

秋田県におけるヒトパピローマウイルス（HPV）検出状況

柴田ちひろ 佐藤寛子 斎藤博之 安部真理子

性感染症を起こす病原体の1つであるヒトパピローマウイルス（HPV）は、子宮頸がんとの関連から発がん性ウイルスとして広く知られている。男性でも一部のがんに HPV の関与が報告されていることから、今回、男性にも着目して秋田県内の HPV 感染状況について調査した。その結果、有効検体 136 検体（男性 73 検体、女性 63 検体）のうち、男性 7 検体（検出率 9.6%）、女性 21 検体（検出率 33.3%）に HPV の感染が確認され、検出された型の大部分はがんとの関連性が高いとされるハイリスク型であった。また、女性陽性者 21 名中 6 名からは同時に異なる 2 つの型が検出されたため重感染が疑われた。今回、男性由来の尿検体からも HPV が検出されたことで、膀胱がん等の尿路系がんにも HPV が関与する可能性が示唆された。

1. はじめに

ヒトパピローマウイルス（HPV）は、男女ともに感染するごくありふれたウイルスで、性行為感染症（STI：Sexually Transmitted Infections）の尖圭コンジローマの原因となる病原体である。その一方で、ハイリスク型と呼ばれる一部の型は発がん性ウイルスとしても知られており、とりわけ子宮頸がんと密接に関連していることが広く認知されている。男性でも陰茎がんの約半数に HPV が関与しているという報告¹⁾があるが、その発生数の少なさから男性における HPV 感染については、女性ほど研究が進んでいないのが現状である。しかし、昨年 12 月から子宮頸がん予防ワクチンが販売されたことで、予防医学の観点からも今後は女性のみならずパートナーである男性の感染状況を知ることも重要になってくると考えられる。そこで今回、秋田県における HPV 感染状況について調査したので報告する。

2. 方法

2.1 対象と検査材料

平成 21 年 6 月～平成 22 年 3 月の泌尿器科受診者 100 名（男性 94 名、女性 6 名）および平成 21 年 6 月～10 月の産婦人科受診者 57 名（全て女性）を対象に調査した。男性 94 名の内訳は、尿路・性器感染症の自覚症状を訴える患者 84 名と STI 相談等で受診した自覚症状のない患者 10 名であった。女性 63 名の内訳は、妊婦検診者 47 名、STI 相談者 11 名、膣炎等患者 5 名であった。文書による同意を得た後、検査材料として泌尿器科

受診者からは尿検体、産婦人科受診者からは子宮スワブ検体を採取した。

2.2 実験方法

2.2.1 DNA の抽出

尿検体は自動核酸精製装置（Roche 社、MagNA Pure LC2.0）により尿 200 μ L から 50 μ L の DNA 濃縮抽出液を得た。子宮スワブ検体は D.W.500 μ L に攪拌混合してウイルスを液中に抽出した後、QIAamp DNA Mini Kit（QIAGEN）を使用して DNA の抽出を行った。

2.2.2 β -globin の検出

尿中には PCR 阻害物質の存在が指摘されていることなどから、尿検体については内部標準物質としてヒトゲノム中に存在する β -globin を primer β -GPCO/ β -GPCPO を用いた PCR 法²⁾にて検出し、陽性となった検体のみを有効検体として以後の検討に用いた。

2.2.3 HPV の検出と型判定

HPV の検出には、primer PGMY09/11 と GP5⁺/6⁺ を用いた nested-PCR 法³⁾（以下 MY/GP 法）及び primer L1C1/L1C2M による PCR 法⁴⁾（以下 LC 法）の 2 法を併用した。PCR 陽性検体はダイレクトシーケンスにて型を決定し、性感染症診断・治療ガイドライン⁵⁾に準じ、リスク分類を行った。

3. 結果

3.1 β -globin の検出

尿検体の PCR の結果、男性は 94 検体中 73 検体、女性は 6 検体全てから β -globin が検出された (表 1)。この結果より本調査における検討対象は、子宮スワブ検体を併せて男性 73 検体、女性 63 検体の計 136 検体とした。

表 1 尿検体の β -globin 検出結果

| | 対象数 | β -globin検出数 (有効検体数) | 検出率(%) |
|----|-----|-------------------------------|--------|
| 男性 | 94 | 73 | 77.7 |
| 女性 | 6 | 6 | 100 |
| 計 | 100 | 79 | 79.0 |

3.2 HPV 検出結果および型別

有効検体 136 検体中男性 7 検体、女性 21 検体の計 28 検体から HPV が検出された (表 2)。一般女性の結果を反映していると考えられる妊婦検診者の陽性率は 19.1%であった。

表 2 HPV 検出結果

| | 有効検体数 | HPV陽性検体数 | 検出率(%) |
|-----------|-------|----------|--------|
| 男性 | 73 | 7 | 9.6 |
| 自覚症状のある患者 | 64 | 7 | 10.9 |
| 自覚症状の無い患者 | 9 | 0 | 0 |
| 女性 | 63 | 21 | 33.3 |
| 妊婦検診者 | 47 | 9 | 19.1 |
| STI相談者 | 11 | 9 | 81.8 |
| 膣炎等患者 | 5 | 3 | 60.0 |

HPV が検出された男性 7 例の結果を表 3 に示す。全ての検体において MY/GP 法のみ陽性で LC 法は陰性であった。型別結果は、ハイリスク型が 5 例、中間リスク型 1 例、ローリスク型が 1 例 (11 型) であった。11 型は 6 型と共に尖圭コンジローマの主な原因型であるが、この陽性者についても尖圭コンジローマの合併がみられた。

次に、HPV が検出された女性 21 例の結果を表 4 に示す。全例において MY/GP 法陽性であり、うち 8 例は LC 法にも陽性であった。型別の結果、両法で陽性であった 8 例中 6 例において MY/GP 法と LC 法とで異なる型が判定された。

4. 考察

4.1 β -globin 検出率結果

重原らが男性尿道炎患者を対象に行った調査では、尿からの β -globin 検出率は 64%であったと報告している⁶⁾。しかし、同時に行った性器擦過検体および遠位部尿道擦過検体からの検出率はそれぞれ 83%、89%であり、尿よりも検体としての有用性は高いとしている。本調査における尿からの β -globin 検出率は 79.0% (79/100) とやや高い結果であったが、これは検体からの DNA 抽出方法の違いによって生じた差であると考えられた。しかし、性器及び遠位部尿道擦過検体の検出率に比較すると劣る結果であったことから、今後このような調査を行うにあたって尿を検体として採用する場合には、DNA 抽出条件等を検討することで、 β -globin の検出率をさらに向上させることが必須であると考えた。

4.2 HPV 検出結果

性行動の活発な若年女性の HPV 検出率は 30~60%と報告されている⁷⁾が、一方で男性は解剖学上、女性と比較して STI の病原体が定着しにくいと言われている。今回の調査においても、HPV 検出率は男性 9.6%、女性 33.3%であり、明らかな性差が確認された。また、STI 調査において一般女性の結果を反映していると考えられる妊婦検診者の HPV 検出率が 19.1%であったのに対して、STI 相談者の検出率は 81.8%と高率であった。

表 3 HPV 男性陽性者の詳細結果

| No. | 年齢 | 主疾患 | MY/GP法 | | LC法 | | 備考 |
|-----|----|--------|----------|-------|----------|------------|----|
| | | | genotype | リスク分類 | genotype | リスク分類 | |
| 1 | 42 | 慢性前立腺炎 | 66 | 中間リスク | — | 尖圭コンジローマ合併 | |
| 2 | 25 | 急性尿道炎 | 58 | ハイリスク | — | | |
| 3 | 37 | 慢性尿道炎 | 11 | ローリスク | — | | |
| 4 | 47 | 急性尿道炎 | 33 | ハイリスク | — | | |
| 5 | 16 | 慢性尿道炎 | 16 | ハイリスク | — | | |
| 6 | 31 | 急性尿道炎 | 52 | ハイリスク | — | | |
| 7 | 51 | 急性尿道炎 | 16 | ハイリスク | — | | |

表 4 HPV 女性陽性者の詳細結果

| No. | 年齢 | 検体種別 | 受診理由 | MY/GP法 | | LC法 | |
|-----|----|-------|-------|----------|-------|----------|-------|
| | | | | genotype | リスク分類 | genotype | リスク分類 |
| 1 | 21 | 子宮スワブ | STI相談 | 66 | 中間リスク | — | |
| 2 | 18 | 子宮スワブ | STI相談 | 59 | ハイリスク | — | |
| 3 | 33 | 子宮スワブ | STI相談 | 16 | ハイリスク | 33 | ハイリスク |
| 4 | 26 | 子宮スワブ | STI相談 | 16 | ハイリスク | 70 | ローリスク |
| 5 | 32 | 子宮スワブ | 妊婦検診 | 52 | ハイリスク | — | |
| 6 | 25 | 子宮スワブ | 妊婦検診 | 52 | ハイリスク | — | |
| 7 | 30 | 子宮スワブ | STI相談 | 45 | ハイリスク | 89 | ローリスク |
| 8 | 32 | 子宮スワブ | 妊婦検診 | 66 | 中間リスク | — | |
| 9 | 29 | 子宮スワブ | 妊婦検診 | 33 | ハイリスク | 51 | ハイリスク |
| 10 | 26 | 子宮スワブ | STI相談 | 58 | ハイリスク | — | |
| 11 | 44 | 子宮スワブ | STI相談 | 16 | ハイリスク | — | |
| 12 | 20 | 子宮スワブ | STI相談 | 18 | ハイリスク | 18 | ハイリスク |
| 13 | 32 | 子宮スワブ | 妊婦検診 | 16 | ハイリスク | 51 | ハイリスク |
| 14 | 26 | 子宮スワブ | 妊婦検診 | 58 | ハイリスク | — | |
| 15 | 37 | 子宮スワブ | 妊婦検診 | 39 | ハイリスク | 39 | ハイリスク |
| 16 | 22 | 子宮スワブ | 妊婦検診 | 58 | ハイリスク | 53 | 中間リスク |
| 17 | 37 | 子宮スワブ | 妊婦検診 | 16 | ハイリスク | — | |
| 18 | 27 | 子宮スワブ | STI相談 | 16 | ハイリスク | — | |
| 19 | 41 | 尿 | 膣炎 | 68 | ハイリスク | — | |
| 20 | 20 | 尿 | 膣炎 | 62 | ローリスク | — | |
| 21 | 42 | 尿 | 膣炎 | 16 | ハイリスク | — | |

このことは、STI 相談者の中に一般女性よりも STI に罹患する危険性が高いとされる性風俗産業従事者 (CSW) が含まれていたためと考えたが、CSW から男性へ、男性から一般女性へという感染経路も推察されることから、今以上に CSW に対する STI 予防の啓発が必須であると考えた。

検出法については、男女の全陽性例において MY/GP 法陽性であったが、そのうち LC 法にも陽性であったのは女性 8 例のみで、検出率に差がみられた。これは MY/GP 法が増幅操作を 2 度行う nested-PCR であるのに対して、LC 法は増幅操作が 1 度のみであることから、増幅効率に差があるためと考えられた。しかし、MY/GP 法と LC 法とでは検出可能な型が異なり、MY/GP 法では検出できない型が LC 法で検出される場合もあることなどから、LC 法の併用は有用と考える。

型別については、男女ともに検出型の大部分がハイリスク型であった。今回の調査では男性の HPV 陽性例が少なかったものの、過去に女性を対象に行われた調査⁸⁾で高頻度に検出された型

が本調査の男性陽性例からも検出されたことから、男性も女性とほぼ同様の型分布傾向にあることが推察された。女性については、MY/GP 法と LC 法とで異なる型が検出された検体が 6 例あった。いずれの結果も DDBJ (DNA Data Bank of Japan) に登録されている塩基配列との相同性が非常に高いことから、これら 6 名については重感染の可能性が強く疑われた。また、女性陽性者 21 名のうち、現在販売されている子宮頸がん予防ワクチンの対応型である 16, 18 型のみが検出されたのは 5 名 (23.8%) であり、重感染疑い 6 名を含むその他の 16 名からはワクチン非対応型が検出された。このことから、本調査対象における子宮頸がん予防ワクチンの HPV 感染症予防効果は 20~25%程度と推察された。しかし、これまでの報告⁸⁾からも、一般女性と子宮頸がん患者とでは検出される HPV の型別頻度が異なることが知られている。さらに、現在他のハイリスク型を含めた多価ワクチンの研究開発が国内外で進んでおり、今後子宮頸がん予防対策におけるワクチンへの期待はさらに高まっていくものと考え

られる。

今回、尿検体から HPV が検出されたことで、外性器のみならず下部尿路にも HPV の感染が疑われた。男性の HPV 関連がんとして知られている陰茎がん以外に、膀胱がん等の尿路系がんについても HPV が関与しているという報告⁹⁾があるが、本調査の結果からも尿路系がんに関与する可能性が示唆された。

近年、子宮頸がん患者の若年化が社会的に憂慮されており、その予防対策として子宮頸がん予防ワクチンによる HPV 感染予防が注目されている。全国各地の自治体でワクチン接種に対する助成制度が始まっており、その普及に向けた取り組みが進んでいる。しかし、HPV 感染症が STI である以上、女性への感染拡大にはパートナーである男性感染者の関与が存在する。男性の HPV 無症候性感染等についての報告^{10,11)}もあるが、その社会的認知の低さから、男性の HPV 感染については女性ほど研究が進んでいないのが現状である。そのため、HPV に関してはこれまで主に女性の問題として取り扱われることが多く、男性でも HPV の感染によりがんを生じる危険性があることはあまり知られていない。男性における HPV の感染実態を明らかにすることは、男性の感染予防やがん対策はもちろんであるが、ひいては女性の子宮頸がん予防対策等にも資するものであることから、今後の研究の進展が強く望まれている。

5. 謝辞

本調査に御協力を賜りました秋田泌尿器科クリニック 能登宏光先生、朝日ヶ丘レディースクリニック 樋口譲治先生、おーくらクリニック 大倉俊弥先生、いけがみレディースクリニック 池上俊哉先生に心から感謝申し上げます。

参考文献

- 1) Miralles-Guri C., Bruni L., Cubilla AL., et al.: Human papillomavirus prevalence and type

distribution in penile carcinoma, *J. Clin. Pathol.*, **62**, 10, 2009, 870-878.

- 2) Morre SA., van Valkengoed IGM., Jong A, et al.: Mailed, Home-Obtained Urine Specimens: a Reliable Screening Approach for Detecting Asymptomatic Chlamydia trachomatis Infections, *J. Clin. Microbiol*, **37**, 4, 1999, 976-980.
- 3) Haws ALF., He Q., Rady PL., et al.: Nested PCR with the PGMY09/11 and GP5+/6+ primers sets improves detection of HPV DNA in carnial samples, *J. Virol. Methods*, **122**, 1, 2004, 87-93.
- 4) Yoshikawa H., Kawana T., Kitagawa K., et al.: Amplification and typing of multiple carnial cancer-associated human papillomavirus DNAs using a single pair of primers, *Int. J. Cancer*, **45**, 5, 1990, 990-992.
- 5) 広瀬崇興, 吉川裕之, 本田まり子: 尖圭コンジローマ, *日本性感染症学会誌*, **19**, 1 suppl., 2008, 67-70.
- 6) 重原一慶, 笹川寿之, 川口昌平, 他: 尿道炎患者における性器部位別の Human Papilloma virus 感染率と細胞診の検討, *日本性感染症学会誌*, **20**, 1, 2009, 185-191.
- 7) 井上正樹: HPV ワクチンの現況, *日産婦誌*, **59**, 9, 2007, 265-271.
- 8) Miura S, Matsumoto K, Oki A, et al.: Do we need a different strategy for HPV screening and vaccination in East Asia?, *Int. J. Cancer*, **119**, 11, 2006, 2713-2715.
- 9) Moonen PM, Bakkers JM, Kiemeny LA, et al.: Human papilloma virus DNA and p53 mutation analysis on bladder washes in relation to clinical outcome of bladder cancer, *Eur. Urol.*, **52**, 2, 2007, 464-468.
- 10) Takahashi S, Takeyama K, Miyamoto S, et al.: Incidence of sexually transmitted infections in asymptomatic healthy young Japanese men, *J. Infect. Chemother.*, **11**, 6, 2005, 270-273.
- 11) Partridge JM, Koutsky LA: Genital human papillomavirus infection in men, *Lancet Infect. Dis.*, **6**, 1, 2006, 21-31