子宮頚部における高リスク型ヒトパピローマウイルスE4蛋白の発現と免疫応答

メタデータ	言語: Japanese
	出版者:
	公開日: 2020-03-05
	キーワード (Ja):
	キーワード (En):
	作成者: 笹川, 寿之, Sasagawa, Toshiyuki
	メールアドレス:
	所属:
URL	https://doi.org/10.24517/00056995

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 International License.

研究成果報告書

子宮頚部における高リスク型ヒトパピローマウイルスE4蛋白の発現と免疫応答

18591827

平成18年度～平成19年度科学研究費補助金
（基盤研究（C））研究成果報告書

平成20年5月

研究代表者　笹川　寿之
金沢大学・医学系研究科・准教授

金沢大学附属図書館
1300-04630-9

the Epstein-Barr virus in lymphoproliferative diseases of the lung. Oncology Reports 17, 1347-1352, 2007. (査読有り)

4. Shimakage M, Kawahara K, Harada S, Sasagawa T, Shinka T, Oka T. Expression of the Epstein-Barr virus in Renal cell carcinoma. Oncology Reports 18, 41-46, 2007. (査読有り)

5. 笹川寿之　子宮頚癌検診におけるHPV-DNA検査の意義　Lab. Clin. Prac. 24, 69-79, 2006.

6. 笹川　寿之 子宮頚部初期病変におけるヒトパピローマウイルス(HPV)感染と免疫マーカー　日本産科婦人科学会雑誌　58, 1745-1751, 2006.

7. 笹川　寿之　子宮頚癌発生防止を目的とした粘膜免疫誘導・CIN 治療 HPV ワクチン　婦人科腫瘍学会雑誌 25: 83-91, 2007.

8. 笹川　寿之　ヒトパピローマウイルス(HPV)に対する免疫と子宮頚癌　日本性感染症学会誌 18: 12-19, 2007.

9. 笹川寿之. ヒトパピローマウイルス(HPV)感染と局所免疫　炎症と免疫 15, 69-81, 2007.

10. 笹川寿之. ヒトパピローマウイルス(HPV)感染と子宮頚癌ー現状と対策　特集：　進歩する感染症対策の現状—日本と世界　臨床と微生物　34, 363-371, 2007.

（2） 学会発表

シンポジウム

1. 子宮頚部初期病変におけるヒトパピローマウイルス (HPV) 感染と免疫マーカー, 日本産科婦人科学会平成 18.4.

the Epstein-Barr virus in lymphoproliferative diseases of the lung. Oncology Reports 17, 1347-1352, 2007. (査読有り)

4. Shimakage M, Kawahara K, Harada S, Sasagawa T, Shinka T, Oka T. Expression of the Epstein-Barr virus in Renal cell carcinoma. Oncology Reports 18, 41-46, 2007. (査読有り)

5. 笹川寿之　子宮頚癌検診におけるHPV-DNA検査の意義　Lab. Clin. Prac. 24, 69-79, 2006.

6. 笹川　寿之 子宮頚部初期病変におけるヒトパピローマウイルス(HPV)感染と免疫マーカー　日本産科婦人科学会雑誌　58, 1745-1751, 2006.

7. 笹川　寿之　子宮頚癌発生防止を目的とした粘膜免疫誘導・CIN 治療 HPV ワクチン　婦人科腫瘍学会雑誌 25: 83-91, 2007.

8. 笹川　寿之　ヒトパピローマウイルス(HPV)に対する免疫と子宮頚癌　日本性感染症学会誌 18: 12-19, 2007.

9. 笹川寿之. ヒトパピローマウイルス(HPV)感染と局所免疫　炎症と免疫 15, 69-81, 2007.

10. 笹川寿之. ヒトパピローマウイルス(HPV)感染と子宮頚癌ー現状と対策　特集：　進歩する感染症対策の現状―日本と世界　臨床と微生物　34, 363-371, 2007.

（2） 学会発表

シンポジウム

1. 子宮頚部初期病変におけるヒトパピローマウイルス (HPV) 感染と免疫マーカー, 日本産科婦人科学会平成 18.4.

2. 免疫学的観点からみたヒトパピローマウイルス（HPV）感染と子宮頚癌，日本分子疫学学会，平成 18.5.
3. 子宮頚癌発生防止を目的とした粘膜免疫誘導・CIN 治療 HPV ワクチン，日本婦人科腫瘍学会，平成 18.7.
4. ヒトパピローマウイルスに対する免疫と子宮頚癌、第 19 回性感染症学会、平成 18.12.
5. 子宮頚癌検診システムにおける HPV-DNA 検査の意義，日本臨床細胞診学会，平成 18.12.
6. 子宮頚癌検診システムにおける HPV-DNA 検査の意義，日本臨床細胞診学会，平成 19.6.
7. 性感染症の予防・治療のパートナーシップ：ＨＰＶ生殖器への定着，性感染症学会，平成 19.12.

招聘講演

1. 子宮頚がんにならないために：ー 子宮頚がんは防げる病気，NPO 法人市民フォーラム，平成 18.4.
2. 産婦人科領域の感染症，石川県看護協会研修会，平成 18.6.
3. HPV 検査による子宮頚癌検診，日本臨床細胞診学会ランチョンセミナー，平成 18.6.
4. 若い女性に増加するヒトパピローマウイルス（HPV）感染と子宮頚癌，富山産婦人科医会教育講演，平成 18.9.
5. 若者に蔓延する HPV 感染と子宮頚癌，沖縄豊見城中央病院セミナー，平成 18.9.
6. ＨＰＶ感染と子宮頸がん，旭川細胞診分科会セミナー，平成 19.1
7. 予防できるがん～子宮頸がん，日本総合検診学会ランチョンセミナー，平成 19.1.
8. 子宮頚癌ゼロへのアプローチ：若い女性で増加する子宮頚癌と HPV ワクチン，近畿産婦人科学会ランチョンセミナー，平成 19.6.
9. 女性の感染症，石川県看護協会研修セミナー，平成 19.7.
10. 若い女性に蔓延する性感染症と増加する子宮頚癌，広島県東部産婦人科医会学術，平成 19.11.
11. 若い女性に増加する子宮頚癌と子宮頚癌ゼロへのアプローチ，富山県産婦人科医会学術講演会，平成 19.12.

一般講演

1．子宮頚部進行癌で増加する血清中のケモカイン，日本産科婦人科学会，平成 18.4
2．ヒトパピローマウイルス(HPV) 感染　の子宮頚部細胞像，日本臨床細胞診学会，平成 18.6.
3．子宮頚癌患者で増加する血清中のケモカイン CXC ケモカイン Interferon-inducible protein-10 (IP-10)，日本分子疫学学会，平成 18.5.
4．Locally secreted cytokines reveals insufficient immune responses in high grade cervical intraepithelial lesions and cervical cancer，国際パピローマウイルス学会，平成 18.9
5．HPV に対する宿主免疫応答，日本ウイルス学会，平成 18.11
6．HPV 感染と子宮頚部異常の population-based study，日本産科婦人科学会，平成 19.4
7．HPV 感染と子宮頚部異常の population-based study，日本疫学・分子疫学共同　がん予防大会，平成 19.7
8．男子大学生の性意識・性行動の実態と性感染症との関連性，日本思春期学会，平成 19.8.
9．ケニア・ナイロビの HIV 多発地域におけるＨＰＶ感染と子宮頚部異常の発生についての検討，日本ウイルス学会　札幌，平成 19.10
１０．フィリピンにおける感染 HPV 型と細胞異常の関連性，日本ウイルス学会　札幌，平成 19.10.
１１．The prevalence of HPV infection and cervical abnormality in a population-based study in Japan，第 24 回国際パピローマウイルス学会　北京，平成 19.11.
１２．Prevalent HPV type and their association with abnormal cervical cytology in the Philippines. 第 24 回国際パピローマウイルス学会　北京，平成 19.11.
１３．男子大学生の性意識・性行動と尿路クラミジア・ＨＰＶ感染の実態. HPV GenoArray Kit を用いた男子尿道炎患者と健常者の尿路 HPV 感染の調査，日本性感染症学会　東京，平成 19.12
１４．自己採取・膣液状細胞診・HPVDNA 検査による子宮頚がん検診の可能性：女子大生を対象とした検討，日本性感染症学会　東京，平成 19.12.

（3）　図書

著書

1．Shimakage M, Harada S, Kawahara K, Oka T, Yanoma S, Horii K, Sasagawa T. Detection of Epstein-Barr virus nuclear antigen leader protein expression in various human cancers. Umar CS. eds. New Development of Epstein-Barr Virus Research, Nova Science Publishers, Inc, New York, 2006.

2. 笹川寿之．女性尖圭コンジローマ．安元慎一郎（編）、STD （性感染症）アトラス，2008.

総説

1．笹川寿之．HPV genotyping と子宮頚癌—HPV genotyping and clinical application for cervical cancer- 化学療法ニュース 15, 1-6, 2006.

2．笹川寿之．ヒトパピローマウイルス(HPV)の診断と治療：特集 性感染症の現状、クリニカル プラクティス 26, 30-35, 2007.

3．笹川寿之．PCR法とSouthern blot hybridization法 今月の主題： ヒト乳頭腫ウイルス(HPV)と子宮頚癌 臨床検査 51, 849-856, 2007.

4．笹川寿之．ヒトパピローマウイルス（ＨＰＶ） 遺伝子診断の実際 感染症 ヒトパピローマウイルス（HPV）臨床検査増刊号：遺伝子検査 51, 1493-1500, 2007.

「研究成果」

ヒトパピローマウイルス(HPV) E4蛋白は、ウイルスの粒子の放出に重要な蛋白で感染した上皮細胞に大量に発現する。本研究では、HPV感染初期病変におけるE4蛋白の発現と免疫応答の関係を調査し、HPVに対する免疫の回避機構を明らかにすることが目的である。

1．HPV genotype の遺伝子分類と発癌リスク

図1．HPV-DNA配列による系統分類

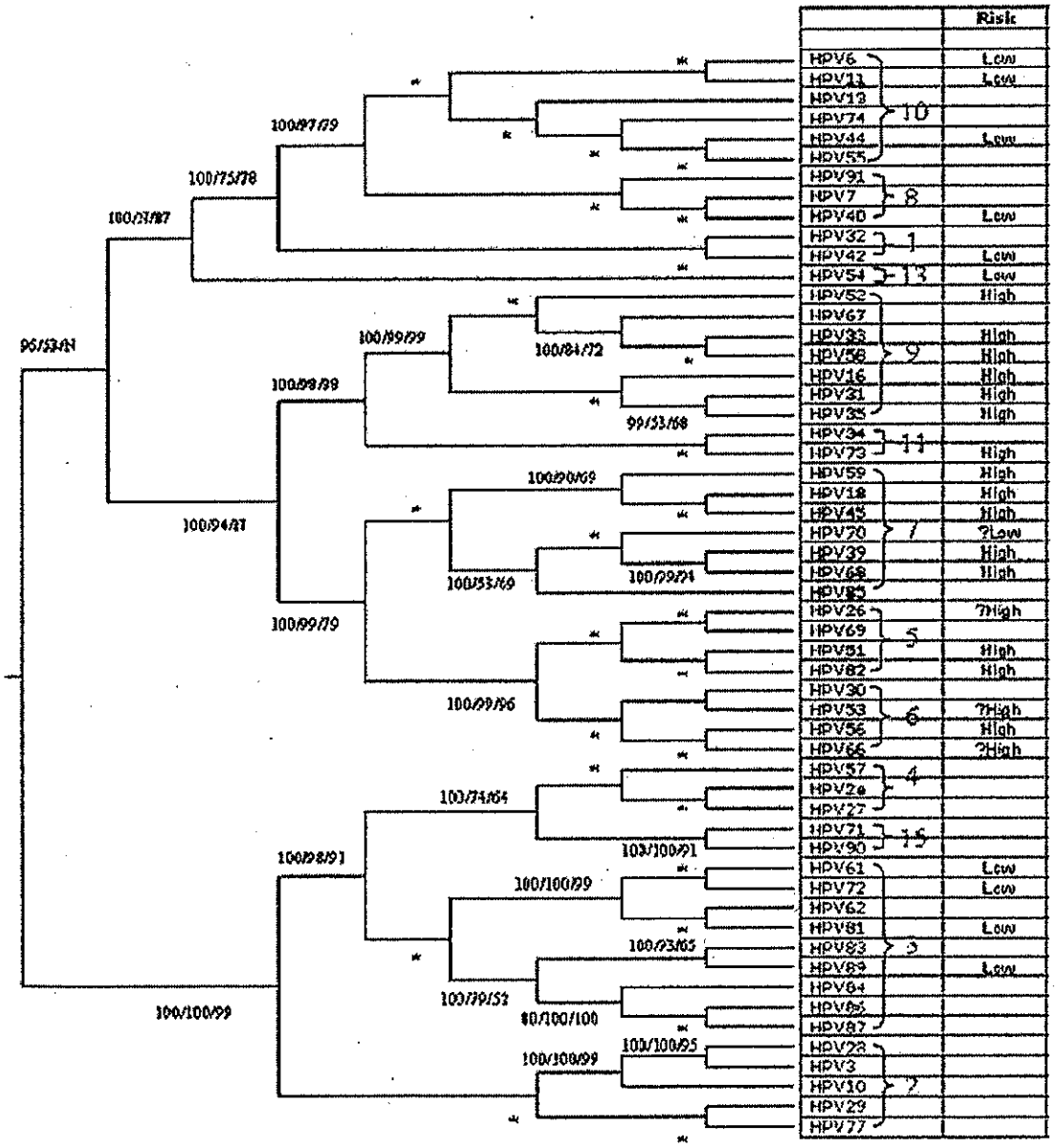


表1．HPVの臨床分類

臨床診断	PCR 法での陽性率	Hybrid capture 法での陽性率	同定される HPV 型
女性外陰部、男性陰茎、陰嚢			
尖圭コンジローマ	100%	100%	HPV6, 11(3)
ボーエン様丘疹	100%	不明	HPV30, 53(6) *HPV16, 18, 31, 35, 39, 45, 51, 52*
ボーエン病	100%	不明	**HPV16, 31, 33, 35, 39, 51, 52, 66*
扁平上皮癌	約 50%	不明	**HPV16, 39*
子宮頚部			
コンジローマ（乳頭腫）	100%	＜数%	HPV6, 11
CIN1 または細胞診クラス 3a	70-80%	70-80%	HPV26, 30, 42, 43, 44, 53, 54, 55, 61, 62, 66, 70, 72 *HPV16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 67, 68, 69, 73, 82*
高度 CIN2, 3 または細胞診クラス 3b, 4	>90%	>90%	*HPV16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 67, 68, 69, 73, 82*
扁平上皮癌 または細胞診クラス5	>90%	>95%	*HPV16, 18, 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 67, 82*
腺癌	60-70%	不明	*HPV16, 18*
小細胞癌	不明	不明	*HPV16, 18*

*: 金沢大学の論文未発表データー

2. HPV genotyping法の比較

表2. 市販の HPV-DNA 検査法

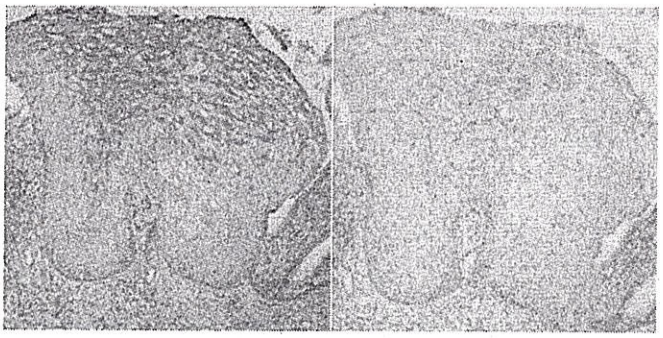
	検出できる型	キット名	販売/検査会社
1.Hybridization 法			
Hybrid capture assay	*HPV16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68*	HPV-DNA 「三菱」HCII (高リスク HPV 型 Hybrid capture-2)	Qiagen/三菱化学メディエンス (東京)
2. PCR 法			
PCR, RFLP 法	*HPV16, 18, 33*	Takara PCR Human papillomavirus detection	タカラバイオ (滋賀)
PCR, RFLP 法	HPV6, 11 *HPV16, 18, 31, 33, 35, 52, 58*	Takara PCR Human papillomavirus typing set	タカラバイオ (滋賀)
3. PCR/ Reverse hybridization 法			
Linear array	HPV6,11,40, 42, 53,54,55,61,62,64 70,71,72,73,81,83,84,IS39,CP6108 *HPV16,18,31,33,35,39,45,5,5256, 59,66,67,68,69,82,*	アンプリコア・リニアアレイ HPV ジェノタイピングキット Linear Array HPV Genotyping Test	ロッシュ・ダイアグノスティック (東京)
Dot array	HPV6, 11, 42, 43, 44, 53,CP8304 *HPV16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68*	Hybrimax/ HPV GenoArray Test Kit	SciTrove (東京)
DNA microarray	HPV6,11,34,40,42,43,44,54,62,72 *HPV16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 67, 68, 69*	DNA chip	フィルジェン (名古屋)
DNA microarray	HPV6,11,30,34,40,42,54,61,53,66 *HPV16,18,31,33,35,39,45,51 52, 56,58,59,68*	DNA microarray	倉敷紡績(大阪) /ジェネティックラボ(北海道)

表3. LCR-E7 PCR, DNA-chip, アンプリコアー・リニアアレー法による HPV-DNA 検出の比較検討

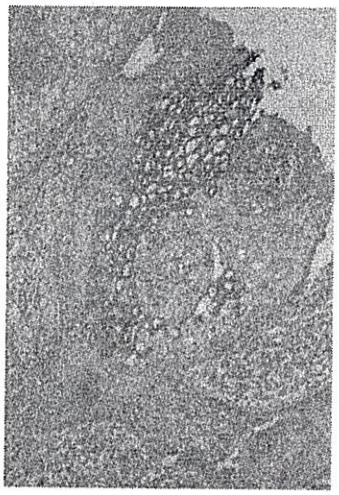
	1	2	3	DNA chip と Amplicore の比較	
DNA-chip と Linear array の結果比較	LCR-E7 PCR で陽性	DNA-chip 陽性	アンプリコア一陽性	いずれか陽性	タイプ一致/不一致率
タイプ完全一致	9	11	11	11	8%
高リスク型完全一致	24	24	24	24	17%
タイプ一部一致	39	44	44	44	31%
タイプ不一致	11	16	16	16	11%
DNA-chip のみ陽性	12	12		12	8%
Amplicore のみ陽性	3		33	33	23%
LCR-E7 のみ陽性	3			3	2%
合計	101	107	128	143	
陽性率	71%	75%	90%	100%	

CIN患者の感染HPVタイプを明らかにするため、LCR-E7 PCR法と市販されている２種類のHPV typing kitを用いた結果を比較検討したところ、3つの方法で、少なくとも一部のタイプだけでも一致したものは56%、他44%は結果に不一致が見られた。キットによりHPVタイプ結果が異なる場合があること、異なるHPVタイプの混合感染が予想以上に多いことが明らかになった。

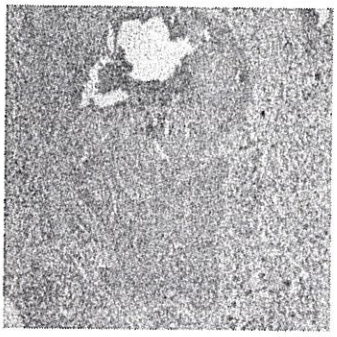
３．　E4蛋白の組織発現



抗HPV16-E4抗体，CIN1　　抗HPV56-E4抗体，CIN1
上皮上層部　強陽性　　陰性



抗HPV16-E4抗体，CIN1
上皮上層部　強陽性



抗HPV16-E4抗体，SCC
がん細胞、弱陽性
間質部の免疫細胞　強陽性

４．HPVE4蛋白の組織での発現パターンの検討

			staining grades				
		numbers	0	1+	2+	3+	%
HPV16+	CIN1	8		2		6	100%
	CIN2-3	6				6	100%
	SCC	4	2	2			50%
HPV56	CIN1	6				6	100%
	CIN2-3	4			4		100%
	SCC	0					
HPV16 with mix							
	CIN1	8			2	6	100%
	CIN2-3	2				2	100%
	SCC	0					
CIN1		22		2	2	18	100%
CIN2,3		12			4	8	100%
SCC		4	2	2			50%

HPV11, 16, 18, 31, 33, 45, 56 型に対する抗 E4 抗体を英国の共同研究者から確保した。HPV タイプの判明している子宮頚癌の前癌病変である頚部上皮内新生物(CIN)における E4 蛋白発現の検討を行ったところ、これまでの報告と同様に CIN の中層から表層部にかけて E4 蛋白の局在が観察された。調べて範囲内では E4 蛋白の発現は多いが、間質にある免疫担当細胞などにも染色されるため、これが単なる交差反応か意義のある所見かどうかについて検討している。今後、HPV 型の判定結果を確定させてから、E4 抗体の HPV 型特異性についての検討を行う予定である。E4 蛋白の免疫染色は HPV 感染の診断に応用できる可能性があり、新しい HPV ワクチンのターゲットとして E4 蛋白が有効である可能性がある。

今後さらに、これらの抗体を用いて型判定が可能かどうかなどの、詳細な検討と、免疫細胞への染色が非特異的なものかどうかについて検討する必要がある。また、細胞診検体における染色の可能性についても検討し、HPV 感染細胞の細胞診断への応用の可能性などを模索する予定である。