
高田充歯科基礎医学奨励賞受賞講演

口腔扁平上皮癌細胞の薬剤耐性とアポトーシス ～ 転写調節因子の役割 ～

岡村 裕彦

キーワード：口腔扁平上皮癌細胞, 薬剤耐性, アポトーシス, 転写調節因子

Multidrug Resistance and Apoptosis in Oral Squamous Carcinoma Cells ～ Role of Transcription Factors ～

Hirohiko OKAMURA

Abstract : Transcription factors are key factors of a number of cellular processes, such as cell growth, carcinogenesis, and apoptosis. Tumor cells including squamous carcinoma cells initially respond to chemotherapeutic drugs, however, they often acquire anti-apoptotic property and drug resistance. Human oral squamous carcinoma cell line SCCTF cells were isolated as minimal sensitivity to a variety of anticancer drugs, whereas SCCKN cells were isolated as highly sensitive to these reagents. We have clarified the molecular mechanisms that regulate apoptosis and the multidrug resistance using these cell lines. SCCTF cells expressed some transcription factors including EGR-1, NF-Y, and NF- κ B. Okadaic acid and calyculin A, inhibitors of protein phosphatases type 1 and 2A, decreased EGR-1 expression and induced apoptosis in SCCKN cells. In contrast, these inhibitors stimulated the phosphorylation of EGR-1 protein in SCCTF cells during apoptosis. Activation of EGR-1 was involved in the up-regulation of PTEN, which in turn decreased phosphorylation level of AKT in SCCTF cells. Moreover, multidrug resistance-1 (*MDR1*) gene was expressed higher level in SCCTF cells. Inhibition of MDR1 promoted anticancer drug-induced apoptosis. NF-Y and its binding sites were demonstrated to play an important role in transcriptional regulation of *MDR1* in SCCTF cells. In this review, we focus on the roles of transcription factors in *MDR1* expression and apoptosis in oral squamous carcinoma cells through our recent studies.

1. はじめに

悪性腫瘍の薬物療法において、抗癌剤に耐性を示す癌細胞の出現は治療の成否を左右する重要な問題である。ところが、癌細胞が抗癌剤耐性を獲得する機構については未知の点が多い。癌細胞の抗癌剤耐性獲得機構を解明し、それに関与する因子を標的として癌細胞の動態を制御することは新たな抗癌剤の開発につながる。抗癌剤に対する感受性の違いにより二種類のヒト口腔扁平上皮癌細胞 (SCCTF, SCCKN) が樹立された¹⁾。両細胞はそれぞれ異なる患者の舌癌から単離されたが、その増殖率と分化度は類似している。ところが、SCCTF細胞はプレオマイシン、ペプロマイシン、ビンクリスチンを含む多くの抗癌剤に対し耐性を示すが、SCCKN細胞はこれらの抗癌剤に対し感受性が高い。SCCTF細胞がプレオマイシンに耐性を示す原因の一つとして、プレオマイシン分解酵素活性が高いことやプレオマイシンの細胞内蓄積が低いことが報告されてきた^{1,2)}。

細胞は遺伝子によりプログラムされた細胞死であるアポトーシスによって、自らを死にいたらしめ個体を維持している。アポトーシスは種々の刺激により誘導され、様々な経路により制御される。例えば、初期発生時の形態形成、組織の恒常性維持、自己免疫疾患、発癌および癌の進行、あるいは抗癌剤による癌細胞増殖抑制作用などがアポトーシスにより制御されている³⁻⁶⁾。アポトーシスはクロマチンの凝集と核の断片化を特徴とする。核の断片化は最終的にヌクレオソーム単位で切断されるので、アポトーシスを起こしている細胞からDNAを抽出してアガロースゲル内で電気泳動すると、DNAは梯子様に検出される^{7,8)}。アポトーシスが生体の細胞数を制御することから、癌の発生と癌細胞消失の解明、および癌治療の分野においてもアポトーシスの重要度が増してきた⁹⁻¹¹⁾。特に化学療法剤の一部がある種の悪性腫瘍細胞にアポトーシスを誘導し細胞を死滅させることが報告されて以来、抗腫瘍作用とアポトーシスが注目を浴びてきた¹²⁻¹⁷⁾。本稿では、我々の研究を通して口腔扁平上皮癌細胞でのアポトーシスと Multidrug resistance 1 (*MDR1*) の発現における転写調節因子の役割について解説する。

2. 蛋白質脱リン酸化酵素阻害剤によるアポトーシスと EGR-1

オカダ酸とカリクリン A は蛋白質脱リン酸化酵素タイプ 1 とタイプ 2A の阻害剤である。これらの試薬はアポトーシス経路を含む細胞内情報伝達において蛋白質リン酸化と脱リン酸化がどのように関与するかを解明するために用いられてきた¹⁸⁾。我々はオカダ酸とカリクリン A が口腔扁平上皮癌細胞¹⁹⁻²⁴⁾ や骨芽細胞²⁵⁻²⁸⁾ にアポトーシスを誘導することを報告した (図 1)。EGR-1 は免疫応答、細胞増殖、発生や分化に関わる多くの遺伝子を制御する転写調節因子であり、良性腫瘍に比べ悪性腫瘍で高発現する^{29,30)}。ある種の細胞では EGR-1 の欠失が細

胞の不死化に関与することが明らかにされている³¹⁾。また、EGR-1 は成長促進因子として発見されたが、後にアポトーシス促進因子としての働きももつことが分かってきた³²⁾。このように EGR-1 の発現と機能は組織や細胞の種別、加わる細胞外刺激の種類により異なる。

SCCTF細胞と SCCKN細胞は他の細胞に比べ EGR-1 を高発現していた (図 2)。SCCKN細胞をオカダ酸やカリクリン A で処理すると EGR-1 の発現と DNA 結合能の低下が認められた²²⁾。ところが、SCCTF細胞ではカリクリン A の刺激により EGR-1 のリン酸化が亢進することが分かった。これらの結果は EGR-1 の発現や翻訳後修飾に至る細胞内分子機構が SCCTF細胞と SCCKN細胞で異なることを意味している。

3. EGR-1 による PTEN 発現の誘導

Phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten (PTEN) は腫瘍抑制因子として発見された^{33,34)}。

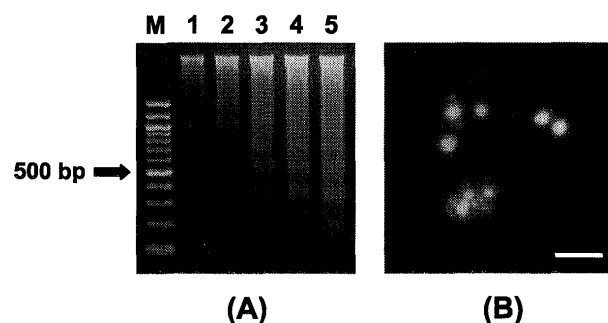


図 1 オカダ酸は SCCTF 細胞にアポトーシスを誘導する。

(A), オカダ酸による DNA ラダー形成。

SCCTF細胞を様々な濃度のオカダ酸で30時間処理したのちDNAを抽出しアガロースゲル電気泳動を行った。レーン M, スタンダード DNA マーカー; レーン 1, 未処理; レーン 2, 1 nM; レーン 3, 5 nM; レーン 4, 10 nM; レーン 5, 20 nM のオカダ酸で処理した細胞。

(B), オカダ酸処理による核の形態変化。

SCCTF細胞を20 nM のオカダ酸で30時間処理した。細胞を固定したのち、Hoechst 33342 を用いて核染色を行い、蛍光顕微鏡下で観察した。バーは10 μm を示す。

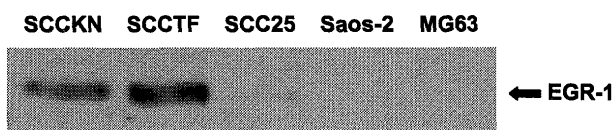


図 2 様々な細胞での EGR-1 の発現
図に示す細胞から蛋白質を抽出し、抗 EGR-1 抗体を用いてウエスタンブロットを行った。

PTEN は神経膠芽腫や子宮内膜腫をはじめ多くの腫瘍でその欠損または変異が認められる^{33, 34}。外部からの刺激により細胞膜ではホスファチジルイノシトール 4, 5-二リン酸 (PIP₂) のイノシトール環の 3 位リン酸化によりホスファチジルイノシトール 3, 4, 5-三リン酸 (PIP₃) が生成される。PIP₃ は二次メッセンジャーとして働き、細胞の増殖、生存、代謝など多様な情報伝達の役割を担う。PIP₃ の産生はダイナミックであり、正常な細胞では短時間のうちにそのレベルは定常状態に戻る。PTEN はこの PIP₃ を脱リン酸化し、PIP₂ を生じさせる脂質脱リン酸化酵素である³⁵。よって、PTEN は PIP₂ のイノシトール環の 3 位をリン酸化する PI3-kinase と正反対の機能を有する。PI3-kinase は細胞の増殖や生存に重要な蛋白質リン酸化酵素 AKT をリン酸化により活性化する。PTEN は PI3-kinase/AKT 経路を負に制御し、細胞増殖を低下させ、アポトーシスを促進する³⁷。腫瘍の増殖抑制での PTEN の重要性については広く研究されてきたが、アポトーシス細胞での PTEN の発現とその転写制御に関しては未知の点が多い。そこで、アポトーシスを誘導した SCCTF 細胞において PTEN の発現と AKT のリン酸化について検討した。オカダ酸およびカリクリン A は濃度と時間に依存して PTEN の発現を誘導した³⁸ (図 3)。また、PTEN の発現増加に伴い AKT のリン酸化レベルが低下した³⁸ (図 3)。カリクリン A の刺激で発現増加した PTEN が PIP₃ の生成を阻害し AKT のリン酸化を抑制すると考えられる。

PTEN の翻訳開始領域の上流 2-kb の範囲は GC 配列

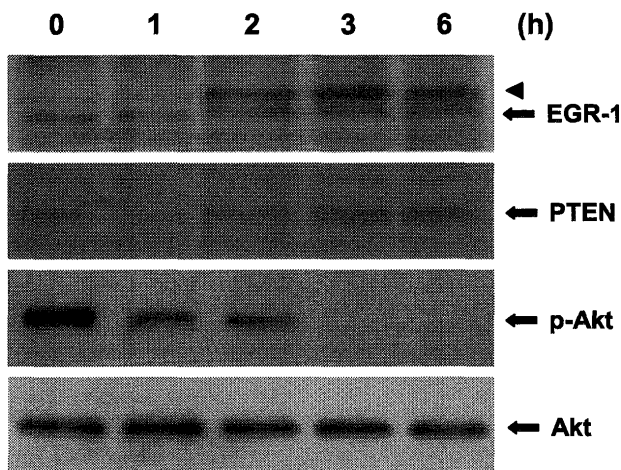


図 3 カリクリン A 処理による EGR-1 および PTEN の発現と AKT のリン酸化
SCCTF 細胞を 10 nM のカリクリン A で処理し、経時的に蛋白を回収したのちウエスタンブロットを行った。カリクリン A は EGR-1 のリン酸化と PTEN の発現を誘導した。AKT 発現量に変化はなかったが、リン酸化状態の AKT (p-Ser473) は減少した。矢頭はリン酸化 EGR-1 のバンドを示す。

が豊富な領域があり、いくつかの EGR-1 結合領域を含んでいる³⁹。また、EGR-1 と PTEN はともに細胞増殖を抑制する働きをもっている。よって私は EGR-1 がカリクリン A 誘導アポトーシスで PTEN の発現調節を行うという仮説を立て、RNAi 法により EGR-1 の発現を抑制した SCCTF 細胞をカリクリン A で処理し PTEN の発現を調べた。EGR-1 の発現を抑制した細胞では、無刺激な状態においても PTEN の発現が低下し、カリクリン A 処理により誘導される PTEN の発現が顕著に抑制された³⁸。このことから、オカダ酸とカリクリン A は EGR-1 を介して PTEN の発現を誘導することが分かった。EGR-1 はアポトーシスの初期に PTEN の発現を制御することが示唆された。

4. アポトーシス感受性の相違と MDR1 発現

SCCTF 細胞は SCCKN 細胞に比べてプレオマイシン、ビンクリスチンや 5-FU など広範囲な抗癌剤に対し抵抗性を示す^{1, 2}。プレオマイシン誘導体であるペプロマイシンにより誘導されるアポトーシスについて詳細に検討したところ、SCCKN 細胞では SCCTF 細胞に比べより低濃度のペプロマイシンでアポトーシスが誘導されることが分かった²¹。また、SCCTF 細胞は SCCKN 細胞に比べ MDR1 を高発現していることを見出した²³ (図 4)。MDR1 蛋白は細胞膜に存在し、細胞内に流入した薬物を細胞外へ排出するポンプの役割を果たしている。そのため、癌細胞が薬剤耐性能を獲得する際に関連する因子である。培養液中に投与した Hoechst 33342 が細胞内に蓄積されにくいことから SCCTF 細胞の MDR1 の機能が高いことが証明された。さらに、MDR1 阻害剤であるベラパミルは SCCTF 細胞におけるビンクリスチン誘導アポトーシスを増強した。このことは MDR1 の発現が SCCTF 細胞のアポトーシス抵抗性にも関与することを示している²³。

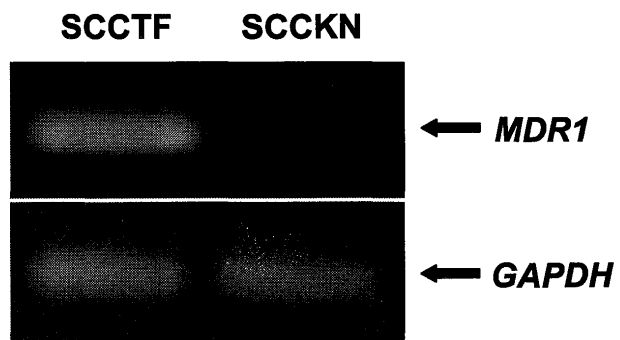


図 4 SCCTF および SCCKN 細胞における MDR1 の発現
両細胞から RNA を抽出し、逆転写後 PCR を行った。GAPDH は内部コントロールとして用いた。

5. NF-Y による *MDR1* 発現の制御

MDR1 遺伝子の発現調節は非常に複雑である。これは 5' および 3' 非翻訳領域に存在する転写調節配列が多様性に富むことによる。図 5 に *MDR1* プロモーター領域に結合する代表的な転写因子とその結合領域を示す。*MDR1* 遺伝子は主にメチオニン開始コドン (ATG) の上流 136 bp 地点から転写が開始される⁴⁰⁾。Nuclear Factor-Y (NF-Y) は Y-box (CCAAT) 配列に結合する因子として同定された⁴¹⁾。NF-Y は多くの種で高度に保存されている因子であり、NF-YA, NF-YB と NF-YC という 3 つのサブユニットから構成される⁴¹⁾。NF-YB と NF-YC は互いに緊密に結合し、この結合が NF-YA の会合を誘導し、複合体として DNA に結合する。NF-Y のプロモーター領域への結合は全てのサブユニットが必要である。NF-Y 結合領域を含む *MDR1* プロモーター配列をルシフェラーゼ遺伝子上流に組み込んだプラスミドを SCCTF 細胞に導入したところ、SCCKN 細胞の場合に比べ 10 倍以上の活性が認められた²³⁾。この活性は NF-Y 結合配列である Y-box を変異あるいは欠失させるとほぼ完全に消失した²³⁾ (図 6)。Y-box 配列を含む *MDR1* プロモーター領域をプローブとして用いたゲルシフトアッセイによりこの部位に結合する転写因子は NF-Y であること、その結合能は SCCKN 細胞より SCCTF 細胞でより高いことが分かった²³⁾。同様の結果はクロマチン免疫沈降法によっても確認した²³⁾。さらに SCCTF 細胞は、NF-YA 蛋白を高発現していた²³⁾ (図 7)。以上の結果より、SCCTF 細胞での *MDR1* 高発現に NF-Y とその DNA 結合領域が深く関与していることが明らかとなった。SCCTF 細胞の多剤耐性能獲得には様々な要因が関係しており、我々はその一因を解明したに過ぎない。SCCTF 細胞では NF-YA 以外にも NF- κ B や EGR-1 といった転写調節因子が高発現しており、その意義についてはさらなる検討が必要である。

謝 辞

稿を終えるにあたり、終始御指導・御高閲を賜りました徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部口腔組織学分野の羽地達次教授に厚く御礼申し上げます。また、実験の共同研究者である徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部口腔組織学分野の吉田賀弥助手、その他研究室の皆様と産業医科大学医学部第 2 解剖学の森本景之助教授に心から感謝いたします。

参考文献

- 1) Urade M, Ogura T, Mima T and Matsuya T: Establishment of human squamous carcinoma cell lines highly and minimally sensitive to bleomycin and analysis of factors involved in the sensitivity. *Cancer* 69, 2589-2597 (1992)
- 2) Urade M, Ogura T, Uematsu T, Takahashi Y, Kishimoto

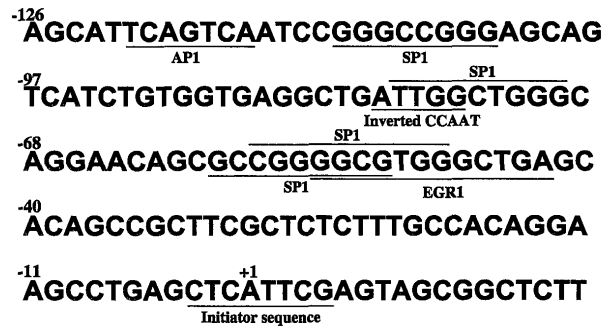


図 5 *MDR1* プロモーター領域と転写因子結合部位
ヒトの *MDR1* プロモーター領域の配列を示す。
転写開始点を +1 とする。代表的な転写因子認識
部位を示す。-79 から -75 領域に NF-Y 結合部位
である Y-box が存在する。

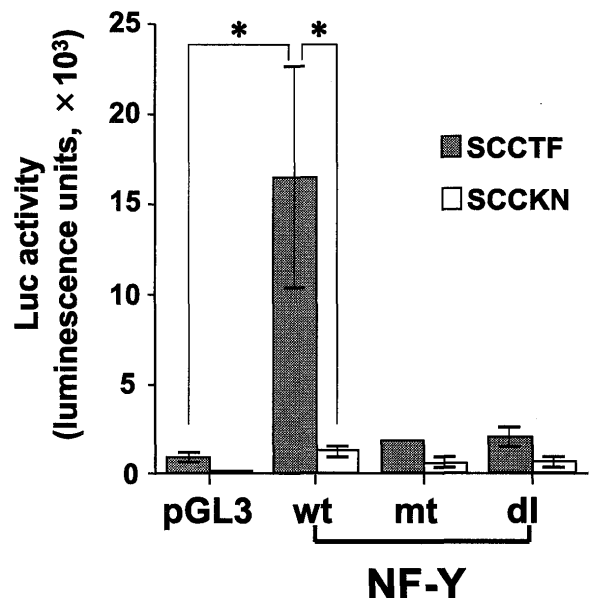


図 6 *MDR1* プロモーター領域を用いたルシフェラーゼ
アッセイ
野生型 (wt), 変異型 (mt), および欠失型 (dl)
の *MDR1* プロモーター領域を含む pGL3-basic ル
シフェラーゼベクターを SCCTF および SCCKN
細胞に導入し、ルシフェラーゼアッセイを行っ
た。変異と欠失は NF-Y 結合部位である CCAAT
領域について行った。独立した 3 回の実験を行い、
代表的な結果を図に示す。*, $P < 0.01$ vs. control (by
Student's *t* test)

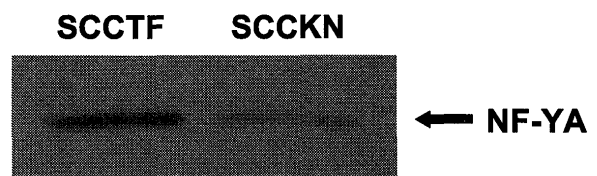


図 7 SCCTF および SCCKN 細胞での NF-Y 発現
両細胞から蛋白質を抽出し、抗 NF-YA 抗体を用
いてウエスタンブロットを行った。

- H and Yoshioka W: Induction of bleomycin resistance in a human oral squamous carcinoma cell line and characterisation of bleomycin-resistant and -sensitive clones. *Oral Oncol* 30, 409-414 (1994)
- 3) Kerr JF, Wyllie AH and Currie AR: Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 26, 239-257 (1972)
 - 4) Arends MJ and Wyllie AH: Apoptosis: mechanisms and roles in pathology. *Int Rev Exp Pathol* 32, 223-254 (1991)
 - 5) Kerr JF, Winterford CM and Harmon BV: Apoptosis: its significance in cancer and cancer therapy. *Cancer* 73, 2013-2026 (1994)
 - 6) Jacobson MD, Weil M and Raff MC: Programmed cell death in animal development. *Cell* 88, 347-354 (1997)
 - 7) Wyllie AH: Glucocorticoid-induced thymocyte apoptosis is associated with endogenous endonuclease activation. *Nature* 284, 555-556 (1980)
 - 8) Gong J, Traganos F and Darzynkiewicz Z: A selective procedure for DNA extraction from apoptotic cells applicable for gel electrophoresis and flow cytometry. *Anal Biochem* 218, 314-319 (1994)
 - 9) Barry MA, Behnke CA and Eastman A: Activation of programmed cell death (apoptosis) by cisplatin, other anticancer drugs, toxins and hyperthermia. *Biochem Pharmacol* 40, 2353-2362 (1990)
 - 10) Evan GI, Wyllie AH, Gilbert CS, Littlewood TD, Land H, Brooks M, Waters CM, Penn LZ and Hancock DC: Induction of apoptosis in fibroblasts by c-myc protein. *Cell* 69, 119-128 (1992)
 - 11) Ohmori T, Podack ER, Nishio K, Takahashi M, Miyahara Y, Takeda Y, Kubota N, Funayama Y, Ogasawara H, Ohira T, Ohta S and Saijo N: Apoptosis of lung cancer cells caused by some anti-cancer agents (MMC, CPT-II, ADM) is inhibited by bcl-2. *Biochem Biophys Res Commun* 192, 30-36 (1993)
 - 12) Kaufman SH: Induction of endonucleolytic DNA cleavage in human acute myelogenous leukemia cells by etoposide, camptothecin, and other cytotoxic anticancer drugs: a cautionary note. *Cancer Res* 49, 5870-5878 (1989)
 - 13) Gunji H, Kharbanda S and Kufe D: Induction of internucleosomal DNA fragmentation in human myeloid leukemia cells by 1- β -D-arabinofuranosylcytosine. *Cancer Res* 51, 741-743 (1991)
 - 14) Evans DL and Dive C: Effects of cisplatin on the induction of apoptosis in proliferating hepatoma cells and nonproliferating immature thymocytes. *Cancer Res* 53, 2133-2139 (1993)
 - 15) Ormerod MG, O'Neill CF, Robertson D and Harrap KR: Cisplatin induces apoptosis in a human ovarian carcinoma cell line without concomitant internucleosomal degradation of DNA. *Exp Cell Res* 211, 231-237 (1994)
 - 16) Borner MM, Myers CE, Sartor O, Sei Y, Toko T, Trepel JB and Schneider E: Drug-induced apoptosis is not necessarily dependent on macromolecular synthesis or proliferation in the p53-negative human prostate cancer cell line PC-3. *Cancer Res* 55, 2122-2128 (1995)
 - 17) Desjardins LM and MacManus JP: An adherent cell model to study different stages of apoptosis. *Exp Cell Res* 216, 380-387 (1995)
 - 18) Haneji T: Association of protein phosphatase 1 delta with nucleolin in osteoblastic cells and cleavage of nucleolin in apoptosis-induced osteoblastic cells. *Acta Histochem Cytochem* 38, 1-8 (2005)
 - 19) Fujita M, Seta C, Fukuda J, Kobayashi S and Haneji T: Induction of apoptosis in human oral squamous carcinoma cell lines by protein phosphatase inhibitors. *Oral Oncol* 35, 401-408 (1999)
 - 20) Fujita M, Goto K, Yoshida K, Okamura H, Morimoto H, Kito S, Fukuda J and Haneji T: Okadaic acid stimulates expression of Fas receptor and Fas ligand by activation of nuclear factor kappa-B in human oral squamous carcinoma cells. *Oral Oncol* 40, 199-206 (2004)
 - 21) Okamura H, Morimoto H and Haneji T: Peplomycin-induced apoptosis in oral squamous carcinoma cells depends on bleomycin sensitivity. *Oral Oncol* 37, 379-385 (2001)
 - 22) Okamura H, Morimoto H, Fujita M, Nasu F, Sasaki E and Haneji T: Suppression of Egr-1 expression in human oral squamous carcinoma cells by okadaic acid. *Oral Oncol* 38, 779-784 (2002)
 - 23) Okamura H, Yoshida K, Morimoto H, Sasaki E and Haneji T: Transcription factor NF-Y regulates mdr1 expression through binding to inverted CCAAT sequence in drug-resistant human squamous carcinoma cells. *Int J Oncol* 25, 1031-1037 (2004)
 - 24) Goto K, Fukuda J and Haneji T: Okadaic acid stimulates apoptosis through expression of Fas receptor and Fas ligand in human oral squamous carcinoma cells. *Oral Oncol* 38, 16-22 (2002)
 - 25) Morimoto Y, Ohba T, Kobayashi S and Haneji T: The protein phosphatase inhibitors okadaic acid and calyculin A induce apoptosis in human osteoblastic cells. *Exp Cell Res* 230, 181-186 (1997)
 - 26) Morimoto H, Morimoto Y, Ohba T, Kido H, Kobayashi S and Haneji T: Inhibitors of protein synthesis and RNA synthesis protect against okadaic acid-induced apoptosis in human osteosarcoma cell line MG63 cells but not in Saos-2 cells. *J Bone Miner Metab* 17, 266-273 (1999)
 - 27) Kito S, Shimizu K, Okamura H, Yoshida K, Morimoto H,

- Fujita M, Morimoto Y, Ohba T and Haneji T: Cleavage of nucleolin and argyrophilic nucleolar organizer region associated proteins in apoptosis-induced cells. *Biochem Biophys Res Commun* 300, 950-956 (2003)
- 28) Yoshida K, Okamura H, Morimoto H, Nagata T and Haneji T: Okadaic acid stimulates the expression of receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand (RANKL) in mouse osteoblastic cells. *Biomed Res* 14, 126-132 (2003)
- 29) Liu C, Rangnekar VM, Adamson E and Mercola D: Suppression of growth and transformation and induction of apoptosis by EGR-1. *Cancer Gene Therapy* 5, 3-28 (1998)
- 30) Ei, MA, Kumar MV, Iczkowski KA, Bostwick DG and Tindall DJ: Expression of early growth response genes in human prostate cancer. *Cancer Res* 58, 2461-2468 (1998)
- 31) Cross TG, Scheel-Toellner D, Henriquez NV, Deacon E, Salmon M and Lord JM: Serine/threonine protein kinases and apoptosis. *Exp Cell Res* 256, 34-41 (2000)
- 32) Thiel G and Cibelli G: Regulation of life and death by the zinc finger transcription factor Egr-1. *J Cell Physiol* 193, 287-292 (2002)
- 33) Li J, Yen C, Liaw D, Podsypanina K, Bose S, Wang SI, Puc J, Miliaris C, Rodgers L, McCombie R, Bigner SH, Giovanella BC, Ittmann M, Tycko B, Hibshoosh H, Wigler MH and Parsons R: PTEN, a putative protein tyrosine phosphatase gene mutated in human brain, breast and prostate cancer. *Science* 275, 1943-1947 (1997)
- 34) Steck PA, Pershouse MA, Jasser SA, Yung WKA, Lin H, Ligon AH, Langford LA, Baumgard ML, Hattier T, Davis T, Frye C, H, R, Swedlund B, Teng DHF and Tavtigian SV: Identification of a candidate tumour suppressor gene, MMAC1, at chromosome 10q23.3 that is mutated in multiple advanced cancers. *Nat Genet* 15, 356-362 (1997)
- 35) Maehama T and Dixon JE: PTEN: a tumour suppressor that functions as phospholipid phosphatase. *Trends Cell Biol* 9, 125-128 (1999)
- 36) Tsugawa K, Jones MK, Sugimachi K, Sarfeh IJ and Tarnawski AS: Biological role of phosphatase PTEN in cancer and tissue injury healing. *Front Biosci* 7, e245-251 (2002)
- 37) Stambolic V, Suzuki A, delaPompa JL, Brothers GM, Mirtsos C, Sasaki T, Ruland J, Penninger JM, Siderovski DP, Mak TW: Negative regulation of PKB/Akt-dependent cell survival by the tumor suppressor PTEN. *Cell* 95, 29-39 (1998)
- 38) Okamura H, Yoshida K, Morimoto H and Haneji T: PTEN expression elicited by EGR-1 transcription factor in calyculin A-induced apoptotic cells. *J Cell Biochem* 94, 117-125 (2005)
- 39) Virolle T, Adamson ED, Baron V, Birle D, Mercola D, Mustelin T, deBelle I: The Egr-1 transcription factor directly activates PTEN during irradiation-induced signalling. *Nat Cell Biol* 3, 1124-1128 (2001)
- 40) Ueda K, Pastan I and Gottesman MM: Isolation and sequence of the promoter region of the human multidrug-resistance (P-glycoprotein) gene. *J Biol Chem* 262: 17432-17436 (1987)
- 41) Maity SN and de Crombrughe B: Role of the CCAAT-binding protein CBF/NF-Y in transcription. *Trends Biochem Sci* 23, 174-178 (1998)