

---

**総 説**

---

**子宮頸癌の分子生物学的発生機序**

吉本賢史\*, 徳田葵\*\*, 柳沼裕二\*\*\*

**Molecular carcinogenesis of cervical cancer**

Masafumi Yoshimoto\*, Aoi Tokuda\*\*, Yuji Yaginuma\*\*\*

**Key words:** cervical, cancer, HPV, carcinogenesis, genetics

受付日 2015 年 10 月 25 日 採択日 2016 年 1 月 5 日

\*熊本大学大学院保健学教育部 \*\*熊本大学医学部保健学科検査技術科学専攻

\*\*\*熊本大学大学院生命科学研究部 構造機能解析学

投稿責任者: 柳沼裕二 yaginuma@kumamoto-u.ac.jp

**I. はじめに**

子宮頸癌は、HPV (Human Papilloma Virus) 感染により生じる疾患で、全世界で毎年約 53 万人が診断され、約 27 万人が死亡している (WHO; <http://www.who.int/hpvcentre/en/>)。近年、先進国ではパピニコロウスクリーニングの施行により子宮頸癌の比較的早期の段階で診断ができ、それに加えて HPV に対するワクチン接種の普及により子宮頸癌は年々減少傾向にあるが、発展途上国ではスクリーニングやワクチン接種が確立されておらず死亡者数が増加しているのが現状である。そのため子宮頸癌は女性の癌による死亡原因の第二位となっている<sup>1)</sup>。日本では、初交の低年齢化による HPV 感染の増加により 20-30 歳の若い女性に子宮頸癌が増加しているため、20 歳以上の女性を対象となり、まず細胞診検査が行われ、異常がある場合にコルポ診及び組織診 (膣拡大鏡を用いて癌ができやすい子宮口付近を観察し、異常が疑われる場合はその部分を生検する)が行われる。さらに HPV ワクチン接種は、2013 年度から定期予防接種の対象となったが、稀に複合性局所疼痛症候群や急性散在性脳脊髄炎等の副作用が報告されている。この副反応とワクチン接種の因果関係を明らかにするため、厚生労働省の新興・再興感染症及び予防接

種政策推進研究事業として研究班が組織され、子宮頸癌ワクチン接種後の神経障害に関する治療法の確立と情報提供についての研究が現在なされているが、我が国の現状では、厚生労働省は子宮頸癌ワクチン接種を積極的に勧めることを中止しているため、ワクチン接種者が激減している。

2008 年にノーベル賞を受賞した Harald zur Hausen 博士は、1983-1984 年に子宮頸癌から HPV16, 18 DNA を検出し、HPV 感染が子宮頸癌を発症させることを明らかにした<sup>2,3,4)</sup>。また 1985 年には、子宮頸癌細胞株および患者検体より HPV E6, E7 の発現が検出された<sup>5)</sup>。さらに子宮頸癌病変の 99% 以上に HPV DNA が検出されるという報告からも HPV と子宮頸癌の密接な関係は明白であるが、宿主細胞の発癌には HPV 感染だけでは不十分で、様々な遺伝子変異や遺伝子配列の変化を伴わない DNA 変化であるエピジェネティックな異常も報告されている<sup>6,7)</sup>。例えば、癌遺伝子では *PIK3CA* (Phosphatidylinositol- 4,5-Bisphosphate 3-Kinase, Catalytic Subunit Alpha) (3q26.3; 43%)、*hTERT* (Telomerase Reverse Transcriptase) (5p15.33; 33%)、*c-myc* (8q24; 25%)、*HER2* (Human Epidermal Growth Factor Receptor 2) (17q21.2; 29%)、*Cyclin D1* (11q13.3; 12%)、*cIAP1* (11q22; 18.5%)の遺伝子増幅や *Ras* (Rat Sarcoma Viral

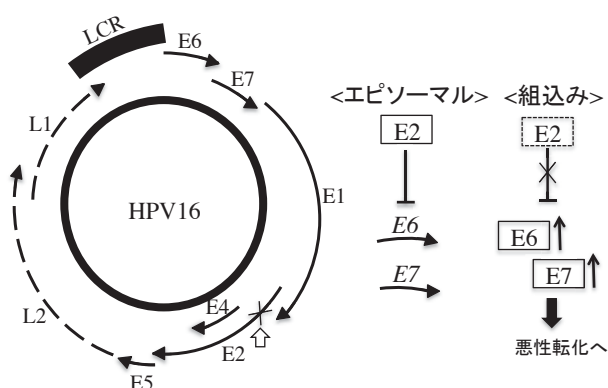


図1 HPVのゲノム構造とE2によるウイルスDNA発現の調節: HPVは環状二本鎖DNA構造で、6つの初期遺伝子(E1, E2, E4, E5, E6, E7)と2つの後期遺伝子(L1, L2)、およびウイルスDNAの複製・転写を調節するLCRからなる。HPV感染初期のエピソーマルな状態では、E2がE5, E6, E7の発現を抑制する。一方、HPVゲノムの宿主細胞ゲノムへの組み込みは、このE2領域が切断することで起こるため、組み込み後はE6, E7発現が恒常的に亢進する。

Oncogene Homolog)の活性化変異、癌抑制遺伝子では過剰メチル化による発現減少が *PTEN* (Phosphatase And Tensin Homolog; 58%) や *TSLC1* (Tumor Suppressor In Lung Cancer 1; 58%)等にみられる<sup>8,9,10,11</sup>。4,5-Bisphosphate 3-Kinase, Catalytic Subunit Alpha) (3q26.3; 43%)、*hTERT* (Telomerase Reverse Transcriptase) (5p15.33; 33%)、*c-myc* (8q24; 25%)、*HER2* (Human Epidermal Growth Factor Receptor 2) (17q21.2; 29%)、*Cyclin D1* (11q13.3; 12%)、*cIAP1* (11q22; 18.5%)の遺伝子増幅や *Ras* (Rat Sarcoma Viral Oncogene Homolog)の活性化変異、癌抑制遺伝子では過剰メチル化による発現減少が *PTEN* (Phosphatase And Tensin Homolog; 58%) や *TSLC1* (Tumor Suppressor In Lung Cancer 1; 58%)等にみられる<sup>8,9,10,11</sup>。加えて Alessandro らは、子宮頸癌病変と正常子宮頸部の角化細胞の遺伝子発現レベルをマイクロアレイで比較し、形質転換が生じた HPV 感染細胞では、*CDKN2A/p16*, *v-Myb*, *Cyclin B1*, *TOP2A* (Topoisomerase (DNA) II Alpha 170kDa), *E2F1* (E2F Transcription Factor 1), *FOXM1* (Forkhead Box M1), *MCM2/4/5* (Minichromosome Maintenance Complex Component2/4/5), *PTGES* (Prostaglandin E Synthase)等の細胞周期関連遺伝子の発現亢進と、*TGFβ1* (Transforming Growth Factor, Beta 1), *TGFα*

(Transforming Growth Factor, Alpha), *Cadherin13*, *KRT16* (Keratin 16, Type I)等の癌抑制遺伝子の発現低下といった500以上の遺伝子発現が脱制御状態となっていることを報告している<sup>12</sup>。このように子宮頸癌は HPV が誘導する宿主細胞の形質転換やゲノム不安定性に加えて、癌遺伝子の活性化変異や癌抑制遺伝子の異常が蓄積することで生じることが徐々に明らかになりつつある。しかし子宮頸癌の死亡数が増加傾向にあることから、さらに詳細な HPV やその他の分子生物学的異常に基づいた効果的なスクリーニング方法や新たな治療標的の同定が必要不可欠である。

本稿では HPV 感染が子宮頸癌を引き起こす分子生物学的機序について概説する。

## II. HPV について

HPV は約 8,000 塩基対の二本鎖 DNA ウイルスで、正二十面体のカプシドをもち、皮膚や口腔、性器粘膜等に感染する。現在までに約 120 種の HPV が発見されているが、すべての HPV が共通した環状のゲノム構造をしている。それは6つの初期遺伝子(E1, E2, E4, E5, E6, E7)と2つの後期遺伝子(L1, L2)、そして非翻訳領域に位置しウイルス DNA の複製や転写を調節する LCR (long control region)から構成されている(図1)<sup>13</sup>。

### 1. HPV の分類

HPV はカプシド蛋白質をコードする *L1* の遺伝子配列の相同性に基づいて系統的に分類されている。さらに、約 30 種の HPV が属し口腔や性器粘膜に感染する  $\alpha$ -HPV 属は、良性の性器疣贅を引き起こす低リスク型 HPV と、子宮頸癌等の悪性腫瘍形成能を有する高リスク型 HPV に分類される<sup>14</sup>。低リスク型 HPV には HPV6, 11 等が属し、主に疣贅の他に尖形コンジローマ等の良性腫瘍を引き起こすことが知られている。しかし最近になって、低リスク型 HPV が小児に引き起こした再発性呼吸器乳頭腫症病変から肺癌が発症し、その癌組織から HPV11 の *L1, E6, E7* DNA が検出された<sup>15</sup>。この報告は粘膜に感染する低リスク型 HPV も発癌能をもつことを示唆するが、ヒ

ヒトの様々な腫瘍への関与についての詳細は不明である。一方、高リスク型 HPV については、IARC (International Agency for Research on Cancer)により 15 種の HPV (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73, 82)が定義されている。このうち子宮頸癌の原因は、HPV16 が半数を、HPV18 型が 10-20%を占めるが、子宮頸部腺癌では HPV18 が約 40%を占めることが報告されている<sup>16,17)</sup>。また高リスク型 HPV は、子宮頸癌に加えて肛門癌や外陰癌、陰茎癌、さらに口腔癌を含む頭頸部癌にも関与することが報告され、様々な癌の中で最も重要なリスク因子の 1 つとなっている<sup>18,19)</sup>。43 種の HPV が属する  $\beta$ -HPV 属は、遺伝性疾患の疣贅状表皮発育異常症患者の 30-60%に生じる皮膚癌から高頻度に同定され、非メラノーマ性皮膚癌に関与することが明らかになっている<sup>20)</sup>。さらに健常者の皮膚にも  $\beta$ -HPV 属が多量に存在し、抗 HPV 抗体とウイルス DNA マーカーを用いた疫学調査では、非遺伝性皮膚癌の既往者は  $\beta$ -HPV 属の感染率が高いことが報告されている<sup>21,22)</sup>。 $\beta$ -HPV 属は皮膚癌の前癌病変である日光角化症の段階で DNA 修復蛋白質を阻害し、UV による DNA 損傷の蓄積を招き、発癌に関与することが示唆されている<sup>23)</sup>。

## 2. HPV と子宮頸部腫瘍の形成

女性の一生の HPV 感染リスクは約 80%で、感染のピークは 25 歳である。HPV 感染ではウイルス血症が起こらず、宿主の細胞死を誘導しないため炎症反応が起きない。そのため宿主の免疫機構が働きにくく、感染が持続しやすいという特徴があるが、HPV 感染の大部分は 1 年以内に排除され、HPV 感染で生じた前癌病変も約 3 年以内に自然治癒する。しかし HPV 感染者の約 10%で 3 年以上の持続感染が成立し、さらにその一部から数十年後に子宮頸癌が発症する<sup>1,24)</sup>。

HPV の生活史は他のウイルスとは異なり独特で、感染した宿主細胞の分化過程と密接に関連する<sup>25)</sup>。通常、扁平上皮細胞は基底層にある基底細胞、傍基底細胞が増殖し、その後は中層細胞、表層細胞へと分化し、細胞は最終的に死滅する。そのため HPV は、自身を維持するため、微小な傷によって露出した基底層の細胞に感染する必要がある。基底細胞に感染

した HPV は、ウイルス蛋白質の E2 が初期遺伝子である E5, E6, E7 の発現を直接抑制し、HPV DNA をエピソーマル (宿主細胞の染色体に組込まれず、環状な状態のこと)な状態で比較的低コピー数 (50-100 ゲノム/細胞)に維持する<sup>26)</sup>。但し、僅かに発現している E5, E6, E7 は感染細胞の増殖と隣接する基底細胞への感染の拡大を促進することが報告されている<sup>27)</sup>。基底細胞から分化の進んだ細胞層ではウイルスゲノムの複製が活発になる。これはウイルス DNA の複製を行う E1 (ヘリカーゼ), E2 (転写因子)の発現が宿主細胞の分化依存性に亢進し、宿主細胞の複製蛋白質を利用することでウイルス DNA の複製が行われるためである。また後期遺伝子 L1, L2 の発現も始まり、カプシドが形成される<sup>27)</sup>。中層細胞では E6, E7 の発現により、本来は細胞周期から脱しているはずの宿主細胞の分裂が促進される。またこの段階の宿主細胞では E4 発現がみられ、細胞周期の S 期または G2 期にあることが特徴である<sup>28)</sup>。さらに分化の進んだ上層の細胞では、最上層に位置する上皮細胞が細胞死することで成熟したウイルス粒子が放出される。そしてウイルス粒子の L1 が新たな宿主細胞の細胞膜上のヘパラン硫酸プロテオグリカンやインテグリン  $\alpha 6$  に結合することでその細胞に感染し、L2 や感染細胞エンドサイトーシスの働きにより細胞内にウイルス粒子が取り込まれる<sup>29)</sup>。

## 3. 持続感染と免疫回避

HPV 感染は免疫機構により制御され、ヒトは主にヘルパー T 細胞を介して HPV 感染細胞や病変を除去する<sup>30)</sup>。そのため長期的な HPV の持続感染のためには、HPV が様々な機序で宿主細胞の免疫機構を回避することが必要となる。例えば、高異型の子宮頸部病変や子宮頸部上皮内腫瘍では、HLA 受容体への抗原提示を阻害することで、免疫監視から逃れることが報告されている<sup>27)</sup>。HPV が感染した宿主細胞では、E6 の形質転換機能を p16 が阻害していることが知られている。しかし HPV は E7 を産生することで Rb の不活化とサイクリン A/E の活性化を引き起こし、その結果 p16 は不活化され、E6 は p16 の阻害作用から逃れることができる<sup>30)</sup>。また HPV E6 は、p16 阻害蛋白質の SERTAD1 と結合し、SERTAD1 を

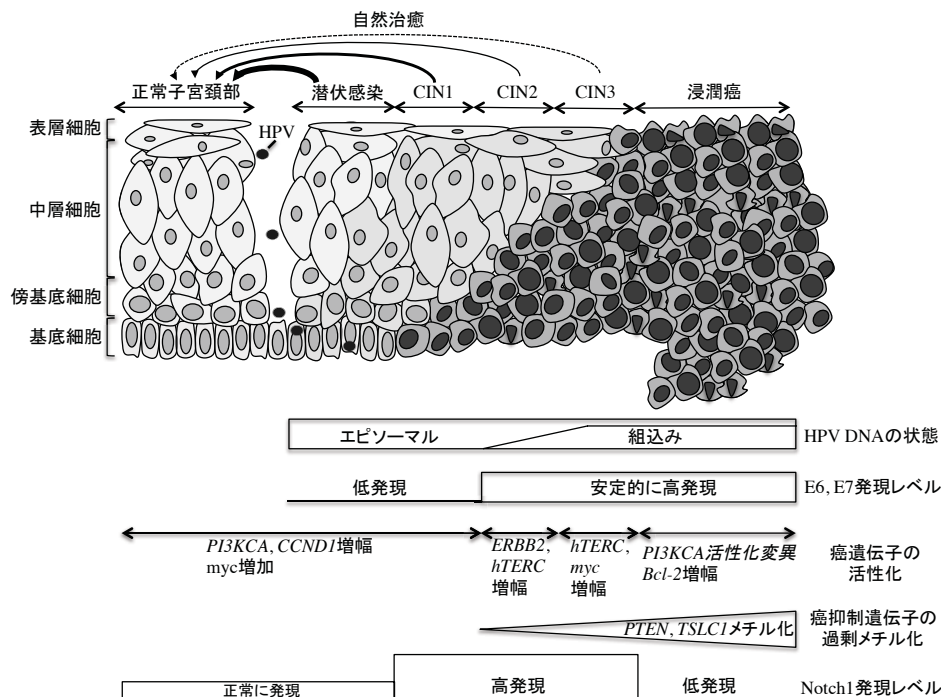


図 2 子宮頸癌の分子生物学的発癌機序: HPV は子宮頸部に生じた微小な傷から基底細胞に感染し、CIN1, CIN2, CIN3 そして浸潤癌へと病変は進行する。しかし大部分の HPV 感染細胞や前癌病変は宿主側の免疫機構により排除・自然治癒し、一部の HPV 感染細胞で組込みと E6, E7 の高発現が起こることで持続感染が成立し、癌化する。子宮頸癌の発癌には HPV の感染以外にも様々な癌遺伝子・癌抑制遺伝子の異常が重要である。

介して p16 の阻害作用から逃れ、宿主細胞の形質転換を促進する可能性も考えられている<sup>31,32)</sup>。このようにして、p16 の阻害作用から逃れた高リスク型 HPV E6 は Tyk2 (Tyrosine Kinase 2) や IRF-3 (Interferon Regulatory Factor-3) を、E7 は p48 や IRF-1 (Interferon Regulatory Factor 1) を阻害することで IFN- $\alpha$ / $\beta$  (Interferon- $\alpha$ / $\beta$ ) シグナルとインターフェロン反応性遺伝子の発現を抑制し、E6, E7 は自然免疫の阻害と獲得免疫の活性化を遅らせ、持続感染に適した環境を作る。そのため HPV 感染により生じた前癌病変が宿主の自然免疫で排除されるより早く、E6, E7 を安定的に発現することが、癌化における律速段階といえる。つまり E6, E7 発現の鍵となる HPV ゲノムの組込まれ易さが、宿主側のリスク因子の一つとなり得る<sup>1,27)</sup>。

#### 4. HPV ゲノムの組込み

HPV DNA がヒトゲノムへ組込まれる際に E6, E7 が安定的に高発現し、癌抑制遺伝子の不活化や染色体不安定性による細胞変異の蓄積等が起こり、増殖

優位なクローナル集団が形成される。

感染初期の宿主細胞では、E2 が初期遺伝子のプロモーターである p97 を抑制することで E6, E7 の発現を抑制し、さらに E6, E7 蛋白質へ直接結合することでそれらの機能を阻害する<sup>33,34)</sup>。HPV DNA が宿主細胞のゲノムに組込まれる際は、この E2 領域が切断されることで環状から線状 DNA となることが報告されている (図 1)。線状の HPV DNA の宿主細胞 DNA への組込まれる位置については様々な報告がある。Martina らの組込み位置のホットスポット解析では、22% の子宮頸癌で 3q28, 4q13.3, 8q24.21, 13q22.1, 17q21.2 への組込みがみられたと報告している<sup>35,36)</sup>。また HPV ゲノムの組込みが染色体脆弱部位 (DNA 切断が起こりやすく転座や欠失がよくみられる部位) に多くみられることから、宿主細胞 DNA の切断が組込みの可能性を高めるという興味深い報告もある<sup>37)</sup>。一方で、HPV DNA はランダムに組込まれ、組込まれた宿主細胞のゲノム周辺ではゲノムの構造異常が生じ、ゲノム不安定性を引き起こすという報告もある<sup>38)</sup>。

### 5. 子宮頸部腫瘍の形成

子宮頸癌は前癌状態である異形成から上皮内癌、浸潤癌へと進行することが知られている (図 2)。異形成は、CIN (cervical intraepithelial neoplasia; 子宮頸部上皮内腫瘍) 分類により、上皮層の下 1/3 において細胞に異型がみられる軽度異形成 (CIN1)、上皮層の下 2/3 の細胞に異型がみられる中度異形成 (CIN2)、異型細胞が上皮全層におよぶ高度異形成と上皮内癌 (CIN3) に分類される<sup>39)</sup>。CIN は連続的な変化であり、その進行には HPV が発現する E6, E7 を中心としたウイルス蛋白質が重要である。HPV は、基底細胞への感染初期では自身のウイルス DNA の発現を抑制しているが、CIN2/3 の段階でほとんどの高リスク型 HPV が宿主細胞へ組込まれ (HPV 18 DNA は、ほぼ全ての CIN2/3 で宿主細胞への組込みがみられるが、HPV16 DNA の場合、一部の浸潤癌ではエピソーマルな状態で検出されることがある)、安定的に高発現した E6, E7 が p53 や Rb 等の癌抑制機構を破綻させ、加えて宿主免疫機構による排除を回避することで浸潤癌へと進行する (図 2)<sup>40)</sup>。

全ての高リスク型 HPV 感染者が子宮頸癌を発症するわけではないこと、さらに子宮頸癌の発症には HPV 感染から数十年の期間が必要であるという事実から、子宮頸癌の発症には HPV 以外にも様々な遺伝子・蛋白質の異常が関与していると考えられている。例えば、*PI3KCA*, *Cyclin D1* の増幅や *myc* の増加は正常子宮頸部から CIN1 への進行段階で、*HER2*, *hTERT* の増幅は CIN1 から CIN2 への進行段階で、CIN2 から CIN3 への進行段階では *hTERT* に加えて *c-myc* の増幅が生じ、CIN3 から子宮頸癌への進行段階では *PI3KCA* 活性化変異や *BCL-2* (B-Cell CLL/Lymphoma 2) の増幅が生じる (図 2)<sup>41,42)</sup>。またエピジェネティックな異常もみられ、*PTEN* プロモーターの過剰メチル化は CIN2/3 の 40%、浸潤癌の 60% で、*TSLC1* プロモーターの過剰メチル化は CIN2/3 の 35%、浸潤癌の 58% で検出されている (図 2)。さらに扁平上皮細胞の分化に関与する *Notch1* は、CIN1~3 で発現が増加するが、浸潤癌では発現が減少するようである (図 2)。

### III. HPV の発癌機序

HPV の感染した基底細胞内で E2 欠失を伴う HPV DNA のヒトゲノムへの組込みが起こると、E2 により発現が抑制されていた E6, E7 が高発現し、細胞周期制御、アポトーシス、DNA 修復、細胞老化、細胞分化等の細胞内の様々な癌抑制機構の破綻や宿主細胞のゲノム不安定性の誘導により宿主細胞の悪性化が促進する。このように E6, E7 という 2 つのウイルス DNA は癌促進的に機能することが知られている。

#### 1. E6 の発癌能

E6 は約 150 個のアミノ酸からなるシステインリッチな蛋白質で、核および細胞質に局在する。高リスク型と低リスク型の違いの一つに E6 の局在の違いが挙げられ、例えば、低リスク型 HPV E6 は細胞質に局在し p53 の核への移行を阻害するが、高リスク型 HPV E6 は p53 の分解を促進する。E6 は zinc 結合領域である E6N と E6C の 2 つのモチーフをもち、これらの領域を介して宿主細胞の様々な蛋白質と結合し、それらの機能を阻害することで形質転換を促進する<sup>43)</sup>。

#### 1) p53 の不活化

p53 は 4 量体の転写因子で、DNA 損傷や低酸素等の各種ストレス、癌遺伝子の活性化、テロメアの短縮等で活性化し標的遺伝子を活性化することで、細胞増殖の停止 (p21, GADD45 等を介する) や DNA 損傷によるチェックポイント機能 (GADD45, p48 等を介する)、さらに細胞への損傷が修復できない場合は強力かつ持続的に活性化した p53 が細胞老化 (p21, PAI-1 等を介する)、そしてアポトーシス (Bax, Noxa, Puma, PTEN 等を介する) を誘導する。p53 は、正常な細胞では、E3 ユビキチンリガーゼの一つである MDM2 (Mouse Double Minute 2) により低レベルに制御されているが、一度細胞に損傷が生じると瞬時に活性化し細胞の癌化を抑制する要となっている。

E6 の最も重要な機能の一つがこの p53 活性を抑制することである (図 3)。高リスク型 HPV の E6 は HECT 型 E3 ユビキチンリガーゼである E6AP (UBE3A; Ubiquitin Protein Ligase E3A) と結合し、

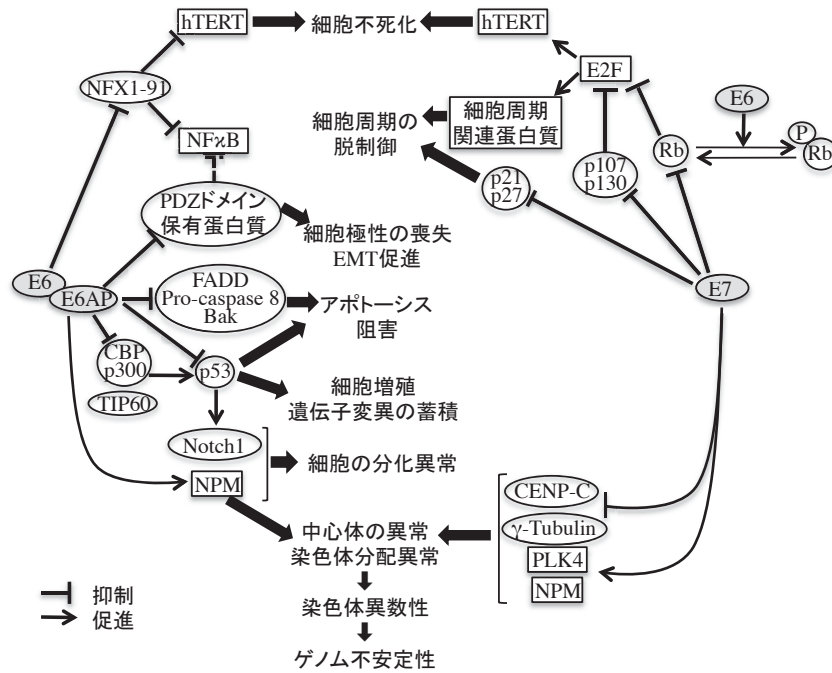


図 3 ハイリスク型 HPV E6, E7 誘導性の発癌機構: E6 は E6AP と結合し p53 やアポトーシス関連蛋白質、PDZ 保有蛋白質の分解・機能抑制と、hTERT や NFκB の活性化を引き起こす。一方 E7 は Rb ファミリーを阻害することで細胞周期を促進する。また E6, E7 は協調して中心体異常や染色体分配異常、様々なチェックポイント不活化を介してゲノム不安定性を誘導し、さらなる遺伝子変異の蓄積や癌遺伝子の活性化を招く。

E6AP の基質特異性を変えることで p53 のユビキチン化と分解を促進する<sup>44,45)</sup>。一方、低リスク型 HPV E6 は C 末領域で p53 に結合するが、p53 の分解は促進しないことが明らかになっている<sup>46)</sup>。さらに高リスク型および低リスク型 HPV E6 は CBP (CREB Binding Protein)/p300 や TIP60 (HIV-1 Tat Interactive Protein, 60kDa) と、加えて高リスク型 HPV E6 は hADA3 とも直接結合しその機能を阻害することで、p53 のアセチル化を阻害して p53 による様々な遺伝子の転写活性化を抑制する<sup>47,48,49)</sup>。また高リスク型 HPV E6 は、p53 活性化時に MDM2 に結合して p53 を安定化する p14 に結合し、p53 の活性化を阻害する<sup>50)</sup>。このように高リスク型 HPV E6 は二重にも三重にも巧妙に p53 の活性化を阻害し、宿主細胞の形質転換を促進する。

2) テロメラーゼ活性化と細胞の不死化

テロメアは GGGTTA が約 1000 回反復した配列で、染色体末端で染色体を保護する。テロメアは細胞分裂の度に短縮し、最終的に細胞は細胞老化に至り、増殖が停止する。そのためテロメア長の維持は癌細

胞の分裂・増殖に極めて重要で、85%以上の癌細胞でテロメア長の維持に必須なテロメラーゼが高活性で認められる<sup>51)</sup>。テロメラーゼの酵素活性部位をコードする hTERT は幹細胞等の限られた細胞で発現し、体細胞ではほとんど検出されない。HPV E6 は E6AP と複合体を形成し、この hTERT の発現を誘導する (図 3)。例えば、E6-E6AP 複合体は、hTERT の発現を抑制する NFκB (Nuclear Transcription Factor, X-Box Binding 1-91) のユビキチン化による分解を促進し、最終的に転写因子 myc/Max が hTERT プロモーターにリクルートされ hTERT の転写が亢進する<sup>52)</sup>。また E6 は hTERT のプロモーターのアセチル化を誘導し、その転写を活性化する<sup>53)</sup>。清野らによると、ヒト正常子宮頸部角化細胞の不死化には、Rb/p16 経路の不活化とテロメラーゼの活性化が少なくとも必要であるが、HPV は後述する E7 が Rb 経路を不活化し E6 がテロメラーゼを活性化することで宿主細胞の不死化を誘導する<sup>54)</sup>。

E6-E6AP 複合体は、Fas シグナルによるアポトーシスに重要な FADD (Fas-Associated Via Death Domain)、プロカスパーゼ 8 や、様々な細胞ストレス

に対してミトコンドリアからのシトクロム c の放出を介したアポトーシスに重要な Bak (Bcl-2 Homologous Antagonist/Killer) と結合し、その機能を阻害する (図 3)<sup>55,56)</sup>。このように HPV E6 は p53 に加え、p53 非依存性の細胞死も阻害することで宿主細胞での生存可能な環境を整える。

### 3) Bak の不活化とアポトーシス抑制

Bak は様々なストレスに応じてミトコンドリアを介したアポトーシスを活性化する。アポトーシスシグナルが入ると、活性化カスパーゼ 8 により活性化した Bid (BH3 Interacting Domain Death Agonist) と Bak, Bad (BCL2-Associated Agonist of Cell Death), Puma (P53 Up-Regulated Modulator of Apoptosis) がミトコンドリアへ移動し、Bcl-2 ファミリーを抑制する。Bcl-2 ファミリーの抑制によりミトコンドリアから放出されたシトクロム c は、Apaf-1 とともにカスパーゼ 9 を活性化し、これがアポトーシスを実行するカスパーゼ 3/7 を切断・活性化する。低リスク型および高リスク型 HPV E6 は Bak に結合し、分解を促進することで、p53 非依存性にもアポトーシスを抑制する (図 3)<sup>43)</sup>。

### 4) PDZ ドメイン保有蛋白質の阻害

全ての高リスク型 HPV E6 は C 末に PDZ ドメイン結合領域を保有する。PDZ ドメインを持つ蛋白質 (hDLG, hScribble, MUPP1, MAGI, PSD95 等) は、細胞極性や細胞間の接着、蛋白質複合体を形成するための足場として機能することが知られている。そのため HPV E6 はこれら PDZ ドメイン結合領域を保有する蛋白質の機能を阻害することで、細胞極性の喪失や EMT (Epithelial-Mesenchymal Transition; 上皮間葉転換) を引き起こすことが報告されている (図 3)<sup>1,57)</sup>。

高リスク型 HPV E6 は PDZ ドメイン依存性に NFκB (Nuclear Factor of Kappa Light Polypeptide Gene Enhancer In B-Cells) を活性化する (図 3)<sup>58)</sup>。NFκB はサイトカインやケモカインに反応して活性化し、核へ移行した NFκB が様々な遺伝子を誘導することでアポトーシス抑制、低酸素状態への抵抗性の獲得、EMT など宿主細胞の生存を促進する。E6 による NFκB の活性化には、E6 が脱ユビキチン化酵素

CYLD (Cylindromatosis; 低酸素環境下で NFκB 経路を活性化する) を不活化することや、E6 による NFX1-91 (NFκB を抑制する p105 の転写を活性化する) の分解促進も関与することが報告されている<sup>43,59)</sup>。

### 5) E6 による異常な細胞分化の誘導

細胞分化の機序については未だその詳細は明らかになっていないが、HPV E6 は細胞分化を担ういくつかの蛋白質の機能を阻害し、宿主細胞を自身の生存に有利な環境に変更することが報告されている。

高リスク型 HPV E6 は ERC-55 (Endoplasmic Reticulum Calcium-Binding Protein, 55kD; カルシウム結合蛋白質), E6-TP1 (E6-Targeted Protein 1 ; GTPase 活性化蛋白質), paxillin (接着点蛋白質) と結合し、これらの機能を阻害することで角化細胞の分化異常を誘導することが報告されている<sup>43)</sup>。また Nees らは、子宮頸部の角化細胞に E6 および E7 を過剰発現しマイクロアレイ解析をした結果、*TGFβ2* の発現レベルの減弱と TGFβ 経路阻害による角化細胞の分化異常を報告した<sup>60)</sup>。

さらに高リスク型 HPV E6 は、角化細胞の分化に関与する Notch 経路異常を招くことが報告されている (図 3)。Notch シグナルは Notch 受容体に DSL リガンドが結合することで開始し、Notch 受容体の細胞内ドメインである NICD が γ セレクターゼにより切断され、NICD が核へ移行することで *Hes1/5* (*Hes* Family BHLH Transcription Factor 1/5) 等の転写を活性化する。Notch1 は角化細胞において *p21* 発現を誘導することで細胞増殖を停止し、さらに角化細胞の初期分化を誘導するという報告がある<sup>61)</sup>。子宮頸癌では、Notch1 は低分化かつ浸潤部でより発現が減少または喪失し、この Notch1 発現減少の一因に HPV E6 の作用がある<sup>62,63)</sup>。つまり HPV E6 は p53 のユビキチン化を促進し分解することで p53 を不活化し、p53 の標的遺伝子である *Notch1* 発現を抑制する<sup>1,64)</sup>。このように HPV E6 は、p53 の分解と同時に Notch1 発現の減少を引き起こすことで、宿主細胞の異常増殖と分化異常を一度に獲得することが可能であると考えられる。

## 2. E7 の発癌能

HPV E7 は約 100 個のアミノ酸からなる蛋白質である。E7 の N 末側には、SV40 largeT やアデノウイルス E1A も保有する CR1/2 領域が保存されている。角化細胞に対しては、高リスク型 HPV E6 単独および E7 単独では僅かな不死化能を示すのみであるが、E6 と E7 は協調することで角化細胞に高い不死化能を与える<sup>65)</sup>。加えて、通常、扁平上皮細胞は基底細胞・傍基底細胞が細胞分裂し上層に移動するにつれて細胞周期の停止と分化を行うが、E7 は細胞周期を再開し宿主細胞の DNA 複製装置を利用することで自身のゲノムを効率的に増幅する<sup>66)</sup>。

### 1) Rb の阻害による細胞周期の異常

Rb は細胞周期の制御を担う蛋白質で、Rb の不活化は p53・テロメラーゼ活性化とともに様々な癌で共通してみられる分子生物学的異常である。Rb は細胞周期の G1 期に転写因子 E2F やクロマチンリモデリング因子 SWI-SNF 複合体に結合することで、E2F 標的遺伝子の転写を抑制し細胞周期を停止する。Rb は AB ポケット領域を介して E2F と結合するが、G1 中期になると AB ポケット領域が Cyclin D-CDK4/6 (Cyclin-Dependent Kinase 4/6) 複合体によりリン酸化され、E2F が Rb から遊離し標的遺伝子を活性化することで細胞周期は S 期に進行する。E2F は Cyclin A/E や様々な細胞増殖促進因子の発現を亢進する。Cyclin A は CDK1/2 と、Cyclin E は CDK2 と複合体を形成し、DNA 複製因子のリン酸化や Rb のリン酸化を行うことで細胞周期を進行させる。しかし DNA 損傷等で G1 チェックポイントが活性化すると、活性化 p53 が p21 や p27 を介して CDK1/2 の機能を阻害し、細胞周期を停止する。DNA 修復後に細胞周期を再開する、あるいは修復しきれない DNA 損傷が生じた場合はアポトーシスを誘導することで、DNA 異常を娘細胞に引き継ぐことを防いでいる<sup>67)</sup>。

HPV E7 は Rb の AB ポケット領域への結合や、Calpain, Cullin 2 をリクルートし Rb の切断・分解を行うことで、E2F1/2/3 の恒常的な活性化を招き、その結果 Cyclin A/E-CDK 複合体の蓄積や DNA ポリメラーゼ  $\alpha$ 、PCNA (Proliferating Cell Nuclear Antigen)、hTERT 等の発現亢進による細胞周期の S 期への進行

や DNA 合成、分化異常 (Rb 不活化による活性化 Akt が核小体蛋白質の nucleophosmin の発現を亢進することによる)等を誘導する (図 3)<sup>43,68)</sup>。この HPV E7 による Rb 不活化は、低リスク型と比べ高リスク型の方がより強く不活化することが分かっている。また HPV E6 も Rb のリン酸化を促進することで Cyclin A や E2F の発現を亢進し、細胞周期進行に関与する<sup>43)</sup>。加えて高リスク型 HPV E7 の場合は、基底細胞層の細胞周期を制御する p107、分化の進んだ上部の細胞層の細胞周期を制御する p130 と結合し、これらを通じた不活化することで E2F4/5 による細胞周期の進行を招く (一方、低リスク型 HPV E7 は p107, p130 に対して若干の阻害作用を示す)<sup>69,70)</sup>。さらに E7 は、CDK1/2 阻害機能をもつ p21, p27 に直接結合しそれらの機能を阻害することで、通常は細胞周期依存性に活性を持つ CDK1/2 の活性を持続的に維持し、細胞周期の脱制御を招く<sup>71,72)</sup>。このように高リスク型 HPV E7 は、低リスク型と比べて効率よく細胞周期の開始や DNA 合成を誘導する。

### 2) 宿主細胞のゲノム不安定性の誘導

ゲノム不安定性は腫瘍にみられる特徴的な現象で、様々な分子生物学的異常の獲得を促進し癌細胞に不利な環境下でもそれに打ち勝ち、腫瘍細胞の進行に寄与する現象である。通常の細胞に備わっている細胞周期制御機構や DNA 修復機構、染色体分配機構が破綻することで、遺伝子変異率の増加と染色体不安定性が生じ、ゲノム不安定性へと至る<sup>73,74)</sup>。

細胞内には正常な細胞周期を維持するため、制限点 (不可逆的な S 期進行を許可する機構)、G2/M 期チェックポイント (正確な DNA 複製が行われていることを確認し M 期進行を許可する機構)、紡錘体チェックポイント (倍加染色体を均等に分配するため、中心体から伸びた微小管が全染色体の動原体に正確に付着していることを確認し細胞質分裂開始を許可する機構)といったチェックポイントが存在する。例えば DNA 損傷が生じると、損傷部位にリクルートされた ATM (Ataxia Telangiectasia Mutated) /ATR (Ataxia Telangiectasia And Rad3-Related Protein) が活性化し、p53 の安定化・活性化や CHK1/2 (Checkpoint Kinase 1/2) 活性化を介して G1/S 期の制



限点あるいは G2/M 期チェックポイントが活性化され、細胞周期が停止する<sup>75)</sup>。前述したように、HPV E6 はチェックポイント機構の要である p53 をユビキチン化・分解し、HPV E7 は G1/S 期チェックポイントの制限点を担う Rb を不活性化する (図 3)。チェックポイントの破綻が起きた細胞周期では、ゲノムの損傷や不完全な DNA 複製を被ったまま細胞周期が進行していくため、遺伝子変異の蓄積や染色体の分配異常、二動原体染色体 (2 つのセントロメアを有する状態) の形成、分裂後期架橋 (p53 不活化細胞において、テロメアが短小化し保護されていない染色体末端間の融合・切断・架橋形成が起こる現象で、染色体の転座・挿入・欠失を誘発する)、染色体の異数性を招き、最終的にゲノム不安定性に至る<sup>76)</sup>。

染色体不安定性は、子宮頸癌の前癌状態という早期段階からみられる異常で、これは HPV E6 と E7 が各々独立して惹起していることが知られている (図 3)<sup>77)</sup>。例えば、詳細な機序は不明であるが、高リスク型 HPV E7 は E2F 活性化や Cyclin A/E-CDK2 複合体の制御異常、 $\gamma$ -tubulin と中心体の結合阻害、PLK4 (Polo-Like Kinase 4) 過剰発現を原因とした中心体の過剰形成と、これに伴う複数の紡錘体極の形成を招く。加えて、HPV E6 により宿主細胞の p53 および G2/M 期チェックポイントは不活化されているため、過剰数の中心体による染色体の分配異常と異数性、そして染色体不安定性を生じる<sup>43,78)</sup>。また我々は、高リスク型 HPV E7 が染色体分配異常に直接関与することを明らかにした (図 3)。つまり高リスク型 HPV 18 E7 は、CR2 領域を介して中心体構成要素の一つである CENP-C (Centromere Protein C) と結合する<sup>79,80)</sup>。その結果、E7 は CENP-C と  $\alpha$ -サテライト DNA (インナーセントロメアの構成要素で、CENP-A/-B,-C とともに中心体形成に関与する) の結合を阻害することで正常な中心体・微小管・動原体の付着に影響し、染色体分配異常や異数性に至ることを明らかにした<sup>81)</sup>。

#### IV. 終わりに

子宮頸部は HPV 感染の観点からその発癌機序について徐々に明らかになりつつある。また、スクリ

ーニング検査としての細胞診やワクチン接種の普及により、先進国における子宮頸癌を原因とした死亡者数は減少傾向にある。それにもかかわらず、子宮頸癌は依然として女性の癌による死亡原因の第二位であり、日本においてはその患者数は増加傾向にある。このような現状を踏まえると、さらに詳細な子宮頸癌の発癌機序や HPV 持続感染の機序の解明による新たな視点に基づいた治療方法・診断方法の開発が期待される。例えば抗 HPV 治療用ワクチンとして、カプシドである L1 に、すべての子宮頸癌細胞で発現していることが考えられる E6, E7 を組み合わせたキメラ VLP (CVLP: chimeric HPV-like particle) の開発・臨床試験が行われている<sup>7)</sup>。このように HPV を中心とした子宮頸癌の発癌機序の解明は今後の子宮頸癌治療の成績向上に必須であることが考えられる。

#### V. 参考文献

- 1) Takashi Y., et al. Molecular mechanisms of cervical carcinogenesis by high-risk human papillomaviruses: novel functions of E6 and E7 oncoproteins. *Rev Med Virol.*, 19:97-113, 2009.
- 2) Dürst M., et al. A papillomavirus DNA from a cervical carcinoma and its prevalence in cancer biopsy samples from different geographic regions. *Proc Natl Acad Sci USA.*, 80:3812-3815, 1998.
- 3) Boshart M., et al. A new type of papillomavirus DNA, its presence in genital cancer biopsies and in cell lines derived from cervical cancer. *EMBO J.*, 3:1151-7, 1984.
- 4) Gissmann L., et al. Presence of human papillomavirus in genital tumors. *J Invest Dermatol.*, 83:26-28, 1984.
- 5) Schwarz E., et al. Structure and transcription of human papillomavirus type 18 and 16 sequences in cervical carcinoma cells. *Nature*, 314:111-114, 1985.
- 6) Mako N., et al. Basic mechanisms of high-risk human papillomavirus-induced carcinogenesis: Roles of E6 and E7 proteins. *Cancer Sci.*, 98:1505-1511, 2007.
- 7) Walboomers J., et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol.*, 189:12-9, 1999.

- 8) Zhang A., et al. Genetic alterations in cervical carcinomas: frequent low-level amplifications of oncogenes are associated with human papillomavirus infection. *Int J Cancer.*, 101:427–33, 2002.
- 9) Imoto I., et al. Expression of cIAP1, a target for 11q22 amplification, correlates with resistance of cervical cancers to radiotherapy. *Cancer Res.*, 62:4860–6, 2002.
- 10) Cheung T., et al. Epigenetic and genetic alternation of PTEN in cervical neoplasm. *Gynecol Oncol.*, 93:621–7, 2004.
- 11) Steenbergen RD., et al. TSLC1 gene silencing in cervical cancer cell lines and cervical neoplasia. *J Natl Cancer Inst.*, 96:294–305, 2004.
- 12) Santin AD., et al. Gene expression profiles of primary HPV16- and HPV18-infected early stage cervical cancers and normal cervical epithelium: Identification of novel candidate molecular markers for cervical cancer diagnosis and therapy. *Virology*, 331:269–291, 2005.
- 13) Qiong C., et al. Human papillomavirus early proteins and apoptosis. *Arch Gynecol Obstet.*, 287:541–548, 2013.
- 14) Tommasino M. The human papillomavirus family and its role in carcinogenesis. *Semin Cancer Biol.*, 26:13–21, 2014.
- 15) Yuan H., et al. Divergent human papillomavirus associated with recurrent respiratory papillomatosis with lung involvement. *Genome Announc.*, 1:474–13, 2013.
- 16) Munoz N., et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med.*, 348:518–527, 2003.
- 17) Clifford G., et al. Human papillomavirus types in invasive cervical cancer worldwide: A meta-analysis. *Br J Cancer.*, 88:63–73, 2003.
- 18) Teenbergen RD, et al. HPV-mediated transformation of the anogenital tract. *J Clin Virol.*, 32:25–33, 2005.
- 19) Nair S, et al. Human papillomavirus and disease mechanisms: relevance to oral and cervical cancers. *Oral Dis.*, 11:350–9, 2005.
- 20) Pfister H. Chapter8: humanpapilloma virus and skin cancer. *J Natl Cancer Inst Monogr.*, 31:52–6, 2003.
- 21) Iannacone MR., et al. Case–control study of cutaneous human papillomaviruses in squamous cell carcinoma of the skin. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.*, 21:1303–13, 2012.
- 22) Bouwes B., et al. Multicenter study of the association between betapapillomavirus infection and cutaneous squamous cell carcinoma. *Cancer Res.*, 70:9777–86, 2010.
- 23) Giampieri S., et al. Repair of UV-induced thymine dimers is compromised in cells expressing the E6 protein from human papillomaviruses types 5 and 18. *Br J Cancer.*, 90:2203–9, 2004.
- 24) Franceschi S., et al. Variations in the age-specific curves of human papillomavirus prevalence in women worldwide. *Int J Cancer.*, 119:2677–2684, 2006.
- 25) Allie K., et al. Human Papillomavirus Induced Transformation in Cervical and Head and Neck Cancers. *Cancers*, 6:1793–1820, 2014.
- 26) Stubenrauch F., et al. Differential requirements for conserved E2 binding sites in the life cycle of oncogenic human papillomavirus type 31. *J Virol.*, 72:1071–1077, 1998.
- 27) zur Hausen H. Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. *Nat Rev Cancer.*, 2:342–350, 2002.
- 28) John D, et al. The Biology and Life-Cycle of Human Papillomaviruses. *Vaccine*, 30:55–70, 2012.
- 29) Joyce JG., et al. The L1 major capsid protein of human papillomavirus type 11 recombinant virus- like particles interacts with heparin and cell-surface glycosaminoglycans on human keratinocytes. *J Biol Chem.*, 274:5810–22, 1999.
- 30) Höpfl R., et al. Spontaneous regression of CIN and delayed- type hypersensitivity to HPV-16 oncoprotein E7. *Lancet*, 356:1985–1986, 2000.
- 31) Sugimoto M., et al. Regulation of CDK4 activity by a novel CDK4-binding protein, p34(SEI-1). *Genes Dev.*, 13:3027–33, 1999.
- 32) Gupta S., et al. The human papillomavirus type 11 and 16 E6 proteins modulate the cell-cycle regulator and

- transcription cofactor TRIP-Br1. *Virology*, 317:155–64, 2003.
- 33) Grm HS., et al. Crosstalk between the human papillomavirus E2 transcriptional activator and the E6 oncoprotein. *Oncogene*, 24 :5149–5164, 2005.
- 34) Gammoh N., et al. Regulation of human papillomavirus type 16 E7 activity through direct protein interaction with the E2 transcriptional activator. *J Virol.*, 80:1787–1797, 2006.
- 35) Ferber MJ., et al. Positioning of cervical carcinoma and Burkitt lymphoma translocation breakpoints with respect to the human papillomavirus integration cluster in FRA8C at 8q24.13. *Cancer Genet Cytogenet.*, 154:1–9, 2004.
- 36) Schmitz M., et al. Non-random integration of the HPV genome in cervical cancer. *PLoS One.*, 7:39632, 2012.
- 37) Thorland EC., et al. Common fragile sites are preferential targets for HPV16 integrations in cervical tumors. *Oncogene*, 22:1225–1237, 2003.
- 38) Akagi K., et al. Genome-wide analysis of HPV integration in human cancers reveals recurrent, focal genomic instability. *Genome Res.*, 24:185–199, 2014.
- 39) 清水 文七, 他. パピローマウイルスによる腫瘍基礎から臨床へのアプローチ. 文光堂, 154-178, 2000.
- 40) Woodman CB., et al. The natural history of cervical HPV infection: unresolved issues. *Nat Rev Cancer.*, 7:11–22, 2007.
- 41) Costa C., et al. Analysis of gene status in cervical dysplastic lesions and squamous cell carcinoma using tissue microarrays. *Histol Histopathol.*, 24:821–9, 2009.
- 42) Tornesello ML., et al. TP53 and PIK3CA gene mutations in adenocarcinoma, squamous cell carcinoma and high-grade intraepithelial neoplasia of the cervix. *J Transl Med.*, 12: 255, 2014.
- 43) Klingelutz AJ., et al. Cellular transformation by human papillomaviruses: lessons learned by comparing high- and low-risk viruses. *Virology*, 424:77–98, 2012.
- 44) Scheffner M., et al. The E6 oncoprotein encoded by human papillomavirus types 16 and 18 promotes the degradation of p53. *Cell*, 63:1129–36, 1990.
- 45) Talis AL., et al. The role of E6AP in the regulation of p53 protein levels in human papillomavirus (HPV)-positive and HPV-negative cells. *J Biol Chem.*, 273:6439–45, 1998.
- 46) Pim D., et al. Interaction of viral oncoproteins with cellular target molecules: infection with high-risk vs low-risk human papillomaviruses. *APMIS.*, 118:471–93, 2010.
- 47) Patel D., et al. The E6 protein of human papillomavirus type 16 binds to and inhibits co-activation by CBP and p300. *EMBO J.*, 18:5061–72, 1999.
- 48) Kumar A., et al. Human papillomovirus oncoprotein E6 inactivates the transcriptional coactivator human ADA3. *Mol Cell Biol.*, 22:5801–5812, 2002.
- 49) Jha S., et al. Destabilization of TIP60 by human papillomavirus E6 results in attenuation of TIP60-dependent transcriptional regulation and apoptotic pathway. *Mol Cell.*, 38:700–11, 2010.
- 50) Khoronenkova SV., et al. The emerging role of Mule and ARF in the regulation of base excision repair. *FEBS Lett.*, 585:2831–2835, 2011.
- 51) Pendino F., et al. Telomeres and telomerase: Pharmacological targets for new anticancer strategies? *Curr Cancer Drug Targets.*, 6:147–80, 2006.
- 52) Gewin L., et al. Identification of a novel telomerase repressor that interacts with the human papillomavirus type-16 E6/E6-AP complex. *Genes Dev.*, 18:2269–82, 2004.
- 53) James MA., et al. HPV16-E6 associated hTERT promoter acetylation is E6AP dependent, increased in later passage cells and enhanced by loss of p300. *Int J Cancer.*, 119:1878–85, 2006.
- 54) Kiyono T., et al. Both Rb/p16INK4a inactivation and telomerase activity are required to immortalize human epithelial cells. *Nature*, 396: 84–88, 1998.
- 55) Thomas M., et al. Human papillomavirus (HPV) E6 interactions with Bak are conserved amongst E6 proteins from high and low risk HPV types. *J General Virol.*, 80:1513–17, 1999.

- 56) Garnett TO., et al. Accelerated degradation of FADD and procaspase 8 in cells expressing human papilloma virus 16, E6 impairs TRAIL-mediated apoptosis. *Cell Death Differ.*, 13:1915–26, 2006.
- 57) Handa K., et al. E6AP-dependent degradation of DLG4/PSD95 by high-risk human papillomavirus type 18 E6 protein. *J Virol.*, 81:1379–89, 2007.
- 58) James MA., et al. Human papillomavirus type 16 E6 activates NF-kappaB, induces cIAP-2 expression, and protects against apoptosis in a PDZ binding motif-dependent manner. *J Virol.*, 80:5301–7, 2006.
- 59) Xu M., et al. NFκB1 plays a role in human papillomavirus type 16 E6 activation of NFκB activity. *J Virol.*, 84:11461–9, 2010.
- 60) Nees M., et al. Human papillomavirus type 16 E6 and E7 proteins inhibit differentiation-dependent expression of transforming growth factor-beta2 in cervical keratinocytes. *Cancer Res.*, 60:4289–98, 2000.
- 61) Rangarajan A., et al. Notch signaling is a direct determinant of keratinocyte growth arrest and entry into differentiation. *Embo J.*, 20:3427–3436, 2001.
- 62) Zagouras P., et al. Alterations in Notch signaling in neoplastic lesions of the human cervix. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 92:6414–8, 1995.
- 63) Talora C., et al. Specific down-modulation of Notch1 signaling in cervical cancer cells is required for sustained HPV-E6/E7 expression and late steps of malignant transformation. *Genes Dev.*, 16:2252–2263, 2001.
- 64) Yugawa T., et al. Regulation of Notch1 gene expression by p53 in epithelial cells. *Mol Cell Biol.*, 27:3732–42, 2007.
- 65) Hawley NP., et al. HPV 16 E6 and E7 proteins cooperate to immortalize human foreskin keratinocytes. *EMBO J.*, 8:3905–3910, 1989.
- 66) Cheng S., et al. Differentiation-dependent up-regulation of the human papillomavirus E7 gene reactivates cellular DNA replication in suprabasal differentiated keratinocytes. *Genes Dev.*, 9:2335–2349, 1995.
- 67) Dick FA., et al. Molecular mechanisms underlying RB protein function. *Nat Rev Mol Cell Biol.*, 14:297–306, 2013.
- 68) Dyson N., et al. The human papilloma virus-16 E7 oncoprotein is able to bind to the retinoblastoma gene product. *Science*, 243:934–7, 1989.
- 69) Roman A. The human papillomavirus E7 protein shines a spotlight on the pRB family member, p130. *Cell Cycle*, 5:567–8, 2006.
- 70) Felsani A., et al. Retinoblastoma family proteins as key targets of the small DNA virus oncoproteins. *Oncogene*, 25:5277–85, 2006.
- 71) Jones DL., et al. The human papillomavirus E7 oncoprotein can uncouple cellular differentiation and proliferation in human keratinocytes by abrogating p21Cip1-mediated inhibition of cdk2. *Genes Dev.*, 11:2101–11, 1997.
- 72) Zeffass TK., et al. Inactivation of the cdk inhibitor p27KIP1 by the human papillomavirus type 16 E7 oncoprotein. *Oncogene*, 13:2323–30, 1996.
- 73) Duensing S., et al. Mechanisms of genomic instability in human cancer: insights from studies with human papillomavirus oncoproteins. *Int J Cancer.*, 109:157–162, 2004.
- 74) Cahill DP., et al. Genetic instability and darwinian selection in tumours. *Trends Cell Biol.*, 9:57–60, 1999.
- 75) Kastan MB., et al. Cell-cycle checkpoints and cancer. *Nature*, 432:316–323, 2004.
- 76) Duensing S., et al. The human papillomavirus type 16 E6 and E7 oncoproteins independently induce numerical and structural chromosome instability. *Cancer Res.*, 62:7075–7082, 2002.
- 77) Duensing S., et al. Centrosomes, genomic instability, and cervical carcinogenesis. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr.*, 13:9–23, 2003.
- 78) Duensing S., et al. The human papillomavirus type 16 E6 and E7 oncoproteins cooperate to induce mitotic defects and genomic instability by uncoupling centrosome duplication from the cell division cycle. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 97:10002–10007, 2000.
- 79) Yaginuma Y., et al. Characterization of physical binding between human papillomavirus 18 protein E7

and centromere protein C. *Oncology*, 79:219–28, 2010.

80) Yaginuma Y., et al. The PxDLLCxE sequence in conserved region 2 of human papilloma virus 18 protein E7 is required for E7 binding to centromere protein C. *Oncology*, 83:210–7, 2012.

81) Yaginuma Y., et al. The human papillomavirus18 E7 protein inhibits CENP-C binding to  $\alpha$ -satellite DNA. *Virus Res.*, 205:27–32, 2015.