

高等生物の細胞増殖・分化におけるサイトカインと受容体の 遺伝子発現

Gene expression for cytokines and receptors in cell growth and differentiation of the higher organisms

代表研究者 大阪大学細胞工学センター教授 谷口 維 紹
Prof., Inst. for Molecular and Cellular Biology, Osaka Univ.
Tadatsugu TANIGUCHI

協同研究者 大阪大学細胞工学センター助手 藤田 尚 志
Assist. Prof., Inst. for Molecular and Cellular Biology, Osaka Univ.
Takashi FUJITA

大阪大学細胞工学センター助手 山 田 源
Assist. Prof., Inst. for Molecular and Cellular Biology, Osaka Univ.
Gen YAMADA

大阪大学細胞工学センター助手 畠山 昌 則
Assist. Prof., Inst. for Molecular and Cellular Biology, Osaka Univ.
Masanori HATAKEYAMA

Cytokines, a class of soluble mediators involved cell-to-cell communication, are generated in response to many stimuli by a variety of tissues. They include interferons (IFNs), interleukins (ILs) and colony stimulation factors (CSFs). Each cytokine delivers the specific signals into target cells through specific cell surface receptor. Although structure cytokines and their receptors has been extensively studied by cDNA cloning, mechanisms by which cytokines transduce signals to induce the cellular responses still remains unclear. In this study, we have focused on IFNs and IL-2 systems as typical models for the elucidation of the mechanisms of cytokine-mediated signal transduction and gene expression.

IFNs are also known as "negative growth regulators", they inhibit the growth of a variety of normal and malignant cells. Normally, Type I IFNs (*i. e.*, IFN- α , - β) are not induced, but viruses and a number of other cytokines transiently activate the IFN genes. In an attempt to elucidate the molecular mechanisms of cellular responses by viruses and cytokines, we have indentified two nuclear factors, IRF-1 and IRF-2, both bind to the regulatory *cis*-elements of IFN and IFN-responsive genes. The IRF cDNA expression studies in factor-negative cell (*i. e.*, EC cells) have revealed IRF-1 and IRF-2 to function as transcriptional activator and repressor, respectively. Whereas in normal cells, the IRF genes are subject to induction through stimuli such as viruses and cytokines including IFNs *per se*. We have identified a modified form of IRF-1 in L929 cells induced by Newcastle disease virus (NDV), but not by IFNs and TNFs. Such a modification may be essential for IRF-1 to overcome the IRF-2 effect in the efficient induction of IFN gene expression. The overall findings provide evidence for the presence of an elaborate network of cytokine system and IRFs functioning important regulatory factors.

IL-2 is one of the first identified lymphokines and plays a major role in the clonal expansion of T lymphocytes (T cells) by interacting with specific cell surface receptor (IL-2 receptor). The functional, high-affinity form of interleukin-2 receptor (IL-2) is composed of two receptor components, IL-2R α (p 55) and IL-2R β (p 70~75) chains. We have cloned the human and murine IL-2R β cDNAs. Unlike the IL-2R α chain, the IL-2R β chain contains a large cytoplasmic domain which shows no obvious tyrosine kinase motif. It was found later that IL-2R β is structurally related to

erythropoietin and many other cytokine receptors. Subsequently, we established a system in which the cDNA-directed human IL-2R β allows growth signal transduction in murine IL-3-dependent cell lines. In this system, the IL-2-mediated cell proliferation signal(s) seems to be derived primarily via the high-affinity IL-2R which consists of the endogenous mouse IL-2R α and the cDNA-directed human IL-2R β . In fact, the presence of antibodies specific to both IL-2R chains efficiently inhibited the IL-2-mediated cell growth. Utilizing this system, we have identified a critical cytoplasmic region for the growth signal transduction. Furthermore, we have provided evidence for the physical association of IL-2R β with 56^{lek}. The functional significance of such association may be profound in understanding the general mechanism of cytokine-induced signal transduction.

研究目的

高等動物において、細胞の増殖・分化には細胞間の情報伝達が必須である。この情報伝達は細胞間の接着による直接的な伝達系と液性因子を介する間接的な伝達系とが存在する。近年サイトカインと呼ばれる一連の液性因子が後者の系を通じて造血系をはじめとして種々の細胞の増殖・分化に必須のシグナルを伝達していることが明らかになってきた。実際サイトカインにはインターフェロン、インターロイキン、コロニー刺激因子などが知られているがその数は現在では20種類以上にもおよび、それぞれが特異的な受容体を介してシグナルの伝達を行っている。サイトカインの実体についてはかなりその全体像が浮かんで来ているものの、サイトカインによるシグナル伝達の機構およびそれによって引き起こされる細胞応答にとって重要な遺伝子の発現機構については本研究を始めた時点ではほぼ不明といえる状態であった。

本研究はこのような観点に基づき、サイトカインのなかでも(A)インターフェロン(IFN)系および(B)インターロイキン2(IL-2)系を取りあげ、これらサイトカインによるシグナル伝達とそれによる遺伝子の発現の分子機構の解明を目的として行ったものである。

研究経過

(A) インターフェロン(IFN)系における遺伝子の発現制御機構

ウイルス感染によって生産されるIFN- α およびIFN- β 遺伝子の制御因子の同定とそのcDNAクローニングを行い、制御因子の構造と機能を明

らかにするため、マウスL929細胞を用いて実験を行った。まず、同細胞においてIFN- α およびIFN- β の転写制御配列に結合する因子IRF-1(interferon regulatory factor-1)の存在を見いだした。さらに、マウスIRF-1のcDNAクローニングにも成功した。方法としては λ gt11を用いた“cDNA発現法”を用い、IFN- β 制御コア配列を化学合成したDNAと特異的に結合するタンパクを生産するクローンを同定するという手法を用いた。その結果、マウスIRF-1は329個のアミノ酸より成ることが判明した。さらにIRF-1遺伝子の発現そのものがウイルスなどによって誘導されることが明らかになった。すなわち、ウイルス感染→IRF-1遺伝子の活性化→IRFの産生→IFN遺伝子の活性化→IFNの産生→IFNによるIRF-1遺伝子の活性化…といった正のフィードバック機構の存在が強く示唆された。さらにマウスIRF-1cDNA発現ベクターをサルCOS細胞に導入し、IRF-1を大量発現させるとCOS細胞のIFN染色体遺伝子が活性化されることが判明した。またCOS細胞が実際にIFN- β のみならずIFN- α をも生産することが判明した。転写制御因子の遺伝子導入によって内在遺伝子が活性化された例はこれからはじめてと考えられる。

IRF-1遺伝子は、マウスの各種組織で発現しているが、特にマイトジェンで活性化したりリンパ球では高レベルの発現が見いだされた。したがってIRF-1はインターフェロン系のみならず、他の遺伝子発現系にも作用し、細胞の制御に極めて重要な役割を果たしているものと考えられる。

上述のCOS細胞におけるIRF-1cDNA発現に

よる IFN の生産は、IRF-1 の IFN 遺伝子発現の制御における重要性を示すものではあったが、一方でこのようにして生産された IFN 量はウイルス感染 COS 細胞に比べて数 10 分の 1 程度であった。我々はこの結果から、IRF-1 の発現のみで IFN 遺伝子を活性化できないメカニズムの存在を考え、IRF-1 の働きを抑制する因子の存在について検討した。実際には IFN-1 と類似の因子の存在を調べた。マウス IRF-1 cDNA をプローブにしてマウス L929 細胞由来の mRNA より作製した cDNA ライブラリーをスクリーンすることによって IRF-1 cDNA とクロスハイブリダイズする cDNA クローンを得た。cDNA の解析によってこの cDNA の産物は新しい DNA 結合タンパクをコードすることが判明し、これを IRF-2 と名付けた。IRF-2 は IRF-1 と特に N 末端側の領域において高い類似性を示し、C 末端側の領域はかなり類似性は低かった。IRF-2 は 349 個のアミノ酸より成る (IRF-1 は 329) ことが判明した。IRF-2 がいかなる DNA 配列を認識するかを種々の DNA プローブを用いたメチレーションインターフェレンスアッセイ法によって解析した結果、IRF-1 と全く同じ配列を認識することが判明した。すなわち、IRF-2 もまた、IFN- α 、IFN- β および MHC クラス I の遺伝子に結合することが明らかとなった。IRF-1 および IRF-2 の両 cDNA をレポーター遺伝子とともに L929、COS 細胞にトランスフェクトし、それらの機能を解析した結果、ある実験条件下では IRF-2 は IRF-1 と拮抗して制御配列に結合し、IRF-1 の働きを抑える役割を果たすことが判明した。

このようにして IFN 系を制御する転写因子 IRF-1、IRF-2 の機能をさらに詳細に解析するため EC (embryonal carcinoma) 細胞を用いて IFN、IRF 遺伝子の発現様式を検討した。従来 EC 細胞ではインターフェロン (IFN) 系が作動しないことが知られているので、その理由として IRF 遺伝子が EC 細胞内で発現していない可能性が考えられた。実際、EC 細胞、P19 において未分化状態では、IRF-1、IRF-2 共にその発現が全く見られずレチノイン酸 (retinoic acid) による分化後両遺

伝子が発現されることを見いだした。さらに未分化 P19 細胞で IRF-1 cDNA を発現させると極めて高い IFN の産生が見いだされた。またこの IFN 染色体遺伝子の発現は IRF-2 cDNA の発現によって抑制されることを見いだした。従って IRF-1 は染色体遺伝子を効率よく活性化する調節因子であり、IRF-2 はそれを抑制する因子であることが明らかとなった。さらに未分化 P19 細胞において IRF-1 は IFN 遺伝子 (α , β) のみならず通常 IFN によって誘導される MHC クラス I 遺伝子のプロモーターをも効率よく活性化することが明らかとなった。また、この活性化は IRF-2 によって抑制された。したがって、IRF-1 と IRF-2 はウイルス感染による IFN 遺伝子の制御のみならず IFN 自身による遺伝子の誘導にも関与し、IFN 系全体の制御に重要であることが示唆された。

(B) IL-2 系における遺伝子発現制御および受容体の構造とそのシグナル伝達における機能
IL-2 および IL-2 受容体 α 鎖 (IL-2R α) の遺伝子は共に T 細胞において抗原、マイトジェンによって活性化される。更に両遺伝子は HTLV-1 が生産する因子である tax-1 によっても活性化される。このような遺伝子の活性化に関与する核内制御因子の検索と同定を行った。すなわちヒト白血病 T 細胞株 Jurkat を用い、マイトジェンによって活性化した細胞の核抽出液中にヒト IL-2 遺伝子 5' 上流制御領域に特異的に結合する因子を 3 種類同定した。そのなかの 2 種類の因子はマイトジェン誘導によって誘導されることが一連のゲルシフト法を用いた結合実験によって明らかとなった。さらに興味深いことに、この 2 種類の因子の一つは IL-2R α 鎖遺伝子の上流領域にも結合すること、すなわち増殖因子とその受容体の遺伝子の発現に共通の制御因子が関与することが明らかとなった。実際この因子の結合領域に変異を加えると両遺伝子のマイトジェンによる発現誘導能は著しく低下することも明らかとなった。さらにこの因子 (TRF-1 と仮に称することにした) は、IL-2、IL-2R のみならず、T 細胞で活性化されることが知られている他のリンフォカイン遺伝子、すなわ

ち IFN- γ , IL-6 および HTLV-1, HIV-1 の LTR にも結合することや, TRF-1 がすでに報告されている因子 NF- κ B, H2TF-1 など DNA 認識配列を共にしていることも判明している。一方では, IL-2 システムと ATL の関係については HTLV-1 の関与が強く示唆されている。HTLV-1 の pX 遺伝子を T 細胞に導入し, IL-2 および IL-2 受容体 α 鎖および β 鎖の発現を検討した。実際に, HTLV-1 の pX 遺伝子 (*tax-1* タンパクをコードする) と IL-2/IL-2R システムの関係調べのために, HTLV-1 の LTR に pX cDNA を接続した遺伝子 (“ミニプロウイルス” DNA) を構築し, Jurkat およびマウス T 細胞株 EL-4 の染色体に導入した。その結果, 両細胞共マイトジェンの刺激なしに IL-2R α の発現が誘導されることを見いだした。しかし, IL-2R α の発現は細胞の増殖サイクルにおいて一過性に誘導されることも判明した。EL-4 トランスフォーム細胞を詳細に解析した結果, IL-2 および IL-2R α の mRNA が pX 遺伝子の発現によって誘導されることが判明した。さらに IL-2R α の発現を, 種々の細胞増殖サイクル阻害剤を用いることによって調べた結果, IL-2R α の発現は G1b で顕著に誘導される証拠を得た。これは HTLV-1 の LTR の機能が細胞の増殖サイクルによって影響を受けることを示唆するものと考えられる。

IL-2 のシグナルは, 特異的受容体を介して行われるが種々の実験結果よりそのシグナル伝達は上述の IL-2R α 鎖ではなくもう一方の受容体 IL-2R β 鎖によってなされるものであることがしだいに明らかとなってきた。しかしその構造については全く未知の状態であったため, シグナル伝達の機構についての研究には IL-2R β 鎖の遺伝子クローニングが最重要課題となった。IL-2R β の cDNA をクローンするため, ヒト YT 細胞より mRNA を抽出し, その mRNA を用いて, cDNA ライブラリーを作製した。cDNA は直接サル COS 細胞で発現されるように工夫された発現ベクター CDM8 に導入した。一方でヒト IL-2R β を認識するモノクローナル抗体 Mik β 1, β 2 (東京都臨床総合医学研究所, 通堂 満, 宮坂昌之両博士

が作製したもので, クローニングの研究は両博士との共同研究で行った) を用い, すでに B. Seed らによって確立されたパンニング法を用いてスクリーンし, COS 細胞上に Mik 抗体と反応する産物をコードする cDNA をクローンすることに成功した。cDNA の構造を解析した結果, その産物 (後に実際 IL-2R β であることが判明) は膜タンパクであり, 細胞外, 細胞膜, 細胞質内にそれぞれ 214, 25, 286 個のアミノ酸より成るドメインを保持していることが明らかになった。細胞質内ドメインには他の増殖因子の受容体にみられるようなチロシンキナーゼドメインは存在しなかった。IL-2R β cDNA クローニング以降, エリスロポエチン, IL-4, IL-3, IL-7 のレセプター cDNA クローニングが他のグループによってなされ, その結果これらのレセプターは IL-2R β , 更に IL-6 レセプターを含めてお互いに構造上の類似性を示し, 新しいファミリーを形成することが明らかとなった。IL-2R β が果たしてシグナル伝達を担うレセプターとして機能するか否かを明らかにする目的でヒト IL-2R β cDNA を発現ベクターに導入し, 培養マウス細胞 BAF/B03 に導入した。この細胞はプロ B 細胞としての特徴を有し, 増殖には IL-3 依存性を示す細胞である。BAF/B03 細胞は IL-2R α を発現しているが IL-2R β は発現しておらず, IL-2 には全く反応性を示さない。しかし, ヒト IL-2R β cDNA を発現させたトランスフォーム株においてはマウス IL-2R α とともに高親和性レセプターを構成することが判明するとともに, この細胞株は IL-3 のみならず IL-2 に反応し, 増殖することが明らかとなった。以上より IL-2R β は実際 IL-2 による増殖シグナル伝達しうることが証明された。さらに IL-2R β においてシグナル伝達に必要な領域を同定するために, IL-2R β cDNA にさまざまな変異を導入し, IL-2R β の細胞内ドメインのいくつかの部分に欠失させたレセプターを発現させ, 各々の変異レセプターの機能を, 前述の BAF/B03 細胞を用いて解析した。その結果, IL-2R β の膜直下の “serine rich region” と呼ばれる領域を含むごく限られた領域が IL-2R β のシグナル伝達に必須であることが明らか

となった。

次に、IL-2R β 鎖と共役する細胞内シグナル伝達分子の同定を試みた。特に IL-2 シグナルによってタンパクのチロシンリン酸化が起きることを示すいくつかの報告をふまえ、Tリンパ球特異的チロシンキナーゼ p 56^{lck} に焦点をあてて、IL-2R β と p 56^{lck} の関係について検討を加えた。まず IL-2R β と p 56^{lck} が相互作用を示すか否かについてヒト YT 細胞 (NK 様細胞) を用いて解析した YT 細胞の可溶化物 (lysate) を用いて抗 IL-2R β モノクローナル抗体 Mik- β 1 (通堂 満博士より分与) によって免疫沈降を行った後、沈降物質をゲル電気泳動によって分離、その後抗 p 56^{lck} 抗血清 195.7 (R. Perlmutter 博士より分与) によるブロッティング解析を行った結果 Mik- β 1 によって p 56^{lck} が共沈することが判明した。一方、抗 IL-2R α モノクローナル抗体、anti-Tac (内山 卓博士より分与) によっては p 56^{lck} は共沈せず、IL-2R β と p 56^{lck} が IL-2 非存在化で特異的に会合していることが明らかとなった。さらに IL-2 刺激によって p 56^{lck} が修飾された結果 p 60^{lck} レベルが増大し、これに伴って lck タンパクのチロシンキナーゼ活性が上昇することを明らかにした。

研究成果

(A) IFN 系において遺伝子の発現制御を行う鍵を握る因子 IRF-1, IRF-2 を発見し、その遺伝子クローニングに成功するとともに両因子の全構造の解明に成功した。さらに IRF-1 が転写活性化因子 (Activator) として、また IRF-2 は抑制因子 (Repressor) として共に IFN 遺伝子、IFN 誘導遺伝子の発現に関与し、両者の量的、質的变化によって遺伝子の発現が陽に陰に制御されていることを明らかにした。

(B) IL-2 系において IL-2 および IL-2R α 鎖の遺伝子発現制御領域の同定に成功した。さらに IL-2 によるリンパ球増殖シグナル伝達を担っている IL-2R β 鎖の遺伝子クローニングに成功し、IL-2R β の全構造の解明に成功した。さらに IL-2R β が実際 IL-2 による細胞増殖シグナルの伝達を行う分子であることを実験的に証明した。そし

て IL-2R β 鎖は細胞質内においてチロシンキナーゼ分子である p 56^{lck} と物理的に会合していること、IL-2 によって IL-2R β を介しての p 56^{lck} の活性化が起きることを明らかにした。サイトカイン系で受容体と src-ファミリーチロシンキナーゼの会合が明らかにされたのはこれがはじめての例である。

今後の課題と発展

(A) IFN 系を制御する IRF-1, IRF-2 が他のサイトカイン系を制御している可能性を追及する必要がある。また、一連の研究によって転写因子として IRF-2 は抑制因子として機能することが EC 細胞を用いた実験によって明らかになった。同時に未分化 EC 細胞において IFN 系が機能しない原因が IRF 遺伝子の不活状態にあることが強く示唆された。一方で分化後の EC 細胞および通常の L929 分化細胞においては IRF 遺伝子は弱いながらも構成的に発現し、それがウイルス、IFN などのサイトカインによって一過的に強い発現誘導を受けることも判明している。そのような状態においては抑制因子である IRF-2 は IRF-1 に比べ圧倒的に安定であるため通常は IRF-2 の細胞内蓄積が見られる。それでは IRF-1 による IFN 系の活性化においては、いかにして IRF-2 の抑制効果を排除できるか、という問題が重要となる。我々は今後 IRF-1 自身の活性化がウイルスによる修飾シグナル (リン酸化シグナル) によって引き起こされるのではないかと考え、現在そのような修飾型 IRF-1 の同定を試みている。さらに今後の課題としては IRF-1 が IFN によっても誘導されることから IFN の機能、例えば癌細胞増殖の抑制などに深く関わっている可能性の追及を考えている。

(B) IL-2 および IL-2R α 鎖の遺伝子発現の調節因子については同定はされているものの構造や機能についてはまだ未知の状態であり、その構造解明が今後重要課題となる。さらに、我々の研究では IL-2 シグナルを伝達する分子である IL-2R β が p 56^{lck} と会合することが明らかとなった。一方では IL-2 は p 56^{lck} を活性化することも判明した。さらに我々は IL-2R β が p 56^{lck} のみならず、

他の *src-family* タンパクとも会合しうることを示す結果を得つつある。一連の知見はサイトカイン受容体群と *src-family* タンパク群の多面的相互作用を示唆し、シグナル伝達系の redundancy を示しているように見える。一方で我々が今回同定した IL-2R β "acidic region" は昨年度に報告したように IL-3 依存性プロ B 細胞を用いた実験系において IL-2 シグナルの伝達に必須の領域ではないことが判明している。おそらく IL-2 による p 56^{lck} の活性化は IL-2R β と p 56^{lck} の会合とは直接共役するのではなく、したがって IL-2R β と会合している p 56^{lck} はむしろ IL-2R β の機能の制御、例えば negative regulation などに関与しているのではないかと考えられる。今後この問題をさらに追及していく必要がある。またチロシンリン酸がサイトカインシグナル伝達にどのように関わっているかを明らかにするためにも (i) IL-2R β と共役する分子が他にもあるか (ii) p 56^{lck} と共役する分子は何か、といった問題も追及する必要がある。

発表論文

- Taniguchi, T.: Regulation of cytokine gene expression, *Ann. Rev. Immunol.*, **6**, 439~464 (1988).
- Hatakeyama, M. and Taniguchi, T.: Dysregulation of growth factor receptor system in cellular transformation. *Jpn. J. Cancer Res.*, **79**, 885~901 (1988).
- Miyamoto, M., Fujita, T., Kimura, Y., Maruyama, M., Harada, H., Sudo, Y., Miyata, T. and Taniguchi, T.: Regulated expression of a gene encoding a nuclear factor, IRF-1, that specifically binds to IFN- β gene regulatory elements. *Cell*, **54**, 903~913 (1988).
- Yamasaki, K., Taga, T., Hirata, Y., Yawata, H., Kawamishi, Y., Seed, B., Taniguchi, T., Hirano, T. and Kishimoto, T.: Cloning and expression of the human interleukin-6 (BSF-2/IFN β 2) receptor. *Science*, **241**, 825~828 (1988).
- Yamada, G., Hatakeyama, M., Fujita, T. and Taniguchi, T.: Molecular biology of the interleukin-2 system. *Gann Monograph on Cancer Res.* (Tokyo), **34**, 167~175 (1988).
- Taniguchi, T., Fujita, T., Yamada G., Miyamoto, M., Harada, H., Kimura, Y., Maruyama, M. and Shibuya, H.: Cytokine gene expression: Regulation in the type I IFN and the IL-2 systems. (1988) In: *The Biology of the Interferon System*, ed. by Y. Kawade and S. Kobayashi, Kodansha Scientific, Tokyo, pp. 3~10.
- Fujita, T., Sakakibara, J., Sudo, Y., Miyamoto, M., Kimura, Y. and Taniguchi, T.: Evidence for a nuclear factor(s), IRF-1, mediating induction and silencing properties to human IFN- β gene regulatory elements. *EMBO J.*, **7**, 3397~3405 (1988).
- Yamasaki, K., Taga, T., Hirata, Y., Yawata, H., Kawamishi, Y., Seed, B., Taniguchi, T., Hirano, T. and Kishimoto, T.: Molecular Structure of Interleukin 6 Receptor. *Proc. Japan Acad. Ser. B*, **64**, 209~210 (1988).
- Fujita, T., Reis, L. F. L., Watanabe, N., Kimura, Y., Taniguchi, T. and Vilcek, J.: Induction of the transcription factor IRF-1 and interferon- β mRNAs by cytokines and activators of second-messenger pathways. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **86**, 9936~9940 (1989c).
- Fujita, T., Kimura, Y., Miyamoto, M., Barsoumian, E. L. and Taniguchi, T.: Induction of endogenous IFN- α and IFN- β gene by a regulatory transcription factor, IRF-1. *Nature*, **337**, 270~272 (1989).
- Fujita, T., Miyamoto, M., Kimura, Y., Hammer, J. and Taniguchi, T.: Involvement of a *cis*-element that binds an H2TF-1/NF κ B like factor(s) in the virus-induced interferon- β gene expression. *Nucl. Acids Res.*, **17**, 3335~3346 (1989).
- Doi, T., Hatakeyama, M., Itoh, S. and Taniguchi, T.: Transient induction of IL-2 receptor in cultured T cell lines by HTLV-1 LTR-linked *tax-1* gene. *EMBO J.*, **8**, 1953~1958 (1989).
- Hatakeyama, M., Tsudo, M., Minamoto, S., Kono, T., Doi, T., Miyata, T., Miyasaka, M. and Taniguchi, T.: Interleukin-2 receptor β chain gene: Generation of three receptor forms by cloned human α and β chain cDNA's. *Science*, **244**, 551~556 (1989).
- Harada, H., Fujita, T., Miyamoto, M., Kimura, Y., Maruyama, M., Furia, A., Miyata, T. and Taniguchi, T.: Structurally similar but functionally distinct factors, IRF-1 and IRF-2, bind to the same regulatory elements of IFN and IFN-inducible genes. *Cell*, **58**, 729~739 (1989).
- Shibuya, H., Yoneyama, M. and Taniguchi, T.: Involvement of a common transcription factor in the regulated expression of IL-2 and IL-2 receptor genes. *International Immunology*, **1**, 43~49 (1989).
- Shibuya, H. and Taniguchi, T.: Identification of multiple *cis*-elements and *trans*-acting factors involved in the induced expression of human IL-2 gene. *Nucl. Acids Res.*, **17**, 9173~9184 (1989).
- Hatakeyama, M., Mori, H., Doi, T. and Taniguchi, T.:

- A restricted cytoplasmic region of IL-2 receptor β chain is essential for growth signal transduction but not for ligand binding and internalization. *Cell*, **59**, 837~845 (1989).
- Doi, T., Hatakeyama, M., Minamoto, S., Kono, T., Mori, H. and Taniguchi, T.: Human interleukin 2 (IL2) receptor β chain allows transduction of IL2-induced proliferation signal(s) in a murine cell line. *Eur. J. Immunol.*, **19**, 2375~2378 (1989).
- Taniguchi, T.: Regulation of interferon β gene: Structure and function of *cis*-Elements and *trans*-Acting factors. *J. Interferon Res.*, **9**, 633~640 (1989).
- Kuga, T., Fujita, T. and Taniguchi, T.: Nucleotide sequence of the mouse interferon- β gene. *Nucl. Acids Res.*, **17**, 3291 (1989).
- Maruyama, M., Fujita, T. and Taniguchi, T.: Sequence of a cDNA coding for human IRF-1. *Nucl. Acids Res.*, **17**, 3292 (1989).
- Itoh, S., Harada, H., Fujita, T., Mimura, T. and Taniguchi, T.: Sequence of a cDNA coding for human IRF-2. *Nucl. Acids Res.*, **17**, 8372 (1989).
- Taniguchi, T., Hatakeyama, M., Minamoto, S., Kono, T., Doi, T., Tsudo, M. and Miyasaka, M.: Molecular analysis of the interleukin-2 receptor complex: Expression of the human α and β chain cDNAs. (1989) *Progress in Immunology*, Vol. VII, ed. by F. Melchers *et al.*, Berlin, pp. 627~632.
- Taniguchi, T., Hatakeyama, M., Minamoto, S., Kono, T., Doi, T., Tsudo, M., Miyasaka, M. and Miyata, T.: Interleukin-2 Receptor β Chain: Molecular Cloning and Functional Expression of the Human cDNA. (1989) *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, Vol. LIV, pp. 689~694.
- Kono, T., Doi, T., Yamada, G., Hatakeyama, M., Minamoto, S., Tsudo, M., Miyasaka, M., Miyata, T. and Taniguchi, T.: Murine interleukin 2 receptor β chain: Dysregulated gene expression in lymphoma line EL-4 caused by a promoter insertion. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **87**, 1806~1810 (1990).
- Hatakeyama, M. and Taniguchi, T.: Interleukin-2. (1990) In: *Handbook of Experimental Pharmacology*, Vol. 95/I; Peptide Growth Factors and Their Receptors I, ed. by M. B. Sporn and A. B. Roberts, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, pp. 523~540.
- Shibuya, H., Yoneyama, M., Nakamura, Y., Harada, H., Hatakeyama, M., Minamoto, S., Kono, T., Doi, T., White, R. and Taniguchi, T.: The human interleukin-2 receptor β -chain gene: genomic organization, promoter analysis and chromosomal assignment. *Nucl. Acids Res.*, **18**, 3697 (1990).
- Yamada, G., Ogawa, M., Akagi, K., Miyamoto, H., Nakono, N., Itoh, S., Miyazaki, J., Nishikawa, S., Yamamura, K. and Taniguchi, T.: Specific depletion of the B cell population induced by aberrant expression of human IRF-1 (interferon regulatory factor-1) gene in transgenic mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **88**, 532~536 (1991).
- Harada, H., Willison, K., Sakakibara, J., Miyamoto, M., Fujita, T. and Taniguchi, T.: Absence of the Type I IFN System in EC Cells: Transcriptional Activator (IRF-1) and Repressor (IRF-2) Genes Are Developmentally Regulated. *Cell*, **63**, 303~312 (1990).
- Tsuda, M., Karasuyama, H., Kitamura, F., Tanaka, T., Kubo, S., Yamamura, Y., Tamatani, T., Hatakeyama, M., Taniguchi, T. and Miyasaka, M.: The IL-2 Receptor β -chain (p70): Ligand Binding Ability of the cDNA-Encoding Membrane and Secreted Forms. *J. Immunol.*, **145**, 599~606 (1990).
- Reis, L. F. L., Fujita, T., Lee, T. H., Taniguchi, T. and Vilček, J.: TNF and IL-1 induce mRNAs for the transcription factors IRF-1 and IRF-2: Possible roles in the regulation of IFN- β expression. (1990) *Molecular and Cellular Biology of Cytokines*, Wiley-Liss, Inc., pp. 1~6.
- Okamoto, Y., Minamoto, S., Shimizu, K., Mogami, H. and Taniguchi, T.: Interleukin 2 receptor β chain expressed in an oligodendroglioma line binds interleukin 2 and delivers growth signal. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **87**, 6584~6588 (1990).
- Mori, H., Barsoumian, E. L., Hatakeyama, M. and Taniguchi, T.: Signal transduction by interleukin 2 receptor β chain: importance of the structural integrity as revealed by site-directed mutagenesis and generation of chimeric receptors. *International Immunology*, **3**, 149~156 (1990).