



頭頸部癌における p16 の意義

近畿大学奈良病院耳鼻咽喉科

家 根 旦 有

1. はじめに

2017年に発刊された新しいTNM分類AJCC/UICC第8版では頭頸部癌で大幅な改訂が行われ、特に中咽頭癌がHPV関連中咽頭癌とHPV非関連中咽頭癌の2つに分けられたことは大きなトピックであった¹⁾²⁾。今回の改訂でヒト乳頭腫ウイルス(human papillomavirus: HPV)に関連するHPV関連中咽頭癌が独立した分類として取り扱われたことは、従来の飲酒・喫煙で発症する癌とHPVが原因で発症する癌が生物学的にも予後でも異なると評価された結果である。

今回の分類で重要な点は、HPV関連中咽頭癌をどのように診断するかということであり、AJCC/UICCにおいてp16免疫染色が診断方法として用いられることになった。そこでp16免疫染色がHPV関連中咽頭癌の診断方法に採択された意義とその経緯について解説したい。

2. p16 とは何か？

p16は*CDKN2A*(サイクリン依存性キナーゼ阻害2A; cyclin-dependent kinase inhibitor 2A)とも言い、p53と同様ながん抑制遺伝子として1994年に発見された³⁾。p16はp53ほど発癌に関与する因子としては注目されなかったが、HPV関連中咽頭癌においてHPV感染のサロゲートマーカー(代替マーカー)として注目されることになった。

HPVの初期遺伝子にはE1からE7まであり、そのうちE6蛋白はp53と結合してその機能を不活化させ、E7蛋白は網膜芽細胞腫の原因遺伝子であるRb(がん抑制遺伝子)を不活化させる⁴⁾。HPVの感染によってp53やRbが不活化されると代償的にp16蛋白が過剰発現されるので間接的にHPV感染の存在を知ることになる⁵⁾。これがHPV関連中咽頭癌かどうかの診断にp16免疫染色が用いられる理由である。しかし必ずしもp16蛋白の過剰発現はHPV感染だけによって起こるのではなく、ほかの原因でもp16蛋白の過剰発現は起こる可能性が考えられる。

3. p16免疫染色を行う意義

上記のようにHPVが感染しE6/E7が発現するメカニズムを考えると、HPVの検出にはE6/E7mRNAを検出するのが最も理想的と考えられる。しかし、mRNAを用いる検査方法は新鮮凍結組織を必要とし手技が煩雑でコストも高いことから実用的ではない。またE6/E7蛋白を免疫染色で検出する方法も考えられるが、適切な抗体がないため現状では不可能である。そのほかにHPV-DNAを検出するPCR法があるが、この方法は、感度は高いが宿主のDNAへの組み込み(integration)を判別できない欠点がある。AJCCはHPV感染の診断にp16免疫染色とHPV-ISH(in situ hybridization: ISH)の2種類の方法を推奨したが¹⁾、HPV-ISHは感度が低くコストも高いことから、汎用性がありコストも安いp16免疫染色を代替マーカーとして用いることになった。

4. p16免疫染色の判定

AJCCにおけるp16陽性基準は、強い核と細胞質の過剰発現を典型とし(図1)、核にのみ染色されるものは陽性とするが、非特異的に細胞質に発現を認めるものは陽性から除外するとしている¹⁾。HPV陽性の判定はAJCCでは核の発現強度が+2/+3以上で75%以上の陽性分布をp16陽性と判定している。一方、頭頸部癌取り扱い規約(第6版)では発現強度に規定はなく70%以上を陽性としている⁶⁾。取り扱い規約の注釈では「5%の差異は実際のルーチン上は誤差レベルであり、上記の参考文献でも臨床試験を通じて提唱され、判定しやすい基準という観点から、本取り扱い規約ではp16の陽性判定基準を70%と設定する」と記載している。実際の運用面ではp16陽性の腫瘍細胞はほぼ100%近い陽性所見を認めることから70%と75%で問題になることはないと思われる。しかし、用いるp16抗体の種類によって染色性に差があるためp16抗体の選択には慎重を要する。腫瘍以外の正常細胞にも染まるような抗体は偽陽性になりやすく、安定した染色性を示す抗体としてclone E6H4またはJC8が推奨され⁷⁾、一般的にCINtec

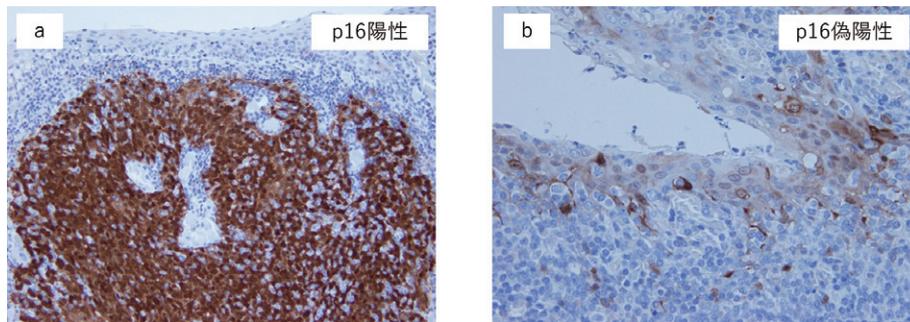


図1 HPV関連中咽頭癌におけるp16発現 CINtec p16 (E6H4)
 a: 核および細胞質に強い陽性を認める。(p16陽性)
 b: 非特異的に細胞質に弱い陽性を認める。(p16偽陽性)

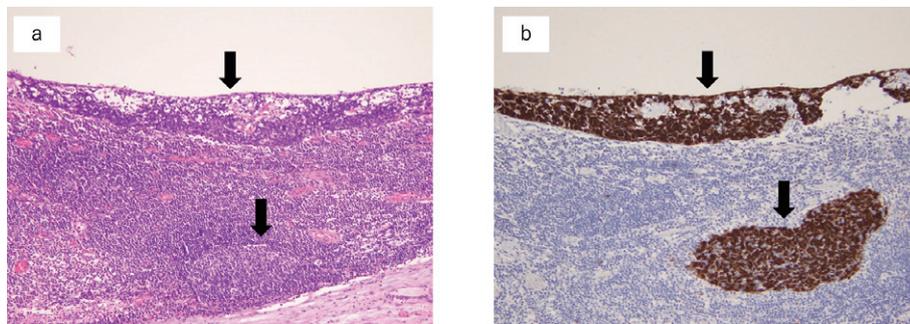


図2 p16陽性の嚢胞様リンパ節転移
 a: 術前は側頸嚢胞と思われたが、扁平上皮癌の転移と診断。(矢印)
 b: 腫瘍部分に一致してp16陽性を認める。(矢印)
 原発部位を認めず、p16陽性中咽頭癌の分類を適用する。

p16 (E6H4, Roche) が用いられていることが多い。

5. p16検査とHPV-DNA検査との相違について

p16蛋白はHPV感染以外の原因でも過剰発現する可能性があり、必ずしもp16陽性がHPV感染を証明しているという訳ではない。逆にHPVが感染していてもp16陽性とは限らない場合もある。したがってPCRによるHPV-DNA検査とp16免疫染色の両方を比較検討すると、HPV-DNA陰性p16陽性、HPV-DNA陽性p16陰性というようにHPV-DNA検査とp16発現が一致しない事例も考えられる。実際にHPV-DNA陰性p16陽性のような不一致の頻度は10~30%にみられると報告されている⁸⁾。このような不一致に対してHPV-DNA陰性p16陽性の予後はHPV-DNA陽性p16陽性と差がないという報告や、それより劣るという報告もあり一定の見解は得られていない⁸⁾。PCRによるHPV-DNAの検出では必ずしもHPVが宿主のDNAに取り込まれた状況

(integration)を把握しているわけではなく、単に粘膜上などに存在するHPVを検出している可能性も考えられる。そういう理由からHPV-DNA陽性であっても、必ずしも宿主DNAに組み込まれた真のHPV陽性とは限らない。

6. 原発不明頸部リンパ節転移に対するp16検査

AJCC/UICC第8版で大きく改訂された分類の一つに、原発不明頸部リンパ節転移の取り扱いがある。原発不明のリンパ節転移に対して、p16またはEBウイルスの検査が必須となり、p16陽性であればHPV関連中咽頭癌と判断し、EB陽性であれば上咽頭癌と診断することになった。原発不明のリンパ節転移にp16陽性を認めた場合には原発をT0としp16陽性中咽頭癌の分類を適用する(図2)。これは、p16過剰発現は中咽頭癌に特有のものであるという判断に基づくものである。



7. おわりに

AJCC/UICC 第8版においてp16免疫染色はHPV関連中咽頭癌を診断するために必要な検査方法となったが、本邦ではいまだ保険適用にはなっていない。臨床の現場では病理医の判断により免疫染色病理組織標本作製(400点)でp16検査が行われているが、適正な保険点数とは言えず、TNM分類の改訂に保険取載が追いついていないのが現状ある。

またp16検査が行われなかった場合には、p16陰性中咽頭癌として取り扱われることになるので、中咽頭癌の適正な病期分類を行うためにはp16検査は必須と認識しなければならない。

参考文献

- 1) American Joint Committee on Cancer (AJCC) Cancer Staging Manual, 8th edn, Amin MB, Edge SB, Greene FL, (eds). Springer, New York; 2017: pp 55-181.
- 2) International Union against Cancer (UICC). TNM classification of malignant tumours, eighth edn, James DB, Mary KG, Christian W, (eds). Wiley, New York; 2017: pp 17-54.
- 3) Nobori T, Miura K, Wu DJ, et al: Deletions of the cyclin-dependent kinase-4 inhibitor gene in multiple human cancers. *Nature* 1994; 368: 753-756.
- 4) Schmitt A, Harry JB, Rapp B, et al: Comparison of the properties of the E6 and E7 genes of low- 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* 1994; 68: 7051-7059.
- 5) Yokota T: Is biomarker research advancing in the era of personalized medicine for head and neck cancer? *Int J Clin Oncol* 2014; 19: 211-219.
- 6) 頭頸部癌取扱い規約 第6版, 日本頭頸部癌学会 編, 金原出版, 東京; 2018.
- 7) Shelton J, Purgina BM, Cipriani NA, et al: p16 immunohistochemistry in oropharyngeal squamous cell carcinoma: a comparison of antibody clones using patient outcomes and high-risk human papillomavirus RNA status. *Mod Pathol* 2017; 30: 1194-1203.
- 8) 水町貴論, 畠山博充, 加納里志他: 中咽頭扁平上皮癌症例におけるHPV感染とp16の発現に関する検討. *頭頸部癌* 2013; 39: 334-338.

連絡先 〒630-0293 生駒市乙田町1248-1

近畿大学奈良病院耳鼻咽喉科 家根旦有