

Cervical Intraepithelial Neoplasia Grade 1 (CIN1) の症例 追跡研究 —高リスク型 Human Papillomavirus 検出状況と細胞診学的 予後の検討—

小田 隆司

子宮頸がんは、女性特有の悪性腫瘍のなかで3番目に多い死因となっている。Cervical Intraepithelial Neoplasia (CIN) は子宮頸がんの前がん病変とされており、その組織学的診断から CIN Grade 1 (CIN1), Grade 2 (CIN2), Grade 3 (CIN3) に分類され、それぞれ軽度異形成、中等度異形成、高度異形成および上皮内癌に対応している。CINの標準的な取り扱いとして、CIN1では経過観察、より高度なCIN3では病巣切除を目的とした外科的治療(円錐切除、子宮摘出等)が推奨されている。なかでもCIN1は、一時的な高リスクタイプのHPV(HR-HPV)感染による細胞変化とされその多くは自然治癒すると考えられているが、再燃するケースも少なくない。

1995年4月から2005年3月までの間、組織学的にCIN1と診断された243例の2663受診、1631回のHPV検査を対象として、細胞診正常化と高リスク型ヒトパピローマウイルス感染(HR-HPV)の検出状況との関連について解析することを目的とした単一施設での症例追跡研究である。

【目的】日本女性におけるCIN1の自然史がHPV感染の有無、またはHPV-DNAタイプの検出状況によって異なるかどうか評価すること。【方法】1995年4月から2005年3月の間にCIN1と診断された243例の患者の追跡研究である。登録条件は、過去にCINに対する治療歴を有しない75歳以下の症例とし、組織診でCIN1であっても細胞診でⅢbを指摘された症例や「細胞診正常化(2度以上続けて細胞診の異常を指摘しない場合)」を認めることなく追跡期間が12ヶ月未満であったものは除外した。観察間隔は3ヵ月ごととし、細胞診およびコルポスコピー検査を毎回実施。HPV検査(E6-E7, PCR法)については、「HPV陰性化(2度以上続けてHPVを検出しない場合)」とされるまでは毎回実施した。経過中の組織診については、細胞診またはコルポスコピー検査で悪化が疑われない限り実施していない。統計解析とし「細胞診正常化」「HPV陰性化」について、 Kaplan-Meier法を用い、Log-rank検定を行った。有意水準は5%未満とした。【結果】追跡期間の中央値は、33.2ヵ月(6-128で変動する)であった。243例の患者のうち、143例でHPVが検出された(HPV陽性群)。143例の患者のうち、109例では同じ型の検出されたHPVの持続感染を認めた。109例において最も多く検出されたHPV-DNA型は52型で(n=41, Persistentグループの37.6%)、16型(n=30, 27.5%)、58型(n=30, 27.5%)がこれに続いた。「HPV陰性群」における累積細胞診正常化率は24ヵ月後85.2%、36ヵ月後98.4%であった。これと比較し「HPV陽性群」における累積細胞診正常化率は有意に遅延した(65.1%と74.6%,それぞれ)が、同一タイプの持続感染の有無で検討したと

ころ、「非持続感染例」と「HPV 陰性群」との間に有意差は認められなかった。【結論】本研究で高頻度に検出された16型、52型、58型は、持続感染例に多く認められた。感染状況からの解析で、CIN1における「非持続感染例」は「HPV 陰性群」と同様に経過観察のみとして取り扱ってもよいとする結果を得た。今後、同一タイプの持続感染もつ CIN1患者における外科的処置の役割が明らかにされなければならない。(平成18年10月25日受理)

A Case Control Study of CIN1

— Investigation of The High-Risk HPV Detection Status and Outcome of Cytodiagnosis —

TAKASHI ODA

Aims : To determine if the natural history of CIN1 differs with the infection status of HPV and/or HPV-DNA typing in Japanese women. **Methods :** The 243 patients who were diagnosed as CIN1 between April 1995 and March 2005 were prospectively followed up. Excluded were those who were under follow-up of less than 12 months without progression. The patients were required to visit every three months unless there was "cytological regression". Pap-smear, HPV-DNA typing, and colposcopy without biopsy were performed during every visit and a biopsy was done when progression was suspected cytologically or colposcopically. Cytological prognosis and HPV disappearance were analyzed by the Kaplan-Meier method and the Log-rank test was performed. **Results :** The median follow-up was 33.2 months (range 6-128). Among the 243 patients, 143 were positive for HPV. Among the 143 patients, persistent infection of the same type was detected in 109. Among those 109 patients, 22 progressed to CIN3. The most predominant HPV-DNA type was x52 (n = 41, 37.6% in the Persistent group) followed by x16 (n = 30, 27.5%), x58 (n = 30, 27.5%), and others. The cytological regression rates for patients without HPV infection were 85.2% and 98.4% at 24 and 36 months, respectively. Although the regression rates in patients with HPV infections were extremely low (65.1%, and 74.6%, respectively), those rates in patients without persistent infection did not differ from those without HPV infection. **Conclusions :** Cytological regression rates in CIN1 without persistent infection of the same type were the same as those without HPV infection. The role of surgical interventions must be clarified in CIN1 patients with persistent infection of the same types for a long term.

(Accepted on October 25, 2006) *Kawasaki Medical Journal* 33(2) : 137-151, 2007

Key Words ① Dysplasia ② CIN1 ③ Cohort study ④ HPV
⑤ Natural history

緒 言

子宮頸がんの原因は性交渉によって感染する Human Papillomavirus (HPV) であることが解

明されている。HPV は性交経験のある女性では誰しもが感染しうる一般的なウイルスのひとつと考えられており、性交渉のある女性の50%~80%が一度は感染するとされている^{1),2)}。多くの女性では自然排除され、感染女性の5~

10%が持続感染を起こし、高度前がん病変へ移行する確率が高いと考えられている^{1)~3)}。WHO (IARC) が2004年にHPV-DNA検査のもたらすメリットについて提言を行ったなかで、HPVテストは子宮頸がんの発見に役立つと同時に導入することで子宮頸がんを減少すると発表した⁴⁾。

しかし、本邦の現状としてHPV-DNA検査が臨床実地において十分に浸透しているとは言いがたい。必要と考えられる検査ではあっても、保険診療の枠組みのなかに採用されるまでには至っておらず、必然的に高額なコストが患者自身にかかってしまうことも一因していると思われる。

これまでに我々は、子宮頸部の細胞診異常をきたした患者におけるHR-HPVの検出状況を調査し、治療の有効性などとともに発表してきた^{5)~9)}。本研究では、長期間観察可能であったCIN1についてその動向を調査し細胞診予後について検討を行った。

目 的

HR-HPV検出状況からCIN1の自然史への影響を評価し、経過観察でよいとするCIN1の取り扱いについて提言すること。

研究デザイン

コホート研究、平均追跡期間41ヶ月

対象および方法

(解析対象 (Table 1))

1995年4月から2004年12月までの間、子宮頸部の扁平上皮系細胞診異常を指摘され、川崎医科大学附属病院を受診した75歳以下の女性のうち、コルポスコープ下の生検による組織検査で「CIN1」と診断され(372例)、その後12ヶ月間以上無治療であった症例(228例)または12ヶ月未満であってもそれまでに細胞診の正常化を認めた症例(15例)で登録時にCINに対する

Table 1. 取り扱い

登録条件	<ul style="list-style-type: none"> ・1995年4月から2005年3月の間、川崎医科大学付属病院を受診した患者 ・細胞診で扁平上皮系の異常を指摘されたもの ・細胞診がパピニコロウ分類クラスIII またはクラスIIIa ・初診時の組織診断がCIN1 ・過去にCIN等に対する治療歴がない ・初診時年齢が75歳以下
初診時検査項目	<ul style="list-style-type: none"> ・子宮頸腔部擦過細胞診(細胞診) ・HR-HPV検査(HPV-DNAの同定) ・コルポスコープ検査 ・コルポスコープ下に生検(組織診)
外来での経過観察	<ul style="list-style-type: none"> 観察間隔 <ul style="list-style-type: none"> ・基本は3ヶ月ごと ・「細胞診正常化」および「HPV陰性化」後は6~12ヶ月ごと ・「細胞診正常化」が認められてもHR-HPV陽性が継続する場合は3ヵ月ごと 検査項目 <ul style="list-style-type: none"> ・子宮頸腔部擦過細胞診(細胞診) ・コルポスコープ検査 ・HR-HPV検査(HPV-DNAの同定) HR-HPV検査の中止 <ul style="list-style-type: none"> ・「細胞診正常化」を認め同時に「HPV陰性化」であった場合 組織検査 <ul style="list-style-type: none"> ・細胞診、コルポスコープ検査による悪化が認められない限り行わない

治療経験の無い243例を対象とした。

本研究での「CIN1」とは、子宮頸部擦過細胞診（以下細胞診と略す）が日母分類 Class III または III a, かつ組織診が CIN1 以下のものと定義した。登録時の細胞診で、Class III b 以上、または細胞診が III, III a であっても組織診で CIN2 以上となった症例は除外した。

(初診時の取り扱い)

(1) 生理食塩水に浸した頸部擦過用綿棒を用い、目視下に扁平上皮-腺上皮境界 (SCJ squamous-columnar junction) を中心に子宮頸部全体を擦過し頸部細胞を採取。これをガラス板 (スライドガラス) に薄く引き伸ばし、直ちにアルコール固定。子宮頸部擦過細胞診として病理部へ提出。(2) 同時に、同一綿棒を PBS 液内に浸し十分に攪拌したのち冷凍保存とし、HPV-DNA 検査に提出。(3) 続いてコルポスコプを用いた子宮頸部の観察を行った後、酢酸加工試験 (3% 酢酸溶液) を実施し病変部を観察。バイオプシー鉗子を用い、コルポスコプ下に最高病変と思われる箇所を狙い組織診を行った。

(HPV-DNA 検査)

HPV-DNA 検査は PCR 法を採用した。PBS 液内に保存された頸管スワブ検体は試験開始まで冷凍保存とし、解凍後、遠心分離 (2500 回転, 5 分) を行ったのち上皮細胞沈澱を回収。Sodium dodecyl sulfate-phenol 法により DNA を抽出した後、HPV E6-E7 領域の consensus primer (forward primer: pU-1ML: 5'-(Biotin)-TGTCAAAACCGTTGTGTCAGAAGAAAA-3', reverse primer: pU-2R, pU-2RN: 5'-GAGCTGTCACCTAATTGCTC-3', 5'-TCTGAGTCGCTTAATTGCTC-3') を用いて PCR (94℃, 30sec., 55℃, 60sec., 72℃, 60sec., 35 サイクル) を行い、アビジンコート 96 穴プレート上でオリゴヌクレオチドプローブハイブリダイゼーションを行う ELISA 法を用い HPV の在否を判定した^{10), 11)}。このとき用いた TMBG に

よる発色反応はプレートリーダーにて OD 450 nm を測定。OD 450 = 0.5 以上を陽性と判定した。さらに陽性の場合、HR-HPV16 型, 18 型, 31 型, 33 型, 35 型, 39 型, 45 型, 51 型, 52 型, 56 型, 58 型, 67 型, 68 型, 70 型のそれぞれの型に特異的な Type-specific oligonucleotide probe を用い HPV-DNA のタイピングを行った。

今回の検討のなかで用いた HR-HPV は、Munoz N らの分類に従った¹²⁾。

(経過観察 (Table 2))

診断後、外来にて CIN の疾患の特徴、取り扱いに関する説明を実施。「CIN1」と診断された患者のうち無治療経過観察を希望する患者を対象とした。診察間隔は 3 ヶ月毎を基本とし、経過観察中の細胞診が 2 度以上続けて Class I または II (本研究では「細胞診正常化」と定義した) で、かつ HR-HPV の検出を認めない (本研究では「HPV 陰性化」と定義) 場合、以後の観察間隔を 6 ヶ月~12 ヶ月毎とし HPV 検査を中止した。「細胞診正常化」を認めるが、「HPV 陰性化」を認めない症例では引き続き 3 ヶ月毎の観察を行った。また、「細胞診正常化」「HPV 陰性化」と判定した後、再度細胞診異常が認められた症例では HPV 検査を再開し 3 ヶ月毎の観察を再開した。

外来での経過観察には、細胞診とコルポスコプ検査を基本検査とし「HPV 陽性例」では HPV 検査 (HPV-DNA タイピング) を追加した。なお、初回の病理学的診断の後、細胞診およびコルポスコプ検査で悪化が疑われない限り生検は実施しなかった。

観察期間の算出は、細胞診異常を指摘され当院を初回受診した日を観察開始の起点とし、「細胞診正常化」となった場合、最初に Class I または II と示された診察日までを「細胞診正常化」に要した期間として算出。「HPV 陰性化」についても同様に算出した。また、観察開始から 12 ヶ月以上経過した後に治療となった場合は、治療直前の診察日で「観察の打ち切り」とした。今回の解析では、経過中であっても 2006 年 6 月 30

Table 2. 解析方法

解析対象	<ul style="list-style-type: none"> ・登録条件を満たした症例 ・12ヶ月以上の無治療観察期間を有する ただし12ヶ月以内であっても、「細胞診の正常化」条件を満たしたものは含める
観察期間	・1995年4月から2006年6月30日
解析における取り扱い上の定義	<ul style="list-style-type: none"> ・「HR-HPV」(高リスク型HPV)とは以下のHPV-DNAタイプ 4) HPV16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 67, 68, 70 ・「細胞診正常化」とは2度以上続けて細胞診がクラスI またはIIであったもの ・「HPV陰性化」とは2度以上続けてHR-HPV検査が陰性であったもの ・「細胞診異常の再燃」とは「細胞診正常化」後 再び細胞診異常が指摘されたもの ・「HPV陰性」経過中に一度も「HR-HPV検査」が検出されないもの ・「HPV陽性」とは、経過中に一度でもHR-HPVが陽性であったもの ・「HPV持続感染」とは2回以上続けて同一タイプのHR-HPVが検出されるもの ※「HPV陽性」=「HPV持続感染」+「HPV持続感染」
観察開始起点および観察終了時点	<ul style="list-style-type: none"> ・細胞診異常が指摘された日を観察開始起点とする ・「細胞診正常化」となった場合、最初に細胞診がクラスIまたはIIとなった日を正常化日とする ・「HPV陰性化」となった場合、最初にHR-HPV検査が陰性であった受診日を陰性化日とする ・正常化までの期間=「細胞診の正常化日」-「観察開始起点」 ・陰性化までの期間=「HPV陰性化日」-「観察開始起点」
観察の打ち切り	<ul style="list-style-type: none"> ・最終受診日 ・観察開始から12ヶ月以上経過したのち治療に至った場合、直前の診察日を「打ち切り日」とする
統計解析	<ul style="list-style-type: none"> ・「累積細胞診正常化率」「累積HPV陰性化率」はKaplan-Meier法を用いLog-Rank検定をおこなった ※有意水準は5%未満
統計ソフト	・EXCEL 実用医学統計ソフトState Mate III (ATMS)

日までの受診を最終観察点とした。

(病理学的検査)

採取した組織標本はすべて川崎医科大学病理検査部に集められ、複数の病理専門医によって病理組織学的検討および診断が行われた。細胞診検査も同様である。

(統計解析)

一次累積細胞診正常化率、HPV陰性化率の解析にはKaplan-Meier法を用いLog-rank検定を行った。有意差水準は5%未満とした。

エンドポイント

一次細胞診の正常化

結 果

《登録患者》

1995年4月から2004年12月の間に当院を初診

となり、組織学的にCINと診断された患者は計665名で、その内訳はCIN1 372名、CIN2 102名、CIN3 191名であった。初診時と2回目の受診時に検出されたHR-HPV検査結果から、HR-HPV感染率はそれぞれ58.3%、86.6%、91.1%であり (Table 3, Table 4)、CIN2, 3からはCIN1に比し高率にHR-HPVが検出された ($P < 0.001$)。CIN1と診断された372名のうち12ヶ月間以上無治療であった症例は228名。観察期間が12ヶ月未満であっても「細胞診正常化」と診断された症例は15名あり、これら243名 (初診時平均年齢 = 40 ± 14.1 歳, 中央値38, 16-75) が本研究の対象となった。243名における観察期間の平均は 41.5 ± 27.4 ヶ月, 中央値33ヶ月 (6-128), 診察回数は平均 11 ± 5.9 回, 中央値10回 (3-33), のべ2663診察で、HR-HPV検査は平均 6.7 ± 4.8 回, 中央値5回 (2-30) のべ1631回であった。

《HR-HPV 検出状況》

登録時のHR-HPV検出状況は、HR-HPVを検出しなかった症例112例 (46.1%), 検出を認

Table 3. 登録症例

年齢分布	登録時HR-HPV		経過中HR-HPV		HR-HPV検出状況		計
	陽性	陰性	陽性	陰性	非持続	持続	
<20	2	5	3	4	1	2	7
20-24	24	9	26	7	7	19	33
25-29	27	4	27	4	6	21	31
30-34	16	9	17	8	4	13	25
35-39	17	15	17	15	2	15	32
40-44	15	9	16	8	3	13	24
45-49	8	16	9	15	3	6	24
50-54	6	23	8	21	4	4	29
55-59	8	6	9	5	1	8	14
60-64	4	8	5	7	2	3	12
65-69	1	3	1	3	0	1	4
70<	3	5	5	3	1	4	8
	131	112	143	100	34	109	243

観察期間	N	平均(月)	中央値	標準偏差	範囲
登録患者	243	41	33	27.38	6-128
陰性患者	100	38	31	26.93	6-127
陽性患者	143	43	34	27.56	7-128

診察回数	N	平均(回)	中央値	標準偏差	範囲
登録患者	243	11	10	5.86	3-33
陰性患者	100	9	8	3.95	3-24
陽性患者	143	12	11	6.58	3-33

HR-HPV検査	N	平均(回)	中央値	標準偏差	範囲
登録患者	243	7	5	22.7	2-30
陰性患者	100	4	4	1.69	2-10
陽性患者	143	9	8	5.12	2-30

めた症例131例(53.9%)であった。しかし、その後の経過において12例(4.9%)にHR-HPVが検出された。観察期間中に一度もHR-HPVを検出しない「HPV陰性群」と、検出された「HPV陽性群」に分類した結果、「HPV陰性群」100例、「HPV陽性群」143例(58.8%)であった。

「HPV陽性群」における全期間を通して検出されたHR-HPVの内訳は年齢の分布とともに(Table 5)に示す。HR-HPVの検出頻度で最も多く検出されたタイプはHPV 52型が多く(46症例, CIN1全体の18.9%, 陽性群のみでは32.2%), ついで58型(36症例, 14.8%/全CIN1, 25.2%/陽性群), 16型(32症例, 13.2%/全CIN1, 22.4%/陽性群), 51型(22症例), 31型

(14症例)の順であった。

《HR-HPV感染の有無と細胞診正常化》

観察から「細胞診正常化」が認められるまで(一次細胞診正常化)の観察期間と累積細胞診正常化率の関係についてKaplan-Meier法を用い(Fig. 1), Log-Rank検定を行った。「HPV陰性群」の累積正常化率は1年後69.1%, 2年後85.2%, 3年後98.4%であったのに対し「HPV陽性群」では50.3%, 65.1%, 74.6%と遅れており、この両群間には有意差が認められた($P < 0.001$)。

《HR-HPV検出状況と細胞診正常化》

次に、「HPV陽性群」をHR-HPVの検出状況から二つのグループに分類した。同一タイプのHR-HPVが2回以上続けて検出されるもの

Table 4. 登録時における CIN 分類と HR-HPV 検出状況 (1995.4~2005.3)

HPV-DNAタイプ	分類	HSIL				計	登録時	
		CIN2		CIN3			CIN1	
		102		191			372	
感染状況	case	(混合)	case	(混合)		case	(混合)	
HPV 16型		22	7	77	19	99	46	13
HPV 18型		5	0	7	3	12	16	4
HPV 31型		10	2	16	3	26	13	5
HPV 33型		1	0	7	0	8	4	1
HPV 35型		3	0	3	1	6	5	2
HPV 39型		1	0	3	2	4	17	4
HPV 45型		0	0	0	0	0	0	0
HPV 51型		9	1	8	1	17	25	3
HPV 52型		8	0	36	13	44	53	16
HPV 56型		2	0	3	0	5	9	0
HPV 58型		20	6	38	3	58	40	8
HPV 61型		0	0	0	0	0	0	0
HPV 67型		2	0	2	1	4	5	0
HPV 68型		1	0	1	0	2	2	0
HPV 70型		0	0	0	0	0	1	0
同定不能		11	0	4	0	15	13	0
HPV陽性症例		88		174		262	217	
単HPVタイプ感染		79		149			190	
複数HPV感染		9		25			27	
HPV陰性症例		14		17		31	155 41.7	
HR-HPV陽性率 (%)		86.3		91.1		89.4	58.3	

Patients Rate of positive for HPV type16 or 52 or 58

	n	%/CIN	%/positive
CIN1	127	19.1	26.5
CIN2	45	44.1	51.1
CIN3	136	71.2	78.2

HSIL : Higrade squamous intraepithelial Lesion (=CIN2+3 CIN : Cervical Intraepithelial Lesion

HPV : Human Papillomavirus (混合) : 登録時に複数の HPV を検出した症例

単一感染 : 登録時の HPV 検出が1種類のみ

HPV 陽性症例 : 初診時・2回目の再診時に HR-HPV を検出するもの

HPV 陰性症例 : 初診時・2回目の再診時のいずれも HR-HPV を検出しない症例

Table 5. HPV 検出状況 (HPV 陽性 (143例))

DNAタイプ	年齢	-34		35-49		50-		合計	全体%	陽性%
	感染状況	case (multi)		case (multi)		case (multi)				
HPV 16型		16	12	9	4	7	2	32	13.2	22.4
HPV 18型		3	1	3	3	3	0	9	3.7	6.3
HPV 31型		7	4	6	3	1	0	14	5.8	9.8
HPV 33型		2	1	0	0	2	1	4	1.6	2.8
HPV 35型		1	0	0	0	0	0	1	0.4	0.7
HPV 39型		7	4	3	2	0	0	10	4.1	7.0
HPV 45型		0	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0
HPV 51型		9	5	9	3	4	3	22	9.1	15.4
HPV 52型		29	14	12	5	5	2	46	18.9	32.2
HPV 56型		4	2	3	1	4	2	11	4.5	7.7
HPV 58型		22	13	8	4	6	0	36	14.8	25.2
HPV 61型		0	0	1	1	0	0	1	0.4	0.7
HPV 67型		4	2	2	1	1	1	7	2.9	4.9
HPV 68型		1	0	3	1	0	0	4	1.6	2.8
HPV 70型		0	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0
同定不能		2	2	0	0	1	1	3	1.2	2.1

複数感染	25	11	5	41	16.9	28.7
4種	3	1	0	4		
3種	3	3	1	7		
2種	19	7	4	30		
単一感染	48	31	23	102	42.0	71.3

全体%：解析対象 (243例) に占める割合 陽性%：HR-HPV 陽性 (143例) に占める割合

複数感染：経過中に複数の HPV-DNA を検出したもの (multi)

単一感染：経過中の HPV-DNA 検出が 1 種類にとどまるもの

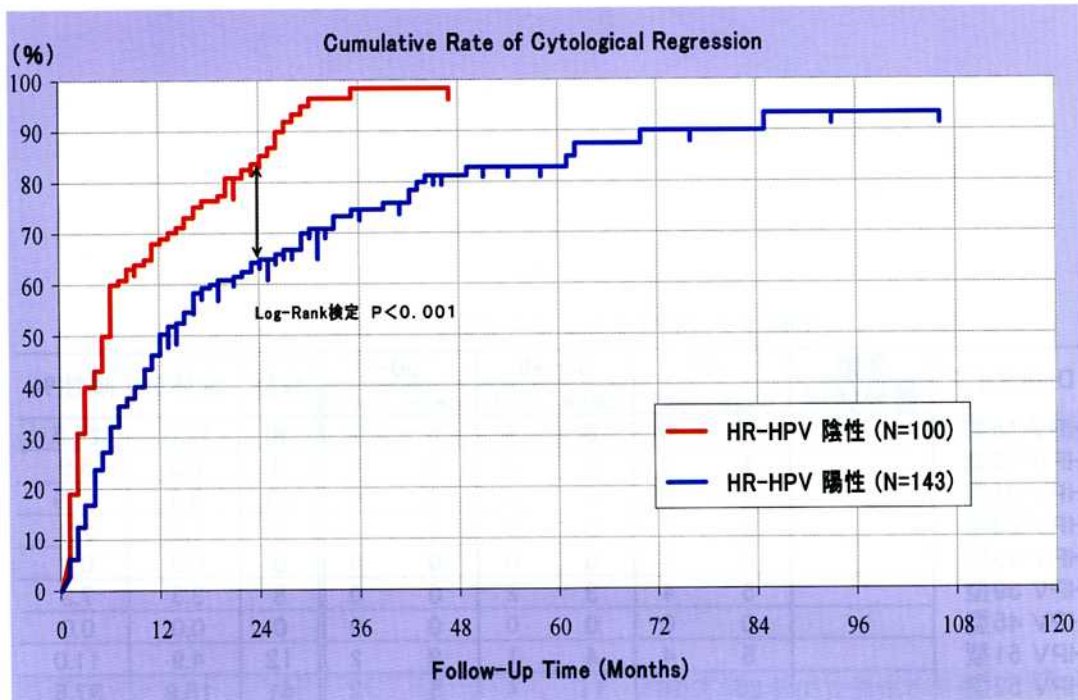


Fig. 1. HR-HPVの有無による一次細胞診正常化

を「持続感染群」、そうでないものを「非持続感染群」として検討を行った。「持続感染群」は109例で、検出されたHR-HPVの内訳は年齢の分布とともに (Table 6-1) に示す。「持続感染群」における検出頻度は52型 (41例, 16.9%/全CIN1, 37.6%/持続感染群) が最も多く次いで16型 (30例, 12.3%/CIN1, 27.5%/持続感染群), 58型 (30例, 12.3%/CIN1, 27.5%/持続感染群) の順であり, この3タイプのいずれかが検出された症例は109例中83例 (76.1%) を占めていた。一方, 「非持続感染群」での検出頻度は51型が多く, ついで56型, 58型, 52型であったが, 「持続感染群」で多く検出された16型に至っては2例のみであった (Table 6-2)。一方, 検出されたタイプが複数であったか否かについて検討したところ, 「持続感染群」で特に34歳以下の若年者に多い傾向にあった。

「持続感染群」, 「非持続感染群」の「細胞診正常化」について検討を行ったところ, 両群間

の累積正常化率には有意差が認められた ($P < 0.001$) のに対し, 「HPV陰性群」と「非持続感染群」との累積正常化率曲線は近似しており, 有意差は認められなかった ($P = 0.27$) (Fig. 2)。

〈HR-HPV陰性化〉

さらに, HPV陰性化とHPV検出状況との関連についても検討を行ったところ, (Fig. 3) に示すように, 「持続感染群」での陰性化は, 「非持続感染群」の累積陰性化率とくらべ有意差をもって遅延しており ($P < 0.001$), 50%の陰性化率を得るのに52ヶ月かかった。

考 察

性行為経験のある女性において Human Papillomavirus (HPV) 感染は, 子宮頸がんや前癌状態である子宮頸部上皮内腫瘍 (CIN: Cervical Intraepithelial Neoplasia) を考えるうえで最も重要なリスクファクターと考えられてい

Table 6-1. HPV 検出状況 (HPV 持続陽性例 (109例))

DNAタイプ	年齢	-34		35-49		50-		合計	全体%	陽性%
	感染状況	case	(multi)	case	(multi)	case	(multi)			
HPV 16型		16	12	8	4	6	2	30	12.3	27.5
HPV 18型		1	1	3	3	2	0	6	2.5	5.5
HPV 31型		7	4	6	3	0	0	13	5.3	11.9
HPV 33型		2	1	0	0	1	1	3	1.2	2.8
HPV 35型		0	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0
HPV 39型		5	4	3	2	0	0	8	3.3	7.3
HPV 45型		0	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0
HPV 51型		5	4	4	1	3	2	12	4.9	11.0
HPV 52型		25	13	11	4	5	2	41	16.9	37.6
HPV 56型		2	2	2	0	1	1	5	2.1	4.6
HPV 58型		18	11	6	4	6	0	30	12.3	27.5
HPV 61型		0	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0
HPV 67型		4	2	2	1	1	1	7	2.9	6.4
HPV 68型		1	0	3	1	0	0	4	1.6	3.7
HPV 70型		0	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0
同定不能		1	1	0	0	0	0	1	0.4	0.9

複数感染	23	9	4	36	14.8	33.0
4種	3	1	0	4		
3種	3	3	1	7		
2種	17	5	3	24		
単一感染	32	25	16	73	30.0	67.0

全体%：解析対象 (243例) に占める割合 陽性%：HR-HPV 陽性 (109例) に占める割合

複数感染：経過中に複数の HPV-DNA を検出したもの (multi)

単一感染：経過中の HPV-DNA 検出が1種類にとどまるもの

Table 6-2. HPV 検出状況 (HPV 非持続陽性例 (34例))

DNAタイプ	年齢	-34		35-49		50-		合計	全体%	陽性%
	感染状況	case	(multi)	case	(multi)	case	(multi)			
HPV 16型		0	0	1	0	1	0	2	0.8	5.9
HPV 18型		2	0	0	0	1	0	3	1.2	8.8
HPV 31型		0	0	0	0	1	0	1	0.4	2.9
HPV 33型		0	0	0	0	1	0	1	0.4	2.9
HPV 35型		1	0	0	0	0	0	1	0.4	2.9
HPV 39型		2	0	0	0	0	0	2	0.8	5.9
HPV 45型		0	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0
HPV 51型		4	1	5	2	1	1	10	4.1	29.4
HPV 52型		4	1	1	1	0	0	5	2.1	14.7
HPV 56型		2	0	1	1	3	1	6	2.5	17.6
HPV 58型		4	2	2	0	0	0	6	2.5	17.6
HPV 61型		0	0	1	1	0	0	1	0.4	2.9
HPV 67型		0	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0
HPV 68型		0	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0
HPV 70型		0	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0
同定不能		1	1	0	0	1	1	2	0.8	5.9

複数感染	2	2	1	5	2.1	14.7
4種	0	0	0	0		
3種	0	0	0	0		
2種	2	2	1	5		
単一感染	16	6	7	29	11.9	85.3

全体%：解析対象 (243例) に占める割合 陽性%：HR-HPV 陽性 (34例) に占める割合

複数感染：経過中に複数の HPV-DNA を検出したもの (multi)

単一感染：経過中の HPV-DNA 検出が1種類にとどまるもの

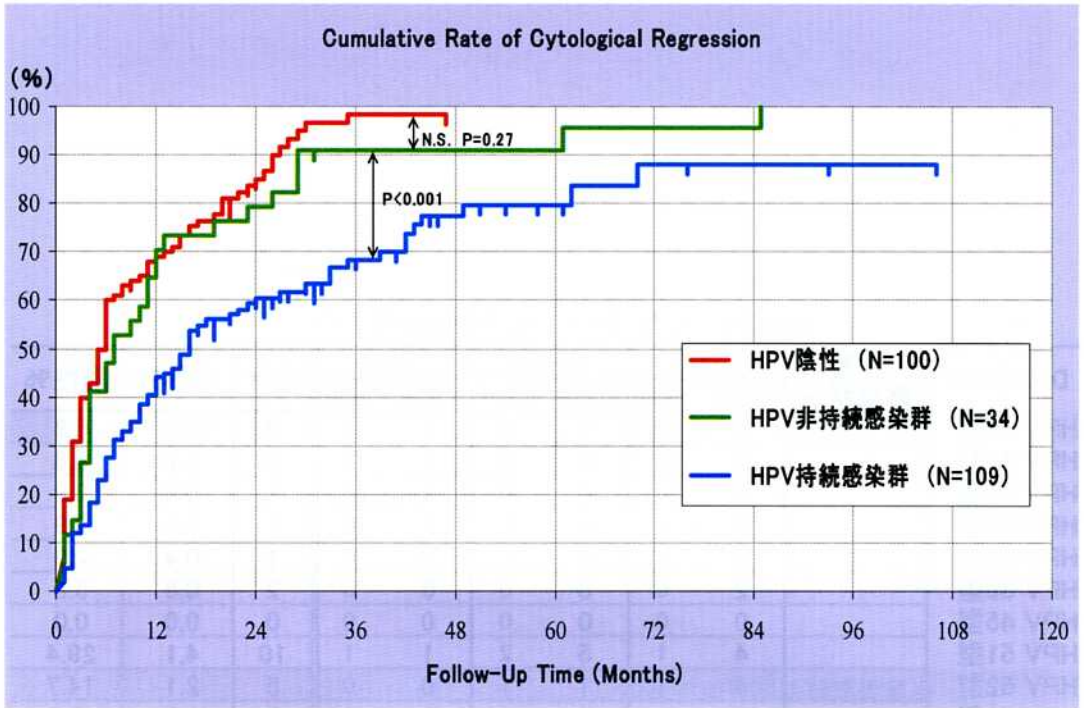


Fig. 2. HR-HPV 検出状況と細胞診正常化

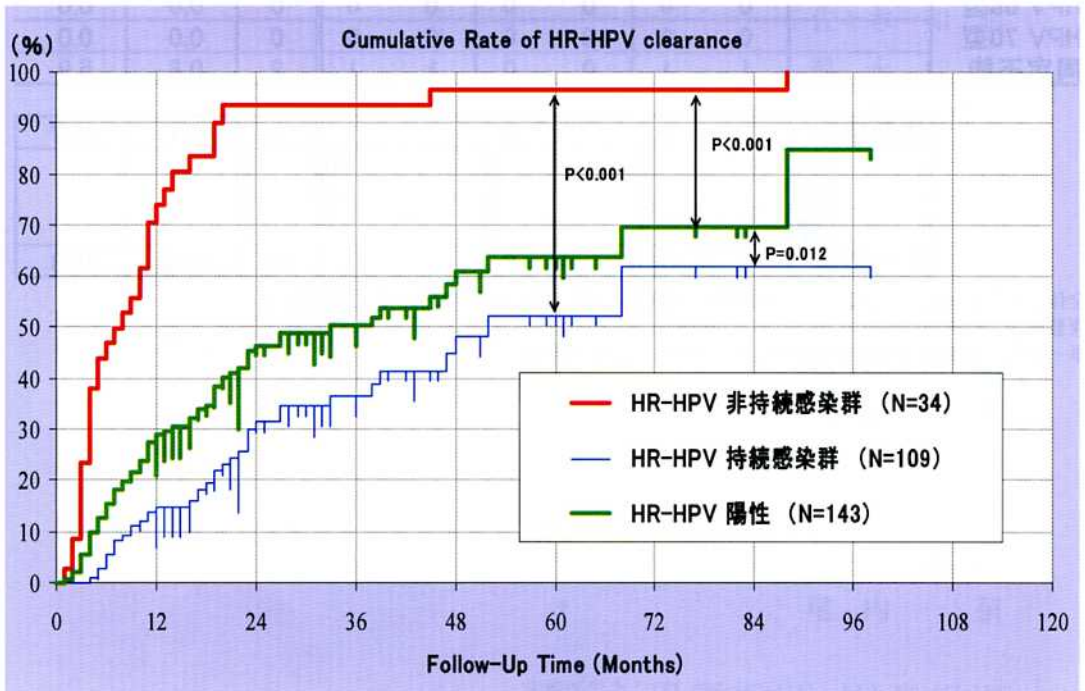


Fig. 3. HPV 陰性化時間と HPV 検出状況

る^{13)~15)}。HPVに関連する代表的な疾患のひとつに外陰部コンジローマがある。これを引き起こすとされるHPV-DNAタイプはHPV6型、11型などが知られているが悪性化することがほとんど無いため低リスク型HPV (LR-HPV) として分類されている。一方、高度なCINや子宮頸がんから検出されるHPVは、高リスク型 (HR-HPV) または腫瘍性HPVと分類されている¹²⁾。

CINの標準的な取り扱いとして、CIN1では経過観察、より高度なCIN3では病巣切除を目的とした外科的治療 (円錐切除、子宮摘出等) が推奨されている。CIN1の自然史研究はこれまでもいくつかの報告が散見されるが、海外からのものがほとんどである。しかし、それらの解析には細胞診変化やHR-HPV感染状況などを加味し、経過について詳細に検討した報告は見受けられない。CIN1は一時的なHPV感染による細胞変化とされ、多くのものが自然治癒すると考えられている一方、再燃するケースも少なくないのも事実である。またHR-HPV感染については、いわば女性のセックスライフの影響を無視することはできない。観察開始に認められたHPV-DNAタイプが別のタイプへ変更しているケースも多いため、これまでの報告にある登録 (初回診断) 時のHPV-DNAタイプだけでの解析には交絡バイアス (confounding bias) がかかってしまっていることも否定できない。今回の検討ではCIN1と診断された症例を追跡し、HR-HPVの検出状況からその予後について検討を行った。

まず、HPV-DNAタイプ別に検出状況をみると、欧米に多いとされるHPV18型 (4%)、30番台 (1.7%~5.9%) の検出の頻度は比較的少なく、Inoue¹⁶⁾らの報告同様にHPV16型と50番台 (51型、52型、58型) が多く検出された。検出頻度の高かったHPV16型、52型、58型のいずれかが占める割合についてCIN分類別に検討すると、CIN1 34.1%、CIN2 44.1%、CIN3 71.2%でありグレードの上昇に伴い占拠率が上昇していた。一方、世界的に3番目に多いとされる45型に限っては今回1例も検出されていないことも特記すべきことであり、検出パターンがこれまでの海外からの報告とは異なっていた。

経過観察された243例の「細胞診正常化」と「HPV陰性化」の時期について検討したところ、細胞診異常およびHR-HPV感染の両者が改善した68症例のうちHPV消失が細胞診正常化に先行する症例は26.5%で、多くは同時 (44.1%) であるかまたは細胞診正常化が先行 (29.4%) していた (Table 7)。この結果は、Nobbenhuis AEMらの報告に反する結果であった¹⁷⁾が、細胞診の精度にも若干の問題があるためここでは明確に考察することはできないが、自然治癒するケースではHPV感染と細胞診のいずれもが正常化するケースが多く認められることを考えると、「HR-HPV陰性化」でCINの改善を予測できると考えられた。

HR-HPVの感染状況からみた解析では、HPVの「持続感染」が細胞診の正常化を遅延させる因子であるとするこれまでの報告^{20)、21)}

Table 7. HPV陰性化と細胞診正常化の時期

	HPV陰性化		
	あり	なし	
細胞診正常化	あり	68	42
	なし	3	30

細胞診正常化かつHPV陰性化症例 (N=68)

- ・細胞診正常化が先行
- ・同時
- ・HPV陰性化が先行

	%		非持続 % / 34		持続 % / 109	
細胞診正常化が先行	20	29.4	11	32.4	19	17.4
同時	30	44.1	9	26.5	11	10.1
HPV陰性化が先行	18	26.5	13	38.2	5	4.6
			33	97.1	35	32.1

を裏付ける結果を得ることができた。しかし、これまでの報告では、16型または18型に特定された研究、またはカクテルプローベを用いたいわばHPV定性検査であり、総てにHPV-DNAタイプを同定し検討した追跡研究は今回が初めてであると思われる。今回の解析から、「HPVの持続感染」よりもう一步踏み込んだ「同一タイプの持続感染」が重要な因子であると考察可能であり、HPV-DNAタイプが変更するケースを含む「非持続感染群」は、同一タイプのHPV-DNAが検出される「持続感染群」と異なり、「HPV陰性群」同様に扱ってもよいとする可能性が導かれた。このことから経過観察でよいとされるCIN1では、細胞診とコルポスコープ検査のほかに定期的な「HPV-DNA」のタイピングおよびその動向調査が必要であると思われる。

一方、「持続感染群」で特に35歳未満の若年者に複数のタイプが検出されるケースが多く認められた。個々のセックスライフの影響であることが予想されるが、今回の研究ではプライバシーの問題などから詳細な事情聴取が不十分であったこと、また症例数が少なかつたため検討することはできない。しかし、パートナーの変更に伴い感染したHPVを排除しがたい状況が、持続感染を助長させる因子になっている可能性は否定できない。

現在、欧米を中心として、HPV16型、18型、6型、11型をターゲットしたワクチンが開発され臨床治験の段階にあることは周知のことであり、今後の結果に期待したいところではある。最近の報告では、世界的に3、4番目に多いとされるHPV31型、45型のタイプに対する予防効果が報告されており¹⁸⁾、世界における子宮頸がんの原因の約80%¹²⁾に対応できる期待がもたらされている。しかし、今回の解析から得られた検出頻度を素直に当てはめると、本邦にお

ける将来的な子宮頸がんの減少率が欧米と同様に期待できるか否かについては疑問でもある。52型、58型といったアジアに多く検出されるタイプへの対応も今後検討すべき課題と思われた。

CIN1の管理において、同一のHR-HPVタイプが長期間検出されるならば、たとえ細胞診が継続するClass III、III aであっても積極的に生検を行い、必要ならば外科的治療を検討することが望ましいと考えられた。特に、より高度なCINにおいて、検出率の上昇を認めた16型、52型、58型ではタイピングによる持続感染の証明はもとより、早い時期での外科的治療の役割について更に検討する必要がある。

なお、本研究の要旨は、第56回日本産婦人科学会学術講演会(2004年4月、東京)、第57回日本産婦人科学会学術講演会(2005年4月、京都)、第57回中国四国合同地方部会学術集会(2004年9月、徳島)、第58回中国四国合同地方部会学術集会(2005年11月、山口)、Society of Gynecologic Oncology (SGO:2006年3月、Palm-Springs)、第58回日本産科婦人科学会学術講演会(2006年4月、横浜)、International Gynecologic Cancer Society (IGCS-11:2006年10月、Los-Angeles)で発表した。

謝 辞

本研究は、1996年度日本対ガン研究会岡山県支部ガン研究助成金、川崎医科大学プロジェクト研究9-307、10-507、11-506、12-407、13-403、14-403、15-414B、16-412F、17-410Kによった。稿を終えるにあたり、本研究をご指導いただきました藤原恵一先生(現 埼玉医科大学教授)、河野一郎先生(前 産婦人科学教室教授)、下屋浩一郎教授に御礼申し上げます。同時に、本研究にご協力下さいました教室関係者、川崎医科大学附属病院病理部の皆様、多くの患者様をご紹介くださいました関係の先生方にもこの場を借り御礼申し上げます。

文 献

1) Ho GY, Bierman R, Beardsley L, Chang CJ, Burk RD: Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in

- young women. *N Engl J Med* 338 : 423 - 428, 1998
- 2) Nobbenhuis MA, Walboomers JM, Helmerhorst TJ, Rozendaal L, Remmink AJ, Risse EK, van der Linden HC, Voorhorst FJ, Kenemans P, Meijer CJ : Relation of human Papillomavirus status to cervical lesions and consequences for cervical-cancer screening : a prospective study. *Lancet* 354 : 20 - 25, 1999
 - 3) Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV, Snijders PJ, Peto J, Meijer CJ, Munoz N : Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cancer worldwide. *J Pathol* 189 : 12 - 19, 1999
 - 4) Monsonogo J : HPV DNA infections and cervical cancer prevention. Priorities and new directions. Highlights of EUROGIN 2004 International Expert Meeting, Nice, France, October 21 - 23, 2004. *Gynecol Oncol* 96 : 830 - 839, 2005
 - 5) 藤原恵一, 長治 誠, 鈴木幸子, 小田隆司, 河野一郎, 広川満良, 清水道生, 中田敬一 : CIN1に対する蒸散療法の意義. *日婦腫瘍会誌* 16 : 221 - 225, 1998
 - 6) 田中泰雅, 藤原恵一, 田中勝彦, 長治 誠, 鈴木幸子, 河野一郎 : CIN I, II における Human papillomavirus 感染の有無と治療法の違いによる予後に関する研究. *産婦中四会誌* 48 : 223 - 226, 2000
 - 7) 田中浩正, 藤原恵一, 田中泰雅, 小田隆司, 小池浩文, 河野一郎 : Human Papillomavirus 感染を伴った CIN I, II に対する治療方法の検討. *産婦中四会誌* 50 : 126 - 129, 2002
 - 8) 青谷恵利子, 鈴木幸子, 石川博康, 小田隆司, 長治 誠, 小塚良哲, 香川玲奈, 中田高公, 河野一郎 : 子宮頸癌と子宮頸部異型上皮患者における年齢分布の比較. *産婦中四会誌* 51 : 69 - 73, 2002
 - 9) 小田隆司, 藤原恵一, 前畑賢一郎, 田中浩正, 河野一郎, 三上芳喜, 畠 栄, 鐵原拓雄, 青谷恵利子 : CIN に対する LEEP 治療後の HPV および予後の解析. *日臨細胞診会誌* 42 : 378 - 383, 2003
 - 10) Inoue Y, Yamashita T, Ishida S, Nishikawa A, Yujinaga Y, Kudo R, Fujinaga K : Detection and typing of genital High-Risk HPV DNAs in Cervical Scrapes Using the E6E7-Specific Consensus PCR. *Tumor Res* 30 : 1 - 19, 1995
 - 11) Lungu O, Sun XW, Wright TC, Jr, Ferenczy A, Richart RM, Silverstein S : A polymerase chain reaction-enzyme-linked immunosorbent assay method for detecting human papillomavirus in cervical carcinomas and high-grade cervical cancer precursors. *Obstet Gynecol* 85 : 337 - 342, 1995
 - 12) Munoz N, Bosch FX, de Sanjose S, Herrero R, Castellsague X, Shah KV, Snijders PJ, Meijer CJ : Epidemiologic Classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med* 348 : 518 - 527, 2003
 - 13) Brinton L : The Epidemiology of Human Papillomavirus and Cervical Cancer. Lyon, LARC, 1994
 - 14) Kiviat N : Natural history of cervical neoplasia : overview and update. *Am J Obstet Gynecol* 175 : 1099 - 1104, 1996
 - 15) Holowaty P, Miller AB, Rohan T, To T : Natural history of dysplasia of dysplasia of the uterine cervix. *J Natl Cancer Inst* 91 : 252 - 258, 1999
 - 16) Inoue M, Sakaguchi J, Sasagawa T, Tango M : The evaluation of human papillomavirus DNA testing in primary screening for cervical lesion in a large Japanese population. *Int J Gynecol Cancer* 16 : 1 - 7, 2006
 - 17) Nobbenhuis AE, Helmerhorst JM, van den Brule JC, Rozendaal L, Voorhorst J, Bezemer D, Verheijen HM, Meijer JL : Cytological regression and clearance of high-risk human papillomavirus in women with an abnormal cervical smear. *The Lancet* ; 358 : 1782 - 1783, 2001
 - 18) Harper DM, Franco EL, Wheeler CM, Moscicki AB, Romanowski B, Roteli-Martins CM, Jenkins D, Schuid A, Costa Clemens SA, Dubin G : Sustained efficacy up to 4-5 years of a bivalent LI virus-like particle vaccine against human papillomavirus type 16 and 18 : follow-up from a randomized control trial. *Lancet* 367 : 1247 - 1255, 2006