

平成 28 年 6 月 14 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25461509

研究課題名(和文) アジアにおけるヒトパピローマウイルス遺伝子型・亜型の分布と癌化リスクの解明

研究課題名(英文) Human papillomavirus genotypes and HPV16 E6/E7 variants among patients with genital cancers in Asia

研究代表者

市村 宏 (ICHIMURA, HIROSHI)

金沢大学・医学系・教授

研究者番号：10264756

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、ベトナムにおけるヒトパピローマウイルス(HPV)遺伝子型・亜型の分布とがん化リスクの解明を目的とした。ベトナムでは、子宮頸部細胞診正常者間で流行しているHPV株(HPV52が主)と子宮頸癌、膣・外陰部癌、陰茎癌患者でみられるHPV株(HPV16/18が主)の遺伝子型が異なること、HPV16/HPV18を対象とした現行ワクチンがこれらの癌の85%以上の予防に有用であること、HPV16ヨーロッパ・アジア型は非アジア型に比し発癌性が低いこと、HPV16 E6/E7遺伝子の特定のヌクレオチド部位におけるG→AまたはC→T変異が発癌過程に関与していることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：This study aimed to investigate human papilloma virus (HPV) genotype distribution and the HPV16 E6/E7 variations in Vietnamese patients with genital cancers, such as cervical, vulvar/vaginal, and penile cancers. The most prevalent HPV genotype in the women with normal cervical cytology (HPV52) was different from those in patients with genital cancers (HPV16/18). More than 85% of genital cancers could be prevented with the current vaccine targeting HPV 16/18 in Vietnam. HPV16 E6/E7 European Asian lineage may be less oncogenic. The G to A and C to T mutations at specific nucleotide positions of HPV16 E6/E7 genes may be involved in the development of cancers.

研究分野：ウイルス学、感染症制御学、国際保健学

キーワード：ヒトパピローマウイルス がん化 HPV遺伝子型 HPV E6・E7亜型 ベトナム 子宮頸癌 生殖器癌

1. 研究開始当初の背景

ヒトパピローマウイルス (HPV) は子宮頸癌の主原因であり、世界的にみるとその約70%が HPV16 と HPV18 によること、また、その他多くの癌の原因となっていることが知られている。我々は、2006 年から日本、フィリピン、ベトナムの女性性産業従事者を対象として HPV の疫学調査を実施している。これらアジアの国々において子宮頸部細胞診正常者間で、HPV52 型 (HPV52) と HPV16 が高頻度に検出されるが [1-3], 癌化の主要因子である E6・E7 遺伝子亜型の分布が異なること、そして E6・E7 亜型が HPV 感染経路の検索に有用であることをあきらかにしてきた。しかしながら、これらの国々の子宮頸癌をはじめとする種々の癌患者における HPV の疫学調査はほとんど行われていない。

2. 研究の目的

本研究では、(1) ベトナムの子宮頸癌・その他の性器癌患者でも HPV52 が高頻度に検出されるのか、または欧米諸国と同様に HPV16/HPV18 が高頻度に検出されるのかを明らかにする、(2) HPV16 の E6・E7 亜型の分布を子宮頸癌・その他の性器癌患者間ならびに子宮頸部細胞診正常者との間で比較検討し、HPV16 の E6・E7 亜型の地域分布ならびに発癌との関連性を明らかにする、ことを目的とした。

3. 研究の方法

ベトナムのハノイ国立がん病院において、子宮頸癌患者 188 名、膣・外陰部癌患者 70 名、陰茎癌患者 54 名から生検検体を採取した。これらの組織からゲノム DNA を抽出し、HPV L1 領域を増幅した後、Reverse dot blot hybridization 法とシークエンス法により HPV 遺伝子型を決定した。また、HPV16 株の E6・E7 遺伝子領域を型特異的プライマーにて増幅、塩基配列・アミノ酸配列を決め、E6・

E7 亜型ならびに遺伝子変異を解析した。

4. 研究成果

- (1) 子宮頸癌患者 188 例中 168 例 (89.4%)、膣・外陰部癌患者 70 例中 58 例 (82.8%)、陰茎癌患者 54 例中 43 例 (79.6%) に HPV DNA が検出された (子宮頸癌患者 vs. 膣・外陰部・陰茎癌患者、 $p < 0.05$)
- (2) HPV16/HPV18 が子宮頸癌患者の 94.6% (159/168) に検出されたが、HPV52 型は 4.8% のみに検出された。同様に、HPV16/HPV18 は膣・外陰部癌 / 陰茎癌患者の 87.1% (88/101) に検出されたが、HPV52 型は 6.9% のみであった。
- (3) HPV16 が検出された子宮頸癌患者 ($n=111$) / 膣・外陰部・陰茎癌患者 ($n=66$) / 子宮頸部細胞診正常者 ($n=23$) では、E6/E7 遺伝子を基にしたヨーロッパ・アジアタイプが 80% / 71.2% / 95.7%、ヨーロッパ・プロトタイプ 14% / 15.5% / 0%、アジア・アメリカタイプ 5% / 12.1% / 0%、アフリカ型 1% / 1.2% / 4.3% であった。このように膣・外陰部・陰茎癌患者では子宮頸部細胞診正常者に比し、HPV16 ヨーロッパ・アジアタイプ検出率が有意に低く ($p=0.015$)、また子宮頸癌患者でも低い傾向 ($p=0.12$) がみられた。
- (4) 子宮頸癌患者、膣・外陰部・陰茎癌患者の HPV16 株は子宮頸部細胞診正常者のウイルス株に比し、有意に高頻度に E6 94A/178A と E7 647A/666A/846T を有していた (表)。
- (5) 以上の結果から、ベトナムでは、子宮頸部細胞診正常者間で流行している HPV 株と子宮頸癌ならびに膣・外陰部・陰茎癌患者でみられる HPV 株の遺伝子型が異なること、HPV16/HPV18 を対象とした現行ワクチンが約 95% の子宮頸癌の予防に、HPV16 ヨーロッパ・アジアタイプは非アジアタイプに比し発癌性が低いこと、ま

た、HPV16 E6/E7 遺伝子の特定のヌクレオチド部位における G A または C T 変異が発癌過程に関与していることが示唆された。

<参考文献>

Miyashita M, Ichimura H, et al., *J Med Virol* 81(3):545-551, 2009.

Matsushita K, Ichimura H, et al., *Jpn J Infec Dis* 64(1):34-39, 2011.

Hoang HT, Ichimura H, et al., *J Med Virol* 85(2):288-94, 2013.

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計3件)

Sasagawa T, Maehama T, Ideta K, Irie T; Fujiko Itoh J-HERS Study Group. Population-based study for human papillomavirus (HPV) infection in young women in Japan: A multicenter study by the Japanese human papillomavirus disease education research survey group (J-HERS). *J Med Virol*. 2016;88(2):324-35. doi: 10.1002/jmv.24323. (査読あり)

Le HHL, Bi X, Ishizaki A, Le HV, Nguyen TV, Hosaka N, Ichimura H. Human papillomavirus infection in male patients with STI-related symptoms in Hanoi, Vietnam. *J Med Virol* 2016;88(6):1059-66. doi: 10.1002/jmv.24422. (査読あり)

Ishizaki A, Matsushita K, Hoang HT, Agdamag DM, Nguyen CH, Tran VT, Sasagawa T, Saikawa K, Lihana R, Pham HV, Bi X, Ta VT, Pham TV, and Ichimura H. E6 and E7 variants of human papillomavirus-16 and -52 in Japan, the Philippines, and Vietnam. *J Med Virol* 85(6):1069-1076, 2013.

Doi:10.1002/jmv.23566. (査読あり)

[学会発表](計8件)

Le HLH, 畢 袖晴, 石崎 有澄美, 市村 宏. ベトナムの男性性感染症患者におけるヒトパピローマウイルス感染. 2015年11月21-22日、第30回日本国際保健医療学会学術集会(金沢)

Ichimura H. HPV infection in Asia. 2015年10月31日.Vietnamese-Japanese Students' Scientific Exchange Meeting 2015(京都)

畢 袖晴, Nguyen TPM, 石崎有澄美, Le HLH, 市村 宏. ベトナムの子宮頸癌患者における HPV 感染 - 遺伝子型、E6・E7 亜型の分布 -. 2015年6月20日~21日. 第13回日本予防医学会学術集会(金沢)

Le HLH, 石崎 有澄美, Phan TTC, 畢 袖晴, 市村 宏. ベトナムの男性性感染症患者におけるヒトパピローマウイルス感染. 2014年12月6日-7日. 第27回日本性感染症学会学術集会(神戸)

Ichimura H (招 聘 講 演). HPV infection in Asia - An outcome of collaboration between HPUMP and Kanazawa University-. 2014年11月14日. 35th Anniversary of HaiPhong University of Medicine and Pharmacy(HaiPhong, Vietnam)

Nguyen TPM, 石崎有澄美, 笹川寿之, 畢 袖晴, Le HLH, 市村 宏. ベトナムの子宮頸癌患者における HPV 感染 - 遺伝子型、E6・E7 亜型の分布 -. 2014年11月10日-11日. 第62回日本ウイルス学会学術集会総会(横浜)

市村 宏, 石崎有澄美, 笹川寿之, 畢 袖晴, Nguyen TPM, Nguyen HC, Pham VT. 現行ヒトパピローマウイルスワクチンでアジアの子宮頸癌を十分に予防できるか. 2014年6月28日-29日. 第12回日本予防医学会学術集会(東京)

市村 宏(招聘講演).The training and research collaboration between HPMU and Kanazawa University . 2013 年 6 月 19 日 . ベトナム・日本の外交関係樹立 40 周年 祈念セミナー : ベトナム・日本の科学技術 協力の成果と展望 (ハノイ)

[その他]

ホームページ等

<http://virus.w3.kanazawa-u.ac.jp>

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

市村 宏 (ICHIMURA, Hiroshi)
金沢大学・医学系・教授

研究者番号 : 1 0 2 6 4 7 5 6

(2) 研究分担者

笹川 寿之 (SASAGAWA, Toshiyuki)
金沢医科大学・医学系・教授
研究者番号 : 3 0 2 7 2 9 7 5

(3) 連携研究者

石崎 有澄美 (ISHIZAKI, Azumi)
金沢大学・医学系・助教
研究者番号 : 3 0 4 5 6 4 2 0

畢 袖晴 (BI, Xiuqiong)

金沢大学・医学系・助教
研究者番号 : 5 0 5 6 5 4 1 3

Table. Comparison of HPV16 E6/E7 variations between cancer patients and women with normal cervical cytology

Nucleotide	Amino Acid	Normal cytology	Cervical cancer		Penile cancer		Vaginal/Vulvar cancer	
		n=23	n=100	P value	n=27	P value	n=39	P value
(E6)								
94 G/A/C	K	20/3/0	64/35/1	0.075	21/6/0	0.472	22/17/0	0.01
178 G/A/T	25 E/E/D	19/3/1	45/35/20	0.005	14/5/8	0.43	11/17/11	0.0007
(E7)								
647 G/A	29 S/N	20/3	46/54	0.0004	13/15*	0.002	12/27	<0.0001
666 G/A	36 E	20/3	60/40	0.015	17/11*	0.03	22/17	0.01
846 C/T	95 S	19/4	42/58	0.0004	13/15*	0.007	2/7	0.0026