

5 形質転換過程でのHPV E7の機能

九大・生医研

西田純一, 儀間朝直, 鹿沼達哉, 加藤秀則, 和氣徳夫

[目的] HPV E7は、Rb蛋白を不活化することにより子宮頸癌の発生に関与するとされている。しかし、構造的機能的類似性を有するアデノウイルスE1a癌遺伝子の場合と同様、その役割は単一ではない。本研究では、E7による細胞周期及びアポトーシスの制御との関連について解析した。

[方法] ラット胎芽線維芽細胞(REF), REFにHPV16型E7を導入したTF-1, E7+アデノウイルスE1bを導入したTF-2細胞を用いた。それぞれの細胞に、p53蛋白誘導能を有するブチルナトリウム(SB)5mMの処理を24時間行った後、アポトーシスの有無、細胞周期の変化をtunnel法、フローサイトメトリーにて観察した。同時に、p53, waf-1, アポトーシス関連遺伝子(bcl-2, bax)の発現量の変化を観察した。

[成績] 1) 全ての細胞でp53蛋白の蓄積及びwaf-1 mRNAの誘導が観察された。しかし、TF-2では他の2細胞に比し誘導の程度は軽微であった。2) p53の誘導に伴い、全ての細胞でアポトーシスが誘発された。頻度は26%(REF), 16%(TF-1), 16%(TF-2)であった。3) G1期停止は、全ての細胞で観察された。G2/M期細胞の蓄積は、TF-1, TF-2細胞で認められた。4) TF-1でのみbcl-2発現の誘導を観察した。bax発現量に変化を認めなかった。

[結論] 1) E7は、bcl-2発現を誘導することによりp53によるアポトーシスを阻止する機能を有することが示唆された。2) E7は、G1期停止を阻止し、G2/M期細胞の蓄積に機能することが示唆された。3) E7とE1aによる形質転換機構は、同一ではないと推測された。

6 HPV初期遺伝子の細胞性因子による転写調節機構の解明

金沢大

京 哲、井上 正樹

[目的] ヒトパピローマウイルス (HPV) が扁平上皮に特異的に感染するメカニズムを解明するために、E6, E7をはじめとする初期遺伝子の転写発現調節における細胞性因子(核内蛋白)の関与について検討した。

[方法] 悪性型HPVであるHPV31型の系を用いて、1. CAT assayによるE6, E7遺伝子エンハンサーの同定と細胞種間での活性比較、2. エンハンサー領域をプローブとしたDNA footprint解析による核内蛋白結合部の同定、3. 結合部のオリゴヌクレオチドをプローブとしたゲルシフト解析による結合蛋白の同定、4. 結合部位の変異型リポーター遺伝子を用いた結合蛋白の作用の解明、5. 各種細胞核抽出液を用いたゲルシフト解析による結合蛋白の細胞特異性についての検討、を行った。

[成績] 1. エンハンサーは扁平上皮系の細胞で最も活性が強い。2. エンハンサー領域にはAP1, Oct1をはじめとする5種類の核内蛋白が結合し、転写活性作用はAP1が最も強力であった。3. これらの転写因子は扁平上皮系の細胞のみならず線維芽細胞やリンパ系細胞を含む検討したすべての細胞種に存在し、細胞種特異的な因子ではなかった。5. しかしAP1は扁平上皮系の細胞に特に強く発現し、AP1活性とその細胞におけるエンハンサーの転写活性には密接な相関があった。

[結論] HPV遺伝子の転写発現調節における扁平上皮特異的細胞性因子の関与は否定的で、AP1などの非特異的転写活性因子が扁平上皮で活性化されていることが重要であることが示唆された。