17 In situ hybridization による外陰腫瘍における HPV DNA と後期遺伝子 L1/L2 mRNA 局在の検討

広島大

永井宣隆, 木岡寛雅, 重政和志, 今城雅彦,
勝部泰裕, 藤原 篤

〔目的〕子宮頸癌やその関連病変で高率に検出されるヒトパピローマウィルス (HPV) DNA 局在と後期遺伝子 L1/L2 の mRNA 局在を in situ hybridization (I. S. H.) 法を用いて各種外陰腫瘍において検討し, 外陰における HPV 感染の検索を行なった。

〔方法〕対象は外陰尖圭コンジローマ16例, 増殖性ジストロフィー2例, 硬化性苔癬2例, Bowen 様丘疹症3例, Bowen 病1例, 外陰癌4例とし, パラフィン包埋切片を用い, ビオチン標識の各種 HPV DNA プローブによる I. S. H. 後, ストレプトアビジン標識アルカリフォスファターゼを加え, 基質の NBT と BCIP 下の呈色反応から HPV DNA 局在を観察した。また, 16型 DNA の L1/L2 領域をベクター pSPT18 に組み込み得たビオチン標識の antisense と sense の RNA プローブによる I. S. H. より L1/L2 mRNA 局在も検討した。

〔成績〕尖圭コンジローマは HPV 6 型や 11 型 DNA が主に koilocytosis の核に検出され, その検出率は 16 例中 15 例 (93.8%) であった。Bowen 様丘疹症 3 例中 2 例に HPV 16 型 DNA を, Bowen 病 1 例に 18 型 DNA を, 外陰癌 1 例に 16 型 DNA が検出され, 増殖性ジストロフィー, 硬化性苔癬では HPV DNA は陰性であった。L1/L2 mRNA は 16 型陽性の Bowen 様丘疹症の主に koilocytosis の細胞質と核に検出され, koilocytosis における HPV の capsid 形成が確認された。

〔結論〕I. S. H. による解析から, 外陰腫瘍のとくに Bowen 様丘疹症や Bowen 病に HPV の DNA や L1/L2 mRNA 局在が観察され, 外陰における HPV 感染の形態が確認された。今後, 子宮頸部病変と同様に外陰疾患において HPV DNA の検出が鑑別診断や予後推定の指標に応用されることが示唆された。

18 子宮頸部異形成及び上皮内癌症例における HPV 16 型, 18 型初期遺伝子 E6/E7 mRNA 局在の検討

広島大

木岡寛雅, 永井宣隆, 重政和志, 勝部泰裕,
藤原 篤

〔目的〕子宮頸癌の発生要因の一つとしてヒトパピローマウィルス (HPV) が注目され, 我々も in situ hybridization (I. S. H.) 法を用いて子宮頸部異形成, 上皮内癌を中心に 16 型及び 18 型 DNA 局在を検討し報告してきたが, 今回発癌関連遺伝子と推測される初期遺伝子 E6/E7 に対する mRNA 局在を HPV 16 型, 18 型 DNA 陽性症例について検討した。

〔方法〕子宮頸部異形成〔軽度 16 例, 中等度 27 例, 高度 20 例〕, 上皮内癌 48 例, 微小浸潤癌 10 例を対象にビオチン標識した HPV DNA プローブによる I. S. H. 法より検討した。また 16 型, 18 型の初期遺伝子 E6/E7 領域をベクター pSPT18 に組み込み作製したビオチン標識による antisense と sense の 2 種類の RNA プローブにより, 16 型 DNA 陽性の異形成 16 例, 上皮内癌 23 例と 18 型 DNA 陽性の上皮内癌 7 例について E6/E7 mRNA 局在を検討した。

〔成績〕HPV DNA は koilocytosis や腫瘍細胞の核に検出され, とくに 16 型 DNA 陽性率は異形成の進行とともに増加し, 軽度異形成 3/16 (18.7%), 中等度異形成 12/27 (44.4%), 高度異形成 10/20 (50%), 上皮内癌 24/48 (50%) 微小浸潤癌 4/10 (40%) であった。また E6/E7 mRNA 局在は DNA 陽性の異型細胞や koilocytosis の細胞質にはほぼ均一に検出され, 組織型では中等度異形成以上に E6/E7 mRNA 陽性率は高く, 6 ヶ月以上の経過観察中に上皮内癌が発見された異形成 8 例中 6 例に E6/E7 mRNA を検出し, 異形成病変のみで経過観察中の症例では 8 例中 1 例のみ陽性であった。

〔結論〕HPV 16 型, 18 型 DNA は子宮頸部高度異形成以上に高率に存在し, また E6/E7 mRNA 局在の検討が, 子宮頸部の発癌との関連で意義深い事が示唆された。