

令和 4 年 8 月 27 日現在

機関番号：82606

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K09307

研究課題名(和文) 子宮頸部腺がんにおける組織型決定に關与する宿主側およびウイルス側因子の解析

研究課題名(英文) Investigating viral and cellular factors defining histopathological features of cervical cancer

研究代表者

中原 知美 (NAKAHARA, TOMOMI)

国立研究開発法人国立がん研究センター・研究所・研究員

研究者番号：60601177

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本邦における子宮頸がんは、予後不良の腺がんが増加し子宮頸がん全体の約25%に達している。本研究は、ヒトパピローマウイルス(Human papillomavirus: HPV)による腺がんの発がんモデルの作製を目的とした。我々は以前に、子宮頸部由来正常上皮細胞にHPVがん遺伝子E6E7と宿主がん遺伝子であるKRASおよびc-MYC変異体発現を導入すると、強い造腫瘍性が賦与され、扁平上皮がんが誘導されることを報告した。本研究では、それら4因子にFOXA2転写因子発現を追加すると、腺様構造および粘液産生細胞の出現を認め、子宮頸がん腺がんと病理学的特徴が一致する腫瘍が誘導されることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで未解明であった子宮頸がん腺がんの発がん過程において、転写因子のFOXA2が子宮頸がんの病理学的特徴を決定する重要な因子の一つであることを明らかにした。近年の腺がん増加は、その前駆病変の特徴があまり明らかでなく、早期発見が困難であることが一因とされている。本研究で作成した腺がんの発がん過程を再現する培養モデルは、腺がん前駆病変の詳細解析を可能にし、それに基づく早期診断法の開発や、腺がんの治療抵抗性の分子機構を解明し、新規治療法の開発を推進する基盤となる。

研究成果の概要(英文)：Cervical adenocarcinoma is the second most common pathological subtype of cervical cancer after squamous cell carcinoma (SCC). To gain insights into molecular background of adenocarcinoma, we aimed to establish an in vitro carcinogenesis model of adenocarcinoma. We previously reported the establishment of an in vitro model for cervical SCC by introducing defined viral and cellular oncogenes, HPV16 E6 and E7, c-MYC and activated RAS to human cervical keratinocytes. In this study, the expression of potential lineage-specifying factors was additionally introduced, and the cell properties associated with the cell lineage were analyzed. In the cells expressing FOXA2, apparent changes in the cell property were observed, including elevated expression of columnar cell markers. Strikingly, the histopathology of tumors and organoids expressing FOXA2 resembled cervical adenocarcinoma, proposing that FOXA2 plays a vital role in dictating the histopathology of cervical cancers.

研究分野：腫瘍ウイルス学

キーワード：子宮頸がん パピローマウイルス 腺がん 発がんモデル FOXA2

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

子宮頸がんは、扁平上皮がん(squamous cell carcinoma: SCC)と、腺がん(adenocarcinoma: ADC)の2つの組織型に大別され、両者ともに大部分が高リスク型ヒトパピローマウイルス群(high risk-human papillomaviruses: HR-HPVs)感染を背景に発症する。HPVは、重層扁平上皮組織の細胞分化に依存して増殖すること、かつて子宮頸がんの約90%はSCCであったことから、これまで子宮頸がんの発がん機構は、すべて角化細胞を起点としたSCCモデルにより詳細に解析されてきた。ADCの前駆病変としては、adenocarcinoma in situ (AIS) が知られている。しかしながら、HR-HPV感染を背景に、AISの形成を経てADC発がんに至る分子機構についてはほとんど明らかになっていない。近年、子宮頸がんの好発部位として知られる扁平円柱上皮接合境界(squamo-columnar junction: SC junction)には、円柱上皮や扁平上皮とは形態や遺伝子発現パターンの異なる単層の細胞集団(SC junction cells: SCJ細胞)が存在し、ほとんどの子宮頸がんはSCJ細胞由来である可能性が高いことが報告された(1)。SCJ細胞は、胎児期の子宮頸部上皮全体に存在するが、大人ではSC junctionに存在が限定されている。発達とともに、SCJ細胞から扁平上皮細胞のマーカーであるp63とSCJマーカーの両陽性細胞が出現し、さらにp63単陽性の重層扁平上皮へ分化することが示され、SCJ細胞がcervical intraepithelial neoplasia (CIN)の形成をへてSCCへ進行する背景が説明された(2)。一方で、同一起源細胞が病理学的特徴の異なるSCCやADCへ進行する機構や、それに関わる宿主およびウイルス因子については未解明である。

### 2. 研究の目的

これまでの研究から、HPV感染とSCCの前駆病変であるCIN各ステージの組織学的特徴および発がんリスクの関係が明らかにされ、それらを元にした効果的なスクリーニング法の開発は、SCCの減少に貢献してきた。一方で、ADCの前駆病変についての組織学的な定義は曖昧であり、有用な早期診断法は確立されていない。申請者らは、これまでに正常子宮頸部から上皮細胞を単離し不死化した正常子宮頸部上皮細胞株(human cervical keratinocytes: HCK)を10株以上作製し、それらを起源としたin vitro子宮頸がん発がんモデルを作製してきた(3)。これらHCK細胞株において、SCJ細胞のマーカー遺伝子であるcytokeratin 7(KRT7)やAGR2の発現を調べたところ、HCK1TはKRT7/AGR2共に陽性であり、p63陽性であるにもかかわらず、皮膚由来の扁平上皮細胞とは異なり、3次元培養においてほとんど重層化しなかった。すなわちHCK1Tは、p63単陽性の扁平上皮由来ではなく、SCJ細胞由来のp63/SCJ両陽性細胞であると考えられた。そこで本研究は、同一細胞からADCへの分化に関与する宿主側因子およびウイルス側因子の探索と、in vitro ADC発がんモデルの作製を目的とした。ADC in vitro発がんモデルの作製により、ADC前駆病変と進行過程の詳細解析が可能になれば、早期診断法や治療法の開発基盤となる。

### 3. 研究の方法

#### ● 細胞の樹立

以前に作製したテトラサイクリン(tet)調節性トランス活性化因子rtTAを恒常的に発現するHCK1T-tetOFF細胞に、tet発現誘導系から発現するレンチウイルスベクターを作製して感染し、細胞株を樹立した(4)。

#### ● レンチウイルスの作製

Gateway systemを用い、レンチウイルスベクターCSII-TRE-tight-16(18)E6E7-T2A-MYCT<sup>58A</sup>-KRASG<sup>12V</sup>、CSII-TRE-Tight-POU5F1-T2A-HNF4 $\alpha$ -bsd、CSII-TRE-Tight-FOXA2-puro、CSII-TRE-Tight-FOXA2-bsdを作製した。Entry vectorは、目的遺伝子のPCR増幅断片をInFusion反応により挿入してそれぞれ作製し、用いた。FOXA2、POU5F1、HNF4 $\alpha$ のcDNAは五島らの作製したヒト遺伝子ライブラリーから抽出した。作製したレンチウイルスベクターをパッケージングベクターと共にHEK293細胞に導入し、培養上清から組換えレンチウイルスベクターを回収した。

#### ● オルガノイド培養

マトリゲルバイレイヤー法により作製した細胞株を用いてオルガノイド培養を行った(10)。

#### ● 遺伝子発現解析

TCGA data(<https://cancergenome.nih.gov/>)の解析を行い、子宮頸がん腺がんにおいて、扁平上皮がんと比べて、有意に発現の高い候補遺伝子を抽出した。有意差は、Wilcoxon rank-sum testにより評価した。

#### ● Western blot

細胞溶解液を用いて抽出した総タンパクのタンパク濃度をDc assayにより測定した。同一タンパク量の細胞溶解液をLoading bufferと混合して加熱によって不活性化し、SDS-PAGEを行った。タンパクはPVDF膜に転写し、抗原特異的的一次抗体、ペルオキシダーゼ標識二次抗体を用いた化学発光法により目的タンパクの検出を行った。検出にはLAS-3000

を用い、目的タンパクの発現量は内部コントロールとして検出した vinculin の相対値として multigauge software により算出した。

● 免疫染色

オルガノイドやゼノグラフトのホルマリン固定パラフィン包埋(FFPE)を行い、組織切片を作製した。目的タンパク質の発現パターンは、組織切片を脱パラフィン、再水和後に過酸化水素処理し、加熱により抗原賦活化した後、抗原特異的一次抗体、ペルオキダーゼ標識二次抗体を用いた発色法により検出した。免疫染色後に、ヘマトキシリンによる対比染色を行った切片を包埋し、顕微鏡下にて観察した。Ki67 および p40 は、顕微鏡下で撮影した画像を ImageJ plugin Weka Segmentation を用いて定量化した。CK14, CK18, MUC5CA は、plugin IHC profiler を用いた。AB/PAS 染色は、すべての撮影画像を 0.2x0.2 inch のグリッドに分解し、総 grid 中の陽性 grid 数を算出して定量化した。有意差は student-t test または Welch's correlation coefficient に基づいて評価した。

● マウスゼノグラフト

すべての動物実験は、研究施設の審査委員会により実験計画を承諾されており、ガイドラインに沿って行った。1x10<sup>6</sup> の細胞をマトリゲルと 1:1 で混合した 100uL 溶液を、麻酔下でメスの BALB/c ノードマウス皮下にシリンジを用いて播種した。マウスは播種の 1 日前より飲水から DOX を投与した。腫瘍のサイズを 2-3 日毎にカリパーで測定し、腫瘍の体積を次の式に従って算出した。体積=(長径\*短径\*2) / 2  
腫瘍の体積が 600mm<sup>3</sup> 以上に達するか、播種後 100 日を経過したマウスは安楽死させ、腫瘍を回収した。

4. 研究成果

(1) 腺細胞への分化を誘導する宿主およびウイルス因子の探索

我々は以前に、テトラサイクリン (tet) 発現誘導系を用い、HPV16 のがん遺伝子である E6E7 および宿主がん遺伝子 RAS および c-MYC 発現の 4 因子を同時発現できるレンチウイルスベクターを作製して正常上皮細胞に導入し、これら 4 因子の同時発現は SCC 様の病理像を呈する腫瘍形成を誘導することを示した(4)。

ADC の in vitro モデル作製を目的として、子宮頸がん腺がんで出現頻度の高い遺伝子変異や高発現が報告されている分化誘導因子発現を導入し、HCK1T における扁平上皮マーカーに対する効果を検討した。HPV18 は子宮頸がんにおいて HPV16 に次いで 2 番目に多く検出され、それぞれ約 56%、11% である。一方で、ADC における検出頻度はそれぞれ約 36%、35% であり、HPV18 は ADC で特に検出頻度が高いことが知られている。近年、子宮頸がんの網羅的解析から、ADC ではがん遺伝子である KRAS の活性化型変異やがん抑制遺伝子である SMAD4 の不活性化変異が、SCC より有意に高いことが報告された(5)。そこで以前作成した

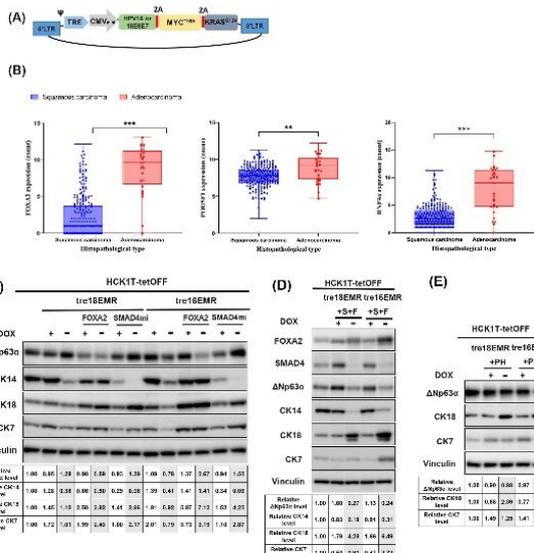


図 1: 腺細胞への分化を誘導する宿主およびウイルス因子の探索  
(A) tetOFF-E6E7-MYC-KRAS(EMR)レンチウイルスベクター。(B) TCGA データマイニングによる子宮頸がん扁平上皮がんおよび腺がんにおける転写因子発現レベルの比較。(C)(D)(E) HCK1T HPV16EMR または HPV18EMR 発現細胞における FOXA2 発現または SMAD4 を標的とする microRNA (SMAD4mi) の追加発現(C)、FOXA2 発現または SMAD4mi の 2 重追加発現(D) または POU5F1 (P) および HNF4a(H) の 2 重追加発現(E) の、扁平上皮マーカー(p63, CK14)および腺上皮マーカー(CK18, CK7)発現に対する効果。

4 因子同時発現レンチベクターを用い、HPV16E6E7 または HPV18E6E7 および KRAS<sup>G12V</sup> と c-MYC<sup>T58A</sup> の 4 因子(EMR)を tet システムから発現するベクターを作製し、HCK1T に tetOFF を予め導入した HCK1T-tetOFF 細胞に導入した(図 1(A))。この細胞では、ドキシサイクリン(DOX)非添加時において EMR の発現が誘導される。さらに SMAD4 の不活性化変異を模すため、SMAD4 を標的とする microRNA (SMAD4mi) を tet システムから発現するレンチウイルスベクターを作製した。TCGA のデータマイニングにより、ADC で発現が高く、他の臓器において細胞分化に関与することが報告されている転写因子として FOXA2、POU5F1 および HNF4a を抽出し、これら転写因子を単独あるいは 2 因子同時発現する tet ベクターを作製した(図 1(B))。HCK1T-tetOFF-16EMR または HCK1T-tetOFF-18EMR 細胞に、SMAD4mi や分化誘導候補因子発現を追加導入し、DOX 存在下および非存在下において、扁平上皮マーカーである p63 や CK14、腺上皮マーカーである CK7 や CK18 の発現を調べたところ、FOXA2 の追加発現誘導時(DOX-)には p63 発現が低下し、SMAD4mi 発現誘導時すなわち内在性 SMAD4 発現の低下時には、CK14 発現が低下した。一方で、その他の転写因子発現の導入は、これら扁平上皮マーカーの発現にほとんど影響しなかった(図 1(C)(D)(E))。P63 は、扁平上皮細胞の特性維持に中心的な役割を果たすことが知られている。以上の結果から、FOXA2 の発現上昇あるいは SMAD4 不活性化は、ADC 分化に関与する可能性が示唆された。

**(2) HCK1T-tetOFF-E6E7-KRAS-MYC のオルガノイド培養における FOXA2 や SMAD4mi 発現の効果**

上皮組織の 3 次元的な細胞分化を誘導する目的で、HCK1T-tetOFF-EMR のオルガノイド培養を行い、FOXA2 発現や SMAD4 発現低下の細胞分化に対する影響を検討した。オルガノイドのホルマリン固定パラフィン包埋(Formalin fixed paraffin embedded; FFPE)切片を作製し、H&E 染色を観察すると、HCK1T-tetOFF-EMR によるオルガノイドのほとんどは中心が詰まった球形であり、ごく一部に嚢胞様の構造が見られた。興味深いことに、FOXA2 高発現を誘導したほとんどのオルガノイドは嚢胞様構造を含んでおり、PAS/AB 染色により、ムチン陽性の粘液質であることが示された。PAS/AB 陽性オルガノイドの割合は、HPV16 E6E7 では 0%、HPV18E6E7 では約 1.6%であったが、FOXA2 発現オルガノイドでは、それぞれ約 12.5%および 13.5%であった。一方で、SMAD4mi 発現オルガノイドにおいて、PAS/AB 陽性オルガノイドの割合は非発現時と同程度であったが、FOXA2 と SMAD4mi を 2 重発現するオルガノイドでは、PAS/AB 陽性オルガノイドの割合が、HPV16E6E7 で約 26.7%、HPV18E6E7 で約 25.6%に増加した(図 2(A))。さらに、扁平上皮マーカーである p63(p40)および K14、腺上皮マーカーである MUC5AC および K18 の免疫染色では、FOXA2 発現により MUC5AC および K18 の明らかな増加が観察された。扁平上皮細胞のオルガノイドでは、細胞が内部に向かって分化し、最も外側の細胞のみが基底細胞のマーカーである p63 と K14 陽性であることが報告されている(6)。HCK1T-tetOFF-EMR のオルガノイドでは、FOXA2 や SMAD4mi の追加導入に関わらず p63 や K14 発現は全体的に陽性であった。さらに、重層扁平上皮において通常基底細胞のみで陽性が観察される細胞増殖マーカー Ki67 も同様に、FOXA2 や SMAD4mi の追加発現に関わらず全体的に陽性を示した。EMR 発現によるこのような細胞分化の抑制と細胞増殖の亢進は、in vitro SCC モデルにおいても報告されており、HPV 感染病変において発がんの初期から観察される変化と一致する。以上の結果から、FOXA2 高発現と内在性 SMAD4 発現の低下は、腺上皮への分化を誘導するが、扁平上皮の特性も維持されることが示唆された。

**(3) HCK1T-tetOFF-EMR 細胞のマウス皮下造腫瘍モデルにおける病理像**

作製した細胞を免疫抑制マウスの皮下に移植し、HCK1T-tetOFF-EMR の造腫瘍能および病理像を検討した。さらに SCC の in vivo SCC モデルとして、HCK1T-tetOFF-HPV16E6E7-HRAS-MYC 細胞 (tre16EM-HRAS) をマウス皮下に移植して同様に検討した。移植したすべての細胞は腫瘍を形成したが、DOX を飲水投与したマウスでは腫瘍形成が観察されなかったことから、腫瘍形成は 4 因子発現に依存することが示された。HCK1T-tetOFF-16EM-HRAS 細胞により形成された腫瘍は、低分化 SCC の病理学的な特徴と一致した。HCK1T-tetOFF-EMR から形成した腫瘍の病理像も大部分が SCC 様であり、ごく一部にアポトーシス様の細胞断片を有する空洞が観察された。FOXA2 の高発現あるいは SMAD4 発現低下を誘導した腫瘍では、細胞内ムチンや腺様の構造などが観察され、ADC の特徴と一致した病理像を呈した。これらの腫瘍では、MUC5AC および CK18 発現、PAS/AB 陽性細胞の有意な増加が観察され、FOXA2 および SMAD4mi の両者を追加導入した細胞では、相加的な効果が観察された。さらに、FOXA2 あるいは SMAD4mi 発現を導入した腫瘍において、扁平上皮マーカーである p63 や CK14 発現の明らかな低下が観察され、両者を導入した腫瘍では、扁平上皮マーカーの発現はほぼ完全に消失していた。一方で、Ki67 陽性細胞

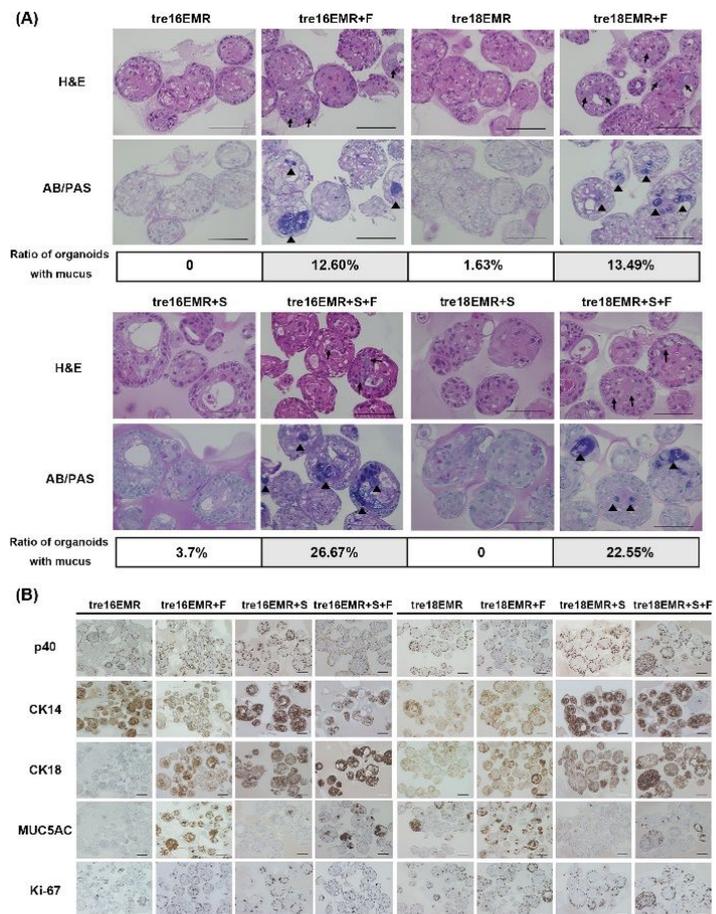


図2: オルガノイド培養におけるFOXA2やSMAD4mi発現の効果  
(A)HCK1T-tetOFF-EMR細胞およびFOXA2(+F)やSMAD4mi(S)追加発現導入細胞のオルガノイドを作成した。PAS/AB陽性オルガノイドの割合。(B)オルガノイドの免疫染色結果。

は、相加的な効果が観察された。さらに、FOXA2 あるいは SMAD4mi 発現を導入した腫瘍において、扁平上皮マーカーである p63 や CK14 発現の明らかな低下が観察され、両者を導入した腫瘍では、扁平上皮マーカーの発現はほぼ完全に消失していた。一方で、Ki67 陽性細胞

の割合は、すべての腫瘍において同程度であった(図 3)。以上の結果から、ADC は SCC と同一起源細胞から誘導可能であり、FOXA2 高発現や SMAD4 発現低下は、独立したシグナル経路を介して腺上皮への分化を誘導することが示唆された。

#### (4) 考察

本モデルは、世界初の子宮頸がん腺がんの in vitro 発がんモデルである。

FOXA2 はパイオニア転写因子として知られ、クロマチンに結合してその構造を緩め、他の転写因子の結合を促進する機能がよく知られている。胃の ADC の前駆病変であると考えられているバレット食道では、食道の扁平上皮と胃の円柱上皮境界において、扁平上皮で腺上皮化生が起こることが知られており、子宮頸部 SCJ で起こる腺上皮の扁平上皮化生と似ている。近年、食道と胃の境界部における FOXA2 発現上昇が、腺上皮化生を促すことが報告された。また、FOXA2 のコンディショナルノックアウトマウスの子宮において、腺形成が不全になることが示されている(7-8)。すなわち、子宮頸部 SCJ における FOXA2 発現の上昇は扁平上皮から腺上皮への分化を誘導し、ADC 発がんにおいて重要な役割を果たす可能性が高い。がん抑制遺伝子である SMAD4 は、TGFβ レセプターの細胞内シグナル伝達因子として機能することが知られている。

扁平上皮細胞において TGFβ は細胞増殖に抑制的に働くことが知られ、実際に TGFβ レセプターや TGFβ シグナル関連因子の多くは SCC において不活性化されていることが報告されている。一方で、発達の過程において、SMAD4 は BMP シグナルを伝達し、p63 陰性の未分化なミューラー管上皮細胞から p63 陽性の腺の扁平上皮細胞への分化を誘導し、腺の扁平上皮細胞における p63 発現の維持に重要であることが示された(9)。すなわち、ADC 発がんにおいて SMAD4 の不活性化は、間質細胞などからの BMP シグナル伝達を遮り扁平上皮の脱分化を促す可能性が考えられた。我々の作製したモデルでは、HPV16 と HPV18 で ADC 発がんにおける腺上皮への分化に差は検出されなかった。本研究では、FOXA2 の高発現などにより、HPV16 と HPV18 における ADC 指向性の違いが隠れた可能性がある。今後、異なる遺伝子変異の組み合わせを導入することにより、HPV18 が ADC で検出頻度が高いこと背景にある分子機構の解明につなげたい。

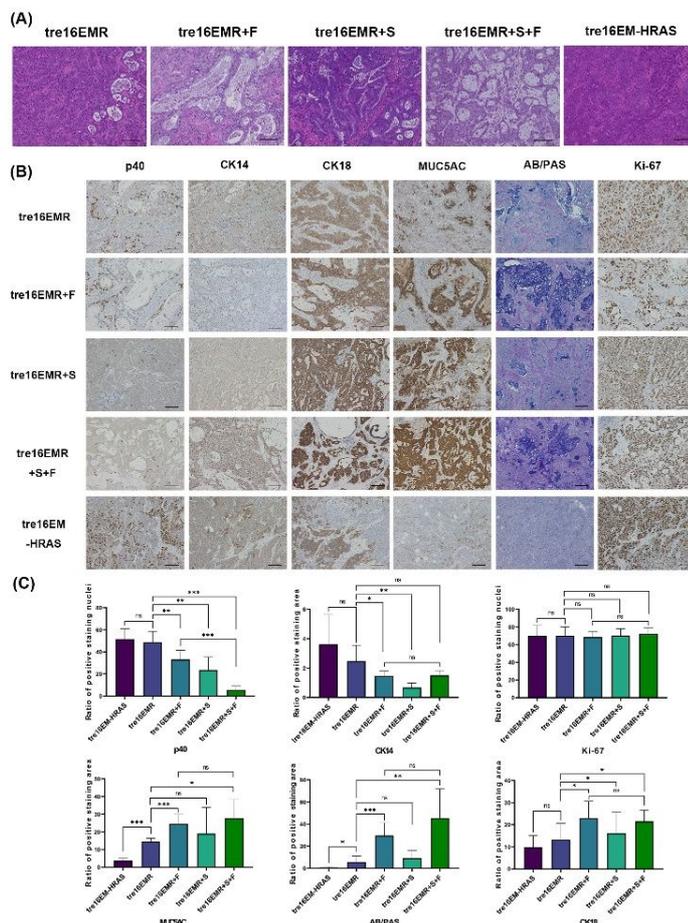


図3:HCK1T-tetOFF-EMR細胞のマウス皮下造腫瘍モデルにおける病理像  
(A)HCK1T-tetOFF-16EMR細胞をマウス皮下に移植して形成させた腫瘍のH&E染色。SCCのモデルとしてHCK1T-tetOFF-HPV16E6E7-cMYC-HRAS細胞を同様に移植して腫瘍を形成させた。HCK1T-tetOFF-16EMRにFOXA2(+F)やSMAD4mi(+S)を単独あるいは2重追加発現させた細胞も同様にマウス皮下に移植した。分化マーカーによる免疫染色およびPAS/AB染色 (B)を定量化(C)して比較した。

#### 引用文献

1. Herfs M, et al. Proc Natl Acad Sci U S A. 2012
2. Herfs M, et al. J Pathol. 2013
3. Narisawa-Saito M, et al. Cancer Res. 2008
4. Inagawa Y, et al. Carcinogenesis. 2014
5. Cancer Genome Atlas Research N, Nature. 2017
6. Chumduri C, et al. Nat Cell Biol. 2021
7. Wang DH, et al. J Clin Invest. 2014
8. Jeong JW, et al. Biol Reprod. 2010
9. Laronda MM, et al. Dev Biol. 2013
10. Matu Y, et al. Gynecol.Oncol. 2019

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Zhang Mengzhu, Kiyono Tohru, Aoki Kazunori, Goshima Naoki, Kobayashi Shin, Hiranuma Kengo, Shiraishi Kouya, Saya Hideyuki, Nakahara Tomomi	4. 巻 113
2. 論文標題 Development of an in vitro carcinogenesis model of human papillomavirus induced cervical adenocarcinoma	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 904 ~ 915
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.15246	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Hirose S, Murakami N, Takahashi K, Kuno I, Takayanagi D, Asami Y, Matsuda M, Shimada Y, Yamano S, Sunami K, Yoshida K, Honda T, Nakahara T, Watanabe T, Komatsu M, Hamamoto R, Kato MK, Matsumoto K, Okuma K, Kuroda T, Okamoto A, Itami J, Kohno T, Kato T, Shiraishi K, Yoshida H.	4. 巻 156
2. 論文標題 Genomic Alterations in STK11 Can Predict Clinical Outcomes in Cervical Cancer Patients	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Gynecologic Oncology	6. 最初と最後の頁 203-210
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ygyno.2019.10.022	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Farhana Ishrat Ghani, Kasumi Dendo, Reiko Watanabe, Kenji Yamada, Yuki Yoshimatsu, Takashi Yugawa, Tomomi Nakahara, Katsuyuki Tanaka, Hiroshi Yoshida, Masayuki Yoshida, Mitsuya Ishikawa, Naoki Goshima, Tomoyasu Kato, Tohru Kiyono	4. 巻 8
2. 論文標題 An Ex-Vivo Culture System of Ovarian Cancer Faithfully Recapitulating the Pathological Features of Primary Tumors	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cells	6. 最初と最後の頁 644
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cells8070644.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Isao Murakami, Nagayasu Egawa, Heather Griffin, Wen Yin, Christian Kranjec, Tomomi Nakahara, Tohru Kiyono, John Doorbar	4. 巻 15
2. 論文標題 Roles for E1-independent Replication and E6-mediated p53 Degradation During Low-Risk and High-Risk Human Papillomavirus Genome Maintenance	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 PLOS Pathogens	6. 最初と最後の頁 e1007755
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.ppat.1007755	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Wakae K, Nishiyama T, Kondo S, Izuka T, Que L, Chen C, Kase K, Kitamura K, Mohiuddin M, Wang Z, Ahasan MM, Nakamura M, Fujiwara H, Yoshizaki T, Hosomochi K, Tajima A, Nakahara T, Kiyono T, Muramatsu M	4. 巻 8
2. 論文標題 Keratinocyte differentiation induces APOBEC3A, 3B, and mitochondrial DNA hypermutation	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Scientific reports	6. 最初と最後の頁 9745
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-018-27930-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 Mengzhu Zhang, Tohru Kiyono, Kazunori Aoki, Tomomi Nakahara
2. 発表標題 Investigating viral and cellular factors that influence histopathological features of cervical cancer
3. 学会等名 第80回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Tomomi Nakahara
2. 発表標題 In vitro carcinogenesis model of HPV- induced cervical adenocarcinoma
3. 学会等名 The United States-Japan Cooperative Medical Sciences Program Virtual Meeting on Emerging Infectious Diseases (EID) in the Pacific Rim (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 中原 知美
2. 発表標題 Roles of SCF TrCP-mediated degradation of HPV E1 in the establishment and/or sustenance of the viral persistency.
3. 学会等名 第78回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中原 知美
2. 発表標題 Regulatory mechanisms of three phased papillomavirus genome replication in the viral life cycle: Potential roles of the proteasome in the viral latency.
3. 学会等名 第22回汎太平洋新興・再興感染症国際会議（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Tomomi Nakahara, Tohru Kiyono
2. 発表標題 Activation of NF B leads to phosphorylation-dependent degradation of HPV E1.
3. 学会等名 32st International papillomavirus conference (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中原知美、清野 透
2. 発表標題 ヒトパピローマウイルス持続感染におけるNF B依存的E1タンパク分解機構の役割
3. 学会等名 第77回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

国立がん研究センター研究所・発がん・予防研究分野 <a href="https://www.ncc.go.jp/jp/ri/division/carcinogenesis_and_prevention/viral_carcinogenesis/index.html">https://www.ncc.go.jp/jp/ri/division/carcinogenesis_and_prevention/viral_carcinogenesis/index.html</a> ヒトパピローマウイルスの生活環に基づく子宮頸がん発症機構の解析 <a href="https://www.ncc.go.jp/jp/ri/division/carcinogenesis_and_prevention/viral_carcinogenesis/project/010/index.html">https://www.ncc.go.jp/jp/ri/division/carcinogenesis_and_prevention/viral_carcinogenesis/project/010/index.html</a>
---

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------