

分子シャペロンとがん

京都薬科大学 生命薬科学系 生化学分野

齊 藤 洋 平, 山 岸 伸 行, 畑 山 巧

MOLECULAR CHAPERONE IN CANCER

YOUHEI SAITO, NOBUYUKI YAMAGISHI and TAKUMI HATAYAMA

Department of Biochemistry & Molecular Biology, Division of Biological Sciences, Kyoto Pharmaceutical University

Received March 29, 2010

Abstract : 細胞は種々のストレスにより熱ショックタンパク質 (Hsp) と呼ばれる一群のタンパク質の合成を誘導する. Hsp は細菌から哺乳動物に至るまで多くの生物に存在しており, その構造および分子量によって Hsp105, Hsp90, Hsp70, Hsp60 および低分子量 Hsp ファミリーなどに分類されている. これらのタンパク質は, 変性タンパク質の再生や分解, 新生タンパク質の折畳み, タンパク質の輸送など分子シャペロンとしての役割を担っていることが明らかにされている. また, Hsp は種々のがん組織で高発現し, がんの悪性度や予後との関連性が明らかになっている. 近年, Hsp70 や Hsp105 などの分子シャペロンの発現抑制がアポトーシスを誘導し, 腫瘍の成長を阻害することが報告され, RNAi 法によりこれら分子シャペロンの発現を抑制することが次世代のがん治療と期待されている. さらに, Hsp70 や Hsp105 による抗原提示および免疫細胞活性化機構や, これらの分子シャペロンを用いたがんワクチン療法の有効性も明らかになりつつある.

Key words : Molecular chaperone, Heat shock protein, cancer, apoptosis, vaccine

1. はじめに — 分子シャペロン Hsp70 および Hsp105

Hsp70 ファミリータンパク質はN末端側のATPaseドメインとC末端側の基質結合ドメインからなる代表的な分子シャペロンである^{1,2)} (図1A). Hsp70 ファミリータンパク質はほとんどすべての生物に存在し, 大腸菌ではDnaK, 哺乳動物では構成型と誘導型の大きく2種類が存在する. Hsc70 (heat shock cognate 70) は哺乳動物の細胞質に構成的に発現している. 一方, 誘導型 Hsp70 は熱ショックをはじめとするストレス時に転写・翻訳レベルで誘導され, 主に核小体へ集積する. しかし, Hsp70 は平常時においても組織および細胞特異的発現が認められる. これら Hsp70 ファミリータンパク質は特に新生タンパク質や変性タンパク質などの表面に露出した疎水性ペプチド領域と相互作用して凝集を防ぎ, タンパク質の折

りたたみを助ける. この Hsp70 のシャペロン活性はヌクレオチドの結合によって調節されており, ATP 結合型の Hsp70 は基質結合ドメインが開いた構造をとり, ADP 結合型になることで基質と結合する. さらに, ADP が Hsp70 から解離すると Hsp70 から基質が放出される³⁻⁵⁾. このようにアデニンヌクレオチドは Hsp70 の基質の結合と放出に関与しているが, これらはコシャペロンと呼ばれるタンパク質により調節されている (図1B).

Hsp105 (Hsp110) ファミリータンパク質は酵母からヒトまでその存在が認められ, Hsp70 と類似の構造をもち進化的に保存されている^{6,7)} (図1A). 哺乳動物においては Hsp105 α と Hsp105 β が存在するが, Hsp105 α は脳をはじめ種々の臓器で構成的に発現し, 種々のストレスによっても誘導される⁸⁻⁹⁾. 一方, Hsp105 β は 42°C 程度の持続加温時に特異的に発現誘導される⁹⁾. これらの Hsp105 は細胞内において Hsp70 および Hsc70 と複合体

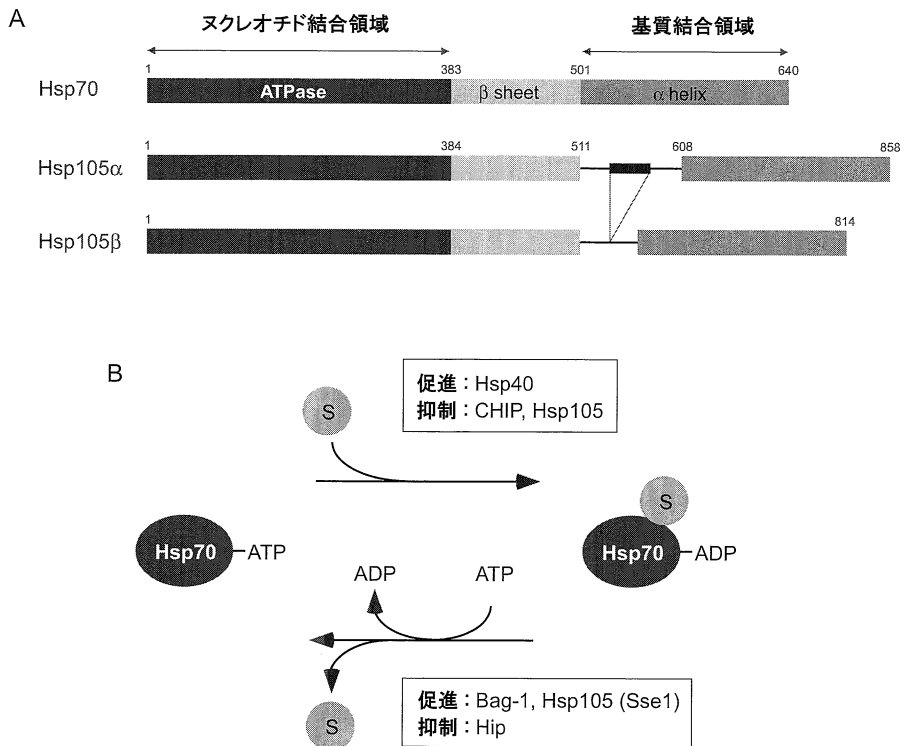


図1. (A)Hsp70 と Hsp105 の構造および(B)コシャペロンによる Hsp70 の機能制御

を形成して存在し¹⁰, Hsp70 および Hsc70 の ATPase 活性を抑制することでこれらのシャペロン活性を負に制御する^{11, 12}。さらに最近, Hsp105 の酵母ホモログである Sse1 などにおいて, Hsp105 は Hsp70 からの ADP の解離を促進するヌクレオチド交換因子 (nucleotide exchange factor) として機能することも示されている^{13, 14}。また, Hsp105 は Hsp70 と同様にタンパク質の熱凝集抑制活性を示すが, Hsp70 が変性タンパク質の凝集を抑制できない ADP 存在下においても変性タンパク質の凝集を抑制する¹⁵。最近, Hsp105 ノックアウトマウスの神経細胞は虚血に対して耐性であることが報告され, Hsp105 ノックアウト胎児繊維芽細胞を用いた検討により, この耐性作用には Hsp105 欠損による Hsp70 のシャペロン活性の増強が関与することが示されている¹⁶。

2. がん細胞における分子シャペロンの発現および発現制御機構

Hsp70 ファミリータンパク質は種々のがん組織において過剰発現していると報告されている。例えば, Hsp70 は

乳がんや肺がん組織において高発現が認められ^{17, 18}, さらに, 肺がんにおける Hsp70 の発現増加は病期の進行度およびリンパ節転移率と相関する¹⁸。また, Hsp70 はヒト正常繊維芽細胞では発現が認められないのに対して HeLa 細胞などのヒトがん細胞株において正常時において高発現している。一方, Hsp105 は大腸がんなどのヒト腫瘍組織において高発現が報告されている^{19, 20}。例えば, 大腸がん腺腫などの発がん初期組織における高発現は認められず, Hsp105 の高発現はがんの進行度の指標になると考えられる²⁰。しかし, 一部の乳がん患者では Hsc70 遺伝子の欠損が報告されており²¹, 分子シャペロンの発現はがんの種類で異なる。

がん細胞における Hsp70 の高発現機構として, アデノウイルス E1A や EB ウイルス, SV40 ウイルス T 抗原およびポリオーマ T 抗原などが Hsp70 の転写を誘導することが知られている²²⁻²⁴。これらは, がん抑制タンパク質 p53 による Hsp70 の転写抑制をこれらのウイルスタンパク質や抗原が p53 と結合し阻害するためであり, p53 の変異によっても Hsp70 の転写が誘導される²⁵。さらに,

c-Myc は hsp70 プロモーター領域に結合し, Hsp70 の転写を誘導するが, この転写活性化には転写因子である CCAAT box-binding factor (CBF) の関与が明らかにされている²⁶⁾. このように Hsp70 の発現誘導は種々のがん関連タンパク質により調節される. 一方, Hsp105 については, ヒトパピローマウイルス E7 により Hsp105 のラットホモログである Hsp110 が誘導されることが報告されているが²⁷⁾, がんにおける Hsp105 の発現制御の解明は進んでいない.

3. 分子シャペロンによる細胞死制御機構

Hsp70 および Hsp105 は紫外線照射や活性酸素, 種々の抗がん剤などのストレスによる細胞死 (アポトーシ

ス) を抑制する. これらのストレスによって JNK や p38 MAPK の活性化が起こるが, Hsp70 の過剰発現によりこれらキナーゼの活性化の抑制およびアポトーシスの減少が認められる^{28, 29)}. また, 活性酸素や抗がん剤はミトコンドリアからのシトクロム c の放出を引き起こし, カスパーゼ依存的なアポトーシス経路を活性化する. シトクロム c は Apaf-1, カスパーゼ 9 および ATP/dATP とアポトソームと呼ばれる複合体を形成するが, アポトソーム形成により活性化されたカスパーゼ 9 は下流のカスパーゼ 3 を活性化してアポトーシスが進行する. Hsp70 は Apaf-1 と結合してカスパーゼ 9 の活性化を抑制する^{30, 31)} (図 2).

一方, Hsp105 α の神経由来細胞における高発現は熱ス

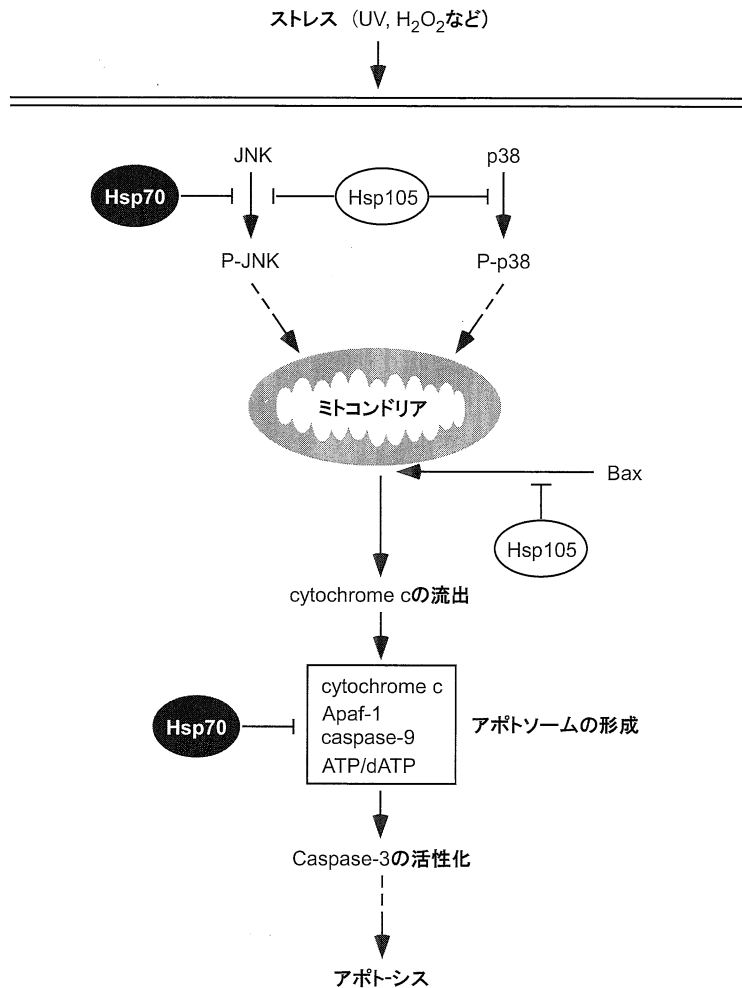


図 2. 分子シャペロンによるアポトーシス制御

トレスによる JNK の活性化を抑制し、アポトーシスを抑制する³²⁾。さらに、HeLa 細胞における Hsp105 α や Hsp105 β の高発現は過酸化水素やスタウロsporin 誘導性アポトーシスを抑制するが、これらは p38 の活性化の抑制および Bax のミトコンドリアへの移行阻害による^{33, 34)} (図 2)。一方、Hsp105 α はマウスの胎児発生過程の器官形成期に一過性に増加し、アポトーシス細胞に局在すること³⁵⁾、また、Hsp105 α の高発現がマウス胚奇形種由来 F9 細胞においてストレス誘導性アポトーシスを促進することから^{36, 37)}、Hsp105 α は胎児発生過程の器官形成に重要な役割を果たしていると考えられている。このように、Hsp105 によるアポトーシス制御は細胞種によって異なることが示されている。

4. 分子シャペロンを標的としたがん治療

4-1. 分子シャペロンの発現抑制によるアポトーシス誘導

種々のがん細胞において Hsp70 や Hsp105 などの分子シャペロンが過剰発現しており、アポトーシスによる細胞死が抑制されている。これまでに、分子シャペロンの発現を抑制することによりがん細胞にアポトーシスを誘導する試みは Hsp70 の発現抑制剤や RNAi 法などにより報告されてきた。天然フラボノイドの一つであるケルセチンは腫瘍モデルマウスにおいて腫瘍縮小効果を示すことが明らかになっており、この効果はケルセチンによる Hsp70 の発現抑制作用によることが示唆されていた。近年、ケルセチンや siRNA による Hsp70 の発現抑制が、正常膵管細胞ではなく膵がん細胞特異的にカスパーゼの活性化を介してアポトーシスを誘導できることが示されている³⁸⁾。また、牛蒡子に含まれるアクチゲニン HSF の活性化を抑制して温熱処理による Hsp70 の発現誘導を抑制することから、がん細胞に温熱耐性を起こさずに細胞死を誘導できることが明らかになっている³⁹⁾。さらに、シスプラチンや Hsp90 阻害剤として知られる 17-AAG により Hsp70 は誘導されるが、RNAi 法や Hsp70 発現抑制剤である KNK437 との併用により効率的にアポトーシスを誘導できることや⁴⁰⁾、Hsp70 のみではなく Hsc70 の発現を RNAi 法により同時に抑制することが 17-AAG の抗がん作用を高めるとの報告もある⁴¹⁾。

また、Hsp70 の発現抑制はアポトーシスのみではなく、p53-p21 経路による細胞老化と呼ばれる不可逆的な細胞増殖停止を誘導すること⁴²⁾、また、前立腺がんや乳がんなどで多く認められる PI3K や Ras が活性化されたがん細胞において細胞老化を誘導できることから⁴³⁾、Hsp70 の発現抑制による腫瘍形成の抑制作用が期待される。

一方、Hsp105 は大腸がん細胞で高発現が認められるこ

とから、RNAi 法により Hsp105 の発現を抑制すると大腸がん細胞をはじめ種々のがん細胞においてカスパーゼの活性化を介してアポトーシスを誘導できる⁴⁴⁾。さらに、Hsp105 siRNA は胃がん細胞を移植した腫瘍モデルマウスにおいても腫瘍増殖を抑制することから⁴⁴⁾、Hsp70 と同様に Hsp105 を標的とした siRNA はがん治療に有効と考えられる。最近、我々は、Hsp105 α のスプライスイソフォームである Hsp105 β が核に局在し^{45, 46)}、サイトカインシグナル伝達系の転写因子である Stat3 の活性化を介して Hsp70 を誘導することを明らかにした⁴⁷⁾。Stat3 は乳がんや前立腺がんをはじめ多くのがんで活性化が認められ、Stat3 の発現抑制や活性化の阻害によりアポトーシスが誘導されることから、Stat3 もがん治療のターゲットとして注目されている⁴⁸⁾。

4-2. 分子シャペロンのがんワクチンへの応用

マクロファージや樹状細胞などの抗原提示細胞は、がん細胞内に存在する分子シャペロン-抗原ペプチド複合体を細胞膜上の Hsp 受容体 (α_2 -マクログロブリン受容体) を介して細胞内にとり込み、小胞体へ輸送された抗原ペプチドは小胞体分子シャペロン Grp94 によって MHC クラス I 分子と複合体を形成する。MHC-抗原ペプチド複合体は抗原提示細胞の細胞膜上に移行し、CD8⁺ 細胞傷害性 T 細胞を活性化することが明らかになっている⁴⁹⁾ (図 3)。

分子シャペロンが抗原性を持ったペプチドと複合体を形成し、免疫細胞の活性化に働くことから、分子シャペロンを用いたがんワクチン療法の有効性が示されている。例えば、Hsp70 は分子シャペロンとして多くの細胞内タンパク質由来のペプチドと結合するが、Hsp70-抗原ペプチド複合体は HLA クラス I による抗原提示経路を活性化する⁵⁰⁾。さらに、メラノーマ細胞由来の Hsp70 は MHC の適合性とは関係なく細胞傷害性 T リンパ球を誘導し、マウス腫瘍転移を減少させる⁵⁰⁾。また、がん細胞と樹状細胞との融合細胞から精製した Hsp70-ペプチド複合体は、がん細胞単独から精製した Hsp70-ペプチド複合体よりも免疫応答性が高くなることがヒト乳がん患者由来細胞で示されている⁵¹⁾。

一方、メチルコラントレン誘導繊維肉腫や大腸がんから精製した Hsp105 をワクチンとしてマウスに接種すると腫瘍の退縮が認められる⁵²⁾。また、オンコプロテイン HER-2/neu は乳がんや肺がんなどで高発現しているが、HER-2/neu の細胞内ドメインは細胞傷害性 T リンパ球を誘導する⁵³⁾。Hsp105 はこの HER-2/neu と複合体を形成するが、HER-2/neu の細胞内ドメインのみの場合と

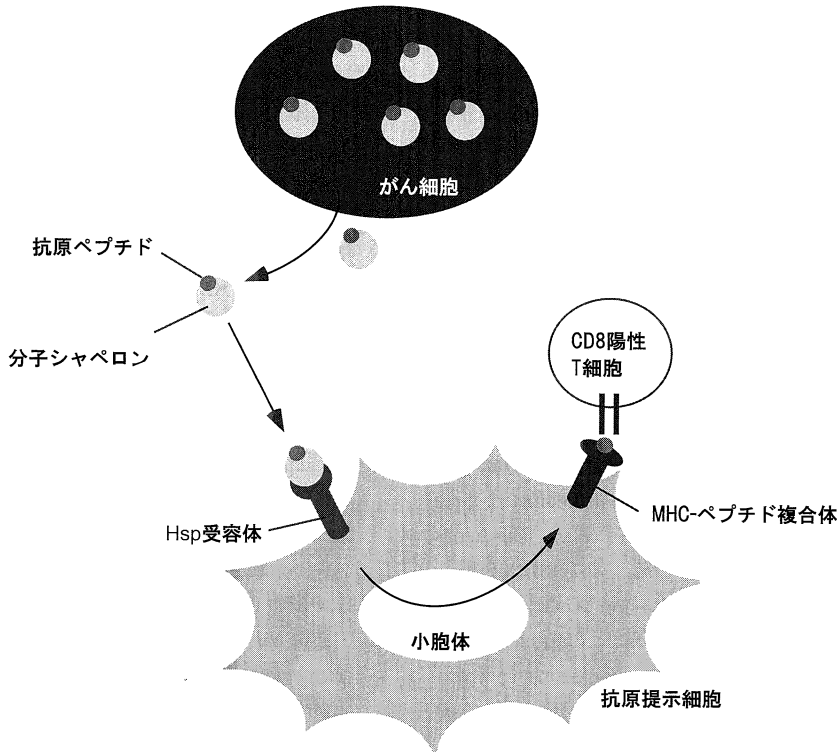


図3. 分子シャペロン-ペプチド複合体による免疫応答

比べて $CD4^+CD8^+$ T 細胞による免疫活性化を増強し、効率よく抗原特異的に $INF-\gamma$ の産生を促進する⁵⁴⁾。さらに、Hsp105 発現プラスミドを投与する DNA ワクチンは、大腸がん細胞やメラノーマ細胞を接種したマウスのがん細胞の増殖を抑制することも明らかにされている⁵⁵⁾。これらの分子シャペロンを用いたワクチン療法は腫瘍抗原が同定されていない場合に有効であり、さらに、患者自身の腫瘍から精製した分子シャペロンをワクチンとして使用することで副作用の軽減が期待される。これまでに小胞体分子シャペロン Grp94 の自己腫瘍由来ワクチンについて神経膠芽腫や腎がんなどを対象にした第 II および第 III 相臨床試験が行われている⁵⁶⁾。

おわりに

一般に、分子シャペロンは種々のがんにおいて高発現が認められ、その発現抑制はがん細胞にアポトーシスを誘導することが明らかになってきた。一方、分子シャペロンは免疫細胞の活性化を誘導し、がん化を抑制する働きをもつこともわかってきた。今後、種々のがんにおけ

る分子シャペロンの発現や機能のさらなる解析により、分子シャペロンを標的としたがん治療の進展が期待される。

文 献

- 1) Hartl, F.U. and Hayer-Hartl, M. : Molecular chaperones in the cytosol: from nascent chain to folded protein. *Science* **295** : 1852-1858, 2002.
- 2) Mayer, M.P. and Bukau, B. : Hsp70 chaperones: cellular functions and molecular mechanism. *Cell. Mol. Life Sci.* **62** : 670-684, 2005.
- 3) Palleros, D.R., Welch, W.J. and Fink, A.L. : Interaction of hsp70 with unfolded proteins: effects of temperature and nucleotides on the kinetics of binding. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **88** : 5719-5723, 1991.
- 4) Palleros, D.R., Reid, K.L., Shi, L., Welch, W.J. and Fink, A.L. : ATP-induced protein-Hsp70 complex dissociation requires K^+ but not ATP

- hydrolysis. *Nature* **365** : 664-666, 1993.
- 5) **Greene, L. E., Zinner, R., Naficy, S. and Eisenberg, E.** : Effect of nucleotide on the binding of peptides to 70-kDa heat shock protein. *J. Biol. Chem.* **270** : 2967-2973, 1995.
 - 6) **Yasuda, K., Nakai, A., Hatayama, T. and Nagata, K.** : Cloning and expression of murine high molecular mass heat shock proteins, HSP105. *J. Biol. Chem.* **270** : 29718-2972, 1995.
 - 7) **Ishihara, K., Yasuda, K. and Hatayama, T.** : Molecular cloning, expression and localization of human 105 kDa heat shock protein, hsp105. *Biochim. Biophys. Acta.* **1444** : 138-142, 1999.
 - 8) **Hatayama, T., Nishiyama, E. and Yasuda, K.** : Cellular localization of high-molecular-mass heat shock proteins in murine cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **200** : 1367-1373, 1994.
 - 9) **Hatayama, T., Yasuda, K. and Nishiyama, E.** : Characterization of high-molecular-mass heat shock proteins and 42°C-specific heat shock proteins of murine cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **204** : 357-365, 1994.
 - 10) **Hatayama, T., Yasuda, K. and Yasuda, K.** : Association of HSP105 with HSC70 in high molecular mass complexes in mouse FM3A cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **248** : 395-401, 1998.
 - 11) **Yamagishi, N., Nishihori, H., Ishihara, K., Ohtsuka, K. and Hatayama, T.** : Modulation of the Chaperone Activities of Hsc70/Hsp40 by Hsp105 α and Hsp105 β . *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **272** : 850-855, 2000.
 - 12) **Ishihara, K., Yamagishi, N. and Hatayama, T.** : Hsp105 α suppresses Hsc70 chaperone activity by inhibiting Hsc70 ATPase activity. *J. Biol. Chem.* **279** : 41727-41733, 2004.
 - 13) **Raviol, H., Sadlish, H., Rodriguez, F., Mayer, M.P. and Bukau, B.** : Chaperone network in the yeast cytosol: Hsp110 is revealed as an Hsp70 nucleotide exchange factor. *EMBO J.* **25** : 2510-2518, 2006.
 - 14) **Dragovic, Z., Broadley, S. A., Shomura, Y., Bracher, A. and Hartl, F. U.** : Molecular chaperones of the Hsp110 family act as nucleotide exchange factors of Hsp70s. *EMBO J.* **25** : 2519-2528, 2006.
 - 15) **Yamagishi, N., Ishihara, K., Saito, Y. and Hatayama, T.** : Hsp105 but not Hsp70 family proteins suppress the aggregation of heat-denatured protein in the presence of ADP. *FEBS Lett.* **555** : 390-396, 2003.
 - 16) **Nakamura, J., Fujimoto, M., Yasuda, K., Takeda, K., Akira, S., Hatayama, T., Takagi, Y., Nozaki, K., Hosokawa, N. and Nagata, K.** : Targeted disruption of Hsp110/105 gene protects against ischemic stress. *Stroke* **39** : 2853-2859, 2008.
 - 17) **Ciocca, D.R., Clark, G.M., Tandon, A.K., Fuqua, S.A., Welch, W.J. and McGuire, W.L.** : Heat shock protein hsp70 in patients with axillary lymph node-negative breast cancer: prognostic implications. *J. Natl. Cancer Inst.* **85** : 570-574, 1993.
 - 18) **Volm, M., Koomägi, R., Mattern, J. and Efferth, T.** : Protein expression profile of primary human squamous cell lung carcinomas indicative of the incidence of metastases. *Clin. Exp. Metastasis* **19** : 385-390, 2002.
 - 19) **Nakatsura, T., Senju, S., Yamada, K., Jotsuka, T., Ogawa, M. and Nishimura, Y.** : Gene cloning of immunogenic antigens overexpressed in pancreatic cancer. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **281** : 936-944, 2001.
 - 20) **Kai, M., Nakatsura, T., Egami, H., Senju, S., Nishimura, Y. and Ogawa, M.** : Heat shock protein 105 is overexpressed in a variety of human tumors. *Oncol. Rep.* **10** : 1777-1782, 2003.
 - 21) **Bakkenist, C.J., Koreth, J., Williams, C.S., Hunt, N.C. and McGee, J.O.** : Heat shock cognate 70 mutations in sporadic breast carcinoma. *Cancer Res.* **59** : 4219-4221, 1999.
 - 22) **Simon, M.C., Fisch, T.M., Benecke, B.J., Nevins, J.R. and Heintz, N.** : Definition of multiple, functionally distinct TATA elements, one of which is a target in the hsp70 promoter for E1A regulation. *Cell* **52** : 723-729, 1988.
 - 23) **Cheung, R. K. and Dosch, H. M.** : The growth transformation of human B cells involves super-induction of hsp70 and hsp90. *Virology* **193** : 700-708, 1993.

- 24) **Kingston, R.E., Cowie, A., Morimoto, R.I. and Gwinn, K.A.** : Binding of polyomavirus large T antigen to the human hsp70 promoter is not required for trans activation. *Mol. Cell. Biol.* **6** : 3180-90, 1986.
- 25) **Tsutsumi-Ishii, Y., Tadokoro, K., Hanaoka, F. and Tsuchida, N.** : Response of heat shock element within the human HSP70 promoter to mutated p53 genes. *Cell Growth. Differ.* **6** : 1-8, 1995.
- 26) **Taira, T., Sawai, M., Ikeda, M., Tamai, K., Iguchi-Ariga, S.M. and Ariga, H.** : Cell cycle-dependent switch of up-and down-regulation of human hsp70 gene expression by interaction between c-Myc and CBF/NF-Y. *J. Biol. Chem.* **274** : 24270-24279, 1999.
- 27) **Morozov, A., Subject, J. and Raychaudhuri, P.** : HPV16 E7 oncoprotein induces expression of a 110 kDa heat shock protein. *FEBS Lett.* **371** : 214-218, 1995.
- 28) **Gabai, V.L., Meriin, A.B., Mosser, D.D., Caron, A.W., Rits, S., Shifrin, V.I. and Sherman, M.Y.** : Hsp70 prevents activation of stress kinases. A novel pathway of cellular thermotolerance. *J. Biol. Chem.* **272** : 18033-18037, 1997.
- 29) **Meriin, A.B., Yaglom, J.A., Gabai, V.L., Zon, L., Ganiatsas, S., Mosser, D.D., Zon, L. and Sherman, M.Y.** : Protein-damaging stresses activate c-Jun N-terminal kinase via inhibition of its dephosphorylation: a novel pathway controlled by HSP72. *Mol. Cell. Biol.* **19** : 2547-2555, 1999.
- 30) **Beere, H.M., Wolf, B.B., Cain, K., Mosser, D.D., Mahboubi, A., Kuwana, T., Taylor, P., Morimoto, R.I., Cohen, G.M. and Green, D.R.** : Heat-shock protein 70 inhibits apoptosis by preventing recruitment of procaspase-9 to the Apaf-1 apoptosome. *Nat. Cell Biol.* **2** : 469-475, 2000.
- 31) **Saleh, A., Srinivasula, S.M., Balkir, L., Robbins, P.D. and Alnemri, E.S.** : Negative regulation of the Apaf-1 apoptosome by Hsp70. *Nat. Cell Biol.* **2** : 476-83, 2000.
- 32) **Hatayama, T., Yamagishi, N., Minobe, E. and Sakai, K.** : Role of hsp105 in protection against stress-induced apoptosis in neuronal PC12 cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **288** : 528-534, 2001.
- 33) **Yamagishi, N., Saito, Y. and Hatayama, T.** : Mammalian 105 kDa heat shock family proteins suppress hydrogen peroxide-induced apoptosis through a p38 MAPK-dependent mitochondrial pathway in HeLa cells. *FEBS J.* **275** : 4558-4570, 2008.
- 34) **Yamagishi, N., Ishihara, K., Saito, Y. and Hatayama, T.** : Hsp105 family proteins suppress staurosporine-induced apoptosis by inhibiting the translocation of Bax to mitochondria in HeLa cells. *Exp. Cell Res.* **312** : 3215-3223, 2006.
- 35) **Hatayama, T., Takigawa, T., Takeuchi, S. and Shiota, K.** : Characteristic expression of high molecular mass heat shock protein HSP105 during mouse embryo development. *Cell Struct. Funct.* **2** : 517-525, 1997.
- 36) **Yamagishi, N., Saito, Y., Ishihara, K. and Hatayama, T.** : Enhancement of oxidative stress-induced apoptosis by Hsp105 α in mouse embryonal F9 cells. *Eur. J. Biochem.* **269** : 4143-4151, 2002.
- 37) **Yamagishi, N., Ishihara, K., Saito, Y. and Hatayama, T.** : Hsp105 α enhances stress-induced apoptosis but not necrosis in mouse embryonal F9 cells. *J. Biochem.* **132** : 271-278, 2002.
- 38) **Aghdassi, A., Phillips, P., Dudeja, V., Dhaulakhandi, D., Sharif, R., Dawra, R., Lerch, M. M. and Saluja, A.** : Heat shock protein 70 increases tumorigenicity and inhibits apoptosis in pancreatic adenocarcinoma. *Cancer Res.* **67** : 616-625, 2007.
- 39) **Ishihara, K., Yamagishi, N., Saito, Y., Takasaki, M., Konoshima, T. and Hatayama, T.** : Arctigenin from *Fructus Arctii* is a novel suppressor of heat shock response in mammalian cells. *Cell Stress Chaperones* **11** : 154-161, 2006.
- 40) **Guo, F., Rocha, K., Bali, P., Pranpat, M., Fiskus, W., Boyapalle, S., Kumaraswamy, S., Balasis, M., Greedy, B., Armitage, E.S., Lawrence, N. and Bhalla, K.** : Abrogation of heat shock protein 70 induction as a strategy to increase antileukemia activity of heat shock protein 90 inhibitor 17-allylamino-demethoxy

- geldanamycin. *Cancer Res.* **65** : 10536-10544, 2005.
- 41) Powers, M.V., Clarke, P.A. and Workman, P. : Dual targeting of HSC70 and HSP72 inhibits HSP90 function and induces tumor-specific apoptosis. *Cancer Cell* **14** : 250-262, 2008.
- 42) Yaglom, J.A., Gabai, V.L. and Sherman, M.Y. : High levels of heat shock protein Hsp72 in cancer cells suppress default senescence pathways. *Cancer Res.* **67** : 373-2381, 2007.
- 43) Gabai, V.L., Yaglom, J.A., Waldman, T. and Sherman, M.Y. : Heat shock protein Hsp72 controls oncogene-induced senescence pathways in cancer cells. *Mol. Cell. Biol.* **29** : 559-569, 2009.
- 44) Hosaka, S., Nakatsura, T., Tsukamoto, H., Hatayama, T., Baba, H. and Nishimura, Y. : Synthetic small interfering RNA targeting heat shock protein 105 induces apoptosis of various cancer cells both in vitro and in vivo. *Cancer Sci.* **97** : 23-32, 2006.
- 45) Saito, Y., Yamagishi, N. and Hatayama, T. : Different localization of Hsp105 family proteins in mammalian cells. *Exp. Cell Res.* **313** : 3707-3717, 2007.
- 46) Saito, Y., Yamagishi, N. and Hatayama, T. : Nuclear localization mechanism of Hsp105 β and its possible function in mammalian cells. *J. Biochem.* **145** : 185-191, 2009.
- 47) Yamagishi, N., Fujii H., Saito, Y. and Hatayama, T. : Hsp105 β upregulates *hsp70* gene expression through signal transducer and activator of transcription-3. *FEBS J.* **276** : 5870-5880, 2009.
- 48) Turkson, J. and Jove, R. : STAT proteins: novel molecular targets for cancer drug discovery. *Oncogene* **19** : 13-26, 2000.
- 49) Facciponte, J.G., MacDonald, I.J., Wang, X.Y., Kim, H., Manjili, M.H. and Subject, J.R. : Heat shock proteins and scavenger receptors: role in adaptive immune responses. *Immunol. Invest.* **34** : 325-342, 2005.
- 50) Castelli, C., Ciupitu, A.M., Rini, F., Rivoltini, L., Mazzocchi, A., Kiessling, R. and Parmiani, G. : Human heat shock protein 70 peptide complexes specifically activate antimelanoma T cells. *Cancer Res.* **61** : 222-227, 2001.
- 51) Gong, J., Zhang, Y., Durfee, J., Weng, D., Liu, C., Koido, S. and Song, B. : A heat shock protein 70-based vaccine with enhanced immunogenicity for clinical use. *J. Immunol.* **184** : 488-496, 2010.
- 52) Wang, X.Y., Kazim, L., Repasky, E.A. and Subject, J.R. : Characterization of heat shock protein 110 and glucose-regulated protein 170 as cancer vaccines and the effect of fever-range hyperthermia on vaccine activity. *J. Immunol.* **166** : 490-497, 2001.
- 53) Disis, M.L. and Cheever, M.A. : HER-2/neu protein: a target for antigen-specific immunotherapy of human cancer. *Adv. Cancer Res.* **71** : 343-371, 1997.
- 54) Manjili, M.H., Henderson, R., Wang, X.Y., Chen, X., Li, Y., Repasky, E., Kazim, L. and Subject, J.R. : Development of a recombinant HSP110-HER-2/neu vaccine using the chaperoning properties of HSP110. *Cancer Res.* **62** : 1737-1742, 2002.
- 55) Miyazaki, M., Nakatsura, T., Yokomine, K., Senju, S., Monji, M., Hosaka, S., Komori, H., Yoshitake, Y., Motomura, Y., Minohara, M., Kubo, T., Ishihara, K., Hatayama, T., Ogawa, M. and Nishimura, Y. : DNA vaccination of HSP105 leads to tumor rejection of colorectal cancer and melanoma in mice through activation of both CD4 T cells and CD8 T cells. *Cancer Sci.* **96** : 695-705, 2005.
- 56) Wood, C.G. and Mulders, P. : Vitespen: a pre-clinical and clinical review. *Future Oncol.* **5** : 763-774, 2009.