

令和元年6月19日現在

機関番号：32607

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K06862

研究課題名(和文) ヒトパピローマウイルス感染と発がん 臓器横断的解析ー

研究課題名(英文) Human papillomavirus infection and carcinogenesis-analysis across organs-

研究代表者

古田 玲子 (FURUTA, REIKO)

北里大学・医療衛生学部・教授

研究者番号：10260077

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)： HPVが発がん原因となるのは、子宮頸がんの他に中咽頭がん、肛門がんなどがあり、男性の方が罹患率が高い。HPV関連がんは、男女共に予防可能な“がん”としての対策が必要である。またHPV関連がんの方が化学放射線療法の感受性が高く予後が良好なことから両者を分ける臨床的な意義がある。中咽頭扁平上皮癌の119例を検索したところ、HPV DNAが癌組織で検出されたのは64%で、特に注目すべき点は、1) 男性のHPV関連がんの平均年齢は58歳で、非関連癌よりも7歳若いこと。2) HPV関連がんのバイオマーカーとして用いられているP16免疫組織化学検査は、偽陰性ないし偽陽性の可能性が5～10%あることである。

研究成果の学術的意義や社会的意義

HPV関連がんと非関連がんについて、臓器横断的に臨床病理学的な共通点と相違点を明らかにした。特に中咽頭がんについては、HPV関連がんのバイオマーカーとして実用化されたP16免疫組織化学的(IHC)検査結果と治療感受性の相関性を検討し、またHPV関連がんが陰性で非関連がんが陽性率の高いP53のIHCと遺伝子変異との関係を詳細に検討した。

本研究成果の主な学術的意義は、多数症例を用いてHPV関連がんを検索していく上で基盤となるデータを示したことである。社会的意義としては、HPV関連がんが男女ともに存在し、HPV感染予防と早期発見が重要であることを病理組織像を提示し啓蒙活動に貢献したことである。

研究成果の概要(英文)： A cancer caused by HPV has uterine cervix cancer, but, in addition, there are oropharyngeal cancer, anal cancer, and a man is high in prevalence. As for HPV-related cancer, man and woman needs the measures as "a cancer" preventable together. In addition, there is the clinical significance that an HPV-related cancer divides both into because sensitivity of the chemoradiotherapy has a good prognosis highly. A search of 119 cases of squamous cell carcinoma of the oropharynx revealed that HPV DNA was detected in the cancer tissue in 64%, and it should be noted that 1) The average age of HPV-related cancer in men is 58 years, 7 years younger than unrelated cancer. 2) P16 immunohistochemistry, which is used as a biomarker for HPV-related cancer, has a 5-10% chance of false negative or false positive.

研究分野：病理学

キーワード： HPV 発がん 治療感受性 中咽頭がん 頭頸部がん 臓器横断的 p16 p53

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

HPV関連がんは、子宮頸部の他にも中咽頭、肛門など多臓器に認められ、男女共に関わる予防可能な“がん”としての対策が望まれる。また、子宮頸部の扁平上皮癌は90%以上がHPV関連がんであるが、中咽頭がんでは、同じ組織型である扁平上皮癌の中にHPV関連がんと非関連がんがあり、前者の方が化学放射線療法の感受性が高いことが判明してきており、両者を分ける臨床的意義が指摘されている。

申請者らは、HPV型別に子宮頸部、中咽頭、肛門などの前癌病変や癌を病理組織学的に検索し研究してきた。その中で高リスクHPV感染のある前がん病変やがんでは特異的に出現する特殊な異常核分裂像である傍中心体異所性染色体(Ectopic chromosome around centrosome: ECAC) (図1)¹⁾を発見し、HPV関連がんマーカーとしての有用性を示してきた。本研究は、HPV関連がんの臓器横断的解析の一環として、世界的に増加してきている中咽頭のHPV関連がんに着目した研究である。

2. 研究の目的

以下の3点を目的とする。

- (1) HPV関連の中咽頭扁平上皮がん(oropharyngeal squamous cell carcinoma:OPC)の実態を明らかにする。
- (2) HPV関連がんと非関連がんのバイオマーカーについて検体の条件別に検討する。
- (3) OPCで、強度変調放射線治療(IMRT)を用いた同時化学放射線療法(CCRT)の治療成績をHPV関連因子を含めて遡及的に検討する。

3. 研究の方法

(1) OPCの119例を対象として、年齢、男女比、HPVの検出と型判定(生検パラフィンブロックを用いてLAMP法であるクリニチップHPV検査、Nested PCR法ではHPV16型と18型のHPV E6の検出を施行し、in situ hybridization(ISH)法ではHPV DNAの局在を確認し総合的に判定)した。また、HPV関連がんに共通した病理組織学的特徴を調べた。

(2) 生検と手術検体のホルマリン固定パラフィン包埋(FFPE)ブロック組織が揃っている36例を用いて、①生検(一部迅速検体を含む)、②手術検体からのTissue microarray(TMA)、および③TMAに用いたFFPEブロックの3群で、p16、p53 Immuno histochemistry(IHC)を施行した。その他にHPV検査(ISH法など)、p53のexon5~10の変異検索(ダイレクトシーケンス法)も検索した。IHCでp16は、70%以上の腫瘍細胞の核がびまん性に強陽性像を示すものを(+)、全く染色さないものを(-)、それ以外はOthersとし具体的な所見を記した。p53は全ての腫瘍細胞の核がびまん性に陽性症例を(+)、全体が陰性症例を(-)とし、まばらな弱陽性~陽性はWild type(野生型:W)と判定した。ISHは、①と②で施行し核内にドット状ないしびまん性に検出されるものを(+))とした(図2)。

(3) がん研究会有明病院でP16 IHC検索が可能であったOPC103例を対象とし、P16 IHC陽性がん陰性がんに分け、予後(無増悪生存率、局所領域制御率)との関係を調べた。

4. 研究成果

(1) OPCのHPV関連がんは74例62%、HPV非関連がんは45例38%でありHPV関連がんは男性が女性の3.9倍、HPV非関連がんでは14倍であった。平均年齢は、HPV関連がんが男性58歳、女性69歳であるのに対し、HPV非関連がんでは男性65歳、女性67歳であった。HPV型は16型:85%、35型:5%、18型:4%、58型:3%、33型:1%、複数型:2%であった。

HPV関連がんの70%に特殊な異常核分裂像であるECACを認め、HPV非関連がんでは0%であった($P < 0.001$)。62%がHPV関連がんでは16型の検出率が高く85%を占めていた。ECACはHPV関連がんの極めて有用なバイオマーカーとなる。

(2) P16 IHCは、3群間の結果が一致した症例は36例中34例(94.4%)であり、陽性が14例(38.9%)、陰性が20例(55.6%)であった。1例は①と③が一部陽性、②が陰性を示し、もう1例は①が一部陽性、②と③が陰性であった。

P53 IHCでは、3群間の結果が一致した症例は36例中35例(97.2%)であり、陽性が12例(33.3%)、陰性が6例(16.7%)、Wild typeが16例(44.4%)、また核と細胞質に弱陽性が1例であった。1例は①が陽性、②と③がWild typeであった。

ISHは、①と②の結果が全例(100%)で一致

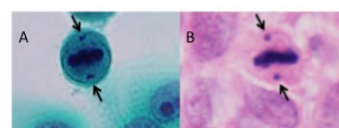


図1 Ectopic chromosome around centrosome (ECAC)

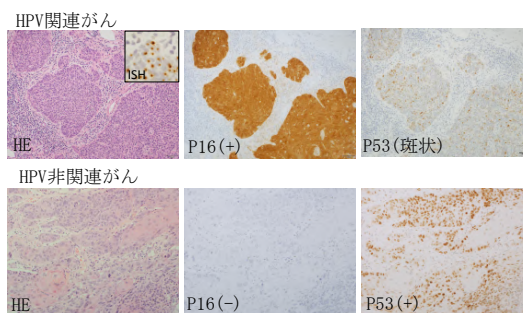


図2 HE染色、免疫組織化学P53、P16

し、陽性が10例(27.8%)、陰性が26例(72.2%)であった。ISH陽性の10例は全例P16 IHC陽性で、ISH陰性の26例では、20例(76.9%)がP16 IHC陰性であった。

③検体を用いた *p53* 変異検索では、34例(94.4%)で検索でき、P53 IHCで陽性の12例のうち、検索可能であった10例中8例(80.0%)で変異が検出され、7例が1か所のミスセンス変異、1例が2か所のミスセンス変異であった。P53 IHCで陰性の6例中2例(33.3%)および核と細胞質に弱陽性を示した1例にはナンセンス変異を認めた。一方、P53 IHCでWild typeであった16例の全例には変異が検出されなかった。

OPC症例の大部分は、がん組織全体でP16、P53 IHCの結果は同様であり、TMA作製時の採取部位による差異は少ないが、がん組織内のヘテロ不均一性症例のために不一致となる症例が少数存在することが判明した。P53 IHCは、遺伝子変異との相関性をみると、陽性、陰性およびWild typeの3分類で判定することが重要であると考えられた。

(3) OPCで、2年成績であるが、P16 IHC陽性の方が陰性に比べ、無増悪生存率(93.5% VS 52.6%)および局所領域制御率(95.0% vs 57.9%)が優位に高かった(各 *p* 値<0.0001)。

<引用文献>

- ① Reiko Furuta, Yasuo Hirai, Katsuyoshi Katase, Shinichi Tate, Tokuichi Kawaguchi, Futoshi Akiyama, Yo Kato, Kazuki Kumada, Tsuyoshi Iwasaka, Nobuo Yaegashi, Koji Kanazawa, Hiroyuki Yoshikawa, Tomoyuki Kitagawa, Ectopic chromosome around centrosome in metaphase cells as a marker of high risk human papillomavirus -associated cervical intraepithelial neoplasias, *Int J cancer*, vol.106, 2003, 167-171

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計5件)

- ① 小幡和史、蛭名彩、神山亮介、日高竜太、近藤貴仁、上里迅、服部雅優、氷見徹夫、米川博之、佐藤由紀子、川端一嘉、三谷浩樹、福島啓文、佐々木徹、新橋涉、瀬戸陽、上咽頭癌における Epstein-Barr virus 関連の有無と予後因子、*日本耳鼻咽喉科学会会報*、査読有、120巻、2017、1318-1327、<https://doi.org/10.3950/jibiinkoka.120.1318>
- ② Kenji Nakano, Shoko Marshall, Shinichiro Taira, Yukiko Sato, Junichi Tomomatsu, Toru Sasaki, Wataru Shimbashi, Hirofumi Fukushima, Hiroyuki Yonekawa, Hiroki Mitani, Kazuyoshi Kawabata, Shunji Takahashi, A comparison of weekly paclitaxel and cetuximab with the EXTREME regimen in the treatment of recurrent/metastatic squamous cell head and neck carcinoma, *Oral Oncology*, 査読有、vol.73, 2017, 21-26
DOI:10.1016/j.oraloncology.2017.07.022
- ③ 古田玲子、山田麻里沙、池畑浩一、鈴木奈緒子、古田則行、宇津木久仁子、杉山裕子、北川知行、細胞診 ASC-H の組織学的な背景病変-現状と問題点、*日本臨床細胞学会雑誌*、査読有、55巻、3号、2016、180-188
DOI:<https://doi.org/10.5795/jjsc.55.180>
- ④ 山田麻里沙、古田則行、古田玲子、星利良、伊藤崇彦、鈴木奈緒子、池畑浩一、宇津木久仁子、小松京子、杉山裕子、がん専門病院の ASC-H 判定の現状と年齢層別にみた細胞像の特徴、*日本臨床細胞学会雑誌*、査読有、55巻、3号、2016、189-194
DOI: <https://doi.org/10.5795/jjsc.55.189>
- ⑤ Koji Matsumoto, Hiroo Maeda, Akinori Oki, Naoyoshi Takatsuka, Toshiharu Yasugi, Reiko Furuta, Ranko Hirata, Akira Mitsuhashi, Kei Kawana, Takuma Fujii, Takashi Iwata, Yasuo Hirai, Masatoshi Yokoyama, Nobuo Yaegashi, Yoh Watanabe, Yutaka Nagai, Hiroyuki Yoshikawa, Human leukocyte antigen class II DRB1*1302 allele protects against cervical cancer: At which step of multistage carcinogenesis? , *Cancer Science*, 査読有、vol.106, No.10, 2015, 1448-1454
DOI:10.1111/cas.12760

[学会発表] (計13件)

- ① 上條桂輔、佐藤由紀子、長野裕子、朝賀礼美、利安隆史、新橋涉、石川雄一、北川知行、古田玲子、HPV 関連中咽頭癌の臨床病理学的研究、第108回日本病理学会総会、2019
- ② 利安隆史、HPV 関連中咽頭癌の治療-放射線治療医の立場から-、第31回日本口腔・咽頭学会(シンポジウム)(招待講演)、2018
- ③ 佐藤由紀子、伊藤崇彦、山田麻里沙、山崎奈緒子、石井脩平、池畑浩一、藤山淳三、古田則行、小松京子、杉山裕子、竹内賢吾、頭頸部領域における臨床への feedback、第57回日本臨床細胞学会秋期大会(シンポジウム)、2018
- ④ 新橋涉、三谷浩樹、米川博之、福島啓文、瀬戸陽、小泉雄、神山亮介、蛭名彩、日高竜太、白尾浩太郎、服部雅優、高橋俊二、利安隆史、田中宏子、佐藤由紀子、中咽頭癌における長期予後についての検討、第41回日本頭頸部癌学会、2017

- ⑤ 利安隆史、熊井康子、芹澤慈子、佐藤由紀子、田中宏子、仲野兼司、瀬戸陽、新橋涉、佐々木徹、福島啓文、米川博之、高橋俊二、三谷浩 樹、小口正彦、中咽頭癌に対する Cetuximab 同時併用放射線治療の治療成績、第 41 回日本頭頸部癌学会、2017
- ⑥ 古田玲子、北川知行、「それぞれの癌」：診断・治療の現状と展望 -子宮頸癌-、第 55 回日本癌治療学会学術集会(招待講演)、2017
- ⑦ 利安隆史、中咽頭癌に対する IMRT を用いた同時化学放射線療法の治療成績、日本放射線腫瘍学会第 30 回学術大会、2017
- ⑧ Takashi Toshiyasu、Yukiko Sato、Reiko Furuta、Hideki Tsuji、Masahiko Oguchi、HPV-related squamous cell carcinoma of the lacrimal sac : A case successfully treated with chemo-radiation therapy、AOGIN The 2ndmeeting of the Japan(国際学会)、2017
- ⑨ 新橋涉、三谷浩樹、米川博之、福島啓文、利安隆史、佐藤由希子、中咽頭癌における長期予後についての検討、第 41 回頭頸部癌学会、2017
- ⑩ 利安隆史、Concurrent cetuximab and radiation therapy in head and neck squamous cell carcinoma : A single-institution experience、第 29 回日本放射線腫瘍学会学術大会、2016
- ⑪ 利安隆史、HPV 関連中咽頭癌の放射線治療、第 1 回日本 HPV 研究会学術集会(招待講演)、2016
- ⑫ 佐藤由紀子、古田玲子、山田麻里沙、藤山淳三、古田則行、小松京 子、杉山裕子、石川雄二、各臓器におけるトピックスー治療上の変更を有する鑑別点を中心に一中咽頭腫瘍の 1 例、第 57 回日本臨床細胞学会総会(春季大会)(招待講演)、2016
- ⑬ 古田玲子、佐藤由紀子、利安隆史、新橋涉、川端一嘉、三木義男、山本智理子、石川雄一、北川知行、中咽頭 HPV 陽性がんの臨床病理学的特徴、第 105 回日本病理学会総会、2016

〔図書〕(計 1 件)

- ① 新井正美編著、分担執筆 古田玲子、南江堂、『癌の遺伝医療』III. 遺伝性腫瘍の臨床 B. Lynch 症候群 4. 病理組織学的特徴 b. 婦人科癌、2015、256(104-107)

〔その他〕

ホームページ等

- ① 研究紹介:高リスク型ヒトパピローマウイルス (HPV) が関与する中咽頭がんを病理組織学的な視点から研究 <http://ganshien.umin.jp/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：佐藤 由紀子

ローマ字氏名：(SATO, yukiko)

所属研究機関名：公益財団法人がん研究会

部局名：有明病院 病理部

職名：医員

研究者番号 (8 桁)：30365712

研究分担者氏名：利安 隆史

ローマ字氏名：(TOSHIYASU, takashi)

所属研究機関名：公益財団法人がん研究会

部局名：有明病院 放射線治療部

職名：副医長

研究者番号 (8 桁)：10533101

研究分担者氏名：新橋 涉

ローマ字氏名：SHIMBASHI, wataru

所属研究機関名：公益財団法人がん研究会

部局名：有明病院 頭頸科

職名：副医長

研究者番号 (8 桁)：00424846

研究分担者氏名：服部 学

ローマ字氏名：HATTORI, manabu

所属研究機関名：京都橘大学

部局名：健康科学部

職名：教授

研究者番号 (8 桁)：60276186

2017 年度まで研究分担者

研究分担者氏名：西村 由香里
ローマ字氏名：NISHIMURA, yukari
所属研究機関名：北里大学
部局名：医療衛生学部
職名：助教
研究者番号（8桁）：30361017

研究分担者氏名：石川雄一
ローマ字氏名：ISHIKAWA, yuichi
所属研究機関名：公益財団法人がん研究会
部局名：がん研究所
職名：副所長
研究者番号（8桁）：80222975

研究分担者氏名：北川知行
ローマ字氏名：KITAGAWA, tomoyuki
所属研究機関名：公益財団法人がん研究会
部局名：がん研究所
職名：名誉所長
研究者番号（8桁）：50085619

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：
ローマ字氏名：

※ 科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。