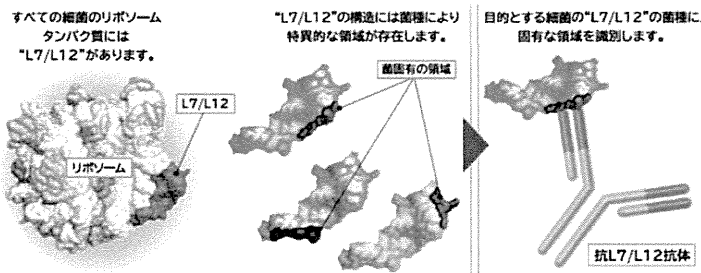


# マイコプラズマ抗原キット リボテスト<sup>®</sup>マイコプラズマ

- リポゾーム蛋白 L7/L12の検出キット
- *Mycoplasma pneumoniae*検出用に開発された
- 咽頭ぬぐい液を用いて、約15分で検出可能
- *Mycoplasma genitalium*に交差反応があり、男性尿道の*M. genitalium*検出に期待ができる

## 目的

*M. genitalium*の検出限界を測定し、臨床応用が可能かどうか検討する  
(産業医科大学倫理委員会:H26-174)



*M. pneumoniae*における培養、PCR法との比較:  
感度 57%、特異度91-92%、陽性一致率 85% (旭化成ファーマ 資料より)

		培養		感度
		陽性	陰性	計
キット	陽性	20	11	31
	陰性	15	130	145
	計	35	141	176
				57.1%
				特異度
				92.2%
				陽性陰性一致率
				85.2%

(社内資料)

		PCR		感度
		陽性	陰性	計
キット	陽性	19	12	31
	陰性	14	131	145
	計	33	143	176
				57.6%
				特異度
				91.6%
				陽性陰性一致率
				85.2%

(社内資料)

## 交差反応性試験の結果



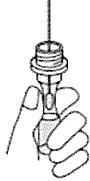

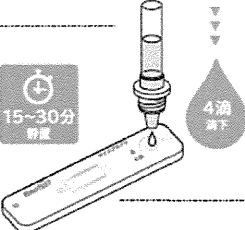
下記に示すマイコプラズマ属及び他の細菌類に対して本キットを使用したところ、肺炎マイコプラズマ (*Mycoplasma pneumoniae*)以外に反応性を示したのは *Mycoplasma genitalium*のみでした。

マイコプラズマ属	他の細菌類		
<i>Mycoplasma fermentans</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<b><i>Mycoplasma genitalium</i></b>	<i>Chlamydia pneumoniae</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Mycoplasma hominis</i>	<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Neisseria lactamica</i>	<i>Streptococcus mitior</i>
<i>Mycoplasma laidlawii</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Streptococcus mitis</i>
<i>Mycoplasma orale</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
<i>Mycoplasma penetrans</i>	<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Mycoplasma salivarium</i>	<i>Haemophilus parahaemolyticus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
	<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	<i>Serratia marcescens</i>	<i>Streptococcus salivarius</i>
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Streptococcus sanguis</i>
	<i>Legionella pneumophila</i>		

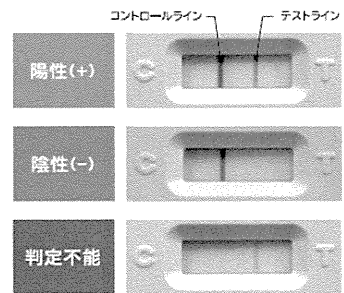
マイコプラズマ属の菌種は $1.5 \times 10^5$ cfu/mL以上、他の細菌類は $1.0 \times 10^6$ cfu/mLで測定しました。(社内資料)

*M.genitalium*と交差反応あり  
→*M.genitalium*の検出が可能ではないか？

### 操作方法

- 抽出チューブの準備**  
  
 抽出チューブを軽く振って蓋に付着した抽出液を底に落とし、蓋を取り外します。
- 検体の抽出**  
  
 検体を取った綿棒を抽出液に浸します。抽出チューブの外側から綿球部分をよく揉み、そのまゝ2分～15分間静置します。
- 綿棒の抜き取り**  
  
 抽出チューブの外側から綿球部分をつまみ、しごきながら綿棒を抜き取ります。
- フィルターの装着**  
  
 抽出チューブに付属のフィルターを装着します。フィルターは裏までしっかりと取り付けてください。
- 抽出された液の滴下・判定**  
  
 平面上に置いたテストプレートの検体滴下部にフィルター側から抽出された液を4滴滴下します。15℃～30℃で15分～30分間静置後、目視にて判定します。  
 ※フィルターの先端が検体滴下部に触れないように注意してください。

### 判定法



# マイコプラズマ抗原キット 「リボテスト<sup>®</sup>マイコプラズマ」の 検出限界の検討

## 対象

*M.genitalium*株 17株

標準株 G37

臨床分離株 M2282, M2300, M2321, M2341(デンマーク) M6257, M6280, M6285, M6286, M6328, M6489(スウェーデン) M6090, M6151(フランス) M6282, M6283, M6284, M6287(日本)

## 方法

ストックした株の原液を10倍希釈し、それぞれの希釈液を「リボテスト<sup>®</sup> マイコプラズマ」にて*M.genitalium*を検出する

原液（1倍希釈と呼ぶ）を10倍希釈し（原液0.4ml+DNA buffer 3.6ml）、10<sup>8</sup>まで希釈する

それぞれの希釈液に「リボテスト<sup>®</sup> マイコプラズマ」の綿棒を1分間 浸す

上記綿棒を、10分間抽出液に浸す

上記、抽出液から4滴 テストプレートに滴下し、30分後に判定する

それぞれの希釈液の残液、および希釈液を使用し、real-time PCRで*M.genitalium*のDNA コピー数を算定する

## 結果

菌株	リボテスト結果			菌液中のDNA コピー数			抽出チューブ中のDNAコピー数		
	1倍	10倍	100倍	1倍	10倍	100倍	1倍	10倍	100倍
G37 (標準株)	濃い線	陰性	陰性	362980	40901	4058	28126	1780	291
M2282	薄い線	陰性	陰性	118732	15233	1200	144463	549	72
M2300	薄い線	陰性	陰性	243312	23336	5047	8136	1114	98
M2321	薄い線	陰性	陰性	281078	24730	1870	11142	2112	160
M2341	見えづらい	陰性	陰性	248401	27409	2365	14611	1220	225
M6257	薄い線	陰性	陰性	156210	13940	945	5471	1112	48
M6280	薄い線	陰性	陰性	258044	20088	1210	13539	1584	247
M6285	比較的濃い線	陰性	陰性	304320	28557	3457	22623	2147	120
M6286	薄い線	陰性	陰性	242903	12069	1208	15678	745	88
M6328	極めて薄い	陰性	陰性	199244	13991	1145	17567	734	107
M6489	極めて薄い	陰性	陰性	102323	6393	656	7955	790	196
M6090	薄い線	陰性	陰性	467403	34197	2474	29632	2448	183
M6151	極めて薄い	陰性	陰性	27846	3009	217	841	147	35
M6282	極めて薄い	陰性	陰性	64160	6789	508	5157	469	73
M6283	薄い線	陰性	陰性	97803	9789	534	13514	1885	102
M6284	薄い線	陰性	陰性	125172	8387	663	5176	340	20
M6287	薄い線	陰性	陰性	131579	1073	800	9737	1668	112

17株中16株で、現液では陽性

$2.0 \times 10^5 \pm 1.1 \times 10^5$  DNA copies /ml  
( $4.6 \times 10^5 \sim 2.7 \times 10^4$  copies/ml)

## 考察および結論

「リボテスト<sup>R</sup>マイコプラズマ」は*M.genitalium*に対して反応を示した  
しかし、その検出限界はおおよそ $10^5$  copies/mlであった

我々がこれまで行ってきた*M.genitalium*陽性検体の尿中濃度は $2 \times 10^7 \sim 10^8$  copies/mlである

我々が行っているreal-time PCR法の検出限界は10copies/mlに設定している。従って、大半の尿検体では、「リボテスト<sup>R</sup>マイコプラズマ」では陰性と判定される可能性が高い

従って、初尿検体を用いた「リボテスト<sup>R</sup>マイコプラズマ」の*M.genitalium*の検出は、困難であると結論付けた

## Anyplex<sup>R</sup>の*M.genitalium*の臨床的研究

- Seegene社 Anyplex<sup>R</sup>の*M.genitalium*の検出限界の検討は昨年報告した。17株では11-48 copies/ml, 13株は1-6 copies/mlで検出可能であった。報告上、検出限界は50 copies/mlとしたが、多くの株で10 copies/ml以下で検出可能であった
- 保存臨床検体(初尿)を用いて、MgPa real-time PCR法 (MgPa adhesinを増幅)とAnyplex法との比較を行った  
(産業医科大学倫理委員会:H25-158)

## Seegene vs MgPa PCR for *M.genitalium*

		MgPa			Concordance
		Positive	negative	Total	
Seegene	positive	27	1	28	Positive 96.4% (27/28)
	negative	1	71	72	Negative 98.6% (71/72)
	Total	28	72	100	

## 結果および結論

Anyplex<sup>R</sup>とMgPa real-time PCR法との陽性一致率は96.4%、陰性一致率は98.6%であり、Anyplex<sup>R</sup>は臨床検体にも十分使用できる検査法であることが分かった

今後、Anyplex<sup>R</sup>はAllplex<sup>R</sup>法へ変更された。本法はPCR法に定量分析を加えた方法であり、Seegene社ではAnyplex法との比較試験も終了している。28年度にはわが国で臨床試験を予定している。

# 口腔・咽頭梅毒および淋菌・クラミジアの咽頭感染に関する検討

【研究分担者】 余田 敬子（東京女子医科大学東医療センター耳鼻咽喉科）

## 研究要旨

口腔・咽頭梅毒と淋菌・クラミジアの咽頭感染について、今後の調査や対策を考察する目的に、前者は当科で経験した症例の臨床的特徴について後ろ向きに検討し、後者は当科と研究協力施設において過去に実施した前向き研究の結果を比較検討した。

口腔・咽頭梅毒は、性器や皮膚に病変がなく口腔・咽頭の症状や病変が梅毒診断の契機になる場合が多かった。最近急激に患者数が増加している梅毒については、口腔・咽頭梅毒の特徴を含めた情報を発信すること、現行の梅毒発生届けに口腔咽頭梅毒の項目を追加することが望まれる。

特徴的な症状や所見に乏しい淋菌・クラミジアの咽頭感染については、性器と咽頭の同日検査が保険で認められること、現行の感染症発生動向調査（STD定点）の調査票の項目に「咽頭淋菌感染症」と「咽頭クラミジア感染症」を別項目として加えることが望まれる。

## A. 研究目的

性感染症のうち、患者数がこの数年で急増している梅毒と、従来から患者数が多いクラミジアトラコマティス（*Chlamydia trachomatis*；以下クラミジア）感染症と淋菌感染症は、口腔・咽頭に感染し病変を生じる場合があり、また口腔・咽頭が感染源ともなり得る。近年の性行動の多様化やオーラルセックスを提供する性風俗の増加を背景に、口腔・咽頭を介してこれらの性感染症に感染する人が増えている一方で、口腔・咽頭への具体的な対策は遅れているといわざるを得ない。口腔・咽頭梅毒と、淋菌・クラミジアの咽頭感染に対して、実際の感染者の特徴や臨床所見から、今後求められる対策について検討する。

## B. 研究方法

口腔・咽頭の顕症梅毒については、当科で経験した症例の臨床的特徴について後ろ向きに検討する。淋菌・クラミジアの咽頭感染については、当科と研究協力施設において過去に実施した前向き研究の結果を比較検討する。

### 1. 口腔・咽頭顕症梅毒

1982年～2015年の間に当科で診断した口腔咽頭の顕症梅毒27例について、その臨床所見や特徴を提示する。

### 2. 淋菌・クラミジアの咽頭感染

2005年～2015年の間に性感染症クリニックおよび耳鼻咽喉科施設で実施した淋菌・クラミジアの咽頭感染に関する前向き研究について、陽性者の結果を比較検討する。

### 1) 性感染症クリニックにおける対象

神奈川県川崎市堀之内の性感染症 (STI) クリニック 1 施設にて性感染症検査を希望して受診した人のうち、咽頭と性器から淋菌およびクラミジアの同日検査を受けた男女、2005年11月1日から2006年7月1日 (期間 a) の555人と、2008年9月1日から2009年1月16日 (期間 b) の250人。

### 2) 耳鼻咽喉科施設における対象

全国10箇所 (表1) の耳鼻咽喉科施設において、口内炎、咽頭炎、扁桃炎、咽喉頭異常感などの患者、または咽頭の性感染症検査希望者のうち、同意の得られた18歳～65歳の男女、2010年11月18日から2012年3月6日 (期間 c) の182人と、2013年1月7日から2015年2月2日 (期間 d) の362人。

### 3) 検査方法 (表2)

咽頭スワブ、うがい液を検体とし、淋菌培養と核酸増幅検査のPCR法 (olymerase chain reaction ポリメラーゼ連鎖反応、アンプリコアSTD-1クラミジアトラコマティス)、SDA法 (strand displacement amplification、鎖置換増幅、BDプローブテックET CT/GC)、TMA法 (transcription-mediated amplification、転写介在増幅、アプティマコンボ2)、real time PCR (real time polymerase chain reaction、コバス® 4800システムCT/NG) を用いて検出した。

#### ① 性感染症クリニック

期間 a、b とともに、同日に採取した咽頭スワブとうがい液を検体とし、淋菌は淋菌培養、SDA法、TMA法の3検査を、咽頭のクラミジア検査は核酸増幅法のPCR法、SDA法、TMA法の3検査を実施し、いずれかの検査が2つ以上陽性だった人を陽性者と判定した。

性器の検査は、男性は初尿、女性は膣または子宮頸管スワブを検体として、淋菌・クラミジアともにSDA法で検出した

#### ② 耳鼻咽喉科

期間 c では、上咽頭と咽頭からスワブを同日に採取し、SDA法を用いて淋菌とクラミジアの検出を行った。期間 d では、上咽頭および咽頭スワブとうがい液を同日に採取し、スワブはSDA法を用いて、うがい液はreal time PCR法を用いて淋菌とクラミジアの検出を行った。

### 4) 倫理面での配慮

研究開始前に、研究内容および研究に関する事項について、本学倫理委員会にて承認 (東京女子医科大学倫理委員会承認1350番および2030番) された説明文書を用いて口頭で説明を行い、文書にて研究参加の同意を得た。

## C. 研究結果

### 1. 口腔・咽頭頭症梅毒症例

#### 1) 男女比、年齢分布、年別患者数

男性15例、女性12例で、年齢分布は16～75歳、平均37.0歳で、男女とも各年齢層に幅広く分布していた (図1)。経時的变化として1997年以降男性例が多くなり、1999年と2000年に1例ずつHIV陽性の男性同性愛者が含まれていた。2001年からは症例が途絶えていたが、2013年から1例ずつではあるが毎年患者がみられている (図2)。

#### 2) 主訴と口腔・咽頭所見 (表3)

受診時の主訴は咽頭痛が最も多く15例 (55%)、咽頭異常感が次いで多く6例 (22%) であった。当科初診時の口腔咽頭所見としては、第2期病変である粘膜斑が口

狭部粘膜、特に軟口蓋の後縁に沿って孤状に拡大して融合して蝶が羽を広げたような形を呈したbutterfly appearanceが最も多く13例(48%)、次いで粘膜斑が次いで多く10例(37%)、第1期病変である初期硬結・硬性下疳は2例(7%)であった。

### 3) 性器・皮膚病変の有無(表4)

性器病変を認めたのは6例(22%)、性器病変以外の皮膚病変を認めたのも6例(22%)であった。性器病変は扁平コンジローマが1例、他は詳細不明であるが性器病変に対して他院で精査・加療中が5例であった。皮膚病変は梅毒性乾癬が2例、梅毒性脱毛が2例、梅毒性丘疹が1例、梅毒性膿疱疹が1例で、うち1例は乾癬・脱毛・膿疱疹、扁平コンジローマを合併していた。

### 4) 病 期(表5)

第1期が2例、他はすべて第2期であった。第3~4期は認めなかった。

### 5) 感染経路(表5)

夫婦や交際相手など特定のパートナーからが最も多く9例(33%)、次いでソープランドなどの性風俗、水商売の女性からの感染が多かった。同性との性交渉で感染した例はいずれも1998年以降の男性例で、3例中2例はHIV感染を合併していた。

## 2. 淋菌・クラミジアの咽頭感染

### 1) 男女別年齢分布

性感染症クリニックでの期間a・b、耳鼻咽喉科施設での期間c・dにおける被験者の男女別年齢分布を図3に示す。性感染症クリニックと耳鼻咽喉科施設において、女性の年齢分布はほぼ同じであった。性感染症クリニックの男性被験者は耳鼻咽喉科に比べて20歳代が少ない傾向がみられた。

### 2) 男女別咽頭陽性率(表5)

淋菌・クラミジアの咽頭陽性者それぞれの割合は、性感染症クリニックの期間aでは男性12.8%・2.6%、女性12.5%・8.7%、性感染症クリニックの期間bでは男性21.0%・2.5%、女性15.4%・14.8%、耳鼻咽喉科施設の期間cでは男性8.7%・0%、女性7.9%・1.6%、性感染症クリニックの期間dでは男性7.9%・1.6%、女性9.9%・4.1%であった。性感染症クリニックでも耳鼻咽喉科施設でも、a~d全ての検討において、陽性者の割合は淋菌の方がクラミジアを上回っており、そのうち性感染症クリニックでの男性では淋菌の咽頭陽性者がクラミジアの咽頭陽性より統計的に有意に多かった。

### 3) 咽頭・性器の同日検査の陽性者の割合

性感染症クリニックで実施した咽頭・性器の同日検査による陽性者の割合を図4、5に示す。

性器の陽性者の割合と咽頭の陽性者の割合を比較すると、男性のクラミジアにおいてのみ咽頭の陽性者の割合が性器の陽性者の割合に比べて統計的に有意に少なかった(Wilcoxon符号付順位検定)。男性の淋菌、女性の淋菌およびクラミジア検査では咽頭の陽性者の割合は性器の陽性者の割合に比べて少ないものの有意差はなく、さらに女性の淋菌においてはやはり有意差はないものの咽頭の陽性者の割合が性器の陽性者の割合を上回っていた。

また、淋菌もクラミジアも男女ともに性器が陰性で咽頭のみ陽性者が存在した。

### 4) 耳鼻咽喉科施設における淋菌・クラミジア陽性者の咽頭所見(表7)

耳鼻咽喉科施設の期間c・dの計544人の



咽頭からの淋菌・クラミジア検査の結果、淋菌陽性者は43例(7.9%)、クラミジア陽性者は11例(2.0%)で、性感染症クリニックと同様にクラミジアは淋菌に比べて陽性者数が少なかった。

検査実施時の咽頭所見は、淋菌では所見のない正常の咽頭が16例、急性扁桃炎が11例、非特異的な咽頭炎が11例、上咽頭炎が4例、慢性咽頭炎・扁桃炎が2例、舌炎・咽頭アフタが2例であった。このうち所見無しの中の2例、急性扁桃炎の中の2例、慢性扁桃炎の中の2例、咽頭アフタの1例の計7例に反復する扁桃炎の既往があった。

クラミジアは所見のなしが3例、上咽頭炎が3例、急性扁桃炎・扁桃周囲炎が2例、非特異的な咽頭炎が1例、頸部リンパ節腫脹が1例、舌炎・咽頭アフタが2例であった。このうち上咽頭炎の1例に反復する扁桃炎の既往があった。

## D. 考 察

### 1. 口腔・咽頭頭症梅毒

当科で経験した口腔・咽頭梅毒症例の特徴は、第1期である初期硬結・硬性下疳を呈して受診する症例は少なく、第2期の特徴的な粘膜疹である butterfly appearance を呈して咽頭痛などの咽頭症状で受診する症例が多いこと、性器や皮膚病変を伴わない例が多く咽頭の症状や病変が診断の契機となっていたこと、同性愛男性ではHIV感染の可能性があることが挙げられる。

第1期の初期硬結・硬性下疳は性器に次いで口腔咽頭に好発し、痛みを伴わず数週間で自然消退するため第1期のうちに医療機関へ

受診する症例は少ないことが以前から指摘されているが、当科でも第1期の症例は2例(8%)に過ぎなかった。第2期の特徴的な粘膜疹を生じていた症例も、多くは前医で難治性咽頭炎・扁桃炎として診断に至らずに当科へ紹介されていた。口腔・咽頭梅毒は第1期病変、第2期病変ともに他の疾患には見られない梅毒独特の病変を呈するため、診断する医療者側が口腔・咽頭梅毒病変の特徴を知っていれば診断は決して難しくない。口腔・咽頭梅毒は性器や皮膚病変を伴わないことが多く、感染力のある早期梅毒であるため、口腔・咽頭病変を適切に診断しないと、無症候に移行するなど診断を逸する可能性がある。ここ数年の梅毒患者の増加に対して、「梅毒＝生殖器病変」というイメージを取り払い、口腔咽頭病変のみの梅毒症例があることを広く周知させることが望まれる。また、現行の梅毒発生届けの「4. 症状の欄」の「初期硬結・硬性下疳」を「初期硬結・硬性下疳(部位：性器・口腔・咽頭・その他( ))」と部位の記入欄を設け、さらに「4. 症状の欄」の項目に「口腔・咽頭粘膜斑」を加えることも、口腔・咽頭梅毒の認知につながると考える。

### 2. 淋菌・クラミジアの咽頭感染

性感染症検査希望者に性器と咽頭の同日検査を行うと、性器のみの陽性者、咽頭のみの陽性者がそれぞれ存在していた。淋菌・クラミジア感染症は無症候性感染であっても不妊の原因になるため、感染者数の多くを占める若い世代の感染者を早期に適切に診断することは重要である。性器も咽頭の特徴的な症状や所見に乏しい淋菌・クラミジア感染症に対して、受診の機会を逃さず適切に診断するために、性器と咽頭の同日検査が保険で認め

られることが求められる。

また、耳鼻咽喉科施設においては性感染症と気づかず、咽頭炎や扁桃炎などの症状で耳鼻咽喉科を受診する人の中に淋菌やクラミジアの咽頭感染者が含まれていた。さらに淋菌・クラミジアの咽頭感染者のなかに反復性扁桃炎の既往を持つ人が含まれていたことは、淋菌・クラミジアが扁桃炎の診断で一般的に用いる細菌検査では検出できないために淋菌・クラミジアによる扁桃炎と気づかれずに、扁桃炎を繰り返している症例が含まれている可能性が示唆された。性的活動期を過ぎて扁桃炎を反復するようになった症例においては、淋菌・クラミジアの咽頭感染も除外診断に含めて対応すべきことを、耳鼻咽喉科の臨床現場に広く認知させることが必要と考えられた。

## E. 結 論

口腔・咽頭の顕症梅毒患者の多くは、性器や皮膚に病変がなく口腔・咽頭の症状や特徴的な病変が梅毒診断の契機になる場合が多い。そのような口腔・咽頭梅毒の特徴を広く周知すべく情報を発信するとともに、現行の梅毒発生届けに口腔咽頭梅毒の項目を追加することを提案する。

性器も咽頭も特徴的な症状や所見に乏しい淋菌・クラミジア感染症に対して、受診の機会を逃さず適切に診断するために性器と咽頭の同日検査が保険で認められること、淋菌・クラミジアについて現行の感染症発生動向調査（STD 定点）の調査票の項目の「淋菌感染症」を「性器淋菌感染症」に改め（既にクラミジアは「性器クラミジア感染症」となっている）、「咽頭淋菌感染症」と「咽頭クラミジ

ア感染症」を別項目として加えることを提案する。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- (1) 余田敬子：口腔・咽頭に関連する性感染症 日本耳鼻咽喉科学会会報 118：841-853, 2015.
- (2) 余田敬子：診断・治療に必要な耳鼻咽喉科臨床検査 — 活用のpointとpitfall— 咽頭炎の鑑別 MB ENT 179：156-164, 2015.
- (3) 余田敬子：口腔粘膜疾患 — 特徴と治療の要点— 性感染症を疑う口腔粘膜疾患の診療 MB ENT 178：62-72, 2015.

### 2. 学会発表

なし

## H. 知的所有権の取得状況

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. そのほか

なし

## 表1 検査実施施設

A	東京女子医科大学東医療センター	東京都荒川区
B	杉田耳鼻咽喉科	千葉県千葉市美浜区
C	かみで耳鼻咽喉科クリニック	静岡県富士市
D	松原耳鼻いんこう科医院	岐阜県関市
E	渡辺耳鼻咽喉科・アレルギー科クリニック*	静岡県熱海市
F	とも耳鼻科クリニック*	北海道札幌市中央区
G	さくら耳鼻咽喉科*	北海道札幌市白石区
H	西岡じび咽喉科クリニック#	北海道札幌市豊平区
I	天神耳鼻咽喉科#	福岡県福岡市中央区
J	よしかわ耳鼻咽喉科#	神奈川県川崎市幸区

無印 2010年11月18日から検査開始

\* 2011年8月1日から検査開始

# 2011年8月1日から検査開始

## 表2 期間別 咽頭検体と検査法

	期間	病原体	検体	検査法
STI クリニック 1施設	2005年11月 ～2006年7月 (期間a)	淋菌	スワブ	淋菌培養 SDA TMA
			うがい	SDA TMA
		クラミジア	スワブ	PCR SDA TMA
			うがい	PCR SDA TMA
	2008年9月 ～2009年1月 (期間b)	淋菌	スワブ	淋菌培養 SDA TMA
			うがい	SDA TMA
		クラミジア	スワブ	PCR SDA TMA
			うがい	PCR SDA TMA
耳鼻科 6施設	2010年11月 ～2012年2月 (期間c)	淋菌・クラミジア	上咽頭スワブ	SDA
			咽頭スワブ	SDA
耳鼻科 10施設	2013年1月 ～2014年2月 (期間d)	淋菌・クラミジア	上咽頭スワブ	SDA
			咽頭スワブ	SDA
			うがい	Real time PCR

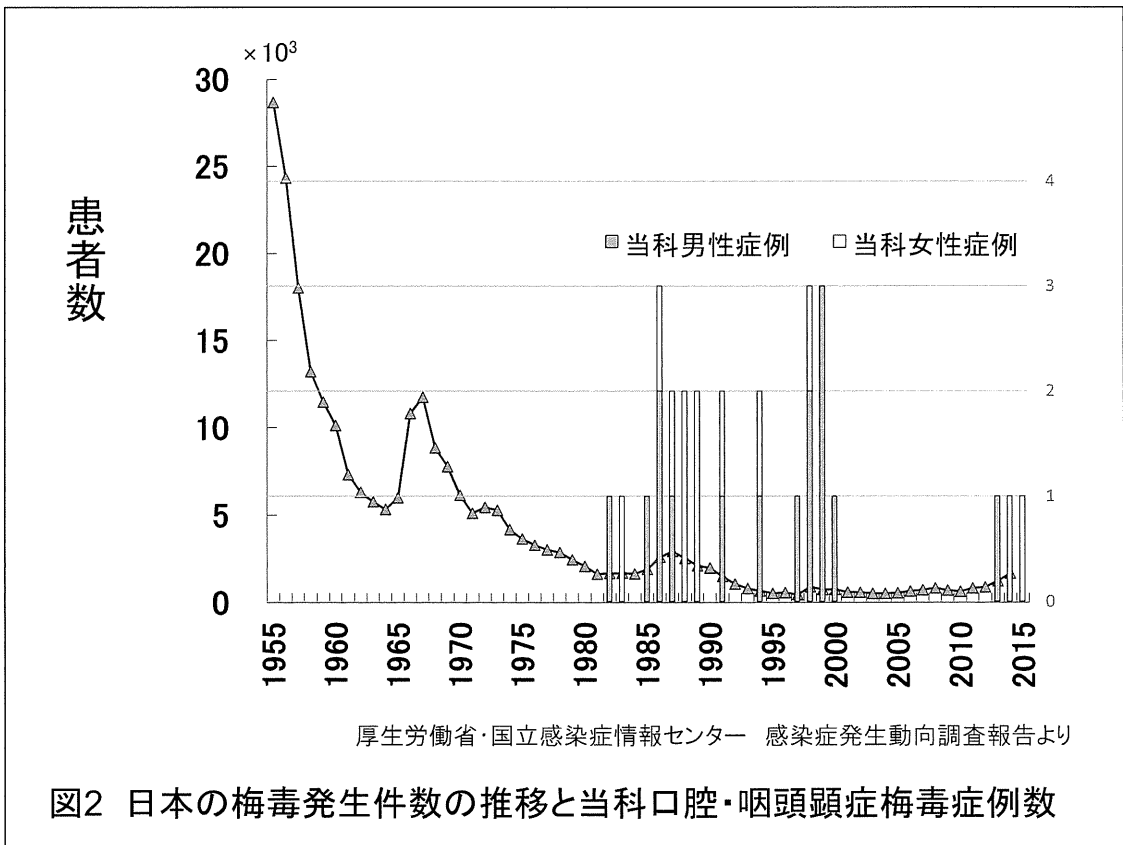
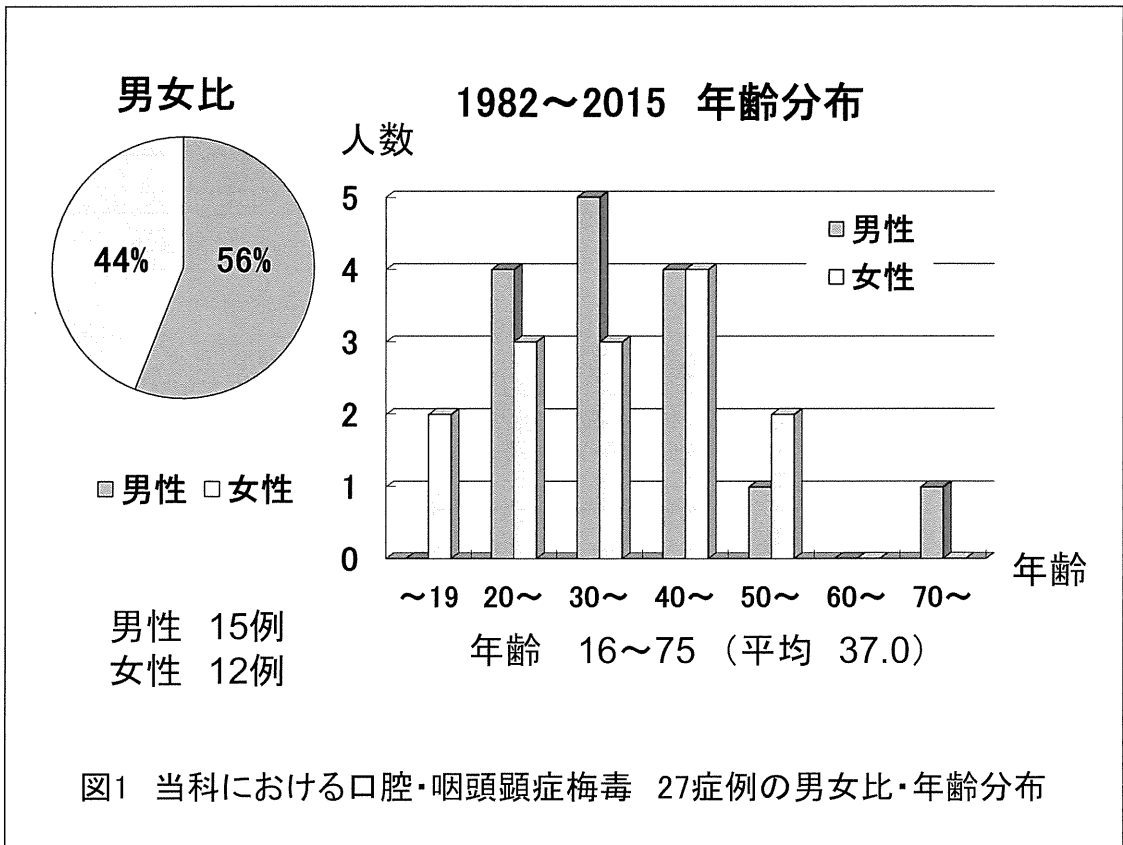


表3 当科における口腔・咽頭頸症梅毒27症例  
の主訴と口腔咽頭所見

主訴	例数	%	口腔咽頭所見	例数	%
咽頭痛	15	55	butterfly appearance	13	48
咽頭異常感	6	22	咽頭・舌の粘膜斑	10	37
口唇・口角 のびらん	3	11	初期硬結・硬性下疳	2	7
舌痛・口内痛	2	7	口角のびらん・白斑	1	4
頸部リンパ節 腫脹	1	4	咽頭発赤	1	4

表4 当科における口腔・咽頭頸症梅毒27症例  
の性器・皮膚病変の有無

性器病変	例数	%	皮膚病変	例数	%
あり	6	22	あり	5	19
なし	19	70	なし	22	81
不詳	2	8	梅毒性乾癬*	2例	
			梅毒性脱毛*	2例	
			梅毒性丘疹	1例	
			梅毒性膿疱疹*	1例	

\* 1例は乾癬・脱毛・膿疱疹を合併

表5 当科における口腔・咽頭頸症梅毒27症例  
の病期と感染経路

病期	例数	%	感染経路	例数	%
第1期	2	8	パートナー	9	33
第2期	23	92	性風俗	5	19
			水商売	3	11
			同性愛	3	11
			その他	4	15
			不詳	3	11

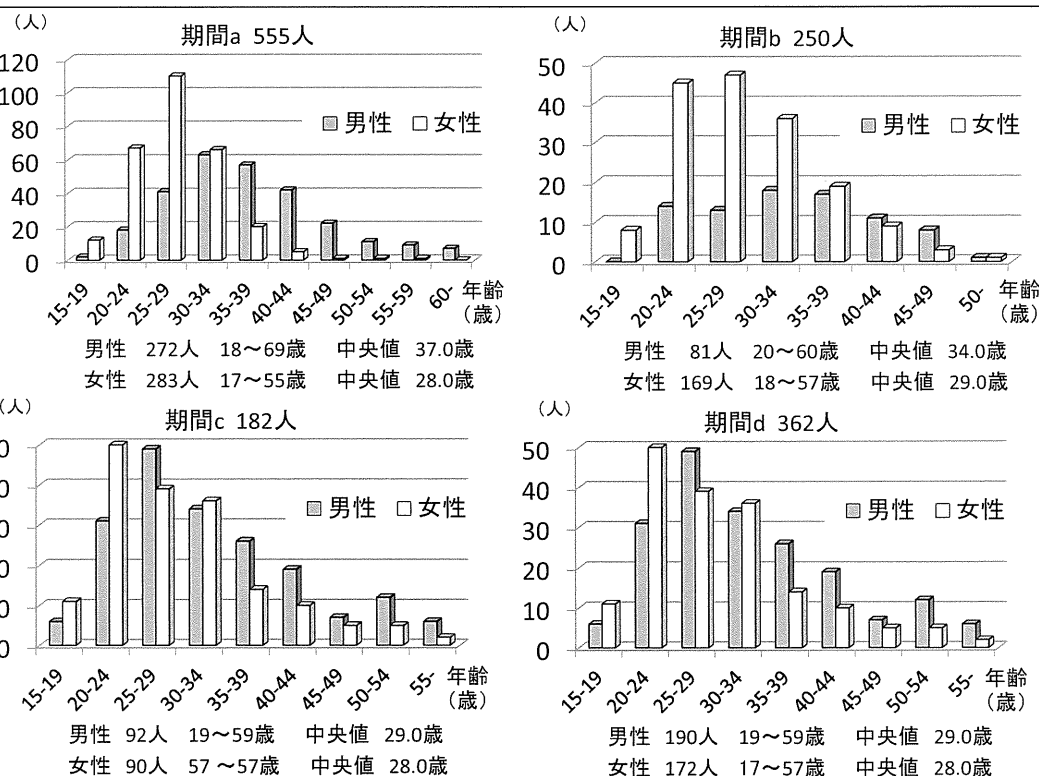
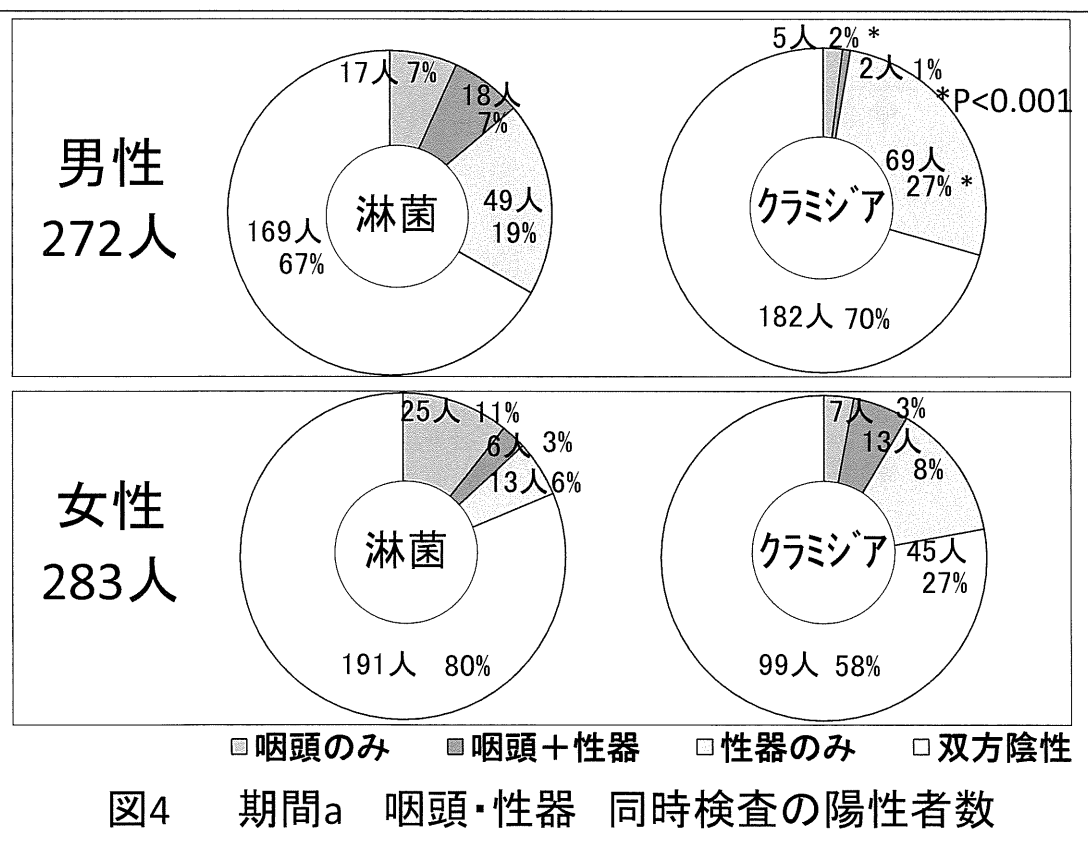


図3 各期間の被験者の男女別年齢分布

## 表6 男女別 咽頭陽性率

	期間	被検者数	淋菌	クラミジア
STI クリニック 1施設	2005年11月 ～2006年7月 (期間a)	男性 272	12.8 %	2.6 %
		女性 283	12.5 %	8.7 %
	2008年9月 ～2009年1月 (期間b)	男性 81	21.0 %	2.5 %
		女性 169	15.4 %	14.8 %
耳鼻科 6施設	2010年11月 ～2012年2月 (期間c)	男性 92	8.7 %	0 %
		女性 90	4.4 %	1.1 %
		耳鼻科 10施設	2013年1月 ～2014年2月 (期間d)	男性 190
		女性 172	9.9 %	4.1 %



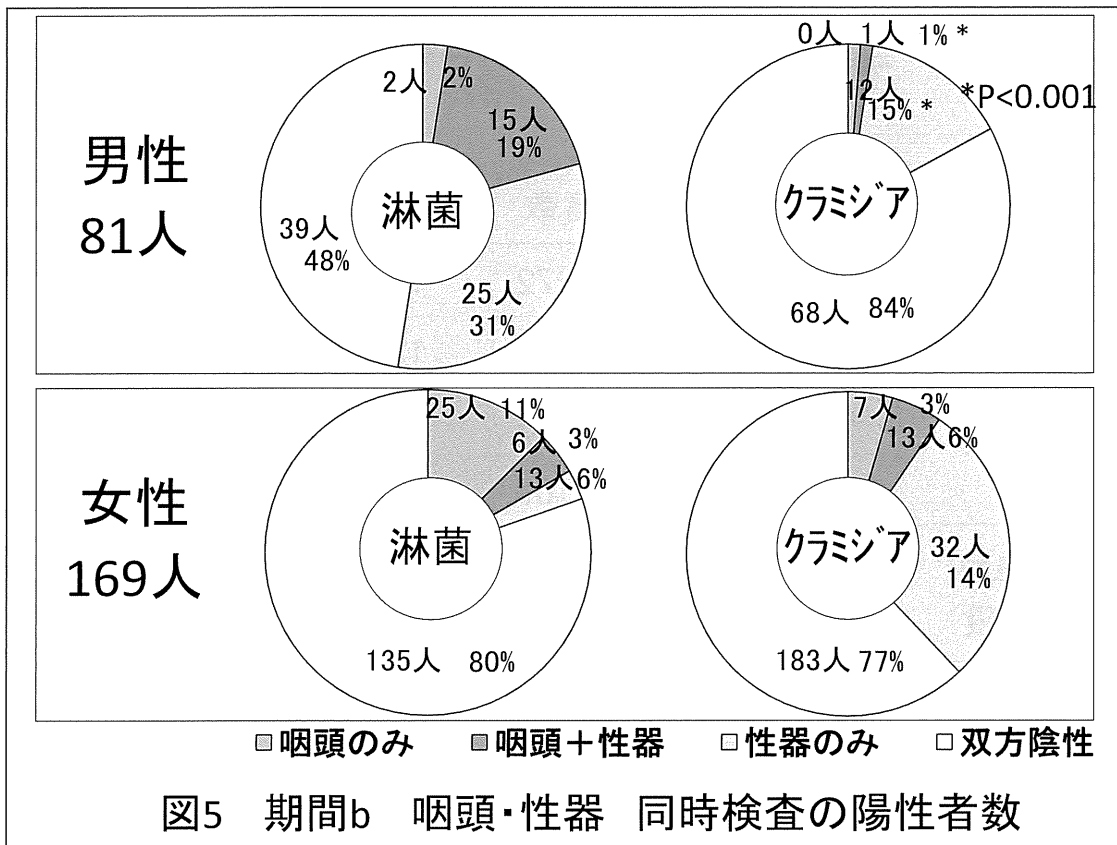


表7 耳鼻咽喉科施設における淋菌・クラミジア陽性者の咽頭所見

◆ 淋菌陽性 43例 (7.9%) (所見の重複あり)

所見無し	16例
急性扁桃炎	11例
非特異的咽頭炎	11例
上咽頭炎	4例
慢性咽頭炎・扁桃炎	2例
舌炎・咽頭アフタ	2例
(反復性扁桃炎の既往あり)	7例)

◆ クラミジア陽性11例 (2.0%)

所見無し	3例
上咽頭炎	3例
急性扁桃炎・周囲炎	2例
非特異的咽頭炎 <sup>1</sup> 例	2例
頸部リンパ節腫脹	1例
(反復性扁桃炎の既往あり)	1例)

◆ 淋菌+クラミジア陽性 1例 (0.2%)

口内炎→扁桃炎+上咽頭炎



## HPV 関連子宮頸癌早期スクリーニングの啓発に関する研究

【研究分担者】 三嶋 廣繁 (愛知医科大学大学院医学研究科)

【研究協力者】 山岸 由佳 (愛知医科大学病院感染症科)

萩原 真生 (愛知医科大学病院感染制御部)

### 研究要旨

日本人健常女性240名における HPV (human papilloma virus) は、CSW (comercial sex worker) では、非CSWと比較して高率に HPV 陽性であった ( $p < 0.00001$ )。検討した症例全体では HPV 52型が最多で、次いで58型の順に多かった。non-CSWでは52型が多かったが、CSWでは53型が多いもののハイリスク型全体が万遍なく検出された。特に、CSWでは、複数のハイリスク型が同時に検出される率が高かった ( $p < 0.01$ )。ローリスク型 HPV のみが検出された症例は陽性者全体の7.6%であった。日本人健常女性においても高リスク型の HPV 感染 (保ウイルス) 率は高く、子宮がん検診では細胞診に HPV スクリーニング検査を併用することは臨床的意義が高いと考えられた。

Anplex™ II HPV28 detection kitを用いて、スワブ検体と尿検体を用いて検出された HPV ジェノタイプの相同性を確認したところ、全体の感度は68.42%、特異度は99.87%であった。細胞診と尿検体の検査で低い相同性を示した遺伝子型 HPV は単一もしくは複数の遺伝子型の HPV が同時に検出される場合でも検出率に影響はなかった。HPV スクリーニング検査において、尿検体は侵襲性が低い検査であるが、尿検体による検査では感度が十分とは言えず、スクリーニング法として使用するには注意する必要がある。

### A. 研究目的

HPV の遺伝子型は100種類以上存在するが、癌化リスクが高い高リスク型群と低リスク型群に大別される。

HPV ジェノタイプ判定検査は2011年に新規保険適用項目となっており、現在、クリニッチ HPV (2011年より)、MEBGEN HPV キット (2013年より) が使用可能である。いずれも13タイプ (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68型) の検出が可能である。

一方、IARC (International Agency for Research on Cancer, 国際がん研究機関) では、66型を含む14種をハイリスク型として提唱していることから、大手検査会社 (SRL 等) では上記13タイプに加えハイリスク型である66型を加えた14タイプの検出が可能としているが、16, 18型以外は型別判定は実施されない。

そこで、健常女性における HPV 検出状況および HPV 検出にあたって子宮頸管スワブ検体と比較して侵襲性が低い尿検体は使用可能かについて検討した。

## B. 研究方法

### 研究1：健常女性におけるHPV検出状況

HPV高リスク型19種類、HPV低リスク型9種類の計28種類の型を検出できるSeegene社「Anyplex™ II HPV28 detection kit」を用い、既承認タイプングキットでは検出できない型も含めて日本人女性子宮頸部におけるHPV検出状況を検討した。

### 研究2：HPV検出に尿検体は使用可能か？

HPVのスクリーニング検査の低侵襲化を目的として、スワブ検体の他に尿検体を用いた検査を行い、2種類の検体を用いた場合の結果の相同性を調査した。

### 倫理面への配慮

本研究は、愛知医科大学病院倫理委員会の承認を得て実施した（承認番号15-H044）。

## C. 研究結果

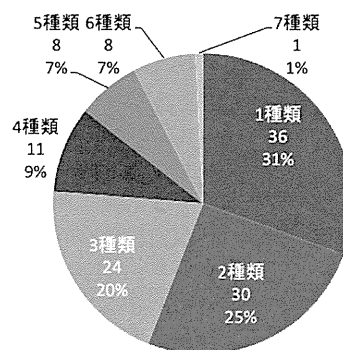
### 研究1：健常女性におけるHPV検出状況

健常女性240名（CSW 54名（23%）、非CSW 186名（77%））を対象とした。CSW群には妊婦は存在せず、非CSW群では妊婦は62名（33%）であった。

健常女性118名（49%）に何らかのHPVを検出した。HPV未検出例は120名（50%）、測定エラーが2名（1%）であった。

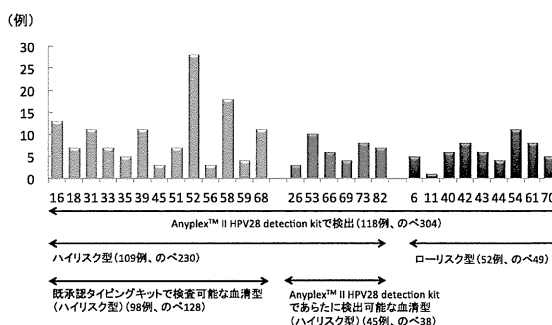
HPVが検出された118名におけるHPVの同時検出型について図1に示した。

図1 HPVが検出された118名におけるHPVの同時検出型



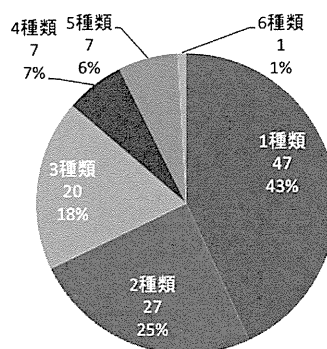
HPV陽性118名の詳細なHPV血清型を図2に示した。

図2 HPV陽性118名の詳細なHPV血清型



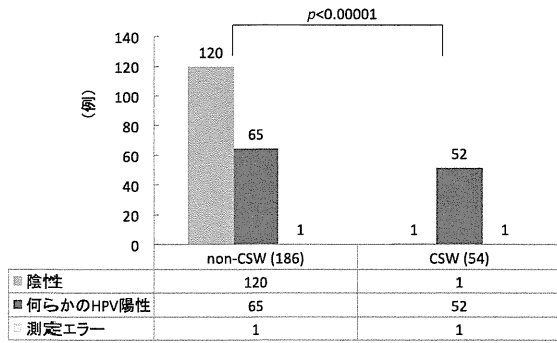
ハイリスク型HPVが検出された109例の複数菌検出例数を図3に示した。

図3 ハイリスク型HPVが検出された109例の複数菌検出例数



HPVの検出状況をCSW群と非CSW群に分けて示した（図4）。

図4 HPVの検出状況  
CSW群と非CSW群の比較



CSWはnon-CSWと比較し何らかのHPV陽性である割合は有意に高い(p<0.00001)  
Fisherの正確確率検定

ハイリスク型HPV同時検出型数をCSW群と非CSW群にわけて表1に示した。

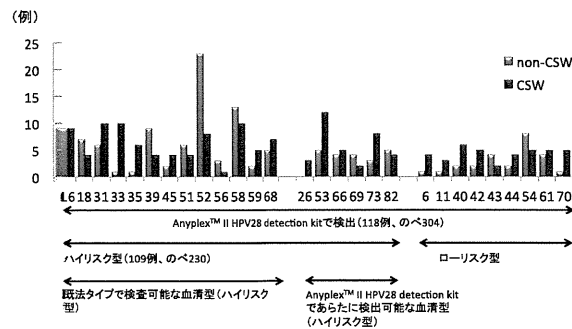
表1 ハイリスク型HPV同時検出型数  
CSW群と非CSW群の比較

	全体 n=109	non-CSW n=62	CSW n=47
ハイリスク1種類	47 (43.1)	35 (56.5)	12 (25.5)
ハイリスク複数 全体	62 (56.9)	27 (43.5)	35 (74.4) *
2種類	27 (22.9)	13 (21.0)	14 (29.8)
3種類	20 (16.5)	10 (16.1)	10 (21.3)
4種類	7 (6.4)	3 (4.8)	4 (8.5)
5種類	7 (6.4)	1 (1.6)	6 (12.8)
6種類	1 (0.9)	0 (0.0)	1 (2.1)
新規6種類のハイリスク型が1つでも陽性であった例数	44 (40.4)	15 (24.2)	23 (48.9)*
既往タイプ陰性かつ新規6種のいずれかが陽性であった例数	12 (11.0)	8 (12.9)	4 (8.5)**

(%), X<sup>2</sup>検定もしくはFisherの正確確率検定\*: p<0.01, \*\*: p=0.03

HPV検出118例の血清型別検出状況を図5に示した。

図5 HPV検出118例の血清型別検出状況



ローリスク型HPVの検出状況について表2に示した。

表2 ローリスク型HPVの検出状況

	全体 (n=240)	non-CSW (n=186)	CSW (n=54)	Case	Low risk
何らかのHPV陽性	117 (48.8)	65 (34.9)	52 (96.3)	1	non-CSW 11
ローリスク型陽性例	59 (24.6)	29 (15.6)	30 (55.6)	2	non-CSW 42
ハイリスク型とローリスク型同時検出	50 (20.8)	22 (11.8)	28 (51.9)	3	non-CSW 42
ローリスク型のみ検出	9 (3.8)	7 (3.8)	2* (3.7)	4	non-CSW 54
1種類	8 (3.3)	7 (3.8)	1 (1.9)	5	non-CSW 61
複数	1 (0.4)	0 (0.0)	1 (1.9)	6	non-CSW 70
				7	non-CSW 54
				8	CSW 54
				9	CSW 6, 43, 61

(%), \*: p=0.08

研究2: HPV検出に尿検体は使用可能か?

スワブ検体と尿検体を用いて検出されたHPVハイリスク型ジェノタイプの相同性を表3に示した。

表3 スワブ検体と尿検体を用いて検出されたHPVハイリスク型ジェノタイプの相同性

Genotype	Risk	No. of samples for each result					% agreement	Total no. positive	% positive agreement	Kappa data			Two-tailed MacNemar's P value
		-/-	+/-	-/+	+/+	x				SD	Int.		
16	High	220	1	0	17	99.6	18	94.4	0.969	0.030	NP	0.317	
18	High	226	1	1	10	99.2	12	83.3	0.905	0.067	NP	1.000	
26	High	234	4	0	0	98.3	4	0.0	0.000	0.000	NA	0.046	
31	High	221	1	0	16	99.6	17	94.1	0.967	0.032	NP	0.317	
33	High	227	2	0	9	99.2	11	91.8	0.896	0.073	NP	0.157	
35	High	231	3	0	4	98.7	7	57.1	0.721	0.154	ST	0.083	
39	High	224	4	0	10	98.3	14	71.4	0.825	0.086	NP	0.046	
45	High	232	0	0	4	100.0	6	100.0	1.000	0.000	PE	NA	
51	High	228	2	0	8	99.2	10	80.0	0.885	0.061	NP	0.157	
52	High	205	5	1	26	97.5	32	81.3	0.882	0.047	NP	0.103	
53	High	221	3	0	14	98.7	17	82.4	0.897	0.059	NP	0.083	
56	High	234	3	0	1	98.7	4	25.0	0.396	0.276	PO	0.083	
58	High	216	2	0	20	99.2	22	90.9	0.948	0.037	NP	0.157	
59	High	231	2	0	5	99.2	7	71.4	0.829	0.139	NP	0.157	
66	High	229	2	0	7	99.2	9	77.8	0.871	0.090	NP	0.157	
68	High	225	5	0	8	97.9	13	61.5	0.752	0.106	ST	0.025	
69	High	231	3	0	4	98.7	7	57.1	0.721	0.154	ST	0.083	
73	High	227	7	0	4	97.1	11	36.4	0.522	0.156	PO	0.008	
82	High	228	8	0	2	96.6	10	20.0	0.324	0.173	PO	0.005	

スワブ検体と尿検体を用いて検出されたHPVローリスク型ジェノタイプの相同性を表4に示した。

表4 スワブ検体と尿検体を用いて検出されたHPVローリスク型ジェノタイプの相同性

Genotype	Risk	No. of samples for each result					% agreement	Total no. positive	% positive agreement	Kappa data			Two-tailed MacNemar's P value
		-/-	+/-	-/+	+/+	x				SD	Int.		
6	Low	229	3	3	3	97.5	9	33.3	0.487	0.180	PO	1.000	
11	Low	231	0	2	5	99.2	7	71.4	0.829	0.139	NP	0.157	
40	Low	230	5	0	3	97.9	8	37.5	0.537	0.182	PO	0.025	
42	Low	228	4	0	6	98.3	10	60.0	0.742	0.124	ST	0.046	
43	Low	231	4	0	3	98.3	7	42.9	0.593	0.184	PO	0.046	
44	Low	232	3	0	3	98.7	6	50.0	0.661	0.183	ST	0.083	
54	Low	222	10	1	5	95.4	16	31.3	0.457	0.136	PO	0.007	
61	Low	227	3	0	8	98.7	11	72.7	0.836	0.093	NP	0.083	
70	Low	231	6	0	1	97.5	7	14.3	0.244	0.200	PO	0.014	

Smear / Urine. 240検体中2検体はInvalid, 検出できなかったため238検体を全体として計算. NP: near perfect (0.8<k<1), ST: strong (0.6<k<0.8), PO: poor k<0.6, NA: not applicable.

尿検体を用いた場合の感度と特異度（スワブ検体との比較）を表5に示した。

表5 尿検体を用いた場合の感度と特異度（スワブ検体との比較）

Genotype	Risk	No. of samples for each result				% agreement	Total no. positive	% positive agreement	Kappa data			Two-tailed Macnemar's P Value
		-/-	+/-	-/+	+/+				$\kappa$	SD	Int.	
全体		6352	96	8	208	98.4	312	66.7	0.792	0.020	ST	0.000
ハイリスク		4291	58	2	171	98.7	231	74.0	0.844	0.020	NP	0.000
ローリスク		2061	38	6	37	97.9	81	45.7	0.617	0.053	ST	0.000

↓

	感度 (%)	特異度 (%)
全体	68.42	99.87
ハイリスク	74.67	99.95
ローリスク	49.33	99.71

尿検体を用いて単一もしくは複数の遺伝子型のHPVが検出された場合の影響を表6に示した。

表6 尿検体を用いて単一もしくは複数の遺伝子型のHPVが検出された場合の影響

Genotype	Risk	No. of cases				p value*
		Single infection		Multiple infections		
		Discordant	Concordant	Discordant	Concordant	
26	High	0	0	3	0	1.000
39	High	0	2	3	9	1.000
68	High	1	0	4	8	0.385
73	High	5	0	3	3	0.182
82	High	1	2	7	0	0.067
42	Low	2	1	2	5	0.500
43	Low	0	0	4	3	1.000
54	Low	1	1	9	5	1.000
70	Low	1	0	5	1	1.000

\*: Fisherの正確確率検定

## D. 考 察

日本人健常女性240名におけるHPV (human papilloma virus) は、CSW (comercial sex worker)では、非CSWと比較して高率にHPV陽性であった ( $p < 0.00001$ )。検討した症例全体ではHPV 52型が最多で、次いで58型の順に多かった。non-CSWでは52型が多かったが、CSWでは53型が多いもののハイリス

ク型全体が万遍なく検出された。特に、CSWでは、複数のハイリスク型が同時に検出される率が高かった ( $p < 0.01$ )。ローリスク型HPVのみが検出された症例は陽性者全体の7.6%であった。日本人健常女性においても高リスク型のHPV感染 (保ウイルス) 率は高く、子宮がん検診では細胞診にHPVスクリーニング検査を併用することは臨床的意義が高いと考えられる。

Anyplex™ II HPV28 detection kitを用いて、スワブ検体と尿検体を用いて検出されたHPVジェノタイプの相同性を確認したところ、全体の感度は68.42%、特異度は99.87%であった。細胞診と尿検体の検査で低い相同性を示した遺伝子型HPVは単一もしくは複数の遺伝子型のHPVが同時に検出される場合でも検出率に影響はなかった。尿検体は侵襲性が低い検査であるが、尿検体を用い多場合、遺伝子検査であっても感度が十分とは言えず、スクリーニング法として使用するには注意する必要がある。

## E. 結 論

日本人健常女性においても高リスク型のHPV感染 (保ウイルス) 率は高く、子宮がん検診では細胞診にHPVスクリーニング検査を併用することは臨床的意義が高いことが明らかになった。特に、CSW群では、HPV感染率は高く、高リスク群に対するHPVスクリーニングの意義はさらに高いものと推察された。

HPVスクリーニング遺伝子検査において尿検体は侵襲性が低い検査であるが、この方法による検査では感度が十分とは言えず、スクリーニング法として使用するには注意する必要がある。