

3. ヒトパピローマウイルスと子宮頸癌

神田 忠仁, 柊元 巖

国立感染症研究所・病原体ゲノム解析研究センター

HPVは8000塩基対の環状2本鎖DNAをゲノムとする小型のウイルスで、エンヴェロープは無い。表皮基底細胞に侵入し、核内エピゾームとして潜伏持続感染する。感染細胞が表皮形成の分化を始めると、HPVゲノムの複製に利用するため、E6蛋白質がp53を分解し、E7蛋白質がpRbの機能を阻害して細胞のDNA合成系を再活性化する。通常ウイルス増殖後に感染細胞は死滅する。ごく稀に細胞DNAにE6、E7遺伝子が組み込まれ、ウイルス増殖ができなくなってもかかわらずE6及びE7蛋白質が継続的に高発現することがある。このような細胞は不死化し、さらに変異が蓄積して癌化する。100以上の遺伝子型のうち、このような機構で子宮頸癌に関わるものは16型や18型等の13の型(高リスク型)である。主要キャプシド蛋白質のみを細胞で高発現させると、自律的に集合してウイルス様粒子ができる。6, 11, 16, 18型のウイルス様粒子を抗原とするワクチンの臨床試験が行われ、これまでの成績は型特異的な感染予防効果を示している。

1. パピローマウイルスとは

パピローマウイルス(PV)は環状2本鎖DNAをゲノムとし、正二十面体のキャプシドを持つウイルスで、増殖性病変を誘発する。これまでにヒト、サル、ウシ、ヒツジ、ヤギ、シカ、ウサギ、イヌ、ハムスター等、種々の哺乳類を宿主とするPVが発見されている。これらのウイルスの粒子形態と遺伝子構成は極めて良く似ているが、宿主特異性は厳格で、本来の宿主となる種を超えた感染は報告されていない。宿主の名前をつけてヒトパピローマウイルス(human papillomavirus, HPV)のように呼ばれている。1930年代に、ワタノオウサギ(cottontail rabbit, CR)乳頭腫から回収したCRPVをウサギの皮膚に接種すると乳頭腫ができ、生じた乳頭腫は大部分が退化するが、稀に悪性化して癌ができることがわかり、PVによる発癌が実験的に初めて示された。

ヒトの皮膚や粘膜のイボにHPV粒子が見つかることは

古くから知られてきたが、HPVによる癌にはウイルス粒子が検出されないため、発癌との関わりが強く意識されるようになったのは、1980年代になって、子宮頸癌や子宮頸部異形成(cervical intraepithelial neoplasia, CIN)の病変部にHPVDNAが検出されるようになってからである。ウイルス粒子として分離されることは珍しく、ゲノムDNAのみがクローニングされているものが多い。HPVが増殖できる実用的な培養細胞系が無いため、分離株の抗原性の違いを詳しく調べることが難しく、ゲノムDNAの塩基配列の相同性に基づいて、遺伝子型として分類されている。キャプシドを構成するL1蛋白質の遺伝子の塩基配列を、既知のHPVと比較し、その相同性が90%以下の場合に新規の遺伝子型とされ、これまでに100以上の遺伝子型が見つまっている。皮膚病変に検出されたもの(皮膚指向性HPV)と粘膜の病変に検出されたもの(粘膜指向性HPV)に大別され、さらに粘膜指向性HPV群は、子宮頸癌、肛門周囲癌、陰茎癌等の癌に検出されたもの(高リスク型: 16, 18, 30, 31, 33, 45, 52, 58型等)と、良性の尖形コンジローマ等の原因となるもの(低リスク型: 6, 11型等)に分類されている⁶⁶⁾(図1)。ここでは、子宮頸癌の半数以上に検出され、重点的に研究されている16型HPV(HPV16)で得られた知見を中心に紹介する。

WHOは、世界の女性の悪性腫瘍の11%、約45万人にHPV感染が関わっており、世界には3億人のHPV感染キャリアーが存在すると推定している。特に子宮頸癌は世界

連絡先

〒162-8640 東京都新宿区戸山1-23-1
国立感染症研究所・病原体ゲノム解析研究センター
TEL: 03-5285-1111
FAX: 03-5285-1166
E-mail: kanda@nih.go.jp

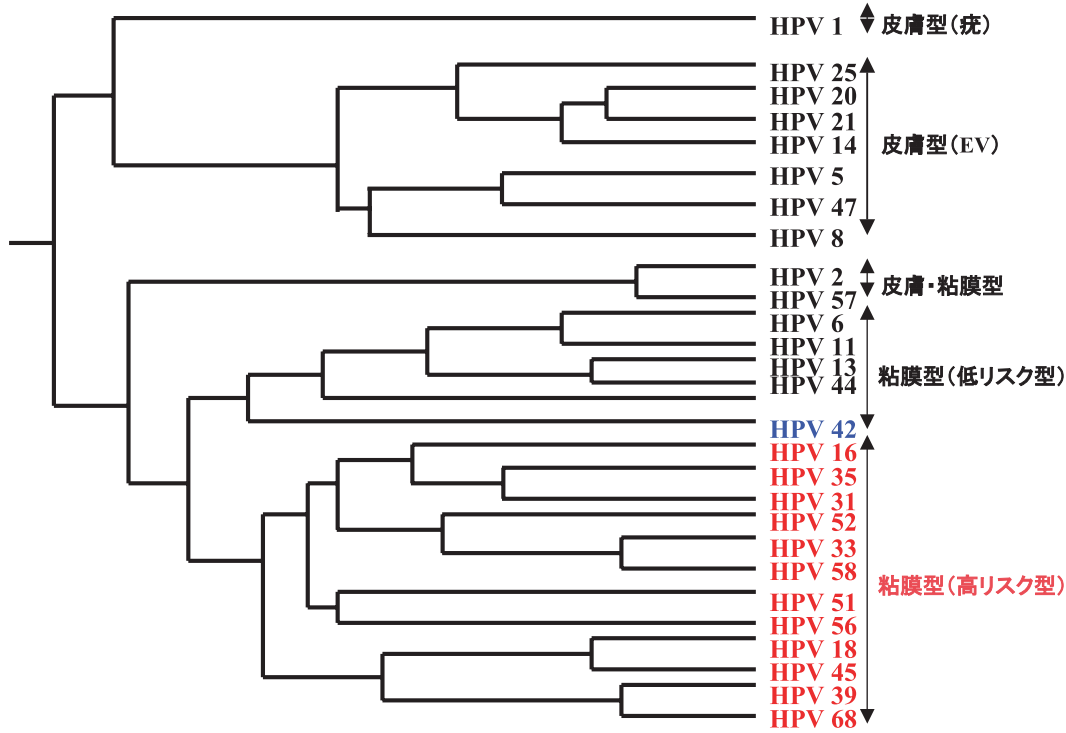


図1 主な HPV の系統樹

日本人女性の子宮頸癌に多く検出されるのは、HPV16, 31, 33, 52, 58である。

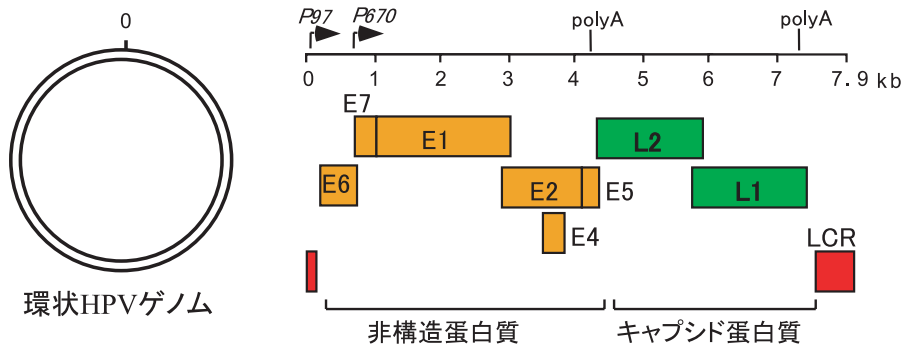


図2 HPV の遺伝子構造

の女性の癌では2番目に多い。我が国では、年間15,000人の子宮頸癌患者が生じ、2,500人が死亡している。無症状の感染が多いことが次第に明らかになってきており、多くのヒトに感染している身近なウイルスのひとつであると考えられている。

HPVの感染は、膣洗浄液や子宮頸部擦過細胞を試料とし、HPVDNAの有無で診断されている。2000年前後の調査で、産婦人科外来を受診した30歳未満の女性の40%でHPV陽性だったとの報告がある。特に20歳未満の女性で高く、近年の性活動開始の若年化を考えると、さらに若年

層の感染者が増加している可能性がある。また、病変部で検出されるHPV型は、北米、ヨーロッパとアジアでは一部が異なっている。癌に検出されるHPVの50%以上をHPV16が占めるが、次いで多い型は、北米やヨーロッパではHPV18であり、我が国ではHPV52, 58等が多くHPV18は少ない。

2. HPV の構造

HPVゲノムの片方のDNA鎖にのみopen reading frame (ORF)が存在し、非構造蛋白質 (E1, E2, E4, E5, E6,

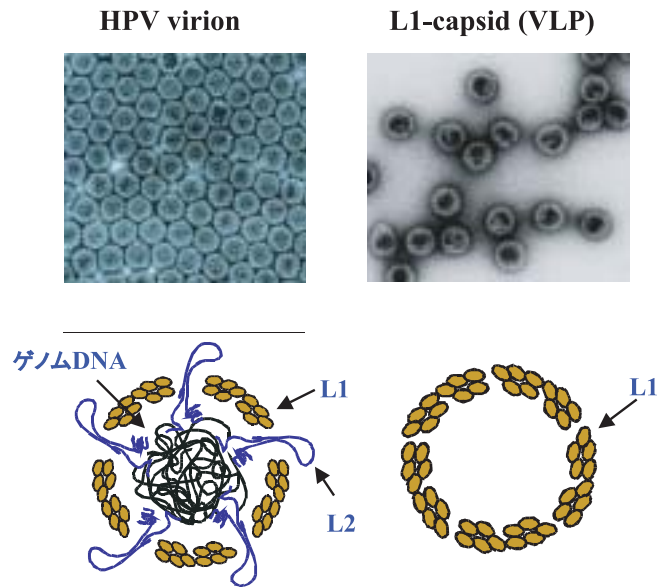


図3 HPV粒子とL1蛋白質のみで形成される virus-like particle

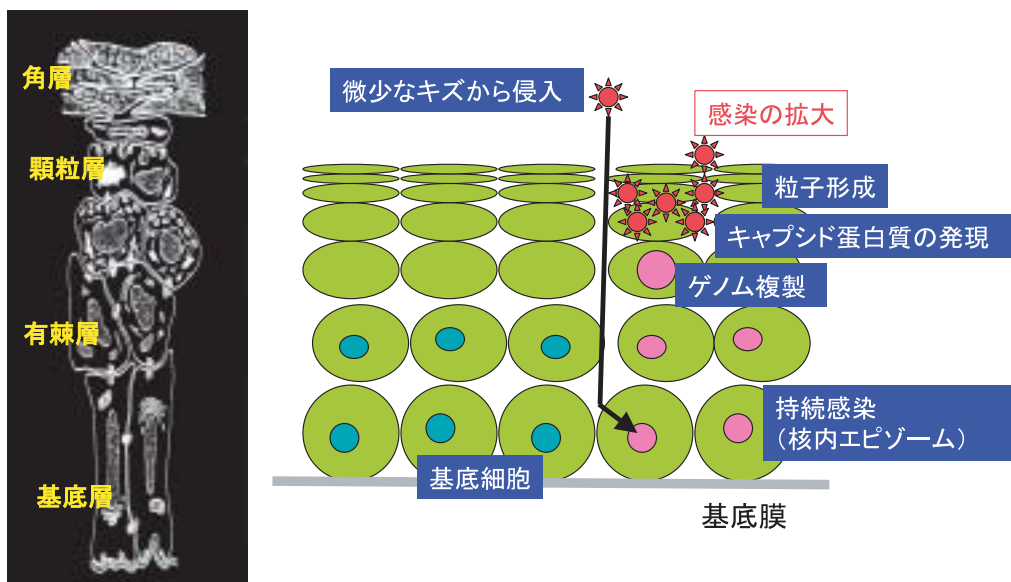


図4 HPVの生活環

E7蛋白質)とキャプシド蛋白質(L1, L2蛋白質)がコードされている⁴²⁾(図2)。非構造蛋白質は、HPV遺伝子群の発現調節とウイルス生活環に適した細胞内環境を整える役割を担っており、キャプシド内に取り込まれることはない。L1遺伝子とE6遺伝子の間に約900塩基長の調節領域(long control region, LCR)があり、ここにゲノムの複製開始点及びP97プロモーターとその調節領域がある。E7遺伝子内にはP670プロモーターがある。HPVの増殖する実用的な培養細胞系が無いため転写物の詳細な解析は難しい

が、非構造遺伝子群はP97から、キャプシド遺伝子はP670から転写されると考えられている。転写物は複雑なスプライシングを受け、複数のORFを持つが、IRESは見つかっていない。2つ以上のORFを持つmRNAから、実際に複数の蛋白質が翻訳される証拠は無い。

HPVのキャプシドは直径50-55nmの正二十面体で、エンヴェロップは無い(図3)。キャプシドの基本骨格はL1蛋白質の5量体からなるキャプソメアが72個集合して形成され、そこに12分子のL2蛋白質が組み込まれている。L2

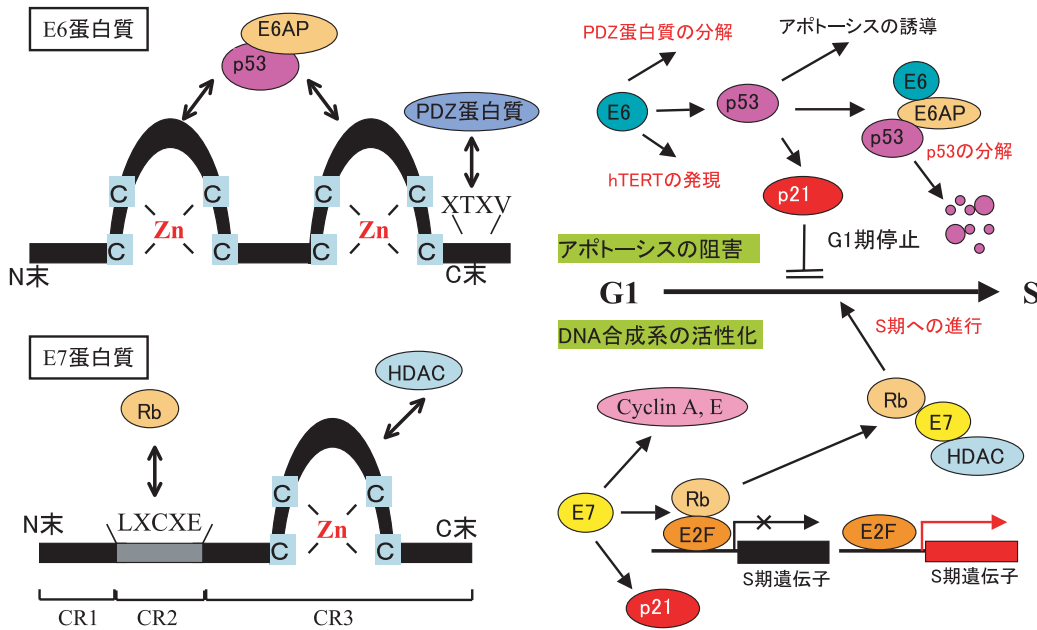


図5 E6, E7 蛋白質の構造と機能

蛋白質の両端はキャプシドの内部にあり、恐らく N 末端でゲノム DNA と結合している。L2 蛋白質の N 末端に近い領域はキャプシド表面にでている。組換えバキュロウイルスを用いて昆虫細胞で L1 蛋白質のみを高発現させると、細胞内で自律的に集合してウイルス様粒子 (virus-like particle, VLP) を形成する。L2 蛋白質も同時に発現させると、ウイルスキャプシドと組成が同じ L1/L2-キャプシドができる。電子顕微鏡による観察では、これらの粒子と病変部から回収した HPV 粒子は区別できない。しかし、酸性溶液中では VLP よりも L1/L2-キャプシドが安定で、キャプシドの構造維持に L2 蛋白質が寄与している。どのような L1 分子間の結合が 5 量体のキャプソメアを形成するのか詳細に解析されていないが、キャプソメアが集合してキャプシドを形成するには、2 ないし 3 個のジスルフィド結合が必須である²⁶⁾。VLP をマウスに免疫すると型特異的な抗体産生が見られることから、一般的に VLP の抗原特異性は遺伝子型に一致すると考えられている。

3. HPV の生活環

HPV は性行為等で生じた生殖器粘膜の微小なキズから侵入し、基底細胞に感染する (図 4)。キャプシドと細胞表面のヘパラン硫酸分子の結合が報告されているが、特異的な感染レセプターは未同定で、基底細胞を標的とする分子機構は明らかにされていない。HPV ゲノムは核へ運ばれ、一過性のゲノム複製が起こって 40-500 コピ-程度の HPV ゲノムが核内エピゾームとして存在する潜伏持続感染状態となる⁶⁵⁾。ウイルスの増殖は起こらない。この一過性のゲノム複製の

みを起こす分子機構は不明である。感染細胞の分裂時には、細胞 DNA の複製と同調して HPV ゲノムも複製され、娘細胞に分配されて感染が維持される。潜伏持続感染細胞では HPV 遺伝子の発現が極力抑制されており、細胞に傷害を与えることも免疫系を刺激することも無い。従って、いったん生じた持続感染細胞は無症状のまま排除されず、長期間にわたって基底層に存在すると考えられるが、詳細は不明である。感染細胞が最終分化を始めるとゲノムの複製と L1 及び L2 蛋白質の発現が順次起こってウイルス粒子が形成され、表皮最外層の脱落と共にウイルスが放出される。ウイルス蛋白質のうち最も多量に産生されるキャプシド蛋白質は、表皮形成の最終段階に近い細胞でのみ合成されるよう厳格に制御されている。このウイルスが周辺に感染して新たな潜伏持続感染細胞を作り、また別の個体へも感染する。高リスク HPV の増殖量は極めて少なく、ウイルス粒子は殆ど検出されない。膣内洗浄液内に回収された脱落細胞や子宮頸管部の擦過細胞から HPV DNA が検出されたヒトには、多くの場合キャプシドに対する抗体が検出されるが、そのレベルは極めて低く、再感染を防ぐことは疑わしい。HPV は性行為を介して感染し、潜伏持続感染と表皮の最外層に近い細胞での小規模な増殖によって免疫系から逃れ、機会があれば他の個体に感染する戦略で人類に維持されている。

4. HPV 非構造蛋白質の機能

HPV の生活環は 6 つの非構造蛋白質によって支えられている (図 2)。E1 蛋白質は DNA ヘリケース活性を持ち、6

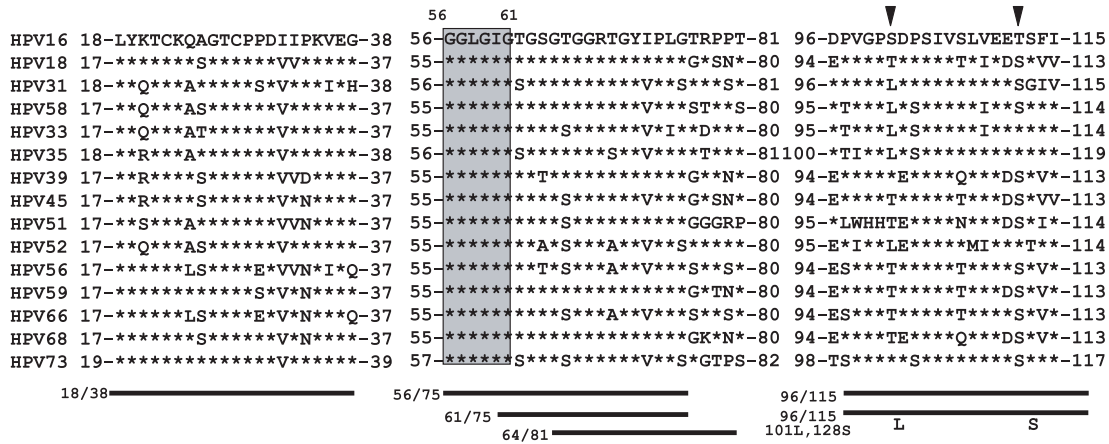


図 6 高リスク HPV 群 L2 蛋白質のアミノ酸配列

HPV16 と同じアミノ酸残基は * で示した. 表 2 の実験で用いられたペプチド抗原の一部は図の下段に示した.

量体を形成して HPV ゲノムの複製開始点に特異的に結合する⁶²⁾. 細胞の DNA ポリメラーゼと結合して複製開始点に運び込み, ウイルス DNA 複製を開始させる⁵²⁾. E2 蛋白質は複製開始点を挟んだ 3ヶ所の特異的部位に結合し, E1 蛋白質の複製開始点への結合を促進する¹⁶⁾. また E2 蛋白質は転写因子として E6, E7 遺伝子の P97 からの転写を抑制的に調節する¹³⁾. さらに, E2 蛋白質は細胞のエンハンサー結合蛋白質 C/EBP α 及び β と結合し, インボルクリン等の角化細胞の分化に伴って発現する細胞遺伝子群の転写にも影響を与えることが示されている²²⁾.

E4 蛋白質はウイルス増殖時に多量に合成され, 細胞骨格に結合し, 骨格構造を破壊することで, 表皮最外層である角層からのウイルス粒子の放出を助ける¹²⁾. また細胞周期にも影響を与えることが示され⁴⁶⁾, ウイルス増殖の後期過程で複数の機能を担っていると考えられる⁴⁷⁾. E5 蛋白質は実験的に培養細胞の形質転換を起こすが, HPV 感染における機能ははっきりしない. 最近, MHC class I 分子の発現抑制が報告されている¹⁾.

E6 及び E7 蛋白質は, 分化の終盤にあって分裂を停止している細胞の DNA 合成能を再活性化してウイルスゲノムの複製に利用し, 異常な DNA 合成に反応して起るアポトーシスを阻害して複製に十分な時間を稼ぐ.

E6 蛋白質は約 150 アミノ酸から成り, 分子内に二つの Zn 結合モチーフを持っている (図 5). 高リスク型と低リスク型の E6 蛋白質間でのアミノ酸配列の相同性は非常に高い. 全ての型で保存されている Zn 結合モチーフを失うと E6 蛋白質の生物活性が失われることから²⁸⁾, Zn 結合モチーフを含む高次構造が E6 の活性に重要であることが分かる. 最近, 16 型 E6 蛋白質の C 末側 Zn 結合ドメインの水溶液中での高次構造が NMR 法によって解析され⁴⁹⁾, 新

規の Zn 結合フォールドを形成していることが示された. ホモロジーモデリング法によって E6 蛋白質全体の三次元構造が構築され, 二つの Zn 結合フォールドが互いに疎水面で向かい合った分子内二量体構造が推定されている⁴⁹⁾.

E6 蛋白質は細胞のユビキチンリガーゼである E6-associated protein (E6-AP) に結合し, この E6/E6-AP 複合体が p53 蛋白質と結合してユビキチン化する^{25,57,61)} (図 5). ユビキチンが付いた p53 蛋白質はプロテアソーム系で分解され, p53 が誘導するアポトーシスによる感染細胞の除去は回避される. また, E6 蛋白質はテロメラーゼの触媒サブユニット hTERT 蛋白質の発現を亢進し, テロメラーゼを活性化する³²⁾. テロメラーゼは染色体末端テロメア DNA の複製を司る酵素であり, 通常の体細胞ではその活性は消失している. 従ってテロメア DNA は細胞分裂のたびに短縮され, その長さがある閾値を超えて短くなると細胞は分裂を停止し senescence の状態となる. テロメラーゼ活性化も, 本来分裂能を失った細胞で DNA 合成系を再活性化するのに必要だと思われる. E6/E6-AP 複合体が, hTERT プロモーターに結合している転写リプレッサーである NFX1 蛋白質を分解し, その転写抑制が解除される機構や¹⁸⁾, Myc/E6 複合体および E6/E6-AP 複合体が hTERT プロモーターに直接結合し, hTERT 遺伝子の転写を活性化する機構^{40, 58)} が報告されている. この他にも, E6 蛋白質は PDZ ドメインを持つ蛋白質群と結合することが知られている. PDZ ドメインは約 90 アミノ酸からなる蛋白間相互作用ドメインで, 蛋白質の C 末端配列の X-S/T-X-V/I を認識し, 結合する. 高リスク型 E6 蛋白質はこの C 末端配列を持ち, hDlg, hScrib, MUPP1, MAGI-1/-2/-3 などの PDZ ドメイン蛋白質は E6 蛋白質が結合することでユビキチン化されプロテアソーム系で分解される^{21, 31, 38, 45)}. これら

のPDZドメイン蛋白質は細胞膜近傍に局在し、細胞接着の制御や細胞極性の維持などに関わることから、E6蛋白質によるその機能阻害が癌細胞で見られる浸潤能や転移能に繋がる可能性がある。

E7蛋白質は約100アミノ酸から成る核蛋白質で、N末端にはSV40 large T抗原やアデノウイルスE1蛋白質とも共通のアミノ酸配列をもつ領域が2つあり、それぞれ conserved region 1, 2 (CR1, CR2) と呼ばれる。CR2にはRbファミリー蛋白質 (Rb, p107, p130) が結合するLXCXE配列が存在する。C末端には一組のZn結合配列を含む conserved region 3 (CR3) がある (図5)。CR3の三次元構造がX線結晶構造解析法 (HPV1aのE7)⁴¹⁾ とNMR法 (HPV45のE7)⁵¹⁾ で分析され、両者の構造はほぼ完全に同一で、独特のZn結合フォールドを持つ二量体であることが示されている。またNMR法を用いたHPV45の全長E7蛋白質の構造解析から、CR1/CR2は水溶液中で明確な高次構造を取らないことが示された⁵¹⁾。E7蛋白質はRbファミリー蛋白質と結合して、細胞周期の調節に介入する (図5)。非リン酸化型のRb蛋白質は、S期の進行に必要な遺伝子群のプロモーターに結合している転写因子E2Fと複合体を形成し、その転写を抑制している。通常のG1期からS期への進行時には、サイクリンキナーゼによりRb蛋白質がリン酸化されE2Fから遊離することで、E2Fによる遺伝子発現が誘導される。また、Rb蛋白質にはヒストンデアセチラーゼ (HDAC) 複合体が結合していて、E2F標的遺伝子プロモーター領域のヌクレオソームヒストンを脱アセチル化することで、その発現抑制に寄与している⁴⁾。E7蛋白質は非リン酸化型Rb蛋白質とCR2で直接結合し¹⁴⁾、あるいはRb蛋白質をユビキチン/プロテアソーム系で分解することによって¹⁹⁾、Rb/E2F複合体を解離させる。さらにCR3のZn結合モチーフを介してHDAC複合体に結合し、HDAC複合体をE2F標的プロモーターから遊離させ、転写抑制を解除する⁵⁾。その結果、S期遺伝子の恒常的発現が起こり、強制的にS期に進行させることになる。またE7蛋白質は、cyclin Aやcyclin E等のS期サイクリン、p21やp27等のサイクリンキナーゼインヒビターに結合し、その活性を修飾して細胞周期の進行を容易にする^{17, 27, 43, 56)}。

E6及びE7蛋白質によるインターフェロン経路への介入も報告されている。E6蛋白質はインターフェロン発現を誘導する転写因子IRF-3に結合し、その機能を妨げる⁵⁵⁾。インターフェロンは細胞表面の受容体に結合してTyk2やJak1などのチロシンキナーゼを活性化し、それらによってリン酸化された転写因子STAT1/2がp48と複合体を形成して細胞質から核へ移行することで、インターフェロン応答遺伝子の発現を誘導するが、HPV18のE6蛋白質はTyk2に結合して α -インターフェロンによるシグナル経路を阻害する³⁹⁾。またE7蛋白質はp48に結合し、その核移行を阻害する²⁾。マイクロアレイ解析によりE6/E7蛋白質を発現

する角化細胞ではインターフェロン応答遺伝子の発現低下も認められている⁴⁸⁾。E6及びE7蛋白質のこれらの活性はHPV感染細胞を細胞免疫機構から守る役割を担っていると考えられる。

5. HPV 遺伝子の発現調節

HPV 遺伝子の発現は、感染細胞の分化と密接に連動している。表皮の形成は、基底細胞の複数回の細胞分裂による層状構造の構築から、強固なケラチンネットワークの形成、最外層の脱落に至る連続した過程である。この過程では、関連遺伝子群の発現誘導と発現停止が、分化の進行に応じて正確に制御されている。HPV生活環を支えるHPV 遺伝子群の発現調節はこの過程で機能する転写因子群や翻訳の制御機構を利用している。

E6, E7 遺伝子の転写を担うP97は、通常の培養細胞でも低い転写活性を示すが、E4, L1, L2 遺伝子の転写を担うP670は培養細胞では転写活性を示さない。これまでにP670近傍に直接結合し、転写を活性化する細胞因子として、hSkn-1a³⁶⁾とC/EBP β ³⁷⁾が見出されている。hSkn-1aは基底細胞では発現せず、角化細胞の分化に伴ってsuprabasal cellで発現し、一過性の細胞増殖を誘導する²⁴⁾。未分化な角化細胞でhSkn-1aを発現させると、様々な分化マーカーの発現を誘導するので、分化の初期過程で重要な働きをする転写因子であると考えられる。C/EBP β は基底細胞でも低レベルの発現があるが、分化に伴って発現量が増大し、分化ケラチンK10の発現を誘導することが知られている⁶⁴⁾。角化細胞の分化時にHPV後期プロモーター領域のクロマチン構造が変化することが示されており¹⁰⁾、C/EBP β はSWI/SNFクロマチン再構築因子と結合することから³⁴⁾、C/EBP β がHPV後期プロモーター領域のクロマチン構造転換に関わる可能性がある。

L1, L2蛋白質の発現は転写直後のpre-mRNAの安定性でも調節されている。L1, L2遺伝子をCMVプロモーターの下流に繋いで培養細胞に導入してもL1, L2-mRNAは検出できない。アミノ酸配列を変えずに塩基配列を変えたコドン変異体を使うとmRNAが安定化することから、L1, L2転写物の塩基配列を標的とするRNA分解機構の存在が強く示唆される^{9, 50)}。試験管内で合成したL1-mRNAを細胞に導入すると安定なので、RNA分解は核内で起こるらしい。L1遺伝子の5'側の500塩基領域にRNA分解機構の標的配列があり、この配列を他の遺伝子の5'側に付加すると同様な発現抑制が起こる⁴⁴⁾。このRNA分解機構も分化による細胞遺伝子群の発現調節に関わりと推定されるが、詳細は不明である。

6. HPV による発癌

HPV感染細胞が分化し、小規模なウイルス増殖が起れば、細胞は死滅し発癌することは無い。HPVゲノムが細胞

DNA に組み込まれてしまい、組み込み部分でウイルス遺伝子の一部が欠失する場合や、DNA のメチル化によってウイルスゲノムの後期遺伝子部分が不活化する等の機構でウイルスが増殖できないにも拘わらず、高リスク型 HPV の E6 及び E7 蛋白質の継続的な高発現が起ると、異常な増殖能を持つ細胞となる。特に、E6, E7 遺伝子の過剰発現を抑制する機能を持つ E2 遺伝子が、組み込み過程で不活化することは E6, E7 遺伝子の高発現に重要だと考えられている⁶⁰⁾。また、変異によって P97 の転写活性が亢進する場合も見つかっている^{11, 35)}。いずれにしろ、E6, E7 蛋白質に対する抗体は、子宮頸癌患者の血清中にのみ検出されるので²⁹⁾、子宮頸癌で発現している E6, E7 蛋白質のレベルは、通常の潜伏持続感染と感染細胞の分化に伴う増殖時に発現するレベルよりはるかに高いと思われる。高レベルの E6 蛋白質の発現は、多くの癌細胞でみられる p53 の機能不全と同様な効果を持ち、アポトーシスの抑制と DNA に生じた損傷の固定化をもたらす。様々な変異が蓄積し、悪性形質を獲得すると考えられる。

p53 や Rb 以外の様々な細胞蛋白質が E6 及び E7 蛋白質の標的となることが報告されており、E6, E7 蛋白質の発現レベルによっては、それらの標的蛋白質の機能が修飾され、発癌に寄与することも考えられる。しかし、HeLa や SiHa のような子宮頸癌由来細胞株では、HPV18 や HPV16 の E6 及び E7 蛋白質の発現が続いており、その発現をアンチセンス RNA や siRNA を使って特異的に阻害すると細胞増殖が抑制される^{8, 23)}。即ち、これらの細胞の増殖能は、癌化した後でも E6, E7 に依存している。外科手術で切除された子宮頸癌を調べると、E6, E7 遺伝子の発現が可能な状態で高リスク型 HPV ゲノムが存在している。

子宮頸癌発症の必要条件となっている E6, E7 の継続的な高発現やそれらの機能を阻害することによって、患者体内の癌細胞の増殖を抑制できる可能性がある。また E6, E7 蛋白質発現細胞を標的とする免疫療法の開発も可能かもしれない。HPV16 で形質転換した細胞の移植で腫瘍を形成している動物に、E6, E7 蛋白質を発現する組換えワクチンアウイルスを接種したり、E7 蛋白質を標的とする細胞障害性 T リンパ球を誘導することで腫瘍の消失ないし縮小が観察されている³⁾。

7. 感染予防ワクチンの開発

HPV の感染をワクチンで予防できれば、子宮頸癌を根絶することが可能と期待される。PV 感染予防ワクチン開発の可能性は CRPV の感染実験で示された。CRPV によるウサギの乳頭種から CRPV 粒子を回収し、それを皮膚にキズをつけてウサギに感染させると 2-3 ヶ月で乳頭種ができる。しかし、不活化した CRPV 粒子をワクチンとしてウサギに接種しておけば、その後の CRPV 接種による乳頭種の形成は起こらない⁶⁾。大腸菌で発現させた L1 蛋白質をワクチ

ンとしても予防効果はなく、CRPV の L1 蛋白質による VLP は有効なので、VLP の構造が必要であることがわかった。また、VLP を接種したウサギの血清ないし IgG 抗体を別のウサギに移入すれば予防効果が示され、IgG 抗体が防御の主体であることがわかった⁶⁾。同様の成績はウシを用いたウシバピローマウイルス (BPV) 1, 2, 4 型の感染実験でも示されている³⁰⁾。

また、HPV に対する感染中和抗体を検出し定量するために、感染性偽ウイルスが作製されている。L1 及び L2 遺伝子のコドン変異体からは、通常の培養細胞で L1, L2 蛋白質が高発現する。そこで、L1, L2 コドン変異体の発現プラスミドと共に SV40 複製開始点を持つレポータープラスミドを SV40 T 抗原陽性の細胞に導入すると、複製したレポーターが L1/L2-キャプシドに取り込まれ、感染性偽ウイルスができる⁷⁾。HPV 粒子の抗原性や感染中和抗体の解析は、これらの粒子を使って進められている。HPV6, 11, 16, 18, 31, 33, 45 等の VLP をマウスやウサギに接種して得た抗血清は、それぞれの免疫に使われた型の VLP にのみ特異的に結合し、それぞれの型の偽ウイルスの感染を特異的に阻害することが示された²⁰⁾。HPV16, 18 の VLP をマウスに免疫して得た複数の単クローン抗体の解析では、立体構造を認識する抗体が高い型特異性と感染中和活性を持つことが示された⁵³⁾。

これらの成績をもとに、メルク社では HPV16, 18, 6, 11 の VLP を混合したワクチンを、グラクソスミスクライン (GSK) 社では HPV16, 18 の VLP を混合したワクチンを開発し、大規模な臨床試験を行っている。16-23 歳の女性にワクチン抗原をアジュバントと共に筋肉に 3 回 (0, 2, 6 ヶ月) 注射し、被験者の血中抗 HPV L1 抗体の消長、子宮頸部擦過細胞の異常と HPV DNA の有無、子宮頸部異形成 (CIN2/3) の有無、を調べている⁵⁹⁾。これまでに、有害な副作用は報告が無い。極めて効率よく血清中に中和抗体が誘導され、その後徐々に抗体価は低下して 1 年半後に定常状態となるが、それでも自然感染で誘導される抗体価より数十倍高いと報告されている。プラセボ投与の被験者群では HPV16, 18 型 DNA 陽性の CIN 病変を生じるのに対し、ワクチン投与を受けた被験者には HPV16, 18 型による CIN の発症が見られず、ワクチンによって HPV16, 18 型の感染を予防できる可能性が強く示されている (表 1)。2006 年 6 月には米国がメルク社のワクチンを、7 月には EU が GSK 社のワクチンの市場導入を認めた。

しかし、未解決の課題は多い。どの程度の血清中の中和抗体価があれば感染阻害効果を持つかが不明なので、3 回のワクチン接種が必要なのか、あるいは追加免疫が必要なのか等のプロトコルの最適化が残されている。効果判定の指標とされている CIN2/3 は発症に時間がかかり、しかも頻度が低いので、実用的な代替指標としては HPV DNA の有無が考えられている。HPV DNA の存在は感染の指標

表1 メルク社の HPV ワクチン臨床試験の成績

HPV6, 11, 16, 18 の VLP ワクチンを女性 (平均 20 歳) に 3 回 (0, 2, 6 ヶ月) 筋注し, 接種後 6 ヶ月毎に子宮頸部の病変と頸部擦過細胞の HPV DNA を調べた. 接種から 36 ヶ月経過後の成績が公表された. Villa et al.⁵⁹⁾ から引用

	Vaccine(n=276)			Placebo(n=275)		
	n	Events	Incidence per 100 Women-year	n	Events	Incidence per 100 Women-year
Infection with						
HPV6	214	0	0	209	13	2.6
HPV11	214	0	0	209	3	0.6
HPV16	199	3	0.6	198	21	4.5
HPV18	224	1	0.2	224	9	1.7
External genital lesion	235	0	0	233	3	0.5
CIN	235	0	0	233	3	0.5

表2 HPV16 の L2 蛋白質に対する抗血清の中和活性

HPV16L2 蛋白質のアミノ酸 14 から 27 の配列を持つ合成ペプチド (14/27) 等をウサギに免疫して得た抗血清による HPV16, 18, 31, 58 感染性偽ウイルスの中和活性. 偽ウイルスと希釈した抗血清を混合し, 感染価を 1/2 に抑制する最大希釈度の逆数が示されている. Kondo et al.³³⁾ から引用.

	HPV16	HPV18	HPV31	HPV58
anti-14/27	<50	<50	<50	<50
	<50	<50	<50	<50
anti-18/38	800	50	<50	<50
	400	100	<50	<50
anti-28/42	<50	<50	<50	<50
	800	<50	<50	50
anti-56/75	400	200	200	400
	200	50	100	200
anti-61/75	400	100	<50	50
	800	200	<50	100
anti-64/81	3200	400	<50	100
	800	200	<50	50
anti-90/111	200	<50	50	<50
	200	<50	<50	<50
anti-96/115	200	<50	50	<50
	400	<50	400	200
anti-96/115 (101L, 128S)	100	<50	200	200
	100	50	100	100
anti-107/122	100	<50	<50	50
anti-131/144	<50	<50	<50	<50
	200	<50	<50	<50

となるが, HPV DNA を検出できなかったからといって感染を否定することはできないため, 数ヶ月おきに連続して採取した試料を使うことが提案されている. しかし, どのような間隔で何回試料を採取すべきかははっきりしない. さらに思春期の女児を対象とすべきか, 男児は接種対象とすべきか, 胎児への影響はあるか, 既感染者に効果はあるか,

等々は今後の臨床試験のデータに基づいて議論しなければならない. 特に, これらのワクチンは極めて型特異性が高い中和抗体を誘導するので, 13 の型が指摘されている高リスク群 HPV の全てにどう対応するかが最大の課題である. 天然痘やポリオ等のワクチンは, 予め免疫系に記憶を与えておき, 感染に対して速やかに免疫系が応答し, 発症を防

ぐことを目指してきた。HPV ワクチンは感染そのものを防ごうとするもので、その成否が完全に明らかになるには長期にわたる臨床試験が必要である。

L2 蛋白質の N 末端近傍領域はキャプシド表面に出ており、この表面領域のアミノ酸の欠失や置換変異を持つ偽ウイルスの感染性は著しく低下することから⁶³⁾、この領域は感染に必須な役割を担っていることが示されている。大腸菌で発現させた HPV6, 16, 18 の L2 蛋白質をヒツジに免疫して得た抗血清は、それぞれ HPV6, 16, 18 の偽ウイルスの感染を阻害すること⁵⁴⁾、CRPV の L2 表面領域の一部で免疫したウサギは、CRPV の接種による乳頭種形成が無いこと¹⁵⁾ がわかり、L2 蛋白質の表面領域に抗体が結合し、その機能を阻害すれば感染を阻止できることが示された。

HPV16L2 蛋白質の表面領域のアミノ酸配列を持つ合成ペプチドをウサギに免疫し、得られた抗血清の中和活性を調べたところ、アミノ酸 56-81 領域のペプチドを免疫して得た抗血清は、HPV16, 18, 21, 58 を効率よく中和することがわかった³³⁾ (表 2)。この領域のアミノ酸配列は、高リスク HPV 群で極めて良く保存されており (図 6)、HPV 各型に共通の機能を担っているらしい。この領域に対する抗体を効率よく誘導するワクチンを開発すれば、全ての高リスク HPV 感染の予防が期待できる。現在の VLP ワクチンを受けても女性は子宮癌集団検診を受ける必要があるが、L2 ワクチンが実用化されれば子宮癌検診から開放されよう。

ひとつの潜伏持続感染部位に由来する HPV の増殖は、あまり頻繁には起こらないと思われる。しかし、女性生殖器などでは、いったん増殖すれば新たな持続感染部位ができ、それらの部位からも HPV が増殖すれば、やがて高頻度でウイルス増殖が起こる状態となる可能性がある。従って、持続感染細胞の数を増やさなければ、HPV による発癌リスクが下がることが期待できる。ワクチンによって HPV 初感染の予防を目指すと共に、既感染者に対しても有効な中和抗体を誘導できれば、感染の拡大を抑制することができ、発癌を防ぐことに繋がると考えられる。

おわりに

ウイルスは、強い感染力と高い増殖能を持つものか、あるいは潜伏持続感染して宿主と共存するものに分けられる。前者は宿主に強い病後免疫を残すことになり、2 度目の感染は起こらない。従って、集団内で新たな感受性宿主である子供が一定の頻度で生まれ続ける場合のみ維持される。ワクチンで根絶に成功した天然痘ウイルスや根絶に近いポリオウイルスはこのような性質のウイルスである。後者は、いったん感染すれば宿主が生存する限りウイルスも維持される。性行為感染のように少量のウイルスで、個体から個体へと能率良く伝搬する経路を持てば、ヒト集団の中で安定に維持されるのであろう。HPV はそのようにして長い間ヒト集団に存在してきたと思われる。また、HPV の遺伝子

型の多さは、このウイルスが宿主に免疫応答を誘導せず、免疫系による排除を受けにくいことと関連しているのかもしれない。今後、角化細胞の分化による表皮形成の分子機構の理解がすすめば、高リスク型と低リスク型 HPV の生活環の違いが明らかにされ、HPV 持続感染の阻止や感染細胞排除の方法も開発されるに違いない。

文 献

- 1) Ashrafi G H, Haghshenas M, Marchetti B and Campo M S. E5 protein of human papillomavirus 16 downregulates HLA class I and interacts with the heavy chain via its first hydrophobic domain. *Int J Cancer* 119: 2105-2112, 2006.
- 2) Barnard P, Payne E and McMillan N A. The human papillomavirus E7 protein is able to inhibit the antiviral and anti-growth functions of interferon-alpha. *Virology* 277: 411-419, 2000.
- 3) Bournsnel M E, Rutherford E, Hickling J K, Rollinson E A, Munro A J, Rolley N, McLean C S, Borysiewicz L K, Vousden K and Inglis S C. Construction and characterisation of a recombinant vaccinia virus expressing human papillomavirus proteins for immunotherapy of cervical cancer. *Vaccine* 14: 1485-1494, 1996.
- 4) Brehm A, Miska E A, McCance D J, Reid J L, Bannister A J and Kouzarides T. Retinoblastoma protein recruits histone deacetylase to repress transcription. *Nature* 391: 597-601, 1998.
- 5) Brehm A, Nielsen S J, Miska E A, McCance D J, Reid J L, Bannister A J and Kouzarides T. The E7 oncoprotein associates with Mi2 and histone deacetylase activity to promote cell growth. *Embo J* 18: 2449-2458, 1999.
- 6) Breitburd F, Kirnbauer R, Hubbert N L, Nonnenmacher B, Trin-Dinh-Desmarquet C, Orth G, Schiller J T and Lowy D R. Immunization with viruslike particles from cottontail rabbit papillomavirus (CRPV) can protect against experimental CRPV infection. *J Virol* 69: 3959-3963, 1995.
- 7) Buck C B, Pastrana D V, Lowy D R and Schiller J T. Efficient intracellular assembly of papillomaviral vectors. *J Virol* 78: 751-757, 2004.
- 8) Butz K, Ristriani T, Hengstermann A, Denk C, Scheffner M and Hoppe-Seyler F. siRNA targeting of the viral E6 oncogene efficiently kills human papillomavirus-positive cancer cells. *Oncogene* 22: 5938-5945, 2003.
- 9) Collier B, Oberg D, Zhao X and Schwartz S. Specific inactivation of inhibitory sequences in the 5' end of the human papillomavirus type 16 L1 open reading frame results in production of high levels of L1 protein in human epithelial cells. *J Virol* 76: 2739-2752, 2002.
- 10) del Mar Pena L M and Laimins L A. Differentiation-dependent chromatin rearrangement coincides with activation of human papillomavirus type 31 late gene expression. *J Virol* 75: 10005-10013, 2001.
- 11) Dong X P, Stubenrauch F, Beyer-Finkler E and Pfister

- H. Prevalence of deletions of YY1-binding sites in episomal HPV 16 DNA from cervical cancers. *Int J Cancer* 58: 803-808, 1994.
- 12) Doorbar J, Ely S, Sterling J, McLean C and Crawford L. Specific interaction between HPV-16 E1-E4 and cytokeratins results in collapse of the epithelial cell intermediate filament network. *Nature* 352: 824-827, 1991.
 - 13) Dostatni N, Lambert P F, Sousa R, Ham J, Howley P M and Yaniv M. The functional BPV-1 E2 trans-activating protein can act as a repressor by preventing formation of the initiation complex. *Genes Dev* 5: 1657-1671, 1991.
 - 14) Dyson N, Howley P M, Munger K and Harlow E. The human papilloma virus-16 E7 oncoprotein is able to bind to the retinoblastoma gene product. *Science* 243: 934-937, 1989.
 - 15) Embers M E, Budgeon L R, Pickel M and Christensen N D. Protective immunity to rabbit oral and cutaneous papillomaviruses by immunization with short peptides of L2, the minor capsid protein. *J Virol* 76: 9798-9805, 2002.
 - 16) Frattini M G and Laimins L A. Binding of the human papillomavirus E1 origin-recognition protein is regulated through complex formation with the E2 enhancer-binding protein. *Proc Natl Acad Sci U S A* 91: 12398-12402, 1994.
 - 17) Funk J O, Waga S, Harry J B, Espling E, Stillman B and Galloway D A. Inhibition of CDK activity and PCNA-dependent DNA replication by p21 is blocked by interaction with the HPV-16 E7 oncoprotein. *Genes Dev* 11: 2090-2100, 1997.
 - 18) Gewin L, Myers H, Kiyono T and Galloway D A. Identification of a novel telomerase repressor that interacts with the human papillomavirus type-16 E6/E6-AP complex. *Genes Dev* 18: 2269-2282, 2004.
 - 19) Giarre M, Caldeira S, Malanchi I, Ciccolini F, Leao M J and Tommasino M. Induction of pRb degradation by the human papillomavirus type 16 E7 protein is essential to efficiently overcome p16INK4a-imposed G1 cell cycle Arrest. *J Virol* 75: 4705-4712, 2001.
 - 20) Giroglou T, Sapp M, Lane C, Fligge C, Christensen N D, Streeck R E and Rose R C. Immunological analyses of human papillomavirus capsids. *Vaccine* 19: 1783-1793, 2001.
 - 21) Glaunsinger B A, Lee S S, Thomas M, Banks L and Javier R. Interactions of the PDZ-protein MAGI-1 with adenovirus E4-ORF1 and high-risk papillomavirus E6 oncoproteins. *Oncogene* 19: 5270-5280, 2000.
 - 22) Hadaschik D, Hinterkeuser K, Oldak M, Pfister H J and Smola-Hess S. The Papillomavirus E2 protein binds to and synergizes with C/EBP factors involved in keratinocyte differentiation. *J Virol* 77: 5253-5265, 2003.
 - 23) He Y and Huang L. Growth inhibition of human papillomavirus 16 DNA-positive mouse tumor by antisense RNA transcribed from U6 promoter. *Cancer Res* 57: 3993-3999, 1997.
 - 24) Hildesheim J, Kuhn U, Yee C L, Foster R A, Yancey K B and Vogel J C. The hSkn-1a POU transcription factor enhances epidermal stratification by promoting keratinocyte proliferation. *J Cell Sci* 114: 1913-1923, 2001.
 - 25) Huijbregtse J M, Scheffner M and Howley P M. A cellular protein mediates association of p53 with the E6 oncoprotein of human papillomavirus types 16 or 18. *Embo J* 10: 4129-4135, 1991.
 - 26) Ishii Y, Tanaka K and Kanda T. Mutational analysis of human papillomavirus type 16 major capsid protein L1: the cysteines affecting the intermolecular bonding and structure of L1-capsids. *Virology* 308: 128-136, 2003.
 - 27) Jones D L, Alani R M and Munger K. The human papillomavirus E7 oncoprotein can uncouple cellular differentiation and proliferation in human keratinocytes by abrogating p21Cip1-mediated inhibition of cdk2. *Genes Dev* 11: 2101-2111, 1997.
 - 28) Kanda T, Watanabe S, Zanma S, Sato H, Furuno A and Yoshiike K. Human papillomavirus type 16 E6 proteins with glycine substitution for cysteine in the metal-binding motif. *Virology* 185: 536-543, 1991.
 - 29) Kanda T, Onda T, Zanma S, Yasugi T, Furuno A, Watanabe S, Kawana T, Sugase M, Ueda K, Sonoda T and et al. Independent association of antibodies against human papillomavirus type 16 E1/E4 and E7 proteins with cervical cancer. *Virology* 190: 724-732, 1992.
 - 30) Kirnbauer R, Chandrachud L M, O'Neil B W, Wagner E R, Grindlay G J, Armstrong A, McGarvie G M, Schiller J T, Lowy D R and Campo M S. Virus-like particles of bovine papillomavirus type 4 in prophylactic and therapeutic immunization. *Virology* 219: 37-44, 1996.
 - 31) Kiyono T, Hiraiwa A, Fujita M, Hayashi Y, Akiyama T and Ishibashi M. Binding of high-risk human papillomavirus E6 oncoproteins to the human homologue of the Drosophila discs large tumor suppressor protein. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94: 11612-11616, 1997.
 - 32) Klingelhutz A J, Foster S A and McDougall J K. Telomerase activation by the E6 gene product of human papillomavirus type 16. *Nature* 380: 79-82, 1996.
 - 33) Kondo K, Ishii Y, Ochi H, Matsumoto T, Yoshikawa H and Kanda T. Neutralization of HPV16, 18, 31, and 58 pseudovirions with antisera induced by immunizing rabbits with synthetic peptides representing segments of the HPV16 minor capsid protein L2 surface region. *Virology* in press.
 - 34) Kowenz-Leutz E and Leutz A. A C/EBP beta isoform recruits the SWI/SNF complex to activate myeloid genes. *Mol Cell* 4: 735-743, 1999.
 - 35) Kozuka T, Aoki Y, Nakagawa K, Ohtomo K, Yoshikawa H, Matsumoto K, Yoshiike K and Kanda T. Enhancer-promoter activity of human papillomavirus type 16 long control regions isolated from cell lines SiHa and CaSki and cervical cancer biopsies. *Jpn J Cancer Res* 91: 271-279, 2000.
 - 36) Kukimoto I and Kanda T. Displacement of YY1 by dif-

- ferentiation-specific transcription factor hSkn-1a activates the P(670) promoter of human papillomavirus type 16. *J Virol* 75: 9302-9311, 2001.
- 37) Kukimoto I, Takeuchi T and Kanda T. CCAAT/enhancer binding protein beta binds to and activates the P670 promoter of human papillomavirus type 16. *Virology* 346: 98-107, 2006.
 - 38) Lee S S, Glaunsinger B, Mantovani F, Banks L and Javier R T. Multi-PDZ domain protein MUPP1 is a cellular target for both adenovirus E4-ORF1 and high-risk papillomavirus type 18 E6 oncoproteins. *J Virol* 74: 9680-9693, 2000.
 - 39) Li S, Labrecque S, Gauzzi M C, Cuddihy A R, Wong A H, Pellegrini S, Matlashewski G J and Koromilas A E. The human papilloma virus (HPV)-18 E6 oncoprotein physically associates with Tyk2 and impairs Jak-STAT activation by interferon-alpha. *Oncogene* 18: 5727-5737, 1999.
 - 40) Liu X, Yuan H, Fu B, Disbrow G L, Apolinario T, Tomaic V, Kelley M L, Baker C C, Huibregtse J and Schlegel R. The E6AP ubiquitin ligase is required for transactivation of the hTERT promoter by the human papillomavirus E6 oncoprotein. *J Biol Chem* 280: 10807-10816, 2005.
 - 41) Liu X, Clements A, Zhao K and Marmorstein R. Structure of the human Papillomavirus E7 oncoprotein and its mechanism for inactivation of the retinoblastoma tumor suppressor. *J Biol Chem* 281: 578-586, 2006.
 - 42) Longworth M S and Laimins L A. Pathogenesis of human papillomaviruses in differentiating epithelia. *Microbiol Mol Biol Rev* 68: 362-372, 2004.
 - 43) McIntyre M C, Ruesch M N and Laimins L A. Human papillomavirus E7 oncoproteins bind a single form of cyclin E in a complex with cdk2 and p107. *Virology* 215: 73-82, 1996.
 - 44) Mori S, Ozaki S, Yasugi T, Yoshikawa H, Taketani Y and Kanda T. Inhibitory cis-element-mediated decay of human papillomavirus type 16 L1-transcript in undifferentiated cells. *Mol Cell Biochem* 288: 47-57, 2006.
 - 45) Nakagawa S and Huibregtse J M. Human scribble (Vartul) is targeted for ubiquitin-mediated degradation by the high-risk papillomavirus E6 proteins and the E6AP ubiquitin-protein ligase. *Mol Cell Biol* 20: 8244-8253, 2000.
 - 46) Nakahara T, Nishimura A, Tanaka M, Ueno T, Ishimoto A and Sakai H. Modulation of the cell division cycle by human papillomavirus type 18 E4. *J Virol* 76: 10914-10920, 2002.
 - 47) Nakahara T, Peh W L, Doorbar J, Lee D and Lambert P F. Human papillomavirus type 16 E1circumflexE4 contributes to multiple facets of the papillomavirus life cycle. *J Virol* 79: 13150-13165, 2005.
 - 48) Nees M, Geoghegan J M, Hyman T, Frank S, Miller L and Woodworth C D. Papillomavirus type 16 oncogenes downregulate expression of interferon-responsive genes and upregulate proliferation-associated and NF-kappaB-responsive genes in cervical keratinocytes. *J Virol* 75: 4283-4296, 2001.
 - 49) Nomine Y, Masson M, Charbonnier S, Zanier K, Ristriani T, Deryckere F, Sibley A P, Desplancq D, Atkinson R A, Weiss E, Orfanoudakis G, Kieffer B and Trave G. Structural and functional analysis of E6 oncoprotein: insights in the molecular pathways of human papillomavirus-mediated pathogenesis. *Mol Cell* 21: 665-678, 2006.
 - 50) Oberg D, Collier B, Zhao X and Schwartz S. Mutational inactivation of two distinct negative RNA elements in the human papillomavirus type 16 L2 coding region induces production of high levels of L2 in human cells. *J Virol* 77: 11674-11684, 2003.
 - 51) Ohlenschlager O, Seiboth T, Zengerling H, Briese L, Marchanka A, Ramachandran R, Baum M, Korbas M, Meyer-Klaucke W, Durst M and Gorlach M. Solution structure of the partially folded high-risk human papilloma virus 45 oncoprotein E7. *Oncogene* 25: 5953-5959, 2006.
 - 52) Park P, Copeland W, Yang L, Wang T, Botchan M R and Mohr I J. The cellular DNA polymerase alpha-prime is required for papillomavirus DNA replication and associates with the viral E1 helicase. *Proc Natl Acad Sci U S A* 91: 8700-8704, 1994.
 - 53) Roden R B, Armstrong A, Haderer P, Christensen N D, Hubbert N L, Lowy D R, Schiller J T and Kirnbauer R. Characterization of a human papillomavirus type 16 variant-dependent neutralizing epitope. *J Virol* 71: 6247-6252, 1997.
 - 54) Roden R B, Yutzy W H t, Fallon R, Inglis S, Lowy D R and Schiller J T. Minor capsid protein of human genital papillomaviruses contains subdominant, cross-neutralizing epitopes. *Virology* 270: 254-257, 2000.
 - 55) Ronco L V, Karpova A Y, Vidal M and Howley P M. Human papillomavirus 16 E6 oncoprotein binds to interferon regulatory factor-3 and inhibits its transcriptional activity. *Genes Dev* 12: 2061-2072, 1998.
 - 56) Ruesch M N and Laimins L A. Initiation of DNA synthesis by human papillomavirus E7 oncoproteins is resistant to p21-mediated inhibition of cyclin E-cdk2 activity. *J Virol* 71: 5570-5578, 1997.
 - 57) Scheffner M, Werness B A, Huibregtse J M, Levine A J and Howley P M. The E6 oncoprotein encoded by human papillomavirus types 16 and 18 promotes the degradation of p53. *Cell* 63: 1129-1136, 1990.
 - 58) Veldman T, Liu X, Yuan H and Schlegel R. Human papillomavirus E6 and Myc proteins associate in vivo and bind to and cooperatively activate the telomerase reverse transcriptase promoter. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100: 8211-8216, 2003.
 - 59) Villa L L, Costa R L, Petta C A, Andrade R P, Ault K A, Giuliano A R, Wheeler C M, Koutsky L A, Malm C, Lehtinen M, Skjeldestad F E, Olsson S E, Steinwall M, Brown D R, Kurman R J, Ronnett B M, Stoler M H, Ferenczy A, Harper D M, Tamms G M, Yu J, Lupinacci L, Railkar R, Taddeo F J, Jansen K U, Esser M T, Singhs H L, Saah A J and Barr E. Prophylactic quadrivalent human papillomavirus (types 6, 11, 16, and 18) L1 virus-like particle vaccine in young women: a randomised double-blind placebo-controlled multicentre

- phase II efficacy trial. *Lancet Oncol* 6: 271-278, 2005.
- 60) Wentzensen N, Vinokurova S and von Knebel Doeberitz M. Systematic review of genomic integration sites of human papillomavirus genomes in epithelial dysplasia and invasive cancer of the female lower genital tract. *Cancer Res* 64: 3878-3884, 2004.
- 61) Werness B A, Levine A J and Howley P M. Association of human papillomavirus types 16 and 18 E6 proteins with p53. *Science* 248: 76-79, 1990.
- 62) Yang L, Mohr I, Fouts E, Lim D A, Nohaile M and Botchan M. The E1 protein of bovine papilloma virus 1 is an ATP-dependent DNA helicase. *Proc Natl Acad Sci U S A* 90: 5086-5090, 1993.
- 63) Yang R, Yutzy W H t, Viscidi R P and Roden R B. Interaction of L2 with beta-actin directs intracellular transport of papillomavirus and infection. *J Biol Chem* 278: 12546-12553, 2003.
- 64) Zhu S, Oh H S, Shim M, Sterneck E, Johnson P F and Smart R C. C/EBPbeta modulates the early events of keratinocyte differentiation involving growth arrest and keratin 1 and keratin 10 expression. *Mol Cell Biol* 19: 7181-7190, 1999.
- 65) zur Hausen H. Papillomavirus infections--a major cause of human cancers. *Biochim Biophys Acta* 1288: F55-78, 1996.
- 66) zur Hausen H. Papillomaviruses causing cancer: evasion from host-cell control in early events in carcinogenesis. *J Natl Cancer Inst* 92: 690-698, 2000.

Human Papillomavirus and Cervical Cancer

Tadahito KANDA and Iwao KUKIMOTO

Center for Pathogen Genomics, National Institute of Infectious Diseases

Human papillomavirus (HPV) is a small non-enveloped icosahedral virus with a circular double-stranded DNA genome of 8 kilo base pairs. HPV particles reach and infect the basal cells of the stratified epithelia through small epithelial lesions. In the basal cells the viral DNA is maintained as episomes, which start to replicate when the host cells initiate terminal differentiation. In these differentiating cells the degradation of p53 by the E6 protein and the abrogation of the pRb functions by the E7 protein lead to the reactivation of the DNA synthesis machinery. After virus propagation the host cells usually die. On the other hand, in some of the infected cells, the E6 and E7 genes are integrated on rare occasion into cell DNA. The cell continuously expressing the E6 and E7 proteins from the integrated genes is immortalized and sometimes acquires malignant phenotype induced by the accumulated damages to DNA. Of more than 100 HPV genotypes recorded to date, 13 including types 16 and 18 are associated with cervical cancer. Expression of HPV major capsid protein L1 in some cultured cells results in production of virus-like particles (VLPs). The VLPs of types 6, 11, 16, and 18 were used as a prophylactic vaccine in recent clinical trials and shown to successfully induce type-specific neutralizing antibodies in the recipients.