

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 30 日現在

機関番号：72602

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2014

課題番号：24501346

研究課題名(和文)ハイリスクHPVの関与する咽頭がんの特徴

研究課題名(英文)Characteristics of High-Risk HPV-Associated Pharyngeal Cancers

研究代表者

古田 玲子 (Furuta, Reiko)

公益財団法人がん研究会・その他部局等・研究員

研究者番号：10260077

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：中咽頭扁平上皮癌には、HPV陽性がん(HPV+)と陰性がん(HPV-)があり、HPV+の方が治療感受性が高く予後良好なため両者を区別する必要がある。119例を調べるとHPV+は62%、HPV-は38%、女:男は各15:59、3:42例であった。HPV型は16、18、31、35、58、複数型が各63、3、1、4、1、2例でHPV16型が85%を占めた。我々が報告した高リスクHPV陽性の子宮頸部病変で特異的に出現する異常核分裂像のEctopic chromosome around centrosomeはHPV+のみに69%検出し良いバイオマーカーとなる。

研究成果の概要(英文)：Detection of HPV in oropharyngeal squamous cell carcinomas (OCs) is important because HPV-positive OCs are more sensitive to chemo-radiotherapy. We analyzed the HPV status in 119 OC cases (F:M=18:101), using formalin-fixed, paraffin-embedded materials, and 13 type-specific probes of Clinichip HPV (Sekisui), nested PCR and in situ hybridization. HPV DNA was detected in 74 of 119 cases (62%), F:M=15:59, while HPV was negative in 45 of 119 cases (38%), F:M=3:42. Typing analysis revealed that 63, 3, 1, 4, 1 and 2 cases harboring type16, 18, 31, 35, 58 and plural, respectively. In conclusion, HPV was detected in 62% of Japanese OC cases, of which type 16 was by far the most frequent (85%). Ectopic chromosome around centrosome (ECAC) was detected in 69% of HPV-positive cases but never in HPV-negative cases. The ECAC was thus a distinct marker for the high risk HPV association of OCs.

研究分野：病理

キーワード：HPV 咽頭がん 異常核分裂像 ECAC

## 1. 研究開始当初の背景

頭頸部の扁平上皮癌には、発がん機序の異なる2つの異なる腫瘍型があることが明らかにされてきている。すなわちハイリスクのヒトパピローマウイルス(HR-HPV)感染が関与するHPV陽性がん、タバコが最大のリスクファクターとなるHPV陰性がん、特に中咽頭がんではHPV陽性がんの関与が大きい。両者を比較検討した諸外国の研究では、HPV陽性がんの方が、予後良好であること、治療感受性が高い事、若年者に近年急増していることが報告されている<sup>1)</sup>。両者を分けることは、今後の治療選択の個別化、予後予測およびHPVワクチンの予防効果に対して意義がある。

大規模コホート研究の中央病理組織診断で、子宮頸部の前がん病変であるCIN(Cervical intraepithelial neoplasia)病変を長期にわたり経時的に観察して得た経験から、HR-HPV感染を伴う前がん病変およびがん病変のみに特異的に出現する特殊な異常核分裂像が認められる事を我々は発見しEctopic Chromosome Around Centrosome:傍中心体異所性染色体(ECAC)と命名した<sup>2)</sup>。ECACは、CINの分裂中期細胞の両側の中心体近傍に対称性に出現する1対の0.7μの異所性染色体である。子宮頸部病変の病理組織標本で、CINおよび浸潤がんの客観的なHR-HPV感染を伴った病変としての指標となる。

## 2. 研究の目的

本研究は、中咽頭がんにおけるHR-HPVの関与をDNA解析で調べるとともに、ECACの出現を中心に、その病理組織学的な特徴を明らかにする。他方、ECACの本態の解明にも迫る。

HPV関連がんとして研究が進んでいる子宮頸部では、HPVに感染しても、その多くは単に感染するのみで腫瘍は発生しない。HPVには150種類余の型があるが、その中の約13種類HPV型(16/18/31/33/35/39/45/51/52/56/58/59/68)が子宮頸癌の高リスク群として分類され、これら13種HPV型の中で、特に進展に関連が強いのは7種型で、なかでも16と18型の悪性度が高いことは世界的にみても共通している。しかしその占める割合には地域差があり、海外の子宮がん(25カ国、3607例)で検出されるHPV型を、PCR法で調べた症例対照研究では、HPV16/18は全体の約70%であるのに対し、日本の子宮

頸がん患者(356例)を対象にした、PCR/シーケンシング法によるHPV型の調査では、HPVは87.4%で検出されるが、HPV型は上位からHPV16(42.4%)、HPV33(9.0%)、HPV58(8.0%)、HPV18(7.7%)、HPV52型(7.1%)でありHPV16/18型の占める割合は約60%と低く、アジア地域と同様に52/58型の占める割合が高い傾向がある。頭頸部がんでも、このような地域差があるのか、日本での今後の中咽頭がんのワクチン予防対策を考える上でもHPV型を調べることは重要と思われる。

100例を目標に、これまでの生検のパラフィンブロックおよび、これから採取する細胞検体や生検を用いて、HPV DNA型判定検査、ECACの出現の有無、病理組織学的形態的特徴、免疫組織学的検索(p16, p53抗体)で、HPV陽性がんと陰性がんの夫々の特徴を検討する。

## 3. 研究の方法

中咽頭扁平上皮癌の、生検パラフィンブロックからDNAを抽出し、HPV型別検査結果と病理組織標本でのECACの出現頻度、ISH法での病理組織標本によるHPVの検出および免疫組織化学的検索(p16, p53)による結果を照合し、HPV陽性がん、陰性がんを鑑別する上で、ECACが、良いバイオマーカーになるか検討する。

HPV型判定は、クリニチップ® HPV (Sekisui)と、Nested PCR法を用いる。クリニチップ® HPVは遺伝子増幅法(LAMP法)と電流検出型DNAチップ法により13種の高リスクHPVゲノムを型別に検出できる高精度な検査法である。Nested PCRはHPV16、18型の夫々のHPV DNAのE6領域をprimerとし、HPVが宿主DNAに組み込まれた場合でも、この領域は保持されるのでHPV検出の補助的手法として用いる。ISH法では病理組織学的にHPV陽性細胞の局在を確認する。

## 4. 研究成果

中咽頭扁平上皮癌の119例の生検を調べると、HPV陽性がんは74例で62%、HPV陰性がんは45例で38%であった。女性と男性で別けるとHPV陽性がんが15例と59例、HPV陰性がんは3例と42例で男性の方が多く、HPV型は16, 18, 31, 35, 58, 複数型が各63, 3, 1, 4, 1, 2例でHPV16型が85%を占めていた。ECAC(図1)は中咽頭扁平上皮癌でもHPV陽性がんのみに69%で検出され、病理組織形態学的にHPV陽性がんの良いバイオマーカーであった。免

疫組織学的検索(p16, p53 抗体)では HPV 陽性がんは、p16 陽性、p53 は陰性ないし斑状にのみ陽性で、一方 HPV 陰性がんは、p16 陰性、p53 陽性であることが典型的な所見であり HPV 検出結果との相関性は約 8 割であった(図 2)。

中咽頭がんの HPV の有無が治療を選択する上で重要な情報となることから、ECAC の検出、免疫組織化学的検索および HPV DNA 解析をとり入れた検査が普及することが望まれる。HPV 陽性がんでは 16 型が最も多く、16 型/18 型を総合すると、89% を占めており、子宮頸がんよりもその割合は高い結果であった。

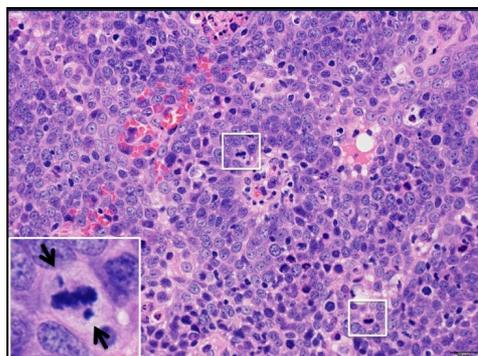


図 1 ECAC

分裂中期細胞の両側の中心体近傍に対称性に出現する 1 対の特定サイズの異所性染色体

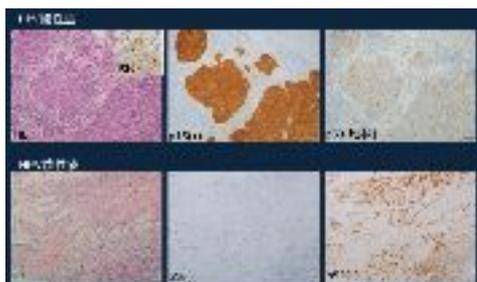


図 2 病理組織学的な HPV 陽性がん(上段)と陰性がん(下段)の特徴(右から HE 染色, p16, p53)

#### <引用文献>

Chaturvedi AK1, Engels EA, Pfeiffer RM, Hernandez BY, Xiao W, Kim E, Jiang B, Goodman MT, Sibug-Saber M, Cozen W, Liu L, Lynch CF, Wentzensen N, Jordan RC, Altekruse S, Anderson WF, Rosenberg PS, Gillison ML. Human papillomavirus and rising oropharyngeal cancer incidence in the United States J Clin Oncol. 2011 Nov 10;29(32):4294-301. doi:10.1200/JCO.2011.36.4596. Epub 2011 Oct 3.  
Furuta R, Hirai Y, Katase K, Tate S,

Akiyama F, Kato Y, Iwasaka T, Yaegashi N, Kanazawa K, Yoshikawa H, Kitagawa T. Ectopic chromosome around centrosome in metaphase cells as a marker of high risk human papillomavirus associated cervical intraepithelial neoplasias. Int.J.cancer,106:167-171,2003

#### 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 11 件)

古田玲子, 山田麻里沙, 北川知行ら以下 5 名. 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 in press.2015(査読あり)

山田麻里沙, 古田則行, 古田玲子ら以下7名. 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 in press.2015(査読あり)

Abe A, Furuta R, Takazawa Y, Kondo E, Umayahara K, Takeshima N. A case of ovarian metastasis from microinvasive adenosquamous carcinoma of the uterine cervix. Gynecol Obstet (Sunnyvale) 4:248, 2014(査読あり)

DOI:10.4172/2161-0932.1000248

阿部彰子, 古田玲子, 荒井佑司, 野村秀高, 山本阿紀子, 的田真紀, 岡本三四郎, 竹島信宏. Lobular endocervical glandular hyperplasia を伴う adenocarcinoma in situ および子宮体癌を認めた重複癌の 1 例. 日本臨床細胞学会雑誌, 53(3): 195-199, 2014(査読あり)

DOI:10.5795/jjssc.53.195

Okadome M, Saito T, Tanaka H, Nogawa T, Furuta R, Watanabe K, Kita T, Yamamoto K, Mikami M, Takizawa K, the Japanese Gynecologic Oncology Group(JGOG). Potential impact of combined High and low-risk human papillomavirus Infection on the progression of cervical Intraepithelial neoplasia 2. J Obstet Gynaecol Res, 40(2): 561-9, 2013(査読あり)

DOI:10.1111/jog.12202

Fujii T, Takatsuka N, Nagata C, Matsumoto K, Oki A, Furuta R, Maeda H, Yasugi T, Kawana K, Mitsuhashi A, Hirai H, Iwasaka T, Yaegashi N, Watanabe Y, Nagai Y, Kitagawa T, Yoshikawa H. Association between carotenoids and outcome of cervical intraepithelial neoplasia: a prospective cohort study. Int J clin oncol, 18(6):1091-1101, 2013(査読あり)

DOI:10.1007/s10147-012-0486-5

Nogawa T, Hiura M, Tanaka H, Saito T, Furuta R, Watanabe K, Kita T, Yamamoto K, Mikami M, Takizawa K. Prospective Evaluation of the Amplicor HPV test for Predicting progression of cervical intraepithelial neoplasia 2. J Obstet

Gynaecol Res,39(8):1347-1353,2013(査読あり)  
DOI:10.1111/jog.12068.Epub 2013 Jul 2.

Ochi H,Matsumoto K,Kondo K,Oki A,Furuta R,Hirai Y,Yasugi T,Takatsuka N,Maeda H,Mitsuhashi A,Fujii T,Kawana K,Iwasaka T,Yaegashi N,Watanabe Y,Nagai Y,Kitagawa T,Kanda T,Yoshikawa H and for Japan HPV And Cervical Cancer (JHACC) Study Group.Do neutralizing antibody responses generated by human Papillomavirus infections favor a better outcome of low-grade cervical lesions?. J Med Virol,84(7):1128-34,2012(査読あり)  
DOI:10.1002/jmv.23258

〔学会発表〕(計 15 件)

Kawabata K.1.Larynx preservation for pharyngeal cancer using free flap reconstruction.2.Mediastinal surgery for head and neck cancer using free flap reconstruction.102nd National Congress of the Italian Society of Otorhinolaryngology and Head and Neck Surgery,27~30 May 2015.Rome

Kawabata K. The management of mediastinal invasion of the carcinoma of the hypopharynx and the cervical esophagus.The 13th Asia Oceania ORL-HNS Congress,19~22 Mar 2015.Taiwan

利安隆史,高橋俊二,田中宏子,佐藤由紀子,古田玲子,新橋渉,佐々木徹,福島啓文,米川博之,三谷浩樹,川端一嘉. 中咽頭扁平上皮癌:亜部位別 HPV 関連腫瘍の評価. 第 38 回日本頭頸部癌学会,2014.6.12~13,東京ファッションタウンビルホール(東京・江東区)

古田玲子,佐藤由紀子,利安隆史,新橋渉,山本智理子,川端一嘉,三木義男,石川雄一,北川知行.日本の中咽頭扁平上皮癌の HPV 陽性率と HPV 型. 第 73 回日本癌学会学術総会,2014.9.25~27,パシフィコ横浜(神奈川・横浜)

Furuta R,Takashi T,Sato Y,Yamamoto N,Akiyama F,Ishikawa Y,Shimbashi W,Kawabata K,Takeshima N,Sugai S,Miki Y,Kitagawa T.Ectopic chromosome around centrosome(ECAC) in metaphase cells of oropharyngeal carcinoma as a marker of HPV-association.Ninth AACR-Japanese Cancer Association Joint Conference,21~25 Feb 2013.Maui

〔その他〕

ホームページ等

<http://ganshien.umin.jp/research/spotlight/furuta/index.html>

<http://www.jfcr.or.jp/laboratory/department/pathology/>

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

古田 玲子 (FURUTA Reiko)  
公益財団法人がん研究会がん研究所・  
病理部・研究員  
研究者番号:10260077

### (2)研究分担者

北川 知行 (KITAGAWA Tomoyuki)  
公益財団法人がん研究会がん研究所・  
名誉所長  
研究者番号:50085619

### (3)研究分担者

山本 智理子 (YAMAMOTO Noriko)  
公益財団法人がん研究会がん研究所・  
病理部・主任研究員  
研究者番号:10280629

### (4)研究分担者

川端 一嘉 (KAWABA Kazuyoshi)  
公益財団法人がん研究会有明病院・  
頭頸科・部長  
研究者番号:10204760

### (5)研究分担者

竹島 信宏 (TAKESHIMA Nobuhiro)  
公益財団法人がん研究会有明病院・  
婦人科・部長  
研究者番号:70216886