原 著 論 文

義歯装着が口蓋粘膜に及ぼす影響に関する実験的研究

金林 卓哉

Experimental Study on Influence of Dentures on the Palatal Mucosa

Takuya Kanabayashi

Abstract : In order to study the influence of dentures on the supporting mucosa, histological and immunohistochemical observations were done on the hard palates of monkeys after being subjected to mechanical stimuli using experimental dentures. The following results were obtained :

1. Light microscopic observations revealed that changes for the most part occurred superficial to the connective tissue papilla. Although there was an overall decrease in the thickness of the epithelium, a marked thickening was observed in the stratum corneum.

2. SEM observation revealed desquamative changes and a decrease in the exfoliation of keratinized cells of the epithelial surface in the indentation region. Changes were observed in the direction of the connective tissue papilla, and after 20 days changes were observed in the shape itself of the connective tissue papilla.

3. TEM observation revealed a tendency for the shape of the cells in the basal epithelium in the region under pressure to become smaller after 10 days. No difference was observed with the controls in the prickle cells or above.

4. Although nuclei taking in Bromodeoxyuridine decreased considerably in the region under pressure, the degree of decrease was fixed and no change was observed with time.

Key words : palate, mucous membrane, denture base

I. 緒 言

有床義歯の装着に伴って、床下粘膜は口腔内の生理的刺激から遮断され、一方では義歯によって生じる種々の刺激を受けることになる。これらのうちで、皮下粘膜に最も影響が大きいのは咬合圧による慢性的な刺激であるとされている¹⁻⁵⁾。

床下粘膜を上皮が破壊されない程度に加圧した場合、Kydd ら (1969)⁶⁾ は上皮が菲薄化して上皮細胞の一部に変性を認めたとし、Fleisch ら (1978)⁷⁾ は上皮突起ないしは結合組織乳頭の変形あるいは消失が観察されたとしている。また、佐藤 (1976)⁸⁾ は粘膜固有層では結合組織乳頭に変化が認められるものの、深部には炎症性の細胞浸潤などの変化はほとんど観察されないとしている。以上のように通常の咬合圧負担の範囲での床下粘膜の変化は、上皮ならびに結合組織乳頭に局限して生じることにはほぼ一致しているが、その詳細については完全に解明されているとはいえない。

ところで、口腔内環境からの深部組織の保護という機能を持っている上皮は、基底層での有糸分裂によって作

大阪歯科大学大学院歯学研究科 歯科補綴学専攻 (指導: 西浦恂教授)

Graduate School of Dentistry, The First Department of Prosthodontics Osaka Dental University (Director: Prof. Makoto Nishiura)

昭和63年1月6日受付

られた細胞が、表層に向かって移動しつつ角質細胞へと成熟して剝離した細胞を補充するという機構によってその構造と機能を維持している^{9,10)}。床下粘膜の動態を把握する上で、このような上皮の代謝機構への咬合圧の影響の解明は非常に興味がある。一方、上皮と結合組織の境界部は、上皮突起と結合組織乳頭が互いに嵌入することによって形成されているため⁹⁻¹²⁾、同部を切片として観察すると切断方向によって得られる所見は一定しない。そこで、上皮と結合組織を分離し、立体的な観察を加えれば明瞭な所見が得られると考えられる。

以上のことから著者は、実験用義歯の装着によって咬合圧を負担させた場合のサルの硬口蓋について、通常の光学顕微鏡観察に加え、上皮に関しては走査電子顕微鏡(以下、SEM と略す)による表面観察、透過電子顕微鏡(以下、TEM と略す)による微細構造の観察、および Bromodeoxyuridine (以下、BrdU と略す) 標識法¹³⁻¹⁵⁾を用いた細胞分裂能の免疫組織化学的な観察を、また、結合組織に関しては上皮と結合組織を分離し^{11,12)}、その結合組織表面を SEM を用いて観察した。

II. 実験材料および実験方法

1. 実験材料

実験動物としては、体重 6 kg 前後のニホンザル (*Macaca fuscata*) のメスで上下顎第 3 大臼歯まで萌出しており、肉眼的に健康な口蓋粘膜を有し、全身状態の良いもの 18 頭を用いた。飼料にはサル用固形飼料 (オリエンタル酵母) と水を与え、一定環境下で飼育した。

2. 実験方法

実験に使用した義歯は岡崎ら (1985)¹⁶⁾ の可撤性の実験用義歯を応用したもので、義歯の基本構造はコバルトクロム合金を用いたメタルフレームとし、上顎の両側第 1 小臼歯 (以下、P1 と略す) と第 1 大臼歯 (以下、M1 と略す) に咬合面レスト様の咬合圧伝達部を設置したものである。そして、レジン床を口蓋の P1 から M1 に相当する範囲に設置し、床粘膜面の左右口蓋斜面中央に、前後方向に一对の突起を付与して、突起に相当する口蓋粘膜が限局的に加圧されるようにした (図 1)。

突起の付与方法は、従来の方法で義歯を作製したのち、模型のレスト部にスペーサーとして厚さ 1 mm の銅板を置いて、レジン床部と模型粘膜面との間に一定の間隙ができるようにする。この間隙をシリコーン印象材で記録し、実験部位に相当する部分の印象材を幅 2 mm で

切除し、その部に即時重合レジンを填入、重合させ突起とした。このように作製した粘膜面突起は、粘膜面の形態に一致して一定の高さと幅を持つものとなる。

実験期間は、義歯装着後 1, 5, 10, 20, 30 日の 5 条件とし、各期間に 3 頭ずつのサルを用いた。また、対照には義歯を装着しないサル 3 頭を用いた。観察部位は、実験群および対照群ともに P1 から M1 に相当する口蓋斜面中央部に設定した加圧部、あるいはそれと同部位とした。実験中は隔日ごとに義歯の清掃と口腔内の洗浄を行った。

3. 観察方法

肉眼的観察は義歯と口腔の洗浄時に行った。組織学的ならびに免疫組織化学的観察については、各実験期間終了後、直ちに組織の採取と試料の作製を行ったが、上皮基底細胞における細胞分裂の日周変化による影響を考慮し、組織採取を行う時間は、午後 3 時から 5 時の間に統一した¹⁷⁾。

まず、上皮・結合組織分離標本および細胞分裂能観察用試料作製のための組織を、ペントバルビタール・ナトリウム 0.4 ml/kg の腹腔内注射による全身麻酔下で、片側の実験部から採取した。

上皮・結合組織分離標本については、採取した組織は直ちに 0.01 M リン酸緩衝液 (pH 7.4) (以下、PBS と略す) で洗浄したのち、約 5 mm 四方に細切し、37°C の 20 mM EDTA 含有 PBS (pH 7.4) 中に 2 時間浸漬し、分離可能な状態とした^{11,12)}。上皮と結合組織の分離はピンセットで機械的に行った。分離した組織は 4°C の 2.5 % グルタルアルデヒド - 2 % パラフォルムアルデヒド - 0.1 M カコジル酸緩衝液 (pH 7.4) にて 3 時間前固定したのち、4°C の 0.1 M カコジル酸緩衝液で 2 時間洗浄し、4°C の 1 % オスミウム酸 - 0.1 M コジル酸緩衝液にて 2 時間後固定を行った。その後、通法に従って脱水、置換、臨界点乾燥およびスパッタ・コーティングを行い、SEM (日立 S-430) を用いて加速電圧 15 kV で観察した。

細胞分裂能の観察は BrdU による標識法¹³⁻¹⁵⁾を用いた。BrdU による標識は Sasaki ら (1980)¹⁵⁾ の方法に準じた。採取した組織を 4°C の PBS (pH 7.4) 中に保存し、30 分以内に 1 mm 厚に細切した。細切した組織は、20 % の calf serum (FLOW LABORATORIES) を加えた RPMI-1640 培養液 (GIBCO) 2 ml を入れた容量 5 ml の小バイアル瓶 (マルエム SV-5) に移し、そこへ BrdU (SIGMA) を最終濃度 400 μ M となるように添加した。

バイアル瓶を密閉後、5% CO₂ で3気圧に加圧し、CO₂ incubater 内で 37°C、1時間 incubation したのち、試料を取り出し PBS で洗浄し、4°C の 70% エタノールにて 12時間固定後、通常のパラフィン包埋を行った。

免疫組織化学的方法は、間接免疫ペルオキシダーゼ法¹⁸⁾を用いた。パラフィンブロックから 3 μm 厚の切片を作製して脱パラフィンを行い、2 N HCl で 15 分間室温で処理し、蒸留水および PBS で洗浄後、内因性ペルオキシダーゼ活性を阻止するために 0.3% H₂O₂ 添加メタノールにて 30 分間室温で処理した。1次抗体は、PBS (pH 7.4) で 100 倍に希釈した抗 BrdU モノクローナル抗体 (BECTON-DICKINSON) を用い、室温で 2 時間反応させた。2次抗体は PBS で 100 倍希釈したビオチン化抗マウス IgG 抗体 (VECTOR LABORATORIES) を用い、30 分間、室温で反応させた。ついで、Abidin-biotin-peroxidase complex (VECTOR LABORATORIES) を 30 分間、室温で反応させ、最終的に 0.03% H₂O₂ 添加 0.05% 3, 3'-Diaminobenzidine-Tetrahydrochloride-PBS 緩衝溶液を用い室温で 30 分間処理し、発色させた。核染色には 1% メチルグリーンを用いた。その後、通法どおり透徹、封入後、光学顕微鏡を用いて観察した。

TEM および光学顕微鏡用試料、および上皮表面観察用試料の作製には、実験動物を放血屠殺し、総頸動脈から 2.5% グルタルアルデヒド - 2% パラフォルムアルデヒド - 0.1 M カコジル酸緩衝液を注入して灌流固定を行ったのち、残った片側の実験部組織を採取した。採取した組織は、約 1 mm 厚に細切後、4°C の 2.5% グルタルアルデヒド - 2% パラフォルムアルデヒド - 0.1 M カコジル酸緩衝液にて 2 時間浸漬固定を行い、4°C の 0.1 M カコジル酸緩衝液で 2 時間洗浄し、4°C の 1% オスミウム酸 - 0.1 M カコジル酸緩衝液にて 2 時間後固定を行ったのち、通法に従って脱水、置換を行い Spurr resin (TAAB) 中に包埋した。その後、まず、光学顕微鏡用試料として約 1.5 μm 厚の切片を前頭断で作製し、メチレンブルーで染色した。ついで超薄切片を作製し、酢酸ウラン-クエン酸鉛 2 重染色を施し、TEM (日立 H-800) を用いて加速電圧 100 kV で観察した。また一部の組織は、灌流固定後、約 5 mm 四方に細切して、通法に従って SEM 用試料とし、上皮表面を SEM を用いて加速電圧 15 kV で観察した。

III. 実験結果

1. 肉眼所見

実験群では、義歯装着後 1 日から粘膜面突起に相当する粘膜に明瞭な圧痕が形成されているのが観察された。加圧部の粘膜は、周囲の粘膜とほぼ同様の色調を呈し、発赤などは認められず、圧痕の形成以外には対照群の粘膜との差異は認められなかった。また、加圧部の状態には経日的な変化は認められなかった。

2. 光学顕微鏡所見

1) 対照群所見

口蓋表面は重層扁平上皮で覆われ、表層の角質層は角化していたが、まれに一部で錯角化している部分も観察された。上皮の厚さは、平坦部と襞部（いわゆる口蓋皺襞）では異なっており、襞部の上皮は平坦部のそれよりも厚く、その差は主に有棘層の厚さによるものであった。上皮と結合組織の境界は、上皮突起と結合組織乳頭が互いに指状をなして嵌合し合うことによって形成されていたが、その所見には規則的なものから比較的不規則なものまで、ある程度の多様性があった。また、上皮の厚さの異なる襞部と平坦部の間では、上皮突起と結合組織乳頭の長さに変化が認められた。しかし、その幅や間隔にはあまり変化がないため全般的には極端な差異としては認められなかった。炎症性の細胞は観察されなかった（図 2）。

2) 実験群所見

(1) 義歯装着後 1 日

加圧部上皮の厚さは、主に有棘層の細胞の変形および細胞数の減少によって、正常粘膜と比べて軽度減少していた。一方、角質層では錯角化は観察されなかったが、顕著な肥厚が認められた。さらに、上皮と結合組織の境界部では結合組織乳頭にやや乱れが認められ、植立方向が正常粘膜に比べ、より不規則なものとなっていた。義歯の粘膜面突起の加圧によって組織変化の及んでいる範囲は、上皮および結合組織乳頭部にほぼ限局しており、固有層の深部では結合組織線維の走行が加圧方向に一致して軽度に変曲した部分が認められる程度で、著明な変化は認められなかった（図 3）。

(2) 義歯装着後 5 日

加圧部の上皮は義歯装着後 1 日と同様の所見を示していた。一方、上皮と結合組織の境界部では義歯装着後 1 日と比べても、結合組織乳頭の高さの減少や方向の乱

れ、あるいは結合組織乳頭間の幅の拡大が認められた。結合組織中に炎症性細胞の浸潤はみられなかった。また、固有層深部の線維は加圧方向に一致して彎曲した部分が認められたが、義歯装着後 1 日の所見と比較してその程度は低下していた (図 4)。

(3) 義歯装着後 10 日

加圧部の上皮の厚さには義歯装着後 5 日の所見から変化は認められなかった。しかし、上皮と結合組織の境界部では、襞部に複雑な網状を呈する部分が認められ、平坦部では結合組織乳頭の配列の変化に加え、形態自体にも小型化が認められるなど、義歯装着後 5 日より明瞭な変化が観察された。結合組織中には義歯装着 5 日と同様に炎症像は認められなかった。また、固有層深部の線維の走行の変化は認められなかった (図 5)。

(4) 義歯装着後 20 日

加圧部の上皮には義歯装着後 10 日と比べて変化は認められなかった。上皮と結合組織の境界部では、結合組織乳頭が義歯装着後 10 日の所見よりもさらに変化し、全体に短縮していた。そのため、襞部・平坦部ともに境界部のパターンが単純化している部分が認められた (図 6)。

(5) 義歯装着後 30 日

義歯装着後 10 日以降に認められた上皮の菲薄化は、義歯装着後 30 日においても変化しなかった。上皮および上皮・結合組織の境界部のパターンも 20 日の所見と同様であったが、結合組織乳頭はより強い短縮化の傾向を示した (図 7)。

3. SEM 観察所見

1) 対照群所見

上皮表面：上皮表面では、襞部と平坦部がはっきり識別できた。襞部、平坦部のいずれの部分でも皮膚におけるような小溝は存在せず、細かい起伏があるのみで特別な“しわ”や亀裂は認められなかった。上皮表面全体には、角質細胞の剝離像が認められたが、これらは襞部よりも平坦部に多く、襞部と平坦部の移行部にさらに多く存在していた。このような剝離像は、剝離の初期のものからほぼ完全に剝離し終わったものまでさまざまな段階を示していた。細胞の剝離形式は多くの場合、個々の角質細胞が単独で剝離しているものであったが、最表層の複数の細胞が塊状に剝離しているものもあり、それらは特に襞部と平坦部の移行部で多く認められた (図 8)。

結合組織表面：上皮を分離したのちの結合組織表面には、一面に高い密度で結合組織乳頭が植立していた。そ

の分布と植立方向は規則的で、ほぼ等間隔でならび、結合組織基底の形態にそって直立していた。また結合組織乳頭は、全く個々別々に配列しているのではなく、ほぼ口蓋の前後方向に規則的な列をなして配列していた。個々の乳頭の形態は、矢状面方向に圧偏された指状をなし、基部から先端に向かってその幅を減じ、先端では滑らかなドーム状形態を示していた。また、先端の分岐したものや不規則な外形を示すものもまれに認められた。襞部と平坦部の乳頭を比較すると、襞部の乳頭は平坦部のものに比べ背が高く、先端部もより尖鋭であった (図 9)。

2) 実験群所見

(1) 義歯装着後 1 日

上皮表面：加圧部は、上皮表面では境界の明瞭な陥凹として認められ、特に襞部において明瞭であった。陥凹の幅は、襞部・平坦部を通じて一定で粘膜面突起の幅とほぼ同程度であった。加圧部の上皮表面は、正常粘膜に比べて平滑で角質細胞の剝離像は対照群と比べてかなり減少し、特に、細胞が単独で剝離している像は少なく、ほとんどは塊状に剝離していた (図 10)。

結合組織表面：加圧部の結合組織表面は、結合組織乳頭の植立方向の乱れた部分として認められた。加圧部の結合組織乳頭は本来の植立方向とは関係なく、加圧部の周囲に向かって先端を折り曲げられた形で傾斜し、その結果わずかにその高さを減じていた。このような変化は襞部・平坦部ともに観察された。しかし、襞部と平坦部の移行部では、結合組織乳頭の植立方向に変化は認められず、全体としての変化の程度は上皮表面の変化に比べて弱く、加圧された範囲全体を識別することは困難であった (図 11)。

(2) 義歯装着後 5 日

上皮表面：加圧部の範囲や角質細胞の剝離像の所見に、義歯装着後 1 日のものとの間で変化は認められなかった。

結合組織表面：結合組織表面では義歯装着後 1 日と比べ、結合組織乳頭の傾斜を認める範囲が拡大し、結合組織乳頭の加圧部周囲への傾斜が増大していた。結合組織乳頭の傾斜は特に平坦部で強く、上皮表面で観察された加圧部の範囲に、ほぼ一致した大きさになっていた。また、襞部でも加圧部を明瞭に識別できた (図 12)。

(3) 義歯装着後 10 日

上皮表面：加圧部の形態には義歯装着後 1 日との間で著明な変化は認められず、正常粘膜と比較して角質細胞の剝離像が少なかったが、その剝離する傾向は塊状を呈するものが多かった (図 13)。

結合組織表面：結合組織表面の変化は5日と比較しても増大し、平坦部・皺部にかかわらず結合組織乳頭の傾斜・変形を認め、加圧部の範囲がかなり明瞭に識別できた。また、結合組織乳頭の傾斜方向とその程度は、加圧部の中央とその周辺では異なり、加圧部中央での結合組織乳頭の傾斜は義歯粘膜面の突起に平行で前後方向に向く傾向を示したが、加圧部の周囲の結合組織乳頭は加圧部の外方すなわち突起に対して側方に傾斜し、その程度はより強く、結合組織乳頭の基部から傾斜していた(図14)。

(4) 義歯装着後20日

上皮表面・加圧部の大きさおよび表面に観察される角質細胞の剝離像の所見に大きな変化はなかった。

結合組織表面：加圧部の結合組織乳頭は、義歯装着後10日と比べさらに大きく変形あるいは傾斜していた。そして、結合組織乳頭の形態自体にも明瞭な変化が生じており、加圧部の乳頭はやや小型化し、本来、指状をなしていた結合組織乳頭が、先端の膨らんだキノコ状、また、複数の乳頭が融合したピラミッド状、および一方向に並んだいくつかの乳頭が融合した畦状などを呈している所見が数多く観察された。そして、このような乳頭の小型化や形態自体の変化は皺部よりも平坦部でより多く認められ、その程度も平坦部でより強い傾向を示した(図15)。

(5) 義歯装着後30日

上皮表面：加圧部の所見の変化はほとんど認められず、角質細胞の剝離像の減少と塊状に剝離する傾向を示した(図16)。

結合組織表面：加圧部の乳頭は大きく傾斜変形し、結合組織乳頭の形態にも数多くの変形が認められ、20日と類似の所見を示した(図17)。

4. TEM 観察所見

1) 対照群所見

上皮細胞では基底層から角質層へ細胞が移行する過程で、角化機転に伴う微細構造的変化を示していた。すなわち、基底層から顆粒層まででは、細胞外形の扁平化と核の小型化およびクロマチンの減少、ミトコンドリア・小胞体・リソソームなどの細胞内小器官の数的減少と小型化、細胞間隙の減少、デスモゾームの数的増大と小型化、トノフィブリルの増加、ケラトヒアリン顆粒やケラチノゾームの出現などが観察された。また、顆粒層から角質層では、細胞外形の著しい扁平化、核および細胞内小器官の消失、デスモゾームの構造の変化などが認めら

れ、角質細胞内はケラチンフィラメントと線維間物質で満たされていた。基底細胞と結合組織の境界ではヘミデスモゾームや基板が認められた(図18～20)。

2) 実験群所見

(1) 義歯装着後1日

上皮各層における上皮細胞の微細構造には対照群との間に特異的な差異は観察されなかった。光学顕微鏡所見で細胞の変形が認められた有棘層、ならびに肥厚が認められた角質層を観察しても、細胞内の微細構造所見は対照群の同部位の細胞の所見と同様のものではあった。また、加圧部のいずれの細胞層においても細胞間隙に変化は認められなかった(図21～23)。

(2) 義歯装着後5日

上皮各層の細胞の微細構造には、義歯装着後1日の所見との間に変化は認められなかった。

(3) 義歯装着後10日

上皮基底層の一部の細胞に小型化の傾向が認められた。小型化は細胞質および核の双方に認められたが、核の小型化は細胞質におけるよりも軽度であるため、細胞全体に占める核の割合はやや増大していた。細胞内小器官も細胞質の小型化に伴ってその数が減少していたが、その構成や微細構造には変化は認められなかった。また、細胞間隙やデスモゾーム、あるいは基板やヘキデスモゾームも対照群と同様であった。細胞の小型化の傾向は基底層のみで認められ、有棘層より上方では変化はなかった(図24～26)。

(4) 義歯装着後20日および義歯装着後30日

基底細胞の一部に、義歯装着後10日で認められたものと同様の細胞の小型化が認められた。これらの細胞の所見は、義歯装着後10日のものと同様であった(図27～29)。

5. BrdU 取込細胞の分布所見

1) 対照群

BrdU を取込んだ陽性核は褐色の顆粒状に発色していたのに対して、取込んでいない陰性核には全く発色は認められなかった。陽性核の発色の程度には差が認められたが、発色の弱い陽性核と陰性核の識別は容易であった。陽性核で標識された細胞(以下、標識細胞と略す)は上皮基底層付近に分布し、上皮突起先端部から基部までいずれの部分にも均一に分布していたが、最下層の基底層よりもむしろ1～2層上方に位置する傍基底細胞に多く認められた。しかし、有棘層以上には標識細胞は全く認められなかった(図30)。

2) 実験群所見

標識細胞の数は対照群に比べて大幅に減少していた。標識細胞は対照群と同様に基底細胞と傍基底細胞に分布していたが、その分布は全実験期間を通じて上皮突起先端部付近にやや偏っていた (図 31)。

このような所見は全実験期間を通じて変化がなく、経時的に減少が進行したり分布が変化することはなかった。

IV. 考 察

1. 実験材料について

実験動物には、口腔内環境がヒトと類似し、実験用義歯に対して許容性があることから¹⁹⁻²¹⁾ サルを使用した。サルの口腔粘膜については、過去に多数の研究があり^{7,19-23)}、本実験を行うにあたり組織学的に参考となる多くの知見が得られていることもサルを選択した理由の1つである。

実験部位は、口蓋斜面中央部の P1 部から M1 部としたが、この部は松浦 (1979)²²⁾ によると上皮と粘膜固有層の厚さがほぼ一定であり、また、著者の行った予備実験でも同様な所見が得られ、咬合圧負担部として適していることから決定した。

実験用義歯は、一部の粘膜に局限して咬合圧を伝達させる目的から、義歯床粘膜面に一定の高さと幅の突起を作製し、加圧量の規定を咬合面レストの挙上量によって決定する方法をとった。加圧量や加圧時間などの実験条件の規定をより正確にするには、Kydd ら (1969)⁶⁾、Fleisch ら (1978)⁷⁾ が採用しているような、口腔外に置いた装置から口腔内の粘膜を加圧する方法によるほうが有利ではある。しかし、本実験では実験期間が数日から数十日にわたること、咀嚼時の咬合圧が床下粘膜に伝達され、より臨床的であることなどから口腔内に装着する実験用義歯を応用した。

また、加圧量は今回の研究目的から、加圧した口蓋粘膜に肉眼的に破壊が認められず、圧痕が生じる程度までとすることが必要であった。そこで、サルの口蓋粘膜の厚径や、過去の研究^{7,20,22,23)} で得られている組織所見などを参考とし、さらに予備実験を行って、レストの挙上量を 1mm と規定した。

2. 実験結果について

1) 上皮について

義歯装着によって床下粘膜の上皮に現れる変化は、その出現する過程において、本来上皮がもっている機能と構造を維持するための機構^{9,10)}、すなわち、基底層での細胞分裂、角質層にいたるまでの角化、あるいは角質層での細胞の剝離と密接な関連をもっていることが考えられる。本実験では上皮の変化を観察する手段として、光学顕微鏡に加え、SEM による角質細胞の剝離状態の観察、TEM による微細構造の観察、BrdU 標識法¹³⁻¹⁵⁾ による細胞分裂能の観察を行い、義歯装着が上皮各層に及ぼす影響について検討を加えた。

臨床的な義歯装着者の上皮角質層について、Turck (1965)⁴⁾、野々村 (1963)⁵⁾、Razek ら (1978)²⁴⁾ が角化の亢進や肥厚を認めているのに対して、Ostlund (1958)³⁾ や Al-Ani ら (1966)²⁵⁾ は菲薄化を認めたとしており、義歯装着に対する角質層の反応については不明確な点が多い。角質層の厚さは、角質細胞の剝離、上皮細胞の成熟、および基底細胞の増殖が均衡することによって一定に保たれている^{9,10)}。本実験の加圧部では、角質層の肥厚が認められ、角質細胞の剝離以上に下層からの細胞の供給があったことを示している。また、上皮表面で認められた角質細胞の剝離像の減少は、剝離する速度が低下していることを示している。Schnyder (1973)²⁶⁾ は角質細胞の固着性が増強して角質層が肥厚した場合、顆粒細胞の欠如や、ケラトヒアリンの形成傷害と構造異常などが認められるとし、Frost (1973)²⁷⁾ は増殖性の過角化では、角質層には不全角化が混在し顆粒層も同時に肥厚するとしている。

本実験の場合、角質層が肥厚しても顆粒細胞とケラトヒアリンのいずれにも異常が認められず、角質層でも不全角化は認められなかった。このようなことから、本実験で認められた角質層の肥厚が、角質細胞の固着性の増強や増殖性の過角化による肥厚でないことが示唆される。

通常、口腔粘膜は咀嚼時に食物による大きな外力を直接負担し、さらに咀嚼時以外にも舌の接触を受けており、これらが角質細胞の剝離を促す刺激となっている²⁸⁾。義歯装着により、これらの要因が排除されることによって、たとえ義歯粘膜面の突起による機械的刺激が加わっても、この刺激が通常加わる刺激より弱ければ、角質細胞の剝離する速度が低下する可能性があり、本実験の場合、外来刺激の減少を角質層肥厚の原因と考えることができる。

Kydd (1969)⁶⁾ はイヌの口蓋を加圧した場合、加圧部の上皮では有棘層に限局して細胞内空胞、細胞間水腫などの細胞の変性が認められたとしている。佐藤 (1976)⁸⁾ はイヌの口蓋に形成した加圧部の上皮において、有棘層での著明な細胞数の減少、細胞の萎縮、細胞質内空胞などの細胞の変性を認めている。また、松浦 (1979)²²⁾ はサル口蓋を加圧した実験で、加圧部の上皮では有棘層に限局して変化が認められたとしている。本実験では、加圧によって主に有棘層で形態的变化が観察された点では過去の報告と一致していたが、細胞内空胞などの細胞自体の変性は認められなかった。

石川 (1986)²⁹⁾ はヒトを対象とした実験で、加圧した上皮の微細構造について、細胞内の構造に変化が認められない場合でも、TEM 観察では角質層の減少と全細胞層での細胞間隙の狭窄を認めたとしており、デスモゾームも減少していたとしている。また、Grossman (1983)²³⁾ もイヌの口蓋を加圧した場合、上皮の細胞間隙に狭窄を認めている。しかし、本実験の TEM 観察の結果では、有棘細胞の細胞内構造には変化が認められず、さらに細胞間隙やデスモゾームについても対照群との間に変化は認められなかった。このように、有棘層では細胞の変性が認められず、微細構造にも変化がないことから、角化も正常に進行していると考えられ、有棘層で細胞数が減少した原因は、基底細胞からの細胞の供給と有棘細胞から顆粒細胞への移動のバランスが崩れたことに求めるべきであろう。

義歯装着後 10 日以降の加圧部の基底層の一部で、細胞外形が小型化する傾向が認められた。細胞の小型化は機能的な萎縮傾向の形態的現れであるが³⁰⁾、上皮基底細胞の本質的な機能が分裂による細胞の新生にあることから^{9,10)}、その機能状態を評価するには分裂能自体の状態を併せて考える必要がある。そこで今回の実験では、細胞分裂能の評価に BrdU 標識法¹³⁻¹⁵⁾を用いて、DNA 合成期の細胞を特異的に染色して観察する方法を用いた。その結果、加圧部の基底層および直上層での分裂能の低下が著明に認められた。Pinkus (1951)³¹⁾、五十嵐 (1967)¹⁷⁾ は表皮角質を剝離すれば、基底細胞層の細胞分裂能が大幅に増加することを報告しており、Turck (1965)⁴⁾ は実際の義歯装着者の粘膜を観察した報告の中で、上皮の表層が破壊され角質層が減少しているか、あるいは消失しているような場合に細胞分裂の頻度が上昇したことを報告している。すなわち、基底細胞の分裂能と角質細胞の剝離の間には密接な関係があることが知られている。それに対して佐藤 (1976)⁸⁾ や Gavrilov ら

(1973)³²⁾ は、実験的に形成した圧痕部で角質層の菲薄化を認めているが、圧痕部および周辺部の基底細胞には萎縮や核濃縮が観察され、核分裂像は認められず、このことから局所の循環傷害によって上皮細胞は退行性変化を示したとしている。本実験では、義歯装着後 1 日から標識細胞の減少、角質細胞の剝離の減少、および角質層の肥厚のすべてが認められたため、いずれの変化が先行して出現したのかは不明である。それゆえ、細胞分裂能の低下が角質細胞の剝離の減少と関連したものであるのか、あるいは加圧による影響、すなわち佐藤ら^{8,22)} のいう加圧に起因した局所の循環傷害による退行性変化であるのかを確認することはできなかった。

2) 上皮と結合組織の境界部について

Klein-Szanto ら (1977)¹²⁾ はヒト口腔粘膜を上皮と結合組織に分離し、その分離面を SEM を用いて観察した結果、硬口蓋粘膜では他の部分の口腔粘膜に比べて結合組織乳頭が高密度に植立しており、その配列が矢状面方向に平行性を持っていること、また、ほとんどの結合組織乳頭がその基部に対して直立していることを報告している。今回観察された対照群のサル口蓋粘膜の結合組織表面の所見も、この報告と一致しており、このことからサルが本実験の実験動物として適していることが分かった。

本実験の上皮表面の SEM 観察では、加圧部が義歯装着後 1 日からはっきりとした圧痕として認められたのに対し、光学顕微鏡観察で上皮と結合組織の境界部に明瞭な変化が認められたのは義歯装着後 10 日以降であり、SEM 観察でも、結合組織乳頭に明瞭な変化が認められるのは、義歯装着後 5 日以降であった。他方、光学顕微鏡観察では、固有層深部の結合組織線維が、義歯装着後 1 日で下方に彎曲して走行するのが観察されたが、この変化は、義歯装着後 10 日以降で、ほぼ認められなくなっている。このことは、粘膜が圧を受けた初期段階には加圧部の結合組織乳頭全体が沈下し、加圧の影響は固有層深部に現れるが、時間の経過とともに結合組織乳頭が傾斜・変形することによって、加圧の影響を受ける部位が固有層深部から結合組織乳頭へ変化したとも考えられる。しかしながら、Kydd ら (1969)⁶⁾、Fleisch ら (1978)⁷⁾、松浦 (1979)²²⁾ は数時間の加圧でも、光学顕微鏡的に結合組織乳頭に植立方向の変化や短縮を認めており、加圧部の面積や加圧量の程度によって影響を受ける組織の部分が異なるのかも知れない。

結合組織乳頭の変化について、本実験では嚥部よりも平坦部でやや早期に認められ、その程度も平坦部でより

強かった。このような差異の原因を推定するには固有層深部の性状を考慮する必要がある。岡崎 (1984)²⁰⁾ はサルの硬口蓋粘膜の組織構造を口蓋齦部と平坦部に分けて観察した結果、齦部の固有層は平坦部の固有層に比べ線維成分が疎であり、基質成分に富んでいたとしている。このような組織構造から、齦部の固有層は平坦部の固有層に比較し柔軟性があることが考えられ、義歯による加圧が齦部では分散されやすく、結合組織乳頭の受ける圧力が低下し、その結果、結合組織乳頭の傾斜・変形する時期や程度に差が生じたことが推定される。

結合組織乳頭の傾斜方向については、Fleisch ら (1978)⁷⁾ や松浦 (1979)²²⁾ によれば、加圧部周囲の結合組織乳頭が加圧の中心部から放射状に配列すると報告している。今回、光学顕微鏡による観察では結合組織乳頭の傾斜にははっきりした方向性を認めることはできなかった。しかし、SEM による観察では、加圧部の周辺付近の結合組織乳頭は、加圧部すなわち義歯の粘膜面に付与した突起の側方に押し広げられるように傾斜し、中央付近では突起に平行に前後へ向かって傾斜する傾向が認められ、結合組織乳頭の傾斜方向と粘膜面突起の形態や大きさとの間に密接な関連があることが示唆された。

Kydd ら (1969)⁶⁾ は短期間 (最長で 360 分間) の加圧で結合組織乳頭の消失を認めたとしているが、今回の結合組織表面の SEM 観察の結果では、義歯装着後 30 日に至っても結合組織乳頭の消失は認められなかった。結合組織乳頭の形態的变化は、結合組織乳頭内で、なんらかの改造現象が生じたことを示している。結合組織はコラーゲン線維を主体としているが^{10,33)}、一般に生体内でのコラーゲンの代謝速度は組織が定常状態にある場合にはきわめて遅く、発育や創傷治癒などのように組織の改造機転が盛んな場合には早いことが知られている^{10,33,24)}。また、炎症などによる急激な結合組織の吸収ないし改造現象が行われる際には、コラーゲナーゼによる分解と線維芽細胞による貪食が同時に行われると考えられている^{10,33,34)}。他方、Kischer ら (1975)³⁵⁾ は機械的加圧を加えた場合の肥厚性瘢痕の吸収を形態学的、ならびに生化学的に観察して、加圧により組織内が低酸素圧症 (hypoxia) の状態となり、そのため線維芽細胞のコラーゲン合成能が低下し、その結果、瘢痕は早期に吸収すると報告しており、Gavrilov ら (1973)³²⁾ も同様の現象を報告している。しかし、本実験では、結合組織内に炎症像は認められないので、結合組織乳頭の形態の変形は、加圧による線維芽細胞のコラーゲン合成能の低下によって結合組織乳頭の一部が吸収されたものと解釈される。

また、上皮と結合組織の境界部の構造から、結合組織乳頭の短縮に対応して、その部分では上皮は深部へ増殖していることになる。このことは、結合組織側での変化が、上皮基底層での細胞分裂にも影響を及ぼしえることを示唆し、さらに、上皮と結合組織には相互依存性のあることが知られており^{10,33)}、義歯装着に対して上皮と結合組織は互いに影響を及ぼしながら粘膜組織の平衡性を保持していると解釈できる。

V. 結 論

義歯装着に伴う床下粘膜の反応を解明する目的で、サルの硬口蓋に実験用義歯を装着し、同部の組織に生じる変化を組織学的ならびに免疫組織化学的に検索し、以下の結果を得た。

1. 光学顕微鏡観察：加圧による組織変化の生じる範囲は上皮および結合組織乳頭部であった。加圧部の上皮は主に有棘細胞の変形と減少によってその厚さが減少していたが、角質層では顕著な肥厚が認められた。加圧部の上皮・結合組織境界部では義歯装着後 10 日以降に組織変化が明瞭となったが、炎症は認められなかった。

2. SEM 観察：加圧部の上皮表面では角質細胞の剝離像はかなり減少し、また、剝離形式にも変化がみられ、塊状に剝離する傾向が認められた。加圧部の結合組織表面では結合組織乳頭の植立方向に変化が認められ、また、義歯装着後 20 日以降では結合組織乳頭の形態自体にも変化が生じていた。

3. TEM 観察：義歯装着後 10 日以降に加圧部の上皮基底層で細胞の萎縮する傾向が認められたが、有棘細胞層から上方の細胞には微細構造に変化はなかった。

4. 免疫組織化学的観察：BrdU による標識細胞は、実験群では対照群と比べて全実験期間を通じて減少し、上皮突起先端にやや偏って分布していた。また、その所見に経日的な変化は認められなかった。

以上の結果から、臨床的に健常とみられる義歯床下粘膜においても、義歯によって加わる刺激に対応して、細胞レベルでも相応な変化が生じていることが示唆された。

稿を終るにあたり、ご指導とご校閲を賜った西浦 恂教授に深甚の謝意を表します。また、本研究に際し、ご助言とご校閲をいただいた権田悦通助教授に深謝し、あわせて、種々のご助言、ご協力をいただいた教室員・大学院生各位に感謝いたします。

本論文の要旨は、第 77 回日本補綴歯科学会 (1987 年 5 月 29

日、盛岡)ならびに第364回大阪歯科学会例会(1987年11月14日、大阪)において発表した。

文 献

- 1) Pendolton, E.C. and Glupker, H.: Research on the Reaction of Tissues Supporting Full Dentures, J Amer Dent Assoc, 22: 76~88, 1935.
- 2) Van Huysen, G.V. and Fly, W.: Artificial Dentures and the Oral Mucosa, J Prosthet Dent, 4: 446~460, 1954.
- 3) Ostlund, S.G.: The Effect of Complete Dentures on the Gum Tissue, Acta Odontol Scand, 16: 1~36, 1958.
- 4) Turck, D.: A Histologic Comparison of the Edentulous Denture and Non-Denture Bearing Tissue, J Prosthet Dent, 15: 419~434, 1965.
- 5) 野々村徹也: 義歯床下口腔粘膜の病理組織学的変化に関する研究, 日口外誌, 9: 14~28, 1963.
- 6) Kydd, W.L., Stroud, W., Mofeett, Jr. B.C. and Tamarin, A.: The Effect of Mechanical Stress on Oral Mucoperiosteum of Dog, Arch Oral Biol, 14: 921~933, 1969.
- 7) Fleisch, L. and Austin, J.C.: A Histologic Study of the Response of Masticatory and Lining Mucosa to Mechanical Loading in the Vervet Monkey, J Prosthet Dent, 39: 211~216, 1978.
- 8) 佐藤隆志: 義歯床下粘膜の傷害治癒過程に関する実験的研究 第1編 傷害過程における病理組織学的ならびに組織化学的観察, 補綴誌, 20: 317~340, 1976.
- 9) 清寺 眞, 小川和朗編: 人体組織学 2 結合組織・皮膚とその付属器, 109~293, 朝倉書店, 東京, 1984.
- 10) 平井五郎, 久米川正好監訳: Ten Cate 口腔組織学, 285~297, 医歯薬出版, 東京, 1982.
- 11) Scaletta, L.J. and MacCallum, D.K.: A fine Structural Study of Divalent Cation-Mediated Epithelial Union with Connective Tissue in Human Oral Mucosa, Am J Anat, 133: 431~454, 1972.
- 12) Klein-Szanto, A.J.P. and Schroder, H.E.: Architecture and Density of the Connective Tissue Papillae of the Human Oral Mucosa, Am J Anat, 123: 93~109, 1977.
- 13) 多田利彦, 児玉哲郎, 渡辺 昌, 佐藤雄一, 下里 幸雄: BrdU (Bromodeoxyuridine) モノクローナル抗体を用いた細胞動態解析法の基礎的検討とその臨床応用, 医学のあゆみ, 135: 510~513, 1985.
- 14) 高橋 学, 佐々木功典, 村上知之: Bromodeoxyuridine 標識法による細胞動態の解析, 最新医学, 40: 80~84, 1985.
- 15) Sasaki, K. and Takahashi, M.: Preservation of Cell Cycle Characteristics in Solid Tumor in Vitro, Cancer Res, 40: 4810~4812, 1980.
- 16) 岡崎定司, 権田悦通, 三木基二, 高 明德, 西浦 恂, 樋口裕一, 金林卓哉, 田中球生: サル口蓋に用いる実験用義歯について, 歯科医学, 48: 233~241, 1985.
- 17) 五十嵐靖雄: ³H-thymidine Autoradiography による表皮増殖についての知見補遺 第1編 臨床的研究特に表皮角化を中心として, 日皮会誌, 77: 207~228, 1967.
- 18) 日本組織細胞化学会編: 組織細胞化学 1986, 137~155, 学際企画, 東京, 1986.
- 19) 三木基二: 有床義歯装着に伴う床下粘膜の酸性ムコ多糖の変動に関する実験的研究, 歯科医学, 42: 699~720, 1979.
- 20) 岡崎定司: サル口蓋粘膜ムコ多糖に関する研究, 歯科医学, 47: 23~40, 1984.
- 21) Budtz-Jørgensen, E.: The Significance of Candida Albicans in Denture Stomatitis, Scand J Dent Res, 82: 151~190, 1974.
- 22) 松浦基一: 口蓋部軟組織の加圧時の変化ならびにその組織学的研究, 口病誌, 46: 323~362, 1979.
- 23) Grossman, E.S. and Austin, J.C.: The Ultrastructural Response to Loading of the Oral Mucosa of Vervet Monkey, J Periodont Res, 18: 474~482, 1983.
- 24) Razek, M.K.A. and Shaaban, N.A.: Histochemical and Histopathologic Studies of Alveolar Mucosa under Complete Dentures, J Prosthet Dent, 39: 29~36, 1978.
- 25) Al-Ani, S., Snklar, G. and Yurkstas, A.A.: The Effect of Dentures on the Exfoliative Cytology of Palatal and Buccal Oral Mucosa, J Prosthet Dent, 16: 513~521, 1966.
- 26) Schnyder, U.W.: Ichthyosen. In Haut und Anhangsgebilde. Spezielle Histopathologie, 197~200, Springer, Berlin, 1973.
- 27) Frost, P.: Ichthyosiform Dermatoses, J Invest Dermatol, 60: 541~552, 1973.
- 28) 大原 靖: 有床義歯の咬合状態による床下組織の変化に関する実験的研究, 補綴誌, 10: 114~132, 1966.
- 29) 石川 輔: 義歯床下粘膜の動態に関する実験的研究—圧迫床下のヒト口蓋粘膜の光学および電子顕微鏡的検索—, 愛院大歯誌, 24: 237~263, 1986.
- 30) 山口和克訳編: ゴリンガー: 病理学, 7~17, 文光堂, 東京, 1983.
- 31) Pinkus, H.: Examination of the Epidermis by the Strip Method of Removing Horny Layers, I. Observations on Thickness of Horny Layers, and on Mitotic Activity after Stripping, J Invest Dermatol, 16: 383~386, 1951.
- 32) Gavrilov, E.I., Gladky, A.P., Shaimerdenova, R.S. and Ivanov, N.S.: Distribution of Neutral and Acid Mucopolysaccharides in the Mucosa of the Prosthesis Bed,

Stomatologia, 52 : 53~55, 1973.

77 : 1233~1247, 1977.

33) 梶川欽一郎 : 結合組織, 187~236, 374~378, 金原出版, 東京, 1984.

35) Kischer, C.W., Shetlar, M.R. and Shetlar, C.L. : Alteration of Hypertrophic Scars Induced by Mechanical Pressure, Arch Dermatol, 111 : 60~64, 1975.

34) 永井教之 : 齒齦結合組織の微細構造と改造機転, 齒科学報,

付図記号説明

BC: 基底細胞	T: トノフィラメント
GC: 顆粒細胞	D: デスモゾーム
HC: 角質細胞	ICS: 細胞間隙
N: 核	K: ケラトヒアリン顆粒

図 1 実験用義歯の粘膜面観 (矢印は付与した突起)

図 2 対照群, 硬口蓋粘膜・嚢部 メチレンブルー染色 ×33

図 3 義歯装着後1日, 硬口蓋粘膜・嚢部
メチレンブルー染色 ×33

図 4 義歯装着後5日, 硬口蓋粘膜・嚢部
メチレンブルー染色 ×33

図 5 義歯装着後10日, 硬口蓋粘膜・嚢部
メチレンブルー染色 ×33

図 6 義歯装着後 20 日，硬口蓋粘膜・嚢部
メチレンブルー染色 ×33

図 7 義歯装着後 30 日，硬口蓋粘膜・嚢部
メチレンブルー染色 ×33

図 8 対照群，硬口蓋粘膜・上皮表面

図 9 対照群，硬口蓋粘膜・
結合組織表面

図 10 義歯装着後 1 日，硬口蓋粘膜・
上皮表面

図 11 義歯装着後 1 日，硬口蓋粘膜・
結合組織表面

図 12 義歯装着後 5 日，硬口蓋粘膜・
結合組織表面

図 13 義歯装着後 10 日，硬口蓋粘膜・
上皮表面

図 14 義歯装着後 10 日，硬口蓋粘膜・結合組織表面

図 15 義歯装着後 20 日，硬口蓋粘膜・結合組織表面

図 16 義歯装着後 30 日，硬口蓋粘膜・上皮表面

図 17 義歯装着後 30 日，硬口蓋粘膜・結合組織表面

図 18 対照群，硬口蓋粘膜・上下基底層 ×2,880

図 19 対照群，硬口蓋粘膜・上皮有棘層 ×2,880

図 20 対照群，硬口蓋粘膜・上皮顆粒層，角質層 ×2,880

図 21 義歯装着後 1 日，硬口蓋粘膜・上皮基底層 $\times 2,880$

図 22 義歯装着後 1 日，硬口蓋粘膜・上皮有棘層 $\times 2,880$

図 23 義歯装着後 1 日，硬口蓋粘膜・上皮顆粒層，
角質層 $\times 2,880$

図 24 義歯装着後 10 日，硬口蓋粘膜・上皮基底層
 $\times 2,880$

図 25 義歯装着後 10 日，硬口蓋粘膜・上皮有棘層
 $\times 2,880$

図 26 義歯装着後 10 日，硬口蓋粘膜・上皮顆粒層，
角質層 $\times 2,880$

図 27 義歯装着後 30 日，硬口蓋粘膜・上皮基底層
×2,880

図 28 義歯装着後 30 日，硬口蓋粘膜・上皮有棘層
×2,880

図 29 義歯装着後 30 日，硬口蓋粘膜・上皮顆粒層，
角質層 ×2,880

図 30 対照群での標識細胞の分布（矢印）×66

図 31 義歯装着後 1 日での標識細胞の分布（矢印）×66