

口腔扁平苔癬の鑑別診断における病理組織学的, 免疫組織化学的
および細胞学的所見の検討

Examination of histopathological, immunohistochemical and cytological findings
in the differential diagnosis of oral lichen planus

日本大学大学院松戸歯学研究科歯学専攻

口腔病理学

鈴木武洋

(指導:久山 佳代 教授)

目次

Abstract

第1章 口腔扁平苔癬と口腔扁平苔癬様病変の鑑別に関する病理組織学的および 免疫組織化学的検討

緒言

対象および方法

結果

第2章 口腔扁平苔癬における細胞診と病理組織診の不一致症例に関する細胞学 的検討:殊に染色性について

緒言

対象および方法

結果

考察

結論

参考文献

本論文は、主となる参考論文「Histopathological and Immunohistochemical Study of the Distinction between Oral Lichen Planus and Oral Lichenoid Lesions.」 Open Journal of Stomatology, 11, 91-106, 2021 及び参考となる副論文「口腔扁平苔癬における細胞診と病理組織診の不一致症例に関する細胞学的検討:殊に染色性について」日大口腔科学, 47, 37-44, 2021 をまとめたものである。

Abstract

Oral potentially malignant disorders, which include oral lichen planus (OLP), are clinical presentations that carry a risk of development to cancer in the oral cavity. Oral lichenoid lesions (OLLs) are also termed interface/lichenoid mucositis. Malignant transformation of them remains controversial, but distinct clinical and histological criteria for how to differentiate OLP from OLLs have not been developed. In study 1, the purpose of this study was to elucidate findings that can allow histopathological differentiation of OLP and OLLs using histomorphological and immunohistochemical analyses. Analyses were performed in 10 cases diagnosed with OLP and nine cases diagnosed with OLLs. Cytokeratin 19 (CK19), Ki-67 and CD3 were used as primary antibodies to detect basal cells, proliferative activity and T-cell distribution, respectively, and Perlecan and COX-2 to evaluate epithelial intracellular arrangements and interstitial distributions of proteoglycans and enzymes.

For CK19, positive cells were significantly found in OLLs at both the prominent area and site adjacent to the lesion comparison with those of OLP's. The number of COX-2 positive cells was significantly higher in spinous and basal layers in OLLs of the prominent area. Additionally, OLLs showed mild to moderate expression for Perlecan in the basal to spinous layers and in subepithelial tissue. Conclusion: Almost no basal cells were noted in the prominent area in OLP. COX-2 and Perlecan were found in the basal to spinous layers in OLLs. Although there are restrictions, these suggested the possibility of helping to distinguish between OLP and OLLs.

Oral exfoliative cytopathology (OEC) is often used in combination with long-term follow-up of OLP. Though the purpose cytology of the lesion is to estimate malignant

transformation, it is necessary to consider the cytological findings that affect accuracy. In study 2, the purpose is to clarify the cytological finding that is an auxiliary factor for cytological diagnosis in cases of diagnostic discrepant with cytology and histopathological diagnosis in OLP by image analysis and cytological study. We analyzed seven cases out of total 136 OLP subjects in which there was a discrepancy between OEC and histopathology. The color tone analysis items were pachychromatic nuclei and changes in cytoplasmic bright. Four cases in which the cytological diagnosis was under-diagnosed compared to the histopathological diagnosis were negative for intraepithelial lesion or malignancy. Three cases in which the cytological diagnosis was over-diagnosed compared to the histopathological diagnosis were low-grade squamous intraepithelial lesion or low-grade dysplasia.

Cytology revealed pachychromatic nuclei in six cases, brightly cytoplasm in seven cases, and both in five cases. The findings observed by histopathological examination were that the mucosal epithelial width was found in the surface layer half of the epithelial width in two cases of pachychromatic nuclei, five cases of hyperkeratosis, and three cases of dyskeratosis. In whole layers of epithelium, four cases of pachychromatic nuclei and four cases of dyskeratosis were observed. Among the color tone changes in cytological diagnosis, pachychromatic nuclei and changes in cytoplasmic bright are both important factors for determining atypical cells by cytological diagnosis. However, in cases where inflammatory lesions are accompanied by epithelial dysplasia or atypical changes, it was found that it is difficult to make a judgment based only on some cellular findings such as pachychromatic nuclei and bright changes in the cytoplasm.

It is necessary to consider pachychromatic nuclei and the change in the brilliance of the cytoplasm as findings that only a helpful to the cytological diagnosis.

第1章 口腔扁平苔癬と口腔扁平苔癬様病変の鑑別に関する病理組織学および免疫組織化学的検討

緒言

口腔扁平苔癬 (Oral Lichen Planus: OLP) は、口腔粘膜の異常な過角化を伴う難治性慢性炎症性疾患である[1],[2]。 OLP のいくつかの臨床所見が認められ、肉眼的に最も一般的なのは網状を呈し、これは頬粘膜にしばしば対照的に出現する[1]。さらに、 OLP は、病理組織学的に過・錯角化症、鋸歯状の上皮脚延長、基底細胞層の液化変性、および上皮直下の帯状のリンパ球の（主に T 細胞）浸潤が観察される[3]。 OLP は臨床所見と病理組織学的所見を組み合わせで診断されるが、他の口腔粘膜疾患と比較してこれらの一致率は低い[4]。 Hasegawa ら[5]は、先行研究において、 OLP の上皮乳頭内ループ状毛細血管の走行角度は病期に関係なく病変境界部で有意に大きく、確定診断のための一所見としての可能性を提案した。さらに、基底細胞層が液化変性により消失し、その結果、間質リンパ球が有棘層に接する所見が報告された[5]。ところが、 OLP における基底細胞層に関する病理組織学的報告は散見されるが、議論の集約はみられていない[6],[7],[8]。一方、臨床的および病理組織学的に類似した疾患として、口腔扁平苔癬様病変 (Oral Lichenoid Lesions: OLLs) が挙げられる。 OLP と OLLs との鑑別は、病態を誘発している原因の特定が可能な症例を除き困難を極める[9]。 OLLs は OLP と臨床所見では類似した所見がみられ、病理組織学的所見でも上皮直下のリンパ球の帯状様浸潤を認め、苔癬反応とも呼ばれる[10]。一方、2017年には、前癌病変と前癌状態を併せた新しい概念として、 OLP を含む口腔潜在的悪性疾患 (Oral Potentially Malignant Disorders: OPMDs)

が記述された[11]。OPMDsは、口腔内の癌に発症するリスクを伴う臨床症状である[11]。ところがこれらの病変の悪性化については議論の余地があり、OMPDSとOLLsの取り扱いの違いや鑑別についての明確な臨床的および組織学的基準は示されていない[10]。したがって、この研究の目的は、組織形態学的および免疫組織化学的解析を用いて、OLPおよびOLLsの病理組織学的鑑別に寄与する所見を解明することである。

対象及び方法

1. 対象者の選択

対象は OLP10 例（男性 5 例, 女性 5 例）および OLLs9 例（男性 4 例, 女性 5 例）とした。対象者は, 2000 年から 2019 年までの日本大学松戸歯学部附属病院を受診し, 病理組織検査を行った症例のうち, OLP および OLLs を抽出した。さらに, 電子カルテデータに記載された病変の臨床所見, 現病歴および口腔内写真から, 3 名以上の歯科医師(口腔外科専門医含む)により OLP ないし OLLs の臨床所見等で合致し, 診断で合意を得た症例を選択した。

OLP と OLLs の分類根拠は Kamath[12]に準拠し, 加えて OLP は金属などのアレルギーを有する, 生検前に OLP ないし OLLs の診断に基づく治療を施した, 悪性腫瘍ないしウイルス感染を呈する, そして妊娠中の対象者は除外した。健常口腔粘膜は, 上皮性異形成を伴わない頬粘膜からの線維腫の病変周囲領域(男性 2 名, 女性 1 名) 3 症例とした。

本研究は日本大学松戸歯学部倫理委員会(承認番号:EC-18-15-14-033-2 号)の承認を得ている。

2. 臨床病理学的検索

全症例の肉眼所見は, 白色線状ないし白斑やびらん・潰瘍の有無について分類された[13],[14],[15]。また, 臨床病態は病変の顕著な部位に対して, 2 人の口腔外科専門医と 3 人の口腔病理専門医がブラインドで Andreasen [16]の 6 分類あるいは Brant [17]の 2 分類を行った。

3. 病理組織学的検索

切除物は 10 %中性緩衝ホルマリン水溶液にて固定後，通法に従ってパラフィン包埋を行い 4 μ m の薄切切片を作製し，病理組織学的および免疫組織化学的検討に供した。病理組織学的染色は，ヘマトキシリン・エオジン重染色（H.E.染色）を行った。病理組織診断は4名の口腔病理専門医により施した。OLP は，WHO 分類[8]，Reibelら [11]および Van der Meijら [18]の診断基準，すなわち(1)粘膜上皮直下のリンパ球の帯状浸潤，(2)基底層の液化変性，(3)上皮性異形成の欠如に準拠した[11][18]。OLLs は Kamath [12]の診断基準，すなわち(1)顕著なリンパ球浸潤，(2)リンパ球のびまん性および深部への分布，(3)基底膜の変性がない，(4)基底細胞に血管分布がない，(5)基底膜の肥厚がみられない，(6)肥満細胞の浸潤が目立たない，に準拠した。

4. 免疫組織化学的および特殊染色による検索

各種一次抗体を使用し (Table 1)，二次抗体には EnVision + Polymer System (Dako Cytomation, Tokyo, Japan) を用いて免疫組織化学的染色を行った。基底細胞の検出に CK19 抗体，増殖能の評価に Ki-67，プロテオグリカンおよび酵素の上皮細胞内配置および間質分布の評価は Perlecan および COX-2，T 細胞分布態度評価は CD3 を用いた。染色手順はプロトコールに従った。発色は 3,3'-Diaminobenzidine Tetrahydrochloride (DAB) にて行い，Mayer のヘマトキシリンにて対比染色を施した。非特異的炎症性疾患と上皮性異形成を一次抗体の陽性対照として使用した。免疫組織化学的染色技術を評価するために，一次抗体の代わりにマウスとウサギの universal g-negative controls (Dako Cytomation, Tokyo, Japan) を陰性対照として使用した。

染色後は光学顕微鏡 (BX51, Olympus, Tokyo, Japan) で検鏡し，全標本は，病変部，健常粘膜と病変部の境界部（境界部），健常部および粘膜上皮直下の結合織（上皮下結合織）について，hot spot を抽出した。さらに無作為に5視野を顕微鏡用デジタルカメラ (DP74, Olympus, Tokyo, Japan) で中拡大 (x 200) にて撮影し，各種抗

体に対する陽性反応を評価した。陽性率は 500 個以上の全体の細胞数における陽性細胞数の割合を計算した。染色評価は、2人の口腔病理専門医により行われた。

さらに、全標本は通法に従い Papanicolaou (Pap.) 染色を施し、形態計量学的検索に供した。Pap.染色標本は病変部および境界部の全層、角化層、有棘層および基底層の厚さを計測し、統計解析を施した。画像解析には CellSens Standard (Olympus, Tokyo, Japan) を使用した。

5. 統計的評価

すべての統計分析は、SPSS for Windows バージョン 14.0J (IBM, Tokyo, Japan) を使用した。CK19, Ki-67, および COX-2 の陽性率の統計分析は、Mann-Whitney U 検定を行った。各層の厚さの比較分析は、Friedman 検定と Scheff 検定を使用した。いずれも $p < 0.05$ を有意差ありとした。

結果

1. 臨床病理学的所見

全症例の臨床病理学的所見を Table 2 に示す。平均年齢は OLP が 50.3 歳, OLLs は 63.8 歳であった。OLP 10 例 (15 部位) の大部分は頬粘膜 (14 部位) で, 続いて歯肉 (1 部位) であった。OLLs 9 例 (16 部位) の大部分は頬粘膜 (12 部位) で, 続いて歯肉 (4 部位) であった。OLP の臨床診断の正診性は 5 部位で一致していたが, 残りは悪性腫瘍が 4 部位, 白板症が 1 部位であった。OLLs の臨床診断は, OLP, 悪性腫瘍および白板症はそれぞれ 6 例, 2 例, 1 例であった。主訴は, OLP で 10.0 % と 33.3 %, OLLs で 33.3 % と 11.1 % がそれぞれ痛みと不快感を示した。Fig. 1 は, OLP (Fig. 1a) と OLLs (Fig. 1b) の代表的な口腔内写真を示した。いずれの疾患も, 白い線条とびらんが混在する類似した臨床状態を示し, 鑑別し得る肉眼的所見は認められなかった。

2. 病理組織学的所見

OLP および OLLs の代表的な病理組織像を Fig.1 (c, d x20) に示す。OLP は, 基底層の大部分が消失ないし液化変性を呈し, 基底細胞ないし有棘細胞が直接間質の帯状リンパ球浸潤に接していた。間質には斜走する拡張毛細血管が観察された (Fig. 1c)。OLLs は, 上皮直下結合織にリンパ球のびまん性ないし帯状様浸潤が認められるが, 基底細胞の消失はみられなかった (Fig. 2d)。強拡大 (x40) にて上皮直下のメラニン色素沈着は, OLP は 10/10 例 (100 %), OLLs は 2/9 例 (22 %) で認められた。

3. 免疫組織化学的および Papanicolaou 染色所見

免疫組織化学的染色結果を Fig. 2 に示す。CK19 (Fig. 2a) は, 健常粘膜では基底

層に陽性所見が連続性に発現していた。OLP では病変部は CK19 陽性所見が認められず、境界部の一部でみられた。OLLs では病変部は CK19 陽性所見が非連続性に、境界部ではほぼ連続性に発現していた。COX-2 陽性反応 (Fig. 2b) は、健常粘膜の間質に軽度に発現していた。OLP では病変部基底層～有棘層深層に発現し、境界部では有棘層深層に散見していた。上皮結合織には多数の陽性細胞が観察された。OLLs は、病変部基底層～有棘層で OLP と比較して高度に出現し、境界部では基底層～有棘層深層で中等度に発現していた。上皮結合織には OLP と比較して多数の陽性細胞が認められた。CD3 (Fig. 2c) は健常粘膜の結合織で陽性所見が散見された。OLP では帯状に浸潤するリンパ球の大部分で陽性所見を認め、上皮内への侵入像も観察された。境界部でも、上皮結合織で陽性細胞がやや帯状に出現していた。OLLs では上皮結合織に陽性細胞がびまん性に出現し、境界部では散見していた。CK19 と CD3 の分布を比較すると、OLP では CK19 発現を消失した有棘層に接して CD3 陽性細胞が帯状に観察された。OLLs では間質に接して一層の CK19 陽性細胞を認め、間質には CD3 陽性細胞が散見していた。Perlecan (Fig. 2d) は、健常粘膜では陰性であった。OLP では病変部で上皮細胞は陰性、上皮結合織で弱陽性、境界部では上皮細胞および間質のいずれも陰性であった。OLLs では、病変部の基底層～有棘層細胞領域に軽度～中等度発現を認め、上皮結合織では弱陽性であった。境界部では基底細胞領域で陽性所見を認め、上皮結合織は弱～中等度陽性であった。

Pap.染色にて、OLLs は OLP と比較して明らかな有棘層の肥厚が認められた (Fig. 2e)。

4. 統計解析結果

統計解析結果を Fig. 3-5 に示す。CK19 は、病変部については OLLs が OLP と比較して有意に発現していた ($p < 0.05$, Fig. 3)。COX-2 は、OLLs の病変部と境界部の有棘層と基底層で優位に OLP のそれらよりも発現していた。また上皮下結合織では、病変部では OLLs と OLP で有意差が認められなかったが、境界部では OLP が OLLs より有意に発現していた ($p < 0.05$, Fig. 4)。Ki-67 は、病変部と境界部のいずれも、OLP と OLLs の陽性率に有意差は見られなかった。

Fig. 5 は、Pap.染色結果から画像解析された OLP と OLLs の上皮の厚さの比較結果を示す。健常粘膜では OLP と OLLs における各上皮層間に有意差は認められなかった。病変部では、OLLs の基底層は OLP と比較して有意に厚かった。境界部ではいずれの層も OLLs は OLP よりも肥厚していたが、殊に有棘層では有意差が認められた ($p < 0.05$)。

Table 1 Details of the primary antibody used in this study

Primary antibody	Clone	Source	Dilution
CK19	RCK108	Dako	×50
Ki-67	MIB-5	Dako	×50
CD3	F7.2.38	Dako	×50
COX-2	CX-294	Dako	×100

CK19: Cytokeratin19, COX-2: Cyclooxygenase-2, Dako: Dako Cytomation, Tokyo
Japan.

Table 2 Clinico-pathological characteristics of all cases

Case	Age (years)	Sex	Clinical diagnosis	Pain	Affected lesion	Macroscopic findings						Biopsy site									
						Main lesion site	Another lesion site	No.Sites* of's classification	Andreasen's classification	Andreasen's classification	Andreasen's classification		Andreasen's classification								
OLP	1	F	Leukoplakia	-	both sides	buccal mucosa		2	right	white	left	white	right	white	erosive	left	erosive	left	buccal mucosa		
	2	M	Lichen planus	-	left side	buccal mucosa		1			left	white				reticular	left	reticular	left	buccal mucosa	
	3	M	Lichen planus	Discomfort	both sides	buccal mucosa		2	right	white	left	white	right	white	right	reticular	left	reticular	right	buccal mucosa	
	4	F	Carcinoma	-	both sides	buccal mucosa		2	right	white	left	white	right	white	right	reticular	left	reticular	right	buccal mucosa	
	5	M	Lichen planus	Discomfort	left side	buccal mucosa		1			left	white					reticular	left	reticular	left	buccal mucosa
	6	M	Lichen planus	Discomfort	right side	buccal mucosa	lower right sides of gingiva		1	right	white	right	white	right	white	reticular and white patch		reticular and white patch	right	buccal mucosa	
	7	F	Carcinoma	-	left side	buccal mucosa		1			left	white					reticular and white patch	left	reticular and white patch	left	buccal mucosa
	8	M	Carcinoma	-	right side	buccal mucosa		1	right	white	right	white	right	white	right	reticular		reticular	right	buccal mucosa	
	9	F	Carcinoma	-	left side	buccal mucosa		1			left	white					reticular	left	reticular	left	buccal mucosa
	10	F	Lichen planus	+	both sides	buccal mucosa		2	right	white	left	white	right	white	right	reticular	left	reticular	right	buccal mucosa	
OLLs	1	M	Lichen planus	+	left side	buccal mucosa		1			left	white					erosive and white patch	left	erosive and white patch	left	buccal mucosa
	2	F	Lichen planus	+	both sides	buccal mucosa		2	right	white	left	white	right	white	right	reticular	left	reticular	right	buccal mucosa	
	3	F	Lichen planus	-	both sides	buccal mucosa	Upper and lower both sides of gingiva		2	right	white	left	white	right	white	reticular	left	reticular	right	buccal mucosa	
	4	M	Carcinoma	-	right side	buccal mucosa		1	right	white	right	white	right	white	right	reticular		reticular	right	buccal mucosa	
	5	F	Lichen planus	Discomfort	left side	buccal mucosa		1			left	white					reticular	left	reticular	left	buccal mucosa
	6	F	Lichen planus	+	both sides	buccal mucosa		2	right	white	left	white	right	white	right	reticular	left	reticular	right	buccal mucosa	
	7	F	Leukoplakia	-	right side	buccal mucosa		1	right	white	right	white	right	white	right	reticular		reticular	right	buccal mucosa	
	8	M	Carcinoma	-	left side	buccal mucosa		1			left	white					reticular	left	reticular	left	buccal mucosa
	9	M	Lichen planus	-	left side	buccal mucosa		1			left	white					reticular	left	reticular	left	buccal mucosa

M: male

F: female

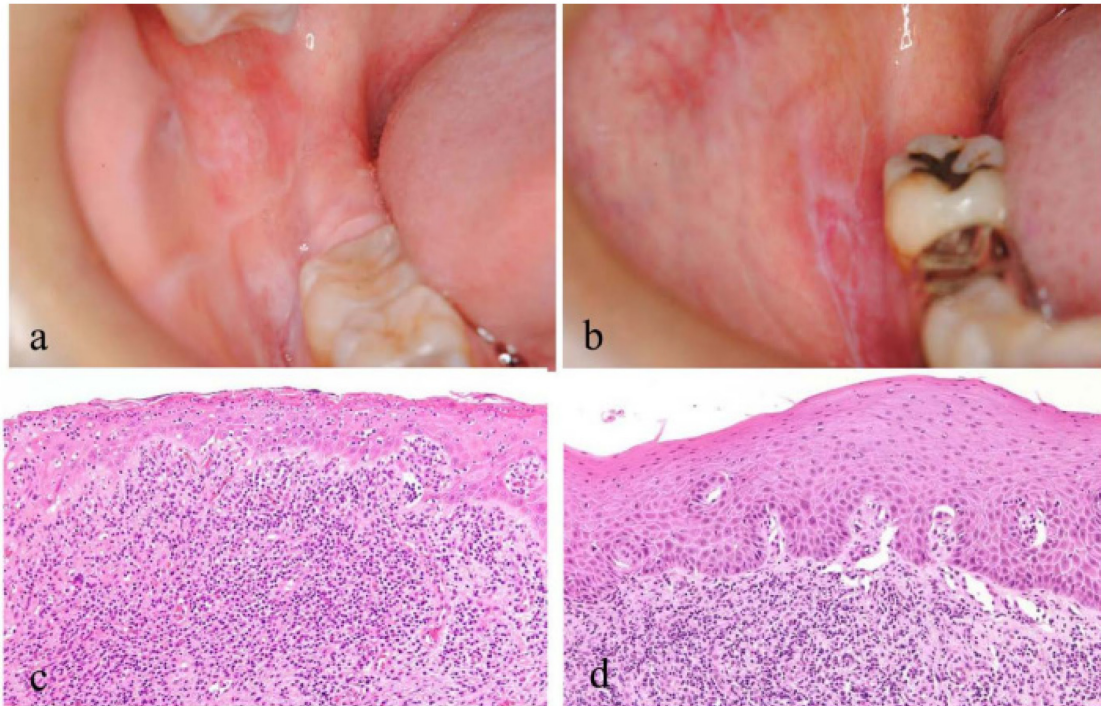


Fig. 1 Gross and histopathological findings of OLP and OLLs. (a, b): OLP (a) and OLLs (b) of the right buccal mucosa with white striae and erosive lesion; (c): Liquefaction degeneration in the basement membrane and loss of basal cells in OLP (H.E. x20); (d): No degeneration in the basement membrane and vascularity in basal cells in OLLs (H.E. x20).

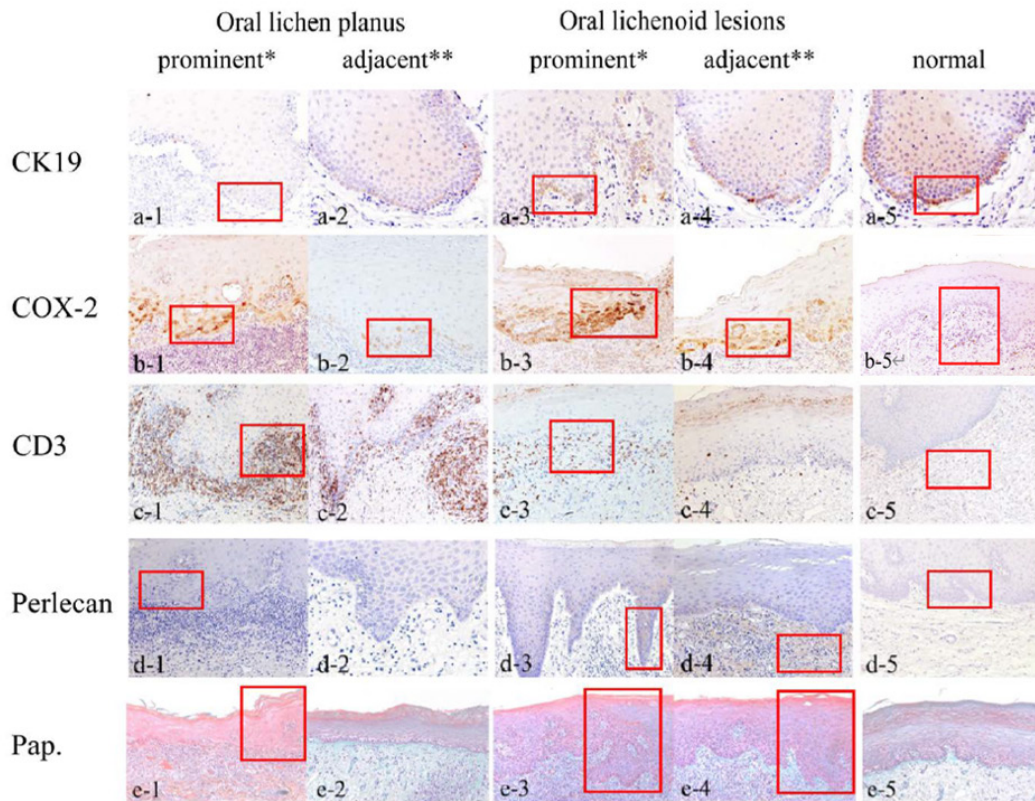


Fig. 2 Photographs of each representative immunohistochemical and Papanicolaou staining results

*: the most prominent lesion; **: an adjacent area of normal mucosa; Pap.: Papanicolaou staining; Main different findings are highlighted by red circle. (a(1-5), b(1-5), c(1-5)), d(1-5)) shows CK19, COX-2, CD3 and Perlecan staining in OLP and OLLs, respectively. CK19 shows almost no positive cells at prominent area in OLP and scattered in OLLs. COX-2 reaction is apparent at prominent and adjacent area in OLLs. Many CD3 positive cells are appeared directly under spinous layer in OLP. Perlecan react epithelial cells and stroma in OLLs. (e(1-5)) present Papanicolaou staining. Thickening of the spinous layer is observed in all areas of OLLs.

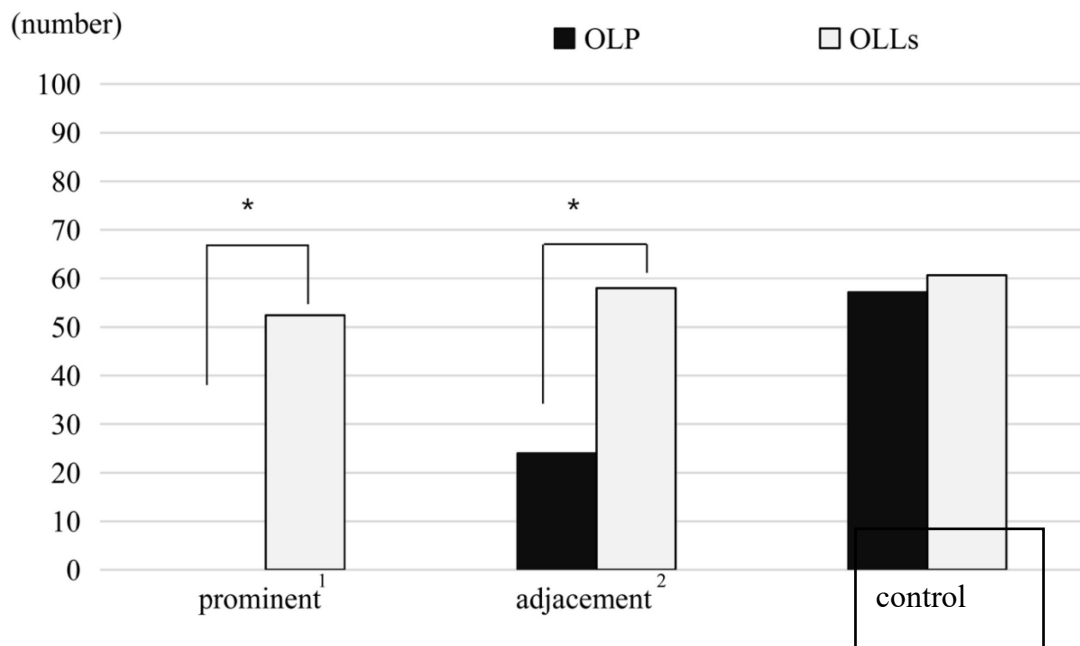


Fig. 3 Results of CK19 immunohistochemical staining. Black, light gray bars indicate OLP and OLLs, respectively. 1: the most prominent lesion; 2: an adjacent area of control mucosa; *: $p < 0.05$

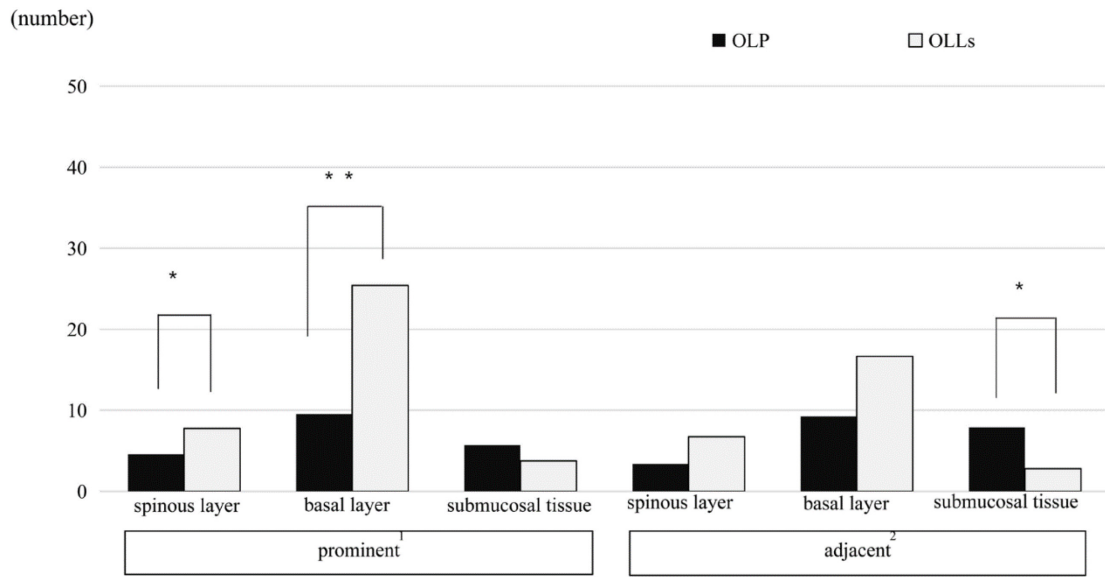


Fig.4 Results of COX-2 immunohistochemical staining. Black, light gray bars indicate OLP and OLLs, respectively. 1: the most prominent lesion; 2: an adjacent area of normal mucosa; *: $p < 0.05$; **: $p < 0.01$.

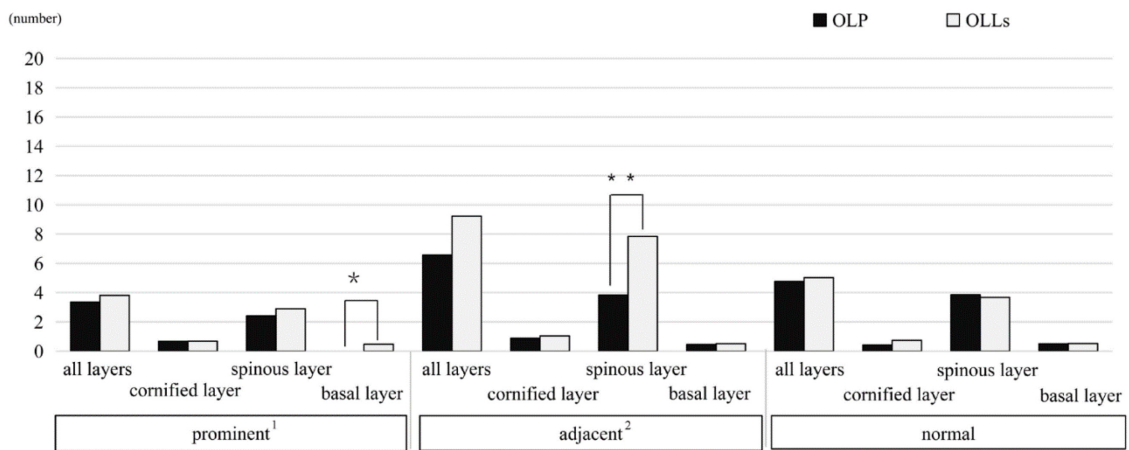


Fig. 5 Result of epithelial layer thickness by Papanicolaou staining. Black, light gray bars indicate OLP and OLLs, respectively. 1: the most prominent lesion; 2: an adjacent area of normal mucosa; *: $p < 0.05$; **: $p < 0.01$

第2章 口腔扁平苔癬における細胞診と病理組織診の不一致症例に関する細胞学的検討:殊に染色性について

緒言

OLP は原因不明の難治性慢性炎症性疾患で OPMDs に含まれ, 病期により症状が変化し, 悪性転化による扁平上皮癌の発生も報告されているため, 長期間の経過観察を要する[19],[20]。その際に, 低侵襲で繰り返しの検査に適する口腔粘膜擦過細胞診が用いられることが多い。ところが OLP の細胞判定に着目すると, 生検との結果が乖離している症例に遭遇することがあり, その要因を探る必要性が指摘されている[21]。

本研究の目的は, OLP における細胞診と病理組織診との診断不一致の原因について, 画像解析の手法を用い細胞学的検討を加え, 細胞判定の補助的因子となりうる細胞像を明らかにすることである。

対象および方法

1. 対象

日本大学松戸歯学部附属病院にて 2015 年 1 月～2019 年 12 月の間に悪性腫瘍と OLP をスクリーニングするために、口腔粘膜擦過細胞診(直接塗抹法)が施行された 136 例のうち、生検により OLP の診断を得た 38 例から細胞判定が病理組織診断と比較して過小診断 (under diagnosis) 4 例と過大診断 (over diagnosis) 3 例の計 7 例を対象とした。

対象症例の一覧を Table 1 に示す。尚、細胞判定は、細胞診ガイドライン (2015) の口腔粘膜疾患細胞診の判定区分に基づいた 4 段階細胞判定 (negative for intraepithelial lesion or malignancy:以下 NILM, low-grade squamous intraepithelial lesion or low-grade dysplasia:以下 LSIL, high-grade squamous intraepithelial lesion or high-grade dysplasia:以下 HSIL, squamous cell carcinoma:以下 SCC) に沿って行い、Pap.分類も併記した[21]。細胞診のスクリーニングは細胞検査士 2 名が、細胞判定は細胞診専門歯科医 2, 3 名が行い、細胞判定が一致した症例を選択した。

本研究は本学倫理委員会の承認 (EC19-035) を得て行った。

2. 方法

1) 画像解析方法

(1) 細胞診標本

細胞検査士によって対象症例の Pap.染色スライド標本は、顕微鏡対物レンズ 10 倍～40 倍下でスクリーニングがなされた。スクリーニングで拾い上げられた細胞を画像解析の対象とした。対象細胞は、デジタルカメラシステム (DP74, Olympus, Tokyo, Japan) を取り付けた顕微鏡 (BX53, Olympus, Tokyo, Japan) にて対物レンズ 40 倍を

用いて撮影条件を統一して細胞像の撮影がなされた。細胞像の色調解析には ImageJ 1.53e (National Institutes of Health, Bethesda, USA) を用いた。尚、細胞検査士がスクリーニングにより拾い上げられた細胞のうち、細胞重積が強い細胞は色調解析に不適と判断し解析から除外した。

色調解析項目は核の濃染化、細胞質の光輝性変化とした。対照は各症例内の健常なオレンジ G 好性表層型扁平上皮細胞とし、最低 9 個以上計測した。

核の濃染化は、関心領域を核に設定し、HSB カラー空間にて Brightness 値（最小値 0, 最大値 255）を用いた。母集団（健常なオレンジ G 好性表層型扁平上皮細胞）の分布を正規分布と仮定して、対照の Brightness 平均値から 2SD を閾値として、それより低値を示すものを核の濃染化ありとした。

細胞質の光輝性変化は、関心領域を細胞質に設定し、HSB カラー空間で Saturation 値（最小値 0, 最大値 255）と Brightness 値（最小値 0, 最大値 255）とを求めた。母集団（健常なオレンジ G 好性表層型扁平上皮細胞）の分布を正規分布と仮定して、対照の Saturation 平均値よりも 2SD を閾値としてそれより高値、Brightness 平均値よりも 2SD を閾値としてそれより低値のいずれも満たすものを細胞質の光輝性変化ありとした。

(2) 病理組織学的所見

病理組織所見に基づき、粘膜重層扁平上皮における核の濃染化、角化層の過角化、分化異常による角化異常の有無を粘膜上皮幅径の表層側 1 / 2 までの範囲及び粘膜上皮全層の 2 領域に分けて明らかにした。尚、角化層の過角化については上皮の表層でしか観察できないため、表層のみとした。

結果

1. 細胞判定と病理組織診断との診断乖離

細胞判定が過小診断となった4例 (Case 1-4) は、いずれも病理組織診断で確認された上皮性異形成あるいは拾い上げるべき反応性、炎症性ないし再生性異型が評価されず NILM と判定されていた (Table 1)。細胞判定が過大診断となった3例 (Case 5-7) はいずれも病理組織診では上皮性異形成や反応性、炎症性ないし再生性異型が認められなかったが LSIL と判定されていた。

2. 細胞所見

細胞異型を疑う細胞及び健常細胞の代表的な細胞像を示す (Fig. 1)。細胞所見は、背景に若干の炎症細胞をみる表層型扁平上皮細胞を主体としたものであった。表層型扁平上皮細胞はオレンジ G 好性とライトグリーン好性が混在していたが、オレンジ G 好性細胞を主体とするものも1例あった。表層型扁平上皮細胞には、ケラトヒアリン顆粒を胞体内に有するものもみられた。Table 2 には細胞判定と病理組織診断の所見一覧を示す。細胞診では、核の濃染化を示すものが6症例、細胞質の光輝性変化を示すものが7例、いずれもみられるものが5例であった。また、Candida 菌糸が認められたものが1例あった。

3. 対象の色調解析結果

対照の画像解析結果と、そこから算出された核の濃染化及び細胞質の光輝性変化を判定する際に用いた閾値を Table 3 に示す。核の Brightness 平均値は 62.0 - 94.4 の範囲で平均 72.7 (標準偏差 13.6) であった。細胞質の Saturation 平均値は、76.4 - 123.7 の範囲で平均 100.4 (標準偏差 16.2)、Brightness 平均値が 157.2 - 192.2 の

範囲で平均 178.8 (標準偏差 12.3) であった。

4.病理組織所見

過小診断及び過大診断の代表的な組織像を示す (Fig. 2)。病理組織診では、粘膜上皮幅径の表層側 1 / 2 の範囲に認められたものは、核の濃染化 2 例、過角化 5 例、角化異常 3 例であった。粘膜上皮全層でみられたのは、核の濃染化 4 例、角化異常 4 例であった (Table 2)。また、上皮内に多核の細胞が散見されたものが 1 例であった。

Table 1 Subjects in the Study 2

Case	Region of cytology	Cytological diagnosis	Region of biopsy	Histopathological diagnosis	Discrepancy
1	gingiva	NILM (Class II)	gingiva	compatible with lichen planus with mild dysplasia	under diagnosis
2	buccal mucosa	NILM (Class II)	buccal mucosa	suspicious of lichen planus with dysplastic change	under diagnosis
3	gingiva	NILM (Class II)	gingiva	compatible with lichen planus with atypical change	under diagnosis
4	buccal mucosa	NILM (Class II)	buccal mucosa	lichen planus with atypical epithelium	under diagnosis
5	tongue	LSIL (Class III)	tongue	compatible with lichen planus	over diagnosis
6	buccal mucosa	LSIL (Class III)	buccal mucosa	compatible with lichen planus	over diagnosis
7	gingiva	LSIL (Class III)	gingiva	compatible with lichen planus	over diagnosis

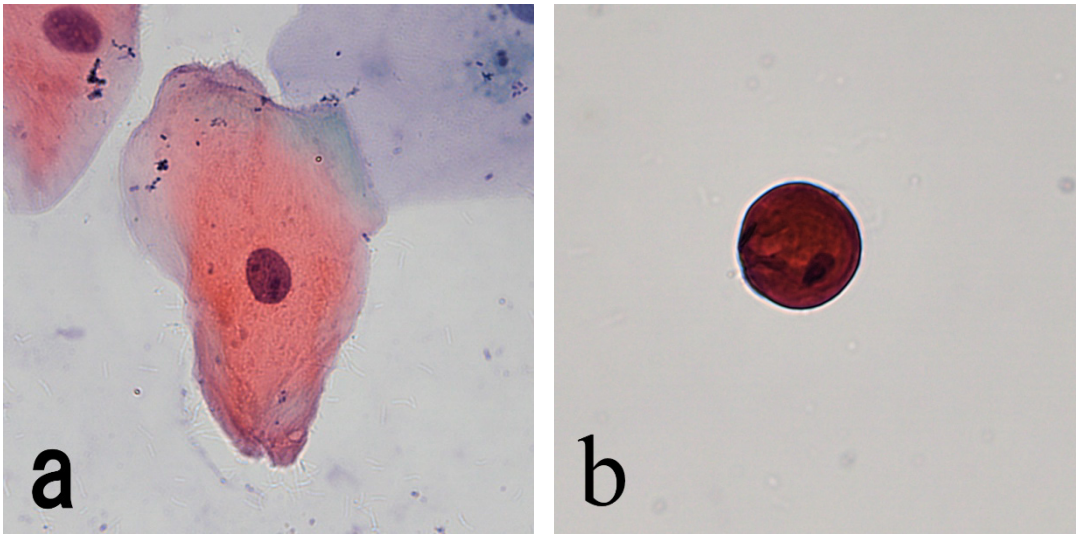
Table 2 Cytological and histopathological results of the subjects

Case	discrepancy	Cytology				Histopathology							
		number of analysis	hyperchromasia	degree of glitter	hyperchromasia & degree of glitter	surface layer			whole layer				
						hyperchromasia	hyperkeratosis	dyskeratosis	hyperchromasia	dyskeratosis	other findings		
1	under diagnosis	3	1	1	0	+	+	-	-	+	-	-	-
2	under diagnosis	18	9	16	9	-	+	-	-	-	+	+	+
3	under diagnosis	4	4	3	3	-	-	+	+	+	+	+	multinuclear cell(+)
4	under diagnosis	16	0	5	0	+	+	+	+	+	+	+	+
5	over diagnosis	6	5	1	1	-	+	+	+	-	-	+	+
6	over diagnosis	32	16	23	12	-	+	-	-	-	-	-	-
7	over diagnosis	9	2	3	2	-	-	-	-	+	+	-	-

Table 3 Cytomorphological results of the subjects

Case	nuclear			cytoplasm					
	brightness			saturation			brightness		
	average	SD	threshold	average	SD	threshold	average	SD	threshold
1	82.5	23.3	36.0	84.0	38.7	161.5	192.2	9.3	173.5
2	82.4	21.6	39.3	76.4	18.2	112.9	189.1	8.9	171.2
3	94.4	19.1	56.3	94.5	29.3	153.2	182.3	10.2	161.9
4	52.2	16.9	18.4	123.7	28.7	181.1	178.2	11.7	154.8
5	62.0	11.8	38.5	119.1	18.3	155.6	157.2	12.6	132.0
6	73.2	17.0	39.3	97.4	24.9	147.2	188.0	10.8	166.4
7	62.3	15.9	30.5	107.9	24.5	156.9	164.3	17.7	128.8

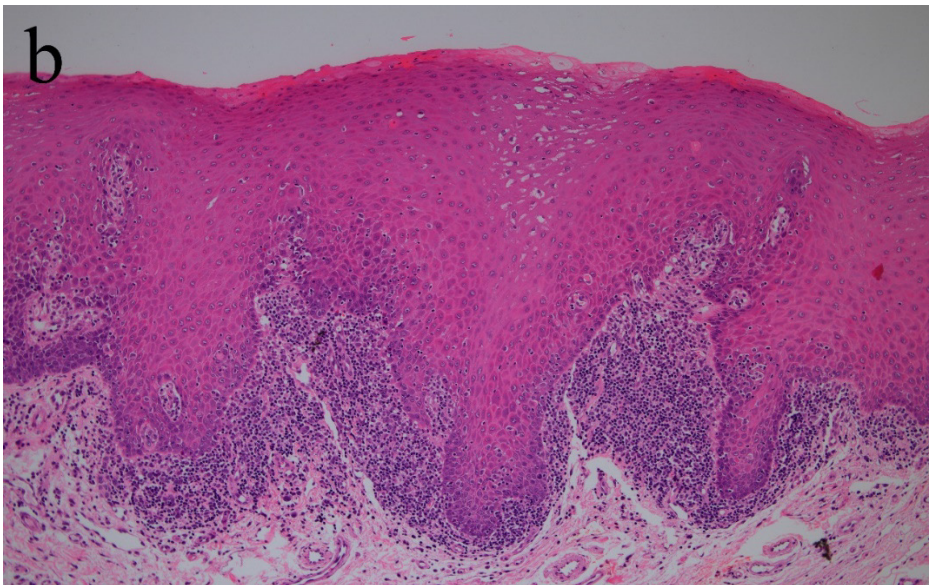
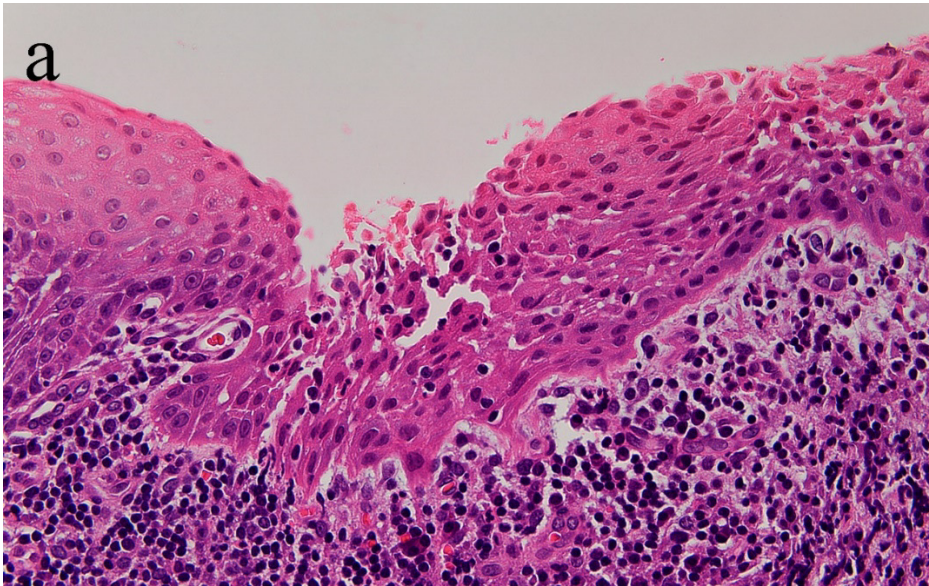
Fig. 1 Cytological findings



a: Normal surface layer cell.

b: Suspicious of dysplastic change on surface layer cell. Cytoplasmic stainability called as "glitter".

Fig. 2 Histopathological findings



a: The case of under diagnosis by cytology (x40). The histopathological diagnosis is oral lichen planus with mild epithelial dysplasia.

b: The case of over diagnosis by cytology (x10). The histopathological diagnosis is oral lichen planus.

考 察

苔癬反応はさまざまな病変で観察されるが、疫学的に OLLs の悪性転化率は OLP の悪性転化率よりも高いと報告されている[12]。したがって、病理組織学的鑑別所見の検討は重要である。

ケラチンは上皮細胞の主な構造タンパクで、約 20 種類のサブタイプが知られる中間系フィラメントである。CK19 は分子量 40kD の低分子ケラチンで、単層扁平上皮および重層扁平上皮の基底細胞に存在する[22]。本研究において OLP では、未知の抗原の認識後上皮直下に T 細胞浸潤が誘導され、細胞性免疫応答の関与により CK19 陽性基底細胞を攻撃した結果、基底細胞が消失したと推察された。一方、OLLs では、基底細胞が残存しており、病理組織学的鑑別に役立つと考えられた。OLP では、基底細胞が T リンパ球の標的であると記述されており[23],[24],[25],[26]、本研究での CD3 および CK19 の陽性所見の説明が可能である。Ki-67 は、核内タンパクで増殖活性を評価するための補助マーカーとしてよく使用されるが[27]、本研究では、OLP と OLLs の間に有意差は認められなかった。この結果は、Acay ら [28]と一致していた。一方上皮層において、OLLs の境界と病変部の有棘および基底層は OLP のそれらよりも厚かった。これは Ki-67 陽性率に有意差がないが、OLLs の上皮細胞における上皮成長因子の発現、癌抑制遺伝子の欠失、アポトーシスの抑制などにより修復が促進されたと推察された。ヘパラン硫酸プロテオグリカンの Perlecan は、主要な基底膜高分子のひとつであり、成長因子やサイトカインとの相互作用を通じて、細胞の成長、分化、接着、運動性に重要な役割を果たしている[29],[30]。また、Perlecan は口腔上皮細胞間に局在し、上皮性異形成では過剰発現されることにより、細胞接着性の減少を促している[30]。本研究で OLLs は、上皮細胞の基底層から有棘層に軽度から中等度、境界部の上皮下結合織で弱～中程度の発現がみられ、OLP では上皮細胞に弱陽性を

示すのみであった。Perlecan は OLLs において、上皮性異形成を構成する傍基底細胞で合成され、異型上皮細胞間に沈着して細胞増殖を促進すると推測されている[30]。また Perlecan は、炎症性病変の組織リモデリングの過程で発現する[31]。Perlecan が関与する組織再生は OLLs の間質で起こっていると考えられたが、上皮細胞の腫瘍性性格の獲得との関連性は検討の余地が残された。

シクロオキシゲナーゼ (Cyclooxygenase, COX) は、アラキドン酸をプロスタグランジン (Prostaglandin, PG) へ代謝し、さらには 中間体 PGH_2 への酸化を促進する酵素であり、各種 PG のうちでもさらに PGE_2 合成酵素により変換された PGE_2 は癌組織で過剰産生されている[32]。COX-2 は炎症時に発現し、組織の修復、血管新生、細胞の増殖および分化を促すが、OLP や OLLs のような慢性持続性炎症は、口腔癌の発症と進行に強く関連している[33], [34]。また COX-2 の発現は口腔上皮性異形成の程度は相関し、発癌の初期を示すともいわれている[35],[36]。Arreaza らの研究[37]は、OLLs よりも OLP でより高い COX-2 発現が報告され、Chankong ら[38]が OLP における COX-2 発現とこの病態の臨床的重症度との間に直接的な相関関係があることを示した。一方、Cortes らは OLP よりも OLLs の方が COX-2 の発現が高いと報告した[39]。本研究では、上皮の COX-2 陽性細胞の数は OLLs の病変部で有意に多かった。OLLs における上皮細胞での COX-2 の過剰発現は、発癌性の獲得に対する細胞増殖とアポトーシスの調節機序が働いたと推察された[40],[41],[42]。殊に COX-2 と Perlecan の結果は、OLLs の上皮細胞における腫瘍性性格の獲得を示唆した[35]。第 1 章の結果より、OLP と OLLs を鑑別診断することは臨床的意義が大きく、基底細胞の消失はその重要な鑑別所見となり得ると考えられた。

一方、OLP は原因不明の難治性慢性炎症性疾患で OPMDs に含まれ、また病期により症状が変化するために、長期間の経過観察に細胞診を併用することが多い。この場合の細胞診は、悪性転化を推定することを目的としており、正診性に影響を与える

細胞所見の検討が必要である。本研究の対象となった細胞判定と病理組織診断との乖離がみられた症例は、異型や反応性、炎症性ないし再生性異型の有無がその要因となっていた。

具体的には、核の濃染化は、上皮性異形成や扁平上皮癌でみられ、典型的な所見として扁平上皮癌細胞の墨汁状を呈する濃縮核が黒染したものが挙げられる[43]。核の濃染化はクロマチン増量を反映しているため、すべての異型細胞に必ずみられる所見ではない。一方で、OLP の細胞所見では核の濃染化が多くの症例にみられるとの報告もある[44]。本結果においても過小診断の1例を除く全症例より核の濃染化が認められた。従って、核の濃染化は、OLP 内に生じた上皮性異形成や反応性、炎症性ないし再生性異型を検出するための特異的所見とは断定し得ないと考えられた。

細胞質の光輝性変化は、細胞異型を判定する指標の1つとされている[45],[46]。細胞質の光輝性変化は、細胞像の明度に着目して数値化がなされている報告があるが、細胞診においてオレンジ G 好性表層型扁平上皮細胞の細胞質のぎらつきが強い状態は、明度が低いことのみならず、染色性が高くなるため彩度が高くなると考え、今回の解析では明度に加え彩度も併せて算出し光輝性変化の判定を行った[45],[46]。その結果、すべての症例に細胞質の光輝性変化を認める細胞がみられた。上皮性異形成を伴わないOLP では、病理組織診において角化異常を認めることは少ないとされる[44]。一方、OLP は病態により過角化を随伴することがある[47]。病理組織診では組織構築を観察することができるため、上皮表層に生じた過角化と分化異常による角化異常とを判別することが可能である。しかし、細胞診では組織構築を観察することができないため、今回の検討方法では細胞質の光輝性変化が過角化或いは角化異常いずれの影響により生じたものか鑑別するのは困難であった。

第2章の細胞診と病理組織診との診断乖離において、Case 1 は細胞像で核の濃染化や細胞質の光輝性変化を認めたが、その両方がみられる細胞は観察されなかった。

そのため、過小診断となったことが考えられる。一方、Case 2 については、核の濃染化と細胞質の光輝性変化を伴っていた細胞が複数みられたにも関わらず、過小診断となっていたことより、色調以外の形態的所見も実際の細胞判定に考慮されている可能性が挙げられる。そして上皮組織には様々な形態学的変化が生じる。カンジダ感染症では、上皮組織の過角化や有棘層肥厚などを引き起こす[48]。また、ヘルペス感染症では、多核化や核腫大を認める[49]。さらに修復再生過程に生じる修復細胞には核腫大、核小体の明瞭化、N/C 比の増大といった再生異型がみられる[50]。従って、第 2 章の Case 3, 4 のような感染や修復反応等の炎症を随伴する病態の場合には、細胞に生じた変化が一時的な反応により生じた細胞異型かあるいは悪性の細胞異型なのか慎重に判断する必要がある。本結果に鑑み、過角化を随伴するものは、細胞質の光輝性変化に角化異常が関与しているか判定が困難になることが予想されるため、悪性の細胞異型の判定は形態的な観察も含めて総合的に判断する必要があると考える。

過大診断の症例は、いずれも核の濃染化と細胞質の光輝性変化を認めた。Case 5 については組織学的に過角化を認めたことから、過角化による細胞質の光輝性変化との鑑別が十分にできなかった可能性がある。一方、頬粘膜に生じた口腔扁平苔癬では、正常粘膜と比較して角化の亢進を認めるとされている[51]。従って Case 6 は頬粘膜症例であるため角化細胞が目立ったことが過大診断を導いた可能性がある。そして Case 7 については、組織学的所見と対比しても過大診断となった原因は不明であるが、細胞判定に影響を与えるその他の要因解析の必要性が残された。

第 2 章より OLP の長期経過観察に細胞診は有用であるが、悪性転化の判定には核の濃染化や細胞質の光輝性変化はあくまでも細胞判定の一助の所見に過ぎず、前回採取時の細胞所見との比較が重要であると考えられた。

結 論

本研究の結論は以下の通りである。

- 1) 免疫組織学的に OLP では CD3 陽性 T リンパ球浸潤が有棘層に直接接しており、基底細胞の消失は OLP と OLLs の重要な鑑別所見となり得る。
- 2) Perlecan が OLLs の基底層から有棘層に発現がみられ、細胞増殖あるいは細胞接着性の減少を促していると考えられた。一方 OLP では陰性であった。
- 3) COX-2 は OLLs の病変部で OLP よりも有意に発現し、細胞増殖とアポトーシスの抑制機序が働いたと推察された。
- 4) OLP の細胞判定と病理組織診断との診断乖離がみられた症例は、異型や反応性、炎症性ないし再生性異型の有無が要因となっていた。
- 5) OLP の悪性転化の判定には、核の濃染化や細胞質の光輝性変化はあくまでも細胞判定の一助の所見に過ぎず、前回採取時の細胞所見との比較が重要である。

参考文献

- [1] Petruzzi, M., De Benedittis, M., Grassi, R., Cassano, N., Vena, G. and Serpico, R. (2002) Oral Lichen Planus: A Preliminary Clinical Study on Treatment with Tazarotene. *Oral Diseases*, 8, 291-295.
- [2] Pindborg, J.J., Reichart, P.A., Smith, C.V. and van der Waal. (1997) *Histological Typing of Cancer and Precancer of the Oral Mucosa*. 2nd Edition, Springer, Berlin, Heidelberg, 30.
- [3] Cawson, R.A. and Odell, E.W. (1998) *Diseases of the Oral Mucosa: Non-Infective Stomatitis*. In: Cawson, R.A. and Odell, E.W., Eds., *Cawson's Essentials of Oral Pathology and Oral Medicine*, 6th Edition, Churchill Livingstone, London, 187-191.
- [4] 清水啓代 (2003) 口腔白板症および扁平苔癬における臨床診断と病理組織診断の不一致. *日本口腔粘膜学会雑誌* 9 : 17-25.
- [5] Hasegawa, K., Sakamaki, H., Higuchi, M., Suemitsu, M., Chieko, T., Ito, K. and Kayo, K. (2018) Histomorphometric Evaluation of Intraepithelial Papillary Capillaries in Oral Lichen Planus: A Histopathological Study. *Journal of Dermatology Research and Therapy*, DOI: 10.23937/2469-5750/1510058
- [6] Bombeccari, G. P., Gianni, A. B. and Spadari, F. (2017) Immunoexpression of Cytokeratin-19 in the Oral Lichen Planus and Related Oral Squamous Cell Carcinoma. *Annali Di Stomatologia*, 8, 104-109.
- [7] Liu, Y., Liu, G., Liu, Q., Tan, J., Hu, X., Wang, J. and Wang, X. (2017) The Cellular Character of Liquefaction Degeneration in Oral Lichen Planus and the Role of Interferon Gamma. *Journal of Oral Pathology and Medicine*, 46, 1015-1022.

- [8] Mattila, R., Alanen, K. and Syrjanen, S. (2007) Immunohistochemical Study on Topoisomerase II α , Ki-67 and Cytokeratin-19 in Oral Lichen Planus Lesions. *Archives of Dermatological Research*, 298, 381-388.
- [9] Eisenberg, E. and Krutchkoff, D.J. (1992) Lichenoid Lesions of Oral Mucosa. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, 73, 699-704.
- [10] El-Naggar, A.K. and Reichart, P. (2015) Proliferative Verrucous Leukoplakia and Precancerous Conditions. In: Barnes, L., Eveson, J.W., Reichart, P. and Sidransky, D., Eds., *World Health Organization Classification of Tumours, Pathology & Genetics Head and Neck Tumours*, International Agency for Research on Cancer (IARC), Lyon, 180-181.
- [11] Reibel, J., Tilakaratne, W., Gale, N., Westra, W., Hille, J., Williams, M. and Zain, R. (2017) Oral Potentially Malignant Disorders and Oral Epithelial Dysplasia. In: El-Naggar, A.K., Chan, J.K.C., Grandis, J.R., Takata, T. and Slootweg, P.J., Eds., *WHO Classification of Head and Neck Tumours, 4th Edition*, International Agency for Research on Cancer (IARC), Lyon, 112-115.
- [12] Kamath, V., Setlur, K. and Yerlagudda, K. (2015) Oral Lichenoid Lesions: A Review and Update. *Indian Journal of Dermatology*, 60, 102.
- [13] Alrashdan, M.S, Cirillo, N. and Mccullough, M. (2016) Oral Lichen Planus: A Literature Review and Update. *Archives of Dermatological Research*, 308, 539-551.
- [14] Al-Hashimi, I., Schifter, M., Lockhart, P.B., Wray, D., Brennan, M., Migliorati, C.A. and van der Waal, I. (2007) Oral Lichen Planus and Oral Lichenoid Lesions: Diagnostic and Therapeutic Considerations. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology*, 103, S25.e1-S25.e12.

- [15] Schmidt-Westhausen, A.M. (2020) Oral Lichen Planus and Lichenoid Lesions: What's New? Quintessence International, 51, 156-161.
- [16] Andreasen, J.O. (1968) Oral Lichen Planus. 1. A Clinical Evaluation of 115 Cases. Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, 25, 31-42.
- [17] Brant, J.M.C., Vasconcelos, A.C. and Rodrigues, L.V. (2008) Role of Apoptosis in Erosive and Reticular Oral Lichen Planus Exhibiting Variable Epithelial Thickness. Brazilian Dental Journal, 19, 179-185.
- [18] Van der Meij, E.H., Mast, H. and van der Waal, I. (2007) The Possible Premalignant Character of Oral Lichen Planus and Oral Lichenoid Lesions: A Prospective Five-Year Follow-up Study of 192 Patients. Oral Oncology, 43, 742-748.
- [19] Saraf, S., Ghane, N., Nathanson, M. and Alkhalidi, A., (2019) The Malignant Transformation of Oral Lichen Planus and Oral Lichenoid Lesions, a Case Report and Review of the Literature, Journal of Clinical and Anatomic Pathology, 3: 1-6.
- [20] Epstein, J.B., Wan, L.S., Gorsky, M., Zhang, L. and Aviv, T. (2003) Oral Lichen Planus: Progress in Understanding its Malignant Potential and the Implications for Clinical Management, Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 96: 32-37.
- [21] 久山佳代, 杉浦里恵, 松本敬, 山本浩嗣 (2000) 口腔白板症および扁平苔癬の比較細胞学的検討, 日本臨床細胞学会雑誌, 39:429-436.
- [22] Masai, K., Nakagawa, K., Yoshida, A., Sakurai, H., Watanabe, S., Asamura, H. and Tsuta, K. (2014) Cytokeratin 19 Expression in Primary Thoracic Tumors and Lymph Node Metastases. Lung Cancer, 86, 318-323.
- [23] Piattelli, A., Carinci, F., Iezzi, G., Perrotti, V., Goteri, G., Fioroni, M. and Rubini, C. (2007) Oral Lichen Planus Treated with 13-cis-Retinoic Acid (Isotretinoin): Effects on the Apoptotic Process. Clinical Oral Investigations, 11, 283-288.

- [24] Hirota, M., Ito, T., Okudela, K., Kawabe, R., Yazawa, T., Hayashi, H. and Kitamura, H. (2002) Cell Proliferation Activity and the Expression of Cell Cycle Regulatory Proteins in Oral Lichen Planus. *Journal of Oral Pathology and Medicine*, 31, 204-212.
- [25] Karatsaidis, A., Schreurs, O., Helgeland, K., Axell, T. and Schenck, K. (2003) Erythematous and Reticular Forms of Oral Lichen Planus and Oral Lichenoid Reactions Differ in Pathological Features Related to Disease Activity. *Journal of Oral Pathology and Medicine*, 32, 275-281.
- [26] Zhao, Z.Z., Savage, N.W., Sugerman, P.B. and Walsh, L.J. (2002) Mast Cell/T Cell Interactions in Oral Lichen Planus. *Journal of Oral Pathology and Medicine*, 31, 189-195.
- [27] Pigatti, F.M., Taveira, L.A. de A. and Soares, C.T. (2015) Immunohistochemical Expression of Bcl-2 and Ki-67 in Oral Lichen Planus and Leukoplakia with Different Degrees of Dysplasia. *International Journal of Dermatology*, 54, 150-155.
- [28] Acay, R.R., Felizzola, C.R., Soares de Araujo, N. and Machado de Sousa, S.O. (2006) Evaluation of Proliferative Potential in Oral Lichen Planus and Oral Lichenoid Lesions Using Immunohistochemical Expression of p53 and Ki67. *Oral Oncology*, 42, 475-480.
- [29] Yamazaki, M., Cheng, J., Hao, N., Takagi, R., Jimi, S., Itabe, H. and Saku, T. (2004) Basement Membrane-Type Heparan Sulfate Proteoglycan (Perlecan) and Low-Density Lipoprotein (LDL) Are Co-Localized in Granulation Tissues: A Possible Pathogenesis of Cholesterol Granulomas in Jaw Cysts. *Journal of Oral Pathology and Medicine*, 33, 177-184.

- [30] Ikarashi, T., Ida-Yonemochi, H., Ohshiro, K., Cheng, J. and Saku, T. (2004) Intraepithelial Expression of Perlecan, a Basement Membrane-Type Heparan Sulfate Proteoglycan Reflects Dysplastic Changes of the Oral Mucosal Epithelium. *Journal of Oral Pathology and Medicine*, 33, 87-95.
- [31] Murata, M., Hara, K. and Saku, T. (1997) Dynamic Distribution of Basic Fibroblast Growth Factor during Epulis Formation: An Immunohistochemical Study in an Enhanced Healing Process of the Gingiva. *Journal of Oral Pathology and Medicine*, 26, 224-232.
- [32] Sobolewski, C., Cerella, C., Dicato, M., Ghibelli, L. and Diederich, M. (2010) The Role of Cyclooxygenase-2 in Cell Proliferation and Cell Death in Human Malignancies. *International Journal of Cell Biology*, 2010, Article ID: 215158.
- [33] Sarode, G.S., Sarode, S.C., Patil, A., Anand, R., Patil, S.G., Rao, R.S. and Augustine, D. (2015) Inflammation and Oral Cancer: An Update Review on Targeted Therapies. *The Journal of Contemporary Dental Practice*, 16, 595-602.
- [34] Sarode, S.C., Sarode, G.S. and Patil, A. (2014) Therapeutic Aspects of the Inflammation Mediated Oral Carcinogenesis. *Oral Oncology*, 50, e13-e14.
- [35] Shibata, M., Kodani, I., Osaki, M., Araki, K., Adachi, H., Ryoike, K. and Ito, H. (2005) Cyclo-Oxygenase-1 and -2 Expression in Human Oral Mucosa, Dysplasias and Squamous Cell Carcinomas and Their Pathological Significance. *Oral Oncology*, 41, 304-312.
- [36] Sanketh, D.S., Kumari, K., Rao, R.S., Haragannavar, V.C., Sarode, S.C., Sarode, G.S. and Patil, S. (2019) Expression of Ki-67, p53, α -SMA and COX-2 in Lichen Planus and Related Lesions: A Pilot Study. *Journal of Oral Biology and Craniofacial Research*, 9, 230-235.

- [37] Arreaza, A.J., Rivera, H. and Correnti, M. (2014) Expression of COX-2 and BCL-2 in Oral Lichen Planus Lesions and Lichenoid Reactions. *Ecancermedicalscience*, 8, DOI: 10.3332/ecancer.2014.411
- [38] Chankong, T., Chotjumlong, P., Sastraruji, T., Pongsiriwet, S., Iamaroon, A. and Krisanaprakornkit, S. (2016) Increased Cyclooxygenase 2 Expression in Association with Oral Lichen Planus Severity. *Journal of Dental Sciences*, 11, 238-244.
- [39] Cortes-Ramirez, D.A., Rodriguez-Tojo, M.J., Gainza-Cirauqui, M.L., Martinez-Conde, R. and Aguirre-Urizar, J.M. (2010) Overexpression of Cyclooxygenase-2 as a Biomarker in Different Subtypes of the Oral Lichenoid Disease. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology*, 110, 738-743.
- [40] Lynch, P.M. (2001) COX-2 Inhibition in Clinical Cancer Prevention. *Oncology*, 15, 21-26.
- [41] Arber, N. (2008) Cyclooxygenase-2 Inhibitors in Colorectal Cancer Prevention: Point. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, 17, 1852-1857.
- [42] Arun, B. and Goss, P. (2004) The Role of COX-2 Inhibition in Breast Cancer Treatment and Prevention. *Seminars in Oncology*, 31, 22-29.
- [43] 田中陽一 (2015) 口腔癌の病理診断と細胞診, 日本口腔外科学会雑誌, 61: 137-146.
- [44] Paiva, S.N., Braga, C.C., Almeida-Coburn, K.L., Bautz, W.G., Pimenta de Barros, L.A., and Gama-de-Souza, L.N. (2016) Oral Lichen Planus: Clinical Profile and Determination of Oral Epithelial Dysplasia, *International Journal of Odontostomatology*, 10: 99-106.
- [45] 日本臨床細胞学会編:細胞診ガイドライン5 消化器 2015年版, 第1版, 17-79, 金原出版, 東京

- [46] 関根浄治, 秀島克巳, 岩橋輝明, 渡邊正章, 管野貴浩, 成相義樹 (2017) 口腔細胞診におけるベセスダシステム SIL の取り扱いに関する検討: パパニコロウ分類/3段階分類との関連, 日本臨床細胞学会雑誌, 56:203-209.
- [47] Cheng, Y-SL., Gould, A., Kurago, Z., Fantasia, J. and Muller, S. (2016) Diagnosis of Oral Lichen Planus: A Position Paper of the American Academy of Oral and Maxillofacial Pathology, Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology, 122: 332-354.
- [48] Abe, Y. (2013) Oral Candidiasis: A Histopathological, Ultrastructural and Immunohistochemical Study, International Journal of Oral-Medical Sciences, 12: 171-182.
- [49] Southam, J.C., Colley, I.T. and Clarke, N.G. (1968) Oral Herpetic Infection in Adults, Clinical, Histological and Cytological Features, British Journal of Dermatology, 80: 248-256, 1968.
- [50] 柏村賀子, 杉森甫, 松山敏剛, 柏村正道, 滝一郎 (1978) いわゆる Repair Cell の細胞形態ならびにその細胞核 DNA に関する研究, 日本臨床細胞学会雑誌, 17: 289-296.
- [51] Sugerman, P.B., Savage, N.W., Williams, S.L., Joynson, B., Daley, T.J. and Cowpe, J.G. (1996) A Quantitative Cytological Study of Lesional and Non-Lesional Mucosa in Oral Lichen Planus, Archives of Oral Biology, 41: 117-120.