原 著

舌苔の微細構造に関する観察

渡 邊 英 明

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 環境社会医歯学系専攻

国際健康開発学講座 健康推進歯学分野

(主任・指導：川口陽子教授)

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 顎顔面顎部機能再建学系専攻

顎顔面機構制御学講座 顎顔面解剖学分野

(指導：山下靖雄教授)

(2005 年 12 月 10 日 受付)

Observation of the Ultrastructure of the Tongue Coating

WATANABE Hideaki

Oral Health Promotion, Department of International Health Development,

Division of Public Health, Graduate School, Tokyo Medical and Dental University

(Chief and Director : Prof. KAWAGUCHI Yoko)

Maxillofacial Anatomy, Department of Maxillofacial Biology, Division of Maxillofacial/Neck

Reconstruction, Graduate School, Tokyo Medical and Dental University

(Director : Prof. YAMASHITA Yasuo)

An observational study was conducted to clarify the morphological features of the fine structure of the tongue coating, which is one of the main causes of halitosis. Tongue specimens from cadavers, whom dental students had practiced on for anatomy class, were used as materials to observe the surface structure. Tongue coatings were obtained from patients who were referred to the Fresh Breath Clinic, Dental Hospital, Tokyo Medical and Dental University. After macroscopic observation of the tongue surface, tongue coating and examination of halitosis, the tongue coating was scraped carefully, following which it was observed using a light microscope and transmission electron microscope (TEM). The results obtained were as follows. The tongue coating consisted mainly of bacteria and desquamated keratinized epithelium which originated chiefly from the filiform papilla. The desquamated keratinized epithelium was also composed of degenerated epithelium of every level, from a comparatively normal epithelium to a fragmented altered epithelium. In addition, the level of degeneration of the keratinized epithelium differed according to the state of distribution and the revitalization of bacteria located in its surroundings. The intensity of halitosis increased with the amount of tongue coating. Increased amounts of tongue coating, however, did not necessarily correlate with increased halitosis in the patients. It was suggested that the severity of halitosis was probably associated with the level of bacterial invasion-related degeneration of the desquamated keratinized epithelium (tongue coating's quality).

I. 緒 言

口臭は人間の円滑な社会生活を障害する要因として聖書やコーランにも記述があり¹⁾、長年多くの人々がその対応に憂慮してきた。わが国においても、平成 11 年保健福祉動向調査によると 15 歳以上の者の約 15%が「口臭がある」と自覚症状を訴えている²⁾。

これまで人々が口臭で悩んできた理由の一つに、誰にも生理的口臭を認められることが挙げられるだろう。通常、生理的口臭は嗅覚認知閾値以下であるが、起床時、空腹時、緊張時、疲労時などに高くなることもある。また、ニンニク、葱、納豆、アルコール、喫煙などの飲食物や嗜好品を摂取することで口臭が発生する場合もある。しかし、これらは一時的な口臭であり、実際に治療

が必要となるのは病的な口臭である。副鼻腔炎、慢性鼻炎、糖尿病、腎・肝機能障害などの全身疾患が原因の口臭症例もあるが、病的口臭の90%以上は舌苔の蓄積、歯周病、唾液分泌量の減少、重度の齲蝕、義歯の不潔、口腔癌など口腔内に原因があると考えられている^{3,4)}。

近年、歯科領域では口臭に対する関心が高まり、口臭測定機器の開発や口臭の原因、治療、予防に関する基礎研究、臨床研究が数多く行われるようになった。現在、主な口臭物質は硫化水素、メチルメルカプタン、ジメチルサルファイドなどの揮発性硫黄化合物 (Volatile Sulfur Compounds: VSCs) であることが明らかにされている⁵⁾。これらのVSCsは、剥離した口腔粘膜上皮、食物残渣、唾液、血液などの外因性あるいは内因性のタンパク質が口腔内細菌の有するタンパク分解酵素による腐敗作用によって発生し^{6~8)}、その約60%は舌苔で産生されると報告されている^{9~12)}。また、舌苔付着量の増加に伴い口臭強度は増加するという報告^{13~16)}や、舌苔除去により口臭の改善がみられたとする報告もある^{10,12,17~19)}。

これまでに報告された舌苔に関する研究には、舌苔の有形成分として剥離脱落した上皮細胞、細菌、食物の残渣などを認めたとする報告²⁰⁾、舌苔の付着範囲、厚さ、境界の明瞭度、色調などの肉眼的な観察²¹⁾、舌苔における舌粘膜上皮細胞間のdesmosomeやmembrane-coating granulesによる粘着性への影響^{22,23)}、舌背部細菌の電子顕微鏡観察²⁴⁾、舌背部細菌の揮発性硫黄化合物産生に関する報告^{25,26)}などがある。しかし、舌苔の構造解明を詳細に行った研究はほとんどみられない。

したがって、舌苔の微細構造から口臭発生のメカニズムを解明したり、口臭に対する抑制方法を検討していくことは必要であり、舌苔本体の構造解明からは臨床的にも示唆に富む知見が得られることが期待される。そこで、本研究では、口臭発生の主たる原因とされている舌苔の形態学的構造を解析することを目的として、その微細構造について観察した。

II. 方 法

1. 口臭強度と舌苔付着量

本学歯学部附属病院息さわやか外来 (口臭専門外来) を受診した患者のうち、歯周ポケットの最大測定値が4 mm未満であり、また、口臭と関連した全身疾患の既往歴のない者110名 (平均年齢42.1±13.7歳) を対象とした。患者は、診査の前日に口腔清掃を行った以降、飲食や口腔清掃を行わない条件で来院した。口臭強度はMuraokaら²⁷⁾の方法を参考にして口臭官能検査を行い、0~5の6段階の評価を「口臭を認めない (0, 1)、かすかに口臭を認める (2)、明らかに口臭を認める (3以上)」の3つに分類した。

舌苔付着量 (付着面積) はMiyazakiら²⁸⁾の方法にしたがって「付着なし、1/3未満、1/3以上2/3未満、2/3以上」の4段階に区分した。舌苔付着量 (付着厚) はGomezら²⁹⁾の方法を参考にして「舌苔付着を認めない、薄い舌苔付着を認める、中程度の舌苔付着を認める、厚い舌苔の付着を認める」の4段階に区分した。

2. 舌標本の作製

本学歯学部解剖学実習用遺体4体 (男性2体、女性2体) より採取した標本を10%中性ホルマリンにて再固定し、通法にしたがってパラフィン切片ならびに舌背の表層の角化上皮の構造をできる限り温存するためにリゴラック樹脂研磨標本を作製した。パラフィン切片にはヘマトキシリン・エオジン染色を施し、舌表面の構造 (糸状乳頭) について光学顕微鏡にて観察した。リゴラック樹脂研磨標本はトルイジン青染色を施して、同じく舌表面の構造 (糸状乳頭) について観察した。

3. 舌苔標本の作製

1. と同様の条件である患者42名 (平均年齢48.0±13.7歳) を対象とした。肉眼的に舌苔の付着状態について観察を行った後、両頭練成充填器 (#4) で舌背部から注意深く舌苔を採取した。採取した舌苔は10%中性ホルマリンにて固定後、通法にしたがってパラフィン切片を作製した。それらの切片にはヘマトキシリン・エオジン染色、組織構造の粗密の変化を染色液の粒子の大きさの違いによって染め分けることが可能な物理染色であるマッソン・ゴールドナー染色^{30,31)}を施し、光学顕微鏡にて観察した。

また、採取した舌苔の一部を通法にしたがい5%グルタルアルデヒド (pH 7.4, 0.2 M カコジル酸ナトリウム緩衝液, 4°C) にて前固定し、2%四酸化オスミウム (pH 7.4, 0.2 M カコジル酸ナトリウム緩衝液, 4°C) にて後固定を行った。その後、漸強アルコールにて脱水し、エポキシ樹脂 (Epon 812) で包埋を行い³²⁾、準超薄切片および超薄切片を作製した。準超薄切片はトルイジン青染色 (pH 7.4, 60°C) を施し、光学顕微鏡にて観察した。超薄切片はウラン、鉛の二重電子染色を施して、透過電子顕微鏡 (Hitachi H-800 L) にて観察した。

なお、本研究は本学倫理審査委員会による承認を得て行われた。

III. 結 果

1. 口臭強度と舌苔付着量との関連

口臭強度と舌苔付着量 (舌苔の付着面積および付着厚) の関連について検討した結果、Spearmanの相関係数0.433 (舌苔の付着面積, $p<0.01$), 0.348 (舌苔の付着厚, $p<0.01$) であり (図1)、舌苔付着量が多くなるにしたがって口臭強度は増加する傾向が認められる。

口臭強度と舌苔付着量（付着面積）との関連

口臭強度と舌苔付着量（付着厚）との関連

口臭を認めない かすかに口臭を認める 明らかに口臭を認める 口臭を認めない かすかに口臭を認める 明らかに口臭を認める

図1 口臭強度と舌苔付着量（付着面積・付着厚）との関連

しかし、口臭強度が低い群（口臭を認めない・かすかに口臭を認める）においても舌苔付着量が多い者がみられる。すなわち、口臭強度と舌苔付着面積との関連を示す図において、口臭を認めない群でも2/3以上の付着面積を有する者が6.7%、かすかに口臭を認める群でも12.3%みられる。また、口臭強度と舌苔付着厚との関連を示す図において、口臭を認めない群でも厚い舌苔を有する者が3.3%、かすかに口臭を認める群でも15.8%みられる。一方、口臭強度が高い群（明らかに口臭を認める）においても舌苔付着量の少ない者もみられる。すなわち、口臭強度と舌苔付着厚との関連を示す図において、明らかに口臭を認める群でも薄い舌苔を有する者が17.4%みられる。

2. 舌背の表面構造の観察所見

舌背部の表面を肉眼的に観察すると、舌苔がほとんど形成されていない場合には、通常、糸状乳頭の先端部は角化が亢進し、白色を呈しているため、おのおのの糸状乳頭の先端を明瞭に識別することができる（図2）。しかし、舌表面にいわゆる黄白色を呈する舌苔が付着すると、舌乳頭は不明瞭となり（図3）、さらに厚く堆積すると舌表面は舌苔により滑沢な状態となる（図4）。舌苔の分布状態は主として舌背の中央部から後方部にかけて付着がみられる。舌背の前方部には少なく、その厚みは薄い。

パラフィン切片にヘマトキシリン・エオジン染色を施して観察すると、糸状乳頭の角化上皮はエオジンに濃染している状態が認められる（図5）。これらの角化上皮は屋根瓦状に積層しており、離開した剝離直前の角化上皮の間にヘマトキシリンに濃染する顆粒状構造物が随所に観察される（図6）。

リゴラック包埋研磨標本にトルイジン青染色を施して、糸状乳頭を観察すると、角化上皮はトルイジン青に濃染している状態がみられる（図7）。それらの角化上皮間には種々の染色性と大きさを示す顆粒状構造物が認められる。特に上皮細胞が広く開大している領域には、多量の顆粒状構造物が観察される（図8）。

3. 舌苔の構造の観察所見

1) 光学顕微鏡観察

患者の舌表面から採取した舌苔についてパラフィン切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色を施して観察すると、主としてエオジン好性の薄片状構造物とヘマトキシリン好性の顆粒状構造物から構成されている状態が認められる。これらは後述する舌苔の電子顕微鏡所見により、それぞれ剝離角化上皮と細菌であることが確認されている。また、剝離角化上皮は、エオジンに濃染するもののほか、淡染するものなどもみられ、その染色性に差が認められる。一方、ヘマトキシリン好性の細菌は、集積して全体的にヘマトキシリンに濃染する部位や、細菌がまばらとなり全体としてヘマトキシリンに淡染している領域も認められる（図9）。

パラフィン切片にマッソン・ゴールドナー染色を施して観察すると、剝離角化上皮はフクシンに好染するもののほか、ライト緑に染色されるものが混在している。また、これらの角化上皮の周囲にはヘマトキシリンならびにライト緑に好染する細菌が多数観察される（図10）。

エポキシ樹脂包埋の準超薄切片にトルイジン青染色を施して観察すると、舌のリゴラック樹脂研磨標本において観察された糸状乳頭の角化上皮細胞と同様にトルイジン青に濃染する剝離角化上皮が観察され、その周囲に同

じくトルイジン青に好染する細菌が観察される(図11)。このように舌苔はエポキシ樹脂包埋の準超薄切片で観察を行った場合にも、主としてトルイジン青に好染する剝離角化上皮と細菌から構成されていることが認められる。しかし、トルイジン青に好染する角化上皮は上皮により、また、同一角化上皮でも部分的によってトルイジン青の染色性が異なっている。また、角化上皮の周囲を取り囲むように分布している多数のトルイジン青に好染する細菌が密に集積している部位における角化上皮のトルイジン青に対する染色性は、全般的に低下している(図12)。剝離角化上皮の周囲に位置する細菌がさらに密に集積し、周囲とは明瞭な境界を有して、節状の集塊を形成している領域も認められる。剝離角化上皮がそのような節状の細菌集塊によって取り囲まれている部位では、トルイジン青に対する染色性が全般的に低下している状態が認められる(図13)。また、節状に集塊をなしている細菌はトルイジン青に対する染色性が低下している部位もみられる。そのような細菌集塊によって囲まれている剝離角化上皮は、著しく染色性が低下している部位も認められる(図14)。

2) 電子顕微鏡観察

舌苔を電子顕微鏡で観察すると、主として細菌と剝離した角化上皮から構成されていることがわかる(図15~24)。舌苔中にみられる細菌は、細菌のみが散在性にみられる領域から、剝離角化上皮に非常に近接して細菌の密度が高い状態になっているところまでさまざまな状態が観察される。また、舌苔中にみられる剝離角化上皮は、比較的正常な状態を維持している上皮(図15, 17)から、全般的に電子密度が低くなり、その輪郭や内部構造物も不明瞭な状態となっているもの(図18~24)まで存在する。主として舌苔を構成する剝離角化上皮と細菌のほかに、いわゆる細菌間質と思われる電子密度の低い無定形物質が存在するものも認められる。正常に近い状態を維持している剝離角化上皮では、いくつかの上皮が重積して、その境は明瞭で互いに interdigitation によって結合している状態が明瞭に認められる。また、それらの細胞は電子密度も全般的に高く、顆粒状の細胞内構造物などの存在も観察される(図15, 17)。舌苔を構成する剝離角化上皮と細菌のほかに、いわゆる細菌間質と思われる電子密度の低い無定形物質の存在も認められる(図16~24)。

散在性に分布している細菌は、比較的電子密度が高い状態を呈しているものが多い(図16)。また、そのような領域に認められる剝離角化上皮はほぼ正常な状態を示しているものが多い(図17)。しかし、密に集積した細菌叢によって取り囲まれた剝離角化上皮は、電子密度が部分的に低くなっている。また、それらの細菌に接する角化

上皮表面は細菌によって侵食された陥凹が多数観察される(図18, 19)。そのような領域にみられる細菌は、電子密度が高いものも多く、また、それらの細菌の一部には、いわゆる分裂隔壁がみられるものもある(図18~21)。剝離角化上皮が2層から数層にわたって集積している領域で観察を行うと、それらの角化上皮のうち集積した細菌に接触している角化上皮では、細菌によって侵食され陥凹が生じている側の電子密度が先に低下する傾向がみられる(図19)。また、剝離角化上皮に細菌が接している側では、電子密度の低下が進んでいるのに対し、細菌がほとんど接していない側では、電子密度の低下ならびに細菌の侵食による陥凹は認められない(図20)。しかし剝離角化上皮が両側面から同時に密集した細菌叢に接触している場合には、角化上皮は両側からほぼ均等に電子密度が低下し、内部は著しく変性し、空虚となっている傾向がみられる(図21)。

さらに、細菌がほとんど隙間なく節状の集塊を形成している部位もみられる。また、その部位の細菌は全般的に電子密度が低下している。それら細菌集塊によって囲まれている剝離角化上皮はその輪郭が不明瞭となり、電子密度が著しく低下している(図22)。節状の集塊を形成している細菌を拡大して観察すると、その部位の細菌は電子密度が低下し、不整形を呈するものもみられ、分裂隔壁を有する細菌はほとんどみられない。また、それらの細菌によって取り囲まれる角化上皮は著しく電子密度が低下するとともに、その内部にはわずかに filament 状構造物の残存が認められる(図23, 24)。

IV. 考 察

1. 舌苔の構造について

これまで舌苔の構造に関する詳細な報告はほとんどなく、阿保²⁰⁾が舌苔の塗抹標本にギムザ染色を施して光学顕微鏡で観察し、舌苔の有形成分として剝離脱落した上皮細胞、細菌、食物の残渣などを認めたとする報告があるにすぎない。Kullaa-Mikkonen ら³³⁾によると、糸状乳頭の横断切片の走査電子顕微鏡観察において糸状乳頭の上皮間に細菌が存在しているのを認めている。また、舌粘膜上皮は細菌の棲息に有利な場所と報告されている^{34~36)}。本研究の観察において、糸状乳頭の上皮間に認められる顆粒状構造物は、その染色性ならびに形態的特徴が舌苔中にみられる細菌と類似している。したがって、それらの顆粒状構造物は主として細菌であると考えられる。

本研究における光学ならびに電子顕微鏡観察から、舌苔は主として角化上皮と細菌から構成されていることが形態学的に明らかになった。舌苔が唾液沈渣に影響を与え、その上皮成分の多くは舌粘膜上皮に由来していると

いう報告³⁷⁾ならびに本研究の観察において糸状乳頭の角化上皮と形態および染色性が類似していることから、舌苔の構成成分である角化上皮は、主として糸状乳頭の角化上皮が剝離あるいは脱落したものであると思われる。これらの舌苔中の剝離角化上皮は比較的正常に近い構造を有する上皮が1〜数層重積したものから、密に細菌が集積した細菌叢によって取り囲まれ、変性断端化したものまで認められる。

阿保²⁰⁾は、角化上皮ならびに細菌以外に食物残渣などが舌苔中にみられることを報告している。しかし、本研究では食物残渣などはほとんど観察されなかった。これは、前日に口腔清掃を行った以降、当日は飲食を行わずに来院した患者から舌苔を採取したことが理由と考えられる。

本研究では42名の患者の舌苔について観察を行ったが、それぞれの舌苔中にいろいろな段階の剝離角化上皮の変性像と細菌の粗密像を認め、それらの段階の分布状態も個体により異なっていることが観察された。このように同一個体の舌苔に種々の段階の組織像の混在が観察されるのは、おそらく舌苔が形成されてからの時間的経緯によると推察される。

舌苔の性状に変化を与える要因としては、口腔内の温度上昇、脱水、乾燥などの物理化学的な要因^{38,39)}などがあると考えられる。また、舌粘膜上皮が角化する際、その部位の desmosome や membrane-coating granules が量的に変化することが、形成される舌苔の硬さや軟らかさに影響を与えること^{22,23)}があり、粘膜への細菌の定着や侵入も口腔粘膜上皮の角化度が関係すること⁴⁰⁾があるといわれている。したがって、舌苔の性状や形成には、口腔内環境ならびに角化上皮間の結合状態や舌背部（糸状乳頭の先端部分）から剝離する以前における上皮の角化度と細菌の侵入程度なども関係すると考えられる。

また、舌苔には唾液由来成分や細菌由来の分泌物⁴¹⁾などと考えられる無定形物質の存在も観察されるので、今後、これら有形成分以外の領域の検討も、舌苔の微細構造の解明には必要になるであろう。

2. 舌苔の構造と口臭との関係について

本研究の観察から、舌苔中に存在する剝離角化上皮はそれらが単独で存在する領域や、周囲がそれほど密でない細菌が認められる角化上皮では電子密度も高く、トルイジン青に対する染色性も高い。そのような角化上皮は比較的正常に近い構造を示している。

しかし、剝離角化上皮の周囲に細菌が密集してくると、角化上皮の電子密度ならびにトルイジン青に対する染色性は全般的に低下する傾向がみられる。また、細菌叢が上皮に接着すると角化上皮は侵食されて陥凹し、その部位の電子密度が低下する傾向がみられる。さらに密に

なった細菌叢が角化上皮の全周を取り巻くようになると、角化上皮は電子密度が一段と低下し、薄片状となる。一方、剝離角化上皮の周囲に密集している細菌は、依然として電子密度の高い状態を保っており、分裂隔壁^{41,42)}を有する細菌も多数認められる。

八重垣⁴³⁾は唾液中の遊離細胞分画中における口臭前駆物質の分布を検討し、脱核、変形した崩壊の強い細胞ほど比重が高く、口臭物質前駆体となるジスルフィドおよびチオールは多く含まれていたと報告している。また、大串⁴⁴⁾は歯周炎患者における全唾液中細胞成分と口臭の関係について、培養8時間後では上皮細胞の崩壊が認められ、染色性も低下し、培養12時間後では崩壊が著しく外形も不明瞭となり、培養に伴って全唾液より産生されるメチルメルカプタン量は増量する傾向を示したことを報告している。これは唾液中に含まれる細胞成分が唾液中に存在する細菌によって変性されることを示している。本研究で観察された舌苔中の剝離角化上皮の変性像と細菌の集積像にあてはめて考えれば、細菌の集積に伴って剝離角化上皮が侵食されていく状態が観察される領域では、細菌の有するタンパク分解酵素によって角化上皮に含まれる含硫タンパク質が分解され、揮発性硫黄化合物の産生が盛んで口臭を発生しやすい状態^{5~8)}となっていることが推察される。また、このような部位では細菌の分裂隔壁をもつ細菌が多数みられることから、角化上皮を崩壊しつつ、盛んに細菌が増殖している可能性もあると思われる。マッソン・ゴールドナー染色^{30,31)}を施した光顕切片標本の観察所見からみても、角化上皮が次々に変性して舌苔の内部構造が疎構⁴⁵⁾となっている状態が確認できる。また、それによって同一個体の舌苔の中にも、種々の段階の剝離角化上皮の崩壊度が共存していることが確認できる。

さらに、細菌がほとんど間隙なく密集した細菌叢によって囲まれている剝離角化上皮は電子密度が著しく低下するとともに変性断片化し、その上皮細胞内にはわずかに線維成分が残存する状態となる。

一方、このような状態の舌苔では、細菌を電子顕微鏡観察すると、全般的に電子密度が低い傾向がみられ、細菌相互が密接することにより不整形を呈する細菌も多く観察され、分裂隔壁を有する細菌はほとんど認められなくなる。Arora ら²⁴⁾は、変形している細菌はおそらく活性が低下しているであろうとしている。したがって、このような状態を示す細菌は分裂増殖ならびに上皮の分解吸収を旺盛に行っているとは考えにくい。細菌と角化上皮がこのような形態的特徴を示す領域は、細菌による上皮の分解も停滞し、含硫タンパク質を含む角化上皮成分もほとんど消費され、残存している角化上皮も変性断端化していることから、もはや口臭の産生量は少なくなつて

いると思われる。

口臭強度と舌苔付着量には、有意な関連があるとする報告が多い¹³⁻¹⁶⁾。それは本研究の患者の分析結果とも一致し、口臭は舌苔付着量が多くなるにしたがって強くなる傾向がみられる。本研究では、舌苔以外の歯周病や全身疾患が原因と考えられる口臭患者を除外して、分析を行った。しかし、舌苔付着量が少なくても口臭強度の高い者、あるいは、舌苔付着量が多くても口臭強度の低い者がみられ、口臭強度と舌苔付着量との関連が認められない者もいた。

本研究で得られた舌苔の観察所見と臨床所見とを併せて考察してみると、舌苔中において細菌が密集し分裂隔壁を有する細菌の割合も多い領域、すなわち細菌の活性がきわめて高い領域では、それらの細菌による剝離角化上皮の変性が進行中であるため、口臭の発生量が多いと推測され、一定量の舌苔中にそのような領域の占める割合が多いほど口臭の発生は多くなると思われる。一方、正常に近い状態を保っている上皮や細菌が散在性に分布しているような領域、あるいは、もはや変性断片化した少量の角化上皮とそれらを取り囲む活性が低下した細菌の多い領域の占める割合が多い舌苔では、口臭の発生がそれほど多くないと推測される。

したがって、口臭発生には舌苔の量だけでなく、いわゆる舌苔の質も関与する可能性が示唆される。

口臭の産生には細菌が関与しているが、口腔細菌の種類や数、健康状態、喫煙、食事内容、薬物治療の有無、舌背上の部位、唾液、あるいは味覚、咀嚼、会話などといった舌の感覚や運動に影響を受けるといわれている²⁴⁾。このように口腔細菌は全身のおよび局所的な影響も受けやすく、また、角化上皮の成熟やその生理的交換にも関係している⁴⁶⁾。今後、口臭について検討を行うためには、口腔細菌に影響を与える種々の要因^{24,46)}なども併せて分析を行っていく必要があると思われる。

口臭の除去法あるいは予防法としては、抗菌剤を含む洗口液¹⁸⁾を使った含嗽により、一時的に口臭を抑制する方法が頻繁に使用されている。これは細菌の発育や増殖は抑制するが、常在細菌叢への影響が懸念される。酸化亜鉛を含む洗口剤は、2価の金属イオンである亜鉛が揮発性硫黄化合物と結合することで非揮発化されて口臭を抑制するが、この場合も効果は一時的である^{9,18,47,48)}。洗口剤の含有成分によっては口腔内の灼熱感、粘膜の剝離、味覚の消失、アレルギー反応などの副作用を引き起こすこともあり、毎日継続する際には使用上の注意が必要な場合もある⁴⁹⁾。

舌ブラシなどにより舌苔を機械的に清掃する方法は広く一般的に用いられている方法であり、口臭減少に有効である^{17,18)}。この方法は舌苔を構成する剝離角化上皮と

細菌を一塊として除去する方法であるが、舌背後方を刷掃する場合には嘔吐反射を誘発しやすいなど不快感を訴える場合もある。また、舌ブラシ使用時の過剰な刷掃により舌粘膜上皮を損傷する可能性もある。舌苔の構成成分として剝離角化上皮が観察されたが、角化上皮は生理的交換によって恒常性を維持しており⁵⁰⁾、上皮自体の角化や上皮自体が剝離する、あるいは落屑する能力は角化上皮の生体に対する防御機構の一つで、口腔内の恒常性を維持する役割を果たしている⁴⁶⁾。一方、口腔常在細菌叢は、免疫系器官の発育にも関係し、細菌の拮抗作用によって感染症に対して防御的に働くなど生体に対する重要な働きがある⁵¹⁾。したがって、舌苔は宿主に対する有益な側面も兼ね備えている可能性も否定できない。

本研究において口臭の強弱は舌苔付着量だけでなく、その舌苔を構成している剝離角化上皮ならびに細菌の状態、すなわち舌苔における細菌侵食の関与による剝離角化上皮の変性状態、言い換えれば、舌苔の質も関与する可能性が示唆された。

したがって、これまでの抗菌剤などによる洗口法や舌ブラシによる舌苔の機械的除去などの口臭予防法に加えて、今後は、舌苔における剝離角化上皮と細菌の相互作用に着目した新しい口臭抑制剤の開発などの可能性も考えられる。また、舌苔を評価する場合、舌苔付着量といった量的な面だけでなく、質的な面からも評価していくことも重要と思われる。

V. 結 論

口臭産生の主要因である舌苔の形態学的特徴を解明することを目的として、その微細構造について観察を行った。試料として本学歯学部附属病院息さわか外来において得られた舌表面の肉眼所見、口臭検査ならびに舌苔標本を用いた。また、舌の表面構造の観察には本学歯学部解剖学実習用遺体より採取した舌標本を用いた。以上の標本について光学顕微鏡ならびに透過電子顕微鏡で観察を行い、以下のような知見を得た。

1. 舌苔は主として糸状乳頭に由来する剝離角化上皮と細菌とにより構成されている。
2. 舌苔中の剝離角化上皮は正常に近い構造をなしているものから、変性断片化しているものまでみられる。また、角化上皮の変性の程度には細菌の付着状態との関連性が認められる。
3. 臨床的にみると口臭は舌苔の付着が多くなるにしたがって強くなる傾向が認められるが、口臭強度と舌苔付着量が一致していない者も認められた。
4. 口臭強度は細菌の関与による剝離角化上皮の変性状態（舌苔の質）とも関連する可能性が示唆された。

謝 辞

稿を終えるにあたり、ご指導ならびにご校閲を賜りました、本学大学院健康推進歯学分野 川口陽子教授に深甚なる感謝の意を表するとともに、終始懇切丁寧なご教授とご校閲をいただきました本学大学院顎顔面解剖学分野 山下靖雄教授に深く感謝いたします。また、種々ご援助、ご協力をいただきました健康推進歯学分野ならびに顎顔面解剖学分野の諸先生方に厚くお礼申し上げます。

文 献

- Rosenberg, M. : Introduction. In : Rosenberg, M. ed. : Bad breath : research perspectives, Tel Aviv, 1995, Ramot Publishing, 1-12.
- 厚生省大臣官房統計情報部 : 平成 11 年保健福祉動向調査 (歯科保健). 東京, 2000, 厚生統計協会.
- 石川正夫, 渋谷耕司 : 口臭と歯周病の関連性. 長谷川紘司, 野口俊英, 山田 了, 花田信弘, 真木吉信, 山崎洋治編集 : 歯周病と全身の健康を考える—新しい健康科学への架け橋. 東京, 2004, 医歯薬出版, 216-225.
- Prinz, H. : Offensive breath, its causes and its prevention. Dent. Cosmos 72 : 700-707, 1930.
- Tonzetich, J. : Direct gas chromatographic analysis of sulphur compounds in mouth air in man. Arch. Oral Biol. 16 : 587-597, 1971.
- Tonzetich, J. : Production and origin of oral malodor : a review of mechanisms and methods of analysis. J. Periodontol. 48 : 13-20, 1977.
- Tonzetich, J. and Richter, V. J. : Evaluation of volatile odoriferous components of saliva. Arch. Oral Biol. 9 : 39-45, 1964.
- Kleinberg, I. and Westbay, G. : Salivary and metabolic factors involved in oral malodor formation. J. Periodontol. 63 : 768-775, 1992.
- 八重垣 健編著, 宮崎秀夫, 川口陽子著 : 臨床家のための口臭治療のガイドライン. 東京, 2000, クインテッセンス出版, 21, 77.
- Yaegaki, K. and Sanada, K. : Biochemical and clinical factors influencing oral malodor periodontal patients. J. Periodontol. 63 : 783-789, 1992.
- Yaegaki, K. and Sanada, K. : Volatile sulfur compounds in mouth air from clinically healthy subjects and patients with periodontitis. J. Periodontal Res. 27 : 233-238, 1992.
- Boever, E. H. and Loesche, W. J. : The tongue microbiota and tongue surface characteristics contribute to oral malodour. In : Van Steenberghe, D. and Rosenberg, M. ed. : Bad Breath. A multidisciplinary approach, Leuven, 1996, Leuven University Press, 111-121.
- 海津健樹 : ガスクロマトグラフィーによる口腔内揮発性硫化物の分析. 日歯周誌 18 : 1-12, 1976.
- 森谷俊樹, 岸 光男, 相澤文恵, 南 健太郎, 米満正美 : 舌苔スコアによる口臭スクリーニングの有効性に関する研究. 口腔衛生会誌 52 : 12-21, 2002.
- 森谷俊樹, 高橋雅洋, 染谷美子, 阿部晶子, 岸 光男, 稲葉大輔, 佐藤 保, 米満正美 : 岩手県 85 歳追跡調査より 85 歳における口腔内気体の VSC について—実態と口腔内診査所見との関連—. 口腔衛生会誌 53 : 600-607, 2003.
- Liu, X., Shinada, K., Chen, X., Zhang, B., Yaegaki, K. and Kawaguchi, Y. : Oral malodor-related parameters in the Chinese general population. J. Clin. Periodontol. 33 : 31-36, 2006.
- Morris, P. P. and Read, R. R. : Halitosis : Variations in mouth and total breath odor intensity resulting from prophylaxis and antisepsis. J. Dent. Res. 28 : 324-333, 1949.
- Yaegaki, K., Coli, J. M., Kamemizu, T. and Miyazaki, H. : Tongue brushing and mouth rinsing as basic treatment measures for halitosis. Int. Dent. J. 52 : 192-196, 2002.
- 佐藤春海, 海津健樹, 角田正健, 青木栄夫, 木村吉太郎 : 舌苔の揮発性硫化物産生能について. 歯科学報 77 : 247-248, 1977.
- 阿保喜七郎 : 健康者の舌所見, 特に舌苔に就いての観察. 歯科学報 48 : 125-133, 1943.
- 小島 健 : 舌苔の臨床的研究. 日口外誌 31 : 1659-1678, 1985.
- Chen, Z., Dai, H., Ling, Y. and Ma, J. : A study on the tongue coating by electron microscope. I. The thin whitish coating and pinkish tongue tissue proper of healthy subjects. J. Tradit. Chin. Med. 3 : 305-313, 1983.
- Dai, H., Chen, Z., Lin, Y. and Ma, J. : A study on the tongue coating by electron microscope. II. An investigation on various pathological tongue features. J. Tradit. Chin. Med. 4 : 321-328, 1984.
- Arora, H. K. and Chapman, G. B. : Transmission electron microscope study of bacterial morphotypes on the anterior dorsal surface of human tongues. Anat. Rec. 259 : 276-287, 2000.
- Washio, J., Sato, T., Koseki, T. and Takahashi, N. : Hydrogen sulfide-producing bacteria in tongue biofilm and their relationship with oral malodour. J. Med. Microbiol. 54 : 889-895, 2005.
- Donaldson, A., McKenzie, D., Riggio, M., Hodge, P., Rolph, H., Flanagan, A. and Bagg, J. : Microbiological culture analysis of the tongue anaerobic microflora in subjects with and without halitosis. Oral Diseases 11 (Suppl 1) : 61-63, 2005.
- Murata, T., Yamada, T., Iida, T., Miyazaki, H. and Yaegaki, K. : Classification and examination of halitosis. Int. Dent. J. 52 : 181-186, 2002.
- Miyazaki, H., Sakao, S., Katoh, Y. and Takehara, T. : Correlation between volatile sulphur compounds and certain oral health measurements in the general population. J. Periodontol. 66 : 679-684, 1995.
- Gomez, S. M., Danser, M. M., Sipos, P. M., Rowshani, B., Van der Velden, U. and Van der Weijden, G. A. : Tongue coating and salivary bacterial counts in healthy/gingivitis subjects and periodontitis patients. J. Clin. Periodontol. 28 : 970-978, 2001.
- 藤田尚男, 藤田恒夫 : 標準組織学. 総論, 第 3 版, 東京, 1994, 医学書院, 8.
- 佐野 豊 : 組織学研究法. 理論と術式, 東京, 1981, 南山堂, 148.
- Luft, J. H. : Improvements in epoxy resin embedding methods. J. Biophys. Biochem. Cytol. 9 : 409-414, 1961.
- Kullaa-Mikkonen, A., Hynynen, M. and Hyvonen, P. : Filiform papilla of human, rat and tongue. Acta Anat. 130 : 280-284, 1987.
- Gordon, Jr. D. F. and Gibbon, R. J. : Studies of the

- predominant cultivable microorganism from the human tongue. Arch. Oral Biol. 11 : 627-632, 1966.
- 35) Dahlen, G., Jonsson, R., Ohman, S.-C., Nielsen, R. and Moller, A. J. R. : Infections of oral mucosa and sub-mucosa. In : Slots, J. and Taubman, M. A. ed. : Contemporary oral microbiology and immunology, St. Louis, 1992, Mosby-Year Book, Inc., 478.
 - 36) Van der Velden, U., Van Winkelhoff, A. J., Abbas, F. and De Graaff, J. : The habitat of periodontopathic micro-organisms. J. Clin. Periodontol. 13 : 243-248, 1985.
 - 37) Gibbon, R. J. and Van Houte, J. : Selective bacterial adherence to oral epithelial surfaces and its roles as an ecological determinant. Infect. Immun. 3 : 567-573, 1971.
 - 38) 西山茂夫：粘膜診。簗野 倫, 野原 望, 徳田安章編集 (谷奥喜平監修)：皮膚と全身—プライマリケアと皮膚科—。東京, 1982, 金原出版, 328.
 - 39) 鷺津邦雄：5. 舌の異常。吉利 和, 中尾喜久, 山形敏一, 三辺 謙, 黒岩義五郎, 織田敏次, 山村雄一監修：内科学体系 14 消化管疾患。東京, 1976, 中山書店, 176.
 - 40) Philipsen, H. P., Cleaton-Jones, P. and Fisker, A. V. : Correlative light microscopic and scanning electron microscopic study of completely and incompletely orthokeratinized rat oral epithelium. Scand. J. Dent. Res. 90 : 255-262, 1982.
 - 41) Barnett, M. L. : Adherence of bacteria to oral epithelium *in vivo* : electron microscopic observations. J. Dent. Res. 52 : 1160, 1973.
 - 42) 堀川高大, 武井 盈, 高添一郎, 片山有夫, 鷹森健志郎 編集 (清水文彦監修)：口腔細菌アトラス。東京, 1978, 医歯薬出版, 41.
 - 43) 八重垣 健, 末高武彦：Percoll 密度勾配遠心分画法による唾液中遊離細胞の分画と口臭物質前駆体の分布。歯学 77 : 269-275, 1989.
 - 44) 大串 勉：歯周炎患者における全唾液中細胞成分と口臭との関係。日歯周誌 22 : 307-318, 1980.
 - 45) 大迫正文：ラット下顎骨関節突起の発育と機能に関する組織学的研究。口病誌 60 : 475-525, 1993.
 - 46) Nolte, W. A. : Oral ecology. In : Nolte, W. A. ed. : Oral microbiology, St. Louis, 1968, The C. V. Mosby Co., 38-56.
 - 47) Yaegaki, K. and Suetaka, T. : The effect of zinc chloride mouth wash on the production of oral malodor, the degradation of salivary cellular elements and proteins. J. Dent. Health 39 : 377-386, 1989.
 - 48) Loesche, W. J. and Kazor, C. H. : Microbiology and treatment of halitosis. Periodontol. 2000 28 : 256-279, 2002.
 - 49) Gagari, E. and Kabani, S. : Adverse effects of mouth-wash use. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod. 80 : 432-439, 1995.
 - 50) Lillich, T. T. : Oral microbiology. In : Roth, G. I. and Calmes, R. ed. : Oral biology, St. Louis, 1981, The C. V. Mosby Co., 312.
 - 51) MacDonald, D. G. : Cell renewal in oral epithelium. In : Squier, C. A. and Meyer, J. ed. : Current concepts of the histology of oral mucosa, Springfield, 1971, Charles C Thomas Publisher, 73.

付図説明 (図 2~24)

図 2~4 は舌背の表面写真。図 5~8 は糸状乳頭の光学顕微鏡写真 (×撮影倍率)。図 9~14 は舌苔の光学顕微鏡写真 (×撮影倍率)。図 15~24 は舌苔の透過電子顕微鏡写真 (×写真倍率)。

- 図 2 舌苔がほとんど形成されていないため、角化が亢進し白色を呈している糸状乳頭の先端を明瞭に認めることができる。
- 図 3 舌背の後方中央部付近にわずかに舌苔 (*) が認められ、舌苔付着部の糸状乳頭は不明瞭となっている。
- 図 4 舌背表面の広範囲に、いわゆる黄白色を呈する舌苔 (*) が厚く堆積し、その表面が滑沢な状態となっている。
- 図 5 糸状乳頭の角化上皮 (E) は、エオジンに濃染している (ヘマトキシリン・エオジン染色, ×25)。
- 図 6 糸状乳頭の角化上皮を拡大して観察すると、屋根瓦状に積層した角化上皮 (E) とそれらの角化上皮間にヘマトキシリンに濃染する顆粒状構造物 (細菌など) (→) が随所に観察される (ヘマトキシリン・エオジン染色, ×250)。
- 図 7 糸状乳頭の角化上皮 (E) はトルイジン青に濃染している (トルイジン青染色, ×50)。
- 図 8 糸状乳頭の角化上皮を拡大して観察すると、角化上皮 (E) 間には種々の染色性と大きさを示す顆粒状構造物 (細菌など) (→) が認められる (トルイジン青染色, ×250)。
- 図 9 患者より採取した舌苔を切片で観察すると、エオジン好染性の剝離角化上皮 (E) とヘマトキシリン好染性の細菌 (Bh, Bl) が認められる。また、角化上皮によってはエオジンに対する染色性に差が認められる。細菌の分布状態にも差がみられる。Bh : 細菌の密な部位, Bl : 細菌の疎な部位 (ヘマトキシリン・エオジン染色, ×100)。
- 図 10 剝離角化上皮 (E) はフクシンあるいはライト緑に染色されている。また、角化上皮の周囲にはヘマトキシリンあるいはライト緑に好染する細菌 (B) などが多数観察される (マッソン・ゴールドナー染色, ×100)。
- 図 11 準超薄切片で観察すると、トルイジン青に濃染する剝離角化上皮 (E) と、その周囲に同じくトルイジン青に好染する細菌 (B) が認められる (トルイジン青染色, ×250)。
- 図 12 剝離角化上皮 (E) は部位によってトルイジン青の染色性に差が認められる。また、その周囲を取り囲むように分布しているトルイジン青好染性の細菌 (B) が密に集積している (トルイジン青染色, ×250)。
- 図 13 細菌 (B) が著しく密に集積し、周囲とは明瞭な境界を有する節状の集塊を形成している。また、それらの細菌集塊によって囲まれている剝離角化上皮 (E) の染色性は全般的に低下している (トルイジン青染色, ×250)。
- 図 14 節状の集塊を形成している細菌 (B) は、トルイジン青に対する染色性が低下している部位もみられる。そのような細菌集塊によって囲まれている剝離角化上皮 (E) は著しく染色性が低下している部位も認められる (トルイジン青染色, ×250)。
- 図 15 比較的正常な状態を維持している剝離角化上皮では、interdigitation (→) や顆粒状の細胞内構造物 (G) などが観察さ

れる (×15,000)。

図 16 散在性に分布している細菌は、比較的電子密度が高い状態を呈している (×12,000)。

図 17 細菌 (B) が剥離角化上皮付近に認められる領域でも、その細菌が散在性に分布している場合には、角化上皮 (E) は比較的正常な形態を示している (×8,000)。

図 18 細菌が剥離角化上皮 (E) の周囲に密に集積している領域では、角化上皮の電子密度は部分的に低くなっている。また、それらの細菌に接する角化上皮表面は、細菌によって侵食され陥凹が生じている。また、この部の細菌 (B) は電子密度も高く、分裂隔壁 (→) を有するものが多数認められる (×9,000)。

図 19 剥離角化上皮 (E) が 2 層から数層にわたって集積している場合には、集積した細菌に接触している角化上皮の電子密度が低下 (*) し、細菌の侵食による陥凹部が観察される。細菌の分裂隔壁 (→) も多数みられる (×13,000)。

図 20 細菌 (B) がほとんど接していない側 (*) の剥離角化上皮 (E) 表面付近は、電子密度がほとんど低下することなく、また、細菌の侵食による陥凹もみられない (×18,000)。

図 21 剥離角化上皮 (E) の両側面が集積した細菌 (B) に接触している場合には、角化上皮は両側からほぼ均等に電子密度が低下している。細菌には分裂隔壁 (→) が認められる (×10,000)。

図 22 細菌は、ほとんど間隙なく密接して節状の集塊を形成するとともに、全般的に電子密度が低下している。また、それら細菌集塊 (B) によって囲まれている剥離角化上皮 (E) も電子密度が著しく低下している (×8,000)。

図 23, 24 節状の集塊を形成している細菌 (B) は、電子密度が低下し、不整形を呈するものもみられる。また、分裂隔壁を有する細菌はほとんどみられない。細菌集塊によって取り囲まれる剥離角化上皮 (E) は、著しく電子密度が低下し、その内部にわずかに filament 状構造物の残存が認められる (図 23: ×13,000, 図 24: ×17,000)。