

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 28 年 6 月 18 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25462585

研究課題名(和文) 子宮頸癌におけるHPV型別の病態解析：新たな疾患概念の確立を目指して

研究課題名(英文) Associations between human papillomavirus (HPV) types and clinical features of invasive cervical cancer

研究代表者

松本 光司 (MATSUMOTO, Koji)

筑波大学・医学医療系・准教授

研究者番号：30302714

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、Ib期以上の子宮頸癌260例を対象にHPV型別の病態解析を行った。Ib期以上の症例においてHPV16陽性患者ではそれ以外の群と比較して有意に予後良好であった。現在、論文投稿準備中である。その他の研究成果として1) コルポスコピー検査では見逃しを減らすために少なくとも2個以上の生検を行うこと、2) HPVタイプング検査によってただちにコルポスコピーを必要としない低リスクの患者を区別できること、3) HLA Class II DRB1\*1302保有者ではCIN2/3への進展リスクが低いこと、4) CIN2/3治療後の病変残存・再発の検出にHPV検査が有用であることを各々報告した。

研究成果の概要(英文)：In the present study, HPV type-specific data from 260 women with FIGO Ib1-IVB cervical cancer suggested that HPV16 positivity may be an independent predictor of favorable survival in invasive cervical cancer. This finding is prepared for submission. Also, we have reported the following findings: 1) At least two colposcopy-directed biopsies should be taken for histological diagnosis. 2) Of women with LSIL cytology, those testing negative for at least eight of the highest-risk types of HPV (HPV16/18/31/33/35/45/52/58) may not need immediate colposcopy and biopsy. 3) HLA Class II DRB1\*1302 allele may have a protective effect against progression from CIN1 to CIN2/3 and 4) HPV testing was more sensitive than cytology in detecting posttreatment CIN 2+, and had an equal specificity compared with cytology.

研究分野：婦人科腫瘍学

キーワード：子宮頸癌 HPV CIN LSIL HSIL HLA colposcopy cytology

### 1. 研究開始当初の背景

ヒトパピローマウイルス (HPV) の持続感染は子宮頸癌発症の最大のリスク因子である。発癌性 HPV の持続感染から前癌病変 (CIN: cervical intraepithelial neoplasia) を生じ、ごく一部のみが子宮頸癌へ進展する。したがって、CIN を見逃しなく診断し、進展リスクの高い前癌病変を見分けることが重要である。我々のグループは CIN の進展リスクを評価するために HPV タイピングが有用であることを報告した。さらに精度の高い CIN 管理のためには HPV タイプ以外の新しい指標が必要である。また、HPV18 型陽性の子宮頸癌は予後が悪いとの報告が散見される。子宮頸癌を発症した患者において HPV タイピングは病態や予後、治療効果を演繹するバイオマーカーとして有用かもしれない。

### 2. 研究の目的

- (1) 子宮頸がん二次検診 (コルポスコピー) において CIN 病変を見逃しなく効率よく診断するために、子宮頸がん検診陽性者 (細胞診陽性者) に対する二次検診 (コルポスコピー) において生検の取り方・HPV タイピングの有用性について検討すること
- (2) CIN 進展リスクの新たな指標として HLA タイプを検討すること
- (3) 高度前癌病変 (CIN2/3) 治療後の残存・再発病変を診断することにおける HPV 検査の有用性を検討すること
- (4) 頸癌の予後や治療効果を演繹するバイオマーカーとしての HPV タイピングの有用性を検討すること

### 3. 研究の方法

- (1) 子宮頸部細胞診異常を指摘されて 2 次検診病院を受診した患者 427 名を対象に、少なくとも 2 カ所以上からの十分な数の生検 (頸管内搔爬を含む) と HPV タイピング検査を行い、その臨床データを解析した。427 名 (LSIL 214 名、HSIL 184 名、ASC-H 29 名) を細胞診の結果から軽度細胞診異常 LSIL 群と高度細胞診異常 HSIL/ASC-H 群の 2 群に分けて解析を行った。子宮頸癌からの検出頻度がとくに高い 2 タイプ (HPV16/18)、子宮頸癌の 9 割以上を占める 8 タイプ (2 タイプ+HPV31/33/35/45/52/58) 発癌性 HPV 全 13 タイプ (8 タイプ+HPV39/51/56/59/68) を HPV タイピング検査によって区別する場合に CIN3+ と診断されるリスクを解析した。
- (2) 日本人女性 1253 例 (健康人女性 341 例・CIN1 患者 505 例・CIN2-3 患者 96 例・頸癌症例 311 例) の HLA データを解析した。このうち、CIN1/2 症例 440 名については 4 ヶ月毎に細胞診とコルポスコピーにてフォローアップし、CIN3 への進展に関するデータを得た。
- (3) CIN2-3 治療後のフォローアップにおける HPV 検査の有用性を検討している 1996

から 2013 年までの論文 33 編からのデータ (n=5319) を基にメタ解析を行った。

(4) 1b1 期以上の頸癌患者 260 名を対象にクリニチップ HPV キットを用いて HPV タイピング検査が行い、HPV16 陽性患者 (N=124)・HPV18 陽性患者 (N=55)・HPV16/18 陰性患者 (N=81) の 3 群に分類して予後調査も行い、HPV 型別の病態解析を行った。

### 4. 研究成果

#### (1) 子宮がん 2 次検診精度向上のための臨床研究 [論文 3, 4]

コルポスコピー下生検に関する検討は 225 例からの 827 個の生検を解析した。CIN2 以上と診断された患者 167 名のうち、1 個目の狙い生検で診断できた割合は 78.1% であった。2 個目の狙い生検で診断できた割合は 16.5% で、2 個目までの狙い生検で 94.5% が診断できた。3 個目の狙い生検、ランダム生検、頸管内搔爬を加えることによって新たに診断できた割合は各々 1.8%、1.2%、2.4% であった。ランダム生検は軽度細胞診異常の患者で、頸管内搔爬は 40 歳以上の患者で診断率が有意に上昇した。以上の結果から、コルポスコピー下生検は少なくとも 2 個以上の狙い生検を行うことが勧められることを報告した。また、ランダム生検や頸管内搔爬は特定の患者では有効であると考えられた。

次に HPV タイピング検査の有用性について検討した。CIN3 以上の病変 (CIN3+) と診断されるリスクは HSIL/ASC-H 群 (56.3%) では LSIL 群 (11.7%) よりも有意に高かった。LSIL 群において、2 タイプ陽性率は 29.4%、8 タイプ陽性率は 58.9%、13 タイプ陽性率は 74.8% であった。CIN3+ と診断される絶対リスクは、2 タイプ陽性者で 20.6% (95% 信頼区間 12.5-32.2)、8 タイプ陽性者で 19.8% (同 13.8-27.6)、13 タイプ陽性者で 15.6% (同 10.8-22.0) であった。一方、陰性の場合の CIN3+ リスクは 2 タイプ陰性者で 7.9% (95% 信頼区間 4.6-12.4)、8 タイプ陰性者で 0.0% (同 0.0-4.2)、13 タイプ陰性者で 0.0% (同 0.0-6.6) であった。

HSIL/ASC-H 群では、2 タイプ陽性率が 43.7%、8 タイプ陽性率が 85.4%、13 タイプ陽性率は 91.1% であった。CIN3+ と診断される絶対リスクは、2 タイプ陽性者で 66.7% (95% 信頼区間 56.6-75.4)、8 タイプ陽性者で 59.3% (同 52.1-66.2)、13 タイプ陽性者で 57.7% (同 50.7-64.5) であった。一方、陰性の場合の CIN3+ リスクは、2 タイプ陰性者で 48.3% (95% 信頼区間 39.6-57.2)、8 タイプ陰性者で 38.7% (同 23.7-56.2)、13 タイプ陰性者でも 42.1% (同 23.1-63.7) であった。以上の結果から、LSIL 群では 8 タイプ陰性であれば CIN3+ であるリスクは極めて低く、これらの症例では直ちにコルポスコピーおよび生検を行う必要がないと考えられた。LSIL の約 40% が 8 タイプ陰性であることから、HPV

タイプ検査は LSIL 患者のコルポスコピー下生検を 40%減らすことが可能である。一方、HSIL/ASC-H 群では、2 タイプ・8 タイプ・13 タイプのいずれが陰性であっても、CIN3+ であるリスクは 35%以上と高く、HPV タイピング検査の結果によってコルポスコピー下生検を省略することは出来ないと考えられた。

(2) **CIN 進展と HLA の関連 [論文 2]**: 健常人女性/CIN1 患者と CIN2-3/頸癌患者の 2 つの群におけるアリル頻度から CIN2 以上の病変への進展リスクを推定した。海外において進展リスクを上昇させると報告されている HLA class DQB1\*03 アリルや DRB1\*1502 アリルは、日本人を対象とした本研究では全くリスクを上昇させなかった。一方、これまで海外においてリスクを減少させると報告されている DRB1\*1302 アリルでは、日本人においても統計的に有意に CIN2 以上の進展リスクを減少させることを確認した。DRB1\*1302 のアリル頻度は、健常人 (11.7%) と CIN1 患者 (11.9%) では全く差が見られなかったが、CIN2-3 患者 (5.2%) や頸癌患者 (5.8%) では有意に低かった。LSIL 患者のコホート研究においても、DRB1\*1302 アリル陽性者では CIN3 への進展は一例も見られず、DRB1\*1302 アリルが CIN3 への進展リスクを有意に減少させるアリルであることを世界で初めて前方視的に示した (P=0.03)。

(3) **CIN 治療後の HPV 検査の有用性に関する検討 [論文 1]**: CIN2/3 治療後の残存・再発病変を検出する感度は、HPV 検査 (92%, 95%信頼区間: 90-95%) の方が従来行われている細胞診 (76%, 95%信頼区間 71-80%) よりもずっと高かった。一方、CIN2/3 治療後の残存・再発病変を検出する特異度は HPV 検査 (83%, 95%信頼区間 82-84%) と細胞診 (85%, 95%信頼区間 84- 87%) で同等であった。両者の併用した場合、感度 (93%, 95%信頼区間 87-96%) は HPV 検査単独よりもやや上昇したが、特異度 (76%, 95%信頼区間 75-78%) は大きく低下した。子宮頸部切除断端陽性の患者で、CIN2/3 治療後の残存・再発病変のリスクは HPV 検査陽性の場合 (74.4%, 95%信頼区間 64-83%) と HPV 検査陰性の場合 (0.8%, 95%信頼区間 0.1- 4.6%) のあいだで大きな差を認めた (P<0.001)。HPV 検査は従来の細胞診よりも感度はよく特異度は同等であったことから、CIN2/3 治療後のフォローアップに HPV 検査を取り入れるべきと報告した。とくに、切除断端陽性の患者については病変残存・再発のリスク評価に有用であると考えられた。

(4) **子宮頸癌における HPV 型別病態解析 [論文準備中]**: 頸癌患者の平均年齢は HPV16 陽性患者 (47.4 歳 ± 13.0) と HPV18 陽性患者 (46.0 歳 ± 11.2) では HPV16/18 陰性患者 (53.5 歳 ± 14.7) と比較して有意に若かった (各々 P=0.003, P=0.002)。各群のあいだで臨床進行期には差が認められなかったが、腺癌などの非扁平上皮癌の割合は HPV18 陽性患者

(60.0%) では HPV16 陽性患者 (21.8%) や HPV16/18 陰性患者 (27.2%) と比較して格段に高かった (P<0.0001)。血清腫瘍マーカーでは、SCC 陽性率は HPV16 陽性患者で有意に高く (P=0.001)、CA125 と NSE の陽性率は HPV18 陽性患者で有意に高かったが (各々 P=0.01, P=0.01)、CEA と CA19-9 の陽性率については差を認めなかった。しかしながら、血清 SCC の陽性率は HPV16 陽性患者、HPV18 陽性患者、HPV16/18 陰性患者の各々の群で扁平上皮癌と非扁平上皮癌とのあいだで統計的に有意差があり、HPV 型よりも組織型を反映しているものと考えられた。期以上の症例における 5 年無増悪生存率 (5y-PFS) を解析すると、HPV16 陽性患者ではそれ以外の群と比較して有意に予後良好であった (5y-PFS: 75.8% vs. 49.6%, P=0.001)。組織型で比較した場合、扁平上皮癌が腺癌などの非扁平上皮癌よりも予後がよかったが、統計的有意差は見られなかった (5y-PFS: 65.3% vs. 53.9%, P=0.22)。このことは、HPV 型の方が組織型よりも明確に予後を推定できることを示した。HPV16 陽性は扁平上皮癌では有意な予後良好因子であったが (図 1A, 5y-PFS: 78.4% vs. 48.6%, P=0.001)、腺癌などの非扁平上皮癌では予後良好因子とはならなかった (図 1B, 5y-PFS: 58.3% vs. 46.6%, P=0.63)。扁平上皮癌と非扁平上皮癌のあいだで予後に差があるのは HPV16 陽性癌のみで、HPV18 陽性癌や HPV16/18 陰性癌では扁平上皮癌も腺癌も予後に差が見られなかった (図 1)。手術療法がほとんどを占める 1b1-1b2 期では HPV16 陽性、HPV18 陽性、HPV16/18 陰性患者の群のあいだで予後に差が見られなかったが、CCRT が主治療となる期以上の症例において HPV16 陽性癌はとくに予後がよかった (5y-PFS: 67.4% vs. 38.0%, P=0.02)。

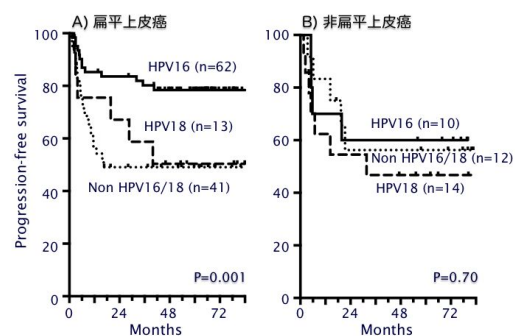


図1. II期以上の頸癌156例の予後 (無増悪生存率)

放射線療法 (もしくは同時化学放射線療法) が治療の主体となる III 期以上の症例で HPV16 陽性癌の良好な予後は際立っており、HPV16 陽性頸癌では放射線治療や化学療法に対して感受性の高い癌が多いと考えられた。この成果は現在英文論文を準備中である。HPV16 陽性癌では扁平上皮癌が多く予後がよいことがわかったが、そのメカニズムの解明が今後の課題である。

5. 主な発表論文等  
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 4 件)

Onuki M, Matsumoto K, Sakurai M, Ochi H, Minaguchi T, Satoh T, Yoshikawa H. Post-treatment HPV testing for residual or recurrent high-grade cervical intraepithelial neoplasia: a pooled analysis. J Gynecol Oncol 2016; 27: e3. doi: 10.3802/jgo.2016.27.e3 査読有

Matsumoto K, Maeda H, Oki A, Takatsuka N, Yasugi T, Furuta R, Hirata R, Mitsunashi A, Kawana K, Fujii T, Iwata T, Hirai Y, Yokoyama M, Yaegashi N, Watanabe Y, Nagai Y, Yoshikawa H. Human leukocyte antigen class II DRB1\*1302 allele protects against cervical cancer: at which step of multistage carcinogenesis? Cancer Sci 2015; 106: 1448-54. doi: 10.1111/cas.12760 査読有

Nakamura Y, Matsumoto K, Satoh T, Nishide K, Nozue A, Shimabukuro K, Endo S, Nagai K, Oki A, Ochi H, Morishita Y, Noguchi M, Yoshikawa H. HPV genotyping for triage of women with abnormal cervical cancer screening results: a multicenter prospective study. Int J Clin Oncol 2015; 20: 974-81. doi: 10.1007/s10147-015-0789-4 査読有

Nakamura Y, Matsumoto K, Satoh T, Nishide K, Nozue A, Shimabukuro K, Endo S, Nagai K, Oki A, Minaguchi T, Morishita Y, Noguchi M, Yoshikawa H. Optimizing biopsy procedures during colposcopy for women with abnormal cervical cancer screening results: a multicenter prospective study. Int J Clin Oncol. 2015; 20: 579-85. doi:10.1007/s10147-014-0739-6 査読有

〔学会発表〕(計 2 件)

松本光司、シンポジウム 2 (腫瘍) 子宮頸部腫瘍の病態に関する新知見－診断・治療法の開発に向けて－「CIN 進展リスクの新たな指標の探索と子宮頸癌における病態バイオマーカーとしての HPV タイプ」、第 67 回日本産科婦人科学会学術講演会、2015 年 4 月 11 日 パ

シフィコ横浜 (横浜市)

Onuki M, Matsumoto K, Nakao S, Sakurai M, Ochi H, Minaguchi T, Satoh T, Yoshikawa H., Human papillomavirus (HPV) testing for women treated for CIN2/3 predicts recurrent or residual diseases, 15<sup>th</sup> Biennial meeting of the International Gynecologic Cancer Society, November 9, 2014 (Melbourne, Australia)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松本 光司 (MATSUMOTO, Koji)  
筑波大学・医学医療系・准教授  
研究者番号：30302714

(2) 研究分担者

( )

研究者番号：

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：