

学位論文題名

ヒトパピローマウイルス (HPV) 型別検査と  
子宮頸部上皮内腫瘍 (CIN) の管理方針の検討

学位論文内容の要旨

【背景と目的】子宮頸癌の罹患率は低下傾向にあったが、近年になって減少傾向が鈍化し将来的には増加へ転じると推測されている。特に若年層における罹患率の急激な増加が認められている。子宮頸癌の原因が HPV の持続感染であることが明らかにされ、15 種 (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68, 73 型) が癌化と関連するハイリスク型とされている。特に 16 型, 18 型は他の HPV 型よりも癌進展率が高いことが示されている。細胞診判定結果の報告様式は 2008 年に従来のパパニコロウ分類から米国のベセスダシステム 2001 を取り入れた新しい様式に改定された。軽度の細胞診異常はその程度により ASCUS (atypical squamous cells of undetermined significance), LSIL (low-grade squamous intraepithelial lesions) と記載し、より高度の細胞診異常は ASC-H (atypical squamous cells: can not exclude HSIL), HSIL (high-grade squamous intraepithelial lesions), AIS (adenocarcinoma in situ) と記載される。浸潤癌 (扁平上皮癌・腺癌) はそれぞれ squamous cell carcinoma, adenocarcinoma と記載される。LSIL は軽度異形成 (CIN1: cervical intraepithelial neoplasia 1) や HPV 感染を推定組織診断とするものであり、HSIL は中等度異形成 (CIN2) および高度異形成・上皮内癌 (CIN3) に対応し、AIS は腺上皮内癌を推定診断とするものである。わが国ではベセスダシステム, HPV 検査を導入することが遅れていたため、細胞診異常が認められた場合に HPV 型別検査をどのように用いるかについてこれまでに十分な議論がなされていない。治療対象となる CIN3 あるいはそれ以上の病変への進展に関与する HPV を型別に検討し、細胞診と HPV 検査を組み合わせ新たな管理指針を作成することを目的とした。

【対象と方法】1987 年以降に北海道対がん協会を検診目的に受診し、初回細胞診で ASCUS, LSIL, HSIL と診断され、観察期間中の 2000 年 4 月から 2008 年 3 月に HPV タイピング検査のインフォームドコンセントが得られた 1786 症例 (ASCUS: 73 例, LSIL: 1048 例, HSIL: 665 例) を対象とした。本研究では従来の細胞診判定 (パパニコロウ分類) をベセスダシステムによる表記に変換して検討を行った。細胞診検体採取時に HPV 検査用の細胞を回収し日本における頸癌と関連の深い 7 種類のハイリスク (hr)-HPV 型分析 (16, 18, 31, 33, 35, 52, 58 型) を施行した。まず 5 種類 (16, 18, 31, 52, 58 型) の hr-HPV 型分析は E6, E7 領域に設定した型特異的 primer を用いて PCR を行った。5 種類の型特異的 PCR が陰性の場合、多種類の HPV に共通の consensus primer を用いて PCR 法を施行した。consensus primer を用いた PCR で陽性の場合には 2 種 (33, 35 型) hr-HPV について、PCR 増幅産物を制限酵素断片型 RFLP (restriction fragment length polymorphism) にて型判定した。7 種類の型識別ができた症例を hr-HPV(+), consensus primer による PCR 陽性だが RFLP で型識別ができなかった症例を unclassified-HPV(+), consensus primer による PCR 陰性の症例を HPV negative とした。

検出された hr-HPV の型と CIN2 以下の病変から病理組織学的に確認された CIN3 あるいはそれ以上への進展率との関連を検討した。

【結果】ASCUS, LSIL, HSIL, AIS の細胞診異常例 1786 例のうち、初回細胞診で HSIL を認め、直ちに施行したコルポスコピーおよび生検にて病理組織学的に CIN3 あるいはそれ以上の病変が発見された 196 例を除いた 1590 例から、267 例が経過観察中に CIN3 あるいはそれ以上に進展した。hr-HPV(+) 例の 35.7% (194/543), unclassified HPV(+) 例の 19.3% (32/166), HPV negative 例の 4.7% に進展が見られ、hr-HPV(+) 例の進展率は他の 2 群と比して有意に高率であった (いずれも  $p < 0.0001$ )。病変の程度別にみると、ASCUS の 73 例からは 1 例の進展もなかった。LSIL の 1048 例中 30 例で進展が見られ、30 例中 29 例 (96.7%) が hr-HPV 陽性であった。さらに型別で検討すると、hr-HPV の中で 16, 18, 33 型陽性(A 群) 125 例中の 19 例が進展しており、5 年累積進展率は 32% であった。31, 35, 52, 58 型陽性(B 群) 135 例では 10 例が進展し、5 年累積進展率は 8% であり、A 群が B 群に比較して有意に高率に進展していた ( $p = 0.002$ )。進展までの期間の中央値は A 群: 20 か月、B 群: 86 か月であり、A 群で有意に短かった ( $p = 0.012$ )。HSIL469 例から 237 例が進展した。hr-HPV の中で 5 年累積進展率は A 群: 62%, B 群: 44% であり、B 群に比べ A 群は有意に高率であった ( $p = 0.0002$ )。進展する期間の中央値は A 群: 13.5 か月、B 群: 42 か月で A 群が有意に短期間に進展していた ( $p = 0.003$ )。

【考察】我が国では細胞診異常が認められた場合に定期的な細胞診を施行し、HSIL と判定された場合はコルポスコピーでの陽性部位を生検する。組織学的に CIN2 と診断された場合は経過観察し、CIN3 の場合はさらに診断的円錐切除を施行している。米国ではコルポスコピーで CIN2 以上が疑われた場合はすぐ円錐切除などの治療対象としている施設が多い。しかし近年若年での頸部上皮内病変の増加が認められており、手術的治療による不妊や流産増加の可能性の点からも CIN2 全例に治療を行うのは過剰であると考えられる。また生検のみにおける過小評価も考慮し CIN2 症例の中から進展の高リスクグループを抽出して個別化した管理方針を確立することが重要である。この観点からも、本研究において頸部上皮内病変の進展リスク (進展率と進展期間) の評価に HPV 型別検査の有用性を示すことができた意義は大きいと考えられる。

【結論】細胞診異常例からの進展は hr-HPV の有無とその型に依存しており、その進展までの期間は 16 型、18 型、33 型で短かった。細胞診異常例に HPV 検査を行うことは、そのフォローアップ計画および治療介入決定のトリアージに有用な情報を与えると考えられる。

# 学位論文審査の要旨

主 査 教 授 櫻 木 範 明  
副 査 教 授 近 藤 哲  
副 査 教 授 瀬 谷 司

学位論文題名

## ヒトパピローマウイルス (HPV) 型別検査と 子宮頸部上皮内腫瘍 (CIN) の管理方針の検討

本研究は、子宮頸部上皮内腫瘍 (cervical intraepithelial neoplasia: CIN) の管理における HPV 型別検査の有用性を検討したものである。対象は子宮頸がん検診にて細胞診異常が発見された女性で、CIN3 (高度異形成、上皮内癌) および浸潤癌を除いた、CIN2 (中等度異形成) 以下の病変を有する1590名である。経過観察期間中の2000年4月から2008年3月に、インフォームドコンセント取得のうえ、細胞診検体を用いて、わが国における子宮頸癌と関連が深く、ハイリスク型とされている7種類の HPV (16、18、31、33、35、52、58) について型別検査を行った。その結果、7種の HPV のうち、16、18、33型はその他の HPV 型あるいは HPV 陰性例と比較して、高率に、短期間に CIN が進展するリスク因子であることが明らかになった。CIN1 (軽度異形成) から治療対象である CIN3 以上の病変への5年累積進展率は16、18、33型で32%、その他のハイリスク HPV で8%であり、両者の間に有意差を認めた ( $p=0.002$ )。進展までの期間中央値も前者で20か月、後者で86か月であり有意差があった ( $p=0.012$ )。CIN2 (中等度異形成) から CIN3 以上の病変への5年累積進展率は16、18、33型で62%、その他のハイリスク HPV で44%であり、16、18、33型が有意に高率であった ( $p=0.0002$ )。また、進展までの期間も前者で13.5か月、後者で42か月であり有意に短期間で進展していた ( $p=0.003$ )。

公開發表終了後、副査の近藤教授から、1) 一般的にハイリスク型とされている13種の HPV のうちの7種について検討を行ったことの妥当性、2) HPV 型と他のリスク因子を組み合わせ管理の新しいアルゴリズムを作成することについて、3) 現在用いられている HPV ワクチンがカバーする HPV 型について質問があった。副査の瀬谷教授からは、1) 進展リスクの高い HPV の E6、E7 について、他の HPV との分子生物学的な差違および炎症反応を惹起する作用の違い、2) E6、E7 が将来のワクチンの標的になりうるか、3) 多価ワクチンの開発について質問があった。主査の櫻木教授から、1) 従来フォローアップとされていた CIN2 (中等度異形成) について HPV 型によって治療介入の個別化ができるようになることの評価、2) 中等度異形成などに円錐切除術を行った

流早産率への影響について質問があった。公開発表参加者からは、1) 年齢と進展リスクの高い HPV 検出率との関連、2) 重複感染と進展率について質問があった。これらの質問に対して、申請者は自身のこれまでの研究成績や文献的情報をもとに概ね妥当な回答をなした。審査員からは HPV 型と子宮頸部上皮内病変との関連を明らかにした今回の研究成果をもとに、子宮頸部上皮内病変の管理指針をわが国の HPV 型別分布の実状をもとにして公表していくこと、新しいワクチン開発や分子標的治療へむけた研究への発展への期待が述べられた。

本論文は、多数例の長期間にわたるフォローアップ結果をもとに、ハイリスク型とされている HPV の中で、16, 18, 33 型の進展リスクが特に高いことを示したものである。このことは子宮頸部上皮内病変の進展リスク（進展率と進展期間）の評価に HPV 型別検査が有用であることを明確に示したものであり、近年若年女性に増加の著しい子宮頸がんの予防と早期治療の必要性の観点から高く評価される。今後、HPV 型別検査を組み入れた子宮頸部上皮内病変の管理アルゴリズムの確立による管理方針の個別化や新しい治療法の開発へ向けた研究へ発展することが期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。