

腸管粘膜リンパ組織刺激によるヒトパピローマウイルス(HPV)ワクチン

著者	笹川 寿之
著者別表示	Sasagawa Toshiyuki
雑誌名	平成14(2002)年度 科学研究費補助金 基盤研究(C) 研究成果報告書
巻	2001-2002
ページ	9p.
発行年	2003-03
URL	http://doi.org/10.24517/00056997

腸管粘膜リンパ組織刺激による
ヒトパピローマウイルス(HPV)ワクチン

課題番号 1 3 6 7 1 7 0 1

平成13 年度～平成14年度科学研究費補助金
(基盤研究C (2)) 研究成果報告書

平成 1 5 年 3 月

研究代表者
笹川寿之 (金沢大学・医学部)

金沢大学附属図書館



0300-02182-8

は し が き

研究組織

研究代表者 笹川寿之 (金沢大学 医学部 助教授)
研究分担者 井上正樹 (金沢大学 医学部 教授)
研究分担者 島影美鈴 (国立大阪病院 臨床研究部 研究員)
研究分担者 浜祐子 (旭ガラス (株) 中央研究所 主幹研究員)

交付決定額 (配分額) (金額単位：千円)

	直接経費	間接経費	合計
平成13年度	1300		1300
平成14年度	1000		1000
総計	2300		2300

研究発表

(1) 学会誌等の発表

1. 笹川寿之 妊婦の初診時に発見された子宮疾患の取り扱い：膣部コンジローマ 産婦人科の実際 50: 299-306, 2001
2. 笹川寿之、井上正樹 妊娠中感染症の取り扱い：膣部コンジローマ 産婦人科の実際50: 1159-1166. 2001.
3. 笹川寿之 ヒトパピローマウイルス感染症 思春期学・別刷 19: 301-308, 2001
4. 笹川寿之 HPV感染と細胞診 産婦人科の治療85, 27-34, 2002
5. Y. Minemoto, J. Gannon, M. Masutani, H. Nakagama, T. Sasagawa, M. Inoue, Y. Masamune and K. Yamashita. Characterization of Adriamycin-induced G2-Arrest and Its Abrogation by Caffeine in FL-amnion Cells with or without p53. Exp. Cell Res. 262: 37-48, 2001

6. T. Sasagawa, W. Basha, H. Yamazaki, M. Inoue. High-risk and multiple HPV infection associated with cervical abnormalities in Japanese women. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.* 10: 45-52, 2001
7. M. Shimakage, T. Sasagawa. Detection of Epstein-Barr virus-determined nuclear antigen-2 mRNA hybridization. *J. Virological Methods* 93: 23-32, 2001
8. M. Shimakage, T. Sasagawa. Expression of Epstein-Barr virus in cutaneous T-cell Lymphoma mycosis fungoides. *Int J Cancer* 92: 226-231, 2001
9. T. Higashi, T. Sasagawa, M. Inoue, R. Oka, L. Shuangying, K. Saijoh. Overexpression of latent transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) binding protein in association with TGF- β 1 in ovarian carcinoma. *Jpn. J. Cancer Res.* 92: 506-515, 2001
10. R. Oka, T. Sasagawa, I. Ninomiya, K. Miwa, H. Tanii, K. Saijoh. Reduction of the local expression of complement component 6 (C6) and 7 (C7) mRNAs in oesophageal carcinoma. *Euro. J. Cancer* 37: 1158-1165, 2001.
11. H. Yamazaki, T. Sasagawa, W. Basha, T. Segawa, M. Inoue. Hybrid capture-II and LCR-E7 PCR assays for HPV typing in cervical cytological samples. *Int. J. Cancer* 94: 222-227, 2001.
12. Shimakage M, Horii K, Tempaku A, Kakudo K, Shirasaka T, Sasagawa T.
Association of Epstein-Barr virus with oral cancers. *Hum Pathol.* 33(6):608-14, 2002.
13. Sasagawa T, Rose RC, Azar KK, Sakai A, Inoue M. Mucosal immunoglobulin-A and -G responses to oncogenic human papilloma virus capsids. *Int J Cancer.* 2003 Apr 1;104(3):328-35.
14. Qi, B., Qi, Y., Watari, A., Yoshioka, N., Inoue, H., Minemoto, Y., Yamashita, K., Sasagawa, T. and Yutsudo, M. Pro-apoptotic ASY/Nogo-B protein associates with ASYIP. *Journal of Cellular Physiology* in press

15. Yuzuru Minemoto, Sanae Uchida, Motoaki Ohtsubo, Mari Shimura, Toshiyuki Sasagawa, Masato Hirata, Hitoshi Nakagama, Yukihiro Ishizaka and Katsumi Yamashita
Loss of p53 Induces M-Phase Retardation Following G2 DNA Damage Checkpoint Abrogation Arch. Biochem. Biophys. in press

(2) 口頭発表

(特別講演・シンポジウム)

1. 第9回福井悪性腫瘍研究会・6月20日 福井市・特別講演
HPVによる子宮頸癌発生の自然史 笹川寿之

思春期の病、性感染症

泉ヶ丘高校・教育講演会 平成14年7月10日 金沢

2. ヒトパピローマ感染：STDとしての子宮頸部感染から癌発生まで
笹川寿之 北海道性感染症研究会 平成14年7月13日 札幌

3. 若い女性における性感染症—クラミジア、HPV感染
笹川寿之 日本思春期学会・ランチョンセミナー 平成14年8月23日 金沢
(一般口演)

1. 第53回日本産婦人科学会・5月14日 北海道・口演
山崎洋、笹川寿之、井上正樹
高リスク型HPV感染と子宮頸部粘膜免疫

2. 第13回DNA Tumour Viruses and Cell Cycle Regulation in Cancer,
7月27日・ケンブリッジ、英国・口演
HIGH-RISK HPV INFECTION AND SEROLOGICAL RESPONSE IN UTERINE
CERVICES OF JAPANESE WOMEN
T. Sasagawa, R. Rose³, W. Basha², K. K. Azar², M. Inoue¹

3. 第60回日本癌学会・10月28日 東京・口演
高リスク型 HPV-DNA 検査による子宮頸癌スクリーニングの可能性
山崎洋、井上正樹、笹川寿之

4. 第60回日本癌学会・10月28日 東京・口演

子宮頸部粘膜中の高リスク型抗HPV抗体の誘導
笹川寿之、山崎洋、井上正樹

5. 第14回日本性感染症学会12月1日・東京・口演
子宮頸部粘膜中の高リスク型抗HPV抗体測定
の意義
笹川寿之、山崎洋、井上正樹

6. 第14回日本性感染症学会12月1日・東京・口演
高リスク型 HPV-DNA 検査による子宮頸癌スクリー
ニングの可能性山崎洋、井上正樹、笹川寿之

7. ヒトパピローマウイルス感染細胞像の検討
笹川寿之、井上正樹、飯田和質
第18回日本臨床細胞診石川県支部連合会・平成14年2月9日金沢

8. 高リスク型HPV検査による子宮頸癌スクリーニングの有用性の検討
日本がん分子疫学研究会 平成14年5月11日 鹿児島
笹川寿之、K.H. Azar、谷まゆこ、安田英代、井上正樹

9. HPVとクラミジアの子宮頸部感染における細胞学的変化
日本産婦人科感染症研究会 平成14年6月29日 東京
笹川寿之、K.H. Azar、谷まゆこ、安田英代、井上正樹

10. 北陸地方の若い女性における性感染症のリスクファクターの検討—
淋菌、クラミジア、ヒトパピローマウイルスの実態調査—無症候性感染
谷まゆこ、笹川寿之、安田英代、K.H. Azar、井上正樹、佐竹紳一郎、中野隆、
浮田俊彦、深江司、山崎洋 第3回北陸STD研究会 平成14年8月3日 金沢

11. 北陸地方の若い女性における性感染症のリスクファクターの検討—
淋菌、クラミジア、ヒトパピローマウイルスの実態調査—感染の危険因子解析
安田英代、谷まゆこ、笹川寿之、K.H. Azar、井上正樹、佐竹紳一郎、中野隆、
浮田俊彦、深江司、山崎洋 第3回北陸STD研究会 平成14年8月3日 金沢

12. 腸管粘膜刺激によるHPVワクチン
谷まゆこ、安田英代、K.H. Azar、笹川寿之、井上正樹

第10回北陸ウイルス感染症研究会 平成14年9月7日 東京

13. HPV感染による細胞像の検討

笹川寿之、飯田和質、井上正樹

第19回日本臨床細胞診石川県支部連合会・平成14年9月15日 福井

14. 子宮頸部のサイトカイン分泌パターンからみたHPVに対する宿主免疫応答

Kahadijeh, K. Azar, 笹川寿之、安田英代、谷まゆ子、井上正樹

第61回日本癌学会・ワークショップ 平成14年10月1日 東京

15. ORALLY ADMINISTERED YEAST VACCINE FOR HPV16

TANI, M, SASAGAWA, T, ROSE RC, AZAR K, YASUDA, H, INOUE, M.

第20回国際ヒトパピローマウイルス学会・平成14年10月4-9日 パリ

16. DNA CHIP AND LCR-E7 PCR TESTS FOR CERVICAL CANCER SCREENING

SASAGAWA, T, YASUDA, H, TANI, M, Khalili AZAR, K, KIM, JEONG, J, PARK, M, IM, S, INOUE, M

第20回国際ヒトパピローマウイルス学会・平成14年10月4-9日 パリ

17. 北陸地方の若い女性における性感染症のリスクファクターの検討

安田英代、谷まゆ子、笹川寿之、K.H. Azar、井上正樹、佐竹紳一郎、中野隆、浮田俊彦、深江司、山崎洋 第3回日本性感染症学会 平成14年12月3日 福岡

(3) 出版物

成人看護学 病態生理・疾病論(II) 改訂版 24ページ 2003年 印刷中

研究成果による工業所有権の出願・取得状況

HPV感染型の同定、笹川寿之、笹川寿之、特許、2000-140602、出願平成12年5月12日、取得平成13年11月20日

研究目的

子宮頸癌は先進国では減少傾向にあるが、世界の女性の癌の中では2番目に多いといわれ、ヒトパピローマウイルス(HPV)の感染は最も重要な危険因子であることはすでに証明されている。HPVに有効なワクチンの開発によって、子宮頸癌検診を十分に受けられない地域の女性や、検診の対象外となっている若い女性の子宮頸癌の発生を防止できると考えられている。若い女性の性習慣の変化、最近のピル解禁にともない、今後、日本の若年女性におけるHPV感染の増加と頸癌発生率が再上昇化する可能性も否定できない。2000年に行われた、国際ヒトパピローマウイルス学会において、パピローウイルスから産生したHPV16型ウイルス様粒子(VLP)ワクチンのヒト治験によりHPV16型に特異的なIgG型中和抗体が誘導されたと報じられた。また、*in vitro*においてこの中和抗体が、ウイルスの感染を防御することも証明された。しかし、HPVは子宮頸部や膣の粘膜に感染するため、その感染を防御するためには血中に抗体を誘導するだけでは不十分であり、粘膜局所における抗HPV粘膜免疫を誘導する必要がある。最近、粘膜免疫に関する研究が進み、それを誘導するためには、消化管、鼻咽腔、気管支などに存在するlymphoreticular tissueに対するワクチンが重要であり、そこで誘導された免疫活性は、common mucosal immuno system (CMIS)を通じて子宮頸部にも伝播することが明らかとなってきた。

HPVワクチンの開発に関して解決すべき問題点が他にもあり。一つは、子宮頸癌発生に関わっているHPVには日本では約10タイプあり(文献)、これらすべての悪性型HPVワクチンを用意する必要があるのかどうかという疑問。もう一つは、実際の応用に際して、ワクチンの安全性とコストの問題である。パピローウイルスの系では、安全性を考慮すると、そのワクチンとなるHPV-VLP精製にコストがかさむと考えられており、米国のNIHのグループもこの点を憂慮している。

我々は、HPV16型のウイルス外殻蛋白(L1)を酵母に発現させることによってウイルス様粒子(virus-like particles: VLP)を大量に回収できるシステムを開発した。このVLPは、ウイルスと同等の抗原

性を有し、酵母から産生されるため毒性が少ないと考えられ、簡単に培養でき、コスト面でのメリットも大きい。

本研究では、日本の頸癌に最も多いHPV16, 31, 51, 52, 58型VLP、コンジローマに多いHPV6型などすべてのVLPを酵母で作成する。子宮頸部粘膜免疫を誘導するために、腸管の粘膜免疫組織（gut associated lymphoreticular tissue:GALT）を刺激するために、精製したHPV-VLPあるいは酵母そのものを経口投与し有効な免疫が得られるかどうかについて動物実験により検討する。

研究経過、成果の概要

HPV16感染は子宮頸癌を誘発する。したがって、HPV16の感染予防ワクチンの開発が進められている。しかし、HPV16などの癌誘発HPVに感染する若い女性のほとんど（70-90%）は自然治癒するという疫学結果があり、HPV感染予防ワクチンの臨床応用に際して、どのような対象者にHPVワクチンをするのかという問題点がある。しかし、HPV感染防御は、治療法のない現在において、女性の健康にとって重要な

問題でもある。最近、鼻粘膜にHPV16 VLPを免疫することで有効な中和抗体が誘導されることを明らかになった。本研究では、我々が開発したHPV16 VLPを産生する酵母をマウスに食べさせ、食べるワクチンによって有効なHPV抗体が誘導されるかどうか検討した。方法は、2系統のマウス（Balb C, C57BL）を用い、酵母またはHPV6型酵母を食べさせたものを陰性コントロール、精製したHPV16VLPを鼻粘膜

に処置したものを陽性コントロールとした。6匹はHPV16酵母のみ食べさせ、あとの12匹はHPV16酵母とコレラトキシン(CT)（アジュバント）を食べさせた。HPV抗体はHPV-VLPを抗原にしたELISA法で測定した。

その結果、HPV16VLPに反応する血清中IgG抗体は、陰性コントロールは陰性であったが、2匹の陽性コントロール、HPV16酵母のみ処置したマウスの50% (3/6)、HPV16酵母+CTマウスの30%(4/12)に誘導された。陽性例の抗体力価は、陽性コントロールとHPV16酵母処置群との間に差はみられなかった。腔液中の粘液のIgA抗体は HPV16 VLP+CTマウスの17% (2/12)にのみ誘導さ

れた。これらの抗体は、
変性したcapsid抗原には反応しなかったことから、中和能を持つと
考えられた。より有効な免疫法を樹立するため、現在、実験条件を
変えて追加実験中である。