

## 平成18年度科学研究費補助金（基盤研究（S））研究終了報告書

◆記入に当たっては、「平成18年度科学研究費補助金（基盤研究（S））研究終了報告書記入要領」を参照してください。

ローマ字		ICHIJO HIDENORI					
①研究代表者氏名		一條 秀憲		②所属研究機関・部局・職		東京大学・大学院薬学系研究科・教授	
③研究課題名	和文	ストレス応答の分子機構解明に基づく生物学的情報処理システムの理解と応用					
	英文	Comprehension and application of biological information system based on the analysis of molecular mechanisms of stress response					
④研究経費 金額単位：千円	平成13年度	平成14年度	平成15年度	平成16年度	平成17年度	総合計	
	18,800	19,000	19,000	18,900	19,000	94,700	
⑤研究組織（研究代表者及び研究分担者） *平成18年3月31日現在							
氏名	所属研究機関・部局・職	現在の専門	役割分担（研究実施計画に対する分担事項）				
一條 秀憲	東京大学・大学院薬学系研究科・教授	分子生物学	研究全般及び総括				
武田 弘資	東京大学・大学院薬学系研究科・助教授	分子生物学	酸化ストレス応答の分子機構解析、X線結晶構造解析				
松沢 厚	東京大学・大学院薬学系研究科・助手	分子生物学	ノックアウトマウスの作製と解析				
西頭 英起	東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・COE拠点形成特任教員	分子生物学	小胞体ストレス応答の分子機構解析、低分子薬剤の合成、スクリーニング				
⑥当初の研究目的（交付申請書に記載した研究目的を簡潔に記入してください。）							
<p>多細胞生物個体は常に外界の様々な刺激もしくはストレスに曝されている。個体は細胞間の緊密なコミュニケーションを介して、刺激の種類や強さを認識・解読し、それらの変化にいかに対応するかを考え、もしくは反射的に行動対処している。同様に多細胞生物体を構成する個々の細胞も様々な細胞環境の変化に常時曝されるとともに、それらに正確かつ迅速に反応することを要求されている。細胞は様々な刺激を細胞内外のセンサーもしくはレセプターを介して認識し、瞬時にしてそれらの変化に対する対処方法（例えば増殖、分化、死など）を決定する必要がある、そのために細胞の中には分子間相互作用を介した高度な細胞内情報処理システムを発達させていると考えられる。ここでいう細胞内情報処理システムとは、個々の刺激に対する特異的なシグナル伝達経路ならびにそのクロストークによって織りなされるシグナル伝達のネットワークが産み出す生物学的情報処理機構を指す。近年の分子生物学的技術の発展により、質（例えばリガンドの種類）の違いが産み出す生理活性（例えば増殖や死）の違いについては多くの知見が得られ、それらを仲介するシグナル伝達機構についてもかなりの理解が得られつつある。しかしながら、質的に同じリガンド（もしくはストレス）の量的差異が、全く異なる生理活性を発揮する分子メカニズムについてはほとんど明らかにされていない。換言すれば、細胞が刺激の量を認識するメカニズムならびに量の違いを質の違いへと変換するメカニズムについてはほとんど研究がなされていないといえる。本研究の目的は、5年間の研究期間内に、ストレス応答の分子機構解明を軸として細胞内情報処理システムの作動機序を明らかにすることである。</p>							

**⑦研究成果の概要** (研究目的に対する研究成果を必要に応じて図表等を用いながら、簡潔に記入してください。)

本研究課題への具体的なアプローチ法として、われわれはASKファミリーキナーゼ系を介したストレス応答の分子機構の解析を軸として行った。その理由は、1) 構成的活性化型ASK1を用いた細胞内発現実験により、ASK1の弱い発現(下流分子であるJNK/p38の弱い活性化を誘導)はPC12細胞やケラチノサイトにおいて細胞分化ならびに生存を促進するが、ASK1の強い発現(JNK/p38の強く持続的な活性化を誘導)は同じ細胞においてアポトーシスを誘導すること、2) ASK1ノックアウトマウス由来細胞においては、酸化ストレス刺激によるJNKならびにp38などの下流のシグナル伝達の持続的活性化部分のみが特異的に消失しているとともに、これらのストレスによって誘導されるアポトーシスに抵抗性を示すことが判明し、ASK1ノックアウトマウスがJNKならびにp38シグナルの量(活性化の持続性)と質(生物活性)との関連性を解明するための有効な手段であることが示唆されたためである。

そこで、ASK1-MAPキナーゼ系を介したストレス応答の分子機構の解明を軸として「量の差を質の違いへ」という細胞内情報処理の作動機序を明らかにするために、1) 酸化ストレスによるASK1活性化機構の詳細の解明、2) ASK1活性化の定量的モニター法の開発、3) ASKファミリー分子群のノックアウトマウスの作成・解析、等を中心に検討を行った結果、以下に列挙する知見ならびに今後の研究進展に有用と考えられる新たな解析ツールを得ることができた。

1) 酸化ストレスによるASK1活性化機構の詳細の解明: ASK1活性化の分子機構解明を目的としてtwo-hybrid法による検索を行い、新たなASK1活性制御分子としてセリン・スレオニンフォスファターゼであるPP5を同定した(Morita, *EMBO J.*, 2001)。PP5とASK1との結合は、定常状態ではほとんど見られなかったが、細胞に過酸化水素などの酸化ストレスを与えることによって速やかに誘導されるとともにASK1を脱リン酸化することによってASK1の不活性化を誘導することが判明した。またPP5の発現により酸化ストレス誘導性アポトーシスが減弱することも判明した。すなわちPP5は、酸化ストレス状況下におけるASK1のネガティブフィードバック制御因子としてASK1の活性持続時間の制御を行っている分子であることが判明した。

一方、別のASK1結合分子としてスカフォールドタンパク質JSAP1/JIP3ならびにアダプタータンパク質TRAF2/TRAF6が同定された(Matsuura, *J.Biol. Chem.*, 2002, Noguchi, *J.Biol. Chem.*, 2005, Matsuzawa, *Nat. Immunol.* 2006)。JSAP1は定常状態においてASK1と結合が見られるが、ASK1が酸化ストレス刺激によって活性化されるとASK1によって直接リン酸化され、リン酸化されたJSAP1は下流のMKK4/MKK7ならびにJNKをリクルートすることによりJNK特異的にASK1からの持続的活性化を増強している可能性が示唆された。一方TRAF2/TRAF6は、酸化ストレス依存的にASK1に結合し、ASK1の活性化に必要不可欠な働きをすることが明らかになった。

2) ASK1活性化の定量的モニター法の開発: ASK1活性化の測定には、これまで主にASK1抗体を用いた免疫沈降法によるin vitro kinase assayを行っていたが、定量性や機動力に欠ける面もあり、また、ストレスによって活性化される分子を細胞溶解液中で比較的長時間インキュベートせざるを得ないという問題点があった。そこでASK1活性化に必須のリン酸化部位を活性化ループ内に同定するとともにリン酸化ASK1抗体の作成を試み、この抗体がASK1の活性化を極めて正確且つ鋭敏に検出することを明らかにした(Tobiume, *J. Cell Physiol.*, 2002)。本抗体はASK1活性化をより直接的に測定可能とするツールとして、今後のASK1ファミリー研究の推進に大きく資するものと期待される。

3) ASKファミリーノックアウトマウスの樹立: ASK1ノックアウトマウスに加え、ASKファミリー分子群であるASK2ならびに新規ASKファミリーASK3ノックアウトの作成解析を行った。ASK2ノックアウトマウスはASK1ノックアウトマウス同様、見かけ上の異常はないが、発がん性に大きな差があることを突き止めた。ASK3は、マウスゲノム情報検索から新たに発見し、現在ノックアウトマウスの作成中である。これらのファミリー分子群は互いに下流分子群(JNK/p38)の活性化における時間的、量的な重複性もしくは相補性に関与する可能性が高く、本研究過程で作成されたこれらのノックアウトマウスは今後のストレス応答研究の推進に大きく資するものと期待される。

⑧特記事項 (この研究において得られた独創性・新規性を格段に発展させる結果あるいは可能性、新たな知見、当該研究分野及び関連研究分野への影響等、特記すべき事項があれば記入してください。)

ASK1によるJNK/p38の強い持続的な活性化と細胞死との関連性に関する本研究の解析過程において、ASK1が強い小胞体ストレスによるアポトーシスのシグナル伝達に必須の分子であることが明らかになった(Nishitoh, *Genes Dev.* 2002)。小胞体ストレス応答は、虚血、低酸素、遺伝子異常などのさまざまな原因により小胞体内への折り畳み異常タンパク質の蓄積によって惹起され、本来それらのストレスに対抗するための細胞生存シグナル伝達系を活性化すると考えられてきた。しかしながら最近の研究により、「強い」小胞体ストレスがアポトーシスを誘導すること、ならびにそのシグナル伝達機構としてASK1-JNK経路が極めて重要な役割を果たしていることがASK1ノックアウト由来細胞の解析から明らかになってきた。さらに、小胞体ストレスによるアポトーシスは神経変性疾患の原因としてにわかに注目を集めているが、ハンチントン舞踏病やアルツハイマー病などに代表される多くの神経変性疾患に共通する分子機構として、各疾患に特徴的な異常タンパク質の蓄積が「過剰な小胞体ストレス」という共通のメカニズムによって神経細胞死を誘導することが発症要因のひとつであることが示唆されている。事実、ASK1ノックアウトマウス由来神経細胞を用いた研究成果から、ASK1がハンチントン舞踏病などのポリグルタミン病に特異的な伸長したポリグルタミン鎖によって誘導される神経細胞死に必須の分子であることが示された。一方、細胞は酸素を利用してエネルギー変換を行なう反面、常に酸化ストレスに曝される運命にある。適度な酸化ストレスは、小胞体ストレス同様生存シグナルを誘導することが知られているが、「過剰な酸化ストレス」は、細胞死を誘導する。ごく最近、我々はASK1ノックアウトマウス由来神経細胞を用い、アルツハイマー病の発症要因と考えられている凝集A $\beta$ ペプチドが酸化ストレスを惹起してASK1を介した神経細胞死を誘導することを突き止めた(Kadowaki, *Cell Death Differ.* 2005)。一方、自然免疫応答研究の過程でASK1の活性酸素依存的な「弱く一時的な」活性化がリポポリサッカライド(LPS)による炎症性サイトカイン類の誘導に必須であることを明らかにした(Matsuzawa, *Nat. Immunol.* 2006)。以上、本研究成果として得られたこれらの学術的成果は、ASKファミリーを介したストレス応答におけるシグナル伝達機構の解明に基づく薬剤開発が、革新的神経変性疾患治療薬ならびに抗炎症薬の開発に繋がる可能性を示唆している。

⑨研究成果の発表状況 (この研究費による成果の発表に限り、学術誌等に発表した論文(掲載が確定しているものを含む。)の全著者名、論文名、学協会誌名、巻(号)、最初と最後のページ、発表年(西暦)、及び国際会議、学会、特許等の発表状況について記入してください。なお、代表的な論文3件に○を、また研究代表者に下線を付してください。)

1. Liu, Q., Wilkins, B.J., Lee, Y.J., Ichijo, H. and Molkenstin, J.D. Direct Interaction and Reciprocal Regulation Between ASK1 and Calcineurin-NFAT Controls Cardiomyocyte Death and Growth. *Mol. Cell. Biol.*, in press.
2. Hayakawa, T., Matsuzawa, A., Noguchi, T., Takeda, K. and Ichijo, H. The ASK1-MAP kinase pathways in the immune and stress responses. *Microbes Infect.*, (review article), in press.
3. Takeda, K., Noguchi, T. and Ichijo, H. ASK1 Signalosome: a Signaling Complex Essential for Cellular Stress Responses. *J. Oral Biosci.*, (review article), 48, 7-11 (2006).
4. Sekine, Y., Takeda, K. and Ichijo, H. The ASK1-MAP kinase signaling in ER stress and neurodegenerative diseases. *Curr. Mol. Med.*, (review article), 6, 87-97 (2006).
5. Lee, K.H., Nishimura, S., Matsunaga, S., Fusetani, N., Ichijo, H., Horinouchi, S., Yoshida, M. Induction of a ribotoxic stress response that stimulates stress-activated protein kinases by 13-deoxydanolid, an antitumor marine macrolide. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 70, 161-171 (2006).
6. Harada, C., Nakamura, K., Namekata, K., Okumura, A., Mitamura, Y., Iizuka, Y., Kashiwagi, K., Yoshida, K., Ohno, S., Matsuzawa, A., Tanaka, K., Ichijo, H. and Harada, T. Role of apoptosis signal-regulating kinase 1 in stress-induced neural cell apoptosis in vivo. *Am. J. Pathol.*, 168, 261-269 (2006).
7. Mizumura, K., Takeda, K., Hashimoto, S., Horie, T. and Ichijo, H. Identification of Op18/stathmin as a potential target of ASK1-p38 MAP kinase cascade. *J. Cell. Physiol.*, 206, 363-370 (2006).
8. Noguchi, T., Takeda, K., Matsuzawa, A., Saegusa, K., Nakano, H., Gohda, J., Inoue, J. and Ichijo, H. Recruitment of TRAF family proteins to the ASK1 signalosome is essential for oxidative stress-induced cell death. *J. Biol. Chem.*, 280, 37033-37040 (2005).
9. Watanabe, T., Otsu, K., Takeda, T., Yamaguchi, O., Hikoso, S., Kashiwase, K., Higuchi, Y., Taniike, M., Nakai, A., Matsumura, Y., Nishida, K., Ichijo, H. and Hori, M. Apoptosis signal-regulating kinase 1 is involved not only in apoptosis but also in non-apoptotic cardiomyocyte death. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 333, 562-567 (2005).
10. Izumi, Y., Kim-Mitsuyama, S., Yoshiyama, M., Omura, T., Shiota, M., Matsuzawa, A., Yukimura, T., Murohara, T., Takeya, M., Ichijo, H., Yoshikawa, J. and Iwao, H. Important Role of Apoptosis Signal-Regulating Kinase 1 in Ischemia-induced Angiogenesis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 25, 1877-1883 (2005).
11. Kumasawa, F., Hashimoto, S., Onose, A., Jibiki, I., Mizumura, K., Matsumoto, M., Maruoka, S., Gon, Y., Kobayashi, T., Takahashi, N., Ichijo, H. and Horie, T. Apoptosis signal-regulating kinase 1 in leukotriene D4-induced activator protein-1 in airway smooth muscle cells. *Eur. J. Pharmacol.*, 517, 11-16 (2005).
12. Matsuzawa, A. and Ichijo, H. Stress-responsive protein kinases in redox-regulated apoptosis signaling. *Antioxid. Redox Signal.* (review article), 7, 472-481 (2005).
13. Omura, T., Yoshiyama, M., Matsumoto, R., Kusuyama, T., Enomoto, S., Nishiya, D., Izumi, Y., Kim, S., Ichijo, H., Motojima, M., Akioka, K., Iwao, H., Takeuchi, K. and Yoshikawa, J. Role of c-Jun NH2-terminal kinase in G-protein-coupled receptor agonist-induced cardiac plasminogen activator inhibitor-1 expression. *J. Mol. Cell Cardiol.*, 38, 583-92 (2005).

- ⑨研究成果の発表状況(続き) (この研究費による成果の発表に限り、学術誌等に発表した論文(掲載が確定しているものを含む。)の全著者名、論文名、学協会誌名、巻(号)、最初と最後のページ、発表年(西暦)、及び国際会議、学会、特許等の発表状況について記入してください。なお、代表的な論文3件に○を、また研究代表者に下線を付してください。)
14. Junn, E., Taniguchi, H., Jeong, B.S., Zhao, X., Ichijo, H. and Mouradian, M.,M. Interaction of DJ-1 with Daxx inhibits ASK1 activity and cell death.  
*Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 102, 9691-9696 (2005).
  15. Bijangi-Vishehsaraei, K., Saadatzadeh, M.R., Werne, A., McKenzie, K.A., Kapur, R., Ichijo, H. and Haneline, L.S. Enhanced TNF- $\alpha$  induced apoptosis in fanconi anemia type C deficient cells is dependent on Apoptosis Signal-regulating Kinase 1.  
*Blood*, 106, 4124-4130 (2005).
  16. Sayama, K, Komatsuzawa, H., Yamasaki, K., Shirakata, Y., Hanakawa, Y., Ouhara, K., Tokumaru, S., Dai, X., Tohyama, M., ten Dijke, P., Sugai, M., Ichijo, H. and Hashimoto, K. New mechanisms of skin innate immunity: ASK1-mediated keratinocyte differentiation regulates the expression of *b*-defensins, LL37, and TLR2.  
*Eur. J. Immunol.*, 35, 1886-1895 (2005).
  17. Matsuzawa, A., Saegusa, K., Noguchi, T., Sadamitsu, C., Nishitoh, H., Nagai, S., Koyasu, S., Matsumoto, K., Takeda, K. and Ichijo, H. ROS-dependent activation of the TRAF6-ASK1-p38 pathway is selectively required for TLR-4 mediated innate immunity.  
*Nat. Immunol.*, 6, 587-592 (2005).
  18. Dersch, K., Ichijo, H., Bhakdi, S. and Husmann, M. Fatty acids liberated from low density lipoprotein trigger endothelial apoptosis *via* mitogen activated protein kinases.  
*Cell Death Differ.*, 12, 1107-1114 (2005).
  19. Kadowaki, H., Nishitoh, H., Urano, F., Sadamitsu, C., Matsuzawa, A., Takeda, K., Masutani, H., Yodoi, J., Urano, Y., Nagano, T. and Ichijo, H. Amyloid  $\beta$  induces neuronal cell death through ROS-mediated ASK1 activation.  
*Cell Death Differ.*, 12, 19-24 (2005).
  20. Matsukawa, J., Matsuzawa, A., Takeda, K. and Ichijo, H. Functions of MAP Kinase cascades: The ASK1-MAP Kinase cascades in mammalian stress response.  
*J. Biochem.* (review article), 279, 36490-36496 (2004).
  21. Kaneto, H., Nakatani, Y., Miyatsuka, T., Kawamori, D., Matsuoka, T.A., Matsuhisa, M., Kajimoto, Y., Ichijo, H., Yamasaki, Y. and Horii, M. Possible novel therapy for diabetes with cell-permeable JNK-inhibitory peptide.  
*Nat. Med.*, 10, 1128-1132 (2004).
  22. Yamaguchi, O., Watanabe, T., Nishida, K., Kashiwase, K., Higuchi, Y., Takeda, T., Hikoso, S., Hirotsu, S., Asahi, M., Taniike, M., Nakai, A., Tsujimoto, I., Matsumura, Y., Miyazaki, J., Chien, K.R., Matsuzawa, A., Sadamitsu, C., Ichijo, H., Baccarini, M., Horii, M. and Otsu, K. Cardiac-specific Disruption of *c-raf-1* Gene Induces Cardiac Dysfunction and Apoptosis.  
*J. Clin. Invest.*, 114, 937-943 (2004).
  23. Naguro, I., Adachi-Akahane, S. and Ichijo, H. Calcium signaling *via* voltage-dependent L-type  $Ca^{2+}$  channels.  
*Signal Transduction* (review article), 4, 195-205 (2004).
  24. Huang, S., Shu, L., Easton, J., Harwood, F. C., Germain, G. S., Ichijo, H. and Houghton, P. J. Inhibition of Mammalian Target of Rapamycin Activates Apoptosis Signal-Regulating Kinase 1 Signaling by Suppressing Protein Phosphatase 5 Activity.  
*J. Biol. Chem.*, 279, 36490-36496 (2004).
  25. Kadowaki, H., Nishitoh, H. and Ichijo, H. Survival and apoptosis signals in ER stress: the role of protein kinases.  
*J. Chem. Neuroanat.* (review article), 28, 93-100 (2004).
  26. Subramanian RR, Zhang H, Wang H, Ichijo, H., Miyashita T, Fu H. Interaction of apoptosis signal-regulating kinase 1 with isoforms of 14-3-3 proteins.  
*Exp. Cell Res.* 29, 581-591 (2004).

- ⑨研究成果の発表状況(続き) (この研究費による成果の発表に限り、学術誌等に発表した論文(掲載が確定しているものを含む。)の全著者名、論文名、学協会誌名、巻(号)、最初と最後のページ、発表年(西暦)、及び国際会議、学会、特許等の発表状況について記入してください。なお、代表的な論文3件に○を、また研究代表者に下線を付してください。)
27. Takeda, K., Matsuzawa, A., Nishitoh, H., Tobiume, K., Kishida, S., Ninomiya-Tsuji, J., Matsumoto, K., and Ichijo, H. Involvement of ASK1 in Ca<sup>2+</sup>-induced p38 MAP kinase activation. *EMBO rep.*, 5, 161-166 (2004).
28. Omura, T., Yoshiyama, M., Kim, S., Matsumoto, R., Nakamura, Y., Izumi, Y., Ichijo, H., Sudo, T., Akioka, K., Iwao, H., Takeuchi, K. and Yoshikawa, J. Involvement of Apoptosis Signal-Regulating Kinase-1 on Angiotensin II-Induced Monocyte Chemoattractant Protein-1 Expression. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*, 24, 1-6 (2004).
29. Yamaguchi, O., Higuchi, Y., Hirotsu, S., Kashiwase, K., Nakayama, H., Hikoso, S., Takeda, T., Watanabe, T., Asahi, M., Taniike, M., Matsumura, Y., Tsujimoto, I., Hongo, K., Kusakari, Y., Kurihara, S., Nishida, K., Ichijo, H., Hori, M. and Otsu, K. Targeted deletion of apoptosis signal-regulating kinase 1 attenuates left ventricular remodeling. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 100, 15883-15888 (2003).
30. Takamatsu, H., Nagao, T., Ichijo, H. and Adachi-Akahane, S. L-type Ca<sup>2+</sup> channels serve as a sensor of the SR Ca<sup>2+</sup> for tuning the efficacy of Ca<sup>2+</sup> -induced Ca<sup>2+</sup> release in rat ventricular myocytes. *J. Physiol.*, 552, 415-424 (2003).
31. Song, S., Kim, S.Y., Hong, Y.M., Jo, D.G., Lee, J.Y., Shim, S.M., Chung, C.W., Seo, S.J., Yoo, Y.J., Koh, J.Y., Lee, M.C., Yates, A.J., Ichijo, H., Jung, Y.K. Essential role of E2-25K/Hip-2 in mediating amyloid-beta neurotoxicity. *Mol. Cell*, 12, 553-563 (2003).
32. Izumiya, Y., Kim, S., Izumi, Y., Yoshida, K., Yoshiyama, M., Matsuzawa, A., Ichijo, H., Iwao, H. Apoptosis Signal-Regulating Kinase 1 Plays a Pivotal Role in Angiotensin II-Induced Cardiac Hypertrophy and Remodeling. *Circulation Res.*, 93, 874-883 (2003).
33. Cho, S.-G., Kim, J.W., Lee, Y.H., Hwang, H.S., Kim, M.-S., Ryoo, K., Kim, M.J., Noh K.T., Kim, E.K. Cho, J.-H., Yoon, K.W., Cho, E.-G., Park, H.-S., Chi, S.W., Lee, M.-J., Kang, S.S., Ichijo, H., and Choi, E.-J. Identification of a novel antiapoptotic protein that antagonizes ASK1 and CAD activities. *J. Cell Biol.*, 163, 71-81 (2003).
34. Izumi, Y., Kim, S., Yoshiyama, M., Izumiya, Y., Yoshida, K., Matsuzawa, A., Koyama, H., Nishizawa, Y., Ichijo, H., Yoshikawa, J. and Iwao, H. Activation of apoptosis signal-regulating kinase 1 in injured artery and its critical role in neointimal hyperplasia. *Circulation*, 108, 2812-2818 (2003).
35. Matuskawa, J., Nakayama, K., Nagao, T., Ichijo, H. and Urushidani, T. Role of ADP-ribosylation factor 6 (ARF6) in gastric acid secretion. *J. Biol. Chem.*, 278, 36470-36475 (2003).
36. Maruoka, S., Hashimoto, S., Gon, Y., Nishitoh, H., Takeshita, I., Asai, Y., Mizumura, K., Shimizu, K., Ichijo, H. and Horie, T. ASK1 regulates influenza virus infection-induced apoptotic cell death. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 307, 870-876 (2003).
37. Yamaguchi, S., Zhorov, B.S., Yoshioka, K., Nagao, T., Ichijo, H., and Adachi-Akahane, S. Key roles of Phe<sup>1112</sup> and Ser<sup>1115</sup> in the pore-forming IIIS5-S6 linker of L-type Ca<sup>2+</sup> channel  $\alpha_1C$  subunit (CaV1.2) in binding of dihydropyridines and action of Ca<sup>2+</sup> channel agonists. *Mol. Pharmacol.*, 64, 235-248 (2003).
38. Hashimoto, Y., Niikura, T., Chiba, T., Tsukamoto, E., Kadowaki, H., Nishitoh, H., Yamaguchi, Y., Ishizaka, M., Yamada, M., Nawa, M., Terashita, K., Aiso, S., Ichijo, H. and Nishimoto, I. The cytoplasmic domain of Alzheimer's amyloid-beta protein precursor causes sustained ASK1/JNK mediated neurotoxic signal via dimerization. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 306, 889-902 (2003).

- ⑨研究成果の発表状況(続き) (この研究費による成果の発表に限り、学術誌等に発表した論文(掲載が確定しているものを含む。)の全著者名、論文名、学協会誌名、巻(号)、最初と最後のページ、発表年(西暦)、及び国際会議、学会、特許等の発表状況について記入してください。なお、代表的な論文3件に○を、また研究代表者に下線を付してください。)
39. Tashiro, K., Nagao, T., Kurose, H., Ichijo, H. and Urushidani, T. Role of Rho in Rabbit Parietal Cell.  
*J. Cell. Physiol.*, 197, 409-17 (2003).
  40. Oberst, A., Baehrecke, E., Mehmet, H., Ichijo, H. and Gupta, S. A place to die for: apoptosis in cancer and infection, Capri 2002.  
*Cell Death Differ.* (review article), 10, 393-395 (2003)
  41. Takeda K, Matsuzawa A, Nishitoh H and Ichijo, H. Roles of MAPKKK ASK1 in Stress-Induced Cell Death.  
*Cell Struct. Funct.* (review article), 28, 23-29 (2003).
  42. Matsuzawa, A., Nishitoh, H., Takeda, K. and Ichijo, H. "MAP Kinases in Redox Signaling" in "*Signal Transduction by Reactive Oxygen and Nitrogen Species: Pathways and Chemical Principles*" ed. by Forman, HJ., Kluwer Academic (review article), 223-236 (2003).
  43. Machino, T., Hashimoto, S., Maruoka, S., Gon, Y., Hayashi, S., Nishitoh, H., Ichijo, H. and Horie, T. Apoptosis signal-regulating kinase 1-mediated signaling pathway regulates hydrogen peroxide-induced apoptosis in human pulmonary vascular endothelial cells.  
*Crit. Care Med.*, 31, 2776-2781 (2003).
  44. Huang, H., Shj, L., Dilling, M.B, Easton, J., Harwood, F.C., Ichijo, H. and Houghton, P.J. Sustained activation of the JNK cascade and rapamycin-induced apoptosis are suppressed by p53/p21<sup>Cip1</sup>.  
*Mol. Cell*, 11, 1491-1501 (2003).
  45. Galvan, V., Logvinova, A., Sperandio, S., Ichijo, H., Bredesen, D.E. IGF-IR signaling inhibits apoptosis signal-regulating kinase 1 (ASK1).  
*J. Biol. Chem.*, 278, 13325-13332 (2003).
  46. Yamagishi, S., Yamada, M., Koshimizu, H., Takai, S., Hatanaka, H., Takeda, K., Ichijo, H., Shimoke, K. and Ikeuchi, T. Apoptosis-Signal Regulating Kinase-1 Is Involved in Low Potassium-Induced Activation of p38 Mitogen-Activated Protein Kinase and c-Jun in Cultured Cerebellar Granule Neurons.  
*J. Biochem.*, 133, 719-724 (2003).
  47. Saeki, K., Kobayashi, N., Inazawa, Y., Zhang, H., Nishitoh, H., Ichijo, H., Saeki, K., Isemura, M., Yuo, A.. Oxidation-triggered c-Jun N-terminal kinase (JNK) and p38 mitogen-activated protein (MAP) kinase pathways for apoptosis in human leukaemic cells stimulated by epigallocatechin-3-gallate (EGCG): a distinct pathway from those of chemically induced and receptor-mediated apoptosis.  
*Biochem. J.*, 368, 705-720 (2002).
  48. Jibiki, I., Hashimoto, S., Maruoka, S., Gon, Y., Matsuzawa, A., Nishitoh, H., Ichijo, H., and Horie, T. Apoptosis signal-regulating kinase 1-mediated signaling pathway regulates nitric oxide-induced activator protein-1 activation in human bronchial epithelial cells.  
*Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 167, 856-861 (2002).
  49. Gilot, D., Loyer, P., Corlu, A., Glaise, D., Lagadic-Gossmann, D., Atfi, A., Morel, F., Ichijo, H. and Guguen-Guillouzo, C. Liver protection from apoptosis requires both blockage of initiator caspase activities and inhibition of ASK1/JNK pathway via glutathione S-transferase regulation.  
*J. Biol. Chem.*, 277, 49220-49229 (2002).

- ⑨研究成果の発表状況（続き）（この研究費による成果の発表に限り、学術誌等に発表した論文（掲載が確定しているものを含む。）の全著者名、論文名、学協会誌名、巻（号）、最初と最後のページ、発表年（西暦）、及び国際会議、学会、特許等の発表状況について記入してください。なお、代表的な論文3件に○を、また研究代表者に下線を付してください。）
50. Matsuura, H., Nishitoh, H., Takeda, K., Matsuzawa, A., Amagasa, T., Ito, M., Yoshioka, K. and Ichijo, H. Phosphorylation-dependent scaffolding role of JSAP1/JIP3 in the ASK1-JNK signaling pathway: a new mode of regulation of the MAP kinase cascade.  
*J. Biol. Chem.*, 277, 40703-40709 (2002).
  51. Inoshita, S., Takeda, K., Hatai, T., Terada, Y., Sano, M., Hata, J., Umezawa, A. and Ichijo, H. Phosphorylation and Inactivation of Mcl-1 by c-Jun N-terminal Kinase (JNK) in response to oxidative stress.  
*J. Biol. Chem.*, 277, 43730-43734 (2002).
  52. Takeda, K. and Ichijo, H. Neuronal p38 MAPK signalling: an emerging regulator of cell fate and function in the nervous system.  
*Genes Cells* (review article), 7, 1099-1111 (2002).
  53. Kuranaga, E., Kanuka, H., Igaki, T., Sawamoto, K., Ichijo, H., Okano, H. and Miura, M. Reaper-mediated inhibition of DIAP1-induced DTRAF1 degradation results in activation of JNK in *Drosophila*.  
*Nat. Cell Biol.*, 4, 705-710 (2002).
  54. Nishitoh, H., Matsuzawa, A., Tobiume, K., Saegusa, K., Takeda, K., Inoue, K., Hori, S., Kakizuka, A. and Ichijo, H. ASK1 is essential for endoplasmic reticulum stress-induced neuronal cell death triggered by expanded polyglutamine repeats.  
*Genes Dev.*, 16, 1345-1355 (2002).
  55. Tobiume, K., Saitoh, M. and Ichijo, H. Activation of apoptosis signal-regulating kinase 1 by the stress-induced activating phosphorylation of pre-formed oligomer.  
*J. Cell. Physiol.*, 191, 95-104 (2002).
  56. Matsuzawa, A., Nishitoh, H., Tobiume, K., Takeda, K. and Ichijo, H. Physiological roles of ASK1-mediated signal transduction in oxidative stress- and endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis: advanced findings from ASK1 knockout mice.  
*Antioxid. Redox Signal* (review article), 4, 415-425 (2002).
  57. Geleziunas, R., Xu, W., Takeda, K., Ichijo, H. and Greene W.C. HIV-1 nef inhibits ASK1-dependent death signaling providing a potential mechanism for protecting the infected host cell.  
*Nature*, 410, 834-838 (2001).
  - ⑤8. Morita, K., Saitoh, M., Tobiume, K., Matsuura, H., Enomoto, S., Nishitoh, H. and Ichijo, H. Negative feedback regulation of ASK1 by protein phosphatase 5 (PP5) in response to oxidative stress.  
*EMBO J.*, 20, 6028-6036 (2001).
  59. Matsuzawa, A. and Ichijo, H. Molecular Mechanisms of the Decision between Life and Death: Regulation of Apoptosis by Apoptosis Signal-Regulating Kinase 1.  
*J. Biochem.* (review article), 130, 1-8 (2001).
  60. Arvidsson, Y., Hamazaki, T.S., Ichijo, H. and Funa, K. ASK1 resistant neuroblastoma is deficient in activation of p38 kinase.  
*Cell Death Differ.*, 8, 1029-1037 (2001).
  61. Maeda, H., Hori, S., Nishitoh, H., Ichijo, H., Ogawa, O., Kakehi, Y., and Kakizuka, A. Tumor growth inhibition by arsenic trioxide in the orthotopic metastasis model of androgen-independent prostate cancer.  
*Cancer Res.*, 61, 5432-5440, (2001).
  62. Zou, X., Tsutsui, T., Ray, D., Blomquist, J.F., Ichijo, H., Ucker, D.S. and Kiyokawa, H. The cell cycle-regulatory CDC25A phosphatase inhibits apoptosis signal-regulating kinase 1 (ASK1).  
*Mol. Cell. Biol.*, 21, 4818-4828 (2001).



⑨研究成果の発表状況（続き）（この研究費による成果の発表に限り、学術誌等に発表した論文（掲載が確定しているものを含む。）の全著者名、論文名、学協会誌名、巻（号）、最初と最後のページ、発表年（西暦）、及び国際会議、学会、特許等の発表状況について記入してください。なお、代表的な論文3件に○を、また研究代表者に下線を付してください。）

63. Tobiume, K., Matsuzawa, A., Takahashi, T., Nishitoh, H., Morita, K., Takeda, K., Minowa, O., Miyazono, K., Noda, T. and Ichijo, H. ASK1 is required for sustained activations of JNK/p38 MAP kinases and apoptosis.  
*EMBO rep.*, 2, 222-228 (2001).
64. Cho, S.-G., Lee, Y., Park, H.-S., Ryoo, K., Kang, K., Park, J., Eom, S.-J., Kim, M., Chang, T.-S., Choi, S.-Y., Shim, J., Kim, Y., Dong, M.-S., Lee, M.-J., Kim, S., Ichijo, H. and Choi, E.-J. Glutathione s-transferase mu modulates the stress-activated signals by suppressing apoptosis signal-regulating kinase 1 (ASK1).  
*J. Biol. Chem.*, 276, 12749-12755 (2001).
65. Noguchi, K, Kokubu, A, Kitanaka, C, Ichijo, H. and Kuchino, Y. ASK1-Signaling Promotes c-Myc Protein Stability during Apoptosis.  
*Biochem Biophys Res Commun.*, 281, 1313-1320 (2001).
66. Hatai, T., Yokozeki, M., Funato, N., Baba, Y., Moriyama, K., Ichijo, H. and Kuroda, T. Apoptosis of periodontal ligament cells induced by mechanical stress during tooth movement.  
*Oral Diseases*, 7, 287-290 (2001).
67. Sawada, Y., Nakamura, K., Doi, K., Takeda, K., Tobiume, K., Saitoh, M., Morita, K., Komuro, I., De Vos, K., Sheetz M. and Ichijo, H. Rap1 is involved in cell stretching modulation of p38 but not ERK or JNK MAP kinase.  
*J. Cell Sci.*, 114, 1221-1227 (2001).
68. Sayama, K., Hanakawa, Y., Shirakata, Y., Yamasaki, K., Sawada, Y., Sun, L., Yamanishi, K., Ichijo, H. and Hashimoto, K. Apoptosis signal regulating kinase 1 (ASK1) is an intracellular inducer of keratinocyte differentiation.  
*J. Biol. Chem.*, 276, 999-1004 (2001).

国際会議、学会、特許等の発表状況：国際会議 44件，国内学会 203件，特許 6件