(1)

主論文

ウイルス性疣贅におけるinvolucrinおよびfilaggrinの免疫組織化学的局在の検討

新潟大学医学部皮膚科学教室（主任：佐藤良夫教授）竹重量子

Involucrin and filaggrin expressions in viral warts: an immunohistochemical study

Masuko TAKESHIGE

Department of Dermatology, Niigata University School of Medicine, Niigata, Japan
(Director: Prof. Yoshio SATO)

Involucrin and filaggrin are known to be cytologic markers for epidermal differentiation. Their expressions in the normal skin and various types of viral warts were examined using an immunoperoxidase technique. As controls seborrheic keratosis and Bowen's disease were also examined. Two different staining patterns for involucrin were observed in viral warts; verruca vulgaris, verruca plana and condyloma acuminatum showed a homogenous staining pattern, whereas bowenoid papulosis, inclusion warts and epidermodysplasia verruciformis showed a mosaic staining pattern. It was noticeable that the involucrin expression of Bowen's disease was very similar to that of bowenoid papulosis, and that seborrheic keratosis showed a very different pattern from those of viral warts. Filaggrin staining was positive in the granular cell layer and the lower part of keratinized layers in viral warts as well as in the normal epidermis, and the pattern and intensity of staining for filaggrin were the same in both. In conclusion, although filaggrin expression does not seem to be affected in viral warts, involucrin expression is changed to some distinct patterns according to the types of viral warts. The patterns seem to be related to the proliferation activities of the affected epidermis of the viral warts.

key words: Involucrin, Filaggrin, Viral warts, Immunohistchemistry
インボルクリン，フィラグリン，ウイルス性疣贅，免疫組織化学

Reprint request to: Masuko TAKESHIGE, Department of Dermatology, Niigata University School of Medicine, Niigata City, 951, JAPAN.

別刷請求先：〒951 新潟市旭町通1番町　新潟大学医学部皮膚科学教室
竹重量子

要旨

ウイルス性疣贅の角化様式を明らかにするために抗involucrin抗体と抗filaggrin抗体の免疫組織化学法を行った。正常表皮，脂漏性角化症とボーエン病を対照とした。involucrinの分布は，疣贅の各型で2つのパターンを示した。すなわち，尋常性疣贅，扁平疣贅と尖圭コンジローム の過形成表皮の細胞質内に均一に染色される所見と封入体疣贅，疣贅状表皮発育異常症とbowenoid papulosisにみられるモザイク様染色所見である。特にbowenoid papulosisのモザイク様染色はボーエン病のそれに類似していた。また，脂漏性角化症は疣贅各型とは異なる染色性を示した。filaggrinは疣贅各型とも，正常表皮，脂漏性角化症，ボーエン病と同様の分布および染色性で，顆粒層および一部角層に出現した。以上より，involucrinとfilaggrinはいずれも角化のマーカーであるが，特にinvolucrinの発現は，ウイルス性疣贅の各病型別にみら

れる角化異常に応じた変化を示すと言える。その変化は表皮細胞の増殖傾向と関連があると思われた。

緒　　言

表皮細胞が分化および角化する過程には，種々の細胞学的変化が起こっている。例えば顆粒層におけるケラトヒアリン顆粒の形成や角層における周辺帯の形成は，ケラチン線維の凝集とともに，その代表例と言える。

filaggrinは角質細胞の細胞質中に存在する塩基性基質蛋白で[1]，顆粒細胞中でprofilaggrinとして合成される。profilaggrinはケラトヒアリン顆粒の主要成分の一つで，角化後filaggrinとなり，さらにアミノ酸まで分解される[2)3)]。また，involucrinは，角層細胞の細胞膜の内面に形成される周辺帯成分の前駆物質であり，有棘細胞中で合成される。すなわち，この物質は，表皮細胞中のγ-transglutaminaseの作用によりε-(γ-glutamyl)lysine結合を作り重合して，不溶性のポリマーを形成し，周辺帯をつくる可溶性蛋白である[4)5)]。両者とも近年，その生化学的性状や組織内の局在が検討され，角化のマ

ーカーとして重要となっている。

ヒトのウイルス性疣贅はhuman papillomavirus(HPV)が表皮に感染して発症する表皮の増殖性病変であるが，近年，HPVが疣贅以外の一部の良性ないし悪性上皮性腫瘍に存在することが報告され[6]，疣贅と腫瘍との関連が問題となっている。疣贅はHPV感染によりケラチノサイトがtransformationを起こし，増殖傾向を示した状態とも言えるが，無制限な増大や浸潤，あるいは転移を示すことはない。今回，ウイルス性疣贅における表皮細胞の分化の状態を明らかにするために，抗involucrin抗体と抗filaggrin抗体による酵素免疫化学法を用いて，疣贅の各臨床型を検討した。対照として，正常表皮，脂漏性角化症およびボーエン病を同様に比較検討した。

材料と方法

1．被検材料：ウイルス性疣贅54例。臨床型別には，尋常性疣贅15例，指状・糸状疣贅5例，足底疣贅12例（うち封入体疣贅8例）

，扁平疣贅10例，尖圭コンジローム7例，bowenoid papulosis3例および疣贅状表皮発育異常症1例であった。対照としては，正常皮膚17例（顔面5例，陰部4例，下腿2例，足底6例），ボーエン病7例と脂漏性角化症9例であった。それぞれの生検組織を2分割し，一方を10%ホルマリン液で，他方をカルノワ固定液で固定した。ホルマリン固定標本およびカルノワ固定標本は，パラフィン包埋し，薄切後，キシレンおよびアルコールで脱パラフィン後，酵素免疫組織化学法により染色を行った。

2．使用した抗体：Dakopatts社（U.S.A.）のrabit-anti-bovin papilloma virus type 1 poly-clonal antibody(B580)（以下HPV-PoABと略），Biomedical Technologies Inc.社（U.S.A.）のinvolucrin immuno-kitのanti-involucrin polyclonal antibody（以下involucrin-PoABと略）および同社のanti-human filaggrin monoclonal antibody（以

下filaggrin-MoABと略）を用いた。

3．方法：脱パラフィン切片をavidin-biotin-peroxidase complex(ABC)法で染色した。

1)抗involucrin抗体による染色：ホルマリン固定材料の切片を0.3%H_2O_2加メタノールで内因性ペルオキシダーゼを阻止し，5%正常ヤギ血清加PBSで15分間室温で処理し，一次抗体としてinvolucrin-PoABを4℃で一晩反応させた。二次抗体にはビオチン化抗ウサギIgG(Vector社，U.S.A.)を用い，室温で30分，さらにABC(Vector社）を室温で40分反応させ，発色にDABE(SIGMA社，U.S.A.)を用いた。また，一次抗体として抗involuclin抗体の代わりに非免疫ウサギ血清を反応させたものをnegative controlとした。

2)抗filaggrin抗体による染色：カルノワ固定材料の切片を5%正常ウマ血清で処理後，一次抗体にfilaggrin-MoABを，二次抗体にビオチン化抗マウスIgG(Vector社）を使用し，抗

involucrin抗体による染色と同様の手順で反応，発色させた。negative controlとして，抗filaggrin抗体の代わりに非免疫マウス血清を反応させた。

3）抗HPV抗体による染色：HPV-PoABを用い，ABC法により，ウイルス抗原の検索を行った。

4）ヘマトキシリン・エオジン染色：酵素免疫組織化学法を行い，検索した全ての組織切片を観察後，ヘマトキシリン・エオジン染色し，陽性所見と病理組織像を比較検討した。

5）involucrin陽性範囲の定量化：抗involucrin抗体染色標本のうち，正常表皮では解剖学的部位別に，疣贅では均一の染色性を示す尋常性疣贅，足底疣贅，扁平疣贅，尖圭コンジロームを，脂漏性角化症では角化型を選んで，その陽性の程度を比較した。すなわち，各標本内の無作為に選んだ表皮living layer（基底細胞層～顆粒層）の面積とその中に存在する陽性部分の面積の割合を測定した。標

本の光顕像を光学顕微鏡とテレビカメラを用い，CRT ディスプレイ上に投影した。投影された組織像の表皮部分を任意に選択し，そのliving layerと陽性部分の輪郭をデジタイザー（Graphtec Corp.，東京）によりコンピューターに入力し，二次元画像解析システムCOSMOZONE 1S（Nikon，東京）を用いて，それらの面積比を求めた。結果の検討にはt検定を用いた。

結　　果

1.　抗HPV 抗体による検討

ウイルス性疣贅各型および ボーエン病と脂漏性角化症の抗HPV 抗体陽性率を表1に示す。ウイルス性疣贅の中では尖圭コンジローム が28.5%と最も低率で，足底疣贅（封入体疣贅を含む）と疣贅状表皮発育異常症が100%を示し，その他は40% ～ 66.7% であった。ボーエン病，脂漏性角化症および正常表皮はすべて陰性であった（表1）。

2.　抗involucrin抗体による検討

a）正常表皮の染色性：顔面頬部，陰部，下腿，足底の解剖学的部位別に比較し，頬部，陰部と下腿ではinvolucrinは有棘層上層～顆粒層に分布するが，足底では有棘層中層～顆粒層に均一に出現し，角層の一部にも不規則にみられた（図１）。

b）ウイルス性疣贅各型の染色性：Involucrin染色のパターンから，ウイルス性疣贅の各型は二つのグループに大別された。尋常性疣贅，足底疣贅，扁平疣贅，尖圭コンジロームでは，表皮の肥厚に伴って表皮の中下層から上層の細胞質に均一性に陽性で，病変部周囲の正常部と比較すると染色濃度が薄い。基底層は陰性，角層では一部の過角化，錯角化部に不規則に陽性部分が見られた（図２A，B）。一方，封入体疣贅，bowenoid papulosisと疣贅状表皮発育異常症の癜風様皮疹では有棘層内で個々の細胞の染色濃度が異なり，それが混在して一見モザイク様に見える組織像が特徴的であった（図３）。封入体疣贅の増殖表皮

は空胞化した大型の核を持つ細胞，大型の核を持ち細胞質内に好酸性封入体を容れている細胞，大きなケラトヒアリン顆粒を胞体内に持つ細胞などから成るが，involucrin染色では強陽性，弱陽性，陰性の細胞が混在してモザイク様を呈していた。後染色として，ヘマトキシリン・エオジン染色を行い，対比したところ細胞質内封入体はInvolucrin陰性であった。角化の亢進した角層部は錯角化部およびその周囲で不規則に陽性を示した（図3A，A'）。疣贅状表皮発育異常症の癜風様皮疹では有棘層中層から顆粒層にかけて陽性で，いわゆる澄明変性細胞の胞体は弱陽性，細胞質が空胞化した細胞は陰性を示し，全体としてモザイク様を呈した（図3B）。bowenoid papulosisも肥厚した表皮の中層から上層に陽性を示すが，個々の陽性細胞の染色の強さが異なり，それが無秩序に配列して全体としてモザイク様を呈した（図4A）。

c）ボーエン病の染色性：基底層を除く，増殖

した表皮のほぼ全層にわたって，Involucrin染色弱～強陽性の細胞が孤立性または胞巣状に散在し，モザイク様を呈した。特に異常角化細胞は孤立性に強陽性を示し，角化傾向を示す胞巣では不均一に強～弱陽性であった（図4B）。ボーエン病のモザイク様所見は，bowenoid papulosisのそれと類似するが，封入体疣贅や疣贅状表皮発育異常症にみられたモザイク様染色所見とは違いが認められた。すなわち，前者では，強陽性，弱陽性の細胞と陰性を示す細胞が全く不規則に隣接し，モザイク様に局在するのに対し，後者では表皮有棘層の深層にも強陽性細胞が存在し，その間に陰性の空胞細胞や陰性～弱陽性の封入体含有細胞や澄明変性細胞が連続性に存在していた。

d）脂漏性角化症の染色性：脂漏性角化症の組織型分類[7]によれば，検索した9例中3例が角化型，2例が表皮肥厚型，2例が腺様型，2例が被刺激型であった。基底細胞の増殖が

優位である表皮肥厚型や腺様型では，表皮の上層および角層の一部にのみInvolucrin染色陽性所見が見られた。角化型や被刺激型では，偽性角質嚢胞の嚢胞壁とその周囲の細胞および角質の一部が陽性を示し，散在する角化傾向を示す胞巣や角質真珠も均一に陽性を示した（図2C，D）。全般的に疣贅に比較して，染色範囲が縮小していた。以上の結果を表2にまとめる。

e）involucrin染色陽性範囲の比較：living layerに占めるinvolucrin陽性範囲の面積の割合を二次元画像解析装置を用いて測定した結果を表3に示す。面積比は正常では，頬部，陰部および下腿の表皮間でほぼ同程度であり，有意差はないが，足底表皮の面積比は他部位と比較し有意に大であった（$p<0.01$）。疣贅各型は正常表皮より陽性面積比が大きい傾向を示し，例えば正常足底では55.3±7.9%（n=10）であるのに対し，足底疣贅では79.2±10.3%（n=7），また正常陰部では28.7±5.5%

（n=10）であるのに対し，尖圭コンジローマでは68.9±11.3%（n=7）であった（いずれも $p<0.01$）。尋常性疣贅，足底疣贅，扁平疣贅，尖圭コンジローマの疣贅各型間では，面積比に有意差はみられなかったが，脂漏性角化症（角化型）は疣贅各型より有意に面積比が小であった（$p<0.01$）。

3．抗filaggrin抗体による検討：正常では，頬部および下腿表皮の菲薄な顆粒層が顆粒状にfilaggrin染色陽性を示し，足底では厚い顆粒層部の細胞質が顆粒状に，角質下層が均質性に弱陽性を示した。陰部の顆粒層部が殆ど無い粘膜側では陰性，角層の存在する側では顆粒細胞に一致して陽性であった（図5）。

ウイルス性疣贅各型では，各型とも基本的には顆粒層に顆粒状に，つまりケラトヒアリン顆粒の出現に一致して陽性所見を示した。尋常性疣贅，足底疣贅等の過角化が著明な組織では，角層の一部に不規則な陽性部分が認められたが，他の型では角層は陰性を示した

（図６A，B）。封入体疣贅の腫瘤部では，顆粒状，線状，均質性に染まる陽性部分が，不規則に配列して存在した（図６C，C'）。ヘマトキシリン・エオジン染色との比較では，細胞質内封入体は陰性であった。疣贅状表皮発育異常症の癜風様皮疹では顆粒層および澄明変性細胞内の粗大ケラトヒアリン顆粒に一致して陽性であった（図６E）。

ボーエン病，脂漏性角化症でもfilaggrinは顆粒層部に顆粒状に陽性を示した。過角化の伴う脂漏性角化症の角化型や被刺激型の組織では，角層の一部に陽性を認めた。以上の結果を表４にまとめた。

考　　按

Riceら[4)8)]は，抗involucrin抗体による蛍光抗体法で正常表皮を検討し，有棘層中上層ではその細胞質と，角層では細胞膜上に強く反応すると報告している。一方，同じ抗体を用いたPAP法では角層は陰性を示し，有棘層の上1/3に陽性[9)]，あるいは有棘層上部25%に

陽性[10]と報告されている。しかし，いずれの報告においても検索した正常表皮の解剖学的部位が統一されていない。今回のinvolucrin染色の結果では，正常表皮においても足底とその他の部位では陽性反応の範囲，染色性に明らかな違いが認められた。このことは異常表皮をinvolucrin染色で検索する上で，解剖学的部位を考慮する必要があることを示している。

Murphyら[9]は種々の疾患を，PAP法によるinvolucrin染色を用いて検索し，正常表皮，各種の角化症，良性腫瘍では均一に細胞質が染色されるのに対して，有棘細胞癌（ボーエン病を含む）ではpatchyに染色され，基底細胞上皮腫，invasiveな有棘細胞癌では陰性を示すと報告した。Saidら[11]は有棘細胞癌と基底細胞上皮腫について検索し，Smollerら[12]はケラトアカントーマと有棘細胞癌を比較して，その染色性の違いから表皮の腫瘍化（悪性化）の組織学的鑑別に有用であると報告し

ている。さらに，三上ら[13]は有棘細胞癌の悪性度とinvolucrinの染色性について検討し，角化傾向を示す細胞では種々の程度に強陽性を示すパッチワーク状を呈し，異型性を示す細胞および紡錘形細胞は弱陽性もしくは陰性を呈するとしている。また，involucrin染色の陽性率が各悪性度で有意に異なると報告している。その他，付属器腫瘍[14]，種々の角化異常症[10]についての検索も報告されているが，有棘細胞癌以外の疾患でパッチワーク状あるいはモザイク状の染色所見を認めたとの記載はない。従って今回のinvolucrinの検索で，封入体疣贅，疣贅状表皮発育異常症，bowenoid papulosisにみられたモザイク様の染色所見は特異な染色所見と言える。

ウイルス性疣贅はヒト乳頭腫ウイルス（HPV）が感染し，表皮の増殖を来した疾患である。HPVはHPV-DNAの塩基配列の相同性により，現在までに58型に分類され[15]，またウイルスの型は疣贅の臨床型とある程度相関するこ

とが知られている[15)16)]。疣贅状表皮発育異常症の患者の30%に種々の皮膚癌がみられ，子宮頸癌や外陰部癌に見つかるHPV-16，18が，bowenoid papulosisに検出される[17)18)]ことから，HPVは発癌因子として注目されている。一方，ボーエン病にもHPVが関与することを示唆する報告がされている。Ikenbergら[18)]は主に外陰部のボーエン病にHPV-16DNAを証明している。他に，手指のボーエン病からHPV-2，16，34，また，足のものからHPV-16が証明されている[18)19)20)]。HPV-DNAが証明されるボーエン病の罹患部位は外陰部や手足であり，bowenoid papulosisと同様に高率にHPV-16DNAが証明されることより，HPV-16型が両者の発症に関与すると考えられている[21)]。今回は，HPV-typeの検索は行えなかったが，bowenoid papulosisとボーエン病がinvolucrin染色で同じモザイク様の染色所見を示し，表皮細胞の分化の面からも両疾患がきわめて近いものであることが推測される。同じ外陰部に生じ

る尖圭コンジローマのinvolucrin染色では他の疣贅と同様の染色性を示した。尖圭コンジローマにはHPV-16,18DNAは検出されにくいことが知られている[22]。また，今回のボーエン病やbowenoid papulosisのモザイク様と表現したinvolucrin染色所見は有棘細胞癌のpatchy stain[9]と類似のものであるが，封入体疣贅や疣贅状表皮発育異常症のモザイク様染色所見は，前述のように，それとは異なっている。後者のモザイク様involucrin発現は，表皮細胞の腫瘍性増殖よりはむしろ，HPV感染による表皮細胞の特異な分化の方向を反映したものと思われる。すなわち，封入体疣贅では表皮細胞の細胞質や核内に特異な封入体を形成し[23][24][25]，また，疣贅状表皮発育異常症では大きな澄明細胞が出現する[26]ことなどである。

一方，ウイルス性疣贅と脂漏性角化症は臨床上，また，組織学的にも鑑別の困難な場合がある。脂漏性角化症の成因としては，老人

性変化[27]，遅発性の母斑説，エストロジェンや遺伝性因子の関与など[28]が推測されているものの，未だ明らかではない。さらに，今回のinvolucrinの染色で染色パターンやliving layer陽性面積比において明らかな相違が認められたことからも，両者の病態はかなり異なるものと言えよう。また，両者の鑑別においても有用と考えられる。

抗filaggrin抗体は前述のごとく，正常表皮では顆粒層のケラトヒアリン顆粒と角層に反応する[29)30)]。今回の結果でも，陽性染色部は顆粒層に顆粒状に，角層にも不規則性に出現していた。特に，角層の厚い足底では，角層でprofilaggrinがアミノ酸に分解されていく様に，角層下部の陽性反応が上部にいくに従い，しだいに弱まる所見が特徴的であった。疾患における，組織内の検索の報告は少ないが，尋常性魚鱗癬のような顆粒層の低形成または無形成の疾患では陰性またはごくわずかに陽性[31]とされている。今回の顆粒層が増

大し，粗大なケラトヒアリン顆粒をもつウイルス性疣贅では，filaggrin の染色性は顆粒層と角層の一部にみられ，filaggrin の合成，分解の過程は，ほぼ正常の様式を保っていると考えられる。疣贅状表皮発育異常症においても，澄明変性細胞に見られる粗大顆粒が顆粒状に陽性を示した。しかしながら，封入体疣贅の細胞質内および核内封入体は全て陰性であった。封入体疣贅の細胞質および核内の好酸性顆粒は電顕的，組織化学的にケラトヒアリン顆粒類似のものである[15)12)]とされているので，矛盾する結果である。好酸性顆粒が，HPV のウイルス遺伝子により誘導されたケラトヒアリン顆粒とは別の蛋白の可能性も十分に考えられ，今後の検討が必要と思われる。

以上より，involucrinとfilaggrin はいずれも表皮細胞の分化および角化のマーカーであるが，ウイルス性疣贅においては，とくに前者が特異な発現様式を示すことが示された

。

本論文の要旨は第39回日本皮膚科学会中部支部総会学術大会（昭和63年11月，名古屋）において発表した。

稿を終えるにあたり，御指導，御校閲を賜った新潟大学医学部皮膚科学教室，佐藤良夫教授ならびに伊藤雅章助教授に，また，組織標本，写真の制作に御協力いただいた今井隆郎技官に深く感謝いたします。

参 考 文 献

1) Lynley, A. M., Dale, B. A. :The characterization of human epidermal filaggrin. A histidine-rich, keratin filament-aggregating protein. Biochim. Biophys. Acta. 744:28 ～35, 1983.

2) Tezuka, T., Takahashi, M. :Fibrous proteins of trichilemma-oid epidermal keratinization without keratohyalin granules formation -Electron microscopic and electrophoretic studies-. J. Dermatol., 14: 101 ～105, 1987.

3) 手塚　正：フィラグリンと織維間基質．皮膚科MOOK, 15:金原出版, 東京, 49～55, 1989.

4) Rice, R. H., Green, H. :Presence in human epidermal cells of a soluble protein precursor of the cross-linked envelope: Activation of the cross-linking by calcium ions. Cell, 18:681～694, 1979.

5) Banks-Schlegel, S., Green, H. :Involucrin synthesis and tissue assembly by keratinocytes in natural and cultured human epithelia. J. Cell Biol., 90:732 ～737, 1981.

6) 木村俊次：ヒト乳頭腫ウイルスによる皮膚病変．皮膚科MOOK, 13: 金原出版, 東京, 53～61, 1988.

7) Lever, W. F., Schaumburg-Lever, G. :Tumors and cysts of the epidermis. Histopathology of the Skin. 7th Ed., Lippincott, Piladelphia, 528 ～532, 1989.

8) Rice, R. H., Pinkus, G. S., Warhol, M. J., Antonioli, D. A. :Involucrin :biochemistry and immunohistochemistry. In:de Lellis RA(ed) Advances in immunohistochemistry. Masson, New York, 111～125, 1984.

9) Murphy, G. F., Flynn, T. C., Rice, R. H., Pinkus, G. S. : Involucrin expression in normal and neoplastic human skin:A marker for keratinocyte differentiation. J. Invest. Dermatol., 82:453～457, 1984.

10) Kanitakis J., Zambruno, G., Viac, J., Thivolet, J.: Involucrin expression in keratinization disorders of the skin-a preliminary study. Br. J. Dermatol., 117:479 ～480, 1987.
11) Said, J. W., Sassoon, A. F., Shintaku, I. P., Banks-Schlegel, S.: Involucrin in squamaus and basal cell carcinomas of the skin: An immunohistochemical study. J. Invest. Dermatol., 82:449～452, 1984.
12) Smoller, B. R., Kwan, Y. H., Said, J. W., Banks-Schlegel, S.: Keratoacanthoma and squamous cell carcinoma of the skin: Immunohistochemical localization of involucrin and keratin proteins. J. Am. Acad. Dermatol., 14:226 ～234, 1986.
13) 三上英樹，三上幸子，野村和夫，花田勝美，橋本　功，帷子　康雄：有棘細胞癌におけるinvolucrinの免疫組織化学的局在の検索. 日皮会誌，97，157 ～160, 1987.
14) Hashimoto, T., Inamoto, N., Makamura, K., Harada, R.: involucrin expression in skin appendage tumor. Br. J. Dermatol., 117:325～332, 1987.
15) 川島　真：ＨＰＶの型分類について．皮膚病診療，11：366 ～372, 1989.
16) 石地尚興，本田まりこ，新村眞人：乳頭腫ウイルス．皮膚臨床，28: 1179～1186, 1986.
17) Gross, G., Hageman, M., Ikenberg, H., Rufli, T., Dahlet, C., Grosshans, E., Gissmann, L.: Bowenoid papulosis: Presence of human papilloma virus(HPV) structual antigens and of HPV 16-related DNA sequences. Arch. Dermatol., 121:858～863, 1985.
18) Ikenberg, H., Gissmann, L., Gross, G., Grussendolf-Conen, E-I., zur Hauzen, H.:Human papillomavirus type-16-related DNA in genital Bowen's disease and in bowenoid papulosis. Int. J. Cancer, 32: 563 ～565, 1983.
19) Pfister, H., Haneke, E.:Demonstratiom of human papillomavirus type

2 DNA in Bowen's disease. Arch. Dermatol. Res. ,276:123～125, 1984.
20) 宇原　久, 中島　孝：皮膚腫瘍とhuman papillomavirus. 皮膚病診療, 11：360 ～364, 1989.
21) 鈴木秀明, 森嶋隆文：Bowenoid papulosisとBowen 病における乳頭腫ウイルス抗原の免疫組織化学的研究. 日皮会誌, 97：1193～1200, 1987.
22) Gissman, L., Boshart, M., Durst, M., Ikenberg, H., Wagner, D., zur Hausen, H.:Presence of human papillomavirus in genital tumors. J. Invest. Dermatol., 83:26s～28s, 1984.
23) 結城直方, 伊藤雅章, 佐藤信輔, 佐藤良夫：線維性超微細構造の封入体がみられた特異なmyrmecia. 日皮会誌, 94:1149 ～1154, 1984.
24) 清水直也, 伊藤雅章, 佐藤良夫：Myrmeciaにおける封入体の微細構造. 日皮会誌, 95:757～763, 1985.
25) 結城　恵, 伊藤雅章, 清水直也, 佐藤良夫：封入体疣贅の組織化学的および電顕的検索. 臨床皮膚, 40:427～434, 1986.
26) Lever, W. F., Schaumberg-Lever, G.:Disease caused by viruses. Histopathology of the Skin. 7th Ed., Lippincott, Philadelphia, 416, 1989.
27) 簇野　倫, 森岡貞雄：皮膚の老化. あすへの皮膚科展望, 75：金原出版, 東京, 65～77, 1975.
28) 本間　真：良性腫瘍の表皮性腫瘍および表皮増殖. 現代皮膚科学体系, 9：中山書店, 東京, 26～32, 1980.
29) Dale, B. A., Ling, S. Y.:Immunologic cross-reaction of stratum corneum basic protein and a keratohyalin granule protein. J. Invest. Dermatol., 72:257 ～261, 1979.
30) Fleckman, P., Dale, B. A., Holbrook, K. A.:Profilaggrin, a high-molecular-weight precursor of filaggrin in human epidermis and cultured keratinocytes. J. Invest. Dermatol., 85:507～512, 1985.
31) Sybert, V. P., Dale, B. A., Holbrook, K. A. :Ichthyosis vulgaris : Identification of a defect in synthesis of filaggrin correlated with an absence of keratohyalin granules. J. Invest. Dermatol.,

84:191～194, 1985.
32) 本田まりこ，石地尚興，石田　卓，新村眞人：Myrmeciaの好酸性顆粒について．日皮会誌，95：1173～1185, 1985.