

平成 22 年 2 月 13 日現在

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2008～2009

課題番号：20791151

研究課題名 (和文) 子宮頸がんにおける血漿中 HPV DNA 定量化の臨床的意義に関する研究

研究課題名 (英文) Human papillomavirus DNA in plasma of patients with HPV16 DNA-positive uterine cervical cancer

研究代表者

嶋田 貴子 (SHIMADA TAKAKO)

長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科・助教

研究者番号： 30437876

研究成果の概要 (和文)：子宮頸がんの腫瘍マーカーとして SCC があるが、慢性腎不全患者などの患者では偽陽性を示すことがある。そこで血漿中の HPV DNA を定量し、それが子宮頸がん発症の診断や再発のマーカーとなるか否かについて検討した。

2007 年 4 月から 2008 年 9 月までに当院を受診し、HPV16 陽性の子宮頸部異形成または子宮頸癌 (扁平上皮癌) と診断された 43 名を対象とした。DNA 定量は SYBR Green を用いたリアルタイム PCR で行った。子宮頸管内 HPV DNA の有無はインフォームドコンセントを得た女性に対し Hybrid Capture 法を用いて検査した。本研究は当院倫理委員会の承認を得て行った。

HPV16 陽性子宮頸癌患者 20 例中 6 例 (30.0%) の治療前血漿中から HPV16 DNA を検出することが出来た。臨床進行期分類 (FIGO 分類) の I 期より II 期や IV 期の症例の方が血漿 1ml あたりの HPV16 E6E7 DNA コピー数が多い傾向が認められた。また腫瘍マーカーである SCCA が正常範囲であっても血漿中に HPV16 DNA が検出された例があった。

子宮頸癌が浸潤または壊死をおこすときに DNA が切断されて断片化し、血漿中の HPV DNA の断片として認められるのではないかと考える。術前の SCC 値が陰性の子宮頸癌患者に対して、血漿中の HPV DNA 定量が低侵襲なマーカーとして利用できることが期待できる。

研究成果の概要 (英文)： **Object**： The squamous cell carcinoma antigen (SCCA) is considered the most accurate serologic tumor marker for uterine cervical carcinoma. However, serum SCCA levels were found to correlate significantly with clinical severity of atopic dermatitis and chronic renal failure. The present study was conducted in patients with human papillomavirus (HPV)16 DNA-positive uterine cervical cancer to determine the plasma level of HPV16 DNA and the diagnostic values of plasma HPV DNA in these patients.

Methods： Forty-three HPV16-positive patients with cervical intraepithelial neoplasia (CIN) or uterine cervical SCC were recruited in this study. The diagnosis was cervical cancer in 20 patients, high-grade squamous intraepithelial lesions (HSIL) in 21, low-grade squamous intraepithelial lesions (LSIL) in 1 and negative for intraepithelial lesion or

malignancy (NILM) in 3 patients. Before any treatment, blood samples were collected from all patients. For analysis of HPV DNA in plasma of patients with cervical cancer, qPCR fluorescent assay for HPV16 was performed using HPV16 primers and SYBR Green dye using the LightCycler 480 SW1.5 apparatus.

Results : Plasma HPV16 DNA was detected in only 30.0% of patients with HPV16-positive cervical cancer and in none of normal controls. The copy number of plasma HPV16 DNA was higher in patients with invasive cancer than in those with cervical intraepithelial neoplasia (CIN3), microinvasive cancer and in normal individuals.

Conclusions : These results indicated that plasma HPV DNA level could be potentially used as a marker of low-invasive cervical cancer tumors in patients with normal SCCA levels before treatment

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
20年度	2,000,000	600,000	2,600,000
21年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・産婦人科学

キーワード：婦人科腫瘍学、腫瘍マーカー、子宮頸癌、HPV DNA 定量、SCC

1. 研究開始当初の背景

子宮頸がんの腫瘍マーカーとして SCC があるが、慢性腎不全患者やアトピー性皮膚炎などの患者では偽陽性を示すことがある。

子宮頸癌の発症においては、ヒトパピローマウイルスのもつ E6E7 遺伝子が関与していると考えられているが、血漿中の HPV DNA の定量を行うことで腫瘍マーカーとして利用できるか否かを検討した報告によると文献によって HPV DNA の検出頻度は様々である。同じようにウイルス感染が原因で発症する悪性疾患である鼻咽頭癌においては、癌患者の血漿中には 98%から EBVDNA が検出され、治療

とともに DNA 量が増加すると報告されている。子宮頸癌の患者血漿中における HPV DNA 検出率が文献によって異なるのは、プライマーの設定場所や対象患者の臨床進行期の違いなども原因として考えられる。複数のプライマーを使って血漿中の HPV DNA 量を定量し、子宮頸がんのマーカーとなるか否かについて検討することにした。

2. 研究の目的

子宮頸癌患者血漿中の HPV DNA 量を定量し、臨床的な意義を検討する。

3. 研究の方法

子宮頸管からの分泌物で HPV16DNA 陽性であ

ると判明した子宮頸癌患者または子宮頸部異形成の患者から7mlの血液を採取し、血漿中のDNAを抽出した。SYBR Green Iを利用したPCR定量により血漿1mlあたりに含まれるHPV DNAのコピー数を算出した。

4. 研究成果

HPV16 陽性子宮頸癌患者は当院での子宮頸癌患者全体の約60%を占めていた。

HPV16のE6E7領域を検出するプライマーを使用したPCRでは、HPV16陽性子宮頸癌患者の30%から血漿中にHPV16 E6E7DNAが検出された。DNAのコピー数は子宮頸癌の臨床進行期が進むにつれて増加する傾向が認められた。またプライマーの設定場所を変えることによって、血漿中のHPV DNAの検出頻度やコピー数は変化した。

以上から、子宮頸癌の浸潤や壊死により子宮頸癌患者の血漿中にHPV DNAの断片が流入し、循環していることが考えられた。腫瘍マーカーとして利用されているSCCAが正常範囲であっても血漿中にHPV DNAが認められた例があり、SCCAがマーカーとならない症例において血漿中のHPV DNA定量が腫瘍マーカーとして代用できることが期待されると思われた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 3 件)

(1) Human papillomavirus DNA in plasma of patients with HPV16 DNA-positive uterine cervical cancer

Takako Shimada, Naohiro Yamaguchi, Noriyuki Nishida, Kentaro Yamasaki, Kiyonori Miura, Shigeru Katamine, Hideaki Masuzaki. Japanese Journal of Clinical Oncology 2010 in press

(2) 「性交経験とHPV感染」嶋田貴子、増崎英明 産婦人科の実際 第58巻 第2号

2009年2月1日発行 金原出版株式会社
(3) 「性交未経験者におけるHPVとトリコモナス感染」嶋田貴子 産婦人科治療 99(2)146-148, 2009 永井書店

[学会発表] (計 4 件)

(1) 2009年4月3日～5日 第61回日本産科婦人科学会学術講演会

国立京都国際会館「Squamous cell carcinoma antigen (SCCA)に影響を与える因子について」(ポスター) 嶋田貴子、宮下昌子、谷川輝美、三浦清徳、増崎英明

(2) 2009年7月10日～12日第46回日本婦人科腫瘍学会(新潟朱鷺メッセ)「HPV16陽性子宮頸癌患者における血漿中HPV DNA定量の臨床的意義に関する検討」(講演) 嶋田貴子、山口尚宏、山崎健太郎、三浦清徳、西田教行、片峰茂、増崎英明

(3) 2009年10月20日～24日第59回アメリカ人類遺伝学会(ハワイホノルル)「Human papillomavirus DNA in plasma of patients with HPV16 DNA-positive uterine cervical cancer」Takako Shimada, Naohiro Yamaguchi, Noriyuki Nishida, Kentaro Yamasaki, Kiyonori Miura, Shigeru Katamine, Hideaki Masuzaki. (ポスター)

(4) 2009年10月31日第48回日本臨床細胞学会秋期大会 ランチョンセミナー3 (JAL リゾートシーホークホテル福岡第2会場)「～1000例のHPV検査から見てきたもの～性交経験がない婦人におけるHPV感染」嶋田貴子

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]
○出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者
()

研究者番号：

(2) 研究分担者
()

研究者番号：

(3) 連携研究者
()

研究者番号：