

令和元年6月4日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K11040

研究課題名(和文) 尿路HPV感染率と性器悪性腫瘍とHPVとの関連性についての検討

研究課題名(英文) Relationship between urinary HPV infection and urogenital tumor

研究代表者

重原 一慶 (Kazuyoshi, Shigehara)

金沢大学・附属病院・助教

研究者番号：20595459

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：泌尿器科を受診した患者845例を対象とし尿検体を用いて尿路HPV検出率を調査したところ、HPVおよび高リスク型HPV検出率はそれぞれ6.2%、3.1%であった。尿道炎患者、尿路悪性腫瘍患者においてHPV検出率が高いことが分かった。そこで尿路上皮癌患者に的を絞って膀胱洗浄液を用いてHPV検出率を調査したところ、HPV検出率は9.0%であった。

また、陰茎癌34例を用いてHPV検出率を検討したところ、HR-HPV検出率は35%であり、in situ hybridization (ISH)や免疫染色(IHC)にて、感染したHPVが発癌に関連していたことを確認した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

過去の多くの疫学研究にて男性の主なHPV感染部位は外性器(陰茎、亀頭)であると考えられていた。一方、今回の検討で男性の尿路にもHPV感染が生じていることが分かり、特に尿路性器悪性腫瘍患者においてHPV検出率が高率であることを突き止めた。尿路HPV感染が尿路悪性腫瘍の発症に何らかの影響を与えていることを示唆する結果であり、今後さらなる検討が望まれる。

また、本邦において陰茎癌の約40%はHPV感染が関連していたことも判明した。HPV感染の病原性は女性に限定されたものではなく、今後、本邦においてワクチン接種が再開された場合、諸外国と同様に男性に対する接種も考慮すべきであると思われる。

研究成果の概要(英文)：The first study was conducted to examine HPV prevalence in urine samples as HPV screening of urinary tract in men. HPV and HR-HPV prevalence was 6.3 and 3.1%, respectively, among 845 urine samples from the patients who visited the urological clinic. HPV detection rates were significantly higher in the patients with urethritis or urogenital carcinoma. Therefore, we performed next study to investigate HPV prevalence in bladder wash samples from only patients with urinary bladder carcinoma. HPV detection rate was 9.0% in 67 bladderwash samples.

Second, we investigated the relationship between HPV infection and penile carcinoma. HR-HPV was detected in 35% (12 cases) of penile carcinoma. In addition, in situ hybridization and immunohistochemistry could demonstrate that HPV infection certainly had an etiological role for the development of penile carcinoma.

研究分野：性感染症

キーワード：ヒトパピローマウイルス 性感染症 尿路感染症 陰茎癌 尿路上皮癌

## 1. 研究開始当初の背景

現在、子宮頸癌の原因であるヒトパピローマウイルス (human Papillomavirus; HPV) に対する感染予防ワクチンが世界中で使用されるようになった。それに伴い各分野で HPV 感染に関する研究が進み、近年、子宮頸癌以外の腫瘍 (口腔咽頭癌、咽頭癌、肛門癌、陰茎癌など) の発生と HPV 感染との関連性についても示唆され始め、海外では世界 70 以上で男性への HPV ワクチンの適応が認められている。一方、本邦においては副作用の問題で女性に対する HPV ワクチンの接種が中止されているが、今後はワクチン再開にむけて話が進みつつある。ワクチン接種の再開を目指すためには、女性のみならず男性における HPV 感染および HPV 感染関連腫瘍に関する調査は必要と考えるが、本邦ではほとんど行われていない。

近年の疫学研究で、男性は女性と同等の HPV 感染率を有しており、主な HPV の感染部位は亀頭・陰茎といった外性器であることが分かっている。さらに陰茎癌や中咽頭癌など、男性にも HPV 感染に関連する発癌を認めることが分かってきており、ますます男性に対する HPV ワクチン接種の意義が問われるようになってきた。

## 2. 研究の目的

われわれは、男性において外性器だけでなく、尿路にも HPV 感染が生じていることを報告してきた。尿路の HPV 感染のスクリーニングとしては、尿検体を用いた検査が簡便かつ低侵襲である。我々は、尿検体を用いた HPV 検査法を確立している。そこで、尿検体を用いた大規模な HPV 検査を施行し、尿路 HPV 感染の意義について考察する。とくに尿路上皮癌患者における HPV 感染率と、HPV 感染と尿路悪性腫瘍との関連性について調査する。

また、男性において最も HPV 感染と関連性が指摘されている陰茎癌における HPV 感染との関連性について調査する。今までの報告では、陰茎癌組織における HPV 感染を、PCR 法を用いて調査しているのみであるため、HPV 感染と発癌との関連性を調べるため、様々な生化学的手法を用いて考察を行った。

## 3. 研究の方法

### 1) 尿路 HPV 感染のスクリーニング調査

泌尿器科外来を受診した患者から、文書による同意を取得した後に、尿検体を採取する。尿検体は、初尿 15ml を採取し、遠心後にその沈渣を液状細胞診様保存液 (Liqui-PREP) に保存する。各検体から DNA 採取を行い、Modified GP5+/GP6+ PCR 法にて HPV-DNA の有無について検討する。HPV 陽性検体については、HPV の型判定を行う。HPV の型判定は flow through hybridization を応用した GeneArray Kit を用いて行う。HPV 検出率と患者背景を比較し、尿路 HPV 感染のリスク因子を抽出する。

また、尿路上皮癌患者に限定し、膀胱鏡の際に採取した膀胱洗浄液を用いて、同様に HPV 検出率を検討する。

### 2) 陰茎癌における HPV 感染率調査および発癌との関連性に関する検討

陰茎癌のパラフィン包埋腫瘍切片を収集し、その切片から pinpoint DNA isolation system を用いて、癌組織部から DNA を採取する。各検体において、Modified GP5+/GP6+ PCR 法にて HPV-DNA の有無について検討する。陽性検体については、flow through hybridization 法を用いて HPV の型判定を行う。また、in situ hybridization 法を用いて、HPV 陽性検体において、腫瘍組織内に HPV-DNA が本当に存在しているか否か、HPV-DNA signals を観察する。さらに HPV 感染と発癌との関連性を推定するため、免疫組織化学を用いて HPV 感染の surrogate marker の発現を調査する。

P16-INK4a, mcm-7 は、HPV の発癌蛋白である HPV-E7 の surrogate marker として知られている。それらの発現について調査する。さらに HPV-L1 蛋白は、HPV の episomal infection のマーカーとして知られている。発癌に関連のない、単なる HPV 感染では、HPV-DNA は宿主の DNA に組み込まれることなく (integration されない)、episomal な状況として宿主の細胞核内に存在する。その際、後期蛋白である HPV-L1 が発現することはよく知られている。すなわち integration し発癌段階となった HPV 感染では、HPV-L1 は発現しない。加えて、陰茎癌の予後・悪性度と関連する Ki-67 の発現について調査し、HPV 感染の有無と予後について調査を行う。

## 4. 研究成果

1) 尿路 HPV 感染のスクリーニング調査として、泌尿器科外来を受診した患者 845 例より尿検体を採取した。有効検体 803 例における HPV および高リスク型 HPV 検出率はそれぞれ 6.2%、3.1%であった。男性の尿検体における HPV 検出率に年齢差は認めなかった。疾患別にみると、尿道炎患者における尿路 HPV 検出率が最も高かった (Odd ratio: 4.56, p=0.001)。一方、尿道炎を除く 730 例で検討すると尿路性器癌の患者からの HPV 検出率が有意に高かった (OR=2.844, p=0.040)。これをうけ、尿路上皮癌患者に的を絞って、膀胱洗浄液 67 検体における HPV 検出率を調査した。総 HPV 検出率は 9.0% (6 例) であり HR-HPV 検出率は 6.0% (4 例) であった。

2) 陰茎癌における HPV 感染率の調査では、34 例の陰茎癌組織における HPV 検出率は 41% (14 例) であり、そのうち 12 例 (35%) は high-risk (HR) HPV であった。In situ hybridization (ISH)

を用いて腫瘍組織内の HPV DNA の局在を観察したところ、12 例の HR-HPV 陽性検体すべてで、腫瘍細胞の核内に HPV-DNA シグナルを確認した。さらに HPV-E7 の surrogate marker である p16-INK4a の発現状況を免疫組織化学 (IHC) を用いて調査したところ、HR-HPV 陽性の 8 例 (67%) で発現を認め、HPV 陰性検体に比べて発現頻度は高かった。一方、episomal infection のマーカーである HPV-L1 の発現はすべての症例で認めなかった。これらの結果から日本人陰茎癌患者の 41% から HPV が検出され、ISH および IHC によって得られた結果は、HPV 感染が陰茎癌の発症に関連していた可能性を裏付けた。陰茎癌における HPV 感染の有無と Ki-67 の発現には関連はなく、HPV 感染の有無は陰茎癌の悪性度・予後とは関連は無いものと思われた。

## 5. 主な発表論文等

〔発表論文〕(計 9 件)

1. Sakamoto J, Shigehara K, Nakashima K, et al. Etiological Role of Human Papillomavirus Infection in the Development of Penile Cancer. *Int J Infect Dis.* 2019;78:148-154. 査読有、10.1016/j.ijid.2018.11.003.
2. Nakashima K, Shigehara K, Kitamura T, et al. Risk factors for human papillomavirus detection in urine samples of heterosexual men visiting urological clinics in Japan. *J Infect Chemother.* 2018; 24:713-717. 査読有、10.1016/j.jiac.2018.04.011.
3. Kitamura T, Suzuki M, Koyama Y, Shigehara K. Long-term persistence of human papillomavirus in the skin of the glans penis of elderly men above 80 years of age. *Int J STD AIDS.* 2018;29:552-556. 査読有、doi:110.1177/0956462417742319
4. 坂本次郎, 重原一慶, 中嶋一史, ほか. 経尿道的にホルミウム・ヤグレーザーを用いた治療が奏効した尿道コンジローマの 1 例. *日性感染症学会誌* 2018; 29(1):123-126. 査読有、doi:10.24775/jjsti.29.1.123
5. 坂本 次郎, 重原 一慶, 中嶋 一史, ほか. 陰茎癌における HPV 感染の役割と発癌のメカニズムについての検討. *日本性感染症学会誌* 2017; 28: 85-91. 査読有、<http://sti.b-journal.net/index.html?vol=28&no=2>
6. 北村 唯一, 松峯 寿美, 鈴木 基文, 八重樫 洋, 中嶋一史, 重原 一慶, 溝上 敦. 腔ヒト・パピローマウイルス DNA の採取は自己採取が婦人科医採取より勝っている. *性の健康* 2017; 16: 8-12. 査読有、<https://www.jfshm.org/>
7. 北村 唯一, 松峯 寿美, 鈴木 基文, 八重樫 洋, 中嶋 一史, 重原 一慶, 溝上 敦. 腔ヒト・パピローマウイルス DNA の採取に関して、婦人科医採取と自己採取の検出率の比較. *日本性感染症学会誌* 2017; 28: 61-66. 査読有 <http://sti.b-journal.net/index.html?vol=28&no=1>
8. 北村 唯一, 鈴木 基文, 小山 康弘, 重原 一慶. 【中高年の性】 80 歳以上の男性亀頭皮膚におけるヒト・パピローマウイルス (HPV) の長期存続について. *性の健康* 2017; 16:11-14. 査読有、<https://www.jfshm.org/>
9. 岩本大旭, 重原一慶, ほか: 【皮膚科で診る STI (1) HSV, HPV, HIV 感染症】 (Part3.) HIV 感染症 (case 12) HIV 合併尖圭コンジローマ 巨大尖圭コンジローマの症例. *Visual Dermatology* 2016; 15: 832-83. 査読有 <https://gakken-mesh.jp/journal/detail/9784780903812.html>

〔学会発表〕(計 8 件)

1. 重原一慶, ほか: 男性における尿検体を用いた HPV 検査の意義. 第 31 回日本性感染症学会 (東京) 2018 年 12 月
2. 坂本次郎, 重原一慶, ほか: 陰茎癌における HPV 感染の役割と発癌メカニズムについての検討. 第 31 回日本性感染症学会 (東京) 2018 年 12 月
3. 中川朋美, 重原一慶, ほか: 尿路上皮癌患者の膀胱洗浄液における HPV 検出率の検討. 第 31 回日本性感染症学会 (東京) 2018 年 12 月
4. 重原一慶, ほか: 泌尿器科を受診した男性患者における尿中ヒトパピローマウイルス検出率とその危険因子. 第 30 回日本性感染症学会 (札幌) 2017 年 12 月
5. Shigehara K, et al: Comparative study of HPV prevalence in glans and urine between the patients with prostate cancer and benign prostatic hyperplasia. *Eurogin* 2017 (Amsterdam) 2017 年 10 月.
6. 重原一慶: 特別講演. 男性における HPV 感染症. 第 9 回北九州 STI 研究会 (小倉) 2017 年 9 月
7. 重原一慶, ほか: 男子尿道炎患者における尿道スワブの細胞診 HPV を含む各種病原体感染の影響. 第 29 回日本性感染症学会 (岡山) 2016 年 12 月
8. Shigehara K, et al. Cytological Evaluation in Penile Samples with Human Papillomavirus Infections. *Eurogin* 2016 (Salzburg, Austria), June, 2016

〔図書〕(計2件)

1. 重原一慶. まるごと尿路感染症と性感染症 . 20尖圭コンジローマ . Uro-LO 2017; 22: 93-96.
2. 重原一慶. II 陰茎癌の特徴 陰茎癌の疫学と成因 . 日本臨牀(増刊号:新腎・泌尿器癌 下) 2017; 75: 485 - 489

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

取得状況(計 0件)

〔その他〕

ホームページ等: なし

## 6. 研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名: 北川 育秀

ローマ字氏名: Yasuhide Kitagawa

所属研究機関名: 金沢大学

部局名: 医学系

職名: 協力研究員

研究者番号(8桁): 00452102

研究分担者氏名: 飯島 将司

ローマ字氏名: Masashi Iijima

所属研究機関名: 金沢大学

部局名: 附属病院

職名: 助教

研究者番号(8桁): 70749168

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。