

令和 3 年 6 月 17 日現在

機関番号：34417

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K18655

研究課題名(和文)円錐切除術時に発生するsurgical smokeに含まれるHPVに関する研究

研究課題名(英文)The presence of HPV virus in Surgical Smoke of Cervical conization

研究代表者

久松 洋司 (HISAMATSU, Yoji)

関西医科大学・医学部・講師

研究者番号：20465644

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 600,000円

研究成果の概要(和文)：子宮頸部円錐切除術で発生したサージカルスモーク(SS)内とサージカルマスクを濾過した気体中にHPV DNAの存在が示された。また、SS中のHPVの感染能に関して皮膚表皮角化細胞に処理を施した検体を暴露させHPVの領域の発現を調べたが、ウイルスは微量であり感度が低く感染アッセイの樹立はできず、新規性を与えることは不可能と判断した。そこで、前述のウイルスDNAの定量の為に、HPV 16/18/52/58型のE6領域+ human -globinをクローニングしたDNAスタンダードを作成し、当科での別プロジェクトである子宮頸部病変に対する治療効果判定に応用することを考えている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

サージカルスモークに含まれるウイルスの感染性に関しては医療従事者の産業衛生の分野で懸念はされていたが、特に2020年以降新型コロナウイルスのパンデミックにより、医療従事者内での認知が進んできた印象である。HPV感染により子宮頸部異形成は発生し、その病変を術者の顔面近くで操作する円錐切除術ではスモークの曝露のリスクが高い。HPVの存在証明は先行研究で行われていたが、今回は確立できなかったものの存在のみならず感染性に着目し研究を行った。医療従事者の産業衛生の面でも示唆に富む研究であり、今後の別の研究にも応用可能な検査方法を確立できつつある。

研究成果の概要(英文)：The presence of HPV DNA was shown in the surgical smoke (SS) generated by cervical conization and in the filtered gas of the surgical mask. This result was not published in previous studies at this time. In addition, since there was no previous study on the infectivity of HPV in SS, skin epidermal keratinized cells were exposed to variously treated specimens and the expression of the HPV E1 region was examined, but the amount of virus was very low. Therefore, it was judged that the sensitivity was low and the infection assay could not be established, and it was impossible to give novelty. Therefore, for the above-mentioned quantification of viral DNA, we created a DNA standard in which HPV 16/18/52/58 type E6 region + human -globin was cloned, and for cervical lesions, which is another project in our department. I am thinking of applying it to the judgment of therapeutic effect.

研究分野：産科学婦人科学

キーワード：HPV サージカルスモーク

### 1. 研究開始当初の背景

近年では、様々な手術で鏡視下手術が行われるようになっており、様々な手術デバイスを用いた電気外科手術が主流となっている。婦人科ではヒトパピローマウイルス (Human Papilloma Virus: HPV) 関連疾患であるCINに対して、電気メスを使用した子宮頸部円錐切除術を多く行っている。Surgical smoke(SS)とは、電気メスや超音波凝固切開装置等を用いた電気外科手術の際に発生する煙のことである。SSには発癌性のある微粒子(ベンゼン等)やB型肝炎ウイルス(HBV)等の病原微生物が含まれることが報告されている。HPVは子宮頸部粘膜や膣粘膜に感染するとCINやコンジローマ等を生じるが、咽頭粘膜に感染した場合、咽頭癌等を惹起しうる病原体である。当科の円錐切除術では、術野と術者が約20cmしか離れていない状況で行っており、日常的にSSに曝露しており、その中にHPVが含まれるのかを証明することは重要である。2019年4月にZhouらの研究<sup>1)</sup>により、SS中のHPV-DNAの存在が示された。それによると、条件によっては半数以上の確率でHPVはSS中に存在し、低い確率ながら、術者の鼻腔粘膜からも検出されたということである。この術者がどのような防御策を用いていたか等は明らかではない。しかしObergerらの研究<sup>2)</sup>において、SSの防煙効果はサージカルマスクでは不十分であろうとの見解が得られている。

今回、DNA型が既知のCIN患者に対し円錐切除術を行い、そのSSを得る。同時にサージカルマスク及びN95マスクでフィルタリングした検体も得てHPV-DNAの存在を調査、それモリアルタイムPCRで定量的に評価することで、感染リスクと医療経済的な側面から適切な排煙や防護の方法の考察につなげたいと考えている。

### 2. 研究の目的

子宮頸部異形成(cervical intraepithelial neoplasia: CIN)に対し子宮頸部円錐切除術を予定している患者に対し、術中に電気メスの操作で発生するSurgical smoke(SS)中に、ヒトパピローマウイルス (Human Papilloma Virus: HPV) が存在するかについて検討する。また、検体採取時にサージカルマスク、N95マスクでフィルタリングしたSSも提出し、フィルタリング無しで得た検体も合わせてHPV-DNAの定量PCRを行う。これによりマスクによってSS中のHPV曝露を回避できるかについても検討を行う。

### 3. 研究の方法

関西医科大学附属病院女性診療科に通院中で、CIN2(子宮頸部中等度異形成)を罹患しており、治療として円錐切除術に同意を示し、本研究への参加に当たり十分な説明を受け文書同意が得られた患者を対象とした。

Kwakら<sup>3)</sup>の方法に従って以下(1)~(2)の項目について検体を採取し、(1)に対してはSRL社のプロトコールに則ってHPV型別検査(検査コード25483)を、(2)で得られた各種検体については総合研究施設においてリアルタイムPCRを行う。

(1) CIN2の患者の、円錐切除術術前のHPV-DNA genotype

子宮頸部をブラシで擦過することで採取する。なお、研究開始前に既に検査が行われていた場合についてはこれを割愛し、その検査結果を研究に使用するものとする。

(2) 子宮頸部円錐切除術中に発生したSSをリン酸緩衝生理食塩水(PBS)で懸濁した液

円錐切除術の術野確保には、排煙櫻井式腔鏡R(ナミキ・メディカルインストゥルメンツ製)を使用する。これは吸引回路に接続できる仕様であり、膣内で生じたSSを効率的に排気できる。SSの回収については、図1に示す装置を用いてトラップするものとし、手術室に準備するものとする。Aはリユーザブルフィルターユニットであり、本来であれば、交換可能なフィルターを用いて流体を濾過するデバイスである。フィルターを1.フィルター無し 2.サージカルマスク 3.N95マスクに交換する。したがって、Figure.1の装備を3基準備するものとする。腔鏡からの排気されたSSはAを通過した後、フラスコB内のPBS(3~5mL)中にトラップされる。それを経た排気は中央配管から吸引回路(12.5L/min 15mmHg)に繋がっていく。手術開始から30秒毎に1基ずつ腔鏡からの吸引とフィルター装置との接続を切り替え、各々のフィルターを経由したSSを吸着させたPCBを得る。手術後に各種フィルターをPBS 5mLで懸濁した検体も採取する。

(3) 手術の際に得られた子宮頸部の標本を拭った拭い液または、標本を18ゲージ注射針で穿刺して得られた微細な組織片を採取する。なお、これにより病理学的検査に与える影響は無視できる程度である。

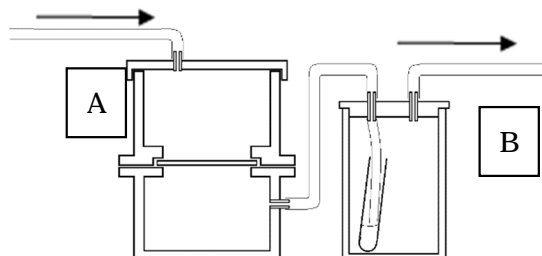


図1

(4) (2)～(3)の検体はフリーザーの-80 下で冷凍保存する。3)の positive control に対して定量的 PCR を行い、既知のウイルス DNA が検出でき次第、引き続き検査を行う。

#### 4 . 研究成果

(1) 円錐切除術時に発生したサージカルスモーク内の HPV の検出 (表 1)

5 名の患者に対して円錐切除術時に子宮頸部からの拭った粘液もしくは上皮 (子宮頸部) から HPV DNA の抽出を行い、手術で発生したサージカルスモーク (SS) からは HPV-DNA の抽出と PCR・定量的 PCR を行った。5 例中 3 例は子宮頸部から HPV-DNA の検出は可能であった。SS からはいずれも HPV-DNA は検出でき、通常の PCR・定量的 PCR とも検出できた。

No.	DNA(ng/ μ L)	PCR	定量的 PCR
1 子宮頸部	Failure		
1 SS	154.2	○	
2 子宮頸部	Failure		
2 SS	322.0	○	
3 子宮頸部	206.6	○	
3 SS	366.9	○	
4 子宮頸部	312.8	×	×
4 SS	93.2	○	
5 子宮頸部	257.4	○	
5 SS	305.3	○	○

表 1

(2) ヒト皮膚角化細胞 HaCaT 細胞に様々な処理を施した検体を暴露させ、HPV E1<sup>4</sup> 領域の発現について調べた。しかし、SS に含まれるウイルスは微量であり、ウイルスの活性を調べるには感度が低く感染アッセイの確立は困難であったため、今後の検討課題である。

#### < 引用文献 >

- 1) Qingfeng Zhou et al. “Human papillomavirus DNA in surgical smoke during cervical loop electrosurgical excision procedures and its impact on the surgeon”. Cancer Management and Research 2019;11 3643–3654
- 2) Oberg T, Brosseau LM. “Surgical mask filter and fit performance”. Am J Infect Control. 2008;36:276–282
- 3) Kwak et al. “Detecting hepatitis B virus in surgical smoke emitted during laparoscopic surgery”. Occup Environ Med 2016; 0 1-7

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------