原 著

剝離細胞診が有用であった歯肉に発症した水疱性疾患の3例

久山佳代 遠藤弘康* 中臺麻美**
Sisilia F. Fifita 孫 燕 加藤仁夫**
山本浩嗣

抄録：剝離細胞診は口腔粘膜病変の表層から細胞を採取し、顕微鏡下で観察する比較的簡便な検査方法である。剝離細胞診が診断の推定に有用であった歯肉に発生した水疱性疾患3例を報告する。すべての症例で歯肉の疼痛および紅斑性変化が認められた。細胞はサイトブラシを用いて付着歯肉を擦過して採取された。その結果、2例は辺縁がライトブルーで核周囲がエオジン好性のツートンカラーの細胞質を有する Tzanck 細胞が観察され、尋常性天疱瘡の可能性が推察された。また同2症例中の1例のคอร์チコステロイド外用薬による治療経過中に、さらに別の1例でも、核がスリガラス状を示し、向き合う核相互が押し合うように接触した細胞相互圧排を伴う多核化を呈したウイルス感染を疑わせる細胞が観察された。口腔剝離細胞診は、今回提示した3例の、ヘルペスウイルス感染あるいは尋常性天疱瘡の歯肉病変におけるスクリーニングに対して有用であった。

キーワード：水疱性疾患、尋常性天疱瘡、単純ヘルペス感染症、口腔剝離細胞診

緒 言

歯肉は、角化した重層扁平上皮で覆われた緻密な線維組織である。最も一般的な歯肉疾患は、歯肉縁に蓄積したプラークが原因で生じるプラーク性歯肉炎である。それに対して、少数ではあるが、特異細菌やウイルス、真菌、あるいは皮膚粘膜疾患、アレルギー反応が原因で発症する非プラーク性歯肉疾患も存在する¹⁾。歯肉に発症する水疱性疾患には、ウイルス感染症と自己免疫性水疱性疾患が含まれる²⁾。形成された歯肉水疱は、食事や歯のブラッシング等の刺激により容易に破裂し、びらんや潰瘍など非特異的な臨床所見を示すことから、早期診断が困難な症例もある。水疱性疾患に対する剝離細胞診は、歯科臨床での認知度はいまだ乏しいが、診断の一助として有用であることが多い。

本論文では歯肉に発症した水疱性疾患の3例に対して剝離細胞診を用いたところ、鑑別診断上で有用であったのでその経過を報告する。

症 例

症例1

患者：21歳、女性。

主訴：歯肉の疼痛。

既往歴：特記事項なし。

家族歴：特記事項なし。

現病歴：約1週間前から倦怠感と発熱があり市販の感冒薬を服用したが改善しなかった。来院前日から歯肉の疼痛と歯の浮遊感を認めるようになったため、当院を受診した。

現症：全身所見として、37.7℃の発熱がみられた。摂食時には歯肉の接触痛が強く、また、歯のブラッシングも困難であった。

口腔内所見：上下顎唇側および口蓋側の辺縁歯肉が発赤し、歯間乳頭歯肉の腫脹が認められた (Fig. 1-a, 下顎唇側歯肉)。舌背部には約2mm大の小水疱が存在し (Fig. 1-b)、下唇内側には潰瘍形成がみられた。

細胞学的所見：歯肉および舌背部から剝離細胞診を施行した。細胞診標本は、粘膜上皮細胞を擦過採取したサイトブラシを直接スライドガラスに塗抹し、速やかに95%アルコール溶液にて固定後、Papanicolaou染色を施行して作製した。スクリーニングは光学顕微鏡 (ECLIPSE E600, Nikon) にて行った。歯肉から採取された細胞像を図 (Fig. 1-c, d) に示す。重層扁平上皮を構成する上皮細胞は、表層から基底膜側に向かって表層細胞、中層細胞、傍基底細胞、基底細胞と呼ぶ。強拡大にて、好中球を主体とする炎症性背景に、核は小型で濃縮状、直径40-50μm大のエオジン好性で多稜形の細胞質を有する表層細胞 (Fig. 1-c, d, 矢印) および表層細胞より核が大型で、直径約30μm大のライトブルーに染まる中層細胞が認められた。中層細胞の核は核縁のみが縁取られたように肥厚し、核内は白く抜けた無構造 (スリガラス状) を呈していた (Fig. 1-c, 矢頭)。

日本大学松戸歯学部口腔病理学講座 (主任：山本浩嗣教授)

* 日本大学松戸歯学部歯周治療学講座

** 日本大学松戸歯学部口腔顎顔面インプラント学講座

〔受付：2009年7月9日、受理：2009年12月3日〕

Fig. 1 Case 1. A 21-year-old female who was diagnosed as PHGS.

- a: Mild erythematous, swelling and painful gingiva.
 b: Vesicle on the dorsum of the tongue.
 c: The cluster of intermediate cells with nuclear ground glass appearance (arrowhead) and superficial cell (arrow) (Pap. staining, original magnification $\times 400$).
 d: Multi-nucleated cells with nuclear molding (arrowhead) and superficial cell (arrow) (Pap. staining, original magnification $\times 400$).

集塊を構成する細胞の中には、核が押し合うように接触した（細胞相互圧排像：molding）多核細胞が多数混在していた（Fig. 1-d, 矢頭）。これらの所見はウイルス感染を示唆するものと考えられた。

血清学的所見：補体結合試験（complement-fixation test, 以下 CF）による単純ヘルペスウイルス抗体検査を施行した。初診時の CF 抗体価は 4 倍未満であったが、4 週間後の回復期には CF 抗体価 64 倍であった。

診断：口腔病変発症前に前駆症状が認められたことから臨床診断を疱疹性歯肉口内炎（primary herpetic gingivostomatitis, 以下 PHGS）とした。その後、細胞学的にウイルス感染が示唆され、さらに、初診時と 4 週後のペア血清で CF 抗体価に 4 倍以上の上昇が認められたことから PHGS の診断が確認された。

症例 2

患者：45 歳，女性。

主訴：歯肉の接触痛。

既往歴：特記事項なし。

家族歴：特記事項なし。

現病歴：6 か月前からブラッシング時に歯肉の痛みを感じるようになったが、そのまま放置。歯科治療受診時に歯肉の紅斑とびらんを歯科医に指摘され、精査加療目的で来院した。

口腔内所見：下顎前歯部唇側の歯肉辺縁に局限した紅斑とびらんが認められた（Fig. 2-a）。舌，頬粘膜には病変はみられなかった。

細胞学的所見：細胞診標本の作製およびスクリーニングは、前述（症例 1）と同様の方法で行った。来院初日に歯肉病巣部から剝離細胞診を施行した。標本には好中球主体の炎症性背景に、核腫大を呈し、細胞質は大型でオレンジ色に染まる表層細胞と、表層細胞より小型で、辺縁がライトブルーで核周囲がエオジン好性のツートンカラーを示し、多稜形の細胞質を有する中層細胞が、平面的な敷石状

配列ないし孤立散在性に出現していた（Fig. 2-b, c）。中層細胞の核はやや膨化しながら細胞の中心に位置し、核形は類円形、核形不整はなく、核クロマチンは細顆粒状で比較的 N/C 比が高く、Tzanck 細胞の特徴を呈していた（Fig. 2-c）。またツートンカラーを示さず、細胞質の辺縁が比較的濃いブルーに染まり、核周囲の細胞質が明庭化している細胞も認められた（Fig. 2-c, 矢頭）。Giemsa 染色では、核周囲細胞質の明庭化が明瞭に観察された（Fig. 2-d, 矢印）。これらの細胞診の結果から尋常性天疱瘡（pemphigus vulgaris, 以下 PV）の可能性が推察された。

組織学的所見：その診断を確認するために、来院 2 日目に歯肉から生検が施行された。病理組織検査では、上皮内水疱が形成され、上皮基底部の水疱壁には基底膜を含む基底細胞が残存していた。残存する基底細胞は、上下もしくは隣接する細胞間の接着が障害されているが、基底膜との接着は保った墓石状配列を呈していた。水疱内には棘融解した Tzanck 細胞が観察された（Fig. 2-e）。直接蛍光抗体（direct immunofluorescence, 以下 DIF）法による検査では、標本中の IgG, IgA, IgM, C3, フィブリノーゲン沈着の有無について調べた結果、上皮細胞間で IgG（Fig. 2-f）と C3 の沈着像が認められた。

診断：上記検査所見と臨床所見とを合わせて PV と診断した。

症例 3

患者：31 歳，女性。

主訴：歯肉の疼痛。

既往歴：特記事項なし。

家族歴：特記事項なし。

現病歴：2 か月前より歯肉に疼痛を認めるようになり、近医を受診したが確定診断は得られず、当院を受診した。

処置および経過：来院初日に下顎歯肉病変部（Fig. 3-a, 矢印）から施行した剝離細胞診では、膨化した核と核周囲の細胞質の明庭化を伴う Tzanck 細胞を認め、PV の推定

Fig. 2 Case 2. A 45-year old female who was diagnosed as PV.

- a: Diffuse erythematous attached gingiva.
- b: Tzanck cells with two-ton colored cytoplasm (arrow) (Pap. staining, original magnification $\times 400$).
- c: Tzanck cells with nuclear enlargement (arrow) and perinuclear clear zone; halo (arrowhead) (Pap. staining, original magnification $\times 400$).
- d: Tzanck cells with perinuclear clear zone; halo (arrow) (Giemsa staining, original magnification $\times 400$).
- e: Acantholytic cells in the intraepithelial vesicle (H.E. staining, original magnification $\times 200$).
- f: Direct binding of IgG to the intercellular substance of stratum spinosum cells (DIF, original magnification $\times 400$).

Fig. 3 Case 3. A 31-year old female who was diagnosed as PV infected HSV.

- a: Macrofinding of initial examination.
- b: Cytological findings of initial examination with Tzanck cells with perinuclear halo (arrow) (Pap. staining, original magnification $\times 400$).
- c: Acantholysis and a layer of basal cells remains covering the mucosal papillae; row of tombstones (H.E. staining, original magnification $\times 200$).
- d: Macrofindings after applying topical corticosteroid with ruptured vesicle (arrow).
- e: Cytological findings after applying topical corticosteroid of Tzanck cells with nuclear enlargement (arrow) and multi/bi-nucleated cells with thickening nuclear border, nuclear ground glass appearance and molding (arrowhead) (Pap. staining, original magnification $\times 400$).

診断を得た (Fig. 3-b, 矢印)。来院2日目に歯肉の生検を施行し、病理組織学的に上皮内水疱の形成が認められ、水疱内には棘融解した Tzanck 細胞が観察され (Fig. 3-c)、さらに DIF 所見 (上皮細胞間での IgG と C3 の沈着) から PV の確定診断を得た。歯肉病変の治療はコルチコステロイド外用薬 (0.1% トリアムシノロンアセトニド) を塗布することにより行った。治療開始後1週間で歯肉疼痛が憎悪したため、コルチコステロイド治療を一時中断した。水疱痕周囲から剝離細胞診を試行した。

口腔内所見：コルチコステロイド治療を行った上顎左側前歯部唇側歯肉は発赤腫脹し、易出血性であった。唇側角化歯肉には破裂した水疱痕がみられた (Fig. 3-d, 矢印)。

細胞学的所見：細胞診標本の作製およびスクリーニングは、前述 (症例1) と同様の方法で行った。歯肉病巣部 (Fig. 3-d, 矢印) から剝離細胞診が試行された。標本は出血性および炎症性背景に、核は類円形で膨化し比較的 N/C 比が高い Tzanck 細胞 (Fig. 3-e, 矢印) と、核縁のみが縁取られたように肥厚し、核内は白く抜けた無構造 (スリガラス状) を呈し、細胞相互圧排を伴う多核細胞が出現していた (Fig. 3-e 矢頭)。前者からは PV が、後者からはウイルス感染が示唆された。

診断：初診時下顎歯肉より PV と確定診断されたが、その後に生じた上顎歯肉の病変は PV の上にウイルス感染が合併したものと考えられた。その誘因として局所に使用されたコルチコステロイド外用薬が考えられた。

考 察

口腔の細胞診は、患者への外科的侵襲が少なく、繰り返し試行できるため、粘膜疾患のスクリーニングから治療後の経過観察に至るまで、その応用範囲が広い。特に水疱性疾患は、容易にびらんを形成するため、剝離細胞診により深層細胞を採取しやすく、その診断精度が高い。さらに歯科臨床ではコルチコステロイド外用薬の使用頻度は高く、その副作用によるヘルペスウイルス感染を細胞診によりスクリーニングできることが患者への大きな利益につながる。ウイルス感染細胞の検出には polymerase chain reaction (以下 PCR 法) によるウイルスの DNA 診断も行われる。しかし、細胞診は PCR 法に比べて、簡単、迅速であり安価な方法である³⁾。本報告では、ヘルペスウイルス感染症例、PV 症例および PV とヘルペスウイルス感染合併症例について剝離細胞診が有用であった3症例を報告した。

PHGS は、単純ヘルペスウイルス1型の初感染により発症する。初感染例の大多数が不顕性であり、残り少数の患者で口腔あるいは皮膚病変が発症する。PHGS は主に幼児に発症するが、成人にも発症する⁴⁾。近年では初感染時期が高齢化傾向にあり、自験例1も21歳の成人例であった。

臨床症状は、倦怠感や発熱等の前駆症状の後に発症する歯肉炎と口内炎であることが多い。PHGS の歯肉炎は、有痛性で歯間乳頭および辺縁歯肉が発赤腫脹する。びらんや潰瘍がみられる場合もある⁵⁾が、概して非特徴的な歯肉症状である。口唇や皮膚における PHGS の発疹は、特徴的な小水疱の集簇であり、このような臨床像からの診断は比較的容易と考えられる。しかしながら、自験例1でみられた非特徴的な歯肉病変からでは PHGS の臨床診断が困難となることも予想される。その際、剝離細胞診によるウイルス感染細胞の検出は PHGS の診断に有用であると考えられる。細胞診標本におけるウイルス感染細胞は、核縁の肥厚、スリガラス状核、核内封入体、細胞相互圧排像や多核細胞などの所見を示す⁶⁾。剝離細胞診によるウイルス感染細胞の検出精度は高いが、ウイルスの種類を同定できない。そのため自験例1では、感染初期と回復期のペア血清による単純ヘルペスウイルスに対する CF 抗体価の比較を行い、PHGS の診断が確認された。

PV は、上皮の棘融解を伴う自己免疫性水疱性疾患である。40歳から50歳代に多くみられ、その罹患では男女で差がない。PV の主要抗原は、上皮細胞表層にあるデスモゾームの構成蛋白であるデスモグレイン3である²⁾。PV 患者の80%以上で口腔が初発部位であり、皮膚粘膜部位に先行して発症すると考えられている⁷⁾。PV が歯肉に発症すると剝離性歯肉炎の症状を示すことが多く²⁾、口腔での水疱形成はあってもすぐ破れてびらんになる^{8,9)}。そのため、PV を水疱の存在から早期に診断することは場合により困難であり、しばしば診断確定に6か月以上を要したとの報告もみられる⁷⁾。

われわれは、非特徴的な臨床症状を呈する口腔病変に対して、剝離細胞診の応用を臨床医に推奨している。特に、細胞標本中の Tzanck 細胞は PV に対する診断価値があると考えられている¹⁰⁻¹³⁾。Coscia-Porrazzi ら¹²⁾ は、40人の PV 患者について剝離細胞診を行い、37人に Tzanck 細胞が検出されたことを報告した。PV でみられる Tzanck 細胞は有棘した深層型の扁平上皮細胞であり、核の肥大と核小体の腫大がみられる。細胞質周縁部は濃染し、核周囲明庭のある濃染核を有す⁶⁾。非常に特徴的な細胞所見であるため、標本中に僅少な Tzanck 細胞の出現であっても見逃してはならない。PV に対する診断の信頼性を高めるため細胞標本に対して DIF あるいはその他の免疫染色を行い、Tzanck 細胞表面の IgG 自己抗体沈着を確認することも行われている¹⁰⁻¹³⁾。しかしながら、Tzanck 細胞の出現は PV の確定診断にはならず、あくまでも推定診断であることに注意すべきである。PV の確定診断には、(1) 適切な臨床所見；(2) 生検標本では基底細胞の残存と棘融解の確認；(3) 組織中、血清中あるいはその両者における自己抗体の確認により総合的に判断する必要がある¹⁴⁾。

自験例2と3では、来院初日に施行した剥離細胞診で Tzanck 細胞を検出したことがきっかけとなり、迅速な PV の確定診断に結びついた。従って、歯肉病変から PV の早期診断を得るための補助手段として、剥離細胞診は提示した2症例では有用であった。

一方、標本中の Tzanck 細胞はウイルス感染を示唆する細胞と類似した細胞所見を示す場合がある。特に、PV に合併してヘルペス感染が発症した際には細胞所見による診断が困難となることが推測される¹⁵⁻¹⁷⁾。自験例3では、コルチコステロイド外用薬による PV の治療中、剥離細胞診にて多数の Tzanck 細胞と共にウイルス感染を示唆する細胞が検出された。したがって水疱性疾患の細胞診標本をスクリーニングする際には、これら細胞所見を十分に熟知し臨床所見を鑑みながら慎重に行わなくてはならない。加えて、口腔粘膜からの剥離細胞像は、部位ごとに所見が異なることも付記したい。歯肉は咀嚼粘膜であり、正常であっても軽度の炎症性背景に角化型と非角化型重層扁平上皮が混在して出現する。また Tzanck 細胞とヘルペスウイルス感染細胞の細胞学的鑑別は、前者では核の膨化、細胞質の辺縁での濃染化および核周囲での明庭化（あるいはツートンカラー）が、後者では核縁の肥厚および核内のスリガラス状変化および細胞相互圧排像を伴う多核細胞の出現、今回は明らかでなかったが核内封入体の所見などが重要な細胞所見である。

この様に、コルチコステロイド治療に反応しない PV 例ではウイルス感染の合併を疑う注意が必要である。ウイルス感染の有無を早期に知るにより、コルチコステロイド外用薬の誤った継続使用を回避できる。このような場合、ウイルス感染も疑って剥離細胞診断を試みるのも有用であると思われる。

結 論

歯肉に発症した水疱性疾患の3例に対して剥離細胞診を行うことにより、ウイルス感染を示唆する細胞あるいは Tzanck 細胞が検出され、診断の推定および早期診断を得るための補助手段として有用であった3例を報告した。

参考文献

- 1) Holmstrup P: Non-plaque-induced gingival lesions. *Ann Periodontol* 4 : 20-31, 1999.
- 2) Scully C and Challacombe SJ: Pemphigus vulgaris: update on etiopathogenesis, oral manifestations, and management. *Crit Rev Oral Biol Med* 13 : 397-408, 2002.

- 3) Ozcan A, Senol M, Saglam H, et al.: Comparison of the Tzanck test and polymerase chain reaction in the diagnosis of cutaneous herpes simplex and varicella zoster virus infections. *Int J Dermatol* 46 : 1177-1179, 2007.
- 4) Ajar AH and Chauvin PJ: Acute herpetic gingivostomatitis in adults: a review of 13 cases, including diagnosis and management. *J Can Dent Assoc* 68 : 247-251, 2002.
- 5) Arduino PG and Porter SR: Herpes simplex virus type 1 infection: overview on relevant clinico-pathological features. *J Oral Pathol Med* 37 : 107-121, 2008.
- 6) 山本浩嗣, 武田泰典, 田中陽一: 口腔病変の細胞診, 永末書店, 東京, 1991, 89-103 頁.
- 7) Sirois DA, Fatahzadeh M, Roth R, et al.: Diagnostic patterns and delays in pemphigus vulgaris: experience with 99 patients. *Arch Dermatol* 136 : 1569-1570, 2000.
- 8) Endo H, Rees TD, Matsue M, et al.: Early detection and successful management of oral pemphigus vulgaris: a case report. *J Periodontol* 76 : 154-160, 2005.
- 9) Mignogna MD, Lo Muzio L and Bucci E: Clinical features of gingival pemphigus vulgaris. *J Clin Periodontol* 28 : 489-493, 2001.
- 10) Laskaris G, Papanicolaou S and Angelopoulos A: A Immunofluorescent study of cytologic smears in oral pemphigus: a simple diagnostic technique. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 51 : 531-534, 1981.
- 11) Faravelli A, Sironi M, Villa E, et al.: Immunoperoxidase study of cytologic smears in oral pemphigus. *Acta Cytol* 28 : 414-418, 1984.
- 12) Coscia-Porrazzi L, Maiello FM, Ruocco V, et al.: Cytodiagnosis of oral pemphigus vulgaris. *Acta Cytol* 29 : 746-749, 1985.
- 13) Mignogna MD, Lo Muzio L, Mignogna RE, et al.: Oral pemphigus: long term behaviour and clinical response to treatment with deflazacort in sixteen cases. *J Oral Pathol Med* 29 : 145-152, 2000.
- 14) Mimouni D, Noursari CH, Cummins DL, et al.: Differences and similarities among expert opinions on the diagnosis and treatment of pemphigus vulgaris. *J Am Acad Dermatol* 49 : 1059-1062, 2003.
- 15) Hale EK and Bystry J: Atypical herpes simplex can mimic a flare of disease activity in patients with pemphigus vulgaris. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 13 : 221-223, 1999.
- 16) Takahashi I, Kobayashi TK, Suzuki H, et al.: Coexistence of pemphigus vulgaris and herpes simplex virus infection in oral mucosa diagnosed by cytology, immunohistochemistry, and polymerase chain reaction. *Diagn Cytopathol* 19 : 446-450, 1998.
- 17) Kalabaka M, Hars E, Cohen L, et al.: Cytology of concomitant oral lesions. *Ann Dent* 47 : 3-7, 1988.

別冊請求先: 久山佳代 〒271-8587 千葉県松戸市栄町 2-870-1
日本大学松戸歯学部口腔病理学講座

Three Cases of Vesiculo-bullous Lesions of the Gingiva with Effectiveness of Exfoliative Cytology

Kayo KUYAMA, Hiroyasu ENDO*, Mami NAKADAI**,
Sisilia F. FIFITA, Yan SUN, Takao KATO**,
and Hirotsugu YAMAMOTO

Department of Oral Pathology, Nihon University School of Dentistry at Matsudo
(Chief: Prof. Koji YAMAMOTO)

** Department of Periodontology, Nihon University School of Dentistry at Matsudo*

***Department of Oral and Maxillofacial Implantology,
Nihon University School of Dentistry at Matsudo*

J. Jpn. Oral Muco. Membr., 15 : 53 ~ 58, 2009

Abstract : Oral exfoliative cytology is one of simple examination methods in which cells are scraped from the surface of oral lesions observed under a microscope. The present report of 3 cases describes the patients showing the gingival diseases with vesicubullous lesions that were presumptively diagnosed by exfoliative cytology. All 3 patients complained of painful and erythematous gingivae. Smears were obtained by brushing the attached gingiva using a cytobrush. Tzanck cells, which were demonstrated two-ton colored cytoplasm; eosinophilic in nuclear surroundings and light-blue in periphery of cytoplasm, were observed in 2 cases. Therefore, the possibility of pemphigus vulgaris was suspected. Cells where virus infection was suggested, those were demonstrated nuclear ground glass appearance and multi-nucleated; each nucleus was face to face with another squeezed together, were observed during the therapeutic process with applying topical corticosteroid in one of the same 2 cases, and additionally in another one case. Thus, the exfoliative cytology was useful in screening for herpes virus infection or pemphigus vulgaris on the gingival lesions in these 3 cases.

Key words : vesiculo-bullous lesion, pemphigus vulgaris, herpes simplex virus infection, exfoliative cytology

Reprint requests to Kayo KUYAMA, Department of Oral Pathology, Nihon University School of Dentistry at Matsudo, 2-870-1, Sakae-cho Nishi, Matsudo, Chiba 271-8587, Japan.

[Received July 9, 2009 : Accepted December 3, 2009]