© Carl Hanser Verlag München 1993

K. W. Grätz[1], A. Bon[2], A. Eichmann[2], R. Grob[3], G. Pajarola[1], H. F. Sailer[1]

HPV Typ 13 bei der fokalen epithelialen Hyperplasie

Bei 2 Kindern (Bruder und Schwester) und deren Eltern italienischer Herkunft konnten wir klinisch und histologisch Mundschleimhautveränderungen beobachten, die einer fokalen epithelialen Hyperplasie entsprachen. Bei dem 14jährigen Mädchen konnte der Verlauf über 6 Jahre verfolgt werden. Bei Bruder und Schwester, die identische klinische Bilder zeigten, konnte der HPV Typ 13 mit Hilfe der Southern-Blot-Hybridisierung nachgewiesen werden. Im Biopsiematerial der Mutter fanden sich nur Fragmente des HPV Typ 13, in den Proben des Vaters wurde keine virale DNS gefunden.

1 Einleitung

Die fokale epitheliale Hyperplasie (FEH) wurde erstmals 1961 von *Heck* beobachtet und 1965 von *Archard, Heck* und *Stanley* beschrieben. *Orfanos* berichtete 1974 über die ersten Fälle von FEH in der Bundesrepublik Deutschland und *Samson* 1985 über die 3 ersten Fälle in der Schweiz. Auffällig ist die geographische Verteilung. *Samson* fand bei 1067 Fällen von FEH in der Literatur 82% bei Eskimos und Patienten indianischer Abstammung. Klinisch handelt es sich bei der FEH um multiple, weiche, rundliche bis ovale flache Papeln der Mundschleimhaut von einem Durchmesser zwischen 1 und 4 mm. Die flachen Einzelefloreszenzen können konfluieren und haben die gleiche Farbe wie die umgebende gesunde Schleimhaut. Am häufigsten befallen ist die Unterlippenschleimhaut [6, 7, 12]. Histomorphologisch ist die FEH durch eine epitheliale Hyperplasie gekennzeichnet, die leichte Hyper- und Parakeratosen, Akanthosen, Elongation und Verschmelzung der Reteleisten zeigt. Charakteristisch sind vakuolisierte Epithelzellen, die eine mitoseähnliche Kerndegeneration mit pyknotischen Kernen (Koilozyten) aufweisen.
Bereits *Archand* vermutete einen viralen Ursprung der FEH. Die Beobachtung humaner Papillomaviruspartikel und die Identifikation des HPV-gruppenspezifischen Antigens [7, 11, 15] bei der FEH ließen eine Assoziation zwischen dem HPV und der FEH vermuten. Diese These wurde unterstützt durch die Entdeckung der HPV/DNA-Sequenzen des Typ 1 [9], Typ 13 [2, 4, 5, 10, 15] und Typ 32 [2, 3, 4, 11]. Wir konnten in unserer gemeinsamen Sprechstunde mit den Dermatologen 4 Patienten, Mutter, Vater, Sohn und Tochter, mit einer FEH untersuchen. Bei beiden Kindern wurde HPV Typ 13 nachgewiesen, bei der Mutter Fragmente dieses Typs.

2 Material und Methoden

Die Läsionen von 4 Patienten mit FEH wurden exzidiert. Von jedem Exzisat wurde jeweils die Hälfte für die DNS-Extraktion tiefgefroren, die andere Hälfte für die histologische Aufarbeitung benutzt. Das in Formalin fixierte Material wurde in Paraffin eingebettet, geschnitten und mit Hämatoxilin-Eosin gefärbt. Die mikroskopischen Untersuchungen wurden in einer Vergrößerung von 10- bis 40fach durchgeführt. Die HPV-Typisierung erfolgte nach der Southern-Blot-Methode [14].

3 Ergebnisse

Alle 4 Patienten gehörten einer aus Italien stammenden Familie an. Die Tochter war 14 Jahre, der Sohn 8 Jahre, die Mutter 37, der Vater 39 Jahre alt (Tabelle 1). Die Läsionen waren bei allen Betroffenen asymptomatisch und schmerzlos und bestanden seit einigen Jahren. Lediglich bei der Tochter konnte der Verlauf über 6 Jahre beobachtet werden. Klinisch zeigten sich bei Bruder und Schwester weiche, ovaläre Papeln auf der Schleimhaut der Ober- und Unterlippe sowie solitäre, glatte weißliche Papeln auf der Schleimhaut der Unterlippe bei dem 8jährigen Jungen (Abb. 1). Bei den Eltern fanden sich feinste samtartige Zahnfleischeruptionen. Histologisch zeigte sich bei den Exzisaten aller 4 Patienten eine Hyperplasie des Epithels mit Hyperparakeratose, Akanthose und plump verlängerten, untereinander verschmelzenden Reteleisten, sowie eine deutliche Koilozytose in Form hyperchromatischer Kerne und kleinen und größeren Vakuolen (Abb. 2).
Bei Bruder und Schwester, die den gleichen klinischen Aspekt zeigten, konnte das humane Papillomvirus Typ 13 nachgewiesen werden (Abb. 3 und 4). Im Biopsiematerial der Mutter fand sich virale DNS mit einem für HPV 13 typischen, jedoch nur fragmentierten Bandmuster.

Tabelle 1 Resultate der histologischen Untersuchung und der HPV-Typisierung

	C. K. 1976 Tochter	C. I. 1980 Sohn	C. P. 1951 Vater	C. M. 1953 Mutter
Histologie	Akantho-papillom	Akanthom	Akanthose	Akanthose
HPV Typ 13	+	+	–	Fragmente



Abb. 1 Multiple flache, teils konfluierende Papeln auf der Schleimhaut der Unterlippe des 8jährigen Knaben

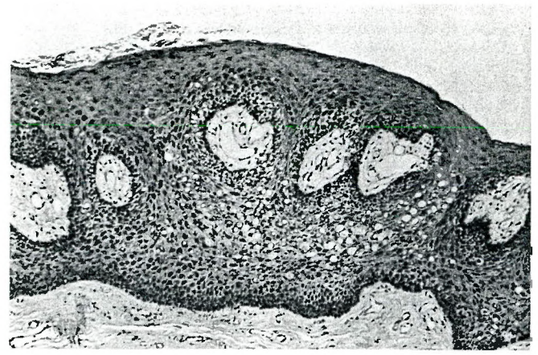


Abb. 2 Typisches histologisches Erscheinungsbild der FEH mit gestörter Architektur des Epithels, ausgeprägter Akanthose und Verschmelzung der Reteleisten. Deutliche Koilozytose in Form hyperchromatischer und pyknotischer Kerne und kleinen und größeren Vakuolen. Die Basalmembran ist überall erhalten (HE, 10:1)

4 Diskussion

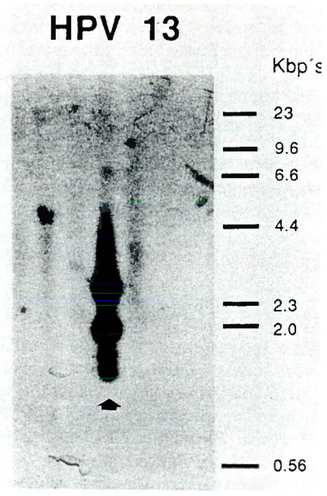
Wir konnten bei einer vierköpfigen aus Italien stammenden Familie eine FEH diagnostizieren. Eine virale Ätiologie der FEH wurde bereits von den Erstbeschreibern [1] vermutet, und Papillomavirusbestandteile wurden wiederholt gefunden [9]. Erst 1983 konnte *Pfister* den HPV Typ 13 identifizieren. In Anbetracht der hohen Frequenz, in der der HPV Typ 13 bei der FEH gefunden wurde [2, 4, 5, 10, 15], könnte man diesen Typ als ursächliches Agens der FEH betrachten. Weiterhin muß der Typ 32 in Verbindung mit der FEH diskutiert werden [2, 3, 4, 11]. Befallen sind hauptsächlich Kinder und Jugendliche.
Prädilektionsstellen sind die Unterlippe und Oberlippe sowie die Wangenschleimhaut, nur bei den Eskimos ist die FEH vorwiegend auf der Zunge lokalisiert. Das gehäufte Auftreten in bestimmten Populationsgruppen, Indianer und Eskimos [13], ist unklar. Eine familiäre Kumulation ist nicht ungewöhnlich, ein prädisponierender Faktor wird vermutet, jedoch ist die Art der Vererbung unbekannt. In der letzten Zeit wurden vermehrt Fälle von Patienten in europäischen Ländern beschrieben und es ist interessant, daß hauptsächlich Kinder türkischer Herkunft befallen waren [9, 12, 13]. 1985 beschrieb *Samson* die ersten 3 Fälle von FEH in der Schweiz. Die von uns beschriebene Familie war italienischer Herkunft (Valtellina), beide Kinder sind in der Schweiz geboren und unterscheiden sich in ihren Gewohnheiten und ihrer Ernährungsweise nicht von den Kindern in ihrer Umgebung und Schule.
Typischerweise besteht die FEH über Jahre und ist durch eine hohe Rezidivrate gekennzeichnet. Da die Läsion gutartig ist und Spontanremissionen beschrieben werden, ist eine invasive Therapie nicht notwendig.

Summary

In 2 children (brother and sister) and their parents focal epithelial hyperplasia could be diagnosed by histology. In brother und sister, who showed identical clinical aspects, the human papillomavirus type 13 was identified. In the biopsy material of the mother, viral DNA was found with an HPV 13-typical but fragmented band pattern, while no viral DNA was found in the father's specimen.

Literatur

1. *Archard, H. O., Heck, J. W., Standley, H. R.:* Focal epithelial hyperplasia: An unusual oral mucosal lesion found in Indian children. Oral Surg 20, 201 (1965).
2. *Beaudenon, S., Praetorius, F., Kremsdorf, D., Lutzner, M., Worsaae, N., Pehau-Arnaudet, G., Orth, G.:* A new type human papillomavirus associated with oral focal epithelial hyperplasia. J Invest Dermatol 88, 130 (1987).



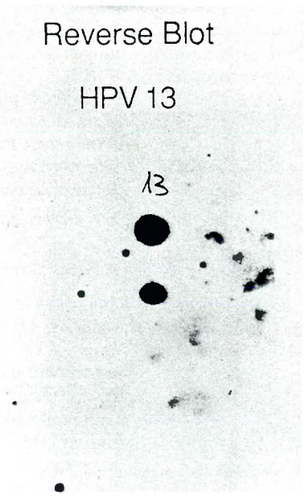


Abb. 3 (links) DNS-Präparation, erhalten aus einer Biopsie der FEH bei dem 14jährigen Mädchen (↑). Die Größe der Fragmente ist in Kilobase pairs (Kbp's) ausgedrückt

Abb. 4 (rechts) Reverse Blot zur Identifikation von HPV Typ 13

[1] Klinik und Poliklinik für Kiefer- und Gesichtschirurgie (Direktor Prof. Dr. Dr. H. F. Sailer) des Universitätsspitals Zürich.
[2] Städtische Poliklinik für Hautkrankheiten und Geschlechtskrankheiten (Chefarzt Prof. A. Eichmann) Zürich.
[3] Institut für Virologie des Universitätsspitals Zürich.

© Carl Hanser Verlag München 1993

3. *Civatte, J., Jaubert, A., Orth, G., Cavellier-Balloy, B.:* Hyperplasie focale épithéliale de Heck associée a HPV 32. Ann Dermatol Vernereol 113, 945 (1986).
4. *Garlick, J.A., Calderon, S., Buchner, A., Mitrani-Rosenbaum, S.:* Detection of human papillomaviris (HPV) DNA in focal epithelial hyperplasia. J Oral Pathol Med 18, 172 (1989).
5. *Henke, R.-P., Milde-Langosch, K., Löning, T., Stromme Koppang, H.:* Human papillomavirus type 13 and focal epithelial hyperplasia of oral mucosa: DNA hybridization on paraffin-embedded specimens. Virchows Arch A 411, 193 (1987).
6. *Löning, T.:* Zur Mikromorphologie oraler viraler Läsionen. Dtsch Z Mund Kiefer Gesichtschir 8, 100 (1984).
7. *Lutzner, M., Kuffer, R., Blanchet-Bardon, C., Croissant, O.:* Different papillomavirus as a cause of oral warts. Arch Dermatol 118, 393 (1982).
8. *Orfanos, C.E., Strunk, V., Gartmann, H.:* Fokale epitheliale Hyperplasie der Mundschleimhaut: Hecksche Krankheit. Dermatologica 149, 163 (1974).
9. *Petzoldt, D., Dennin, R., Pfister, H., Hoffmann, C.:* Fokale epitheliale Hyperplasie Heck. Hautarzt 33, 201 (1982).
10. *Pfister, H., Hettich, I., Runne, U., Gissmann, L., Chilf, G.N.:* Characterization of human papillomavirus typus 13 from focal epithelial hyperplasia Heck lesion. J Virol 47, 363 (1983).
11. *Praetorius-Clausen, F., Willis, J.M.:* Papova virus like particles in focal epithelial hyperplasia. Scand J Dent Res 79, 362 (1971).
12. *Reichart, P., Lübach, D., Vonnahme, F.J.:* Zur Klinik und Morphologie der fokalen epithelialen Hyperplasie. Dtsch Z Mund Kiefer Gesichtschir 6, 249 (1982).
13. *Samson, J., Fiore-Donno, G., Avizara, N.:* L'hyperplasie épithéliale focale: Premier cas suisse et revue de la littérature. Dermatologica 171, 308 (1985).
14. *Southern, E.M.:* Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophorese. J Mol Biol 98, 503 (1975).
15. *Syrjänen, S., Syrjänen, K., Ikenberg, H., Gissmann, L., Lamberg, M.:* A human papillomavirus closely related to HPV 13 found in a focal epithelial hyperplasia lesion (Heck Disease). Arch Dermatol Res 276, 199 (1984).

Korrespondenzadresse:
Dr. Dr. Klaus W. Grätz,
Klinik und Poliklinik für Kiefer- und Gesichtschirurgie
Frauenklinikstraße 10, CH-8091 Zürich. (K 34)

H.-P. Vollmer[1], U. Keller[1], G. Vergani[2], W. Mohr[3]

Untersuchung zur Pathogenese der Ciclosporin-induzierten Gingivahyperplasie

Das Immunsuppressivum Ciclosporin (Ci) ist ähnlich wie Phenytoin und die Calcium-Kanal-Blocker in der Lage, Gingivahyperplasien hervorzurufen. Mit Hilfe von primären Mischzellkulturen aus normaler und Ci-induzierter hyperplastischer menschlicher Gingiva konnte festgestellt werden, daß die hyperplastischen Gewebsanteile in vitro erhöhte Mitosezahlen, veränderte Verteilungen der Mitosestadien sowie morphologische Veränderungen zeigen. Ähnliche Ergebnisse waren nach Zugabe von Ci zu menschlichen Gingivakulturen zu beobachten.

1 Einleitung

Die klinischen Untersuchungen ergeben eine Inzidenz der Ci-induzierten Gingivahyperplasie von 3,5% [10] bis 81% [4]. Das Auftreten der Hyperplasien beschränkt sich auf die bezahnten Alveolarfortsätze [17]. Unstrittig ist, daß sich eine solche Gingivahyperplasie nach einer Latenzzeit von 4 bis 5 Wochen nach Einnahme von Ciclosporin entwickelt und die Hyperplasien nach Absetzen des Medikaments weitgehend reversibel sind [9]. Abhängigkeiten bezüglich Alter [3], Geschlecht [8], Dosis [7] und Mundhygienestatus [12, 14] werden kontrovers diskutiert. Auch der histologische Befund einer fibroepithelialen Hyperplasie bei der Ci-induzierten Gingivahyperplasie ist nicht unumstritten [1, 13].
In in-vitro-Untersuchungen konnten vor allem eine erhöhte Proteinproduktion und erniedrigte Kollagenolyse der Gingivafibroblasten nach Inkubation mit Ci festgestellt werden [2, 15]. Eine Untersuchung auf Ci-induzierte Veränderungen im gesamten Gingivamischzellverbund, die nicht nur die Fibroblasten betrifft, fehlt bisher. Dies war Ziel der vorliegenden Untersuchung.

2 Material und Methode

Zunächst wurden Biopsien von gesunder menschlicher Gingiva während Weisheitszahn-Osteotomien entnommen und als Gruppe I zur Kontrolle kultiviert. Ci-immunsupprimierte Patienten wurden parodontal vorbehandelt. Danach wurden hyperplastische Gingivaanteile durch Gingivektomie gewonnen und als Gruppe II kultiviert. Nach Spülen mit steriler Phosphat-Puffer-Lösung (PBS) mit Antibiotika (Penicillin, Gentamycin und Streptomycin) wurden die Gewebsstückchen zerkleinert, in Costar-Flaschen mit Belüftungskappe (Tecnomara, Fernwald) verteilt und mit Medium bestehend aus Ham's-F-10 (Biochrom, Berlin), 10% fetalem Kälberserum, 0,5% L-Glutamin und 1% Antibiotika (Penicillin, Streptomycin) überdeckt. Ein Mediumwechsel erfolgte dreimal pro Woche.
Aus den Kulturen der gesunden Gingivagewebe (Gruppe I) wurden Zellen mit Glasplättchen auf Petrischalen in Subkultur überführt (Gruppe III). Drei Tage nach dem Ansatz wurde bei einem Teil der Subkulturen beim Mediumwechsel 200 µg/ml Ciclosporin (nach *Kato* et al. [6]) zugefügt und die Kulturen nach 24 Stunden als Gruppe IV ausgewertet.
Die Zellkulturen wurden fotografiert (Leitz Diavert, Agfapan 25). Im Anschluß wurden der Mitoseindex, die Mitosestadien, in Anlehnung an das von *Vergani* und *Pentz* [16] beschriebene Verfahren sowie Veränderungen der Zellmorphologie bestimmt.

[1] Abteilung für Zahnärztliche Chirurgie (Ärztl. Direktor: Prof. Dr. F. Sitzmann)
[2] Abteilung Anatomie (Ärztl. Direktor: Prof. M. Herrmann)
[3] Abteilung für Pathologie (Ärztl. Direktor: Prof. O. Haferkamp) Universität Ulm

3 Ergebnisse

In den primären Mischzellkulturen aus gesundem Gingivagewebe der Gruppe I wurde ein Mitoseindex von anfänglich 3% beobachtet. Dieser stieg bis zum 24. Kulturtag bis auf 4% und fiel zwischen dem 26. und 28. Kulturtag auf 2% ab. Die Gruppe II aus hyperplastischem Gewebe hatte initial einen Mitoseindex von 4%, der erst um den 31. Kulturtag auf 1,8% abfiel.
Auffällig war vor allem eine höhere relative Häufigkeit von Anaphasen in den Mitosestadien der Hyperplasiegruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe (Abb. 1 und 2). Die Kulturen aus der Gruppe I der gesunden Gingiva zeigten einen charakteristischen zeitlichen Verlauf im Auswachsmuster, in dem zuerst kleinflächige Epithelzellen auswuchsen (Abb. 3). Diese begannen in der Peripherie zunehmend großflächiger zu werden. Um den 30. Kulturtag waren nur noch Fibroblasten vorhanden, die mit zunehmender Kulturdauer ein regelmäßiges Verteilungsmuster zeigten.
Im Gegensatz hierzu war in der Kultur der Gruppe II eine frühzeitige Größenzunahme der Epithelzellen zu beobachten (Abb. 4). Zusätzlich traten kugelförmige Strukturen auf, die um den 11. Kulturtag in Epithelzellen und um den 42. Kulturtag in Fibroblasten eingebettet erschienen. Außerdem begannen die Fibroblasten sich bereits am 11. Kulturtag zu vermehren und die Epithelzellen zu verdrängen (Abb. 4). Diese nahmen bis zum 21. Kulturtag zahlenmäßig kaum zu, am 31. Kulturtag zeigten sich dagegen wieder vermehrt polymorphe, epithelartige Zellen. Die Zellen, die um den 42. Kulturtag vorhanden waren, konnten nicht mehr eindeutig in die Kategorie für Fibroblasten oder Epithelzellen eingeordnet werden (Abb. 5). Zusätzlich wurden Zellen mit Zellkern-Atypien, Vakuolisierung, Sekretion und aufgelockertem Zytoplasma gefunden (Abb. 5).
Nach Zugabe von Ciclosporin zu den normalen Gingivazellsubkulturen zeigten diese Zellen der Gruppe IV einen Mitoseindex von 6,8% im Vergleich zu 3,9% bei der Gruppe III. Weiterhin ließ sich nach Inkubation mit Ci ein häufigeres Auftreten von Ana- und Telophasen feststellen. Morphologisch konnte ein geringerer Zellreichtum der Kulturen der Gruppe IV und die Tendenz zur Ausbildung von Lamellipodien sowie eine Neigung

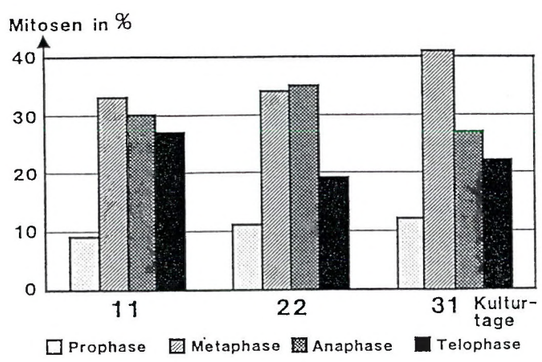


Abb. 1 Mitosestadienverteilung der Kontrollkulturen (Gruppe I).

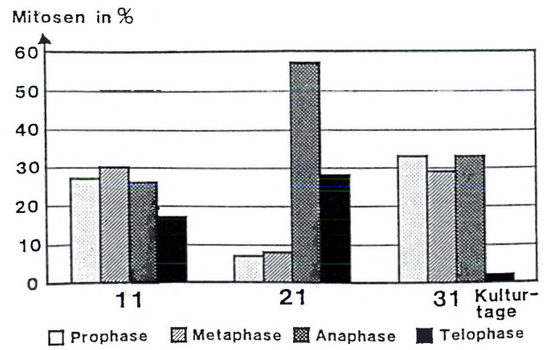


Abb. 2 Mitosestadienverteilung der Kulturen aus Ci-induzierter hyperplastischer Gingiva (Gruppe II).

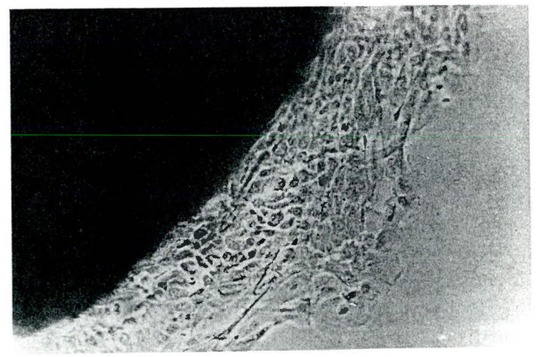


Abb. 3 Kontrollkultur (Gruppe I), 11. Kulturtag. Zellhof mit epithelartigen Zellen und Fibroblastenwachstum in der Peripherie. Vergr. 32:1.

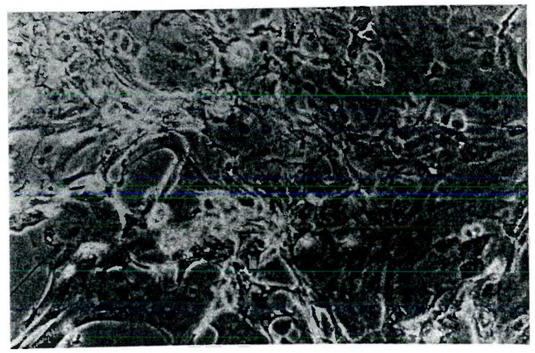


Abb. 4 Kultur der Gruppe II. 11. Kulturtag. Gemischtes Wachstum von epithelartigen Zellen und Fibroblasten. Vergr. 32:1.