尿路性器腫瘍における Human Papillomavirus (HPV) の検討

1) 札幌医科大学泌尿器科学教室 (主任: 熊本悦明教授)

2) 札幌医科大学がん研究所分子生物学部門 (主任: 藤永 恵教授)

3) 札幌医科大学産婦人科学教室 (主任: 橋本正淑教授)

岩澤 晶彦¹⁾ 熊本 悦明¹⁾ 福島 道夫²⁾³⁾ 藤永 恵²⁾

STUDIES OF HUMAN PAPILLOMAVIRUS (HPV) IN UROLOGICAL TUMORS

Akihiko Iwasawa¹⁾, Yoshiaki Kumamoto¹⁾, Michio Fukushima²⁾³⁾ and Kei Fujinaga³⁾

1) Department of Urology, Sapporo Medical College

(Director: Prof. Y. Kumamoto)

2) Department of Molecular Biology, Cancer Research Institute, Sapporo Medical College

(Director: Prof. K. Fujinaga)

3) Department of Obstetrics & Gynecology, Sapporo Medical College

(Director: Prof. M. Hashimoto)

Urological tumors were examined for the presence of human papillomavirus (HPV) DNA by using Southern blot hybridization.

In 20 male patients with condyloma acuminatum, HPV type 6 was found at 85% (17/20), HPV type 11 at 95% (19/20), HPV type 16 at 5% (1/20) and HPV type 18 at 0% (0/20). In 2 female patients with condyloma acuminatum, HPV types 6, 11, 16 and 18 were found at 100% (2/2), 100% (2/2), 50% (1/2) and 0% (0/2), respectively. All 6 of the patients who were positive for HPV type 6, were also positive for HPV type 11. Two patients were positive for HPV types 6, 11 and 16, the last of which was frequently found in penile cancer and uterine cervical cancer.

In 6 patients with penile cancer, two patients were positive for HPV type 16 and negative for HPV types 6, 11 and 18. The remaining 4 patients were negative for all these HPV types. One patient who was positive for HPV type 16 had penile cancer after three previous episodes of penile condyloma acuminatum. From this information, a malignant change in the condyloma acuminatum was assumed to indicate the possible association of HPV type 16 with the process of malignant degeneration.

HPV types, 6, 11, 16 and 18 were not detected in a female patient with vulvar cancer.

Although HPV was thought to participate in the development of urological tumors except for external genital tumors, all patients examined, consisting of 3 with benign prostatic hypertrophy, 5 with prostatic cancer and 24 with bladder cancer, were negative for HPV types 6, 11, 16 and 18. Eight patients with bladder cancer were negative for HPV type 33.

Key words: human papillomavirus, urological tumors, southern blot hybridization

要旨: 尿路性器腫瘍における Human papillomavirus (HPV) DNA の検索を Southern blot hybridization 法を用いて行なった。

男性の尖圭コンジローマ20例における HPV DNA の陽性率は、HPV 6型で85% (17/20)、11型で95% (19/20)、16型で5% (1/20)、18型では0% (0/20) であった。女性の尖圭コンジローマ2例に関しては、HPV 6型で100% (2/2)、11型で100% (2/2)、16型で50% (1/2)、18型では0% (0/2) であった。なお、HPV 6型が陽性である症例は、全例 HPV 11型も陽性であった。また、HPV 6型と11型とともに、陰茎癌や子宮頸癌に検出される16型も陽性であったものが2例認められた。

陰茎癌は、6例中2例に HPV 16型が検出されたものの、HPV 6型と11型および18型は全例陰性であった。HPV 16型が陽性の1症例は、過去に3回陰茎尖圭コンジローマを繰り返した後に陰茎癌が出現

したため、尖圭コンジローマの悪性化が推測され、癌化の過程において HPV 16型の関与が示唆された。

女子外陰癌の1例では、HPV 6型と11型と16型および18型は検出されなかった。

外性器以外の尿路性器腫瘍の発生についても HPV の関与を推測したが、検討した前立腺肥大症3例と前立腺癌5例および膀胱癌24例において、HPV 6型と11型と16型および18型は検出されなかった。なお、膀胱癌の8例について HPV 33型も検索したが、全例陰性であった。

キーワード：ヒトパピローマウイルス、尿路性器腫瘍、サザンブロット法

結 言

Human papillomavirus (以下 HPV と略す) は、尖圭コンジローマなどの疣贅性疾患の病原ウイルスとして知られている。最近、陰茎癌や子宮頸癌や外陰癌などの性器癌にも HPV が存在していると報告¹⁾されていることから、HPV が性器癌の発生に関与している可能性をもつウイルスとして注目されている。

とくに子宮頸癌からは、HPV が高頻度(40~80%)^{1)~3)}に分離されており、その DNA タイプは主に HPV 16型や18型とされ、良性の尖圭コンジローマで検出される HPV 6型や11型はほとんど検出されていない。また、子宮頸癌の性的パートナーに陰茎癌が多く発生しており、その陰茎癌からも HPV 16型や18型が分離されていることから、性器癌の発生には HPV が関与し、それが STD (Sexually transmitted diseases) としての特徴をもつようになっていることが明らかになりつつある。

そこで我々は、STD という観点から尖圭コンジローマならびに陰茎癌における HPV DNA の検出とその亜型の同定を行い、両疾患の関連性について検討した。

さらに、HPV が外性器より尿道内に侵入し、より内部の尿路性器腫瘍の発生に関与する可能性をさぐるため、前立腺肥大症と前立腺癌および膀胱癌についても HPV DNA の検出を試みたのでその成績を報告する。

対象と方法

1. 対象

札幌医科大学泌尿器科およびその関連病院6施設において、1986年1月から1987年11月までに手術ならびに生検で得られた59例の尿路性器腫瘍を対象とした。その内訳は、尖圭コンジローマ22例(男性20例、女性2例)、陰茎癌6例、女子外陰癌1例、前立腺肥大症3例、前立腺癌5例および膀胱癌24例(男性22例、女性2例)である。

2. 実験方法

手術ならびに生検で得られた検体は、病理組織学的に検索した後、ただちに液体窒素で凍結し、-70℃にて保存した。病変組織からの全細胞 DNA の精製は、最初

に試料を細切し、Proteinase K 処理後、Phenol・Chloroform 抽出にて脱タンパク化を行った。つぎに、RNA の除去のため RNase 処理し、Phenol 抽出をした後、Ethanol 沈澱により全細胞 DNA を回収した。この試料を TE 緩衝液 (pH 8.0) に溶解後、DNA の濃度を測定して 4℃ で保存した。

HPV DNA の検出は、Southern blot hybridization 法⁴⁾で行った。全細胞 DNA は制限酵素 (HPV 6型と11型および16型は Bam HI, 18型は Eco RI, 33型は Bgl II) で切断し、1% Agarose gel 電気泳動で各 DNA 断片を分離し、その Gel を Ethidium bromide で染色した。DNA 断片を含む Gel をアルカリ溶液に浸して DNA を1本鎖に変性し、その後中和した。その Gel より Nylon filter に DNA を移し、80℃で2時間、baking した。つぎに、Prehybridization を 6×SSC, 0.1% SDS, 5×Denhart's solution, 1mg/ml salmon testis DNA 溶液中にて、68℃で6時間行なった。そして、同様の組成の溶液中に³²P 標識 HPV DNA Probe を添加し、hybridization を 68℃で16時間で行ない、その後 Nylon filter を 2×SSC と 0.1% SDS にて室温で2回、さらに 0.1×SSC と 0.1% SDS にて 55℃で2回洗浄した (Tm-20℃の stringent condition)。最後に、Nylon filter を自然乾燥させた後、Autoradiography を行なった。なお、陽性は sensitivity が DNA 0.2 copy/cell 以上のものとした。

また、HPV 陽性例の DNA copy 数を Densitometer を用いて測定した。Probe には、HPV 6型、11型、16型、18型および33型 DNA を用いた。

結 果

1) 尖圭コンジローマ (Table 1, 図)

男性20例における HPV 陽性率は、95% (19/20) で、その DNA タイプは HPV 6型で 85% (17/20)、11型で 95% (19/20)、16型で 5% (1/20)、18型で 0% (0/20) であった。女性2例における HPV 陽性率は、100% (2/2) で、その DNA タイプは HPV 6型で 100% (2/2)、11型で 50% (1/2)、16型で 50% (1/2)、18型で 0% (0/2) であった。全症例における陽性率は 95% (21/22)

Table 1 Result of HPV DNA hybridization with DNA extracted from Condyloma acuminatum

No.	Name	Age	Sex	HPV-6	HPV-11	HPV-16	HPV-18
1	T. K.	33	♂	+	+	+	-
2	S. H.	24	♂	+	+	-	-
3	J. N.	45	♂	+	+	-	-
4	K. A.	19	♂	+	+	-	-
5	T. Y.	24	♂	+	+	-	-
6	K. S.	21	♂	+	+	-	-
7	S. T.	41	♂	+	+	-	-
8	Y. D.	28	♂	+	+	-	-
9	H. S.	19	♂	+	+	-	-
10	K. A.	24	♂	+	+	-	-
11	K. S.	30	♂	+	+	-	-
12	T. T.	30	♂	+	+	-	-
13	M. T.	29	♂	+	+	-	-
14	T. S.	28	♂	+	+	-	-
15	Y. K.	41	♂	+	+	-	-
16	S. H.	20	♂	+	+	-	-
17	A. N.	26	♂	+	+	-	-
18	M. M.	19	♂	-	+	-	-
19	I. S.	27	♂	-	+	-	-
20	Y. I.	49	♂	-	-	-	-
positive rate of male cases				17/20 (43) 85%	19/20 (14) 95%	1/20 (2) 5%	0/20 (0) 0%
1	A. Y.	21	♀	+	+	+	-
2	K. S.	38	♀	+	+	-	-
positive rate of female cases				2/ 2 (12.5) 100%	2/ 2 (20) 100%	1/ 2 (0.5) 50%	0/ 2 (0) 0%
positive rate of total cases				19/22 (39.7) 86%	21/22 (14.8) 95%	2/22 (1.25) 9%	0/22 (0) 0%

() : HPV DNA copy/cell

で、その内訳は6型が86% (19/22)、11型が95% (21/22)、16型が9% (2/22)、18型が0% (0/22)であった。なお、HPV 6型が陽性である症例は、全例 HPV 11型も陽性であった。また、HPV 6型と11型とともに16型も陽性であったものが、男女とも各1例ずつ認められた。

HPV 陽性例について、DNA コピー数の平均を DNA タイプ別で比較すると、6型が39.7 copy/cell で、11型が14.8 copy/cell であるのに対して、16型は1.25 copy/cell と低かった。

2) 陰茎癌 (Table 2)

6 例中 2 例に0.5および5copy/cell の HPV 16型の存在を認めたが、HPV 6型と11型および18型は全例陰性であった。なお、HPV 16型が陽性の1症例(No. 1)は、興味ある臨床経過をもっている。すなわち1974年に2回、1975年に1回、亀頭から冠溝溝、包皮にわ

たる尖圭コンジローマの経歴を繰り返している。そして、11年後の1986年に包皮に潰瘍が出現し、次第に増大したため、1987年に病理組織学的検索を行なった。その結果、扁平上皮癌であることが確認されたものの、尖圭コンジローマの所見は認められなかった。

3) 女子外陰癌

大陰唇に発生した扁平上皮癌の1例において、HPV 6型と11型と16型および18型はすべて陰性であった。

4) 前立腺肥大症・前立腺癌

外性器癌の発生に關与するウイルスが男子の尿道に侵入して、前立腺に何らかの關与がある可能性も考えて HPV の検索をした。前立腺肥大症3例と前立腺癌5例において、HPV 6型と11型と16型および18型は陰性であった。なお、前立腺癌5例の病理組織所見は、全例腺癌であった。

5) 膀胱癌

図 尖圭コンジローマにおける Southern blot hybridization (Tm -20℃の stringent condition). Lane P1と P5は positive control を示し、各々1 copy/cell, 5 copy/cell である. Probe は³²P-labeled HPV 6型, 11型, 16型を使用した. 左側の lane より症例番号 No.2, No.4, No.9は HPV 6型陽性, つぎの No.9, No.16, No. 17は HPV 11型陽性, 右端の No.1は HPV 16型陽性を示す.

Table 2 Result of HPV DNA hybridization with DNA extracted from Penile cancer

No.	Name	Age	HPV-6	HPV-11	HPV-16	HPV-18
1	S. S.	60	—	—	+(5.0)	—
2	K. D.	68	—	—	+(0.5)	—
3	S. K.	48	—	—	—	—
4	K. O.	86	—	—	—	—
5	S. S.	77	—	—	—	—
6	M. S.	58	—	—	—	—
Positive rate			0/6 0%	0/6 0%	2/6(2.75) 33%	0/6 0%

() : HPV DNA copy/cell

HPV がさらに深く尿路に侵入し、膀胱癌の発生にも関与している可能性も考慮して、膀胱癌24例（男性22例，女性2例）について HPV の検索を行なった。扁平上皮癌2例（男性1例，女性1例）において，HPV 6型と11型と16型と18型および33型はすべて陰性であった。移行上皮癌22例（男性22例，女性1例）においても HPV 6型と11型と16型および18型は陰性で，またそのうち6例（男性6例）について HPV 33型の検索を行なったが，陰性であった。

考 察

HPV は疣贅性病変に検出されるパポウイルス科の A 群に属する DNA ウィルスで，そのウィルス粒子は正20面体構造を呈し，直径50～55nm の小型ウィルスである。HPV DNA は約8,000の塩基対（8kbp）か

らなる二本鎖環状で，その分子量は約 5.0×10^6 ダルトンである⁵⁾。ところで，HPV はウィルスの増培養細胞系や実験動物が確立されておらず，HPV の研究は他のウィルスに比べてかなり遅れていた。

しかし，最近ウィルス DNA のクローニングの技術の進歩にともない，HPV でも DNA レベルの研究が進展している。HPV は従来一種類と考えられていたが，HPV DNA の類似性と制限酵素による切断パターンの違いから現在では60種類以上のタイプが存在することが知られている。なお，HPV のタイプは DNA の塩基配列の相同性の程度によって決められ，50%以下は別のタイプとする取り決めになっている⁶⁾。

興味深いことには，HPV DNA のタイプは各疾患別に調べられており，疾患の種類により検出される HPV のタイプが異なる⁷⁾(Table 3)。また，一部のタイプの HPV は陰茎癌，子宮頸癌，外陰癌やある種の皮膚癌から検出されることが知られており，HPV は単に疣贅疾患の病原ウィルスにとどまらず，ヒトの癌発生に関与するウィルスとして注目されている。

とくに，子宮頸癌における HPV の研究はかなり詳細になされてきている。子宮頸癌のゲノムに組みこまれた HPV 16型 DNA は，その全領域が組みこまれているのではなく，多くの場合後期遺伝子である L1, L2 の部分が欠損し，E1, E2の一部も欠損していることが多い。常時存在する領域は，初期遺伝子の E6, E7 の領域であることから，癌化に関与する領域は E6, E7 であ

Table 3 Genital HPV types and associated lesions⁷⁾

HPV type	Associated lesion
6	Condyloma acuminata CIN VIN
11	Condyloma acuminata
16	Penile ca. Cervical ca. Vulvar ca. Bowenoid papulosis CIN VIN
18	Penile ca. Cervical ca.
31	Cervical ca. CIN
33, 34, 35	Cervical ca. CIN Bowenoid papulosis

CIN : Cervical intraepithelial neoplasia
VIN : Vulvar intraepithelial neoplasia

る可能性が報告されている⁸⁾。また、HPV 16型 DNA をマウス NIH3T3細胞に transfect することにより、malignant transformation に成功し、HPV 16型 DNA が細胞を transform する活性を有することが明らかになった⁹⁾。以上の成績から、HPV 16型 DNA 上に発癌過程に重要な役割を果たす遺伝子情報の存在を示唆されるようになってきている。

尖圭コンジローマは、HPV を病原ウイルスとする疣贅疾患の一種であり、主に男女の外性器に好発し、性的接触により伝染する STD とされている。尖圭コンジローマの HPV DNA の陽性率は約90%で、その陽性例の約75%は HPV 6 型、残りの約25%は HPV 11型であると報告されている¹⁰⁾¹¹⁾。今回、我々が検討した22例の尖圭コンジローマの HPV 陽性率は、95% (21/22) と高率であった。また、HPV 6 型と HPV 11 型が同時に認められたものは86% (19/22) と多く、混合感染の可能性をも示唆する成績といえる。

尖圭コンジローマを有する男性をパートナーにもつ女性は、尖圭コンジローマおよび CIN (cervical intraepithelial neoplasia) になる可能性が高く、またパートナー間では同じタイプの HPV DNA が高頻度で出現している¹²⁾¹³⁾。尖圭コンジローマの患者に接した場合には、そのパートナーの内外性器を調べ、HPV に起因するような病変に注意を払う必要がある。

古くから尖圭コンジローマが悪性化して陰茎癌や子宮頸癌や外陰癌になるという報告がある。現在、尖圭コンジローマの悪性化に関して最も注目されているのは子宮頸癌との関係である。Schneider¹²⁾は子宮頸部のコンジローマ、CIN の症例のうち HPV 6/11型が陽性の12人の病変が進行しなかったが、HPV 16/18型が陽性の24人のうち5人が進行して4～16カ月後に car-

cinoma in situ になったと報告している。また、子宮頸部の flat condyloma のうち HPV 16型が証明される症例では、AMFs (abnormal mitotic figures) という特異的な mitosis を示す細胞がみられ、このような flat condyloma は子宮頸癌の前癌段階になるのではないかという報告がある¹⁴⁾。子宮頸癌の発生および進行は、おもに HPV 16型および18型の感染により子宮頸部の flat condyloma から CIN、さらに CIS に、そして invasive cancer になることが推測されており¹⁵⁾、HPV 16型と18型は子宮頸癌と密接な関わりあいがあるものと考えられている。自験女性例の尖圭コンジローマの場合、2例中1例に HPV 6 型と11型とともに、子宮頸癌に検出される HPV 16型が検出されたことは、今後 high risk 患者として厳重な経過観察が必要と思われる。

一方、陰茎尖圭コンジローマの場合、10年間にわたる尖圭コンジローマの再発、摘除を繰り返した結果、陰茎癌と確定診断された症例¹⁶⁾や巨大尖圭コンジローマに併発した扁平上皮癌から HPV 18型を検出した症例¹⁷⁾が報告されている。自験男子例の尖圭コンジローマにおいて、20例中1例(5%)に HPV 6 型と11型とともに、陰茎癌で検出される HPV 16型も認めたことは興味深い所見と考えている。

陰茎癌は日本やヨーロッパでは珍しく、南アメリカやアフリカに多く発生しており、地域性、人種性の違いにより発生頻度が異なる。ブラジルの陰茎癌53例を対象に HPV DNA の検索を行った報告¹⁸⁾では、HPV 16型陽性が26例 (49.1%)、HPV 18型陽性が5例 (9.4%) の結果であった。また、ブラジルでの他の報告¹⁹⁾では陰茎癌18例中、HPV 11型陽性が1例 (5.6%)、HPV 16型陽性が0例 (0%)、HPV 18型陽性が7例 (38.8%) であった。ドイツでの陰茎癌の HPV の検索¹⁾では、25例中1例 (4%) に HPV 16型が検出されている。自験例では、陰茎癌6例中2例 (33%) が HPV 16型陽性を示し、その DNA コピー数は5および0.5 copy/cell であった。その HPV 16型が陽性の1症例は、過去に3回陰茎尖圭コンジローマを繰り返し罹患しており、10年以上も経過して陰茎癌に悪性化したきわめて興味深い症例といえる。以上より、HPV 16型の陰茎癌への関与が推測され、また陰茎癌と陰茎尖圭コンジローマにともに HPV 16型が検出されたことより両者の関連性が示唆されたものと思われる。

臨床的に陰茎癌と鑑別が難しいものに、巨大尖圭コ

ンジローマ (Buschke-Löwenstein tumor) がある。つまり、巨大尖圭コンジローマは病理組織学的には良性を呈するが、深部への増殖が著明で陰茎海面体への圧迫、破壊で包皮を穿孔し外部へむけて増殖するなど臨床的に陰茎癌と酷似しており、Davies²⁰⁾は100例の陰茎癌を病理組織学的に再検討したところ、24例も巨大尖圭コンジローマであったと報告している。また、病理組織学的に診断された巨大尖圭コンジローマ24例のうち、術前の臨床診断が陰茎癌であったものが8例認めた報告もある²¹⁾。巨大尖圭コンジローマが長い臨床経過をとるうちに悪性化したという報告¹⁶⁾より、尖圭コンジローマから巨大尖圭コンジローマ、さらに陰茎癌へと悪性化することが推測され、子宮頸癌において flat condyloma から CIN、さらに invasive cancer となる過程をたどる場合と同様、HPV が関与する可能性も示唆されている。

陰茎癌と子宮頸癌において、HPV 感染は STD としての意義が推定されている。すなわち、疫学的に陰茎癌の男性をパートナーにもつ女性に子宮頸癌の発生率が高頻度であるという報告²²⁾や、陰茎癌で死亡した男性のパートナーの死因を retrospective に調査した結果、子宮頸癌の発生率が高いという報告²³⁾がある。一方、子宮頸部病変 (flat condyloma, CIN) を有する婦人をパートナーにもつ男性に、尖圭コンジローマや PIN (penile intraepithelial neoplasia) が高率に発生するという報告²⁴⁾がある。つまり、flat condyloma のパートナーの41%に尖圭コンジローマ、1.4%に PIN が見い出され、CIN のパートナーの5.4%に尖圭コンジローマ、33%に PIN が認められている。以上の成績より、陰茎癌と子宮頸癌とのあいだには何か共通因子を有し、それを介在して発生しているのではないかと推測されており、その共通因子のひとつに HPV が候補としてあげられているのが現状である。

女子外陰癌には、主に HPV 16型と18型が検出されているものの²⁵⁾、陰茎癌との関連性については子宮頸癌に比べ明らかにされていない。自験外陰癌の1例は、大陰唇に発生した扁平上皮癌の症例であるが、HPV 6型、11型、16型、18型は検出されなかった。

ところで、子宮頸癌や女子外陰癌に検出される HPV はいかなる感染経路をたどるのがきわめて重要な検討課題となってくる。Conen ら²⁶⁾は健康な男性の陰茎の冠状溝と亀頭のスメア標本の細胞 DNA から5.8%に HPV を検出し、また Ostrow ら²⁷⁾は精液中にも HPV を検出している。以上より、HPV は性的接

触により性的パートナーに移行する可能性を示唆するものと考えている。

そこで、精液中に HPV が存在しているという報告を考慮すると、HPV が男子の尿道に侵入して前立腺に到達し、前立腺肥大症ならびに前立腺癌の発生に何らかの関与をする可能性もあるものと考えた。しかし、今回の検討では、前立腺肥大症3例と前立腺癌5例において HPV 6型、11型、16型、18型は検出されなかった。

つぎに、尿道から侵入した HPV がさらに深く尿路に入り膀胱内に到達し、膀胱癌の発生にも関与する可能性も考慮した。しかし、検討し得た膀胱癌24例 (扁平上皮癌2例、移行上皮癌22例) には、HPV は検出されなかった。今回の検索では、外陰癌、前立腺肥大症、前立腺癌および膀胱癌からは HPV の存在を証明しえなかったが、HPV とそれら腫瘍の発生との関連性について完全に否定されるか否かは、今後さらに多数例での検討が必要と思われる。

結 語

尿路性器腫瘍における HPV DNA の存在の有無とその亜型の同定を Southern blot hybridization 法を用いて検討した結果、以下の成績が得られた。

1) 尖圭コンジローマ22例における HPV の陽性例は、21例 (96%) と高率であった。その HPV DNA タイプは、6型および11型陽性が17例で、11型のみ陽性が2例であった。また、HPV 6型および11型とともに癌ウイルスといわれる16型も同時に認めたものが2例あったことは興味深い所見であった。

2) 陰茎癌は、6例中2例 (33%) に HPV 16型が検出された。そのうちの1症例は過去に3回陰茎尖圭コンジローマを繰り返しており、尖圭コンジローマの悪性化が示唆され、癌化の過程において HPV 16型が関与したのではないかと推測された。

3) 女子外陰癌、前立腺肥大症、前立腺癌および膀胱癌には HPV は検出されなかった。

文 献

- 1) Dürst, M., Gissmann, L., Ikenberg, H. and zur Hausen, H.: A papillomavirus DNA from a cervical carcinoma and its prevalence in cancer biopsy samples from different geographic regions. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 80, 3812-3815, 1983.
- 2) Yoshikawa, H., Matsukira, T., Yamamoto, E., Kawana, T., Mizuno, M. and Yoshiike, K.: Occurrence of human papillomavirus types 16 and

- 18 DNA in cervical carcinomas from Japan: Age of patients and histological type of carcinomas. *Jpn. J. Cancer Res.*, 76, 667—671, 1985.
- 3) Fukushima, M., Okagaki, T., Twiggs, L.B., Clark, B.A., Zachow, K.R., Ostrow, R.S. and Faras, A.J.: Histological types of carcinoma of the uterine cervix and the detectability of human papillomavirus DNA. *Cancer Res.*, 45, 3252—3255, 1985.
- 4) Southern, E.M.: Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis. *J. Mol. Biol.*, 98, 503—517, 1975.
- 5) Gissmann, L. and zur Hausen, H.: Human papilloma virus DNA: Physical mapping and genetic heterogeneity. *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S.A.*, 73, 1310—1313, 1976.
- 6) Coggin, J.R. and zur Hausen, H.: Workshop on papillomaviruses and cancer. *Cancer Res.*, 39, 545—546, 1979.
- 7) McCance, D.J.: Human papillomaviruses and cancer. *Biochimica. et Biophysica. Acta*, 823, 195—205, 1986.
- 8) 角川曜子, 寺田昭雄: ヒトがんウイルス, 癌と化学療法, 13, 3376—3383, 1986.
- 9) Takebe, N., Tsunokawa, Y., Nozawa, S., Terada, M. and Sugimura, T.: Conservation of E6 and E7 regions of human papillomavirus types 16 and 18 present in cervical cancers. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 143, 837—844, 1987.
- 10) Gissman, L., Villiers, E.-M. and zur Hausen, H.: Analysis of human genital warts (condylomata acuminata) and other genital tumors for human papillomavirus type 6 DNA. *Int. J. Cancer*, 29, 143—146, 1982.
- 11) 川名 尚: 特集, パピローマウイルス, 産婦の実際, 34, 602—611, 1985.
- 12) Schneider, A., Sawada, E., Gissmann, L. and Shah, K.: Human papillomaviruses in women with a history of abnormal papanicolaou smears and in their male partners. *Obstet. Gynecol.*, 69, 554—562, 1987.
- 13) Campion, M.J., Singer, A., Clarkson, P.K. and McCance, D.J.: Increased risk of cervical neoplasia in consorts of men with penile condylomata acuminata. *Lancet*, i, 943—946, 1985.
- 14) Crum, C.P., Ikenberg, H., Richart, R.M. and Gissman, L.: Human papillomavirus type 16 and early cervical neoplasia. *New Eng. J. Med.*, 310, 880—883, 1984.
- 15) 湯通堂満寿男: ヒトパピローマウイルスとヒトの腫瘍性疾患. 病理と臨床, 3, 1175—1180, 1985.
- 16) 金藤博行, 石井延久, 藤岡知昭, 千葉隆一: 悪性像を示した giant condyloma の2例. 泌尿紀要, 30, 49—54, 1984.
- 17) 望月 篤, 田代和也, 小寺重行, 清田 浩, 後藤博一, 町田豊平: 悪性化を認める巨大尖圭コンジロームについて. 臨泌, 40, 153—156, 1986.
- 18) McCance, D.J., Kalache, A., Ashdown, K., Andrade, L., Menezes, F., Smith, P. and Doll, R.: Human papillomavirus types 16 and 18 in carcinomas of the penis from Brazil. *Int. J. Cancer*, 37, 55—59, 1986.
- 19) Villa, L.L. and Lopes, A.: Human papillomavirus DNA sequences in penile carcinomas in Brazil. *Int. J. Cancer*, 37, 853—855, 1986.
- 20) Davies, S.W.: Giant condyloma acuminata: Incidence among cases diagnosed as carcinoma of the penis. *J. Clin. Path.*, 18, 142—149, 1965.
- 21) Ananthakrishnan, N., Ravindran, R., Veliath, A.J. and Parkash, S.: Loewenstein-Buschke tumor of penis—A carcinomimic. *Brit. J. Urol.*, 53, 460—465, 1981.
- 22) Graham, S., Priore, R., Graham, M., Browne, R., Burnett, W. and West, D.: Genital cancer in wives of penile cancer patients. *Cancer*, 44, 1870—1874, 1979.
- 23) Smith, P.G., Kinlen, L.J., White, G.C., Adelstein, A.M. and Fox, A.J.: Mortality of wives of men dying with cancer of the penis. *Br. J. Cancer*, 41, 422—428, 1980.
- 24) Barrasso, R., Brux, J.D., Croissant, O. and Orth, G.: High prevalence of papillomavirus-associated penile intraepithelial neoplasia in sexual partners of women with cervical intraepithelial neoplasia. *N. Engl. J. Med.*, 317, 916—923, 1987.
- 25) Gupta, J., Pilotti, S., Shah, K.V., Palo, G.D. and Rilke, F.: Human papillomavirus-associated early vulvar neoplasia investigated by in situ hybridization. *Am. J. Surg. Pathol.*, 11, 430—434, 1987.
- 26) Conen, E.-I.G., Meinhof, W., Villiers, E.-M. and Gissman, L.: Occurrence of HPV genomes in penile smears of healthy men. *Arch. Dermatol. Res.*, 279, S73—S75, 1987.
- 27) Ostrow, R.S., Zachow, K.R., Niimura, M., Okagaki, T., Muller, S., Bender, M. and Faras, A.J.: Detection of papillomavirus DNA in human semen. *Science*, 231, 731—733, 1986.

(1990年8月9日受理, 特別掲載)