

原 著

HPV 感染状況と子宮頸癌検診における細胞診と HPV 検査併用の意義

獨協医科大学 産科婦人科学

香坂 信明 岡崎 隆行 稲葉未知世 稲葉不知之
亀森 哲 坂本 尚徳 北澤 正文 渡辺 博
深澤 一雄 稲葉 憲之

要 旨 Human papillomavirus (HPV) 中高リスク型の感染が、子宮頸部の前癌病変や子宮頸癌の発症に関与していることが明らかにされた。HPV 感染の一部は持続感染し、子宮頸癌のリスクとなる。そこで HPV 感染状況と子宮頸癌検診における細胞診と HPV 検査併用の意義について検討した。対象は3年以上経過観察可能であった細胞診正常81例と細胞診異常で組織診を施行した80例である。HPV 検出には Hybrid Capture Assay II[®] (HC-II[®]) 法を用いた。細胞診正常11例、細胞診異常61例で HPV が検出され、細胞診異常の程度が進むほど HPV 検出率は上昇した。組織診でも病変が進行するほど HPV 検出率は高くなった。細胞診正常では HPV 陽性持続で病変の進行を認めた。組織診別では、慢性子宮頸管炎 (Chronic Cervicitis : CC) では HPV 陽性持続1例と陽性化1例に、子宮頸部上皮内病変 (Cervical Intraepithelial Neoplasia : CIN) I では HPV 陽性持続2例に、CIN II では陽性持続3例と陽性化した1例に、CIN III では陽性持続2例に病変の進行が認められた。HPV 感染が認められなかった例では病変の進行を認めない結果から、細胞診と HPV 検査を併用することにより、細胞診正常で HPV 検査陰性であれば検診間隔を3年に延ばすことが可能であると示唆された。また HPV 持続感染が病変進行の原因となると考えられ、HPV 検査の導入は子宮頸癌の早期発見、早期治療に有用である。

Key Words : Human papillomavirus (HPV), Hybrid Capture Assay II[®] (HC-II[®]) 法, Cervical Intraepithelial Neoplasia (CIN), 細胞診, 子宮頸癌検診

緒 言

子宮頸癌は現在全世界中で毎年約50万人が罹患しその半数以上が死亡しており、女性の癌では、乳がんに次いで2番目に多く発生している癌である^{1,2)}。子宮頸癌検診の普及に伴い早期発見が可能となってきているが、近年若年女性の子宮頸癌発生数、死亡数の増加が認められている³⁾。現在子宮頸癌はその原因から発生に至るまでの自然史がほぼ解明され、ワクチンによる予防⁴⁻⁶⁾が可能となった癌である。子宮頸部初期病変および子宮頸

癌の発生にヒトパピローマウイルス (Human Papillomavirus : HPV) が関与していることが明らかにされている⁷⁾。HPV は性行為により感染し、若年者では性行動の活発化により HPV 感染率の上昇と子宮頸部病変の若年化が危惧されている。HPV は正20面体の capsid 構造をとる約8,000塩基対の2本鎖 DNA をゲノムに持つウイルスで、現在約100種類以上が同定されている。その中でも子宮頸部上皮内病変 (Cervical Intraepithelial Neoplasia : CIN)、子宮頸癌の原因となる HPV は中高リスク型 HPV で 16, 18, 31, 33, 35, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 61, 66, 68 型などの検出が重要である⁸⁾。HPV 感染診断には感染部位からの HPV DNA の直接検出が有用な方法とされている。HPV DNA の検出方法には Polymerase Chain Reaction (PCR) 法、Southern blot 法、In Situ Hybridization (ISH) 法、dot blot 法が用いられている。今回当科では米国 Food and Drug Administra-

平成22年9月6日受付, 平成22年10月7日受理
別刷請求先: 香坂信明

〒321-0293 栃木県下都賀郡壬生町北小林880
獨協医科大学 産科婦人科学

表1 細胞診クラス分類

判定	細胞所見	推定病変
class I	異型細胞を認めない	正常上皮
II	異型細胞を認めるが良性である	良性異型上皮 (炎症性異型上皮など)
III	悪性を疑うが断定できない	異形成
IIIa	悪性を少し疑う	軽度・中等度異形成
IIIb	悪性をかなり疑う	高度異形成
IV	極めて強く悪性を疑う	上皮内癌
V	悪性	浸潤癌 (微小浸潤癌を含む)

表2 CIN 分類

判定	組織型
CIN I	Mild dysplasia (軽度異形成)
II	Moderate dysplasia (中等度異形成)
III	Severe dysplasia/Carcinoma in situ (高度異形成/上皮内癌)

tion (FDA) が子宮頸癌スクリーニングの補助検査法として認定した Hybrid Capture Assay II[®] (HC-II[®]) 法 (Digene 社, Maryland, USA) を用い, HPV 感染状況と子宮頸癌検診における細胞診と HPV 検査併用の意義について検討した。

対象および方法

当科にて3年以上経過観察可能でインフォームドコンセントの得られた細胞診正常81例及び細胞診異常のため腫瘍外来にて組織診を施行した CIN III までの80例において, 悪性化に関与する中高リスク型 HPV の感染を HC-II[®] 法を用いて検索した。細胞診はクラス分類 (表1) を使用し, 組織診には CIN 分類 (表2) を使用した。HC-II[®] 法は混合プローブを用いた Southern blot 法が基本で, 低リスク型 (6, 11, 42, 43, 44) と中高リスク型 (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68) HPV に区別して検出する方法である。まず検体に変性試薬を加え, 65°C の湯浴で45分間反応させ, DNA の抽出を行う。抽出後 HPV プローブ試薬 (RNA プローブ) を用いて65°C の湯浴で60分間反応させ, ハイブリダイゼーションを行う。この時検体中に HPV-DNA が存在すると DNA/RNA ハイブリッドが形成され, これをマイクロプレートに固相化した抗 DNA/RNA 特異抗体により 20~25°C で60分間ハイブリッドキャプチャー反応を行う。さらに, アルカリフォスファターゼ標識抗 DNA/RNA 抗体を 20~25°C で30分間反応させ, その後化学発光基質を添加してその化学発光を測定することにより検体中の HPV-DNA を検出する。判定方法は, 陽性コントロールの測定値をもとに検体のインデックス値を求

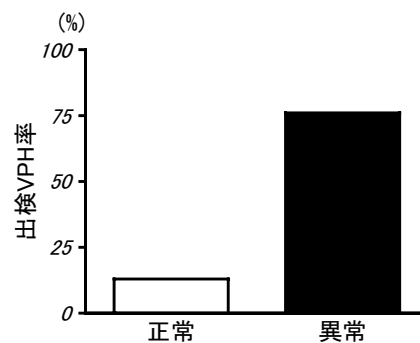


図1 細胞診正常例と異常例における HPV 検出率

め, 1.0 がカットオフ値となり, 1.0 以上の検体を HPV 陽性, 1.0 未満を HPV 陰性と判定する。カットオフ値の水準は HPV の DNA 量で約 1.0 pg/ml に相当し, これは本法の検出限界を基本に設定されたものである。

細胞診と HPV 検査は同時に3から6ヶ月毎に施行し経過を観察した。CIN III では治療として子宮頸部円錐切除術を行い, 切除断端病変陰性例を経過観察した。

結 果

細胞診正常81例中では11例 (13.6%) に HPV が検出され, 細胞診異常80例中では61例 (76.3%) に HPV が検出された (図1)。細胞診正常例では同時に性感染症疾患のクラミジア, 淋菌の検査も施行した。クラミジア検出率 6.2% (5/81), 淋菌検出率 1.2% (1/81) と HPV 検出率がクラミジア, 淋菌の検出率より高い結果となった (図2)。細胞診別の HPV 検出率は class I + II では 13.6% (11/81), class III a では 67.9% (37/53), class III b では 85.7% (12/14), class IV では 100.0%

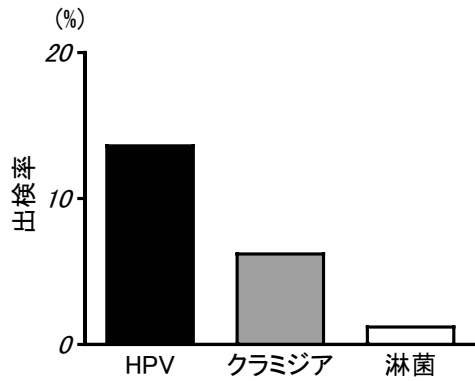


図2 細胞診正常例におけるHPV、クラミジア、淋菌検出率

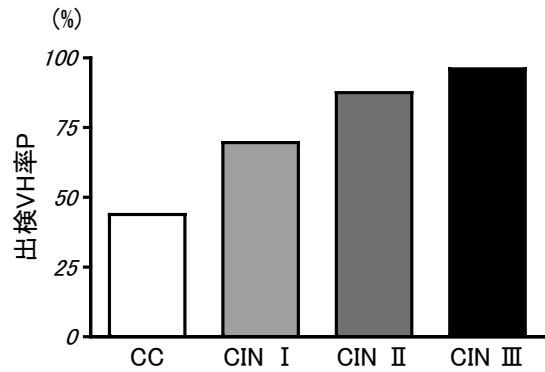


図4 組織診別 HPV 検出率

CC : chronic cervicitis. CIN : cervical intraepithelial neoplasia.

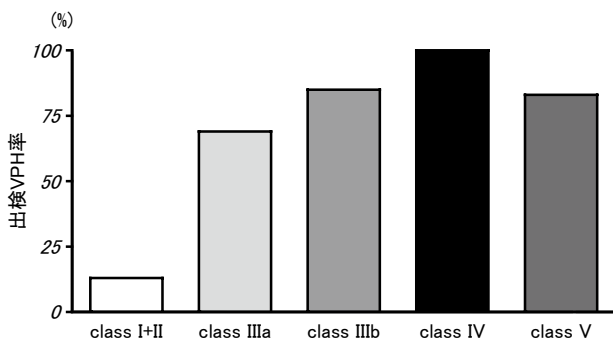


図3 細胞診別 HPV 検出率

(7/7), class Vでは83.3% (5/6)で細胞診異常が進むほど検出率は上昇する傾向にあった(図3)。組織診別のHPVの検出率は、正常と考えられる慢性頸管炎(Chronic Cervicitis : CC)では43.6% (7/16), CIN Iでは69.6% (16/23), CIN IIでは87.5% (14/16), CIN IIIでは96.0% (24/25)で組織診でも病変が進行するほど検出率は上昇した(図4)。

HPV感染状況と子宮頸部病変の経過では、細胞診正常例では11例中8例にHPV陽性持続があり、その8例中2例(25%)に細胞診class III aへの病変進行を認めた。進行までの観察期間は10ヶ月、12ヶ月であった。HPVが検出された11例中残り3例ではHPV感染が消失し(HPV陰性化)、HPV感染が認められなかった70例ではその後もHPV感染は認められず(HPV陰性持続)、病変進行は認められなかった(表3)。

組織診別 HPV感染状況と子宮頸部病変の経過は、CCではHPV陽性持続6例中1例(16.7%)にCIN Iへの進行があり進行までの観察期間は7ヶ月であった。HPVが検出されなかった9例中1例にその後HPV感染が起こり(HPV陽性化)、病変がCIN IIへ進行し、観察期間は6ヶ月であった。一方、HPV陰性化1例とHPV陰性持続8例では病変進行を認めなかった(表4)。

表3 細胞診正常例の HPV 感染状況と病変経過

	症例数	進行 (%)	正常 (%)
HPV 陽性持続	8	2 (25.0)*	6 (75.0)
HPV 陰性化	3	0 (0)	3 (100)
HPV 陰性持続	70	0 (0)	70 (100)
計	81	2 (2.5)	79 (97.5)

*2例とも class IIIa へ進行

表4 CC 例の HPV 感染状況と病変経過

	症例数	進行 (%)	不変 (%)
HPV 陽性持続	6	1 (16.7)*	5 (83.3)
HPV 陽性化	1	1 (100)**	0 (0)
HPV 陰性化	1	0 (0)	1 (100)
HPV 陰性持続	8	0 (0)	8 (100)
計	16	2 (12.5)	14 (87.5)

*CIN I へ進行

**CIN II へ進行

CIN IではHPV陽性持続9例中2例(22.2%)でCIN II, CIN IIIへ病変が進行し、進行までの観察期間は5ヶ月、4ヶ月であった。残りの7例は病変の不変5例、退行2例であった。またHPV陰性化7例及び、陰性持続7例では病変進行はなく、それぞれ不変が1例、4例、退行が6例、3例であった(表5)。CIN IIではHPV陽性持続8例中3例(37.5%)に、陽性化1例にCIN IIIへの進行を認め、陽性持続例の進行までの観察期間は6ヶ月、8ヶ月、16ヶ月、陽性化例の進行までの観察期間は6ヶ月であった。一方、HPV陰性化6例及び陰性持続1例では全例病変が退行した(表6)。CIN IIIでは治療として全例子宮頸部円錐切除術を施行しており円錐切除後の経過を示す。HPV陽性持続3例中2例(67.7%)にCIN

表5 CIN I 例の HPV 感染状況と病変経過

	症例数	進行 (%)	不変 (%)	退行 (%)
HPV 陽性持続	9	2 (22.2) *	5 (55.6)	2 (22.2)
HPV 陰性化	7	0 (0)	1 (14.3)	6 (83.5)
HPV 陰性持続	7	0 (0)	4 (57.1)	3 (42.9)
計	23	2 (8.7)	10 (43.5)	11 (47.8)

*CIN II, CIN III へ進行

表6 CIN II 例の HPV 感染状況と病変経過

	症例数	進行 (%)	不変 (%)	退行 (%)
HPV 陽性持続	8	3 (37.5) *	4 (50.0)	1 (12.5)
HPV 陽性化	1	1 (100) *	0 (0)	0 (0)
HPV 陰性化	6	0 (0)	0 (0)	6 (100)
HPV 陰性持続	1	0 (0)	0 (0)	1 (100)
計	16	4 (25.5)	4 (25.5)	8 (50.0)

*CIN III へ進行

表7 CIN III 例円錐切除後の HPV 感染状況と病変経過

	症例数	進行 (%)	正常 (%)
HPV 陽性持続	3	2 (67.7) *	1 (33.3)
HPV 陰性化	21	0 (0)	21 (100)
HPV 陰性持続	1	0 (0)	1 (100)
計	25	2 (8.0)	23 (92.0)

* CIN I, CIN II へ進行

I, CIN II への進行を認め、観察期間は共に6ヶ月であった。一方、HPV 陰性化21例と陰性持続1例では、観察期間中は病変を認めなかった(表7)。

考 察

HPV 感染は性交渉のある女性では一般的に認められる感染であり、女性の約80%が生涯に一度は感染すると見込まれ、感染自体は疾患ではない²⁾。今回細胞診正常例でHPVを検出した結果、HPV感染は13.6%に認められ、クラミジア感染6.2%の倍以上の感染率であった。Sasagawaら、近藤らもHPV感染はクラミジア感染と比べると感染率が高いことを報告している^{9,10)}。今回HPV検査にはHC-II[®]法を用いた。HC-II[®]は米国ではFDAによって子宮頸癌検診として細胞診と併せて行うことが承認されている。一方、欧州ではHC-II[®]法を用いた研究で、CIN II以上の病変を有する患者に対する感度はHC-II[®]法98.6%、細胞診71.4%、HC-II[®]法・細胞診併用100%、特異度はHC-II[®]法92.5%、細胞診96.2%と、子宮頸癌検診におけるスクリーニングとしてのHC-II[®]法の有用性を報告している¹¹⁾。

HPV感染者のうち9割以上は一過性感染であり2~3年以内に自然消失するが¹²⁾、残りの約1割はHPV感染が消失せず持続感染となる。その中の一部が数年~10年以上の経過で癌に進展すると考えられている¹³⁾。欧米では子宮頸癌検診にHPV-DNA検査の導入が進められ、細胞診との併用で検診の合理化と経済的効果が認められている。一方、本邦では長年にわたり細胞診のみによる子宮頸癌検診が広く施行されてきた。性行動の活発化と

検診率の低迷により最近では若年層を中心に罹患率が上昇してきている。本邦での子宮頸癌検診受診率は20%程度であり、欧米の80%以上と比較して非常に低い結果となっている¹⁴⁾。そのため当科では検診受診率を上げるための次善の策として、HPV自己採取による郵送検診を奨めている¹⁵⁾。HPV自己採取によるスクリーニング法はその検出感度において、医師採取によるHPV検出法と同程度とされている¹⁶⁾。従って細胞診による子宮頸癌検診を受けられない、あるいは受けたくない人たちに、時・場所を選ばない検診の機会を与えられることになる。

子宮頸癌検診では、細胞診のみならず子宮頸部異形成、子宮頸癌の原因であるHPVの検査を導入することが検診精度を上げるために重要と思われる。米国で導入されている細胞診とHPV検査併用検診では、細胞診正常でHPV検査陰性であれば検診間隔を3年に延ばすことが可能とされている¹⁷⁾。さらに欧州を中心に一次スクリーニングにHPV検査のみを使用するという方法も検討されている¹⁷⁾。米国で導入されている細胞診とHPV検査併用検診では、初年度はHPV検査の費用が余分にかかるが、ほとんどの場合次回は3年後の検診となるため細胞診のみの毎年検診による費用よりも安価となり、また検診精度の向上も期待できるとされている¹⁸⁾。今回われわれの検討でも細胞診正常でHPV検査陰性であれば、3年間は子宮病変の進行はないため検診間隔を3年にできるとと思われる。逆にHPV陽性持続の場合は細胞診正常例の8例中2例(25.0%)に観察期間10ヶ月、12ヶ月でclass III aへの病変進行があり、CC例では6例中1

例 (16.7%) に、観察期間7ヶ月で CIN I への病変進行を認めたことにより、細胞診正常で HPV 検査陽性の場合には6から12ヶ月後に再検査を行う。再検査により細胞診正常で HPV 検査が陰性化している場合は3年後検診とし、HPV 検査陽性持続の場合はコルポスコープや組織診などの精密検査を行う。細胞診にて異常があれば組織診を行うが、組織診にて CC, CIN I, CIN II, CIN III (CIN III は円錐切除術にて完全切除例) の HPV 陽性持続例、陽性化例では病変進行があるために定期的な精査が必要である。特に CIN II 以上まで進行した8例では6例に6ヶ月以内の進行があるため、少なくとも6ヶ月毎の検診が前癌状態、子宮頸癌の早期発見に重要である。

結 論

子宮頸癌検診では子宮頸部細胞診と HPV 検査を併用することにより、子宮頸癌検診の精度並びに費用対効果を上げることが可能である。細胞診正常で HPV 検査陰性であれば検診間隔を3年に延ばすことができる。細胞診正常で HPV 検査陽性であれば6から12ヶ月後に再検査を行う。HPV 検査を導入することは検診感度を上げることにより子宮頸癌予備群を見落とす確率を低くでき、結果として子宮頸癌の早期発見、早期治療に非常に有用である。

なお、本研究は重粒子線がん治療 (婦人科腫瘍) 臨床研究班の研究費を用いて行った。

謝 辞 本研究を行うにあたり、終始適切な御指導をいただきました稲葉憲之主任教授、直接御指導いただきました深澤一雄教授、ならびに研究費の御協力をいただきました重粒子線がん治療 (婦人科腫瘍) 臨床研究班 (委員・班委員 稲葉憲之, 班委員 深澤一雄), 検体収集の御協力をいただきました産婦人科教職員の方々 に心より感謝申し上げます。

文 献

- 1) 平井康夫: 婦人科がん ワクチンによる子宮頸癌の予防戦略Ⅲ. 子宮頸癌の検診と HPV テスト. *Jpn J Cancer Chemother* **37**: 232-235, 2010.
- 2) 今野 良: 婦人科がん ワクチンによる子宮頸癌の予防戦略Ⅳ. HPV ワクチンによる子宮頸癌の予防. *Jpn J Cancer Chemother* **37**: 236-239, 2010.
- 3) 2009年人口動態統計 厚生労働大臣官房統計情報部
- 4) Garland SM, Hernandez-Avila M, Wheeler CM, et al: Quadrivalent vaccine against human papillomavirus to prevent anogenital disease. *N Engl J Med* **356**: 1928-1943, 2007.
- 5) Paavonen J, Jenkins D, Bosch FX, et al: Efficacy of a prophylactic adjuvanted bivalent L1 virus-like-particle vaccine against infection with human papillomavirus types 16 and 18 in young women: an interim analysis of a phase III double-blind, randomized controlled trial. *Lancet* **369**: 2161-2170, 2007.
- 6) The FUTURE II Study Group: Quadrivalent vaccine against human papillomavirus to prevent high-grade cervical lesions. *N Engl J Med* **356**: 1915-1927, 2007.
- 7) zur Hausen H: Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. *Nat Rev Cancer* **2**: 342-350, 2002.
- 8) Munoz N, Bosch FX, de Sanjose S, et al: International Agency for Research on Cancer Multicenter Cervical Cancer Study Group. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med* **348**: 518-527, 2003.
- 9) Sasagawa T, Tani M, Yasuda H, et al: Sexual behavior and high risk human papillomavirus infections in Japanese women. *Sex Transm Infect* **81**: 280-282, 2005.
- 10) 近藤栄司, 田畑 務, 佐川典正: 妊婦における HPV・クラミジアスクリーニング. *産婦人科の実際* **58**: 231-237, 2009.
- 11) Cuzick J, Szarewski A, Cubie H, et al: Management of women who test positive for high-risk types of human papillomavirus: the HART study. *Lancet* **362**: 1871-1876, 2003.
- 12) Moscicki AB, Shiboski S, Hills NK, et al: Regression of low-grade squamous intra-epithelial lesions in young women. *Lancet* **364**: 1678-1683, 2004.
- 13) 笹川寿之. ヒトパピローマウイルス (HPV) 感染と子宮頸癌—現状と対策. *臨床と微生物* **34**: 363-371, 2007.
- 14) WHO/ICO Information Center on HPV and Cervical Cancer: HPV and Cervical Cancer in the World. 2007 Report. *Vaccine* **25**: S3, 2007.
- 15) 獨協医科大学産婦人科ホームページ
- 16) Stewart DE, Gangliard A, Johnston M, et al: Self collected samples for testing of oncogenic human papillomavirus: a systemic review. *J Obstet Gynecol Can* **29**: 817-828, 2007.
- 17) Wright TC Jr.: Cervical cancer screening in the 21st century: Is it time to retire the PAP smear? *Clin Obstet Gynecol* **50**: 313-323, 2007.
- 18) 林 由梨, 川島 恵, 平嶋洋人, 他: 子宮頸がん検診の現状と課題. *産婦人科の実際* **58**: 507-518, 2009.

Human Papillomavirus (HPV) Infection and the Significance of Combined Cytology and HPV Test in Uterine Cervical Cancer Screening

Nobuaki Kosaka, Takayuki Okazaki, Michiyo Inaba, Fujiyuki Inaba, Tetsu Kamemori, Takanori Sakamoto, Masafumi Kitazawa, Hiroshi Watanabe, Ichio Fukasawa, Noriyuki Inaba

Department of Obstetrics and Gynecology, Dokkyo Medical University Mibu, Tochigi, 321-0293 Japan

Persistent infection with intermediate or high risk subtypes of human papillomavirus (HPV) is associated with uterine cervical neoplasia and cervical cancer. Over a 3-year period, we followed up 161 patients with normal (81 cases) and abnormal (80 cases) results of cytological screening tests to determine the status of persistent HPV infection and the significance of combined uterine cervical cancer cytological screenings and HPV tests. The hybrid capture assay II[®] method was used to test for intermediate or high risk of HPV infection. HPV infection was detected in 11 patients with normal results and 61 patients with abnormal results of cytological screening tests. The positive rate of HPV infection was associated with the status of cytological and pathological lesion progression. Lesions of 2 patients with persistent HPV infection who had normal results in cytological screening tests had been diagnosed with progressive lesions. Lesions of patients in whom HPV infection was negative or negative conversion were determined to be non-progressive. Disease progression was seen in the

form of chronic cervicitis in 1 patient with persistent HPV infection and 1 patient with HPV positive conversion : in the form of cervical intraepithelial neoplasia (CIN) I in 2 patients with persistent HPV infection : in the form of CIN II in 3 patients with persistent HPV infection and 1 patient with HPV positive conversion : and in the form of CIN III in 2 patients with persistent HPV infection. In conclusion, combined cytological screening and HPV tests will increase the precision of uterine cervical cancer screening and will be valuable for the early detection and a rapid treatment of uterine cervical cancer. Moreover, the interval between 2 consecutive uterine cervical cancer screenings can be extended to at least 3 years in patients who have normal results of cytology and no HPV infection.

Key words : Human papillomavirus (HPV), Hybrid Capture Assay II[®] (HC-II[®]), Cytology, Cervical intraepithelial neoplasia (CIN), Cervical cancer screening