

学 位 論 文 題 名

鼻・副鼻腔 inverted papilloma および扁平上皮癌の組織発生と
ヒトパピローマウイルスに関する分子病理学的研究

学位論文内容の要旨

I はじめに

鼻・副鼻腔に発生する inverted papilloma (IP) は比較的稀な良性腫瘍であるが、再発しやすく、また癌との合併例や再発を繰り返すうちに癌化する例がみられ、前癌病変の一つと見なされている。本腫瘍の病因は不明の点が多いが、ウイルス特にヒトパピローマウイルス (Human papillomavirus ; HPV) の感染によるとの報告も散見される。今回の研究は、IP 症例において、HPV 感染の頻度、感染状態、病理組織学的変化を retrospective に検索し、特に悪性化における HPV の関与を明らかにするとともに、鼻・副鼻腔扁平上皮癌についても HPV を分子病理学的手法を用いて検索し、これら鼻・副鼻腔腫瘍の組織発生の解明に迫ることを目的とした。

II 対象および方法

1. 対象 鼻・副鼻腔に発生した inverted papilloma 症例26例、および鼻・副鼻腔原発の扁平上皮癌40例を対象とした。鼻腔に発生した炎症性鼻茸20例を対照症例とした。
2. 免疫組織学的検索 Papillomavirus genus-specific common antigen に対する抗体 (DAKO 社)を用い、Avidin-biotin-peroxidase complex 法により免疫組織染色を施行し、HPV 抗原を検索した。
3. In situ hybridization (ISH) ^{35}S で標識した HPV type 6, 11, 16, 18DNA プローブを用いて、パラフィン切片において ISH を施行した。
4. Polymerase chain reaction (PCR) フォルマリン固定パラフィン包埋された病理材料から DNA を抽出し、HPV 16および HPV 18のトランスフォーミング活性のみられる E 6 open reading frame の一部(110塩基対)に相補的なプライマー対を使用して PCR を施行した。HPV の検出はプライマー対の中間に位置するオリゴヌクレオチドプローブを用いて、Slot blot hybridization ならびに Southern blot hybridization 法により行った。

5. 病理組織学的検討 IP 症例において、HPV 感染に特徴的な組織像とみなされている、koilocytosis の有無を検索し HPV 感染との関連を調べた。

Ⅲ 結 果

1. IP の臨床病理所見 26例中癌合併例が5例（19%）、癌化例が2例（8%）あり、合わせて7例（27%）において癌との関連がみられた。腫瘍の再発は26例中6例（23%）にみられた。

2. 免疫組織学的検索 IP 症例および扁平上皮癌症例、鼻茸症例において、免疫染色にて HPV 抗原が検出された例はみられなかった。

3. ISH IP 症例26例中3例（12%）において HPV11が検出された。これら3例は癌との関連のない症例であった。また、IP と扁平上皮癌が合併した1例の IP の部分で HPV16が検出されたが、この症例の癌の部分では明かな陽性所見が得られなかった。これら陽性所見は、RNase 前処理によっても減弱せず、DNase 前処理後の ISH では消失し、主に HPV DNA とハイブリダイズしていることが考えられた。HPV 6 および HPV18が検出された IP 症例はなかった。扁平上皮癌例、鼻茸症例ではどのタイプの HPV も明らかな陽性所見が認められなかった。

4. PCR IP の癌化例1例と癌合併例1例（ISH での HPV16陽性例）の IP および扁平上皮癌の部分の両者で HPV16が検出された。つまり癌との関連がみられた IP 7例中2例（29%）に HPV16が検出された。癌との関連のない IP および鼻茸症例では HPV16は検出されなかった。扁平上皮癌40例では、4例（10%）に HPV16が検出された。HPV18は、扁平上皮癌40例中1例（2.5%）においてのみ検出された。

5. HPV と臨床病理所見 IP の再発例6例中 HPV が検出されたのは2例（33%）であり、非再発例における HPV 検出率（15%、3/20）との間には有意差がみられなかった。また koilocytosis は IP26例中5例（19%）に認められ、また koilocytosis と HPV 感染には有意の相関がみられた。

Ⅳ 考 察

IP の病因としては、慢性炎症、アレルギーやウイルス感染などが挙げられてきたが、特定の原因は明らかにされていない。今回のわれわれの検索では、ISH 法または PCR 法を用いて26例中5例（19%）に HPV を検出できたが、欧米の報告例（57-76%）より頻度は低かった。子宮頸癌において、HPV 感染率には地域により差がみられることが指摘されており、本邦においては IP における HPV 感染頻度は他の地域より低い可能性がある。また特に、koilocytosis が認

められたが HPV が陰性であった症例では、今回検索した以外のタイプの HPV 感染による可能性もあり、今後さらに他のタイプについても同様の研究が必要であると考えられた。IP において免疫組織染色および ISH 法にて、HPV のウイルス抗原および mRNA は検出されず、ウイルス蛋白の産生は少ないことが考えられ、また HPV 感染と再発との関連もみられなかった。つまり、陰部コンジローマや喉頭乳頭腫症例では HPV 抗原や mRNA が検出され、また HPV 感染と再発が密接に関連しているが、IP の場合他の乳頭腫病変とは若干異なった感染状態にあると考えられた。そのため、このようなウイルス感染が果して IP を発症させる病因になり得るのか疑問が残る。しかし、今回コントロールとして検索した鼻茸症例では HPV は検出されないことより、HPV 感染が IP の病因として何らかの役割を果たしている症例が少なからずあることは確かであると考えられた。HPV のあるタイプでは癌化と密接な関連があることが判明しており、子宮頸癌では HPV16, 18 が検出される率が高いが、IP の悪性化における HPV の関与についてはまだ解明されていない。今回、IP 症例において HPV16 が検出されたのは癌との関連がみられた症例のみであり、HPV16 は本腫瘍の悪性化に関与する因子の一つと考えられた。また、PCR 法により HPV16, 18 が、鼻・副鼻腔原発の扁平上皮癌においても頻度は低いが出され、その組織発生において HPV が関わっている症例があることを明らかにできた。しかし、これらの良性腫瘍の悪性化ならびに発癌の機序は、HPV のみならずさらに種々の癌遺伝子の活性化、癌抑制遺伝子の異常などが関与していることが考えられ、今後の検討が必要であると考えた。

V 結 語

1. 鼻・副鼻腔 inverted papilloma において、HPV11 または HPV16 が感染している症例がみられたが、腫瘍の再発との関連は認められなかった。
2. 癌との関連がみられた IP 症例において、HPV16 がその悪性化に関与している症例があることが示された。
3. 鼻・副鼻腔原発の扁平上皮癌において、頻度は低いが出され、その癌化に関わる因子の一つと考えられた。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 犬 山 征 夫

副 査 教 授 葛 巻 暹

副 査 教 授 大 里 外 啓 郎

目 的) 鼻・副鼻腔に発生する inverted papilloma (IP) は比較的稀な良性腫瘍であるが、再発しやすく、また癌との合併例や再発時に癌化する例がみられ前癌病変の一つと見なされている。本腫瘍の病因は不明の点が多いが、ウイルス特にヒトパピローマウイルス (Human papillomavirus ; HPV) の感染によるとの報告も散見される。今回の研究は、IP 症例において、HPV 感染の頻度、感染状態、病理組織学的変化を検索し、特に悪性化における HPV の関与を明らかにするとともに、鼻・副鼻腔扁平上皮癌についても HPV を分子病理学的手法を用いて検索し、これら鼻・副鼻腔腫瘍の組織発生の解明に迫ることを目的とした。

対象および方法) 鼻・副鼻腔に発生した inverted papilloma 症例26例、および扁平上皮癌40例を対象とした。鼻腔に発生した炎症性鼻茸20例を対照症例とした。免疫組織学的には Papillomavirus genus-specific common antigen に対する抗体を用い、ABC 法により免疫組織染色を施行し HPV 抗原を検索した。また、³⁵S で標識した HPV type 6, 11, 16, 18 DNA プローブを用いて、in situ hybridization (ISH) 法により HPV 核酸を検索した。さらに、癌との関連が深い HPV16, 18については、高感度核酸検出法である Polymerase chain reaction (PCR) による解析を加えた。病理組織学的には、IP 症例において koilocytosis の有無を検索し HPV 感染との関連を調べた。

結果と考察) IP 26例中癌合併例が5例 (19%)、癌化例が2例 (8%) あり、合わせて7例 (27%) において癌との関連がみられた。腫瘍の再発は26例中6例 (23%) にみられた。免疫組織学的には、HPV 抗原が検出された例はみられなかった。ISH では、IP 26例中3例 (12%) において HPV11が検出された。みれら3例は癌との関連のない症例であった。また、癌合併例1例で HPV16が検出された。ISH による陽性所見は、RNase 前処理によっても減弱せず、DNase 処理後の ISH では消失し、主に HPV DNA とハイブリダイズしていることが考えられた。HPV 6 および HPV18が検出された IP 症例はなかった。扁平上皮癌症例、鼻茸症例ではどのタイプの HPV も明らかな陽性所見が認められなかった。PCR では、IP の癌化例1例と癌合併例1例 (ISH での HPV16陽性例) の IP および扁平上皮癌の部分の両方で HPV16が検出された。

つまり癌との関連がみられた IP 7 例中 2 例(29%)に HPV16が検出された。癌との関連のない IP および鼻茸症例では HPV16は検出されなかった。扁平上皮癌40例では 4 例(10%)に HPV16 が検出された。HPV18は、扁平上皮癌40例中 1 例(2.5%)においてのみ検出された。IP の再発例 6 例中 HPV が検出されたのは 2 例(33%)であり、非再発例における HPV 検出率(15%, 3/20)との間には有意差がみられなかった。また koilocytosis は IP26例中 5 例に認められ、また koilocytosis と HPV 感染には有意の相関がみられた。

本研究においては、ISH 法または PCR 法を用いて26例中 5 例(19%)に HPV を検出できたが、欧米の報告例(57-76%)より頻度は低かった。子宮頸癌において、HPV 感染率には地域により差がみられることが指摘されており、本邦においては IP における HPV 感染頻度は他の地域より低い可能性があると考えられた。しかし、koilocytosis が認められたが HPV が陰性であった症例では、今回検索した以外のタイプの HPV 感染による可能性もあり、今後さらに他のタイプについても同様の研究が必要であると考えられた。IP において免疫染色および ISH 法にて、HPV 抗原および mRNA は検出されず、ウイルス蛋白の産生は少ないことが考えられ、他の乳頭腫病変と異なり productive な感染ではないことが推定された。また HPV 感染と再発との関連もみられなかった。HPV16, 18は子宮頸癌で高率に検出され、癌化と密接な関連があることが判明しているが、IP の悪性化における HPV の関与についてはまだ解明されていない。今回、IP 症例において HPV16が検出されたのは癌との関連がみられた症例のみであり、HPV 16は本腫瘍の悪性化に関与する因子の一つと考えられた。また、PCR 法により HPV16, 18が鼻・副鼻腔原発の扁平上皮癌においても頻度は低い検出され、その組織発生において HPV が関わっている症例があることを明らかにできた。しかし、これら良性腫瘍の悪性化ならびに発癌の機序は、HPV のみならずさらに種々の癌遺伝子の活性化、癌抑制遺伝子の異常などが関与していることが考えられ、今後の検討が必要であると考えた。

口頭発表に際し葛巻教授より PCR 法のプライマーの位置による検出頻度の差、HPV33型の関与、IP の多発性との関連について質問がなされたが発表者はおおむね妥当な解答をしたと思われた。また大里教授、葛巻教授より個別審査を受け、それぞれ結構の旨のお返事を頂いた。

以上、本研究は鼻・副鼻腔 inverted papilloma と扁平上皮癌の組織発生におけるヒトパピローマウイルスの関連を分子病理学的に明らかにしたものであり学位論文に値すると判断された。