

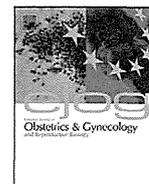


ELSEVIER

Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ejogrb



Conization using the Shimodaira-Taniguchi procedure for adenocarcinoma *in situ* of the uterine cervix

Kosuke Hiramatsu^a, Yutaka Ueda^{a,*}, Kiyoshi Yoshino^a, Masami Fujita^a, Eiichi Morii^b, Takayuki Enomoto^a, Tadashi Kimura^a

^a Department of Obstetrics and Gynecology, Osaka University Graduate School of Medicine, 2-2, Yamadaoka, Suita, Osaka, 565-0871, Japan

^b Department of Pathology, Osaka University Graduate School of Medicine, 2-2, Yamadaoka, Suita, Osaka, 565-0871, Japan

ARTICLE INFO

Article history:

Received 31 July 2012

Received in revised form 11 December 2012

Accepted 16 January 2013

Keywords:

AIS

Shimodaira-Taniguchi conization

Resection margin

Residual disease

ABSTRACT

Objective: The Shimodaira-Taniguchi conization procedure addresses the disadvantages of the loop electrosurgical excision procedure (LEEP) by using a high frequency current and a triangular probe with a linear excision electrode to extract the tissue as a single informative specimen, without incurring accompanying thermal trauma. The aim of the present study was to analyze the surgical efficacy of the Shimodaira-Taniguchi conization procedure for adenocarcinoma *in situ* (AIS) of the uterine cervix.

Study design: At the Osaka University Hospital, conization using the Shimodaira-Taniguchi procedure has long been routinely performed for AIS. Medical records of patients during the period from 2005 to 2011, whose post-conization diagnosis was AIS, were retrospectively analyzed. A literature review was conducted of the PubMed database to clarify the surgical outcome efficacy of the Shimodaira-Taniguchi procedure compared to other procedures.

Results: During the study period, a post-conization diagnosis of AIS was made in 10 patients. A positive resection margin was detected in 4 of the 10 cases (40%), and residual disease was observed in 3 cases (30%). A review of the relevant literature indicates that the rate of positive margin and residual disease by the Shimodaira-Taniguchi procedure, including our cases, was not significantly different from the cold knife, LEEP or laser procedures ($p = 0.32, 0.99, \text{ and } 0.40$, respectively, for positive margin, and $p = 0.76, 0.94, \text{ and } 0.063$, respectively, for residual disease).

Conclusion: AIS was demonstrated to be efficaciously treated, with a low risk of residual disease, by the Shimodaira-Taniguchi conization procedure. Further study is still needed to establish a standard of conservative treatment for AIS.

© 2013 Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Adenocarcinoma *in situ* (AIS), a non-invasive neoplastic lesion widely regarded as a precursor of adenocarcinoma of the uterine cervix, has been increasing. Although a hysterectomy is a definitive treatment for AIS, the condition often occurs in women still of reproductive age, who may desire fertility preservation [1]. There remains controversy regarding the ideal less-radical treatment of AIS. Achievement of a negative margin after conization is required for adequate treatment, but residual disease is sometimes later detected even in patients with a negative margin. Young et al. reported that 13% of their patients with a negative margin had residual or recurrent AIS disease [1].

Currently, conization is the standard option for treatment of a squamous lesion of the cervical intraepithelial neoplasia (CIN)

type, a precursor of squamous cell carcinoma (SCC) of the uterine cervix. The loop electrosurgical excision procedure (LEEP) has largely replaced the cold knife procedure because it overcomes several of the former's drawbacks (including significant blood loss, longer operation times, and a higher rate of postoperative hemorrhage). Laser conization is another option. The Shimodaira-Taniguchi conization procedure was introduced in 1992; it addresses the disadvantages of LEEP by using a high frequency current and a triangular probe with a 0.25 mm linear excision electrode to extract the tissue as a single informative specimen, without incurring accompanying thermal trauma [2,3]. The electrodes for the Shimodaira-Taniguchi conization procedure are illustrated in Fig. 1. After excision by the cutting electrode, the coagulation electrode is used at the cut surface to achieve hemostasis. The efficacy of Shimodaira-Taniguchi conization procedure for CIN 3 lesions was reported previously [4].

Many previous studies have demonstrated the rates of positive margin and residual disease after conization for AIS [1,2,5–23]. For example, a positive margin was detected in 22 (30%) of 74 patients,

* Corresponding author. Tel.: +81 66879 3351; fax: +81 66879 3359.
E-mail address: ZVF03563@nifty.ne.jp (Y. Ueda).

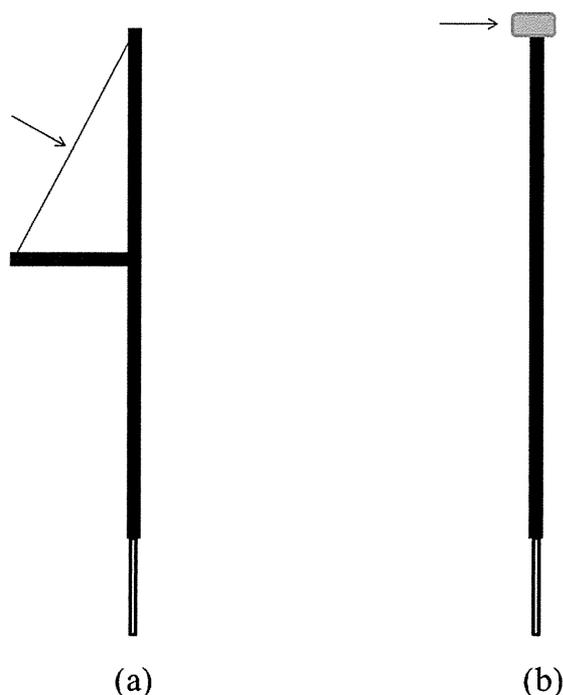


Fig. 1. The two probes used in the Shimodaira-Taniguchi conization, Cutting electrode (arrow), Coagulation electrode (arrow).

including 52 patients (70%) who received conization by cold knife, 9 patients (12%) by LEEP, 2 patients (3%) by laser, 9 patients (12%) by Fischer excisor, and 2 patients (3%) by unspecified procedures [1]. A comprehensive analysis of the efficacy of each procedure, however, including the rate of positive margin and that of residual disease, has never been properly conducted. In particular, only the rate of positive margin was reported for the Shimodaira-Taniguchi conization procedure in a previous report [2].

In the present study, reports showing the rate of positive margin and residual disease of each conization procedure, such as cold knife, LEEP, laser and Shimodaira-Taniguchi, were reviewed, and by adding our own data with Shimodaira-Taniguchi conization, we have made comparisons of efficacy.

2. Materials and methods

In the Department of Obstetrics and Gynecology of the Osaka University Hospital in Osaka, Japan, conization using the Shimodaira-Taniguchi procedure has been routinely performed for some time for patients diagnosed with AIS of the uterine cervix, after endocervical biopsy or cytology has been used to rule out invasive adenocarcinoma. Conization resected cervical tissue was carefully divided into 12 specimens for pathological diagnosis.

During the six-year period from 2005 to 2011, a post-conization diagnosis of AIS was made in 10 patients. Medical records of these 10 patients, including pathology reports, were retrospectively analyzed. Hysterectomy was usually indicated for the patients whose post-conization diagnosis was AIS, irrespective of their margin status. For those who desired a fertility-sparing option, however, no further treatment was performed after conization, if the conization resection margin was negative. For some patients with a positive resection margin who had a strong desire for fertility-sparing management, re-conization was performed. In the cases where hysterectomy was not performed, tight follow-up was conducted, with endocervical cytology every 3 months for the first year after conization, every 6 months in the second year, and then

annually thereafter. Whenever a case displayed a positive cytological test, a colposcopic observation and biopsy or endocervical curettage was performed.

2.1. Literature review

The PubMed database was searched for papers related to AIS margin status and residual disease after conization using specified procedures including cold knife, loop electrosurgical excision procedure (LEEP), including the variant large loop excision of the transformation zone (LLETZ), laser, and the Shimodaira-Taniguchi procedure, using combinations of the following keywords: AIS, conization, margin, residual, persistent, cold knife, loop electrosurgical excision procedure, laser, and Shimodaira-Taniguchi.

2.2. Statistical analysis

MedCalc (MedCalc Software, Mariakerke, Belgium) was used for the statistical analysis. The rates of positive margin of conization and of residual disease after conization were compared by four procedures, including cold knife, LEEP, Laser and Shimodaira-Taniguchi, and were analyzed by Fisher's exact test. Bonferroni's correction was used to assess differences among the four groups and a value of $p < 0.0125$ was considered statistically significant.

2.3. Statements of ethics

This study was approved by the Institutional Review Board and the Ethics Committee of the Osaka University Hospital. All patients provided written informed consent.

3. Results

3.1. Clinical characteristics of patients whose post-Shimodaira-Taniguchi conization diagnosis was AIS

During the study period, a post-conization diagnosis of AIS was made in 10 patients (Table 1). Their median age was 44 (29–55) years. Co-existence of CIN3 was observed in 3 cases. Following conization using the Taniguchi-Shimodaira procedure, 7 patients (70%) underwent hysterectomy, and 2 patients (20%) received conization again. One patient, whose conization margin was free of disease, did not agree to further treatment.

3.2. Cases of positive margin or persistence after Shimodaira-Taniguchi conization

Among the 7 hysterectomy cases (including 3 patients with a positive margin and 4 cases of negative margin), residual AIS was detected in one case whose margin was positive, and an adenocarcinoma was found in 2 positive-margin cases and in one negative-margin case. Among the 2 re-conization cases (including a patient of positive margin and another case of negative margin), no residual disease was detected in re-conization samples and, till now, these two cases have been followed by cytology for 15 months and 7 months, respectively.

Table 1
Clinical characteristics of patients whose post-conization diagnosis was AIS.

Characteristic	
Number (cases)	10
Median age (years) (range)	44 (29–55)
Treatment following conization	
Hysterectomy	7 (70%)
Re-conization	2 (20%)
None	1 (10%)

Table 2
Studies demonstrating the rates of positive margin and residual disease after conization for AIS, including case from the present study.

Author (year)	Cold knife		LEEP		Laser		Shimodaira-Taniguchi	
	Margin	Residue	Margin	Residue	Margin	Residue	Margin	Residue
Kennedy et al. (1995)	-	-	0/1	1/1	-	-	-	-
Widrich et al. (1996)	8/24	5/24	9/18	4/18	1/3	-	-	-
Wolf et al. (1996)	18/47	15/47	3/7	5/7	0/1	0/1	-	-
Houghton et al. (1997)	-	-	8/19	1/19	-	-	-	-
Denehy et al. (1997)	5/11	8/11	5/5	4/5	0/1	0/1	-	-
Tay et al. (1999)	0/2	-	-	-	6/17	-	-	-
Azodi et al. (1999)	6 ^a /25 * endocervix	-	6/8	-	-	-	-	-
Krivak et al. (2000)	1/1	0/1	-	-	-	-	-	-
Östor et al. (2000)	16/73	11/73	-	-	-	-	-	-
Kennedy et al. (2002)	9/37	-	28/49	-	0/4	-	-	-
Andersen et al. (2002)	-	-	-	-	17/60	3/60	-	-
Schorge et al. (2003)	1/5	0/5	2/4	0/4	-	-	-	-
Hwang et al. (2004)	9/20	-	9/23	-	11/41	-	-	-
Bryson et al. (2004)	-	-	7/22	0/22	-	-	-	-
Cohn et al. (2005)	0/1	1/1	-	-	-	-	-	-
Bull-Phelps et al. (2007)	13/69	-	11/32	-	-	-	-	-
Young et al. (2007)	15/52	-	-	-	-	-	-	-
Dalrymple et al. (2008)	8/38	3/38	6/44	1/44	-	-	-	-
Matsumura et al. (2010)	-	-	-	-	-	-	-	3/28
DeSimone et al. (2011)	-	-	20/41	18/41	-	-	-	-
van Hanegem et al. (2012) 11/58 3/58	11/58	3/58	14/54	3/54	-	-	-	-
The present study (2012)	-	-	-	-	-	-	4/10	3/10

Margin: positive margin, Residue: residual disease.

The single patient with a negative margin who did not agree to further treatment was followed by endocervical cytology every 3 months for 12 months, till now, with so far no evidence of persistence or recurrence of the disease.

In total, a positive resection margin was detected in 4 of 10 cases (40%), and residual disease was observed in 3 of 10 cases (30%), as shown in Table 2.

3.3. Review of the previous studies reporting margin status and persistent disease after conization using specified procedures

The PubMed database search was done to review previous studies reporting margin status and residual disease after conization, using specified procedures, including cold knife, loop electro surgical excision procedure (LEEP), laser and the Shimodaira-Taniguchi procedure. Data from reports in which the procedure of conization was not clearly described were excluded from the analysis. The relevant results are listed in Table 2. Results from our own retrospective study are included. In total, a positive margin was observed in 26% by cold knife conization, 40% by LEEP, and 28% by Laser conization, and 40% by Shimodaira-Taniguchi procedure (Table 3). The rate of positive margin by the Shimodaira-Taniguchi procedure was not significantly different from cold knife, LEEP and laser ($p = 0.32, 0.99, \text{ and } 0.40$, respectively). Cold knife conization tended to provide a relatively low frequency of

positive margin, but a statistically significant difference was not detected.

Residual disease following cold knife conization was observed in 18% of combined study cases, 16% by LEEP, 5% by laser conization, and 16% by the Shimodaira-Taniguchi procedure. The rate of residual disease after the Shimodaira-Taniguchi procedure was not significantly different from cold knife, LEEP or laser ($p = 0.76, 0.94, \text{ and } 0.063$, respectively). Laser conization tended to provide a relatively low frequency of residual disease, but a significant difference was not detected.

4. Comments

Currently, conization is the standard option selected for treatment of CIN 3, a precursor of SCC of the uterine cervix. Cervical conization does not necessarily increase the risk of preterm delivery in subsequent pregnancy [24]. The status of the conization resection margin has been found to be fairly predictive of a persistence or recurrence of CIN lesions [4], so choice of cervical method should consider which gives the most consistent negative margins. LEEP and laser conization have largely replaced the original cold knife procedure, based on their efficacy and safety. The Shimodaira-Taniguchi procedure is also been found to be useful for conization for CIN 3 [2-4].

The gold standard for the successful treatment of AIS is hysterectomy. Many women of child-bearing age weigh the risks and opt for a conservative, fertility-sparing management for their AIS, but the choice of surgical procedure is still quite controversial. One of the reasons for this is the high rate of disease residue found not only in positive margin cases but also in the negative margin cases. According to a review article, persistent disease was detected in 149 (55%) of 272 positive margin cases and in 45 (23%) of 196 negative margin cases [1]. In the present study of our own cases, we first analyzed the rate of positive margin and that of residual disease after Shimodaira-Taniguchi conization. Positive resection margin was detected in 4/10 cases (40%), and residual disease was observed in 3/10 cases (30%). This is the first demonstration of both these rates

Table 3
The rates of positive margin and residual disease by the types of conization procedures.

Procedure	Positive margin	Residual disease
Cold knife	120/463 (26%)	46/258 (18%)
LEEP	130/327 (40%)	35/215 (16%)
Laser	35/127 (28%)	3/62 (5%)
Shimodaira-Taniguchi	4/10 (40%)	6/38 (16%)

Margin: positive margin, Residue: residual disease, The rates of positive margin and residual disease by the Shimodaira-Taniguchi conization procedure were not significantly different from those by any other procedures (Fisher's exact test with Bonferroni's correction).

following the Shimodaira-Taniguchi procedure, with the exception of a report by Matsumura et al. of a disease residue rate of 3 of 28 [2].

Next, we compared the rate of positive margin and that of residual disease after conization by four procedures, including cold knife, LEEP, laser and the Shimodaira-Taniguchi procedure. In total, a positive margin was observed in 26% by cold knife conization, 40% by LEEP, and 28% by laser conization, and 40% by the Shimodaira-Taniguchi procedure (Table 3). The rate of positive margin after the Shimodaira-Taniguchi procedure was not significantly different from cold knife, LEEP and laser ($p = 0.32, 0.99, \text{ and } 0.40$, respectively). Residual disease was observed in 18% by cold knife conization, 16% by LEEP, and 5% by laser conization, and 16% by the Shimodaira-Taniguchi procedure. The rate of residual disease after the Shimodaira-Taniguchi procedure was also not significantly different from cold knife, LEEP and Laser ($p = 0.76, 0.94, \text{ and } 0.063$, respectively). These results suggested that the types of procedure of conization did not affect the efficacy, as measured by the rates of positive margin and residual disease.

In the present study, all three cases with later residual disease after Shimodaira-Taniguchi conization had a positive margin at the initial conization. No residual disease was observed in the negative margin cases. These results may imply that negative margin cases after Shimodaira-Taniguchi conization can be followed without any further treatment, including hysterectomy. One possible reason is the more accurate diagnosis of margin status attributed to the Shimodaira-Taniguchi procedure. The Shimodaira-Taniguchi conization procedure also addresses the disadvantages of LEEP, which causes thermal damage to the tissues, by using a high frequency current and a triangular probe with a 0.25 mm linear excision electrode to extract the cone of tissue as a single informative specimen, and does so without incurring any undue thermal trauma [2]. Matsumura et al. demonstrated the benefits of the procedure: that the number of excised specimens needed was only one per patient in 79% of the cases they studied (358 of 455 cases), that the mean operation time was 11 min, and that the average blood loss was only 9.9 ml. In fact, the number of the excised specimens needed in our present study was only one per patient in 8 (80%) of 10 cases. Another reason may be the necrotizing effect to residual disease caused by the coagulation electrode.

In our present study, we feel we have further demonstrated the usefulness of the Shimodaira-Taniguchi conization procedure for AIS, which gives a high cure rate. The Shimodaira-Taniguchi conization procedure can be adequately used for the patients suspected of AIS who express a desire for fertility sparing. Further study is still needed to establish a standard of conservative treatment for AIS.

Conflict of interest statement

The authors state that there are no conflicts of interest.

Condensation

Adenocarcinoma *in situ* was demonstrated to be well treated, with low-risk of residual disease, by Shimodaira-Taniguchi conization.

Acknowledgements

We would like to thank Dr. G. S. Buzard for his constructive critique and editing of our manuscript.

References

- [1] Young JL, Jazaeri AA, Lachance JA, et al. Cervical adenocarcinoma *in situ*: the predictive value of conization margin status. *American Journal of Obstetrics & Gynecology* 2007;197:e1–7. 195.
- [2] Matsumura M, Ota T, Takeshima N, Takizawa K. Shimodaira-Taniguchi conization method: its utility and reliability. *International Journal of Gynecological Cancer* 2010;20:1025–30.
- [3] Taniguchi S. Treatment of CIN by high frequency electric radical conization. *Sanfujinka Tryo* 1992;6:889–97.
- [4] Miyoshi Y, Miyatake T, Ueda Y, et al. Prediction, based on resection margins, of long-term outcome of cervical intraepithelial neoplasia 3 treated by Shimodaira-Taniguchi conization. *Archives of Gynecology and Obstetrics* 2012;285:1427–32.
- [5] Kennedy AW, elTabbakh GH, Biscotti CV, Wirth S. Invasive adenocarcinoma of the cervix following LLETZ (large loop excision of the transformation zone) for adenocarcinoma *in situ*. *Gynecologic Oncology* 1995;58:274–7.
- [6] Widrich T, Kennedy AW, Myers TM, Hart WR, Wirth S. Adenocarcinoma *in situ* of the uterine cervix: management and outcome. *Gynecologic Oncology* 1996;61:304–8.
- [7] Wolf JK, Levenback C, Malpica A, Morris M, Burke T, Mitchell MF. Adenocarcinoma *in situ* of the cervix: significance of cone biopsy margins. *Obstetrics & Gynecology* 1996;88:82–6.
- [8] Houghton SJ, Shafi MI, Rollason TP, Luesley DM. Is loop excision adequate primary management of adenocarcinoma *in situ* of the cervix? *British Journal of Obstetrics and Gynaecology* 1997;104:325–9.
- [9] Denehy TR, Gregori CA, Breen JL. Endocervical curettage, cone margins, and residual adenocarcinoma *in situ* of the cervix. *Obstetrics & Gynecology* 1997;90:1–6.
- [10] Tay EH, Yew WS, Ho TH. Management of adenocarcinoma *in situ* (ACIS) of the uteri cervix – a clinical dilemma. *Singapore Medical Journal* 1999;40:36–9.
- [11] Azodi M, Chambers SK, Rutherford TJ, Kohorn EI, Schwartz PE, Chambers JT. Adenocarcinoma *in situ* of the cervix: management and outcome. *Gynecologic Oncology* 1999;73:348–53.
- [12] Krivak TC, Rutherford B, Voskuil S, Rose GS, Alagoz T. Recurrent invasive adenocarcinoma after hysterectomy for cervical adenocarcinoma *in situ*. *Gynecologic Oncology* 2000;77:334–5.
- [13] Ostör AG, Duncan A, Quinn M, Rome R. Adenocarcinoma *in situ* of the uterine cervix: an experience with 100 cases. *Gynecologic Oncology* 2000;79:207–10.
- [14] Kennedy AW, Biscotti CV. Further study of the management of cervical adenocarcinoma *in situ*. *Gynecologic Oncology* 2002;86:361–4.
- [15] Andersen ES, Nielsen K. Adenocarcinoma *in situ* of the cervix: a prospective study of conization as definitive treatment. *Gynecologic Oncology* 2002;86:365–9.
- [16] Schorge JO, Lea JS, Ashfaq R. Postconization surveillance of cervical adenocarcinoma *in situ*. A prospective trial. *Journal of Reproductive Medicine* 2003;48:751–5.
- [17] Hwang DM, Lickrish GM, Chapman W, Colgan TJ. Long-term surveillance is required for all women treated for cervical adenocarcinoma *in situ*. *Journal of Lower Genital Tract Disease* 2004;8:125–31.
- [18] Bryson P, Stulberg R, Shepherd L, McLelland K, Jeffrey J. Is electrosurgical loop excision with negative margins sufficient treatment for cervical ACIS? *Gynecologic Oncology* 2004;93:465–8.
- [19] Cohn DE, Morrison CD, Zanagnolo VL, Goist MM, Copeland LJ. Invasive cervical adenocarcinoma immediately following a cone biopsy for adenocarcinoma *in situ* with negative margins. *Gynecologic Oncology* 2005;98:158–60.
- [20] Bull-Phelps SL, Garner EI, Walsh CS, Gehrig PA, Miller DS, Schorge JO. Fertility-sparing surgery in 101 women with adenocarcinoma *in situ* of the cervix. *Gynecologic Oncology* 2007;107:316–9.
- [21] Dalrymple C, Valmadre S, Cook A, et al. Cold knife versus laser cone biopsy for adenocarcinoma *in situ* of the cervix – a comparison of management and outcome. *International Journal of Gynecological Cancer* 2008;18:116–20.
- [22] DeSimone CP, Day ME, Dietrich III CS, Tovar MM, Modesitt SC. Risk for residual adenocarcinoma *in situ* or cervical adenocarcinoma in women undergoing loop electrosurgical excision procedure/conization for adenocarcinoma *in situ*. *Journal of Reproductive Medicine* 2011;56:376–80.
- [23] van Hanegem N, Barroilhet LM, Nucci MR, Bernstein M, Feldman S. Fertility-sparing treatment in younger women with adenocarcinoma *in situ* of the cervix. *Gynecologic Oncology* 2012;124:72–7.
- [24] Andía D, Mozo de Rosales F, Villasante A, Rivero B, Díez J, Pérez C. Pregnancy outcome in patients treated with cervical conization for cervical intraepithelial neoplasia. *International Journal of Gynecology & Obstetrics* 2011;112:225–228.

HPVワクチンの長期的効果を検証

大阪府内科医会がOCEAN STUDYへの症例登録を呼びかけ

子宮頸がんの発症を抑制する HPV (ヒトパピローマウイルス) ワクチン。日本人での発症抑制効果を検証する初めての大規模臨床研究「OCEAN STUDY」が大阪で始まった。HPV ワクチンがわが国に導入されて2年余り。その接種場所が、産婦人科から内科にシフトしつつあることから、大阪府内科医会は同研究への協力を表明し、会員に症例登録を呼びかけている。同研究はワクチン接種時に子宮がん検診受診を強く呼びかける試験デザインとなっており、受診率向上にも大きく貢献すると期待される。(編集部)

日本人のHPVタイプや ワクチンの長期持続効果を検証

「われわれが HPV ワクチン接種の普及に力を入れるのは、若年の子宮頸がん患者の急増を目の当たりにしているからだ」。

OCEAN STUDY 研究事務局を務める大阪大学産科学産婦人科学教室の上田豊氏はこう強調する。子宮頸がん(上皮内がんを含む)は2000年代に入ってから急増ぶりがすさまじく、20歳代・30歳代の女性人口10万人当たり発症率は20人前後(1990年代)から35人(2004年)にまで跳ね上がった。性生活の活発化が背景にあるといわれている。患者の年齢層は若年化。1985年には60～80歳代が発症のピークであったが、2005年には30歳代後半がピークとなり20～30歳代患者が増加。「妊娠出産前に子宮摘出せざるを得な

いケースが増えている」(同氏)。

こうしたことから、2011年1月から公費助成が開始され、大阪府下でも全自治体が中学校1年～高校1年までの女子を対象に HPV ワクチンの公費助成を行っている。

HPV ワクチンは HPV の感染を予防することによって子宮頸がんの発症を抑制する。現行の HPV ワクチンは HPV-16 型および 18 型の感染を予防するもので、他の発がん性の型には効果が期待できない。世界的には 16 型と 18 型で子宮頸がんから検出される HPV 全体の約 7 割を占めるとされている。

一方、日本の事情は海外とは異なり、HPV52 型や 58 型の占める割合が多く、16 型と 18 型は合わせて 58.8% と報告されている。ただし、最近、日本の小規模な研究では 20 歳代では 90% から HPV-16 型・18 型が検出されたとの報告もある。

つまり「海外より予防可能な子宮頸がんは少ないと考えられているが、本当のところははっきりしない。予想以上に効果が期待できる可能性もある」(同氏)という。

また、HPV ワクチンの中・長期的な効果持続期間も明らかではない。日本で発売されている「サーバリック

ス」、「ガーダシル」は、いずれも大規模臨床試験により、約 3 年のフォローアップ期間では極めて高い子宮頸がん発症予防効果が報告されているが、さらに長期のフォローアップ期間における調査では、統計学的に有意な結果は、まだ発表されていない。仮に効果持続期間に限界があることが証明されれば、再接種が検討されることにつながる。

子宮がん検診を利用した 試験デザインが特徴

「OCEAN STUDY」の目的は、この 2 つの疑問、すなわち①日本の若年女性における現在の HPV 感染状況、②日本における HPV ワクチンの中・長期的効果——を検証するとともに、③子宮頸がん検診受診率の向上を図るといったものだ。

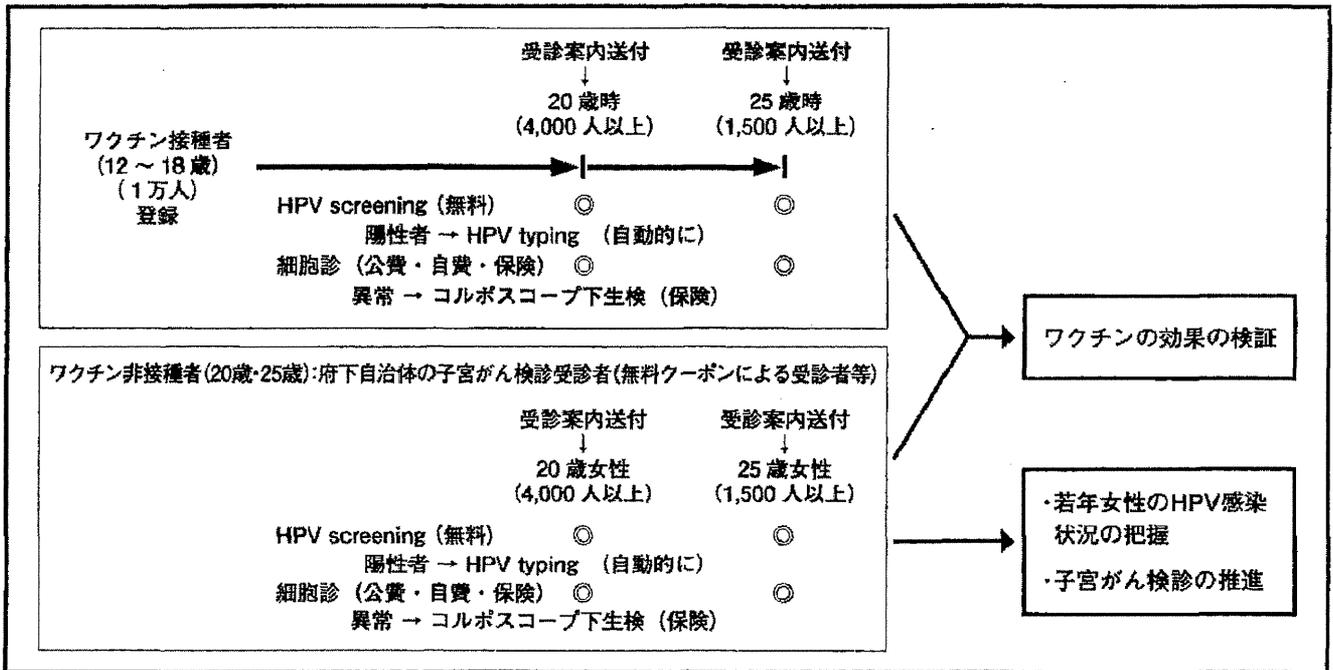
「公費助成に対してエビデンスを示すためにも、費用対効果の検証が重要」と上田氏は指摘する。同研究は、大阪産婦人科医会が主体となって推進し、在阪 5 大学の産婦人科教室が学閥を越えて参加している。

試験デザインは図 1 の通り。12～18 歳の HPV ワクチン接種者を登録し、20 歳時、25 歳時に自治体が発行している子宮頸がん検診を受診してもら



上田豊氏

■ 図1 研究概要



い、この際に HPV 検査も行って、子宮頸部細胞診異常の頻度と HPV 感染状況を調査する。HPV 陽性者にはウイルス型判定を行う。

研究協力者には、この HPV 検査を無料で行う。現在、自治体は細胞診の無料クーポンを配布しているが、「クーポン郵送の際に、府下自治体の6割がこの研究の案内を同封してくれるようになった」という。

HPV ワクチンの効果は明らかなので接種群非接種群をランダムに割り付けるデザインは倫理的に行えない。そのため、同研究では自治体の子宮がん検診受診者のなかから、同数のワクチン非接種者を選び出して比較対象群とする。ワクチン接種時に研究協力医師が行うことは、対象年齢のワクチン接種者と保護者から同意書を取り、登録票に記入するだけだ。

ワクチン接種群の登録目標は、2013年度末までに1万例。しかし、現在のところ登録症例は2割割合合わせて2,500例弱にとどまっている。10代の女性が産婦人科を受診する機会が少な

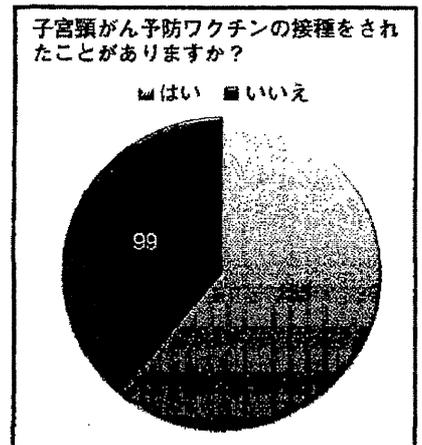
いからだ。

メーカーの出荷データから推測すると HPV ワクチンの接種場所は、産婦人科から内科にシフトしつつある。大阪府内科医会の調査では2011年当時、約60%の会員が HPV ワクチンの接種経験を有していた (図2) が、さらに高くなっている可能性もある。「産婦人科医だけではこれ以上の症例登録は困難。本研究の成功には内科の先生方の協力が欠かせない」と上田氏は内科医の参加に期待を寄せる。

現行の HPV ワクチンでは予防できない子宮頸がんが必ず存在する。HPV ワクチンを接種したことで将来子宮頸がんにはならないとの誤解から、子宮がん検診受診率が低下することが懸念されている。HPV ワクチン接種後も、必ず検診を受けるよう指導することが重要であり、その意味でも同研究は有意義なものといえよう。

こうしたことから、大阪府内科医会は同研究への協力を決定した。会長の福田正博氏は「公共性の高い臨床研究であり、当会会員も、ぜひ協力してほ

■ 図2 内科医のHPVワクチン接種経験 (大阪府内科医会調査)



しい」と訴えている。なお、5月22日 (水) の大阪府内科医会定例講演会にて大阪大学産科学婦人科学教室の木村正教授の講演とともに、当研究の説明会も実施する予定である。

■大阪府内科医会の入会のお問い合わせは同会事務局まで
 Eメール: opa-office@umin.ac.jp
 FAX: 06-6191-5337

子宮頸がん と HPV



新潟大学大学院医歯学総合研究科 産科学婦人科学
榎本隆之

緒言

日本における子宮頸がんの発症率は10万あたり11.1人で、米国(7.8人)カナダ(8.25人)ドイツ(11.5人)フランス(10.1人)とほぼ同等である。子宮頸がんは子宮頸部の扁平上皮円柱上皮接合部(Squamo-Columnar-Junction SCJ)から発生することが知られている。多くは扁平上皮癌であるが、近年腺癌の占める割合の増加が著しく1975年では5%であったのが2006年には23%となっている。また20~30代の発症率の増加が著しく、1975年には10万人あたり10人であったのが2002年には36人となっている(図1)。

HPV と子宮頸がん

子宮頸がんはヒトパピローマウイルス(human papilloma virus HPV)の感染によっておこることが知られている。HPVはパポバ属に属する約8,000塩基対ほどの環状二本鎖DNAウイルスで主要キャプシド(L1)DNA配列の近似性から100種類が同定されて、うち30種類が性的接触によって感染し、15種類(HPV16、18、31、33、35、

39、45、51、52、56、58、59、68、73、82)が発がんに関与しているといわれている。発がんに関与しているHPVを高リスク型HPV(あるいは悪性型HPV、発がん性HPV)と呼ぶ。高リスクHPVは子宮頸がん以外にも膣がん、外陰がん、肛門がん、中咽頭がんの発生にも関与していることが知られている。しかし、子宮頸がんではほぼ100%HPVが検出されるのに対し膣・外陰がんでは40%、中咽頭がんでは12%に過ぎない。高リスク型HPVには15種が含まれるが、16型および18型が特に重要で、多くの国では子宮頸がんの約70%から16型か18型が検出されるが、日本では60%である¹⁾(図2)。HPVは15~24才の一般女性の30~40%に検出され、20才代の女性の20%から高リスク型HPVが検出されるという報告もある。一方一般男性の高リスク型HPV感染率は米国では年齢に関わらず10-20%である。

HPVによる発がん機構

粘膜型HPVは性行為を介して生じる粘膜上皮の微小な傷から、生殖器粘膜の基底細胞に侵入し、

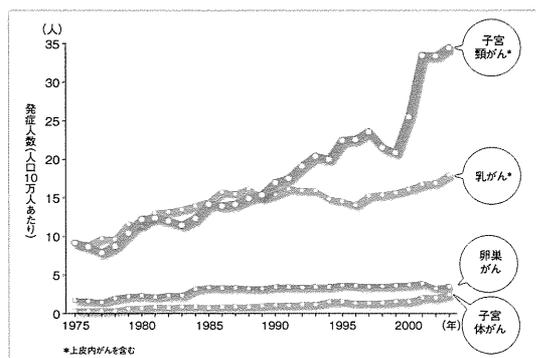
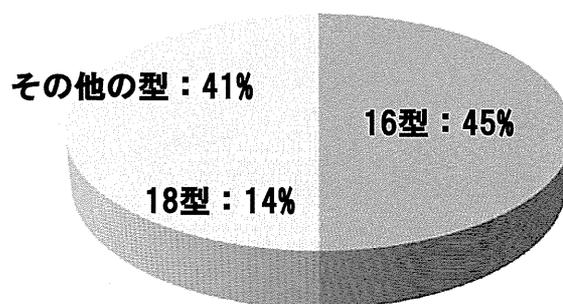


図1 20-39歳の女性10万人当たりの各種がんの発症率推移



その他の型 : 52, 58, 33, 31, 35 型 etc.

図2 日本人の子宮頸がんから検出されるHPVの種類

ゲノムが宿主 DNA に組み込まれず episome として存在する潜伏状態となる²⁾。感染細胞の分裂時にはウイルスゲノムも複製し、娘細胞に分配される。潜伏感染細胞の上皮への分化にともないウイルス増殖が起こる。子宮頸部の Squamo-Columnar Junction SCJ は細胞増殖が速く、HPV の潜伏・持続感染が SCJ で起こると、HPV 増殖時に coilocytosis と呼ばれる病変が生じる。6型や11型などの低リスク型 HPV に感染しても決して宿主 DNA に組み込まれることはないが、高リスク型 HPV に感染すると宿主 DNA に組み込まれる (integration) ことがあり、これが発がんに関係していると考えられている。HPV には初期遺伝子と後期遺伝子という Open Reading Frame を持っていて、子宮頸がんでは高リスク型 HPV の初期遺伝子の E2 が開裂・欠失しており、これに伴い E6 および E7 が過剰発現している。E7 は Rb と結合して Rb を不活化し、Rb と E2F の複合体から E2F を放出させる。E2F は p14ARF を誘導し、その結果、p53 を蓄積することによってアポトーシスを誘導し、またこの p53 は p21waf1 を介して細胞周期を停止させようとする。しかし、悪性型 HPV の癌遺伝子の E6 はユビキチンリガーゼの 1 つである E6AP (E6-associated protein) と複合体をつくと p53 に対する結合能を獲得し E6AP の働きにより p53 をユビキチン化してプロテアゾームによる p53 の分解を促進する^{3, 4)}。したがって、p53 は結果的にはアポトーシスの誘導も細胞周期の停止も起こせず、遺伝子異常を持った細胞の増殖が起こると考えられる。

また、子宮頸がんでは p16^{INK4a} の点突然変異あ

るいは欠失、プロモーター領域のメチル化による発現の消失が約25%に認められる⁵⁾。喫煙は子宮頸がんの発生においては HPV 感染と独立した危険因子であり、喫煙により CIN および SCC 発生の危険性は2~3倍になると報告されている⁶⁾。喫煙によって p16^{INK4a} のプロモーター領域のメチル化が起こり、エピジェネティックな発現抑制を惹起することにより、発癌に関与している可能性が指摘されている。p14^{ARF} は p16^{INK4a} と遺伝子座を共有し、p16^{INK4a} の exon 1 と p15^{INK4b} の exon 2 の間に存在する p16^{INK4a} の exon 1 β 、及び p16^{INK4a} の exon 2 と 3 からなる遺伝子である⁷⁾。p14^{ARF} は HDM2 と直接結合し、p53 の分解を抑制する働きがある。また、p14^{ARF} の転写が E2F によって亢進することも知られている。RB 経路に異常が起こると E2F の転写活性が亢進し、細胞周期を正常にコントロールできなくなるが、E2F は p14^{ARF} の発現を誘導し p53 経路を活性化することにより癌化を防いでいると考えられる。HPV 陽性の子宮頸がんでは正常子宮頸部扁平上皮と比較して p16^{INK4a} 及び p14^{ARF} の発現量の亢進している症例が有意に多い⁸⁾。また、HPV 陰性の子宮頸がんでは p16^{INK4a} の発現の著明な減少がみられる。HPV 陽性の子宮頸がんでは E7 により RB の不活化が起こるため E2F の転写活性が亢進し、その結果 p14^{ARF} の発現が亢進していると考えられる (図3-a)。HPV 陽性の子宮頸がんにおいて p16^{INK4a} の発現の亢進している理由は、E7 によって RB 経路が不活化されていることに対するフィードバック機構が働いていると考えられている。これに対し HPV 陰性の子宮頸がんは INK4a 遺伝子座の欠

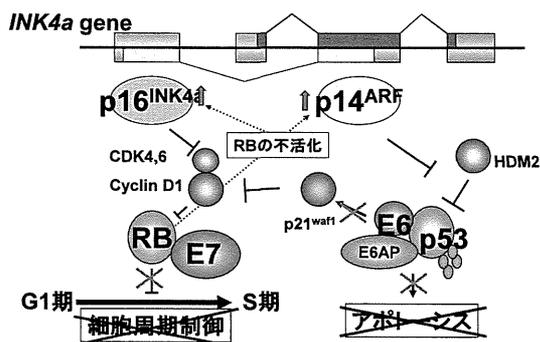


図3-a HPV 陽性子宮頸がん

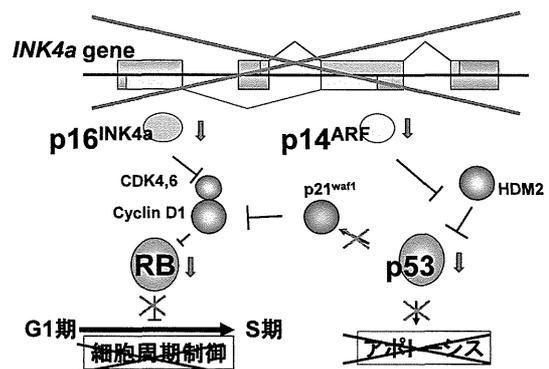


図3-b HPV 陰性子宮頸がん

失あるいは点突然変異により p16^{INK4a}-RB 経路及び p14^{ARF}-p53 経路ともに不活化され癌化が起きると考えられる (図3-b)。

子宮頸がんは前がん病変を経て発生することが知られているが、前がん病変は子宮頸部上皮内腫瘍 (Cervical Intraepithelial Neoplasia CIN) あるいは子宮頸部異形成とよばれていて CIN 1 が軽度異形成、CIN2 が中等度異形成、CIN3 が高度異形成および上皮内がんに対応する。CIN1 の50% の症例は病変が消失していくこと、高リスク型 HPV が高頻度に検出される CIN3 でも進行癌となる症例は30-50% に過ぎないこと⁹⁾ より、従来の形態学的な観察あるいは HPV のタイピングだけでは悪性化していく上皮内病変を同定できない。

ある病変が腫瘍性病変か非腫瘍性病変であるかを判定する方法として X 染色体を利用したクロナリティー解析法という解析手法がある。女性の体細胞には、父親由来および母親由来の2本の X 染色体があるが、X 染色体のいずれか一方は胎生期にランダムに不活化され、不活化された X 染色体上の遺伝子は発現されなくなる。不活化された側の X 染色体は細胞分裂を経ても不活化を保持している¹⁰⁾ (図4-a)。正常組織では父親由来の X 染色体が不活化されている細胞と母親由来の X 染色体が不活化されている細胞が混在している。これに対して、癌が一つの体細胞由来、即ちモノクローナルな細胞の集団であれば、個体中の癌細胞はすべて父親由来または母親由来の同一の X 染色体が不活化されていることになる¹¹⁾。不活化された染色体の DNA は高度にメチル化されていることが知られている。DNA のメチル化は複製後も維持できるので、不活化された側の X 染色体は細胞分裂を経てもメチル化による不活化を保持できる。この原理を用いて X 染色体上の遺伝子であるアンドロゲン受容体遺伝子 (AR) の exon 1 のメチル化のパターンを利用した癌のクロナリティー解析法が開発されている¹²⁾ (図4-b,c)。CIN の診断のもと経過観察をおこなった症例についてクロナリティー解析および HPV の typing を行ったところ、CIN 1 の50%、CIN2 の70%、また全ての CIN3 がモノクローナルな病変で腫瘍としての性格をすでにもっていることがわかる。モノクローナルな CIN のほぼ全症例から

悪性型 HPV が検出されるが、ポリクローナルな CIN からは様々なタイプの HPV が検出される。高リスク型 HPV 感染を認める CIN 病変は認めない病変に比し有意に持続・進行し、モノクローナルな CIN 病変はポリクローナルな病変に比し有意に持続・進行することが分かった¹³⁾ (図5-a、b、c)。CIN 病変の持続・進行という転帰の予測は、悪性型 HPV 感染の有無よりクロナリティー解析の結果のほうがより相関し、さらには悪性型 HPV 感染の有無とクロナリティー解析とを組み合わせることでより鋭敏である。また、モノクローナルな CIN 病変には悪性型 HPV の一部が宿主ゲノムに組み込まれていることが示されている。したがって、HPV 感染が起こった直後の CIN 病変では HPV DNA は episome に存在し、ポリクローナルな病変を形成するが (図6-a)、HPV が宿主ゲノムへ組み込まれることにより、HPV 感染細胞がモノクローナルに増殖した腫瘍性の上皮内病変が形成され、さらに遺伝子変化が加わって浸潤癌に発展すると考えられる (図6-b)。

また、CIN 3 の診断の下、子宮腔部円錐切除術を行った症例に対し12分割した標本より病変部のみを切り出しクロナリティー解析を行ってみると、子宮腔部に連続して瀰漫性に存在する病変では、すべての切片上の病変が同じ不活化のパターンを示し、単一細胞由来の CIN が広がって形成された病変であることがわかるが、子宮腔部に島状に不連続に存在する病変のなかには、それぞれの病変の X 染色体の不活化のパターンは互いに異なっているものがある (図7)¹⁴⁾。このことより CIN3 の多くは悪性型 HPV の感染により1つの細胞から発生し、コルポスコピーで認められるような広がりを持った病変に進展するが、なかには HPV 感染によって多中心性に発生する症例があることがわかる。

HPV ワクチンとその効果

1990年代になってウイルス様粒子 (virus-like particle ; VLP) を昆虫細胞や酵母などの真核細胞で生成する技術が開発されるようになり HPV ワクチンが開発されるようになった。VLP とは、ウイルスと同じ外観や抗原性を有するが、ウイルス遺伝子を含まない空粒子である。子宮頸がん予

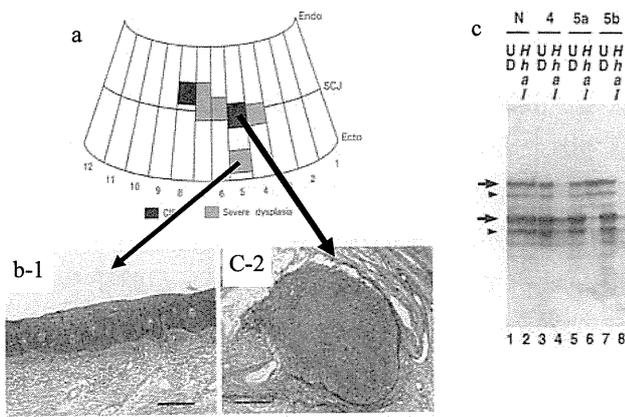


図7 円錐切除標本のコロナリティー解析

防ワクチンには2価ワクチン（グラクソ・スミスクライン社）と4価ワクチン（メルク万有社）がありいずれも16型及び18型の感染を防御することで、16型18型によるCIN2、CIN3、子宮頸がんの発生を予防する。4価ワクチンは16型18型以外に尖圭コンジローマの原因となる6型11型の感染を予防できる。いずれのワクチンも初回接種後3回（2価ワクチンは1、6か月後、4価ワクチンは2、6か月後）投与する。

HPV感染から子宮頸がんの発生まで10年以上かかることと、発がんをエンドポイントとするのは倫理上の問題があるため、ワクチンの有効性を検討する臨床試験は前がん病変（CIN2、CIN3）の発生をエンドポイントとして4価ワクチン（ガーダシル）は15-26歳の12,167人を対象に、2価ワクチン（サーバリックス）は15-25歳の18,644人を対象に大規模な第三相無作為化二重盲検試験が行われている。4価ワクチンはHPV16/18の未感染女性に対して1回目の接種から36か月（平均値）の時点で、ワクチン投与群とプラセボ投与群とを比較して、HPV16/18によるCIN2/3及び上皮内腺がん（AIS）に対して97%の予防効果が認められた¹⁵⁾。また、2価ワクチンは1回目の接種から34.9か月（中央値）の時点で、HPV16/18によるCIN2以上の病変に対して93%の予防効果が認められた¹⁶⁾。

HPV ワクチンの問題点

HPVは感染すると一時増殖を経ずに潜伏・持続感染の状態となるので、ワクチンで誘導された抗体は常に生殖器粘膜に存在して、感染を防がな

ければならない。従って、ワクチンによって誘導された抗HPV抗体のレベルが長期間維持されることが重要である。血清中の抗HPV抗体が生殖器粘膜に滲出することでHPV感染を阻害すると考えられているが、接種から20-30年後の40-50歳の女性での抗HPV抗体の滲出状態も含めて、感染防御に必要な抗体のレベルは現時点では不明である。しかし、2価ワクチンでは接種後6年の時点での血中HPV抗体価は抗HPV16抗体も抗HPV18抗体も自然感染で得られる抗体価の11倍を示したが¹⁷⁾、4価ワクチンでは接種後5年で血中抗HPV16抗体は自然感染の数倍程度、抗HPV18抗体は自然感染で得られる抗体価とほぼ同等のレベルまで下がると報告されている¹⁸⁾。

ワクチン接種の長期に渡る効果をフォローアップした報告では、2価ワクチンでは15～25才の436人に対しワクチン接種から平均6.4年の時点でHPV16/18陽性のCIN2以上の病変の予防効果は100%、4価ワクチンは16～23才の552人でHPV16/18陽性のCINの予防効果は100%であったが観察症例が少ないために有意とは言えなかった^{19, 20)}。これらの成績から、接種から少なくとも5-6.4年後までは、ワクチン型HPVによる子宮頸部前がん病変の発生を予防する効果が持続すると考えられるが、4価のワクチンは接種後5年で血中抗HPV18抗体価が自然感染で得られる抗体価まで下がることから、接種後5年後たってもHPV18の感染が予防できるかについては、今後重要な問題になっていくと考えられる。仮に15才の女兒が4価ワクチンを投与されて20才の時点で抗HPV18抗体価が自然感染で得られる抗体価に下がりその後にHPV18に感染しても、頸がんが発生するのはさらに10年近くかかるわけだから実際にHPVワクチン導入が全人口レベルでの子宮頸がん患者・死亡者の減少につながるかは、今後の長期に渡る調査・検証が必要である。

HPV ワクチンの中・長期予防効果の検証

上記のようにHPVワクチンの長期的予防効果については世界的にも検証されておらず、まして国内では中期的予防効果についても検証されていない。また、日本の若年女性におけるHPV感染状況についても大規模な調査はされていない。そ

ここで、①本邦における HPV ワクチンの中・長期的予防効果を検証すること、及び②日本の若年女性における現在の HPV 感染状況の把握を目的に、私が大阪大学に在任時に大阪産婦人科医会に所属する大規模疫学研究を立ち上げた。研究名は OCEAN STUDY (Osaka Clinical resEArch of HPV vacciNe) で研究概要を簡単に述べると HPV ワクチン接種者を摂取時に登録し、接種者が20才と25才になった際の子宮がん検診実施時に HPV 検査を行い、その結果を非接種群と比較することにより HPV ワクチンの効果を検証する(図8)。なおこの研究に対しては平成23年度より厚生労働科学研究のがん臨床研究費(日本における子宮頸がん予防 HPV ワクチンの医療経済的評価のための大規模臨床研究 H23-がん臨床-一般-019 研究代表者:榎本隆之)を獲得している²¹⁾。

結び

HPV ワクチンの公費助成が始まり、今後定期接種になる可能性もある。現在新潟県では被接種者の50%が内科で接種されている。接種時に、こ

のワクチンは HPV16型と18型に対するワクチンであるので100%子宮頸がんを防ぐわけではないこと、長期的なワクチンの効果については十分検証されたわけではないので今後も子宮がん検診を受ける必要があることを啓蒙することが必要である。現在9価ワクチンが開発中であり高リスク型 HPV すべてに効果があるワクチンが開発されれば子宮頸がんが撲滅される日がくるのも夢ではないと考える。

文献

- 1) Miura S, Matsumoto K, Oki A, et al: Do we need a different strategy for HPV screening and vaccination in East Asia? Int J Cancer 2006; 119: 2713-2715.
- 2) zur Hausen H: Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. Nat Rev Cancer 2002; 2: 342-350.
- 3) Huibregtse JM, Scheffner M, Howley PM, et al: Cloning and expression of the cDNA for E6-AP, a protein that mediates the

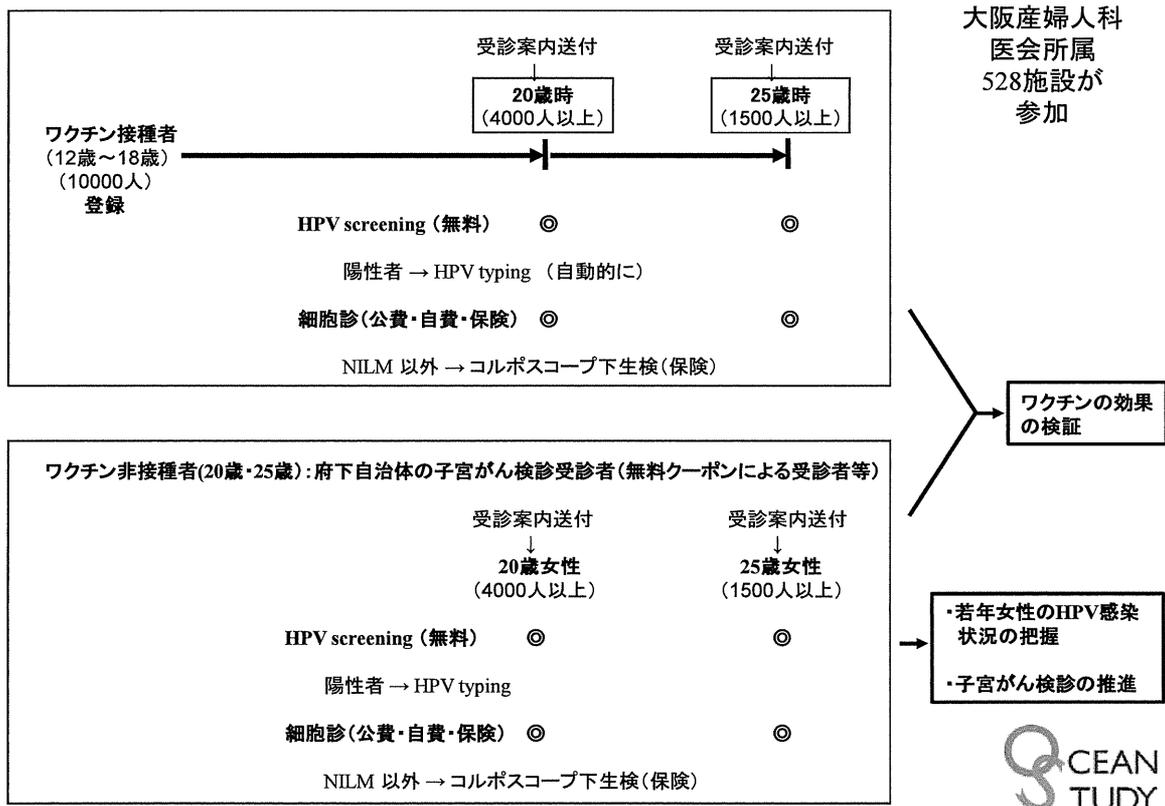


図8 研究概要

- interaction of the human papillomavirus E6 oncoprotein with p53. *Mol Cell Biol* 1993; 13: 775-784.
- 4) Remmink AJ, Walboomers JMM, Helmerhorst TJM, et al: The presence of persistent high-risk HPV genotypes in dysplastic cervical lesions is associated with progressive disease: Natural history up to 36 months. *Int J Cancer* 1995; 61: 306-311.
 - 5) Nakashima R, Fujita M, Enomoto T, et al: Alteration of p16 and p15 genes in human uterine tumours. *Brit J Cancer* 1999; 80: 458-467.
 - 6) Munoz N, et al: The epidemiology of human papillomavirus and cervical cancer. Lyon IARC (WHO) scientific publications 1992; 119: 1-284.
 - 7) Sharpless NE, Depinho RA: The INK4A/ARF locus and its two gene products. *Curr Opin Genet Dev* 1999; 9: 22-30.
 - 8) Kanao H, Enomoto T, Ueda, Y, et al.: Correlation between p14ARF/p16INK4A expression and HPV infection in uterine cervical cancer. *Cancer Lett* 2004; 213: 31-37.
 - 9) Remmink AJ, Walboomers JMM, Helmerhorst TJM, et al: The presence of persistent high-risk HPV genotypes in dysplastic cervical lesions is associated with progressive disease: Natural history up to 36 months. *Int J Cancer* 1995; 61: 306-311.
 - 10) Lyon MF: Sex chromatin and gene action in the mammalian X-chromosome. *Am J Hum Genet* 1962; 14: 135-148.
 - 11) Fialkow PJ: Clonal origin of human tumors. *Biochem Biophys Acta* 1976; 485: 283-321.
 - 12) Enomoto T, Fujita M, Inoue M, et al: Analysis of clonality by amplification of short tandem repeats: carcinomas of the female reproductive tract. *Diagn Mol Pathol* 1994; 3: 292-297.
 - 13) Ueda Y, Enomoto T, Miyatake T, et al: Monoclonal expansion with integration of high-risk type human papillomaviruses is an initial step for cervical carcinogenesis: association of clonal status and human papillomaviruses infection with clinical outcome in cervical intraepithelial neoplasia. *Lab Invest* 2003; 83: 1517-1527.
 - 14) Enomoto T, Haba T, Fujita M, et al: Clonal analysis of high-grade squamous Intra-epithelial lesions of the uterine cervix. *Int J Cancer* 1997; 73: 339-344.
 - 15) FUTURE II Group: Quadrivalent vaccine against human papillomavirus to prevent high-grade cervical lesions. *N Engl J Med* 2007; 356: 1915-1927.
 - 16) Paavonen J, Naud P, Salmerón J, et al: Efficacy of human papillomavirus (HPV) -16/18 AS04-adjuvanted vaccine against cervical infection and precancer caused by oncogenic HPV types (PATRICIA) : final analysis of a 6 double-blind, randomised study in young women. *Lancet* 2009; 374: 301-314.
 - 17) Roteli-Martins CM, Naud P, Borba PD: Sustained immunogenicity and efficacy of the HPV-16/18 AS04-adjuvanted vaccine up to 8.4 years of follow-up. *Human Vaccines & Immunotherapeutics* 2012; 8: 1-8.
 - 18) Sven-Eric Olsson, Luisa L. Villa, Ronaldo L.R. Costa, et al: Induction of immune memory following administration of a prophylactic quadrivalent human papillomavirus (HPV) types 6/11/16/18 L1 virus-like particle (VLP) vaccine. *Vaccine* 2007; 25: 4931-4939.
 - 19) Roteli-Martins CM, Naud P, Borba PD.: Sustained immunogenicity and efficacy of the HPV-16/18 AS04-adjuvanted vaccine up to 8.4 years of follow-up. *Human Vaccines & Immunotherapeutics* 2012; 8: 1-8.
 - 20) Villa LL, Costa R L R, Petta C°, et al: High sustained efficacy of a prophylactic quadrivalent human papillomavirus types 6/11/16/18 L1 virus-like particle vaccine through 5 years of follow-up. *Br J Cancer*

2006; 95: 1459-1466.

- 21) 榎本隆之:『日本における子宮頸癌予防 HPV ワクチンの医療経済的評価のための大規模臨床研究』平成24年度厚生労働科学研究 がん臨床研究成果発表会抄録集, 日本対がん協会 がん臨床研究推進室, 東京, 2012; 247-250.

脚注

図4 - (a)

女性の細胞には母親由来(赤)と父親由来(黒)のX染色体がある。受精卵および胎生初期には両方のX染色体は活性化しているが、妊娠第5週(胎生16日頃)にはいずれか一方のX染色体はランダムに不活化される。一旦不活化されると、細胞分裂を経ても、不活化される側のX染色体は保持される。

図4 - (b)

X染色体の不活化は、X染色体上の遺伝子がメチル化されることによっておこる。X染色体に存在するアンドロゲン受容体(AR)遺伝子のexon 1には90%のヘテロ接合性を示すCAGの繰返し配列(マイクロサテライト領域)、およびその上流にメチル化を受けやすいCpG領域があり、この領域には制限酵素Hha I, Hpa II認識部位が存在している。〈1〉の細胞では父親由来のX染色体が、〈2〉の細胞では母親由来のX染色体が不活化されているが、〈1〉の細胞では父親由来のAR遺伝子のアレルのCpG領域が、〈2〉の細胞では母親由来のAR遺伝子のアレルのCpG領域がメチル化されていることを示している。父親由来と母親由来のアレルはCAGの繰返し配列の長さが異なっている。図では母親由来のアレルの繰返し配列がm個で父親由来のアレルの繰返し配列p個より多いためアレルの長さが母親由来の方が長いことを示している。

図4 - (c)

正常組織あるいは非腫瘍組織は母親由来のアレルがメチル化されている細胞と父親由来のアレルがメチル化されている細胞が混在している(ポリクローナル)。しかし、腫瘍はもともと1個の細胞に由来している(モノクローナル)ので、組織中

のすべての細胞では同側のアレルがメチル化によって不活化されている。腫瘍Aでは父親由来のアレルが、腫瘍Bでは母親由来のアレルがすべての細胞においてメチル化によって不活化されていることを示す。組織よりDNAを抽出後、制限酵素Hha IまたはHpa IIで処理すると、不活化(メチル化)されていないアレルは制限酵素で切断されるが、不活化(メチル化)されている側のアレルは制限酵素では切断を受けない。したがって、制限酵素で処理した鋳型DNAをPCR増幅すると、不活化されている側のアレル由来のPCR産物のみができる。PCR産物を電気泳動すると、正常組織あるいは非腫瘍組織では、母親由来のアレルがメチル化されている細胞と父親由来のアレルがメチル化されている細胞が混在しているために、両親由来の2本のバンドが検出される。しかし癌のようなモノクローナルな細胞集合では父親由来あるいは母親由来のアレルのみが増幅され1本のバンドが検出される。腫瘍Aでは父親由来の分子量の小さいアレルのみが、腫瘍Bでは母親由来の分子量の大きいアレルのみが増幅されていることをしめしている。ある個体中の2つの腫瘍が同じ起源かどうかについてクロナリティー解析を行う際、2つの腫瘍が腫瘍Aと腫瘍Bのように異なった不活化のパターンを示した場合は、両方の腫瘍が単一細胞由来ということはあり得ない。したがって両病変は互いに全く関係のない独立した病変と診断できる。逆に2つの腫瘍が単一細胞由来であれば必ず同じ不活化のパターンを示すが、全く関係の無い独立した病変であっても50%の確率で両病変が同じ不活化のパターンを示す。したがって両病変が本当に単一細胞由来かどうかについて断定するには他の遺伝子の検索も必要となる。

図5

大阪大学医学部附属病院に子宮頸部細胞診異常で受診した患者に対し、初診時にコルポスコピー下生検を行いCIN 1/2と診断された患者のパラフィンの包埋病理切片から患者の同意の下マイクロディセクション法にて病変を回収し、DNAを抽出、HPVタイピングとクロナリティー解析を行った。患者は3~6か月毎に経過観察し、コルポス

コピーで子宮頸部を観察し、病変があれば再び生検を行った。経過観察中に病変が消失した12例中4例に高リスク HPV が検出された。また12例中6例はモノクローナルな病変、6例はポリクローナルな病変であった(図5-a)。病変が6か月以上、最長で48か月持続した症例15例中11例がモノクローナルな病変、1例は経過観察中にモノクローナルな病変となった。また15例中12例から高リスク HPV が検出された(図5-b)。経過観察中に病変が進行した10症例はすべてモノクローナルな病変を最初から形成しており、すべてから高リスク HPV が検出された(図5-c)

図 8

大阪産婦人科医会に所属する病院・医院の計528施設が参加し研究事務局を大阪大学医学部産婦人

科に置き、参加施設で12～18才のワクチン接種者10,000人を摂取時に登録する。登録者は20才と25才時の自治体の子宮がん検診の無料クーポン配布時に HPV スクリーニング検査を無料で施行する。細胞診の結果要精検者にはコルポスコープ下生検を行い HPV スクリーニング検査で陽性者にはタイピング検査を行う。対照群としてはワクチン非接種者が20才と25才時の自治体の子宮がん検診時に HPV スクリーニング検査を無料で実施、HPV 要請者にはタイピング検査を行う。対照群より若年女性の HPV 感染状況が把握でき、またワクチン接種群と対照群を比較することにより、ワクチンを公費助成の下接種した者については接種後4～9年後のワクチンの効果の検証が可能となる。

平成24年度がん登録届出状況

1月末現在

区分	4～12月	1月	計	(平成23年度計)
届出件数	15,418	1,337	16,755	22,000
医療機関数	119	40	実医療機関数 120	実医療機関数 116

新潟県・新潟県医師会・新潟県健康づくり財団

