

[別紙2]

## 審査の結果の要旨

氏名 佐藤 香央里

本研究はヒトパピローマウイルス 16 型 (HPV16) 増殖過程において重要な役割を演じていると考えられる HPV16 後期プロモーター (P670) の発現制御に関わるシス因子の解析を行ったものであり、下記の結果を得ている。

1. P670 プロモーターからの転写は感染細胞が未分化な状態では強く転写活性は抑制され、感染細胞の分化に伴い転写活性は上昇する。本研究では、P670 レポータープラスミド及び 20 塩基ずつ配列を置換した 38 個の変異体を作製し、未分化細胞ないし分化がある程度進んで分化マーカーが発現している細胞 (軽度に分化した細胞) での転写活性を調べた。細胞は HeLa/Tet-on/hSkn-1a 及び HaCaT の 2 種を用いた。分化を誘導した細胞では、P670 プロモーターからの転写は、2 倍程度上昇した (結果、塩基 546-565 及び 666-685 の置換体からの転写は、未分化細胞で大きく昂進し、軽度分化した状態で更に昂進し、上記領域に抑制的な細胞因子が結合することが予測された。

2. 塩基 546-565 及び 666-685 の領域に結合する抑制性の転写因子として、YY1 及び CCAAT displacement protein (CDP) の結合配列が含まれていた。ゲルシフトアッセイの結果では、YY1 は変異による結合の変化は認めなかった。それに対し、CDP は塩基 551-580 及び 661-690 の配列に結合し、変異によって、結合力は大きく低下した。このことより、塩基 546-565、666-685 の置換変異による転写活性の昂進は CDP の抑制解除に起因することが強く示唆された。

3. HeLa/Tet-on/hSkn-1a 及び HaCaT での CDP の発現をウエスタンブロッティングによって調べた。これらの細胞で、CDP の発現量は軽度分化誘導に関わらずほぼ一定していた。感染細胞の分化の進行によって、CDP による転写抑制が解除されると想定されるが、本研究で用いた HaCaT 及び HeLa を表皮分化マーカーの発現が生じる程度まで分化させても、分化によって CDP を介した転写抑制の解除は観察できなかった。よって、未分化な細胞では、P670 プロモーターの転写開始点及びその上流の 2 カ所に CDP が結合し、転写を抑制することが強く示唆された。

以上、本論文は、HPV 感染細胞が未分化な状態では塩基 546-565 及び 666-685 の領域に CDP が結合し P670 からの転写は抑制されていることが示され、P670 の発現制御の解析に貢献した。よって、学位の授与に値するものと考えられる。