



Title	婦人科悪性腫瘍における既知のバイオマーカーの新たな臨床的意義に関する研究
Author(s)	山崎, 博之
Description	配架番号 : 2788
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第15470号
Issue Date	2023-03-23
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k15470
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/90060
Type	doctoral thesis
File Information	YAMAZAKI_Hiroyuki.pdf



学 位 論 文

婦人科悪性腫瘍における
既知のバイオマーカーの
新たな臨床的意義に関する研究

(A study of clinical significance of known biomarkers in
the diagnosis and treatment of gynecological
malignancies)

2023年3月

北海道大学

山崎博之

学 位 論 文

婦人科悪性腫瘍における
既知のバイオマーカーの
新たな臨床的意義に関する研究

(A study of clinical significance of known biomarkers in
the diagnosis and treatment of gynecological
malignancies)

2023 年 3 月

北 海 道 大 学

山 崎 博 之

目次

発表論文目録および学会発表目録	1
要旨	3
略語表	6
緒言	8
第1章: 子宮頸癌における検討	
緒言	10
A. 検討課題 1: 周産期に診断される子宮頸がん症例の特徴	
A-1 目的	16
A-2 方法	16
A-3 結果	17
A-4 考察	22
B. 検討課題 2: 尿検体を用いた hrHPV-DNA 検査	25
B-1 目的	25
B-2 方法	26
B-3 結果	28
B-4 考察	34
第2章: 子宮体癌における検討	
緒言	38
方法	43
結果	51
考察	74
結論	78
謝辞	80
利益相反	81
引用文献	82

発表論文目録および学会発表目録

本研究の一部は以下の論文に発表した。

1. Yamazaki, H., Mitamura, T., Ihira, K., Endo, D., Sakurai, M., Konno, Y., and Watari, H. The difficulty to diagnose cervical cancer developing in the perinatal period with the first-trimester cytology: A retrospective study. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*. 47, 3303-3309. (2021).
2. Yamazaki, H., Wada, T., Asano, H., Fujita, H., Okamoto, K., and Watari, H. Comparison between Urine and Cervical High-Risk HPV Tests for Japanese Women with ASC-US. *Diagnostics (Basel)* 11, 1895. (2021).
3. Yamazaki, H., Asano, H., Hatanaka, K.C., Matsuoka, R., Konno, Y., Matsuno, Y., Hatanaka, Y., and Watari, H. The prognosis of endometrial cancers stratified with conventional risk factors and modified molecular classification. *Cancer Science*. 00, 1-14 (2022).

本研究の一部は以下の学会に発表した。

1. Hiroyuki Yamazaki, Takashi Mitamura, Kei Ihira, Yosuke Konno, Tatsuya Kato, Mahito Takeda, Hidemichi Watari. Did the cervical cytology screening during pregnancy improve their obstetric and oncologic outcomes of the cervical cancer? : A retrospective study. International Gynecologic Cancer Society (2020 International Gynecologic Cancer Society Digital Annual Global Meeting), September 10-13, 2020・Online
2. TCGA データに基づく子宮体癌の分子遺伝学的分類の臨床実装に向けた検討 山崎博之、朝野拓史、畑中佳奈子、松岡亮介、井平圭、遠藤大介、三田村卓、金野陽輔、加藤達矢、畑中豊、渡利英道 日本婦人科腫瘍学会 (第63回日本婦人科腫瘍学会学術講演会)、2022年7月16日～18日・大坂
3. Hiroyuki Yamazaki, Hiroshi Asano, Kanako Hatanaka, Ryosuke Matsuoka, Kei Ihira, Daisuke Endo, Takashi Mitamura, Yosuke Konno, Tatsuya Kato, Yutaka Hatanaka, Hidemichi Watari. A validation study of a modified TCGA classification for patients with endometrial cancer treated with radical surgery and adjuvant chemotherapy. European Society of Gynaecological Oncology (22nd European Congress on Gynaecological Oncology), October 23 - September 25, 2021・Prague
4. Hiroyuki Yamazaki, Kanako Hatanaka, Hiroshi Asano, Matsuno Yoshihiro, Yutaka Hatanaka, Hidemichi Watari. A validation study of a modified TCGA classification for patients with endometrial cancer treated with radical surgery and adjuvant chemotherapy. Asian Society of Gynecologic Oncology (The 7th Biennial Meeting of

Asian Society of Gynecologic Oncology), November 25-27, 2021・Bangkok

5. 山崎博之、三田村卓、工藤ありさ、良川大晃、朝野拓史、黒須博之、小林由佳子、井平圭、遠藤大介、金野陽輔、加藤達矢、武田真人、渡利英道 周産期に診断された子宮頸癌 18 例の後方視的検討 日本婦人科腫瘍学会 (第 64 回日本婦人科腫瘍学会学術講演会)、2022 年 7 月 14 日～16 日・久留米
6. Hiroyuki Yamazaki, Hiroshi Asano, Hiroaki Yoshikawa, Hiroyuki Kurosu, Kei Ihira, Daisuke Endo, Takashi Mitamura, Yosuke Konno, Tatsuya Kato, Hidemichi Watari. The modified molecular classifier combined with conventional clinicopathologic risk factors well stratify the prognosis of the patients with endometrial cancer treated with complete staging surgery and adjuvant chemotherapy. 日本産科婦人科学会 (第 74 回日本産科婦人科学会学術講演会)、2022 年 8 月 5 日～7 日・福岡

要旨

子宮頸癌と子宮体癌は、婦人科検診による早期発見、治療によって罹患率と死亡率をともに減少させると考えられる。しかし、本邦では子宮頸癌において特に若年層の罹患数が増加、子宮体癌において罹患数だけでなく死亡数も増加している。本研究は、既知の検査方法によって得られるバイオマーカーを新たな方法で臨床応用することで、予後改善に寄与することを目的とした。

第1章:子宮頸癌における検討

【背景と目的】

本邦では子宮頸癌の予防に重要な high-risk human papilloma virus (hrHPV) に対するワクチン接種と定期的ながん検診のどちらも普及していない。一方、妊娠のほぼ全てが医療機関で管理され、妊娠初期には子宮頸がん検診が行われている。しかしながら、妊娠初期だけではなく、妊娠中～出産後に診断される子宮頸癌症例を経験する。このような症例を分析することで、現行の子宮頸がん検診の問題点を明らかにする (課題 A)。子宮頸がん検診受診率を向上するために、尿検体を用いた検診の実施可能性について検討する (課題 B)。

【対象と方法 A】

2010年から2018年までに当科で治療した周産期 (妊娠中から出産後1年) に診断された子宮頸癌症例を対象とし、後方視的に臨床的特徴を検討した。

【結果 A】

18例が該当した。全例で妊娠初期に子宮頸部細胞診が行われていたが、異常を指摘されたのは10例 (55.6%) であった。HPV-DNA 検査が行われた15例では、14例 (93.3%) が hrHPV 陽性であった。

【考察 A】

妊娠初期スクリーニングにおける子宮頸部細胞診は子宮頸癌の発見に一定の効果を発揮していたが、さらなる予後の改善には妊娠前の子宮頸がん検診受診率を改善する必要もあると考えられた。

【対象と方法 B】

2016年から2020年に検診として子宮頸部細胞診を受け atypical squamous cells of undetermined significance であった症例を対象とし、子宮頸部擦過検体と尿検体における hrHPV 検査の一致率を検討した。尿検体は遠心分離後に、子宮頸部検体と同様に Cobas 4800 システムを用いて hrHPV-DNA の有無を評価した。

【結果 B】

検討した338例について、尿検体と子宮頸部検体を用いた hrHPV-DNA 検査結果の一致率は90.8% (307/338) であった。少なくともいずれかの検体で hrHPV 陽性だ

った症例における一致率は 70.5% (74/105) であった。

【考察 B】

子宮頸部検体と尿検体を用いた hrHPV-DNA 検査は一致率が高いことが明らかとなった。実際に病変を有する集団での検出率を検討していく必要があると考えられた。

第 2 章:子宮体癌における検討

【背景と目的】

子宮体癌の半数以上は IA 期で診断され、多くは手術療法単独で良好な予後が得られていることから、死亡率を減少させるためにはより適切な治療の個別化、そのためのサブタイピングが必要であると考えた。子宮体癌において、polymerase-epsilon gene (*POLE*) 遺伝子の変異解析と、ミスマッチ修復 (MMR) 蛋白と p53 に対する免疫組織化学染色 (immunohistochemistry, IHC) を用いた Proactive Molecular Risk Classifier for Endometrial Cancer (ProMisE) が提唱されているが、欧米を中心としたコホートで検討されてきた。欧米ではリンパ節郭清術 (lymph node dissection, LND) を省略する方向にあり、術後補助療法は放射線療法が主に選択される。本邦では LND による病期診断が行われ、術後補助化学療法が推奨されている。また、複数の癌腫で予後不良因子と報告されている L1 cell-adhesion molecular (L1CAM) は、当科の先行研究でも同様の結果であった。以上より、本邦のコホートにおける ProMisE の再現性を検討し、L1CAM に対する IHC も組み合わせたより適切な分類方法を探索することを目的とした。

【対象と方法】

2003 年から 2015 年までに当科で治療した子宮体癌症例のうち、LND を含む手術加療により進行期を決定した症例を対象とした。術後再発リスク分類における中リスク以上の症例には術後補助化学療法を行った。*POLE* についてはホットスポットである exon 9、13、14 について Sanger 法にて解析した。MMR 蛋白、p53、L1CAM に対する IHC は、原発巣を用いた組織マイクロアレイを作成して実施した。

【結果】

184 例について検討し、観察期間中央値は 102.5 ヶ月であった。*POLE* exonuclease domain mutation (*POLE*-EDM) が 19 例、MMR deficient (MMR-D) が 58 例、p53 abnormal expression (p53 abn) が 20 例、high expression of L1CAM (L1CAM+) が 55 例に認められ、32 例にこれらの重複が見られた。

ProMisE に基づいて分類すると、MMR-D 群と p53 wild type 群の生存率が 5-10 年の間で逆転しており、新たな予後因子を検討する余地があると考えた。

術後再発低リスク群 (Low risk) 群と *POLE*-EDM 群では原病死を認めなかったため、新分類での予後良好群とした。この群を除くと、L1CAM+が最も強い予後因子であった (hazard ratio 3.08; 95%信頼区間: 1.42-6.96; $p=0.0045$) ため、p53 abn とともに予後不良群とし、他を予後中間群とした。5 年/10 年疾患特異的生存割合は、予後良

好群 100%/100%、予後中間群 93.8%/91.0%、予後不良群 73.2%/59.9%であり、それぞれが有意差をもって層別化された。

【考察】

外科的に確定された再発低リスク症例の予後は極めて良好であったため、分子サブタイピングを省略する合理的候補である。また、重複する他の分子マーカに関わらず POLE-EDM 症例の予後は極めて良好であったことから、中リスク以上の症例ではまず *POLE* の評価を行う意義があると考えられる。LICAM+が強い予後不良因子であり、さらに現病死の半数が治療後 5 年以降に生じていたことは臨床的にも重要である。今後、これら分子サブタイプに応じた治療開発が期待される。

結論

各章での検討により以下の知見が得られた。

1. 周産期に診断される子宮頸がん症例の予後を改善するためには、妊娠前に介入することが重要である。
2. 通常の検尿カップによる自己採取尿検体を用いた hrHPV-DNA 検査は、医師採取による子宮頸部擦過検体を用いた結果と高い一致率を示した。
3. 手術により確定された子宮体癌の再発低リスク群の予後は極めて良好であり、分子サブタイピングを省略する合理的な候補である。重複する他の分子マーカや臨床病理学的所見に関わらず、POLE-EDM 群は極めて良好な予後を示した。LICAM+ は強い予後不良因子であった。

略語表

AGC, atypical glandular cells
AIS, adenocarcinoma in situ
ASC-US, atypical squamous cells of undetermined significance
ASC-H, atypical squamous cells, cannot exclude a high-grade lesion
CIN, cervical intraepithelial neoplasm
CIN2+, 中等度異形成以上の病変
CIN3+, 高度異形成以上の病変
CT, computed tomography
dMMR, mismatch repair deficiency
DNA, deoxyribonucleic acid
DOD, death of disease
DSS, disease-specific survival
EC, endometrial carcinoma
EDTA, ethylenediaminetetraacetic acid
endo G1/2, endometrioid carcinoma Grade1-2
FFPE, formalin-fixed, paraffin-embedded
HE, hematoxylin and eosin
HPV, human papilloma virus
hrHPV, high-risk human papilloma virus
HRP, horseradish peroxidase
HSIL, high-grade squamous intraepithelial lesion
IHC, immunohistochemistry
L1CAM, L1 cell-adhesion molecular
L1CAM-, low expression of L1CAM (H-score <35)
L1CAM+, high expression of L1CAM (H-score >35)
LBC, liquid-based cytology
LSIL, low-grade squamous intraepithelial lesion
LVSI, lymphovascular space invasion
NILM, negative for intraepithelial lesion or malignancy
MMR, mismatch repair
MMR-D, mismatch repair deficiency
MRI, magnetic resonance imaging
MSI, microsatellite instability
OS, overall survival
p53 abn, abnormal expression of p53

p53 wt, p53 wild type

PCR, polymerase chain reaction

PET, positron emission tomography

PFS, progression-free survival

pMMR, mismatch repair proficient

POLE, polymerase-epsilon

POLE-EDM, POLE exonuclease domain mutation

RCT, randomized control study

TCGA, the cancer genome atlas

TMA, tissue microarray

WHO, World Health Organization

初期細胞診, 妊娠初期スクリーニングとしての子宮頸部細胞診

腹腔細胞診, 手術開始時の腹腔洗浄液または腹水細胞診

緒言

婦人科で扱う悪性腫瘍は主に、子宮と子宮附属器（卵巣、卵管）に発生する子宮頸癌、子宮体癌、卵巣癌である。本邦での 2019 年の罹患数はそれぞれ 10879 人、17880 人、13388 人であった。子宮に発生する悪性腫瘍は、部位別年間罹患数では 5 番目に多く、近年増加傾向にある（政府統計の総合窓口(e-Stat), 2022; 国立がん研究センター, 2022)。本邦では子宮頸癌においては特に若年層の罹患率が増加し（図 1）、子宮体癌においては罹患率だけでなく死亡率も増加している（図 2）。

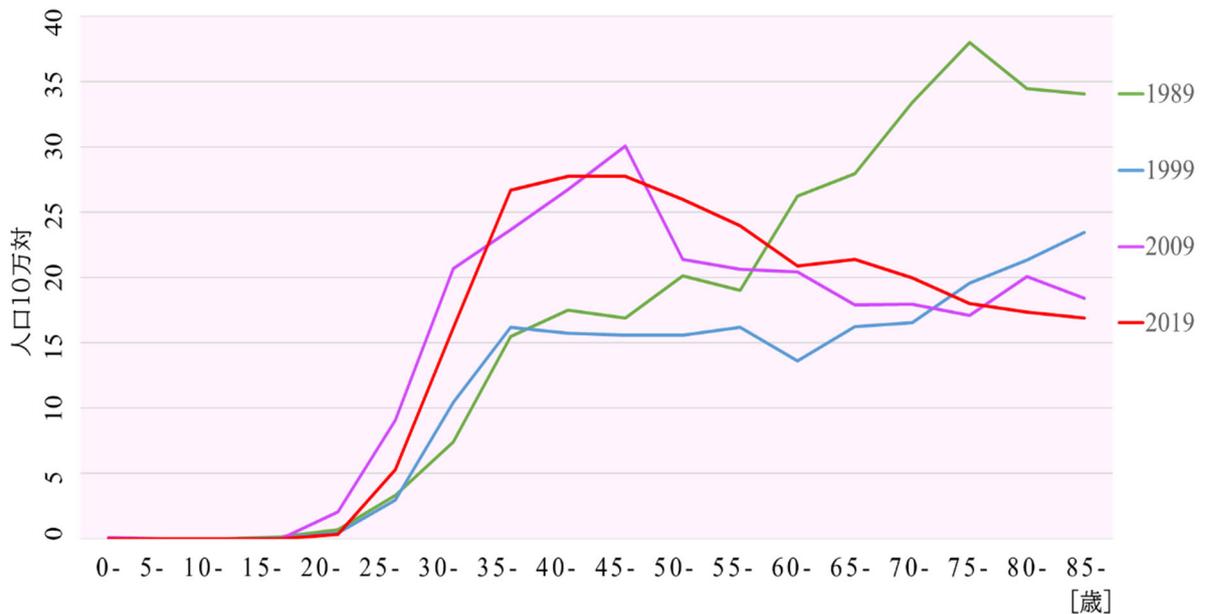


図 1 本邦の子宮頸癌年齢階級別罹患率の推移

値は年齢階級別罹患率を示し、それぞれ 1989 年（緑線）、1999 年（青線）、2009 年（紫線）、2019 年（赤線）の診断年を表す。国立がん研究センターがん対策情報サービスより作成。

子宮頸癌の発生母地である子宮頸部、子宮体癌の発生母地である子宮体部（子宮内膜）は、比較的容易に経腔的な組織採取が可能な部位である（図 3）。また、どちらも擦過細胞診等により前がん病変の段階から検出することができ、確立された治療方法も存在するため、婦人科検診によって早期発見、治療することで罹患率と死亡率をともに減少させることが可能であると考えられる。現在のがん検診は 2002 年に成立した健康増進法に基づいて市町村が実施している。しかしながら、子宮頸がん検診受診率は経済協力開発機構 38 カ国中最も低い水準にあることが指摘されており（OECD.Stat., 2022）、子宮体がん検診については有症状時に施行することとなっている。そこで本研究では、既知のバイオマーカーを用いて、本邦の実態に即した新たな臨床応用方法を検討することで、婦人科悪性腫瘍の予後改善に寄与することを目

的とする。

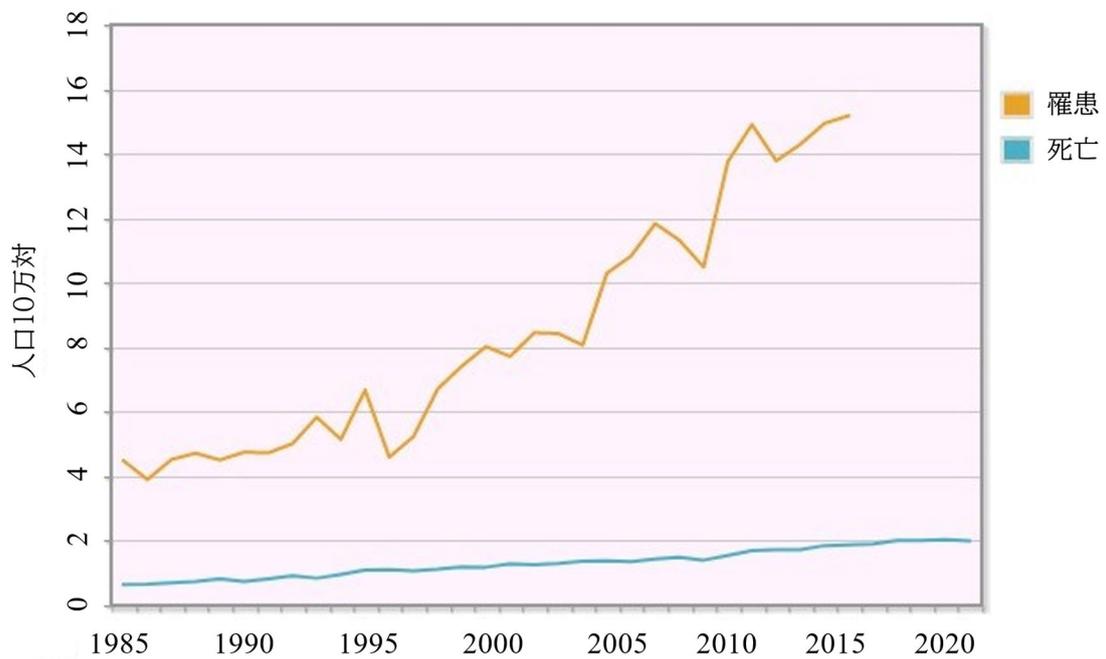


図2 子宮体癌の年齢調整死亡率と罹患率の推移
値は年齢調整死亡率（青線）と罹患率（橙線）の年次推移を示す。国立がん研究センターがん対策情報サービスより。

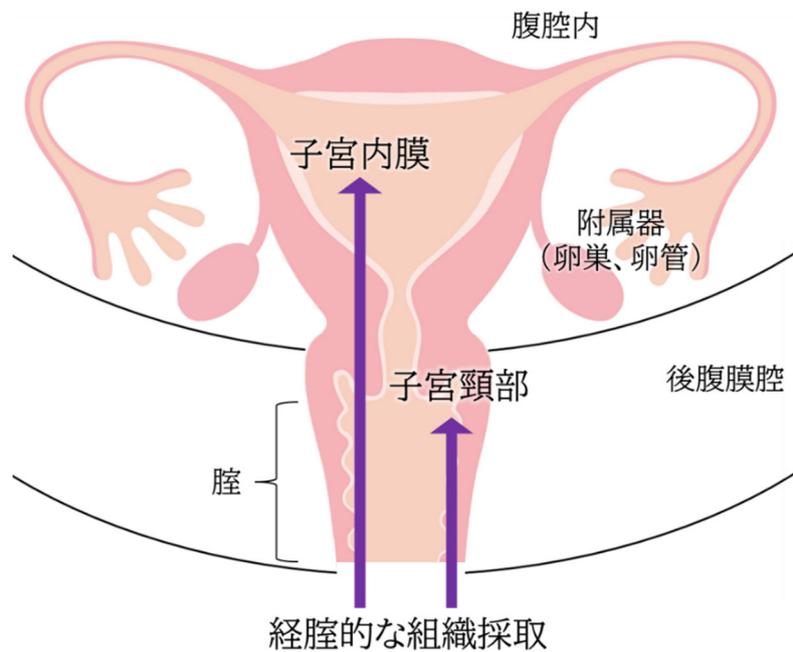


図3 子宮頸部、子宮体部（内膜）の解剖学的な位置関係
子宮内膜は膣、子宮頸部を経た組織採取が可能である。

第 1 章：子宮頸癌における検討

緒言

1. 子宮頸癌とは

子宮頸癌は子宮頸部に発生する上皮性悪性腫瘍で、本邦では毎年約 1 万人が罹患している。2019 年の罹患率は 16.9 (対人口 10 万) であり、全体ではこの 20 年でやや増加という程度であるが (図 4)、罹患のピーク年齢が若年化していることで特に 20~30 代の罹患率はこの 10 年で約 2 倍にまで増加した(国立がん研究センター, 2022)。ピーク年齢の若年化には性行動の欧米化が寄与していると考えられているが、いわゆる先進国で子宮頸癌の罹患率が増加しているのは我が国のみであり(Lin et al., 2021)、罹患率は米国の約 2.5 倍である(International Agency for Research on Cancer, 2020)。なぜなら、子宮頸癌はワクチンと定期検診、適切な早期治療により根絶 (罹患率が人口 10 万人当たり 4 例未満となること) が可能であり(World Health Organization, 2022a)、先進国の多くは既に 10 年以上前からそのためのプログラムに取り組んでいるからである (Franceschi et al., 2011)。

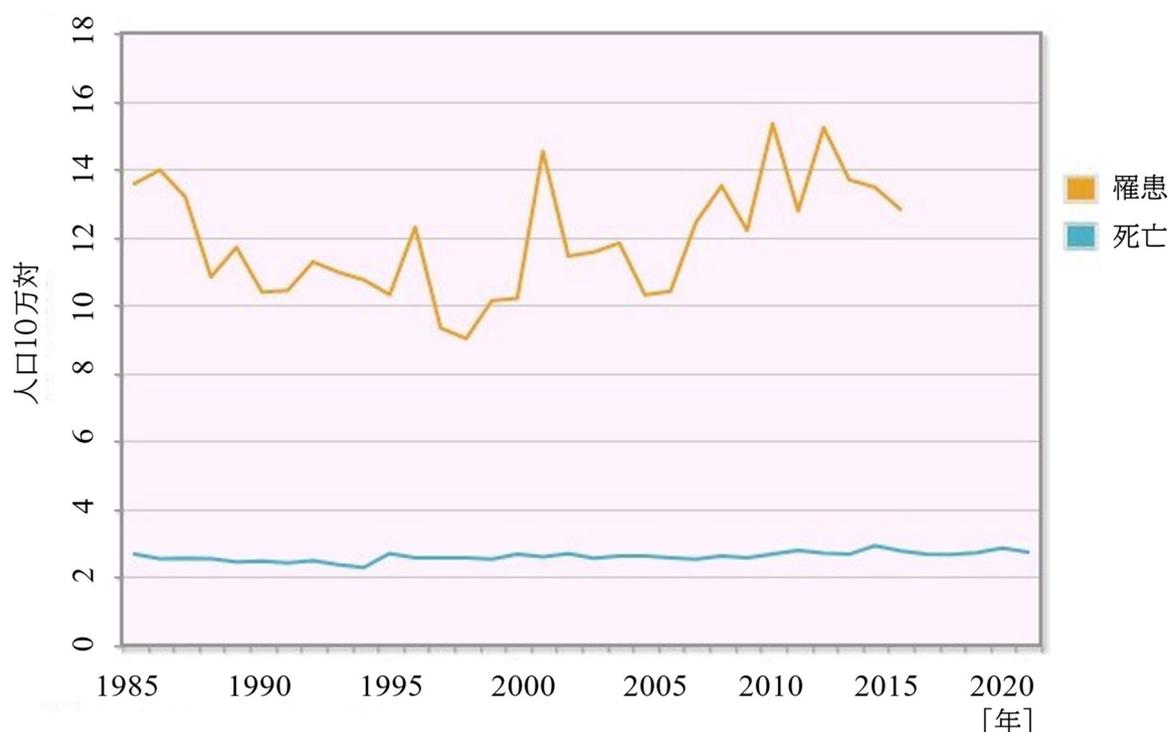


図 4 本邦の子宮頸癌の死亡率と罹患率の推移
値は年齢調整死亡率 (青線) と罹患率 (橙線) の年次推移を示す。国立がん研究センターがん対策情報サービスより。

2. 子宮頸癌と Human papilloma virus

子宮頸癌の約 99%は Human papilloma virus (HPV) の持続感染に起因するとされる。一般的に HPV は性的接触により伝播していくため、感染の機会自体は稀ではないが、その 90%以上は一過性感染にとどまる。性交経験のある女性の 50~80%が生涯で 1 度は HPV に感染すると推計されている。HPV の持続感染が成立すると、そのなかの一部が cervical intraepithelial neoplasm (CIN) と呼ばれる前がん病変を経て数年~数十年かけて浸潤癌へと進展する (日本産科婦人科学会, 2022a) (図 5)。CIN は異型細胞が上皮内に認められる状態であり、上皮内に占める割合を病理組織学的に評価することで Grade 1~3 に分類される。異型細胞が占める割合が 1/3 以下を CIN1、1/3~2/3 を CIN2、2/3 以上を CIN3 とする (WHO Classification of Tumours Editorial Board, 2020)。

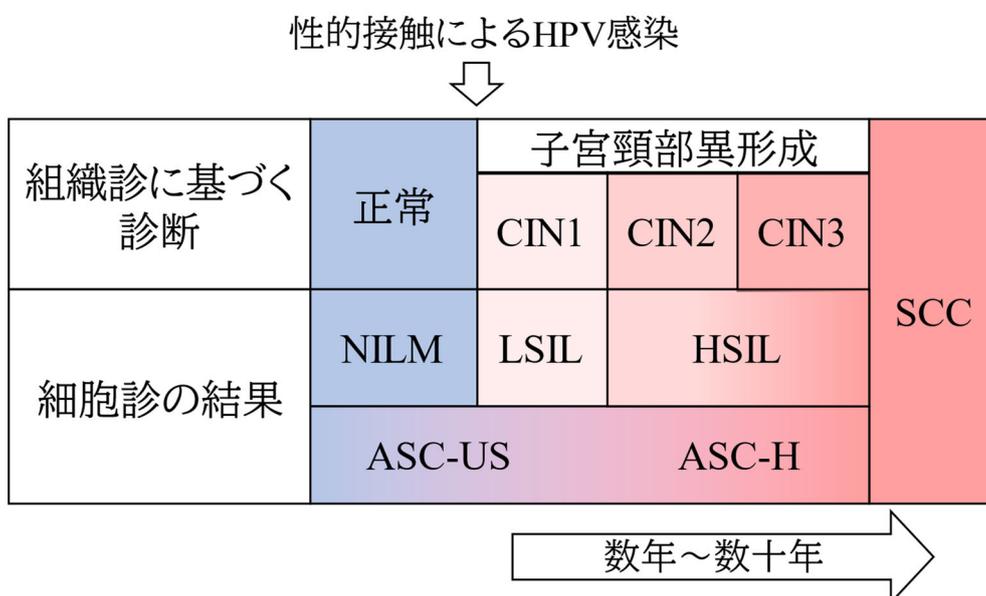


図 5 発がん性 HPV 感染から浸潤癌に至るまでの段階

HPV 感染から子宮頸部異形成を経て数年~数十年かけて浸潤癌へ進展する。その各段階における組織診による診断名と子宮頸部細胞診の結果との対応を示す。

ASC-H, atypical squamous cells cannot exclude HSIL; ASC-US, atypical squamous cells of undetermined significance; CIN, cervical intraepithelial neoplasm; HSIL, high-grade squamous intraepithelial lesion; HPV, human papilloma virus; LSIL, low-grade squamous intraepithelial lesion; NILM, negative for intraepithelial lesion or malignancy; SCC, squamous cell carcinoma.

HPV には 100 種類以上の型があるが、型によって発がんリスクが大きく異なることも指摘されている (日本産科婦人科学会, 2022a)。発がんリスクの高い 16 型、18 型、31 型、33 型、35 型、39 型、45 型、51 型、52 型、56 型、58 型、59 型、66 型、68 型の 14

種類が High-risk HPV(hrHPV) と呼ばれている (WHO Classification of Tumours Editorial Board, 2020; The National Cancer Institute, 2022)。hrHPV の中でも特に 16 型と 18 型のリスクが高いことが報告されている (Hosaka et al., 2013)。その分布には地域差があることが指摘されている。本邦からの報告では CIN2-3 の 95.7%、浸潤癌の 97.4%で hrHPV が検出されている(Onuki et al., 2020)。本邦の保険診療として認められている hrHPV-DNA 検査は 2 種類に大別される。子宮頸部細胞診の結果が atypical squamous cells of undetermined significance (ASC-US) の者に対して hrHPV 感染を確認する場合、CIN に対する手術後の治療効果判定に用いる場合に hrHPV の有無を判定する「HPV 核酸検出 (360 点)」と、CIN1 または CIN2 の診断が確定した後に関与している HPV 型を判定する「HPV ジェノタイプ判定 (2000 点)」である。

ASC-US は、軽度の異型を伴う細胞が認められ Low-grade squamous intraepithelial lesion (LSIL) が疑われるが、確定できるほどの変化ではない状態であり、炎症性変化や化生性変化、HPV 感染を示唆する所見なども含まれる(Ritu et al., 2015)。そのため、ASC-US 症例に対して HPV 核酸検出検査を行うことで、hrHPV 陰性例への過剰な検査や治療を防ぐという目的もある。

3. HPV ワクチンによる一次予防

子宮頸癌のほとんどが hrHPV の持続感染に由来するため、感染を予防することで一次予防が可能であると考えられる。hrHPV に対するワクチンは既に実用化されており、World Health Organization(WHO) は 90%の女子が 15 歳までにワクチン接種を受けることを子宮頸癌根絶のための目標値の一つと設定している (World Health Organization, 2022)。世界で最も早く、2007 年から国家レベルで男女への HPV ワクチン接種プログラムを開始したオーストラリアでは、15 歳女性の接種率は 2016 年に 78.6%になっており、このままの水準を維持できれば 2022 年頃には子宮頸癌の罹患率が希少癌の水準 (人口 10 万人当たり 6 例未満) になると試算されている (Hall et al., 2019)。一方で、本邦ではワクチン接種が普及しているとは言いがたい。2013 年度に定期接種の適応となったが、同年 6 月には「ワクチンとの因果関係を否定できない持続的な痛み等の副反応」がマスメディアを中心に報道されるようになったことをきっかけに積極的勧奨が中止され、以降 2019 年まで接種を完了した女子の割合が 0-2%未満の状態が続いていた (厚生労働省, 2022) (図 6)。接種対象者であった 1994-2007 年生まれの女性が適切な年齢で HPV ワクチンを接種できなかったことで、接種率が 70%を維持できた場合と比較して、24600-27300 人の罹患を防げなかったと試算されている (Simms et al., 2020)。2020 年度から接種対象者向けに厚生労働省が作成したリーフレットを個別送付する等の対策が講じられるようになり、接種後に生じた多様な症状とワクチンとの因果関係を示唆する新しい質の高い新たなエビデンスが報告されていないことから、2022 年度より積極的勧奨も再開された (厚生労働省, 2022)。当院では 2014 年から HPV ワクチン副反応支援センターを設置し、健康障害

者に対して複数の診療科が協力して総合的に診療する体制を整えている。2022 年度には厚生労働省「HPV 感染症の予防接種に関する相談支援・医療体制強化のための地域ブロック拠点整備事業」のブロック拠点病院に認定され、道内の各医師会・クリニック・行政・学校機関等と協力して主に北海道内での HPV ワクチン普及のための活動を行っている。今後は全国的にも HPV ワクチン接種率も増加していくことが予想されるが、ワクチンが子宮頸癌の発症予防効果を十分に発揮するためには感染前、つまり初交前に接種することが重要であるため、既に接種機会を逃した女性には子宮頸がん検診がより重要な役割を果たすことになる。

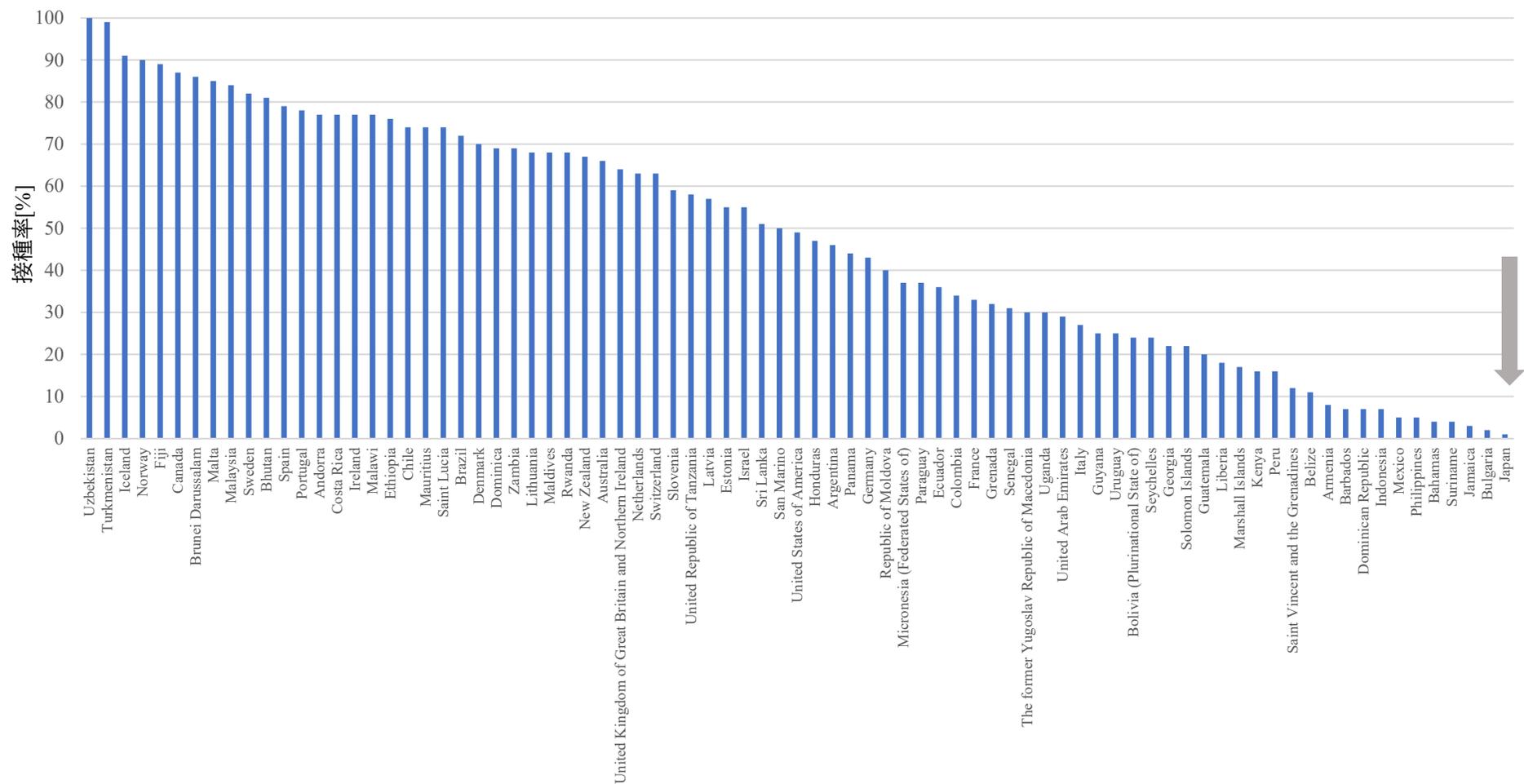


図6 15歳女性におけるHPVワクチン接種率の国別比較 (2020年)

矢印が日本。SDGs, Development and universal access to affordable vaccines and medicines のインディケータの一つでもある。The Global Health Observatory, World Health Organization より作成。

4. 子宮頸がん検診による二次予防

子宮頸がん検診に関する複数のコホート研究、症例対照研究のメタアナリシスから、定期的な検診により子宮頸がん死亡と浸潤癌罹患の減少が得られることが示されている（国立がん研究センター，2020）。本邦での検診方法の Gold standard は子宮頸部擦過検体による細胞診であり、浸潤癌に加えて前がん病変である CIN も検出することが可能である。CIN の段階で診断、治療を行うことができれば、子宮頸癌への進展を防げるだけでなく、妊孕性を温存したまま治療することが可能である。子宮頸癌根絶のための目標値として、WHO は 70% の検診受診率を設定している（World Health Organization, 2020）が、本邦の子宮頸がん検診の受診率は 2010～2019 年において 35～45% 程度で推移している（厚生労働省，2020）（図 7）。若年者での受診率はさらに低く、20-24 歳では 17.5%、25-29 歳では 36.5% と報告されている（Kaso et al., 2019）が、本邦では全国規模の正確な受診率の統計がないのが実情である。

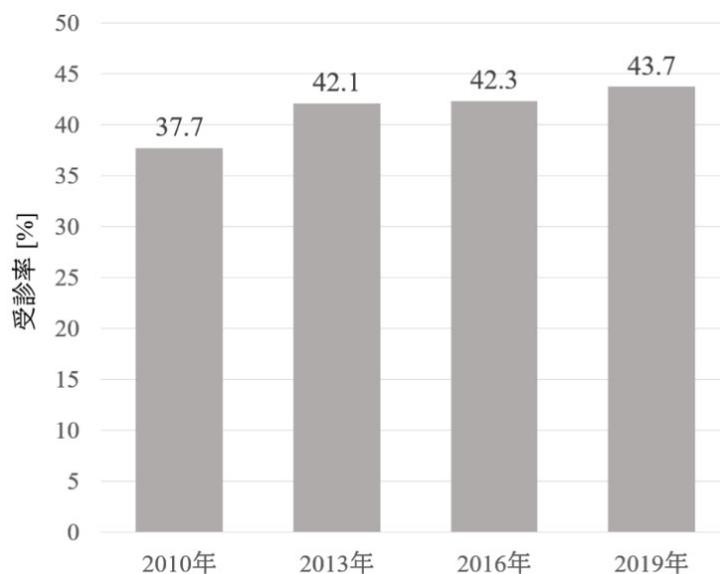


図 7 子宮頸がん検診受診率の推移

値は 20-69 歳の女性が過去 2 年間に子宮頸がん検診を受けた割合(%)。国民生活基礎調査に基づいて作成。

一般的に子宮頸がん検診で発見すべき対象は CIN2 以上の病変 (CIN2+) とされてきたが、治療対象となる疾患という点から CIN3 以上 (CIN3+) とする意見もある。WHO や米国のガイドラインでは CIN2 または CIN3 に対して外科的治療が勧められている (Santesso et al., 2016; Perkins et al., 2020) 一方で、本邦では CIN3 のみが外科的治療の適応であり、CIN1-2 については 1～2 年のフォローアップで自然消失しない場合等に手術の適応を考慮することとされている (日本産科婦人科学会, 2020b)。この治療基準の違いは、CIN2 と CIN3 を明確な再現性をもって分類することが困難であることや、海外では High-grade squamous intraepithelial lesion (HSIL)

としてまとめて扱われるようになったことから生じる。さらに、CIN2 においても CIN3 への進展リスクは 22～25%程度であり、特に 30 歳未満では自然消退する症例も多いことが報告されている (Holowaty et al., 1999; Peto et al., 2004; Matsumoto et al., 2011)。以上から、本邦では CIN2 を診断しても基本的に経過観察を勧めることになるため、自然消退する症例も多い CIN2 症例においては検診による早期発見が過剰な検査、通院となってしまうリスクを伴っている。

A. 検討課題 1: 周産期に診断される子宮頸がん症例の特徴

A-1 目的

本邦で行われた妊娠中に診断された悪性疾患に関するアンケート調査では、子宮頸がんの割合が 71.4%と最も高く、続いて卵巣がん 7.0%、乳がん 6.6%の結果であった (Sekine et al., 2018)。これは、乳がんの割合が最も多いという欧米 (De Haan et al., 2018) や韓国 (Shim et al., 2016) からの報告とは異なる結果であった。本邦の周産期管理における医療機関受診率は非常に高く、分娩の 99.9%以上が医療施設で取り扱われている (政府統計の総合窓口 (e-Stat), 2022a)。また、本邦のガイドラインでは妊娠初期健診として子宮頸部擦過細胞診の実施が推奨されている (日本産科婦人科学会, 2020b)。そのため、ほぼ全ての妊婦が子宮頸がん検診を受けていると考えられるが、妊娠初期スクリーニングによって診断されるだけではなく、妊娠初期には異常が指摘されなかったにもかかわらず、妊娠中期～産後に初めて診断される子宮頸がん症例をしばしば経験する。

周産期に子宮頸癌と診断された症例の症例数や妊娠初期スクリーニングの有効性、産科学的予後、腫瘍学的予後等に関して全国規模での調査は行われていない。本研究では、周産期に診断された子宮頸癌症例を分析することで、現行の検診手法における問題点を明らかにすることを目的とした。

A-2 方法

A-2 (1) 対象

2010 年から 2018 年の間に北海道大学病院婦人科 (以下、当科) で、妊娠中または分娩後 1 年以内 (以下、周産期はこの定義に則る) に診断、治療した子宮頸癌症例を対象とした。年齢、妊娠週数、妊娠初期細胞診の結果、精密検査を行った理由、確定診断までに要した期間、腫瘍の組織型、進行期、腫瘍径、治療内容、治療後の経過、HPV-DNA 検査の結果について最終受診日までの情報を診療録から収集した。

A-2 (2) 各検査について

子宮頸部細胞診は Bethesda 分類 (Ritu et al., 2015) に則って判定し、Negative for Intraepithelial Lesion or Malignancy (NILM) を正常=陰性とし、その他すべてを異常=陽性とした。HPV-DNA 検査について、当科では CIN 以上の患者で、保険診療内で

HPV 関連検査が行われない場合でも PapiPlex (ジエネティックラボ、札幌) を行って
いたため、施行した場合はその結果を用いた。PapiPlex では multiplex polymerase
chain reaction (PCR) を利用して 6、11、16、18、30、31、33、35、39、45、51、52、56、58、
59、66 型の hrHPV-DNA をそれぞれ特異的に検出している (Nishiwaki et al., 2008)。
腫瘍径については、magnetic resonance imaging (MRI) の水平断、冠状断、矢状断
(子宮軸) 画像から最大径を測定した。進行期は International Federation of
Gynecology and Obstetrics (FIGO) staging of cancer of the cervix uteri (2018) に基づ
いて re-staging した。

A-2 (3) 統計解析

本研究では頻度の解析に Fisher の正確確率検定を、連続変数の解析に Welch の
t 検定を用い、 $p < 0.05$ を有意差ありと定義した。統計解析には R version 4.0.2: A
language and environment for statistical computing (R core team 2020) を用いた。

A-2 (4) 倫理的遵守事項

本研究は「ヘルシンキ宣言 (2013 年 10 月修正)」及び「人を対象とする医学系研究
に関する倫理指針」(平成 26 年文部科学省・厚生労働省告示第 3 号) を遵守して実
施された。また、北海道大学病院自主臨床研究審査委員会にて 2020 年 12 月 20 日
に承認 (自 020-0275) され実施した。本研究は人体から採取した試料を用いないこ
とから、必ずしもインフォームド・コンセントの取得を必要としないため、研究の目的を
含む研究の実施についての情報を北海道大学病院ホームページに掲載することで
研究対象者に拒否する機会を与えた。

A-3 結果

A-3 (1) 患者背景

2010 年から 2018 年に当科で治療した子宮頸癌症例は 225 例であり、そのうち 18
例が周産期に診断された。18 例全例で妊娠初期スクリーニングとしての子宮頸部細
胞診 (以下、初期細胞診) が行われていた。観察期間中央値は 46.5 ヶ月であった
(表 1)。

表 1 患者背景

年齢	33.5 歳 (27-41)
経産回数	0 (0-2)
観察期間	46.5 ヶ月 (21-114)
組織型	
扁平上皮癌	9 例 (50.0%)
腺癌	6 例 (33.3%)
(粘液性)	(4 例)
(通常内頸部型)	(1 例)
(類内膜)	(1 例)
腺扁平上皮癌	3 例 (16.7%)
(すりガラス様)	(2 例)
Stage (FIGO 2018)	
IA1	4 例 (22.2%)
IA2	1 例 (5.6%)
IB1	6 例 (33.3%)
IB2	1 例 (5.6%)
IB3	3 例 (16.7%)
IIIB	2 例 (11.1%)
IIIC1	1 例 (5.6%)
主治療	
円錐切除術	2 例 (11.1%)
子宮全摘術	14 例 (77.8%)
(+術後補助化学療法)	(2 例)
同時化学放射線療法	2 例 (11.1%)

データは症例数 (%) または中央値 (範囲) で示した。FIGO, The International Federation of Gynecology and Obstetrics.

A-3 (2) 初期細胞診

8 例 (44.4%) は初期細胞診の結果が NILM であった。初期細胞診から診断までの期間は平均 10.7 ヶ月であり、診断時には 7 例 (87.5%) が IB1 期以上であった (表 2)。10 例 (55.6%) は初期細胞診の結果が異常と判断されていた。初期細胞診から診断までの期間は平均 1.4 ヶ月であり、初期細胞診が NILM であった群よりも有意に短かった ($p=0.033$)。IB1 期以上の症例は 6 例 (60.0%) であった (表 3)。

表 2 初期細胞診で異常を指摘されなかった 8 例

No.	年齢	Stage (FIGO 2018)	組織型	診断の契機	初期細胞診から診断までの期間	腫瘍最大径	HPV 型
1	37	IA1	扁平上皮癌	定期検診	16.9 ヶ月	<1mm	16,18 型以外
2	33	IB1	すりガラス様癌	産後健診で腫瘍を認めた	11.2 ヶ月	7mm	未検
3	41	IB1	粘液性癌	産後健診で腫瘍を認めた	8.1 ヶ月	8mm	16
4	37	IB2	粘液性癌	妊娠 24 週での頸部細胞診 (妊娠 19 週からポリープ様病変)	5.6 ヶ月	25mm	未検
5	30	IB3	粘液性癌	妊娠 18 週でのポリープ切除 (妊娠 13 週から性器出血)	2.4 ヶ月	44mm	18
6	31	IB3	すりガラス様癌	腫瘍組織の自然脱落 (妊娠 9 週からポリープ様病変)	10.3 ヶ月	45mm	18
7	33	IIIB	扁平上皮癌	不正性器出血	15.5 ヶ月	50mm	31
8	33	IIIB	扁平上皮癌	下腹部痛	18.9 ヶ月	35mm	16

FIGO, The International Federation of Gynecology and Obstetrics; HPV, human papilloma virus.

表 3 初期細胞診で異常を指摘された 10 例

No.	年齢	Stage (FIGO 2018)	組織型	診断の契機	初期細胞診から 診断までの期間	腫瘍 最大径	HPV 型
9	34	IA2	扁平上皮癌	産後健診での細胞診	7.7 ヶ月	3 mm	未検
10	41	IB1	扁平上皮癌	産後健診で腫瘍を認めた (妊娠中は観察のみ)	8.1 ヶ月	10 mm	陰性
11	39	IB1	扁平上皮癌	異形成としてのフォロー	17.7 ヶ月	11 mm	16
12	37	IB3	扁平上皮癌	産後健診で腫瘍を認めた	7.7 ヶ月	41 mm	16
13	33	IA1	扁平上皮癌	初期健診	1.3 ヶ月	<1 mm	16
14	29	IA1	扁平上皮癌	初期健診	1.5 ヶ月	4 mm	16
15	34	IB1	腺扁平上皮癌	初期健診	1.1 ヶ月	13 mm	18
16	35	IA1	内頸部型腺癌	初期健診	0.7 ヶ月	4 mm	18
17	27	IIIC1	類内膜癌	初期健診	1.2 ヶ月	50 mm	18
18	32	IB1	粘液性癌	初期健診	1.2 ヶ月	10 mm	16

FIGO, The International Federation of Gynecology and Obstetrics; HPV, human papilloma virus.

A-3 (3) hrHPV-DNA 検査

15 例に対して hrHPV-DNA 検査が行われており、14 例(93.3%) が陽性であった。そのうち 12 例(80.0%) から HPV-16 型または 18 型が検出された (図 8)。

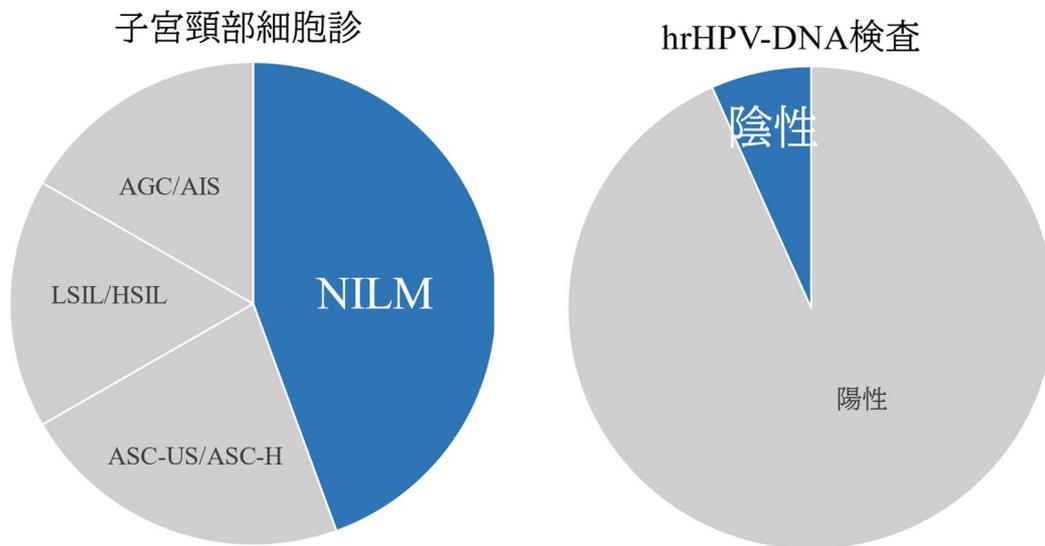


図 8 子宮頸部細胞診と hrHPV-DNA 検査の結果

図は、それぞれ子宮頸部細胞診と hrHPV-DNA 検査の結果の割合を示す。青の範囲が、結果が「正常」であった割合である。

AGC, atypical glandular cells; AIS, adenocarcinoma in situ; ASC-US, atypical squamous cells of undetermined significance; ASC-H, atypical squamous cells, cannot exclude a high-grade lesion; DNA, deoxyribonucleic acid; hrHPV, high-risk human papilloma virus; HSIL, high-grade squamous intraepithelial lesion; LSIL, low-grade squamous intraepithelial lesion; NILM, negative for intraepithelial lesion or malignancy.

A-3 (4) 妊娠中に診断された症例の転帰

18 例のうち 8 例が妊娠中に子宮頸癌と診断された症例であった。診断時の年齢中央値は 32.1 歳で、5 例は今回が初めての妊娠であった (表 4)。4 例 (50.0%) が子宮頸癌の診断の後も妊娠を継続して生児を獲得し、うち 1 例が正期産、3 例が早産 (33 週、34 週、35 週) であった。分娩様式は、子宮頸癌の合併を理由に 4 例全例で帝王切開が選択されていた。4 例 (50.0%) が子宮頸癌の治療のために人工妊娠中絶を選択した。子宮頸癌に対する治療として、7 例 (87.5%) に子宮全摘出術を行った。1 例 (12.5%) が現病死した。

表 4 妊娠中に診断された症例の転帰

No.	年 齢	経 産	診断した 妊娠週数	Stage (FIGO 2018)	産科学的 転帰 (妊娠週数)	治療	腫瘍学的転帰 (観察期間)
13	33	0	7週	IA1	中絶 (7週)	円錐切除術	無病生存 (114ヶ月)
18	32	2	10週	IB1	早産 (35週)	子宮全摘術	無病生存 (113ヶ月)
14	29	1	12週	IA1	正期産 (37週)	子宮全摘術	無病生存 (94ヶ月)
17	27	1	12週	IIIC1	中絶 (15週)	子宮全摘術 +術後化学療法	原病死 (42ヶ月)
16	35	0	13週	IA1	早産 (34週)	子宮全摘術	無病生存 (18ヶ月)
15	34	0	14週	IB1	中絶 (21週)	子宮全摘術	無病生存 (50ヶ月)
5	30	0	19週	IB2	中絶 (21週)	子宮全摘術	無病生存 (112ヶ月)
4	37	0	28週	IB1	早産 (33週)	子宮全摘術	無病生存 (46ヶ月)

経産回数は今回の妊娠を含まない。FIGO, The International Federation of Gynecology and Obstetrics.

A-4 考察

A-4 (1)子宮頸がん検診を行うタイミング

本研究により、妊娠初期スクリーニングにおける子宮頸部細胞診は、周産期子宮頸癌の2次・3次予防に一定の効果を発揮し、腫瘍学的予後の改善に寄与していたと考えられたが、産科学的な予後の改善には不十分であることが示された。

初期細胞診で異常を指摘された群では、診断確定までに要した期間が有意に短く (1.4ヶ月 vs. 10.7ヶ月, $p=0.033$)、腫瘍径も小さい傾向にあった (中央値 10 mm vs. 30 mm, $p=0.19$)。これは妊娠初期に子宮頸部細胞診を行う事が早期診断にある一定の効果を発揮したためと考えられる。また、腫瘍学的な転帰については症例の多くが無病生存していることから不良とは言えない。これは個々の患者においてその時点での適切な治療方法が選択された結果と考えられる。一方で、産科学的な転帰は不良であったと考えられる。なぜなら、妊娠中に診断された8例においても、生児を獲得できた症例は半数にとどまり、妊孕性を温存できたのは1例のみであったからである。

本邦では、婚姻率の低下や晩婚化を背景として、この 10 年の第一子出産年齢は 31 歳前後で推移している (内閣府, 2022)。さらに、これからの 10~20 年で妊娠・出産を迎えるだろう女性のほぼ全員が HPV ワクチンを接種していない (厚生労働省, 2022)。そのため、このまま罹患のピーク年齢が若年化し、罹患率自体も減少しない場合には、妊娠を契機に診断される症例は増加すると考えられる。彼女たちは基本的に妊診・出産を希望している集団であり、治療により妊孕性まで失われてしまうことは少子化対策の面でも大きな損失である。より早期に診断し、腫瘍学的予後だけではなく産科学的予後まで改善するためには、妊娠前に CIN の段階で病変を検出することで、治療成績を維持したまま妊孕性を温存して治療する必要があると考える。そのためには、妊娠前の子宮頸がん検診受診率の向上と、より若年の女性に対しては HPV ワクチンの普及が喫緊の課題である。

A-4(2) 子宮頸がん検診のモダリティ

子宮頸部細胞診での子宮頸がん検診は 2 年毎の検査が推奨されている (国立がん研究センター, 2020)。そのため本研究では、妊娠期間約 40 週 + 分娩後 1 年 = 約 2 年として 2 年毎検診の感度に相当する値を検討した。本研究における初期細胞診の感度は細胞診の陽性率に相当し、細胞診異常 10 例/全 18 症例 = 0.56 と計算される。Cochrane database によれば CIN3+ に対する一般的な子宮頸部細胞診の感度は 0.39-0.85 (Koliopoulos et al., 2017) とされている。一方で、妊娠中には子宮頸部細胞診の検出感度が低下するとの報告もある (Suzuki et al., 2017)。本研究における細胞診陽性率は CIN ではなく浸潤癌に対する検出感度に相当するため、さらなる改善が必要であると考えられる。細胞診の標本作成には、従来から行われている塗抹法と液状化検体を用いた方法 (Liquid-based cytology, LBC) がある。LBC は塗抹法よりも感度が高いことが報告されており、Systematic review では CIN2+ に対する感度は 72.9% vs. 62.5% とされている (Koliopoulos et al., 2017)。しかしながら、LBC による感度の向上が具体的に何に起因するのかを確定することは困難である。子宮頸がん検診では粘液や血液を含む検体も多いため、作成された標本の質の向上、鏡検範囲の狭さ等が有利に働いていると予想される。

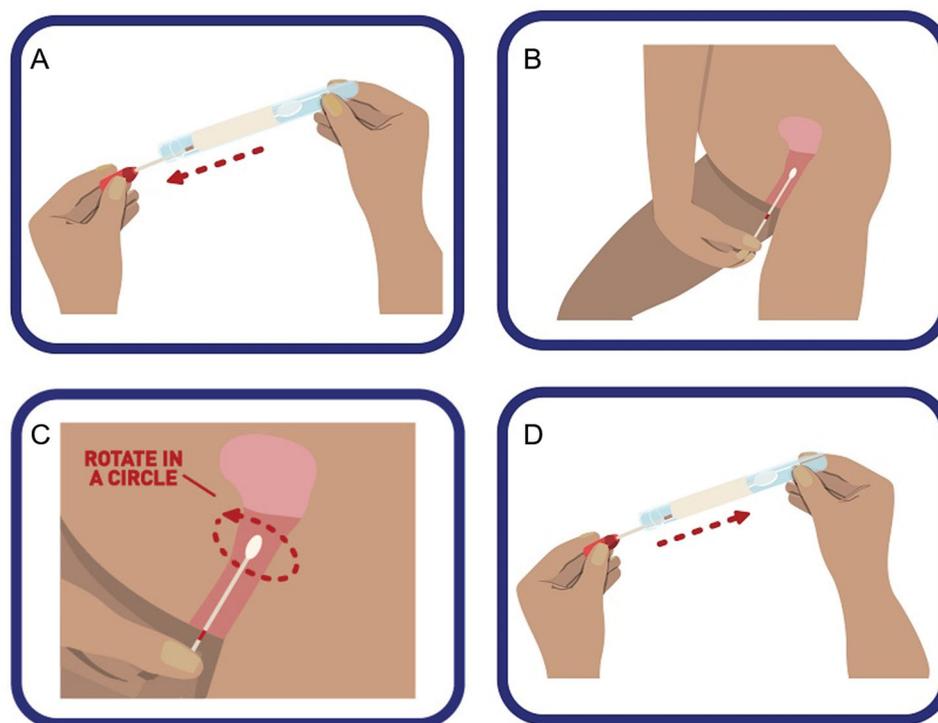
子宮頸がん検診にはさらに HPV-DNA を検出する方法も存在し、欧米のガイドラインではこちらが標準とされている (European Commission, 2022; Fontham et al., 2020)。その理由として CIN2+ に対する感度の高さ、結果の解釈が客観的であること、検体処理のオートメーション化が比較的容易であること等が挙げられる。感度については LBC 法よりも高い (89.9% vs. 72.9%) ことが報告されており (Koliopoulos et al., 2017)、本研究においても hrHPV-DNA 検査が行われた 15 例中 14 例 (93.3%) で陽性であった。つまり、hrHPV 検査により妊娠初期スクリーニングを行っていれば、ほとんどの症例を妊娠初期に検出できていた可能性もあるかもしれない。また、hrHPV 陰性例においては CIN3+ への進展リスクが十分に小さいことが報告されている。欧州

で行われた、スクリーニング検査を子宮頸部細胞診で行った場合と hrHPV-DNA 検査で行った場合で比較した 4 つの大規模 Randomized control study (RCT) の結果では、中央値 6.5 年の観察期間において、hrHPV 陰性では 592060 例中 12 例 (0.0020%) の、細胞診正常であった 525303 例中 35 例 (0.0067%) の子宮頸癌への進展が確認された (Ronco et al., 2014)。そのため、hrHPV-DNA 検査での検診間隔については、細胞診で行う場合の 2 年毎から 5 年毎に延長することが推奨されている (国立がん研究センター, 2020; World Health Organization, 2022a)。一方で、単純に子宮頸がん検診の方法を子宮頸部細胞診から hrHPV-DNA 検査に移行する場合、本来は不要な精密検査や通院が増加する、つまり偽陽性例が増加することも懸念される。なぜなら、HPV 感染や CIN1-2 の多くは自然消退し、CIN3 以上に進展しないためである。特に HPV ワクチンが普及していない本邦においては、欧米と比較して hrHPV 保有率が高いことが予想されるため、この問題は無視できない。子宮頸がん検診を行う 1000 人あたり 42 人の偽陽性増加が試算されている (国立がん研究センター, 2020)。また、hrHPV 陽性例において将来の進展リスクを正確に評価する方法はなく、HPV 感染自体の治療法が確立されていないことにも留意する必要がある。そのため、hrHPV-DNA 検査を基本とする子宮頸がん検診を行うためには、統一された検診結果毎のアルゴリズムの構築が必須条件とされている (国立がん研究センター, 2020) が、本邦において、特に CIN 病変を有さない hrHPV 陽性者の検査・治療アルゴリズムは統一されておらず、各検診母体によって独自に hrHPV-DNA 検査が散発的に行われているのが現状である。

B. 検討課題 2: 尿検体を用いた hrHPV-DNA 検査

B-1 目的

子宮頸がん検診は医師が採取する子宮頸部擦過検体による細胞診に基づいていたが、hrHPV-DNA 検査を用いることで被験者自身による検体採取が可能となった(図 9)。自己採取検体による hrHPV-DNA 検査は、医師採取検体を用いた場合の結果と高い一致率を示し、自宅で採取した検体を郵送することで検査が受けられるため、来院や医師による診察が不要となることから欧米を中心とした先進国諸国で広く受け入れられている (Yeh et al., 2019; Nishimura et al., 2021)。スウェーデンのストックホルム地域では、Covid-19 によるパンデミックで受診行動が制限されていたため、自己採取キットを検診対象者に送付したところ、結果的に検診率が 75%から 85%に増加したと報告されている (World Health Organization, 2022b)。しかしながら本邦では、自己採取キットは職域検診で散発的に行われているのみで、細胞診での評価を基本としていることもあり医師採取が原則である (国立がん研究センター, 2020)。また、専用のキットを必要とすることやそのキットを膈内に挿入することへの抵抗感等も普及を妨げる要因であると指摘されている (Hanley et al., 2016; Onuma et al., 2020)。



All these figures and texts are owned and licensed by Cancer Council Victoria.

図 9 自己採取キットによる検体採取の手順

- 手を洗い、キットのチューブからスワブを抜き赤いマークの位置を確認する。
- 落ち着いた体位でスワブを膈内に、赤いマークの位置まで挿入する。
- スワブを 2-3 回、10 秒ほどかけてゆっくりとまわす。
- 膈からスワブを抜き、チューブへ戻して提出する。

図は Cancer Council Victoria より許諾を得て借用した。

そこで、尿検体を用いた hrHPV-DNA 検査が着目されている。特に本邦では、HPV ワクチンが普及していないため数年～十数年は子宮頸癌の発生が減ることはないと言われ、そのため欧米諸国と比較して相対的に子宮頸がん検診の果たす役割が大きいと考えられるが、検診受診率も目標に遠く及ばない。一般的な採取方法による尿検体を用いれば、専用の器具や婦人科診察が不要になるため、一般健診や学校健診の場でも実施可能になり、大幅な受診率の増加が期待される。システマティックレビューでは、子宮頸部擦過検体と比較した尿検体の感度の比は 0.78 (95% confidence interval [CI]=0.70-0.84) (Bober et al., 2021)、0.84(95% CI=0.78-0.91) (Cho et al., 2022) と報告されている。しかしながら、これらの研究には採尿のタイミング (起床時、随時、婦人科診察の前後)、採尿に用いた器具 (初尿を採取する専用器具、滅菌カップ、一般的なカップ)、検査に使用した尿量 (0.5～60mL)、尿検体の保管条件 (4～-80℃、原尿、Ethylenediaminetetraacetic acid [EDTA]添加、PCR 検査用液添加等)、HPV assay の方法 (Cobas システム、Aptima、Onclarity、Hybrid Capture II 等) が統一されておらず、子宮頸がん検診へ実際に応用する場合の実施可能性について評価することは難しい。

本研究では、子宮頸がん検診における子宮頸部擦過法の代替方法として、尿検体を用いた hrHPV-DNA 検査の実施可能性について検討することを目的とした。一般的な方法で自己採取した初尿検体と、通常の医師採取による子宮頸部擦過検体による hrHPV-DNA 検査結果の一致率を検討した。

B-2 方法

B-2(1) 対象

2016年4月から2020年10月に子宮頸がん検診を受け、子宮頸部細胞診の結果がASC-USであったために北海道対がん協会 札幌がん検診センターを受診した症例352例を対象とした。ASC-USに対する精密検査のため、通常の診療内で子宮頸部擦過検体による hrHPV-DNA 検査、コルポスコピーによる子宮頸部の観察と狙い組織診を行った。子宮頸部細胞診の異常について精密検査を受けた既往、またはCINの診断や治療の既往があった14例を除外し、hrHPVの有無が不明である338例について、自己採取による尿検体を用いて hrHPV-DNA 検査を実施し、子宮頸部擦過検体との一致率を検討した。

B-2(2) 検体採取、処理の方法

子宮頸部検体は、ブラシ(Rovers Medical Devices B.V., Oss, the Netherlands) を用いて擦過し、ブラシの先端を10mlのBD SurePath liquid (BD, Becton Dickinson Ltd., Burlington, NC, USA) が入ったBD SurePath collection vialに入れて採取した。尿検体は、婦人科診察前に未滅菌の紙製カップで被検者自身により随時尿の初尿20-50mlを採取した。検体は4℃で保管され、そのうち10mlを24時間以内に遠心分

離(1800RCF, 10 分間) し、上清を破棄、沈渣に BD SurePath liquid 2ml を加え、Cobas 4800 システム (Roche Molecular Diagnostics, Pleasanton, CA, USA) にて hrHPV-DNA 検査を行った (図 10)。

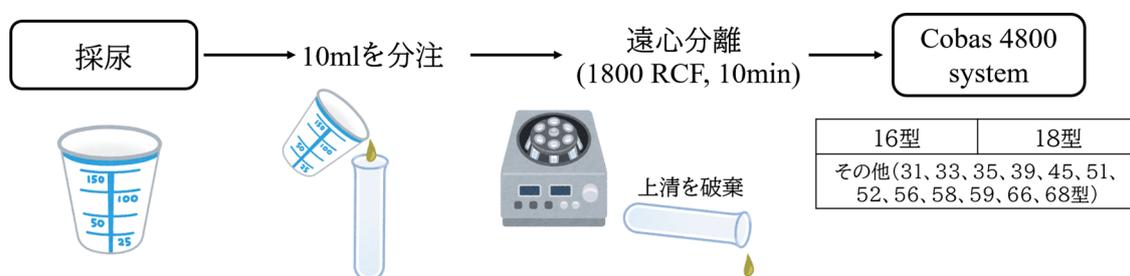


図 10 尿検体処理の流れ

被検者自身が非滅菌カップを用いて自身で初尿を採尿する。そのうち 10 ml を遠心分離した後、上清を破棄して Cobas 4800 システムで hrHPV-DNA 検査を行った。Min, minutes; RCF, relative centrifugal force.

B-2(3) hrHPV-DNA の検出

子宮頸部、尿検体に対する hrHPV-DNA 検査はどちらも Cobas 4800 システムを用いて行った。Cobas 4800 システムは、保険診療検査である HPV 核酸検出 (簡易ジェノタイプ判定) について認可されている機器であり、検体調製とその後の real-time PCR の手順が完全自動化されている。hrHPV である 16 型、18 型、その他 (31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、66、68 型) を検出し、結果としてそれぞれ 16 型、18 型、その他ハイリスク型として出力することができる。同システムはヒトのグロビン遺伝子をコントロールとして同時に増幅することで、採取された細胞数、その後の核酸増幅までが適切に行われたことを確認しており、適切に増幅されない場合には invalid とし出力される。

B-2(4) 臨床検査と病理組織検査

コルポスコピーによる子宮頸部の観察、狙い組織診は産婦人科専門医または婦人科腫瘍専門医が行い、診断は WHO 分類第 5 版 (WHO Classification of Tumours Editorial Board, 2020) に沿って行った。

CIN2 病変を有するが、子宮頸部と尿検体による hrHPV-DNA 検査のどちらも陰性だった症例には、組織診のホルマリン固定パラフィン包埋 (formalin-fixed, paraffin-embedded, FFPE) 標本に対して免疫組織化学染色 immunohistochemistry (IHC) を行って p16 (Roche, Heidelberg, Germany) と Ki67 (Agilent Dako, Stockport, UK) の発現パターンを評価した。

B-2(5) 統計解析

子宮頸部検体、尿検体における hrHPV-DNA 検査の結果は、Cobas 4800 システムの出力結果から以下のように解釈した：16/18 型陽性 (HPV 16 型かつ/または 18 型が陽性)；hrHPV 陽性 (16/18 型陽性かつ/またはその他 hrHPV 型陽性)；hrHPV 陰性 (HPV 16 型、18 型、その他ハイリスク型全てが陰性)。

子宮頸部検体と尿検体間の一致率は Kappa 係数を算出し、poor (< 0)、slight (0.01–0.20)、fair (0.21–0.40)、moderate (0.41–0.60)、substantial (0.61–0.80)、almost perfect (0.81–1.00) と解釈した (Cohen, 1960)。hrHPV-DNA の検査陽性率、感度はカイ二乗検定を用いて評価し、 $p < 0.05$ を有意差ありと定義した。統計解析には R version 4.1.1: A language and environment for statistical computing (R core team 2021)、irr package を用いた。

B-2(6) 倫理的遵守事項

本研究は「ヘルシンキ宣言 (2013 年 10 月修正)」及び「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」(平成 26 年文部科学省・厚生労働省告示第 3 号) を遵守して実施された。また、北海道対がん協会倫理審査委員会にて 2016 年 3 月 18 日に承認 (2016-001) され実施した。研究参加者にはあらかじめ文書にて同意を得た。

B-3 結果

B-3(1) 対象

2016 年から 2020 年に北海道対がん協会の子宮頸がん検診として子宮頸部細胞診を受けた女性は 148342 人であった。全ての標本を北海道対がん協会札幌検診センターで評価し、1347 例が ASC-US と判定された。精密検査のため札幌検診センターを受診した 352 例を対象とし、CIN の診断・治療歴や細胞診異常の検査歴のあった 14 例を除外、本研究への参加に同意した 338 例について初尿検体を採取した (図 11)。研究への同意取得率は 100%であった。Invalid と判定された検体は認めなかった。

研究に参加した 338 例の年齢は中央値 46 歳 (範囲 20-67 歳) であった。狙い組織診の結果は、1 例(0.3%) が腺癌、17 例 (5.0%) が上皮内癌を含む CIN3、25 人 (7.4%) が CIN2 であった。

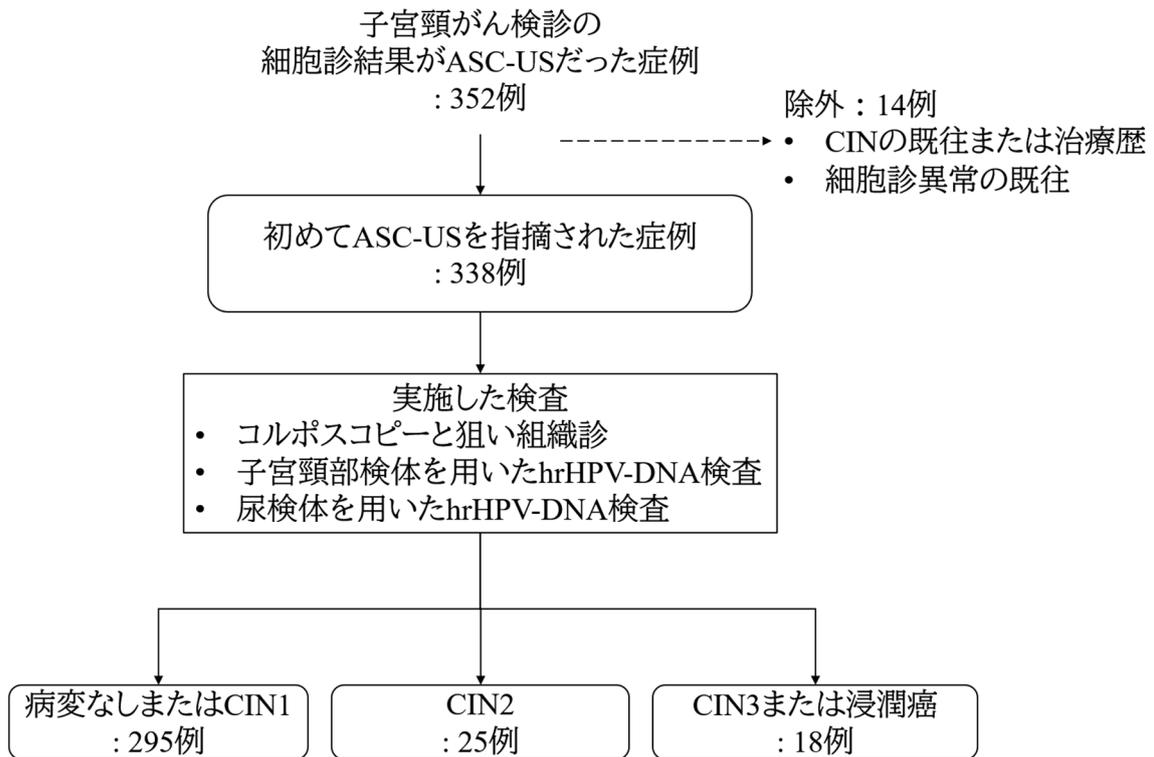


図 11 対象の流れと最終診断

最終的に 338 例が参加した。最終診断は 295 例が異形成なし/CIN1、25 例が CIN2、18 例が CIN3 以上であった。ASC-US, atypical cells of undetermined significance; CIN, cervical intraepithelial neoplasm; NED, no evidence of disease.

B-3(2) 尿検体と子宮頸部検体を用いた検査結果の一致率

尿検体と子宮頸部検体を用いた hrHPV-DNA 検査結果の一致率について 2 つのパターンで検討した。hrHPV 型全体について評価した場合と臨床的に特にリスクの高い 16/18 型に限定した場合の陽性/陰性である。hrHPV 型全体での単純な一致率は 90.8% (307 例/338 例) であった (表 5)。Kappa 係数は 0.765 (95% CI=0.717-0.806) であり、一致度は substantial であった。子宮頸部検体と尿検体の両方が陰性だった症例を除いた場合の一致率、つまり少なくともいずれかの検査で hrHPV 陽性だった症例における一致率は 70.5% (74 例/105 例) であった。

表 5 hrHPV 型全体における hrHPV-DNA 検査の一致率

		尿検体を用いた結果	
		陽性	陰性
子宮頸部検体を用いた結果	陽性	74 (21.9%)	18 (5.3%)
	陰性	13 (3.8%)	233 (68.9%)

括弧内の値は、全体に対する割合を表示した。

一方で、HPV 16/18 型のみに限定した場合の一致率は 98.8% (334 例/338 例)であった (表 6)。Kappa 係数は 0.894 (95% CI=0.870-0.914) となり、一致度は almost perfect であった。少なくともいずれかの検査で 16/18 型陽性だった症例での一致率は 81.8% (18 例/22 例) であった。

表 6 HPV 16/18 型における hrHPV-DNA 検査の一致率

		尿検体を用いた結果	
		陽性	陰性
子宮頸部検体を用いた結果	陽性	18 (5.3%)	2 (0.59%)
	陰性	2 (0.59%)	316 (93.5%)

括弧内の値は、全体に対する割合を表示した。

B-3(3) 年齢別の有病率と hrHPV 陽性率

35 歳未満群における hrHPV-DNA 陽性率は子宮頸部検体で 41.7% (25 例/60 例)、尿検査で 46.7% (28 例/60 例) であり、いずれの検査においても 35 歳以上群に比べて有意に高かった (子宮頸部検体 41.7% vs 24.1%、尿検体 46.7% vs 21.2%、どちらも $p < 0.01$) (表 7、8)。

狙い組織診により計 111 例に CIN・浸潤癌病変が認められた。CIN3+を有していたのは 18 例で、年齢階級別の有病率は 20 代が 2.6%、30 代が 9.3%、40 代が 5.3%、50 歳以上が 4.7%であった。CIN2+の年齢階級別の有病率は 20 代が 12.8%、30 代が 37.2%、40 代が 11.3%、50 歳以上が 4.7%であった。次に、CIN3+に対する hrHPV-

DNA 検査の陽性率 (スクリーニングで用いた場合の感度に相当する) を検討した。CIN3+における陽性率は子宮頸部検体、尿検体ともに高く、それぞれ 88.9% (16 例/18 例)、83.3% (15 例/18 例) であった。子宮頸部検体と尿検体の両方で hrHPV 陰性だったのは 5.6% (1 例/18 例) であった。CIN2+における hrHPV 陽性率は、子宮頸部検体で 69.8% (30 例/43 例)、尿検体で 65.1% (28 例/43 例) であった。20 歳代の陽性率は両検査とも 40.0% (2 例/5 例)、30 歳以上での陽性率は子宮頸部検査で 73.7% (28 例/38 例)、尿検査で 68.4% (26 例/38 例) であり、30 歳以上ではどちらの検体でも陽性率が高かった。

表 7 尿検体を用いた hrHPV 検査の年齢階級別陽性率

年齢	CIN1	CIN2	CIN3+	計
20-34	52.6% (10/19)	50.0% (5/10)	100% (3/3)	46.7% (28/60)
35-	22.4% (11/49)	53.3% (8/15)	80.0% (12/15)	21.2% (59/278)
計	30.9% (21/68)	52.0% (13/25)	83.3% (15/18)	25.7% (87/338)
20-29	60.0% (9/15)	25.0% (1/4)	100% (1/1)	43.6% (17/39)
30-39	11.1% (1/9)	58.3% (7/12)	100% (4/4)	39.5% (17/43)
40-49	35.5% (11/31)	55.6% (5/9)	62.5% (5/8)	24.0% (36/150)
50-	0% (0/13)	0% (0/0)	100% (5/5)	16.0% (17/106)

CIN, cervical intraepithelial neoplasm; CIN3+, at least CIN3.

表 8 子宮頸部検体を用いた hrHPV 検査の年齢階級別陽性率

年齢	CIN1	CIN2	CIN3+	計
20-34	42.1% (8/19)	50.0% (5/10)	100% (3/3)	41.7% (25/60)
35-	28.6% (14/49)	60.0% (9/15)	86.7% (13/15)	24.1% (67/278)
計	32.4% (22/68)	56.0% (14/25)	88.9% (16/18)	27.2% (92/338)
20-29	46.7% (7/15)	25.0% (1/4)	100% (1/1)	35.9% (14/39)
30-39	22.2% (2/9)	66.7% (8/12)	100% (4/4)	44.2% (19/43)
40-49	38.7% (12/31)	55.6% (5/9)	75.0% (6/8)	24.7% (37/150)
50-	76.9% (1/13)	0% (0/0)	100% (5/5)	20.8% (22/106)

CIN, cervical intraepithelial neoplasm; CIN3+, at least CIN3.

B-3(4) hrHPV 陰性であった CIN2+症例

CIN2+であった42例のうち9例(20.9%)では、子宮頸部と尿検体のどちらからもhrHPV-DNAが検出されなかった。この9例のうち、1例はCIN3であり、8例はCIN2であった(表9)。また、3例が外科的治療を受け、6例は子宮頸部細胞診によって経過観察となった。経過観察を行った6例のうち5例が1年以内に子宮頸部細胞診で異常を指摘できなくなり、自然消退と判断した。他の1例においてもCIN3以上への進展は認められなかった。CIN2であった8例において、狙い組織診のFFPE標本を用いてp16とKi67に対するIHCを行い、これらの発現パターンを評価した。3例(#1-3)はp16、Ki67ともに発現が増加していたが、5例(#4-8)は#4を除きp16発現陰性でKi67が発現陽性であった。これらの追加所見は治療方針の決定に影響を与えなかった。

表9 hrHPV 陰性であった CIN2+の9例

No.	診断	年齢	p16	Ki67	その他の所見	転帰
1		45	全層、びまん性に発現	上皮の下 2/3 で発現	細胞分裂像、細胞異型	子宮頸部円錐切除術
2		41	疎らな発現	基底層の一部に発現		ASC-US までの細胞診異常
3	CIN2	37	傍基底層にのみ発現	傍基底層で弱く発現	コイロサイトーシス、炎症細胞浸潤	細胞診正常化
4		33	発現が消失	基底層の一部に発現		子宮頸部蒸散術
5		21	発現が消失	発現が消失		細胞診正常化
6		30	発現が消失	発現が消失		細胞診正常化
7		26	発現が消失	発現が消失		細胞診正常化
8		26	発現が消失	発現が消失	炎症細胞浸潤	細胞診正常化
9	CIN3	48	未実施	未実施	細胞分裂像、細胞異型、コイロサイトーシス	子宮頸部円錐切除術

免疫組織化学法による p16、Ki67 の染色パターンと細胞所見、転帰をまとめた。ASC-US, atypical squamous cells of undetermined significance; CIN, cervical intraepithelial neoplasm; hrHPV, high-risk human papilloma virus; IHC, immunohistochemistry.

B-4 考察

B-4(1) 尿 HPV 検査を用いた子宮頸がん検診の実施可能性

本研究により、子宮頸部細胞診が ASC-US であった症例において、尿検体と子宮頸部検体での hrHPV-DNA 検査の結果は、HPV 16/18 型では 98.8%、hrHPV 型全体では 90.8% で一致することが明らかとなった。また、研究に参加した 338 例の尿検体で Invalid と判定されたものはなかった。

本邦における低い子宮頸がん検診受診率の背景には、特に地方において、産婦人科医師の不足が挙げられる (Sano et al., 2017)。検診が実施される日程や精密検査として受診できる医療機関が限られてしまうからである。自己採尿キットも、使用感や感度においては優れているが、特別な器具を用意する必要があり、自身で器具を腔に入れることの抵抗感等から本邦ではほとんど普及していない (Hanley et al., 2016; Onuma et al., 2020)。本研究で用いた採尿方法では、特別な採取キットや内診台、産婦人科医師の診察が不要であることから、一般的な健康診断と同等の設備、手順により実施が可能であると考えられる。2019 年の国民生活基礎調査によれば、子宮頸がん検診受診率は 43.7% であった一方で、一般的な健康診断や人間ドッグを受診した女性は 69.7% であった (厚生労働省, 2020)。つまり、尿検体を用いた子宮頸がん検診によりこの水準まで受診率を向上させられることが示唆される。既報では年齢、人種、地域による一致率の差は示されていない (Bober et al., 2021; Cho et al., 2022) ため、いわゆる発展途上国の地方地域で行う子宮頸がん検診への応用も期待できる。

B-4(2) 尿検体と子宮頸部検体での結果不一致例

尿検体と子宮頸部検体の少なくともいずれかで hrHPV-DNA が検出された 105 例のうち、18 例 (17.1%) は子宮頸部検体でのみ、13 例 (12.4%) は尿検体でのみ陽性であった。

子宮頸部検体でのみ hrHPV 陽性となった症例は、子宮頸がん検診の方法を現行法から尿中 hrHPV-DNA 検査に移行した場合に増える偽陰性例に相当する。しかしながら、既報では子宮頸部検体を用いた結果に対する尿検体での陽性率がやや低いと結論づけた報告が多いが、これらにおいても尿検体でのみ hrHPV 陽性となっている症例が 5-10% 程度認められている (Vorsters et al., 2012; Senkomago et al., 2016; Pathak et al., 2014; Maged et al., 2018; Pattyn et al., 2019; Xu et al., 2020; Terada et al., 2022)。つまり、尿検体を用いることで新たに検出される population も一定数存在することが示唆される。また、子宮頸部から採取する場合でも、単回の検査では全ての hrHPV 感染を同定出来るわけではないことが示されている (Liu, et al., 2014; Fu et al., 2015)。尿中 hrHPV-DNA 検査は、検体採取の簡便さから複数回の検査を実施することが比較的容易であり、検査回数を増やすことで検出率を向上できる可能性がある。

B-4(3) 年齢階級別の hrHPV 陽性率

尿検体から hrHPV-DNA が検出される明確な機序は明らかとなっておらず、子宮頸部から脱落した細胞が帯下とともに混入しているのであれば、帯下の量や性行動、月経周期によって検出率が異なる可能性がある。これらの因子によって検診対象者を決定していくことは現実的では無いため、本研究ではサロゲートマーカーとしての年齢によって hrHPV 陽性率に差が生じないかを検討した。本邦における 2020 年の第一子出産年齢は平均 30.7 歳であり (政府統計の総合窓口 (e-Stat), 2022a)、妊娠を契機に 30 歳前後で子宮頸がん検診を受ける機会があると考えられる。また、女性の初婚割合は 25-29 歳をピークに、35-39 歳では急激に低下する (内閣府, 2022)。そのため、35 歳までにパートナーが固定している、つまり新たな HPV 感染が生じる割合が低下すると考えられた。これらのことから、まず 35 歳未満とそれ以上の 2 群に分けて hrHPV-DNA の陽性率を検討した。本研究では、35 歳未満の集団で hrHPV 陽性率が有意に高い一方で CIN2+ の有病率は低かった。これは、若年者で一過性の hrHPV 感染が多いことを示唆していると考えられる。実際に本邦において、hrHPV 検査を子宮頸がん検診に試験的に導入した検討では、精査率が有意に増加したと報告されている (Kono et al., 2021)。また、30 歳未満の CIN1-2 の大部分は自然消退が期待できるため (国立がん研究センター, 2020)、これらの症例を早期発見するメリットは少なく、本邦のガイドラインでは 30 歳以上が HPV 検査単独法の対象となっている。そのため、30 歳未満とそれ以降 10 歳毎の年齢階級別でも検討した。30 歳未満の CIN2 症例において hrHPV 陽性率が低い傾向が見られたが、症例数が少なく統計学的な評価は困難であった。

B-4(4) hrHPV 陰性であった CIN2+症例

本研究では、子宮頸がん検診により発見すべき疾患として CIN2 を含むかどうかでも検討した。つまり、C. CIN3+に対する hrHPV 陽性率と、D. CIN2+に対する hrHPV 陽性率を算出した。本邦の細胞診による検診では CIN2 以上の病変を発見すべき疾患としているが (国立がん研究センター, 2020)、HPV 検査による検診においては議論のある点である (Cuzick et al., 2008; Madgi et al., 2021; Onuki et al., 2020)。特に HPV ワクチンが普及していない本邦においては、欧米諸国での報告より多くの一過性感染症例を発見する、つまり過剰診断を生じることが予想されるためである。一方で、hrHPV 陰性である CIN2+の症例は、HPV 検査を主体とした検診では見逃すことになる。本研究は子宮頸部細胞診により ASC-US であった症例を対象としたため、偽陰性に相当することになる。しかしながら、hrHPV 陰性の場合の浸潤癌への進展リスクは十分低く (Ronco et al., 2014)、これらの症例が将来的にも臨床的な問題となる可能性は低い。165 例の hrHPV 陰性の CIN2 症例において、2 年間で進展した症例は認められなかったと報告されており (Hosaka et al., 2013)、本研究でも無治療で経過観察された 6 例全例で進展は見られなかった。

子宮頸部検体と尿検体のいずれでも hrHPV-DNA が検出されなかった CIN2 症例については p16 と Ki67 に対する IHC を行い検討した。これら 2 つは子宮頸部上皮内病変の補助診断として用いられており、CIN ではより進展した病変で強い発現を認める (日本産科婦人科学会, 2017)。p16 の高発現パターンはハイリスク型の HPV に由来する E7 タンパクが pRB を阻害していることを示唆しており、細胞増殖に関連する Ki67 の高発現パターンは CIN が進展していることを示唆している (Silva et al., 2017)。

#1-3 は p16 と Ki67 がともに発現しており形態学的診断に矛盾しなかったが、hrHPV-DNA 検査が陰性だったのは低リスク HPV または中間リスク HPV の感染に起因していたからである可能性がある (Petry et al., 2016)。本研究では、ハイリスク型も含めて、ジェノタイピング検査を行わなかったため、どのジェノタイプの HPV が関与していたかは不明である。#4-8 は、p16 と Ki67 の発現パターンはその時点での形態学的な診断と一致しなかったが、経過観察となった #5-8 の全例で病変は自然消退したため、その後の臨床経過とは矛盾するものではなかった。#9 は CIN3 病変を有していたが hrHPV-DNA が検出されなかったため、HPV 検査を主体とした子宮頸がん検診へ移行することで新たに生じる偽陰性の症例である。なお、CIN3 に対する初回治療の標準は HPV ステータスに関わらず外科的切除であり、hrHPV 陰性例においても積極的に経過観察を選択するということが推奨されていない (日本産科婦人科学会, 2020b; 日本婦人科腫瘍学会, 2022) ため、#9 においても子宮頸部切除術 (円錐切除術) が選択された。本研究で用いた Cobas4800 システムは高リスク型とされる全 14 種の HPV-DNA 型に対応するが、これは日本人の子宮頸癌患者から検出された HPV 型のうち 97.4% を占めている (Onuki et al., 2020)。逆に、hrHPV 型のみを対象としたスクリーニングでは 2-3% の偽陰性例が生じることが予想される。細胞診を主体とした検診から HPV 検査を主体とした検診へ移行することで、このような偽陰性例が新たに生じるが、HPV 検査自体の感度が高いため、全体で見ればより多くの病変を検出することが期待される (Mayrand et al., 2007; Arbyn et al., 2013; Dijkstra et al., 2016; Koliopoulos et al., 2017; Magdi et al., 2021)。また、細胞診と HPV 検査の併用することで偽陰性例は減少するが、検診 1000 人あたり偽陽性が 101 人と著しく増加すると算出されている (国立がん研究センター, 2020)。

B-4(5) 子宮頸がん検診への応用

本研究により一般的な方法で採取した尿検体と産婦人科医師が採取した子宮頸部擦過検体において、hrHPV-DNA 検査の結果は高い確率で一致することが明らかとなった。しかしながら、尿中 hrHPV-DNA 検査による子宮頸がん検診を実施するためには大きく 2 つの課題がある。細胞診を主体とした検診から HPV 検査を主体とした検診への移行と、医師採取による子宮頸部擦過検体から自己採取による尿検体への移行に伴う課題である。前者における最大の問題の一つが過剰診断の増加である。

現状の HPV 検査では一過性感染と持続感染を区別することができないため、特に形態学的異常を伴わない HPV 陽性症例に対する統一された検査治療アルゴリズムを、本邦の実情に即した形で確立することが必須である。また、HPV は性的接触で感染することから、陽性者に対する偏見や差別を防ぐため被験者のみならず一般社会への情報発信も重要である (Griffin-Mathieu et al., 2022)。後者における課題のひとつとして、採尿方法やその後の検体処理のプロトコルが確立されていないことが挙げられる。本研究が、特別な採尿容器を用いない方法で高い一致率を示したことは重要な意義があると考えられる。

また、本研究は前向き研究であったが、子宮頸がん検診で ASC-US の結果となり、札幌市の単一の施設を受診した症例のみを対象としたところに選択 Bias が生じた可能性がある。ASC-US 症例を対象としたのは、HPV 感染の全段階、つまり、浸潤癌、前がん病変としての CIN、一過性感染としての細胞診異常、HPV 非関連病変、HPV 感染のない CIN、炎症、扁平上皮化成等を含み、hrHPV 感染の有無が大きな臨床的意義を持つ集団だからである。既報では、ASC-US 症例における hrHPV の陽性率は 30～50%、また CIN2+の有病率は 7-12%と報告されている (Ibanez et al., 2012; Cheng et al., 2016; Kyrgiou et al., 2017; Fujiwara et al., 2019; Mitamura et al., 2019; Tao et al., 2021)。本研究でも子宮頸部検体および尿検体ともに hrHPV 陰性であった症例が 68.9% (233 例/338 例)、診断が正常または CIN1 であった症例が 87.3% (295 例/338 例)を占めていた。結果的に、特に CIN3+病変における陽性率、つまり検診方法として採用した場合の感度に相当する値を検討するには症例数が不足していたと考えられる。そのため、CIN2+病変を持つ症例における尿中 hrHPV-DNA 陽性率を前向きに検討する研究を 2021 年 5 月から開始し、症例を集積している最中である (自 020-0501「尿 HPV 検査を用いた子宮頸がん検診の実施可能性に関する研究」)。この研究では、尿中 hrHPV-DNA 検査に関わる手順自体の検討、つまり尿量や採尿回数、保存期間等についての検討も予定している。

第2章：子宮体癌における検討

緒言

1. 子宮体癌とは

子宮体癌は子宮内膜から発生する上皮性悪性腫瘍であり、子宮内膜癌 Endometrial cancer (EC) とも呼ばれる。本邦ではこの20年で年齢調整罹患率が約3倍に増加し、罹患数としては婦人科で扱う悪性腫瘍の中で最多となっているが、死亡数は最少である(国立がん研究センター, 2022)。その背景には、ECの3/4以上が進行期I期またはII期で診断されていることが挙げられる(日本産科婦人科学会, 2022b)(図12)。ECは不正出血等の自覚症状を呈することで早期に発見されることが多いため、手術加療が主治療となることがほとんどである。5年生存率はI期が95%、II期が90%前後であるため(日本産科婦人科学会, 2022b)、EC全体として比較的に予後良好な癌腫と考えられている。

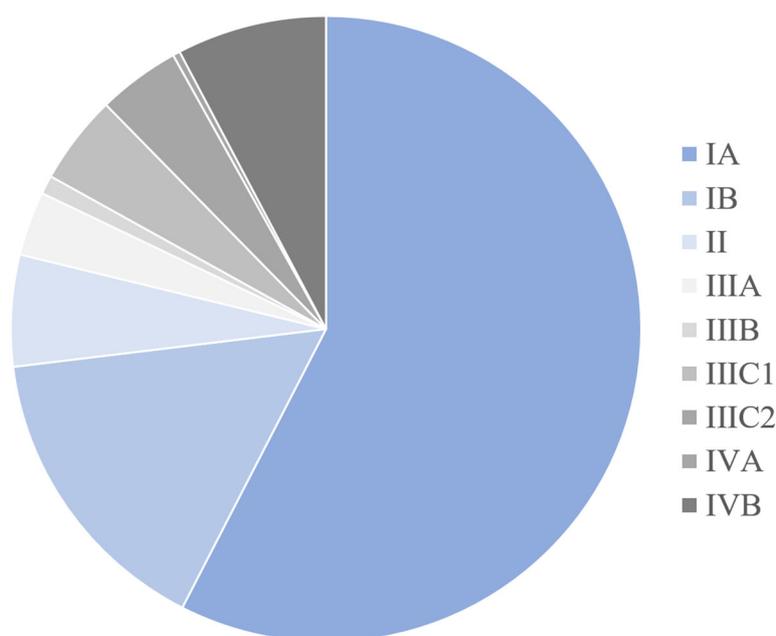


図12 子宮体癌の進行期分布

図は2020年度に診断された子宮体癌症例の進行期分布を示す。

日本産科婦人科学会 婦人科腫瘍委員会報告より作成。

2. Type分類

ECは、発がん過程におけるエストロゲン依存性が臨床像をよく反映するため、従来から2つのTypeに分けられてきた。エストロゲン依存性のType Iと非依存性のType IIである(Bokhman, 1983)。Type IがEC全体の約80%を占め、肥満や糖尿病、未経産、多嚢胞性卵巣症候群などのプロゲステロンを伴わないエストロゲン暴露を背

景として、閉経前後に好発する高分化型腺癌 (類内膜癌 Grade1/2) が典型例である。臨床的には閉経前後の不正性器出血や子宮内膜肥厚を伴う無月経・希発月経における子宮内膜組織診で診断されることが多い。Type II はエストロゲン非依存性に発生し、組織学的に異型の強い類内膜癌 Grade 3 や特殊型 (漿液性癌、明細胞癌など) が多い。好発年齢は 60 歳以上で、診断時から子宮外病変を伴っていることも多いが、同じ進行期でも Type I と比較すると予後が不良である。

3. 分子サブタイピングの試み

統合的な遺伝子解析に基づいた The Cancer Genome Atlas (TCGA) の成果から、EC の 4 つの分子サブタイプが報告された (Cancer Genome Atlas Research et al., 2013)。polymerase-epsilon gene (*POLE*, ultramutated)、microsatellite instability (MSI, hypermutated)、copy-number low (CN low, endometrioid)、copy-number high (CN high, serous-like) であり、従来の臨床病理学的な分類によらずに予後を層別化することが報告され、治療のさらなる個別化に応用されることが期待されている。しかしながら、この TCGA 分類は腫瘍組織の新鮮凍結検体を用いた全ゲノム解析等を含むため、そのまま臨床応用することは現実的ではない。

そこで実臨床へ応用できる方法で代替した Proactive Molecular Risk Classifier for Endometrial Cancer (ProMisE) が提唱され、複数のコホートで予後を層別化することが報告された (Talhok et al., 2015; Talhok et al., 2017; Kommos et al., 2018)。ProMisE では、*POLE* exonuclease domain mutation (POLE-EDM) に限った変異解析と MMR 蛋白と p53 に対する IHC により MMR-D、POLE-EDM、p53 wild type (p53 wt)、p53 abnormal (p53 abn) の 4 群に分類する。分類の始めに MMR-D を抽出する点でも TCGA 分類と異なる。WHO は、EC の分類に従来の病理組織検査における形態学的分類を主に踏襲したが、TCGA 分類の一部を IHC で代用することや L1 cell-adhesion molecule (L1CAM) 等の分子マーカーについても言及している。(WHO Classification of Tumours Editorial Board, 2020)。複数の癌腫において L1CAM の高発現が予後不良因子であることが報告されており (Zeimet et al., 2013; Hua et al., 2016)、当科で治療した EC のコホートにおいても、L1CAM 高発現群において予後不良因子である非類内膜癌、脈管侵襲、腹水細胞診陽性例が多く、進行症例においては L1CAM 自体が独立した予後不良因子となることを報告した (Asano et al., 2020)。既にこれらの分子サブタイピングを治療選択のため採用した臨床試験やガイドラインは存在するが (Stelloo et al., 2016; Oaknin et al., 2022)、MMR-D に対する免疫チェックポイント阻害剤を除いて、現時点では治療方針を決定するだけのエビデンスには乏しいと考えられる。なぜなら、これらの分子サブタイピングが予後を層別化することは報告されているが、分子マーカーと関連させてどの治療が奏功したのか、あるいは奏功しなかったのかを検討されていないからである。さらに、これらの報告のほとんどは欧米での縮小手術 + 術後放射線療法を主な治療戦略としたコホートで検討されて

きており、本邦に代表される拡大手術＋術後補助化学療法といった治療戦略の異なるコホートでも同様に予後が層別化されるは不明である。もし治療戦略の違いによって、予後が異なる分子サブタイプが存在すれば、その分子マーカーに応じた治療の個別化の糸口になると考えられる。

4. 治療方針を決定する因子

前述のような分子サブタイピングや分子マーカーが報告されているが、現在のところ治療方針はおもに組織学的異型度と進行期分類によって決定されている (表 10、図 13)。本邦のガイドラインは、手術により子宮摘出が可能である症例に関しては手術加療を、術後に残存腫瘍がない場合でも術後病理組織検査による再発リスク分類で中リスク以上の症例には術後補助化学療法を推奨している (日本婦人科腫瘍学会, 2018)。一方で、欧米のガイドライン等では、III/IV 期症例を除いて、術後補助療法としては放射線療法が推奨されている (National Comprehensive Cancer Network, 2021; National Cancer Institute, 2022; Oaknin et al., 2022)。

表 10 手術進行期分類 (日本婦人科腫瘍学会, 2018)

I 期:癌が子宮体部に限局するもの
IA 期:癌が子宮筋層 1/2 未満のもの
IB 期:癌が子宮筋層 1/2 以上のもの
II 期:癌が頸部間質に浸潤するが、子宮をこえていないもの
III 期:癌が子宮外に広がるが、小骨盤腔をこえていないもの、または所属リンパ節へひろがるもの
IIIA 期:子宮漿膜ならびに／あるいは付属器を侵すもの
IIIB 期:腔ならびに／あるいは子宮傍組織へ広がるもの
IIIC 期:骨盤リンパ節ならびに／あるいは傍大動脈リンパ節転移のあるもの
IIIC1 期:骨盤リンパ節転移陽性のもの
IIIC2 期:骨盤リンパ節への転移の有無にかかわらず、傍大動脈リンパ節転移陽性のもの
IV 期:癌が小骨盤腔をこえているか、明らかに膀胱ならびに／あるいは腸粘膜を侵すもの、ならびに／あるいは遠隔転移のあるもの
IVA 期:膀胱ならびに／あるいは腸粘膜浸潤のあるもの
IVB 期:腹腔内ならびに／あるいは鼠径リンパ節転移を含む遠隔転移のあるもの

	筋層浸潤なし	筋層浸潤あり(<1/2)	脈管侵襲あり	筋層浸潤あり(1/2≤)	頸部間質浸潤あり	子宮外病変あり
類内膜癌 G1/2	再発低リスク群					
類内膜癌 G3	再発中リスク群			再発高リスク群		
漿液性癌 明細胞癌						

図 13 子宮体癌術後再発リスク分類

子宮体がん治療ガイドライン 2018 年版 (日本婦人科腫瘍学会, 2018)より作成。

初回手術におけるリンパ節郭清の適否と郭清範囲についても議論のあるところである。リンパ節郭清によって正確な手術進行期を決定するという診断的意義についてはコンセンサスが得られている。原発巣が IA 期相当であっても、骨盤リンパ節転移が類内膜癌 Grade3 の 5-9%、特殊型の 20-60%に認められる(National Cancer Institute, 2022) ことから、このような症例の手術進行期を正確に診断することは術後補助療法を決定する上でも重要である。さらに、骨盤領域に加えて傍大動脈リンパ節も所属リンパ節であるため、リンパ節転移の可能性がある程度以上見込まれる症例では郭清範囲を腎静脈の高さまで拡大することも考慮されるべきである。しかしながら、これらリンパ節郭清の治療的意義についてはコンセンサスの得られる確立されたエビデンスがない。治療的意義についての肯定的な報告は存在する (Chan et al., 2006; Todo et al., 2010; Seagle et al., 2017) が、いずれも後方視的研究であり、手術の質や手術内容についての詳細な比較検討や均一化は困難であり、傾向スコアマッチング等の手法を用いても排除できないバイアスが存在する。そのため、傍大動脈リンパ節郭清を加えることの治療的意義について検討する前向き比較試験を、当科が研究代表施設となって実施している最中である (Watari et al., 2017)。一方、欧米では腹腔鏡手術、ロボット支援手術の普及も背景に、リンパ節郭清ではなくセンチネルリンパ節マッピング・生検によりリンパ節転移の有無を診断することが主流となりつつある (National Comprehensive Cancer Network, 2021; National Cancer Institute, 2022; Oaknin et al., 2022)。リンパ節転移のリスクとして図 14 のような因子が報告されているが、多くは術後再発リスク分類と共通しており、術後に決定される因子も多い。そのため、当科では術式を決定するための方法として術前スコアリングシステム、LNM score を用いている (Todo et al., 2003)。術前に IA 期と判断された症例に対しても、MRI での腫瘍 volume、血清 CA125 値、内膜組織診での組織型/組織学的異型度により 0-3 点で評価し、1 点以上=中リスク以上の症例に対して骨盤+傍大動脈リンパ節郭清を提案している。また、術後補助療法としては、再発リスク分類での中・高リスク群に対して全身化学療法を行っている。

	子宮体がん 治療ガイドライン	ガイドライン以外
術前に判明する因子		CA125高値 MRIでの腫瘍volume 複数の骨盤リンパ節腫大 傍大動脈リンパ節腫大
術後に確定する因子	筋層浸潤 $\geq 1/2$ 高悪性度な組織型 脈管侵襲 頸部間質浸潤 子宮外病変	骨盤リンパ節転移

図 14 術後再発・リンパ節転移リスク

術後再発とリンパ節転移のリスクは厳密には異なるが多くは重複している。子宮体がん治療ガイドライン 2018 年版 (日本婦人科腫瘍学会, 2018) においても、術後再発リスクによってリンパ節郭清の実施を検討するように記載されている。MRI, magnetic resonance imaging.

5. 進行・再発例に対する化学療法

EC の多くが早期に発見、治療され予後良好であるため、特に進行・再発症例に対する治療の開発が遅れていた。本邦の 2018 年版ガイドラインによれば、切除不能病変を有する進行症例における全身化学療法の標準レジメンは AP 療法 (アドリアマイシン+シスプラチン) とされている (日本婦人科腫瘍学会, 2018) が、これは 2004 年に発表された第 III 相試験 (Thigpen et al., 2004) の結果に基づいている。AP 療法と直接比較した試験は無いが、TC 療法 (パクリタキセル+カルボプラチン) もみなし標準レジメンとして広く用いられている。再発時においても AP 療法、TC 療法、あるいはこれらの単剤療法の他に現実的な選択肢が存在しない状況であった。2015 年に KEYNOTE-158 試験の結果が報告された (Le et al., 2015) ことを契機に、2020 年 12 月に本邦でも Microsatellite Instability(MSI)ステータスに応じた癌腫横断的なペムブロリズマブの適応が承認された。ペムブロリズマブの適応となる MSI-High/mismatch repair deficiency (dMMR) の割合は、一般的な癌腫では約 2-3%と報告されているが、EC 全体においては約 17-33%とされており (Dudley et al., 2016; Le et al., 2017; Yan et al., 2018)、再発時にはコンパニオン検査である MSI 検査を提案すべきと言える。2021 年 12 月には KEYNOTE-775 試験の結果(Makker et al., 2022)を元に LP 療法 (ペムブロリズマブ+レンバチニブ) の適応が承認された。この試験は、プラチナ製剤併用

レジメンによる治療歴のある EC 患者を対象として、従来の単剤化学療法と LP 療法を比較したものであり、Mismatch repair proficient (pMMR) 群においても Overall survival (OS) の延長 (中央値 17.4 vs. 12.0 ヶ月; HR=0.68, $p=0.0001$) が確認された。子宮体癌の再発治療において明確に OS の延長が認められた大規模比較試験はなく、有効な選択肢として期待されている。しかしながら、依然として進行再発症例において cure を目標とすることは難しい。そのため、特に完全切除達成後の再発・難治症例を予測する臨床的・バイオマーカーを同定し、より intensity の高い治療を要する集団を抽出することが重要であると考えられる。

6. 本研究の目的

骨盤および傍大動脈リンパ節郭清を含む拡大手術により手術進行期を決定し、中・高リスク症例に対して術後補助化学療法を行った日本人 EC 患者においても、ProMisE が予後を層別化できるかを検討することを目的とした。また、従来の臨床病理学的所見や LICAM に対する IHC も組み合わせた新しい分類方法を探索、検討した。

方法

1. 対象

2003 年から 2015 年までに当科で治療した EC 症例 385 例のうち、骨盤+傍大動脈リンパ節郭清術を含む手術加療により進行期を決定した 209 例を対象とした。術前画像検査により IB 期以上の場合に、または IA 期と判断した症例については LNM score ≥ 1 の場合に子宮全摘術+両側付属器摘出術+骨盤リンパ節郭清術に傍大動脈リンパ節郭清術を加えることを提案した。最終的に、各 IHC を Tissue microarray (TMA) にて実施したため、原発巣の FFPE 検体に十分な量の腫瘍組織が含まれていなかった症例と、予後が十分に確定していないと考えられる観察期間が 36 ヶ月未満の症例を除いた 184 例について検討した (図 15)。

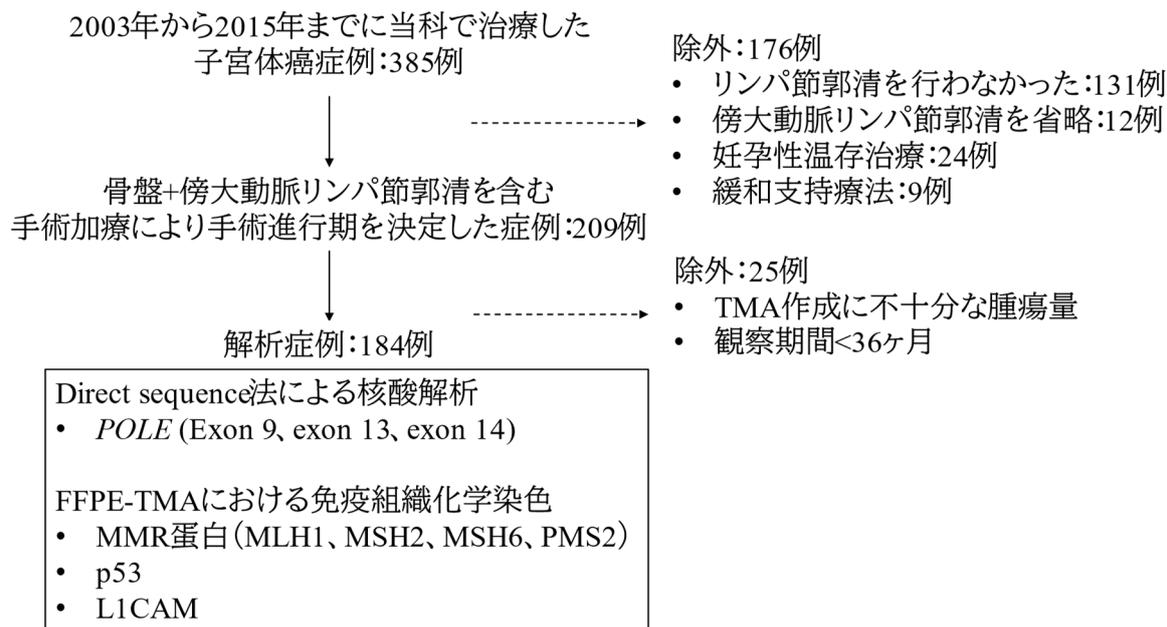


図 15 研究デザイン

最終的に 184 例に対して *POLE* のホットスポット変異解析と各免疫組織化学染色を行った。FFPE, formalin-fixed, paraffin-embedded; L1CAM, L1 cell-adhesion molecular MLH1, mutL homolog 1; MMR, mismatch repair; MSH2, mutS homolog 2; MSH6, mutS homolog 6; PMS2, PMS1 homolog 2; *POLE*, polymerase-epsilon; TMA, tissue microarray.

2. LNM score

術前の MRI 検査で筋層浸潤が疑われる所見 (Junctional zone の断裂など) が認められるが、筋層浸潤の深さが 1/2 未満の場合には LNM score を用いて傍大動脈リンパ節郭清の適否を判断した。組織型は、endo G1/2 以外の場合に 1 点とした。血清 CA125 値は術直前の測定値を用い、閉経前後でそれぞれ 70 IU/ml、28 IU/ml をカットオフ値として 1 点とした。腫瘍 volume は、術前 MRI 検査における水平断での直交する前後最大径 x 左右最大径、矢状断における最大内膜厚の積とし、36 cm³ 以上で 1 点とした (図 16)。

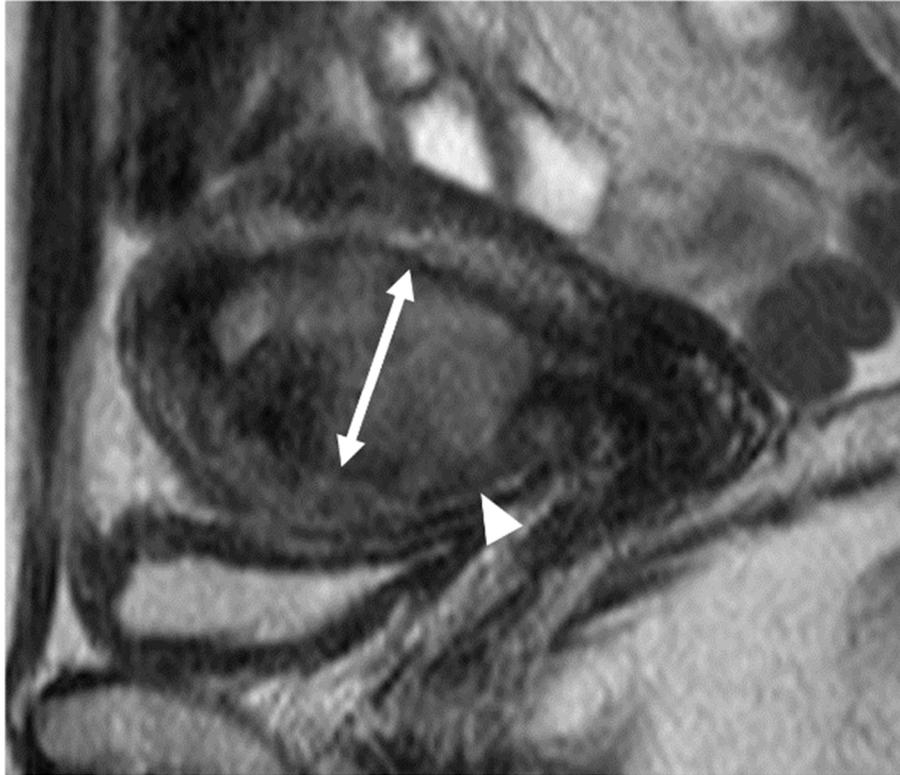


図 16 MRIにおける内膜厚の測定と筋層浸潤の所見
T2 強調像の矢状断における最大内膜厚を測定する (両矢印)。Junctional zone の途絶は筋層浸潤を示唆する所見である (矢頭)。

3. 手術進行期と再発リスク分類

本研究に際して、手術進行期を手術検体における病理組織検査の所見により the 2008 International Federation of Gynecologists and Obstetricians staging system (Pecorelli et al., 2009) に則って再評価した (表 10)。また、再発リスク分類は子宮体がん治療ガイドライン 2018 年版を用いて評価した (図 13)。術後補助化学療法の適否については、類内膜癌 endometrioid carcinoma, Grade 1-2 (endo G1/2) かつ脈管侵襲 lymphovascular space invasion (LVSI) を認めない場合に省略し、再発リスク分類で中・高リスクの場合に AP 療法 (Adriamycin 60mg/m² + Cisplatin 50mg/m²) または TC 療法 (Paclitaxel 175mg/m² + Carboplatin AUC=5) を行った。

4. POLE-EDM

POLE については exon 9, 13, 14 のホットスポット (Tate et al., 2019) について Sanger 法による変異解析を行った (図 17A, B)。

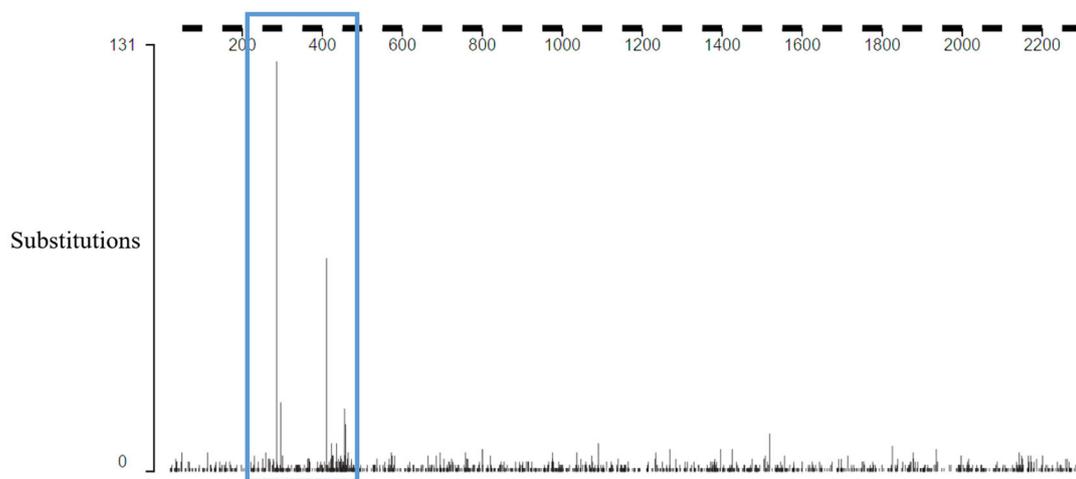


図 17A *POLE* 遺伝子の Pathogenic mutations の頻度
 COSMIC データベースに報告されている *POLE* 遺伝子の Pathogenic mutations のホットスポット (Tate et al., 2019).

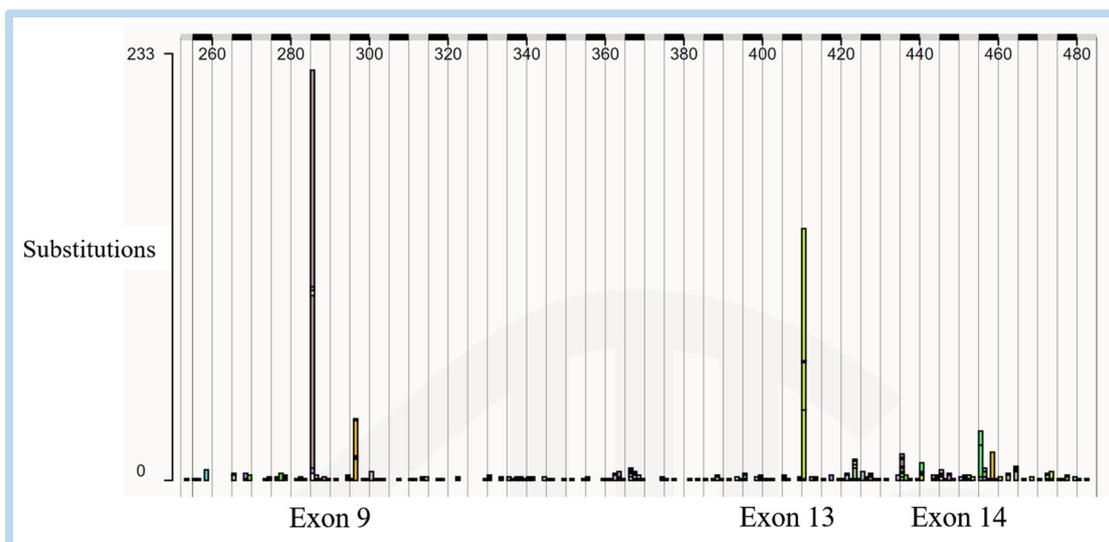


図 17B 図 14 の枠線 (青) 内を拡大

手術検体の原発巣 FFPE ブロックから 10 μ m スライスを作成し、非腫瘍部分をトリミング、QIAamp DNA FFPE Tissue Kit (Qiagen, Hilden, Germany) を用いて核酸を抽出し、GoTaq Colorless Master Mix (Promega, Madison, WI, USA) を用いて濃縮した。表 11 の primer を用いて、表 12 の条件で PCR 法によって増幅した後、Applied Biosystems 3130xl Genetic Analyzer (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) を使用して解析した。二人 (H.Y. と Y.H.) の検者が Chromas Version 2.6.6 (Technelysium Pty Ltd, Queensland, Australia) を用いて評価し、変異が疑われたものについては reverse primer による PCR 法を行い再評価して確定した (図 18)。

表 11 POLE-EDM の検討で使用した primer

Exon	Forward (5' to 3')	Reverse (3' to 5')
9	TG TTCAGGGAGGCCTAAT	GGGTGACAATCATAAACAA
13	TTGCATCTGTCTGTGTGG	TGCATTCGGTGTAGGGC
14	TCTGTGCTTCACACTTGA	ACTTACCTCCACCTACAG

Forward primer を用いて変異が疑われたものについて reverse primer による検討を行った。

表 12 PCR 法の条件

手順	時間	温度
1. Denaturation	2 min	95 °C
2. Denaturation cycle	30 sec	95 °C
3. Annealing cycle	30 sec	55 °C
4. Extension cycle	30 sec	72 °C
5. 2-4 を繰り返す	40 回	
6. Final extension	5 min	72 °C
7. 終了	-	4 °C

PCR, polymerase chain reaction.

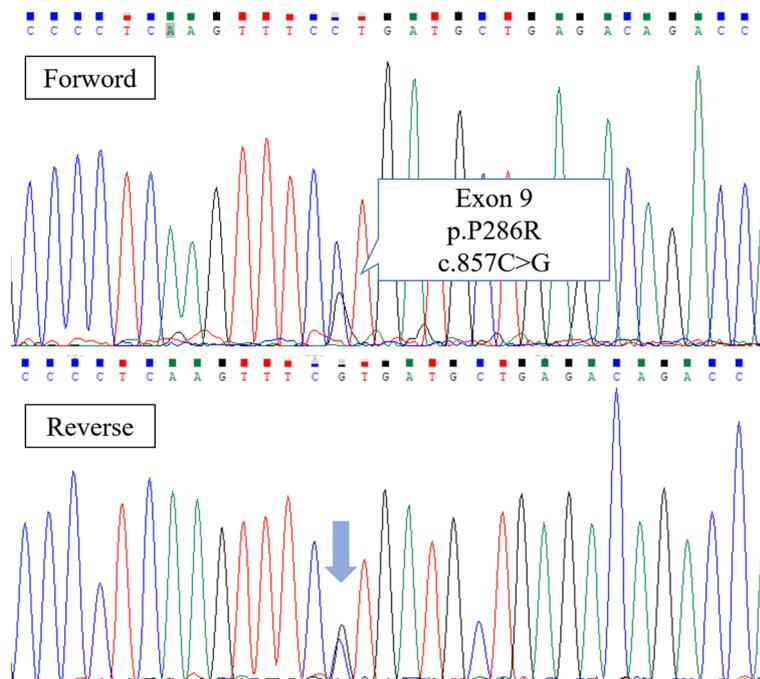


図 18 POLE-EDM の一例

得られた結果を Chromas (Technelysium Pty Ltd.) を用いて評価した。Forward primer による解析で変異が疑われた症例は、reverse primer による解析で変異を確定した (矢印)。

5. FFPE-TMA を用いた IHC

L1CAM、MMR 蛋白 (MLH1, mutL homolog 1; MSH2, mutS homolog 2; MSH6, mutS homolog 6; PMS2, PMS1 homolog 2)、p53 に対する IHC は FFPE-TMA を用いて実施、評価した。手術検体の Hematoxylin and eosin (HE) 染色スライドにて確認した原発巣代表部分 2 カ所と、非腫瘍部分 1 カ所 (困難な症例では省略した) を、組織マイクロアレイヤー (JF-4; Sakura Finetek Japan, Tokyo, Japan) を用いて直径 1.5 mm で抜き出し、8 行 x12 列の配列でパラフィンブロックに再度固定、FFPE-TMA ブロックを作成した。そこから 4 μ m スライドを作成していき、それぞれの IHC を実施した (図 19)。

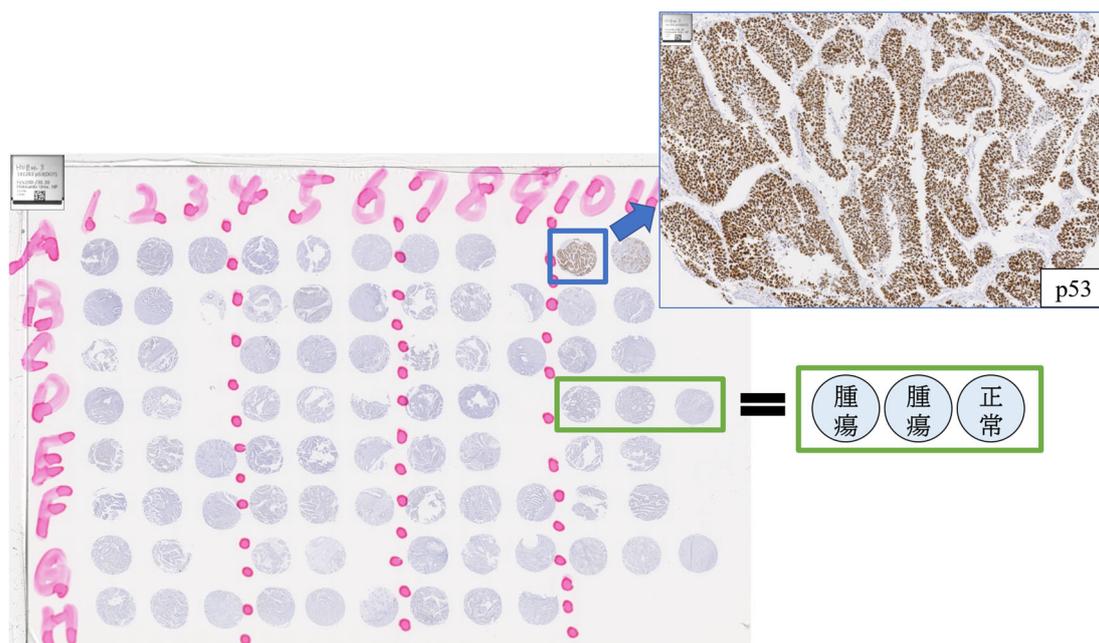
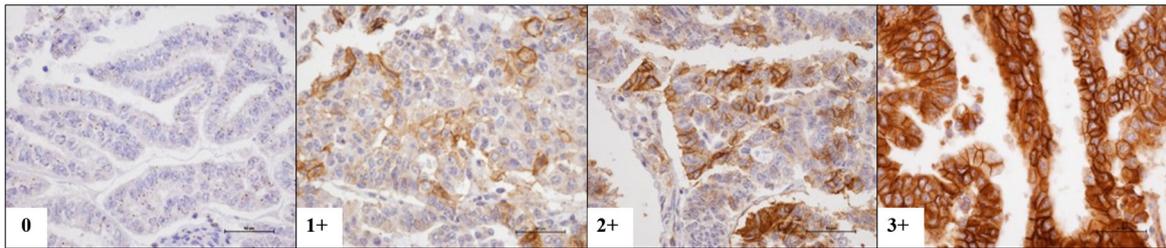


図 19 FFPE-TMA スライドの一つ

症例 1 例から腫瘍部分を 2 カ所、可能であれば非腫瘍部分を 1 カ所抜き出して TMA を作成した。FFPE, formalin-fixed, paraffin-embedded; TMA, tissue microarray.

L1CAM については先行研究 (Asano et al., 2020) において染色したものを使用した。すなわち、薄切スライドをキシレンにて脱パラフィン処理して段階的エタノール処理を行った後、high-pH antigen retrieval buffer (BenchMark ULTRA; Roche, Basel, Switzerland) を用いて抗原賦活化を行い、3% H_2O_2 で 36°C/4 分間処理、1 次抗体として抗 L1CAM 抗体 (clone 14.10, BioLegend, CA, US) を加え、horseradish peroxidase (HRP) 標識ポリマー (Ventana ultraView DAB Universal Kit; Roche) で標識した。それを Hematoxylin で対比染色したものを、H-score を用いて評価した。腫瘍細胞膜の染色強度を 0-3+ の 4 段階で評価し、それぞれの占有割合との積和にて算出し、腫瘍部分 2 つの平均をとってその症例の H-score とした (図 20)。再発に対する感度、特異度から 35 以上を高発現群 (L1CAM+) とした (Asano et al., 2020)。



$$\text{H-score} = 0 \times R(0)\% + 1 \times R(1+)\% + 2 \times R(2+)\% + 3 \times R(3+)\%$$

図 20 L1CAM の染色像

それぞれの腫瘍部分で L1CAM の染色強度を左から 0, 1+, 2+, 3+とし、それぞれに 0, 1, 2, 3 を乗じた数の和を平均し H-score とした。Scale bar : 50 μ m。

L1CAM, L1 cell-adhesion molecular.

MMR 蛋白 (MLH1, MSH2, MSH6, PMS2) と p53 の IHC については、それぞれ 1 次抗体を抗 MLH1 抗体(ES05, Dako, Glostrup, Denmark)、抗 MSH2 抗体(FE11, Dako)、抗 MSH6 抗体(EP49, Dako)、抗 PMS2 抗体(EP51, Dako)、抗 p53 抗体(clones DO-7, Dako) を用いて行い、Dako Envision FLEX system で標識して評価した。MMR 蛋白はいずれか一つでも発現が消失していた場合に MMR-D と判定した (図 21)。p53 については 2+ (腫瘍細胞の 50%以上が染色される) と 0 (null, 腫瘍細胞が全く染色されない) の染色パターンを p53 abn と判定した。非腫瘍部を染色性のコントロールとした (図 22)。

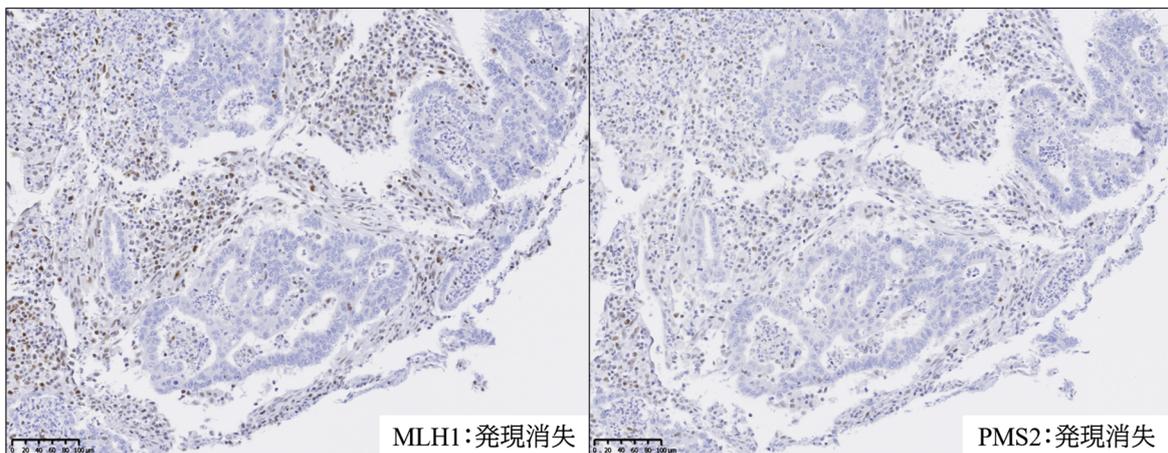


図 21 MMR-D の一例

MMR 蛋白 (MLH1, MSH2, MSH6, PMS2) のいずれかの発現が消失していた場合に MMR-D とした。腫瘍細胞以外に染色されている細胞が認められることを染色性のコントロールとした。Scale bar : 100 μ m。MLH1, mutL homolog 1; MMR, mismatch repair, MSH2, mutS homolog 2; MSH6, mutS homolog 6; PMS2, PMS1 homolog 2.

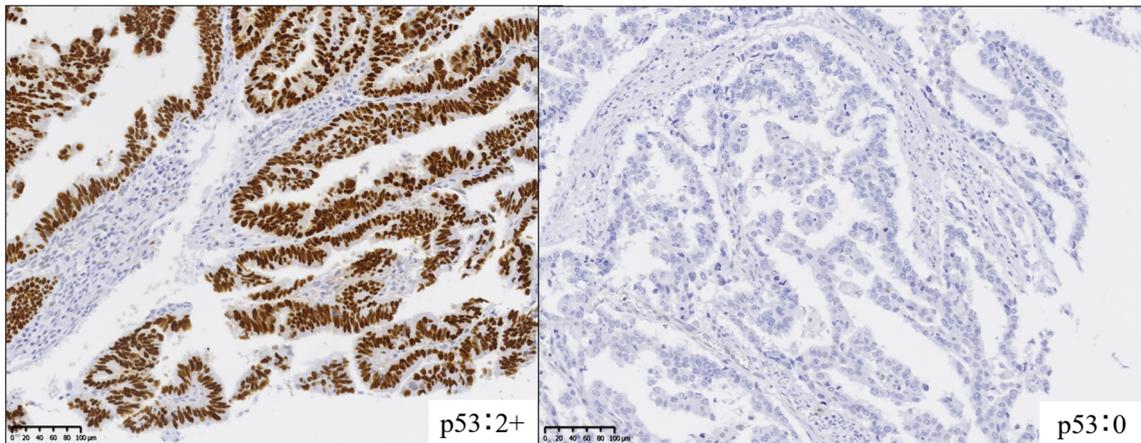


図 22 p53 abn の例

p53 abn は腫瘍細胞の 50%以上が染色される (左:2+)、または全く染色されない (右:0) ものとした。腫瘍細胞以外に染色されている細胞が認められることを染色性のコントロールとした。Scale bar : 100 µm。

これら全ての IHC は婦人科医 1 名 (LICAM を H.A.、他を H.Y.) が評価した後、病理専門医 1 名 (K.C.H.) がその確認を行った。染色性の問題で評価できなかったものは unclassifiable とした。

6. ProMisE

ProMisE では、MMR 蛋白と p53 に対する IHC と、*POLE* ホットスポット解析の結果により MMR-D、*POLE*-EDM、p53 wt、p53 abn に分類する。それぞれの評価段階で判定困難であったものは unclassifiable に分類される (Talhouk et al., 2015)。

7. 統計解析

観察期間は 2021 年 10 月までとした。無増悪生存期間 Progression-free survival (PFS) と疾患特異的生存期間 Disease-specific survival (DSS) は、それぞれ根治手術から EC の再発、または EC による死亡(death of disease, DOD) までの期間として定義した。生存率は Kaplan-Meier 法を用いて算出した。連続変数には Kruskal-Wallis rank 検定を、カテゴリ変数には Fisher の正確確率検定を用いた。生存分析において、3 群以上を対象とした log rank 検定では Bonferroni 法を用い、Cox 回帰分析では Firth 法を用いて補正した。これらの解析には R version 4.1.0 software (R Core Team, Vienna, Austria) の coxphf、survplot、survival、survminer を用い、 $p < 0.05$ を有意とした。

8. 倫理的遵守事項

本研究は「ヘルシンキ宣言 (2013 年 10 月修正)」及び「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」(平成 26 年文部科学省・厚生労働省告示第 3 号) を遵守して実施された。また、北海道大学病院自主臨床研究審査委員会にて 2018 年 1 月 17 日に承認 (自 017-0269) され実施した。本研究では、北海道大学病院婦人科で切除され、研究対象者に対して具体的な研究内容を提示せず、将来の医学研究のためという目的で文書により同意 (包括同意) を得て保管した検体を用いた。本研究への参加に際して改めて文書での同意を得たが、有効なインフォームド・コンセントを与えることが困難である対象も含まれたため、研究の目的を含む研究の実施についての情報を北海道大学病院ホームページに掲載することで研究対象者又は代理人 (研究対象者の意思及び利益を代弁できると考えられる者) に拒否をする機会を与えた。

結果

1. 分子マーカーごとの患者背景の特徴

検討した 184 例における観察期間は中央値 102.5 ヶ月 (範囲 2-214 ヶ月)、年齢は中央値 58 歳 (範囲 14-78 歳) であった。分子マーカーごとの患者背景を表 13 に示す。32 例に分子マーカーの重複が認められた (図 23)。

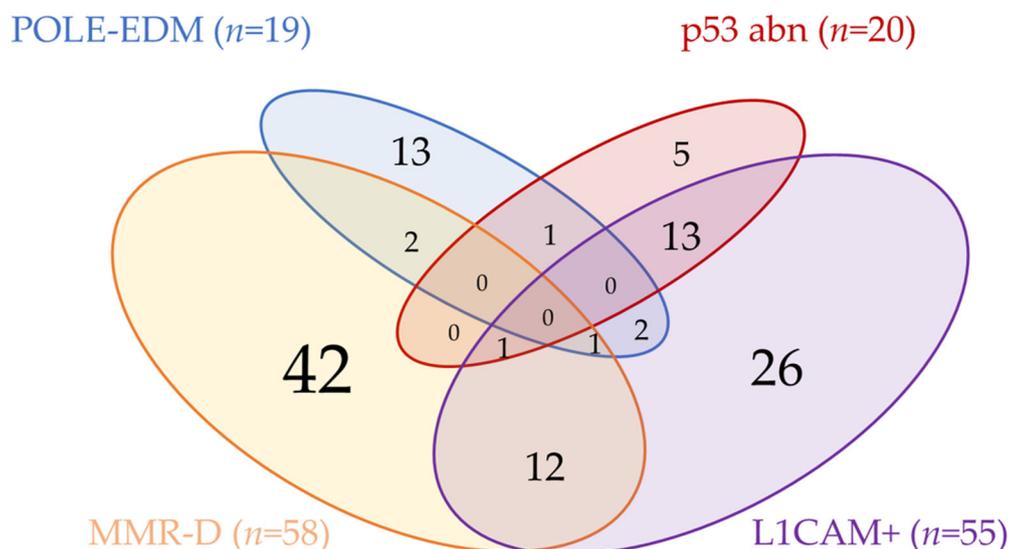


図 23 分子マーカーの重複

それぞれの数字が該当する症例数を表す。

L1CAM+, high expression of L1CAM; MMR-D, MMR deficiency; p53 abn, abnormal expression of p53; POLE-EDM, POLE exonuclease domain mutation.

表 13 分子マーカーごとの患者背景

	全症例 :184 例	POLE-EDM :19 例	MMR-D :58 例	p53 abn :20 例	L1CAM+ :55 例	No markers :66 例
観察期間 (月)	102.5 (2-214)	147 (44-209)	103.5 (16-214)	93 (5-198)	93 (5-211)	112 (2-202)
年齢 (歳)	58 (14-78)	57 (34-68)	58 (24-73)	61.5 (21-42)	63 (34-76)	57 (14-78)
Stage (FIGO 2008)						
I	99 (53.8%)	14 (73.3%)	32 (55.2%)	12 (60%)	33 (60%)	34 (51.5%)
II	23 (12.5%)	1 (5.2%)	8 (13.8%)	2 (10%)	6 (10.9%)	8 (12.1%)
III	51 (27.7%)	4 (21.1%)	15 (25.9%)	3 (15%)	15 (27.3%)	19 (28.8%)
IV	11 (6.0%)	0 (0%)	3 (5.2%)	3 (15%)	1 (1.8%)	5 (7.5%)
組織型						
類内膜癌 G1/2	123 (66.8%)	11 (57.9%)	40 (69.0%)	8 (40%)	23 (41.8%)	55 (83.3%)
類内膜癌 G3	26 (14.1%)	6 (31.6%)	11 (19.0%)	3 (15%)	11 (20%)	4 (6.1%)
漿液性癌	9 (4.9%)	0 (0%)	1 (1.7%)	5 (25%)	7 (12.7%)	0 (0%)
明細胞癌	8 (4.3%)	0 (0%)	1 (1.7%)	1 (5%)	5 (9.1%)	3 (4.5%)
癌肉腫	15 (8.2%)	1 (5.3%)	3 (5.2%)	2 (10%)	7 (12.7%)	4 (6.1%)
その他	3 (1.6%)	1 (5.3%)	2 (3.4%)	1 (5%)	2 (3.6%)	0 (0%)
術後再発リスク分類						
低リスク	41 (22.3%)	6 (31.6%)	11 (19.0%)	2 (10%)	9 (16.4%)	20 (30.3%)
中リスク	41 (22.3%)	5 (26.3%)	16 (27.6%)	5 (25%)	13 (23.6%)	12 (18.2%)
高リスク	102 (55.4%)	8 (42.1%)	31 (53.4%)	13 (65%)	33 (60%)	34 (51.5%)
5年 DSS 率	90.1%					

陽性群		100%	91.3%	79.7%	81.1%	95.5%
陰性群		vs. 90%	vs. 91.3%	vs. 91.3%	vs. 93.7%	vs. 87.1%
10年 DSS 率	85.3					
陽性群		100%	89.3%	73.0%	68.7%	93.8%
陰性群		vs. 84.2%	vs. 83.8%	vs. 86.6%	vs. 92.0%	vs. 80.6%
<i>p</i> 値	-	0.08	0.5	0.08	<0.001	0.03

データは中央値 (範囲) または症例数 (%) で示した。*p* 値は DSS に対して log-rank 検定を行い算出した。DSS, disease-specific survival; FIGO, Federation of Gynecologists and Obstetricians; L1CAM+, high expression of L1CAM; MMR-D, MMR deficiency; p53 abn, abnormal expression of p53; POLE-EDM, POLE endonuclease domain mutation.

POLE 遺伝子のホットスポット変異解析により、22 症例において計 23 の変異が同定され、pathogenic であった 19 例を *POLE*-EDM とした (表 14)。*POLE*-EDM の 40% 以上が endo G1/2 以外の高異型度な組織型であり、2/3 以上 (68.4%) が再発リスク分類で中リスク以上と判断された症例であった。

表 14 本研究で同定された *POLE* の pathogenic mutations

塩基置換	症例数
Exon 9	
c857C>G	6
c859G>A	1
c865G>A	1
Exon 13	
c1231G>T	4
c1231G>C	3
c1231G>A	1
Exon 14	
c1366G>C	1
c1370C>T	1
c1376C>T	1

MMR-D とした症例は 58 例 (31.5%) で、発現消失のパターンを表 15 に示す。MMR-D 症例の 69% が endo G1/2 であり、81% が再発リスク分類の中リスク以上であった。

表 15 MMR 蛋白の発現消失パターン

MLH1	PMS2	MSH2	MSH6	症例数
発現消失	発現消失	+	+	36
発現消失	NA	+	+	3
NA	発現消失	+	+	3
+	+	発現消失	発現消失	6
+	+	発現消失	NA	1
+	NA	発現消失	+	1
+	+	+	発現消失	7
NA	+	+	発現消失	1

MLH1, mutL homolog 1; MMR, mismatch repair; MSH2, mutS homolog 2; MSH6, mutS homolog 6; NA, not available for poor staining quality; PMS2, PMS1 homolog 2.

p53 abn とした症例は 20 例 (10.9%) で、18 例が 2+パターンで、2 例が 0 (null)パ

ターンであった。p53 abn 症例の 15%が Stage IV であり、組織型が漿液性癌であったものは 25%、90%が再発中・高リスクであった。

L1CAM+は 55 例 (29.9%) で、38.2%は類内膜癌以外の組織型であり、漿液性癌の症例を 12.7%含んでいた。

計 118 例 (64.1%) でいずれかの分子マーカーが陽性となった。十分な腫瘍組織量がなかった 7 検体と検体が古く核酸抽出・解析できなかった 6 検体の計 13 検体で POLE-EDM の解析ができなかった。IHC においても、TMA 上の腫瘍組織が極端に少なかった 2 検体は評価できなかった。これらを含む計 66 例 (34.8%) は、どの分子マーカーも陽性とならず no markers とした。これらの分子マーカーと従来 of 臨床病理学的な予後因子について、それぞれの関連を表 16 に示す。L1CAM+と p53 abn に正の、類内膜癌 G1/2 に負の関連が認められた。

表 16 各分子マーカーと臨床病理学的所見との関連

	MMR-D	p53 abn	L1CAM+	No markers	Endo G1/2	Deep MI	Stage I	Low risk
POLE-EDM	0.191 (0.096)	0.699 (-0.032)	0.193 (0.085)	<0.001 (-0.235)	0.442 (0.046)	0.813 (0.004)	0.089 (0.117)	0.381 (0.054)
MMR-D	-	0.005 (0.181)	0.300 (0.072)	<0.001 (-0.495)	0.738 (-0.018)	1.000 (0.004)	0.874 (0.007)	0.568 (0.040)
p53 abn	-	-	<0.001 (0.287)	<0.001 (-0.243)	0.011 (-0.181)	0.814 (0.014)	0.639 (0.026)	0.254 (0.082)
L1CAM+	-	-	-	<0.001 (-0.476)	<0.001 (0.335)	0.109 (0.112)	0.333 (0.069)	0.248 (0.079)
No markers	-	-	-	-	<0.001 (0.250)	0.031 (0.155)	0.648 (0.023)	0.065 (0.131)
Endo G1/2	-	-	-	-	-	0.012 (0.177)	0.158 (0.100)	<0.001 (0.363)
Deep MI	-	-	-	-	-	-	<0.001 (0.426)	<0.001 (0.483)
Stage I	-	-	-	-	-	-	-	<0.001 (0.483)

データは Fisher の正確確率検定で得られた p 値 (ϕ 係数) で示した。Endo G1/G2, Grade 1 or 2 endometrioid carcinoma; L1CAM+, high expression of L1 cell adhesion molecule; Low risk, at low risk in risk of recurrence; Deep MI, myometrial invasion \geq 50%; MMR-D, MMR deficiency; p53 abn, abnormal expression of p53; POLE-EDM, polymerase-epsilon endonuclease domain mutation; Stage I, Stage I in 2008 FIGO staging system.

いずれかの分子マーカーを有していた症例の DSS は、no markers の DSS よりも有意に不良であった ($p=0.03$)。また、L1CAM+の DSS は L1CAM 低発現群 (L1CAM-) よりも有意に不良であった (5 年 DSS: 81.1% vs. 93.7%; 10 年 DSS: 68.7% vs. 92.0%; $p<0.001$)。

2. ProMisE による予後層別化

ProMisE 基づくと、58 例 (31.5%) が MMR-D、13 例 (7.0%) が POLE-EDM、71 例 (38.6%) が p53 wt、16 例 (8.7%) が p53 abn に分類された (図 24)。Unclassifiable となったものは計 26 例で、理由は MMR 蛋白の IHC 不良が 21 例、POLE-EDM の解析不能が 5 例であった。

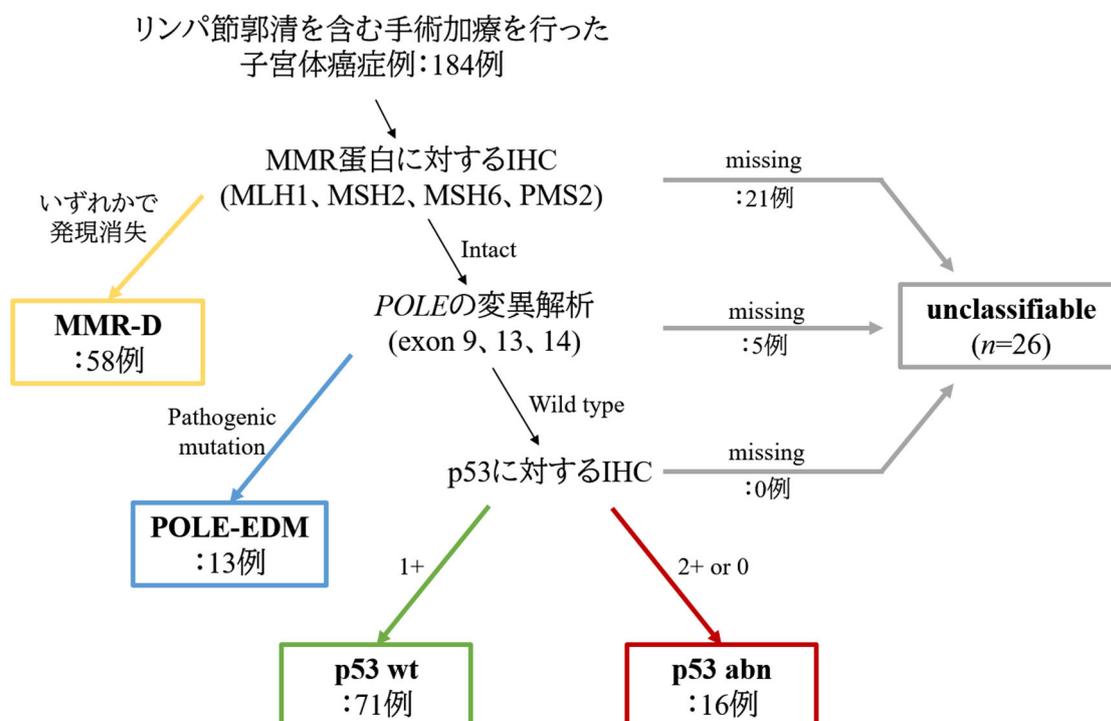
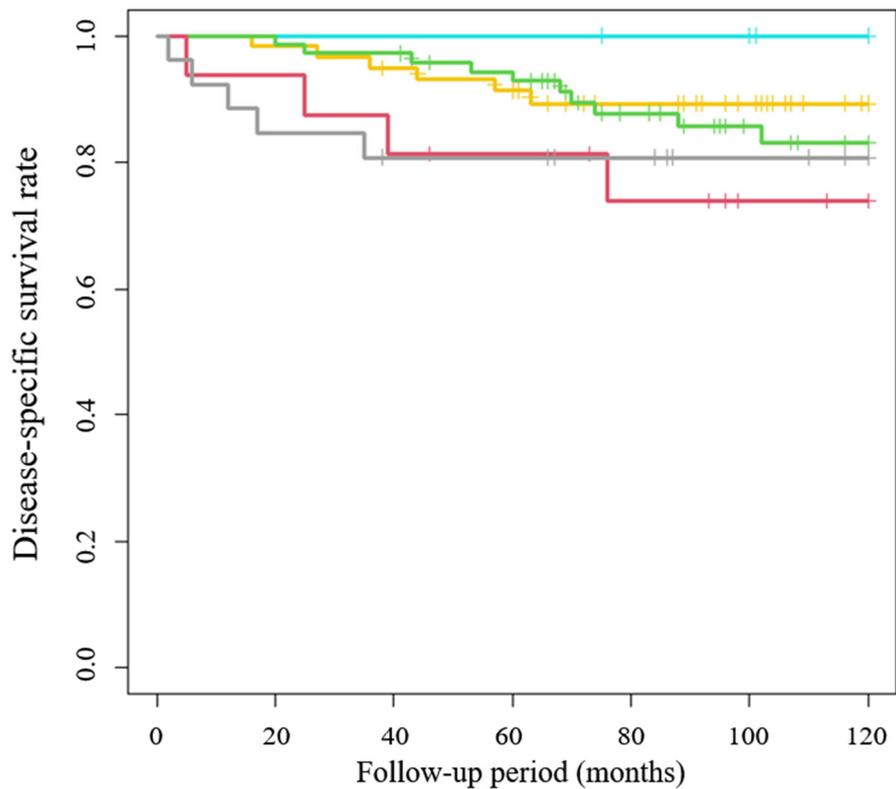


図 24 ProMisE の流れ

ProMisE によって、58 例が MMR-D、13 例が POLE-EDM、71 例が p53 wt、16 例が p53 abn に分類された。MMR, mismatch repair; MMR-D, mismatch repair deficiency; p53 abn, abnormal expression of p53; p53 wt, p53 wild type; POLE, polymerase-epsilon; POLE-EDM, POLE exonuclease domain mutation.



MMR-D	58	57	54	50	40	33	18
POLE-EDM	13	13	13	13	12	12	10
p53 wt	71	71	69	64	47	32	27
p53 abn	16	15	13	12	10	6	5
Unclassifiable	26	22	20	20	18	15	13
	Number at risk						

図 25 ProMisE に基づいた疾患特異的生存曲線

ProMisEに基づいて分類した場合の疾患特異的生存曲線 (Kaplan-Meire 法)。MMR-D 群と p53 wt 群の生存率が 5-10 年の間で逆転していることが分かる。

MMR-D, mismatch repair deficiency; p53 abn, abnormal expression of p53; p53 wt, p53 wild type; POLE-EDM, polymerase-epsilon exonuclease domain mutation.

5 年 DSS は、MMR-D 群が 91.3%、POLE-EDM 群が 100%、p53 wt 群が 94.3%、p53 abn 群が 81.2%であった (図 25)。Unclassifiable 群は 80.8%であった。10 年 DSS は、MMR-D 群が 89.3%、POLE-EDM 群が 100%、p53 wt 群が 83.0%、p53 abn 群が 73.9%であった。Unclassifiable 群は 80.8%であった。このように DSS は層別化されたが、MMR-D 群と p53 wt 群の疾患特異的生存率が 5-10 年の間で逆転していたため、新たな予後予測因子を検討する余地があると考えられる。また、POLE-EDM 群は極めて良好な予後を示したことから、まず始めに分類すべき集団である可能性がある。これらの点で、ProMisEは本コホートの予後を適切に層別化しなかったと考えられる。

3. 新たな分類方法に用いる予後因子、交絡因子の検討

ProMisE では適切に予後が層別化されなかったため、新たな分類方法について検討した。図 23 に示したとおり、いずれかの分子マーカーが陽性となった 118 例のうち、32 例 (27.1%) は複数のマーカーが陽性であった。特に p53 abn と L1CAM+ の過半数 (それぞれ 75%、52.7%) は他のマーカーも陽性であった。以上より、新たな分類では用いる要素だけではなく、分類の順序も再考すべきであると考えられたため、それぞれの予後因子、分子マーカーの特徴について改めて検討した。

臨床病理学的所見に基づく再発リスク分類によって低リスクと診断された症例 (low risk) は 41 例 (22.3%) であった。Low risk 群は術後補助化学療法を行わず経過のみの方針であったが、観察期間中央値 116 ヶ月 (範囲 41-216 ヶ月) において DOD は認めなかった。2 例 (5.3%) が再発を経験したが、その後の 2 次治療により 3 年以上病勢はコントロールされていた。Low risk 群の 28 例 (68.3%) はいずれかの分子マーカーが陽性であり、MMR-D の 11 例、L1CAM+ の 9 例、POLE-EDM の 6 例、p53 abn の 2 例を含んでいた。再発した 2 例ではこれらの分子マーカーは陰性であった。つまり、low risk 群は分子マーカーに関わらず予後良好であると考えられた。

POLE-EDM であった 19 例において再発した症例はなく、DOD も認めなかった。この 19 例には再発リスク分類における中リスク群 5 例と高リスク群 8 例が含まれていた。つまり、13 例 (68.4%) がなんらかの臨床病理学的な予後不良因子をもち術後補助化学療法を受けていたが、5 年と 10 年 DSS 率はともに 100% であった。

全体集団から low risk と POLE-EDM であった症例を除いて検討した場合 (表 17)、最も強い予後予測因子となったのは L1CAM+ であった (HR 3.08; range: 1.42-6.96; $p=0.0045$)。さらに、L1CAM+ 群では DOD の約半数が治療後 5 年以降に生じていた (図 26)。つまり、L1CAM によって intensity の強い治療・観察を要する集団を抽出でき、ProMisE で生じた DSS の逆転を説明できる可能性が示唆された。

表 17 L1CAM、MMR、p53 に対する Cox 回帰分析

各分子マーカーとその結果	イベント数/症例数	HR	95%信頼区間	p値
L1CAMH-score < 35 または missing	10/85	1		
H-score \geq 35	15/45	3.08	(1.42-6.96)	0.0045
MMR 発現あり または missing	19/85	1		
発現消失	6/45	0.60	(0.23-1.39)	0.2458
p53 1+ または missing	20/113	1		
2+ または 0	5/17	2.12	(0.74-5.08)	0.1480

p 値は尤度比検定によって得られた値を示した。CI, confidence interval; HR, hazard ratio; L1CAM, L1 cell adhesion molecule; MMR, mismatch repair.

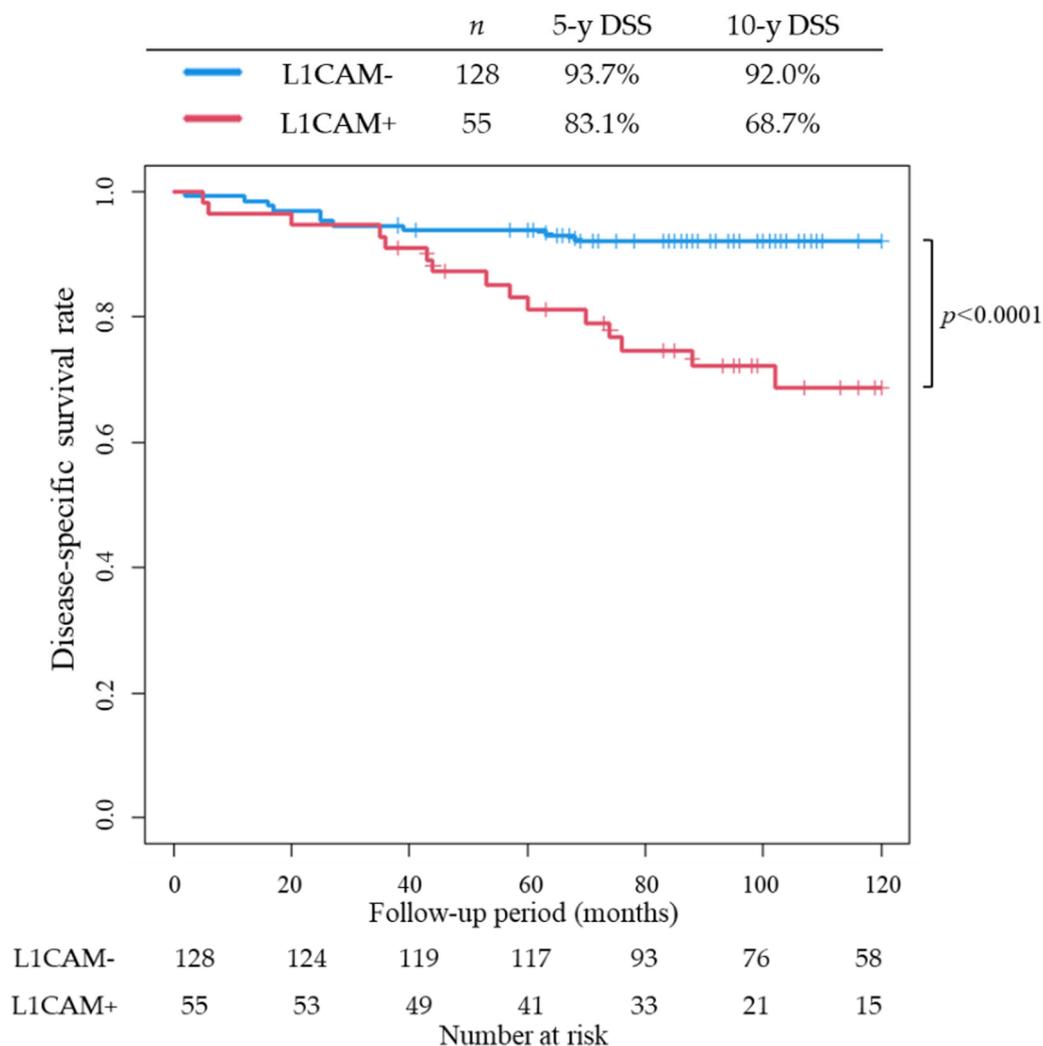


図 26 L1CAM に対する IHC による疾患特異的生存曲線

L1CAM+は L1CAM-と比較して予後が不良であり ($p < 0.0001$ 、Kaplan-Meire 法、log-rank 検定)、原病死の約半数が治療後 60 ヶ月以降に生じていた。

DSS, disease-specific survival, IHC, immunohistochemistry; L1CAM, L1 cell-adhesion molecular; L1CAM-, low expression of L1CAM (H-score < 35); L1CAM+, high expression of L1CAM (H-score ≥ 35).

次に、新たな分類方法において p53 abn、MMR-D をどの段階・順序で分類するのが適切かを検討した。p53 abn については low risk、POLE-EDM、L1CAM+を分類した後に統計学的有意差を持って予後を層別化した (図 27)。また、MMR-D についてはどの段階で分類しても予後を層別化することはなかった (図 28)。また、low risk、POLE-EDM、L1CAM+であった症例を除くと、p53 abn と MMR-D で重複して陽性となった症例は認められなかった。

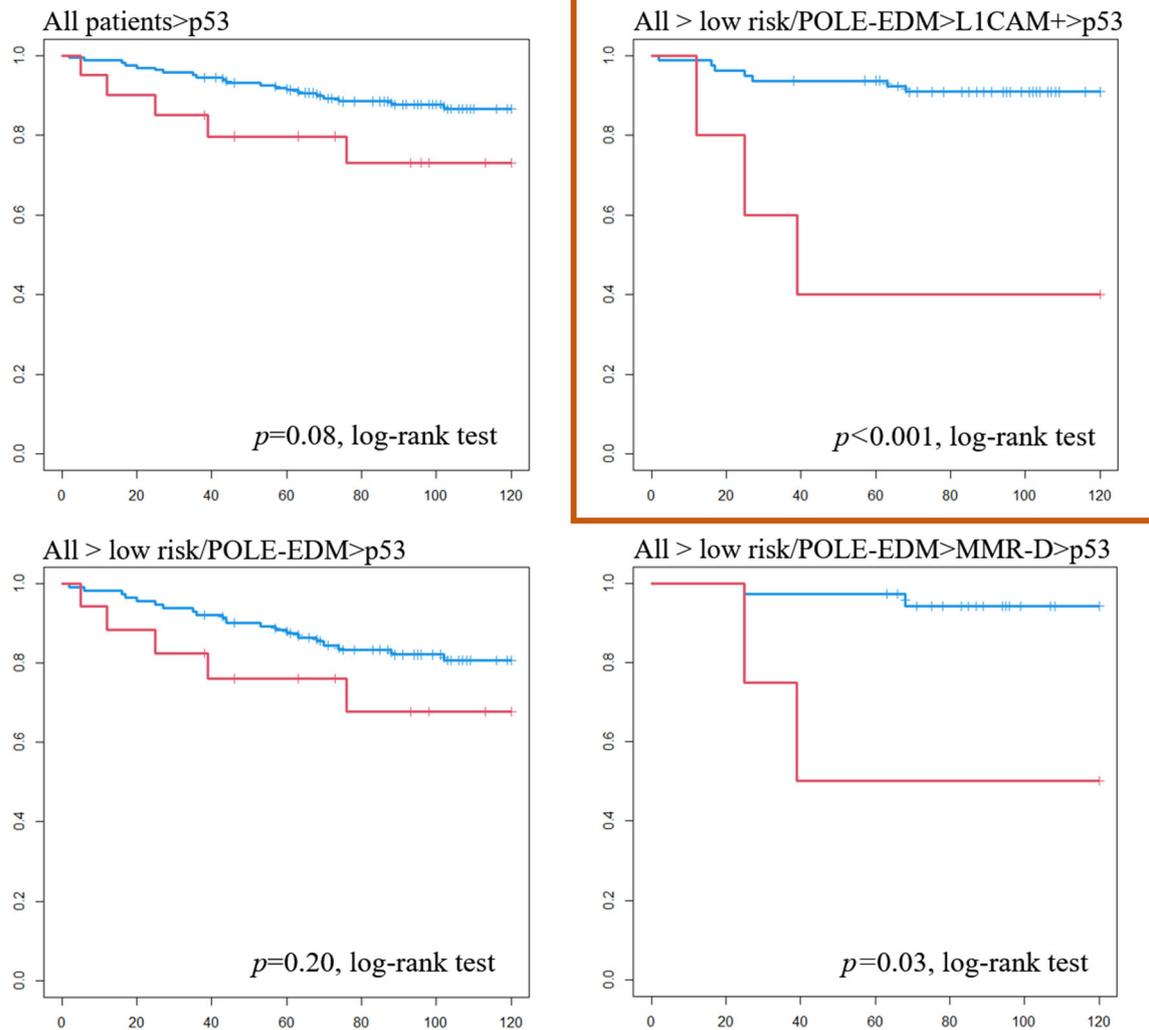


図 27 p53 に対する IHC による予後層別化

p53 に対する IHC の結果が予後を層別化したのは、low risk/POLE-EDM、L1CAM+ を抽出した後であった。全て横軸は観察期間 (月)、縦軸は疾患特異的生存率である。IHC, immunohistochemistry; L1CAM+, high expression of L1CAM; MMR-D, mismatch repair deficiency; POLE-EDM, POLE exonuclease domain mutation.

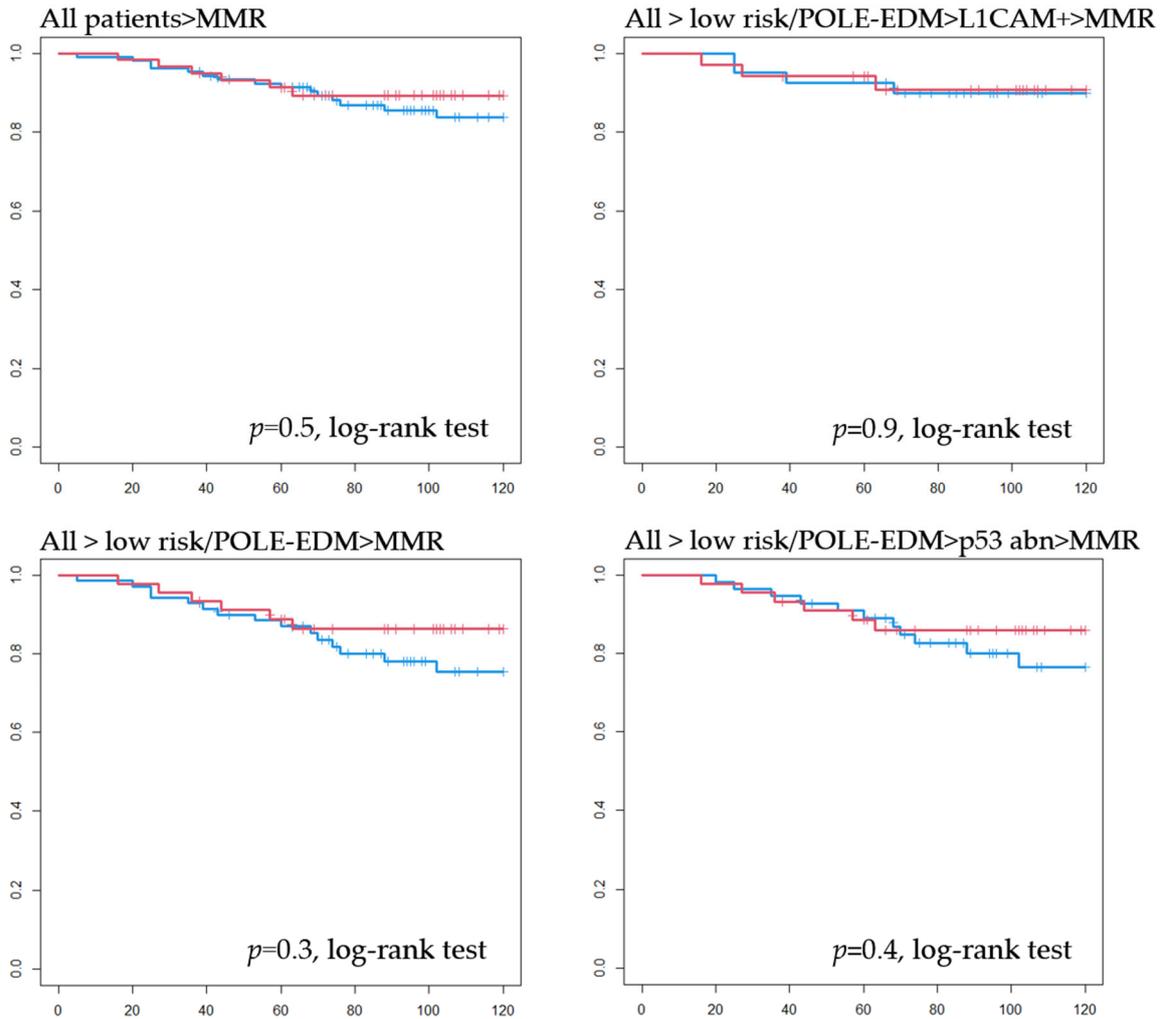


図 28 MMR 蛋白に対する IHC による予後層別化

MMR 蛋白に対する IHC の結果は予後を層別化しなかった。全て横軸は観察期間(月)、縦軸は疾患特異的生存率である。

IHC, immunohistochemistry; L1CAM+, high expression of L1CAM; MMR, mismatch repair; MMR-D, mismatch repair deficiency; p53 abn, abnormal expression of p53; POLE-EDM, POLE exonuclease domain mutation

4. 臨床病理学的所見と分子マーカーの組み合わせ

ProMisE で用いられる因子に L1CAM と再発リスク分類による low risk を加え、上記の結果に基づいて順序を入れ替えて本研究のコホートを分類した。この新たな方法により Low risk 群(46 例)、POLE-EDM 群(13 例)、L1CAM+ 群(45 例)、p53 abn 群(5 例)、MMR-D 群(34 例)、Others 群(46 例)に分類した (図 29)。

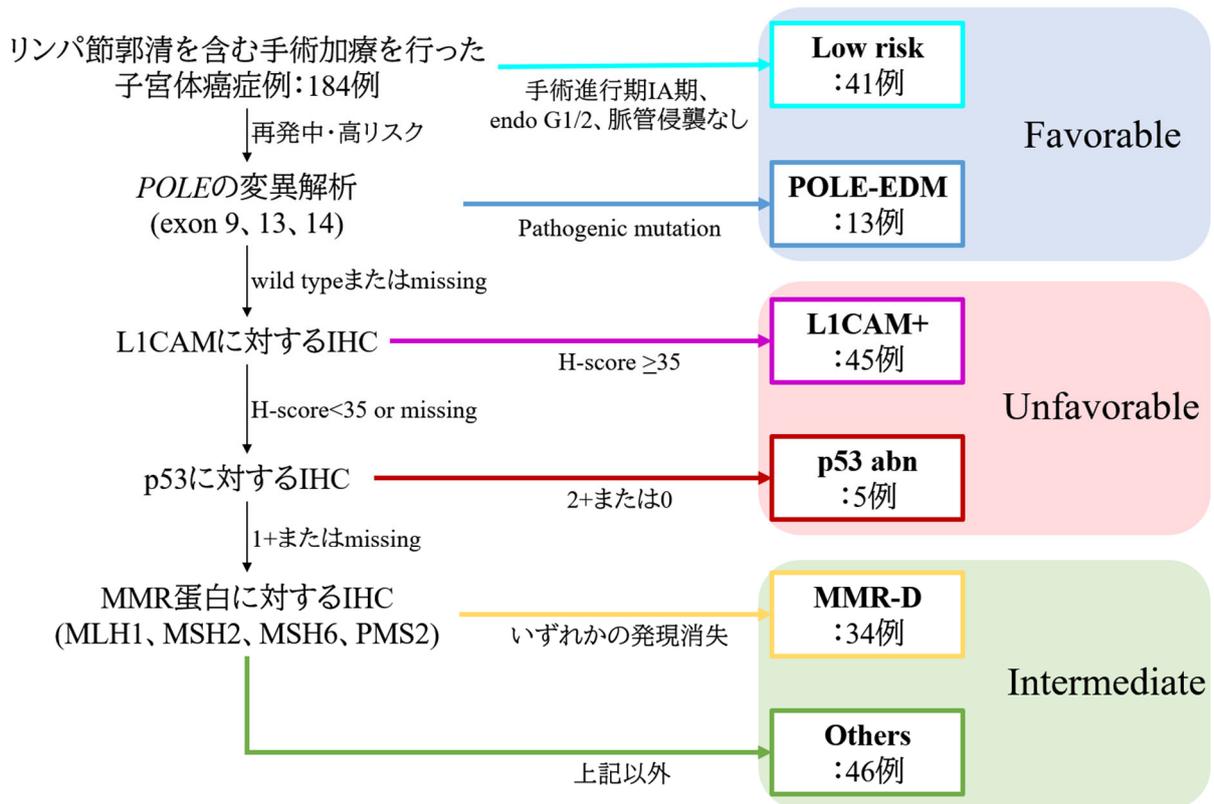


図 29 新しい要素、順序での分類

臨床病理学的所見に基づく再発リスク分類と L1CAM に対する IHC の結果を加え、Low risk、POLE-EDM、L1CAM+、p53 abn、MMR-D の順に分類した。これら以外を Others とした。

IHC, immunohistochemistry; L1CAM+, high expression of L1CAM; MMR, mismatch repair; MMR-D, mismatch repair deficiency; p53 abn, abnormal expression of p53; POLE-EDM, POLE exonuclease domain mutation.

それぞれの群の患者背景を表 18 に示す。年齢中央値 (範囲) は、Low risk 群 57.2 歳 (14-76 歳)、POLE-EDM 群 56.7 歳 (48-66 歳)、L1CAM+ 群 62.3 歳 (41-76 歳)、p53 abn 群 57.6 歳 (42-70 歳)、MMR-D 群 55.1 歳 (24-73 歳)、Others 群 55.0 歳 (32-78 歳) であった (all $p < 0.01$)。定義に組織型や進行期が含まれる Low risk 群を除いて各群を比較検討すると、組織型の分布と LVSI の有無に有意な偏りが認められた (順に all $p < 0.01$, all $p = 0.026$)。POLE-EDM 群では 6 例 (46.2%) が類内膜癌 Grade 3 であり、8 例 (61.5%) が再発高リスクであった。MMR-D 群では 26 例 (76.5%) が類内膜癌 G1/2 であり、13 例 (38.2%) にリンパ節転移が認められた。LVSI を有した割合は POLE-EDM 群 61.5%、L1CAM+ 群 57.8%、p53 abn 群 40%、MMR-D 群 79.4% であった。既知のリスクファクターである進行期、再発リスク分類、リンパ節転移、1/2 以上の筋層浸潤、腹水細胞診の結果には有意な偏りはみられなかった。

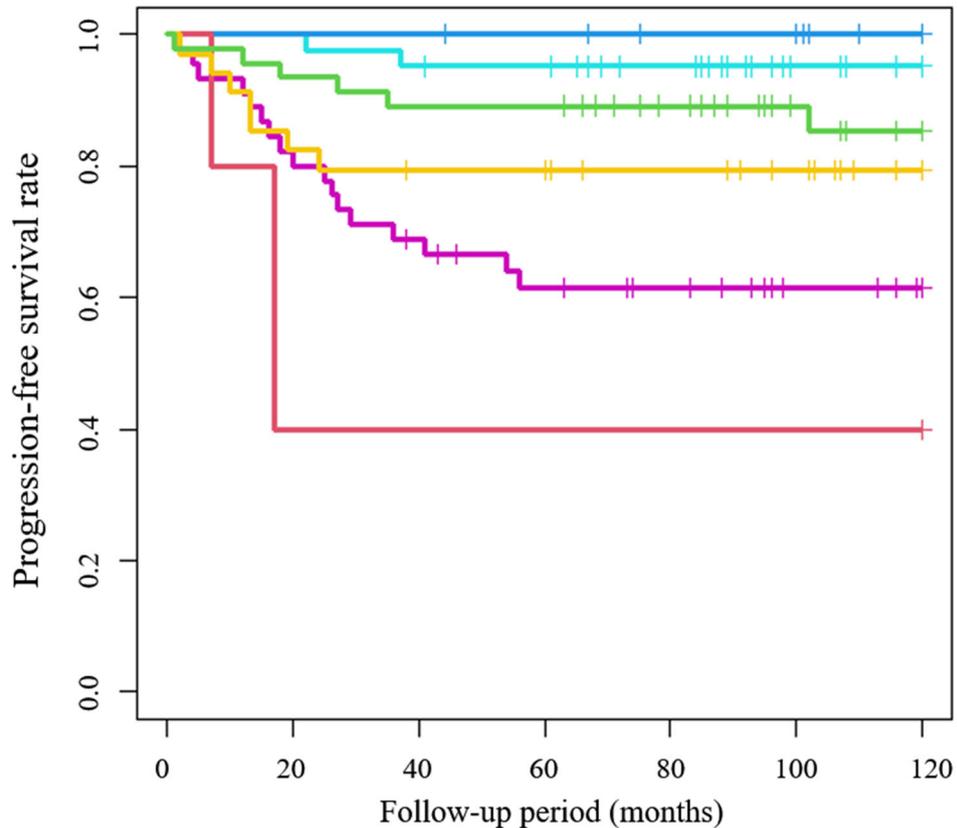
表 18 新しい要素、順序で分類した場合の各群の患者背景

	Low risk :41 例	POLE-EDM :13 例	L1CAM+ :45 例	p53 abn :5 例	MMR-D :34 例	Others :46 例	p 値
観察期間 (月)	116 (41-214)	110 (44-190)	88 (5-211)	39 (12-163)	105 (16-207)	112 (2-202)	0.0068
年齢 (歳)	57.2 (14-76)	56.7 (48-66)	62.3 (41-76)	57.6 (42-70)	55.1 (24-73)	55.0 (32-78)	0.0021
Stage (FIGO 2008)							
I	41 (100%)	8 (61.5%)	23 (51.1%)	1 (20%)	12 (35.3%)	14 (30.4%)	0.20
II	-	1 (7.7%)	6 (13.3%)	0 (0%)	8 (23.5%)	8 (17.4%)	
III	-	4 (30.8%)	15 (33.3%)	2 (40%)	11 (32.4%)	19 (41.3%)	
IV	-	0 (0%)	1 (2.2%)	2 (40%)	3 (8.8%)	5 (10.9%)	
組織型							
類内膜癌 G1/2	41 (100%)	5 (38.5%)	14 (31.1%)	2 (40%)	26 (76.5%)	35 (76.1%)	<0.01
類内膜癌 G3	-	6 (46.2%)	10 (22.2%)	1 (20%)	5 (14.7%)	4 (8.7%)	
漿液性癌	-	0 (0%)	6 (13.3%)	1 (20%)	1 (2.9%)	0 (0%)	
明細胞癌	-	0 (0%)	5 (9.1%)	0 (0%)	0 (0%)	3 (6.5%)	
癌肉腫	-	1 (7.7%)	7 (12.7%)	1 (20%)	2 (3.1%)	4 (8.7%)	
その他	-	1 (7.7%)	2 (3.6%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	
術後再発リスク分類							
低リスク	41 (100%)	-	-	-	-	-	0.64
中リスク	-	5 (38.5%)	13 (28.9%)	0 (0%)	11 (32.4%)	12 (26.1%)	
高リスク	-	8 (61.5%)	32 (71.1%)	5 (100%)	23 (67.6%)	34 (73.9%)	
筋層浸潤 \geq 1/2	0 (0%)	9 (69.2%)	32 (71.1%)	4 (80%)	22 (64.7%)	26(56.5%)	0.65
脈管侵襲あり	0 (0%)	8 (61.5%)	26 (57.8%)	2 (40%)	27 (79.4%)	21 (45.7%)	0.026

腹腔細胞診陽性	3 (7.3%)	0 (0%)	11 (24.4%)	0 (0%)	3 (8.8%)	3 (6.5%)	0.06
術後補助療法							
なし	38 (92.7%)	0 (0%)	6 (13.3%)	0 (0%)	3 (8.8%)	7 (15.2%)	
化学療法	3 (7.3%)	13 (100%)	38 (84.04%)	5 (100%)	29 (85.3%)	39 (84.8%)	0.63
化学放射線療法	0 (0%)	0 (0%)	1 (2.2%)	0 (0%)	2 (5.9%)	0 (0%)	

データは中央値 (範囲)または症例数 (%)で示した。連続変数には Kruskal-Wallis rank 検定を、カテゴリ変数には Fisher の正確確率検定を行った。FIGO, Federation of Gynecologists and Obstetricians; L1CAM+, high expression of L1 cell adhesion molecule; MMR-D, mismatch repair deficiency; p53 abn, abnormal expression of p53; POLE-EDM, polymerase-epsilon exonuclease domain mutation.

PFS 率については POLE-EDM 群の方が Low risk 群よりも優れていた (5 年: 100% vs. 95.1%; 10 年: 100% vs. 95.1%; $p=0.42$) (図 30)。MMR-D 群の PFS 率(5 年: 79.4%; 10 年: 79.4%) は Others 群 (5 年: 89.1%; 10 年: 85.4%) より低かったが、有意な差ではなかった ($p = 0.35$)。



Low risk	41	41	39	338	33	23	19
POLE-EDM	13	13	13	12	10	10	6
Others	46	43	41	41	33	24	20
MMR-D	34	28	26	26	22	19	11
L1CAM+	45	37	30	24	20	14	11
p53 abn	5	2	2	2	2	2	2

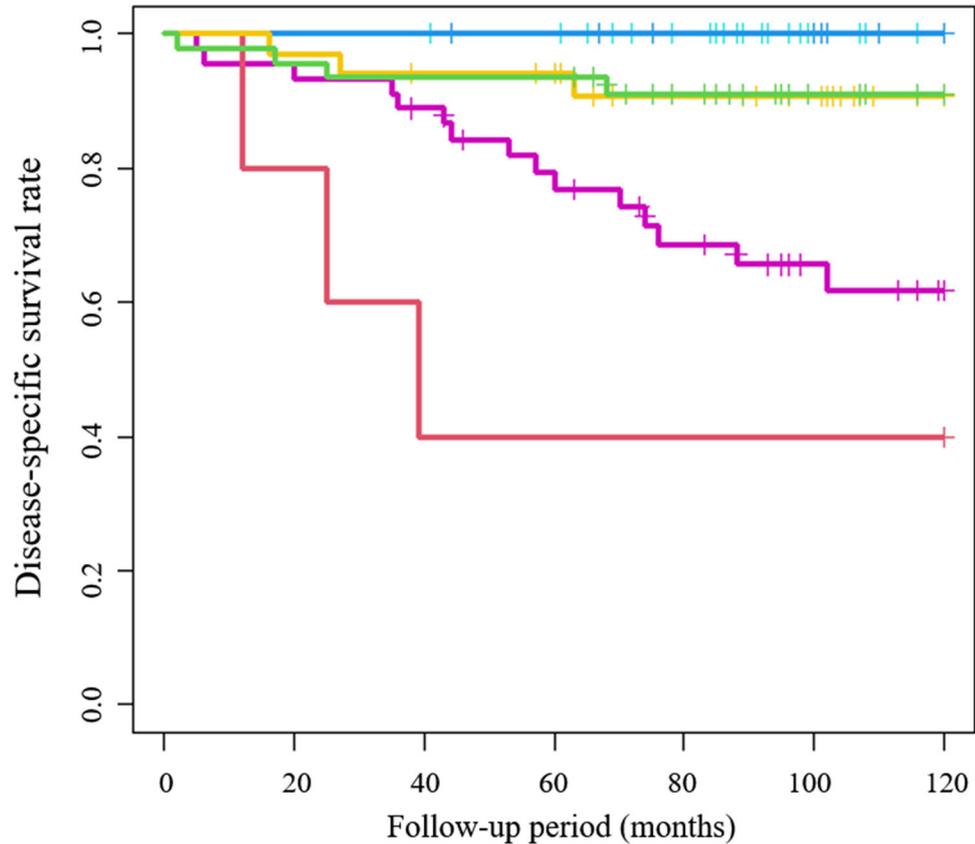
Number at risk

図 30 新しい要素、順序で分類した場合の PFS 曲線

新たな分類方法によって無病生存率が層別化された (Kaplan-Meire 法)。

L1CAM+, high expression of L1CAM; MMR-D, mismatch repair deficiency; p53 abn, abnormal expression of p53; PFS, progression free survival; POLE-EDM, POLE exonuclease domain mutation.

Low risk 群と POLE-EDM 群のどちらにおいても DOD は認められなかった (図 31)。MMR-D 群の 5 年、10 年 DSS 率はそれぞれ 94.1%、90.6%であり、other 群は 93.5%、91.1%であった。L1CAM+群 (5 年: 76.8%; 10 年: 61.7%) より、p53 abn 群 (5 年: 40%; 10 年: 40%) は予後不良であったが、有意差は認めなかった ($p = 0.22$)。



Low risk	41	41	41	40	33	23	19
POLE-EDM	13	13	13	12	10	10	6
Others	46	44	43	43	34	25	22
MMR-D	34	33	31	30	24	21	11
L1CAM+	45	43	39	32	24	17	13
p53 abn	5	4	2	2	2	2	2
	Number at risk						

図 31 新しい要素、順序で分類した場合の DSS 曲線
 新たな分類方法によって疾患特異的生存率が層別化された (Kaplan-Meire 法)。
 DSS, disease-specific survival; L1CAM+, high expression of L1CAM; MMR-D, mismatch repair deficiency; p53 abn, abnormal expression of p53; POLE-EDM, POLE exonuclease domain mutation.

表 19A PFS における Cox 回帰分析

		単変量解析			多変量解析		
		HR	95%信頼区間	<i>p</i> 値	HR	95%信頼区間	<i>p</i> 値
年齢 (歳)	<58	1			-	-	-
	≥58	1.21	0.63-2.41	0.5732			
Stage (FIGO 2008)	I	1			1		
	II/ III/ IV	2.90	1.47-6.07	0.0019	1.90	0.88-4.44	0.1021
組織型	類内膜癌 G1/2	1			1		
	類内膜癌 G1/2 以外	2.09	1.08-4.03	0.0295	1.15	0.51-2.59	0.7110
術後再発リスク分類	低リスク	1			1		
	中・高リスク	4.31	1.44-21.06	0.0059	0.22	0.001-44.40	0.4836
筋層浸潤	<1/2	1			1		
	≥1/2	3.55	1.71-8.15	0.0004	1.89	0.80-5.07	0.1528
脈管侵襲	なし	1			1		
	あり	3.11	1.60-6.01	0.0010	1.02	0.50-2.12	0.9669
リンパ節転移	なし	1			-	-	-
	あり	2.19	1.00-5.61	0.0510			
術後補助療法	なし	1			1		
	化学療法	4.09	1.90-8.17	0.0006	1.05	0.44-3.14	0.9216
新分類	Favorable	1			1		
	Intermediate	3.96	1.20-20.17	<0.0001	4.31	0.55-556.46	0.1569
	Unfavorable	11.02	3.53-54.84	<0.0001	23.47	2.39-3140.79	0.0042

POLE-EDM	なし	1			1		
	あり	0.11	0.00-0.76	0.0184	1.11	0.00-13.62	0.9488
MMR status	proficient	1					
	deficient	0.90	0.42-1.80	0.7758			
p53 status	wild type (1+)	1					
	abnormal (2+ or 0)	1.97	0.77-4.33	0.1460			
L1CAM status	low (H-score < 35)	1			1		
	high (H-score \geq 35)	2.42	1.25-4.69	0.0092	0.47	0.16-1.66	0.2177

p 値は尤度比検定によって得られた値を示した。G1/2, Grade 1 or 2; FIGO, Federation of Gynecologists and Obstetricians; HR, hazard ratio; L1CAM, L1 cell adhesion molecule; MMR, mismatch repair; PFS, progression-free survival; POLE-EDM, polymerase-epsilon exonuclease mutation.

表 19B DSS における Cox 回帰分析

		単変量解析			多変量解析		
		HR	95%信頼区間	p 値	HR	95%信頼区間	p 値
年齢 (歳)	> 58	1			-	-	-
	≥ 58	1.43	0.66-3.32	0.3703			
Stage (FIGO 2008)	I	1			1		
	II/ III/ IV	3.28	1.46-8.18	0.0037	2.11	0.68-6.44	0.1891
組織型	類内膜癌 G1/2	1			1		
	類内膜癌 G1/2 以外	2.37	1.09-5.18	0.0297	1.15	0.48-2.88	0.7110
	術後再発リスク分類						
	低リスク	1			-	-	-
	中・高リスク	>10000	0-infinite	<0.0001			
筋層浸潤	< 1/2	1			1		
	≥ 1/2	3.13	1.36-8.27	0.0066	1.01	0.39-2.87	0.9910
脈管侵襲	なし	1			-	-	-
	あり	1.37	0.63-3.00	0.4227			
リンパ節転移	なし	1			1		
	あり	2.92	1.34-6.35	0.0080	1.16	0.44-3.35	0.7616
術後補助療法	なし	1			-	-	-
	化学療法	2.24	0.89-7.13	0.0910			
新分類	Favorable	-			-		
	Intermediate	1			1		
	Unfavorable	4.77	1.99-11.44	0.0005	11.66	2.75-40.89	0.0022

POLE-EDM	なし	1					
	あり	<0.0001	0-infinite	0.02			
MMR status	proficient	1					
	deficient	0.72	0.28-1.87	0.5			
p53 status	wild type (1+)	1					
	abnormal (2+ or 0)	2.35	0.88-6.26	0.1			
L1CAM status	low (H-score < 35)	1			1		
	high (H-score \geq 35)	3.83	1.72-8.53	<0.0001	0.45	0.15-1.76	0.2226

p 値は尤度比検定によって得られた値を示した。DSS, disease-specific survival; G1/2, Grade 1 or 2; FIGO, Federation of Gynecologists and Obstetricians; HR, hazard ratio; L1CAM, L1 cell adhesion molecule; MMR, mismatch repair; POLE-EDM, polymerase-epsilon exonuclease mutation.

5. 新たな分類方法での生存分析

新たな分類方法では、予後と臨床的な意義から Favorable (Low risk, POLE-EDM)、Unfavorable (LICAM+, p53 abn)、Intermediate (MMR-D, Others) の3群とした。

この新分類を加えた単変量解析では、新分類は有意に PFS と関連していた (表 19A)。他に、進行期、筋層浸潤、組織型、リンパ節転移、再発リスク分類、POLE-EDM、LICAM+ が有意な因子であった。これらを用いた多変量解析では、新分類の Unfavorable のみが有意な因子となった (HR 23.47, 2.39-3140.79, $p = 0.0042$)。DSS については、再発低リスク群、POLE-EDM 群、Favorable 群で原病死が無かったことから多変量解析からは除いて検討した。その場合に、新分類が有意な予後因子であった (表 19B)。

5年 PFS は Favorable 群が 96.3%、Intermediate 群が 85.0%、Unfavorable 群が 59.4% であった。10年 PFS は Favorable 群が 96.3%、Intermediate 群が 83.0%、Unfavorable 群が 59.4% であった。新分類に基づいた PFS 曲線を図 32 に示す。Favorable 群と Intermediate 群 ($p = 0.024$)、Intermediate 群と Unfavorable 群 ($p = 0.0025$)、Favorable 群と Unfavorable 群 ($p < 0.0001$) はそれぞれ有意差を持って層別化された。

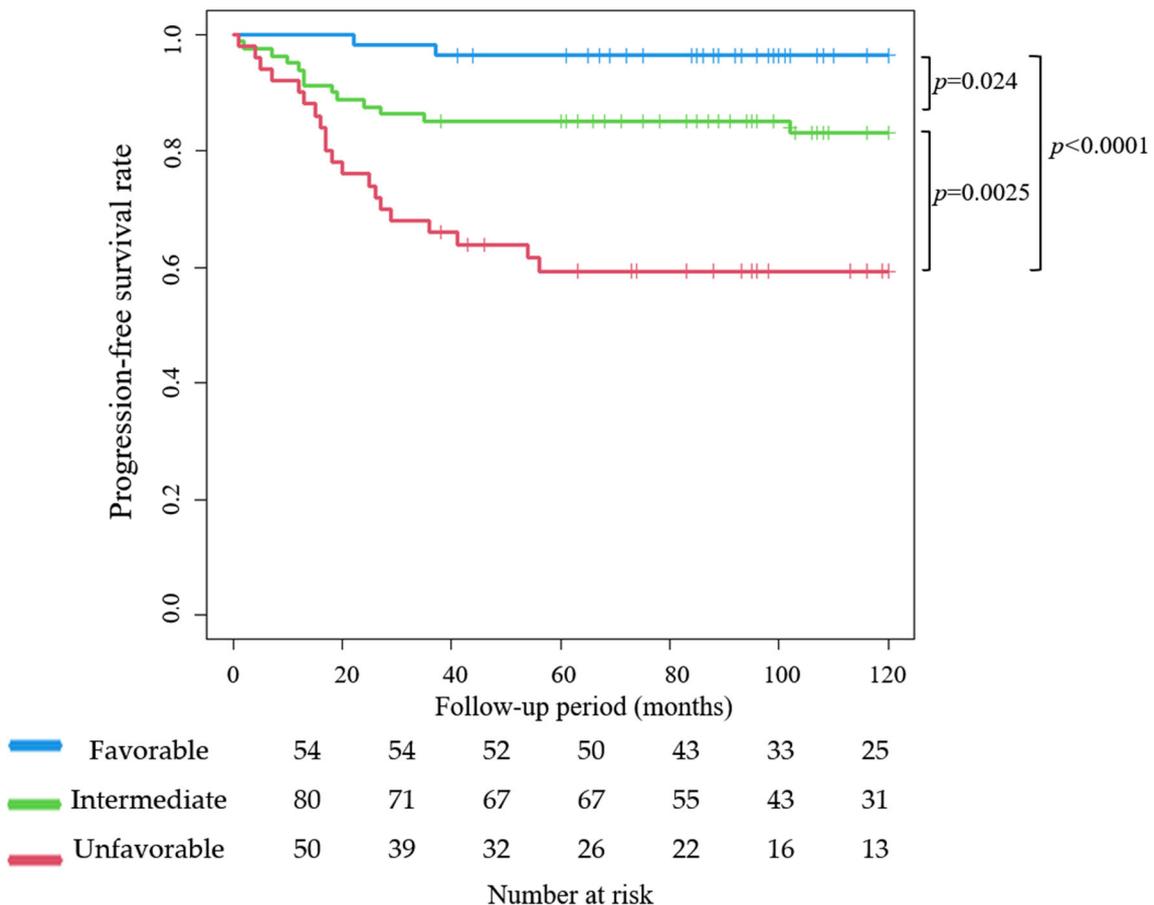


図 32 新分類に基づいた PFS 曲線

新たな方法に従って Favorable 群、Intermediate 群、Unfavorable 群に分類した。それぞれの PFS は有意差をもって層別化された (Kaplan-Meire 法、log-rank 検定)。

PFS, progression free survival.

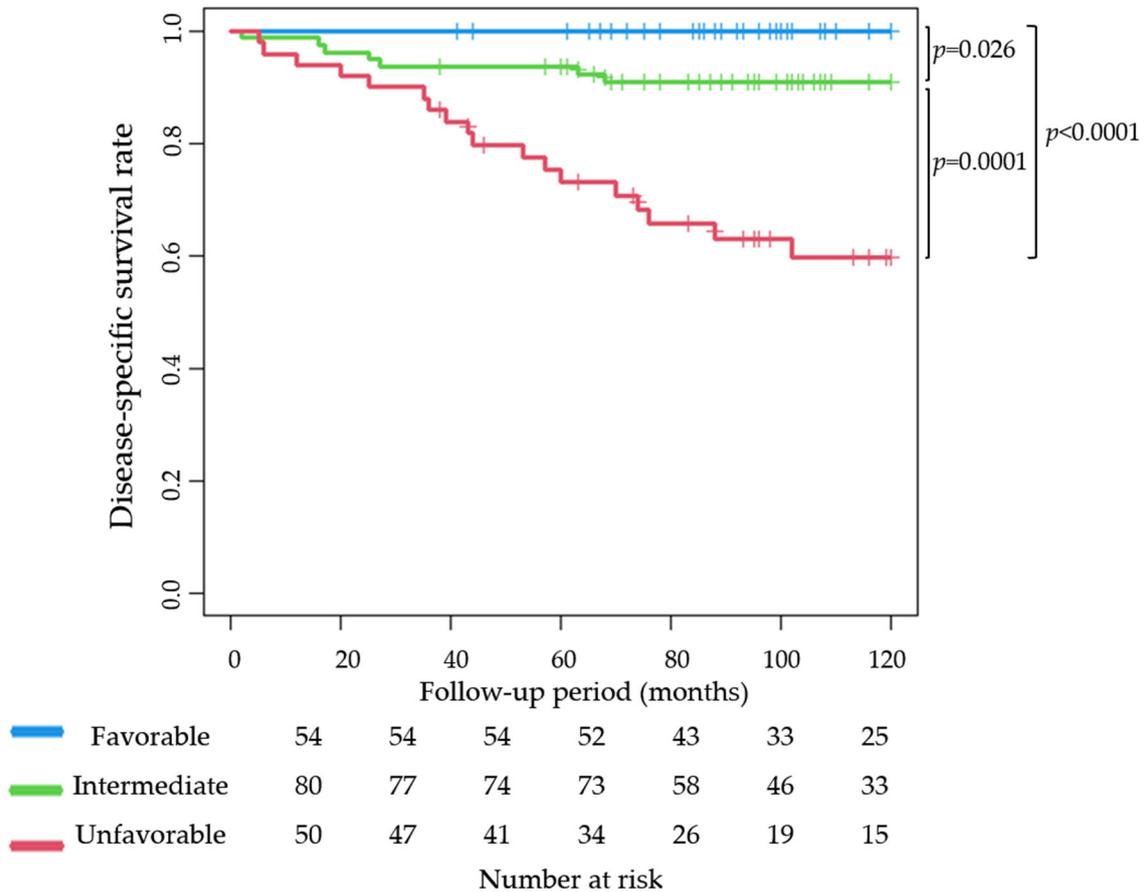


図 33 新分類に基づいた DSS 曲線

それぞれの DSS は有意差をもって層別化された (Kaplan-Meire 法、log-rank 検定)。

Favorable 群では、原病死を一例も認めなかった。

DSS, disease-specific survival.

DSS においても、Favorable 群と Intermediate 群 ($p = 0.026$)、Intermediate 群と Unfavorable 群 ($p = 0.0001$)、Favorable 群と Unfavorable 群 ($p < 0.0001$) はそれぞれ有意差を持って層別化された (図 33)。5 年/10 年 DSS は Favorable 群が 100%/100%、Intermediate 群が 93.8%/91.0%、Unfavorable 群が 73.2%/59.9%であった。

考察

1. 本研究の臨床的意義

本研究によって、リンパ節郭清を含む拡大手術により確定された再発リスク分類低リスク症例の予後は極めて良好であり、分子サブタイピングのための検査を省略できる可能性が示唆された。また、POLE-EDM 症例の予後は極めて良好であること、ProMisE では評価されていない LICAM+群が予後不良であることが明らかとなった。

ProMisE は、TCGA 分類の代替法として提案された背景があり、POLE-EDM に限った遺伝子変異解析と免疫染色を採用した。しかしながら、TCGA 分類が *POLE* 群を最初に抽出するのに対して ProMisE では MMR-D 群を先に抽出する。一方で、本研究で提案した新分類は、最初に Low risk 群 (再発リスク分類における低リスク) を抽出する。この群の 53.7% (22 例/41 例) が他の分子マーカーも陽性であったが、予後が極めて良好であったためである。つまり、この群は分子サブタイピングのための追加検査を省略できる可能性がある。本研究では Low risk 群は全体の 22.3% (41 例/184 例) であったが、本研究の対象は傍大動脈リンパ節郭清術の適応となった症例であるため、一般的な子宮体癌症例よりもリスクの高い集団であった。子宮体癌全体においては、Low risk である症例が半数程度を占めると予想される (図 12)。実際に ProMisE や TCGA 分類を検討した報告においても Low risk であった症例の割合は 39-53.3%であった (Cancer Genome Atlas Research et al., 2013; Talhouk et al., 2015; Talhouk et al., 2017; Kommos et al., 2018)。これらの症例で分子サブタイピングのための検査を省略することは医療経済的にも合理的であり、European Societies of Gynaecological Oncology, Radiotherapy and Oncology, and Pathology のガイドラインにおいても「特に高異型度腫瘍で分子サブタイピングのための検査が勧められている。POLE の遺伝子変異解析については、低リスクまたは中リスクでも低異型度な組織型の場合には必ずしも必要ではない。」とされている (Concin et al., 2020; Imboden et al., 2021)。

2. ProMisE コホートとの比較

本研究のコホートは、傍大動脈リンパ節郭清術の適応となった症例を対象としたため、ProMisE コホートよりも全体としてリスクの高い集団と考えられる。実際に、LVSI や深い筋層浸潤、リンパ節転移を有する割合など既知の予後不良因子は本研究のコホートの方が多い傾向にあった。しかしながら、特に MMR-D 群と POLE-EDM 群において、本研究の方がイベントは少ない傾向にあった。そのため、ProMisE による予後層別化が異なる結果になったと考えられる。イベント数の差が、日本と欧米の治療戦略の違いによって生じた可能性は考えられる。欧米を主体に行われた子宮体癌の術後療法に関する一連の PORTEC 試験の結果に基づいて、欧米では中リスク症例に対する術後補助療法として放射線療法が選択されているからである (Creutzberg et al.,

2011; Wortman et al., 2018; de Boer et al., 2018)。一方で、逆向きの選択バイアスについても考慮すべきである。本研究は拡大手術を行った患者を対象とした後方視的検討であったため、必然的に耐術能のあった集団が選択されており、進行期や組織型などには反映されない予後の良い集団を選択した可能性も考えられる。今後は、この新分類を異なる治療戦略のコホートでも検討する予定である。大きく予後が変わる分子サブタイプの集団が認められれば、より奏功する治療を同定する契機となる可能性がある。

将来的には術前の生検組織検体を用いて分子サブタイピングを行い、治療方針の選択に活かしたいと考えている。そのような背景もあり、今回の検討では IHC の評価は全例で手術検体の原発巣 FFPE ブロックから TMA を作成して実施した結果に基づいている。Original の ProMisE でも同様の手法で評価しているが、TMA を用いた評価は腫瘍の全体像を反映していない可能性が考慮される。本研究では、腫瘍の代表部分から 2 カ所をくり抜き、2 つの評価が一致しているものを陽性所見として反映した。また、染色性のコントロールとしてこれらの非腫瘍部分と、非腫瘍部分からくり抜いた標本を用いて、染色性に問題があったものは unclassifiable とする (ProMisE) か、陽性所見とはせずに次の分類 step へと進めた (新分類)。本研究のコホートを ProMisE で分類した際、MMR 蛋白の IHC で 14 例が染色性の問題で unclassifiable となった。これは、本研究で用いた検体が術後 5-17 年経過したものであったことも一因と考えられるが、腫瘍組織全体での IHC を行い、結果を比較する必要がある。

3. 腹腔細胞診

手術開始時の腹腔洗浄液または腹水細胞診 (以下、腹腔細胞診に統一する) の陽性所見について、手術により病期を確定した EC 集団での検討で有意な予後不良因子であったという報告がある (Tanaka et al., 2017)。システマティックレビューでは他の予後因子との相関はみられたが、腹腔細胞診自体は有意な予後因子ではなかったとされている (Lee et al., 2016)。総じて、独立した予後因子であるかはコンセンサスが得られておらず、本邦のガイドラインにおいても治療方針を大きく左右するものではない (日本婦人科腫瘍学会, 2018)。本研究では、20 例で腹腔細胞診が陽性であり、陽性例の予後は有意に不良であった (図 34)。また、Cox 回帰分析を用いた単変量解析では HR 2.72 (1.16-6.4, $p=0.02$) であった。分子マーカーとの重複を検討すると 12 例(60%) が L1CAM+ であった。腹腔細胞診陽性かつ L1CAM- であった 8 例に着目すると、Stage III/IV (再発リスク分類では全例高リスク群) の 4 例が DOD となり、Stage I の 4 例 (2 例は再発低リスク、2 例は再発中リスク) は全例が生存していた。以上より、腹腔細胞診陽性の中の予後不良例は、L1CAM+ 症例と進行症例を合わせた集団であったと解釈できる。そのため、新たな分類方法の検討においては L1CAM+ と、進行期分類も反映する low risk を要素に加えたことで腹腔細胞診の結果を反映させることとした。しかしながら、本研究では腹腔細胞診陽性例が 20 例と少なく、分子

サブタイピングとの関連を検討した報告もほとんどない。今後、さらに症例を集積して検討する必要があると考えている。

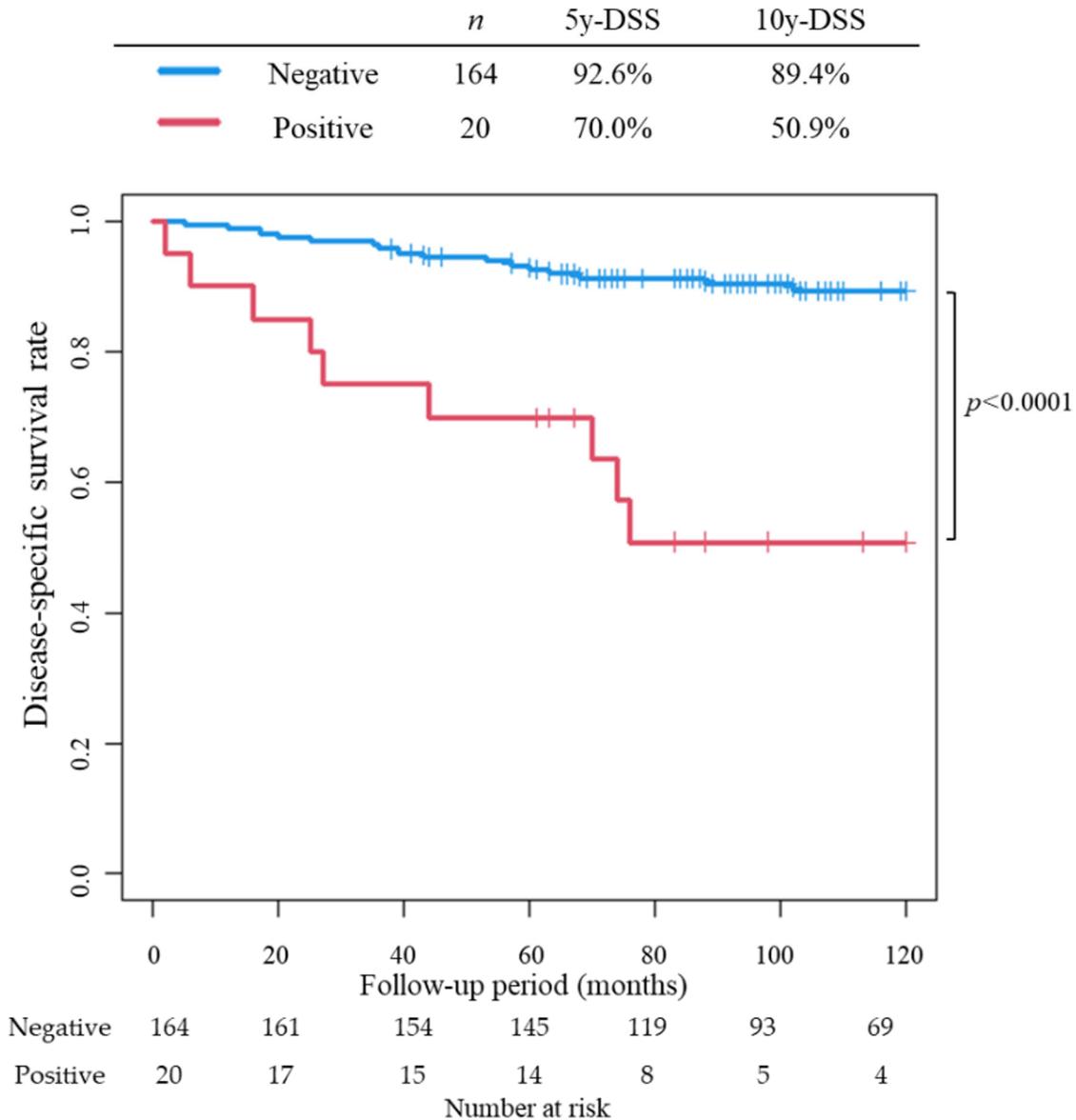


図 34 腹腔細胞診の結果による予後層別化

腹腔細胞診の結果によっても予後は層別化された ($p < 0.0001$, Kaplan-Meire 法、log-rank 検定)。しかしながら、細胞診陽性症例の 60%は L1CAM+であり、陽性例の中で予後良好だった症例は早期例であったため、新分類には含めなかった。L1CAM+, high expression of L1CAM.

4. 治療への応用

従来の臨床病理学的所見に基づいた Low risk、ホットスポットの解析に限定した POLE-EDM、IHC で評価した L1CAM+, p53 abn、MMR-D によって予後を層別化する

ることができた。このような分子サブタイピングの試みについて共通する課題は、どのように治療戦略に結びつけるかということである。TCGA 分類、ProMisE、我々の提案する新分類で用いた要素のうち、現状で治療内容を左右するのは Low risk と MMR-D のみであると言える。Low risk 症例においては術後の補助療法を省略でき、MMR-D 症例は免疫チェックポイント阻害剤の適応となる可能性がある。本研究ではリンパ節郭清により Low risk を決定したが、他のモダリティで評価した場合の予後は不明である。システムティックレビューによると positron emission tomography - computed tomography (PET-CT) のリンパ節転移に対する感度は 0.68 (95%信頼区間 0.63-0.73) とされている (Hu et al., 2019)。PET-CT により Low risk を決定した場合、リンパ節郭清の場合よりも予後が劣る可能性があるかもしれない。一方、センチネルリンパ節マッピング・生検では転移病巣の評価方法の違いにより、通常のリンパ節郭清時よりも多くのリンパ節転移病変が診断される可能性がある。センチネルリンパ節マッピング・生検では ultrastaging が行われるからである。1つの摘出リンパ節に対するスライス数を増やす、抗サイトケラチン染色を行う、One-step nucleic acid amplification により CK19 mRNA を検出するなど、コンセンサスが得られた方法はないが、特に micrometastasis (転移巣が 0.2 mm 以上 2.0 mm 未満) や isolated tumor cells (孤立性の腫瘍細胞または転移巣が 0.2 mm 未満) は通常の評価方法では約半数が見逃される計算になる (Delpech et al., 2008; Multinu et al., 2019; Diestro et al., 2021)。Low risk 群は予後が良好であるからこそ縮小手術の候補でもあり、リンパ節転移の評価方法に関する検討も必要である。また、本研究により L1CAM+と p53 abn 症例は予後が不良であることが示されたが、これらを標的とした治療方法は確立されておらず、現段階で治療選択に活かすことはできない。特に L1CAM に関しては、神経細胞の軸索において細胞接着因子として機能することが指摘されているが、腫瘍の進展・転移、治療抵抗性にどのように関与しているのかは解明されていない (Stoyanova et al., 2022)。そのため、L1CAM の機能解明および標的とした新規治療の開発が期待される。

結論

1. 周産期に診断される子宮頸がん症例の予後を改善するためには、妊娠前に介入することが重要である。
2. 通常の検尿カップによる自己採取検体を用いた尿中 hrHPV-DNA 検査は、現行の医師採取による子宮頸部擦過検体を用いた結果と高い一致率を示した。
3. 手術により確定された子宮体癌の再発低リスク群の予後は極めて良好であり、分子サブタイピングを省略する合理的な候補であることが示された。POLE-EDM 群は極めて良好な予後を示し、重複する他の分子マーカーや臨床病理学的所見の影響を受けなかった。LICAM+は最も強い予後不良因子であった。

周産期に診断される子宮頸がん症例の検討から、予後をさらに改善していくためには妊娠初期に行うスクリーニング検査だけでは不十分であり、妊娠前に介入することが必要であることが明らかとなった。また、妊娠初期スクリーニングとして広く行われている子宮頸部細胞診の感度が十分ではないことを、産婦人科医が認知する必要がある。なぜなら、不正性器出血や子宮頸部のポリープ様病変などの自覚・他覚所見に対して、偽陰性例での精密検査が数ヶ月遅れていたからである。

本研究により尿検体を用いた hrHPV-DNA 検査が子宮頸部検体を用いた場合の結果と高い一致率を示すことが明らかとなった。本研究のアドバンテージの一つは、通常の検尿カップを用いて被検者自身が採取した検体を使用したことである。専用の容器や診察台が不要となることで費用を抑えられ、かつ一般健診と同時に施行できることから受診率を大幅に改善することができると考えられる。しかしながら、本研究は子宮頸部細胞診 ASC-US であった患者を対象としたことから、検診で検出すべき CIN2+の病変を有した患者が少なかった。そのため、CIN2+病変を有する患者での陽性率を前向きに検討する試験を開始し、症例を集積中である。さらに、実際に子宮頸がん検診へ応用する場合には、特に CIN を有さない HPV 陽性例に対する検査治療アルゴリズムを構築することが必要である。

本研究では骨盤+傍大動脈リンパ節郭清を含む拡大手術により病期を確定し、術後再発中リスク以上の症例に対して全身化学療法を行った子宮体癌症例を対象とした。主に欧米で検討されてきた ProMisE は、本研究のコホートの予後を適切には層別化しなかった。そのため、従来の臨床病理学的所見に基づく再発リスク分類と、LICAM に対する IHC を要素に加えた新たな分類方法を提案し、本研究のコホートの予後を層別化することを示した。リンパ節郭清を含む手術により確定された再発低リスク群の予後が極めて良好であったことから、分子サブタイピングのための検査を省略する合理的な候補であることを示唆した。子宮体癌全体においてこのような低リスク症例が半数以上を占めるため、医療経済的にもアドバンテージがある。また、POLE-EDM 群も極めて良好な予後を示した。これは、重複する他の分子マーカーや

臨床病理学的な予後不良因子に関わらなかった。そのため、POLE-EDM の評価は本研究で行った分子サブタイピングのための検査の中で最もコストを要するものであるが、再発中リスク以上の症例では考慮されるべき検査であると考え。異なる治療戦略に基づいて治療された別コホートで validation study を行うことで、どの治療が奏功した結果、予後が良好となったのか比較検討したいと考えている。一方で、本研究においては LICAM+が最も強い予後不良因子であった。また、LICAM+群においてイベントの約半数が治療後5年以降に生じていたことも臨床的に注目すべきである。しかしながら、LICAM を標的とした治療は確立されておらず、腫瘍の進展や転移の過程でどのような役割を果たしているのかも未解明である。他の悪性腫瘍においても LICAM が予後不良因子であることが報告されており、癌腫横断的な機構の解明、新規治療法の開発が期待される。

謝辞

本研究全体においてご指導を賜りました北海道大学大学院医学院 生殖・発達医学講座 産婦人科学教室 渡利英道教授に深謝致します。

周産期に診断された子宮頸癌症例の検討において、研究全体についてご指導頂きました北海道大学病院 婦人科 三田村卓先生、ならびに研究方法、症例の確認等についてご協力頂きました同 井平圭先生、遠藤大介先生、櫻井愛美先生、金野陽輔先生に深く御礼申し上げます。

子宮頸がん検診におけるサロゲートマーカーの検討において、研究全体についてご指導頂きました北海道対がん協会 札幌がん検診センター 細胞診センター所長 岡元一平先生、ならびに検体採取、検査の実施等についてご協力頂きました北海道対がん協会 札幌がん検診センター 和田恒之様、藤田博正先生、ならびに研究全体についてご協力頂きました北海道大学病院 産科 朝野拓史先生に深く御礼申し上げます。

子宮体癌の予後層別化におけるサロゲートマーカーの検討において、研究全体についてご指導頂きました北海道大学病院 産科 朝野拓史先生、ならびに病理学的評価をはじめ研究方法等に関してご指導頂きました北海道大学病院 先端診断技術開発センター 診断開発企画室長 畑中佳奈子先生、北海道大学病院 ゲノム・コンパニオン診断研究部門 特任准教授 畑中豊先生、ならびに組織マイクロアレイの作成についてご協力頂きました国際医療福祉大学 病理診断学教室 助教 (元北海道大学病院がん遺伝子診断部 医員) 松岡亮介先生、ならびに研究全体についてご協力頂きました北海道大学病院 病理診断科／病理部 松野吉宏教授、北海道大学病院 婦人科 金野陽輔先生に深く御礼申し上げます。また、免疫組織化学染色、核酸抽出・解析等についてご協力頂きましたゲノム・コンパニオン診断研究部門および先端診断技術開発センター 技術員の方々に心より厚く御礼申し上げます。

研究の実施にあたり、ご参加頂きました患者様方、試料等を提供して頂きました患者様方に、この場をお借りして深謝申し上げます。

利益相反

全ての研究において開示すべき利益相反状態はない。

引用文献

Arbyn, M., Roelens, J., Simoons, C., Buntinx, F., Paraskevaidis, E., Martin-Hirsch, P.P., and Prendiville, W.J. (2013). Human papillomavirus testing versus repeat cytology for triage of minor cytological cervical lesions. *Cochrane Database Syst Rev*, CD008054.

Asano, H., Hatanaka, K.C., Matsuoka, R., Dong, P., Mitamura, T., Konno, Y., Kato, T., Kobayashi, N., Ihira, K., Nozaki, A., et al. (2020). L1CAM Predicts Adverse Outcomes in Patients with Endometrial Cancer Undergoing Full Lymphadenectomy and Adjuvant Chemotherapy. *Ann Surg Oncol* 27, 2159-2168.

Bober, P., Firment, P., and Sabo, J. (2021). Diagnostic Test Accuracy of First-Void Urine Human Papillomaviruses for Presence Cervical HPV in Women: Systematic Review and Meta-Analysis. *Int J Environ Res Public Health* 18, 13314.

Bokhman, J.V. (1983). Two pathogenetic types of endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol* 15, 10-17.

Cancer Council Victoria. (2022). Self-collection is now available for everyone eligible for a Cervical Screening Test. <https://www.cancervic.org.au/preventing-cancer/attend-screening/cervical-screening/self-collection> Accessed November 4th, 2022.

Cancer Genome Atlas Research, N., Kandoth, C., Schultz, N., Cherniack, A.D., Akbani, R., Liu, Y., Shen, H., Robertson, A.G., Pashtan, I., Shen, R., et al. (2013). Integrated genomic characterization of endometrial carcinoma. *Nature* 497, 67-73.

Chan, J.K., Cheung, M.K., Huh, W.K., Osann, K., Husain, A., Teng, N.N., and Kapp, D.S. (2006). Therapeutic role of lymph node resection in endometrioid corpus cancer. *Cancer* 107, 1823-1830.

Cheng, J.X., Yao, L.L., Xiang, H., Zhan, Y.J., Zhou, P., Yuan, M., Mei, L.P., and Zhang, Y. (2016). Cervical cytology ASCUS patients with HPV detection and clinical value. *Clin Exp Obstet Gynecol* 43, 592-596.

Cho, H.W., Shim, S.R., Lee, J.K., and Hong, J.H. (2022). Accuracy of human papillomavirus tests on self-collected urine versus clinician-collected samples for the

detection of cervical precancer: a systematic review and meta-analysis. *J Gynecol Oncol* 33, e4.

Cohen, J. (1960). A Coefficient of Agreement for Nominal Scales. *Educational and Psychological Measurement* 20, 37-46.

Concin, N., Matias-Guiu, X., Vergote, I., Cibula, D., Mirza, M.R., Marnitz, S., Ledermann, J., Bosse, T., Chargari, C., Fagotti, A., et al. (2021). ESGO/ESTRO/ESP guidelines for the management of patients with endometrial carcinoma. *Radiother Oncol* 154, 327-353.

Creutzberg, C.L., Nout, R.A., Lybeert, M.L., Warlam-Rodenhuis, C.C., Jobsen, J.J., Mens, J.W., Lutgens, L.C., Pras, E., van de Poll-Franse, L.V., van Putten, W.L., and Group, P.S. (2011). Fifteen-year radiotherapy outcomes of the randomized PORTEC-1 trial for endometrial carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 81, e631-638.

Cuzick, J., Arbyn, M., Sankaranarayanan, R., Tsu, V., Ronco, G., Mayrand, M.-H., Dillner, J., and Meijer, C.J.L.M. (2008). Overview of Human Papillomavirus-Based and Other Novel Options for Cervical Cancer Screening in Developed and Developing Countries. *Vaccine* 26, K29-K41.

de Boer, S.M., Powell, M.E., Mileshkin, L., Katsaros, D., Bessette, P., Haie-Meder, C., Ottevanger, P.B., Ledermann, J.A., Khaw, P., Colombo, A., et al. (2018). Adjuvant chemoradiotherapy versus radiotherapy alone for women with high-risk endometrial cancer (PORTEC-3): final results of an international, open-label, multicentre, randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 19, 295-309.

de Haan, J., Verhecke, M., Van Calsteren, K., Van Calster, B., Shmakov, R.G., Mhallem Gziri, M., Halaska, M.J., Fruscio, R., Lok, C.A.R., Boere, I.A., et al. (2018). Oncological management and obstetric and neonatal outcomes for women diagnosed with cancer during pregnancy: a 20-year international cohort study of 1170 patients. *Lancet Oncol* 19, 337-346.

Delpech, Y., Coutant, C., Darai, E., and Barranger, E. (2008). Sentinel lymph node evaluation in endometrial cancer and the importance of micrometastases. *Surg Oncol* 17, 237-245.

Diestro, M.D., Berjon, A., Zapardiel, I., Yebenes, L., Ruiz, I., Lekuona, A., Rezola, M., Jaunarena, I., Siegrist, J., Sanchez-Pastor, M., et al. (2021). One-Step Nucleic Acid Amplification (OSNA) of Sentinel Lymph Node in Early-Stage Endometrial Cancer: Spanish Multicenter Study (ENDO-OSNA). *Cancers (Basel)* 13.

Dijkstra, M.G., Van Zummeren, M., Rozendaal, L., Van Kemenade, F.J., Helmerhorst, T.J.M., Snijders, P.J.F., Meijer, C.J.L.M., and Berkhof, J. (2016). Safety of extending screening intervals beyond five years in cervical screening programmes with testing for high risk human papillomavirus: 14 year follow-up of population based randomised cohort in the Netherlands. *BMJ*, i4924.

Dudley, J.C., Lin, M.T., Le, D.T., and Eshleman, J.R. (2016). Microsatellite Instability as a Biomarker for PD-1 Blockade. *Clin Cancer Res* 22, 813-820.

European Commission, Directorate-General for Research and Innovation, Group of Chief Scientific Advisors. (2022). Cancer screening in the European Union. (Luxembourg: Publications Office of the European Union). <https://data.europa.eu/doi/10.2777/867180>

Fontham, E.T.H., Wolf, A.M.D., Church, T.R., Etzioni, R., Flowers, C.R., Herzig, A., Guerra, C.E., Oeffinger, K.C., Shih, Y.T., Walter, L.C., et al. (2020). Cervical cancer screening for individuals at average risk: 2020 guideline update from the American Cancer Society. *CA Cancer J Clin* 70, 321-346.

Franceschi, S., Denny, L., Irwin, K.L., Jeronimo, J., Lopalco, P.L., Monsonego, J., Peto, J., Ronco, G., Sasieni, P., and Wheeler, C.M. (2011). Eurogin 2010 roadmap on cervical cancer prevention. *Int J Cancer* 128, 2765-2774.

Fu, T.C., Fu Xi, L., Hulbert, A., Hughes, J.P., Feng, Q., Schwartz, S.M., Hawes, S.E., Koutsky, L.A., and Winer, R.L. (2015). Short-term natural history of high-risk human papillomavirus infection in mid-adult women sampled monthly. *Int J Cancer* 137, 2432-2442.

Fujiwara, H., Suzuki, M., Morisawa, H., Sayama, M., and Kimura, K. (2019). The Impact of Triage for Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance with Human Papillomavirus Testing in Cervical Cancer Screening in Japan. *Asian Pac J Cancer Prev* 20, 81-85.

Griffin-Mathieu, G., Haward, B., Tatar, O., Zhu, P., Perez, S., Shapiro, G.K., McBride, E., Thompson, E.L., Smith, L.W., Lofters, A.K., et al. (2022). Ensuring a Successful Transition From Cytology to Human Papillomavirus-Based Primary Cervical Cancer Screening in Canada by Investigating the Psychosocial Correlates of Women's Intentions: Protocol for an Observational Study. *JMIR Res Protoc* 11, e38917.

Hall, M.T., Simms, K.T., Lew, J.-B., Smith, M.A., Brotherton, J.M., Saville, M., Frazer, I.H., and Canfell, K. (2019). The projected timeframe until cervical cancer elimination in Australia: a modelling study. *The Lancet Public Health* 4, e19-e27.

Hanley, S.J., Fujita, H., Yokoyama, S., Kunisawa, S., Tamakoshi, A., Dong, P., Kobayashi, N., Watari, H., Kudo, M., and Sakuragi, N. (2016). HPV self-sampling in Japanese women: A feasibility study in a population with limited experience of tampon use. *J Med Screen* 23, 164-170.

Holowaty, P., Miller, A.B., Rohan, T., and To, T. (1999). Natural history of dysplasia of the uterine cervix. *J Natl Cancer Inst* 91, 252-258.

Hosaka, M., Fujita, H., Hanley, S.J., Sasaki, T., Shirakawa, Y., Abiko, M., Kudo, M., Kaneuchi, M., Watari, H., Kikuchi, K., and Sakuragi, N. (2013). Incidence risk of cervical intraepithelial neoplasia 3 or more severe lesions is a function of human papillomavirus genotypes and severity of cytological and histological abnormalities in adult Japanese women. *Int J Cancer* 132, 327-334.

Hu, J., Zhang, K., Yan, Y., Zang, Y., Wang, Y., and Xue, F. (2019). Diagnostic accuracy of preoperative (18)F-FDG PET or PET/CT in detecting pelvic and para-aortic lymph node metastasis in patients with endometrial cancer: a systematic review and meta-analysis. *Arch Gynecol Obstet* 300, 519-529.

Hua, T., Liu, S., Xin, X., Jin, Z., Liu, Q., Chi, S., Wang, X., and Wang, H. (2016). Prognostic significance of L1 cell adhesion molecule in cancer patients: A systematic review and meta-analysis. *Oncotarget* 7, 85196-85207.

Ibanez, R., Moreno-Crespi, J., Sarda, M., Autonell, J., Fibla, M., Gutierrez, C., Lloveras, B., Alejo, M., Catala, I., Alameda, F., et al. (2012). Prediction of cervical intraepithelial neoplasia grade 2+ (CIN2+) using HPV DNA testing after a diagnosis of atypical squamous cell of undetermined significance (ASC-US) in Catalonia, Spain.

BMC Infect Dis 12, 25.

Imboden, S., Nastic, D., Ghaderi, M., Rydberg, F., Siegenthaler, F., Mueller, M.D., Rau, T.T., Epstein, E., and Carlson, J.W. (2021). Implementation of the 2021 molecular ESGO/ESTRO/ESP risk groups in endometrial cancer. *Gynecol Oncol* 162, 394-400.

International Agency for Research on Cancer, World Health Organization. (2020). Cancer Today. <https://gco.iarc.fr/today/home> Accessed September 25, 2022.

Kaso, M., Takahashi, Y., and Nakayama, T. (2019). Factors related to cervical cancer screening among women of childrearing age: a cross-sectional study of a nationally representative sample in Japan. *Int J Clin Oncol* 24, 313-322. 10.1007/s10147-018-1350-z.

Koliopoulos, G., Nyaga, V.N., Santesso, N., Bryant, A., Martin-Hirsch, P.P., Mustafa, R.A., Schunemann, H., Paraskevidis, E., and Arbyn, M. (2017). Cytology versus HPV testing for cervical cancer screening in the general population. *Cochrane Database Syst Rev* 8, CD008587.

Kommoss, S., McConechy, M.K., Kommoss, F., Leung, S., Bunz, A., Magrill, J., Britton, H., Kommoss, F., Grevenkamp, F., Karnezis, A., et al. (2018). Final validation of the ProMisE molecular classifier for endometrial carcinoma in a large population-based case series. *Ann Oncol* 29, 1180-1188.

Kono, K., Morisada, T., Saika, K., Aoki, E.S., Miyagi, E., Ito, K., Takahashi, H., Nakayama, T., Saito, H., and Aoki, D. (2021). The first-round results of a population-based cohort study of HPV testing in Japanese cervical cancer screening: baseline characteristics, screening results, and referral rate. *J Gynecol Oncol* 32, e29.

Kyrgiou, M., Kalliala, I., Mitra, A., Ng, K.Y., Raglan, O., Fotopoulou, C., Martin-Hirsch, P., Paraskevidis, E., and Arbyn, M. (2017). Immediate referral to colposcopy versus cytological surveillance for low-grade cervical cytological abnormalities in the absence of HPV test: A systematic review and a meta-analysis of the literature. *Int J Cancer* 140, 216-223.

Le, D.T., Uram, J.N., Wang, H., Bartlett, B.R., Kemberling, H., Eyring, A.D., Skora, A.D., Luber, B.S., Azad, N.S., Laheru, D., et al. (2015). PD-1 Blockade in Tumors with

Mismatch-Repair Deficiency. *N Engl J Med* 372, 2509-2520.

Le, D.T., Durham, J.N., Smith, K.N., Wang, H., Bartlett, B.R., Aulakh, L.K., Lu, S., Kemberling, H., Wilt, C., Luber, B.S., et al. (2017). Mismatch repair deficiency predicts response of solid tumors to PD-1 blockade. *Science* 357, 409–413.

Lee, B., Suh, D.H., Kim, K., No, J.H., and Kim, Y.B. (2016). Influence of positive peritoneal cytology on prognostic factors and survival in early-stage endometrial cancer: a systematic review and meta-analysis. *Jpn J Clin Oncol* 46, 711-717.

Lin, S., Gao, K., Gu, S., You, L., Qian, S., Tang, M., Wang, J., Chen, K., and Jin, M. (2021). Worldwide trends in cervical cancer incidence and mortality, with predictions for the next 15 years. *Cancer* 127, 4030-4039.

Liu, S.H., Cummings, D.A., Zenilman, J.M., Gravitt, P.E., and Brotman, R.M. (2014). Characterizing the temporal dynamics of human papillomavirus DNA detectability using short-interval sampling. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 23, 200-208.

Magdi, R., Elshafeey, F., Elshebiny, M., Kamel, M., Abuelnaga, Y., Ghonim, M., Nabhan, A., and Group, E.W. (2021). A systematic review and meta-analysis of diagnostic accuracy of HPV tests for the screening of cervical cancer in low-resource settings. *Int J Gynaecol Obstet* 152, 12-18.

Maged, A.M., Saad, H., Salah, E., Meshaal, H., AbdElbar, M., Omran, E., and Eldaly, A. (2018). Urine test for HPV genotypes as a predictor of precancerous cervical lesions and for cervical cancer screening. *Int J Gynaecol Obstet* 141, 332-336.

Makker, V., Colombo, N., Casado Herraiez, A., Santin, A.D., Colomba, E., Miller, D.S., Fujiwara, K., Pignata, S., Baron-Hay, S., Ray-Coquard, I., et al. (2022). Lenvatinib plus Pembrolizumab for Advanced Endometrial Cancer. *N Engl J Med* 386, 437-448.

Matsumoto, K., Oki, A., Furuta, R., Maeda, H., Yasugi, T., Takatsuka, N., Mitsuhashi, A., Fujii, T., Hirai, Y., Iwasaka, T., et al. (2011). Predicting the progression of cervical precursor lesions by human papillomavirus genotyping: a prospective cohort study. *Int J Cancer* 128, 2898-2910.

Mayrand, M.H., Duarte-Franco, E., Rodrigues, I., Walter, S.D., Hanley, J., Ferenczy,

A., Ratnam, S., Coutlee, F., Franco, E.L., and Canadian Cervical Cancer Screening Trial Study, G. (2007). Human papillomavirus DNA versus Papanicolaou screening tests for cervical cancer. *N Engl J Med* 357, 1579-1588.

Mitamura, T., Konno, Y., Kikawa, S., Iwaki, Y., Iwaki, K., Tanuma, F., and Kataoka, S. (2019). High-risk Human Papillomavirus Testing in Young Japanese Women with Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance. *J Cytol* 36, 180-183.

Multinu, F., Casarin, J., Cappuccio, S., Keeney, G.L., Glaser, G.E., Cliby, W.A., Weaver, A.L., McGree, M.E., Angioni, S., Faa, G., et al. (2019). Ultrastaging of negative pelvic lymph nodes to decrease the true prevalence of isolated paraaortic dissemination in endometrial cancer. *Gynecol Oncol* 154, 60-64.

National Cancer Institute. (2022). Endometrial Cancer Treatment (PDQ)—Health Professional Version. <https://www.cancer.gov/types/uterine/hp/endometrial-treatment-pdq> Cited February 24, 2022. Accessed November 19, 2022.

National Comprehensive Cancer Network. (2021). NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology, Uterine Neoplasms, Version 1.2022. https://www.nccn.org/guidelines/category_1 Cited November 4, 2021. Accessed October 19, 2022.

Nishimura, H., Yeh, P.T., Oguntade, H., Kennedy, C.E., and Narasimhan, M. (2021). HPV self-sampling for cervical cancer screening: a systematic review of values and preferences. *BMJ Glob Health* 6, e003743.

Nishiwaki, M., Yamamoto, T., Tone, S., Murai, T., Ohkawara, T., Matsunami, T., Koizumi, M., Takagi, Y., Yamaguchi, J., Kondo, N., et al. (2008). Genotyping of human papillomaviruses by a novel one-step typing method with multiplex PCR and clinical applications. *J Clin Microbiol* 46, 1161-1168.

Oaknin, A., Bosse, T.J., Creutzberg, C.L., Giornelli, G., Harter, P., Joly, F., Lorusso, D., Marth, C., Makker, V., Mirza, M.R., et al. (2022). Endometrial cancer: ESMO Clinical Practice Guideline for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 33, 860-877.

OECD.Stat, OECD Library, OECD. (2022). Cervical cancer screening, Health Care Utilization, OECD Health Statics. <https://doi.org/10.1787/health-data-en> Accessed

November 6th, 2022.

Onuki, M., Matsumoto, K., Iwata, T., Yamamoto, K., Aoki, Y., Maenohara, S., Tsuda, N., Kamiura, S., Takehara, K., Horie, K., et al. (2020). Human papillomavirus genotype contribution to cervical cancer and precancer: Implications for screening and vaccination in Japan. *Cancer Sci* *111*, 2546-2557.

Onuma, T., Kurokawa, T., Shinagawa, A., Chino, Y., and Yoshida, Y. (2020). Evaluation of the concordance in HPV type between self- and physician-collected samples using a brush-based device and a PCR-based HPV DNA test in Japanese referred patients with abnormal cytology or HPV infection. *Int J Clin Oncol* *25*, 1854-1860.

Pathak, N., Dodds, J., Zamora, J., and Khan, K. (2014). Accuracy of urinary human papillomavirus testing for presence of cervical HPV: systematic review and meta-analysis. *BMJ* *349*, g5264-g5264.

Pattyn, J., Van Keer, S., Biesmans, S., Ieven, M., Vanderborght, C., Beyers, K., Vankerckhoven, V., Bruyndonckx, R., Van Damme, P., and Vorsters, A. (2019). Human papillomavirus detection in urine: Effect of a first-void urine collection device and timing of collection. *J Virol Methods* *264*, 23-30.

Pecorelli, S. (2009). Revised FIGO staging for carcinoma of the vulva, cervix, and endometrium. *Int J Gynaecol Obstet* *105*, 103-104.

Perkins, R.B., Guido, R.S., Castle, P.E., Chelmow, D., Einstein, M.H., Garcia, F., Huh, W.K., Kim, J.J., Moscicki, A.B., Nayar, R., et al. (2020). 2019 ASCCP Risk-Based Management Consensus Guidelines for Abnormal Cervical Cancer Screening Tests and Cancer Precursors. *J Low Genit Tract Dis* *24*, 102-131.

Peto, J., Gilham, C., Deacon, J., Taylor, C., Evans, C., Binns, W., Haywood, M., Elanko, N., Coleman, D., Yule, R., and Desai, M. (2004). Cervical HPV infection and neoplasia in a large population-based prospective study: the Manchester cohort. *Br J Cancer* *91*, 942-953.

Petry, K.U., Cox, J.T., Johnson, K., Quint, W., Ridder, R., Sideri, M., Wright, T.C., Jr., and Behrens, C.M. (2016). Evaluating HPV-negative CIN2+ in the ATHENA trial. *Int J*

Cancer *138*, 2932-2939.

Ritu Nayar, David Wilbur. (2015). *The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology*. (New York City, USA: Springer International).

Ronco, G., Dillner, J., Elfström, K.M., Tunesi, S., Snijders, P.J.F., Arbyn, M., Kitchener, H., Segnan, N., Gilham, C., Giorgi-Rossi, P., et al. (2014). Efficacy of HPV-based screening for prevention of invasive cervical cancer: follow-up of four European randomised controlled trials. *The Lancet* *383*, 524-532.

Sano, H., Goto, R., and Hamashima, C. (2017). Does lack of resources impair access to breast and cervical cancer screening in Japan? *PLOS ONE* *12*, e0180819.

Santesso, N., Mustafa, R.A., Schunemann, H.J., Arbyn, M., Blumenthal, P.D., Cain, J., Chirenje, M., Denny, L., De Vuyst, H., Eckert, L.O., et al. (2016). World Health Organization Guidelines for treatment of cervical intraepithelial neoplasia 2-3 and screen-and-treat strategies to prevent cervical cancer. *Int J Gynaecol Obstet* *132*, 252-258.

Seagle, B.L., Kocherginsky, M., and Shahabi, S. (2017). Association of Pelvic and Para-Aortic Lymphadenectomy With Survival in Stage I Endometrioid Endometrial Cancer: Matched Cohort Analyses From the National Cancer Database. *JCO Clin Cancer Inform* *1*, 1-14.

Sekine, M., Kobayashi, Y., Tabata, T., Sudo, T., Nishimura, R., Matsuo, K., Grubbs, B.H., Enomoto, T., and Ikeda, T. (2018). Malignancy during pregnancy in Japan: an exceptional opportunity for early diagnosis. *BMC Pregnancy Childbirth* *18*, 50.

Senkomago, V., Des Marais, A.C., Rahangdale, L., Vibat, C.R., Erlander, M.G., and Smith, J.S. (2016). Comparison of urine specimen collection times and testing fractions for the detection of high-risk human papillomavirus and high-grade cervical precancer. *J Clin Virol* *74*, 26-31.

Shim, M.H., Mok, C.W., Chang, K.H., Sung, J.H., Choi, S.J., Oh, S.Y., Roh, C.R., and Kim, J.H. (2016). Clinical characteristics and outcome of cancer diagnosed during pregnancy. *Obstet Gynecol Sci* *59*, 1-8.

Silva, D.C., Goncalves, A.K., Cobucci, R.N., Mendonca, R.C., Lima, P.H., and Cavalcanti, G.J. (2017). Immunohistochemical expression of p16, Ki-67 and p53 in cervical lesions - A systematic review. *Pathol Res Pract* 213, 723-729.

Simms, K.T., Hanley, S.J.B., Smith, M.A., Keane, A., and Canfell, K. (2020). Impact of HPV vaccine hesitancy on cervical cancer in Japan: a modelling study. *Lancet Public Health* 5, e223-e234.

Stelloo, E., Nout, R.A., Osse, E.M., Jurgenliemk-Schulz, I.J., Jobsen, J.J., Lutgens, L.C., van der Steen-Banasik, E.M., Nijman, H.W., Putter, H., Bosse, T., et al. (2016). Improved Risk Assessment by Integrating Molecular and Clinicopathological Factors in Early-stage Endometrial Cancer-Combined Analysis of the PORTEC Cohorts. *Clin Cancer Res* 22, 4215-4224.

Stoyanova, II, and Lutz, D. (2022). Functional Diversity of Neuronal Cell Adhesion and Recognition Molecule L1CAM through Proteolytic Cleavage. *Cells* 11, 3085.

Talhouk, A., McConechy, M.K., Leung, S., Li-Chang, H.H., Kwon, J.S., Melnyk, N., Yang, W., Senz, J., Boyd, N., Karnezis, A.N., et al. (2015). A clinically applicable molecular-based classification for endometrial cancers. *Br J Cancer* 113, 299-310.

Talhouk, A., McConechy, M.K., Leung, S., Yang, W., Lum, A., Senz, J., Boyd, N., Pike, J., Anglesio, M., Kwon, J.S., et al. (2017). Confirmation of ProMisE: A simple, genomics-based clinical classifier for endometrial cancer. *Cancer* 123, 802-813.

Tanaka, K., Kobayashi, Y., Sugiyama, J., Yamazaki, T., Dozono, K., Watanabe, M., Shibuya, H., Nishigaya, Y., Momomura, M., Matsumoto, H., et al. (2017). Histologic grade and peritoneal cytology as prognostic factors in type 1 endometrial cancer. *Int J Clin Oncol* 22, 533-540.

Tao, X., Zhang, H., Wang, L., Pan, Q., Ji, S., Zhou, X., and Zhao, C. (2021). Atypical squamous cells of undetermined significance cervical cytology in the Chinese population: Age-stratified reporting rates, high-risk HPV testing, and immediate histologic correlation results. *Cancer Cytopathol* 129, 24-32.

Tate, J.G., Bamford, S., Jubb, H.C., Sondka, Z., Beare, D.M., Bindal, N., Boutselakis, H., Cole, C.G., Creatore, C., Dawson, E., et al. (2019). COSMIC: the Catalogue Of Somatic

Mutations In Cancer. *Nucleic Acids Research* 47, D941–D947.

Terada, N., Matsuura, M., Kurokawa, S., Nishimura, Y., Tamate, M., Isoyama, K., Yamazaki, S., Shimada, H., Suzuki, M., Tabuchi, Y., et al. (2022). Human papillomavirus testing and cytology using physician-collected uterine cervical samples vs. self-collected vaginal samples and urine samples. *Int J Clin Oncol* 27, 1742-1749.

The National Cancer Institute, National Institutes of Health. (2022). HPV and Cancer. <https://www.cancer.gov/about-cancer/causes-prevention/risk/infectious-agents/hpv-and-cancer> Cited September 12, 2022. Accessed September 25, 2022.

Thigpen, J.T., Brady, M.F., Homesley, H.D., Malfetano, J., DuBeshter, B., Burger, R.A., and Liao, S. (2004). Phase III trial of doxorubicin with or without cisplatin in advanced endometrial carcinoma: a gynecologic oncology group study. *J Clin Oncol* 22, 3902-3908.

Todo, Y., Sakuragi, N., Nishida, R., Yamada, T., Ebina, Y., Yamamoto, R., and Fujimoto, S. (2003). Combined use of magnetic resonance imaging, CA 125 assay, histologic type, and histologic grade in the prediction of lymph node metastasis in endometrial carcinoma. *Am J Obstet Gynecol* 188, 1265-1272.

Todo, Y., Kato, H., Kaneuchi, M., Watari, H., Takeda, M., and Sakuragi, N. (2010). Survival effect of para-aortic lymphadenectomy in endometrial cancer (SEPAL study): a retrospective cohort analysis. *The Lancet* 375, 1165-1172.

Vorsters, A., Micalessi, I., Bilcke, J., Ieven, M., Bogers, J., and Van Damme, P. (2012). Detection of human papillomavirus DNA in urine. A review of the literature. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 31, 627-640.

WHO Classification of Tumours Editorial Board. (2020). WHO classification of Tumours. 5th Edition. (Lyon, France: International Agency for Research on Cancer.).

Watari, H., Katayama, H., Shibata, T., Ushijima, K., Satoh, T., Onda, T., Aoki, D., Fukuda, H., Yaegashi, N., Sakuragi, N., and Gynecologic Cancer Study Group of the Japan Clinical Oncology, G. (2017). Phase III trial to confirm the superiority of pelvic and para-aortic lymphadenectomy to pelvic lymphadenectomy alone for endometrial cancer: Japan Clinical Oncology Group Study 1412 (SEPAL-P3). *Jpn J Clin Oncol* 47,

986-990.

World Health Organization. (2020). Global strategy to accelerate the elimination of cervical cancer as a public health problem <https://www.who.int/publications/i/item/9789240014107> Cited November 17, 2020. Accessed September 19, 2022.

World Health Organization. (2022a). Cervical Cancer <https://www.who.int/health-topics/cervical-cancer> Accessed September 15, 2022.

World Health Organization. (2022b). HPV self-sampling in Sweden leading to faster elimination of cervical cancer. <https://www.who.int/europe/news/item/08-09-2022-hpv-self-sampling-in-sweden-leading-to-faster-elimination-of-cervical-cancer> Cited September 8, 2022. Accessed September 25, 2022.

Wortman, B.G., Creutzberg, C.L., Putter, H., Jurgenliemk-Schulz, I.M., Jobsen, J.J., Lutgens, L., van der Steen-Banasik, E.M., Mens, J.W.M., Slot, A., Kroese, M.C.S., et al. (2018). Ten-year results of the PORTEC-2 trial for high-intermediate risk endometrial carcinoma: improving patient selection for adjuvant therapy. *Br J Cancer* *119*, 1067-1074.

Xu, H., Yu, Y., George, W., Smith, J.S., Hu, S., Dang, L., Zhang, X., Pan, Q., Qiao, Y., and Zhao, F. (2020). Comparison of the performance of paired urine and cervical samples for cervical cancer screening in screening population. *J Med Virol* *92*, 234-240.

Yan, L., and Zhang, W. (2018). Precision medicine becomes reality-tumor type-agnostic therapy. *Cancer Commun (Lond)* *38*, 6.

Yeh, P.T., Kennedy, C.E., de Vuyst, H., and Narasimhan, M. (2019). Self-sampling for human papillomavirus (HPV) testing: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Glob Health* *4*, e001351.

Zeimet, A.G., Reimer, D., Huszar, M., Winterhoff, B., Puistola, U., Azim, S.A., Muller-Holzner, E., Ben-Arie, A., van Kempen, L.C., Petru, E., et al. (2013). L1CAM in early-stage type I endometrial cancer: results of a large multicenter evaluation. *J Natl Cancer Inst* *105*, 1142-1150.

厚生労働省． (2020)． 2019 年国民生活基礎調査の概況．
<https://www.mhlw.go.jp/toukei/saikin/hw/k-tyosa/k-tyosa19/index.html> Cited July 17, 2020. Accessed October 10, 2022.

厚生労働省． (2022)． HPVワクチンに係る自治体向け説明会 資料
https://www.mhlw.go.jp/stf/newpage_24243.html Cited March 11, 2022. Accessed September 15, 2022.

国立がん研究センター 社会と健康研究センター． (2020)． 有効性評価に基づく子宮頸がん検診ガイドライン 更新版
<http://canscreen.ncc.go.jp/guideline/shikyukeigan.html> Cited July 29, 2020. Accessed September 19, 2022.

国立がん研究センター． (2022)． 国立がん研究センターがん情報サービス「がん登録・統計」． https://ganjoho.jp/reg_stat/statistics/dl/index.html. Accessed September 4, 2022.

政府統計の総合窓口 (e-Stat)． (2022a)． 「人口動態調査 (出生の場所)」
<https://www.e-stat.go.jp/> Cited February 25, 2022. Accessed September 19, 2022.

政府統計の総合窓口 (e-Stat)． (2022b)． 「全国がん登録」． <https://www.e-stat.go.jp/>
Accessed September 4, 2022.

内閣府． (2022)． 少子化社会対策白書 令和 4 年版．
<https://www8.cao.go.jp/shoushi/shoushika/whitepaper/index.html> Accessed September 19, 2022.

日本産科婦人科学会、日本病理学会． (2017)． 子宮頸癌取扱い規約 病理編 第 4 版． (東京, 日本: 金原出版).

日本産科婦人科学会, 日本産婦人科医会． (2020a)． 産婦人科診療ガイドライン 産科編 2020． (東京, 日本: 日本産科婦人科学会)

日本産科婦人科学会, 日本産婦人科医会． (2020b)． 産婦人科診療ガイドライン 婦人科外来編 2020． (東京, 日本: 日本産科婦人科学会)

日本産科婦人科学会． (2022a)． 子宮頸がん と HPV ワクチンに関する正しい理解の

ために . https://www.jsog.or.jp/modules/jsogpolicy/index.php?content_id=4 Cited August 16, 2022. Accessed September 15, 2022.

日本産科婦人科学会. (2022b). 婦人科腫瘍委員会報告. 日本産科婦人科学会雑誌 74(6), 686-691.

日本婦人科腫瘍学会. (2018). 子宮体がん治療ガイドライン 2018年版. (東京, 日本: 金原出版).

日本婦人科腫瘍学会. (2022). 子宮頸癌治療ガイドライン 2022年版. (東京, 日本: 金原出版).