohashi, H., Tamagawa, Y., Kure, S., Igarashi, K., Engel, J.D. and Yamamoto, M. *Mol. Cell. Biol.* **23**, 1163-1174 (2003)
26. Hemogenic and non-hemogenic endothelium can be distinguished by the activity of fetal liver kinase (*Flk*)-1 promoter/enhancer during mouse embryogenesis. Hirai, H., Ogawa, M., Suzuki, N., Yamamoto, M., Breier, G., Mazda, O., Imanishi, J. and Nishikawa, S-I. *Blood* **101**, 886-893 (2003)
27. Aberrant iron accumulation and oxidized status of erythroid-specific δ -aminolevulinate synthase (ALAS2)-deficient definitive erythroblasts. Harigae, H., Nakajima, O., Suwabe, N., Yokoyama, H., Furuyama, K., Sasaki, T., Kaku, M., Yamamoto, M. and Sassa, S. *Blood* **101**, 1188-1193 (2003)
28. Functional analysis of basic transcription element binding protein (BTEB) by gene targeting technology. Morita, M., Kobayashi, A., Yamashita, T., Shimanuki, T., Nakajima, O., Takahashi, S., Ikegami, S., Inokuchi, K., Yamashita, K., Yamamoto, M. and Fujii-Kuriyama, Y. *Mol. Cell. Biol.* **23**, 2489-2500 (2003)
29. Influence of *nrf2* genotype on modulation by oltipraz of benzo[a]pyrene-DNA adducts and tumor yield in mice. Ramos-Gomez, M., Dolan, P.M., Itoh, K., Yamamoto, M. and Kensler, T.W. *Carcinogenesis* **24**, 461-467 (2003)
30. Modulation of *keap1* and *nrf2* – dependent gene expression by cancer chemopreventive dithiolethiones: IDENTIFICATION OF NOVEL GENE CLUSTERS. Kwak, M.K., Wakabayashi, N., Itoh, K., Motohashi, H., Yamamoto, M. and Kensler, T.W. *J. Biol. Chem.* **278**, 8135-8145 (2003)
31. Keap1 regulates both cytoplasmic-nuclear shuttling and degradation of Nrf2 in response to electrophiles. Itoh, K., Wakabayashi, W., Katoh, Y., Ishii, T., O'Connor, T. and Yamamoto, M. *Genes Cells* **8**, 379-391 (2003; cover)
32. HLF (HIF-2 α) is a key factor for pathological angiogenesis in proliferative retinopathy. Morita, M., Ohneda, O., Yamashita, T., Takahashi, S., Nakajima, O., Kawauchi, S., Ema, M., Shibahara, S., Uono, T., Tomita, K., Tamai, M., Sogawa, K., Yamamoto, M. and Fujii-Kuriyama, Y. *EMBO J.* **22**, 1134-1146 (2003)
33. EPR imaging and analysis of reducing activity in oxidative stress-related Nrf2 transcription factor deficient mice. Hirayama, A., Yoh, K., Nagase, S., Ueda, A., Itoh, K., Morito, N., Hirayama, K., Takahashi, S., Yamamoto, M. and Koyama, A. *Free Rad. Biol. Med.* **34**, 1236-1242 (2003)
34. Suppression of erythropoietin gene expression by cadmium depends on inhibition of HIF-1, not stimulation of GATA-2. Obara, N., Imagawa, S., Nakano, Y., Suzuki, N., Yamamoto, M. and Nagasawa, T. *Arch. Toxicol.* **77**, 267-273 (2003)
35. Gene expression of detoxifying enzymes in AhR and Nrf2 compound null mutant mouse. Noda, S., Harada, N., Hida, A., Fujii-Kuriyama, Y., Motohashi, H. and Yamamoto, M. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **303**, 105-111 (2003)
36. Distinct specificity of xenobiotic response in AhR-humanized model mouse. Moriguchi, T., Motohashi, H., Hosoya, T., Nakajima, O., Takahashi, S., Ohsako, S., Aoki, Y., Nishimura, T., Tohyama, C., Fujii-Kuriyama, Y., and Yamamoto, M. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **100**, 5652-5657 (2003)
37. Keap1-dependent proteasomal degradation of transcription factor Nrf2 contributes to the negative regulation of ARE-driven gene expression. McMahon, M., Itoh, K., Yamamoto, M. and Hayes, J.D. *J. Biol. Chem.* **278**, 21592-21600 (2003)

38. Regulation of YB-1 gene expression by GATA transcription factors. Yokoyama, H., Harigae, H., Takahashi, S.-I., Takahashi, S., Furuyama, K., Kaku, M., Yamamoto, M. and Sasaki, T. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **303**, 140-145 (2003)
39. Expression and domain-specific function of GATA-2 during differentiation of the hematopoietic precursor cells in midgestation mouse embryos. Minegishi, N., Suzuki, N., Yokomizo, T., Xiaoqing, P., Fujimoto, T., Takahashi, S., Hara, T., Nishikawa, S.-i. and Yamamoto, M. *Blood* **102**, 896-905 (2003)
40. GATA-1 testis activation region is essential for Sertoli cell-specific expression of *GATA-1* gene in transgenic mouse. Wakabayashi, J., Yomogida, K., Nakajima, O., Yoh, K., Takahashi, S., Engel, J.D., Ohneda, K. and Yamamoto, M. *Genes Cells* **8**, 619-630 (2003; cover photo)
41. Activation of Nrf2 and accumulation of ubiquitinated A170 by arsenic in osteoblasts. Aono, J., Yanagawa, T., Itoh, K., Li, B., Yoshida, H., Kumagai, Y., Yamamoto, M. and Ishii, T. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **305**, 271-277 (2003)
42. Identification of a novel Nrf2-regulated antioxidant response element (ARE) in the mouse NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1 gene: reassessment of the ARE consensus sequence. Nioi, P., McMahon, M., Itoh, K., Yamamoto, M. and Hayes, J. *Biochem. J.* **374**, 337-348 (2003)
43. A potential mechanism for the impairment of nitric oxide formation caused by prolonged oral exposure to arsenate in rabbits. Pi, J., Horikuchi, S., Sun, Y., Nikaido, M., Hayashi, T., Yamauchi, H., Itoh, K., Yamamoto, M., Sun, G., Waalkes, M.P., Shimojo, N. and Kumagai, Y. *Free Rad. Biol. Med.* **35**, 102-113 (2003)
44. Frequent mutations in the GATA-1 gene in the transient myeloproliferative disorder of Down's syndrome. Xu, G., Nagano, M., Kanazaki, R., Toki, T., Hayashi, Y., Taketani, T., Taki, T., Mitui, T., Koike, K., Kato, K., Imaizumi, M., Sekine, I., Ikeda, Y., Hanada, R., Sako, M., Kudo, K., Kojima, S., Ohneda, O., Yamamoto, M. and Ito, E. *Blood* **102**, 2960-2968 (2003)
45. Transgenic overexpression of GATA-3 in T-lymphocytes improves autoimmune glomerulonephritis in mice with BXSB/MpJ-*Yaa* genetic background. Yoh, K., Shibuya, K., Morito, N., Nakano, T., Ishizaki, K., Shimohata, H., Nose, M., Izui, S., Shibuya, A., Koyama, A., Engel, J.D., Yamamoto, M. and Takahashi, S. *J. Am. Soc. Nephrol.* **14**, 2494-2502 (2003)
46. Identification and characterization of two types of erythroid progenitors that express GATA-1 at distinct levels. Suzuki, N., Suwabe, N., Ohneda, O., Obara, N., Imagawa, S., Pan, X., Motohashi, H. and Yamamoto, M. *Blood* **102**, 3575-3583 (2003)
47. Self-association of Gata1 enhances transcriptional activity *in vivo* in zebrafish embryos. Nishikawa, K., Kobayashi, M., Masumi, A., Lyons, S. E., Weinstein, B. M., Paul Liu, P. and Yamamoto, M. *Mol. Cell. Biol.* **23**, 8295-8305 (2003)
48. A GATA-specific inhibitor (K-7174) rescues anemia induced by IL-1 β , TNF- α or L-NMMA. Imagawa, S., Nakano, Y., Obara, N., Suzuki, N., Doi, T., Kodama, T., Nagasawa, T. and Yamamoto, M. *FASEB J.* **17**, 1742-1744 (2003)
49. Nrf2 regulates the sensitivity of death receptor signals through intra-cellular glutathione levels. Morito, N., Yoh, K., Itoh, K., Hirayama, A., Koyama, A., Yamamoto, M. and Takahashi, S. *Oncogene* **18**, 9275-9281 (2003)
50. *Keap1*-null mutation leads to postnatal lethality due to constitutive Nrf2 activation. Wakabayashi, N., Itoh, K., Wakabayashi, J., Motohashi, H., Noda, S., Takahashi, S., Imakado, S., Kotsuji, T., Otsuka, F., Roop, D.R., Harada, T., Engel, J.D. and Yamamoto, M. *Nature Genetics* **35**, 238-245 (2003)
51. Transcription factor Nrf2 is required for the constitutive and inducible expression of multidrug resistance-associated protein1 (Mrp1/Abcc1) in mouse embryo fibroblasts. Hayashi, A., Suzuki, H., Itoh, K., Yamamoto, M. and Sugiyama, Y. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **310**, 824-829 (2003)
52. Expression of the aflatoxin B1-8,9-epoxide-metabolizing murine glutathione S-transferase A3 subunit is regulated by the Nrf2 transcription factor through an antioxidant response element. Jowsey, I.R., Jiang, Q., Itoh, K., Yamamoto, M. and Hayes, J.D. *Mol. Pharmacol.* **64**, 1018-1028 (2003)
53. Hematological aspects of a novel 9-aminoanthracycline, amrubicin. Obara, N., Imagawa, S., Nakano, Y., Yamamoto, M., Noguchi, T., and Nagasawa, T. *Cancer Sci.* **94**, 1104-1106 (2003)

54. Antioxidants enhance mammalian proteasome expression through the Keap1-Nrf2 signaling pathway. Kwak, M.K., Wakabayashi, N., Greenlaw, J.L., Yamamoto, M. and Kensler, T.W. *Mol. Cell Biol.* **23**, 8786-8794 (2003)
55. Transcription factor Nrf2 regulates inflammation by mediating the effect of 15-deoxy- $\Delta^{12,14}$ -prostaglandin J₂. Itoh, K., Mochizuki, M., Ishii, Y., Ishii, T., Shibata, T., Kawamoto, Y., Kelly, V., Sekizawa, K., Uchida, K. and Yamamoto, M. *Mol. Cell Biol.* **24**, 36-45 (2004)
56. Characterization of the pufferfish Otx2 cis-regulators reveals evolutionarily conserved genetic mechanisms for the vertebrate head specification. Kimura-Yoshida, C., Kitajima, K., Oda-Ishii, I., Tian, E., Suzuki, M., Yamamoto, M., Suzuki, T., Kobayashi, M., Aizawa, S. and Matsuo, I. *Development* **131**, 57-71 (2004)
57. Evaluation of MafG interaction with Maf recognition element arrays by surface plasmon resonance imaging technique. Kyo, M., Yamamoto, T., Motohashi, H., Kamiya, T., Kuroita, T., Tanaka, T., Kawakami, B. and Yamamoto, M. *Genes Cells* **9**, 153-164 (2004)
58. Transgenic rescue of GATA-1-deficient mice with GATA-1 lacking a FOG-1 association site phenocopies patients with X-linked thrombocytopenia. Shimizu, R., Ohneda, K., Engel, J.D., Trainor, C.D. and Yamamoto, M. *Blood* **103**, 2560-2567 (2004)
59. Role of Nrf2 in the regulation of CD36 and stress protein expression in murine macrophages: activation by oxidatively modified LDL and 4-hydroxynonenal. Ishii, T., Itoh, K., Ruiz, E., Leake, D.S., Unoki, H., Yamamoto, M. and Mann, G.E. *Circulation Res.* **94**, 609-616 (2004)
60. Protection against electrophile and oxidant stress by induction of the phase 2 response: Fate of cysteines of the Keap1 sensor modified by inducers. Wakabayashi, N., Dinkova-Kostova, A.T., Holtzclaw, W.D., Kang, M-I., Kobayashi, A., Yamamoto, M., Kensler, T.W. and Talalay, P. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **101**, 2040-2045 (2004)
61. Scaffolding of Keap1 to the actin cytoskeleton controls the function of Nrf2 as key regulator of cytoprotective phase 2 genes. Kang, M.I., Kobayashi, A., Wakabayashi, N., Kim, S.G. and Yamamoto, M. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **101**, 2046-2051 (2004)
62. Neurogenin3 delineates the earliest stages of spermatogenesis in the mouse testis. Yoshida, S., Takakura, A., Ohbo, K., Abe, K., Wakabayashi, J., Yamamoto, M., Suda, T., and Nabeshima, Y-i. *Dev. Biol.* **269**, 447-458 (2004)
63. Interleukin-6 and tumor necrosis factor- α in patients with obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome. Imagawa, S., Yamaguchi, Y., Ogawa, K., Obara, N., Suzuki, N., Yamamoto, M. and Nagasawa, T. *Respiration* **71**, 24-29 (2004)
64. Small Maf proteins are obligate transcriptional cofactors for normal keratinocyte differentiation in the Keap1-Nrf2 regulatory pathway. Motohashi, H., Katsuoka, F., Engel, J.D. and Yamamoto, M. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **101**, 6379-6384 (2004)
65. Nrf2 deficiency improves autoimmune nephritis caused by the *fas* mutation *lpr*. Morito, N., Yoh, K., Hirayama, A., Itoh, K., Nose, M., Koyama, A., Yamamoto, M. and Takahashi, S. *Kidney Int.* **65**, 1703-1713 (2004)
66. A constitutively active arylhydrocarbon receptor induces growth inhibition of Jurkat T cells through changes in the expression of genes related to apoptosis and cell cycle arrest. Ito, T., Tsukumo, S., Suzuki, N., Motohashi, H., Yamamoto, M., Fujii-Kuriyama, Y., Mimura, J., Lin, T-M., Peterson, R. E. Tohyama, C. and Nohara, K. *J. Biol. Chem.* **279**, 25204-25210 (2004)
67. Activation of hepatic Nrf2 *in vivo* by acetaminophen in CD-1 Mice. Goldring, C. E. P., Kitteringham, N. R., Elsby, R., Randle, L. E., Clement, Y. N., Williams, D. P., McMahon, M., Hayes, J. D., Itoh, K., Yamamoto, M. and Park, B. K. *Hepatology* **39**, 1267-1276 (2004)
68. In vivo and in vitro constant expression of GATA-4 in mouse postnatal Sertoli cells. Imai, T., Kawai, Y., Tadokoro, Y., Yamamoto, M., Nishimune, Y., Yomogida, K. *Mol. Cell. Endocrinol.* **214**, 107-115 (2004)
69. Nrf2 deficiency causes tooth decolorization due to iron transport disorder in enamel organ. Yanagawa, T., Itoh, K., Uwayama, J., Shibata, Y., Yamaguchi, A., Sano, T., Ishii, T., Yoshida, H. and Yamamoto, M. *Genes Cells* **9**, 641-651 (cover photo)

70. Redox-regulated turnover of Nrf2 is determined by at least two separate protein domains, the redox sensitive Neh2 degron and the redox-insensitive Neh6 degron. McMahon, M., Thomas, N., Itoh, K., Yamamoto, M. and Hayes, J.D. *J. Biol. Chem.* **279**, 31556-31567 (2004)
71. The transcriptional program of antibody class switching involves the repressor Bach2. Muto, A., Tashiro, S., Nakajima, O., Hoshino, H., Takahashi, S., Sakoda, E., Ikebe, D., Yamamoto, M. and Igarashi, K. *Nature* **429**, 566-571 (2004) (Paper Selected for Advanced Online Publication; E-pub May 21, 2004)
72. The transcription factor Nrf2 protects against pulmonary fibrosis. Cho, H-Y., Reddy, S.P.M., Yamamoto, M. and Kleeberger, S.R. *FASEB J.* **18**, 1258-1260 (2004)
73. MafT, a new member of the small Maf protein family in zebrafish. Takagi, Y., Kobayashi, M., Li, L., Suzuki, T., Nishikawa, K., and Yamamoto, M. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **320**, 62-69 (2004)
74. Oxidative stress sensor Keap1 functions as an adaptor for Cul3-based E3 ligase to regulate proteasomal degradation of Nrf2. Kobayashi, A., Kang, M.I., Ohkawa, H., Ohtuji, M., Zenke, Y., Chiba, T., Igarashi, K. and Yamamoto, M. *Mol. Cell. Biol.* **24**, 7310-7319 (2004)
75. Identification of polymorphisms in the promoter region of human *NRF2* gene. Yamamoto, T., Yoh, K., Kobayashi, K., Ishii, Y., Kure, S., Koyama, A., Sekizawa, K., Motohashi, H., and Yamamoto, M. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **321**, 72-79 (2004)
76. Do β -globin, *GATA-1* or *EpoR* regulatory domains specifically mark erythroid progenitors in transgenic reporter mice? Suzuki, N., Imagawa, S., Noguchi C. T. and Yamamoto, M. *Blood* **104**, 2968-2969 (2004)
77. Multiple, distant *Gata2* enhancers specify temporal and tissue-specific patterning in the developing urogenital system. Khandekar, M. J., Suzuki, N., Lewton, J., Yamamoto, M. and Engel, J. D. *Mol. Cell. Biol.* **24**, 10263-10276 (2004)
78. Nrf2 is essential for the chemopreventive efficacy of oltipraz against urinary bladder carcinogenesis. Iida, K., Itoh, K., Kumagai, Y., Oyasu, R., Hattori, K., Kawai, K., Shimazui, T., Akaza, H., and Yamamoto, M. *Cancer Res.* **64**, 6124-6431 (2004)
79. Genetic ablation of Nrf2 enhances susceptibility to cigarette smoke-induced emphysema in mice. Rangasamy, T., Cho, C.Y., Thimmulappa, R.K., Zhen, L., Srisuma, S.S., Kensler, T.W., Yamamoto, M., Petrache, I., Tuder, R.M., and Biswal, S. *J. Clin. Invest.* **114**, 1248-1259 (2004)
80. A GATA-specific inhibitor (K-7174) rescues anemia induced by IL-1 β , TNF- α or L-NMMA. Imagawa, S., Nakano, Y., Obara, N., Suzuki, N., Doi, T., Kodama, T., Nagasawa, T., and Yamamoto, M. *Blood* **104**, 4300-4307 (2004)
81. Transcription factor Nrf2 is essential for induction of NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1, glutathione S-transferases, and glutamate cysteine ligase by broccoli seeds and isothiocyanates. McWalter, G.K., Higgins, L.G., McLellan, L.I., Henderson, C.J., Song, L., Thornalley, P.J. Itoh, K., Yamamoto, M. and Hayes, J.D. *J. Nutr.* **134**, 3499S-3506S (2004)
82. Leukemogenesis caused by incapacitated GATA-1 function. Shimizu, R., Kuroha, T., Ohneda, O., Pan, X., Ohneda, K., Takahashi, S., Philipsen, S., and Yamamoto, M. *Mol. Cell. Biol.* **24**, 10814-10825 (2004)
83. Gene expression profiling of NRF2-mediated protection against oxidative injury. Cho, H-Y., Reddy, S.P., DeBiase, A., Yamamoto, M. and Kleeberger, S.R. *Free Rad. Biol. Med.* **38**, 325-343 (2005)
84. An activator protein-1-Notch-4 angiogenic vascular remodeling pathway. Wu, J., Iwata, F., Grass, J.A., Elnitski, L., Ohneda, O., Yamamoto, M., and Bresnick, E.H. *Mol. Cell. Biol.* **25**, 1458-1474 (2005)
85. Transgenic overexpression of GATA-1 mutant lacking N-finger domain causes hemolytic syndrome in mouse erythroid cells. Nakano, M., Ohneda, K., Mukai, H. Y. Shimizu, R., Ohneda, O., Ohmura, S., Suzuki, M., Tsukamoto, S., Yanagawa, T., Yoshida, H., Takakuwa, Y. and Yamamoto, M. *Genes Cells* **10**, 47-62 (2005)
86. Transgenic expression of Bach1 transcription factor results in megakaryocytic impairment. Toki, T., Katsuoka, F., Kanezaki, R., Xu, G., Kurotaki, H., Sun, J., Kamio, T., Watanabe, S., Tandai, S., Terui, K., Yagihashi, S., Komatsu, N., Igarashi, K., Yamamoto, M. and Ito, E. *Blood* in press
87. Nrf2 transcriptionally activates the *mafG* gene through an antioxidant response element. Katsuoka, F., Motohashi, M., Engel, J.D. and Yamamoto, M. *J. Biol. Chem.* **280**, 4483-4490 (2005)

88. Evolutionary conserved N-terminal domain of Nrf2 is essential for the Keap1-mediated degradation of the protein by proteasome. Katoh, Y., Iida, K., Kang, M-I., Kobayashi, A., Mizukami, M., Tong, K.I., McMahon, M., Hayes, J.D., Itoh, K. and **Yamamoto, M.** *Arch. Biochem. Biophys.* **433**, 342-350 (2005)
89. Purification, crystallization and preliminary X-ray diffraction analysis of the Kelch-like motif region of mouse Keap1. Padmanabhan, B., Scharlock, M., Tong, K.I., Nakamura, Y., Kang, M-I., Kobayashi, A., Matsumoto, T., Tanaka, A., **Yamamoto, M.** and Yokoyama, S. *Acta Crystallographica* (Section F, Structural Biology and Crystallization Communications) **61**, 153-155 (2005)
90. Essential role of synoviolin in embryogenesis. Yagishita, N., Ohneda, K., Amano, T., Yamasaki, S., Sugiura, A., Tsuchimochi, K., Shin, H., Kawahara, K., Ohneda, O., Ohta, T., Tanaka, S., **Yamamoto, M.**, Maruyama, I., Nishioka, K., Fukamizu, A. and Nakajima, T. *J. Biol. Chem.* In press
91. Restricted expression of constitutively active-aryl hydrocarbon receptor in T lineage cells causes thymus involution and suppresses immunization-induced splenocyte increase. Nohara, K., Pan, X., Tsukumo, S., Hida, A., Ito, T., Nagai, H., Inouye, K., Motohashi, H., **Yamamoto, M.**, Fujii-Kuriyama, Y. and Tohyama, C. *J. Immunol.* In press
92. Pi-class glutathione S-transferase genes are regulated by Nrf2 through an evolutionarily conserved regulatory element in zebrafish. Suzuki, T., Takagi, Y., Osanai, H., Li, L., Takeuchi, M., Katoh, Y., Kobayashi, M. and **Yamamoto, M.** *Biochem. J.* In press
93. UVA irradiation induces Nrf2 activation in dermal fibroblasts: Protective role in UVA-induced apoptosis. Hirota, A., Kawachi, Y., Itoh, K., Nakamura, Y., Xu, X., Banno, T., Takahashi, T., **Yamamoto, M.** and Ohtsuka, F. *Invest. Dermatol.* In press
94. The distal sequence element of the selenocysteine tRNA gene is a tissue dependant enhancer essential for mouse embryogenesis. Kelly, V.P., Suzuki, T., Nakajima, O., Arai, T., Tamai, Y., Takahashi, S., Nishimura, S. and **Yamamoto, M.** *Mol. Cell Biol.* in press
95. GATA transcription factors inhibit cytokine-dependent growth and survival of a hematopoietic cell line through the inhibition of STAT3 activity. Ezoe, S., Matsumura, I., Gale, K., Satoh, Y., Ishikawa, J., Mizuki, M., Takahashi, S., Minegishi, N., Nakajima, K., **Yamamoto, M.**, Enver, T. and Kanakura, Y. *J. Biol. Chem.* In press
96. Role of 15-deoxy Δ^{12-14} Prostaglandin J₂ and Nrf2 Pathways in Protection against Acute Lung Injury. Mochizuki, M., Ishii, Y., Itoh, K., Iizuka, T., Morishima, Y., Kimura, T., Kiwamoto, T., Matsuno, Y., Hegab, A. E., Nomura, A., Sakamoto, T., Uchida, K., **Yamamoto, M.** and Sekizawa, K. *Am. J. Res. Cri. Care Med.* In press
97. Increased dose of Runx1/AML1 acts as a positive modulator of myeloid leukemogenesis in BXH2 mice. Yanagida, M., Osato, M., Yamashita, N., Liqun, H., Jacob, B., Wu, F., Cao, X., Nakamura, T., Yokomizo, T., Takahashi, S., **Yamamoto, M.**, Shigesada, K. and Ito, Y. *Oncogene*, in press

(総説論文)

1. Roles of Nrf2 in the activation of antioxidant enzyme genes via ARE. Ishii, T., Itoh, K. and **Yamamoto, M.** *Methods Enzymol.* **348**, 182-190 (2002, *invited review*)
2. Roles of hematopoietic transcription factor GATA-1 and GATA-2 in the development of red blood cells. Ohneda, K. and **Yamamoto, M.** *Acta Haematol.* **108**, 237-245 (2002; *invited review*)
3. Integration and diversity of the regulatory network composed of Maf and CNC families of transcription factors Motohashi, H., O'Connor, T., Katsuoka, F., Engel, J.D. and **Yamamoto, M.** *Gene* **294**, 1-12 (2002; *invited review*)
4. X-linked sideroblastic anemia. **Yamamoto, M.** and Harigae, H. *The NORD Guide to Rare Disorders*. pp. 373-374 (3rd edition), Lippincott, Williams & Wilkins. Philadelphia, PA (2003, *invited review*)
5. Unique function of the Nrf2-Keap1 pathway in the inducible expression of antioxidant and detoxifying enzymes. Kobayashi, A., Ohta, T. and **Yamamoto, M.** *Methods Enzymol.* **378**, 273-286 (2004, *invited review*)
6. Molecular mechanism activating Nrf2-Keap1 pathway in regulation of adaptive response to electrophiles. Itoh, K., Tong, K.I. and **Yamamoto, M.** *Free Radical Biol. Med.* **36**, 1208-1213 (2004, *invited review*)