論文内容の要旨

論文題目:　　中咽頭扁平上皮癌:HPV 関連腫瘍と非関連腫瘍の臨床病理学的検討

氏名:　　利安　隆史

はじめに

頭頸部扁平上皮癌（HNSCC）は以前よりタバコやアルコールの暴露が発がん要因とされてきたが、特に中咽頭癌ではヒトパピローマウイルス（HPV）の関与が報告されてきている。近年の米国の報告では咽頭癌全体の発生率はほぼ横ばいであるのに対し、中咽頭癌は増加している。その要因は、禁煙活動の啓蒙による喫煙率の低下に伴う HPV 非関連腫瘍の減少と、その減少を凌駕する HPV 関連腫瘍の増加のためとされている。HPV 関連 HNSCC の発症は性交習慣と関与しており、生涯経腟セックスおよびオーラルセックスパートナーの数の増加が HPV の感染のリスクを有意に増加させ、その発症を増加させているとの報告もされている。HPV 関連腫瘍は、放射線治療や化学療法に対し反応性がよく、予後良好であり、HPV 因子は中咽頭癌にて重要な予後予測因子であるとされている。2010 年の米国の報告では、中咽頭癌の HPV 因子のスクリーニングを 35%の施設でルーチンにて行っており、今後施行を検討している施設も増加傾向にある。本邦では、HPV 関連中咽頭癌の報告は、いくつか報告されているが、まとまった報告は少なく、欧米に比べ HPV 関連中咽頭癌の認識も十分ではない現状にある。

目的

下咽頭癌などの他部位の頭頸部癌に比べて中咽頭癌の治療成績が良好な理由は HPV 関連腫瘍が一定の割合で含まれているからだと考えられている。そのため、HPV 関連腫瘍を知り、HPV 関連腫瘍と非関連腫瘍を区別することは予後予測、治療方法の方向性を決める上でも有用と考えられる。今回、頭頸部領域で HPV 関連腫瘍が最も多く報告されている側壁癌（扁桃癌を含む）症例を対象とし、その HPV 関連因子に関し検討を行った。その目的は、①中咽頭癌側壁癌における HPV 関連腫瘍の割合とその関与する HPV タイプを検索する、 ②HPV-DNA の検出法の検討、③HPV 関連腫瘍と非関連腫瘍との病理組織像の差異の検討、④HPV 関連腫瘍と非関連腫瘍との免疫組織学的な差異の検討　である。

対象と方法

本研究では、2005 年 4 月から 2010 年 4 月までにがん研有明病院にて放射線治療を施行した中咽頭側壁癌扁平上皮癌 40 症例を対象とした。HPV の検出とタイピングには、Clinichip ®HPV の

使用したLAMP法と In situ hybridization (以下ISH)を施行した。分子生物学的には、免疫組織化学検査（以下 IHC）による p16、p53、Ki67 の発現パターンを解析した。病理組織像の特徴として、角化など分化度による分類に加え、異常核分裂像の HPV 関連腫瘍に特異的な Ectopic chromosome around centrosome（ECAC）に着目し検討した。これらの結果にもとづき、HPV 検出法に関する検討、HPV 因子と臨床背景因子、HPV 因子と治療予後との相関について解析検討した。

結果

HPV 陽性例は 28 例（16 型 26 例、33 型 1 例、35 型 1 例）、HPV 陰性例は 12 例であった。HPV 陽性例では、p16 陽性かつ p53 陰性が 27 例（96％）であり、HPV 陰性例では、p16 陰性かつ p53 陰性例が 10 例（83％）であった。HPV 陽性例の Ki67 陽性細胞率は平均 89％に対し、HPV 陰性例のそれは74％であった。病理組織像は、HPV陽性例は、大部分が、低分化から中分化であるのに対し、HPV 陰性例は高分化が大部分であった。また HPV 陽性例の 64％に ECAC を同定し、HPV 陰性例には認めなかった。HPV 陽性腫瘍とHPV 陰性腫瘍とは明らかに異なる病理組織学的特徴を認めた。患者背景因子としては、HPV 関連腫瘍は非喫煙者に有意差をもって多い傾向が確認された。治療効果、治療予後に関しては、HPV 陽性群と陰性群で有意差は認めなかったが、HPV 陽性群は 2 年粗生存率 96％と非常に良好な結果が得られた。

考察

HPV の検出法は、PCR を主体とした方法と ISH があるが、いずれも利点、欠点がある。
本研究では、3 例の ISH 陽性例を Clinichip ®HPV では検出できなかった。これは腫瘍量が少ない、リンパ球浸潤が多いなどの標本の状態に起因するものと考えられた。本研究にて HPV-DNA が検出された 28 例は、全例 p16 IHC にて陽性であった。HPV-DNA 陰性かつ p16 陽性例は 1 例認めた。p16 IHC は判別が容易であり、HPV 感染の有用な代用検査になりうると判断された。

p16 IHCの結果とp53 IHCの結果は逆相関の関係が認められた。また本研究では、HPV関連腫瘍における p53 の IHC の特徴的染色パターンを認めた。それは、核が淡く染まる腫瘍細胞が瀰漫性に存在し、その中に強く核が染まる腫瘍細胞がスポット状に点在する、染色パターンであり、HPV 非関連腫瘍の染色パターンとは明らかに異なっていた。この HPV 関連腫瘍の染色パターンは腫瘍細胞内の野生型 p53 の過剰発現を見ている可能性が高いと考えられた。一方、HPV 非関連腫瘍の染色パターンは、変異型 p53 の半減期が長く核内に長期に渡り蓄積したものを見ているものと考えられた。今までの報告では p53 IHC の判別は、陽性細胞率を 20％や 30％を境に、陰性、陽性を判別することが多く、明確な染色パターンによる判別は報告されていない。中咽頭癌では異なった発癌機構にて発症した腫瘍を見るため、p53 IHC でのこの HPV 関連腫瘍の染色パターンの

認識は重要と考えられた。 また p53 がアポトーシスを誘導する重要な蛋白であることを考えると、HPV 関連腫瘍内の野生型 p53 の過剰発現が、その腫瘍の放射線治療や化学療法に対する反応良好性との関与している可能性が示唆された。

腫瘍細胞の中には、異常核分裂像が多く認められることが知られている。ECAC も染色体不安定性の背景の中に出現した染色体異常の 1 つの形態と考えられるが、ECAC は HPV 関連の子宮頸癌に特異的に出現することが、古田らにより報告されている。本研究にて、我々は、HPV 関連の中咽頭癌にも 64%の頻度で ECAC を同定した。中咽頭癌 HPV 関連腫瘍に ECAC を同定したのは、本研究が初めてである。ECAC の発見頻度は腫瘍標本サイズに影響をうけるため一定しないが、特異度が高いため、同定できた場合の HPV 関連腫瘍との関連性は非常に高いと考えられる HPV 関連腫瘍の病理組織像を見る場合、角化などの分化、El-Mofty らが示す HPV 関連腫瘍の特徴像をとらえることで、HPV 関連腫瘍と非関連腫瘍を区別することはある程度可能であるが、厳密な区別は困難と考えられた。今回我々が着目した HPV 関連腫瘍に特異的な異常核分裂像の1つ ECAC を検出することは、HPV 関連腫瘍の診断において非常に有用であると考えられた。ほとんどが HPV 関連腫瘍である子宮頸癌と異なり、HPV 非関連腫瘍が多い頭頸部癌の領域においては、その診断的役割はさらに高く、中咽頭癌 HPV 関連腫瘍の有用な病理組織マーカーになると考えられた。また ECAC を含め HPV 関連腫瘍の核分裂の状態に着目することは、その病理組織像を理解する上で、非常に重要と考えられた。

HPV 関連腫瘍群は HPV 非関連腫瘍群に比べ、進行症例が多い傾向を認めた。そのため、治療法も導入化学療法から開始した症例が多かった。それにもかかわらず HPV 関連腫瘍群では、2 年粗生存率 96%と非常に良好な結果が得られた。これまでの欧米での報告と同様に、当院にても HPV 関連腫瘍の予後が良好であることが示された。また、原発 T4 症例 3 例、N2c (両側リンパ節転移)2 例、N3 症例（6cm 以上）1 例の進行症例に対しても CR を認めていることは特筆すべきことであり、HPV 関連腫瘍の放射線治療や化学療法への良好な治療反応性を反映していると考えられた。一方 HPV 陰性群も、病期は HPV 陽性群に比べ早期症例が多いものの、生存率は比較的良好な結果が得られた。HPV 関連腫瘍群と HPV 非関連腫瘍群の 2 群間における生存率に、ログランク検定、Wilcoxon 検定にて有意差は認めなかった。HPV 非関連腫瘍死亡例の 2 例のうち、1 例は治療中の治療関連死であり、1 例は中咽頭癌以外の原因不明死であり、今回の検討では、HPV 非関連腫瘍症例で有意に生存率が低いとは判断できない結果であった。他施設での報告にくらべ当院の治療成績が良い結果が得られている理由に、外科医による救済手術の体制の充実、適切な治療法の選択、研究対象が中咽頭側壁癌に限定していることなども関与している可能性が考えられた。また、経過観察期間が短く、対象患者数が少ないことも影響している可能性が考えられた。今後の慎重な経過観察が必要と考えられた。HPV による区別なしに治療を行っている現状において、HPV 関連腫瘍に対し現治療より強度を下げ、HPV 非関連腫瘍に対しては強度を上げる治療が可能かどうかは、今後の検討課題である。

結語

本研究では中咽頭側壁癌の 70％に HPV 関連腫瘍を認め、本邦でも欧米同様に、HPV 関連中咽頭癌の増加が予測された。HPV 関連腫瘍と非関連腫瘍は、病理組織像、p16、p53、Ki67 の IHC の発現パターンに関して明らかな相違を認めた。臨床的に中咽頭癌の HPV の検出は、もはや必要な臨床情報の 1 つである。今回我々が着目した HPV 関連腫瘍に特異的な異常核分裂像の1つであるECACの検出は、HPV 関連腫瘍の診断においてきわめて特異度が高く、非常に有用と考えられた。

本研究において、HPV 関連腫瘍群はHPV 非関連腫瘍群に比べ進行症例が多いが、HPV 関連腫瘍群の治療予後は非常に良好であった。ECAC、HPV-DNA 検査、p16、p53 を組み合わせた免疫染色により、HPV 関連腫瘍と非関連腫瘍の個別化が可能であった。今後それらにもとづき治療効果を予測し QOL を考慮したオーダーメイド治療を検討する必要性があると考えた。