

子宮頸部扁平上皮内病変/上皮内腫瘍(SIL/CIN)におけるp16免疫染色の有用性

The Utility of p16 Immunostaining in Squamous Intraepithelial Lesions/ Cervical Intraepithelial Neoplasms (SIL/CIN)

ささ じま
笹 島 ゆう子
Yuko SASAJIMA

はじめに

子宮頸がんの90～95%がヒトパピローマウイルス human papilloma virus (HPV) 関連とされる。世界の高所得国における罹患率・死亡率が検診や HPV ワクチンの普及により劇的に減少している一方、本邦においては1970年代から1990年代にかけて減少したものの2000年代から漸増傾向にある。2013年 HPV ワクチンの定期接種が開始されるも直後から約9年の接種勧奨中止期間があったこともあり、現在もなお年間約10,000人が罹患し、約3,000人が死亡している¹⁾。

頸がん撲滅のためには、HPV ワクチンを普及させるとともに、前駆病変(前浸潤病変)の段階からマネージメントを行い、浸潤癌に移行する前に治療介入することが重要である。治療介入決定の際には病理組織診断が大きな役割を果たしており、高い診断精度が求められている。

本稿では、子宮頸部扁平上皮癌の前駆病変であるSIL/CINに焦点を当て、HPV感染のサロゲートマーカーであり本年1月に保険収載されたp16免疫染色の有用性と共に概説する。

I. 子宮頸部上皮内腫瘍 (cervical intraepithelial neoplasia, CIN)と 子宮頸部扁平上皮内病変 (squamous intraepithelial lesion, SIL)

CINは、子宮頸部扁平上皮癌の前駆病変として古くから広く用いられてきた用語である。CIN分類では、

重層扁平上皮の層形成・極性の乱れが下層1/3に限局するものをCIN1、下層2/3までをCIN2、表層1/3ないし全層に及ぶものをCIN3とする。

一方WHO分類では、2014年発行の第4版以降(CINの併記はあるものの)SIL分類が採用されている。SILは、もともと細胞診の報告様式の指針であるThe Bethesda Systemで用いられてきた細胞診用語であるが、組織診断用語としての採用は、2012年米国病理学会 College of American Pathologists (CAP) と米国コルポスコピー・頸部病理学会が、Lower Anogenital Standardization Terminology (LAST) ガイドラインにおける組織診断用語としてこれを推奨したことによる²⁾。2017年発行の子宮頸癌取扱規約(以下規約)第4版もこれに準じ、2022年の規約第5版にも引き継がれている。

SIL分類は、low-grade SIL (LSIL) と high-grade SIL (HSIL) の2つのカテゴリーからなり、LSILはHPV感染により細胞内でウイルス粒子の複製が行われている状態であり(非腫瘍性感染症)、HSILは浸潤癌の併存や進展のリスクの高い腫瘍性病変とされる。分類概念が異なるためSIL分類とCIN分類とを完全に対応させることはできないものの、WHO分類ではLSILの同義語としてCIN1、HSILの同義語としてCIN2およびCIN3を記載しており、規約でもSIL分類とCIN分類の併記を推奨している。

併記の際は、従来のCIN1=LSILではないことに注意する。すなわち、層形成や極性の乱れが下層1/3に限局するもの(従来のCIN1)であっても、極性の乱れや多形性が顕著で異常核分裂像が認められる場

合には、進展リスクの高い腫瘍性病変であるという解釈のもと HSIL/CIN2 と診断する。基底層の異型がほとんどなくコイロサイトーシスのみがみられるものを感染性病変として LSIL/CIN1 とする。ただし、日常病理診断の場において LSIL/CIN1 とされている病変の中には、すでに腫瘍化しているものの上述のような顕著な異型を示さない例も含まれていると考えられる。

ちなみに、WHO 分類では必ずしも HSIL/CIN2、HSIL/CIN3 に分けることを必要としていないが、わが国の日常婦人科臨床の場では、従来の CIN 分類によって CIN1 および CIN2 を経過観察、CIN3 を治療対象とする施設が多いことから、HSIL/CIN2 と HSIL/CIN3 を分けて報告することが求められている。

II. HPV感染とSIL/CIN

1. HPV 感染と LSIL/CIN1

HPV は、性行為などにより生じた皮膚や粘膜の微小な傷から侵入し、上皮基底層の細胞に感染する。感染した細胞内で、ウイルスゲノムは核に移行して潜伏し、宿主細胞の複製とともにウイルスゲノムも娘細胞に引き継がれる。この状態の宿主基底細胞には基本的に形態変化は見られない。感染宿主細胞が基底膜を離れ上皮表層への分化を開始し表層に移動する過

程で、潜伏していたウイルスゲノムの大規模な複製が起こり、ゲノムコピー数は数千～数万倍以上に増幅する。これにより宿主細胞にはコイロサイトーシスと呼ばれる形態変化、すなわち核腫大やクロマチンの増量、核形不整が現れ、核周囲明庭が現れる。ここでみられる異型はウイルスの感染と増殖による細胞傷害性異型であり、SIL 分類の LSIL に相当する (図 1)。

2. HPV による腫瘍発生と HSIL/CIN2・HSIL/CIN3

HPV 感染による腫瘍発生における重要な現象が、ウイルスゲノムの宿主ゲノムへの組み込み (インテグレーション) である。ウイルスゲノムが宿主ゲノムに組み込まれた状態ではウイルス単体としての複製、すなわち子孫粒子の産生が不可能となり、ウイルスにとって必ずしも有利な現象ではないことから、インテグレーションは HPV の正常な生活環を逸脱した偶発的現象と考えられている³⁾。

The Cancer Genome Atlas (TCGA) プロジェクトによる統合がんゲノム解析⁴⁾によれば、HPV16 陽性頸がんの 76%、HPV18 陽性頸がんの 100%で HPV ゲノムのインテグレーションが検出されている。HPV ゲノムの組み込みは基本的にランダムで、fragile site と呼ばれる染色体上の転座や増幅、欠失などを起こしやすい脆弱部位や、転写活性の高い領域に起こりやす

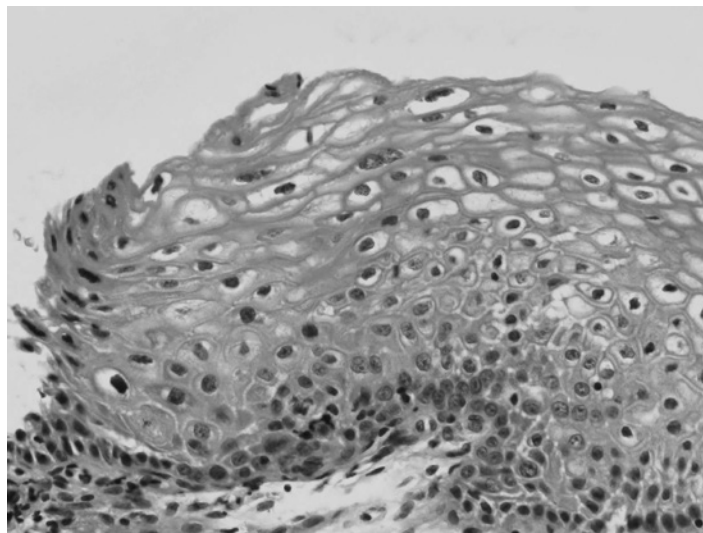


図 1 LSIL/CIN1

重層扁平上皮の中～表層において、核周囲明庭を伴い、核腫大・核形不整・クロマチン濃染を示す異型核を有する細胞 (コイロサイト) が分布する。基底層の細胞にはほとんど異型を認めない。

(図 1 は巻末カラーで掲載しています)

く宿主ゲノムの広い範囲に生じている。

インテグレーション後の細胞の腫瘍化においては、ウイルスタンパクである E6, E7 の高発現が重要な役割を果たす。E6, E7 はウイルスの正常な生活環の中でも発現しているが、おもに E2 により適度に制御されている。ところがウイルスゲノムが宿主ゲノムに組み込まれる際のウイルス側ブレイクポイントはしばしば E1/E2 遺伝子内に存在し、高頻度に E2 遺伝子が失われ

るため、E6, E7 の持続的な高発現がもたらされることとなる。E6 はテロメラーゼ遺伝子の活性化、p53 の失活等に関与し、E7 は Rb に結合してこれを不活化する等により細胞を不死化に導く。

腫瘍化した細胞は次第に重層化し、最終的には上皮のほぼ全層を占めるようになる (HSIL/CIN2: 図 2、HSIL/CIN3: 図 3)。多数の核分裂像が観察され、多極分裂など異常核分裂像もしばしば認められる。

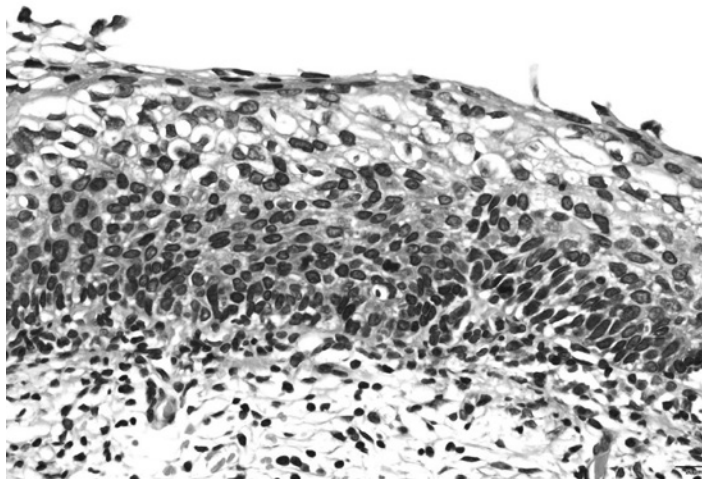


図 2 HSIL/CIN2

重層扁平上皮の下層 1/2 付近まで異型細胞の増殖が認められる。上皮上層にはコイロサイトーシスが残る。

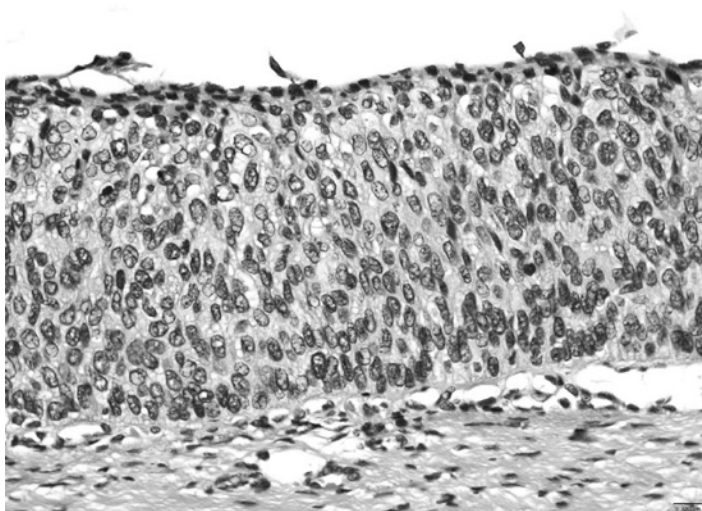


図 3 HSIL/CIN3

重層扁平上皮の全層性に異型細胞の密な増殖を認める。

(図 2、図 3 は巻末カラーで掲載しています)

Ⅲ. p16^{INK4a}

1. p16^{INK4a} の生物学的役割

p16^{INK4a} は、9 番染色体短腕 (9p21) 上の *CDKN2A* (Cyclin Dependent Kinase Inhibitor 2A) 遺伝子によりコードされる、CDK 阻害因子の INK4 ファミリーに属するタンパク質であり、本来の生物学的役割は細胞周期の制御である。細胞の増殖サイクルのうち G1 期 → S 期を促す転写因子 E2F は、活性型 Rb タンパク質の結合によって制御されており、Rb タンパク質が CDK4/6-Cyclin D 複合体によってリン酸化された時のみ Rb タンパク質から遊離し機能することで増殖サイクルを進行させる (図 4)。p16^{INK4a} が CDK4/6 を阻害することによって Rb タンパク質のリン酸化が妨げられ、その結果、E2F は Rb タンパク質から遊離して機能することができず転写は抑制される。すなわち p16^{INK4a} は細胞増殖を抑制する腫瘍抑制因子として機能している。

2. HPV 感染と p16^{INK4a}

HPV 感染がおこり、ウイルス由来 E7 タンパク質の持続的な高発現状態下において、上記の流れの中で E7 が Rb タンパク質と結合し分解することで E2F の遊離状態を持続し、結果的に細胞増殖サイクルを促進させる。この異常な細胞増殖に対するフィードバックとして、p16^{INK4a} の

過剰発現が起こり、細胞内に蓄積される (図 5)。

3. p16^{INK4a} の免疫組織化学

上記の理由から、子宮頸部病変における免疫組織化学での p16 陽性所見は、HPV 感染による E7 高発現を反映するものとされ、優れたサロゲートマーカーとして汎用されている。サロゲートマーカーとは、測定が困難な真のエンドポイント (この場合 HPV による腫瘍化) の代替として用いられる関連性の高いバイオマーカーを意味し、代替マーカーとも呼ばれる。

重層扁平上皮の基底層から少なくとも上皮の下層 1/3 で細胞質と核の双方が連続的にびまん性に染まる場合に陽性 (block-positive) と判断する (図 6)。染色強度は考慮されない。HPV 関連扁平上皮癌、HPV 関連上皮内腺癌および腺癌においてもびまん性強陽性を示す。非連続的、斑状、モザイク状の染色パターンの場合は有意な陽性所見とはいえず陰性と判断する。

p16 免疫染色は、特に HSIL と、LSIL その他の良性病変との鑑別に有用とされ、HSIL の診断の精度を上げ、診断者間の診断一致率を高める。ただし、LSIL の 30% で block positive となることが報告されており²⁾、真の HSIL であるか否かは HE 染色による組織形態を勘案して判断することが必要である。このことは、p16 陰性であれば HSIL ではないと言えるが、

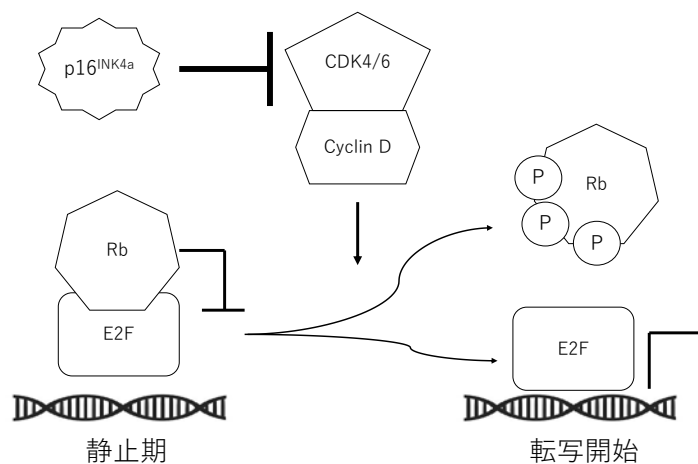


図 4 p16^{INK4a} の生物学的役割

細胞静止期には、転写因子 E2F は活性型 Rb タンパク質が結合することでその機能を停止している。Rb タンパク質が CDK4/6-Cyclin D 複合体によってリン酸化されると E2F から遊離し、E2F は転写を開始することができる。p16^{INK4a} は CDK4/6 による Rb タンパク質のリン酸化を抑制し E2F からの遊離を妨げることで細胞増殖を制御する。

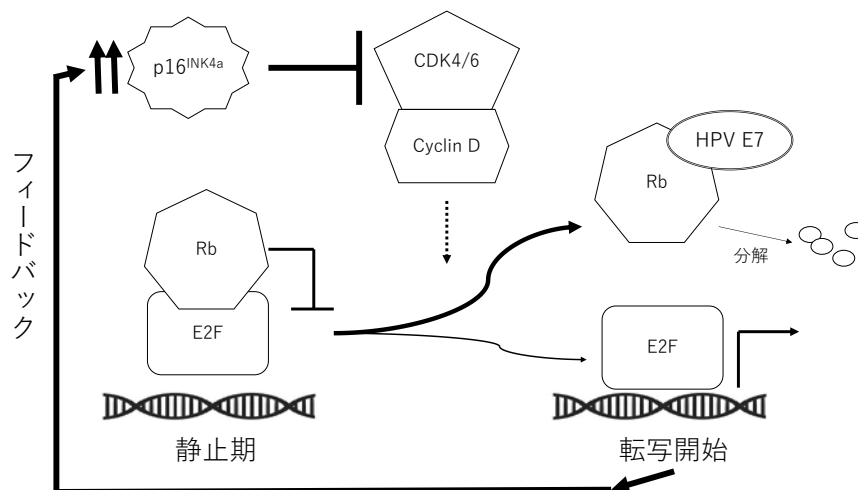


図5 HPV E7による細胞増殖の促進と p16^{INK4a} の過剰発現

ウイルスタンパク質 E7 は Rb に結合し、E2F との結合を妨げるとともにこれを分解する。Rb の制御から外れた E2F は転写を持続し細胞増殖が促進される。これによるフィードバック機構で p16^{INK4a} の過剰発現が起こる。

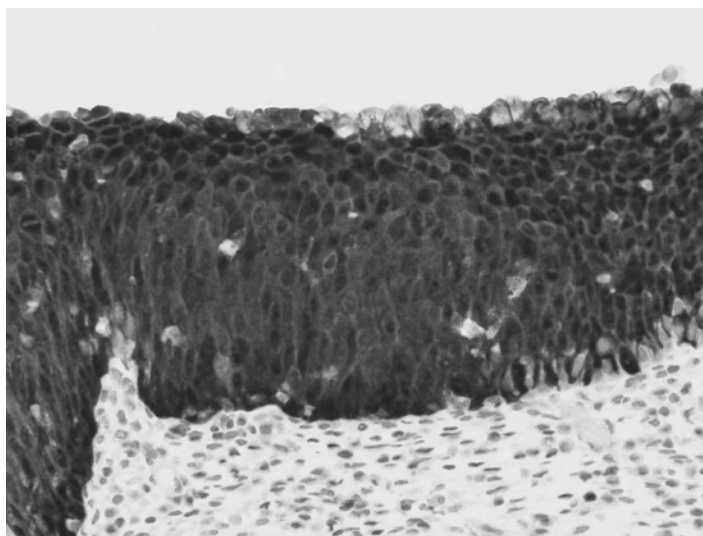


図6 HSIL/CIN3における p16 免疫染色

上皮全層性にびまん性強陽性像 (block positive) を認める。

(図6は巻末カラーで掲載しています)

陽性 (block positive) 所見のみで HSIL の確定はできないことを意味する。

また、胃型 HPV 非依存性腺癌においても少なからず p16 陽性例が経験されることから、組織形態や他の染色結果と併せて総合的に判断すべきである。さらに、HPV 感染と関係のない腫瘍 (卵巣高異型度漿液性癌、子宮内膜漿液性癌など) でも p16 陽性となるこ

とも知っておきたい。

最近、p16 と Rb の免疫組織化学併用の有用性が報告された⁵⁾。前述したように E7 は Rb に結合し、その機能を阻害するとともに Rb を分解することから、E7 が高発現している細胞においては Rb の発現が低下することに注目し、ハイリスク HPV 陽性症例で p16 が block positive、Rb が partial loss を示すことを示した。

判断の難しい症例において診断の助けとなる可能性が期待される。

IV. p16免疫染色の保険適用

2025 年 1 月 1 日付で、p16 タンパクの免疫組織化学が「第 13 部病理診断」に保険収載された（厚生労働省保健局医療課長発 医保発 1227 第 4 号 検査料の点数の取扱いについて：令和 6 年 12 月 27 日付）。具体的には、子宮頸部上皮内腫瘍（CIN）が疑われる患者であって、HE 染色で腫瘍性病変の鑑別が困難なものに対して HQ リンカーを用いて免疫染色病理標本作製を行った場合に、「N002 免疫染色（免疫抗体法）病理組織標本作製」の「1」エストロゲンレセプター（720 点）を準用し算定する。また上記標本作製を行った場合には、病理診断料、病理診断管理加算の算定が可能となる。

ただし、算定にはロシュ・ダイアグノスティックス株式会社製体外診断用医薬品ベンタナ OptiView CINtec p16（E6H4）を試薬として用い、ベンタナ自動免疫染色装置で染色する必要がある。また、対象は CIN の診断に限定されており、浸潤性扁平上皮癌、腺癌、その他の癌での使用においては算定できない。

保険収載時の企業提出資料によれば、婦人科病理専門医が、HE 染色並びに本試薬を用いて組織診断を行った場合、CIN2 以上を陽性、CIN1 以下を陰性すると、感度 100%、特異度 89.38%で、CIN2 以上または CIN1 以下と診断できることが報告されており、また臨床性能試験においては、婦人科病理専門医 3 名による HE 染色単独での判定を真のスタンダードとし、一般病理医による HE 染色単独時と HE 染色に p16 タンパク検査を追加した場合を比較すると、p16 タンパク検査を追加した場合は全体一致率 2.1%、陽性一致率 6.3%の増加が認められた⁶⁾。

p16 の免疫組織化学の使用について、米国 LAST ガイドラインでは、HE 染色標本による評価を行った上で、HSIL に類似する良性病変との鑑別、LSIL と

HSIL の鑑別、また組織形態としては LSIL 以下であるものの、何らかの細胞診異常がある場合に用い、HE 染色像に基づいて染色結果を解釈することを推奨している。本邦においてもやみくもな染色は査定される可能性があることに注意したい。

おわりに

p16 免疫染色は、SIL/CIN の診断精度を上げ、診断者間の診断一致率を高める優れた検査である。ピットフォールを踏まえた上で賢く使うことにより、日常病理診断のストレスが減少し、産婦人科医を後押しするより精度の高い治療指針となり、ひいては患者の幸福に繋がることが期待される。

文 献

- 1) 国立がん研究センターがん情報サービス，がん種別統計情報，子宮頸部
https://ganjoho.jp/reg_stat/statistics/stat/cancer/17_cervix_uteri.html（引用日 2025 年 5 月 21 日）
- 2) Darragh TM, Colgan TJ, Cox JT, et al. The Lower Anogenital Squamous Terminology Standardization Project for HPV-Associated Lesions: background and consensus recommendations from the College of American Pathologists and the American Society for Colposcopy and Cervical Pathology. Arch Pathol Lab Med. 2012; 136(10):1266-1297.
- 3) Egawa N, Egawa K, Griffin H, et al. Human papillomaviruses; epithelial tropisms, and the development of neoplasia. Viruses. 2015; 7:3863-3890.
- 4) Cancer Genome Atlas Research Network; Albert Einstein College of Medicine; Analytical Biological Services, et al. Integrated genomic and molecular characterization of cervical cancer. Nature. 2017; 543(7645):378-384.
- 5) Yasutake N, Yamamoto H, Kuga R, et al. Immunohistochemical p16 overexpression and Rb loss correlate with high-risk human papillomavirus infection in endocervical adenocarcinomas. Histopathology. 2024;84(7):1178-1191.
- 6) 厚生労働省ホームページ、医療機器の保険適用について（令和 7 年 3 月 1 日収載予定）
<https://www.mhlw.go.jp/content/10808000/001350115.pdf>（引用日 2025 年 5 月 23 日）

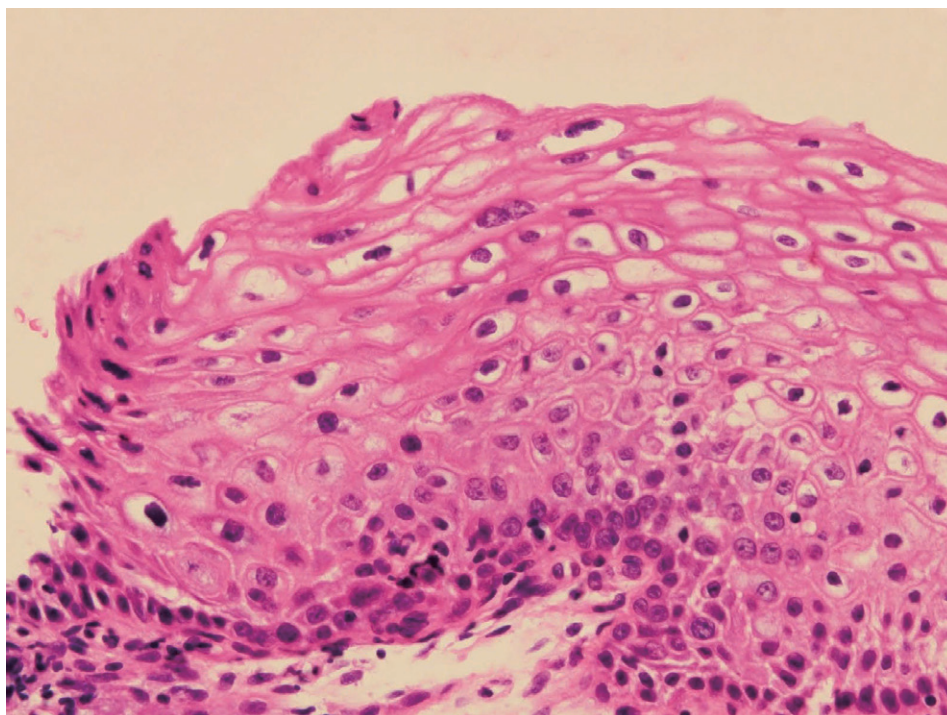


図1 LSIL/CIN1

重層扁平上皮の中～表層において、核周囲明庭を伴い、核腫大・核形不整・クロマチン濃染を示す異型核を有する細胞（コイロサイト）が分布する。基底層の細胞にはほとんど異型を認めない。

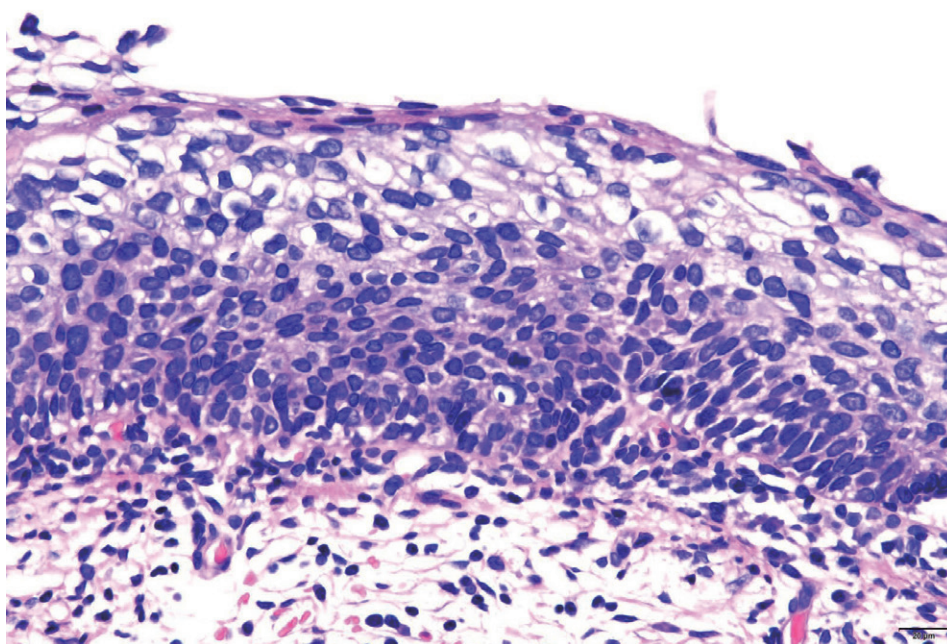


図2 HSIL/CIN2

重層扁平上皮の下層 1/2 付近まで異型細胞の増殖が認められる。上皮上層にはコイロサイトーシスが残る。

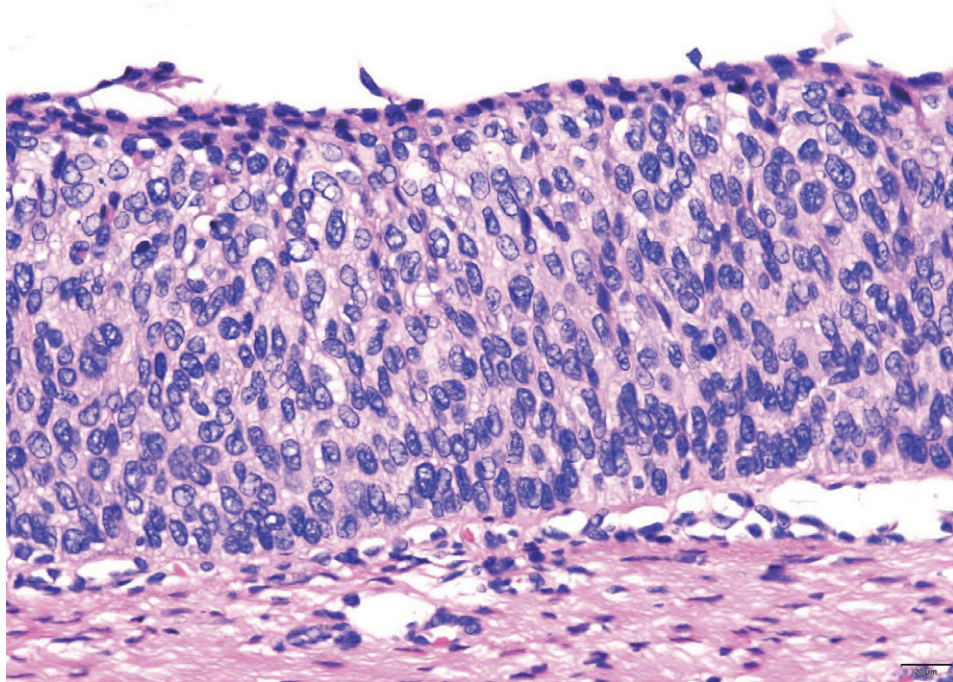


図3 HSIL/CIN3

重層扁平上皮の全層性に異型細胞の密な増生を認める。

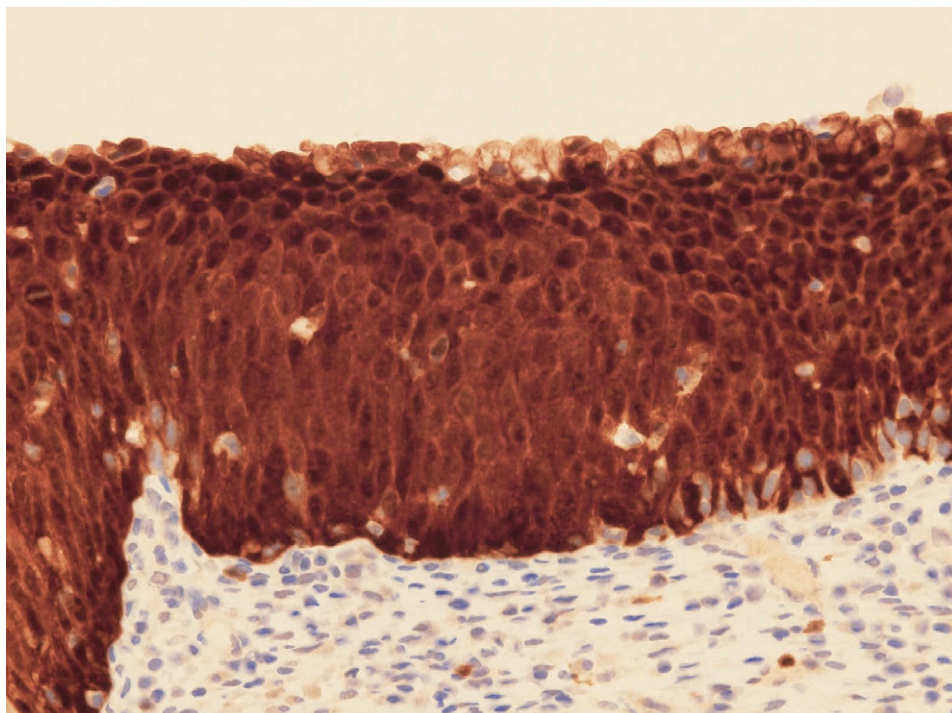


図6 HSIL/CIN3 における p16 免疫染色

上皮全層性にびまん性強陽性像（block positive）を認める。