

Nuchal translucency の厚みと双胎間輸血症候群との関連 阿部修平, 山崎健太郎, 三浦清徳, 吉田至剛, 三浦生子, 中山大介, 増崎英明

胎児筋緊張性ジストロフィーにおける出生前の検査所見 東島愛, 三浦清徳, 山崎健太郎, 北島道夫, 吉田至剛, 中山大介, 増崎英明

絨毛の一部が水腫化していた例の分子遺伝学的解析 松本由有子, 三浦清徳, 山崎健太郎, 中山大介, 増崎英明

自己免疫疾患におけるマイクロメリズムの関与に関する検討 山崎健太郎, 三浦清徳, 三浦生子, 嶋田貴子, 中山大介, 川上純, 小川文秀, 江口勝美, 佐藤伸一, 増崎英明

**第10回 甲信越・北陸出生前診断研究会 2008年10月4日(土) KKR甲府ニュー美容.**

全ゲノムコピー数解析による染色体検査 (Molecular karyotyping) の有用性. 霜川修, 佐々木健作, 近藤達郎, 松本直通, 吉浦孝一郎, 新川詔夫, 原田直樹.

**第15回 遺伝性疾患に関する出生前診断研究会 2008年10月19日(大分県医師会館, 大分県)**

NT肥厚を認めた13q-症候群の1例 山崎健太郎, 三浦清徳, 吉田敦, 松本由有子, 増崎英明

絨毛性疾患合併妊娠を疑われた1例 松本由有子, 山崎健太郎, 三浦清徳, 中山大介, 吉浦孝一郎, 増崎英明

オルニチントランスカルバミラーゼ

(OTC) 欠損症の出生前診断 三浦清徳, 山崎健太郎, 三浦生子, 嶋田貴子, 谷川輝美, 中山大介, 増崎英明

**第29回日本妊娠高血圧学会学術集会 2008年10月11-12日(福島ビューホテル, 福島市)**

シンポジウム

母体血漿中胎盤由来 mRNA の流入パターンから見た妊娠高血圧症候群 三浦清徳, 三浦生子, 山崎健太郎, 吉田敦, 中山大介, 増崎英明

当院における子癇症例の検討 吉田敦, 三浦清徳, 中山大介, 増崎英明

**第53回日本生殖医学会総会 2008年10月23-24日(神戸国際会議場, 神戸市)**

二卵性一絨毛膜双胎における血液キメラの遺伝子解析 三浦清徳, 肥後貴史, 三浦生子, 増崎英明

**第47回日本臨床細胞学会秋季大会 2008年11月14-15日(グランドプリンスホテル新高輪, 東京都)**

長崎県におけるHPV typing検査について 荒木裕之, 山崎健太郎, 三浦清徳, 池本理恵, 濱口大輔, 藤下晃, 鮫島哲郎, 村上誠, 吉浦孝一郎, 増崎英明

HPV感染と細胞診判定の経時的変化について 山崎健太郎, 三浦清徳, 池本理恵, 三浦生子, 嶋田貴子, 藤下晃, 鮫島哲郎, 村上誠, 吉浦孝一郎, 増崎英明

妊婦の子宮頸部細胞診におけるベセスダシステムとHPVスクリーニングの有用性について 三浦清徳, 山崎健太郎, 池

本理恵, 嶋田貴子, 濱口大輔, 藤下晃,  
鮫島哲郎, 村上誠, 吉浦孝一郎, 増崎英  
明

**第 11 回北海道出生前診断研究会 2008 年  
11 月 22 日 (札幌医科大学, 札幌市)**

特別講演「母体血中 mRNA による胎児・胎  
盤の評価」 三浦清徳

**第31回日本分子生物学会年会・第81回日  
本生化学会大会 合同大会 2008年12月9  
日 (火) ~12日 (金), 神戸ポートアイ  
ランド, 神戸.**

1P-0232: Biomedical characterization of a  
genetic polymorphism of human ABCC11

as a determinant of earwax type. 豊田優,  
櫻井亜季, 中島正洋, 中川 大, 吉浦  
孝一郎, 新川詔夫, 石川智久

4P-1146: ハイスループット遺伝子スキャ  
ンニングへ向けた PCR-高解像度融解曲  
線分析法の至適条件検討と FGD1 遺伝  
子変異スクリーニング. 要 匡, 柳 久  
美子, 知念安紹, 前原博樹, 福嶋義光,  
吉浦孝一郎, 新川詔夫, 成富研二

**H. 知的財産権の出願・登録状況**

平成20年は, なし

# 分 担 研 究 報 告

厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）  
平成 20 年度分担研究報告書

ヒトパピローマウイルス持続感染制御に関する  
ゲノム医学からのアプローチ

研究項目：患者試料収集態勢の整備，情報の整理統括

分担研究者：増崎英明（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科・教授）  
中山大介（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科・准教授）  
三浦清徳（長崎大学医学部・歯学部附属病院・講師）  
研究協力者：山崎健太郎（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科・助教）

研究要旨

本研究は、ヒト子宮頸癌の原因であるヒトパピローマウイルスの持続感染に関わる、宿主（ヒト）側の遺伝的要因を明らかにすることを第一の目的としている。目的達成のための試料収集態勢を構築し、ヒトパピローマウイルス（HPV）の型を明らかにして情報管理態勢の整備を目指す。

A. 研究目的

研究の目標は、子宮頸癌の発症リスクを高めている宿主であるヒトの SNP の検索を行い、SNP タイピングによって子宮頸癌検診の効率を高めること、またワクチン投与に関し科学的な基盤情報を得ることである。これは先進国のなかで子宮がん検診率が低く、若年者の進行した子宮頸癌が増加している日本国の厚生医療に有益な情報をもたらす、本国の少子化対策の一環と位置づけられる。研究グループは、1) 我々産婦人科学教室からなる臨床グループ：患者試料収集・HPV 型頻度疫学調査 2) 基礎系研究者からなるヒトの SNP 検索グループからなってい

る。本年度は、我々臨床グループが試料収集システムの構築、HPV 感染患者試料収集を行った。

ヒトの SNP の検索のためには、きちんと情報がリンク管理された試料の収集が絶対条件であり、研究初年度から 2 年目である本年度にかけて、産婦人科学教室との連携による試料収集システムの構築、HPV 感染患者試料収集、HPV 型判定を行いつつ試料収集を行い、長崎県における HPV 感染の疫学的な調査もかねて研究を進めた。

B. 研究方法

1. 試料収集システムの構築、HPV 感染患者試料収集

長崎大学医学部産婦人科学教室および関連病院の協力無くしては、本研究は成り立たない。細胞診、組織診の病理診断と関連づけながら収集するシステムティックな試料収集・管理システムを構築し、血液試料の収集のみならず、現在の子宮頸癌検診システムとHPVのタイピング情報も加味したベセスダシステムとの検討も兼ねるように考慮した。

## 2. 日本人にみられるヒトパピローマウイルス (HPV) の頻度算出

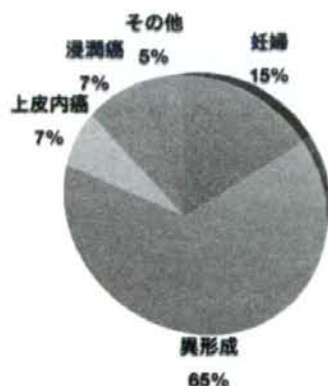
HPV 型判定は、アンプリコア®リニアアレイ HPV ジェノタイプングキット (Roche ダイアグノスティック社) を採用し、細胞診による異型度と HPV の型頻度との対応、あるいは組織診と HPV の型頻度との対応を行った。

### C. 研究結果

#### 1. 試料収集システムの構築, HPV 感染患者試料収集

長崎大学医学部産科婦人科教室関

連病院の協力を仰いで、子宮頸部擦過細胞、頸管粘液および血液試料の収集・管理システムを整えた。長崎大学医学部・歯学部附属病院、長崎市民病院、日本赤十字社長崎原爆病院、佐世保市立総合病院の4箇所です料収集を行うこととした。収集対象者は、主に子宮がん検診で子宮頸部細胞診異常 (クラス IIIa 以上) を指摘された例を対象とした。それらに精密検査としてコルポスコピー検査を施行し、子宮頸部異形成を指摘された群、妊婦群、そして持続感染者と見なせる子宮頸癌発症者 (手術後の患者も含む) の3群に分類した。子宮頸部異形成と診断された群は、フォローアップすることによって HPV 感染の消失を確認できる群である。妊婦は、いわゆる長崎の一般女性集団における HPV の頻度算定が可能であるので、子宮頸部異形成を指摘された群に認められる HPV の型と比較するための基本データとして非常に重要である。実際の HPV 型判定は、シンレイヤ法による細胞診も含め



	のべ検査数	のべ陽性検査数	計
妊婦	104	67	
異形成	456		
上皮内癌	52		
浸潤癌	50		
その他	36		
合計	698	67	0

てエスアールエル（SRL）と共同して行っている。システム構築に数ヶ月を要し、平成19年8月から実際の試料収集作業が始まった。平成20年10月23日までに延べ698例の症例を収集しており、一ヶ月平均50例弱から試料収集を行っている。臨床病名による内訳は、妊娠中採取例が15%、異形成が66%、上皮内癌が7%、子宮頸癌（浸潤癌）が7%、その他が5%であった。細胞診結果による内訳は、クラスⅠ：9%、クラスⅡ：38%、クラスⅢ：7%、クラスⅢIa：27%、クラスⅢIb：11%、クラスⅣ：3%、クラスⅤ：5%であった。

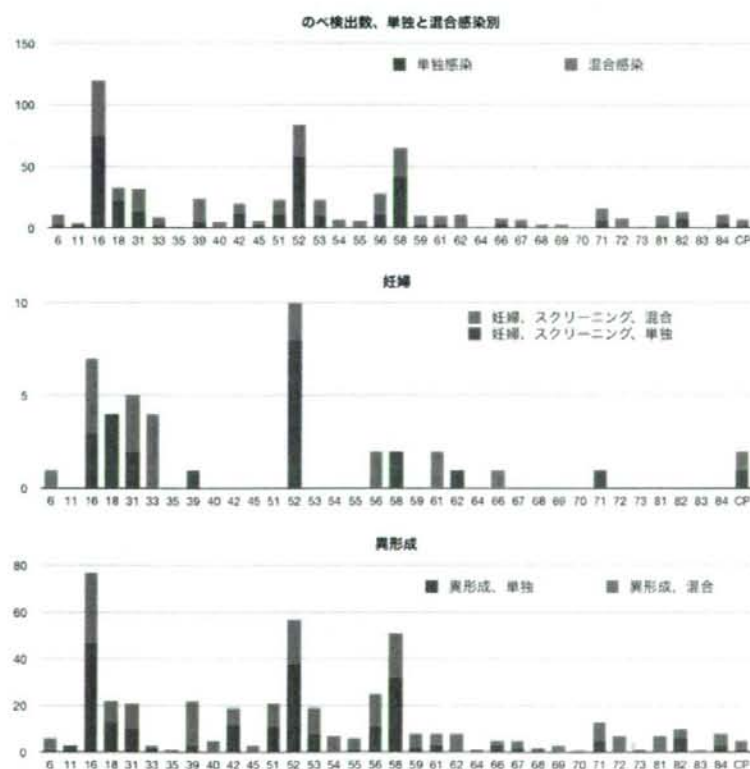
## 2. 日本人にみられるヒトパピローマウイルス（HPV）の頻度算出

扁平上皮癌15例におけるHPV型は、16型：2例、18型：3例、45型：1例、52型：5例、58型：2例、59型：2例、感染なし：1例であった（延べ数が16例となっているのは、58型と59型の混合感染が1名いるため）。腺癌2例は、1例が上皮内の腺由来でHPV：18型、1例が子宮内膜由来でHPV：陰性であった。

妊婦22例におけるHPV感染頻度は、非感染者が14例で感染者が8例であった。6型：1名、18型：2名、52型：3名、で他に1名：16+33混合感染、1名：33+56+CP6108混合感染であった。

3ヶ月後に再検査できた17例について、感染HPV型が変化したかどうかを検討してみると4例においてHPV感染の完全消失や混合感染していたHPV型のうち一部の型の消失が認められた。

平成20年12月20日までに収集した全



症例において感染を確認した HPV 型の頻度は、最も多いのが 16 型、次に 52 型、次に 18 型と 58 型が同数となっている。

### 3. 子宮がん検診におけるベセスダシステムの有用性-日母分類との比較から-

表1. 妊婦30例における子宮がん検診とHPV-DNA検査

症例	妊娠初期			妊娠末期		
	HPV genotype	細胞診(日母)	細胞診(ベセスダ)	HPV genotype	細胞診(日母)	細胞診(ベセスダ)
1	16	Ⅳ	SCC+AGC			
2	58	Ⅲb	HSIL	52, 60	Ⅲa	LSIL
3	16, 33	Ⅲb	HSIL	16, 33	Ⅲb	HSIL
4	16, 31, 52	Ⅲb	HSIL			
5	31, 61	Ⅲ	HSIL	31, 61	Ⅲ	AGC
6	陰性	Ⅲa	ASC-US	陰性	Ⅱ	陰性
7	陰性	Ⅲa	ASC-US			
8	陰性	Ⅲa	LSIL	陰性	Ⅱ	陰性
9	52	Ⅱ	ASC-US	52	Ⅱ	陰性
10	52	Ⅱ	陰性	52	Ⅱ	陰性
11	52	Ⅱ	陰性	52	Ⅱ	陰性
12	18	Ⅱ	陰性	18	Ⅲa	LSIL
13	33, 56, CP6108	Ⅱ	陰性	33, 56	Ⅲa	ASC-US
14	18	Ⅱ	陰性			
15	陰性	Ⅱ	陰性	陰性	Ⅲa	ASC-US
16	陰性	Ⅱ	陰性	62	Ⅱ	陰性
17	陰性	Ⅱ	陰性	陰性	Ⅱ	陰性
18	陰性	Ⅱ	陰性	陰性	Ⅱ	陰性
19	陰性	Ⅱ	陰性	陰性	Ⅰ	陰性
20	陰性	Ⅱ	陰性	陰性	Ⅱ	陰性
21	陰性	Ⅱ	陰性	陰性	Ⅱ	陰性
22	陰性	Ⅱ	陰性	陰性	Ⅱ	陰性
23	陰性	Ⅱ	陰性	陰性	Ⅰ	陰性
24	陰性	Ⅱ	陰性	陰性	Ⅰ	陰性
25	6	Ⅰ	陰性	6	Ⅱ	陰性
26	陰性	Ⅰ	陰性	陰性	Ⅱ	陰性
27	陰性	Ⅰ	陰性	陰性	Ⅰ	陰性
28	陰性	Ⅰ	陰性	陰性	Ⅱ	陰性
29	CP6108	Ⅰ	陰性			
30	陰性	Ⅰ	陰性			

子宮頸癌検診について日母分類に基づいた子宮頸部細胞診と比較して、ベセスダ分類に基づいた子宮頸部細胞診と HPV-DNA 型検査を採用した場合

の有用性について検討した。パイロットスタディーとして 2007 年 8 月から 2008 年 3 月までに、HPV-DNA 型検査の同意を得て妊娠初期に子宮頸癌検診を受けた 30 例の妊婦を対象とした。

全例に HPV-DNA 型検査、日母分類およびベセスダシステムに基づいた細胞診を施行した。30 例のうち 24 例は妊娠末期に再検査を施行した。検査結果を表 1 に示す。症例 1 は妊娠初期の日母分類に基づいた細胞診判定でクラス IV, ベセスダ分類で SCC+AGC と判定され、HPV16 型陽性であった。妊娠初期の日母分類でクラス IIIb (症例 2, 症例 3, 症例 4) もしくはクラス III (症例 5) と判定された 4 例はベセスダ分類でいずれも HSIL と判定され、ハイリスク型 HPV 陽性であった。症例 2, 症例 3 および症例 5 の 3 例は妊娠末期に子宮頸部細胞診と HPV-DNA 型検査を再検された。症例 2 における妊娠末期の細胞診判定は日母分類でクラス IIIa, ベセスダ分類で LSIL に変化し、HPV-DNA 型は妊娠初期に認めた HPV58 型は消失し、HPV52 型および HPV66 型の混合感染を認めた。一方、症例 3 および症例 5 の細胞診所見に変化はなく、それぞれ HPV16 型と HPV33 型の混合感染、HPV31 型と HPV61 型の混合感染の持続感染が認められた。妊娠初期の日母分類でクラス IIIa と判定された 3 例はベセスダ分類で ASC-US (症例 6, 症例 7) もしくは LSIL (症例 8) と判定され、いずれもハイリスク型 HPV 陰性であった。3 例のうち症例 6 と症例 8 は妊娠末期に子宮頸部細胞診と HPV-DNA 型判定を再検され、細胞診判定はいずれも日母分類でクラス II, ベセスダ分類で陰性と判定された。また、HPV-DNA 型検査の結果は、いずれもハイリスク型 HPV 陰性

であった。妊娠初期の日母分類でクラス II と判定された 16 例のうち 15 例 (症例 10-症例 24) はベセスダ分類で陰性と判定され、1 例 (症例 9) は ASC-US と判定された。HPV-DNA 型検査の結果、3 例 (症例 9, 症例 10 および症例 11) に HPV52 型, 2 例 (症例 12 および症例 14) に HPV18 型, 1 例 (症例 13) に HPV33 型と HPV56 型の混合感染を検出された。6 例のうち 5 例 (症例 9-症例 13) は妊娠末期に子宮頸部細胞診と HPV-DNA 型検査を再検され、ハイリスク型 HPV の持続感染を認めた。HPV52 型陽性であった症例 9, 症例 10 および症例 11 の細胞診判定の結果はいずれも正常であった。一方、HPV18 型陽性の症例 12 および HPV13 型と HPV56 型の混合感染を認めた症例 13 の細胞診所見は日母分類でいずれもクラス IIIa, ベセスダ分類でそれぞれ LSIL, ASC-US と判定された。症例 15 は妊娠初期の細胞診判定は正常、妊娠末期のそれは日母分類でクラス IIIa, ベセスダ分類で ASC-US に変化していたが、妊娠期間を通じて HPV 感染は認められなかった。妊娠初期の日母分類でクラス I と判定された 6 例 (症例 25-症例 30) はいずれもベセスダ分類で陰性と判定された。HPV-DNA 型判定の結果、症例 25 に HPV6 型, 症例 29 に CP6108 を検出された。妊娠末期に細胞診と HPV-DNA 型判定を再検された 4 例 (症例 25-症例 28) の結果に変化は認められなかった。

以上より、日母分類に基づいて子宮頸部細胞診をクラス IIIa と判定した



症例は、ベセスダ分類でも ASC-US もしくは LSIL と判定しており、子宮頸癌検診の細胞診判定を日母分類からベセスダ分類へ変更して検査しても判定結果に差はないと考えられた。

また、妊娠初期にベセスダ分類で細胞診異常を認めてもハイリスク型 HPV 陰性のものは妊娠期間内に細胞診の結果は正常化する傾向にあり、症例 15 の妊娠末期に認めた細胞診異常もハイリスク型 HPV 陰性なので、一過性の異常所見かもしれない。

ハイリスク型 HPV のなかでも HPV52 型陽性を認めるものの細胞診判定の結果は妊娠期間内に正常のまま変化しないか、あるいは HSIL から LSIL, ASC-US もしくは LSIL から陰性へと変化していた。一方、HPV16 型、HPV18 型あるいは HPV52 型感染を含まない混合感染を認めるものは妊娠期間を通じて細胞診異常に変化を認めないか、あるいは細胞診判定が正常から異常へと変化を認めていた。よって、ハイリスク型 HPV 感染の有無とその HPV-DNA 型により妊娠期間内の細胞診所見に及ぼす影響が異なる傾向にあるため、日母分類による子宮頸癌検診と比較してベセスダ分類に HPV-DNA 型検査を組み合わせた検診法は細胞診判定の推移を推定することに有用と考えられ、子宮頸癌検診の間隔は HPV-DNA 型による個別化の必要性が考えられた。

#### D. 考察

本研究課題の目標である「ヒトパ

ピローマウイルス持続感染制御にかかわる SNP もしくは CNV 探索」においては、試料収集が律速段階であり、最も重要視される点である。昨年度から順調に試料収集が行われており、目標達成のために確実に進行している。

日本人の HPV 感染における HPV 型分類において、本年度の研究のみからでも興味ある結果を示している。まず、検出された全 HPV 型頻度において 52 型と 58 型（いずれも頸癌発症の高リスク群と考えられている）の割合が高く、16 型・18 型の割合が約 45%、52 型・58 型が約 35%程度である。扁平上皮癌に限ってみれば 16 型・18 型の割合が約 45%、52 型・58 型が約 50%と、むしろ 52 型・58 型の方が多い。これは、いわゆる欧米で高リスク感染頻度では 80%とも考えられる 16 型・18 型の割合に比べて、かなり日本人特有の HPV 感染パターンであることが分かる。

今後、本邦における子宮がん検診でもベセスダシステムの導入が普及していくと予想されるが、本研究を継続することでその安全性と有益性が確認されるものと考えられる。さらに本研究は、日本版の HPV タイピングを併用した子宮がん検診システムの構築、子宮がん予防対策としてのワクチン開発および接種システムの構築につながり、日本国における少子化対策および国民の健康福祉に有用な情報がもたらされる。

#### E. 結論

本邦における子宮がん検診におい

て、今後ベセスダシステムの導入が普及していくと予想されるが、本研究を継続することでその安全性と有益性が確認されるものと考えられる。さらに本研究は、日本版のHPV タイピングを併用した子宮がん検診システムの構築、子宮がん予防対策としてのワクチン開発および接種システムの構築につながり、日本国における少子化対策および国民の健康福祉に有用な情報がもたらされる。

高リスク型ヒトパピローマウイルス持続感染制御にかかわる SNP もしくは CNV 探索に向けて研究が立ち上がり、目標に向けて試料収集が順調に進んでいる。収集は、軌道に乗っているため、一般女性における頻度算出などが行えるように収集対象を広げていく。また、子宮頸癌患者試料は、100例の子宮頸癌患者試料の収集を目標としていきたい。最終年度には、基礎系グループの全ゲノムスクランが完成できることを目標とする。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Miura K, Miura S, Yamasaki K, Yoshida A, Yoshiura K, Nakayama D, Niikawa N, Masuzaki H. Increased level of cell-free placental mRNA in a subgroup of placenta previa that needs

hysterectomy. *Prenat, Diagn.* 28(9): 805-809, 2008.

2. Oishi H, Moriyama S, Kotera K, Miura K, Masuzaki H. First case of liposarcoma arising from the fallopian tube: A case report and review of the literature. *The Journal of Obstetrics and Gynaecology Research* 34:713-716, 2008.
3. Shimada T, Miura K, Gotoh H, Nakayama D, Masuzaki H. Management of prenatal ovarian cysts. *Early Hum Dev.* 84: 417-420, 2008.
4. Hamada T, Hirose R, Kosaka T, Taniguchi K, Noguchi M, Kihara T, Egashira M, Tagawa M, Miura K, Masuzaki H, Tajima Y, Hayashi T, Kanematsu T. Giant cystic meconium peritonitis associated with a cloacal anomaly: case report. *Journal of Pediatric Surgery* 43: E21-E23, 2008.
5. Yoshida S, Miura K, Yamasaki K, Miura S, Shimada T, Tanigawa T, Yoshida A, Nakayama D, Masuzaki H. Does increased nuchal translucency indicate a fetal abnormality? : A retrospective study to clarify the clinical significance of nuchal translucency in Japan. *J Hum Genet.* 53: 688-693, 2008.
6. Yoshida A, Miura K, Nakayama D, Masuzaki H. Correlation between preeclampsia and prevalence of polymorphism of angiotensinogen, methylenetetrahydrofolate reductase and factor V, prothrombin genes

- among Japanese women. *Act Med Nagasaki* 53 : 37-41, 2008.
7. Khan KN, Kitajima M, Hiraki K, Fujishita A, Sekine I, Ishimaru T, Masuzaki H. Immunopathogenesis of pelvic endometriosis: role of hepatocyte growth factor, macrophages and ovarian steroids. *Am J Reprod Immunol.* 60:383-404, 2008.
  8. Khan KN, Kitajima M, Imamura T, Hiraki K, Fujishita A, Sekine I, Ishimaru T, Masuzaki H. Toll-like receptor 4-mediated growth of endometriosis by human heat-shock protein 70. *Hum Reprod.* 23:2210-2219, 2008.
  9. 三浦清徳, 新川詔夫 : Wolf-Hirschhorn 症候群と猫なき症候群 別冊領域別症候群シリーズ No7. 『循環器症候群 (IV)』第2版 (日本臨床) 332-335, 2008
  10. 三浦清徳, 新川詔夫 : 21 トリソミー症候群, 18 トリソミー症候群, 13 トリソミー症候群, Turner 症候群 別冊領域別症候群シリーズ No7. 『循環器症候群 (IV)』第2版 (日本臨床) 336-341, 2008.
  11. 三浦清徳, 増崎英明 : 今月の臨床 不妊治療と多胎/不妊治療と双胎妊娠発生機序 *臨床婦人科産科* 62 巻: 3 号: 247-253, 2008.
  12. 三浦生子, 三浦清徳, 吉田敦, 山崎健太郎, 増崎英明 母体血漿中に流入する胎盤由来 mRNA の同定とその臨床的意義 *産婦人科の実際* 57 巻: 8 号: 1315-1320, 2008.
  13. 三浦清徳, 増崎英明 Assisted Reproductive Technology におけるキメラ発生の危険性 *哺乳動物卵子学会誌* 25 巻 206-212, 2008.
  14. 三浦清徳, 増崎英明 周産期医療における胎児・胎盤由来 cell-free DNA/mRNA の臨床的意義とその応用 *週刊 医学のあゆみ* 第 225 巻: 9 号: 963-969, 2008.
  15. 山崎健太郎, 三浦清徳, 三浦生子, 吉田敦, 平木宏一, 中山大介, 増崎英明: Discordant twins の病態に関する検討 *産婦人科の実際* 第 57 巻: 10 号: 1575-1581, 2008.
  16. 長谷川史郎, 増崎英明 : 「出生前診断をめぐる諸問題一座長のまとめ」 *日本周産期新生児学会誌* 44: 877, 2008.
  17. 吉田敦, 増崎英明 : 癒着胎盤の術前診断に関する検討 *産婦人科の実際* 57(12): 2021-2026, 2008
  18. 吉田敦, 増崎英明 : 妊娠高血圧症候群の発症および重症化の予知 *産婦人科の実際* 57(6): 1021-1026, 2008.
  19. 牛嶋公生, 和氣徳夫, 増崎英明, 他 : 婦人科癌化学療法時の悪心・嘔吐に対するインジセロトン塩酸塩の有効性および安全性. *癌と化学療法* 35: 1169-1173, 2008.
  20. 増崎英明 妊娠中・末期の超音波診断 *産婦人科治療* 96 巻: 229-234, 2008.

21. 増崎英明 妊娠初期における超音波検査 38 巻: 90-93, 2008.
22. 増崎英明 超音波検査のコツ 75 巻: 83-85, 2008.
23. 嶋田貴子, 増崎英明 妊婦における子宮頸部細胞診と子宮頸癌 ペリネイタルケア 27 巻: 2-5, 2008.
24. 藤本洋子, 増崎英明 卵巣腫瘍合併妊娠 ペリネイタルケア 27 巻: 114-117, 2008.
25. 中山大介, 増崎英明 子宮筋腫合併妊娠 ペリネイタルケア 27 巻: 226-229, 2008.
26. 宮本正史, 増崎英明 子宮頸管無力症 ペリネイタルケア 27 巻: 341-343, 2008.
27. 福田久信, 増崎英明 前期破水, 早産, 絨毛膜羊膜炎 ペリネイタルケア 27 巻: 436-439, 2008.
28. 浜崎哲史, 増崎英明 子宮動脈血流速波形を用いた妊娠高血圧症候群の発症・重症化予測 ペリネイタルケア 27 巻: 542-545, 2008.
29. 吉田 敦, 増崎英明 前置胎盤・前置血管 ペリネイタルケア 27 巻: 650-653, 2008.
30. 吉村秀一郎, 増崎英明 常位胎盤早期剥離・DIC ペリネイタルケア 27 巻: 748-751, 2008.
31. 宮村庸剛, 増崎英明 羊水過多・過少 ペリネイタルケア 27 巻: 848-851, 2008.
32. 東 瞳, 増崎英明 胎位異常(骨盤位) ペリネイタルケア 27 巻: 960-963, 2008.
33. 後藤英夫, 増崎英明 帝王切開既往例における子宮破裂の予測 ペリネイタルケア 27 巻: 1064-1067, 2008.
34. 谷川輝美, 増崎英明 妊娠中の深部静脈血栓症 ペリネイタルケア 27 巻: 1162-1165, 2008.
35. 山崎健太郎, 増崎英明 IUGR(胎児発育不全) ペリネイタルケア 28 巻: 6-9, 2009.
36. 中山大介, 増崎英明 巨大児 ペリネイタルケア 28 巻: 112-115, 2009.

## 2. 学会発表

### <国際学会>

**The 2008 EAUHGS Symposium & the 8<sup>th</sup> EAUHGS Annual Meeting, Sapporo, Japan, July 19, 2008.**

A missense mutation in alternatively spliced exon 8A encoding immunoglobulin domain IIIb of *FGFR1* causes Kallmann syndrome. Kiyonori Miura, Shoko Miura, Kentaro Yamasaki, Koh-ichiro Yoshiura, Hideaki Masuzaki

Discordant nuchal translucency thickness in monozygotic twins may be an early finding of TTTS. Kentaro Yamasaki, Yuichiro Ikeda, Kiyonori Miura, Shoko Miura, Shigo Yoshida, Takako Shimada, Terumi Tanigawa, Daisuke Nakayama and Hideaki Masuzaki

**The 6th Korea-Japan Ultrasound Symposium (Kawagoe Clinic, Saitama Medical University, November 1, 2008)**

Discordant nuchal translucency thickness in monochorionic twins may be an early finding of TTTS. Kentaro Yamasaki, Yuichiro Ikeda, Kiyonori Miura, Shoko Miura, Shigo Yoshida, Takako Shimada, Terumi Tanigawa, Daisuke Nakayama and Hideaki Masuzaki

A case of a fetus with giant Sacrococccageal teratoma (SCT), the timing of delivery was successfully decided by ultasonographic findings. Atsushi Yoshida, Yuko Matsumoto, Kentaro Yamasaki, Masayuki Obatake, Masanori Egashira, Hideaki Masuzaki

<国内学会>

**北海道医療大学セミナー 2008年1月8日 (北海道医療大学, 北海道)**  
母体血漿中へ流入する cell-free mRNA の臨床応用 三浦清徳

**第12回胎児遺伝子診断研究会 2008年2月14日 (兵庫・兵庫医科大学)**  
X連鎖性遺伝病の出生前診断における cell-free fetal DNA を用いた性別診断の有用性 三浦清徳, 山崎健太郎, 三春範夫, 三浦生子, 嶋田貴子, 吉田敦, 中山大介, 増崎英明

**第60回日本産科婦人科学会総会・学術講演会 2008年4月12-15日**

P4-63 母体血漿中へ流入する胎盤由来 mRNA の網羅的遺伝子解析-妊娠高血圧症候群における臨床所見との関連性について- 三浦清徳, 三浦生子, 山崎健太郎, 嶋田貴子, 中山大介, 吉浦孝一郎, 新川詔夫, 増崎英明

P1-145 胎盤機能の推定を目指した cDNA マイクロアレイジョンチップの作成に関する検討  
三浦生子, 三浦清徳, 山崎健太郎, 嶋田貴子, 中山大介, 吉浦孝一郎, 新川詔夫, 増崎英明

P4-245 卵巣に発生した形質細胞腫の一例 山崎健太郎, 三浦清徳, 森山信吾, 増崎英明

P1-153 性交経験がない婦人における Human papilloma virus の感染頻度に関する検討 嶋田貴子, 宮下昌子, 三浦生子, 中山大介, 三浦清徳, 増崎英明

P1-267 癒着胎盤の術前診断に関する検討 吉田敦, 谷川輝美, 三浦生子, 三浦清徳, 中山大介, 増崎英明

**臨床懇話会 2008年5月10日 (長崎ワシントンホテル, 長崎市)**

Severe preterm IUGRとconfined placental mosaicism -周産期から出生後12ヶ月について- 三浦清徳

**第65回日本産科婦人科学会九州連合地方部会 2008年5月17-18日**

超音波断層法で胎児の蜂巢状の腸管

拡張像を認めた3例 阿部修平, 三浦清徳, 山崎健太郎, 三浦生子, 中山大介, 増崎英明

**日本超音波医学会, 第81回学術集会, 2008年5月23日(金)~25日(日) 神戸国際会議場**

出生前に胎児洞性徐脈と診断された一例 三浦清徳, 黒田 葵, 山崎健太郎, 藤本洋子, 吉村秀一郎, 宮本正史, 増崎雅子, 三浦生子, 中山大介, 増崎英明

超音波検査で胎児筋原性疾患を疑った3症例 東島愛, 三浦清徳, 北島道夫, 山崎健太郎, 濱口大輔, 吉田至剛, 藤本洋子, 山口友子, 中山大介, 増崎英明

超音波検査で胎児の下部消化管拡張を認めた2例 阿部修平, 三浦清徳, 山崎健太郎, 三浦生子, 宮本正史, 増崎雅子, 吉村秀一郎, 中山大介, 増崎英明

Nuchal Translucencyの形態と染色体異常および頸部嚢胞性ヒグロームとの関係に関する検討 吉田至剛, 三浦清徳, 山崎健太郎, 三浦生子, 嶋田貴子, 吉村秀一郎, 増崎雅子, 宮本正史, 中山大介, 増崎英明

NTに差を認めた一絨毛膜性双胎の一例

山崎健太郎, 三浦清徳, 中山大介, 山口友子, 増崎英明

前置胎盤における大量出血の予測に関する検討 吉田 敦, 谷川輝美, 三浦生子, 三浦清徳, 中山大介, 増崎英明

**第18回日本産婦人科・新生児血液学会学術集会 2008年6月27-28日(九州大学・百年講堂, 福岡市)**

ワークショップ3 TTTS: twin-to-twin transfusion syndrome TTTSのリスクを推定する分子診断法の確立を目指して-母体血漿中胎盤由来 mRNAを用いた検討- 三浦清徳, 山崎健太郎, 三浦生子, 中山大介, 増崎英明

シンポジウム5 常位胎盤早期剥離胎児死亡例からみた常位胎盤早期剥離の検討 谷川輝美, 三浦清徳, 吉田敦, 中山大介, 増崎英明

**第44回日本周産期・新生児医学会 2008年7月13-15日(パシフィコ横浜, 横浜)**

X連鎖性疾患の出生前診断における cell-free fetal DNAの臨床応用 三浦清徳, 三浦生子, 山崎健太郎, 三春範夫, 嶋田貴子, 吉田敦, 中山大介, 増崎英明

原因不明の羊水過多を伴った胎児筋原性疾患の3例 東島愛, 三浦清徳, 北島道夫, 山崎健太郎, 吉田至剛, 中山大介, 増崎英明

前置胎盤に伴う癒着胎盤の診断に関する検討 吉田敦, 三浦生子, 三浦清徳, 中山大介, 増崎英明

**地域がん登録全国協議会 第17回総会研究会 2008年9月11日(良順会館, 長崎市)**

子宮頸部細胞診におけるベセスダシステムと HPV スクリーニングの有用性 三浦清徳, 山崎健太郎, 池本理恵, 三浦生子, 嶋田貴子, 濱口大輔, 小寺宏平, 藤下晃, 鮫島哲郎, 村上誠, 中山大介, 吉浦孝一郎, 増崎英明

長崎県のHPV typeについて 山崎健太郎, 三浦清徳, 池本理恵, 三浦生子, 嶋田貴子, 濱口大輔, 小寺宏平, 藤下晃, 鮫島哲郎, 村上誠, 中山大介, 吉浦孝一郎, 増崎英明

#### 第 53 回日本人類遺伝学会 2008 年 9 月 27-30 日 (パシフィコ横浜, 横浜)

癒着胎盤の評価に母体血漿中 cell-free placental mRNA 定量化は有用か? 三浦清徳, 山崎健太郎, 三浦生子, 嶋田貴子, 吉田敦, 中山大介, 吉浦孝一郎, 新川詔夫, 増崎英明

Nuchal translucency の厚みと双胎間輸血症候群との関連 阿部修平, 山崎健太郎, 三浦清徳, 吉田至剛, 三浦生子, 中山大介, 増崎英明

胎児筋緊張性ジストロフィーにおける出生前の検査所見 東島愛, 三浦清徳, 山崎健太郎, 北島道夫, 吉田至剛, 中山大介, 増崎英明

絨毛の一部が水腫化していた例の分子遺伝学的解析 松本由有子, 三浦清徳, 山崎健太郎, 中山大介, 増崎英明

自己免疫疾患におけるマイクロキメリズムの関与に関する検討 山崎健太郎, 三浦清徳, 三浦生子, 嶋田貴

子, 中山大介, 川上純, 小川文秀, 江口勝美, 佐藤伸一, 増崎英明

#### 第 15 回遺伝性疾患に関する出生前診断研究会 2008 年 10 月 19 日 (大分県医師会館, 大分県)

NT肥厚を認めた13q-症候群の1例 山崎健太郎, 三浦清徳, 吉田敦, 松本由有子, 増崎英明

絨毛性疾患合併妊娠を疑われた1例 松本由有子, 山崎健太郎, 三浦清徳, 中山大介, 吉浦孝一郎, 増崎英明

オルニチントランスカルバミラーゼ (OTC) 欠損症の出生前診断 三浦清徳, 山崎健太郎, 三浦生子, 嶋田貴子, 谷川輝美, 中山大介, 増崎英明

#### 第 29 回日本妊娠高血圧学会学術集会 2008 年 10 月 11-12 日 (福島ビューホテル, 福島市)

##### シンポジウム

母体血漿中胎盤由来 mRNA の流入パターンから見た妊娠高血圧症候群 三浦清徳, 三浦生子, 山崎健太郎, 吉田敦, 中山大介, 増崎英明

当院における子癇症例の検討 吉田敦, 三浦清徳, 中山大介, 増崎英明

#### 第 53 回日本生殖医学会総会 2008 年 10 月 23-24 日 (神戸国際会議場, 神戸市)

二卵性一絨毛膜双胎における血液キメラの遺伝子解析 三浦清徳, 肥後

貴史, 三浦生子, 増崎英明

**第 47 回日本臨床細胞学会秋季大会  
2008 年 11 月 14-15 日 (グランドブ  
リンスホテル新高輪, 東京都)**

長崎県におけるHPV typing検査につ  
いて 荒木裕之, 山崎健太郎, 三浦  
清徳, 池本理恵, 濱口大輔, 藤下晃,  
鮫島哲郎, 村上誠, 吉浦孝一郎, 増  
崎英明

HPV感染と細胞診判定の経時的変化  
について 山崎健太郎, 三浦清徳,  
池本理恵, 三浦生子, 嶋田貴子, 藤  
下晃, 鮫島哲郎, 村上誠, 吉浦孝一  
郎, 増崎英明

妊婦の子宮頸部細胞診におけるベセ  
スダシステムとHPVスクリーニン  
グの有用性について 三浦清徳, 山

崎健太郎, 池本理恵, 嶋田貴子, 濱  
口大輔, 藤下晃, 鮫島哲郎, 村上誠,  
吉浦孝一郎, 増崎英明

**第 11 回北海道出生前診断研究会  
2008 年 11 月 22 日 (札幌医科大学,  
札幌市)**

特別講演「母体血中 mRNA による胎  
児・胎盤の評価」 三浦清徳

**H. 知的財産権の出願・登録状況**

平成20年は, なし



厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）

平成19年度分担研究報告書

ヒトパピローマウイルス持続感染制御に関する

ゲノム医学からのアプローチ

研究項目：患者試料の遺伝子型タイピング

分担研究者：吉浦 孝一郎（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科・教授）

木下 晃（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科・助教）

木住野 達也（長崎大学先端生命科学研究支援センター・遺  
伝子実験施設・准教授）

近藤 新二（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科・准教授）

研究要旨

本研究は、ヒト子宮頸癌の原因であるヒトパピローマウイルスの持続感染に関わる、宿主（ヒト）側の遺伝的要因を明らかにすることを目的としている。本研究分担グループは、収集された DNA 試料の遺伝子型タイピングを行うことが主たる任務である。SNP およびコピー数多型（CNV: copy number variation）とヒトパピローマウイルス（HPV）の持続感染の関連を明らかにするために、本年度は、子宮頸癌患者試料およびコントロール試料の遺伝子型タイピングを Affymetrix 社の Genome-Wide SNP Array 5.0 および Genome-Wide SNP Array 6.0 を使用して行った。

A. 研究目的

研究の目標は、ヒトパピローマウイルス（HPV）の持続感染リスクすなわち子宮頸癌の発症リスクを高めている宿主であるヒトの SNP または CNV を明らかにすることである。

本研究グループは、産科婦人科グループが収集してくる DNA 試料をタイピングすることが任務である。本研究グループでは、本年度、Affymetrix 社の

Genome-Wide SNP Array 5.0 および Genome-Wide SNP Array 6.0 を用いて遺伝子型タイピングを行った。

B. 研究方法

1. GeneChip システムによるジェノタイピング

全ゲノム SNP ジェノタイピングは、Affymetrix 社製 GeneChip システムを用いて行った。Affymetrix 社により提示され

た手順に従い、48 試料を扱うプロトコールで行った。システムのスキャナーによりシグナル取得後に Genotyping Console によって、タイピングを行った。

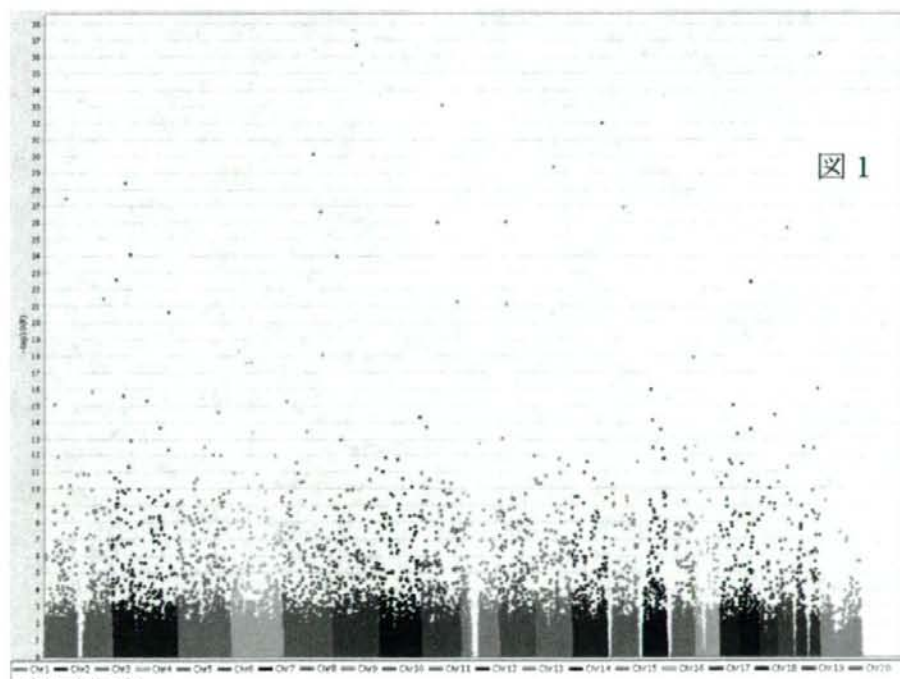
収集した試料から組織診断によって子宮頸癌と診断された 76 例を GWAS の患者としてジェノタイピングを行った。このうち、64 例が組織診断で子宮頸癌と確定診断されて今回の関連解析の患者として扱った。一般集団対照集団として初年度 Genome-Wide Human SNP 5.0 Array により、既にジェノタイピングを行っていたものも今回の統計解析に加えた。合計 196 例を対照群として解析した。本来なら、すべての患者・対象を Genome-Wide Human SNP 6.0 Array により解析して約 90 万個の SNP により解析すべきであるが、本年度の予算の枠内で

の推進が困難であったので、昨年度の結果も利用するかたちとなった。タイピング結果は、plink により関連解析を行い、plink による解析結果は haploview により図式化した。plink 解析の対象 SNP 選択の設定は、対照集団においてマイナーアレル頻度 (MAF: minor allele frequency)  $>0.01$ , Hardy-Weinberg 平衡検定 p-値 (HWE)  $>0.0004$ , SNP call rate  $>0.9$  に設定した。

## C. 研究結果

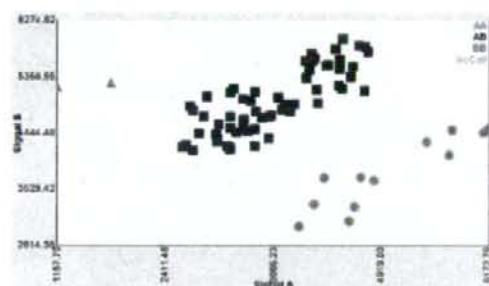
### 1. 関連解析

Affymetrix 社の Genome-Wide Human SNP 6.0 Array または 5.0 Array を使った全ゲノム SNP タイピングを行い、plink によって 64 例の子宮頸癌と一般集団対照集団 196 例の比較関連解析を行った。

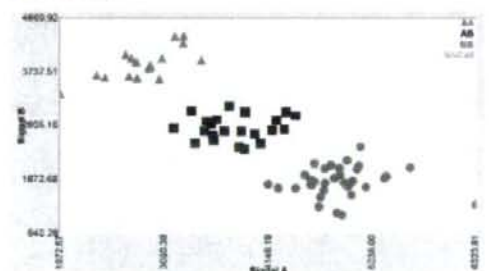


結果は、haploview により図式化した (図 1)。また、本解析で得られた低い p-値を示しかつタイピング時の clustering が良くなされている、rs11831414 (p 値 <  $10^{-32}$ ) と rs7747216 (p 値 <  $10^{-18}$ ) の clustering 図を図 2 に示す。

rs11831414



rs7747216



rs11831414 と rs7747216 とを実際にシーケンスでジェノタイピングの正確性を確認した。シーケンスによる確認の結果、rs11831414 と rs7747216 のジェノタイピングは、クラスター上はうまく分離されている様に見えたが、実際のジェノタイプを反映しておらず、結果は患者と対照で差がなかった。

#### D. 考察

SNP 6.0 の有利な点は、copy number variation (CNV, コピー数多型) 部位の検出において優れていると思われる。しかし、本年度の対照者のジェノタイピングは SNP 5.0 の試料が含まれており、結果的には50万個のSNP解析結果となっている。来年最終年度に向けて、SNP 6.0 による対照集団のSNPタイピングを進めていく。

plink 解析の対象 SNP 選択の設定は、対照集団において MAF > 0.01, HWE > 0.0004, SNP call rate > 0.9 に設定した。に設定して解析しているが、極端に低い p-値を示す SNP が検出されている (図 1)。これらの SNP では 1) HWE 検定の p-値が低く試料数が少ないために、関連解析で極端に低い p-値を示していること、2) SNP のタイピングがうまく行われていないこと、3) 本 SNP が HPV の感染維持に深くかかわっている原因 SNP であること、のいずれかが考えられる。p-値が極端に低い SNP は確かに clustering による SNP タイピングがうまくいっていない例が多いが、図 2 に示すように rs11831414 と rs7747216 などは clustering がよくなされていた。しかし、シーケンス解析による SNP の確認によって、これらのクラスタリングの結果は、再現できず実験上の避けられないエラーと考えられる。クラスタリングの図は、参考としなければ優良な SNP の選別は不可能だが、確実に他の方法による確認が必須である。今後、最終年度に向けてさらなる子宮頸癌試料の収集、Genome-Wide Human SNP 6.0 Array

による SNP タイピングを行い、clustering の図を確認しながら研究を進めていく必要がある。

## E. 結論

子宮頸癌発症と関連する高リスク型ヒトパピローマウイルス持続感染制御にかかわる SNP もしくは CNV 探索に向けて研究が立ち上がり、目標に向けて試料収集が順調に進んでいる。次年度の最終年度に向け研究は順調に進んでおり、今後試料数の増加や別法による SNP タイピングを経て、目標とした高リスク型ヒトパピローマウイルス持続感染制御にかかわる SNP もしくは CNV 探索が完了できる。

## F. 健康危険情報

なし。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Sato D, Kawara H, Shimokawa O, Harada N, Tonoki H, Takahashi N, Imai Y, Kimura H, Matsumoto N, Ariga T, Niikawa N, Yoshiura K. A Down syndrome girl with partial trisomy for 21pter-q22.13: A clue to narrow the Down syndrome critical region. *Am J Med Genet* 146A: 124-127, 2008.
2. Wu LQ, Long Z, Liang DS, Harada N, Pan Q, Yoshiura K, Xia K, Dai HP, Niikawa N, Xia JH: Pre- and postnatal overgrowth in a patient with proximal 4p deletion. *Am. J. Med. Genet. A.* 146A(6): 791-794. 2008.
3. Kuniba H, Tsuda M, Nakashima M, Miura S, Miyake N, Kondoh T, Matsumoto T, Moriuchi H, Ohashi H, Kurosawa K, Tonoki H, Nagai T, Okamoto N, Kato M, Fukushima Y, Naritomi K, Matsumoto N, Kinoshita A, Yoshiura K, Niikawa N. Lack of *C20orf133* and *FLRT3* mutations in 43 patients with Kabuki syndrome in Japan. *J. Med. Genet.* 45(7): 479-480. 2008.
4. Kuniba H, Sato D, Yoshiura K, Ohashi H, Kurosawa K, Miyake N, Kondoh T, Matsumoto T, Nagai T, Okamoto N, Fukushima Y, Naritomi K, Matsumoto N, Niikawa N. No mutation in RAS-MAPK pathway genes in 30 patients with Kabuki syndrome. *Am J Med Genet A.* 146A(14): 1893-1896. 2008.
5. Miura K, Miura S, Yamasaki K, Yoshida A, Yoshiura K, Nakayama D, Niikawa N, Masuzaki H. Increased level of cell-free placental mRNA in a subgroup of placenta previa that needs hysterectomy. *Prenat. Diagn.* 28(9): 805-809. 2008.
6. Nakashima M, Tsuda M, Kishino T, Kondoh S, Kinoshita A, Shimokawa O, Niikawa N, Yoshiura K. The accuracy of SNP genotyping using genomic DNA extracted from finger nail: Comparison with blood. *Clin Chem* 54(10): 1746-1748. 2008.
7. Nakashima M, Nakano M, Hirano A, Kishino T, Kondoh S, Miwa N, Niikawa