ƒ ‹ F | Œfia‹ ·'e›ß• |–M^D‹ ª¤s›p e ƒ¤"G†ŧSi

p38 MAP kinase‰ --† ›M'R„B⁄S⁄ ⁄l ¤

›p e^ S¡G SO«‹ ›p e

›p e‰ ₽„¡GNSC94-2320-B-038-053-

ɪƒ · ¶¡¡G94 ƒ~08⁄°01⁄ Ø 95 ƒ~07⁄°31⁄Ø

ɪƒ † ƒ ¡G» O ¥´ ·⁄j ·† ›M⁄¿ ⁄l¥ "« ª¤s'

›p e¥ D ø⁄ŧG¶ f‹

›p e »P⁄H›ß¡G" L „S„¡ S ɪ ″‹ ^

†ŧSi^ «‹¡G" °††ŧSi

† B † ƶŁƒG¡¥»›p e¥ i ⁄ ‰ ¶‹ d,

⁄⁄ ¥` Œ 95 ƒ~10⁄°24⁄Ø

行政院國家科學委員會補助專題研究計畫 ■ 成 果 報 告
□期中進度報告

p38 MAP kinase 調控細胞命運之分子機制

計畫類別：■ 個別型計畫　□ 整合型計畫
計畫編號：NSC 94－2320－B－038－053－
執行期間： 94 年 08 月 01 日至 95 年 07 月 31 日

計畫主持人：黃惠美
共同主持人：
計畫參與人員： 林裕均, 李榕珍

成果報告類型(依經費核定清單規定繳交)：■精簡報告 □完整報告

本成果報告包括以下應繳交之附件：
□赴國外出差或研習心得報告一份
□赴大陸地區出差或研習心得報告一份
□出席國際學術會議心得報告及發表之論文各一份
□國際合作研究計畫國外研究報告書一份

處理方式：除產學合作研究計畫、提升產業技術及人才培育研究計畫、列管計畫及下列情形者外，得立即公開查詢
□涉及專利或其他智慧財產權，□一年□二年後可公開查詢

執行單位：臺北醫學大學 細胞及分子生物研究所

中 華 民 國 95 年 10 月 24 日

摘要

Activin A是transforming growth factor (TGF)-β家族的一員，參與調控紅血球的分化。Activin A藉由p38 MAP kinase誘導hematopoietic progenitor cell line K562細胞合成血紅素和抑制細胞生長。K562 細胞是表現Bcr-Abl的慢性髓性白血病(CML)細胞株。CML是髓性血球前驅細胞不斷增殖的一種疾病，這種細胞喪失分化的能力。p38 MAP kinase 途徑決定細胞命運的角色也許可以做為一個研究的模式去了解CML細胞的增殖和分化的分子機制。我們已經利用PCR-select cDNA subtraction analysis 篩選出影響K562 細胞不分化的基因。我們發現一個基因，c-jun，其表現受到activin A負調控。此外，TGF-β，hemin及Bcr/Abl抑制劑STI571會抑制K562細胞的c-Jun表現量。但histone deacytelase inhibitors (HDACIs) (apicidine，sodium butyrate，MS275)並不抑制c-Jun的表現。經由K562細胞大量表現c-Jun的分析，發現c-Jun不影響細胞增生，但抑制TGF-β，Hemin，HDACIs所誘導的血紅素合成。進一步的，c-Jun可回復activinA所抑制的細胞增生。c-Jun抑制activinA或STI571所誘導的血紅素合成和zeta-globin reporter activity。Activin A和STI571活化的p38 MAP kinase受到抑制時，則 c-Jun蛋白表現會增加。於K562細胞處理p38 MAP kinase的抑制劑，SB203580，增加c-jun promoter的activity。這些結果顯示，activin A和STI571可透過p38 MAP kinase pathway負調控c-Jun使紅血球系分化。

關鍵詞：Activin A, p38 MAP Kinase, c-Jun, erythroid differentiation

Abstract

Activin A, a member of the TGF-β superfamily, is involved in the regulation of erythroid differentiation. The activin A induces hemoglobin synthesis and growth inhibition in hematopoietic progenitor cell line K562 cells by activating p38 MAP kinase. The K562 cells are one of the Bcr-Abl expressing CML (chronic myelogenous leukemia) cell lines. CML is a clonal myeloproliferative disorder of the stem cells, which lost their differentiation activity. The cell fate determination role of the p38 MAP kinase pathway may be used as a tool to understand the molecular mechanisms of proliferation and differentiation in the CML cells. We have used the PCR-select cDNA subtraction analysis to screen for genes involved in the undifferentiated status of K562 cells. We found one gene, c-jun, was down regulated by activin A. In addition, TGF-β, hemin, and Bcr/Abl inhibitator STI571 down-regulated c-Jun expression in K562 cells, but histone deacetylase inhibitators (HDACIs : apicidine, sodium butyrate, MS271) did not . We examined the effect of c-Jun overexpression in K562 cells. Stable clones overexpressing c-Jun showed no alterations in proliferation but blocked TGF-β, hemin and HDACIs -mediated hemoglobin synthesis. Further, c-Jun restored activin A-inhibited proliferation. c-Jun blocked activinA- and STI571-induced hemoglobin synthesis and zeta-globin reporter activity. The blocking of activin A- and STI571-mediated p38 MAP kinase activation up-regulated c-Jun expression. The treatment of K562 cells with p38 MAP kinase inhibitor, SB203580, increased c-Jun promoter activity. These data suggest that activin A and STI571 down-regulated c-Jun via p38 MAPK pathway to mediate erythroid differentiation.

Keywords: Activin A, p38 MAP Kinase, c-Jun, erythroid differentiation

Introduction

慢性髓性白血病(chronic myeloid leukemia, CML)是一種屬於造血前驅細胞不正常的

細胞增殖性疾病(myeloproliferative disorder)(1)。慢性髓性白血病依臨床上的疾病進展變化可分為慢性期(chronic phase)、加速期(accelerating phase)及急性期(blast crisis)。CML診斷上最重要的是費城染色體(Philadelphia chromosome)的發現，大於95% CML的病人身上都可以發現這種染色體的異常，其餘的CML病人可能有較複雜的變異性染色體變化。CML於1973年發現第9對與第22對染色體的轉位〔t(9;22)〕有關係（2）。1982 年發現此種的染色體轉位的作用，是因為第9條染色體上的c-Abl（cellular Abl）基因與第22條染色體上的Bcr（breakpoint cluster region)基因發生融合，而形成一個Bcr-Abl 融合蛋白質（fusion protein）。Bcr-Abl是一個持續表現活性的tyrosine kinase，含有許多的domains/motifs可參與許多細胞功能的調控，如：細胞增殖，抑制細胞分化和抑制細胞凋亡等。

Activin A 是屬於 TGF-β家族(TGF-β superfamily)一員，是一個具有多功能性的細胞激素。在紅血球生成（erythropoiesis）的過程中，activin A 扮演著重要的角色。過去的研究報導指出，activinA 是 erythroid differentiation factor (EDF)，調控血球前驅細胞的早期分化，並促使細胞分化為 BFU-E (3)。在人類慢性髓性白血病細胞株 (K562 cell)中，activin A 可以誘導 globin gene 的表現 (3)。低濃度的 activinA (1-10ng/ml) 可以誘導 mouse friend erythroleukemia 細胞 (MEL)分化，使細胞製造血紅素並抑制 MEL 在 soft agar 中的生長(4)。此外，Activin A 可以增加紅血球前驅細胞、周邊循環的紅血球及網狀紅血球（reticulocyte）的數目(5，6)。

Mitogen activated protein (MAP) kinases，包括ERK1/2 (extracellular signal-related protein kinase 1/2)，p38 MAP kinase，和JNK (C-Jun N-terminal kinase)。已知MAP kinase signal cascade 的訊息傳遞與調控細胞生長、分化和apoptosis有關係。而其中p38 MAP kinase 有p38α、p38β、p38γ及p38δ 四種isoform (7)。於哺乳類細胞中p38 MAP kinase皆可被UV、引發發炎反應細胞激素或生長因子誘導 (8)。目前已知 p38 MAPK pathway是一個重要的訊息傳遞路徑，由細胞激素及生長因子刺激及活化，亦參與紅血球細胞前期的分化調控 (9)，在butyrate所誘導的hemoglobin 合成反應中，p38 MAP kinase及ERK皆參與調控 (10)，而p38 MAP kinase 亦參與hypoxia-induced erythropoiesis及EPO的生成 (11)。根據本實驗室之前的研究發現細胞激素 activin A 會經由p38 MAP kinase調控血球前驅細胞K562分化成紅血球系的細胞 (12)。

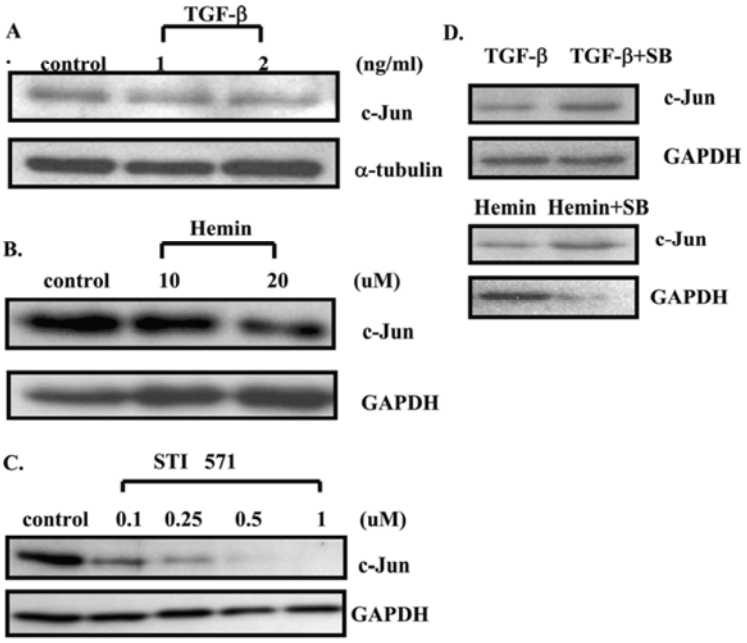
本實驗室之前為瞭解有哪些基因可能調控紅血球分化及不分化，以 cDNA subtraction 的實驗，篩選出抑制 Activin A-mediated erythroid differentiation 時，c-Jun 會大量表現。因此，c-Jun 可能參與血球前驅細胞 K562 的不分化狀態。Activating protein-1 (AP-1) 家族成員包括有 Jun，Fos 及 ATF 等轉錄調控因子。c-Jun 蛋白是以 homodimer，或與 c-fos 形成 heterodimer 調控目標基因的表現，c-Jun 的 N 端帶有一個 leucine zipper (LZ) domain，會與其他的蛋白質交互作用，共同影響細胞的生理，如分化，增生，或細胞的存活(13)。c-Jun 對老鼠胚胎正常的發育及器官的形成是必須的(14)。c-Jun 在抑癌基因 (tumor suppression gene)被抑制時具有正向調控細胞增生的功能，並可使 cyclin D1 轉錄，調控細胞的週期 (13)。在紅血球生成分面，目前的文獻指出，TPA (tetradecanoyl phorbol actate)可經由 MAPK pathway 活化 AP-1 家族中 c-Jun 的活性，誘導血球前驅細胞分化成 megakaryocyte (15)。紅血球轉錄因子 NF-E2 (erythroid transcription factor) 可調控 globin gene 的轉錄，在 Friend erythroleukemia cells 中，c-Jun 抑制 NF-E2 的轉錄活性進而抑制血球前驅細胞往紅血球系分化(16，17)。而 c-Jun 在其它細胞激素及化

學試劑誘導的紅血球系分化過程中所扮演的角色未明，如 activin A (3)，TGF-β (18)，Hemin (10)，STI571 (19)，histone deacetylase inhibitors [apicidine (20)，sodium butyrate (10,21)，MS275 (20)]。因此，在本研究中，我們探討可誘導血球前驅細胞分化的藥物（TGF-β，Hemin，STI571，HDACIs）誘導紅血球分化的過程當中，是否影響 c-Jun 的表現量β。c-Jun 大量表現(overexpression)是否影響 K562 細胞的生長與分化。p38 MAP kinase 是否調控 c-Jun 的表現。

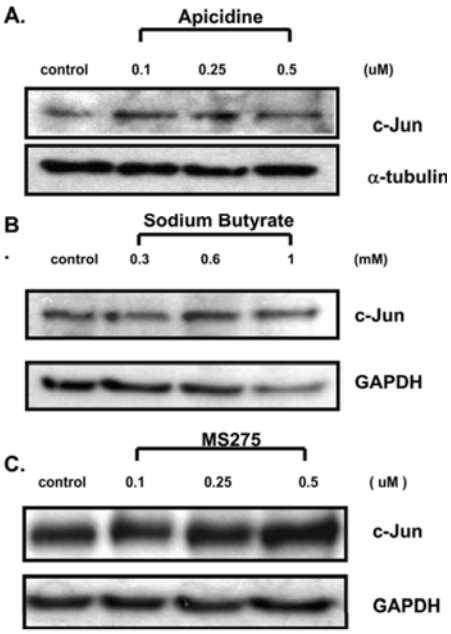
Results

一. 不同紅血球系之分化誘導試劑降低 c-Jun 的表現量

之前的初步結果顯示，activin A經由p38 MAPK pathway誘導血球前驅細胞K562分化成紅血球系細胞(12)，同時抑制c-Jun的表現量。除了activin A 外，另有其他細胞激素與化學試劑會誘導K562細胞往紅血球系分化。因此我們想進一步瞭解，這些細胞激素及化學試劑是否也會調控c-Jun的表現量。將K562細胞分別處理不同濃度的TGF-β，Hemin，STI571或HDACIs (apicidine，sodium butyrate，MS275)後，以西方點墨法分析c-Jun蛋白的變化量。由實驗結果顯示隨著TGF-β，Hemin及STI571濃度的增加，c-Jun的表現量隨之降低(圖一A,B,C)。且於最高濃度時，c-Jun表現量降到最低。而HDACIs並不會降低K562細胞的c-Jun蛋白量(圖二A,B,C)。此外，當SB203580同時與TGF-β或Hemin 共同處理K562細胞時，c-Jun的表現量較TGF-β或Hemin單獨處理時增加。此結果顯示，TGF-β及Hemin亦經由p38 MAPK pathway抑制c-Jun的表現量(圖一D)。



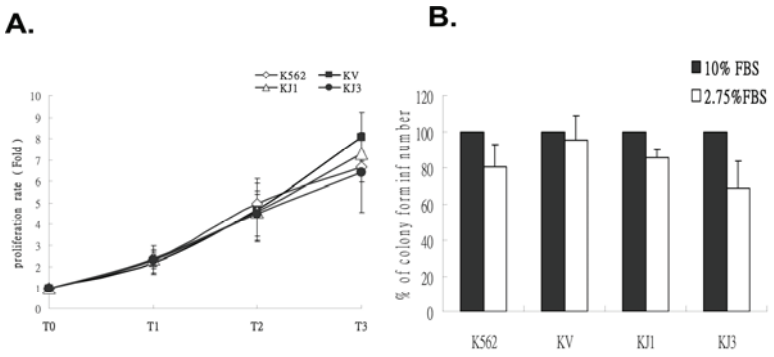
圖一. TGF-β,Hemin,STI571 降低K562細胞的 c-Jun表現量，TGF-β及Hemin 透過p38 pathway 降低c-Jun的表現



圖二. HDACIs不會影響K562細胞的 c-Jun表現量

二. c-Jun 不會影響血球前驅細胞 K562 的增生

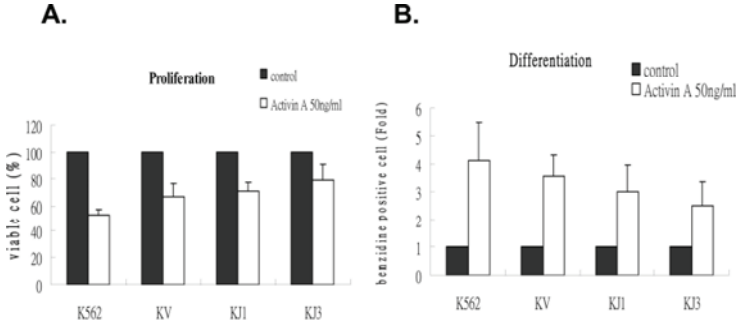
為了分析 c-Jun 是否會影響細胞的增生，利用 trypan blue exclusion assay 分析 K562 及 K562 持續大量表現 c-Jun 蛋白的穩定細胞株(KJ1，KJ3)的生長曲線。並於 0，24，48，72 小時分別計算活細胞數，由實驗結果顯示此四種細胞株 : K562，KV1(K562/vector)，KJ1 和 KJ3 的生長速率並沒有很明顯的差異(圖三 A)。另外，利用 colony forming assay 分析此四種細胞株形成 colony 的能力，而由實驗結果可知，c-Jun 不影響 K562 細胞形成 colony 的能力(圖三 B)。



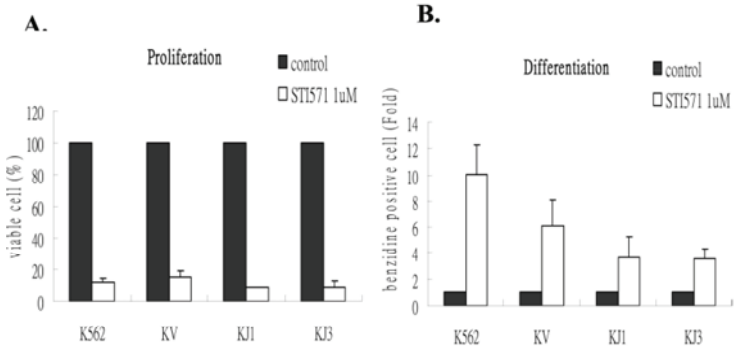
圖三. c-Jun大量表現不影響K562細胞的生長及colony形成的能力

三. c-Jun 會降低誘導試劑所誘導的細胞分化

為瞭解 c-Jun 於 activinA，Hemin，TGF-β，STI571 及 HDACIs (apicidine，sodium butyrate，MS275)等化學試劑處理下是否影響 K562 細胞的生長及分化。分別利用 trypan blue exclusion assay 及 benzidine staining assay 分析。在細胞生長的分析，於第 0 天加入各種不同濃度的藥物或細胞激素(在此稱為高濃度與低濃度)，並計算細胞數。處理 72 小時後同樣計算細胞數。每一組實驗皆以第 0 天為基準，再計算出經過 72 小時後，細胞數的變化量。此外，除計算活細胞數量外，另進行 benzidine staining assay，分析細胞產生血紅素(Hemoglobin, Hb)的情況。實驗結果顯示，activin A 抑制 50% K562 細胞的生長，而 KV1，KJ1，KJ3 細胞約有 20~40%的細胞生長會受到抑制(圖四 A)。在分化方面，與控制組相比，activin A 誘導 K562 細胞產生四倍以上的 Hb，而於 KJ1，KJ3 細胞，activin A 誘導生成的 Hb 較 K562 細胞少一些。此結果顯示，c-Jun 抑制 activin A 誘導的 Hb synthesis(圖四 B)。



圖四. c-Jun會回復activin A所抑制的K562細胞生長及會降低activinA所誘導的血紅素生成

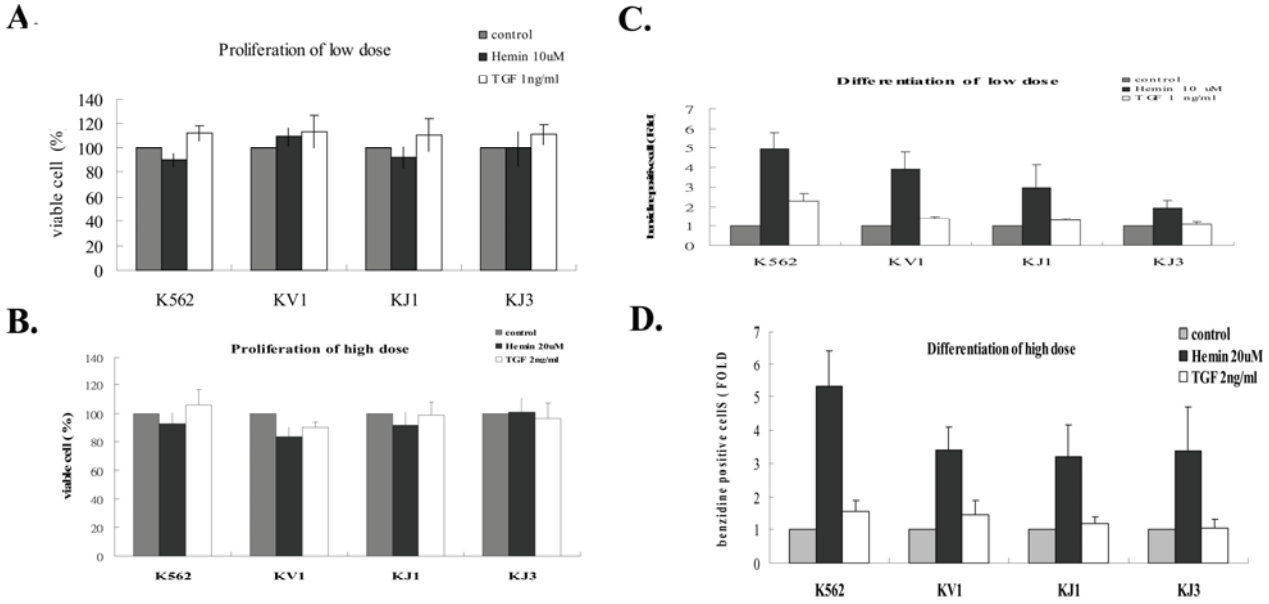


圖五. c-Jun抑制STI571所誘導的分化

K562 細胞為 CML-derived cells，因 chromosome translocation 產生 Bcr/Abl oncoprotein。目前臨床使用 Bcr/Abl 的抑制劑 STI571 做為治療 CML 的藥物。過去研究顯示，STI571 除了誘導 CML 細胞進行 apoptosis 外(22)，亦會誘導紅血球系分化(19)。因此，我們想瞭解 c-Jun 是否影響 STI571 所誘導的分化。以 1uM STI571 處理 72 小時後，K562 細胞的生長約有 85%

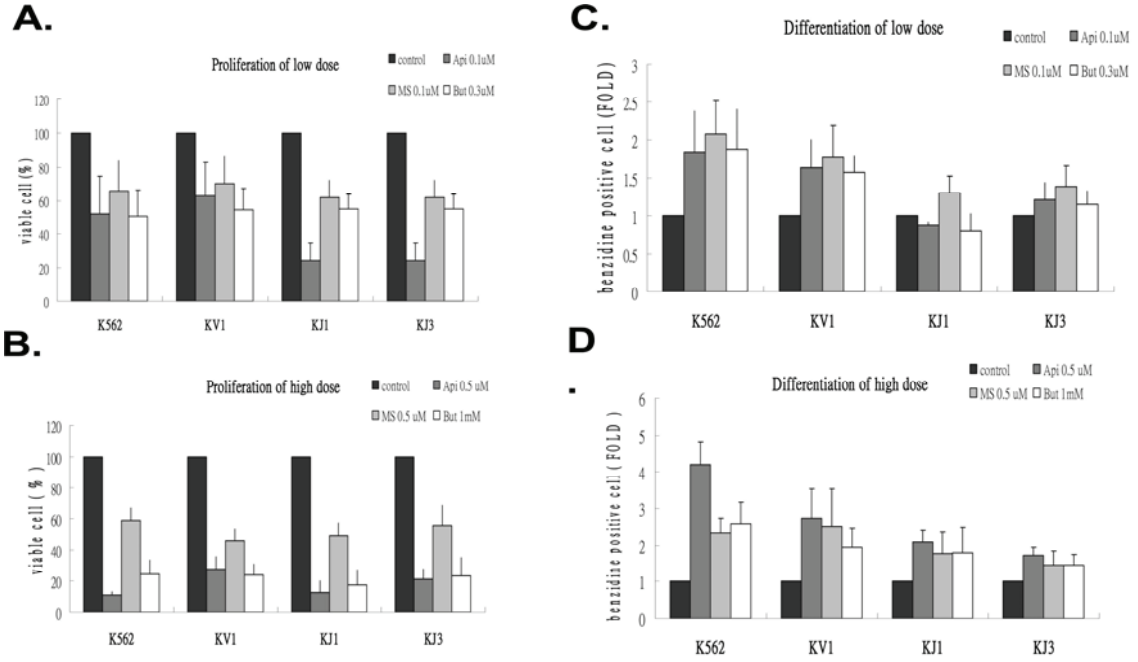
會受到抑制，而其他的穩定細胞株生長亦約有 80~90%的細胞生長會受到抑制(圖五 A)。在分化方面，STI571 會促使 K562 細胞分化。c-Jun 抑制 STI571 誘導的 Hb synthesis (圖五 B)。

於低濃度或高濃度的細胞激素 TGF-β及 Hemin 處理 72 小時後，發現此兩種試藥不會對實驗組與控制組細胞的生長有明顯的影響 (圖六 A，B)。但誘導細胞的分化 (K562 細胞) 則因 c-Jun 大量表現而降低(KJ1 和 KJ3 細胞) (圖六 C，D)。



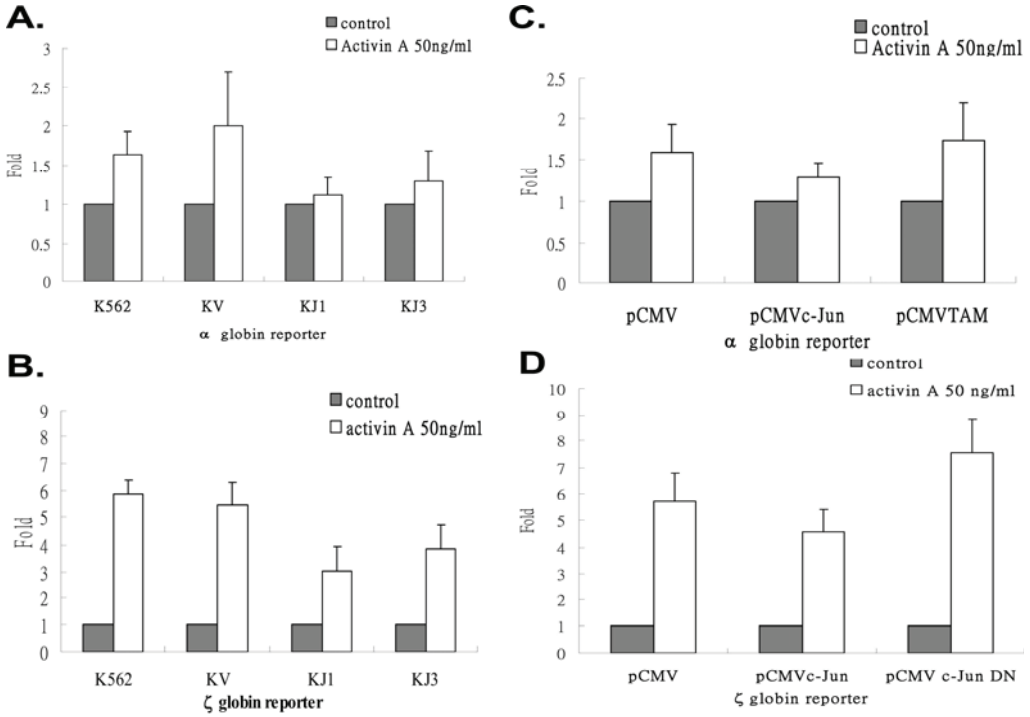
圖六 在Hemin 和TGF-β處理下，c-Jun 大量表現不影響細胞的增生速率，但降低細胞的分化

此外，Apicidine，MS275，sodium butyrate，降低 K562 及 KV1，KJ1，KJ3 細胞的生長 (圖七 A，B)，尤其低濃度 Apicidine 降低 KJ1 與 KJ3 細胞的生長較 K562 及 KV1 几乎高至一倍。低濃度或高濃度的 Apicidine，MS275，sodium butyrate 的處理下，KJ1 和 KJ3 細胞所形成的 Hb 都比 K562 及 KV1 細胞少(圖七 C，D)。根據這些結果顯示，c-Jun 會降低 activin A，STI571，TGF-β，Hemin 及 HDACIs 所誘導的細胞分化。我們推論，c-Jun 抑制 K562 細胞的分化屬於一種非獨特性的作用。

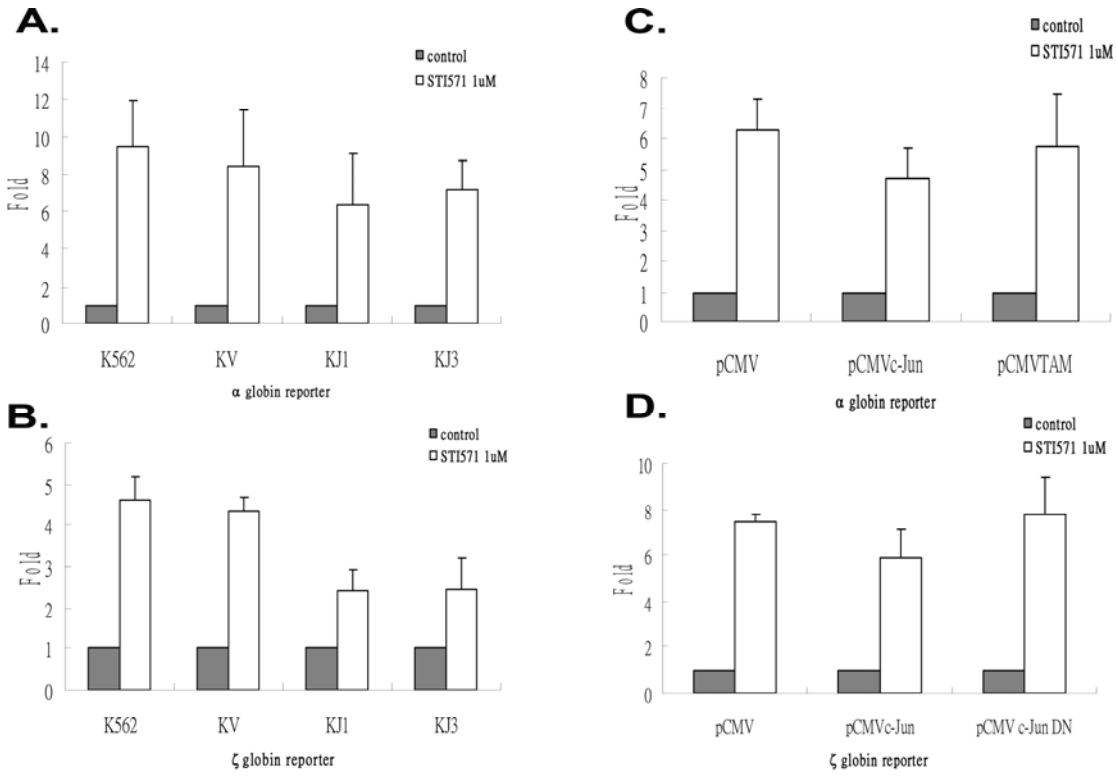


圖七 在高低濃度的apicidine，MS275，sodium butyrate 處理下， c-Jun大量表現不影響血球前驅細胞的生長 ，而在低濃度的apicidine處理下，c-Jun蛋白使K562的增生降低，且c-Jun抑制HDACI所誘導的分化

此外，為進一步確定 c-Jun 是否影響 activin A 或 STI571 所誘導的分化，我們利用 reporter assay 分析 c-Jun 是否抑制 activinA 及 STI571 誘導的 hemoglobin reporter activity 。將α-globin 或ζ-globin 的 reporter 轉染至 K562，KV，KJ1 和 KJ3 細胞中，再有無處理 activinA 或 STI571 24 小時後，分析 reporter 活性。而由實驗結果顯示(圖八 A，B，圖九 A，B) ，c-Jun 確實會抑制 activinA 及 STI571 所誘導的 globin gene reporter activity。此外，以 c-Jun 基因 transient transfection 的實驗中，亦可以發現，c-Jun 會抑制α- 或 ζ-globin gene 的 reporter activity，而當轉染 pCMV TAM67(c-JunDN muntant)時會增加α- & ζ-globin reporter acticity (圖八 C，D，圖九 C，D)。



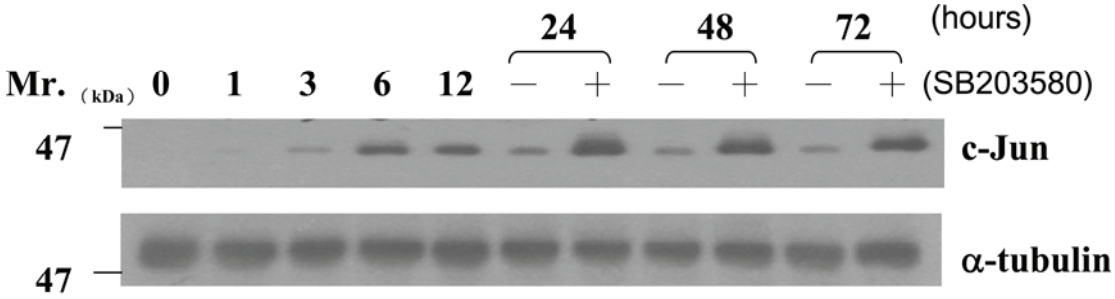
圖八. c-Jun抑制actininA 所誘導的globin gene reporter



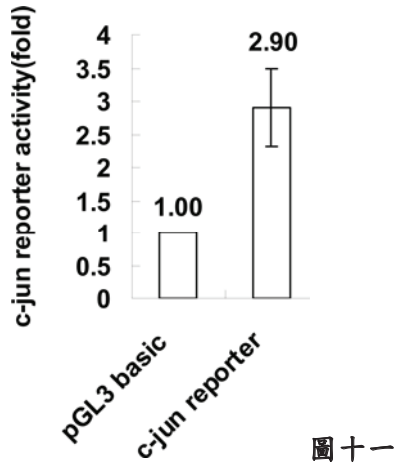
圖九. c-Jun抑制STI571所誘導的globin gene reporter

四. p38 MAPK 負調控 c-Jun 的表現以及 c-Jun 的 promoter activity

ActivinA 經由 p38 MAPK 抑制 K562 細胞 c-Jun 蛋白的表現，為了瞭解 p38 MAPK 負調控 c-Jun 的分子機制，我們分別利用 western blotting 和 reporter assay 分析 p38 MAPK 的抑制是否影響 c-jun 的表現以及 promoter 的活性。由圖十顯示 c-Jun 蛋白表現量隨著 SB203580 處理的時間增加而增加，從第 6 小時顯著增加。由圖十一顯示處理 SB203580 增加 c-Jun promoter activity。



圖十、K562細胞處理SB203580使c-Jun表現量增加。



圖十一

Discussion

經由本實驗的細胞分化分析，初步瞭解細胞激素(activinA，TGF-β)或化學試劑(Hemin，HDACIs 及 STI571)誘導 K562 細胞生成血紅素的現象，都會受到 c-Jun 抑制。符合我們實驗結果的研究顯示，將 c-Jun DN mutant 轉染至 K562 細胞，會加強 cytosine arabinoside 和 activinA 誘導的紅血球系分化(15)。由這些結果顯示，c-Jun 在紅血球系的分化過程中，似乎扮演著負調控者 (negative regulator)的角色。並且 c-Jun 抑制紅血球系分化是一種普遍性的影響。

c-Jun 這一個轉錄因子如何調控紅血球系的分化呢? 過去的文獻指出， c-Jun 下游因子 HERP-2 會抑制轉錄因子 GATA-1 的活性，抑制血球前驅細胞的分化(23)。GATA-1 是控制血球分化的重要轉錄因子，在血球前驅細胞分化全程中皆有調控血球分化的功能，當有刺激因子促使血球前驅細胞分化時，c-Jun 與 NF-E2 (erythroid transcription factor)會競爭與 GATA-1 之間的結合，調控血球前驅細胞的分化。根據文獻指出，當大量表現 c-Jun DN mutant，NF-E2 與 GATA-1 間的 interaction 變多，會促使血球前驅細胞往紅血球系分化，當大量表現 wild type c-Jun，c-Jun 使血球前驅細胞不分化(17)。因此，c-Jun 影響 activinA 誘導紅血球系的分化能力，是否 activinA 也能調控 GATA-1 和 NF-E2 而誘導紅血球系分化，需進一步以實驗證明。

在細胞增生方面，c-Jun 並不會增加細胞的增生能力，但能部分回復 activinA 抑制 K562

細胞的增生能力。並在其他細胞激素及化學試劑的處理下，不影響 K562 細胞的增生能力。根據 Jacobs Helber 等人的研究指出(11)， c-Jun 具有維持細胞正常生長的能力，當 c-Jun DN mutant 被轉染至細胞中，會破壞此功能。也由此可知，於未紅血球系分化的 K562 細胞中，c-Jun 可能具有維持細胞正常增生的功能。

據本論文西方墨點法分析結果指出，activinA 可經由 p38 MAPK 負調控 c-Jun 以促使 K562 細胞分化，STI571，Hemin 及 TGF-b 可負調控 c-Jun，而 apicidine，sodium butyrate，MS275 不負調控 c-Jun。此外，我們發現抑制 p38 MAPK pathway 增加 c-Jun 蛋白表現量和 c-Jun promoter activity。根據我們實驗室之前的研究指出，activinA 促使 K562 細胞分化的訊息路徑中，p38 MAPK 調控細胞分化，ERK 影響 K562 細胞不分化(12) ，也由此可知，p38 MAPK 及 ERK 對於血球前驅細胞分化過程，皆扮演重要的角色。但過去的研究對於血球前驅細胞分化過程中，p38 MAPK，ERK 及 c-Jun 之間的調控機制及關係，尚不明瞭。在此我們發現，activinA 經由 p38 MAPK 負調控 c-Jun，而經由大量乙醯化染色體以促使血球前驅細胞分化的 HDACIs，或許不透過 p38 MAPK 來負調控 c-Jun。

許多誘導血球前驅細胞分化的化學試劑已應用於臨床治療上，但這些化學試劑詳細的分子調控機制尚不明瞭，其中Hemin(10)，sodium butyrate(10, 21)和Bcr/Abl inhibitator STI571(19)，可透過p38 MAPK促使血球前驅細胞分化。也許p38 MAPK及ERK對於臨床治療上會有相當的助益，而 p38 MAPK，ERK及c-Jun之間的調控關係需要更進一步的釐清。

References

1. P.J.Fiakow, R.J.Jacobson, T.Papayannopoulou, Chronic myelocytic leukemia: clonal origin in a stem cell common to granulocyte, erythrocyte, platelet and monocyte/macrophage. Am J Med 63, (1977) 125-130.
2. J.D.Rowley, A new consistent chromosomal abnormality in chronic myelogenous leukaemia identified by quinacrine fluorescence and Giemsa staining. Nature 243, (1973) 290-293.
3. N.L.Frigon, Jr., L.Shao, A.L.Young, L.Maderazo, J.Yu, Regulation of globin gene expression in human K562 cells by recombinant activin A. Blood 79, (1992) 765-772.
4. Y.Eto, T.Tsuji, M.Takezawa, S.Takano, Y.Yokogawa, H.Shibai, Purification and characterization of erythroid differentiation factor (EDF) isolated from human leukemia cell line THP-1 Biochem.Biophys.Res.Commun. 142, (1987) 1095-1103.
5. R.Schwall, C.H.Schmelzer, E.Matsuyama, A.J.Mason, Multiple actions of recombinant activin-A in vivo Endocrinology 125, (1989) 1420-1423.
6. M.Shiozaki, R.Sakai, M.Tabuchi, Y.Eto, M.Kosaka, H.Shibai, In vivo treatment with erythroid differentiation factor (EDF/activin A) increases erythroid precursors (CFU-E and BFU-E) in mice Biochem.Biophys.Res.Commun. 165, (1989) 1155-1161.
7. L.C.Platanias. Map kinase signaling pathways and hematologic malignancies. Blood 101, (2003) 4667-4679.
8. S.K. Mantena, S.K. Katiyar, Grape seed proanthocyanidins inhibit UV-radiation-induced oxidative stress and activation of MAPK and NF-kappaB signaling in human epidermal keratinocytes. Free Radic Biol Med. 40, (2006) 1603-1614.
9. S.Uddin, J.Ah-Kang, J.Ulaszek, D.Mahmud, A.Wickrema, Differentiation stage-specific activation of p38 mitogen-activated protein kinase isoforms in primary human erythroid cells.

Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A. 101, (2004) 147-152.
10. O.Witt, K.Sand, A.Pekrun, Butyrate-induced erythroid differentiation of human K562 leukemia cells involves inhibition of ERK and activation of p38 MAP kinase pathways. Blood 95, (2000) 2391-2396.
11. S.M.Jacobs-Helber, J.J.Ryan, S.T.Sawyer, JNK and p38 are activated by erythropoietin (EPO) but are not induced in apoptosis following EPO withdrawal in EPO-dependent HCD57 cells. Blood 96, (2000) 933-940.
12. H.M.Huang, T.W.Chang, J.C.Liu, Basic fibroblast growth factor antagonizes activin A-mediated growth inhibition and hemoglobin synthesis in K562 cells by activating ERK1/2 and deactivating p38 MAP kinase. Biochem.Biophys.Res.Commun. 320, (2004) 1247-1252.
13. E.Shaulian, M.Karin, AP-1 in cell proliferation and survival. Oncogene 20, (2001) 2390-2400.
14. F.Hilberg, A.Aguzzi, N.Howells, E.F.Wagner, c-jun is essential for normal mouse development and hepatogenesis. Nature 365, (1993) 179-181.
15. D.Rosson, T.G.O'Brien, AP-1 activity affects the levels of induced erythroid and megakaryocytic differentiation of K562 cells. Arch.Biochem.Biophys. 352, (1998) 298-305.
16. M.Walters, D.I.Martin, Functional erythroid promoters created by interaction of the transcription factor GATA-1 with CACCC and AP-1/NFE-2 elements Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A. 89, (1992) 10444-10448.
17. C.Francastel, Y.ugery-Bourget, M.Prenant, M.Walters, D.I.Martin, J.Robert-Lezenes, c-Jun inhibits NF-E2 transcriptional activity in association with p18/maf in Friend erythroleukemia cells. Oncogene 14, (1997) 873-877.
18. P.E.Burger, E.B.Dowdle, P.T.Lukey, E.L.Wilson, Basic fibroblast growth factor antagonizes transforming growth factor beta-mediated erythroid differentiation in K562 cells. Blood 83, (1994) 1808-1812.
19. K.Kohmura, Y.Miyakawa, Y.Kawai, Y.Ikeda, M.Kizaki, Different roles of p38 MAPK and ERK in STI571-induced multi-lineage differentiation of K562 cells. J.Cell Physiol 198, (2004) 370-376.
20. O.Witt, S.Monkemeyer, G.Ronndahl, B.Erdlenbruch, D.Reinhardt, K.Kanbach, A.Pekrun, Induction of fetal hemoglobin expression by the histone deacetylase inhibitor apicidin. Blood 101, (2003) 2001-2007.
21. B.S.Pace, X.H.Qian, J.Sangerman, S.F.Ofori-Acquah, B.S.Baliga, J.Han, S.D.Critz, p38 MAP kinase activation mediates gamma-globin gene induction in erythroid progenitors Exp.Hematol. 31, (2003) 1089-1096.
22. P.E.Hughes, T.Alexi, M.Walton, C.E.Williams, M.Dragunow, R.G.Clark, P.D.Gluckman, Activity and injury-dependent expression of inducible transcription factors, growth factors and apoptosis-related genes within the central nervous system. Prog.Neurobiol. 57, (1999) 421-450.
23. K.E.Elagib, M.Xiao, I.M.Hussaini, L.L.Delehanty, L.A.Palmer, F.K.Racke, M.J.Birrer, G..Shanmugasundaram, M.A.McDevitt, A.N.Goldfarb, Jun blockade of erythropoiesis: role for repression of GATA-1 by HERP2. Mol. Cell.Biol. 24,（2004）7779–7794.

計劃成果自評

首先我們完成慢性髓性白血病細胞分化或不分化時 c-Jun 表現量的變化，並証明細胞一旦往紅血球系分化時受到 p38 MAPK 途徑調控使 c-Jun 表現量降低。另外，完成 c-Jun 抑制其它分化誘導因子對血紅素生成和紅血球細胞分化的作用之分析，証明 c-Jun 抑制分化的作用是普遍性，而非專一性的影響 activin A 的分化作用。這部份完成二大組的實驗，包括大量表現 c-Jun 抑制分化誘導因子(1)影響細胞合成血紅素，(2)影響 globin reporter 的 activity。此外，p38 MAPK 途徑負調控 c-Jun 表現量，包括抑制 p38 MAPK 途徑增加 c-Jun 的表現量和 c-Jun promoter 活性。未來將繼續解開 p38 MAPK 途徑負調控 c-Jun 的分子機制。因此，此一年度的研究確實大部份完成之前送審的計劃。此研究成果已著手準備進行投稿至國際學術期刊。

這些研究結果除了可以發表至國際期刊並提升國家研究水準外，可以使科學家們更了解慢性髓性白血病細胞命運之調控機制。本計劃也成功訓練一名博士班研究生以及一名碩士班研究生學習有關細胞生物，分子生物及生物化學的實驗。包括 c-jun 基因調控細胞命運的分析，p38 MAPK 途徑調控 c-jun gene 表現的分析，尤其訓練蛋白質表現量和基因重組、基因轉殖及細胞活性的分析、訊號傳遞的研究等。