

ヒトパピローマウイルス感染と子宮頸がんの発生

《研究の概要》

子宮頸部がんの95%以上に、ヒトパピローマウイルス（HPV）感染が関与している。HPVには100種類余の型があるが、その中の7～8種がhigh risk群とされ、中でも16型が、がんと係わりが深い。子宮頸部がんは、**Cervical Intraepithelial Neoplasia (CIN) I～III**を経て浸潤がんに進展する。CIN Iから浸潤がんに至るまでには数年～十数年を要するが、がんに至るものは稀で(約10%)、消失してしまうものも多い(ただし従来成績は細胞診レベルの追跡のみ)。CINは、同じ段階のものでも、組織学的には一様ではない。どのような特徴を有するCINが高リスクであるか、また各段階を経て浸潤がんに至る期間はどのくらいであるかは、患者の治療ないし追跡方法決定のために重要であるが、現在のところ不明なことが多い。

此の研究を遂行する際、CINの組織診断に於いて、診断者間にかかなりの不一致があることが以前から問題となっている。これは、CINの段階診断が、1970年前後に決められた“基底部の未熟細胞増生の上皮内全層に占める割合”という基準に安易に基づいており、HPV感染の事実が明らかになって来た1980年以降も、“未熟細胞”の内容に十分な検討が加えられていないことに大きな原因があると考えられた。そこで私達は、今回、文科省の“HPVと子宮頸部発癌に関するコホート研究(吉川班)のCentral pathologyを担当する機会を得た事を生かし、”未熟細胞“に徹底的な検討を加え、腫瘍性異型(未熟細胞)とウイルスが誘導した非腫瘍性変性性異型の鑑別基準を明確にする事に勤めた。この鑑別基準の確立の為に、私達は**Viro-degenerative atypia**なる用語を導入し、この概念と所見の確立を試みた。この研究の背景には、私達が従来行って来たin situ hybridization (ISH法)によるウイルス感染様式の観察がある。

Viro-degenerative atypia(ウイルス誘導変性性異型)としては、すでに良く知られているkoilocytotic atypiaがある。私達はその他に、核の濃墨化(smudge)、核膜不整(irregular envelope)、核腫大(nuclear enlargement)、核質粗造(coarse granularity)、核の淡明化(paleness)、多核化(multinucleation)、異常核分裂(abnormal mitosis)および私達が報告した**傍中心体異所性染色体(ectopic chromosome around centrosome:ECAC)**などがあることを明らかにし、更にこれらの所見が、表層のkoilocytosisから連続してたどれることが肝要であると指摘した。

この基準にたつて最長8年間に亘り追跡中のコホート症例916のレビューを行い、777例をCIN I-IIと診断したが、各施設でCIN III以上へのprogressionと診断された76例については、真のprogressionは29例のみで、他は(なるべく原診断を尊重する立場に立ったが)過剰診断とせざるを得なかった。すなわち、本研究は、CIN I-IIのprogression rateは、従来報告されてきたものよりもかなり低いことを明らかにした。本研究は更に、真のCIN IIおよびCIN III以上の病変に係るのはかならずhigh risk HPVであること、一方臨床的に自然退縮と判定された症例の大部分に組織学的にはウイルス感染所見が残っている事などを示す事が出来た。

子宮頸部がんは、経過を追ってもCINの段階を経ずにいきなり出現することがある。このようながんの発生状況を精査した病理学的研究はまだないので、今回、別に癌研病院で過去20年間に蓄積された49例の微小浸潤がんを集め、がんの発生点の状況を組織学的に精査した。その結果2/49(4%)において、がんはCINを伴わず、いわゆる“*de novo*”に発生すること、またこのような癌は強い浸潤傾向を示す事が明らかになる事が出来た。

研究者氏名および所属機関

氏名	所属機関	分担研究テーマ
古田玲子	(財) 癌研究会 癌研究所 研究員	ECAC、HPV タイプと CIN の発がんリスク。ECAC の性格と発現機構。HPV 組込状況。病理診断。
北川知行	(財) 癌研究会 癌研究所 名誉所長	病理診断。ECAC の性格と発現機構の解析。
荷見勝彦	(財) 癌研究会 癌研有明病院 婦人科	症例の収集と長期追跡
平井康夫	(財) 癌研究会 癌研有明病院 婦人科副部長、兼細胞診断部部長	異形成由来の培養細胞を用いた ECAC の動的解析
川名 尚	帝京大学 医学部 産婦人科教授	HPV のタイピングと CIN の長期追跡。
吉川裕之	筑波大学臨床医学系 産婦人科教授	HPV のタイピングと CIN の長期追跡。

研究報告

I 研究目的

子宮頸部がんの95%以上に、ヒトパピローマウイルス (HPV) 感染が関与している。HPV には100種類余の型があるが、その中の7~8種が high risk 群とされ、中でも16型が、がんと係わりが深い。子宮頸部がんは、**Cervical Intraepithelial Neoplasia (CIN) I~III**を経て浸潤がんに進展する。CIN I から浸潤がんに至るまでには数年~十数年を要するが、がんに至るものは稀で(約10%)、消失してしまうものも多い(ただし従来の成績は細胞診レベルの追跡のみ)。CINは、同じ段階のものでも、組織学的には一様ではない。どの様な特徴を有するCINが高リスクであるか、また各段階を経て浸潤がんに至る期間はどのくらいであるかは、患者の治療ないし追跡方法決定のために重要であるが、現在のところ不明なことが多い。本研究は、ウイルスの型別感染状況を把握しつつ長期に亘り progression を追跡している多数のCIN病変の解析を通じて、リスク評価を考慮した客観的病理組織診断の確立を目的とした。

II 研究計画および材料と方法

CIN病変は、文部科学省の『HPV感染と子宮頸部発がんに関するコホート研究班』で1998~2006年6月までに、癌研有明病院134症例を含む916症例の標本をレビューし、CINIないしIIとした777症例である。HPVのtypingは吉川が開発した consensus primer-mediated L1-PCRでのPCR-RELP(restriction fragment length polymorphism)法を用いた。このPCRでは子宮頸部がんや生殖器に感染する30型以上のHPV DNAの検出および型決定が可能である。病理組織学的な in situ hybridization (ISH)法でHPVの陽性所見の観察および微小浸潤がん49例は、癌研有明病院の症例を用いた。子宮頸癌 ECACの発生メカニズムの解析は平井らが樹立したCIN病変から得られた培養細胞を

用いた。

III 研究成果

1. HPV の感染と感染様式の ISH 法による観察

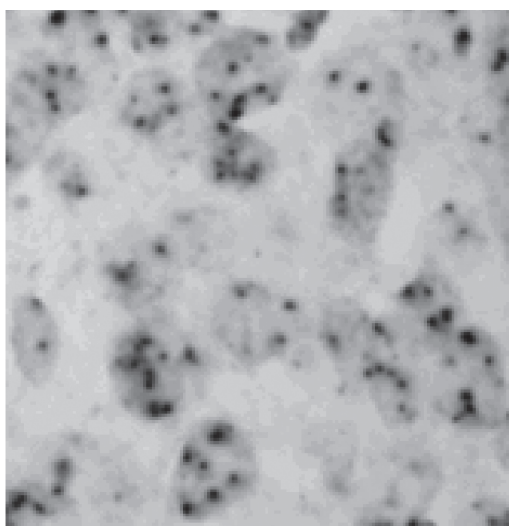
ISH 法に工夫を加えて感度をあげて HPV の感染の有無と感染様式を調べ、浸潤がんでは高頻度にウイルスの Integrasi on pattern(IP)が、CIN I, IIや condyloma では、フリーのウイルスが diffuse な episomal pattern(EP)とに観察される (図1)。IP は、どの細胞の核にも大きさと数がそろっている dot 状としてウイルスが検出される。一様にみられることから、HPV の DNA の一部が組込まれた細胞のモノクローナルな腫瘍性の増生を示唆すると考えられる。Condyloma では 17 例全例が EP。CIN では段階が進むにつれ EP は低くなり、逆に、IP が増え、invasiv carcinoma では 83%が IP である(表 1)。CINIIIとする病変にはその組織像には幅がある。図2の左は CIS(carcinoma in situ)で ISH で IP で腫瘍性であることは云えるが、右は severe dysplasia で EP であり、腫瘍性か非腫瘍性か難しい。過去の報告では severe dysplasia で進行したのが 13%程度であったということも考えると severe dysplasia の一部は、非腫瘍性病変も含まれていると思われた。また、稀に CIN II の深層部で細胞密度の高い小型の幼若異型細胞増生巣部で IP が見られた(図3)。このような、細胞増生巣が腫瘍性増生部として、注目すべき病変であると考えている。

表1 Staining Pattern of HPV by in situ hybridization

	E	E+I	I
Condyloma	17/17 (100%)	0	0
CIN 1	11/11 (100%)	0	0
CIN 2	11/12 (92%)	1/12 (8%)	0
CIN 3	5/ 8 (63%)	3/ 8 (38%)	0
microinvasive SCC	9/25 (36%)	8/25 (32%)	8/25 (32%)
invasive SCC	2/12 (17%)	0	10/12 (83%)

I: Integrated, E: Episomal

図1 Integration pattern (SCC)



Episomal pattern(CINII)

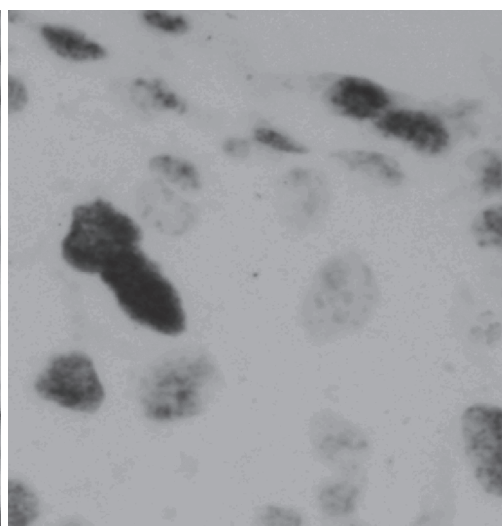
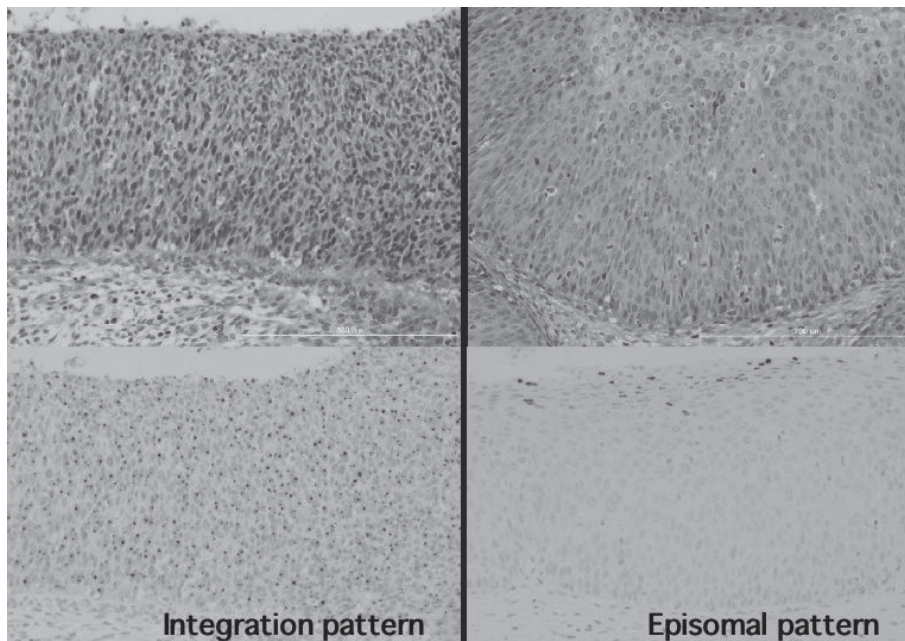
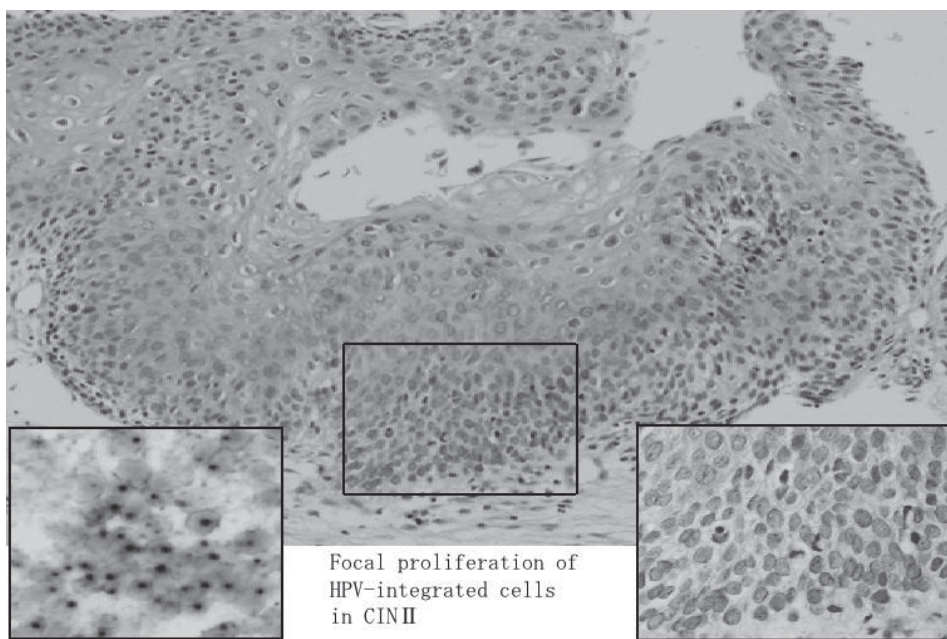


図 2 CIS Severe dysplasia



左 CIS は ISH で、1 核 1 個、dot 状に陽性、右 Severe dysplasia は diffuse に陽性。上段：HE 染色、下段：ISH 法

図 3



ISH 法で IP を呈する

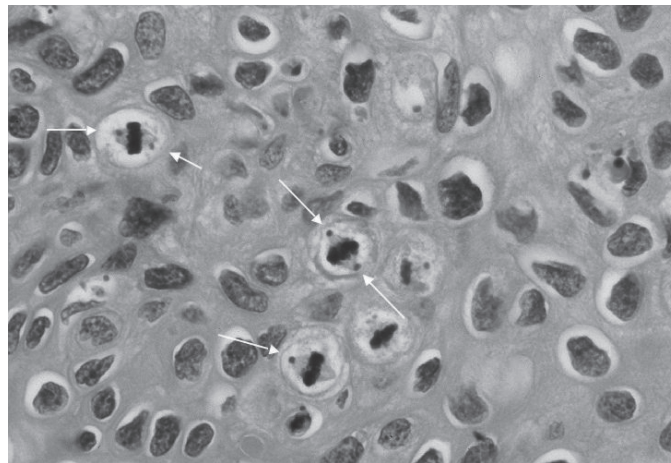
HE 染色 強拡大

2. ハイリスク HPV 感染 CIN に出現する傍中心体異所性染色体 (ECAC)

ECAC (Ectopic Chromosome Around Centrosom) は、分裂中期細胞の両側中心体近傍に対称性に出現する 1 本の特定のサイズの異所性染色体である (図 4)。赤道面に染色体が並び、紡錘糸でひっぱられ、その両側の中心体の位置に 0.7μ ほどの、同じ大きさの異所性染色体を認める。これらの異所性の染色体は、固定条件の良い標本では filamentous な構造も観察されるので、染色体であることは明らか

であるが、念のためにヒト胎盤DNAを用いて in situ hybridization を行って、ヒトDNAよりなるクロマチンを含んでいることを証明した。また、抗 γ tubline 抗体を用いて中心体と紡錘糸を染めてみると ECAC は中心体近傍に存在した。ECAC は一度、気がつけば誰も見落とすことのないようなはつきりした、他の異常核分裂像とは異なる特徴のある所見であるが、high risk HPV 感染のある CIN に特異的な所見であるということは報告がなかったので、私共が ECAC という名称をつけて報告した。high risk に CIN I で 23%。CIN II、III、microinvasive squamous cell carcinoma で 45%以上みとめ、intermediate risk ではほとんどみられず、low またはナルリスクの condyloma では全くみられない。さらに、high リスクのなかでも、どの type の出現が高いかみると 16 型が CIN I で 36%、CIN II では、82%と高率である。33 型も高く CIN I でも 50%認められる。Total でみても、16、33 型が 40%以上と高く、その他の型は 20%以下である。ECAC は高リスク HPV の E6, E7 が誘導する現象で発がんに関係する遺伝子不安定性を示す 1 つの形態学的な重要な所見と思われる。

図 4



分裂中期細胞の両側中心体近傍に対称性に出現する
1 々の特定のサイズの異所性染色体 : ECAC

3. ECAC の異所性染色体の解析

ECAC の分子レベルでの特徴を解明するため、ECAC の高頻度に出現する培養細胞系の作製を試みている。HPV16 型の E6, E7 を感染研の神田先生より供与を受け、これを我々が子宮頸部異形成より樹立した培養細胞系に transfect したが、ECAC の出現率は残念ながらほとんど上昇しなかった。今後更に ECAC が多数出現する細胞の作製を目指す。現時点では少数出現する培養細胞 (43x20mm の範囲で 3 ~ 5 個) と生検組織を用い、径 0.7μ の ECAC を chromosome microdissection 法で切り出し、DNA を PCR 法で増幅し、FISH 法により、これが特定の染色体であるか確認するために様々な条件を駆使して検討中である。

4. Viro-degenerative atypia(ウイルス誘導変性性異型)

CIN の組織診断に於いて診断者間にかなりの不一致があることが以前から問題となっている。これは、CIN の段階診断が、1970 年前後に決められた“基底部の未熟細胞増生の上皮内全層に占める割合”という基準に安易に基づいており、HPV 感染の事実が明らかになって来た 1980 年以降も、“未熟細胞”の内容に十分な検討が加えられていないことに大きな原因があると考えられた。そこで私達は、今回、

文科省の“HPV と子宮頸部発癌に関するコホート研究 (吉川班) の Central pathology を担当する機会を得た事を生かし、” 未熟細胞 “に徹底的な検討を加え、腫瘍性異型 (未熟細胞) とウイルスが誘導した非腫瘍性変性性異型の鑑別基準を明確にする事に勤めた。この鑑別基準の確立の為に、私達は **Viro-degenerative atypia** なる用語を導入し、この概念と所見の確立を試みた。この研究の背景には、私達が従来行って来た in situ hybridization (ISH 法) によるウイルス感染様式の観察がある。

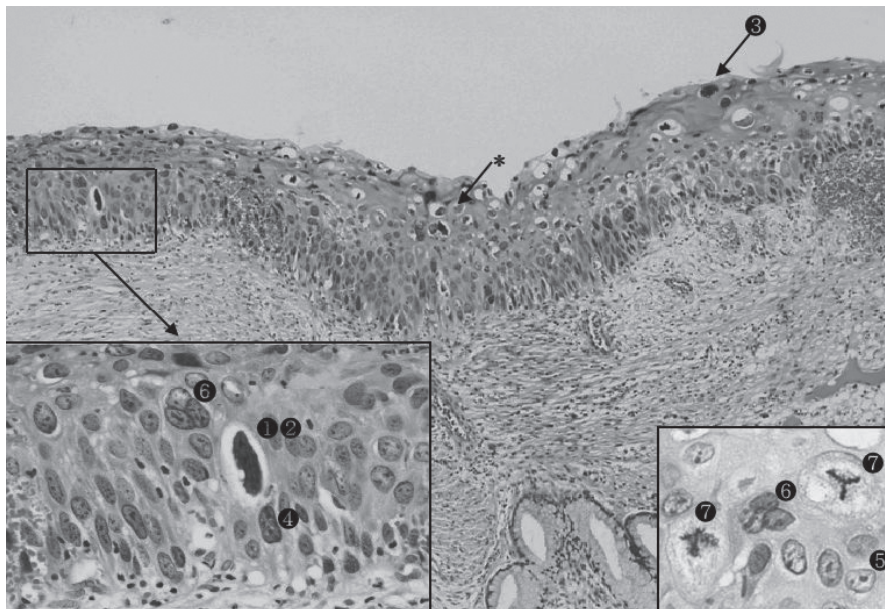
Viro-degenerative atypia (ウイルス誘導変性性異型) としては、すでに良く知られている koilocytotic atypia がある。私達はその他に、核の濃墨化 (smudge), 核膜不整 (irregular envelope), 核腫大 (nuclear enlargement), 核質粗造 (coarse granularity), 核の淡明化 (paleness), 多核化 (multinucleation), 異常核分裂 (abnormal mitosis) および私達が報告した **傍中心体異所性染色体 (ECAC)** などがあることを明らかにし、更にこれらの所見が、表層の koilocytosis から連続してたどれることが肝要であると指摘した (表 2, 図 5)。

表 2 **Viro-degenerative atypia (ウイルス誘導変性性異型)**

胞体所見	koilocytotic atypia
核所見	Smudge (核の濃墨化)
	Irregular envelope (核膜不整)
	Nuclear enlargement (核腫大)
	Coarse granularity (核質粗造)
	Paleness (核の淡明化)
	Multinucleation (多核化)
	Abnormal mitosis (異常核分裂)
	ECAC* (傍中心体異所性染色体)

*ECAC:ectopic chromosome around centrosome

図 5 **Viro-degenerative atypia**



①Smudge, ②Irregular envelope, ③Nuclear enlargement, ④Coarse granularity, ⑤Paleness, ⑥Multinucleation, ⑦Abnormal mitosis

*Koilocytotic atypia

5. コホート追跡における progression の実態

VDA の概念を確立し、この基準にたつて最長 8 年間に亘り追跡中のコホート症例 916 のレビューを行い、777 例を CIN I-II と診断したが、各施設で CIN III 以上への progression と診断された 76 例については、真の progression は 29 例のみで、他は（なるべく原診断を尊重する立場に立ったが）過剰診断とせざるを得なかった。すなわち、本研究は、CIN I-II の progression rate は、従来報告されてきたものよりもかなり低いことを明らかにした。

6. HPV の型および progression の関係

病理組織学的に CIN III への progression が確認された症例の HPV 型は high risk HPV の 16/31/33/35/51/52/56/58 感染であった。また、真の CIN II の病変と診断した症例も high risk HPV が検出されている。

7. "de novo"型微小浸潤がん

多くの症例では CIN を経て 8～10 年かかって病変は進行し癌にいたるといわれているが、以前から、細胞診で follow-up を続けていると、ずっと Class I, II の人に、いきなり浸潤癌が出現する現象は知られており、前癌性変化なしに、癌が発生する可能性は指摘されている。しかし細胞診で false negative になることはあるので、その可能性を更に追求した研究はなかったので、微小浸潤癌を集めて、がんの発生点での状況を調べた。微小浸潤癌は最大浸潤幅が縦軸方向 7mm 筋層浸潤幅 5mm 以内と定義されている非常に小さな病変である。1988 年から 1998 年の症例の間の 49 例について、円錐切除や子宮摘出された子宮頸部をほぼ 3mm 間隔で全割し標本を作製し解析した。その結果、2 例は CIN をほとんど伴わない "de novo" 型に発生すること、またこのような癌は強い浸潤傾向を示す事が出来た。この事は子宮頸が次予防を進める際に、考慮に入れておくべき重要な情報である。

IV 考察

近年 HPV 感染者が若年化し、それに従って比較的若年層の子宮頸部がんが増加している。従来は 30 歳以上の女性に年一度の検診が勧められて来たが、これを今後は 20 歳以上に 2 年に 1 度細胞診を行うことを勧告する動きになっている。いずれにせよ、今後 CIN の病理組織診断は増加するであろう。本研究は progression の率は従来言われて来たものよりはかなり低いことを明らかにしているので、病変のリスクに応じたフォローアップ体制を確立することが、患者(国民)に不必要な負担を強わずに合理的な予防を実践するためにますます必要になっている。

今回提唱し tviro-degenerative atypia の概念と所見は非腫瘍性病変の過剰診断を避けることにより貢献すると期待される。

V 研究成果の発表

1. Matsumoto K, Yoshikawa H, Yasugi T, Nakagawa S, Kawana K, Takeoka A, Yaegashi N, Iwasaka T, Kanazawa K, Taketani Y and Kanda T. IgG antibodies to human papillomavirus 16, 52, 58, and 6 L1 capsids: Case-control study of cervical intraepithelial neoplasia in Japan.

J Med Virol 69(3):441-6, 2003

2. Ohara K, Tanaka YO, Tsunoda H, Sugahara S, Hashimoto T, Kagei K, Tokuyue K, Akine Y, Yoshikawa H, Itai Y. Nonoperative assessment of nodal status for locally advanced cervical squamous cell carcinoma treated by radiotherapy with regard to patterns of treatment failure.

- Int J Radiat Oncol Biol Phys 1;55(2):354-61, 2003
3. Arimoto T, Katagiri T, Oda K, Tsunoda T, Yasugi T, Osuga Y, Yoshikawa H, Nishii O, Yano T, Taketani Y, Nakamura Y. Genome-wide cDNA microarray analysis of gene-expression profiles involved in ovarian endometriosis. Int J Oncol 22(3):551-560, 2003
 4. Kawana K, Yasugi T, Yoshikawa H, Kawana Y, Matsumoto K, Nakagawa S, Onda T, Kikuchi A, Fujii T, Kanda T, Taketani Y. Evidence for the presence of neutralizing antibodies against human papillomavirus type 6 in infants born to mothers with condyloma acuminata. Am J Perinatol. 20(1): 11-16, 2003
 5. Okamoto Y, Tanaka YO, Nishida M, Tsunoda H, Yoshikawa H, Itai Y. MR imaging of the uterine cervix: imaging-pathologic correlation. Radiographics 23(2): 425-445, 2003
 6. Okuno S, Sato H, Kuriyama-Matsumura K, Tamba M, Wang H, Sohda S, Hamada H, Yoshikawa H, Kondo T, Bannai S. Role of cystine transport in intracellular glutathione level and cisplatin resistance in human ovarian cancer cell lines. Br J Cancer 88(6): 951-956, 2003
 7. Ohara K, Tsunoda H, Nishida M, Sugahara S, Hashimoto T, Shioyama Y, Hasezawa K, Yoshikawa H, Akine Y, Itai Y. Use of small pelvic field instead of whole pelvic field in postoperative radiotherapy for node-negative, high-risk stages I and II cervical squamous cell carcinoma. Int J Gynecol Cancer 13(2): 170-176, 2003
 8. Yokoyama M, Iwasaka T, Nagata C, Nozawa S, Sekiya S, Hirai Y, Kanazawa K, Sato S, Hoshiai H, Sugase M, Kawana T, Yoshikawa H. Prognostic factors associated with the clinical outcome of cervical intraepithelial neoplasia: a cohort study in Japan. Cancer Lett 192(2): 171-179, 2003
 9. Takizawa S, Nakagawa S, Nakagawa K, Yasugi T, Fujii T, Kugu K, Yano T, Yoshikawa H, Taketani Y. Abnormal Fhit expression is an independent poor prognostic factor for cervical cancer. Br J Cancer 88(8): 1213-1216, 2003
 10. Furuta R, Hirai Y, Katase K, Tate S, Kawaguchi T, Akiyama F, Kato Y, Kumada K, Iwasaka T, Yaegashi N, Kanazawa K, Yoshikawa H, Kitagawa T. Ectopic chromosome around centrosome in metaphase cells as a marker of high-risk human papillomavirus-associated cervical intraepithelial neoplasias. Int J Cancer 106(2):167-171, 2003
 11. Ichikawa Y, Nakauchi T, Sato T, Oki A, Tsunoda H, Yoshikawa H. Ultrasound diagnosis of uterine arteriovenous fistula associated with placental site trophoblastic tumor. Ultrasound Obstet Gynecol 21(6): 606-608, 2003
 12. Matsumoto K, Yasugi T, Nakagawa S, Okubo M, Hirata R, Maeda H, Yoshikawa H, Taketani Y. Human papillomavirus type 16 E6 variants and HLA class II alleles among Japanese women with cervical cancer. Int J Cancer 106(2): 919-922, 2003.
 13. Matsumoto K, Yasugi T, Oki A, Hoshiai H, Taketani Y, Kawana T, Yoshikawa H. Are smoking and chlamydial infection risk factors for CIN?: Different results after adjustment for HPV DNA and antibodies. Br J Cancer, 89(5):831-833, 2003.
 14. Kawana K, Yasugi T, Kanda T, Kino N, Oda K, Okada S, Kawana Y, Nei T, Takada T, Toyoshima S, Tsuchiya A, Kondo K, Yoshikawa H, Tsutsumi O, Taketani Y. Safety and immunogenicity of a

peptide containing the cross-neutralization epitope of HPV16L2 administered nasally in healthy volunteers. *Vaccine* 21(27-30):4256-4260, 2003

15. Kita N, Satoh T, Onuki-Tanabe M, Ainoya Y, Yamada N, Oki A, Tsunoda H, Yoshikawa H. Undifferentiated carcinoma with osteoclast-like multinucleated giant cells arising in an ovarian mature cystic teratoma. *Gynecol Obstet Invest* 56(4):184-7, 2003

16. Minami R, Tsunoda H, Iijima T, Yoshikawa H, Nemori R, Noguchi M. Early acquisition of gelatinolytic activity in carcinogenesis of the uterine cervix. *Mod Pathol* Nov;16(11):1164-1170, 2003

17. Sugiyama Y, Dan S, Yoshida Y, Akiyama F, Sugiyama K, Hirai Y, Matsuura M, Miyata S, Ushijima M, Hasumi K, Yamori T. A large-scale gene expression comparison of microdissected, small-sized endometrial cancers with or without hyperplasia matched to same-patient normal tissue. *Clin Cancer Res* Nov 15;9(15):5589-600, 2003

18. Tabata T, Takeshima N, Nishida H, Hirai Y, Hasumi K. A randomized study of primary bleomycin, vincristine, mitomycin and cisplatin (BOMP) chemotherapy followed by radiotherapy versus radiotherapy alone in stage IIIB and IVA squamous cell carcinoma of the cervix. *Anticancer Res.* May-Jun;23(3C):2885-90, 2003

19. Hirai Y, Takeshima N, Tate S, Akiyama F, Furuta R, Hasumi K. Early invasive cervical adenocarcinoma: its potential for nodal metastasis or recurrence. *BJOG.* Mar;110(3):241-6, 2003

20. 北川知行. がんの個別化医療の確立と病理診断学、*medical forum CHUGAI*, 7 (4): 24-25, 2003

21. Tajima Y, Mizuguchi K, Kawana T. Cytodiagnostic typing of high/low-risk group HPV infection using cervical smears. *Cancer Science* 94(supplement): 544, 2003

22. Yamamoto K, Yoshikawa H, Shiromizu K, Saito T, Kuzuya K, Tsunematsu R, Kamura T. Pulmonary metastasectomy for uterine cervical cancer: A multivariate analysis. *Annals of Thoracic Surgery*, 77(4): 1179-1182, 2004

23. Onda T, Kamura T, Ishizuka N, Katsumata N, Fukuda H and Yoshikawa H. Feasibility study of neoadjuvant chemotherapy followed by interval cytoreductive surgery for stage III/IV ovarian, tubal and peritoneal cancers: Japan Clinical Oncology Group Study JCOG0206. *Jpn J Clin Oncol*, 34(1):43-45, 2004

24. Minaguchi T, Yoshikawa H, Nakagawa S, Yasugi T, Yano T, Iwase H, Mizutani K, Shiromizu K, Ohmi K, Watanabe Y, Noda K, Nishiu M, Nakamura Y, Taketani Y. Association of PTEN mutation with HPV-negative adenocarcinoma of the uterine cervix. *Cancer Lett.* 210(1):57-62, 2004

20. Okamoto Y, Tanaka YO, Nishida M, Tsunoda H, Yoshikawa H. Pelvic imaging: multicystic uterine cervical lesions. Can magnetic resonance imaging differentiate benignancy from malignancy? *Acta Radiol.* 45(1):102-108, 2004

25. Miki A, Fujii T, Yoshikawa H, Hyodo H, Kanai T, Yamashita T, Yasugi T, Kozuma S, Taketani Y. A novel method of preoperative autologous blood donation with a large volume of plasma for surgery in gynecologic malignancies. *Transfus Apheresis Sci.* 31(1):21-28, 2004.

26. Ohara K, Tsunoda H, Satoh T, Oki A, Sugahara S, Yoshikawa H. Use of the small pelvic field instead of the classic whole pelvic field in postoperative radiotherapy for cervical cancer: reduction of adverse events. *Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys.* 60(1): 258-264, 2004

27. Onda T, Katsumata N, Tsunematsu R, Yasugi T, Mushika M, Yamamoto K, Fujii T, Hirakawa T, Kamura T, Saito T, Yoshikawa H. Cisplatin, Paclitaxel and Escalating Doses of Doxorubicin (TAP) in Advanced Ovarian Cancer: a Phase I Trial. *Jpn J Clin Oncol.* 34(9):540-546, 2004
28. Tanaka YO, Tsunoda H, Kitagawa Y, Ueno T, Yoshikawa H, Saida Y. Functioning Ovarian Tumors: Direct and Indirect Findings at MR Imaging. *Radiographics.* 24 (Suppl 1): 147-166, 2004
29. Tanaka YO, Nishida M, Tsunoda H, Okamoto Y, Yoshikawa H. Smooth muscle tumors of uncertain malignant potential and leiomyosarcomas of the uterus: MR findings. *J Magn Reson Imaging.* 20(6):998-1007, 2004
30. Nishida M, Tsunoda H, Ichikawa Y, Yoshikawa H. Complete response to irinotecan hydrochloride and nedaplatin in a patient with advanced ovarian clear cell carcinoma. *Int J Clin Oncol.* 9(5):403-405, 2004.
31. Hirai Y, Utsugi K, Takeshima N, Kawamata Y, Furuta R, Kitagawa T, Kawaguchi T, Hasumi K, Noda T. Putative gene loci associated with carcinogenesis and metastasis of endocervical adenocarcinomas of uterus determined by conventional and array-based CGH. *Am J Obstet Gynecol.* 191(4):1173-82, 2004
32. Hirai Y, Hasumi K, Onose R, Kuramoto H, Kuzuya K, Hatae M, Ochiai K, Nozawa S, Noda K. Phase II trial of 3-h infusion of paclitaxel in patients with adenocarcinoma of endometrium: Japanese Multicenter Study Group. *Gynecol Oncol* Aug;94(2):471-6, 2004
33. Hirai Y, Kawamata Y, Takeshima N, Furuta R, Kitagawa T, Kawaguchi T, Hasumi K, Sugai S, Noda T. Conventional and array-based comparative genomic hybridization analyses of novel cell lines harboring HPV18 from glassy cell carcinoma of the uterine cervix. *Int J Oncol.* Apr;24(4):977-86, 2004
34. Tate S, Hirai Y, Iwasaki H, Matsui H, Sekiya S, Hasumi K. [Neurotoxicity of weekly TP (weekly paclitaxel + consecutive low-dose CDDP) therapy]. *Gan To Kagaku Ryoho.* Jan;31(1):67-73, 2004
31. Tajima Y, Mizuguchi K, Kawana T. Detection and grouping of human papillomavirus on cervical Pap smears. *Pathology International* 54(supplement 2) A71, 2004
35. 北川知行、がん研究における疫学研究、*学術月報*、57号、936-937, 2004
36. Takano K, Ichikawa Y, Ueno E, Ohwada M, Suzuki M, Tsunoda H, Miwa M, Uchida K, Yoshikawa H. Microsatellite instability and expression of mismatch repair genes in sporadic endometrial cancer coexisting with colorectal or breast cancer. *Oncol Rep.* 13(1):11-16, 2005
37. Onda T, Yoshikawa H, Yasugi T, Yamada M, Matsumoto K, Taketani Y. Secondary Cytoreductive Surgery for Recurrent Epithelial Ovarian Carcinoma; Proposal for Patients Selection. *Br J Cancer* 92(6):1026-1032, 2005
38. Ohara K, Tanaka YO, Tsunoda H, Oki A, Satoh T, Onishi K, Kagei K, Sugahara S, Hata M, Igaki H, Tokuyue K, Akine Y, Yoshikawa H. Preliminary estimation of treatment effect on uterine cervical squamous cell carcinoma in terms of tumor regression rate: comparison between chemoradiotherapy and radiotherapy alone. *Radiat Med.* 23(1):25-29, 2005
39. Toyoda M, Satoh T, Takano K, Sato NO, Oki A, Tsunoda H, Yoshikawa H. Successful diagnosis of thromboembolism before surgery in a woman with clear cell adenocarcinoma of the endometrium.

- Int J Clin Oncol 10(6):444-446, 2005
40. Wu HJ, Sekine M, Kashima K, Hirai Y, Hatae M, Kobayashi I, Obata K, Enomoto T, Umesaki N, Ushijima K, Tanaka K; Japanese Familial Ovarian Cancer Study Group. Mutational analysis of the estrogen receptor- α gene in familial ovarian cancer. J Obstet Gynaecol Res. 31(5):375-83, 2005
41. Takeshima N, Hirai Y, Umayahara K, Fujiwara K, Takizawa K, Hasumi K. Lymph node metastasis in ovarian cancer: difference between serous and non-serous primary tumors. Gynecol Oncol. 99(2):427-31, 2005
42. Tate S, Hirai Y, Takeshima N, Hasumi K. CA125 regression during neoadjuvant chemotherapy as an independent prognostic factor for survival in patients with advanced ovarian serous adenocarcinoma. Gynecol Oncol. Jan;96(1):143-9, 2005
43. Ohara K, Oki A, Tanaka YO, Onishi K, Fukumitsu N, Hashimoto T, Satoh T, Tsunoda H, Hata M, Sugahara S, Tokuyue K, Akine Y, Yoshikawa H. Early determination of uterine cervical squamous cell carcinoma radioresponse identifies high- and low-response tumors. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 64(4); 1179-1182, 2006
44. Matsumoto K, Yasugi T, Oki A, Fujii T, Nagata C, Sekiya S, Hoshiai H, Taketani Y, Kanda T, Kawana T, Yoshikawa H. IgG antibodies to HPV16, 52, 58 and 6 L1-capsids and spontaneous regression of cervical intraepithelial neoplasia. Cancer Lett 231(2):309-313, 2006
45. Shiina H, Matsumoto T, Sato T, Igarashi K, Miyamoto J, Takemasa S, Sakari M, Takada I, Nakamura T, Metzger D, Chambon P, Kanno J, Yoshikawa H, Kato S. Premature ovarian failure in androgen receptor-deficient mice. Proc Natl Acad Sci U S A. 103(1):224-229, 2006
46. Tanaka YO, Yamada K, Oki, A, Yoshikawa, H, Minami M. MR findings of small round cell tumors of the ovary: A report of 5 cases with literature review. J Comput Assist Tomogr. 30(1):12-17, 2006
47. Sakon M, Maehara Y, Yoshikawa H, Akaza H. Incidence of venous thromboembolism following major abdominal surgery: a multi-center, prospective epidemiological study in Japan. J Thromb Haemost. 4(3):581-586, 2006
48. Yamada K, Kano J, Tsunoda H, Yoshikawa H, Okubo C, Ishiyama T, Noguchi M. Phenotypic characterization of endometrial stromal sarcoma of the uterus. Cancer Sci. 97(2):106-112, 2006
49. Takeshima N, Umayahara K, Fujiwara K, Hirai Y, Takizawa K, Hasumi K. Effectiveness of postoperative chemotherapy for para-aortic lymph node metastasis of endometrial cancer. Gynecol Oncol. Jan 30 [Epub ahead of print], 2006
50. Amikura T, Sekine M, Hirai Y, Fujimoto S, Hatae M, Kobayashi I, Fujii T, Nagata I, Ushijima K, Obata K, Suzuki M, Yoshinaga M, Umesaki N, Satoh S, Enomoto T, Motoyama S, Nishino K, Haino K, Tanaka K; Japanese Familial Ovarian Cancer Study Group. Mutational analysis of TP53 and p21 in familial and sporadic ovarian cancer in Japan. Gynecol Oncol. 100(2):365-71, 2006
51. 吉川裕之、平井康夫、古田玲子ら。産科と婦人科 特集 子宮頸癌発生の予防に向けての戦略 診断と治療者 2006. vol. 73 No2

52. Furuta R, Futoshi Akiyama, Yasuo Hirai, Kasuhiko Hasumi, Kitagawa T.

Microinvasive cervical squamous cell carcinoma evolving without CIN I /II stage in association with aggressive invasive tendency. (submitted)