口腔生体顕微鏡 (Oralmicroscope) による

口腔粘膜の経時的観察

第I報 応 用 法

草刈 玄 石橋寛二 田口政晴

渡瀬孝彦 嶋倉道郎

Continual Observations on
Oral Mucosa used Oralmicroscope

Part I. General Application

Haruka Kusakari, Kanji Ishibashi, Masaharu Taguchi,

Takahiko Watase, Michio Shimakura

I. 緒 言

補綴物は、形態的、機能的回復はもちろん、口腔内の健康を維持増進することが必須の要件として要求される。そのため、補綴物と歯周組織との関係については従来より幾多の報告¹⁻¹⁴⁾がみられるが、とりわけ口腔粘膜に対する補綴物の影響については多大の関心がよせられてきた。その研究方法も様々で、肉眼的観察によるもの、組織診^{1,2,6,9,11)}や剥離細胞診⁵⁾によるもの、毛細血管顕微鏡によるもの¹⁰⁾などをはじめ、さらに、歯肉嚢からの浸出物を生化学的に検討したもの¹²⁾など、多方面にわたっている。

しかし、臨床所見変化を、客観的に、組織を障害せず、しかも簡単に同一部位を経時的観察する方法は、いまだ確立されていない。

そこで著者の一人草刈は、口腔粘膜の経時的変化を追求するため、粘膜を損傷することなく、同一部位を組織学的に経時的観察する方法として Oralmicroscope を開発した。

今回、著者らは Oralmicroscope HK-100 型を使用して、口腔粘膜、ことに唇側歯肉の経時的観察を行なった結果、2, 3 の興味ある知見を得たのでここに報告する。

II. 観 察 装 置

1. Oralmicroscope HK-100 型

Oralmicroscope HK-100 型 (図 1, 図 2-A) は町田製作所製で、表 1 に示すごとく、倍率 100 倍、内視野 70 mm を有し、焦点可変深度は 0.8 mm まで調節可能な直視型である。

図 1 のごとく、有効長 170 mm、外径 8 mm の光学管 (図 1-B) と、光源装置から光学管に光を送るファイバ

表 1 Oral microscope HK-100 型仕様

倍	率	100倍
焦 点 可 変 深 度		0.8 mm
先 端 部 接 地 面		1.8 m/m
先 端 部 角 度		直 視
実 視 野		0.7 m/m
外 径		8 mm
全 長		250 mm
有 効 長		170 mm

新潟大学歯学部歯科補綴学第2教室
2nd Department of Prosthetic Dentistry, School of
Dentistry, Niigata University (Director : Prof. Haruka
Kusakari)

昭和49年1月7日受付

図 1 Oralmicroscope HK-100 型

- A : 対物レンズ
- B : 光学管
- C : ライトガイド
- D : 焦点調整リング
- E : 接眼部
- F : ライトガイドジャック

図 2 観察装置

ーオプティカルライトガイド (図 1-C), そして接眼部 (図 1-E) よりなる。

2. 光源装置

光源装置は町田製作所製の L 型照明装置 RM-300 型 (図 2-B) で, 300 W のマルチハロゲン水銀灯を有している。

3. 撮影装置

写真撮影には, 内視鏡専用カメラ Kowa Scope Camera SQ (図 2-C) を使用した。

III. 観察方法

同一部位の経時的観察を行なうため, Oralmicroscope 固定装置を考案し, 肉眼的に正常な歯肉と炎症をもつ歯肉について観察を行なった。また, 観察にあたり, 3 種類の染色液により生体染色を行ない, 染色条件について

図 3 Oralmicroscope 固定装置

検討した。

1. 固定装置

固定装置は安定した再現性をうるためと衛生面を考慮して, 金属製の構造を有し, 歯列を固定するための咬合盤 (図 3-A) と可動範囲 120 mm の水平滑走盤 (図 3-B) が接続されており, さらに先端保持部 (図 3-C) とそれを支える上下移動桿 (図 3-E) で構成されている。

また, 観察にさいし対物レンズを粘膜になるべく垂直に接する必要があるので, Oralmicroscope 先端の挿入部 (図 3-D) の角度は, 咬合平面に対し 10° , 20° , 30° の 3 種類を用意し, 症例に応じて使用した。

調節用ネジ (図 3-F, G) によつて Oralmicroscope の先端の対物レンズが観察部位と垂直に軽く接するように調節される。

歯列固定には, シリコン印象材のヘビィタイプとモデリングの 2 種類を使用した。

2. 染色法

Oralmicroscope による観察にさいして行なわれる染色方法は, 一種の生体染色といわれるものであり, Toluidine Blue, Evans Blue, Pontamine Sky Blue の 3 種類の染色液について検討した。

歯肉など角化度の著しい部位においては, 口腔内の他の部位に比較して染色性が不良な場合が多いが, 今回著者らは各種染色条件を検討し良好な結果をえた 10% Pontamine Sky Blue および 5% Evans Blue 染色液を使用した。

染色法は, 生理的食塩水で含嗽させた後, 小綿球で擦過, 乾燥させる。その後, 染色液を含ませた小綿球で軽く圧迫染色し, 染色終了後再度含嗽させる。

組織の各染色液に対する親和性は症例により差が認めれる。そのため適正な染色時間は各々に応じて異なるが, 今回は 90 秒染色を基準に行なった。

染色終了後, ただちに観察するため, 固定装置を口腔

図 4 写真撮影している状態

内に装着し、Oralmicroscope の先端を挿入する。図 4 は写真撮影している状態を示す。

IV. 観 察 所 見

1. 肉眼的に正常な歯肉

正常な重層扁平上皮においては、細胞膜で境された扁平な多角形細胞が規則正しい配列として明瞭に認められ、核は濃縮状を呈し、均一な大きさを有している (図 5)。

一般に正常な場合は、細胞質は淡染の傾向がみられるが、細胞の境界は比較的鮮明に確認することができる。

2. 肉眼的に炎症のみられる歯肉

歯肉に炎症が認められる場合は、正常な場合に比して細胞質の濃染が示され、細胞質境界は不鮮明な状態を呈し、さらには細胞配列の乱れを伴う場合が多い。

また、核は濃縮像を表わし、形状の不正および同一視野内における核の増加の傾向が認められる。

図 6 はいずれも Gingival Index 2 と診断された症例であるが、細胞質境界は濃染され不明瞭で、全体に細胞配列の乱れが確認される。

図 7-A は Pontic 下部の粘膜で、肉眼的には上皮破壊が著明で、発赤・糜爛などかなり高度の炎症状が認められた症例である。毛細血管は肥大し、異常な形態を呈し、拡張や波状が明瞭に認められる。また、血流の状態も鮮明に観察された。図 7-B は 25 日後の同一部位の所見である。毛細血管の拡張は消退し、治癒傾向が認められる。

V. 総括、考案

1. 歯肉粘膜の経時的観察の臨床的意義

補綴学領域において、不良なる金属冠や継続歯あるいは有床義歯が口腔粘膜に与える影響は大きく^{3,17,8)}、その経時的变化を観察することは、補綴物と口腔粘膜との関連を知る上できわめて重要な課題である。またこの結果、口腔粘膜の炎症の程度を容易に、しかも客観的な資料として得ることができれば、歯周疾患の診断および治療方針の決定に大きく貢献するものと考えられる。

しかし、古くより行なわれてきた肉眼的臨床検査法¹⁵⁻¹⁸⁾は客観性に欠け、組織診では経過観察が不可能である。また、口腔領域においては剝離細胞学的研究^{5,19-21)}も数多く報告されているが、操作性と同一部位の再現性に問題を残している。

そのため、毛細血管顕微鏡による方法^{10,25-28)}をはじめ、歯肉の色調を数値で表現する方法^{29,30)}や歯肉の弾性を応用したもの、また盲嚢内滲出物の測定による方法^{12,31,32)}など、種々検討されてきたが、いまだ確立された方法がみあたらないのが現状である。

そこで著者の一人草刈は、口腔粘膜の臨床的变化を経時的に観察するため、粘膜を損傷することなく、同一部位を組織学的に客観的に観察する方法として、婦人科領域で子宮頸癌の早期診断に使用されていた Colpomicroscope (陰頭微鏡) の応用に着目し、あらたに Oralmicroscope を開発した。

Colpomicroscope は、鉍光学・冶金学に使用されていた投射光線顕微鏡の原理を応用したもので、1934 年 Pick³³⁾、1945 年 Vonwiller³⁴⁾により生物学に導入され、婦人科用の投射光線顕微鏡が開発された。さらに、1949 年 Wien 大学の T. Antoine や V. Grünberger³⁵⁾らによつて Colpomicroscope が完成され、婦人科領域に応用されるようになった³⁶⁻⁴¹⁾。本邦においても、増淵^{42,43)}、藤森^{44,45)}らにより国産の Colpomicroscope が製作され、その成績が発表されている。

一方、口腔領域においては、1957 年 Fasske⁴⁶⁾が口腔癌の探索に応用したのが最初で、本邦においては、塚脇⁴⁷⁾が粘膜疾患、ことに悪性腫瘍の診断に応用し、細胞診、組織診との比較を報告している。

Oralmicroscope HK-100 型は従来の Colpomicroscope と同じような機構を有するが、長さ、倍率、レンズ構成など口腔内用として独自の形態を有し、また従来の Colpomicroscope より鮮明な像を観察することができる。

Oralmicroscope による観察法は操作の簡便性はもちろん、組織を障害せず同一部位を経時的に観察できるという大きな特徴を有し、同時に写真撮影が可能のため、口腔粘膜臨床所見の客観的な資料の取得法として、きわ

めて価値の高い方法と考える。

2. 観察部位の再現性

経時的観察に際し、Oralmicroscope の固定装置を応用した場合どの程度の再現性を有するかを検定する目的で、次のような実験を試みた。被検部位に直径 0.28 mm の Tattoo Needle を用いて青色の印をつけ、本固定装置を応用して、追目的に観察し写真撮影を行なった。その結果、1 週間後の観察においても第 1 日目とほぼ同じ部位を視野内に確認することができた。このことは、実視野 0.7mm の Oralmicroscope を応用した場合、直径 1.6 mm の範囲内に同一部位の再現性を有することを意味する。したがって、Oralmicroscope 固定装置を応用することによって、唇側歯肉における同一部位の経時的観察は、容易に確実にこなえる方法であると考えられる。

3. 生体染色法

検討した染色液は、Toluidine Blue, Evans Blue, Pontamine Sky Blue の 3 種類であるが、塩基性色素の Toluidine Blue は核の染色に適しており、核の形態的变化を追求する癌検診などに有効で、一方酸性色素の Evans Blue や Pontamine Sky Blue は細胞質の染色に適しているので炎症の存在による細胞質の変化を観察する際に用いれば有効であると考えられている⁴⁸⁾。著者らの観察においても同様の所見が得られ、口腔粘膜の炎症性の変化を追求するためには、Evans Blue や Pontamine Sky Blue が有効であった。ことに、硬口蓋、歯肉など表層細胞の角化が進んでいる部位においては、Evans Blue, Pontamine Sky Blue が適当であると塚脇⁴⁷⁾も述べている。

染色濃度と時間の関係も染色性に大きく影響を与え、表層細胞の角化が多くみられる歯肉の場合は、5% Evans Blue 60~120 秒、10% Pontamine Sky Blue 90~120 秒染色において良好な結果を得た。渡辺⁴⁹⁾らは、硬口蓋・歯肉部では、5% Pontamine Sky Blue, 5% Evans Blue, 3.5% Toluidine Blue が適していると報告している。もとより、正常な上皮では染色液が浸潤しがたく、何らかの原因で表層が損傷または変性を受けた場合は深層まで染色されやすいと考えられるので、各々の症例により染色に要する濃度と時間は異なると思われる。

4. 観察所見

Oralmicroscope により、無染色の状態では毛細血管の動態・形状が観察され、生体染色下においては細胞の配列状態を全体的にとらえ、個々には細胞膜や核の形状・大きさなどを確認することができた。

藤森^{50, 51, 52)}、野田^{48, 50, 51, 52)}らは、Colpomicroscope に

よると、正常重層扁平上皮は扁平な多角形細胞の規則正しい配列を示し、核は濃縮状で均一な大きさを有し、炎症性の場合は配列の乱れ・核の形状不正がみられると報告している。Colpomicroscope を応用し、口腔粘膜の観察を行なった塚脇⁴⁷⁾も同様の見解を述べている。

Oralmicroscope による著者らの観察においても Colpomicroscope によるものとほぼ同様の所見が得られたが、Oralmicroscope 固定装置を併用して、より鮮明な部位の経時的観察を行なうことができる点において、従来にない価値を有する観察法であると考えられる。

正常重層扁平上皮は細胞膜境界が明瞭で、比較的規則正しい配列が観察された。一方、炎症性の上皮においては細胞膜境界が不明瞭な場合が多く、一般に濃染の傾向が認められた。また、炎症性の上皮において同一視野内で核の増加がみられるのは染色深度が深くなるためではないかと考えられる。

以上のごとく、肉眼的に正常な口腔粘膜と炎症性変化を有する口腔粘膜について Oralmicroscope HK-100 型による 2, 3 の観察所見について記載を行なったが、口腔粘膜の炎症性変化を、生体において詳細に追求した報告はほとんどみられず今後さらに観察を行ない、例数を増し、口膜粘膜病変の客観的な診断法として Oralmicroscope 応用による、炎症性変化の数値化を行なう考えである。

VI. 要 約

1. 口腔粘膜の観察を目的として、直視型口腔生体顕微鏡 (Oralmicroscope HK-100 型) を開発した。
2. Oralmicroscope および固定装置を用いることによって、容易に、組織を障害することなく、口腔粘膜の同一部位を組織学的に経時的観察を行なうことが可能となった。
3. Oralmicroscope によれば、細胞膜や核の形状・大きさなど細胞単位での観察が可能で、同時に毛細血管の観察にも適している。
4. 臨床所見において口腔粘膜の変化を正確かつ客観的に把握するために、Oralmicroscope による経時的観察法はきわめて有効な方法であると考えられる。

本研究の要旨は、第 60 回日本補綴歯科学会 (1973, 9, 25) において発表した。

稿を終るにあたり終止御懇篤な御援助をいただきました新潟大学歯学部口腔病理学教室、石木教授ならびに、Oralmicroscope HK-100 型製作に多大の御協力をいただいた町田製作所代表取締役町田恒雄氏をはじめ関係各位に対し深く謝意を表します。

Oralmicroscope 所見

図5 肉眼的に正常な歯肉

図6 肉眼的に炎症のみられる歯肉

A

B

図7 炎症のみられる結膜

A 不良橋義歯撤去直後におけるボンタイック下結膜の毛細血管像

B 同症例における25日後の所見

文 献

- 1) 吉井 久：金属冠装着による歯頸部附近組織の変化に関する病理組織の研究，歯科学報，57 巻別刷，1957.
- 2) 小室史郎，他：即時義歯による床下組織の変化に関する実験的研究，(第 1 報)，補綴誌，3：126，1959.
- 3) 石原寿郎：補綴と生物学——補綴物と歯周組織との関係——，今日の補綴，東京，1960，歯歯葉出版，365～429.
- 4) 中村治郎，他：歯冠補綴物と歯周疾患との関係について，日保歯誌，4：104，1961.
- 5) 田端恒雄：橋義歯ダミーが歯内に及ぼす影響，第一報：剝離細胞学的観察，口病誌，29：148～163，1962.
- 6) 下總高次，他：歯冠継続歯における補綴的処置の不備による歯肉変化，補綴誌，6：111～120，1962.
- 7) 井上昌幸，草刈 玄：歯周疾患と補綴物——病因論における 2，3 の問題——，歯界展望，26 (4)：525～531，1965.
- 8) 石原寿郎：歯周組織と補綴——歯周病学からみた正しい補綴処置法——，歯界展望，26：699～706，1965.
- 9) 大原 靖，他：部分床義歯の床縁が歯肉組織に及ぼす影響に関する研究その 1，床縁が残存歯の歯肉縁に接する場合，補綴誌，10：60～66，1966.
- 10) 河原俊郎：義歯床下粘膜毛細血管の形態的变化，口病誌，33：274，1966.
- 11) 荒木啓之：歯肉に対する全部鋳造冠の影響に関する実験的研究，補綴誌，13：44～56，1969.
- 12) 細田裕康，他：歯科用合金の歯肉におよぼす影響について——主として歯肉囊滲出液の生化学的分析を中心として——，日保歯誌，12：284～294，1970.
- 13) 秋吉正豊：支台歯の歯周組織の変化について，歯界展望，41：235～242，1973.
- 14) Martin Henry Berman：The complete-coverage restoration and the gingival sulcus，J. Prosthet. Dent.，29：301～309，1973.
- 15) Massler, M.：The P.M.A index for the assessment of gingivitis. J. periodont.，38：592～601，1967.
- 16) Ramfjord, S.P.：The Periodontal disease index (PDI). J. Periodont.，38：602～610，1967.
- 17) Russel, A.L.：The periodontal index. J. Periodont.，38：585～591，1967.
- 18) Loe, H.：The gingival index, the plaque index and the retention index systems. J. Periodont.，38：610～616，1967.
- 19) 石冢好夫：洗浄ならびに含嗽による口腔粘膜剝離細胞に関する研究，第 1 編 正常口腔剝離細胞学，岡山医学会雑誌，71：6059，1958.
- 20) 渡辺義男：口腔領域における剝離細胞学，日本口腔科学会雑誌，8：371～391，1959.
- 21) 松井假行：口腔粘膜における正常剝離細胞学，岡山医会誌，71：6089～6095，1959.
- 22) 渡辺義男，他：抜歯創治癒過程の剝離細胞に関する実験的研究(抄)，日本口腔科学会雑誌，12：176，1963.
- 23) 渡辺義男：Papanicolaou 教授の業績と口腔剝離細胞学のあゆみ，医学のあゆみ，45：407～412，1963.
- 24) 渡辺義男：口腔細胞診，歯界展望，31：321～328，1968.
- 25) 麻野弘樹：歯肉血管の生体観察とその臨床応用，口病誌，27：26～40，1960.
- 26) 若野洋一：生体観察による口腔粘膜，毛細血管の形態に関する研究，II 歯肉毛細血管の形態について，阪大歯誌，6：283～302，1961.
- 27) 若野洋一：生体観察による口腔粘膜・毛細血管の形態に関する研究，I 肉眼的に正常な口唇，舌粘膜毛細血管の形態について，阪大歯誌，6：263～281，1961.
- 28) 若野洋一：歯周病と毛細血管，歯界展望，33：795～805，1969.
- 29) 石川信昭：歯肉色測定法に関する研究，口病誌，25：611，1958.
- 30) 金子利一郎：歯肉色に対する色彩学的追求，日本歯槽膿漏学会誌，9 (2)：17～26，1967.
- 31) 末田 武：歯肉囊内に流出する体液について，口病誌，29：269～280，1962.
- 32) 今野寿一：歯槽膿漏症患者歯肉内容物のペーパークロマトグラフィーによる検索，口病誌，27：392，1961.
- 33) Pick, J.：Über ein Mikroskop zur Untersuchung lebenden Gewebes, Z. wiss., Mikr., 51：257，1934.
- 34) Vonwiller, P.：Lebende Gewebllehre, Verlag Zollikoffe, Zürich., 1945.
- 35) Antoine, T. und V. Grünberger：Die Auflichtmikroskopie in der Gynäkologie, Klin. Med., 4：575，1949.
- 36) Antoine, T.：Der heutige Stand der Auflichtmikroskopie in der Gynäkologie, Arch. Gynäk., 180：62～64，1951.
- 37) Antoine, T. et al.：Dyskaryotic cells under the colpomicroscope, Acta Cytol., 1：35，1957.
- 38) Antoine, T. et al.：Colpomicroscopy on normal and abnormal epithelareas during pregnancy, Acta Cytol., 3：69～76，1959.
- 39) Antoine, T. et al.：Colpomicroscopy of Ectomy, Ectopion and Epidermization Acta Cytol., 5：91～94，1961.

- 40) Antoine, T. et al. : Colpomicroscopy of Leukoplakia, *Acta Cytol.*, 5 : 125~127, 1961.
- 41) Antoine, T. et al. : Colpomicroscopy of carcinoma in situ, *Acta Cytol.*, 5 : 412~415, 1961.
- 42) 増淵一正. 他 : コルポミクロスコープに就いて, 産婦の臨床, 5 : 442~445, 1959.
- 43) 増淵一正 : コルポミクロスコープの現況, 臨産婦, 13 : 1075~1081, 1959.
- 44) 藤森速水 : 国産コルポミクロスコープについて, 産治, 3 : 185~187, 1961.
- 45) 藤森速水. 他 : コルポミクロスコープについて, 産と婦, 28 : 472~479, 1961.
- 46) Fasske, E. et al. : Die Fruherkennung des Carzinoms in der mundhöhle *D.Z.Z.*, 14 : 251~253, 1959.
- 47) 塚脇重篤 : Kolpomikroskop の口腔領域疾患への応用, *H臨細胞誌*, 9 : 120~134, 1970.
- 48) 野田 定 : コルポマイクロスコープに関する研究, 特に子宮腔部の染色状態並びに染色上皮の可視深度について, 阪市大医誌, 11 : 91~108, 1962.
- 49) 渡辺義男. 他 : Kolpomikroskop の口腔粘膜疾患における応用 (Stomato-Mikroskopie) 第一報——特に染色条件について——, 口外誌(会), 10 : 308, 1964.
- 50) 藤森速水. 他 : コルポマイクロスコープ細胞診とスメア細胞診との比較について, 産婦の実際, 11 : 349~355, 1962.
- 51) 藤森速水. 他 : 藤森式コルポマイクロスコープ (生体腔顕微鏡診) の実際とそのみかたのコツ, 産治, 10 : 127~145, 1965.
- 52) 藤森速水. 他 : コルポマイクロスコープ (腔顕微鏡診) の実際, 産婦の実際, 15 : 375~384, 1966.