
8. 放射線と細胞周期

明 石 真 言

Regulation of the Cell Cycle by Irradiation

Makoto Akashi

Division of Radiation Health, National Institute of Radiological Sciences

4-9-1 Anagawa, Inage-ku, Chiba, 263 Japan

Abstract

The molecular mechanism of cell proliferation is extremely complex; deregulation results in neoplastic transformation. In eukaryotes, proliferation of cells is finely regulated through the cell cycle. Studies have shown that the cell cycle is regulated by a series of enzymes known as cyclin-dependent kinases (CDKs). The activities of CDKs are controlled by their association with regulatory subunits, cyclins; the expression of cyclins and the activation of the different cyclin-CDK complexes are required for the cell to cycle. Thus, the cell cycle is regulated by activating and inhibiting phosphorylation of the CDK subunits and this program has internal check points at different stages of the cell cycle. When cells are exposed to external insults such as DNA damaging agents, negative regulation of the cell cycle occurs; arrest in either G1 or G2 stage is induced to prevent the cells from prematurely entering into the next stage before DNA is repaired. Recently, a potent inhibitor of CDKs, which inhibits the phosphorylation of retinoblastoma susceptibility (Rb) gene product by cyclin A-CDK2, cyclin E-CDK2, cyclin D1-CDK4, and cyclin D2-CDK4 complexes has been identified. This protein named WAF1, Sdi1, Cip1, or p21 (a protein of Mr 21,000) contains a p53-binding site in its promoter and studies have reported that the expression of WAF1 was directly regulated by p53; cells with loss of p53 activity due to mutational alteration were unable to induce WAF1. This chapter will be focused on the mechanisms of the cell cycle including inhibitors of CDKs, and the induction of WAF1 by irradiation through a pathway independent of p53 will be also described.

1. はじめに

放射線は組織や細胞に様々な障害を引き起こす。細胞の形質転換もその一つであり、この機構で重要な役割を果たしているのが、 O_2 や OH^- などの radicals である。これらの free radicals は DNA 障害を引き起こす。一方、細胞はこれらの stress に対し、障害から防護する蛋白質を誘導もしくは活性化したり、DNA の合成を停止することが知られている。正常な細胞では、放射線、紫外線、毒物など DNA を損傷する様な物質にさらされると、細胞周期を止めようとする negative regulation が働き、DNA の損傷が修復されないうちは、次の細胞周期に入らない。これがいわゆる G1 もしくは G2 arrest で、このような細胞の機構は、生体内では growth factor 等に制御されており、この機構が破綻すると、悪性転換を起こしたり、放射線などの DNA を障害する因子に対して感受性を増す結果となる。他方、この機構を明らかにすることが、ガンの発生機構解明の糸口ともなっている。この章では、主として高等動物の細胞周期に関しての最近の見解と、また細胞周期を止める新しい因子を中心にガン抑制遺伝子 p53 との役割についても触れたい。

2. 細胞周期の進行

細胞の増殖機構は非常に複雑であり、細胞の増殖は細胞周期が移行する事によって進行する。各周期は前の周期に何が起こるかに依存している。例えば、細胞の分裂には前の時期に DNA の複製が完璧に行われている事が必要であり、完全な DNA の複製が行われないうちに分裂が起これば mutation (変異) につながる。細胞周期は図 1 に示すように、DNA の複製前の gap: G1 期、DNA 合成期である S 期、DNA 合成後の gap である G2 期、細胞の分裂期である M 期の各 phase からなっている。各時期は上に述べたように、前の周期に何が起こったかによって、次の時期に進むかその時期で停止する。この何が起こったかを監視する制御機構が checkpoints と言われているもので、この checkpoints は各時期の移行を監視および

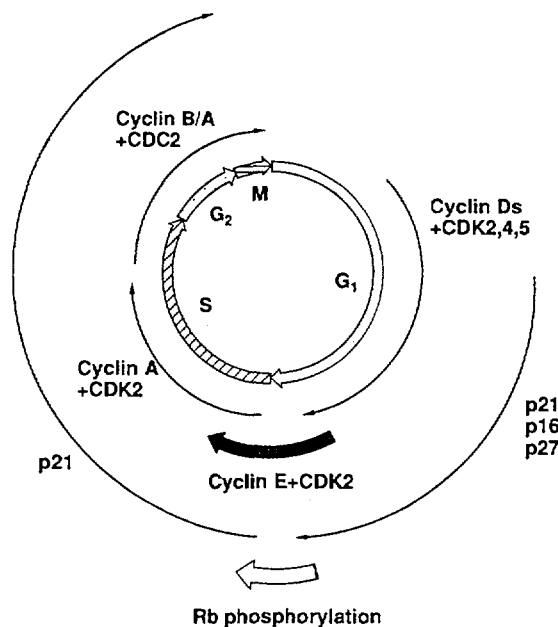


Fig. 1 The control of the cell cycle. The cell divides during M phase. DNA replication is confined to the part of interphase S phase (DNA synthetic phase). G1 phase is the gap before DNA replication and the gap after DNA replication is G2 phase. Cyclin-dependent kinase (CDK) is thought to be associated successively with different cyclins to trigger the different downstream processes of the cell cycle.

び次の時期への移行を調整している。Growth factor は、最初の gap である G1 期に細胞表面の receptor に結合し、応答する遺伝子を発現させる。しかしながら、細胞が DNA 合成期である S 期に入るか、G1 期に停止するか、また分化/増殖をするかの決定は、growth factor により誘導される遺伝子発現を一過性に遅らせるかどうかによって決まると考えられている。いったん DNA を複製することが決定がされると、こんどは growth factor に対して不応となり、分裂期である M 期に向けての進行は G2 期を監視している細胞周期制御機構に委ねられることになる。

3. Cyclin-cyclin-dependent kinase complex (cyclin-CDK complex) の構造と不活化

Checkpoints で細胞周期を直接制御しているものの一つに cyclin-dependent kinases (CDKs) として知られる一連の酵素群がある。この酵素はいわば細胞周期を回すエンジンの役目を果たしている。active な cyclin-CDK 複合体は catalytic な subunit と regulatory subunit である cyclin からなっている。真核細胞では構造上は似た様々な cyclin が同定され、その働く時期により G1 cyclin (G1/S transition:cyclin D, E)、S phase cyclin for progression through S phase (cyclin A)、G2 or mitotic cyclin for entry into M phase (cyclin B) などがある(図1)。周期の回転には、各細胞周期にあった cyclins の発現と様々な cyclin-CDK の複合体の活性化が必要となっており、この CDK の活性には、cyclin と Threonine 残基が phosphorylation され、Tyr 残基が dephosphorylation した catalytic な subunit との結合する事が必要となる(図2)。CDK は各時期を通じ比較的安定であると考えられているが、cyclin の安定性は各細胞周期によって異なっている。この活性化した cyclin-CDK の複合体がどの様に不活化されるのかと言うと、これまでには、1) cyclin mRNA の転写減少、2) cyclin protein、mRNA の degradation、3) catalytic subunit の dephosphorylation (Threonine)、4) Tyr 残基の phosphorylation による catalytic subunits の阻害などが考えられていた(図3)。ところが、最近になって、この CDK 複合体に結合し、細胞周期にブレーキをかける新しい subunits が同定された。

4. CDK-inhibitory protein: CKI

細胞周期を止めるこの蛋白質は、CDK-cyclin 複合体に結合し、その活性を阻害する役目を果たしている(図4)。ここでは CDK inhibitory protein、CKI と呼ぶが、ほとんどの CKI は細胞周期のブレーキの役目を果たしており、一般に CDK-cyclin 複合体と CKI の比率が周期を止めるか回すかを決めている。あるものは transforming growth factor β (TGF β) などに誘導され、細胞外からの mitogenic なシグナル

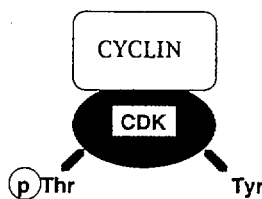


Fig. 2 The structure of cyclin-CDK complex. Cyclin-CDK complex is comprised of a catalytic subunit (phosphorylated on a conserved Thr residue) and a regulatory subunit called cyclin (from Peter and Herskowitz, 1994).

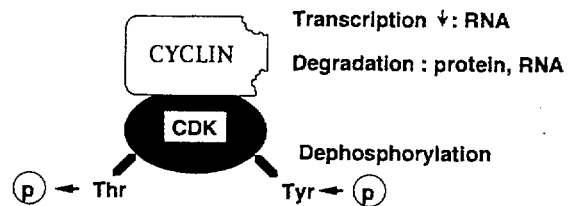


Fig. 3 Inactivation of cyclin-CDK. Cyclin levels can be reduced by turning down their transcription or by degradation of the protein. Catalytic subunit can be dephosphorylated at Thr residue. The catalytic subunit can be inhibited by phosphorylation of the Thr residue.

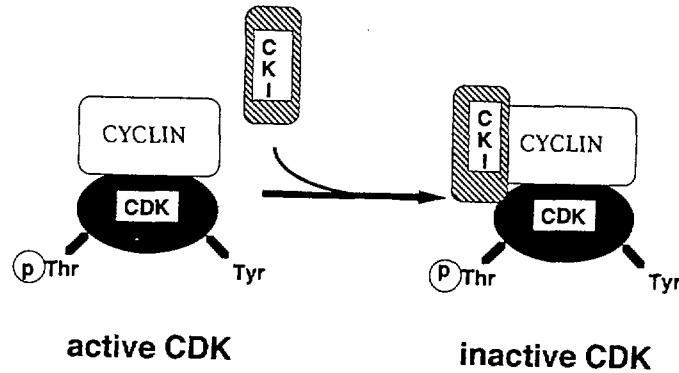


Fig. 4 CKI binds to cyclin-CDK complexes and inhibits its activity.

Table 1 CDK inhibitory proteins (CKIs)

External signals : TGFβ
p27
Cell cycle check point : damaged DNA
p16
p21

に反応する p27、またあるものは細胞周期で checkpoint control として機能を果たすもの (p16, p21) にわけられている (表 1)。

4-1. Anti-mitogenic factor に反応して細胞周期を停止する CKI

細胞分裂をさせようとする刺激に対して、これを止めようとするのが CKI であり、antimitogenic factor である TGFβ に誘導されるものに代表される。TGFβ は、標的細胞を Rb product (retinoblastoma susceptibility gene product) の phosphorylation の前、G1 後期に可逆性の arrest を起こす事が知られているが、これには CDK 2-cyclin E と CDK4-cyclin D の複合体の阻害が関与しており、ごく最近になって p27 という蛋白質が同定された。これが CDK 2-cyclin E の複合体を阻害することが明らかにされている。KIP1 遺伝子の産物である p27 は、後に紹介する p21/WAF1 と homology を持ち、overexpression させると、G1 arrest が起こることから、negative regulator として注目されている。TGFβ が p27 を介して CKI として機能することは前に述べたが、TGFβ は p27 の RNA の転写を増加させない。また p27 の蛋白質レベルは細胞周期を通じてあまり変化せず、p27 は増殖中の細胞にも発現していることから、inactive な状態があるのではないかと考えられている。というのは、(1)p27 は CDK4-cyclin D に強く結合する、(2)TGFβ は CDK4 の合成を減少させる、(3)CDK4 を overexpression させると TGFβ による arrest は起こらない、などから、TGFβ により CDK4 が減少すると p27 の活性化が起こり、CDK2-cyclin E を阻害し cell-cycle arrest を誘導するらしい。また、正常細胞で contact inhibition により細胞周期が止まるのは、CDK 2-cyclin E の複合体の活性が低下することも一因と考えられ、p27 の活性化がこの低下を引き起こしているといわれている。また、この様に contact inhibition を起こしていることから、この p27 がガン抑制遺伝子である可能性も示唆されている。IL-2 (Interleukin-2) は、ヒトの T 細胞の増殖を刺激する因子であるが、増殖誘導には p27 の不活性化が関与している。p27 は CDK の機能を阻害する他に、もう一つ機序があり、CDK complex に結合すると Threonine の phosphorylation を阻害することも明らかにされている。

4 - 2. Checkpoint control として働く CKI

この範疇にはいる CKI は、これまでに p16 と p21/WAF1 が同定されている。

4 - 2 - 1. p16

CKI として、またガン抑制遺伝子として特に最近注目を浴びているのが p16 だ (図 6)。MTS1 (multiple tumor suppressor 1) の産物がこの p16 であり、様々な primary また培養の腫瘍で mutation がみついている。特に有名なのは家族性の melanoma で、高頻度で mutation が認められている。p16 は CDK4-cyclin D を特異的に阻害し、また Rb product の phosphorylation も阻害され、G1 arrest が起こる。ほとんどの CKI は個々の kinase subunits というより、CDK-cyclin 複合体に結合するが、p16 はこれとは対照的に CDK4 (catalytic site) に特異的に結合する。このことから、p16 は CDK4-cyclin D を、CDK4 の cyclin D に対する親和性を下げるか、cyclin D の CDK4 への結合に拮抗することでこの複合体の活性の低下を起こしていると考えられている。Rb product は G1 期への移行の際に phosphorylation されなくてはならないが、p16 は Rb product の phosphorylation を監視しているとも考えられている。

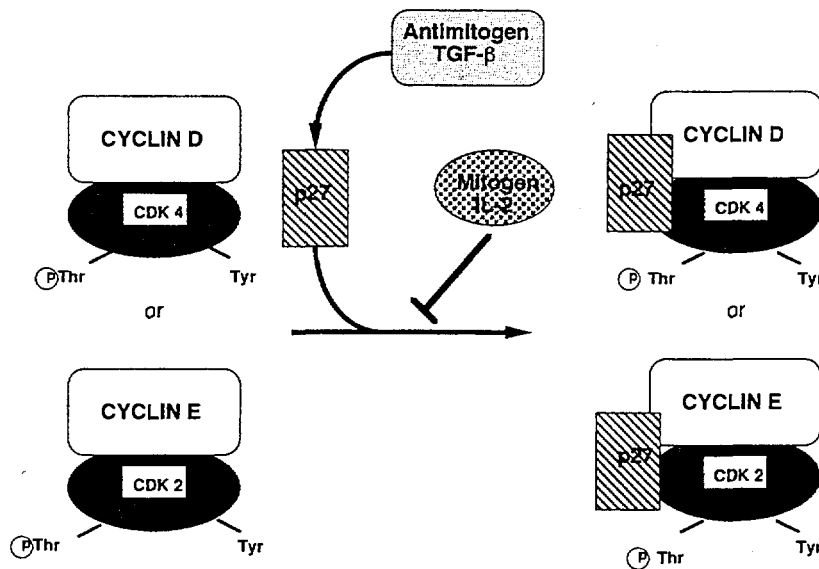


Fig. 5 p27 is an inhibitor of cyclin-CDK complex. TGF β causes cell-cycle arrest by activation of p27 IL-2 induces proliferation of T cells through inactivation of p27.

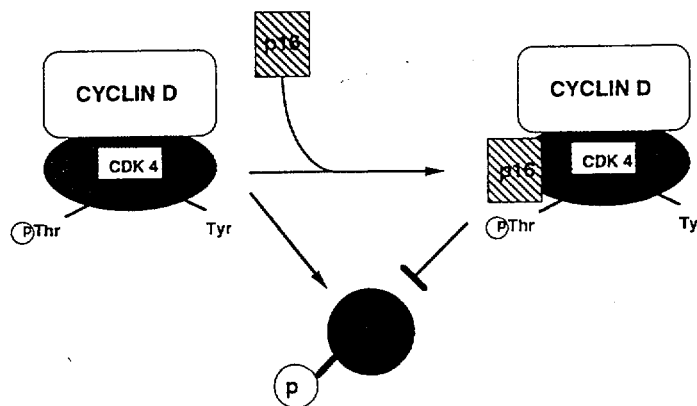


Fig. 6 p16 inhibits CDK4-cyclin D activity. p16 also prevents inappropriate phosphorylation of Rb.

4-2-2. p21/WAF1

ガンとの関連で最も注目を浴びているものの一つが p21、WAF1 などといわれている分子量が21kD の蛋白質で、WAF1 (wild-type p53-activated fragment 1)、Cip1 (CDK-interacting protein 1)、Sdi1 (Senescent cell-derived inhibitor 1)、Pic1 (p53-regulated inhibitor of CDKs 1) など多くの名前をもっている。WAF1は、基本的には、CDK2-cyclin の inhibitor であるが、図7で示すように CDK2-cyclin A や CDK-cyclin E を阻害し、cyclin-CDK2による retinoblastoma susceptibility (Rb) 遺伝子産物の phosphorylation を阻害している。つまり、WAF1 が発現すると、細胞は主として G1 に細胞周期を止め、DNA 合成も止まることになる。WAF1 をヒトの線維芽細胞で overexpression させると DNA 合成が停止する事もこの結果を支持している。p21は、senescent (老化した) 細胞で多く発現していることもわかっている。また、p21は CDKs を阻害するばかりでなく、proliferating cell nuclear antigen (PCNA) を阻害したり、in vitro で CDK がなくとも DNA の複製を阻害することを示されている。p21に関しては、mutation をもった細胞の報告はこれまでのところ少なく、p21の発現は他の物質に依存している事が推測されていた。

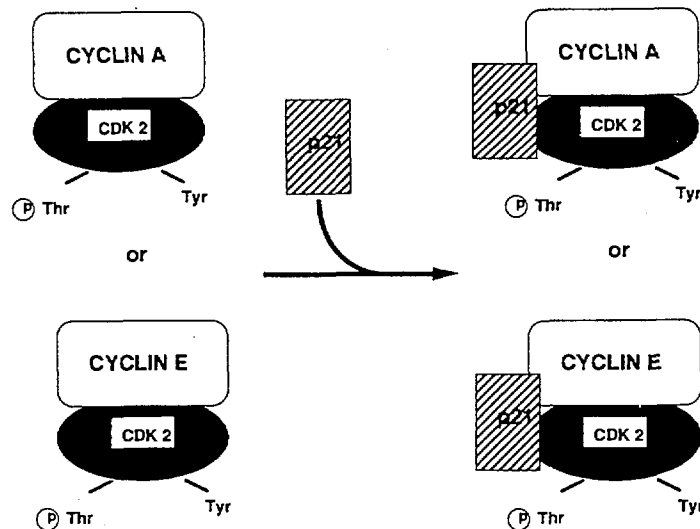


Fig. 7 p21 binds to CDK2-cyclin complexes and plays as their inhibitor.

4-2-3. p21/WAF1 遺伝子の構造

p53は、多くのガンで遺伝子に変異が認められ、p53活性の損失は細胞増殖の制御に破綻を来すことから、遺伝子産物がガン抑制物質として考えられている。p53は他の遺伝子の promoter に結合し、下流にある遺伝子の転写活性を上昇させることが報告されている。しかしながら、その機序に関する詳細は不明である。正常な p53を持った細胞では放射線被曝後に DNA の合成は停止し、G1 arrest を起こすが、変異型の p53を持った細胞や p53を欠く細胞では起こらないことが報告されており、p53が細胞周期 G1/S 移行期の監視に重要な役割を果たす、つまり G1 check point として DNA の障害を monitor していることが示唆されている。EL-Deiry と Vogelstein らは、WAF1 の遺伝子を cloning し、promoter の蛋白質をコードしている領域から2.4Kb 上流には、p53の結合部位が存在する事を示し、WAF1 の遺伝子の転写はp53の下流にある事を報告した。これらの研究によれば、正常な p53を持つ細胞では、放射線被曝などのDNA 障害に対し p53が活性化して、WAF1 が誘導されるが、正常な p53を欠く細胞では WAF1 が誘導されない。同時に、正常細胞では、放射線等により生じた DNA 障害に対し、G1 arrest を起こして

DNA 修復がされないうちは S 期に入らないか、apoptosis を起こして除去する機構の可能性を示した。

4 - 4 . p53に依存しない CKI p21 の発現

我々は p53に依存しない WAF1 の誘導などを含めた WAF1 の発現機構を検討した。P53を持たないか変異のある細胞を放射線照射すると、WAF1 が誘導される事を見出した。ヒト骨髓系白血病細胞株 KG1 では、codon224 と codon225の間に 5 塩基が挿入されている変異を持っており、このため p53を欠き、Northern blotting や Western blotting で p53の mRNA や蛋白質は検出できない。また照射においてもこれらは発現されない。ところが、この細胞を照射すると WAF1 mRNA は線量依存性に増加し、WAF1 蛋白質も増加が観察された (図 9)。また、KG1 細胞を Protein kinase C (PKC) を活性化する phorbol

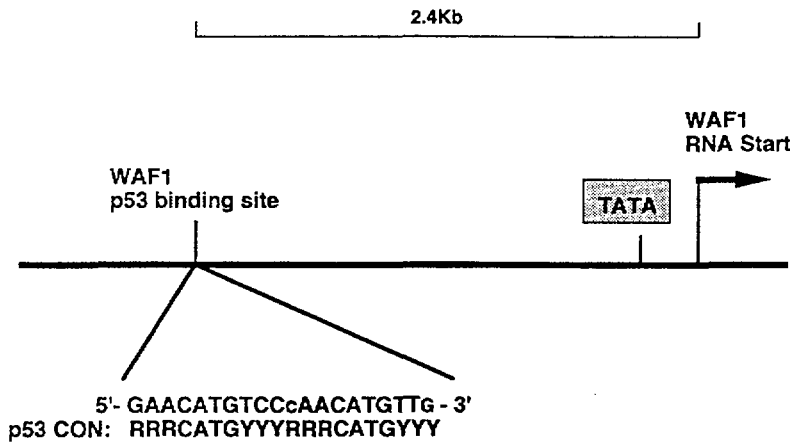


Fig. 8 Tumor suppressor p53 induces transcription of the p21/WAF1 gene.

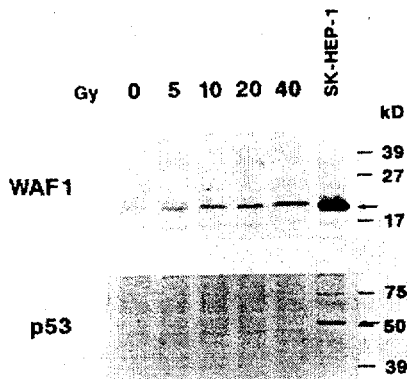


Fig. 9 Expression of WAF1 in KG-1 cells after irradiation. Cells were cultured for 8 hr after irradiation at various doses, as indicated. After cell lysis, twenty micrograms of whole cell protein was electrophoresed in either a 12 % (for WAF1) or 10 % (for p53) polyacrylamide-SDS gel, transferred to PVDF membranes, and analyzed for either WAF1 or p53 protein. Arrows indicate the WAF1 and p53 bands. SK-HEP-1, which is a hepatoma cell line, was used as a positive control.

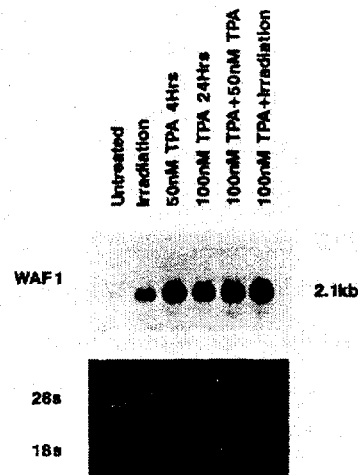


Fig. 10 Effect of prolonged exposure to a phorbol ester on expression of WAF1 mRNA induced by irradiation. KG1 cells were pretreated with TPA (100 nmol/L, 24 hr), washed, and treated with either TPA (50 nmol/L) or irradiation (20 Gy). Two hours later, total RNA was extracted and Northern blotting was performed. As controls, cells were cultured either with TPA alone (50 nmol/L, 2 hr) or irradiated (20 Gy, 2 hr) alone.

ester である 12-O-tetradecaoyl phorbol 13 acetate (TPA) と培養すると WAF1 mRNA の発現が誘導され、長時間 TPA と培養し PKC の活性を枯渇した細胞では、放射線による WAF1 mRNA 発現は誘導されなかった (図10)。このことは、放射線による WAF1 の発現誘導は、PKC を介している可能性を示している。KG1 細胞では、照射により tumor necrosis factor (TNF) の産生も増加するが、この TNF を抗体により中和すると、WAF1 mRNA の増加は阻害され、TNF を加えると WAF1 発現が誘導された (図11)。また、transcriptional run-on 法や actinomycin D により WAF1 mRNA の増加は転写及び転写後調節、即ち mRNA の安定化の両者によることも明らかにされた。この他にも、他の研究者により p53 に依存しない WAF1 の発現が報告されている (Michieli et al., 1994, Parker et al., 1995)。

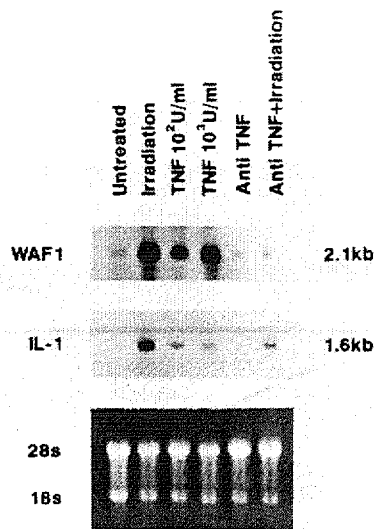


Fig. 11 Role of TNF in expression of WAF1 in KG-1 cells exposed to irradiation. Cells were exposed to different concentrations of TNF (100 or 1000 U/ml) for 2 hr. In parallel, cells were pretreated for 1 hr with anti-TNF antibody at a concentration that neutralizes 1000 U/ml of TNF. These cells were then irradiated at 40 Gy in the presence of the antibody and cultured for 2 hr.

5. おわりに

細胞周期の制御に関してはまだ不明な点が多く、これからの研究を待たねばならない。本稿では紙面の都合で紹介出来なかった結果も多い。不十分な点は優れた総説を参照されたい。紹介した我々の研究室の仕事は、蜂谷みさを氏、大沢宜明氏との共同研究であり、その他にも様々な形で研究を支援して下さった方々に深謝する。

参考文献

- 1) Hunter, T: Braking the cycle. Cell 75: 839, 1993.
- 2) Sherr, CJ: Mammalian G1 cyclins. Cell 73: 1059, 1993.
- 3) Draetta, G: Trends Biolchem. Science 15: 378, 1990.
- 4) Cohen, S. M, Ellwein LB: Cell proliferation in carcinogenesis. Science 249: 1007, 1990.
- 5) Hartwell LH, TA Weinert: Checkpoint: controls that ensure the order of cell cycle events. Science 246: 629, 1989.

- 6) Weinert TA, LH Hartwell: Characterization of RAD9 of *Saccharomyces cerevisiae* and evidence that its function acts posttranslationally in cell cycle arrest after DNA damage. *Mol. Cell. Biol.* 10: 6554, 1990.
- 7) Denekamp, J: Cell kinetics and radiosensitivity. *Int. Natl. Radiat. Biol.* 49: 357, 1986.
- 8) Hall, EJ: *Radiobiology for the radiologist*. Lippincott, Philadelphia. 10pp, 1988.
- 9) Akashi M, M Hachiya, Paquette R, Osawa Y, G Suzuki: Irradiation increases manganese superoxide dismutase mRNA levels in human fibroblasts: Possible mechanisms for its accumulation. *J. Biol. Chem.* 270: 15864, 1995.
- 10) Hachiya M, S Shimizu, Osawa Y, G Suzuki, M Akashi: irradiation increases manganese superoxide dismutase mRNA through production of TNF in human monocytic cells THP-1. *submitted*.
- 11) Akashi M, M Hachiya, HP Koeffler, G Suzuki: Irradiation increases GM-CSF through stabilization which requires an AU-rich region in cancer cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 189: 986, 1992.
- 12) Hachiya M, G Suzuki, HP Koeffler, M Akashi: Irradiation increases expression of GM-CSF in human fibroblasts by transcriptional and posttranscriptional regulation. *Exp. Cell. Res.* 214: 343, 1994.
- 13) Kastan M, O Onyekwere, D Sidransky, B Vogelstein, RW Craig: Participation of p53 protein in the cellular response to DNA damage. *Cancer Res.* 51: 6304, 1991.
- 14) Vogelstein, B: A deadly inheritance. *Nature* 348: 681-682, 1990.
- 15) Kuerbitz SJ, BS Plunkett, WV Walsh, MB Kastan: Wild-type p53 is a cell cycle checkpoint determinant following irradiation. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 89: 7491, 1992.
- 16) Diller L, J Kassel, CE Nelson, MA Gryka, G Litwak, M Gebhardt, B Bressac, M Ozturk, SJ Baker, B Vogelstein, SH Friend: p53 functions as a cell cycle control protein in osteosarcomas. *Mol. Cell. Biol.* 10: 5772, 1990.
- 17) Xlong Y, GJ Hannon, H Zhang, D Casso, R Kobayashi, D Beach: p21 is a universal inhibitor of cyclin kinases. *Nature* 366: 701, 1993.
- 18) Harper JW, G R Adami, N Wei, K Keyomarsi, SJ Elledge: The p21 CDK-interacting protein Cipl is a potent inhibitor of G1 cyclin-dependent kinases. *Cell* 75: 805, 1993.
- 19) El-Deiry, T Tokio, VE Velculescu, DB Levy, R Parsons, J M Trent, D Lin, W E Mercer, K W Kinzler, B Vogelstein: WAF1, a potential mediator of p53 tumor suppression. *Cell* 75: 817, 1993.
- 20) Noda A, Y Ning, SF Venable, OM Pereira-Smith, JR Smith: Cloning of senescent cell-derived inhibitors of DNA synthesis using an expression screen. *Exp. cell Res.* 211; 90, 1994.
- 21) El-Deiry WS, JW Harper, PM O'Connor, CE Canman, J Jackman, JA Pietenpol, M Burrell, DE Hill, Y Wang, KG Wiman, WE Mercer, MB Kastan, KW Kohn, SJ Elledge, KW Kinzler, B Vogelstein: WAF1/CIP1 is induced in p53-mediated G1 arrest and apoptosis. *Cancer Res.* 54: 1169, 1994.
- 22) Dulic V, WK Kaufman, SJ Wilson, TD Tlsty, E Lees, W Harper, SJ Elledge, SI Ree: p53-dependent inhibition of cyclin-dependent kinase activities in human fibroblasts during radiation-induced G1 arrest. *Cell* 76: 1013, 1994.
- 23) Sugimoto K, H Toyoshima, R Sakai, K Miyagawa, K Hagiwara, FI shikawa, F Takaku, Y Yazaki, H Hirata: Frequent mutations in the p53 gene in human myeloid leukemia cell lines. *Blood* 79: 2378, 1992.
- 24) Imamura J, I Miyoshi, HP Koeffler: p53 in hematologic malignancies. *Blood* 84: 2412, 1994.

- 25) Marx, J: How p53 suppresses cell growth? *Science* 262: 1644, 1993.
- 26) Vogelstein B, KW Kintzler: p53 function and dysfunction. *Cell* 70: 523, 1992.
- 27) Kern SE, KW Kintzler, A Bruskin, D Jarosz, P Friedman, C Prives, B Vogelstein: Identification of p53 as a sequence specific DNA binding protein. *Science* 252: 1707, 1991.
- 28) Barak Y, T Juven, R Haffner, M Oren: Mdm-2 expression is induced by wild-type p53. *EMBO J.* 12: 461, 1993.
- 29) Hachiya M, A Chumakov, C W Miller, M Akashi, J Said, HP Koeffler: Mutant p53 proteins behave in a dominant, negative fashion in vivo. *Anticancer res* 14: 1853-1860, 1994.
- 30) El-Deiry WS, SE Kern, JA Pietentol, KW Kintzler, B Vogelstein: Definition of a consensus binding site for p53. *Nature Genet* 1: 45, 1992.
- 31) Funk WD, DT Pak, RH Karas, WF Wright, JW Shay: A transcriptionally active DNA-binding site for human p53 protein complexes. *Mol. Cell. Biol.* 12: 2866, 1992.
- 32) Kastan MB, Q Zhan, WS El-Deiry, F Camier, T Jacks, WV Walsh, B S Plunkette, B Vogelstein, AJ Jr Formace: A mammalian cell cycle checkpoint pathway utilizing p53 and GADD45 is defective in ataxia telangiectasia. *Cell* 71: 587, 1993.
- 33) Farmer G, J Bargonetti, H Zhu, P Friedman, R Prywes, C Prives: Wild-type p53 activates transcription in vitro. *Nature* 358: 83, 1992.
- 34) Kern S E, JA Pietenpol, S Thiagalingam, A Seymour, KW Kinzler, B Vogelstein: Oncogenic forms of p53 inhibit p53-regulated gene expression. *Science* 256: 827, 1992.
- 35) Michieli P, M Chedid, D Kin, JH Pierce, WE Mercer, D Givol: Induction of WAF1/CIP1 by a p53-independent pathway. *Cancer Res* 54: 3391, 1994.
- 36) Akashi M, M Hachiya, Y Osawa, K Spirin, G Suzuki, H. P Koeffler: Irradiation induces WAF1 expression through p53-independent pathway in KG-1 cells. *J. Biol. Chem.* 270: 19181, 1995.
- 37) Hachiya M, H P Koeffler, G Suzuki, M Akashi: Tumor necrosis factor and interleukin-1 synergize with irradiation in expression of GM-CSF gene in human fibroblasts. *Leukemia* 9: 1276, 1995.
- 38) Osawa Y, M Hachiya, H P Koeffler, G Suzuki, M Akashi: IL-1 induces expression of WAF1 mRNA in human fibroblasts: mechanisms of accumulation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 216: 429, 1995.
- 39) Parker SB, G Eichele, P Zhang, A Rawls, AT Sands, A Bradley, EN Olson, JW Harper, SJ Elledge: p53-Independent expression of p21^{Cip1} in muscle and other terminally differentiating cells. *Nature* 267: 1024, 1995.