研究速報

子宮頸部病変における HPV DNA の局在

組織および細胞診標本での *in situ* hybridization を用いて日本大学練馬光が丘病院病理科¹⁾, 日本大学医学部第1病理²⁾稲庭 義巳¹⁾ 鈴木 高祐²⁾ 清水 義友²⁾ 本多 章乃²⁾
杉谷 雅彦²⁾ 志方 俊夫²⁾

I. 緒 言

ヒトパピローマウイルス (HPV) は現在 60 種以上のタイプが同定され, その感染により種々の腫瘍を引き起こすことが知られている. とりわけ子宮頸部病変には高率に腫瘍性病変がもたらされ¹⁾, 同一症例内では部位により異形成, 上皮内癌, 浸潤癌などのさまざまな段階の病変を含んでいることが多い. 今回われわれはこれらの病変とウイルス局在との関連を調べるため, 組織標本, 細胞診標本での *in situ* hybridization (ISH) による HPV DNA の検出を試みたので報告する.

II. 対象と方法

日本大学板橋病院で診断された子宮頸部扁平上皮病変で, 浸潤癌 (3, 2), 上皮内癌 (3, 2), 異形成 (5, 4) を対象とした. () 内の数はおの組織標本, 細胞診標本の例数. 組織および細胞診標本は通常の設定および染色を施行した. ISH には, Life Technology 社の Vira type *in situ* hybridization kit と HPV

Detection and distribution of HPV DNA in histological and cytological tissues of uterine cervical lesions using *in situ* hybridization

Yoshimi INANIWA¹⁾, C.T., I.A.C., Koyu SUZUKI²⁾, M.D., Yoshitomo SHIMIZU²⁾, D.D.S., Ayano HONDA²⁾, M.D., Masahiko SUGITANI²⁾, M.D., Toshio SHIKATA²⁾, M.D.

¹⁾Pathology Laboratory of Nerima-Hikarigaoka Hospital

²⁾1st Department of Pathology, Nihon University School of Medicine

論文印刷請求先: ☎ 179 東京都練馬区光が丘 2 の 11 の 1 日本大学医学部練馬光が丘病院病理科 稲庭義巳

平成 4 年 8 月 18 日受付

平成 4 年 12 月 26 日受理

DNA probe を使用した²⁾. ISH の過程は, 切片を蛋白分解処理し, ビオチン標識の 3 種の混合プローブ (HPV DNA 6/11 型, 16/18 型, 31/33/35 型) を用い, 熱処理をした後, 37°C・2 時間のハイブリダイゼーションを行い, 洗浄後アルカリフォスファターゼを発色し検出した. 陽性および陰性コントロールは, 前者のプローブとして kit に付属のヒト DNA, 後者のプローブとしてプラスミッド DNA (pBR 322) を用いた.

III. 結 果

1) 組織標本においては, HPV DNA の陽性シグナルはいずれも核内にみられ, 浸潤癌 2/3 例, 上皮内癌 3/3 例, 異形成 5/5 例に検出された. 正常の上皮には HPV DNA は検出されなかった. HPV DNA の型別判定では, 6/11 型は認められず, 16/18 型か 31/33/35 型であった (表 1). 1 つの型のプローブで陽性になる症例でほかの型のプローブでも微かに陽性になる同一の細胞が認められ, 混合感染よりも型間の cross-hybridization の可能性の方がより考えられた.

2) 組織標本での陽性細胞の分布をみると, 浸潤癌症例では HPV DNA は異形成の部分にのみ認めら

表 1 子宮頸部病変と HPV DNA

	子宮頸部病変								
	浸潤癌			上皮内癌			異形成		
HPV DNA の型*	6	16	31	6	16	31	6	16	31
浸潤癌症例 (3 例)	0	0	0	0	0	0	0	1	1
上皮内癌症例 (3 例)				0	0	1	0	1	2
異形成症例 (5 例)							0	2	3

*6, 16, 31 はそれぞれ HPV DNA 6/11 型, 16/18 型, 31/33/35 型を示す.

写真 1 子宮頸部上皮腫瘍での ISH

- a : 高度異形成部位 (上皮内癌症例) で弱陽性の細胞 (31/33/35 型) が不規則に分布している (×200)
 b : 軽度異形成部位 (高度異形成症例) で、表層細胞とくにコイロサイトに 16/18 型が強く染色されている (×200)

れ、浸潤癌と上皮内癌の部位にはみられなかった。上皮内癌症例では、上皮内癌の部位では 3 例中 1 例で弱陽性であり、異形成の部位では 3 例とも陽性であった。異形成症例では、高度異形成の部位では陽性細胞はシグナルが弱く不規則に分布していたが、軽度異形成になるにつれ強陽性細胞が上皮表層部にみられる傾向があった (写真 1)。

3) 細胞診標本では、8 例中 7 例が脱色、蛋白分解、熱処理などの多くの過程の途中で細胞が剥離し、異形成の 1 例のみが処理過程に耐えてプレパラート上に残り、異形成の細胞の核に陽性シグナルが検出された (写真 2)。

IV. 考 察

子宮頸部上皮の異形成、上皮内癌、浸潤癌において大部分の症例で 16/18 あるいは 31/33/35 型 HPV DNA が証明された。これは従来の報告のように、HPV の感染と子宮頸部病変の発生が密接に関連することを支持している。今回の実験では、浸潤癌や上皮内癌では陽性シグナルがほとんど認められなかったが、異形成部位では高率に認められた。頸癌組織では比較的多くの症例で HPV DNA が組み込み型で存在することが知られ³⁾、したがって HPV DNA が ISH の検出限界以下で存在した可能性が考えられる。一方、異形成では軽度異形成ほどシグナルが強く、また HPV の構造蛋白も高率に検出されること (未発表デ

写真 2 細胞診標本の中高度異形成細胞 (a, パパニコロー染色) とその ISH (b). 核内に 31/33/35 型のシグナルが認められる (×400)

ータ) とあわせて、活発なウイルス増殖を反映しているものと思われる。以上のように子宮頸部病変の違いにより HPV の増殖形態や存在様式が異なることが示唆され、病変の進行との関連に興味ある所見と考えられた。また細胞診標本を用いた今回の実験では次の 2 つのことが示唆される結果となった。

- 1) 組織切片と同様に、ISH が細胞診標本における HPV DNA の局在の検討にも有用であることが示された。
- 2) 細胞診標本の場合は、パパニコロー染色にて異形成の細胞であることを確認した後脱色を行い、ISH を施行するため、組織切片よりも処理過程が多く、細胞とプレパラートとの接着性が特に問題で、少なくとも接着性を高めたプレパラートを用いる必要があるということが示唆された。

文 献

- 1) Durst, M., Gissmann, L., Ikenborg, H., et al. : A papilloma virus DNA from cervical carcinoma and its prevalence in cancer biopsy samples from different geographic regions, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 80 : 3812~3815, 1983.
- 2) 本多章乃, 鈴木高祐, 林仲 信・他 : Bowenoid papulosis と Bowen 病の HPV DNA の検索を含めた比較検討, *病理と臨床*, 9 : 1351~1355, 1991.
- 3) Lehn, H., Villa, L.L., Marziona, F., et al. : Physical state and biological activity of human papillomavirus genomes in pre-cancerous lesions of the female genital tract, *J. Gen. Virol.*, 69 : 187~196, 1988.