

コントロール群(ワクチン非接種者)の検診

細胞診異常者の組織診・HPV感染

HPV陽性54名(型判定あり)のうち、49名はNILM

細胞診	組織診断	HPV型
ASC-US	未	56
ASC-US	CIN2	35, 52
ASC-US	CIN2	39, 58
LSIL	CIN1	52, 56
LSIL	CIN1	31, 39
LSIL	未	検出せず*
ASC-US	未	検出せず*

*: HPV陽性、ハイリスクHPV陰性

細胞診異常: 7人(3%)

コントロール群(ワクチン非接種者)の検診

感染を認めたHPVの種類

1種類	32人	(60%)	} 重複感染 40%
2種類	16人	(30%)	
3種類	4人	(8%)	
4種類	1人	(2%)	

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
16	51	18	16	16	51	52	18	31	31	31	35	39	16	39	52	16	52	31	31	51
39	52	58	18	59	52	58	58	52	45	68	52	51	56	58	58	52	56	52	39	68
		59	68		56				59										59	

20歳

(4) 医療経済評価

当研究の最終的な目標は、日本における HPV ワクチンの医療経済的評価である。当研究のデータが確定するのは約 15 年後であり、その結果が待たれる。ここでは、現在ワクチン接種がほぼ止まっている状況で、今後如何にして子宮頸癌を予防していくかの戦略を医療経済的な観点から解析した。

予防することのできる子宮頸癌の割合 (%)

検診 定期的受診率	ワクチン接種率		
	85%	50%	10%
85%	95	91	86
50%	82	69	54
10%	67	44	17
0%	64	38	8

EUROGIN Roadmap toward a consensus Franceschi (WHO, IARC), 2008(改変)

これは、海外での HPV の型の分布や（短期的な）ワクチンの効果および子宮がん検診の精度などに基づいて算出された、予防できる子宮頸癌の割合を示したものである。

予防することのできる子宮頸癌の割合 (%)

検診 定期的受診率	ワクチン接種率		
	85%	50%	10%
85%	95	91	86
50%	82	69	54
<u>10%</u>	<u>67</u>	44	<u>17</u>
0%	64	38	8

EUROGIN Roadmap toward a consensus Franceschi (WHO, IARC), 2008(改変)

副反応報道や厚労省の接種積極的勧奨一時中止勧告以前は、公費助成あるいは定期接種の対象者でのワクチン接種率はかなり高く、自治体にもよるが8割を超すものであった。仮にこれを85%とし、これら世代が定期的に子宮がん検診を受診する割合を10%と仮定すると、予防できる子宮頸癌の割合は67%であった。しかしながら、副反応報道や厚労省の接種積極的勧奨一時中止勧告以降、ワクチン接種率は激減し、前述の堺市のデータでも90%以上減少している。仮に接種率を10%としても予防できる子宮頸癌の割合は67%から17%に減少したことになる。

予防することのできる子宮頸癌の割合(%)

検診 定期的受診率	ワクチン接種率		
	85%	50%	10%
85%	95	91	86
50%	82	69	54
10%	67	54	17
0%	64	38	8

検診定期受診率を50%以上に上げるのは非現実的

① ②

EUROGIN Roadmap toward a consensus Franceschi (WHO, IARC), 2008(改変)

41

この低下した割合を、少なくとも副反応報道や厚労省の接種積極的勧奨一時中止勧告以前の67%程度に戻すためには、定期的検診受診率を50%を超える程度まで上昇させるか、ワクチン接種率をもとの85%程度に戻すか、定期的検診受診率およびワクチン接種率の両方を50%程度にあげるか、という戦略が考えられる。しかしながら、検診受診率は、これまでの厚労省や自治体の様々な取り組みにもかかわらず、若年者では10%にも満たないものであり、これを50%を超える程度まで上昇させるのは現状では非現実的と考えざるを得ない。したがって、残された戦略はワクチン接種率をもとの85%程度に戻すか、定期的検診受診率およびワクチン接種率の両方を50%程度にあげるか、のいずれかである。

① ワクチン接種率: 10% → 85%

追加経費

ワクチン接種増加分(15歳で接種、30歳まで有効と仮定)
4.5万円 × 50万人 × 75%分 = 169億円増加

減少経費

円錐切除減少分(CIN3の累積発症リスク: 3%、ワクチンによるCIN3予防効果: 45%と仮定)
35万円 × 50万人 × 3% × 75%分(ワクチン接種率増加分) × 45% = 18億円減少

計 151 億円必要

② ワクチン接種率: 10% → 50%

検診定期受診率: 10% → 50%

追加経費

ワクチン接種増加分(15歳で接種、30歳まで有効と仮定)
4.5万円 × 50万人 × 40%分(ワクチン接種率増加分) = 90億円増加

20歳から30歳まで2年ごとの検診受診分
0.34万円 × 6回 × 50万人 × 40%分(検診定期受診率増加分) = 41億円増加

円錐切除増加分(検診ごとに0.5%)
35万円 × 50万人 × 40%分(検診定期受診率増加分) × 0.5%分 × 6回分 = 21億円増加

減少経費

円錐切除減少分
35万円 × 50万人 × 3% × 40%分(検診定期受診率増加分) × 45% = 10億円減少

計 142 億円必要

42

そこで、①ワクチン接種率をもとの85%程度に戻す戦略、および、②定期的検診受診率およびワクチン接種率の両方を50%程度にあげる戦略、を医療経済的な観点から比較した。

概算ではあるが、上記図に示す如く、その経費は150億円程度とほぼ同等であった(ただし、これら計算においては、ワクチンおよび検診の勧奨の経費やワクチンの重篤な副反応時の補償等は加味していない)。した

がって医療経済的にはいずれの戦略も許容されるものと考えられる。現在の状況からは、ワクチン接種が今後速やかに 85%程度に戻るとは考えにくく、その観点からは、子宮がん検診受診率とワクチン接種率のいずれも上昇させていく取り組みが重要であろうと考える。

D. 考察

HPV ワクチンの医療経済的評価を行う基礎データを収集するために、OCEAN STUDY を実施している。現在の若年健常女性における HPV の感染状況 (HPV-16 型・18 型の割合) を大規模に解析すること、および学童期女子に対する HPV ワクチンの中・長期予防効果を検証することが目的である。当研究においては、12 歳から 18 歳までの HPV ワクチン接種症例の登録を行っているが、当研究開始後まもなく HPV ワクチン(サーバリックス)の供給が停止したため、当初は接種者の登録も止まってしまった。その後、ワクチンの供給は再開されたが、HPV ワクチンの接種の多くが内科あるいは小児科で行われた。そこで大阪府内科医会に協力を依頼し、平成 24 年 3 月からは内科機関等からの登録も可能とした。しかしながら、HPV ワクチンの副反応報道および厚生労働省積極的勧奨一時中止によって、ワクチン接種者の登録はほとんど止まっている。これは研究への登録が止まっているのみならず、ワクチン接種自体がほとんど止まっている状況である。

そこで我々は、①当研究で HPV ワクチンの中長期的効果の統計学的解析が行える十分な症例 (ワクチン接種登録者の 20 歳・25 歳の検診受診者) 数を確保することをめざして若年者の子宮がん検診受診率を向上する手法、②HPV ワクチンの接種積極的勧奨が再開された場合に備えて、HPV ワクチンの普及のために必要な手法、を明らかにしようと考えた。具体的には、HPV ワクチンを接種し、OCEAN STUDY に同意頂いた登録者の、子宮頸癌やワクチンに関する理解度、ワクチンの副反応報道・厚生労働省勧告に対する反応などの基礎情報の収集をインタビュー調査およびアンケート調査を通して行った。

その結果、接種者本人は、子宮がん検診が健康に重要であることや具体的な検診内容・受診方法・検診費用補助 (無料クーポンなど) などの理解が進めば、十分子宮がん検診受診に向かえるものと考えられた。今後は、如何にしてこれら情報を伝えていけるか、コミュニケーションの開発を行っていきたいと考えている。ワクチンの副反応報道等については、接種期間中にそれらに接した登録者の反応から、ワクチン接種を中断・中止した人は家族や友人のみと相談して不安が増長していった可能性が考えられ、一方、医師に相談した人は、副反応報道等に接しても有意にワクチン接種を継続した割合が多く、医師からの正確な情報提供の重要性が示唆された。また、ワクチンの接種を始めることを自身が主体的に決めた人も副反応報道等に接してもワクチン接種を継続した傾向があった。

すなわち、子宮がん検診・HPV ワクチン接種のいずれにおいても、その重要性や問題点あるいは具体的な方法等を正確に説明し、本人が理解することが重要であることと考えられる。

子宮頸癌を効果的に予防していくには HPV ワクチン接種と子宮がん検診受診が重要であるが、HPV ワクチンがほぼ止まっている現状においては、①ワクチン接種率をもとの 85%程度に戻す戦略、および、②定期的検診受診率およびワクチン接種率の両方を 50%程度にあげる戦略、が医療経済的な観点からはほぼ同等に有効であると考えられた。しかし、副反応報道等にてワクチン接種が止まっていることを考慮すれば、ワクチン接種が今後速やかに 85%程度に戻るとは考えにくく、その観点からは、子宮がん検診受診率とワクチン接種率のいずれも上昇させていく取り組みが重要であろうと考える。

いずれにしても、当研究において HPV ワクチンの中長期的効果を明らかにし、また並行して若年者の子宮がん検診受診率を向上させる手法および HPV ワクチンを普及させていく手法を開発していく。

E. 結論

日本における子宮頸癌予防のための HPV ワクチンの医療経済的評価を最終目的とした大規模コホート研究 OCEAN STUDY を実施している。現在の若年健常女性における HPV の感染状況 (HPV-16 型・18 型の割合) を大規模に解析すること、および学童期女子に対する HPV ワクチンの中・長期予防効果を検証することが OCEAN STUDY の最大の目的である。しかしながら、研究開始当初に HPV ワクチン (サーバリックス) の市場への供給がストップしたこと、さらに度重なる副反応報道やその後の厚労省の接種積極的勧奨一時中止勧告によりワクチン接種自体が進まず、当研究への接種登録数の伸び悩んでいる。これらはあまりにも想定を超えたものであった。

登録数を確保するために、登録期間を来年度まで 1 年間延長し、大阪府内科医会の協力を得て内科施設からの登録も可能にした。さらに自治体とも連携しながら登録者を確実に検診受診に誘導する取り組みを模索している。これを実現するために、ワクチン接種者 (当研究への登録者) に対してインタビュー調査・アンケート調査を行ったところ、現在の若年者の子宮がん検診受診率は著しく低いが、検診についての正確な情報提供を行えば熟年者でも十分検診に向かわせることが可能であることが示唆された。

一方、現在ほぼ止まっているワクチン接種については、接種の積極的勧奨が再開された際に備える必要が

あるが、上述のインタビュー調査・アンケート調査から、ワクチンの効能や副反応について正確な情報提供があれば今後接種が進むことが示唆された。

子宮頸癌を効果的に予防していくには子宮がん検診受診率とワクチン接種率をいずれも 50%以上に上げることを目指す必要がある。医療経済的にはワクチン接種率のみを 100%近くに上げることも許容され、これについては今後のワクチン接種の勧奨再開の流れなどを把握して戦略を練っていく必要があるものと考えられる。当研究の重要性はさらに高まっていると考えられる。

F. 健康危険情報

これまでに被験者に危険が及んだ事例はない。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Miyoshi, Y. Miyatake, T. Ueda, Y. Morimoto, A. Yokoyama, T. Matsuzaki, S. Kimura, T. Yoshino, K. Fujita, M. Ohashi, H. Morii, E. Enomoto, T. Kimura, T., Prediction, based on resection margins, of long-term outcome of cervical intraepithelial neoplasia 3 treated by Shimodaira-Taniguchi conization, Arch Gynecol Obstet, 285(5), 1427-32, 2012
2. 上田豊 吉野潔 藤田征巳 榎本隆之, 【婦人科がん-最新の研究動向-】 子宮頸がん 子宮頸癌の生物学クロナリティーおよびHPV感染の解析からみた子宮頸癌の発生経路(解説/特集), 日本臨床, 70(4), 95-9, 2012
3. Hiramatsu, K. Ueda, Y. Yoshino, K. Fujita, M. Morii, E. Enomoto, T. Kimura, T., Conization using Shimodaira-Taniguchi procedure for adenocarcinoma in situ of the uterine cervix. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2013 Jun;168(2):218-21. doi: 10.1016/j.ejogrb.2013.01.011. Epub 2013 Feb 8.
4. 「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」クリニックマガジン (ドラッグマガジン社), 40(4), 52-53, 2013
5. 榎本隆之 「子宮頸癌と HPV」新潟県医師会報 2: 2-10, 2013
6. Morimoto A, Ueda Y, Egawa-Takata T, Enomoto T et al. Survey of Japanese girls given HPV vaccine especially on their attitude about media reports of its adverse events and the governmental announcement of a suspension of its recommendation. Submitted (under review)

2. 学会発表・講演会等

- 大阪産婦人科医会 OCEAN STUDY 第 1 回説明会
榎本隆之、上田豊 (平成 23 年 4 月 23 日、大阪)
- 大阪産婦人科医会 OCEAN STUDY 第 2 回説明会
榎本隆之、上田豊 (平成 23 年 5 月 14 日、大阪)
- 大阪産婦人科医会 OCEAN STUDY 第 3 回説明会・第 1 回倫理講習会・臨床セミナー
上田豊 (平成 23 年 10 月 15 日、大阪)
- 大阪産婦人科医会 OCEAN STUDY 第 4 回説明会・第 2 回倫理講習会・臨床セミナー
上田豊 (平成 24 年 2 月 18 日、大阪)
- 大阪産婦人科医会 OCEAN STUDY 第 5 回説明会・第 3 回倫理講習会・臨床セミナー
上田豊 (平成 24 年 3 月 10 日、大阪)
- 大阪産婦人科医会 OCEAN STUDY 第 6 回説明会・第 4 回倫理講習会・臨床セミナー
上田豊 (平成 24 年 5 月 26 日、大阪)
- 大阪産婦人科医会 OCEAN STUDY 第 7 回説明会・第 5 回倫理講習会・臨床セミナー
上田豊、森本晶子 (平成 24 年 10 月 20 日、大阪)
- 大阪産婦人科医会 OCEAN STUDY 第 8 回説明会・第 6 回倫理講習会・臨床セミナー
上田豊、森本晶子 (平成 25 年 4 月 13 日、大阪)
- 大阪産婦人科医会 OCEAN STUDY 第 9 回説明会・第 7 回倫理講習会
上田豊、森本晶子 (平成 25 年 7 月 18 日、大阪)
- 大阪産婦人科医会 OCEAN STUDY 第 10 回説明会・第 8 回倫理講習会・臨床セミナー
上田豊、森本晶子 (平成 25 年 9 月 21 日、大阪)
- 大阪産婦人科医会 OCEAN STUDY 第 8 回説明会・第 9 回倫理講習会・臨床セミナー
上田豊、高田友美 (平成 26 年 2 月 8 日、大阪)

子宮頸がん下越地区学術講演会「NIIGATA WOMAN プロジェクト」

榎本隆之（平成 25 年 4 月 24 日 新潟）

平成 24・25 年度日本産婦人科医会がん部会事業研究会

榎本隆之（平成 25 年 5 月 15 日 新潟）

子宮頸がん中越地区学術講演会「NIIGATA WOMAN プロジェクト」

榎本隆之（平成 25 年 6 月 28 日 新潟）

子宮頸がんワクチン講演会

榎本隆之（平成 25 年 8 月 1 日 群馬）

講演会：『Project for Young Generation』～ワクチンと検診で守れる命～

榎本隆之、上田 豊（平成 25 年 8 月 3 日、大阪）

第 30 回日本臨床細胞学会北陸支部連合会学術集会

榎本隆之（平成 25 年 9 月 8 日 石川）

子宮頸がん上越地区学術講演会「NIIGATA WOMAN プロジェクト」

榎本隆之（平成 25 年 9 月 25 日 新潟）

宮崎県産科婦人科学会/産婦人科医会 秋期総会 特別講演 市民公開講座

榎本隆之（平成 25 年 9 月 28 日 宮崎）

平成 24/25 年度奈良県産婦人科医会がん部会研修会

榎本隆之（平成 25 年 11 月 30 日 奈良）

大阪府内科医会大阪産婦人科医会定例会：臨床研究 OCEAN STUDY について

上田 豊（平成 25 年 5 月 22 日、大阪）

佐用郡医師会学術講演会「今こそ考えよう、HPV ワクチンについて」

上田 豊（平成 25 年 7 月 25 日、兵庫）

第 51 回日本癌治療学会：「大阪産婦人科医会 OCEAN STUDY」

上田 豊（平成 25 年 10 月 24 日、大阪）

文部科学省がんプロフェッショナル養成基盤推進プラン市民公開講座『知っておきたい

子宮頸がん』「守れる命がそこにある～2年に1度のたった1分の子宮がん検診～」

上田 豊（平成 26 年 3 月 9 日、大阪）

<合同事務局会議>

第 1 回合同事務局会議（平成 24 年 6 月 5 日 大阪）

第 2 回合同事務局会議（平成 24 年 12 月 21 日 大阪）

第 3 回合同事務局会議（平成 25 年 2 月 2 日 新潟）

第 4 回合同事務局会議（平成 25 年 3 月 23 日 大阪）

第 5 回合同事務局会議（平成 25 年 3 月 30 日 新潟）

第 6 回合同事務局会議（平成 25 年 8 月 4 日 大阪）

第 7 回合同事務局会議（平成 25 年 8 月 20 日 大阪）

第 8 回合同事務局会議（平成 25 年 10 月 5 日 新潟）

第 9 回合同事務局会議（平成 25 年 2 月 14 日 大阪）

第 10 回合同事務局会議（平成 25 年 3 月 22 日 大阪）

<実務者会議>

第 1 回実務者会議（平成 22 年 12 月 14 日 大阪）

第 2 回実務者会議（平成 23 年 10 月 15 日 大阪）

第 3 回実務者会議（平成 24 年 2 月 18 日 大阪）

第 4 回実務者会議（平成 24 年 5 月 26 日 大阪）

第 5 回実務者会議（平成 24 年 10 月 20 日 大阪）

第 6 回実務者会議（平成 25 年 4 月 13 日 大阪）

第 7 回実務者会議（平成 25 年 9 月 21 日 大阪）

第 8 回実務者会議（平成 26 年 2 月 8 日 大阪）

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

<引用文献>

- 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) Inoue M, Sakaguchi J, Sasagawa T, et al. The evaluation of human papillomavirus DNA testing in primary screening for cervical lesions in a large Japanese population. *Int J Gynecol Cancer* 2006; 16: 1007-1013.
- 3) Maehama T. Epidemiological study in Okinawa, Japan, of human papillomavirus infection of the uterine cervix. *Infect Dis Obstet Gynecol* 2005; 13: 77-80.
- 4) zur Hausen, H., Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. *Nat Rev Cancer*, 2002; 2: 342-350.
- 5) Huibregtse JM, Scheffner M, Howley PM et al.: Cloning and expression of the cDNA for E6-AP, a protein that mediates the interaction of the human papillomavirus E6 oncoprotein with p53. *Mol Cell Biol* 1993; 13: 775-784.
- 6) Nakashima R, Fujita M., Enomoto T, et al.: Alteration of p16 and p15 genes in human uterine tumours. *Brit. J. Cancer* 1999; 80 : 458-67.
- 7) Munoz N, et al.: The epidemiology of human papillomavirus and cervical cancer. Lyon, IARC (WHO) scientific publications 1992; 119: 1-284.
- 8) Sharpless NE, Depinho RA: The INK4A/ARF locus and its two gene products. *Curr Opin Genet Dev* 1999; 9: 22-30.
- 9) Kanao H, Enomoto T, Ueda, Y, et al.: Correlation between p14ARF/p16INK4A expression and HPV infection in uterine cervical cancer. *Cancer Lett* 2004; 213 : 31-7.
- 10) 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.
- 11) 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
- 12) 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 : 1517-27.
- 13) FUTURE II Group: Quadrivalent vaccine against human papillomavirus to prevent high-grade cervical lesions. *N Engl J Med* 2007; 356: 1915-1927.
- 14) 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(9686): 301-314.
- 15) 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.
- 16) Sven-Eric Olsson, Luisa L. Villa, Ronaldo L.R. Costa, 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.
- 17) Roteli-Martins et al. *ESPID* 2010, abstract

- 18) 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

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Miyoshi, Y. Miyatake, T. Ueda, Y. Morimoto, A. Yokoyama, T. Matsuzaki, S. Kimura, T. Yoshino, K. Fujita, M. Ohashi, H. Morii, E. Enomoto, T. Kimura, T.	Prediction, based on resection margins, of long-term outcome of cervical intraepithelial neoplasia 3 treated by Shimodaira-Taniguchi conization	Arch Gynecol Obstet	285(5)	1427-32	2012
上田豊 吉野潔 藤田征巳 榎本隆之	クロナリティーおよびHPV感染の解析からみた子宮頸癌の発生経路(解説/特集)	【婦人科がん-最新の研究動向-】 子宮頸がん 子宮頸癌の生物学 日本臨床	70(4)	95-9	2012
Hiramatsu, K. Ueda, Y. Yoshino, K. Fujita, M. Morii, E. Enomoto, T. Kimura, T.	Conization using Shimodaira-Taniguchi procedure for adenocarcinoma in situ of the uterine cervix	Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol	168(2)	218-21	2013
上田 豊	「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」	クリニックマガジン	40(4)	52-53	2013
榎本隆之	「子宮頸癌とHPV」	新潟県医師会報	2	2-10	2013
Morimoto A, Ueda Y, Egawa-Takata T, Enomoto T et al.	Survey of Japanese girls given HPV vaccine especially on their attitude about media reports of its adverse events and the governmental announcement of a suspension of its recommendation				Submitted(under review)

Prediction, based on resection margins, of long-term outcome of cervical intraepithelial neoplasia 3 treated by Shimodaira-Taniguchi conization

Yukari Miyoshi · Takashi Miyatake · Yutaka Ueda · Akiko Morimoto · Takuhei Yokoyama · Shinya Matsuzaki · Toshihiro Kimura · Kiyoshi Yoshino · Masami Fujita · Hiroshi Ohashi · Eiichi Morii · Takayuki Enomoto · Tadashi Kimura

Received: 4 May 2011 / Accepted: 11 November 2011 / Published online: 23 November 2011
© Springer-Verlag 2011

Abstract

Purpose The aim of the present study was to analyze the long-term outcome of cervical intraepithelial neoplasia 3 (CIN 3) after treatment with the Shimodaira-Taniguchi conization procedure, based on the status of the resection margins.

Methods In the Osaka University Hospital, conization using the Shimodaira-Taniguchi procedure has been routinely performed for CIN 3. Medical records of patients during the period from 2001 to 2008, whose post-conization diagnosis was CIN 3, were retrospectively analyzed for outcome versus margin status.

Results During the median follow-up period of 565 days (range 34–3,013), CIN disease was again detected in 14 of 243 patients; it was found in 7 patients among 198 margin-negative cases, and in 7 patients among 45 margin-positive cases. There was a significant difference in the reappearance rate demonstrated between the cases with positive and negative margins ($p = 0.0018$). Among the patients whose

first follow-up post-conization cytology was normal, recurrence-free probability was significantly higher in margin-negative cases than in margin-positive ones (hazard ratio, 5.19; 95% CI, 1.175–22.994; $p = 0.0041$).

Conclusion For the first time, we demonstrate that after treatment of CIN 3 lesions by Shimodaira-Taniguchi conization the status of the resection margin was a significant predictor for long-term outcome.

Keywords CIN 3 · Shimodaira-Taniguchi conization · Resection margin status · Outcome · Predictor

Abbreviations

AIS	Adenocarcinoma in situ
CIN	Cervical intraepithelial neoplasia
SCC	Squamous cell carcinoma
HSIL	High-grade squamous intraepithelial lesion
HPV	Human papillomavirus
LEEP	Loop electrosurgical excision procedure
LSIL	Low-grade squamous intraepithelial lesion
NILM	Negative for intraepithelial lesion or malignancy

Y. Miyoshi and T. Miyatake contributed equally to this work.

Y. Miyoshi · Y. Ueda (✉) · A. Morimoto · T. Yokoyama · S. Matsuzaki · T. Kimura · K. Yoshino · M. Fujita · T. Enomoto · T. Kimura
Department of Obstetrics and Gynecology, Osaka University Graduate School of Medicine, 2-2, Yamadaoka, Suita, Osaka 565-0871, Japan
e-mail: ZVF03563@nifty.ne.jp

T. Miyatake
Department of Gynecology, Osaka Medical Center for Cancer and Cardiovascular Diseases, 1179-3, Higashinari-ku-Nakamichi, Osaka 537-8511, Japan

H. Ohashi · E. Morii
Department of Pathology, Osaka University Graduate School of Medicine, 2-2, Yamadaoka, Suita, Osaka 565-0871, Japan

Introduction

Cervical intraepithelial neoplasia (CIN), a non-invasive neoplastic lesion widely regarded as a precursor of squamous cell carcinoma (SCC) of the uterine cervix, has its highest incidence during women's reproductive years. Hysterectomy or radiation therapy is required to treat cases of invasive cervical SCC; however, conization, a fertility-conserving surgery, is often effectively substituted to treat the less dangerous CIN.

Conization refers to a biopsy of the cervix in which a cone-shaped sample of tissue is removed from the uterine cervix, either for diagnostic reasons, or for therapeutic purposes to remove pre-cancerous cells. A recent study showed that conization and lymphadenectomy may be a potential treatment for small IB1 cervical cancer patients desiring conservative management [1]. Although fertility preserving, the procedure is not without risk; side effects of the treatment may include cervical stenosis and may increase the risk of incompetent cervix.

Our medical indications for performing conization are CIN 3, which includes carcinoma in situ (CIS), and severe dysplasia. According to a review of previous studies, CIN 3 is significantly more likely to persist, or to progress to SCC, than is a CIN 1 lesion; progression from CIN 3 to SCC occurs more than 15% of the time, whereas CIN 1 progresses to SCC only 1% of the time [2].

The standard conization device has evolved from the cold knife to the more conservative, and now widely accepted, ‘loop electrosurgical excision procedure’ (LEEP) device [3]. There is one study which showed that cold knife conization was less favorable in terms of the appearance of further CIN 3 and cancer risk [4]. However, there is yet another paper from the same period with a different finding; it suggests that conization modalities have a similar efficacy with respect to eliminating CIN and reducing further cancer risk [5]. However, LEEP is also not without its known drawbacks; the cervical tissue is removed as several divided specimens and is accompanied with thermal damage to the resected specimens, making pathological evaluation of the CIN lesions and their margin status difficult.

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 [3, 6]. Matsumura et al. [3] have recently demonstrated the high utility and reliability of the Shimodaira-Taniguchi conization procedure. However, in comparison to our current study (which looks only at CIN 3 outcomes), their study included many cases of both more advanced microinvasive SCCs, and less advanced CIN 1, CIN 2, and adenocarcinoma in situ (AIS) lesions. In addition, the median follow-up period was not reported in their analysis. The long-term cumulative persistence/recurrence rate, the most important outcome measure of conservative treatment for any pre-malignant lesions, was demonstrated in their report; however, the rate was not compared by the status of their resection margin data, which has been demonstrated elsewhere to be of significant value for the prediction of the outcome of conization procedures for CIN 3 [7, 8]. In our present

study, the long-term outcome of CIN 3 treated by Shimodaira-Taniguchi conization in our facility was re-analyzed by the status of their resection margins. The cutting probes for the Shimodaira-Taniguchi conization procedure are illustrated in Fig. 1.

Materials and methods

In the Department of Obstetrics and Gynecology of the Osaka University Hospital in Osaka, Japan, conization using the Shimodaira-Taniguchi procedure was routinely performed for CIN 3, and, in some rare cases, for more advanced microinvasive squamous cell carcinoma of the uterine cervix. Resected cervical tissue by conization was carefully divided into 12 specimens and the pathological diagnosis was made by pathologists in the Department of Pathology of the Osaka University Hospital.

During the 8-year period from 2001 to 2008, a post-conization diagnosis of CIN 3 was made in 243 patients. Medical records, including pathology reports of these patients, were retrospectively analyzed. Patients were routinely followed by cervical cytology conducted every 1–3 months in the first year after conization, every 6 months in the second year, and then annually thereafter. Patients who were consistently ‘negative for intraepithelial lesion or malignancy’ (NILM) were followed in this manner. However, whenever a case displayed a positive cytological test, a colposcopic observation was performed to biopsy the suspicious lesions for CIN.

For any case that presented with an abnormal cytology anytime within the first 3 months after conization, in which a CIN lesion was confirmed at that time by biopsy under colposcope, the lesion was regarded as a ‘persistence’ of the earlier CIN, regardless of whether the initial conization

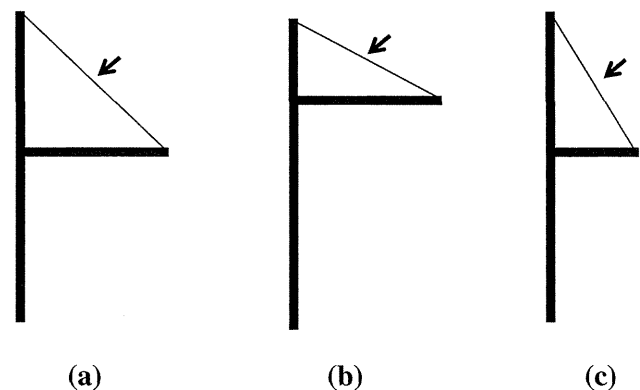


Fig. 1 The cutting probes for the Shimodaira-Taniguchi conization procedure. **a** A triangular probe which has the same base length and height. **b** A triangular probe which has shorter height than base length. **c** A triangular probe which has longer height than base length. Arrow excision electrode

pathology report had noted a negative or positive resection margin. For any case in which the first cytology report within the first 3 months after conization was negative, and for which (only at some later time point outside of 3 months) a CIN lesion was later detected by biopsy under colposcope, the case was regarded as a ‘recurrence’ of CIN. The time to diagnosis of persistent/recurrent disease was calculated from the date of the conization procedure to the day on which the colposcopic biopsy was taken for the CIN diagnosis.

Statistical analysis

MedCalc (MedCalc Software, Mariakerke, Belgium) was used for the statistical analysis. Recurrence-free probability (survival) curves were constructed using the Kaplan–Meier method and evaluated for statistical significance by the log-rank test. Association of the rate of persistence/recurrence of CIN lesions and the status of resection margins was analyzed by Fisher’s exact test. Results were considered to be significant when the p value was <0.05 .

Results

Clinical characteristics of patients whose post-conization diagnosis was CIN 3

During the study period, a post-conization diagnosis of CIN 3 was made in 243 patients (Table 1). Among them, 132 patients (54%) were pathologically diagnosed as having carcinoma in situ (CIS) and the other 111 patients (46%) were cases of severe dysplasia. The median age of these patients was 37 (21–74) years. A positive resection margin was detected in 45/243 cases (19%); the remaining 198 patients (81%) had a promising negative margin. All the patients were followed after conization by periodic cervical cytology. During the median follow-up period of 565 days (34–3,013), a persistent or recurrent CIN disease

Table 1 Clinical characteristics of patients whose post-conization diagnosis was CIN 3

Clinical characteristics	
Total number (cases)	243
Age (years)	21–74 (median 37)
Post-conization diagnosis (cases)	
CIS	132 (54%)
Severe dysplasia	111 (46%)
Status of resection margin (cases)	
Negative	198 (81%)
Positive	45 (19%)

was subsequently detected in 14 patients (5.8%); 7 patients had been diagnosed as margin positive and the other 7 had been margin negative (Table 2). The median time to diagnosis of the persistent/recurrent CIN lesions was 316 days (64–2,465). None of these characteristics of the post-conization diagnosis was different between those with CIS versus those with severe dysplasia (data not shown).

Persistent/recurrent cases after conization

The persistent/recurrent cases are shown in Table 3. Among the 198 patients whose resection margin had been negative, persistence/recurrence was detected in 7 patients: cases 1, 2, 3, 4, 6, 7, and 8 (3.5%) (Tables 2, 3). Pathological diagnosis of the persistent/recurrent lesion was CIN 1 in three cases (cases 2, 6, 7), CIN 2 in one case (case 3), and CIN 3 in three cases (cases 1, 4, 8). Among these margin-negative cases, the first cytology exhibited normal appearance (NILM) and the CIN lesions were detected beyond the initial 3 months of observation (after 299–2,465 days from conization) in three cases (cases 6, 7, 8). These cases were regarded to be recurrences.

In the other four margin-negative cases (cases 1, 2, 3, 4), a low-grade squamous intraepithelial lesion (LSIL) or a high-grade squamous intraepithelial lesion (HSIL) was detected by the first cytology after conization (within the first 3 months), and CIN 1, CIN 2, or CIN 3 was pathologically diagnosed by colposcopic biopsy. These cases were regarded as persistent lesions.

Among the 45 patients whose resection margin had been positive, persistence/recurrence was detected in 7 patients (cases 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14) (16%) (Tables 2, 3). The rate of persistence/recurrence was significantly higher in margin-positive cases than in margin-negative ones (3.5 vs. 16%; $p = 0.0018$ by Fisher’s exact test) (Table 2). In a

Table 2 Follow-up data of patients whose post-conization diagnosis was CIN 3

Follow-up data		p value
Observation period after conization (days)	34–3,013 (median 565)	–
Persistent/recurrent disease after conization (cases)	14 (5.8%)	0.0018*
Negative margin	7 (3.5%)	
Positive margin	7 (16%)	
Time to diagnosis of persistence/recurrence after conization (days)	64–2,465 (median 316)	–

Time to diagnosis of persistent/recurrent disease was calculated from the date of conization to the day on which CIN was diagnosed by colposcopic biopsy

* The difference in the rates of persistence/recurrence between margin-negative and margin-positive cases was statistically significant ($p = 0.0018$ by Fisher’s exact test)

Table 3 Persistent/recurrent cases after conization

Case	Age (years)	Margin status	First cytology after conization	Time to diagnosis of persistence/recurrence (days)	Persistent/recurrent disease diagnosis	Treatment for the persistent/recurrent disease
Persistence						
1	23	–	HSIL	64	CIN 3 (polyp)	Polypectomy
2	57	–	LSIL	93	CIN 1	Observation
3	28	–	LSIL	131	CIN 2	Laser vaporization
4	31	–	HSIL	175	CIN 3	Laser vaporization
5	70	+	HSIL	82	CIN 3	Hysterectomy
Recurrence						
6	37	–	NILM	299	CIN 1	Observation
7	50	–	NILM	821	CIN 1	Observation
8	37	–	NILM	2,465	CIN 3	Re-conization
9	47	+	NILM	252	CIN 2	Re-conization
10	43	+	NILM	333	CIN 3	Unknown ^a
11	36	+	NILM	740	CIN 1	Observation
12	57	+	NILM	1,047	CIN 3	Re-conization
13	34	+	NILM	1,272	CIN 1	Observation
14	35	+	NILM	1,825	CIN 3	Re-conization

Among the cases in which CIN lesion was detected after conization, margin-positive cases with an abnormal first cytology (within 3 months after conization) were regarded as cases of persistence of CIN. Cases of negative first cytology were regarded as recurrence of CIN. Time to diagnosis of persistent/recurrent disease was calculated from the date of conization to the day on which CIN was diagnosed by colposcopic biopsy

NILM negative for intraepithelial lesion or malignancy, *LSIL* low-grade squamous intraepithelial lesion, *HSIL* high-grade squamous intraepithelial lesion

–, Negative resection margin; +, Positive resection margin

^a The treatment and final outcome for one recurrent CIN 3 case (case 10) was unknown, because the patient moved to another hospital after the diagnosis of recurrence

single case of CIN 3 whose resection margin had been positive (case 5), the result of the first cytological test of the uterine cervix performed in the second month after conization was HSIL (high-grade squamous intraepithelial lesion). The pathological result of a colposcopic biopsy performed 1 month later, in the third month, indicated the lesion was CIN 3; the patient elected to undergo a prophylactic hysterectomy at that time. This case was regarded to be persistent.

In the other six margin-positive patients, the results of the first cytological test were negative (NILM). CIN lesions were first detected after 252–1,825 days from conization. These cases were regarded to be recurrent and not persistent ones.

Long-term outcome of the CIN 3 cases

The long-term outcome of CIN cases treated by Shimodaira-Taniguchi conization was analyzed for persistence/recurrence-free probability, which was found to be significantly higher in margin-negative cases than in margin-positive ones ($p = 0.007$ by log-rank test). The five cases of persistent CIN

3 were set aside from further analysis. Only the nine recurrent cases, whose initial treatment had been successful by the Shimodaira-Taniguchi procedure, as characterized by being negative upon the first cytology follow-up within the first 3 months after conization, and margin-positive cases, which were negative at the first cytology follow-up, were retained. Recurrence-free probability in these cases was significantly higher in the margin-negative cases than in the margin-positive ones (hazard ratio 5.19; 95% CI, 1.175–22.994; $p = 0.0041$ by log-rank test) (Fig. 2).

Discussion

Currently, conization is the standard option for treatment of CIN 3, a precursor of SCC of the uterine cervix. 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 post-operative hemorrhage). Both cold knife conization and LEEP have a similar margin-positive rate [9]. Although a high margin cure rate is achieved by LEEP

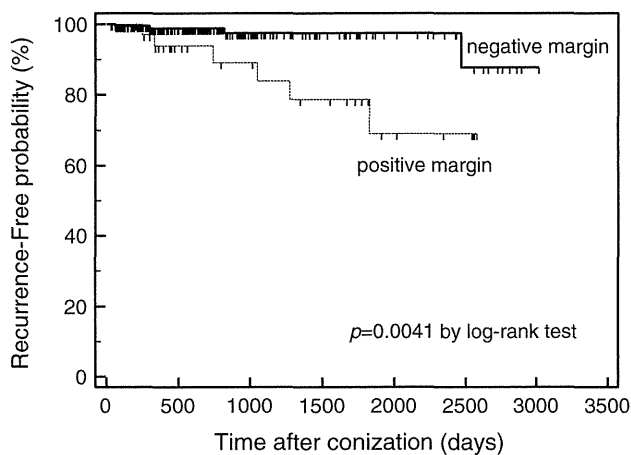


Fig. 2 Long-term outcome of the recurrent cases after conization for CIN 3 by resection margin. Recurrence-free probability was significantly higher in margin-negative cases than in margin-positive ones (hazard ratio 5.19; 95% CI, 1.175–22.994; $p = 0.0041$ by log-rank test)

conization, significant thermal damage is usually observed in the resected tissues [3]. The cervical tissue is also resected into several separated specimens during the LEEP, resulting in later difficulties in determining the critical margin status of the specimens, and the corresponding cervical location of any remaining lesions detected at the margin.

The Shimodaira-Taniguchi conization procedure 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 cone of tissue as a single informative specimen, and does so without incurring any undue thermal trauma [3]. Matsumura et al. have demonstrated the benefits of the procedure: the number of the excised specimens was only one per patient in 79% of the case they studied (358 of 455 cases); the mean operation time was 11 min; and the average blood loss was only 9.9 ml.

Matsumura et al. found that persistent disease was observed in 2 (0.7%) of 268 CIN patients soon after the procedure, and, after 6–20 months post-conization, recurrence was detected in only slightly higher numbers (3/268; 1.1%). They also found recurrences within 16–30 months in 4.8% (3/62) of the more advanced microinvasive SCC cases treated with the Shimodaira-Taniguchi conization procedure. Among these six recurrent cases, four cases had been margin positive and the other two were margin negative.

There is one published study which did not find any significant value for using resection margin status in the prediction of long-term outcome of CIN 2 and CIN 3 after conization; that study was done using a CO₂ laser or cold knife [10]. However, others have found that the resection margin of CIN lesions produced by LEEP, cold knife, or laser was demonstrated to be able to aid in predicting the

subsequent recurrence of CIN 3 [7, 8]. According to Chen et al., the persistence/recurrence rate of margin-positive cases, 33% (47/141 cases), was significantly higher than that of the margin-negative cases, 2% (21/972 cases) ($p < 0.0001$ by Fisher's exact test).

In our present study, the long-term outcome of CIN 3 cases treated by the Shimodaira-Taniguchi conization procedure was retrospectively analyzed relative to the status of their resection margins. The margin-positive rate for all CIN 3 cases was 19% (45 of 243 cases), and the rate for persistence/recurrence was 5.8% (14 of 243 cases). Our 19% margin-positive rate was lower than the 39% found in the previous study [3], and our 5.8% persistence/recurrence rate was higher than their 1.8%. Although the outcome results in our study were not different between the cases of CIS versus severe dysplasia (defined by the post-conization diagnosis), a previous study had shown that the persistent/recurrent rate was higher in CIS cases than in severe dysplasia cases ($p = 0.007$). The reasons for these discrepancies are currently unclear.

We found, as might be expected, that the probability of being persistence/recurrence-free was significantly higher in the margin-negative cases than in margin-positive ones ($p = 0.007$ by log-rank test), and this result was quite consistent with that of a previous study [7]. When we looked only at CIN cases which had passed their first test for being cured (those that had a normal cervical cytology at some point during the initial 3-month follow-up, regardless of whether they were judged margin negative or margin positive), we again found that the recurrence-free probability was significantly lower in margin-positive cases than in margin-negative cases (hazard ratio 5.19; 95% CI, 1.175–22.994; $p = 0.0041$ by log-rank test). Moreover, these recurrences occurred relatively long after the initial conization (252–1,825 days; median: 894 days).

The late arising lesions, those that were not detected at 'first cytology', possibly indicate very slow growth of a very small number of dysplastic or predisposed cells, which were not detectable by a normal pathological investigation. HPV may be more likely, for some unknown reason, to persist and/or cause progression in the cervix of margin-positive cases, perhaps because of the specific microenvironment of the positive margin; however high-risk type of HPV infections associated with CIN was previously demonstrated to clear gradually after successful conization in most patients showing clear resection margins [11]. The discrepancy of finding persistence of the CIN lesions after receiving a margin-negative status was, in part we feel, due to the presence of minute CIN lesions which had not been detected at the time of conization, or 'skip lesions' that were not detected at the surgical margins even by dividing the specimens of resected cervical tissue into 12 pieces for individual examination.

In our present study, we have re-evaluated the long-term outcome of CIN lesions after treatment with the Shimodaira-Taniguchi conization procedure routinely used in our facility to see if we could gain insight into predicting recurrence of the lesions. A recent study showed unexpected tumor progression after conization for CIS [12]. We found that the positive/negative status of the resection margin was a significant predictor for long-term outcome. Specifically, it was demonstrated that recurrence occurred at a significantly higher rate in margin-positive cases than in margin-negative cases whose post-conization cytology was normal. Further study is still needed to clarify the mechanism of the relatively late recurrences noted in margin-positive cases after Shimodaira-Taniguchi conization.

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

Conflict of interest The authors state that there are no conflicts of interest. The authors also declare (1) that the article has not been published elsewhere; (2) it is not being considered for publication elsewhere; and (3) that it has been submitted with the full knowledge and approval of the institution or organization given as the affiliation of the authors.

References

- Maneo A, Sideri M, Scambia G, Boveri S, Dell'anna T, Villa M, Parma G, Fagotti A, Fanfani F, Landoni F (2011) Simple conization and lymphadenectomy for the conservative treatment of stage IB1 cervical cancer. An Italian experience. *Gynecol Oncol*. (Epub ahead of print)
- DiSaia PJ, Creasman WT (2002) *Clinical gynecologic oncology*, 6th edn. Mosby, St. Louis, pp 1–33
- Matsumura M, Ota T, Takeshima N, Takizawa K (2010) Shimodaira-Taniguchi conization method: its utility and reliability. *Int J Gynecol Cancer* 20:1025–1030
- Kalliala I, Nieminen P, Dyba T, Pukkala E, Anttila A (2007) Cancer free survival after CIN treatment: comparisons of treatment methods and histology. *Gynecol Oncol* 105:228–233
- Wright TC Jr, Massad LS, Dunton CJ, Spitzer M, Wilkinson EJ, Solomon D, 2006 American Society for Colposcopy and Cervical Pathology-sponsored Consensus Conference (2007) 2006 consensus guidelines for the management of women with abnormal cervical cancer screening tests. *Am J Obstet Gynecol* 197:346–355
- Taniguchi S (1992) Treatment of CIN by high frequency electric radical conization. *Sanfujinka Tiryō* 6:889–897 (in Japanese)
- Bertelsen B, Tande T, Sandvei R, Hartveit F (1999) Laser conization of cervical intraepithelial neoplasia grade 3: free resection margins indicative of lesion-free survival. *Acta Obstet Gynecol Scand* 78:54–59
- Chen Y, Lu H, Wan X, Lv W, Xie X (2009) Factors associated with margin-positives in patients with cervical intraepithelial neoplasia grade 3 and postconization management. *Int J Gynecol Obstet* 107:107–110
- Jakus S, Edmonds P, Dunton C, King SA (2000) Margin status and excision of cervical intraepithelial neoplasia: a review. *Obstet Gynecol Surv* 55:520–527
- Ørbo A, Arnesen T, Arnes M, Straume B (2004) Resection margins in conization as prognostic marker for relapse in high-grade dysplasia of the uterine cervix in northern Norway: a retrospective long-term follow-up material. *Gynecol Oncol* 93:479–483
- Kim YT, Lee JM, Hur SY, Cho CH, Kim YT, Kim SC, Kang SB (2010) Clearance of human papillomavirus infection after successful conization in patients with cervical intraepithelial neoplasia. *Int J Cancer* 126:1903–1909
- Omatsu K, Takeshima N, Matoda M, Nomura H, Umayahara K, Sugiyama Y, Utsugi K, Tanaka H, Akiyama F, Takizawa K (2011) Unexpected tumor progression after conization for carcinoma in situ of the uterine cervix. *J Obstet Gynaecol Res*. doi: 10.1111/j.1447-0756.2011.01632.x (Epub ahead of print)

日本臨牀 70 卷 増刊号 4 (2012 年 6 月 20 日発行) 別刷

婦人科がん

—最新の研究動向—

II. 子宮頸がん

子宮頸癌の生物学—クロナリティーおよび HPV 感染の
解析からみた子宮頸癌の発生経路—

上田 豊 吉野 潔 藤田 征巳 榎本 隆之

II 子宮頸がん

子宮頸癌の生物学—クロナリティーおよびHPV感染の
解析からみた子宮頸癌の発生経路—Analysis of clonality and HPV infection in benign, premalignant and
malignant lesions of the uterine cervix

上田 豊 吉野 潔 藤田 征巳 榎本 隆之

Key words : 子宮頸癌, CIN, クロナリティー, HPV

子宮
頸
が
ん

はじめに

近年、若年者の子宮頸癌が増加し、また女性の晩婚化に伴い子宮温存を希望するケースが多くなっていることなどから、临床上、子宮頸癌の前癌病変での診断・治療は極めて重要になってきている。子宮頸癌は病理学的には扁平上皮癌(SCC)が多数を占め、腺癌・腺扁平上皮癌がこれに続く。扁平上皮癌の前癌病変であるCIN(cervical intraepithelial neoplasia)を中心にこれまで多くの研究がなされてきており、著者らもクロナリティーおよびHPV感染の観点から解析を行ってきた。本稿では、その結果を示し、子宮頸癌の成り立ちについて考察する。

クロナリティーおよびHPV感染の
解析

クロナリティー解析は、女性の2本のX染色体(父親由来・母親由来)のうち一方が胎生期にメチル化によりランダムに不活化されており、細胞分裂においてもこれが受け継がれていくことを利用している。解析方法の詳細は文献¹⁾を参照されたい。ポリクローナルな組織では両方のアレルが検出されるが、モノクローナルな組

織ではどちらか一方のアレルのみが検出される。単一細胞に由来する、ともにモノクローナルな2つの組織で検出されるアレルの長さが異なれば、クロナリティーが異なる、すなわち2つの組織は異なる細胞に由来することがわかる。また2つの組織の少なくとも一方がポリクローナルであれば、同一細胞由来ではない。

HPV感染については、consensus primerを用いたPCR法にて感染の有無を検索することができる。すなわち、HPVには100種類を超える型が存在するが、そのうち、CIN1・CIN2からCIN3への進展リスクが高いことが示されているHPV-16, 18, 31, 33, 35, 52, 58のハイリスク型HPV²⁾の感染の有無を検出できる。型決定は制限酵素による切断長を利用したRFLP法にて同定することが可能である。

HPV DNAは環状二本鎖DNAで、その中にE2・E6・E7といったopen reading frame(ORF)が存在する。ここで、E6・E7はそれぞれ癌抑制遺伝子産物であるp53・Rbの機能を阻害するなどして癌化に深く関与しているとされ、一方、E2にはこのE6やE7を制御する機能があることが知られている。HPV DNAが環状二本鎖DNAのままである、いわゆるepisomal formではE2とE6が同じ分子数存在し、これをreal-

Yutaka Ueda, Kiyoshi Yoshino, Masami Fujita, Takayuki Enomoto: Department of Obstetrics and Gynecology, Osaka University Graduate School of Medicine 大阪大学大学院医学系研究科 産科学婦人科学

0047-1852/12/¥60/頁/JCOPY

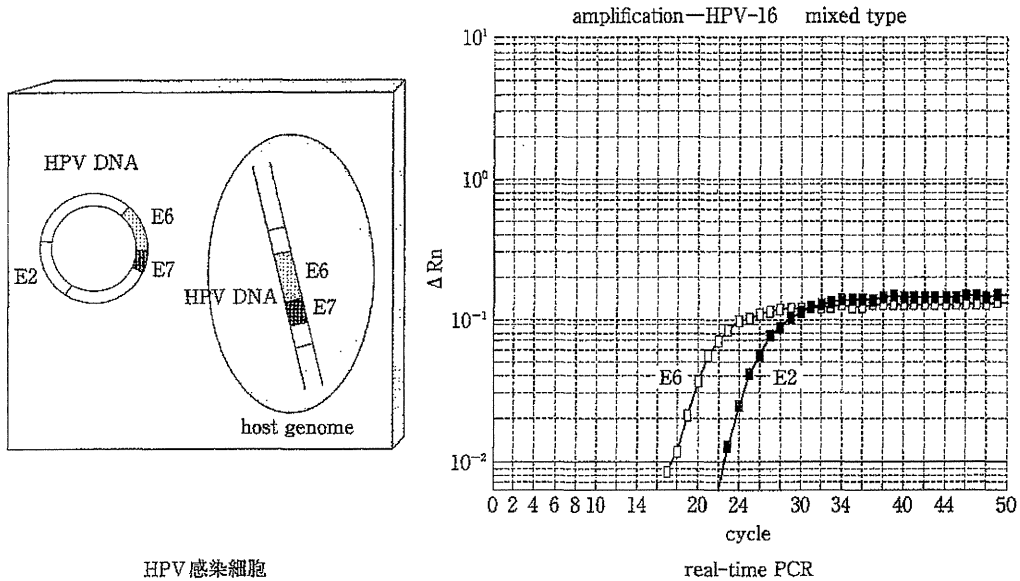


図1 HPV physical status (mixed form)

time PCRで観察すると、E2の増幅曲線とE6の増幅曲線が一致する。一方、HPV DNAがhost genomeに組み込まれた状態はintegrated formと呼ばれる。一般にこのintegrationにおいて、環状のHPV DNAはE2領域が欠失を起こして開裂し、host genomeに組み込まれることが知られている。このようなE2の機能が欠失している状態では、E6・E7がoverexpressionし、細胞は増殖の方向に向かう。この状態をreal-time PCRで観察すると、E2は増幅されず、E6のみの増幅曲線が観察される。次に、episomal formとintegrated formが共存するmixed formの状態においては、E2とE6の存在する比によってE2の増幅曲線はE6の増幅曲線からずれて観察される(図1)。

2 扁平上皮癌の発生

一般に子宮頸部扁平上皮癌はCINを経て形成されると考えられている。著者らはCINに対するクロナリティー解析にて、CIN3の100%がモノクローナルな病変で、既に腫瘍性性格を有していること、また、広範囲のCIN病変においては、互いにクロナリティーの異なる領域が

合併していること、すなわち、CINが多中心性に発生しうることを示した³⁾。

更に、コルポスコープにより病変の位置を確認しつつ経過観察し得たCIN1・CIN2症例において、病変が進行した10症例、病変が持続した15症例、病変が退縮した13症例の計38症例(経過観察期間(中央値): 28.0カ月)に対して、クロナリティーおよびHPV感染と病変の転帰との相関を解析したところ、ハイリスク型HPV感染を認め、かつモノクローナルな病変はその90%が進行ないし持続したのに対して、その他の病変はその60%が退縮しており、HPV感染とクロナリティーを組み合わせると病変の転帰と極めてよく相関することが初めて示された(図2)⁴⁾。

続いて著者らは、HPV-16の感染を認めたCIN1・CIN2病変において、real-time PCR法にてHPVのphysical statusを解析し、クロナリティーとの関係について検討した。結果は、ポリクローナルであった症例5例中3例において、HPV DNAをepisomal formとしてのみ認め、残り2例はmixed formであった。一方モノクローナルであった12症例ではすべてmixed formであった(表1)。mixed formというのは既に inte-

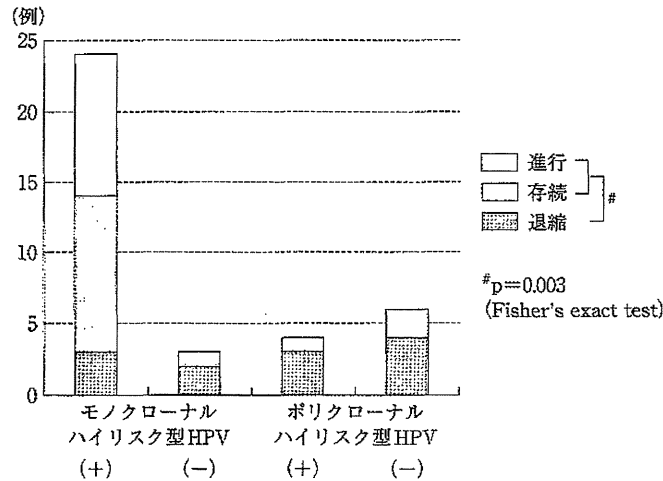


図2 CINの転帰とクロナリティー・HPV感染(文献¹⁾より改変)

表1 HPV physical status とクロナリティー(文献²⁾より改変)

	integration(-)		integration(+)	
	episomal	mixed	integrated	
ポリクローナル	3	2	0	
モノクローナル	0	12	0	

episomal versus mixed/integrated: p=0.015 (Fisher's exact test).

子宮頸がん

gration が起こり始めており, mixed form と integrated form をまとめると, HPV DNA が integration を起こしているかどうかということとクロナリティーとは有意に相関することが初めて示された¹⁾.

以上から, 次のようなことが類推される. すなわち, 正常子宮頸部にハイリスク型 HPV が感染してまず形成されるのは, HPV DNA が episomal に存在するポリクローナルな CIN である. そのような病変はまだ退縮することもある. しかし HPV DNA が integration を起こすと, E6・E7 の overexpression などにより, モノクローナルな増殖が始まる. こうなると, その病変のほとんどは存続ないし進行する. 一方, ハイリスク型 HPV 感染を認めない CIN 病変はポリクローナルであることが多く, そういった病変の多くは退縮する(図3). CIN の転帰を予測するマーカーとしては病変のクロナリティーとハイリスク型 HPV 感染の有無が重要で, これらの組み合わせにより CIN の転帰の予測が正

確に行えるものと考えられる.

上述のごとく, CIN は子宮頸部扁平上皮癌の前癌病変である. 一方, 扁平上皮化生(squamous metaplasia)は, 円柱上皮下の予備細胞が増生し, 既存の扁平上皮に類似した扁平上皮細胞に移行する過程であり, これ自体が子宮頸癌の直接の前癌病変とは考えられていない. しかし, 扁平上皮化生の中には病理学的に未熟な細胞で構成される immature squamous metaplasia や, 更に核異型を伴った atypical immature metaplasia(AIM)が存在する. 著者らはこれらの病変が CIN と同様の前癌病変としての性格を有しているかどうかを, クロナリティーおよび HPV 感染の観点から検討した. 結果は表2に示すとおりで, squamous metaplasia および immature squamous metaplasia と異なり, AIM の多くがハイリスク型 HPV 感染を伴うモノクローナルな病変であり, そのような病変では CIN と同様にハイリスク型 HPV の integration が既に起こっていることが判明した⁴⁾. すなわ

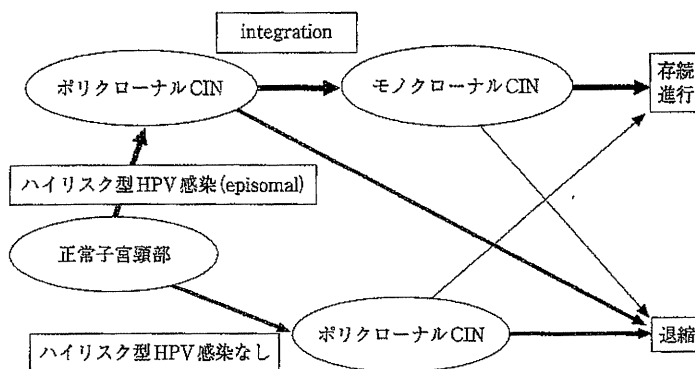


図3 CINの進展メカニズム

表2 子宮頸部扁平上皮化生におけるクロナリティーと HPV 感染(文献⁹⁾より改変)

	モノクローナル	ハイリスク型 HPV 感染 (HPV physical status)
SM	2/20	1/20 (1: mixed)
ISM	0/1	1/1 (1: mixed)
AIM	8/9	5/9 (4: mixed, 1: episomal)

SM: squamous metaplasia, ISM: immature squamous metaplasia, AIM: atypical immature metaplasia.

ち、扁平上皮癌が AIM を前癌病変として発生する経路もある可能性が示唆された。

3 腺癌の発生

腺癌は adenocarcinoma *in situ* (AIS) を経て形成されると考えられている。著者らのクロナリティーおよび HPV 感染の解析においても、2例の AIS のいずれにおいてもハイリスク型 HPV 感染が認められ、またともにモノクローナルであり、前癌病変との位置づけが再確認された。更に、glandular dysplasia の病変においても、4症例中3症例(75%)でハイリスク型 HPV 感染が認められ、また4症例中1症例(25%)で病変がモノクローナルであり、腫瘍としての性格を有していることが判明した。すなわち、glandular dysplasia が AIS を経て腺癌に進展する可能

性があることが示唆された⁹⁾。

4 腺扁平上皮癌の発生

腺扁平上皮癌は、腺癌の成分と扁平上皮癌の成分が移行混在するもの(純粋型)と定義される。特殊型としては、腺癌成分と扁平上皮癌成分が明瞭に区別され、それぞれ独立して存在するものがある⁹⁾。後者は腺癌と扁平上皮癌が別々に発生した衝突癌であるが、前者の純粋型腺扁平上皮癌が単一細胞に由来した病変かどうかは明らかにされていない。そこで、腺扁平上皮癌症例および、腺病変と扁平上皮病変の同時合併症例に対して、クロナリティーと HPV 感染の解析を行ったところ、腺扁平上皮癌では、腺成分と扁平上皮成分において、すべて同一の型の HPV 感染を認め、クロナリティーもすべて同一であった。一方、腺病変と扁平上皮病変の同時合併症例においては、HPV の感染の有無および型は両病変で同一であったが、クロナリティーはすべて異なっていた(表3)。これらのことから、同一の型の HPV 感染によって、腺病変と扁平上皮病変が同時に別個に腫瘍化することがあるが、腺癌と扁平上皮癌の移行混在した腺扁平上皮癌は、ハイリスク型 HPV 感染によって単一細胞から発生し、腺成分と扁平上皮成分に分化したものであることが示唆された⁹⁾。

おわりに

子宮頸部の癌化にはハイリスク型の HPV 感