難治性口腔・咽頭潰瘍の病理組織学的検討

北里大学医学部耳鼻咽喉科学教室（主任：設楽哲也教授）

稲木 勝 英，高橋 廣 臣

HISTOLOGICAL STUDY OF INTRACTABLE RECURRENT ULCER
OF THE ORAL CAVITY AND PHARYNX

KATSUhide INAGI, M.D. and HIRO-OMI TAKAHASHI, M.D.

Department of Otorhinolaryngology, Kitasato University, Kanagawa

Intractable recurrent ulcer of the oral cavity and pharynx was defined as irregular ulcerative lesions occurring only in the oral cavity and pharynx, showing no specific findings on clinico-hematological examinations, which recurred easily and were resistant to various treatments for at least one month. Twenty-two cases with intractable recurrent ulcer were studied histologically. The following results were obtained:

1. Five histological types (LP type, LPE type, NL type, NLE type and NLP type) were identified, according to the invasive cells present, using H.E staining.
2. Subclasses of the invasive lymphocytes were classified using UCHL1 and L26. As a result, both LP type cases showed dominant T lymphocyte invasion.
3. Appearances of the activated T lymphocytes and langerhans cells were studied using anti-Human HLA-DR and epithelial and endothelial expression of HLA-DR were observed. As a result, the characteristic findings of each histological type were demonstrated.

These results suggest that cellular immunity may participate in the occurrence and progression of intractable recurrent ulcer. However, its role in the causes and effects of ulcer cannot be confirmed at this point.

Key words: 難治性潰瘍，病理組織学的検討，HLA-DRA97-1047-50131

はじめに

口腔・咽頭の難治性潰瘍病変は，その原因に悪性腫瘍をはじめ，感染症，アレルギー疾患，自己免疫疾患，代謝性疾患，中毒性疾患等が含まれ，臨床上鑑別が必要な病変である。しかし，この中には明らかな原因を見いだすことができない難治性潰瘍病変があり，臨床医を悩ませるのも周知の事実である。そこで我々は，明らかな原因を見いだすことができず，再発傾向を持ち，適切な治療が行われないと1カ月以上も治癒しない潰瘍性病変を難治性口腔・咽頭潰瘍（以下難治性潰瘍）と定義し，その臨床像の検討を詳細に行い報告し

た¹⁾。その結果，難治性潰瘍には性，年齢，部位，潰瘍の性状，既往歴，予後についての疾患特異性があり，一疾患としてみなされるべきであると思われた。

今回我々は，これらの難治性潰瘍症例に対し形態的な特徴ならびに病因となるべき特異性を見いだすことを目的として病理組織学的に検討を行ったので報告する。

対 象

昭和46年6月より平成4年3月までに北里大学耳鼻咽喉科で治療を行った難治性潰瘍25例のうち病理組織

表1 対象症例の年齢、性を示す。

対 象		
男	年 齢	女
3	20歳代	0
6	30歳代	0
7	40歳代	0
2	50歳代	2
1	60歳代	1
19	計	3

学的検索をした22例（男性19例，女性3例）を対象（表1）とした。

方 法

1) 標本作製方法：病変部の生検材料をパラフィンに包埋し，これらの病理組織ブロックより3μmの連続薄切標本作製した。

2) 染色方法：一般染色としてはヘマトキシリンエオジン染色（以下H.E染色）を，特殊染色としてはGROCOTT染色を施行した。さらにモノクローナル抗体を用いてABC法（室温24時間放置）で免疫染色も行った。モノクローナル抗体としてはUCHL1, L26, HLA-DRを用いた（いずれもDako社製）。

3) 酵素抗体法の手順（ABC法）：脱パラフィン後アルコール脱水を行い3% H_2O_2 を30分浸透させ内因性ペルオキシダーゼ活性を除去し，PBSで洗浄後2%NSS貼布し，さらに一次抗体と室温で24時間反応させた。その後PBSで洗浄し二次抗体（ビオチン化マウスIgG抗体）と30分反応させた。続いてPBSで洗浄後アビシン-ビオチン複合体と反応させ，再度PBSで洗浄後DABで発色させヘマトキシリンで核染色を行った。

4) 観察方法：観察部位は潰瘍周囲の上皮および上皮下組織について行った。H.E染色標本に対しては，浸潤細胞の種類および形態を観察した。GROCOTT染色標本では，真菌の存在の有無についての観察を行った。モノクローナル抗体を用いた免疫染色標本に対してはそれぞれの一次抗体の種類で次のように行った。① UCHL1, L26を用いて上皮下に浸潤したリンパ球の分類を行った。② HLA-DRを用いて活性型Tリンパ球，ランゲルハンス細胞，血管内皮，上皮の観察を行った。活性型Tリンパ球およびランゲルハンス細胞に対しては出現度の違いより，出現のない（-）

図2 血管内皮のHLA-DR抗体陽性所見を示す。また，上皮基底層にも陽性所見を認める。（×50）

図3 上皮全層にHLA-DR抗体陽性所見を示す。（×50）

図1 HLA-DR 抗体で表出された活性型 T リンパ球の出現度による分類 (×100)

表2 対象症例の観察項目別結果一覧

症例 番号	組織分類 (HE)	GROCOTT 染色	浸潤リン パ球分類	上皮内活 性型Tリ ンパ球	上皮下活 性型Tリ ンパ球	上皮内ラ ンゲルハ ンス細胞	上皮下ラ ンゲルハ ンス細胞	HLA-DR	
								血管所見	上皮所見
1	LP	—	T細胞優位	+	+	—	—	陰性	陰性
2	LP	—	B細胞優位	+	++	—	—	陰性	陰性
3	LP	—	B細胞優位	+	+	—	+	陰性	陰性
4	LP	—	T細胞優位	+	+	—	—	陰性	陰性
5	LP	—	T細胞優位	++	+	—	—	陰性	陰性
6	LPE	—	T細胞優位	+	+	—	—	陽性	全層
7	LPE	—	T細胞優位	—	+	—	—	陽性	全層
8	NLE	—	T細胞優位	++	++	++	++	陰性	基底層
9	NLE	+	T細胞優位	++	+++	++	++	陰性	基底層
10	NLE	—	T細胞優位	++	+++	++	++	陰性	全層
11	NL	—	T細胞優位	+++	+++	+++	+++	陰性	陰性
12	NL	—	T細胞優位	+++	+++	++	++	陰性	陰性
13	NLP	—	T細胞優位	—	+++	+	++	一部陽性	基底層
14	NLP	—	T細胞優位	+++	+++	+	++	一部陽性	基底層
15	NLP	—	T細胞優位	++	+++	+	++	陰性	基底層
16	NLP	—	T細胞優位	++	+++	+++	+++	陽性	全層
17	NLP	—	T細胞優位	+++	+++	++	++	陽性	基底層
18	NLP	—	T細胞優位	+++	+++	++	+++	陽性	全層
19	NLP	—	T細胞優位	++	+++	+	++	陽性	基底層
20	NLP	—	T細胞優位	不明	+++	不明	+++	陽性	不明
21	NLP	—	T細胞優位	++	++	++	+++	陽性	全層
22	NLP	—	T細胞優位	—	+++	—	+	陰性	基底層

図4 浸潤細胞が主として好中球，リンパ球，形質細胞であるNLP型を示す。(×100)

群から数多く出現している(+++)群の4つの群(図1)に分類した。血管内皮は，陽性所見を呈さない陰性群と標本中の一部の血管内皮が陽性を呈する一部陽

性群とすべての血管内皮が陽性である陽性群(図2)とに分けた。上皮はまったく陽性所見を呈さない陰性群と上皮基底層部に陽性を呈する基底層群と上皮全層

図5 浸潤細胞が主としてリンパ球，形質細胞である LP 型を示す。(×100)

図6 浸潤細胞が主として好中球，リンパ球，好酸球である NLE 型を示す。(×100)

が陽性である全層群（図3）とに分けた。

結 果

1) H.E 染色：H.E 染色で見られた浸潤細胞の違いによる組織分類を表2に示した。主たる浸潤細胞が好中球，リンパ球，形質細胞である NLP 型（図4）が10例，リンパ球，形質細胞の LP 型（図5）が5例，好中球，リンパ球，好酸球の NLE 型（図6）が3例，リンパ球，形質細胞，好酸球の LPE 型（図7）が2例，好中球，リンパ球の NL 型（図8）が2例であった。さらにいずれの組織型においてもリンパ球浸潤がみられ，所々でリンパ小節を形成していた。

2) GROCOTTO 染色（表2）：NLE 型の1例に陽

性所見を認めた。しかし，その増殖形態はコロニーを形成しておらず，散在的に存在するに留まった。

3) 免疫染色（表2）

① 上皮下組織の浸潤リンパ球分類：上皮下組織に浸潤したリンパ球の型分類では，T 細胞優位例が20例で，B 細胞が優位であった症例は LP 型の2例であった。

② 活性型 T リンパ球について：上皮内での活性型 T リンパ球は観察不能例1例と陰性例3例を除いた18例に出現度の差はあるものの全例にその出現を認めた。NL 型や NLP 型では（+++）群が多くみられた。上皮下組織における活性型 T リンパ球の出現は，程度に差はあるものの全例に出現を認めた。LP 型や

図7 浸潤細胞が主としてリンパ球，形質細胞，好酸球である LPE 型を示す。(×100)

図8 浸潤細胞が主として好中球，リンパ球である NL 型を示す。(×100)

LPE 型では(+)群が，NLE 型，NL 型，NLP 型では(+++)群が多い傾向を認めた。

③ ランゲルハンス細胞について：上皮内でのランゲルハンス細胞の出現は13例にみられた。それに対し LP 型および LPE 型は全例(－)群であった。上皮下組織では16例に出現がみられ，組織分類でみると NLE 型，NL 型，NLP 型は全例にランゲルハンス細胞の出現を認めた。

④ 血管内皮について：血管内皮が染まらない陰性群が12例，一部陽性群が2例，陽性群が8例であった。LPE 群は全例陽性群であり，LP 群，NLE 群，NL 群は全例陰性群であった。NLP 群では血管内皮が陽性になることが多かった。

⑤ 上皮について：上皮が染まらない陰性群が7例，基底層部が染まる基底層群が8例，全層群が6例であった。LP 型，NL 型は全例陰性群で，他の組織分類型はいずれも陽性例となった。

考 察

口腔・咽頭領域の難治性潰瘍と題した本邦での報告は数多く認められるが，その原因が腫瘍性病変や特異的感染症や全身疾患の一部分症であることも多く，我々が提唱した難治性潰瘍に当てはまる症例となると渉猟し得た限りでは36例^{2)~19)}であった。これらの症例の臨床像は自験例と酷似しており，自験例と併せ年齢，性，潰瘍の局在部位，潰瘍の性状，口内炎の合併，予

後にこの疾患の特異性が挙げられると以前に我々は報告¹⁾した。しかし、報告例での病理組織所見をみるといずれも非特異的炎症としか述べられておらず、詳細に検討したものはなかった。そこで我々は難治性潰瘍の特異所見である潰瘍の部位、すなわち中咽頭を中心とした部位に潰瘍が生じることや潰瘍病変の性状として治癒と病状の進行が共存すること、潰瘍病変の出現前後および随伴してアフタ性口内炎を伴うこと、難治性病変であり高い確率で再発をすること、さらに治療において副腎皮質ステロイドやセファランチン、ブロンカズマベルナが有効であることなどより何らかの免疫学的要素が関与している可能性を考え、免疫学的手法を用いて難治性潰瘍の病理組織像を詳細に検討した。

その結果、H.E 染色レベルでは浸潤細胞の相違により5つの組織型に分けられた。ここで注目すべきことは、これら5つの組織型に常にみられるのがリンパ球浸潤である。さらに、浸潤リンパ球の分類としては主としてTリンパ球が浸潤していることがわかった。そこでこの浸潤Tリンパ球の機能や種類および細胞性免疫の程度をみるためにHLA-DRを用いて検討した。

H.E 染色レベルで分けられた浸潤細胞の相違による5つの組織型は免疫組織学的手法を用いることによりそれぞれの組織型に特徴のある所見を呈した。すなわち活性型Tリンパ球やランゲルハンス細胞の出現度で、両者の出現度の多いNLE型、NL型、NLP型と活性型Tリンパ球出現度が少なく、ランゲルハンス

細胞がみられないLP型、LPE型に大きく2分される特徴があり、さらにHLA-DRの血管内皮および上皮内での発現で、発現のないLP型と両者に発現がみられるLPE型が区別され、また、上皮のみ発現がみられるNLE型と両者とも発現のないNL型と両者とも発現のあるNLP型に区別される特徴を認めた。

この5つの組織型がもつそれぞれの細胞の出現およびMHCのclass II抗原発現の相違は、再発性口内炎で病期によりTリンパ球サブセットが変化すると報告²⁰⁾のように炎症という過程の元で1つの流れと判断すべきなのか、それとも少なくとも2つ以上の別の過程が存在すると判断すべきなのか、難治性潰瘍の病態を解明する上で非常に重要なことと思われる。しかし、現在のところ大きな問題点が5つある。すなわち、反復する疾患であり、また、アフター性口内炎を合併する症例が多く、患者がいう発症時期と潰瘍病変の時期が一致しない可能性があり病期が一定でないこと、2番目は生検材料であるため、小さな標本で、しかも病変の一部しか見られないこと、3番目は悪性腫瘍を疑い初診時に生検された症例もあるが、約半数の症例はなにかしらの治療にもかかわらず治りが悪く、治療の影響を考慮しなければならないこと、4番目としては、咽頭や口腔の潰瘍病変であるため2次的な感染により組織像が修飾される可能性があることである。5番目は今回の検討はretrospective studyであるため対象とした標本はすべてパラフィン固定切片であり、このため使用できる抗体に制限があることである。

図9 NLE型にみられた潰瘍部での真菌付着を示す。真菌の付着はNLE型の好酸球の浸潤の一因となりうる。(GROCOTT染色×100)

ここに挙げた5つの問題点が実際にはどのように関係してくるかを述べると次のようになる。すなわち、病理学上一般にいう炎症の時期による浸潤細胞の違いから考えると好中球やリンパ球の多いNL型、NLE型はどちらかという炎症の急性期の像をみていることになり、形質細胞の多いLPE型やLP型は慢性期の像を、また、NLP型はちょうどその中間に当たる時期の像をみていることになる。しかし臨床像からみた標本採取時期との関係をみたが組織像と時期の間には明らかな関係を得ることができなかった。このような相違が生じる1つの理由として先に挙げた1から3の問題点が挙げられる。また、4番目の問題点は、今回の症例中3例にバクテリア類の付着が認められ、さらに、図9のように真菌の付着が1例見られたことにある。この症例の組織型はNLE型であり、真菌の感染はこの組織中の好酸球の出現の一要因となり得る。このように難治性潰瘍の組織像には複雑な要因が絡んでおり、難治性潰瘍の発症機序はなおさらのこと、それぞれに特徴をもった組織型の生じる理由については現段階では言及できない。しかしながら、どれが陽性所見であるのか、陰性所見であるのかを見分ける上である程度の分類は必要であり、また出現している個々の細胞の機能をみる必要があると考える。

現段階で言えることは、上皮におけるHLA-DR抗原の発現、ランゲルハンス細胞、活性型T細胞の出現数の増加さらに標本採取部位が扁桃周囲の口腔・咽頭粘膜であるためそこに既存するリンパ小節の可能性もあるが、上皮下にリンパ小節を認める症例が多く、あたかもこのようなリンパ組織から遊走されたかのようにTリンパ球が上皮内に入り上皮を破壊している組織像が見られることも含め、難治性潰瘍の発症の一過程で免疫学的要因、特に細胞性免疫が関与する可能性が示唆される。このことは同一手法を用いた報告、すなわち扁平苔癬でケラチノサイトにHLA-DR抗原の発現がみられる部位でランゲルハンス細胞の出現が多い²¹⁾とか正常口腔粘膜に比べ扁平苔癬の上皮にランゲルハンス細胞が非常に多く認められる²²⁾との報告や、ペーチェットでの上皮HLA-DR抗原発現率が高く、ランゲルハンス細胞の出現が多いとの報告²³⁾さらにシェーグレン病等の自己免疫唾液腺疾患でHLA-DR抗原の発現が高い^{24)~28)}とか活性型Tリンパ球が多い²⁹⁾との報告がありこれらの病変の発症には免疫学的要因の関与が強く示唆されていることでも納得できる。

しかし今回の知り得た細胞性免疫の関与が原因なのか結果なのかは現在のところ断定することはできない。さらに、標本中にリンパ球の次に形質細胞の浸潤が多くみられており、この細胞の関与については今後の課題である。

ま と め

口腔・咽頭のみに生じた不規則な形の潰瘍性病変で、様々な検査でその原因を見いだすことができず、再発傾向を持ち、さらに適切な治療が行われないと1カ月以上も治癒しない病変を難治性口腔・咽頭潰瘍と定義し、該当する症例25例のうち標本採取がなされた22例に対し病理組織学的検討を行った。

1. H.E染色で浸潤細胞の種類により5つの組織型(LP型、LPE型、NL型、NLE型、NLP型)に分類した。

2. UCHL1, L26を用いて浸潤リンパ球の型分類を行いLP型の2例以外はすべてTリンパ球優位であった。

3. HLA-DRを用いて活性型Tリンパ球、ランゲルハンス細胞の出現度および血管内皮、上皮でのHLA-DRの発現について観察した。その結果組織分類別にそれぞれ特徴があることを示した。

4. GROCOTT染色にて真菌感染の有無について観察した。真菌感染がみられたのはNLE型の1例だけであった。

文 献

- 1) 稲木勝英, 高橋廣臣: 難治性口腔・咽頭潰瘍の臨床的検討. 日耳鼻 96: 1457-1464, 1993.
- 2) 辺土名 仁, 竹生田勝次, 石川紀彦, 砂倉瑞良, 北野元生: 難治性口腔咽頭潰瘍. 耳喉 58: 4-5, 1986.
- 3) 森川清見, 青木和博, 吉岡邦英, 望月元博, 本多芳男: 悪性腫瘍を疑わせた難治性の多発性口腔咽頭喉頭潰瘍. 耳展 27: 41-44, 1984.
- 4) 石田 孝, 藤本泰幸, 森田 守: 反復性咽頭潰瘍・再発性アフタ. JOHNS 5: 1619-1624, 1989.
- 5) 片山 昇, 内田 豊: 難治性口腔咽頭潰瘍の2症例. JOHNS 6: 355-360, 1990.
- 6) 福瀬信也, 牧本一男, 野井 理, 大森研史, 山本祐三 他: 再発する咽頭潰瘍の4症例. 耳鼻臨床 82: 843-850, 1989.
- 7) 浅井秀子, 瀧本 勲, 山田一美, 吉田兼人, 伸神みつ子: 再発性の口腔, 咽頭潰瘍の3症例. 耳鼻臨床 78増2: 1328-1333, 1985.

- 8) 馬場廣太郎：難治性口腔咽頭潰瘍—診断と治療—。耳鼻臨床 82：1520-1523, 1989.
- 9) 金子まどか, 長原太郎, 古川 滋, 古川政樹, 持松いづみ 他：咽喉頭狭窄をきたした再発性難治性口腔咽頭潰瘍の一症例。日気食会報 39：348-357, 1988.
- 10) 古内一郎, 馬場廣太郎, 島田 均, 小関芳宏, 池森享介 他：再発性潰瘍による下咽頭狭窄症例—再発性アフタに対する治療法—。JOHNS 2：621-625, 1986.
- 11) 増山敬祐, 石川 哮：咽頭潰瘍の診断と治療。JOHNS 5：981-985, 1987.
- 12) 半田 徹, 折田洋造, 山本英一：再発性口腔咽頭潰瘍の一症例。耳鼻臨床 補31：66-71, 1989.
- 13) 久保隆一, 鹿島直子, 村上良彦, 大野政一：難治性口腔潰瘍の2症例。耳鼻 15：44-49, 1969.
- 14) 長尾まゆみ, 長船宏隆, 荒木弘子, 平山玖美子, 梅沢美和子 他：治療に抵抗する移動性咽喉頭潰瘍治験3症例。耳展 補4：419-422, 1975.
- 15) 菅野 享, 森田勝三：治療困難な口内潰瘍の一例。耳鼻臨床 58：139-144, 1965.
- 16) 荻野 敏, 上塚 弘, 仲谷ハナコ, 辰巳敏文：難治性口腔・下咽頭潰瘍症例。通信医学 20：233-240, 1978.
- 17) 木村徹男, 宮田 守：難治性咽喉頭潰瘍の5症例について。日耳鼻 82：1238-1239, 1979.
- 18) 富樫紀彦, 荒木真哉：難治性・再発性口腔咽頭潰瘍について。日耳鼻 76：1127, 1973.
- 19) 柴田浩一, 広戸幾一郎, 中島 格, 安河内 彰：難治性咽頭潰瘍の放射線治療。耳鼻 21：640-646, 1975.
- 20) Savage NW, Seymour GJ, Kruger BJ：T-lymphocyte subset changes in recurrent aphthous stomatitis. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 60：175-181, 1985.
- 21) Farthing PM, Matear P, Cruchley AT：Langerhans cell distribution and keratinocyte expression of HLADR in oral lichen planus. J Oral Pathol Med 21：451-455, 1992.
- 22) Chou MJ, Daniels TE：Langerhans cells expressing HLA-DQ, 'HLA'-DR' and T6 antigens in normal oral mucosa and lichen planus. J Oral Pathol Med 18：572-576, 1989.
- 23) Poulter LW, Lehner T：Immunohistology of oral lesions from patients with recurrent oral ulcers and Behcet's syndrome. Clin exp Immunol 78：189-195, 1989.
- 24) Zarbo RJ, Regezi JA, Lloyd RV et al：HLA-DR antigens in normal, inflammatory and neoplastic salivary glands. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 64：577-584, 1987.
- 25) Fox RI, Bumol T, Fantozzi R et al：Expression of histocompatibility antigen HLA-DR by salivary gland epithelial cells in Sjogren's syndrome. Arthritis and rheumatism 29：1105-1111, 1986.
- 26) Franco A, Valesini G, Barnaba V et al：Class II MHC antigen expression on epithelial cells of salivary glands from patients with Sjogren's syndrome. Clin Exp Rheumatol 5：199-203, 1987.
- 27) Lindahl G, Hedfors E, Klareskog L et al：Epithelial HLA-DR expression and T lymphocyte subset in salivary glands in Sjogren's syndrome. Clin Exp Immunol 61：475-482, 1985.
- 28) Thrane PS, Brandtzaeg P：Differential expression of epithelial MHC class II determinants ('HLA'-DR', -DP, and -DQ) and increased class I expression in inflamed salivary glands. Adv Exp Med Biol 237：681-688, 1988.
- 29) Moutsopoulos HM, Hooks JJ, Chan CC et al：HLA-DR expression by labial minor salivary gland tissue in Sjogren's syndrome. Ann Rheum Dis 45：677-683, 1986.
-
- 稿を終えるにあたり、ご校閲を賜った北里大学耳鼻咽喉科学教室設楽哲也教授に深甚なる謝意を捧げます。
- 本研究の一部は第5回日本口腔・咽頭科学会総会シンポジウム(平成4年9月25, 26日, 岡山市)において発表した。
- 本研究は平成4・5年度文部省科学研究費補助金(課題番号4771297,)の助成を受けて行われた。
-
- (1993年11月4日受稿 1994年1月13日受理)
- 別刷請求先 〒228 相模原市北里1-15-1
北里大学医学部耳鼻咽喉科学教室 稲木勝英