

## 口腔原発線維増殖性病変の鑑別に関する免疫組織化学的研究

東 雅 啓<sup>1)</sup> 長 澤 孝 浩<sup>1)</sup> 窪 田 展 久<sup>1)</sup>  
 猿 田 樹 理<sup>1)</sup> 瀧 田 慎 也<sup>1)</sup> 坂 口 和 歌 子<sup>1)</sup>  
 清 水 智 子<sup>2)</sup> 鎌 田 要 平<sup>2)</sup> 栗 本 勇 輝<sup>3)</sup>  
 駒 津 栄 雄<sup>1)</sup> 槻 木 恵 一<sup>\*.1)</sup>

<sup>1)</sup>神奈川歯科大学大学院歯学研究科口腔科学講座 (主任: 松尾雅斗 教授)

<sup>2)</sup>神奈川歯科大学大学院歯学研究科高度先進口腔医学講座

<sup>3)</sup>神奈川歯科大学総合教育部

(受付: 2019年2月8日)

Masahiro TO<sup>1)</sup>, Takahiro NAGASAWA<sup>1)</sup>, Nobuhisa KUBOTA<sup>1)</sup>, Juri SARUTA<sup>1)</sup>,  
 Shinya FUCHIDA<sup>1)</sup>, Wakako SAKAGUCHI<sup>1)</sup>, Tomoko SHIMIZU<sup>2)</sup>, Yohei KAMATA<sup>2)</sup>,  
 Yuki KURIMOTO<sup>3)</sup>, Shigeo KOMATSU<sup>1)</sup> and Keiichi TSUKINOKI<sup>\*.1)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Oral Science, Graduate School of Dentistry, Kanagawa Dental University, 82 Inaoka-cho, Yokosuka, Japan

<sup>2)</sup>Department of Highly Advanced Stomatology, Graduate School of Dentistry, Kanagawa Dental University, 3-31-6,  
 Tsuruya-cho, Kanagawa-ku, Yokohama, Japan

<sup>3)</sup>Division of Curriculum Development, Kanagawa Dental University, 82 Inaoka-cho, Yokosuka, Japan

## Abstract

The oral cavity is subject to extensive external irritation and is thus susceptible to fibroproliferative lesions. Fibromas that grow in response to trauma or chronic stimulation are called irritation fibromas, which also include denture fibromas. Although irritation fibromas and neoplastic fibromas differ, they are difficult to distinguish histologically. Therefore, we compared denture fibromas with neoplastic fibromas to demonstrate histological distinctions among fibroproliferative lesions. The subjects in this study included 15 patients with neoplastic fibromas and 15 patients with denture fibromas. Fibrous tissues were characterized using Masson's trichrome staining. An enzyme-labeled antibody method was used for the immunohistochemical analysis of CD34, Bcl-2, and Ki-67 expression. Differences in mean cell counts and number of cells with positive immunohistochemical staining were analyzed using Welch's t-test. CD34 expression was high in spindle cells in denture fibromas but was absent in neoplastic fibromas. Pronounced Bcl-2 expression was observed in neoplastic fibromas. However, Bcl-2 expression was low in denture fibromas. The number of Ki-67-positive cells was significantly higher in neoplastic fibromas than in denture fibromas. Cell count results were identical. In Masson's trichrome staining, collagen fiber hyperplasia was observed more frequently in denture fibromas than in neoplastic fibromas. In conclusion, neoplastic fibromas and denture fibromas present with different histological and immunohistochemical characteristics that may be useful for distinguishing fibroproliferative lesions.

\* 責任著者連絡先: 〒 238-8580 神奈川県横須賀市稲岡町 82  
 神奈川歯科大学大学院歯学研究科口腔科学講座  
 槻木恵一  
 e-mail: tsukinoki@kdu.ac.jp

## 緒 言

口腔と全身の関連性の研究における近年の著しい進展により、歯科医師の名称だけでは担当領域を表現しきれなくなっており、むしろ口腔科医という方が相応しい時代となってきた。特に口腔がん検診の取り組みは隔々まで広がりを見せており、開業歯科医師といえども口腔がんの知識と共に、口腔粘膜に生じる様々な病変に対する深い理解が求められる時代となった<sup>1)</sup>。

日常臨床でよく遭遇する線維増殖性病変は、口腔内でも高頻度で発生する<sup>2,3)</sup>。1995年発表された神奈川歯科大学における非歯原性良性腫瘍の臨床統計的観察によると、線維腫の頻度が最も多く6割を超えている<sup>4)</sup>。線維増殖性病変は大きく2つに分けられる<sup>5)</sup>。刺激による線維過形成からなる病変、いわゆる刺激性線維腫として、咬傷などによる外傷性線維腫と義歯の不正刺激による義歯性線維腫がある。また、これら進行性病変に属する病変の他に、線維芽細胞の腫瘍性増殖からなる腫瘍性線維腫がある。すなわち刺激性線維腫と腫瘍性線維腫は、生物学的に全く異なった発生メカニズムをもつ。

線維腫は、治療法として腫瘍の切除が選択されるが、腫瘍性線維腫と刺激性線維腫では、取り残しに対する予後は異なり、腫瘍性線維腫の方が再発しやすい<sup>6)</sup>。一方、何らかの刺激に対する反応性増殖である刺激性線維腫は、その刺激の除去に対する配慮が求められる<sup>7)</sup>。刺激性線維腫の再発は、細胞学的な activity の問題というよりは、刺激の除去が不完全であることに由来する。したがって、刺激性線維腫と腫瘍性線維腫は鑑別されるべきであるが、教科書的には鑑別が難しい場合が多いとされている<sup>8)</sup>。そのため、刺激性線維腫と診断された症例の中に腫瘍性線維腫が含まれている可能性と、その逆に、腫瘍性線維腫の中に刺激性線維腫が含まれている可能性を否定できない。

線維増殖性病変の先行研究を検索すると、臨床統計学的研究やコラーゲン線維の性状に関する免疫組織化学的研究が散見される<sup>9-11)</sup>。また、単発症例が比較的多く報告されている<sup>12)</sup>。しかし、線維増殖性の良性病変は頻度の高い病変でありながら驚くほど研究が少なく、鑑別に関する報告がほとんどないため、鑑別のためのマーカーの検討が必要である。

近年、線維芽細胞の分化を示す腫瘍として、口腔領域では孤立性線維性腫瘍の症例報告が増加してきている<sup>13)</sup>。孤立性線維性腫瘍はWHO分類で中間的悪性病変に位置付けられ、CD34およびBcl-2の発現が鑑別マーカーとして用いられる<sup>14)</sup>。孤立性線維性腫瘍は、90%以上という高頻度でCD34陽性であることから、

全身にわたって広く存在するCD34陽性の線維芽細胞様間葉細胞ないし樹状間質細胞が起源と考えられている。また、山田ら<sup>15)</sup>は口腔に生じる刺激性線維腫においてCD34が発現することを報告しており、これらの所見から、CD34は線維芽細胞に関連するマーカーであると考えられる。

Bcl-2はアポトーシスを抑制する癌遺伝子の1つで、細胞寿命の延長に関与し、生体内ではBリンパ球や扁平上皮基底層に発現する<sup>16)</sup>。口腔領域では唾液腺良性腫瘍の多形腺腫や歯原性良性腫瘍のエナメル上皮腫に高頻度で発現することから、良性腫瘍での特徴的な発現が認められている<sup>17-19)</sup>。

本研究では、刺激による線維腫として診断が確定された義歯性線維腫を研究対象とし、さらに腫瘍性線維腫として診断が確定された周辺性歯原性線維腫と真の線維腫の2群を比較対象として、鑑別診断マーカー候補としてCD34およびBcl-2を検討した。さらに、病変の増殖活性を検討するために、広く病理診断に用いられているKi-67<sup>20)</sup>の発現も解析した。これらのマーカーを用いて刺激性線維腫と腫瘍性線維腫の特徴を明らかにすることで鑑別マーカーとしての有用性を検討し、これまで曖昧とされてきた線維腫の病理診断の確度を高めることを目的とする。

## 実験材料および方法

### 1. 対象症例と病理組織学的診断基準 (図1)

対象症例は、組織科学研究所に保存されている線維増殖性病変組織のうち、腫瘍性線維腫15例と義歯性線維腫15例(部位:歯肉・歯槽堤)の計30例を用いた。腫瘍性線維腫は、真の線維腫4例(部位:舌・歯肉)と周辺性歯原性線維腫11例(部位:歯肉)を用いた。本研究は、神奈川歯科大学研究倫理審査委員会の承認(第340番)を受けると同時に、利益相反の開示に関するCOI委員会の承認を受けている。

真の線維腫の診断基準は、境界が比較的明瞭でコラーゲン線維より細胞成分が多いこととした。また、紡錘形細胞の増殖を認める平滑筋系、血管系、および神経系の腫瘍を除外するため、それぞれSMA、ファクター8、そしてS-100の発現がないことを免疫組織化学的に検討し診断を確定した。歯肉に発生する周辺性歯原性線維腫の確定診断はWHOの分類に従った(図1a)<sup>21)</sup>。また一部の症例でケラチンの発現を検討し、歯原性上皮島(図1a, 矢印)を確認した(図1a, インセット内)。義歯性線維腫は臨床的に義歯の刺激によることが明らかな症例で、線維性組織の増生が観察される症例を対象とし(図1b)、炎症細胞浸潤が著明な症例は除外した。

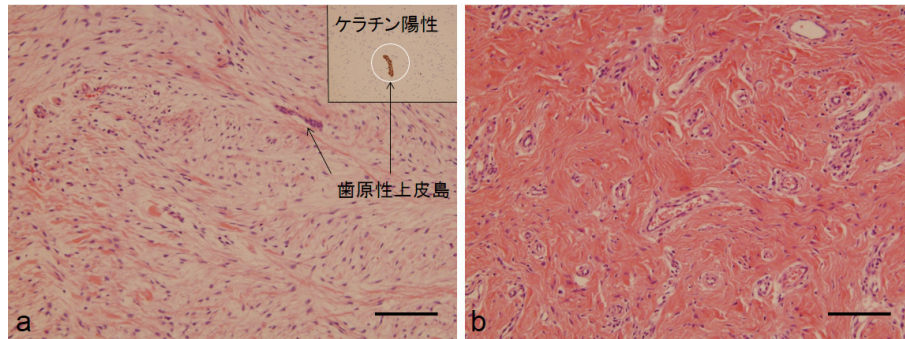


図1 診断基準

- a: 腫瘍性線維腫（周辺性歯源性線維腫）の典型像を示す。小さい核を持つ紡錘形細胞の疎な増殖を示す。腫瘍胞巣内には歯源性上皮島が観察される。インセット内は、ケラチンに対する免疫組織化学的染色所見を示す。DAB陽性像が観察される。HE染色。400倍。スケールバー：50 $\mu$ m。
- b: 義歯性線維腫の典型像を示す。コラーゲン線維内に瘦せた紡錘形細胞を認める。HE染色。400倍。スケールバー：50 $\mu$ m。

## 2. 病理組織学的診断方法

病理組織学的診断はヘマトキシリンエオジン（HE）染色で行った。また、コラーゲン線維の密度はマッソントリクローム染色で検討した。

## 3. 免疫組織化学的分析方法

免疫組織化学的分析は、10%中性緩衝ホルマリン液で固定したパラフィンブロックから作製した連続切片で行った。CD34, Bcl-2, および Ki-67 の発現解析は、1次抗体としてマウス抗ヒト CD34 モノクローナル抗体 (clone Q-BEND10, 200 倍希釈, Immunotech), マウス抗ヒト Bcl-2 モノクローナル抗体 (clone 124, 50 倍希釈, DAKO), そしてマウス抗ヒト Ki-67 モノクローナル抗体 (clone MIB-1, 100 倍希釈, MBL) を使用した。Bcl-2 および Ki-67 の抗原賦活化は、0.01 M クエン酸緩衝液 (pH 6.0) に浸漬した切片を、120 $^{\circ}$ C で 5 分間オートクレーブ処理して行った。2次抗体反応後、ヒストファイン SAB-PO (M) キット (ニチレイ) を用いてストレプトアビジン-ビオチン (SAB) 法を実施した。まず、通法に従い脱パラフィン操作し、抗原賦活化処理を行った後、5 分間 3% 過酸化水素水で処理することによって内因性ペルオキシダーゼ除去を行った。さらに、10% ヤギ正常血清 (ニチレイ) で非特異的反応を阻害した後、1次抗体を室温で 1 時間反応させた。次いで、ビオチン標識抗マウス IgG・抗ウサギ IgG 抗体 (ニチレイ) を 2次抗体として 10 分間室温で反応させた後、ストレプトアビジン-ペルオキシダーゼ複合体 (ニチレイ) を 5 分室温で反応させ、DAB で発色させた。陰性コントロール染色反応として 1次抗体の代わりに PBS を使用し、非特異的な呈色反応のないことを確認した。

## 4. 細胞の測定方法<sup>22)</sup>

オリンパス社製の顕微鏡と 40 倍の対物レンズを用

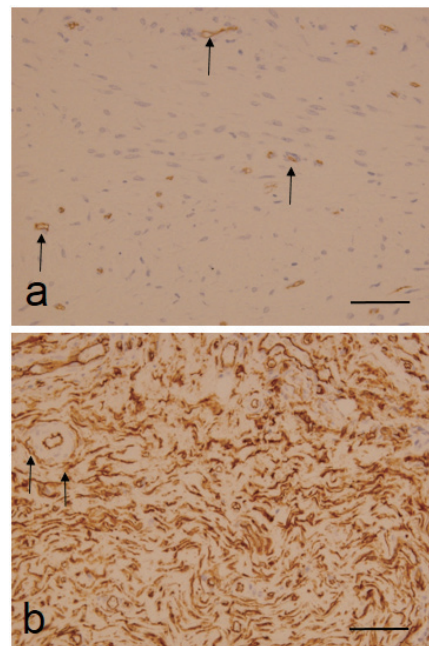


図2 CD34発現パターン

- a: 腫瘍性線維腫を示す。血管内皮細胞の CD34 陽性所見を矢印で示す。腫瘍胞巣内の紡錘形細胞には CD34 陽性を示す細胞は認められない。酵素抗体 (SAB) 法。400 倍。スケールバー：50 $\mu$ m。
- b: 義歯性線維腫を示す。血管外膜の紡錘形細胞における CD34 陽性所見を矢印で示す。CD34 は紡錘形細胞にびまん性に陽性像を認める。酵素抗体 (SAB) 法。400 倍。スケールバー：50 $\mu$ m。

いて陽性細胞の測定を行った。一方の病変辺縁部から中心部そして対側の辺縁に向かい、細胞 1000 個中の陽性細胞率を算出した。CD34 陽性細胞の同定は、切片内の血管内皮細胞を internal control とし、その発色強度を持つ細胞を陽性と判定した。Bcl-2 の場合は切片内のリンパ球、そして Ki-67 は切片内に含まれる

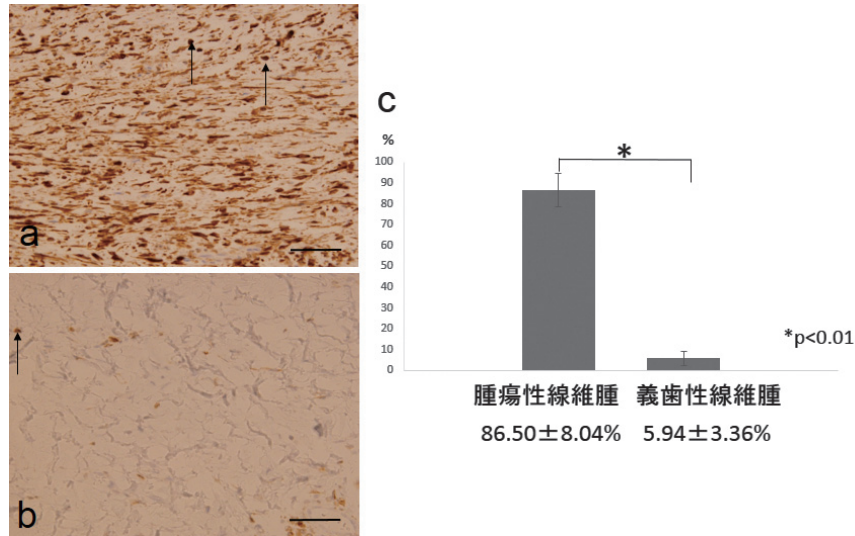


図3 Bcl-2発現パターン

- a: 腫瘍性線維腫を示す。リンパ球のBcl-2陽性所見を矢印で示す。腫瘍巣内の紡錘形細胞にはびまん性にBcl-2の陽性像を認める。酵素抗体 (SAB) 法。400倍。スケールバー: 50  $\mu$ m。
- b: 義歯性線維腫を示す。リンパ球のBcl-2陽性所見を矢印で示す。Bcl-2は紡錘形細胞にほとんど観察されない。酵素抗体 (SAB) 法。400倍。スケールバー: 50  $\mu$ m。
- c: 陽性細胞率は、腫瘍性線維腫86.5±8.04%、義歯性線維腫5.94±3.36%であり、両者間に有意差を認める (p<0.01)。ウェルチのt検定。

扁平上皮基底細胞を internal control とし、その発色強度を持つ細胞を陽性と判定した。

細胞数の測定は、20倍の対物レンズを用いて病変の辺縁部と中心部から重ならないよう各2か所を任意に選定し、計4か所の細胞数の平均を算出した。その平均値をもとに各15症例の平均を算出した。

### 5. 統計解析

ウェルチのt検定を用いて平均値の差を比較し、危険率5%未満を有意水準として採用した。

## 結 果

### 1. CD34の発現 (図2)

血管内皮細胞層にCD34陽性細胞を認めた (図2a, 矢印)。しかし、内膜および外膜の細胞には陽性像は認めなかった。

腫瘍性線維腫内の紡錘形細胞にはCD34陽性所見を認めなかった (図2a)。

一方、義歯性線維腫のコラーゲン線維の豊富な線維性組織内の紡錘形細胞には、CD34陽性細胞がびまん性に観察された (図2b)。また、病巣内の小動脈の外膜の紡錘形細胞にもCD34陽性細胞を認めた (図2b, 矢印)。

陽性細胞率は、腫瘍性線維腫が0.0%であったのに対し、義歯性線維腫は74.54±5.67%であった。

### 2. Bcl-2の発現 (図3)

リンパ球の細胞質に明らかなBcl-2陽性像を認めた

(図3a, b, 矢印)。

腫瘍性線維腫内の紡錘形細胞にびまん性にBcl-2陽性所見を認めた (図3a)。

一方、義歯性線維腫のコラーゲン線維の豊富な線維性組織内の紡錘形細胞におけるBcl-2陽性所見は、リンパ球のそれに比べ弱い発現パターンを示した (図3b)。

陽性細胞率は、腫瘍性線維腫では86.50±8.04%であったが、義歯性線維腫では5.94±3.36%で、両者間に有意差を認めた (p<0.01) (図3c)。

### 3. Ki-67の発現 (図4)

被覆扁平上皮における基底層の細胞核に明らかなKi-67陽性像が観察された。腫瘍性線維腫内の紡錘形細胞の核にKi-67の発現が認められた (図4a, 矢印)。

一方、義歯性線維腫のコラーゲン線維の豊富な線維性組織内の紡錘形細胞の核にも陽性所見を認めた (図4b)。

陽性細胞率は、腫瘍性線維腫では0.34±0.20%であったが、義歯性線維腫では0.08±0.05%で、両者間に有意差を認めた (p<0.01) (図4c)。

### 4. マッソントリクローム染色所見 (図5)

周辺性歯原性線維腫の細胞間をコラーゲン線維が不規則に走行していた (図5a)。血管周囲性におけるコラーゲン線維の増生は認められなかった。また、コラーゲン線維の量は症例間で大きな差を示した。真の線維腫でも同様の所見を得た。

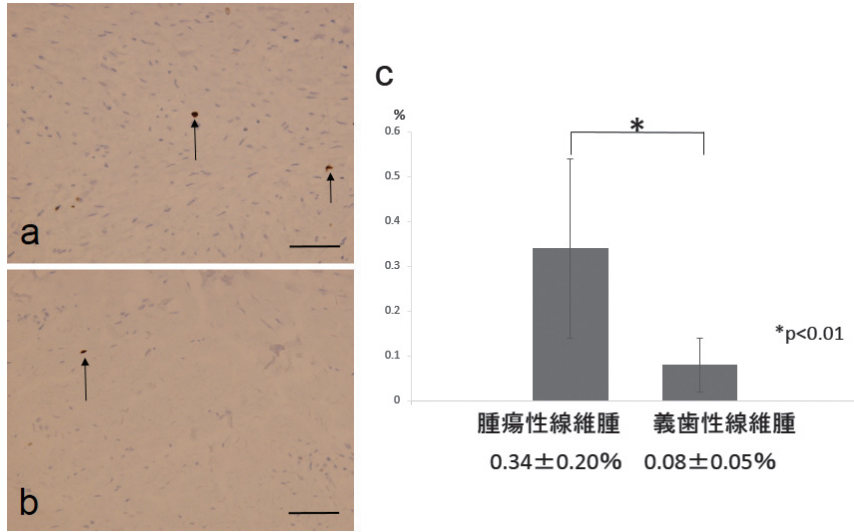


図4 Ki-67発現パターン

- a: 腫瘍性線維腫を示す。腫瘍胞巣内のKi-67陽性所見を矢印で示す。酵素抗体(SAB)法。400倍。スケールバー: 50 μm。
- b: 義歯性線維腫を示す。病変内のKi-67陽性所見を矢印で示す。酵素抗体(SAB)法。400倍。スケールバー: 50 μm。
- c: 陽性細胞率は、腫瘍性線維腫0.34±0.20%、義歯性線維腫0.08±0.05%であり、両者間に有意差を認める(p<0.01)。ウェルチのt検定。

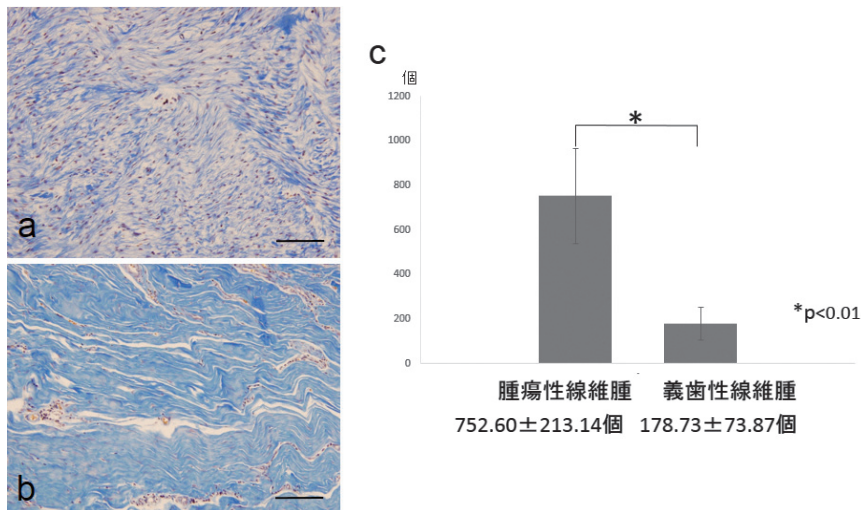


図5 コラーゲン線維のパターンと細胞数

- a: 腫瘍性線維腫を示す。腫瘍内のコラーゲン線維が不規則な走行を示す。マッソントリクローム染色。200倍。スケールバー: 100 μm。
- b: 義歯性線維腫を示す。比較的太い線維束が比較的規則的な走行を示す。また、細動脈の血管周囲性に同心円を描くようにコラーゲン線維の配列が認められ、その最外層から線維束が不規則に配列する像も観察される。マッソントリクローム染色。200倍。スケールバー: 100 μm。
- c: 細胞数は、腫瘍性線維腫752.6±213.14個、義歯性線維腫178.73±73.87個で、両者間に有意差を認める(p<0.01)。ウェルチのt検定。

一方、義歯性線維腫のコラーゲン繊維のパターンは症例間であまり変わらず、比較的太い線維束が比較的規則正しく走行していた(図5b)。また、細動脈の血管周囲性に同心円を描くようにコラーゲン繊維の配列が認められ、その最外層から線維束が不規則に配列する

像も観察された(図5b)。

5. 細胞数

腫瘍性線維腫で752.60±213.14個、義歯性線維腫で178.73±73.87個細胞が観察され、両者間で有意差を認めた(p<0.01)(図5c)。

## 考 察

口腔領域で観察される線維増殖性病変は比較的発生頻度の高い病変で、腫瘍性病変と反応性病変に分類されるが、その区別は比較的難しい場合が多く、実際の病理診断において鑑別が充分とはいえないのが現状である。

病理学的に義歯性線維腫は線維腫と称するが、その本体はコラーゲン線維の豊富な線維性組織の増生であり、過形成性の病変である。よって臨床的には義歯性線維腫と称されることも多い<sup>23)</sup>。この義歯性線維腫は、不適合な義歯による反復刺激が原因となっており、特に床縁による粘膜への刺激により生じ、好発部位は総義歯装着患者の前歯部と報告されている<sup>24)</sup>。フラビীগムは、病理組織学的には義歯性線維腫と同様の病変であるが、骨吸収を伴う点が異なる。このような線維成分の過形成が主体の病変は口腔領域に多く、原因の明らかな薬物性歯肉増殖症や咬傷などによる外傷性線維腫に加え、原因のはっきりしない線維性ポリープや線維性エプーリスがある。一方、腫瘍性の線維増殖性病変は比較的稀な病変であるが、真の線維腫、巨細胞線維腫、周辺性歯原性線維腫、孤立性線維性腫瘍、悪性線維性組織球腫、および線維肉腫などが存在する<sup>25)</sup>。本検討では、周辺性歯原性線維腫を主に用いたが、本病変は歯肉に好発し歯根膜を由来とする報告がある<sup>26,27)</sup>。良性腫瘍であり、再発も少なく予後良好な病変である。真の線維腫は、口腔のあらゆる部位で好発するが、紡錘形細胞の単調な増殖を認めることから、免疫組織化学的分析で神経系、筋系、および血管系の腫瘍を除外することが診断確定上必要不可欠である。本研究では、義歯の刺激により発生した義歯性線維腫と腫瘍性線維腫を比較することで、それぞれの特徴と両者間の違いを明確にし、鑑別に有用なマーカーかどうかを検討した。

CD34抗原は、分子サイズ約110 kDaの単鎖膜貫通型糖タンパクで、細胞外部に構造の異なる2つのドメインをもつ白血球抗原である<sup>28)</sup>。膜近傍領域にはアミノ酸約110個からなる球状構造を持ち、また一方のアミノ酸約140個からなるNH<sub>2</sub>末端領域には、N-結合型糖鎖とシアル酸を含むO-結合型糖鎖が付加しており、ムチン様の糖タンパクに典型的な棒状の構造を示している。CD34抗原は、Hematopoietic progenitor cell antigenとも呼ばれ、最も未分化な多能性幹細胞と全細胞系統の造血前駆細胞に発現する。最も未分化な幹細胞で高発現するが、各細胞系統に分化するに従って徐々に発現レベルが低下していく特徴がある<sup>28)</sup>。また近年では、CD34抗原は比較的小型

の毛細血管の内皮細胞や、未分化間葉系細胞のうち線維芽細胞と関連する抗原として定着してきており、病理診断において孤立性線維性腫瘍や隆起性皮膚線維肉腫の鑑別診断用のマーカーとして用いられている<sup>29)</sup>。本検討では、義歯性線維腫が非常に高レベルでCD34を発現していたが、腫瘍性線維腫では認められなかった。皮膚線維腫ではCD34は陰性<sup>29)</sup>であることから、口腔由来の腫瘍性線維腫と同様の所見を呈する。また、Leeら<sup>30)</sup>は、刺激性線維腫と孤立性線維性腫瘍の各1例を比較した症例報告において、両腫瘍がCD34陽性所見を示しており、本検討の義歯性線維腫におけるCD34陽性所見と符合する。一般的に線維芽細胞は、様々な生理的あるいは病理学的環境下で、その場に必要となる5つのタイプのコラーゲンを産生する<sup>31)</sup>。また、がん組織を構成する線維芽細胞には骨髄由来の細胞が存在することが報告されており、特殊な微小環境を構築する<sup>32)</sup>。さらに、腫瘍の増殖を促進あるいは抑制する線維芽細胞の存在も報告されており、腫瘍の間質を構成する線維芽細胞は重要な役割を果たすと考えられている<sup>33)</sup>。即ち線維芽細胞は、形態的に単調な紡錘形細胞であるが、その性状や由来は多彩であることから、病変での発現も多様であることが推測され、個々の組織型での特徴づけが重要である。特に、義歯性線維腫におけるCD34陽性所見で注目すべき所見は、通常の小動脈では、外膜に陽性所見は認められないが、義歯性線維腫内では小動脈の外膜の線維芽細胞にも陽性所見を示している。即ち、この外膜からもCD34陽性線維芽細胞が増生した可能性が考えられる。さらに、山田ら<sup>15)</sup>は、粘膜下組織の線維芽細胞にCD34の弱い発現を認めている。これらのことから、刺激に対し反動的に増殖している線維芽細胞は、CD34陽性と関連する線維芽細胞が特徴的に増殖している可能性が考えられ、とても興味深い。線維芽細胞に対して刺激によりCD34の発現が増加するかは、今後*in vitro*レベルでの解明が必要である。

Bcl-2は、濾胞性Bリンパ腫の発生に関与する遺伝子転座から発見された癌遺伝子であるが、生理的にはアポトーシス抑制因子の中心的な存在である<sup>34)</sup>。口腔に発生する良性腫瘍である多形腺腫の腫瘍性筋上皮細胞、エナメル上皮腫、および角化嚢胞性歯原性腫瘍の基底層の腫瘍細胞に強発現し、良性腫瘍でのアポトーシス抑制に関与していることが報告されている<sup>17-19)</sup>。義歯性線維腫ではリンパ球レベルに相当するBcl-2の発現を示す細胞は少ないが、腫瘍性線維腫では明らかな発現が認められた。さらに形態学的に義歯性線維腫には紡錘形細胞は少なく、紡錘形細胞を多く含む腫瘍性線維腫と統計学的に有意差が認められた。

腫瘍では細胞の自律的増殖が生じており、Bcl-2 の発現により細胞寿命の延長が起こるため、腫瘍細胞数の増加に関与している可能性が考えられる。一方、義歯性線維腫では初期に筋線維芽細胞が増殖し、タイプ III コラーゲンの産生後に線維の成熟に伴いタイプ I コラーゲンが主体を占め、筋線維芽細胞が消失していくことが報告されている<sup>35)</sup>。また、肉芽組織の癒着化の過程でも同様の現象が認められ、最終的には筋線維芽細胞はアポトーシスにより消失する<sup>36)</sup>。よって、Bcl-2 の発現レベルと細胞数は関連があることが考えられ、Bcl-2 の発現動態が病変の形成に関与する可能性が示唆された。

Ki-67 は、細胞増殖の程度を示す病理診断に広く用いられている細胞増殖マーカーである<sup>20)</sup>。Ki-67 は白血病患者の自己抗体として発見され、増殖性細胞の核小体および核分裂期の染色体上に発現する。しかしその機能については明確になっていない。Ki-67 は全 phase で発現しており、G1 期後期から発現量に変化が現れ、S 期で発現量が増加し、M 期で最大となるといわれている。Ki-67 は口腔癌をはじめ乳癌、胃癌、大腸癌、子宮癌など多くの腫瘍において、分化度、血管侵襲およびリンパ節転移といった腫瘍の悪性度や予後とよく相関することが知られており、細胞増殖マーカーとして非常に有用である<sup>37)</sup>。本研究では、義歯性線維腫と比較し、腫瘍性線維腫で有意に高い陽性細胞率を示した。一般的にエナメル上皮腫の Ki-67 陽性細胞率は 5% 以下で<sup>38)</sup>、周辺性歯原性線維腫では 1% 以下であることから、増殖活性としては低いと考えられる。しかし、自験例では初回切除 6 年後に再発した症例を経験しており、増殖活性が低いにもかかわらず再発の危険がある<sup>6)</sup>。再発に関してはこれまでに 2 例の報告があり<sup>39,40)</sup>、再発の多いエナメル上皮腫より増殖活性が低いとしても、腫瘍としての臨床的対応が必要であることが示唆された。

## 結 論

本検討では、3 つの免疫組織化学的マーカーの有用性を検討した。腫瘍性線維腫では、CD34 の発現は認めず、Bcl-2 の発現パターンはびまん性に陽性であった。マッソントリクローム染色では、比較的細いコラーゲン線維が不規則に形成されていた。一方、義歯性線維腫の CD34 発現動態は、病変内の細胞にびまん性に認められた。またマッソントリクローム染色では太いコラーゲン線維束の形成と小動脈外膜に CD34 陽性細胞を認め、これらからの紡錘形細胞の増生を示す所見が得られた。Ki-67 陽性細胞は、義歯性線維腫と腫瘍性線維腫間で有意差を示した。しかし、腫瘍性線維腫

の増殖活性は低く、他の増殖マーカーとの比較検討を行う必要がある。さらに線維性エプーリスも頻度の高い線維増殖性病変であるが、CD34 および Bcl-2 の発現を検討したところ何れも陰性を示した（未発表）。

以上の結果から、CD34 および Bcl-2 の発現パターンは線維増殖性病変の指標マーカーとして、過形成性病変と腫瘍性病変の鑑別に役立つ可能性が示唆された。さらに今後、刺激性線維腫と診断された症例に関して CD34 および Bcl-2 の発現を検討することで、診断の再検証する予定である。

## 謝 辞

本研究を進めるにあたり、いつも快く実験をお手伝いいただきました神奈川歯科大学大学院口腔科学講座環境病理学分野・唾液腺健康医学分野教室員の皆様に厚くお礼申し上げます。

## 利益相反

本研究は、学校法人神奈川歯科大学 COI 委員会において、利益相反に該当しないことが確認された。

## 文 献

1. 槻木恵一. 口腔ケアは、がん患者さんの QOL を高める：槻木恵一，神部好則編. がん患者さんの口腔ケアをはじめましょう. 第 1 版，学建書院，東京，13-21，2013.
2. de Santana Santos T, Martins-Filho PR, Piva MR, de Souza Andrade ES. Focal fibrous hyperplasia: A review of 193 cases. *J Oral Maxillofac Pathol Sep*; **18** (Suppl 1): S86-S89, 2014.
3. 佐藤方信，阿保諄一，武田康典，佐藤泰生，古屋 出，及川優子. 岩手医科大学歯学部口腔病理学教室における病理組織検査の報告—2003 年度の集計—. *岩医大歯誌* **29**: 163-167, 2004.
4. 刀根大輔，小川裕司，秋山 誠，松沢修司，高木 忍，篠塚和明，笹倉裕一，鎌田 仁，新藤潤一，槻木恵一，渡邊是久. 顎・口腔領域に発生した非歯原性良性腫瘍 653 例の臨床統計的観察. *日口誌* **8**: 409-415, 1995.
5. 石川悟郎. 非歯原性腫瘍：石川悟郎編. 口腔病理学 I. 第 2 版，永末書店，京都，536-543, 1984.
6. 槻木恵一，窪田展久，駒津栄雄. 周辺性歯原性腫瘍の臨床病理学的特徴についての検討. *神奈川歯学* **50**: 41, 2015.
7. 谷 正明，西川正雄，小林喜平，山本浩嗣，高橋義夫. 両側義歯性線維腫についての考察. *日大口腔科学* **10**: 48-52, 1984.
8. 宇都宮忠彦，山本浩嗣. 非歯原性腫瘍および腫瘍様病変：槻木恵一，賀来 亨編. *スタンダード口腔病態病理学*，第 2 版，学建書院，東京，193-202, 2013.
9. Toida M, Murakami T, Kato K, Kusunoki Y, Yasuda S, Fijitsuka H, Ichihara H, Watanabe F, Shimokawa K, Tatematsu N. Irritation fibroma of the oral mucosa: A clinicopathological study of 129 lesions in 124 cases.

- Oral Med Pathol* **6**: 91-94, 2001.
10. 大坪和則. 顎口腔領域に生じる結合組織の増殖を主体とする疾患の生化学的組織学的研究. 鶴見歯学 **13** (1): 109-126, 1987.
  11. Mighell AJ, Robinson PA, Hume WJ. Histochemical and immunohistochemical localization of elastic system fibers in focal reactive overgrowths of oral mucosa. *J Oral Pathol Med* **26**(4): 153-158, 1997.
  12. Manor E, Bodner L. Chromosomal aberrations in oral solitary fibrous tumor. *Cancer Genet Cytogenet* **174**: 170-172, 2007.
  13. Lo Muzio L, Mascolo M, Capodiferro S, Favia G, Maiorano E. Solitary fibrous tumor of the oral cavity: the need for an extensive sampling for a correct diagnosis. *J Oral Pathol Med* **36**: 538-542, 2007.
  14. 久岡正典, 橋本 洋. 孤立性線維性腫瘍とその類縁腫瘍. 病理と臨床 **22**: 132-139, 2004.
  15. 山田好江, 三好代志子, 渡辺是久. 刺激性線維腫における紡錘形細胞の特徴についての免疫組織化学的研究. 神奈川歯学 **43** (1): 20-30, 2008.
  16. Tsujimoto Y, Cossman J, Jaffe E, Croce CM. Involvement of the bcl-2 gene in human follicular lymphoma. *Science* **228**: 1440-1443, 1985.
  17. Pammer J, Horvat R, Weninger W, Ulrich W. Expression of bcl-2 in salivary glands and salivary gland adenomas. A contribution to the reserve cell theory. *Pathol Res Pract* **191**(1): 35-41, 1995.
  18. 駒津栄雄, 榎木恵一. 歯源性腫瘍の病理発生における bcl-2 の発現とその発現. 神奈川歯学 **34**: 193-208, 1999.
  19. Piattelli A, Fioroni M, Rubini C. Differentiation of odontogenic keratocysts from other odontogenic cysts by the expression of bcl-2 immunoreactivity. *Oral Oncol* **34**(5): 404-407, 1998.
  20. 榎木恵一. 第2部 各臓器, 疾患で用いられる抗体とその応用 1. 顎口腔領域. 病理と臨床 **25** (臨時増刊号), 28-33, 2007.
  21. Shafer WG, Hine MK, Levy BM. 5th ed. Reed Elsevier India Private Limited; Text Book of Oral Pathology; p441, 2006.
  22. Razavi SM, Tabatabaie SH, Hoseini AT, Hoseini ET, Khabazian A. A comparative immunohistochemical study of Ki-67 and Bcl-2 expression in solid ameloblastoma and adenomatoid odontogenic tumor. *Dent Res J (Isfahan)* **9**(2): 192-197, 2012.
  23. 新倉久市, 谷 勅行, 村上 亘, 根本信介, 柳生嘉博, 高德松, 石川雅夫, 山本美朗, 角田豊作. いわゆる義歯性線維腫症9症例についての臨床的知見. 補綴誌 **23** (2): 367-369, 1979.
  24. Sasai H, Yamamoto H, Matsumoto T, Fukumoto M, Otake S, Kobayashi K, Kato Y, Fujii A. A clinicopathological study of so-called denture fibroma. *J Nihon Univ Sch Dent* **32**(3): 204-210, 1990.
  25. 廣瀬隆則. 軟部腫瘍: 診断に役立つ免疫組織化学. 文光堂, 東京, 201-208, 2007.
  26. 河野憲司, 河野敬子, 賀来慶久, 小野敬一郎, 高橋陽夫, 柳沢繁孝. 上顎臼歯部に生じた周辺性歯源性線維腫の1例: オキシタラン線維およびテネインの分布. 日口外誌 **49** (9): 531-540, 2003.
  27. Reddy SV, Medikonda SK, Konda A, Natta S.A rare benign odontogenic neoplasm: peripheral odontogenic fibroma. *BMJ Case Rep*. **11**; 2014. pii: bcr2013201065.
  28. Jansen J, Hanks S, Thompson JM, Dugan MJ, Akard LP. Transplantation of hematopoietic stem cells from the peripheral blood. *J Cell Mol Med* **9**: 37-50, 2005.
  29. 大西誉光, 渡辺晋一. 皮膚良性腫瘍の診断に役立つ免疫組織化学検査. *MB Derma* **121**: 61-68, 2006.
  30. Lee JH, An JS, Lee ES, Kwon SY, Kim YS. Comparison of sporadic sclerotic fibroma and solitary fibrous tumor in the oral cavity. *Yonsei Med J* **48**: 535-539, 2007.
  31. 遠藤眞美. フェニトイン歯肉増殖症の病理組織学および免疫組織化学的検索—主としてコラーゲン線維について—. 日大口腔科学 **31**: 123-137, 2005.
  32. 石井源一郎, 落合惇志. がん組織を構成する線維芽細胞の起源. 顕微鏡 **43** (2): 104-108, 2008.
  33. Tlsty TD, Coussens LM. Tumor stroma and regulation of cancer development. *Annu Rev Pathol* **1**: 119-150, 2006.
  34. Tsujimoto Y. Stress-resistance conferred by high level of bcl-2 $\alpha$  protein in human B lymphoblastoid cell. *Oncogene* **4**: 1331-1336, 1989.
  35. Nakamura F, Fifita SF, Kuyama K. A study of oral irritation fibroma with special reference to clinicopathological and immunohistochemical features of stromal spindle cells. *Int J Oral-Med Sci* **4**: 83-91, 2005.
  36. Darby I, Skalli O, Gabbiani G.  $\alpha$ -smooth muscle actin is transiently expressed by myofibroblasts during experimental wound healing. *Lab Invest* **63**: 21-29, 1990.
  37. Tsukinoki K, Kamoi Y, Watanabe Y. Immunohistochemical study of DNA topoisomerase type II  $\alpha$  and Ki-67 in oral squamous cell carcinoma. *Oral Med Pathol* **6**: 79-84, 2001.
  38. Amaral FR, Mateus GC, Bonisson LA, de Andrade BA, Mesquita RA, Horta MC, Marigo Hde A. Cell proliferation and apoptosis in ameloblastomas and keratocystic odontogenic tumors. *Braz Dent J* **23**(2): 91-96, 2012.
  39. Patel S, Vakkas J, Mandel L. Recurrent peripheral odontogenic fibroma. Case report. *N Y State Dent J* **77**(4): 35-37, 2011.
  40. Michaelides PL. Recurrent peripheral odontogenic fibroma of the attached gingiva: a case report. *J Periodontol* **63**(7): 645-647, 1992.