

## 総 説

## 子宮頸癌とヒトパピローマウイルス

## Human Papillomavirus and the Cervical Carcinoma

笹 川 基 富 田 雅 俊 本 間 滋 児 玉 省 二

Motoi SASAGAWA, Masatoshi TOMITA, Shigeru HONMA and Shoji KODAMA

## 要 旨

ヒトパピローマウイルス (human papillomavirus, 以下HPV) のうち, 16型, 18型などの高リスク型HPVが, 子宮頸癌の発癌機序に深く関与していることが知られている。初期遺伝子であるE6, E7が, 癌抑制遺伝子産物であるp53蛋白, Rbファミリー蛋白と結合し, これらの不活性化を引き起こし, 宿主細胞に不死化が起こる。

細胞にHPVが感染すると, koilocytosisなどの細胞所見が観察される。HPV DNA診断法にはSouthern blot法, Polymerase chain reaction法などがあるが, 最近, 操作法の簡便なHybrid capture assay法が開発され, 臨床応用されつつある。今後, 子宮がん検診を含めた子宮頸癌の診断法, 前癌病変である子宮頸部異形成の管理法, 子宮頸部異形成や子宮頸癌の術後管理の中で重要な検査法になるとと思われる。

## はじめに

子宮頸癌は婦人科悪性腫瘍の中でも最も代表的な腫瘍であり, わが国では年間人口10万に対して15人が子宮頸癌に罹患すると考えられている。

かつて子宮癌は悪性腫瘍による死因順位の中で胃癌に次いで第2位を占めていたが, 子宮がん検診の普及により上皮内癌など初期癌で発見されることが多くなり, わが国における子宮癌死亡率は劇的に減少した。しかし, 世界的には子宮頸癌は乳癌に次いで高い疾患罹患数を示し, 現在でも毎年20万人が子宮頸癌で死亡している。また, わが国でも年間約5,000人の子宮癌死亡が報告されている。子宮頸癌による死亡ゼロを目指し, さらなる努力が必要である。

近年, ヒトパピローマウイルス (human papillomavirus, 以下HPV), とりわけ16型, 18型などの高リスク型HPVが子宮頸癌の病因として広く認められるようになってきた。これに伴い, 子宮がん検診を含めた子宮頸癌の診断法, 前癌病変である子宮頸部異形成の管理法, さらにはこれらの治療法の中で, HPVの重要性が世界的に認識されつつある。本稿では, HPVと子宮頸癌との関連性について概説する。

## 子宮頸癌の発生

子宮頸部の腔に面した部分 (子宮腔部) は重層扁平上皮により, また頸管内は単層円柱上皮により覆われており, 扁平円柱上皮接合部の子宮頸管側上皮下に予備細胞が存在する (図1)。予備細胞は組織修復の際に幹細胞となるが, 子宮頸癌の約80%を占める扁平上皮癌はこの予備細胞を母細胞として発生する。通常, 軽度異形成 (図2), 高度異形成を経て上皮内癌 (図3) が発生し, さらに浸潤癌となる。

前癌病変である軽度異形成のうち, 高度の病変へと進行してゆくのは10%以下であり, 多くの症例では軽度異形成のまま存続するか, 自然消失する。一方, 高度異形成では30~40%が上皮内癌へと進行し, さらに浸潤癌となる (図4)。

## ヒトパピローマウイルスについて

HPVはパポバウイルス科に属する小型のDNA型ウイルスで, ウイルスゲノムは72個のカプソメアからなる外套蛋白につつまれ, 正20面体構造をとる。ウイルスゲノムは約8,000塩基対の2本鎖環状DNA構造をもつが, 遺伝情報は2本鎖DNAの一方にのみコードされている。パピローマウイルスは種特異性が強いウイルスで, HPVはヒトにのみ感染を引き起こす。

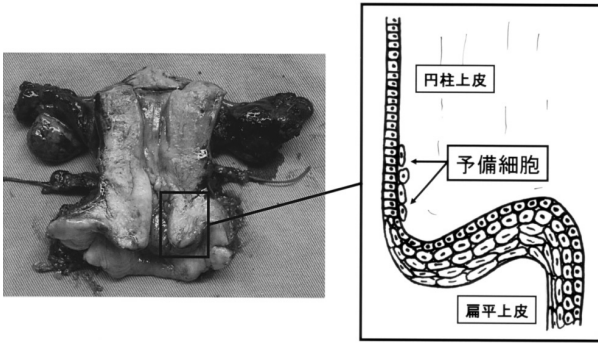


図1 予備細胞

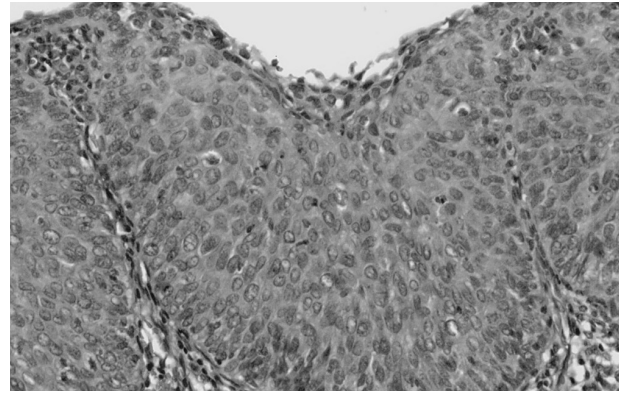


図3 子宮頸部上皮内癌の組織 (ヘマトキシリン・エオジン染色、×40)

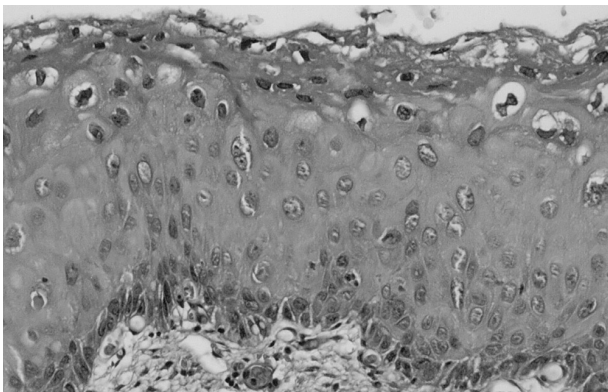


図2 子宮頸部軽度異形成の組織像 (ヘマトキシリン・エオジン染色、×40)

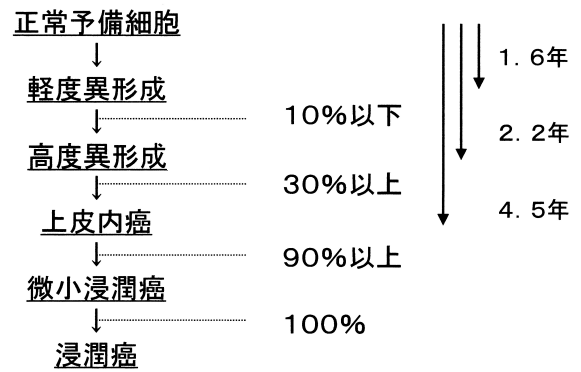


図4 子宮頸癌が発生するまでの自然史

また、組織特異性も高く、ヒトでは皮膚の扁平上皮と泌尿・生殖器などの粘膜だけに感染が成立する。HPVゲノムは初期遺伝子 (E1, E2, E4, E5, E6, E7), 後期遺伝子 (L1, L2) とウイルス複製などを調節している転写調節領域 (long control region, LCR) により構成されている。初期遺伝子はウイルスの感染からDNAの複製までに働く重要な遺伝情報をコードし、転写、複製、形質転換を調節する。初期遺伝子にコードされる蛋白質は増殖抑制系に働き、休止期にある細胞のDNA合成を活性化し、ウイルスゲノムの複製が可能な細胞環境を整える。一方、後期遺伝子は成熟したウイルス粒子のカプシド蛋白をコードしている。

皮膚科領域では、HPVは疣の原因ウイルスとして古くから知られているが、HPVにより発生する病変には型特異性がみられ、1型は足底疣贅、2型は尋常性疣贅、3型は扁平疣贅との関連性が深い。

HPVは塩基配列の違いにより、100以上の型に分類されており、35種類以上のHPVが女性性器粘膜に感染を起こす。

HPV感染は性行為に伴う接触感染により成立し、微細な傷から標的細胞である粘膜上皮の基底細胞 (子宮頸部の場合、扁平円柱上皮接合部に存在する予備細胞) に侵入する。潜伏期間は平均3ヶ月とされて

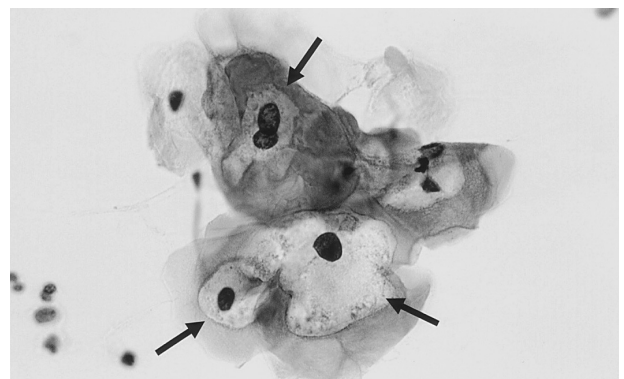


図5 子宮頸部細胞診でみられるHPVの細胞所見 (パピニコロウ染色、×40) 核周囲に淡明な部分が認められるkoilocytosis (矢印)、多核細胞が観察される

表1 性器感染を起こすHPV

低リスク型	6型, 11型, 40型, 42型, 43型, 44型, 57型
高リスク型	16型, 18型, 31型, 33型, 35型, 39型, 45型, 51型, 52型, 56型, 58型, 59型, 66型

いる。HPV感染細胞内でHPVゲノムの複製が開始されるが、通常、ウイルス粒子の産生はある程度表層細胞へと分化してから起こる。

健常婦人の10~30%でHPV DNAが検出されるが、多くの場合、自然に消失する<sup>1)</sup>。しかし、一部は持続的に感染し、それに伴い尖圭コンジローマなどの良性腫瘍、あるいは子宮頸癌などの悪性腫瘍が発生する。

生殖器感染に関わるHPVは、良性腫瘍の病因となる低リスク型と、子宮頸部などで発癌に関与する高リスク型とに分類されている(表1)。

低リスク型HPVはコンジローマや軽度異形成の病巣に認められる。外陰や陰に発生する尖圭コンジローマは6, 11型HPVの感染により発生すると考えられている。低リスク型HPVは宿主細胞DNAに組み込まれることなく、エピソード型ウイルスとして細胞内で存在する。軽度異形成はHPV感染によって発生した組織反応であり、多くは自然治癒すると考えられている。

一方、高リスク型HPVは宿主DNAに組み込まれ、高度異形成など前癌病変や浸潤癌の発生に深く関わる。

### 子宮頸癌の発生とHPV

子宮頸癌は尼僧にはほとんどみられず、売春婦に多発することなどから、以前から性行為との関連性が指摘されていた<sup>2)</sup>。

当初、病因として単純ヘルペスウイルスが疑われたが、子宮頸癌組織からウイルスDNAがほとんど検出されず、子宮頸癌との関連性は少ないことが判明した。

1983年にzur Hauzenらのグループにより子宮頸癌組織からHPV16型と18型DNAがクローニングされ<sup>3)</sup>、以来HPVと子宮頸癌との関連性に関する多数の報告がみられる。

HPVの初期遺伝子であるE6は癌抑制遺伝子産物であるp53蛋白質と複合体を形成し、ユビキチン経路を介しp53の分解を引き起こす。このため、p53によるG1/S期における細胞周期の停止やDNA修復機能が阻害される<sup>4)</sup>。E7はRbファミリー蛋白質(p105, p107, p130)と結合し、転写調節因子であるE2FがRb蛋白から解離する。このため、E2Fによる転写活性が抑制されず、細胞増殖が持続する。E6およびE7遺伝子はin vitroでヒトケラチノサイトを不死化することが知られている<sup>5)</sup>。E6蛋白はテロメラーゼの活性化や、アポトーシスの抑制機能ももっている。E6, E7による癌抑制遺伝子の不活性化は多段階発がん仮説の中でも重要な不死化に強く関与していると考えられている。

## HPVの検査法

HPV感染症の診断法には、病理組織学的方法とウイルス学的方法がある。

### 1. 病理組織学的診断法

#### (1) 細胞診断

日常診療で行う子宮頸部細胞診では、子宮頸部より細胞採取しパニコロウ染色して細胞観察を行うが、HPV感染に伴うさまざまな細胞学的変化が捉えられる。

核周囲に淡明な部分が認められるkoilocytosis(図5)は最も代表的な細胞所見である。その他、錯角化(細胞質における角化の異常)、smudged核(核の染色性の変化)、多核細胞、巨細胞などの所見がHPV感染に伴う細胞学的変化と考えられている。

#### (2) 組織診断

コンジローマや子宮頸部異形成では、細胞診同様、koilocytosisが観察される。

HPVの存在は、免疫組織化学的方法、電子顕微鏡を用いた観察、組織レベルでHPV DNAを検出するin situ hybridization法などにより証明される。

### 2. ウイルス学的診断法

#### (1) HPV DNA検出法

HPV DNA診断法には、DNAハイブリダイゼーション法(Southern blot法, Dot blot法)、Polymerase chain reaction (PCR)法などがある。前者における検出感度は約 $10^4$ HPVコピー、DNA増幅法である後者の感度は $10^1$ HPVコピーである。

最近、操作法の簡便なHybrid capture assay(HCA)法が開発され、欧米を中心に臨床応用されつつある。HCA法は感度、特異度ともに高く、PCR法とほぼ同等の検出感度をもつと考えられている。

キット化されたHCA法では、日常診療で行う子宮頸部細胞診採取器具に付着した細胞を材料として使い、ELISAプレート上でサンプルDNAを高リスク型HPVに特異的なRNA probeとハイブリダイズさせる。DNA/RNAハイブリッドを抗DNA/RNA抗体と反応させ、抗体に結合した色素を化学反応により発光させ、吸光度を測定する。

#### (2) HPV抗体の検出法

HPVの初期遺伝子産物(E2, E4, E6, E7)に対する抗体を検出する方法、ウイルスの外殻蛋白(L1, L2)に対する抗体を検出する方法などが報告されているが、臨床応用されるに至っていない。

## HPV検査の臨床応用

### 1. 子宮頸がん検診

子宮頸がん検診では、20歳以上の全女性を対象として子宮頸部細胞診が広く実施されている。細胞採取器具や検体処理法の工夫などにより比較的高い疾患検出感度が得られるが、HCA法などを用いたHPV検査法の感度は従来の細胞診の感度を上回るとの報告がみられる<sup>6)</sup>。

HPV検査を細胞診と同時に施行し、ともに陰性であった場合には、次回から検診間隔を従来の1年ごとから3年ごとにするがん検診制度が、海外では広まりつつある。

### 2. 子宮頸部異形成の取り扱い

がん検診で細胞異常を指摘され、コルポ診と生検病理検査により子宮頸部異形成と診断された場合、高度異形成では通常子宮頸部円錐切除術などの治療を行うが、軽度異形成の場合には治療は行わず、経過観察することが多い。軽度異形成の多くは自然消失するが、病巣が存続し、長年の定期的検診を要する症例も数多くみられる。概ね、当初は3ヶ月ごと、病巣が進行しないことが確認された場合には6ヶ月、1年と受診間隔を延長してゆくが、受診間隔を考慮する上で、高リスク型HPVの存在が参考になる。

### 3. 子宮頸癌治療後の再発予知因子

子宮頸部高度異形成、上皮内癌、一部の微小浸潤癌では子宮を温存する縮小手術（子宮頸部円錐切除術など）が実施されるが、少数ながら子宮頸部に局所再発することがある。また、子宮頸癌に対する手術後、膣断端に再発することもある。こうした治療後の再発例では、子宮頸部や膣断端にHPVが検出されることが多く、HPVが再発の予知因子となると報告されている。

### 当科におけるHCA法の経験

わが国におけるHCA法の普及は、欧米に比べると遅れている。

臨床的に有用と思われるHCA法を本邦でも普及させるための基礎的データ作成のため全国的な臨床試験が開始され、倫理委員会の了承のもと、当科でも主になが検診を希望する患者を対象としてHCA法を開始した。

臨床試験が始まったばかりでデータを集積中であるが、子宮頸部細胞診は陰性であるのに、同時に実施したHCA法で高リスク型HPV陽性所見が得られ、コルポ診と生検病理検査により子宮頸部異形成と診断された症例などを経験している。HCA法が子宮頸癌の診断と治療の中で、大いに役立つことが期待される。

## 子宮頸癌の予防

ウシの乳頭腫組織をすりつぶし、ホルマリンで不活性化したものをウシに接種すると、ウシ乳頭腫の発病を予防できることが知られている。これを応用して、HPVの感染が予防できないかとの試みがみられる。

しかし、HPVはin vitroで増殖させることができないため、HPV粒子を大量に入手することは不可能であり、HPVワクチン開発の大きな障害となっている。また、HPVは種特異性が強く、ヒト以外のパピローマウイルス粒子を用いることができない。

近年、Zhouら<sup>7)</sup>は、HPV16型ウイルス粒子 (virus like particles, VLPs) の合成に成功した。HPVのVLPsは、自然のウイルス粒子と同じ免疫原性を有する一方、HPVの癌遺伝子 (E6, E7) を含まないため安全であり、接種により中和抗体が誘導される。HPV感染の予防、さらには子宮頸癌予防ワクチンとして期待されている。現在、数カ国で経口、点鼻投与法を用いた臨床試験が実施されている。

しかし、HPVには多型性があるため、多価ワクチンが必要となる。接種の対象をどう設定するかなど、臨床応用するためにはいまだ解決しなければならない課題が残されている。

## 文 献

1. Ley C, Bauer HM, Reingold R: Determination of genital human papillomavirus infection in young women. *J Natl Cancer Inst*, 83:997, 1991.
2. Fraumeni JF, Lloyd JW, Smith EM, Wagoner JK: Cancer mortality among nuns: role of marital status in etiology of neoplastic disease in women. *J Natl Cancer Inst*, 42(3):455-468, 1969.
3. Durst M, Gissmann L, Ikenberg H, zur Hausen H: A papillomavirus DNA from a cervical carcinoma and its prevalence in cancer biopsy samples from different geographic regions. *Proc Natl Acad Sci*, 80(12):3812-3815, 1983.
4. Munger K, Scheffner M, Huibregtse JM, Howley PM: Interaction of HPV E6 and E7 oncoproteins with tumour suppressor gene products. *Cancer Surv*, 12: 197-217, 1992.
5. Munger K: The E6 and E7 genes of the human papillomavirus type 16 together are necessary and sufficient for transformation of primary human keratinocytes. *J Virol*, 63:4417, 1989.
6. Lorincz AT, Richart RM: Human papillomavirus DNA testing as an adjunct to cytology in cervical screening programs. *Arch Pathol Lab Med*, 127:959-968, 2003.
7. Zhou J: Expression of vaccinia recombinant HPV 16 L1 and L2 ORF proteins in epithelial cells is sufficient for assembly of HPV virion-like particles. *Virology*, 185:251-257, 1991.