

3) 川名 尚,宮本智子,加藤真子,曲山さち子,西澤美香,沖永莊一: 母子感染の立場からみた本学学生の抗体保有率の評価. 帝京平成短期大学紀要 15:3-5; 2005.

4) Sugiyama H, Yoshikawa T, Ihira M, Enomoto Y, Kawana T, Asano Y. : Comparison of loop-mediated isothermal amplification, real-time PCR, and virus isolation for the detection of herpes simplex virus in genital lesions. J Med Virol 75:583-587; 2005.

5) 西澤美香、川名 尚、村田照夫、西井 修: 女性性器ヘルペス初感染例における型特異的血清診断に関する研究. 日本性感染症学会誌 16(1):97-103;2005.

6) 川名 尚、塚越静香、西井 修: 性器ヘルペスの診断と治療 -最近の動向-. 産婦人科の世界 57(12):107-113;2005.

2. 学会発表

1) 川名 尚: 「再発型性器ヘルペス-臨床・診断・新しい治療法-」. 第 93 回日本泌尿器科学会教育セミナー. 2005 年 4 月、東京.

2) 川名 尚: 「性器ヘルペスの診断」. 第 53 回日本化学療法学会シンポジウム. 2005 年 4 月、東京.

3) 川名 尚: 性器ヘルペスの診断と治療. 第 69 回日本皮膚科学会東部支部学術大会. 2005 年 9 月、盛岡.

4) 川名 尚: Serological analysis for pathogenesis of female genital herpes simplex virus infection in Japan.

IHMF 第 12 回総会. 2005 年 10 月、ポルトガル(リスボン).

5) 川名 尚、西澤美香、西井 修: 性器ヘルペ

スの臨床分類と感染病態について. 日本性感染症学会第 18 回学術大会. 2005 年 12 月、小倉.

6) 川名 尚、西澤美香、西井 修: 女子学生における単純ヘルペスウイルス 1 型と 2 型、サイトメガロウイルス、クラミジア・トラコマチスに対する抗体保有率について. 第 18 回日本性感染症学会学術大会. 2005 年 12 月、小倉.

7) 塚越静香、川名 尚、西澤美香、西井 修: Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) 法による性器ヘルペス迅速診断の検討. 第 18 回日本性感染症学会学術大会. 2005 年 12 月、小倉.

8) 西澤美香、川名 尚、塚越静香、村田照夫、西井 修: 単純ヘルペスウイルス感染における型特異的抗体の Avidity Index 測定法の開発とその応用. 第 18 回日本性感染症学会学術大会. 2005 年 12 月、小倉.

平成17年度厚生労働科学研究費補助金[新興・再興感染症研究事業]
分担研究報告書

Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) 法によるHPV DNA検出の試み

分担研究者 萩原正則
松尾光馬
本田まりこ

東京慈恵会医科大学附属青戸病院皮膚科

研究要旨：

今回、我々は HPV-6,11,16,18 各々のプライマーを設計し、特異性、感度、PCR 法との比較について検討した。外陰部隆起性病変を有する 27 名の患者より 27 の組織検体を採取した。尖圭コンジローマ 21 例、ボーエン様丘疹症 2 例、脂漏性角化症 2 例、epidermolytic acanthoma 1 例、hairy nymphae 1 例であった。LAMP 法では、尖圭コンジローマ 21 例中、18 例に HPV-6、3 例に HPV-11 を検出し、混合感染はなかった。ボーエン様丘疹症 2 例のうち 1 例において HPV-16 を検出した。脂漏性角化症、epidermolytic acanthom, hairy nymphae では検出されなかった。これらは PCR 法の型判定の結果にほぼ一致した。平均反応時間は約 59 分であった。本年度は、プライマーの再設定を行い、交差性のない、より特異性の高い反応を得ることができた。また感度においても、PCR 法と同等であり、コスト、迅速性、簡便性という点においても、臨床応用に十分期待し得ると言える。

A.研究目的

尖圭コンジローマは、HPV-6 型や 11 型などのローリスク/粘膜型 HPV が外陰部や肛門部など皮膚粘膜移行部に感染して生じる良性腫瘍である。しかし子宮頸癌との関連が強いハイリスク型 HPV が検出される例や組織学的に表皮内癌である bowenoid papulosis などがあり、遺伝子型の同定が望まれる。LAMP (loop-mediated isothermal amplification) 法は、PCR に代わる安価、迅速、簡易な増幅法であり、従来の PCR と同等以上の増幅効率、感度を実現している。反応は等温で進行し、反応過程で出現する白濁を利用して増幅を検出すると、全工程が約 1 時間の 1 ステップで終了する。今回、我々は HPV-6,11,16,18 各々のプライマーを設計し、特異性、感度、PCR 法との比較に

ついて検討した。

B.研究方法

<患者と臨床検体>

2004 年 1 月から 2005 年 12 月までに当科を受診した外陰部隆起性病変を有する 27 名(男 19 女 8、平均 39 歳)。

生検により病理組織学的に、尖圭コンジローマ 21 例、ボーエン様丘疹症 2 例、脂漏性角化症 2 例、epidermolytic acanthoma 1 例、hairy nymphae 1 例と診断した。組織検体より QIAamp DNA Kit (Qiagen,Chatsworth,CA)を使用して DNA 抽出を行った。

<方法>

HPV-6(E6 領域),11 (E6 領域),16 (E7 領域),18 (E6

領域)各々のプライマーを設計し,上記検体を用いて LAMP 法 (63°C, 120 分) を施行した. 特異性, 感度, PCR 法との比較について検討した.

C. 研究結果

尖圭コンジローマ 21 例中, 18 例に HPV-6, 3 例に HPV-11 を検出し, 混合感染はなかった. ボーエン様丘疹症 2 例のうち 1 例において HPV-16 を検出した. もう 1 例は HPV-DNA は検出されなかった. これは感度の問題か, unknown type HPV によるものかと推測される. HPV-18 は検出されなかった. 脂漏性角化症, epidermolytic acanthom, hairy nymphae では検出されなかった. これらは PCR 法の型判定の結果にほぼ一致した. 平均反応時間は約 59 分であった.

本年度は, プライマーの再設定を行い, 交差性のない, より特異性の高い反応を得ることができた. また感度においても, PCR 法と同等であり, コスト, 迅速性, 簡便性という点においても, 臨床応用に十分期待し得ると言える.

D. 研究発表

1. 論文

- ・萩原正則ほか: Imiquimod が有効であった肛門尖圭コンジローマの 1 例. 日性感染症会誌, 2005 ; 16(1) : 127-129
- ・松尾光馬ほか: 性器ヘルペス. 日性感染症会誌, 2005 ; 16(1) : 24-29
- ・本田まりこほか: 皮膚疾患とウイルス感染症. 小児科治療, 2005 ; 68(11) : 2073-79
- ・萩原正則: イミキモッド. カラーアトラス 疣贅治療考, 医歯薬出版, 東京, p.123-125, 2006

2. 学会発表

- ・第 789 回日本皮膚科学会東京支部研究地方会 (2004 年 3 月 13 日) 新規核酸増幅 (LAMP) 法による VZV HSV 感染症の検討
- ・第 17 回日本性感染症学会 (2004 年 12 月 4 日) DNA 診断で何が言えるか: 性器ヘルペス
- ・第 798 回日本皮膚科学会東京支部研究地方会 (2005 年 3 月 19 日) Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) 法による HPV DNA 検出の試み
- ・第 798 回日本皮膚科学会東京支部研究地方会 (2005 年 3 月 19 日) LAMP 法による性器ヘルペス無症候性ウイルス排泄の検討
- ・第 802 回日本皮膚科学会東京地方会 (2005 年 9 月 17 日) 外陰部に生じた epidermolytic acanthoma の 2 例
- ・第 18 回日本性感染症学会 (2005 年 12 月 3 日) 性器ヘルペスの無症候性排泄

E. 知的所有権の取得状況

プライマーに対し現在特許申請中

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）
分担研究報告書

性の健康相談室を通じての市民のSTD/HIV感染調査と予防に関する研究

分担研究者 松田 静治 （財）性の健康医学財団 副理事長

研究要旨

本研究は、1. 性的活動が活発な若い人たちが利用しやすいツールである E メールによる“性の健康相談”での性の悩みについての相談、啓発を通して、また、2. “性の健康相談室”での個別相談、検診による STD/HIV 感染の発見・相談・予防啓発を通して、若年層の性感染症の蔓延防止に貢献することを目的とした。

1. E メールによる“性の健康メール相談”には、平成 17 年 4 月～12 月の 9 か月間で 2,075 件の相談があり、その内訳は男性 30%、女性 60%、性別不明 10%であった。相談者の年齢は 12 歳から 62 歳までと幅広い。

若年層に STD/HIV 感染予防のための正しい知識を与え、予防に結びつくように、専門の相談員が対応、メールの内容を分析し、相談者の抱えている問題点を明確にし、今後の性感染症予防啓発活動への効果的な視点を見出すよう試みた。

2. “性の健康相談室”においては、募集に応じて来訪した相談者に対し、専門の医師が身体的な検診と共に、淋菌、クラミジア、HIV、HPV(女性のみ)、梅毒、HSV、HBV、HCV の検査を行った。同時に、質問票により性行動の実態調査、相談前後での啓発の程度の評価も試みた。

“性の健康相談室”には平成 17 年 4 月～平成 18 年 1 月の 10 か月間に 74 人の相談者が来訪した。相談者の年齢構成、性別は、10 歳代 10 人（男性 1/女性 9）、20 歳代 37 人（男性 14/女性 23）、30 歳代 24 人（9/15）、他 3 人（2/1）と、女性の割合が高く、全体の 2/3 を占めた。

“性の健康相談室”の募集情報取得手段としては、ホームページ（携帯サイトを含む）が約 2/3 を占め、若年層の性感染症蔓延防止にインターネットの果たす役割が期待できると考える。

STD/HIV 感染の診断は、クラミジア抗原（陽性）が女性 14%（6 人）・男性 8%（2 人）・全体 12%（8 人）、HSV2 型抗原（陽性）1 人、尖圭コンジローマ 2 人。その他、のどの拭い液ではクラミジア（陽性）2 人の結果となった。淋菌、HIV、梅毒、HSV1 型抗原、HBV、HCV の感染はなく、クラミジア感染が目立った。

A. 研究目的

STD/HIV 感染の蔓延を防止するためには、性的に活発な若年層への STD/HIV 感染についての予防啓発が重要であることはいままでのまな

い。そこで、本研究は若年層の STD/HIV 感染の蔓延防止に貢献することを目的とし、第一に性的活動が活発な若い人たちが利用しやすいツールである E メール “性の健康相談” (“性の健康メール相談”) を通して性の悩みについての相談に対応し、相談者が抱える悩みや問題を明確化し、今後の効果的な予防啓発の方法を検討した。第二に “性の健康相談室” を設置し、若い人たちが STD/HIV 感染について相談し、検診を受けることができるシステムを構築し、このシステムを通して、STD/HIV 感染の実態調査、予防啓発に努めた。

B. 研究方法

1. “性の健康メール相談”

本年度も若者に対して性の健康を促進するため、インターネットホームページ (<http://www.jfshm.org>) および携帯サイト (<http://www.jfshm.org/mobile>) で、本メール相談についてナビゲートし、専属の相談員が週日、日中常時待機し、できる限り早く、質問に対する回答をした。

2. “性の健康相談室” : STD/HIV 相談、検診、啓発

性の若年化に対応し、対象者は 40 歳以下とした。来訪する相談者のプライバシーに十分配慮した、快適な相談・検診室を (財) 性の健康医学財団附属クリニック内に設置した。ホームページ (<http://www.jfshm.org>)、携帯サイト (<http://www.jfshm.org/mobile>)、都内保健所、区役所を通して、また、講演

会等集会時にパンフレット、リーフレット、メッセージ・カード (上記携帯サイトに簡単アクセスできる QR コード掲載) を配布し、匿名・無料・完全予約システムの本相談室について告知に努め、相談者を募集した。

相談・検診・啓発は、本研究班研究者を中心とした医師が担当した。実施日時は週 2 日程度、相談者が来訪しやすい平日午後 6 時から 8 時、土曜日午前 10 時から午後 2 時とした。完全予約制で、1 人の相談者に十分な時間をかけ、相談者の満足のいく相談・検診・啓発を心掛けた。

相談者は予約日時に来訪し、相談者登録質問表および STD/HIV 感染についての相談前質問票を記入の後、相談、検診を終え、さらに相談後質問票に記入した。相談前後の質問票の評価で、相談による STD/HIV 予防啓発の程度の評価を試みた。

検診は身体的な検診と共に、淋菌、クラミジア、HIV、HPV (女性のみ)、梅毒、HSV、HBV、HCV の検査を行った。検査法は、血清については HIV 抗体・抗原 (スクリーニング) : EIA 法、梅毒定性 : TPHA 法 / ガラス板法、クラミジアトラコマチス抗体 : IgA / IgG (EIA 法)、HCV 抗体 3 : I RMA、HBs 抗原 : C L I A。スワブまたは尿については、クラミジアトラコマチス : SDA 法、淋菌同定 : SDA 法、HPV-DNA 同定、HSV 特異抗原検出。

また、若い人たちが受け入れ易い STD のパンフレットを手渡し、正確な STD に関する知識の普及啓発を図った。

(倫理面への配慮)

健康相談室への来訪者および E メール送

信者については、完全にプライバシーが守られ、個人が同定されることはない。また、来訪者の性感染症検査の実施については、担当医が検査内容と必要性について十分説明し、理解を得、文書による本人の同意書を取った。

以上の倫理的な問題については、(財)性の健康医学財団倫理委員会の審査を終えている。

C. 研究結果

1. “性の健康メール相談”

2005年4月から12月末日までによせられた相談は、2075件であった。そのうち男性からの相談が30%、女性からの相談が60%、性別不明が10%であった。相談者の年齢は12歳から62歳までで、平均年齢は21.95歳、標準偏差は6.03であった。

以下、月別相談件数、曜日別相談件数、相談者のメール端末、メールの受信時刻をそれぞれ示した(以下、図を参照)。

寄せられた相談の内容はコーディング表をもとに分類した(表を参照)。男女とも自覚症状についての相談が最も多かった。これは自分に現れた何らかの症状についての相談で、「○○だから性感染症か?」のような相談が最も多かったと言える。男性ではその次に治療法や検査法についての相談が多く、その後は性器に関する相談、性感染症の感染経路に関する相談が多かった。女性では、おりものに関する相談、性感染症の感染経路に関する相談、妊娠や不妊に関する相談、生理や排卵に関する相談という順であった。

2. “性の健康相談室”：STD/HIV相談、検診、啓発

平成17年4月より平成18年1月末まで

の10か月間に74人の相談者が来訪した。性別は男性35%(26人)：女性65%(48人)。年齢構成は、15-19歳：14%(10人)、20-24歳：22%(16人)、25-29歳：28%(21人)、30-34歳：20%(15人)、35-39歳：12%(9人)、他4%(3人)。男性では25-29歳が最も多く、女性では20-24歳が多かった。男性の平均年齢29.7歳、女性の平均年齢26.4歳と、明らかに女性の方が若い年齢層が来訪している。(図5~6参照)。

また、婚姻状況は未婚が約8割で、男性は女性に比べ既婚者が多かった(図7~9)。

初交年齢は全体の約半数が15-19歳で、女性の方が男性より初交年齢が低い(図10)。

相談室へ来た動機・きっかけについては、やはり何らかの自覚症状を訴えたり、STDへの不安を抱える者が多いが、検査を受けたいという割合も高かった(図11)。

募集情報取得手段としては、ホームページ(携帯サイトを含む)が66%(49人)、パートナー・友人・知人の口コミが8%(6人)、同じく雑誌8%(6人)、保健所と学校が各々5%(4人)、他である(図12)。

STD/HIV感染の検査結果・診断は、クラミジアIgA(+)⁷人、IgG(+)¹⁵人、IgA(±)²人、IgG(±)²人、クラミジア抗原(陽性)⁸人、HSV2型抗原(陽性)¹人。淋菌、HIV、梅毒、HSV1型抗原、HBVおよびHCVについてはすべて陰性の結果となった。また、2人が尖圭コンジローマと診断された。希望者にのみ実施したのどの拭い液ではクラミジア(陽性)²名。淋菌はなし。女性のみ実施したHPV中~高リスク型(陽性)¹⁴人、低リスク型(陽性)²人。(図15~20参照)。感染者には治療を勧め、医療機関を紹介するなど、きめ細かい対応をした。一方、非感

染者には今後も引き続き性感染症への注意を促し、予防啓発に努めた。

なお、啓発前後での啓発程度の評価については、明らかな差は見出せなかった。

D. 健康危険情報

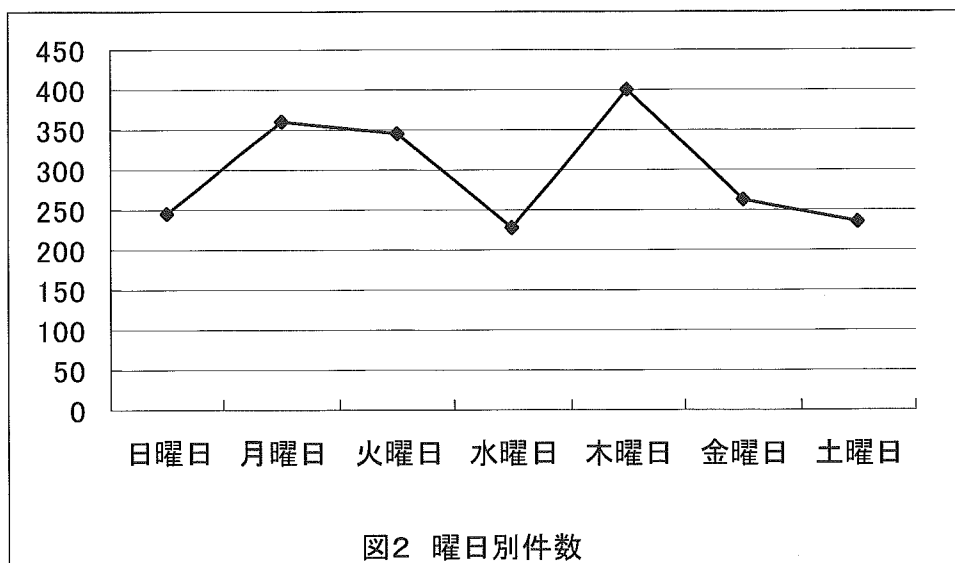
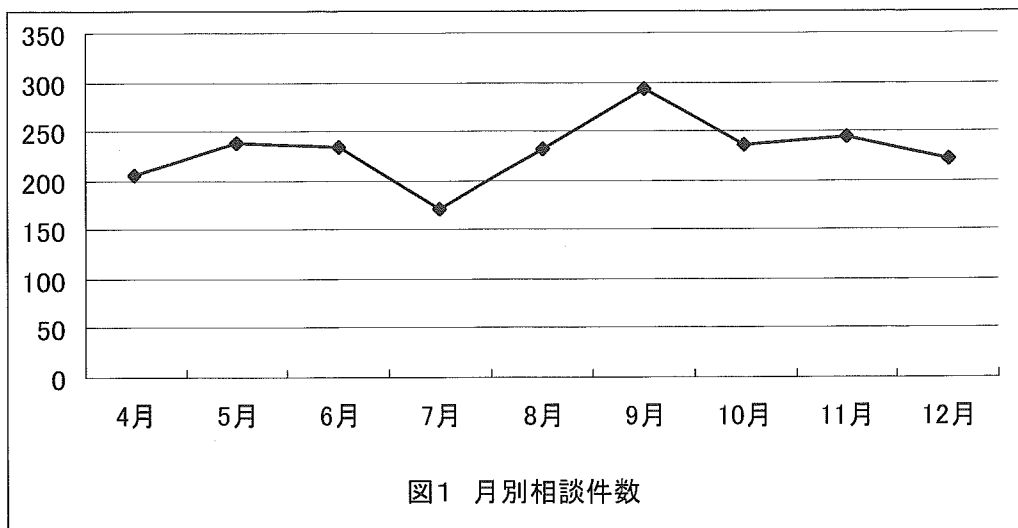
なし。

E. 研究発表

1. 松田静治. 性感染症の動向 2005, 産婦人科の世界第 57 巻 12 号, 1033-1044, 2005.
2. 松田静治. 若年者に急増する性感染症, クリニカルプラクティス 24 巻第 7 号, 765-769, 2005.

F. 知的財産権の出願・登録状況

- | | |
|-----------|----|
| 1. 特許取得 | なし |
| 2. 実用新案登録 | なし |
| 3. その他 | なし |



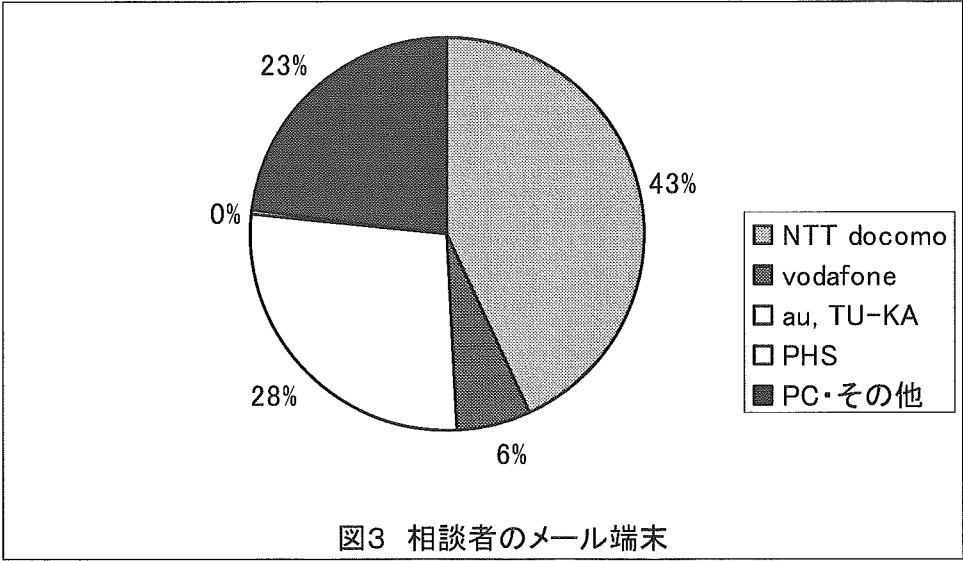


図3 相談者のメール端末

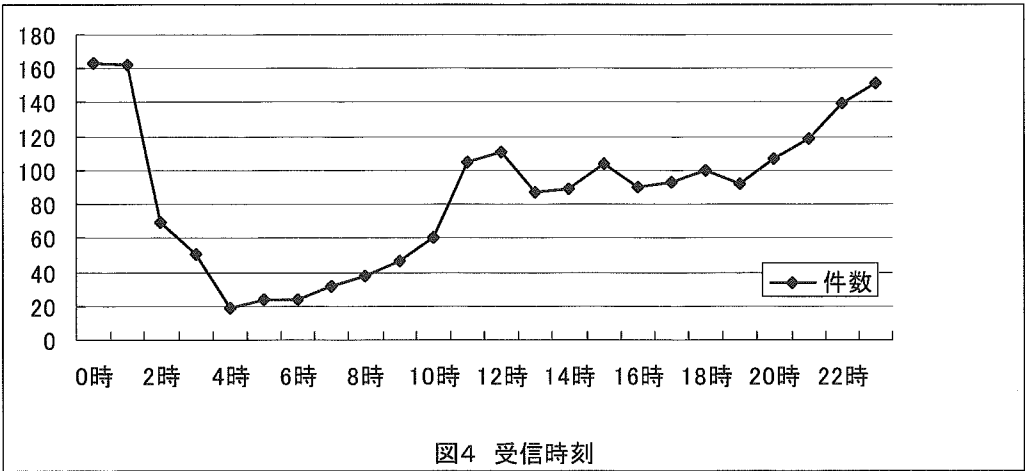


図4 受信時刻

図5 健康相談室・男女比(N=74)

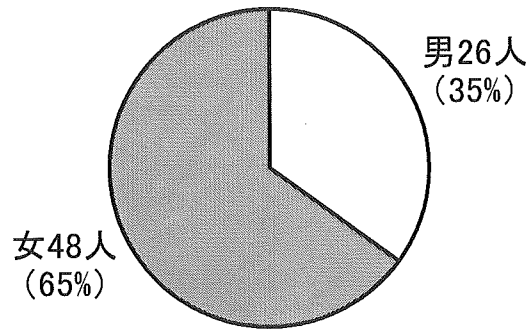


図6 年齢構成

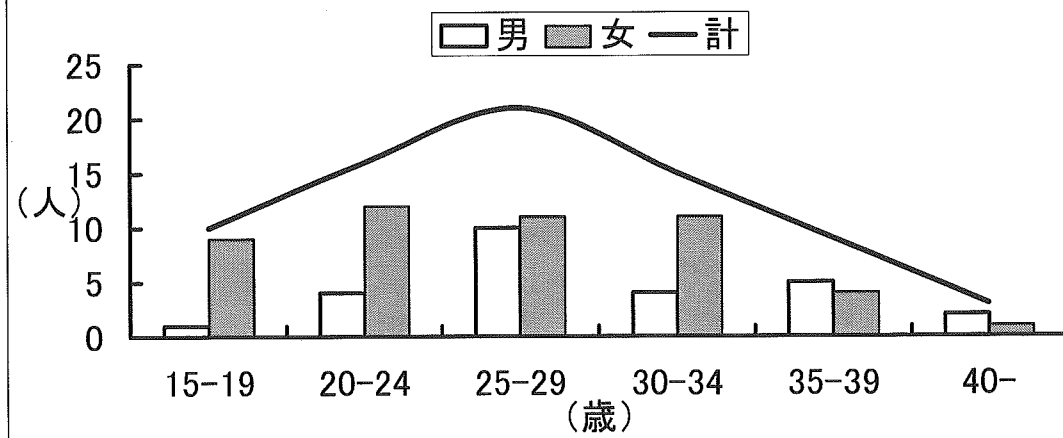


図7 婚姻状況(全体N=74)

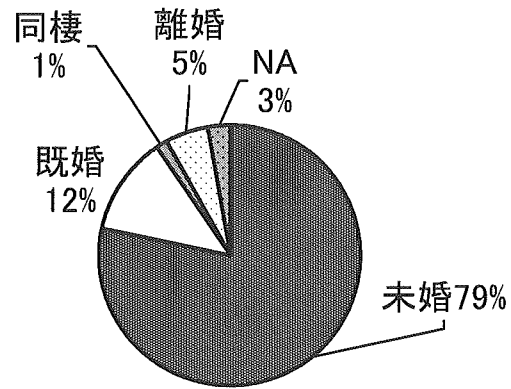


図8 婚姻状況(男N=26)

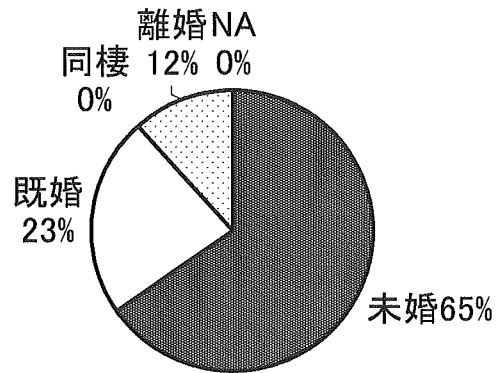


図9 婚姻状況(女N=48)

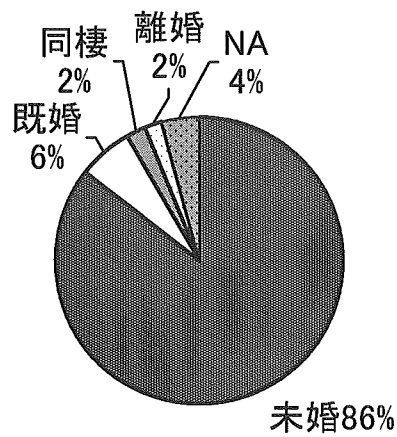


図10 初交年齢

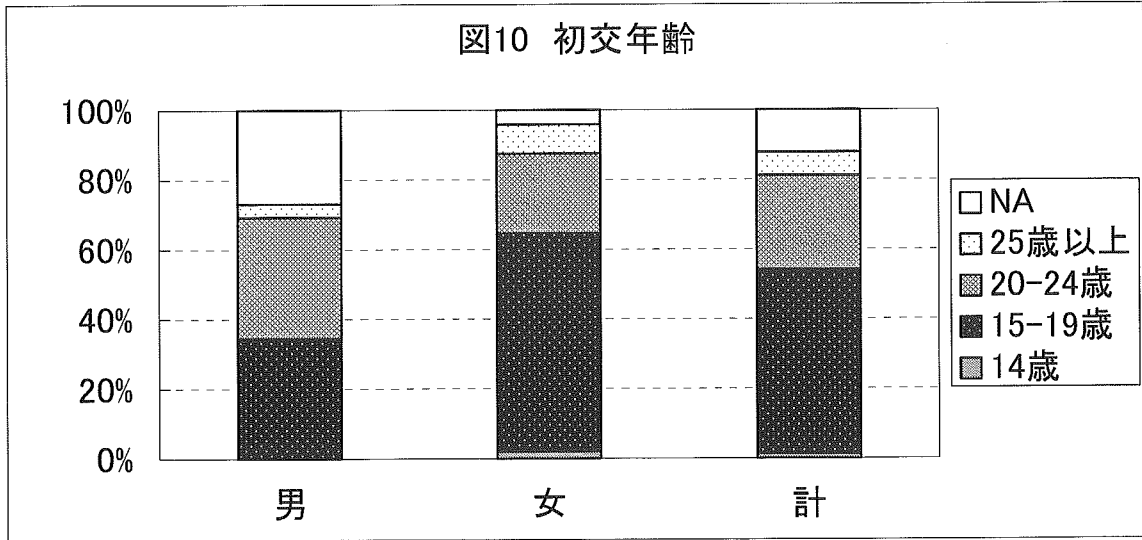


図11 動機・きっかけ

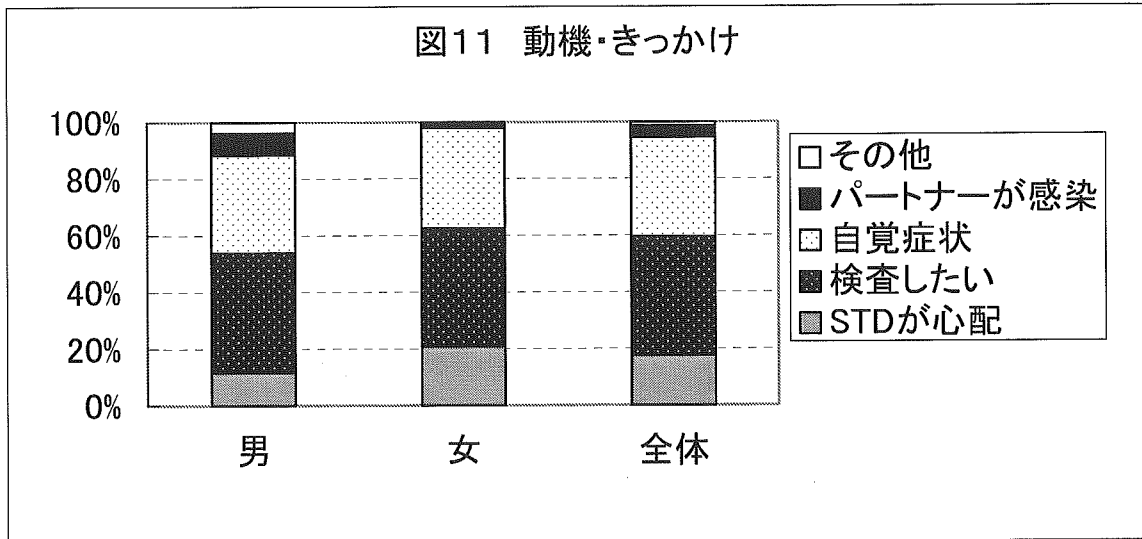


図12 情報取得手段(全体N=74)

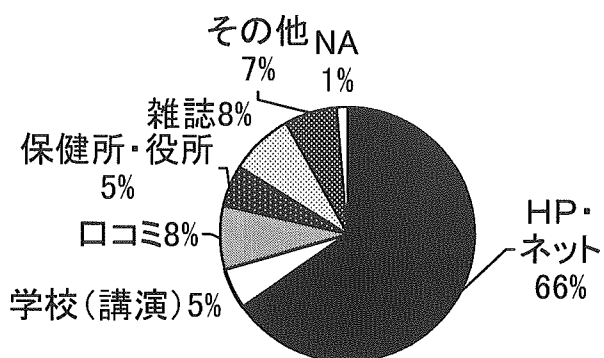


図13 情報取得手段(男N=26)

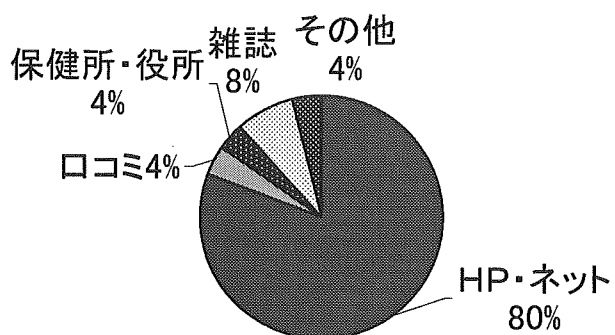


図14 情報取得手段(女N=48)

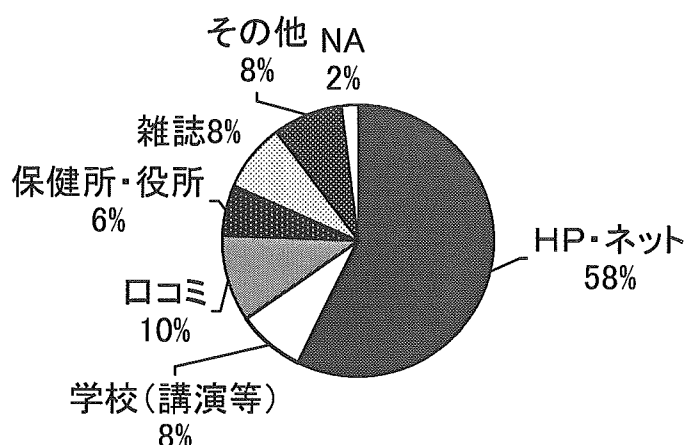


図15 クラミジア抗原(全体N=69)

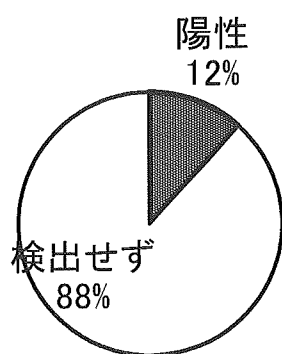


図16 クラミジア抗原(男N=26)

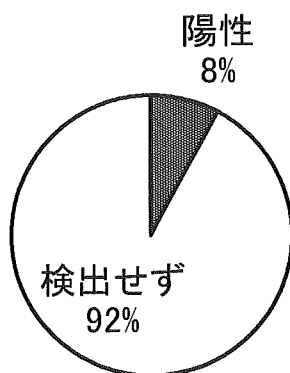


図17 クラミジア抗原(女N=43)

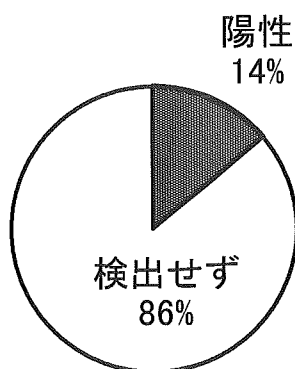


図18 クラミジア抗体(全体N=72)

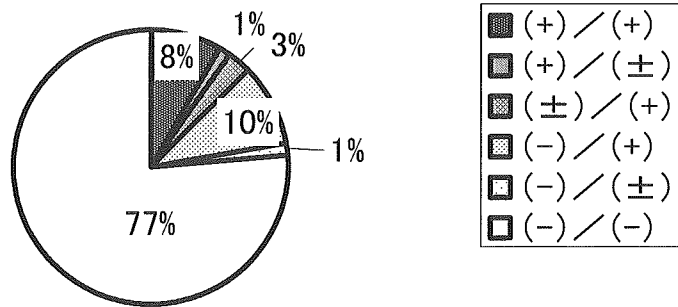


図19 中～高リスク型HPV(女N=43)

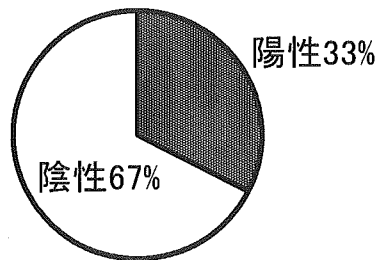


図20 低リスク型HPV(女N=29)

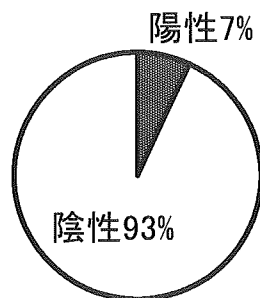


表 相談内容の分類結果(実数)

カテゴリー		男 (N=627)	女 (N=1233)
症状	自覚症状	277	573
	症状	57	127
	性器・EDなど	98	40
	胸	0	9
	膣分泌液	1	12
	おりもの	5	225
	生理・排卵	7	182
	不正出血	2	118
	精液・射精・早漏	70	31
	coronal papillae	61	6
STD	性器クラミジア感染症	35	115
	淋菌感染症	14	18
	梅毒	24	19
	性器ヘルペスウイルス感染症	27	50
	尖圭コンジローマ・HPV	38	78
	膣トリコモナス症	1	18
	性器カンジダ症	2	93
	HIV感染症/エイズ	62	51
	ケジラミ症	5	17
	肝炎	7	4
	アメーバ赤痢	2	0
	感染経路	92	210
	異性間性的接触	166	467
	同性間性的接触	9	0
	性的接触(性別不明)	0	0
	予防法	9	23
全般・その他	32	47	
検査・治療	検査法・治療法	107	163
	検査代・治療費	8	30
	検査・病院の信頼性	16	13
	検査場所・病院の場所	26	32
セックス全般	セックス	28	58
	妊娠・不妊・不感症	40	209
	中絶・流産	3	21
	ピル	0	23
	避妊	4	10
	基礎体温	0	23
	コンドーム	11	12
	マスターベーション	41	18
	コミュニケーション	1	18
セクシュアリティ	同性愛	2	0
	両性愛	0	0
	ジェンダー	0	0
	他機関紹介	2	9
	その他	74	145

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
川名 尚	女性における性感染症	倉田 毅	ネオエスカ 感染症・アレルギーと生態防御	同文書院	東京	2005	176-180
小野寺 昭一	男性における性感染症	倉田 毅	ネオエスカ 感染症・アレルギーと生態防御	同文書院	東京	2005	181-186

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
小野寺 昭一	無症候性性感染症の現状.	化学療法の領域	21	70-74	2005
小野寺 昭一	わが国における性感染症の蔓延をいかに防止すべきか.	感染制御	1	228-232	2005
小野寺 昭一	性感染症の予防と将来.	Urology View	2	93-97	2005
各務 裕, 小野寺 昭一 他	男子淋菌性尿道炎由来淋菌の各種抗菌薬に対する感受性-1999~2004年分離株比較-.	日本化学療法学会誌	53	483-487	2005
Enomoto Y, Kawana T et al.	Rapid diagnosis of herpes simplex virus infection by a loop-mediated isothermal amplification method.	J. Clin Microbiol	43	951-5	2005
Sugiyama H, Kawana T et al.	Comparison of loop-mediated isothermal amplification, real-time PCR, and virus isolation for the detection of herpes simplex virus in genital lesions.	J. Med Virol	75	583-587	2005
Kawana T.	29years' experience of clinical and virological studies on female genital herpes in Japan.	HERPES	11(1)	21-22	2005

野口 昌良	産科診療マニュアルー 産科異常への対応ー Ⅲ. 合併症妊娠 8. 感染症合併妊娠 3) クラミジア感染症	産科と婦人科	72	1548-1553	2005
野口 昌良	C. 性感染症 5. ク ラミジア感染症とその 対策	産婦人科治療	90増刊	300-305	2005
野口 昌良	卵管内腔所見と血中ク ラミジア・トラコマチ ス抗体価の関連に関す る臨床的検討.	日本生殖外科学会 雑誌	18	18-20	2005
塚本 泰司	Incidence of sexaully trasmitted infection in asymptpmatic healthy Japanese young men.	J Infect Chemother(in press)			
高橋 聡, 塚 本 泰司 他	性器ヒトパピローマウ イルス感染症の現況と 対策.	化学療法の領域	21	1129-1132	2005
Takahashi S, Tsukamoto T et al.	Incidence of sexaully trasmitted diseases in Hokkaido, Japan.	J Infect Chemother	10	163-167	2004
Takahashi S, Tsukamoto T et al.	Analysis of mutations within multipule genes associated with resistance in clinical isolate of Neisseria gonorrhoeae with reduced ceftriaxone susceptibility that shows a multidrug- resistant phenotype.	Intern J Antimicrob Agents(in press)			
佐久間 俊 治, 田中 正 利 他	泌尿器科領域の性感染 症の現状.	Urology View	3	11-17	2005
松田 静治	性感染と抗菌薬.	産婦人科治療	90	290	2005
松田 静治	若年者に急増する性感 染症.	クリニカルプラク ティス	24 (7)	57-61	2005

IV. 研究成果の刊行物・別刷