

ヒトパピローマウイルスと子宮頸癌 — HPV の分子病理からワクチンまで —

Human Papillomavirus and cervical cancer
— From molecular biology of HPV to HPV vaccination —

いい はら くに こ
飯 原 久仁子
Kuniko IHARA

要 旨

日本国内では、女性の悪性新生物による死亡率は、消化器腫瘍が1位、2位を占め子宮癌は乳癌に続き6位であるが、年間約7,000人が子宮頸癌と診断され、約2,400人が死亡している。ヒトパピローマウイルス HPV (Human Papillomavirus) の感染は子宮頸癌およびその前癌病変発症の最大のリスクファクターである。HPV の発癌は E6 蛋白、E7 蛋白が感染細胞内で p53 と RB を不活化することによって考えられている。HPV の感染を防げば子宮頸癌を予防できると考え、ワクチンの開発がされた。HPV ワクチン接種により、感染を予防し子宮頸癌の発生率低下に有効である可能性が示されたため、米国など数カ国ですでに認可されている。子宮頸癌スクリーニングにおいては、細胞診検査とともに HPV テストが併用され、この併用により HPV 感染の検出率の向上、さらに頸癌の発生と死亡率の減少に有効であることが示されている。本稿では、これらについて、最近のトピックを含め概説する。

はじめに

ヒト癌のうちウイルスが原因と思われるものとして、Burkitt リンパ腫、肝癌、成人 T 細胞白血病に次いで子宮頸癌があげられる。子宮頸癌はすべての癌のなかで世界で2番目に多く発症している女性特有の癌であり、年間50万人が発生し、約30万人が死亡している。現在日本国内では、女性の悪性新生物による死亡率は、胃、大腸など消化管腫瘍が1位、2位を占め、子宮癌は乳癌に続き6位であるが(図1)、

年間約7,000人が子宮頸癌と診断され、約2,400人が死亡している。ヒトパピローマウイルス HPV (human papillomavirus) の感染は子宮頸癌およびその前癌病変 CIN (cervical intraepithelial neoplasia) 発症の最大のリスクファクターであり、子宮頸癌の90%以上からウイルス遺伝子が検出されるが、感染者のすべてが子宮頸癌を発症するわけではなく、感染者のごく一部のみが発症する。子宮頸部扁平上皮癌の発生に HPV が関与することは疫学的には明らかであるが、発癌に至る経路は未解決の部分も多い。一方 HPV の感染を防げば子宮頸癌を予防できると考え、ワクチンが開発され、米国など数カ国ですでに認可されている。また、子宮頸癌スクリーニングにおいては、米国では子宮頸部細胞診検査とともに補助診断法として HPV testing が導入され、わが国でも HPV testing の子宮頸癌検診への導入は検討項目となり、現在臨床検討が行われている。

本稿では、HPV の発癌への関与の分子病理と、

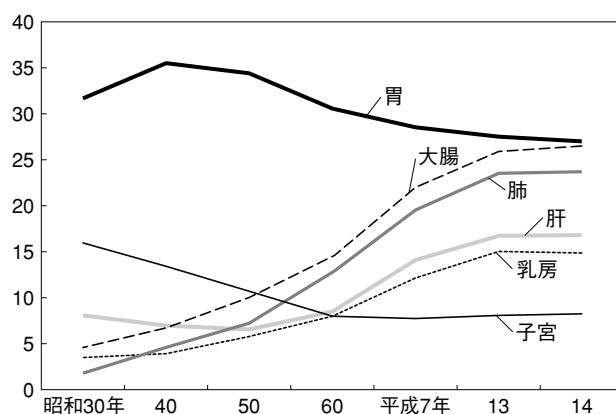


図1 悪性新生物の主な部位別にみた死亡率 (人口10万対) の年次推移

平成14年人口動態統計月報年計(概数)の概況

子宮頸癌の予防、減少にむけての検診、治療の現状なども含め概説する。

I. HPV と子宮頸癌

子宮頸癌の発癌過程に HPV が関与することは疫学的に明らかであり、適切な組織採取を行えば、子宮頸癌の 90～100% に HPV 感染が確認される。また、90% 以上からは特定の型（16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 58 型など）のうち、いずれかの HPV DNA が検出され¹⁾、対照群ではその感染率は 5～20% といわれている。HPV のみられる癌細胞中ではウイルス遺伝子のうち、E6 と E7 が必ず発現しており²⁾、この 2 つが癌化および癌形質の維持における責任遺伝子であることは異論ないと思われる。E6 と E7 は癌細胞内で P53 と RB を不活化しているが、ほかの癌では高頻度にみられる p53 の変異や p16^{INK4a} の発現低下が子宮頸癌ではほとんど見られない。HPV は子宮頸癌の発生に強く、しかもほとんどすべての例で関与すると考えられている。HPV 感染を伴わずに発生する子宮頸癌は多く見積もっても 10% 以下である。

II. ヒトパピローマウイルスについて

ヒト乳頭腫ウイルス (HPV) は、1949 年に皮膚のイボ (乳頭腫) より電子顕微鏡で確認された³⁾。現在、パポウイルス科に分類されている。HPV はヒトの皮膚や粘膜 (口腔、生殖器 etc.) などの扁平上皮に接触感染し、乳頭腫を形成する。ヒト以外の哺乳動物や鳥類においても同様のパピローマウイルスの存在が確認されているが、宿主域が狭く、種を超えて他の動物に感染することはない。

HPV は 2 本鎖 DNA の複製を有する腫瘍ウイルスである。サブタイプは 100 を越え、癌との関連が強いハイリスクタイプは 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68 などがある。子宮頸癌ではこのうち、HPV16, 18, 45, 58 が多く、特に HPV16 は約 50% に同定されることが報告されている⁴⁾。

III. ウイルスの構造と生活環

HPV はエンベロープをもたない直径 52～55nm

の正二十面体粒子であり、ヒストン様蛋白質に結合した 1 分子の環状二重鎖 DNA (ウイルスゲノム) をキャプシド蛋白質である L1, L2 両蛋白質が包んでいる (図 2)。この感染性をもつ完全な粒子以外に、ウイルス感染組織内には中空で非感染性の粒子が存在する。

HPV ゲノムはウイルス蛋白質がコードされた ORF (open reading frame) と遺伝子発現調節領域 (long control region : LCR) を持つ。ORF は初期遺伝子 (E1, E2, E4, E5, E6, E7) と後期遺伝子 (L1, L2) から成り、とくに E6, E7 は発癌に強く関与する。

HPV は上皮細胞に親和性が高く、また増殖が可能な幹細胞に感染すると考えられ、子宮頸部の扁平上皮では基底細胞のみが分裂しているため、基底幹細胞に感染すると考えられる。ウイルスが扁平上皮基底細胞に感染するためには皮膚や粘膜に外傷が生じ、粒子が基底層に至る必要がある。子宮頸部での異形成の発生はほとんど扁平円柱上皮境界にみられるが、特に子宮頸部では、単層円柱上皮に接する扁平上皮基底細胞にウイルスが容易に侵入できるものと考えられている (図 3)⁵⁾。感染した基底細胞の核内では 50～100 コピーのウイルスゲノムがエピソーム (細胞のゲノムに組み込まれていない DNA) として存在する。細胞の分化に伴い、潜伏感染 (ウイルスの産生が無い) 状態にあったウイルスは溶解感染 (ウイルス産生) 状態に入りウイルスゲノムは数百倍から数千倍に複製増幅され最終分化した表皮

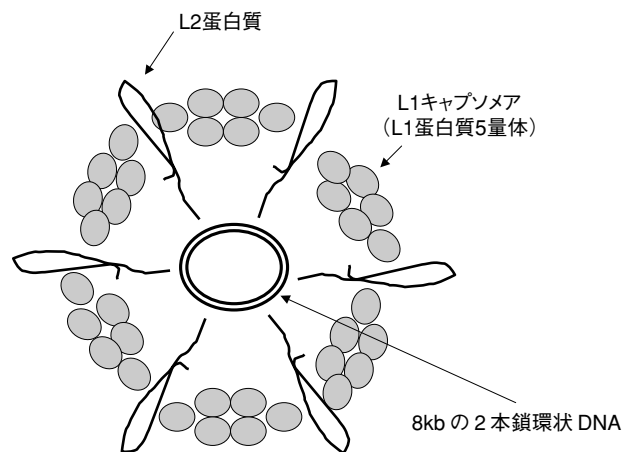


図 2 HPV の粒子構造

L1 蛋白質が 5 分子集合してキャプソメアを形成し、さらに 72 個のキャプソメアが正二十面体のキャプシド構造 (L1-キャプシドまたは virus-like particle : VLP) を作る。そこに 12 分子の L2 蛋白質が組み込まれる。(文献 6 より引用、簡略化)

細胞では成熟ウイルスであるビリオン（感染可能なウイルス粒子）の形成が起こる。ビリオンは分化した表層細胞とともに剥がれ落ちる。すなわち、HPVは同一病変部位において宿主組織幹細胞で潜伏感染しながら分化細胞では溶解感染を起こし、ウイルス粒子を放出する（図4）。抗原性の高いウイルス粒子は、免疫防御機構の働きにくい粘膜表層あるいは

皮膚角化層で初めて形成されるため、免疫学的にも排除されにくい。このような特異な生活環により、HPVは同一感染巣から長期間ウイルス粒子を産生し続ける⁹⁾。

IV. HPV感染と癌化におけるE6とE7の働き

1. E7によるRBファミリー蛋白質の不活化

HPV E7蛋白質は約100アミノ酸から成り1つのZnフィンガードメインをもつ。一部の例外を除いてHPVのE7はRBファミリー蛋白質に結合し、その機能を阻害することが知られており、とくにHPV16など高リスク型HPVのE7はRBの分解をも促進する。RBの主な機能は細胞周期の調節であり、主にG1期からS期への移行を制御する。RBは、細胞周期のG1期の初めには低リン酸化状態にあり、転写調節因子のE2Fを結合し、E2Fの機能を抑制している。G1期の終わりに、RBはサイクリンとcyclin dependent kinaseの複合体の1つであるcyclin D/CDK4の働きによりリン酸化され、高リン酸化状態になり、E2Fが放出される。E2F

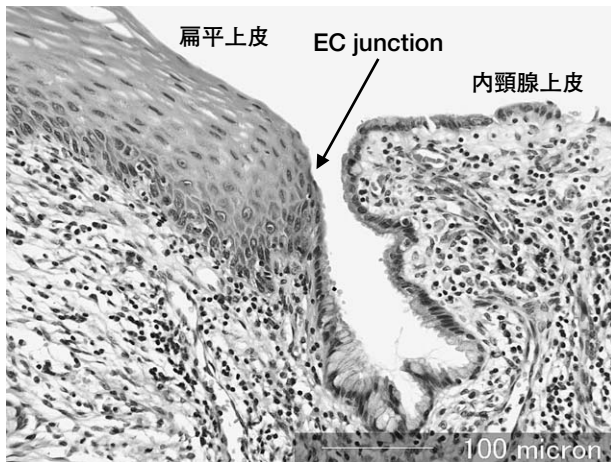


図3 子宮頸部 EC junction の組織像

重層扁平上皮と内頸腺上皮の境界部は炎症細胞浸潤やびらんが生じやすい。

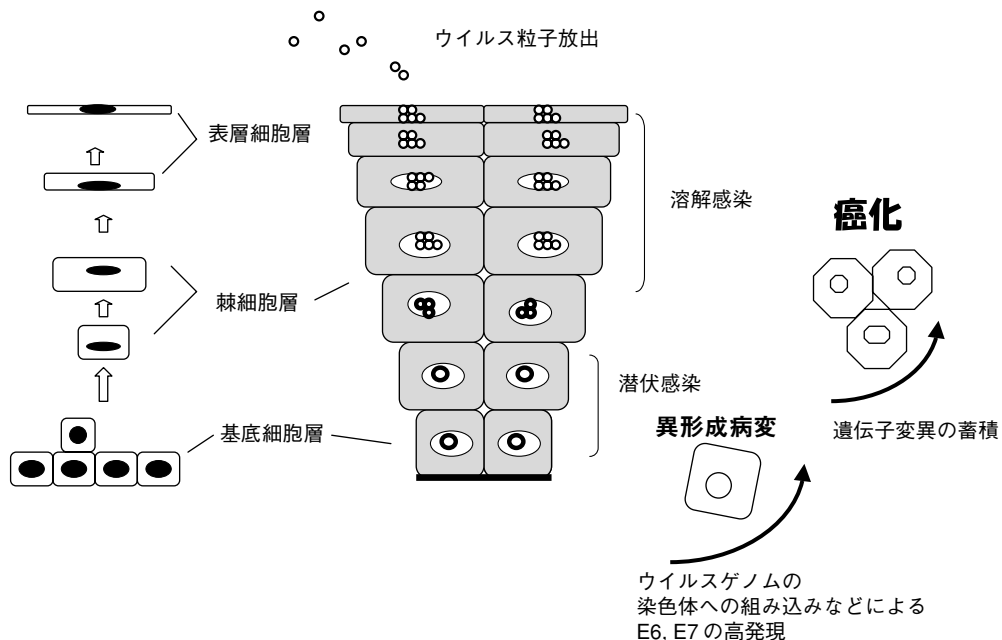


図4 パピローマウイルスの生活環と癌化

基底細胞が分裂するたびに情報へと押し出され、細胞は最終分化へと向かい、表皮あるいは粘膜の表面から剥がれ落ちていく。パピローマウイルスは宿主細胞の分化と共に爆発的なウイルスゲノム複製とキャプシド蛋白発現によりウイルス粒子を産生し、分化した粘膜あるいは表皮細胞とともに剥がれ落ちる。ウイルスが潜伏状態にある基底細胞においてはE6とE7の発現は低いが、細胞DNAへの組み込みなどによりこれが高くなることで癌化を誘発する因子となると思われる（文献7より、小改変）

が放出されると G1 期から S 期へ移行する。E7 の N 末端には SV40 などのポリオーマウイルスの大型 T 抗原やアデノウイルスの E1A にも保存された領域 CR1 (conserved region 1) と CR2 (conserved region 2) とがあり⁸⁾、これらのウイルス蛋白質は CR2 に保存された LXCXE モチーフ (L: ロイシン、X: 任意のアミノ酸、C: システイン、E: グルタミン酸) を介して RB ファミリー蛋白質に結合する。E7 蛋白が RB ファミリー蛋白質と結合すると、RB 蛋白と E2F 複合体が解離して E2F は遊離して活性化され、細胞周期が回転する。CDK4 インヒビターの 1 つである p16^{INK4a} はこのサイクリン D/CDK4 複合体と結合し、RB のリン酸化 (不活化) を抑える。通常 p16 の発現が高い細胞は増殖停止するが、HPV 感染細胞では RB 蛋白が E7 により不活化されているため p16 の発現が高いまま増殖する。P16 の高発現は E7 の高発現を反映し、CIN3 や浸潤癌の良い指標となることが示唆されている。

また、CDK (cyclin dependent kinase) の活性は、cyclin dependent kinase inhibitors (CDKIs) とよばれる阻害因子による制御をうけるが、E7 は、これら CDKI のうち、p21^{CIP1/WAF1} (cyclin D/CDK4 の阻害因子) と p27^{KIP1} と直接結合し、この阻害的活性を障害する。結果的に cyclin/CDK の活性化を促し細胞周期を回し、細胞増殖が刺激される (図 5)。

E7 には RB ファミリー蛋白質以外にも多くの標

的蛋白質が同定されているが、E7 の生物学的活性の多くは、おおむね RB 機能の不活化に依存していると考えられている¹⁰⁾。

2. E6 による p53 の不活化とアポトーシスの抑制

HPV E6 蛋白質は、約 150 アミノ酸よりなる 16 ~ 18kDa の蛋白質であり、E7 と同様 Cys-X-X-Cys の Zn フィンガーマチーフをもつ。高リスク型 HPV の E6 はユビキチンリガーゼ (E6AP) と結合し、p53 などのユビキチン化を促すことによりプロテアソームによる分解機構を促進し結果的に p53 の機能を喪失させる¹¹⁾。P53 は細胞が DNA に障害を受けたときやストレスを受けたときに発現亢進し、CDKI である p21 を誘導して細胞周期を止め、DNA 修復機構が働いて障害を受けた DNA を修復する時間を確保したり、あるいはその障害の程度が強く修復が困難な場合は細胞をアポトーシスに陥らせる。E6 により p53 機能が抑制を受けた場合、仮に細胞に何らかの遺伝子異常が発生してもアポトーシスによる排除ができなくなる (図 6)。E6 はその他、p53 の転写促進活性を抑制し、2 重に p53 を不活化する。また、E6 はテロメラーゼ活性を亢進させることも報告され¹²⁾、感染細胞の癌化に強く関与する。

以上より、HPV E6, E7 が子宮頸癌の病態や発癌過程に機能的に深く関与することは明らかと思われる。この E6, E7 の発現の促進については、HPV 遺

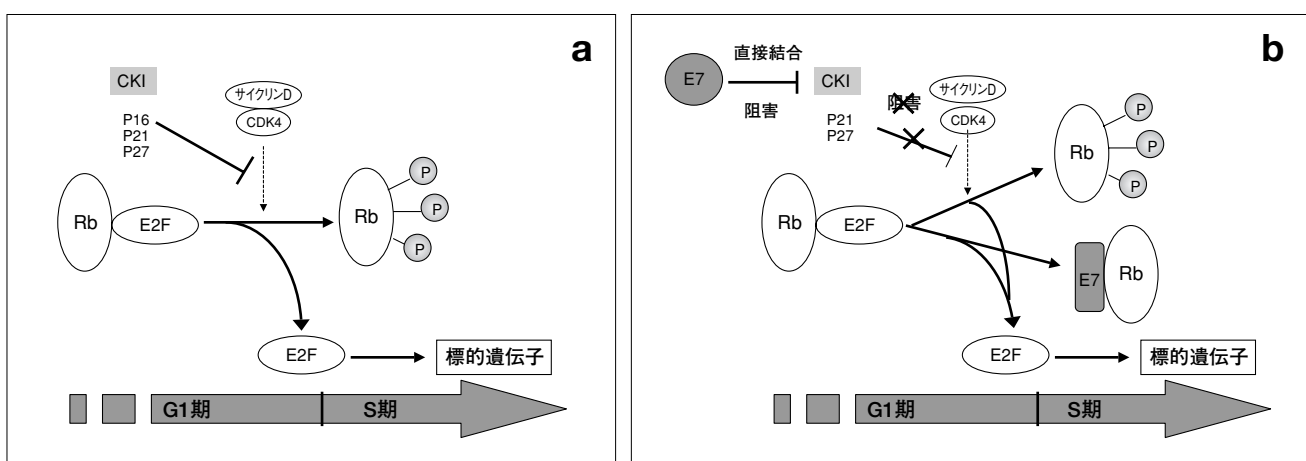


図 5 E7 による RB の不活化機構

- a. RB は、細胞周期の G1 期の初めには低リン酸化状態にあり、転写調節因子の E2F を結合し、E2F の機能を抑制している。G1 期の終わりに、RB は cyclin D/CDK4 の働きによりリン酸化され、高リン酸化状態になり、E2F が放出されると G1 期から S 期へ移行する。
- b. E7 は N 末端の LXCXE モチーフを介して RB と結合し、また、分解も促進することが知られている。E6 における E6AP に相当するユビキチンリガーゼは同定されていない。(文献 9 より引用、改変)

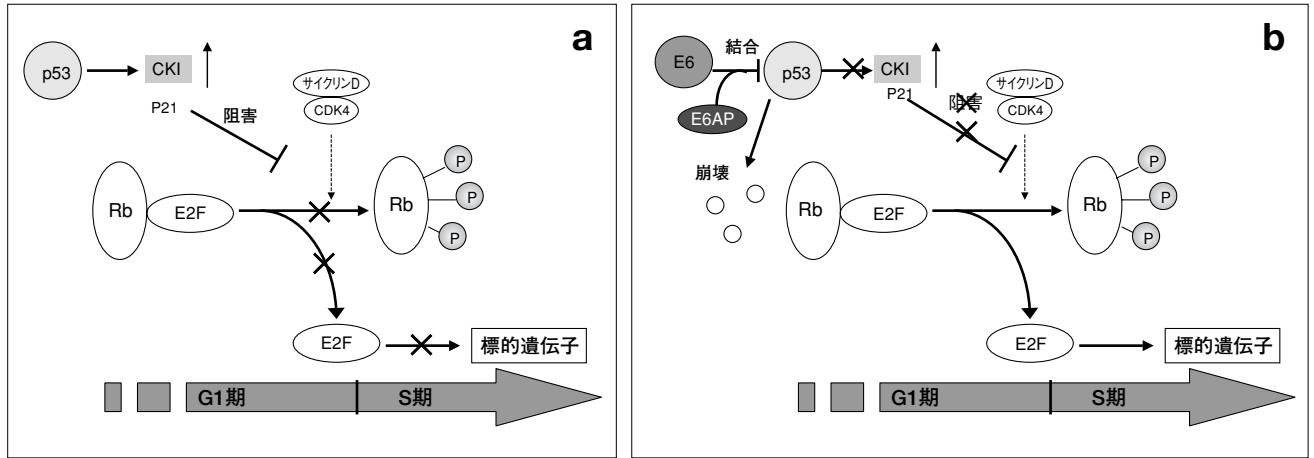


図6 E6によるp53の不活化機構

- a. P53は細胞がDNAに障害を受けたときやストレスを受けたときに発現亢進し、CDKIのp21を誘導し細胞周期を止めたり、あるいはその障害の程度が強く修復が困難な場合は細胞をアポトーシスに陥らせる。
- b. E6は細胞のユビキチンリガーゼ (E3) の一つであるE6APと結合する。両者の複合体はp53と結合し、E6APのユビキチンリガーゼ活性によりp53をユビキチン化する。ユビキチン化されたp53はプロテオソームにより認識され分解を受ける。(文献9より引用、改変)

伝子の存在様式について注目されている。HPVは上皮細胞に感染すると前述したようにエピゾームとして存在する。尖圭コンジローマといった良性腫瘍やCINIでもほとんどエピゾームの状態である。これに対し、CIN IIあるいはIIIではHPVDNAの宿主DNAへの組み込み (integration) 例が見られるようになり、HPV16、18陽性の子宮頸癌ではHPV16の75%、HPV 18のほとんどすべてがintegrationされ宿主のDNAに組み込まれた状態にある。さらにこの組み込みが見られたほとんどの例でE6, E7の高発現がみられる。高発現したE6, E7は染色体不安定性を誘導し短期間のうちに染色体異常が起こる。通常のHPV感染では、基底細胞に感染が成立するが、発癌と関連するE6, E7の発現は低い状態にあり、しかもほとんどの例が数カ月でウイルスDNAが消失し自然に治癒する。CIN I, CIN IIから浸潤癌に至るまでには数年~数十年を要し、がんに至るものは稀である (約10%)。HPV持続感染によるE6, E7の高発現、そしてこの間に、p53の機能抑制に伴い、様々な遺伝子異常が蓄積され最終的に子宮頸癌を発症すると考えられている。

V. HPV感染の診断

HPV感染の診断には、HPV感染で発生した病変

を間接的に診断する方法と、病変中のHPV DNAを直接検出する方法がある。前者は視診、コルポスコブ診、細胞診、組織診などで、後者はSouthern blot法、dot blot法、PCR (polymerase chain reaction) などのほか、局在の観察にはin situ hybridizationが適している。

感染性ウイルス粒子を産生する細胞では典型的な形態変化が起こり、細胞診におけるコイロサイトーシス (図7a)、組織診におけるコイロサイトーシス (図7b) の像がみられる。コイロサイトはAyreが1949年最初に報告し、この形態学的変化が頸部病変に何らかの関連性があることを示唆した。さらに1956年Kossらはkoilocytotic atypiaを表現し、現在のコイロサイトの用語の元になっている¹³⁾。1976年MeiselsとFortinらがコイロサイトの成因を明らかにし、多くの異形成がHPV感染病変であることを明らかにした。近年、子宮頸部組織診ではコイロサイトーシスの判断において、病理医の間での一致率が比較的低く、またHPV感染と相関性も低いとの報告もあるが¹⁴⁾、ベセスダ分類ではコイロサイトーシスはHPV感染の像とし、子宮頸部の軽度異形性病変と同様の経過観察を要するものとされている¹⁵⁾。

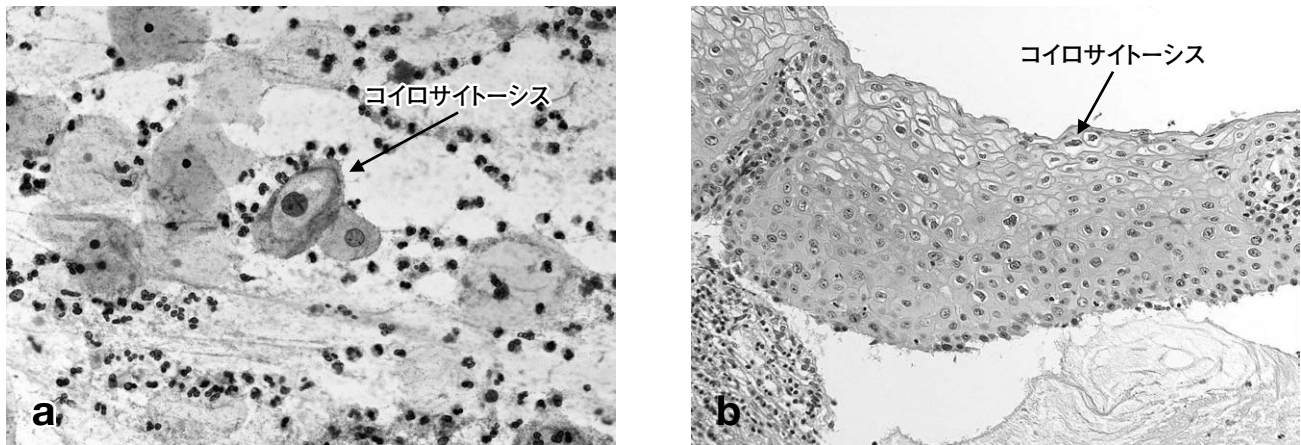


図7 細胞診、組織診におけるコイロサイトーシスの像

- a. パパニコロー染色された子宮頸部擦過細胞診。核周囲に大きなハローを認め、核のクロマチンの増量がみられる。
- b. 子宮頸部生検組織。表層部に核周囲のハローと、金平糖様に凝集し軽度の異形成のみられる核を認める。コイロサイトーシスを伴う Mild dysplasia の組織像。

VI. 子宮頸癌健診と HPV テスト

わが国では、子宮頸癌検診における第一次スクリーニング法は、子宮頸部細胞診がその中心となっているが、HPVテストは一次スクリーニングとして頸癌の発生と死亡率の減少に有効である (WHO, 2004) と報告され、近年、欧米においては子宮頸癌一次スクリーニングにおける HPV テストが導入されている。米国では HPV テストは米食品医薬局 (Food and Drug Administration : FDA) により 2000 年に頸癌検診に応用することが承認され、2003 年には ASCUS (The Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance) と診断されたすべての年齢層の患者を対象として Hybrid Capture 2 (Digene Corporation, Gaithersburg, MD) による HPV DNA test を行うことを承認した¹⁶⁾。さらに、30 歳以上の女性に対しては、通常の検診において最初から HPV テストを行うことを承認した。日本でも導入が検討されており、細胞診検査、HPV テストの両者併用により感度、特異度、陽性的中度、陰性的中度ともに向上することを示すデータが出されている¹⁷⁾。

VII. HPV に対するワクチン

以上のように HPV が子宮頸癌発症の主要因子と

考えられることから、HPV に対する免疫的な排除機構を HPV 感染予防や発癌予防さらには子宮頸癌の治療に利用するため抗 HPV ワクチンの開発が試みられている。

抗 HPV ワクチンとして様々なものが開発されているが、代表的なものとしてはウイルス DNA のないキャプシド成分 (L1 単独あるいは L1 と L2) よりなる HPV-like particle (VLP) と、これに発癌機序に関与する機能蛋白である E6, E7 を組み合わせた (蛋白としてあるいは部分的なペプチドとして) chimeric HPV-like particle (CVLP) がある^{18, 19)}。VLP では HPV に対する中和抗体が誘導され、HPV 感染に対する予防に有効ではないかと考えられている。子宮頸癌で最も頻度の高い HPV16, 18 由来の L1 が通常使われ、16 ~ 24 歳女性の筋肉内に 3 回摂取する臨床試験が進められている。これまでの成績はワクチンの安全性と型特異的な感染予防の有効性を強く示唆している²⁰⁾。

ワクチンによって HPV 初感染の予防を目指すとともに、既感染者にもワクチンによって有効な中和抗体を誘導できれば、感染の拡大を抑制することができ、発癌を防ぐことに繋がると考えられる。

おわりに

子宮頸癌と、その病態や発癌過程で中心的な役割を果たしていると考えられている HPV との関連に

ついて概説した。HPV感染から子宮頸癌に至る機序には、いまだ未解決の問題が多いが、HPVが子宮頸癌発症の最大の要因であることは明らかである。HPV感染の発見、除去が子宮頸癌治療への要となると思われる。今後のワクチン開発に期待が持たれる。

文 献

- 1) Walboomers JM, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer world wide. *J Pathol* **189** : 12-19, 1999.
- 2) Nakagawa S, et al.: Ubiquitous presence of E6 and E7 transcripts in human papillomavirus-positive cervical carcinomas regardless of its type. *J Med Virol* **62** : 251-258, 2000.
- 3) Howley PM : Introduction. In Steinberg BM, Brandsma JL, Taichman LB (eds): "Cancer Cells 5/Papillomaviruses", Cols Spring Harbor Laboratory Press, 1987, ppl-4.
- 4) Bosch FX, et al. Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer : a worldwide perspective. *J Natil Cancer Inst* **87** : 796-802, 1995.
- 5) 富田善身：【ゲノムの発現とウイルス粒子形成】パピローマウイルスによる腫瘍(清水文七 編)文光堂, p8-9, 2000.
- 6) 神田忠仁：【子宮頸癌発生の予防に向けての戦略】HPV感染免疫機構と予防ワクチン 産科と婦人科 **65** : 217-225, 2006.
- 7) Kiyono T: 癌ウイルス蛋白質による細胞周期の攪乱. In : Y Taya (ed.) わかる細胞周期と癌. 羊土社, 2000.
- 8) Shmitt A, et al. Comparison of the properties of the E6 and E7 gened of lo- and high-risk cutaneous papillomaviruses reveals strongly transforming and high Rb-binding activity for the E7 protein of the low-risk human papillomavirus type 1. *J Virol* **68** : 7051-7059, 1994.
- 9) 篠 諭司：【パピローマウイルスの発ガン機構】ヒトパピローマウイルスの初期遺伝子機能 パピローマウイルスによる腫瘍(清水文七 編)文光堂, p47-56, 2000.
- 10) 齋藤真子、清野 透：【HPV — 関連するがんの予防に向けての展開 —】HPVによる発がん機構 *細胞* **38** : 522-526, 2000.
- 11) O'Connor MJ.: Targeting of transcriptional cofactors by the HPV E6 protein : another tale of David and Goliath. *Trends Microbiol* **8** : 45-47, 2000.
- 12) Gewin L, Myers H, Kiyono T, et al.: Identification of a novel telomerase repressor that interacts with the human papillomavirus type-16 E6/E6-AP complex. *Genes Dev.* **18** : 2269-2282, 2004.
- 13) Howley PM : Introduction. In Steinberg BM, Brandsma JL, Taichman LB (eds): "Cancer Cells 5/Papillomaviruses", Cols Spring Harbor Laboratory Press, 1987, ppl-4.
- 14) Kruse AJ, Baak JP, Helliesen T, Kjølle I, Robboy SJ. Prognostic value and reproducibility of koilocytosis in cervical intraepithelial neoplasia. *Int J Gynecol Pahtol* **22** : 236-239, 2003.
- 15) Solomon D, et al. The Bethesda System : terminology for reporting results of cervical cytology. *JAMA* **287** : 2114-2119, 2002.
- 16) Salvia PND, Bergo SM, Bonesso-Sabadini PIP, TagliarFahy MT, et al. Meta-analysis of Pap test accuracy. *Am J Epidemiol* **141** : 680-689, 1995.
- 17) 佐藤信二：子宮頸がん検診としてのヒトパピローマウイルス感染検査導入に関する文献調査。平成10年度厚生省老人保健事業推進費等補助金「がんの原因となる微生物等を発見する検診の有効性に関する研究についての文献学的調査」報告書、p15-31、日本公衆衛生協会、1999.
- 18) Da Silva DM, Eiben GL, Fausch SC, Wakabayashi MT, Rudolf MP, Velders MP, Kast WM. *Cervical cancer vaccines : Emerging concepts and developments *J Cell Physiol* **186** : 169-182, 2001.
- 19) Lehtinen M, Dillner J. : Preventive human papillomavirus vaccination. *Sex Transm Inf* **78** : 4-6, 2002.
- 20) Koutsky LA, et al. A controlled trial of a human papillomavirus type 16 vaccine. *N Engl J med* **347** : 1645-1651, 2002.