

(別紙様式第3号)

論 文 要 旨

論 文 題 目

HPV16E6-dependent c-fos expression contributes to AP-1 complex formation in SiHa cells (SiHa 細胞における HPV16E6 依存的な c-fos の発現上昇は AP-1 複合体の形成に寄与する)

氏 名 梁 飛 新 印 

(背	景	・	目	的)		転	写	因	子	AP-1	は	、	細	胞	の	癌	化	、
お	よ	び	進	展	に	深	く	関	わ	っ	て	い	る	。	AP-1	は	Fos			
フ	ア	ミ	リ	ー	及	び	、	Jun	フ	ア	ミ	リ	ー	か	ら	な	る	二	量	
体	を	形	成	す	る	。	細	胞	の	癌	化	や	癌	の	進	展	に	は		
AP-1	の	活	性	化	だ	け	で	は	な	く	、	そ	の	組	み	合	わ	せ		
も	重	要	で	あ	る	。	HPV	(ヒ	ト	パ	ピ	ロ	ー	マ	ウ	イ	ル	ス	
)	は	子	宮	頸	癌	、	頭	頸	部	癌	、	食	道	癌	の	原	因	ウ	イ	
ル	ス	で	あ	る	。	HPV	感	染	に	よ	り	引	き	起	こ	さ	れ	る	子	
宮	頸	癌	や	食	道	癌	に	お	い	て	は	c-fos/c-jun	の	組	み	合	わ			
せ	か	ら	な	る	AP-1	複	合	体	の	形	成	が	重	要	で	あ	る	こ		
と	が	分	か	っ	て	き	て	い	る	。	し	か	し	な	が	ら	、	こ	の	
よ	う	な	AP-1	複	合	体	の	形	成	が	ど	の	よ	う	な	メ	カ	ニ		
ズ	ム	で	誘	導	さ	れ	る	か	は	現	在	ま	で	の	と	こ	ろ	不	明	
で	あ	っ	た	。	一	方	、	紫	外	線	や	炎	症	反	応	な	ど	に	細	
胞	が	さ	ら	さ	れ	る	と	活	性	酸	素	が	生	じ	、	酸	化	ス	ト	
レ	ス	を	誘	因	す	る	。	酸	化	ス	ト	レ	ス	は	ヒ	ド	ロ	キ	シ	
ラ	ジ	カ	ル	生	成	後	、	EGFR	を	経	由	し	て	AP-1	の	活	性			
化	が	引	き	起	こ	さ	れ	る	こ	と	も	知	ら	れ	て	い	る	。	我	
々	は	、	子	宮	頸	癌	、	頭	頸	部	癌	に	お	い	て	最	も	頻	繁	
に	検	出	さ	れ	る	HPV	の	タ	イ	プ	で	あ	る	、	HPV16	型	感	染		

子	宮	頸	癌	細	胞	株	を	用	い	て	、	実	験	を	行	っ	た	。	HPV			
感	染	癌	細	胞	に	お	け	る	AP-1	複	合	体	形	成	の	メ	カ	ニ				
ズ	ム	を	解	明	す	る	こ	と	を	目	的	と	し	た	。							
(方	法)						1.	HPV16	型	感	染	子	宮	頸	癌	細	胞	株	SiHa、	
Caski	は	ATCC	か	ら	購	入	し	た	。	2.	細	胞	に	H ₂ O ₂	TGF-	α						
刺	激	を	し	て	、	c-fos	、	c-jun	タ	ン	パ	ク	の	発	現	を						
westernblot	法	に	よ	り	確	認	し	た	、	AP-1	complex	の	組	成	を	免						
疫	共	沈	法	に	よ	り	確	認	し	た	。	c-fos	、	c-jun	タ	ン	パ					
ク	の	発	現	量	は	densitometric		analysis	に	て	分	析	し	た	。							
3.	HPV16E6	を	siRNA	に	て	ノ	ック	ダ	ウ	ン	し	、										
c-fos	発	現	に	対	す	る	影	響	を	検	討	し	た	。	HPV16E6	ノ	ック					
ク	ダ	ウ	ン	系	の	構	築	は	Jiabin	ら	の	siRNA-HPV16E6	の	配	列							
を	用	い	た	。	そ	の	後	、	RT-PCR	に	て	ノ	ック	ダ	ウ	ン	の					
効	果	を	確	認	し	た	。															
(結	果)						1.	SiHa	細	胞	に	過	酸	化	水	素	や	TGF-α		
刺	激	を	加	え	た	結	果	、	c-fos	タ	ン	パ	ク	の	発	現	上	昇				
が	観	察	さ	れ	、	さ	ら	に	そ	の	後	、	c-fos/c-jun	二	量	体	の					
形	成	を	確	認	し	た	。	2.	過	酸	化	水	素	や	TGF-α	依	存					
的	な	c-fos	タ	ン	パ	ク	の	発	現	上	昇	は	、	siRNA 16E6	に	よ						
り	顕	著	に	抑	制	さ	れ	た	。													

(別紙様式第7号)

論文審査結果の要旨

報告番号	課程博 * 第 号 論文博	氏名	梁 飛新
論文審査委員	審査日	平成 23 年 8 月 1 日	
	主査教授	荻谷 研一	
	副査教授	青木 瑞一	
	副査教授	山本 秀幸	
(論文題目)			
HPV16E6-dependent c-fos expression contributes to AP-1 complex formation in SiHa cells (論文審査結果の要旨)			
上記の論文に関して慎重に検討し、以下のような審査結果を得た。			
1. 研究の背景と目的			
ヒトパピローマウイルス (HPV) は子宮頸癌、頭頸部癌等と密接に関係し、Jun ファミリー蛋白質や Fos ファミリー蛋白質の複合体からなる転写因子 AP-1 のうち、c-Fos/c-Jun 複合体を選択的に形成することで癌の発症や悪性化に関与するとされる。活性酸素も同様の選択的作用を示すが、いずれも作用機序の詳細は不明である。そこで著者らは、子宮頸癌や頭頸部癌で最も検出頻度の高い HPV16 型の初期蛋白質 E6 (HPV16E6) を発現する子宮頸癌細胞株 SiHa を用いて c-Fos/c-Jun 複合体の選択的形成機序を解析した。			
2. 研究内容			
SiHa 細胞株において過酸化水素による c-Fos の著明な発現上昇がウエスタン解析でみられ、c-Fos/c-Jun 複合体の形成が免疫共沈実験で確認されたが、c-Fos 発現上昇はヒドロキシルラジカル生成阻害剤により抑制された。一方、過酸化水素の作用として EGF 受容体 (EGFR) のトランス活性化が知られているため TGF- α で EGFR を直接活性化したところ、過酸化水素と同様に c-Fos 発現上昇と c-Fos/c-Jun 複合体形成が認められた。さらに、HPV16E6 の関与を調べるため、その発現を siRNA の細胞内導入により抑制したところ、過酸化水素や TGF- α による c-Fos 発現上昇が顕著に抑制された。HPV16E6 は別の子宮頸癌細胞株 CaSki でも発現しているが、同株においても SiHa 細胞株と同様に HPV16E6 の siRNA により過酸化水素による c-Fos 発現上昇が抑制された。以上の結果から、HPV16 型関連腫瘍における c-Fos/c-Jun 複合体 AP-1 の選択的形成には HPV16E6 依存性の c-Fos 過剰発現が関与しており、この過剰発現には活性酸素や EGFR 刺激を含む環境要因が重要な役割を演じていることが示唆された。			
3. 研究成果の意義と学術的水準			
本研究は、HPV16 型関連腫瘍の c-Fos 過剰発現における HPV16E6 と環境要因の関係についてのより深い理解に結びつく知見をもたらすとともに、治療についての示唆も与えるものであり、極めて高い水準にあると考えられた。			
以上により、本論文は学位授与に十分に値するものであると判断した。			

備考 1 用紙の規格は、A4とし縦にして左横書きとすること。

2 要旨は800字～1200字以内にまとめること。

3 *印は記入しないこと。