

3. 皮膚分化とヒトパピローマウイルス

佐塚 文乃, 酒井 博幸

京都大学 ウイルス研究所 がん遺伝子研究分野

パピローマウイルスは上皮組織に感染し腫瘍を形成する病原ウイルスであり、動物モデルを用いて「ウイルス発がん」を再現した最初のウイルスである。ヒトを宿主とする HPV に関しては zur Hausen によって子宮頸癌発症との関連が示されて以来、多くの上皮系悪性腫瘍に関与していることが示されている。このような病原性を持つ HPV は性交渉感染症として広く蔓延しており、近年では子宮頸癌発症時期の若年齢化が問題となっている。これまでの HPV 研究は主にその発癌との関連に注目して進められており、その成果は p53 や pRb などの機能、ユビキチン-プロテアソーム経路の解明に大きく寄与してきた。それに対して HPV のウイルスとしての性状は、その臨床的な重要性にも関わらず、パピローマウイルスの発見から 80 年近くたった現在もほとんど解明されていない。このような HPV 研究の進展に対する障りは、ウイルスの生活環が感染標的である上皮系細胞の分化プログラムと密接に結びついているという特徴が故である。この特徴のため通常の単層培養条件下では HPV の複製を観察することができず、得られる知見も限られてくる。そこで、問題解決にあたり現在様々な手法を用いた HPV の生活環や遺伝子機能の解析が行われている。ここでは HPV の遺伝子機能や、その発現調節メカニズム、さらにウイルスの複製様式について概説できたらと思う。

はじめに

ヒトパピローマウイルス (human papillomavirus ; HPV と略) は、皮膚や粘膜の上皮系細胞に特異的に感染し、局所性の過形成を引き起こす病原ウイルスである。HPV により誘起される疾患は、その大部分が疣贅やコンジローマなどの良性腫瘍であり、多くの場合免疫機構により自然排除されてしまう。しかし自然排除を逃れた high-risk 型 HPV は腫瘍を形成することがあり、その一部は悪性化し、癌へと進行することもある¹⁰⁾。HPV との関連が指摘されている癌には、子宮頸癌などの生殖器癌、肛門癌、一部の口腔癌、咽頭部癌²²⁾、皮膚癌¹⁵⁾などが報告されている。

HPV は感染部位の指向性から皮膚型と粘膜型に大別されており、粘膜型 HPV については癌発症率との相関よりさらに high-risk 型 (HPV16, 18, 31, 33 など) と low-risk 型 (HPV6, 11, 40, 42 など) に分類されている³³⁾。子宮頸癌に関しては、組織の 90% 以上から HPV16 型, 18 型, 31 型, 33 型などの high-risk 型 HPV の DNA が検出されており、現在までの疫学的、分子生物学的研究より HPV 感染は子宮頸癌のリスクファクターと考えられている²⁹⁾。

このように HPV は子宮頸癌など、ヒトの癌発症との関連考えると非常に研究テーマとして重要である。しかし、HPV 発見後半世紀を過ぎた今もその詳細な感染メカニズムはわかっていない。その原因は偏に HPV が有する『特異的な感染メカニズム』に起因すると考えられている。本稿では HPV 特異的な感染メカニズム、特に転写・複製制御に焦点を当てることにする。

連絡先

〒606-8507 京都府京都市左京区聖護院川原町 53
 京都大学 ウイルス研究所 がん遺伝子研究分野
 TEL : 075-751-3996
 FAX : 075-751-4010
 E-mail: asatsuka@virus.kyoto-u.ac.jp,
 hsakai@virus.kyoto-u.ac.jp

1. HPV のライフサイクル

HPV が標的とする皮膚や粘膜といった上皮系細胞は、ケラチノサイト (角化細胞) が層状に積み重なった構造を形成している。層状構造の最下層に存在する基底細胞は前駆細胞として分裂能を有するが、細胞分裂により基底層を離れた娘細胞は分裂能を失い、段階的に上層へ移動しながら

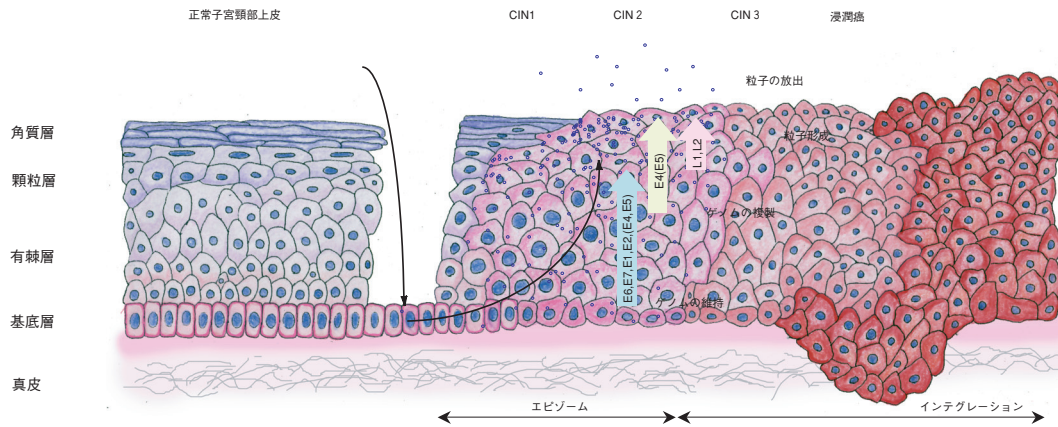


図1 表皮分化とHPV ライフサイクル

HPVは表皮や粘膜の微小な傷から侵入し、基底細胞に感染する。感染したHPVは、核へと移行し、核内エピソードとして維持される。基底細胞は上皮の極性と分化プログラムに基づき、上下方向に2分裂する。このときHPVゲノムも宿主の複製機構に同調して複製され、娘細胞へと分配される。分配された娘細胞中のHPVゲノムの複製、各遺伝子の発現は細胞の分化プログラムに綿密に制御されている。上皮の下層では初期プロモーター（HPV16: p97）が活性化しており、E6, E7などの非構造タンパクが発現している（水色↑）。E4は顆粒層から上層での発現が認められる（黄色↑）。キャプシドタンパクL1, L2は、最終分化した細胞でのみ合成される（桃色↑）。分化段階におけるHPVゲノムの複製は上層へ進むにつれ増大する（白▽左）。粒子形成はL1, L2の発現が起こる層より増大する（白▽右）。形成されたウイルス粒子は、表皮の脱落とともに放出され、別個体へと感染する。

左は正常子宮頸部上皮。右はHPV感染癌組織。図では傷口からHPVが進入・感染し右へ進むにつれ、悪性化が進行する様子を表す。

分化を進めていく。その後最終分化を遂げた上皮娘細胞は脱核後、角質化し、表層より順々に剥離される²⁹⁾。

HPVはこのような層状構造を有する皮膚や粘膜に特異的に感染する（図1）。HPVの感染はまず性行為などにより生じた皮膚や粘膜の微小な傷から侵入することから始まる。傷より侵入したHPVは上皮の最下層にある基底細胞へ特異的に感染し、細胞内に取り込まれる。このとき、基底細胞を標的として選択する分子機構はHPVのキャプシド蛋白と細胞表面のヘパラン硫酸の結合²¹⁾などが報告されているが、詳細な機構は明らかにされていない。細胞内に取り込まれたHPVは、その後カペオリン依存的に核へ運ばれ、低レベルのゲノムDNA複製を開始する。この複製によりHPV感染細胞はエピソード状のウイルスゲノムを20-50コピー程度保持した潜伏感染状態となる³²⁾。このような潜伏感染細胞ではHPVの複製や遺伝子発現は低レベルに制御されており、HPVは細胞に傷害を与えることも宿主の免疫機構に認識されることもない。そのため、いったん生じた感染細胞は排除されることなく長期にわたり基底細胞内に維持し続けることができる。このことはHPVが長く宿主と共存するための生存戦略であると考えられる。しかしながら、HPVが感染細胞内で潜伏感染状態を維持する機構は不明である。

HPVは宿主のDNA複製機構を利用し、宿主DNAと同調して複製される。そのため、HPVゲノムは基底細胞が分

裂する際に娘細胞へ分配される。HPVが分配された娘細胞は基底細胞の分裂に伴い、娘細胞は表皮上層部へ押し上げられるように移動し、それと同調するように細胞分化が進行する。このときHPVの遺伝子発現は宿主細胞の分化状態に依存しており、上皮組織の各分化層で遺伝子発現パターンおよびDNA複製量は異なる。一般に表層に向かうほどHPVのゲノム複製量は増加傾向をたどり、最表層付近ではキャプシド蛋白の発現が誘導される。HPVゲノムはこのキャプシド蛋白に取り囲まれることでウイルス粒子を形成し、形成されたウイルス粒子は表皮の脱落と共に体外へ放出される。外界に放出されたHPVは皮膚や粘膜といった上皮組織を標的とするため、個体間の感染も比較的容易である²⁹⁾。

このように、HPVは宿主のプログラムを巧妙に利用した複製様式をとっており、研究対象として大変面白いウイルスである。しかし、このような特有のライフサイクルを有するため、単層培養系では、実際のヒトの感染細胞でのウイルスの動態や感染部位の病理現象を追うことはできない。そこで近年ではより生体内に近い動向を探るため、細胞の分化を再現した高カルシウム培地⁶⁾やセミソリッド（メチルセルロース）培地²³⁾、あるいは3次元皮膚モデル培養系¹⁶⁾を（図2）用いたHPVのライフサイクルの解析が行われている。以下にHPVの遺伝子機能の概略と、細胞分化に応じたHPV複製調節機構に関する知見を記すことにする。

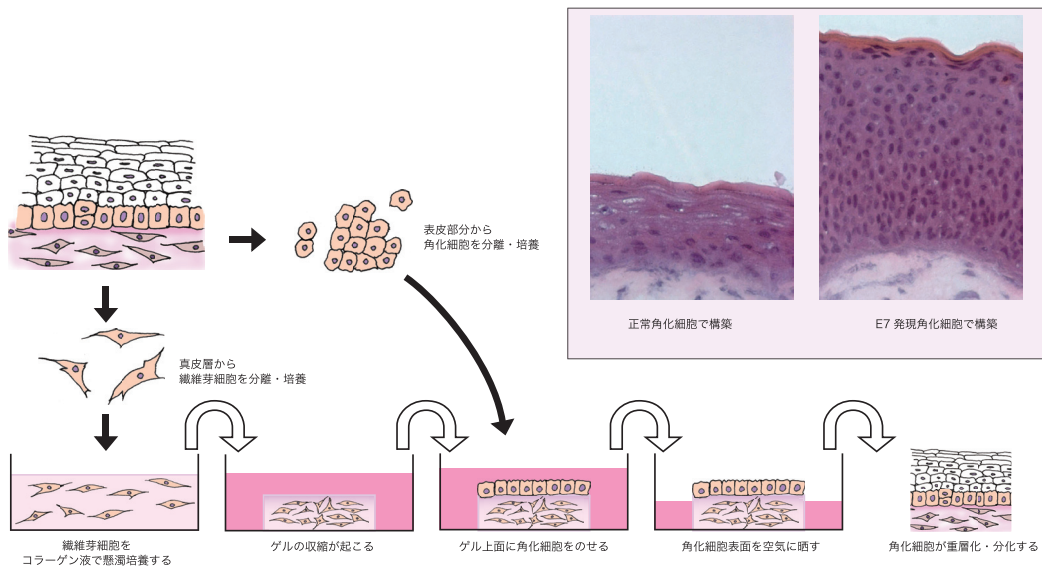


図2 3次元皮膚モデル培養系

①上皮組織の表皮層より角化細胞，真皮層より繊維芽細胞をそれぞれ分離・培養する．②繊維芽細胞をコラーゲンゲルに懸濁し，ゲルの収縮が起こるまで培養する．③十分な収縮を確認後，コラーゲンゲルの上面に角化細胞を重層する．④角化細胞を空気に晒し，培養する．⑤数日後，角化細胞が重層化し，元の上皮組織同様にの分化した皮膚モデルが得られる．

図の右上部分に，正常角化細胞を用いて得られた皮膚モデルの超薄切片をヘマトキシリン-エオジンで染色したものと，E7発現角化細胞を用いたものを示した．E7の発現により強い過形成が誘導されている様子がよく分かる．

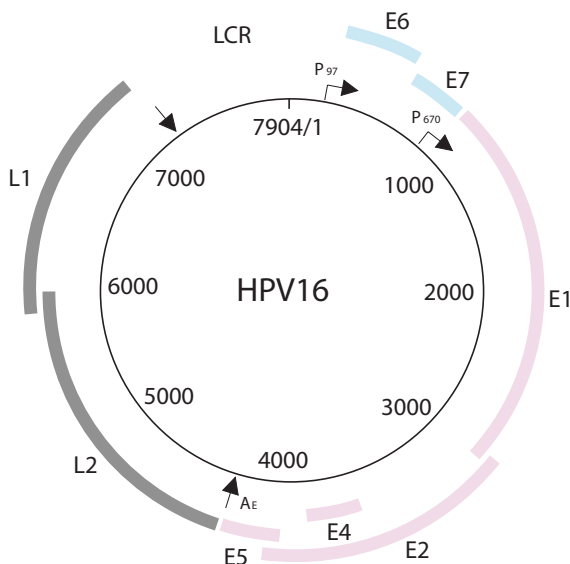


図3 HPV16のゲノム構造

HPVゲノムは2本鎖環状構造をとる．HPVの遺伝子をコードするORFは2本鎖DNAのうち片側の鎖のみに存在する．HPV16ゲノムには非構造遺伝子（E1, E2, E4, E5, E6, E7）と構造遺伝子（L1, L2）と転写調節領域（long control region; LCR）が存在する．LCRには複製開始点，初期プロモーター（p97）およびそれらの調節領域が存在する．E7内には後期プロモーター（p670）が存在する．

2. HPVがコードする遺伝子とその機能

HPVはエンベロープを持たない小型のウイルスで，粒子は50-55nmの正二十面体である．キャプシド内に保持されるゲノムは8000bpの二本鎖環状DNAで，open reading frame (ORF)はゲノムの片側のDNA鎖にのみコードされていると考えられている．HPVゲノムがコードするORFには6つの非構造遺伝子（E1, E2, E4, E5, E6, E7）と2つの構造遺伝子（L1, L2）があり，さらに調節領域としてlong control region (LCR)がある（図3）⁸⁾．細胞分化特異的な制御を受けるHPVのライフサイクルは，これら6つの非構造遺伝子とその発現調節領域の機能が非常に重要である．以下それぞれの機能に関して簡単に記すことにする．

非構造タンパク質であるE1, E2はウイルスゲノムの複製および転写調節に関与することが知られている．E1はDNAヘリカーゼ活性やATPase活性，DNA結合能を持ち，HPVゲノムの複製開始に関与している．E2はDNA結合能を有する転写活性化因子で，ウイルス遺伝子の発現調節に関与している．一般にはトランスアクチベーターとして働くが，プロモーターのコンテキストによってはリプレッサーとしても機能することが知られており，E6やE7の発現を負に制御しているという報告もある^{20, 27)}．E2はE1と相互作用することが知られており，その機能を利用して，E1をDNA複製起点にリクルートし，HPVゲノムの複製開

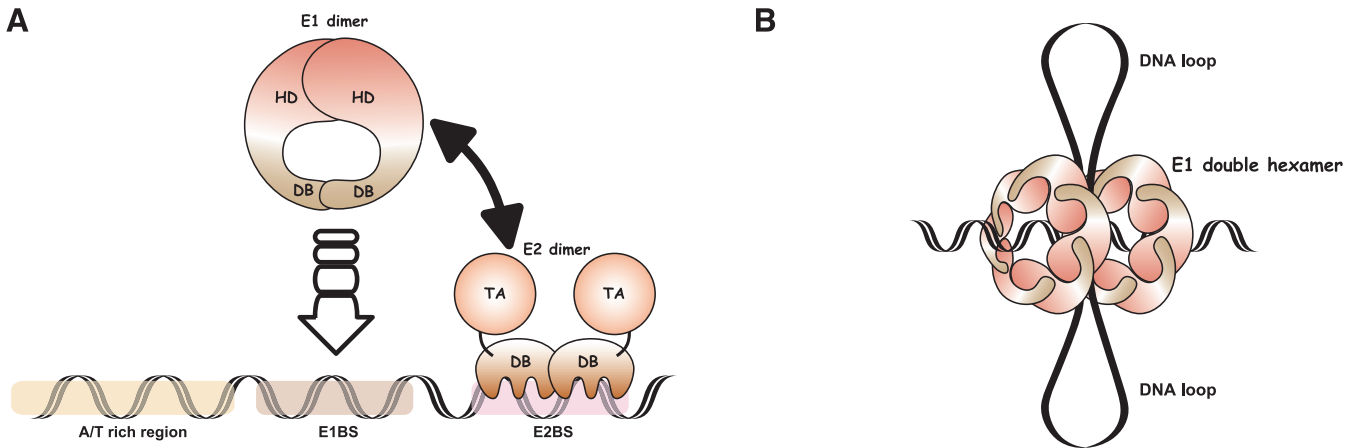


図4 HPVの複製調節モデル

(A) HPVのE1はDNAヘリカーゼ活性やATPase活性、DNA結合能を持っており、ウイルス複製に関与する。しかし、E1はDNAの結合特異性が低いため、E2を介したDNAへの結合モデルが考えられている。図に示したものは、HPVのE2がLCR領域にあるE2結合部位(E2BS)へ結合した後、E2がE1とのタンパク間相互作用を介して、E1をLCR上の複製開始点(ori)近傍の結合部位(E1BS)にリクルートするモデルである。

(B) E1はori領域にリクルートされてヘリカーゼ活性を示すときには、単独で6量体(hexamer)を形成し、double hexamerとしてその間に一本鎖DNAをループアウトさせるというモデルが提唱されている。

始にも関与している(図4)。

E4, E5に関しては詳細な機能はわかっていないが、E4は細胞骨格のひとつであるサイトケラチンネットワークの崩壊への関与が知られているほか⁴⁾、筆者らはG2/M期でcell cycle arrestを誘導する機能も報告している¹⁸⁾。E5はDNA合成誘導や形質転換に関わるため、細胞癌化への関与が示唆されている。特にウシ型のhigh-riskパピローマウイルスでは、E5が主要な発癌誘導因子と考えられている¹⁷⁾。しかしこれらの活性のウイルス複製における役割はわかっていない。

E6, E7はHPV感染によって引き起こされる発癌の主要責任因子と捉えられており、high-risk型HPVとして代表的なHPV16では、E6, E7はそれぞれp53, pRbと相互作用することが知られている^{5, 11, 25)}。E6はp53の分解を促進し、p53経路を不活化することでアポトーシスやセネッセンスといった細胞がもつ異常細胞除去機構を阻害する。またE6にはp53以外の標的タンパクも報告されている。一方、E7はpRbと結合、分解することで、転写因子E2Fを遊離させる。これにより感染細胞はS期へ向かい、宿主DNAの複製と同時にHPVゲノムの複製は活性化される。high-risk型とlow-risk型のE7でRbとの結合力に差はあるが、全ての型のE7がRbと結合することが報告されている²⁶⁾。E7もE6と同様にpRb以外の数多くの蛋白と結合することが報告されており¹⁹⁾、そのひとつとして最近ではポケットプロテインファミリーであるp130との結合が上皮の過形成誘導に必要であるという報告もある^{28, 30)}。なお、E6, E7の詳細については、この巻に掲載されている

清野先生の総説を参照していただきたい。

構造遺伝子であるL1, L2はキャプシドタンパクとして機能しており、ウイルス粒子構造の形成に必須である。キャプシドはL1より成る72個のカプソマーで形成されており、そこに12個のL2が組み込まれた構造をとる。L2のN末部分は内部のウイルスDNAと結合し、ウイルスDNAを内部に保持している。主要なキャプシド蛋白であるL1は単独に、in vitroでウイルス様粒子(VLP)を形成することができる¹⁰⁾。そこで近年、L1によって構成されたVLPを用いたHPVワクチンが開発されている。しかしL1はHPVの型特異性が高く、広範囲なHPVに対するワクチンとしては問題が残る。そこで型間で共通部位のあるL2を利用したVLPワクチンの開発が望まれている。

3. 細胞の分化に依存したHPV遺伝子の発現制御とウイルスゲノムの複製

HPVがコードする遺伝子の発現はLCR領域に制御されており、この領域に結合する宿主転写因子により正負に調節されている。HPV16は2つのプロモーターを持ち、LCR領域の3'末にp97が、E7 ORF領域内にp670が同定されている。p97からはE1, E2, E6, E7, (E4, E5)が、p670からL1, L2, E4, (E5)が発現されると考えられている(図5)。皮膚の分化段階初期(基底層-有棘層)ではp97が機能しているが、感染した基底細胞は潜伏感染の状態にあり、そのプロモーター活性は非常に弱い。細胞の分化とともにp97の活性の亢進が起り、最終分化状態に近づくとp670が活性化される。このように2つのプロモーターは細胞の分

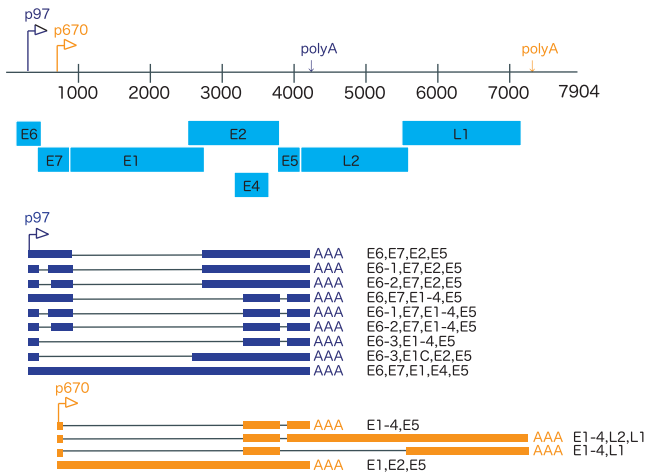


図5 HPV16の転写産物

初期プロモーター (p97) より転写されるとされる mRNA (青), 後期プロモーター (p670) より転写されるとされる mRNA (橙) を示す. 一般に初期プロモーターからは E1, E2, E6, E7 が, 後期プロモーターからは E4, L1, L2 がポリシストロニックに転写されると考えられているが, E4, E5 についての詳細は不明である. 2つの Poly (A) 付加領域があり, p97 からの転写産物は E5 下流の, p670 からの転写産物は L1 下流のシグナルを用いて Poly (A) が付加される. なお 3 側の ORF からのタンパク合成は確認されていない.

化に依存して制御されており, 前者を初期プロモーター, 後者を後期プロモーターと呼ぶ. これらのプロモーターの活性制御は, プロモーターも含めた周辺領域への宿主側の転写因子の結合パターンが細胞の分化に応じて変化するた

めと考えられている¹⁰⁾.

LCR に結合する宿主の転写因子はいくつか報告されており, NF1, AP1, GR/PR, PEF1, TEF1 など, 結合することで活性方向へ, Oct-1, p53, retinoic acid receptor, C/EBP β , YY1, PSM などは非活性の方向へ転写を制御することが知られている (図 6)^{2, 14)}. また上皮細胞特異的なエンハンサーとして, keratinocyte specific enhancer (KE) が報告されているが, この領域に結合する上皮特異的な転写因子は特定されておらず, KE は様々な転写因子の相互作用により調節されていると考えられている. 以下, HPV のライフサイクルに沿って, HPV の複製, および遺伝子発現制御について皮膚の分化段階ごとに記すことにする.

～分化組織下層～

基底層や有棘細胞層ではまず HPV ゲノムの複製に必要な E1, E2 が低レベルに発現する. 先に記したように E1 は複製の開始に必要なものであるが, 複製起点 (ori) へ結合するには E1 単独では不十分で, ウイルスの転写因子である E2 が必要とされている⁷⁾. HPV の複製時には, E2 が ori 近傍に結合し, 結合した E2 が E1 と相互作用することで, E1 を DNA 結合領域 (E1BS) へリクルートすると考えられている (図 4). 先に述べたように E2 はトランスアクチベーターとして働くことが出来るが, 潜伏感染状態での転写因子としての働きはよく分かっていない.

HPV ゲノムが複製するには宿主の DNA ポリメラーゼなどの DNA 複製装置が必要である. しかし基底層を離れた娘細胞はすでに細胞周期から離脱した状態にあり, 宿主の DNA 複製機構は部分的にしか利用できない. そこでウイルスは, 分化した細胞で DNA 合成を再活性化するような機

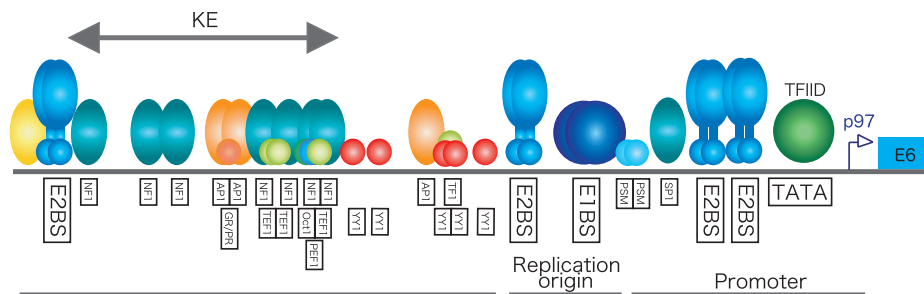


図6 HPV16のLCR構造(初期プロモーター p97 制御モデル)

転写調節領域 LCR には初期プロモーター (p97), 複製開始点があり, 多くの転写因子により調節を受ける. P97 の活性化は AP-1, NF1, SP1, TFIID, TF1, Oct-1, PSM といった転写因子により制御されており, LCR にはこれらの転写因子が結合する特異的配列が存在する. また HPV が産生する E2 自身によっても転写調節をうけており, LCR 内には E2 結合部位 (E2BS) が 4 つ存在する. これらの転写因子の結合は上皮の分化プログラムに依存している. また, LCR 内には分化特異的に調節をうける keratinocyte specific enhancer (KE) 領域やホルモン感受性領域である GR/PR (グルココルチコイドレセプター/プロゲステロンレセプター) 結合領域も存在する. ケラチノサイト調節領域は, 16 型では推定領域が示されており NF1 の支配を受けているという報告があるが, 種々の転写因子の相乗的作用とも考えられている. また GR/PR 結合領域はホルモンの調節をうけることで活性化されるという報告があるが, 筆者らは抑制されるという DATA を得ており, この領域の活性化制御は不明である. さらに LCR には転写制御のみならず複製開始点が存在し, E1 結合領域 (E1BS) が存在する.

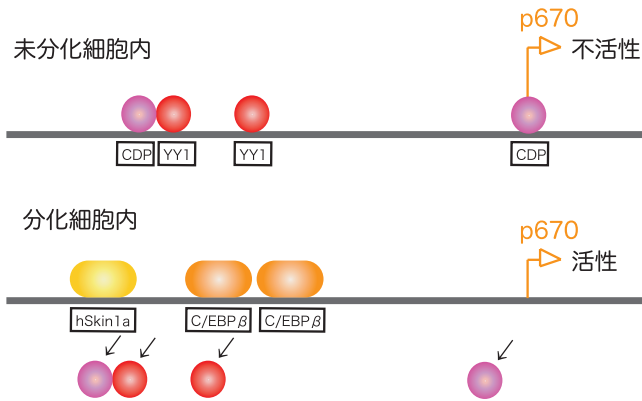


図7 HPV16 後期プロモーター 制御モデル

未分化な基底細胞では、p670の活性化調節領域へのCDP, YY1の結合により、後期プロモーター活性は負に制御されている。感染細胞が上皮の分化プログラムにより分化を遂げると、分化促進転写因子であるhSkn-1aがYY1と置き換わる。またC/EBP β による転写の亢進も認められるようになる。さらに分化の最終過程では、CDPによる抑制が解除され、後期プロモーターは活性化されると考えられている。

構を有すると考えられている。この機能は主にE7によって担われている。初期プロモーターであるp97から低レベルで発現しているE7は、pRbに支配されている細胞周期の制御機構を破綻させることで、娘細胞のDNA複製機構を再活性化する。またE7はPCNAなどのDNA複製に関与する因子を誘導することも知られている。実際E7を欠損したHPV16は上皮細胞内でウイルスゲノムを効率よく複製できない。E7はこのように細胞周期の停止を解除することで、娘細胞の分化の進行も阻害している¹⁰⁾。

～分化組織中層から角質化細胞層～

細胞の分化が進み有棘細胞の中層から上層へ向かうとp97の活性亢進によりE1, E2の発現量が上昇し、それに伴ってHPVゲノムの複製も活性化される。この際、E6, E7の発現量も増加していると考えられており、E6, E7によるアポトーシスの抑制や細胞周期の崩壊が、細胞分化の抑制とともに、良性の腫瘍形成に寄与していると想定される¹⁷⁾。

HPVの後期プロモーターの十分な活性化やウイルス粒子の形成には、上皮細胞の終末分化が必要である。E6やE7の発現はその終末分化を阻害するので、おそらく上皮表層部ではE2によるE6/E7の発現抑制が起こるのではないかと考えられている。細胞分化に伴う後期プロモーター、p670の活性化制御は、p670近傍へのhSkn-1aとC/EBP β の結合が報告されている(図7)^{1, 13, 24)}。これらの転写因子は細胞の分化とともに発現量が制御されており、hSkn-1aは基底層での発現は見られず⁹⁾、C/EBP β は低レベル

の発現であるが³¹⁾、細胞の分化と共に発現量が増大する。特にC/EBP β は上皮細胞の分化マーカーであるケラチン10(K10)の発現誘導や³¹⁾、SWI/SNFとの結合も報告されており^{3, 12)}、HPVの後期プロモーター領域のクロマチン構造の変換に関与している可能性もある。また未分化な状態ではp670を負に制御しているCDP(CCAAT displacement protein)が細胞の分化に応じて不活化するという報告や²⁴⁾、p97におけるLCR領域の活性が負に制御されているという報告もある。LCR領域の負の転写制御は転写活性化因子であるSp1と、そのアンタゴニストであるSp3の存在比が細胞分化に応じて変化することの他、AP1の構成成分の変化が関与するためと考えられている。このように上皮表層では活性化されたp670からキャプシドタンパクであるL1, L2が大量に発現し、ウイルス粒子の形成がおこる。終末分化した角質化細胞内にはこうしてできたHPVのウイルス粒子が無数に存在している。

また最終分化層ではE4の発現も亢進しており、E4によるサイトケラチン中間系フィラメントの崩壊が報告されている⁴⁾。HPV感染におけるE4によるフィラメント崩壊の役割はまだわかっていないが、おそらくウイルスを細胞外に放出する際に、細胞構造を不安定にする機能があるのではないかと考えられている。もちろんこれ以外にもE4は何らかの機能を有していると思われる。

こうして形成されたHPV粒子は、角質化した細胞の脱落とともに外界へ放出され、他の個体へ伝播していく。low-risk型HPV感染による良性腫瘍やhigh-risk型HPV感染組織の前癌病変では、このような宿主の細胞分化と結びついたウイルスのライフサイクルが成立していると考えられている²⁹⁾。

4. 感染後期とHPVによる過形成誘導機構

上記のようにHPVは、宿主の分化・複製機構を利用することで戦略的に増殖するウイルスであり、宿主のDNA複製機構を活性化することはウイルスにとって必須である。しかしながらその結果として上皮の過形成を誘導し、こうして増殖性が亢進した細胞では、遺伝子変異などの要因を蓄積しながら癌化の道をたどる。悪性化した腫瘍細胞においては、HPVゲノムはE2領域を欠損した状態で宿主DNAに組み込まれていることが多い。この組み込みにより、HPVはウイルスとしては複製不能となるが、E2の欠失によりE6/E7の発現に対する負の制御が失われるため、これらの癌遺伝子の発現が異常に亢進することになる。そのため細胞周期の制御が崩れ、ゲノム不安定性も誘導される。HPV感染細胞は、これらの過程が複雑に入り組むことで、癌化へと押し進められている¹⁰⁾。なおHPVゲノムが宿主染色体に組み込まれる点に関して、組み込みが先か、癌化が先かはわかっていない。しかし感染部位におけるHPVゲノムの組み込みは、悪性転換の指標として重要である¹⁷⁾。

おわりに

HPVは性行為を介して皮膚の上皮に感染し、持続感染、潜伏感染をしながら体内で密かに増殖するウイルスである。増殖も極めて低レベルでおこるため免疫系に認識されない。また表皮感染という特異性のため、他の個体への感染も容易におこる。このような戦略によりHPVは人と共生しながら、広く社会に蔓延しようという生存方法を勝ち得てきた。しかしHPVのライフサイクルに関しては未だ未知の部分が多く残されている。これまでのHPV研究は、発癌研究の重要性から、発癌誘導因子であるhigh-risk型HPVのE6, E7による形質転換や不死化に関わる解析が中心となっていた。しかしながら、HPVの半数以上の型を占めるlow-risk型HPVに関しては、E6, E7に限ってもその機能が明らかにされていない。HPVの複製を考えると、HPV感染によりもたらされる特徴である癌化は、決してウイルスが意図した結果ではなく、自身の増殖を誘導するための副次的な結果である。子宮頸癌など、HPVの感染による疾病の対策を立てるにはHPVの性質をよりよく理解することが必要であり、今後はlow-risk型HPVやhigh-risk型HPV感染による前癌組織でのウイルスライフサイクルの解析が重要であると考えられる。

参考文献

- 1) Ai, W., E. Toussaint, and A. Roman. CCAAT displacement protein binds to and negatively regulates human papillomavirus type 6 E6, E7, and E1 promoters. *J Virol* 73:4220-9, 1999.
- 2) Bauknecht, T., R. H. See, and Y. Shi. A novel C/EBP beta-YY1 complex controls the cell-type-specific activity of the human papillomavirus type 18 upstream regulatory region. *J Virol* 70:7695-705, 1996.
- 3) del Mar Pena, L. M., and L. A. Laimins. Differentiation-dependent chromatin rearrangement coincides with activation of human papillomavirus type 31 late gene expression. *J Virol* 75:10005-13, 2001.
- 4) Doorbar, J., S. Ely, J. Sterling, C. McLean, and L. Crawford. Specific interaction between HPV-16 E1-E4 and cytokeratins results in collapse of the epithelial cell intermediate filament network. *Nature* 352:824-7, 1991.
- 5) Dyson, N., P. M. Howley, K. Munger, and E. Harlow. The human papilloma virus-16 E7 oncoprotein is able to bind to the retinoblastoma gene product. *Science* 243:934-7, 1989.
- 6) Flores, E. R., and P. F. Lambert. Evidence for a switch in the mode of human papillomavirus type 16 DNA replication during the viral life cycle. *J Virol* 71:7167-79, 1997.
- 7) Frattini, M. G., and L. A. Laimins. 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* 91:12398-402, 1994.
- 8) Hebner, C. M., and L. A. Laimins. Human papillomaviruses: basic mechanisms of pathogenesis and oncogenicity. *Rev Med Virol* 16:83-97, 2006.
- 9) Hildesheim, J., U. Kuhn, C. L. Yee, R. A. Foster, K. B. Yancey, and J. C. Vogel. The hSkn-1a POU transcription factor enhances epidermal stratification by promoting keratinocyte proliferation. *J Cell Sci* 114:1913-23, 2001.
- 10) Howley, P. M., and D. R. Lowy. Papillomavirus and their replication, p 2299-2354. *In* D. M. Knipe and P. M. Howley (ed.), *Field Virology*, 5ef, vol. 2. Lippincott Williams & Wilkins, Hagerstown, 2007.
- 11) Huibregtse, J. M., M. Scheffner, and P. M. Howley. A cellular protein mediates association of p53 with the E6 oncoprotein of human papillomavirus types 16 or 18. *Embo J* 10:4129-35, 1991.
- 12) Kowenz-Leutz, E., and A. Leutz. A C/EBP beta isoform recruits the SWI/SNF complex to activate myeloid genes. *Mol Cell* 4:735-43, 1999.
- 13) Kukimoto, I., and T. Kanda. Displacement of YY1 by differentiation-specific transcription factor hSkn-1a activates the P(670) promoter of human papillomavirus type 16. *J Virol* 75:9302-11, 2001.
- 14) Kyo, S., D. J. Klumpp, M. Inoue, T. Kanaya, and L. A. Laimins. Expression of AP1 during cellular differentiation determines human papillomavirus E6/E7 expression in stratified epithelial cells. *J Gen Virol* 78 (Pt 2):401-11, 1997.
- 15) Majewski, S., and S. Jablonska. Possible involvement of epidermodysplasia verruciformis human papillomaviruses in the immunopathogenesis of psoriasis: a proposed hypothesis. *Exp Dermatol* 12:721-8, 2003.
- 16) Meyers, C., M. G. Frattini, J. B. Hudson, and L. A. Laimins. Biosynthesis of human papillomavirus from a continuous cell line upon epithelial differentiation. *Science* 257:971-3, 1992.
- 17) Munger, K., and P. M. Howley. Human papillomavirus immortalization and transformation functions. *Virus Res* 89:213-28, 2002.
- 18) Nakahara, T., A. Nishimura, M. Tanaka, T. Ueno, A. Ishimoto, and H. Sakai. Modulation of the cell division cycle by human papillomavirus type 18 E4. *J Virol* 76:10914-20, 2002.
- 19) Narisawa-Saito, M., and T. Kiyono. Basic mechanisms of high-risk human papillomavirus-induced carcinogenesis: roles of E6 and E7 proteins. *Cancer Sci* 98:1505-11, 2007.
- 20) Nishimura, A., T. Ono, A. Ishimoto, J. J. Dowhanick, M. A. Frizzell, P. M. Howley, and H. Sakai. Mechanisms of human papillomavirus E2-mediated repression of viral oncogene expression and cervical cancer cell growth inhibition. *J Virol* 74:3752-60, 2000.
- 21) Patterson, N. A., J. L. Smith, and M. A. Ozbun. Human papillomavirus type 31b infection of human keratinocytes does not require heparan sulfate. *J Virol* 79:6838-47, 2005.
- 22) Paz, I. B., N. Cook, T. Odom-Maryon, Y. Xie, and S. P. Wilczynski. Human papillomavirus (HPV) in head and neck cancer. An association of HPV 16 with squamous

- cell carcinoma of Waldeyer's tonsillar ring. *Cancer* 79:595-604, 1997.
- 23) Ruesch, M. N., and L. A. Laimins. Human papillomavirus oncoproteins alter differentiation-dependent cell cycle exit on suspension in semisolid medium. *Virology* 250:19-29, 1998.
 - 24) Sato, K., T. Takeuchi, I. Kukimoto, S. Mori, T. Yasugi, T. Yano, Y. Taketani, and T. Kanda. Human papillomavirus type 16 P670 promoter is negatively regulated by CCAAT displacement protein. *Virus Genes* 35:473-81, 2007.
 - 25) Scheffner, M., B. A. Werness, J. M. Huibregtse, A. J. Levine, and P. M. Howley. The E6 oncoprotein encoded by human papillomavirus types 16 and 18 promotes the degradation of p53. *Cell* 63:1129-36, 1990.
 - 26) Schmitt, A., J. B. Harry, B. Rapp, F. O. Wettstein, and T. Iftner. Comparison of the properties of the E6 and E7 genes of low- and high-risk cutaneous papillomaviruses reveals strongly transforming and high Rb-binding activity for the E7 protein of the low-risk human papillomavirus type 1. *J Virol* 68:7051-9, 1994.
 - 27) Tan, S. H., L. E. Leong, P. A. Walker, and H. U. Bernard. The human papillomavirus type 16 E2 transcription factor binds with low cooperativity to two flanking sites and represses the E6 promoter through displacement of Sp1 and TFIID. *J Virol* 68:6411-20, 1994.
 - 28) Ueno, T., K. Sasaki, S. Yoshida, N. Kajitani, A. Satsuka, H. Nakamura, and H. Sakai. Molecular mechanisms of hyperplasia induction by human papillomavirus E7. *Oncogene* 25:4155-64, 2006.
 - 29) Woodman, C. B., S. I. Collins, and L. S. Young. The natural history of cervical HPV infection: unresolved issues. *Nat Rev Cancer* 7:11-22, 2007.
 - 30) Yoshida, S., N. Kajitani, A. Satsuka, H. Nakamura, and H. Sakai. Ras modifies proliferation and invasiveness of cells expressing human papillomavirus oncoproteins. *J Virol* 82:8820-7, 2008.
 - 31) Zhu, S., H. S. Oh, M. Shim, E. Sterneck, P. F. Johnson, and R. C. Smart. C/EBPbeta modulates the early events of keratinocyte differentiation involving growth arrest and keratin 1 and keratin 10 expression. *Mol Cell Biol* 19:7181-90, 1999.
 - 32) zur Hausen, H. Papillomavirus infections--a major cause of human cancers. *Biochim Biophys Acta* 1288:F55-78, 1996.
 - 33) zur Hausen, H., and E. M. de Villiers. Human papillomaviruses. *Annu Rev Microbiol* 48:427-47, 1994.

The lifecycle of HPV governed by the differentiation program of epithelial cell"

Ayano SATSUKA and Hiroyuki SAKAI

Lab. Gene Anal., Dept. Viral Oncol.

Inst. Virus Res., Kyoto Univ.

Sakyo-ku, Kyoto 606-8507, Japan

e-mail: asatsuka@virus.kyoto-u.ac.jp, hsakai@virus.kyoto-u.ac.jp

Papillomavirus is a pathogenic virus that induces benign tumor at the infected lesion, and its association with malignant tumor was first identified by R. Shope using animal model. A variety of cancers have been reported to be associated with the infection of human papillomavirus since the report by H. zur Hausen that describes a connection between the HPV infection and cervical cancer. The HPV infection is broadly distributed as a sexually transmitted disease (STD) and recently the initial age diagnosed as the cervical cancer is getting lowered. Because of its clinical importance, the study on HPV has been focused on the oncogenic properties, and the results of which had great impacts on the researches of the tumor suppressors, such as p53 and pRb, and "ubiquitin-proteasome" pathway. On the other hand, the biological properties of HPV remain mostly disclosed. The lifecycle of HPV is tightly linked to the differentiation program of the target epithelial cell, and this unique property has hampered the study on the HPV replication mechanism. Here we summarized the findings on the HPV lifecycle, including the virus gene functions, the regulation of viral gene expression and replication.