口腔内に発生した色素性母斑の免疫組織化学的検索 ——口蓋の1例について——

高木 寿史・橋本 淳二・山田 和人
磯野 和男・森 昌彦

Immunohistochemical study of a pigmented nevus in the oral mucosa ——A case affecting the palate——

Hisashi TAKAGI・Junji HASHIMOTO・Kazuto YAMADA
Kazuo ISONO・Masahiko MORI

Abstract: A pigmented nevus is defined as a hamartomatous proliferation of nevus cells, and it is a most common skin lesion. Pigmented nevi of the oral mucosa are considered to a rare lesion with only a few cases being reported in Japan. Here, an intradermal nevus on the palate is described together with the results of immunohistochemical studies. A 44-year-old man had noted pigmentation and swelling of the palate for few years, but it was asymptomatic and not treated previously. The lesion was diagnosed to be an intradermal nevus histopathologically, and numerous melanocytic masses were seen in the connective tissue under the palatal epithelia. The melanin pigment stained with Masson-Fontana stain. Immunohistochemically, the following antibodies were tested: PoAb S-100 protein, MoAb S-100 α , MoAb S-100 β , MoAb or PoAb neuronspecific enorase (NSE), PoAb substance P, MoAb chromogranin A, keratin (MoAb K8.12, KL1), MoAb vimentin, and MoAb glial fibrillary acidic protein (GFAP). The melanocytes were positive to PoAb S-100 protein, MoAb S-100 β and MoAb vimentin.

Key words: intradermal nevus (真皮内母斑), immunohistochemistry (免疫組織化学), palatine lesion (口蓋部病変)

緒 言

色素性母斑は、メラニン色素形成能を有するメラノサイトの過誤腫的な増殖病変で、皮膚に多発するが、口腔粘膜における報告は稀であり最近のほとんどの報告は抄録である。組織学的には接合性母斑、真皮内母斑、複合性母斑、さらに特殊型として青色母斑、および若年性黒色腫に分類される。今回、口蓋粘膜に拇指頭大の膨隆を

認めた色素性母斑の1例を経験したので免疫組織化学的検索を含めて報告する。

症 例

患 者：44歳 男性。

初 診：平成4年4月■日

主 訴：右側口蓋粘膜大白歯部腫瘍

現病歴：数年前より右側口蓋粘膜に台地状の腫瘍を認めるも、何ら症状なく放置していた。しかし、腫瘍が徐々に増大してきたため来院した。

既往歴・家族歴：特記事項なし。

全身所見：特記事項なし。

口腔内所見：右側口蓋粘膜に境界明瞭で部分的な黒褐色の色素沈着を伴う、3×2 cm の腫瘍が認められた。口

朝日大学歯学部口腔外科第1講座

(主任：森 昌彦教授)

First Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Asahi University School of Dentistry (Chief: Prof. Masahiko Mori)

受付日：平成4年9月17日

写真 1 初診時の口腔内模型写真
右側口蓋部に約 3×2 cm の腫瘍が認められる。

蓋粘膜の大部分は色素沈着を認めなかった(写真 1)。

X線所見: 骨吸収は認められなかった。

初診時臨床診断: 色素性母斑。

処置および経過: 平成 4 年 4 月 日, 上記臨床診断のもと, 局麻下にて周囲の正常口蓋粘膜とともに一塊として摘出し, 手術創は開放創としシーネで被覆した。術後良好に経過し, 開放創には上皮の被覆が認められ, 順調に経過した。

摘出物所見: 大きさは 3.0×2.3 cm で類球形を呈し, 硬さは弾性硬であった。表面は平滑で正常口蓋粘膜に覆われていた。

病理組織学的所見: 粘膜上皮下に結合組織をはさんで, ヘマトキシリン陽性の類円形ないし, 紡錘形の細胞が, 塊状またはびまん状に認められた。この細胞の一部に黒褐色の色素顆粒を有する細胞が認められ, 核分裂像や細胞の異型性などの悪性所見は認められなかった(写真 2A)。また Masson・Fontana 染色により, この色素顆粒が黒染することを確認した(写真 2B)。

病理組織診断: 真皮内母斑。

免疫組織学的所見: 神経関連蛋白として S-100 蛋白(S-100, S-100α および β サブユニット), neuron specific enorase (NSE), substance P および chromogranin A の抗体を, 細胞骨格蛋白として keratin (K 8.12, KL1), vimentin および glial fibrillary acidic protein (GFAP) の抗体を, 細胞増殖の指標として proliferating cell nuclear antigen (PCNA) 抗体を, リンパ球との鑑別のために UCHL1, DAKO-CD20 L26, DAKO-MAC 387を用いて, ABC 法により免疫組織化学的染色を施行した。免疫組織化学的染色の詳細は表 1 および 2 に示した。

その結果, 神経関連蛋白では, S-100 蛋白(写真 2C) および S-100β サブユニット蛋白にのみ陽性反応を示

写真 2 色素性母斑の免疫組織化学的染色

- A : ヘマトキシリン-エオジン (H-E) 染色 ×70
上皮下に 1 層の結合組織を挟んで, 母斑細胞が認められる。
- B : Masson・Fontana 染色 ×70
H-E 染色の母斑細胞の色素顆粒に一致して, Masson・Fontana 染色陽性像が認められる。
- C : PoAb S-100 protein 染色 ×70
母斑細胞に一致して, 細胞質および核に陽性反応を示す。
- D : MoAb vimentin 染色 ×70
母斑細胞に一致して, 細胞質に陽性反応を示す。

表 1 使用した一次抗体の種類, 希釈倍率, 製造元

	抗体	希釈倍率	製造元
神経関連蛋白			
S-100 蛋白	PoAb	1 : 100	DAKOPATTS
S-100 α サブユニット	MoAb	1 : 100	日本抗体研究所
S-100 β サブユニット	MoAb	1 : 100	日本抗体研究所
neuron specific			
enorase (NSE)	PoAb	1 : 100	DAKOPATTS
substance P	PoAb	1 : 100	INCSTAR
chromogranin A	MoAb	1 : 100	DAKOPATTS
細胞骨格蛋白			
keratin			
K 8.2	MoAb	1 : 40	BioMakor
KL1	MoAb	1 : 40	IMMUNOTECH
vimentin	MoAb	1 : 30	DAKOPATTS
glial fibrillary			
acidic protein (GFAP)	MoAb	1 : 20	DAKOPATTS
リンパ球関連抗体			
UCHL1	MoAb	1 : 150	特ニチレイ
DAKO-CD20 L26	MoAb	1 : 50	DAKOPATTS
DAKO-MAC 387	MoAb	1 : 50	DAKOPATTS
細胞増殖の指標			
proliferating cell			
nuclear antigen(PCNA)	MoAb	1 : 20	DAKOPATTS

(MoAb: Monoclonal antibody, PoAb: Polyclonal antibody)

し、S-100 α サブユニット蛋白、NSE、substance P、chromogranin A などの神経関連蛋白には陰性であった。陽性反応を示した S-100 蛋白、S-100 β サブユニットの局在は、母斑細胞の細胞質に陽性反応を示し、特に上皮直下の細胞に強陽性を示した。また細胞骨格蛋白では、vimentin に弱陽性を示した（写真 2D）。しかしながらその他の細胞骨格蛋白（keratin、GFAP）には反応を示さなかった。陽性反応を示した vimentin は上皮下の結合組織および母斑細胞の細胞質に局在していた（表 3）。

リンパ球関連抗体の UCHL1、DAKO-CD 20、L26、DAKO-MAC 387 には陰性反応を示した。また S 期のマーカーである PCNA の反応はほとんど陰性であり、このことから増殖傾向は著しくないものと考えられた。

考 察

色素性母斑は、メラニン色素形成能を有する細胞（メラノサイト）の過誤腫的な増生病変であり、一般的に皮膚にみられるが口腔粘膜には少ないとされている。

組織学的に色素性母斑は、接合性母斑、真皮内母斑、複合性母斑に分けられ、特殊型のものとして青色母斑と

若年性黒色腫がある¹⁾。このうち接合性母斑は異性性の乏しい類円形～多角形のメラノサイトからなる類円形胞巣が上皮基底層に認められるもので、基底膜は保たれているものをいう。真皮内母斑はメラノサイトが真皮内に限局するもので、上皮とは結合組織により明確に境界されているものをいう。複合性母斑は接合性母斑と真皮内母斑の両方の成分からなる母斑である²⁾。今回経験した色素性母斑は上皮層とメラノサイトとの間に結合組織が認められ、真皮内母斑と診断された。

わが国の口腔粘膜の色素性母斑の報告例は、山岸ら³⁾の集計（1960年～1986年）によると18例で、そのうち真皮内母斑が13例とそのほとんどを占めている。また Buchner ら⁴⁾は191例の口腔粘膜の色素性母斑について検索し、105例が真皮内母斑であるとし、ほとんどが真皮内母斑であるとする山岸らの報告と一致する。

真皮内母斑の発生部位は山岸ら³⁾によると歯肉（61%）、次いで硬口蓋、頬粘膜に多いとし、Buchner ら⁴⁾によると頬粘膜（28%）に多く、次いで硬口蓋、歯肉に多いとしている。また、Weathers ら⁵⁾は頬粘膜、歯肉の順に多いとしている。真皮内母斑の大きさは3cm 未満のものがほとんどであった³⁾。好発年齢は、山岸ら³⁾によると20歳代で38%を占め、Buchner ら⁴⁾によると20～39歳

表 2 免疫組織化学的染色法

1. 脱パラフィン
2. 内因性ペルオキシダーゼ活性の阻止
(0.3% H_2O_2 加メタノール 30分)
3. 非特異的反応の阻止 (1/20, 30分)
MoAb: normal rabbit serum
PoAb: normal swine serum
4. 一次抗体 60分 (表1 参照)
5. 洗浄 (PBS) 15分
6. ビオチン化二次抗体 30分
MoAb: biotinylated affinity isolated rabbit immunoglobulins to mouse immunoglobulins (1 : 200, DAKO)
PoAb: biotinylated affinity isolated swine immunoglobulins to rabbit immunoglobulins (1 : 200, DAKO)
7. 洗浄 (PBS) 15分
8. ABCComplex 30分 (1 : 100, DAKO)
9. 洗浄 (流水) 15分
10. 発色 10分
(0.01% H_2O_2 加 0.05% 3'-3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride (0.05M Tris buffer pH7.6))
11. 洗浄 (流水) 5分
12. 核染色 (0.5% methyl green solution)
13. 脱水, 透徹, 封入

で53%を占めるとし、また Weathers ら⁵⁾によると30歳代で57%を占めるとしている。性差は、山岸ら³⁾によると女性が69%を占め、Buchner⁴⁾、Weathers ら⁵⁾の報告では、若干男性に多いとしている。肉眼的形態は、Buchner ら⁴⁾によると隆起のみられるものが79%、色素沈着が認められるもの78%と報告されており、今回の症例と同様であった。

病理組織学的には、真皮内母斑は母斑細胞巣が真皮内に限局し、粘膜上皮とは乳頭状および網状の結合組織により明確に境界されており、メラニン色素の形成量はいろいろであるが、表層部に近い細胞に多く認められるとされている。本症例においては、上皮層と母斑細胞巣とは結合組織により明確に境界され、母斑細胞は淡明な胞体をもつ類円形の細胞ないし紡錘形の細胞からなっていた。またメラニン色素を有する細胞は上皮直下の細胞層に認められた。また Masson・Fontana 染色によっても、この色素顆粒がメラニン色素であることが確認できた。

鑑別を要する疾患として悪性黒色腫があるが、悪性黒色腫は接合性母斑に類似し、また多形性で類円形、多角形あるいは紡錘形の細胞の密な増殖、巨細胞、異型核分裂像などが特徴であるが、本症例は真皮内母斑であり核の異型性、細胞の異型性は認められず、PCNA による染

表 3 色素性母斑の母斑細胞における各種抗体の染色性

一次抗体名	母斑細胞における染色性
神経関連蛋白	
S-100蛋白	+
S-100 α サブユニット	—
S-100 β サブユニット	+
NSE	—
substance P	—
chromogranin A	—
細胞骨格蛋白	
keratin	
K8.12	—
KL1	—
vimentin	+
GFAP	—
リンパ球関連蛋白	
UCHL1	—
DAKO-CD20 L26	—
DAKO-MAC 387	—
細胞増殖の指標	
PCNA	—

+: 陽性, —: 陰性

色においても著しい細胞の増殖は認められず、このため本症例は良性の病変と考えると差し支えないと思われた。臨床的に長期にわたり口蓋粘膜に存在していたのでその発育は大変遅いものといえる。

色素性母斑の母斑細胞の由来については神経原説と上皮原説があり、今日では神経原説が有力視されている。このため今回の免疫組織化学的染色で、神経関連蛋白 (S-100 蛋白, S-100 α および β サブユニット, NSE, substance P および chromogranin A), 上皮性, 中胚葉性および神経性細胞骨格蛋白 (keratin (K8.12, KL1), vimentin および GFAP), リンパ球との鑑別のために UCHL1, DAKO-CD20 L26, DAKO-MAC 387 に対する抗体を用いて検索した。

その結果、本症例では神経関連蛋白である S-100 蛋白およびその β サブユニット, 中胚葉性の vimentin に陽性反応を示した。従来報告によると、S-100 蛋白は母斑細胞組織に陽性を示し^{3,6-10)}、NSE, GFAP は陰性であるとされている¹⁰⁾。最近 Fujita ら (1991)¹¹⁾は S-100 蛋白の α および β サブユニットについて、皮膚と口腔粘膜の色素性病変について報告している。しかしながらこれら以外の検索はほとんど行われておらず、今回行った vimentin 陽性の所見は初めての所見である。母斑細胞の起源が神経原性であるとの従来報告を裏づける S-100 蛋白, S-100 β サブユニット蛋白の陽性所見が今回の実

験からも得られた。しかしながら神経関連蛋白である NSE, substance P, chromogranin A および神経性の細胞骨格である GFAP に陰性であること, 中胚葉性の細胞骨格である vimentin に陽性反応が認められること, keratin, UCHL1, DAKO-CD20 L26, DAKO-MAC 387 いずれにおいても陰性を示すことから, 従来から言われている神経原性のみの性格に, 中胚葉性の細胞骨格成分を伴っているものと思われる。

結 語

1. 44歳男性の口蓋粘膜に発生した, 約 3×2 cm 大の色素性母斑の 1 例を経験した。

2. 免疫組織化学的検索を行った結果, S-100 蛋白, S-100 β サブユニット, vimentin にのみ陽性反応を示し, S-100 α サブユニット, NSE, substance P, chromogranin A, keratin (K8.12, KL1), GFAP, UCHL1, DAKO-CD20 L26, DAKO-MAC 387 には陰性であった。

なお本論文の要旨は第37回日本口腔外科学会総会(1992年11月, 横浜)において発表した。

引 用 文 献

- 1) 石川梧朗監修: 口腔病理学Ⅱ. 改訂版, 永末書店, 京都, 1982, 594-597頁.
- 2) 石川榮世, 牛島 宥, 他: 外科病理学. 第2版,

文光堂, 東京, 1990, 58-63頁.

- 3) 山岸眞弓美, 北村 豊, 他: 歯肉に発生した色素性母斑の 1 症例. 日口外誌 35: 1886-1889 1989.
- 4) Buchner, A., Hansen, L.S., et al.: Pigmented nevi of the oral mucosa: A clinicopathologic study of 36 new cases and review of 155 cases from the literature. Part II: Analysis of 191 cases. Oral Surg 63: 676-682 1987.
- 5) Weathers, D.R. and Waldron, C.A.: Intraoral cellular nevi. Oral Surg 20: 467-475 1965.
- 6) 山中一成, 浜田清俊, 他: 口腔領域にみられた色素性母斑の 3 例(抄). 日口外誌 34: 2790 1988.
- 7) 山岸眞弓美, 矢ヶ崎 崇, 他: 歯肉に発生した色素性母斑の 1 症例(抄). 日口外誌 34: 2789 1988.
- 8) 安藤俊史, 須川直機, 他: 頬粘膜にみられた色素性母斑の 1 例(抄). 日口外誌 30: 1266 1984.
- 9) 広瀬慶一, 矢ヶ崎 崇, 他: 歯肉に発生した色素性母斑の 1 症例(抄). 松本歯学 13: 415 1987.
- 10) 玉城広廣, 山家 誠, 他: 下顎歯肉に発生した色素性母斑の 1 例(抄). 口科誌 37: 1155 1988.
- 11) Fujita, S., Takahashi, H., et al.: Immunohistochemical localization of S-100 protein and its subunits in melanotic lesions in the oral mucosa and skin. J Oral Pathol Med 20: 429-432 1991.