

Human Papillomavirus DNA の検出を行った 尿道尖圭コンジローマの1例

横浜赤十字病院泌尿器科 (部長: 石塚榮一)

千葉喜美男, 石塚 榮一, 岩崎 皓, 松崎 純一

DETECTION OF HUMAN PAPILLOMAVIRUS DNA IN CONDYLOMA ACUMINATUM OF THE URETHRA: A CASE REPORT

Kimio Chiba, Eiichi Ishizuka, Akira Iwasaki
and Jun-ichi Matsuzaki

From the Department of Urology, Yokohama Red Cross Hospital

A case in a 35-year-old male with recurrence of the condyloma acuminatum of the urethra is presented and the involvement of human papilloma virus (HPV) with this disease is mentioned. The HPV-DNA in the excised specimen was detected by the dot blot hybridization method with radiolabelled RNA probes, and the type of the DNA was investigated by the Southern blot hybridization method with biotinylated DNA probes, which could detect the HPV-DNA of types 6, 11, 16, 18, 31, 33 and 35.

These analyses demonstrated the HPV-DNA of type 11 and another unidentified type in our case.

From the literature with regard to the etiology of this disease considering the risk of malignancy, we also emphasize the necessity for close observation of the patients with condyloma acuminatum, clinically benign, which contains the so-called malignant type HPV-DNA.

(Acta Urol. Jpn. 39: 957-960, 1993)

Key words: Urethral condyloma acuminatum, Human papillomavirus, Southern blot hybridization, DNA typing

結 言 症 例

Human papilloma virus (HPV) は、子宮頸癌や疣贅状表皮発育異常症 (EV) の患者の腫瘍組織中に高頻度に検出され、発癌に関与するウイルスとして分子生物学的に多くの研究がなされている¹⁻³⁾。しかしながら泌尿器科領域では陰茎癌や、通常の外來診察で比較的多く経験する尖圭コンジローマにおいても腫瘍内に HPV-DNA の検出を試みることは余りなされていないのが現状である。今回われわれは比較的稀な尿道尖圭コンジローマの1例を経験し、腫瘍切除術および電気凝固術を施行した。また腫瘍部より DNA を抽出しドットプロットハイブリダイゼーション法とサザンプロットハイブリダイゼーション法にて HPV-DNA の型を決定することができたので若干の文献的考察を加え報告する。

症例: 35歳, 男性, 独身

主訴: 外尿道口腫瘍

家族歴: 特記すべきことなし

既往歴: 1992年6月外尿道口腫瘍にて腫瘍切除術および電気凝固術を施行されている。

現病歴: 前回の治療後特に維持療法せず経過観察されていたが、1992年9月同じ部位に無痛性の腫瘍を認めた。腫瘍はその後急速に増大し大豆大となったために当科を受診した。

現症: 胸腹部理学的所見に異常なし。鼠径部リンパ節を触知せず。外尿道口より一部角化した、大豆大表面乳頭状の有茎性腫瘍を認めた。腫瘍は外尿道口より約5mmの位置の尿道より発生し、外尿道口より外側に突出していた (Fig. 1)。検査成績血液一般、生

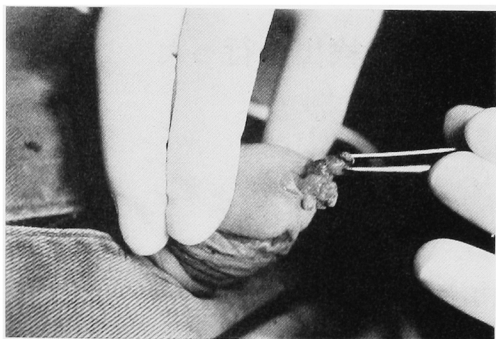


Fig. 1. Gross appearance of the tumor



Fig. 2. Microscopic appearance of the tumor (H&E ×100)

化学検査に異常を認めず、血清梅毒反応は陰性であった。以上より尿道尖圭コンジローマの再発と診断し、1992年10月9日腫瘍切除術および電気メスとTURによる電気凝固術を施行した。外尿道口に突出する腫瘍は茎を残さず切除し根部を電氣的焼灼後、TURにて尿道内を観察し同部位を電気焼灼した。腫瘍の取り残しがないことを確認し手術を終了した。

病理組織所見：切除標本は、肥厚した扁平上皮の増生が著明で、乳頭状に突出した上皮は胞体内に空胞を有しており典型的な尖圭コンジローマの所見であった。またその一部は角化傾向を認めた (Fig. 2)。

HPV-DNA assay HPV-DNA の検出はトーレフジバイオニクス (TFB) 社製のバイラプローブ HPV を用いドットプロットハイブリダイゼーション法により行った。使用した RNA プローブは HPV の 6, 11, 16, 18, 31, 33, 35型の DNA と相補的に結合する RNA に ^{32}P でラベルした混合プローブである。DNA の抽出およびハイブリダイゼーションの概略は以下のとおりである。

1. 標本に proteinase K を含む調整試薬を加え DNA を抽出する。
2. DNA をアルカリ変性させ 1 本鎖とする。

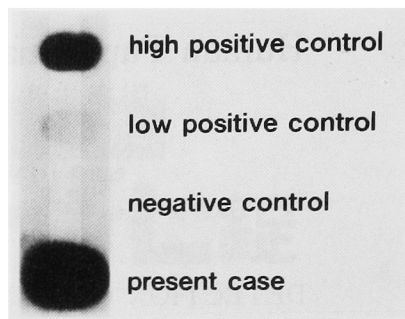


Fig. 3. Autoradiograph of dot blot hybridization with ^{32}P labeled RNA probe, containing HPV type 6, 11, 16, 18, 31, 33 and 35

3. 変性 DNA をナイロン膜に吸着後、紫外線照射にて固定する。
4. ナイロン膜に前記の ^{32}P でラベルした混合プローブを含む hybridization buffer を添加し incubation する。
5. hybridization しなかった probe を RNAase で処理する。
6. autoradiography する。

この結果組織中に HPV DNA を強陽性に認めた (Fig. 3)。

つぎに HPV-DNA の型を判定するために、ビオチンで標識した DNA プローブを使用したサザンブロットハイブリダイゼーションを施行した。サザンブロットハイブリダイゼーション法の概略は以下のとおりである。

1. 標本に proteinase K を含む調整試薬を加え DNA を抽出する。
2. 制限酵素 (Bam HI, Pst I) により DNA を切断する。
3. アガロースゲルに電気泳動する。
4. 泳動した DNA をナイロン膜に転写する。
5. ナイロン膜にビオチンで標識した DNA プローブを含む hybridization buffer を添加し incubation する。
6. ビオチンと親和性の高いストレプトアビジンを添加する。
7. つぎにビオチン化したアルカリフォスファターゼを添加する。
8. 発色基質として nitroblue tetrazolium (NBT) および 5-bromo-4-chloro-3-indolylphosphatase (BCIP) を添加し酵素活性を利用して目的 DNA を検出する。

これにより HPV-11 型と、不明な型のバンドが検出

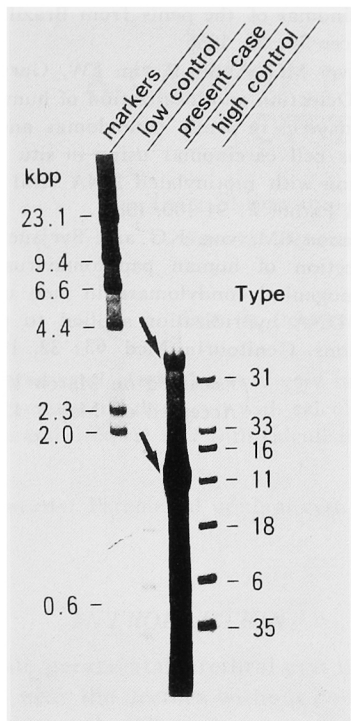


Fig. 4. Detection of HPV types, using Southern blot hybridization with biotinylated DNA probes

された (Fig. 4)。しかしながらこのバンドは、他の型のプローブがこれ以上えられず型判定は不明であった。

現在補助療法せずに経過観察しているが、術後一年を経過し再発は認められない。

考 察

ヒトパピローマウイルスは 8 kb の環状二重鎖 DNA をもつ小型の DNA ウィルスで、現在分子生物学的手技の進歩により 60 種以上のタイプが分離されている⁴⁾。現在 HPV は B 型肝炎ウイルス (HBV) および成人 T 細胞白血病 (ATL) の原因となる HTLV-1 とともにヒトの発癌と関係するウィルスの一つと考えられ臨床的にも重要である。

HPV はその型により悪性腫瘍内に高頻度に発見される型 (悪性型) と良性腫瘍を作る型 (良性型) に分かれる。このうち悪性型は HPV 5, 8, 14, 16, 17, 18, 20, 31, 33, 35, 39, 45, 51 型などで、EV や子宮頸癌中に発見できる。良性型は HPV 6, 11, 30, 34, 40, 42, 43, 44, 57 型などで尖圭コンジローマなどに見られる⁵⁾。泌尿器科領域では悪性型と陰茎癌、良性型と尖圭コンジローマとの関係が知られている。Villa ら⁶⁾は陰茎癌

患者と HPV との関係を検討し、18 例中 7 例 (44%) の摘出標本内に悪性型 HPV DNA を見出している。同様に McCance ら⁷⁾は 53 例中 27 例 (51%) に、また Weaver ら⁸⁾は 9 例中 1 例 (11%) にそれぞれ悪性型 HPV-DNA を見出している。陰茎癌の発生がすべて悪性型 HPV 感染によるかは不明であるが、HPV が陰茎癌発生に大きく関与していることは確かなようである。

これに対して尖圭コンジローマでは HPV 6, 11 型が多く検出されている。しかし Syrjanen ら⁹⁾は尖圭コンジローマ 96 例中 9 例に悪性型 HPV-DNA (HPV-16 6 例, HPV-18 3 例) を検出できたとし、尖圭コンジローマでも悪性型が検出されることを明らかにしている。これらの症例のその後の経過は不明であるが HPV の型から考えると大変興味がある症例である。

現在尖圭コンジローマの発生と陰茎癌の発生に明確な関連は証明されていないが、尖圭コンジローマでも悪性型の HPV が検出されたり、6, 11 型の典型的な良性型が検出されなかった場合は、将来陰茎癌の発生の危険性のある群として慎重に経過観察したほうが良いのではないかと考えている。

また悪性型をもつ尖圭コンジローマの患者の sex partner に子宮頸癌の発生の危険性は高いと考えられ、婦人科学的精査を指示する必要があると思われる。

以上の意味からも尖圭コンジローマや陰茎癌の患者の HPV-DNA の型判定は意義深い検査である。このように今後分子生物学的手技を用いた腫瘍の性質の判定は、治療のみならず、経過観察の方法、予後や予防の面にいたるまで大変重要な情報を与えてくれることになり積極的に行う価値があると考えられる。

今回の症例は HPV-11 型が検出されたが、もう一つのバンドは悪性型であった可能性を否定しきれず、これからも慎重に経過観察をしていくつもりである。

結 語

尿道尖圭コンジローマの 1 例を報告し、腫瘍を分子生物学的に検討することの重要性について論じた。

文 献

- 1) Vousden KH: Human papillomaviruses and cervical carcinoma. *Cancer Cells* 1: 43-50, 1989
- 2) 羽倉 明: パピローマウイルスとがん。癌と治療 15: 2011-2021, 1988
- 3) Yutsudo M, Shimakage T and Hukura A:

- Human papillomavirus type 17 DNA in skin carcinoma tissue of a patient with epidermodysplasia verruciformis. *Virology* **144**: 295-298, 1985
- 4) de Villiers EM: Heterogeneity of the human papillomavirus group. *J Virol* **63**: 4898-4903, 1990
- 5) 羽倉 明, 湯通堂満寿男, 井上寛一: ヒトパピローマウイルスとがん. ヒトのがんウイルス, 吉田光昭編. 初版 pp. 105-106, 東京大学出版会, 東京, 1991
- 6) Villa LL and Lopes A: Human papillomavirus DNA sequences in penile carcinomas in Brazil. *Int J Cancer* **37**: 853, 1986
- 7) McCance DJ, Kalache A, Ashdown K, et al.: Human papillomavirus types 16 and 18 in carcinomas of the penis from Brazil. *Int J Cancer* **37**: 55, 1986
- 8) Weaver MG, Abdul-Karim FW, Gary D, et al.: Detection and localization of human papillomavirus in penile condylomas and squamous cell carcinomas using in situ hybridization with biotinylated DNA viral probes. *Mod Pathol* **2**: 94-100, 1989
- 9) Syrjanen SM, von KG and Syrjanen KJ: Detection of human papillomavirus DNA in anogenital condylomata in men using in situ DNA hybridization applied to paraffin sections. *Genitourin Med* **63**: 32, 1987

(Received on March 15, 1993)

(Accepted on May 12, 1993)