

腫瘍 クリニカルカンファレンス

子宮頸部上皮内病変のマネージメント—HPV 時代のアップデート—

2)ハイリスク HPV 検査の意義とその解釈

岡山大学
本郷 淳司座長：金沢大学
井上 正樹

はじめに

zur Hausen による子宮頸癌組織からのヒトパピローマウイルス(HPV)の同定と、分子生物学的手法の進歩により、悪性型 HPV の子宮頸部への持続的感染から、前癌病変を経てごく一部が子宮頸癌に進展する HPV 感染の自然史と子宮頸癌発症のメカニズムが解明されてきた。HPV は現在まで150種類以上が同定され、その内、子宮頸癌発症に関与する粘膜型のハイリスク HPV は、およそ15-16種類とされている。これらのハイリスク HPV が関与する腫瘍としては子宮頸癌の他に外陰癌、腔癌、陰茎癌、肛門管癌、口腔癌、扁桃癌などが知られている。そのうち HPV 感染の頻度が一番高いのは子宮頸癌で、型特異的プライマーを用いた E7領域の PCR 法を用いた報告では、子宮頸部浸潤癌の HPV 陽性率は99.7%と報告されている¹⁾。本邦でも HPV 予防ワクチンが認可され、その普及とともに HPV 感染症に対する関心や不安が高まっている。子宮頸癌発症にほぼ必須とされるハイリスク HPV 感染の検査法として、ハイリスク HPV のうち高頻度な13種類の HPV の有無を判定する HPV グループニング検査と、感染している HPV のサブタイプを判定する HPV タイピング検査があるが、本稿では HPV グループニング検査について、その意義と解釈に関して述べる。

HPV グループニング検査の実際

現在、厚生労働省から体外診断用医薬品の承認を受けている検査薬としては、ハイブリッドキャプチャー法を用いたハイブリッドキャプチャー II (HC2)と、PCR 法によるアンプリコア HPV がある。いずれも上位13種類のハイリスク HPV を検出し、欧米の頻度ではおよそ93%²⁾をカバーすることになる。両者の大きな違いはその感度で、HC2のカットオフ値は100,000コピー/mL で、一方 PCR 法を用いたアンプリコア HPV のカットオフ値は480コピー/mL と高感度である。本稿では FDA にも認可され、HPV グループニング検査の gold standard とされる HC2に関して述べるが、HC2のよりマイルドなカットオフ値は、臨床的意義の少ない一過性感染を過剰に捉えることがないと考えられている。HC

Significance and Interpretation of High-risk HPV Grouping Test

Atsushi HONGO

Department of Obstetrics and Gynecology, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, Okayama

Key words : Human papillomavirus · Hybrid capture 2 · Viral load · Adenocarcinoma

今回の論文に関連して、開示すべき利益相反状態はありません。

2法の実際は、子宮頸部より原則ブラシで採取された細胞の懸濁液や液状細胞診検体よりアルカリにて DNA を抽出し、それを13種のハイリスク HPV に対するフルレングス RNA プローブとハイブリダイズさせる。形成された HPV/RNA ハイブリッドは96穴のキャプチャープレートに固相化された抗 DNA/RNA 抗体に捉えられ、ALP 付加抗体による呈色反応により定量判定される。本邦では平成22年4月より、ベセスダ分類で ASC-US と判定された患者のトリアージュとして保険収載されている。

頸癌検診における細胞診と HC2の精度の比較では、細胞診の感度は40～84%と報告によりまちまちだが、特異度は概ね90%以上と良好である。一方、HC2の感度は80～100%とより優れているが、特異度は51～89%と不良で、偽陽性者が精密検診に回る頻度は高くなる³⁾。米国では2006年の ASCCP コンセンサスガイドラインに基づき、30歳以上の頸癌検診に細胞診と HPV 検査が併用されていることは周知の事実であるが、これには米国における細胞診精度が必ずしも高くなく、わが国と異なる保険事情での医療経済の問題など異なった側面もあるので、米国方式をそのまま導入すべきかどうかは慎重に考慮する必要があろう。

HC2による HPV ウイルス量判定は推定病変予測に用いられるか？

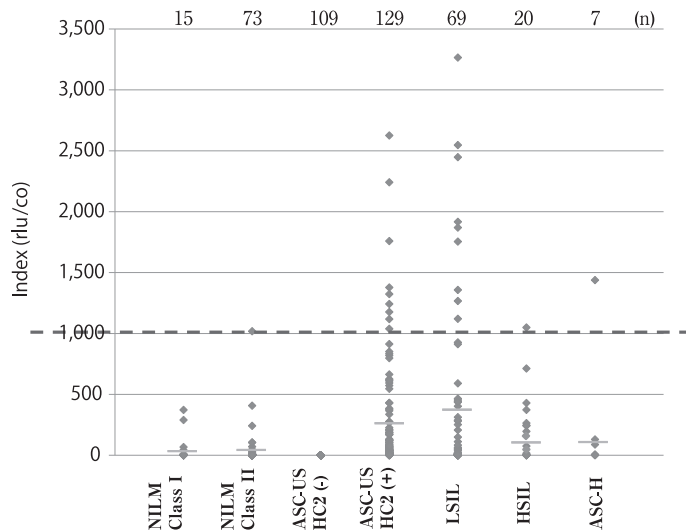
HC2法では陽性コントロールのカットオフ値を対照とした Index 値が報告される。Index 値は検体内のハイリスク HPV のコピー数を反映するが、採取細胞数、異型細胞の頻度、DNA 抽出の効率などに依存する。また回収 DNA 量を反映する内部コントロールがないことも問題となる。

日常診療で Index 値が高値の場合、患者のみならず、少なからぬ婦人科医もより進行した病変があると考えがちである。文献的には、HC2によるウイルス量判定は CIN の進行度と相関するとの報告^{4)~6)}や、相関しないとの報告^{7)~10)}がほぼ同等にあり、一定の見解はない。HC2によるウイルス量が多い ASC-US 症例は CIN1が多いとの報告⁹⁾や、HPV 量が多いのは複数のサブタイプの重複感染例や、CIN 3周囲が CIN 1や CIN 2で取り巻かれている症例にみられた、ASC-US や LSIL 症例のほうが HSIL や ASC-H 症例よりもウイルス量が多かった⁸⁾との報告もある。

そこで平成23年9月から平成24年3月に岡山大学病院、および西日本病理研究所で採取もしくは測定された子宮頸部擦過 LBC 検体422例の Index 値と細胞診結果を、他の個人情報と連結しないデータとして集積し比較検討してみた。細胞診結果は NILM 88例(class 115例, class II 73例), ASC-US 238例(HC2陰性109例, 陽性129例), LSIL 69例, HSIL 20例, ASC-H 7例であった。細胞診診断にて分類した、各症例の Index 値の散布図(図1)を示す。

Index 値の平均値は NILM で34.1, ASC-US で236.2, LSIL で411.0, HSIL で225.7, ASC-H で238.3rlu/co であった。標準偏差が大きいため統計学的有意差は認めないが NILM より ASC-US の Index 値は高値となり、LSIL で最高となったのち、HSIL では減少する傾向が認められた。また細胞診では NILM であった88例中、26例(29.5%)の Index 値はカットオフ値の1.0rlu/co 以上であり、臨床的な意義は別として、HC2が細胞診よりも高感度であることを示している。Index 値が非常に高値である1,000rlu/co を超過例のほとんどは ASC-US と LSIL 症例であった。

ハイリスク HPV の感染サイクルを考えた場合、基底細胞層に感染した HPV は通常、核内に episome として存在し、そのコピー数は一般に10コピー未満である。旁基底層では、ウイルスが細胞と共に複製され、次いで中層では細胞分化に伴いウイルスゲノムは1



(図1) 細胞診判定と HC2 Index 値

細胞あたり1,000個台にまで増幅される。CIN I や CIN II の場合、多くがウイルス複製を伴う感染形態をとっているが、CIN III 以上の場合、多くがウイルスゲノムの一部が宿主染色体に組み込まれ、もはやウイルスゲノムの大量複製は行われず、細胞あたりの HPV コピー数は少なくなる。すなわち、1個あたりの細胞で HPV コピー数が最高になるのは、ウイルスの複製が盛んに行われる reproductive infection 状態である CIN I - II、細胞診診断では ASC-US~LSIL、一部の HSIL 病変の中層~表層細胞となる。

HC2の Index 値はサンプル内に採取された細胞に含まれるハイリスク HPV コピー数の総和を反映しているため、前述の個々の細胞内のコピー数のみならず、検体のサンプリングによる差異が生じることに留意せねばならない。病変の大きさ、存在部位などにより、検体内に含まれる病変の細胞数は大きく異なる。最高病変のみならず、周囲に伴う初期病変の存在により Index 値は高値になる可能性がある。

以上の原理と、既存の報告を合わせて考察を加えると、ASC-US 症例に限れば、Index 値が10未満の症例は、一過性感染例や、自然消褪例などが多く、CIN2+である頻度は低いと予測できるかもしれない。しかし一般には Index 値が高いものは CIN I が多く、Index 高値によって CIN3+のリスクを予知することは出来ないと言えよう。我々のデータでも Index 値が非常に高いものは ASC-US、LSIL 例が殆どであった。初期 CIN 病変の中に一部より進んだ病変が存在する可能性もあり、高 Index 値すなわち初期 CIN 病変であると断定は出来ないが、細胞診所見、コルボスコピー所見や臨床経過で総合的に判断を行い、HC2の高 Index 値のみで、外科的介入を行うべきではないことは明らかである。

HPV テストは腺系病変診断に有効か？

子宮頸部腺系病変は細胞異型に乏しく構造異型での診断に負う所が多い。また病変が内頸部に存在することが多いため、サンプリングエラーも起こりやすく、細胞診の診断率は満足出来るものではない。HPV 検査は細胞診より高感度のため、腺系病変への利用が期待される。AGC 症例の HC2による陽性率は21~42.4%、AIS 症例で64~71%^{11)~13)}とさ

れ、扁平上皮病変より診断率は劣る。一方 PCR 法では AIS 症例で66~100%と比較的良好とされる¹⁴⁾。腺系病変の HPV は episome ではなく、組み込まれた形で存在し、腺上皮は扁平上皮のような分化機能を有さないため、HPV ゲノムの大量増幅は生じない¹²⁾。よって腺系病変での HPV コピー数は扁平上皮病変より少なく、HPV 検査では過少評価される恐れがあり、PCR 法より感度に劣る HC2法では注意が必要である。とはいえ、細胞診よりは高感度のため、HPV 検査は腺系異型細胞の診断に有効なバイオマーカーである可能性がある^{15)~17)}。しかし陰性であっても決して腺系病変が存在しないと断定できないことに留意する必要がある。また子宮内膜由来や、頸管腺由来でも non-mucinous の存在にも留意する必要がある¹⁶⁾。

《参考文献》

1. Walboomers JM, Jacobs MV, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV, Snijders PJ, Peto J, meijer CJ, Muñoz N. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol* 1999 ; 189 : 12—19
2. Muñoz N, Bosch FX, Castellsague X, Diaz M, de Sanjose S, Hammouda D, Shah KV, Meijer CJ. Against which human papillomavirus types shall we vaccinate and screen? The international perspective. *Int J Cancer* 2004 ; 111 : 571—579
3. Sesieni P, Cuzick. Could HPV testing become the sole primary cervical screening test? *J Med Screen* 2002 ; 9 : 49—51
4. Tsai HT, Wu CH, Lai HL, Li RN, Tung YC, Chuang HY, Wu TN, Lin LJ, Ho CK, Liu HW, Wu MT. Association between quantitative high-risk human papillomavirus DNA load and cervical intraepithelial neoplasm risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005 ; 14 : 2544—2549
5. Jarboe EA, Venkat P, Hirsch MS, Cibas ES, Crum CP, Garner EI. A weakly positive human papillomavirus hybrid capture II result correlates with a significantly lower risk of cervical intraepithelial neoplasia 2,3 after atypical squamous cells of underemined significance cytology. *J Low Genit Tract Dis* 2010 ; 14 : 174—178
6. Origoni M, Carminati G, Rolla S, Clementi M, Sideri M, Sandri MT, Candiani M. *Eur J Microbiol Infect Dis* 2012 ; E-pub, ahead of print
7. Lorincz AT, Castle PE, Sherman ME, Scott DR, Glass AG, Wacholder S, Rush BB, Gravitt PE, Shussler JE, Schiffman M. Viral load of human papillomavirus and risk of CIN3 or cervical cancer. *Lancet* 2002 ; 360 : 228—229
8. Sherman ME, Wang SS, Wheeler CM, Rich L, Gravitt PE, Tarone R, Schiffman M. Determinants of human papillomavirus load among women with histological cervical intraepithelial neoplasia 3 : dominant impact of surrounding low-grade lesions. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2003 ; 12 : 1038—1044
9. Yuan Q, Wilbur DC. Original cervical cytology and follow-up biopsy results in positive high risk human papillomavirus DNA tests with high-level results. *Acta Cytol* 2008 ; 5 : 557—562
10. Knoop SM, Kuebler DL, Wilbur DC. Correlation between hybrid capture II high-risk human papillomavirus DNA test chemiluminescence intensity from

cervical samples with follow-up histologic results. *Cancer Cytopathol* 2010 ; 209—216

11. Derchain SFM, Rabelo-Suntos SH, Sarian LO, Zeferino LC, de Oliveira, Zambeli ER, do Amaral, Westin MC, de Angelo, Andrade LAL, Syrjanen KJ. Human papillomavirus DNA detection and histological findings in women referred for atypical glandular cells or adenocarcinoma in situ in their Pap smears. *Gynecol Oncol* 2004 ; 95 : 618—623
12. Rabelo-Santos SH, Derchain SFM, do Amaral Westin MC, Angelo-Andrade LAL, Sarian LOZ, Oliveira ERZM, Morais SS, Zeferino LC. Endocervical glandular cell abnormalities in conventional cervical smears : evaluation of the performance of cytomorphological criteria and HPV testing in predicting neoplasia. *Cytopathol* 2008 ; 19 : 34—43
13. Saqi A, Gupta PK, Erroll M, Babiac A, Blackmun D, Mansukhani M, Vazquez M. High-risk human papillomavirus DNA testing : a marker for atypical glandular cells. *Diagn Cytopathol* 2006 ; 34 : 235—239
14. Pirog EC, Kleter B, Olgac S, Bobkiewicz P, Lindeman J, Quint WGV, Richart RM, Isacson C. Prevalence of human papillomavirus DNA in different histological subtypes of cervical adenocarcinoma. *Am J Pathol* 2000 ; 157 : 1055—1062
15. Derchain SFM, Rabelo-Suntos SH, Sarian LO, Zeferino LC, de Oliveira Zambeli ER, do Amaral Westin MC, de Angelo Andrade LAL, Syrjanen KJ. Human papillomavirus DNA detection and histological findings in women referred for atypical glandular cells or adenocarcinoma in situ in their Pap smears. *Gynecol Oncol* 2004 ; 95 : 618—623
16. Krane JF, Lee KR, Sun D, Yuan L, Crum CP. Atypical glandular cells of undetermined significance. Outcome predictions based on human papillomavirus testing. *Am J Clin Pathol* 2004 ; 121 : 87—92
17. Ronnett BM, Manos MM, Ransley JE, Fetterman BJ, Kinney WK, Hurley LB, Ngai JS, Kurman RJ, Sherman ME. Atypical glandular cells of undetermined significance (AGUS) : cytopathologic features, histopathologic results, and human papillomavirus DNA detection. *Hum Pathol* 1999 ; 30 : 816—825