

子宮がん撲滅作戦・梅毒病態の研究に関する研究

- 【研究分担者】 三嶋 廣繁（愛知医科大学感染症科）
【研究協力者】 山岸 由佳（愛知医科大学感染症科）
萩原 真生（愛知医科大学分子疫学・疾病制御学寄附講座）
和泉 孝治（いずみレディスクリニック）

研究要旨

（１）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

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。

（２）プライベート・クリニックにおける HPV ワクチンの予防効果に関する検討

4 価 HPV ワクチンは尖圭コンジローマの原因となるウイルス血清型もカバーできることから、HPV ワクチンの有効性を判断するためには子宮頸部病変のみならず尖圭コンジローマ病変についても評価していかなければならないことが明らかになった。

（３）梅毒 I 期および II 期患者における *T. pallidum* の髄液中への侵入状況

分子生物学的検討により梅毒 I 期および II 期患者においても *T. pallidum* の髄液中への侵入を認める症例が存在することが明らかになった。

（４）梅毒血清学的検査からみた梅毒流行状況

梅毒が増加傾向にあるためスクリーニング検査を実施している施設等ではその結果を確実に評価する診療体制の構築が重要であると考えられる。

A. 研究目的

（１）ヒトパピローマウイルス（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

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。

（２）プライベート・クリニックにおけるヒトパピローマウイルス（HPV）ワクチンの予防効果に関する検討

HPV ワクチン接種は、2013 年 4 月から予防接種法改により女性を対象とした定期接種となった。今回、HPV ワクチンの有効性についてプライベ

トクリニックを受診された症例において評価した。

(3) 梅毒 I 期および II 期患者における

Treponema pallidum の髄液中への侵入状況

梅毒のうち、特に神経梅毒は、梅毒 I 期～II 期に中枢神経浸潤するとされているが、髄液中に病原体とされる *T. pallidum* を確認したデータはない。そのため、梅毒 I 期および II 期患者における *T. pallidum* の髄液中への侵入頻度を分子生物学的手法により明らかにした。

(4) 梅毒血清学的検査からみた梅毒流行状況

近年、国内において梅毒は急増しているが、無症状者における抗体保有状況に関する十分なデータはない。当院では術前検査の項目に梅毒血清学的検査を含めており年間相当数の梅毒血清学的検査を施行している。今回、梅毒血清学的検査結果を後方視的に実態調査した。

B. 研究方法

(1) 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 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。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）。

(2) プライベート・クリニックにおける HPV ワクチンの予防効果に関する検討

2013 年 4 月～5 月の間に、岐阜市内にあるプライベートクリニック（いずみレディースクリニック）（岐阜市）にて、HPV ワクチンを接種を開始した 13～14 歳の女性を対象（性交渉の有無は不明）に、3 回 HPV ワクチン接種完了後、前方視的に調査し、2017 年 5 月の時点で月経異常などを主訴に受診した症例を対象として、尖圭コンジローマ視診、子宮頸部細胞診検査を実施した。また、同時期のワクチン未接種例の 13～14 歳の女性を対照群（性交渉の有無は不明）とした。なお、子宮頸部細胞診は、細胞検査士 1 名と認定病理専門医 1 名により判定された。

(3) 梅毒 I 期および II 期患者における *T.*

pallidum の髄液中への侵入状況

愛知医科大学病院およびいずみレディースクリニック（岐阜市）において診察した梅毒 I 期および II 期患者における *T. pallidum* の髄液中侵入の状況について、Polymerase chain reaction (PCR) 法 (Orle KA, *et al.* J Clin Microbiol. 1996; 34: 49-54. 参照) を用いて検討した。本研究のプロトコールは当院の倫理審査委員会にて承認を受け、髄液の採取には、患者の同意を得られた場合に行った。

(4) 梅毒血清学的検査からみた梅毒流行状況

2014 年から 2016 年の間に愛知医科大学病院で梅毒 RPR 定性・TPLA 定性検査が実施された症例を後方視的に調査した。定性検査が実施された症例のうち定量検査も実施された症例についてはその値も調査した。本研究は、愛知医科大学医学部倫理委員会の審査を経て実施した。

C. 研究結果

(1) 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 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。

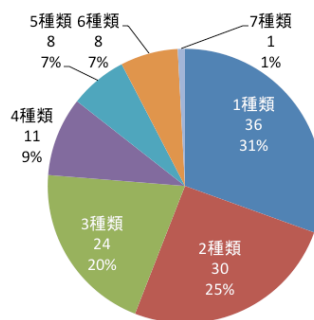


図 1 HPV が検出された 118 名における HPV の同時検出型

HPV 陽性 118 名の詳細な HPV 血清型を図 2 に示した。

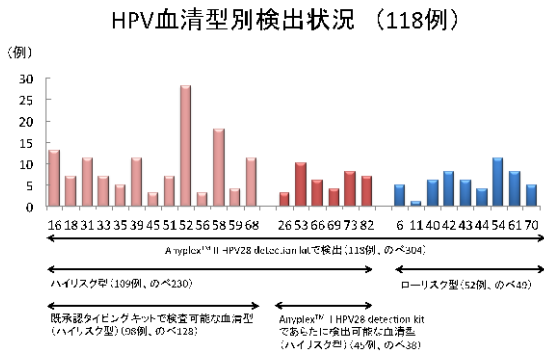


図2 HPV 陽性 118 名の詳細な HPV 血清型

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。

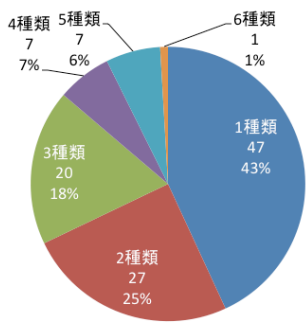


図3 ハイリスク型 HPV が検出された 109 例の複数菌検出例数

HPV の検出状況を CSW 群と非 CSW 群に分けて示した (図 4)。

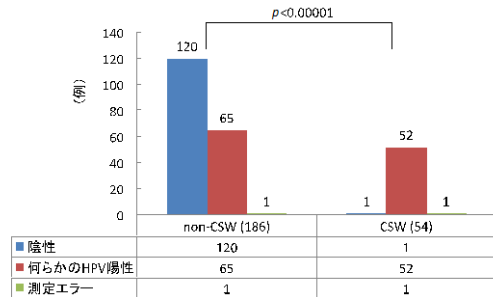


図4 HPV の検出状況 CSW 群と非 CSW 群の比較

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)*
既法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)**

(%), *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。

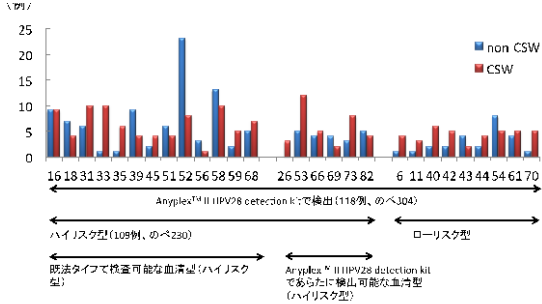


図5 HPV 検出 118 例の血清型別検出状況

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
		-/-	+/-	-/+	+/+				κ	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	81.8	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	6	100.0	6	100.0	1.000	0.000	PE	NA
51	High	228	2	0	8	99.2	10	80.0	0.885	0.081	NP	0.157
52	High	206	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	0.119	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
		-/-	+/-	-/+	+/+				κ	SD	Int.	
6	low	299	3	3	3	97.5	9	33.3	0.467	0.180	PO	1.000
11	low	291	0	2	3	99.2	7	41.7	0.829	0.129	HF	0.157
40	low	230	5	0	3	97.9	8	37.5	0.537	0.162	PO	0.005
51	low	226	7	0	6	98.3	13	60.0	0.742	0.121	ST	0.049
43	low	231	4	0	3	98.3	7	42.9	0.563	0.164	PO	0.045
59	low	232	3	0	3	98.7	6	50.0	0.563	0.183	ST	0.083
54	low	237	10	7	3	95.4	15	41.3	0.457	0.132	PO	0.007
51	low	227	3	0	8	98.7	11	72.7	0.823	0.092	HF	0.083
70	low	241	6	0	1	97.5	7	14.3	0.244	0.204	PO	0.014

Smear / Urinc. 240検体中2検体はInvalid, 検出できなかったため238件体を全体として計算. NP: near perfect (0.8<κ<1), ST: strong (0.6<κ<0.8), PO: poor κ<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
		-/-	+/-	-/+	+/+				κ	SD	Int.	
全体		6357	96	8	708	98.4	317	66.7	0.797	0.020	ST	0.000
ハイリスク		4291	58	2	371	98.7	231	74.0	0.844	0.020	HF	0.000
ローリスク		7061	38	6	37	97.9	87	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

(2) プライベート・クリニックにおける HPV ワクチンの予防効果に関する検討

4価ワクチン接種群 25 例、2価ワクチン接種群 16 例、対照群 22 例であった。各群における尖圭コンジローマは 0% (0/11)、20.0% (1/5)、13.6%

(3/22) であった。細胞診が実施された症例の異型の検出状況は、対照群 25.0% (2/8) で CIN1 : 1 例、CIN3 : 1 例であったが、ワクチン群はいずれも細胞診に異常は認めなかった。

(3) 梅毒 I 期および II 期患者における *T. pallidum* の髄液中への侵入状況

髄液の採取に同意が得られた梅毒と診断された患者 (9 名 : I 期 4 名、II 期 3 名、III 期 1 名、IV 期 1 名) を対象にして、PCR を用いた検討により梅毒 I 期および II 期患者においても *T. pallidum* の髄液中への侵入を認めた (I 期 : 25%、II 期 : 33.3%、III 期 : 100%、IV 期 : 100%)。

(4) 梅毒血清学的検査からみた梅毒流行状況
期間中のべ 49,352 例の測定が実施され、2014 年 15,512 例、2015 年 16,768 例、2016 年 17,072 例であった。診療科内訳は外来 43280 件 (87.7%)、一般病棟 5695 件 (11.5%)、重症系 377 (0.8%) 件で、診療科は多岐にわたっていた。RPR 陽性率は 2014 年 0.7%、2015 年 1.1%、2016 年 1.5%と年々増加傾向であり、TPLA 陽性率は 2014 年 0.9%、2015 年 1.1%、2016 年 1.6%であった。RPR 陽性者に占める TPLA 陽性者の割合は 2014 年 44.6%、2015 年 43.9%、2016 年 49.6%であった。一方、RPR 陰性者に占める TPLA 陽性者の割合は 2014 年、2015 年とも 0.6%であったが、2016 年は 0.9%と増加傾向であった。RPR16.0 以上は 79 例 (0.2%) でそのうち 65 例 (82.2%) が TPLA 陽性であった。

D. 考察

(1) 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

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。

(2) プライベート・クリニックにおける HPV ワクチンの予防効果に関する検討

本研究で性交渉の有無が不明であることは研究のリミテーションである。

日本人女性を対象とした HPV ワクチンは 2 価、4 価とも 4 年後の時点で子宮頸部の細胞診異常は認めなかった。また、4 価 HPV ワクチンでは尖圭コンジローマの予防効果が確認されたが、さらなる長期的観察および国家的な評価が必要である。

(3) 梅毒 I 期および II 期患者における *T. pallidum* の髄液中への侵入状況

梅毒 I 期および II 期患者においても *T. pallidum* の髄液中への侵入を認める症例が存在することが明らかになった。本研究結果は、性感染症の診断・治療の標準化ならびに性感染症啓発活動の有用なツールとなりうる。今後は、感染早期から病原体の髄液中への侵入についての遺伝子学的検査が必要かどうかを検討する必要性が示唆され

た。

(4) 梅毒血清学的検査からみた梅毒流行状況
全体の梅毒検査実施件数が過去 3 年間で増加傾向にあり、RPR・TPLA とともに陽性の割合が増加傾向にあることが判明した。

E. 結論

(1) 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

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。

(2) プライベート・クリニックにおける HPV ワクチンの予防効果に関する検討

4 価 HPV ワクチンは尖圭コンジローマの原因となるウイルス血清型もカバーできることから、HPV ワクチンの有効性を判断するためには子宮頸部病変のみならず尖圭コンジローマ病変についても評価していかなければならないことが明らかになった。

(3) 梅毒 I 期および II 期患者における *T. pallidum* の髄液中への侵入状況

分子生物学的検討により梅毒 I 期および II 期患者においても *T. pallidum* の髄液中への侵入を認める症例が存在することが明らかになった。

(4) 梅毒血清学的検査からみた梅毒流行状況

梅毒が増加傾向にあるためスクリーニング検査を実施している施設等ではその結果を確実に評価する診療体制の構築が重要であると考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

(1) 三嶋廣繁: 淋菌感染症、今日の小児治療指針 第 16 版、pp. 382-383、医学書院、東

- 京、2015.9.1.
- (2) Mikamo H, Matsumizu M, Nakazuru Y, Nagashima M. Efficacy and safety of metronidazole injection for the treatment of infectious peritonitis, abdominal abscess and pelvic inflammatory diseases in Japan. *J Infect Chemother*. 21: 96-104, 2015.
- (3) Mikamo H, Matsumizu M, Nakazuru Y, Okayama A, Nagashima M. Efficacy and safety of a single oral 150 mg dose of fluconazole for the treatment of vulvovaginal candidiasis in Japan. *J Infect Chemother*. 21(7): 520-526, 2015.
- (4) 山岸由佳、三嶋廣繁:梅毒、日本母性衛生学会雑誌 56 (2): 学6-学12, 2015.
- (5) 日本性感染症学会 (三嶋廣繁、他): 日本性感染症学会 性感染症診断・治療ガイドライン 2016、日本性感染症学会誌 27: SUPPL. 4-170. 2016.
- (6) Hagihara M, Yamagishi Y, Izumi K, Miyazaki N, Suzuki T, Kato H, Nishiyama N, Koizumi Y, Suematsu H, Mikamo H. Comparison of initial stream urine samples and cervical samples for detection of human papillomavirus. *J Infect Chemother* 22(8): 559-562, 2016.
- (7) 三嶋廣繁、山岸由佳: 尿路・生殖器感染症と SGLT2 阻害薬 5(1). *DIABETES UPDATE*: 38-41, 2016.
- (8) 山岸由佳、三嶋廣繁: 最近増加している感染症「梅毒」. *アニムス* 21: 39-42, 2015.
- (9) 山岸由佳: 梅毒、今日の治療指針 私はこう治療している、福井次矢、高木誠、小室一成編集、pp. 191-192、医学書院、東京、2017.1.1.
- (10) Koizumi Y, Watabe T, Ota Y, Nakayama SI, Asai N, Hagihara M, Yamagishi Y, Suematsu H, Tsuzuki T, Takayasu M, Ohnishi M, Mikamo H. Cerebral syphilitic gumma can arise within months of re-infection: A case of histologically proved *Treponema pallidum* strain type 14b/f infection with HIV positivity. *Sex Transm Dis* 45(2): e1-e4, 2018.
- (11) 山岸由佳、三嶋廣繁. 母子感染で問題となる細菌感染症 梅毒. *臨床検査* 61: 1411-1417, 2017.
- (12) Hagihara M, Yamagishi Y, Kato H, Shibata Y, Shiota A, Sakanashi D, Suematsu H, Watanabe H, Asai N, Koizumi Y, Furui T, Takahashi S, Izumi K, Mikamo H. Frequency of *Treponema pallidum* invasion into cerebrospinal fluid in primary or secondary early-stage syphilis. *J Infect Chemother*. 2017 Dec 8 [Epub ahead of print]

2. 学会発表

- (1) 山岸由佳、和泉孝治、宮崎成美、鈴木隆佳、末松寛之、西山直哉、小泉祐介、三嶋廣繁. 「Anyplex II HPV28 Detection」キットの臨床現場での使用経験. 日本性感染症学会 第28回学術大会 0-17, 2015.12.6、東京
- (2) 山岸由佳、三嶋廣繁. 当院における梅毒血清学的検査の現状. 日本性感染症学会 第30回学術集会 一般演題 0-02、札幌、2017.12.2

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
該当なし
2. 実用新案登録
該当なし
3. その他
該当なし