

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 2 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26861377

研究課題名(和文) 穿刺吸引検体におけるヒトパピローマウイルスの検索

研究課題名(英文) Human papillomavirus in fine needle aspirate sample

研究代表者

安井 俊道 (Yasui, Toshimichi)

大阪大学・医学(系)研究科(研究院)・招へい教員

研究者番号：90646150

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,400,000円

研究成果の概要(和文)：頭頸部にできる嚢胞性疾患の良悪性の鑑別に、内容物を吸引した検体の中にヒトパピローマウイルスが存在するかどうかを判定することが有用ではないかということを検討した。症例数が少なかったために、統計的な評価には至っていないが、悪性腫瘍でのみヒトパピローマウイルスが検出された。嚢胞性疾患の内容物を吸引した検体のヒトパピローマウイルスの有無の検討が疾患の良悪性の推測に有用である可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：We investigate human papillomavirus in fine needle aspirate sample to diagnose cyst in head and neck. Sample size is small to find significant relationships from the data. However, human papillomavirus was found only in sample from cancer. It suggest that it is useful for diagnosis of cancer or benign disease.

研究分野：耳鼻咽喉科

キーワード：ヒトパピローマウイルス

### 1. 研究開始当初の背景

頭頸部癌には喫煙と飲酒が大きく関与していることはよく知られている。しかし、欧米では喫煙率の低下に伴い頭頸部癌全体の症例数は減少しているにもかかわらず、中咽頭癌の罹患率が上昇していることと中咽頭癌の治癒率が向上しているということなどから、中咽頭癌に分子生物学的な変化が起きていると言われていた。近年、ヒトパピローマウイルス(HPV)が中咽頭癌の原因となっているという報告がなされ、欧米では、80%以上の中咽頭癌が HPV 関連癌であることが報告されている。HPV 関連頭頸部癌は治癒率もよいと言われており、HPV 関連中咽頭癌は他の非 HPV 関連頭頸部癌とは別にして考えていく必要がある。一方、転移リンパ節について Goldenberg らは、頸部郭清術を施行し病理学的に嚢胞性リンパ節であった 20 例を検討し、中咽頭癌(口蓋扁桃および舌根)が 17 例(85%)で、残りの 3 例は原発不明癌であり、HPV の検討が可能であった 13 例中 11 例(87%)が HPV 陽性で、非嚢胞性のリンパ節 21 例は全て HPV 陰性だったと報告した。当科でも同様の予備実験を行い、頭頸部癌 245 例のうち、造影 CT で嚢胞性のリンパ節をもったものは 8 例あり、5 例が中咽頭癌で 3 例が原発不明癌頸部リンパ節転移であった。8 例の嚢胞性リンパ節のうち 6 例(75%)が HPV 陽性で、非嚢胞性に対して有意に HPV 陽性が多く、ロジスティック解析で HPV 陽性のオッズ比は 6.2 (95%CI: 1.2-45.7,  $p=0.03$ ) を示した。嚢胞性リンパ節転移は HPV 陽性を示す可能性が高いことが示された。

次に問題となってくるのは嚢胞性のリンパ節腫脹が単発で、細胞診でも悪性所見がなかった場合(図 1) 頸部の良性嚢胞性疾患として加療されてしまう危険性である。



図 1  
HPV 陽性中咽頭癌は微小癌として発見されることも多い。そのような HPV 陽性中咽頭癌は腫瘍サイズが長径でも 2-3mm 程度であり、粘膜表面は平滑で、陰窩の深部から微小な癌が発生しており、HPV 陽性を示す代替マーカーである p16 免疫染色でも同じ部位が染色されている。原発検索において、視診上

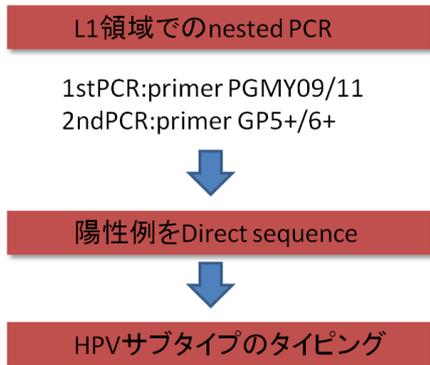
はこの部位に腫瘍を疑うことは困難であり、こういった症例が嚢胞性のリンパ節転移をもてば、単発の嚢胞性疾患として扱われる可能性がある。実際に、側頸嚢胞として手術したところ組織学的検査にて扁平上皮癌が判明し、側頸嚢胞癌と診断される場合がしばしばある。嚢胞性リンパ節の細胞診での偽陰性率は 33-50%と言われているため、繰り返して細胞診を行っても、悪性と診断できないケースがある。Gourin らは頸部の嚢胞性疾患を 121 例検討し、12 例の扁平上皮癌を認めたが、原発が判明したのは扁桃が 1 例、舌根が 4 例、上咽頭が 1 例で、残りの 6 例が原発不明であったということである。この 6 例について、側頸嚢胞癌を厳密に定義するとその定義にあてはまるものはなく、側頸嚢胞癌と診断されていたものは原発不明癌頸部リンパ節転移症例であり、術後放射線治療などを行ったため原発を判別できなかったのではないかと考察している。細胞診で悪性所見がなくても、HPV 陽性と判定された場合は、HPV 陽性原発不明癌あるいは微小中咽頭癌からの嚢胞性転移リンパ節であることを疑い PET-CT や両側口蓋扁桃摘出術などを追加することで、原発部位が発見できれば適切な治療法を選択できることとなる。

### 2. 研究の目的

海外ではヒトパピローマウイルス(HPV)関連頭頸部癌は飲酒喫煙を原因とする頭頸部扁平上皮癌とは性質が異なり、HPV 関連頭頸部癌は治癒率もよいと言われている。現状では治療前に HPV 陽性を判定できず術後の検討で判定がなされている。特に嚢胞性リンパ節の穿刺吸引細胞診(FNA)で悪性所見がないことを基に良性疾患として手術し、術後組織学的評価で原発不明癌と判定されることがしばしばある。従って、治療前にリンパ節の HPV 陽性を判定できれば、原発不明癌や嚢胞性リンパ節病変の治療法を決定することが出来る。今回の研究は頭頸部癌の嚢胞性疾患および頸部リンパ節転移と HPV 感染を検討することが目的である。

### 3. 研究の方法

嚢胞性疾患に対して、通常の穿刺吸引細胞診に加えて、穿刺吸引細胞診検体の HPV を PCR 法で同定する。PCR 法は nested PCR 法を行い、高感度で HPV-DNA を検出する。また、nested PCR 法で HPV 陽性であった症例を、ダイレクトシーケンスを行い、遺伝子配列を検討して、HPV のサブタイプも検討する。また、嚢胞性疾患が転移リンパ節であった場合は、原発巣の生検検体の HPV を上記と同様に検討する。HPV 陽性疾患が悪性所見をもつことを確認し、通常の良性嚢胞性疾患が HPV 陰性であることを確認する。



#### 4. 研究成果

14例を検討することができた。14例のうち、穿刺液の細胞診検体が nested-PCR 法にて HPV 陽性を示したものが 4 例、陰性を示したものが 10 例だった。HPV 陽性を示した 4 例はすべて、その後中咽頭癌と診断され、原発部位の生検標本からも HPV が検出され、p16 も陽性であった。HPV-DNA の型はいずれも HPV16 であった。HPV 陰性の 10 例のうち、3 例は側頸嚢胞と診断された。残りの HPV 陰性の 7 例は、側頸嚢胞以外の良性疾患と診断された。

統計的な解析のために、当初 40 例の症例数を想定していたが、14 例しか症例を集積できなかった。症例数は少ないが、HPV 陽性を示した症例がすべて悪性腫瘍であったという点には意味があったと考える。

今後の展望としては、穿刺吸引細胞診で HPV 陰性となり、良性と判断された疾患で、術後に悪性腫瘍であると診断が覆る症例（偽陰性）があれば、良性疾患として手術されて術後に悪性と診断されることや、良性疾患として経過観察のみされ悪性腫瘍としての治療が遅れてしまうことが考えられる。そのため、今後も症例を増やして、偽陰性あるいは逆に偽陽性が見られないか慎重に検討していく必要がある。

頸部の転移性の嚢胞性リンパ節が良性の嚢胞性疾患として加療されることがしばしばあるが、嚢胞からの穿刺液の細胞診を検討することで、HPV 陽性が判定できれば、その嚢胞は悪性疾患を強く疑うことができる。HPV 陽性の頭頸部癌はほとんどが中咽頭原発（特に扁桃と舌根）であることより、HPV 陽性と判定された嚢胞性疾患は中咽頭癌からの転移リンパ節であると強く示唆される。そのため、穿刺吸引細胞診では悪性所見を認めなくても、穿刺液が HPV 陽性であれば、中咽頭癌を念頭に置き FDG PET-CT や口蓋扁桃摘出術を追加することで、多くの症例で中咽頭癌の診断がつくことが予想される。

開放生検や摘出術の施行後に癌と判明するのではなく、嚢胞の穿刺吸引細胞診検体で判定できれば、非侵襲的に外来診察の段階で原発巣を診断する可能性が上昇するため、診断率および治癒率が向上することが予想さ

れ、その意義は非常に大きいと考えられる。

#### 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)

Yasui T, Morii E, Yamamoto Y, Yoshii T, Takenaka Y, Nakahara S, Todo T, Inohara H

Human papillomavirus and cystic node metastasis in oropharyngeal cancer and cancer of unknown primary origin. 査読有、9:e95364、2014

Maruyama H, Yasui T, Ishikawa-Fujiwara T, Morii E, Yamamoto Y, Yoshii T, Takenaka Y, Nakahara S, Todo T, Hongyo T, Inohara H

Human papillomavirus and p53 mutations in head and neck squamous cell carcinoma among Japanese population. 査読有、Cancer Sci.、vol105、No4、2014、pp.409-417

安井俊道、猪原秀典

HPV ウイルス関連中咽頭癌、耳鼻咽喉科・頭頸部外科、査読無（依頼原稿）、86 巻、1 号、2014、pp.82-86

安井俊道

原発不明癌からの頸部転移、ENTON1、査読無（依頼原稿）、167 号、2014、pp.56-60

〔学会発表〕(計 4 件)

T. Yasui H.Inohara

Treatment outcome and human papillomavirus status in metastasis from unknown primary cancer

International Federation of Head and Neck Oncologic Societies2014、平成 26 年 7 月、ニューヨーク（アメリカ）

安井俊道・猪原秀典・山本佳史・竹中幸則・中原晋

原発不明癌頸部リンパ節転移の治療成績 - HPV との関係を中心として -

第 24 回頭頸部外科学会総会・学術講演会、平成 26 年 1 月、サンポート高松（香川・高松）

T. Yasui H.Inohara

Human papillomavirus and cystic neck metastasis in oropharyngeal carcinoma and unknown primary carcinoma

Eurogin2013、平成 25 年 11 月、フィレンツェ（イタリア）

安井俊道

シンポジウム1 気管食道科領域のHPV関連  
疾患の up-to-date HPVと原発不明癌頸部リ  
ンパ節転移  
第64回日本気管食道科学会総会ならびに学  
術講演会、平成24年11月、ホテル日航東京  
(東京)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

安井俊道 (YASUI TOSHIMICHI)

大阪大学・大学院医学系研究科・招へい教員

研究者番号：90646150