

厚生労働科学研究研究費補助金

医療技術評価総合研究事業

初期齲蝕および歯列等の新たな診断技術の開発に関する総合的研究

平成15年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 神原 正樹

平成16（2004）年 4月

目 次

I. 総括研究報告

- 初期齲蝕および歯列等の新たな診断技術の開発に関する総合的研究
神原正樹

..... 3

(資料1) 大阪歯科大学治験審査委員会 説明文書

II. 分担研究報告

1. QLF法によるエナメル質人工初期う蝕試料の脱灰および再石灰化に関する研究
川崎弘二、神原正樹

..... 26

2. QLF法による歯垢検出技術の評価に関する研究
川崎弘二、神原正樹

..... 40

(資料1、2) 大阪歯科大学医の倫理委員会 研究等審査申請書および説明文書

3. 口腔内蛍光測定用のプローブ開発
松村英夫

..... 46

4. 歯列不正と齲蝕との関連評価、臨床試験
相馬邦道

..... 50

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

..... 52

IV. 研究成果の刊行物・別刷

..... 55

厚生労働科学研究費補助金（医療技術評価総合研究事業）

総括研究報告書

初期齲蝕および歯列等の新たな診断技術の開発に関する総合的研究

主任研究者 神原 正樹 大阪歯科大学口腔衛生学講座教授

研究要旨

本年度の本研究事業は、in vitro study と clinical study との両面から QLF (Qualitative Light-Induced Fluorescence) 法による研究を行った。1. In vitro study では、1) QLF 法の照射光の波長特性、エナメル・象牙境界部の励起光特性の検討を行い、400nm 前後の紫外光でエナメル質内の蛍光物質が励起することを明らかにし、2) 低濃度フッ化物（1 ppmF）による初期人工表層下脱灰の再石灰化に及ぼす影響を検討し、低濃度フッ化物が再石灰に有効であることを QLF 法により明示できることを確認し、初期表層下脱灰の脱灰程度により再石灰化への動態に相違があることを明らかにした。3) フッ素以外の再石灰化物質の探索も現在進行中である。2. Clinical study では、1) フッ素配合歯磨剤の初期齲蝕に及ぼす影響を1年間にわたり検討し、非フッ素配合歯磨剤群の初期齲蝕が1年後に進行するものと再石灰化を示すものが半々であること、フッ素配合歯磨剤により初期齲蝕が70数%再石灰化をすることを明確にした。2) 臨床現場への QLF 法の応用では、各歯面（平滑面・隣接面・咬合面・根面）の初期齲蝕への QLF 法の応用の可能性、各年齢群・症例（矯正患者、義歯装着患者など）への応用、齲蝕治療への応用等に分け、症例を蓄積中である。3. 歯列不正と咀嚼機能障害の関連評価に関しては、本年度議論を重ね具体的研究計画の作成を作成した。

分担研究者

川崎弘二

大阪歯科大学口腔衛生学講座
助手

松村英夫

独立行政法人・産業技術総合研究所・光
技術研究部門・ライフエレクトロニクス
研究ラボ
主任研究員

相馬邦道

東京医科歯科大学大学院咬合機能制御学
分野
教授

研究協力者

上村参生

大阪歯科大学口腔衛生学講座
講師

三宅達郎

大阪歯科大学口腔衛生学講座
講師

George K. Stookey

Indiana University, School of Dentistry
Associate Dean for Research

安藤昌俊

Indiana University, Oral Health
Research Institute
Assistant Scientist

土居貴士

Indiana University, School of Dentistry
Assistant Scientist

Elbert de Josselin de Jong

Inspektor Research Systems b. v.
Chief Research & Development

中嶋省志

ライオン株式会社オーラルケア研究所
主任研究員
九州大学大学院歯学研究院
客員教授

A. 研究目的

昨年、健康増進法が成立し、今後の健康づくりは、従来の疾病対策から、一次予防を主眼とした疾病予防・健康づくりにシフトしてきている。歯科医療の分野においても、う蝕多発時代の削って詰める歯科医療から、口腔を予防管理する時代を迎えている。特に、う蝕という疾患とそれを取り巻く状況も大きく変化してきており、わが国においても先進国と同様に減少ならびにう蝕の症状の軽症化、進行の緩徐化してきている。さらにフッ化物応用の普及により、再石灰化の機構明らかになるにつれ初期う蝕の捉え方もこれまでとは変化してきており、初期う蝕の診断の場面において、より有用性の高い診断法の開発が急務となっている。

本研究は、実質欠損に至るまでのエナメル質内の齲蝕進行状態をエナメル質内の蛍光を利用して光学的に検出できる QLF (Qualitative Light-induced Fluorescence) 法 (図1、2) を用いて、病巣の微細な変化をモニタリングする定量的診断方法を確立し、かかりつけ歯科医システムの中で個別に健康管理するシステムを構築することである。

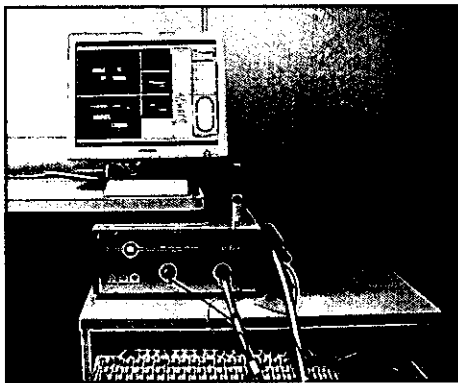


図1 QLF システム

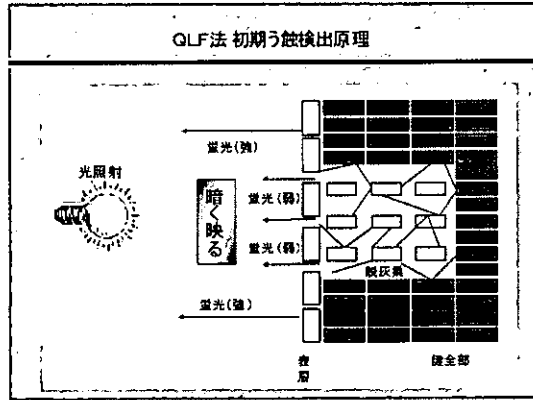


図2 QLF 法の原理

現在の齲蝕予防の現状は、リスク管理の考え方に従い、口腔内環境 (唾液・口腔内細菌) 要因を中心に、齲蝕罹患性を把握して判定する方法が中心であるが、今後は、ホスト要因をも組み入れた積極的な予防管理が重要であり、そのためには診断においてただ単にう蝕であるかないかを診断するだけでなく、その病変の進行、特にう蝕活動性に着目した評価が必要である。本研究により、診断、処置決定、その後の管理・予後についてのシステムの一段階としてのう蝕診断方法が確立でき、かかりつけ歯科医システムの中で個別に健康管理するシステムを構築することが可能となる (図3)。

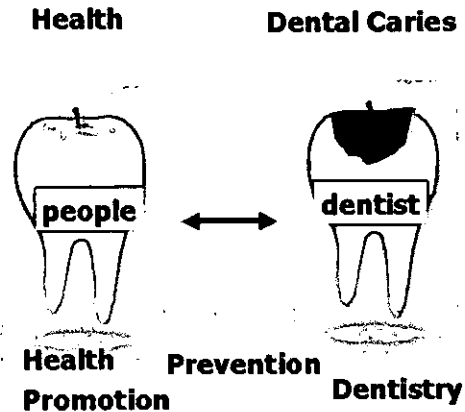


図3 健康増進とう蝕予防の関係

今回明確にしようとする初期齲蝕の目に見えない変化が明らかになると、個人の齲蝕罹患性傾向が明らかになり、歯の実質欠損が生じ現在の保険診療を適用する前に再石灰化を促進する予防処置により、修復することが可能になり、歯科医療の予防歯科医療を目指した改革の手始めになる。

また、個人さらには歯面ごとの脱灰・再石灰化バランスを歯質自体のデータとして把握することが可能となり、診断のみならず予防管理の一環としての診断の位置づけが明確となる。さらには、為害性のある歯垢とそうでない歯垢とが判別できるようになると、予防のためのブラッシングに対し、どこまで磨いたらいいのかの規準を与える。すなわち、歯科保健指導に対し、明確な基準を与えることになる。この QLF 法は、歯の中の変化が目に見えるため(図4~8)、患者に対しインフォームドコンセントが容易にとれ、歯科医療に対する患者の理解が得られやすいなどの成果が期待できる(図9)。

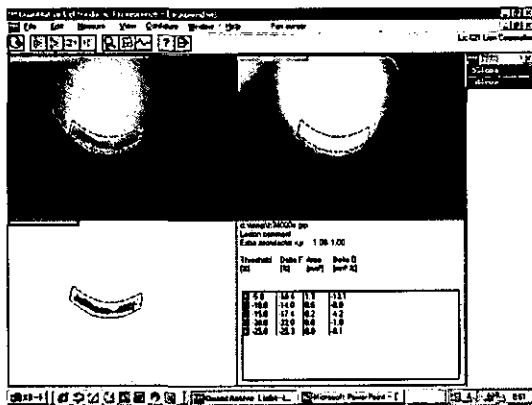


図4 初期う蝕の画像解析 ①

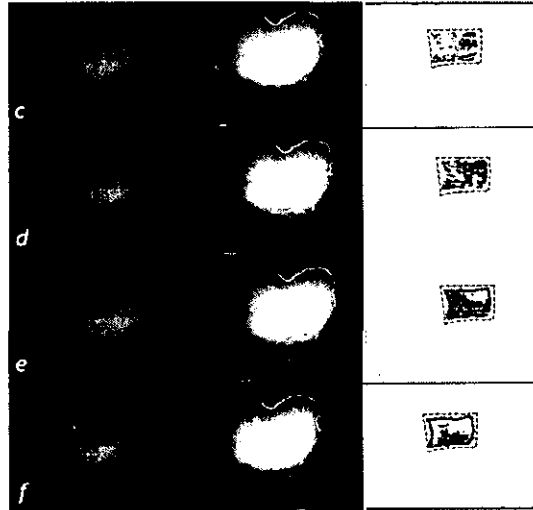


図5 初期う蝕の画像解析 ②

Tooth No.	Clinical Photograph	Radiographic Image	Histological Section	QLF Image	Lesion Analysis	Analysis Values	REX Score
41						1133 AF-7% 43.7 AF-8% 33.1 AF-17% 37.4 DD-7 32.4	C 4 R 4 H 4
42						2012 AF-7% 23.2 AF-8% 26.9 AF-17% 22.9 DD-7 17.0(2)	C 3 R 2 H 3
43						2351 AF-7% 37.3 AF-8% 41.3 AF-17% 44.6 DD-7 40.0(11.7)	C 4 R 4 H 4
44						1681 AF-7% 19.1 AF-8% 24.3 AF-17% 29.9 DD-7 19.0	C 2 R 2 H 2
45						2913 AF-7% 23.7 AF-8% 28.9 AF-17% 33.9 DD-7 23.2(2.5)	C 3 R 2 H 3

Tooth No.	Clinical Photograph	Radiographic Image	Histological Section	QLF Image	Lesion Analysis	Analysis Values	REX Score
11						1241 AF-7% 26.4 AF-8% 41.7 AF-17% 40.0(9)	C 4 R 4 H 4
12						1101 AF-7% 28.9 AF-8% 31.9 AF-17% 27.5 DD-7 21.0(4.6)	C 2 R 2 H 2
13						101 AF-7% 10.3 AF-8% 12.9 AF-17% 21.4 DD-7 16.0(7)	C 1 R 1 H 1
14						116 AF-7% 21.7 AF-8% 26.9 AF-17% 21.9 DD-7 16.0(7)	C 2 R 2 H 2
15						1199 AF-7% 28.9 AF-8% 31.9 AF-17% 27.5 DD-7 21.0(4.6)	C 2 R 2 H 2

図6 初期う蝕の画像解析 ③

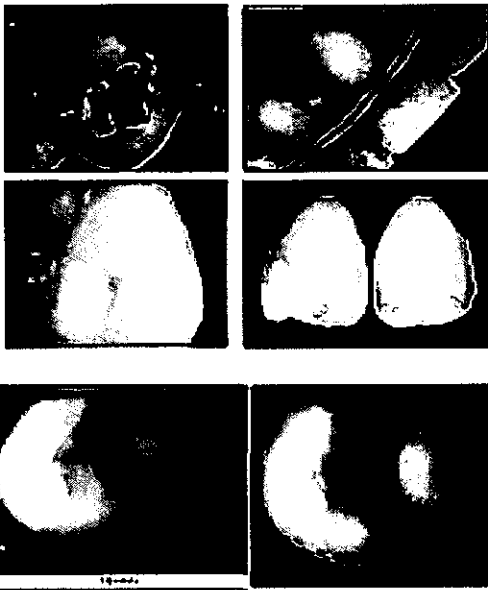


図7 微生物の活動が活発な歯垢および歯石部位のQLF法による明示

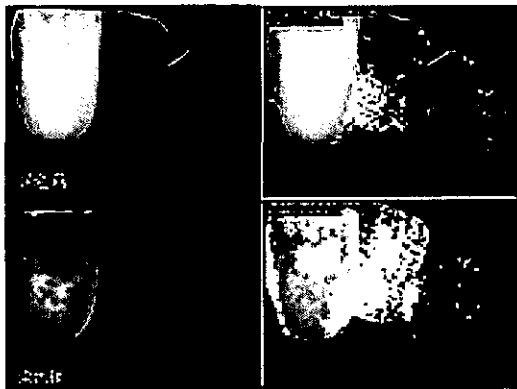


図8 歯垢の画像解析

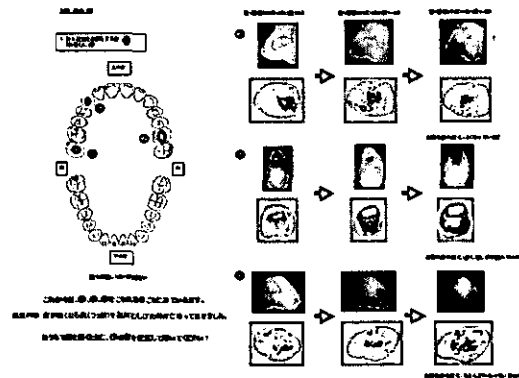


図9 QLF法診査後の患者事後措置票

一方、歯列に関しては、歯列不正と咀嚼機能障害との関連評価を行い、咀嚼機能障害の機能分析から疾患としての歯列不正の診断方法を確立することである。このことにより、形態検査と機能検査の両面からより詳細な歯列に関する診断が期待できる。

B. 研究方法

1. 歯および歯垢の発する蛍光の分光的分析

1) 歯の蛍光

ヒト天然抜去歯を試料とし、広波長範囲光源装置（浜松ホトニクス社製）によりヒト天然抜去歯に光照射を行い、発する蛍光のスペクトルをマルチチャンネル検出器（浜松ホトニクス社製）により測定を行った。

2) 歯垢の蛍光

歯垢が発する蛍光の原因物質であるプロトポルフィリン（Aldrich社製）を用い、蛍光分光光度計（日立社製）により、任意の励起光をプロトポルフィリン溶液に照射し、得られた蛍光のスペクトルを分析した。

2. QLF法を応用した初期う蝕改善効果に関する臨床研究

A) 臨床試験のデザイン

1) 評価指標

有効性および安全性については、初期う蝕部位の脱灰の程度を表す指標を、脱灰量および最大脱灰深さの二つとして、QLF法にて定量的に計測する。口腔粘膜および歯肉の異常、歯の着色の有害事象、その他の有害事象とする。

2) 臨床試験の種類およびデザイン

プラセボを対照とした同時並行群間比較を二重盲検法により実施する。

3) 被験者の予定参加期間と診査時期

予定参加期間は一年間とし、診査時期は第一回（初回）、第二回（三ヵ月後）、第三回（六ヵ月後）、第四回（一年後）とする。ただし、原則として初回以外の診査は、設定した診査日の±二週間以内実施する。

4) 診査対象集団と計画症例数

用法・用量に従って歯磨きが実施できる可能性等を考慮して、永久歯に初期う蝕を有する10歳以上の者を対象とし、計画症例数は、被験歯磨剤および対象歯磨剤群を各群54症例、合計108症例とする。

5) 臨床試験実施場所

大阪歯科大学附属病院および七箇所的一般歯科診療所において実施する。

6) 被験者の募集方法

各実施機関における公募により募集する。大阪歯科大学附属病院では、公募と平行し

て外来患者を対象として被験者を募集する。

7) 用法・用量、臨床試験用歯磨剤

①用法・用量

臨床試験用歯磨剤約1g（植毛部の長さの1/2）を歯ブラシにとり、歯および口腔内を清掃する。一日二回、朝と夜に使用する。

②臨床試験用歯磨剤の組成

臨床試験用歯磨剤1g中には、デキストラナーゼ17.5単位およびフッ化ナトリウム2.1mg（フッ素として950ppm）を含有する。対照歯磨剤は、臨床試験用歯磨剤からデキストラナーゼおよびフッ化ナトリウムを除いた歯磨剤である。

③歯磨剤および歯ブラシの提供

各被験者には臨床試験期間中に臨床試験用歯磨剤および歯ブラシを以下のとおり三回支給する。

提供時期	臨床試験用歯磨剤	歯ブラシ
第一回診査	5本	5本
第二回診査	5本	5本
第三回診査	10本	10本

8) 臨床試験の手順

①公募により被験者を募集する。

②大阪歯科大学附属病院では、公募と平行して外来患者を対象として被験者を募集する。

③公募による応募者および外来患者に対して説明文書（資料1）により臨床試験に関して十分な説明を行い、文書により臨床試験参加の同意が得られた場合に被験者候補とする。この場合、同意書の写しを被験者に交付する。

④診査は以下の手順で実施し、必要な項目を診療録等に記録する。なお、有効性および安全性の評価は、原則として各被験者に対し同一の診査者が実施する。

1：口腔内診査、口腔内清掃および問診を行う。

2：初期う蝕の有無およびその数を確認する。

3：初期う蝕が認められた場合 QLF 法にて観察する。

4：選択基準を満たし、かつ除外基準に該当しない場合に被験者として登録する。

5：その歯を被験部位とし、観察を行う。

6：QLF 法により被験部位の初回蛍光像を獲得する

7：被験部位を写真撮影する。

8：必要に応じその他所見等を記録する。

⑤被験者に臨床試験用歯磨剤と歯ブラシを提供し、被験者コードを診療録等に記録する。その際、被験者に対し用法・用量の指導を行う。

⑥QLF 法により取得した初回蛍光像を数値化し、蛍光像と数値化データを印刷して診療録等にファイルするとともに、数値化データ（脱灰量、最大脱灰深さ）を診療録等に記載する。

⑦第二回目以降も上記の手順と同様に診査を行う。

⑧以下に手順を示す。

臨床試験に関する説明と同意取得

- ①説明文書による説明
- ②文書による同意の取得

↓

第一回診査（初回）

- ①問診、口腔内診査、被験部位の特定、QLF 画像の取得
- ②被験者の登録
- ③臨床試験用歯磨剤、歯ブラシの提供、用法・用量の指示

↓

第二回診査（三ヵ月後）

- ①問診、口腔内診査、被験部位の特定、QLF 画像の取得、安全性の評価
- ②新しい臨床試験用歯磨剤、歯ブラシの提供、用法・用量の指示
- ③第一回診査で提供した臨床試験用歯磨剤、歯ブラシの回収

↓

第三回診査（六ヵ月後）

- ①問診、口腔内診査、被験部位の特定、QLF 画像の取得、安全性の評価
- ②新しい臨床試験用歯磨剤、歯ブラシの提供、用法・用量の指示
- ③第二回診査で提供した臨床試験用歯磨剤、歯ブラシの回収

↓

第四回診査（一年後）

- ①問診、口腔内診査、被験部位の特定、QLF 画像の取得、安全性の評価
- ②第三回診査で提供した臨床試験用歯磨剤、歯ブラシの回収

↓

問題症例の検討

↓

症例固定

↓

關鍵

↓

統計解析



総合判定

B) 倫理面への配慮

ヘルシンキ宣言に基づく倫理的原則と臨床試験の実施の基準（GCP）を遵守し、被験者の人権、安全、福祉および利益を最大限に優先する。

大阪歯科大学治験審査委員会に実施計画書、説明文書（資料1）を提出し実施の承認を得た（受付番号12-1）。

1) 被験者からの同意取得

①被験者が20歳以上の場合、臨床試験歯科医師は、臨床試験に先立ち、被験者に対して説明文書（資料1）を用いて十分説明し、臨床試験の参加について文書により同意を得る。

②被験者が10歳以上20歳未満の場合、臨床試験歯科医師は保護者等の代諾者に対して前記同様に十分に説明し、臨床試験の参加について文書により同意を得る。この場合であっても、被験者の理解力に応じて説明を行い、可能であれば被験者からも同意文書への記名捺印または署名と日付の記入を得るものとする。

③臨床試験歯科医師は被験者の意志に影響を与えるものと認められる情報を入手した場合には速やかに説明文書を改訂する。

2) 被験者の選択・除外・中止基準

①選択基準

- ・永久歯に初期う蝕を有する10歳以上の者。
- ・臨床試験の参加について自由意志による同意が文書で得られていること

②除外基準

- ・歯垢による脱灰に起因しない白斑
- ・乳歯の初期う蝕
- ・C2以上のう蝕を有する歯の初期う蝕
- ・その他、不適と判断した部位
- ・全身疾患による歯周組織の異常が認められるもの
- ・矯正器具を装着しているもの
- ・四週間以内に矯正器具を取り外したもの
- ・毎年二回以上定期的にフッ化物塗布を受けているもの
- ・被験者または代諾者が、臨床試験の趣旨を理解するのが不可能であると歯科医師が認めた場合

③中止基準

- ・臨床試験の継続が困難な程度に口腔内に異常が発生した場合
- ・発疹などの異常が発現した場合
- ・被験者または代諾者から同意が撤回された場合
- ・歯科医によるフッ化物塗布などの臨床試験の有効性が判断できなくなるような処置が行われた場合
- ・抜歯、保存治療等で被験歯の診査が不可能になった場合
- ・その他、臨床試験歯科医師が継続困難と判断した場合

C) 臨床試験成績の評価

1) 有効性評価指標とその算出法

①有効性指標評価

初期う蝕部位の脱灰の程度を表す指標として、脱灰量と最大脱灰深さを検討する。

②算出法

- a) 各診査日に初期う蝕の蛍光像を取得する。

b) 蛍光像を数値化し、最大脱灰深さ、平均脱灰深さおよび脱灰面積を求める。最大脱灰深さと平均脱灰深さは健全歯質のミネラル密度に対する相対蛍光強度値 (%) であり、脱灰面積は実面積 (mm²) である。

2) 被験部位

初期う蝕が認められる歯を被験歯とする。

3) 判定方法

上記の結果を各評価指標ごとに統計解析する。

D) 統計解析

1) 統計解析手法

有効性の各評価指標ごとに共分散分析を行い、二群間の効果の差を検定する。

3. QLF法によるエナメル質人工初期う蝕試料の脱灰および再石灰化に関する研究

分担研究報告 (1) に詳述。

4. QLF法による歯垢検出技術の評価に関する研究

分担研究報告 (2) に詳述。

5. 口腔内蛍光測定用のプローブ開発

分担研究報告 (3) に詳述。

6. 歯列不正と齲蝕との関連評価、臨床試験

分担研究報告 (4) に詳述。

C. 研究結果

1. 歯および歯垢の発する蛍光の分光的分析

蛍光分光分析により、歯の蛍光のピークは 460 nm 付近および 560 nm 付近にあることが明らかとなった。また、プロトポルフィリンの蛍光のピークは 600nm および 660nm 付近にあり、400nm 近傍の光によって励起されることがわかった (図 10)。

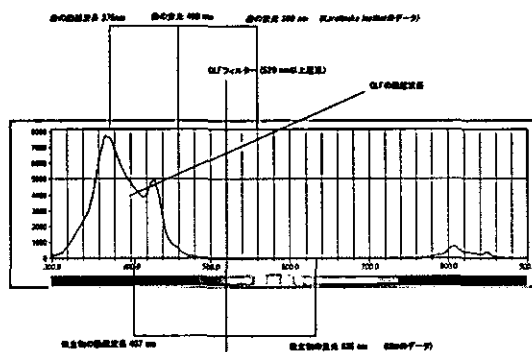


図 10 歯および歯垢の蛍光分光分析

2. QLF 法を応用した初期う蝕改善効果に関する臨床研究

1) 施設間交互作用の検討

①脱灰量 (以下 ΔQ 、単位は%・mm²) については、施設間交互作用は認められなかった (図 1 1)。

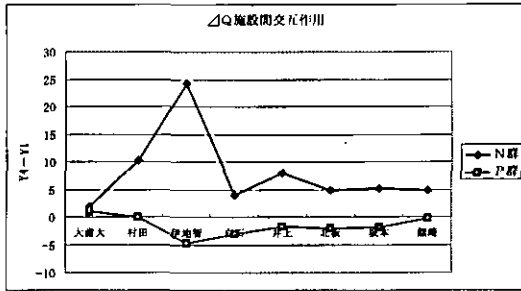


図 1 1 ΔQ 値の施設間交互作用

②最大深さ (以下 Max、単位は%) については、一部の施設で若干の交互作用は認められるが、全体としては施設間交互作用は認められなかった (図 1 2)。尚、検定結果は後述した。

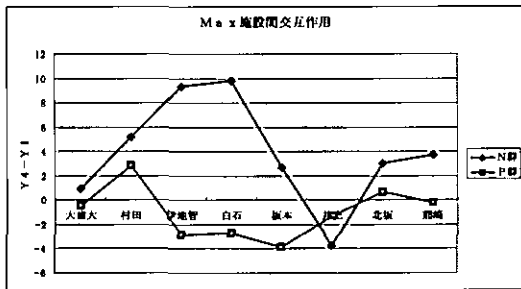


図 1 2 Max 値の施設間交互作用

2) 背景因子の検討

①背景因子について検定した結果、両群間の患者背景に有意差は認められず、偏りはなかった (表 1)。

②偏りを調整する必要のある因子は認められなかったことから、有効性の解析におけ

表 1 背景因子の検定結果

因子	検定法	p 値
性別	Fisher 正確検定	0.7305
年齢	Wilcoxon 検定 (正規近似)	0.2631
WS 数 (初診時)	Wilcoxon 検定 (正規近似)	0.1635
DMFT (初診時)	Wilcoxon 検定 (正規近似)	0.4780
歯垢付着の有無 (初診時)	Fisher 正確検定	0.8618
歯列不正の有無 (初診時)	Fisher 正確検定	1.00
咬合異常の有無 (初診時)	Fisher 正確検定	0.2032
歯周組織異常の有無 (初診時)	Fisher 正確検定	1.00
歯磨習慣の有無 (初診時)	Fisher 正確検定	0.4963
習慣性嗜好食品摂取の程度 (初診時)	χ^2 検定	0.6653
QLF 機種	Fisher 正確検定	0.8637
担当医	χ^2 検定	0.9970
診査場所	χ^2 検定	1.00

る共変量は、 ΔQ 及び Max の初回診査時データだけとした。

3) 解析方法

①検証的な解析方法として初回診査時データ (以下、Y1) と最終診査時データ (以下、Y4) による共分散分析とした。

4) データ分布

①対称性

△Q 及び Max の Y1 及び Y4 は、両群とも、変数変換しても正規分布ではない (Shapiro-Wilk の検定) が、共分散分析に於ける解析モデルの残渣の対称性を検討したところ、ほぼ対称であり、解析上問題は無いと考えられる。

②等分散性

下表の通り、等分散ではないがこのまま共分散分析を推進した (両群間の平均値の差を検討することが目的であり、分布の比較は重要でないため)。

③初期値 (Y1) の偏り

△Q 及び Max の何れも両群間の Y1 に有意差は認められなかった (表 2)。

表 2 初期値 (Y1) の偏り

特性値	検定法	p 値
△Q	Wilcoxon 検定 (正規近似)	0.3289
Max	Wilcoxon 検定 (正規近似)	0.7621

5) △Q 解析

①検証的解析

解析モデルを

$$Y4 = Y1 + \text{群} + e$$

とし、共分散分析を実施した。

その結果、共変量である Y1 及び群の p 値はともに $p < 0.0001$ であり、両群間に高度な有意差が認められ、フッ化物応用の有効性が立証された (図 1 3)。

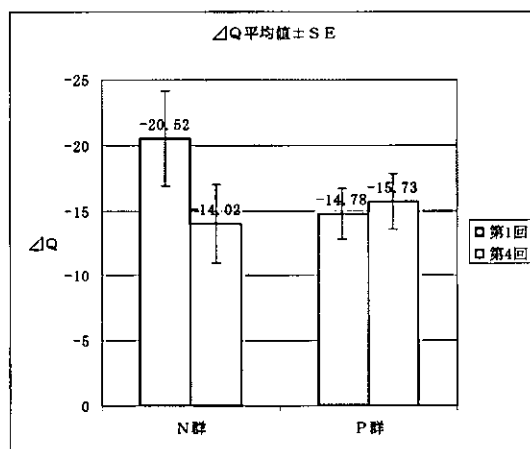


図 1 3 △Q の平均値

両群間のデータの分布 (図 1 4) から交互作用が予想された。

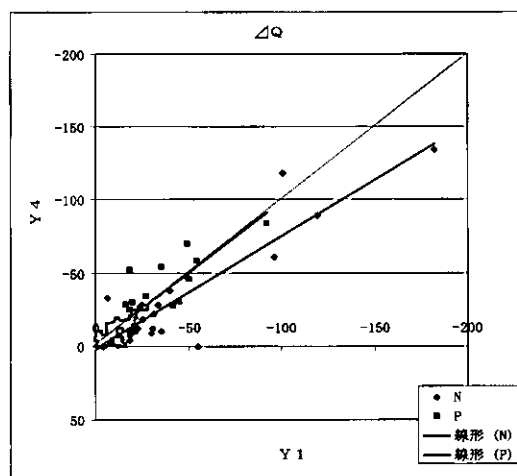


図 1 4 Y1 および Y4 群の △Q の分布

そこで、解析モデルを

$$Y4 = Y1 + \text{群} + Y1 \times \text{群} + e$$

として共分散分析を実施した。その結果、共変量である Y1、群及び $Y1 \times \text{群}$ の p 値はそれぞれ $p < 0.0001$ 、 $p < 0.0001$ 、 $p = 0.0065$ であり、両群間に高度な有意差が認められ、本解析に於いてもフッ化物応用の有効性が確認された。また、交互作用も認められるが、その効果 (平方和) は群の

効果の1/3程度のため、交互作用は有意であるが群の効果は十分に認められた。

②探索的解析 I

データの分布を対称にする目的で、データを3乗根 ($\sqrt[3]{Y}$) に変数変換したモデルで探索的に検討した。解析モデルを

$$[\sqrt[3]{Y_4} = \sqrt[3]{Y_1} + \text{群} + e]$$

として共分散分析を実施した。その結果、共変量である $\sqrt[3]{Y_1}$ 及び群の p 値はともに $p < 0.0001$ であり、両群間に高度な有意差が認められ、フッ化物応用の有効性が確認された (図15)。

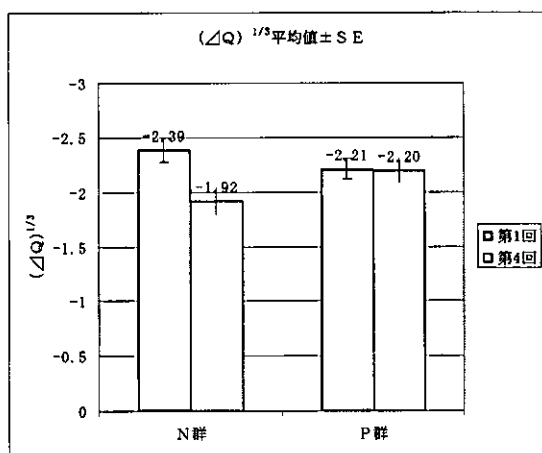


図15 (ΔQ)^{1/3} 平均値

また、共変量との交互作用を検討するため解析モデルを

$$[\sqrt[3]{Y_4} = \sqrt[3]{Y_1} + \text{群} + \sqrt[3]{Y_1} \times \text{群} + e]$$

として検討したが、交互作用は有意でなかった ($p=0.71$) (図16)。

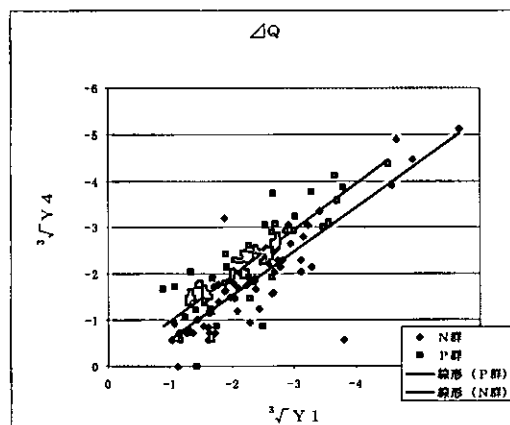


図16 ΔQ 共分散分析結果

③探索的解析 II

図13では、交互作用が認められるが、両群とも原点を通る直線の近傍に分布すると見なし、解析データを比 Y_4/Y_1 (傾き) で解析すれば、共変量 Y_1 の影響を消去できると推定した。

そこで、解析モデルを

$$[Y_4/Y_1 = Y_1 + \text{群} + e]$$

として、共分散分析を実施した。その結果 Y_1 は $p=0.84$ であったことから、 Y_1 の影響を消去できることが確認できた。そこで、改めて解析モデルを

$$[Y_4/Y_1 = \text{群} + e]$$

として、共分散分析を実施した。その結果、群の p 値は $p < 0.0001$ であり、両群間に高度な有意差が認められた (図17)。

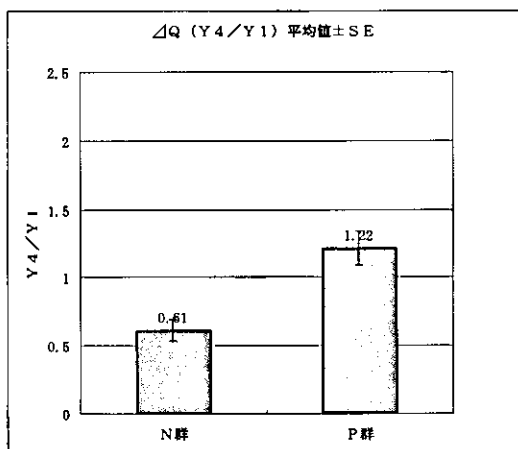


図17 ΔQ (Y4/Y1) 平均値

6) Max 解析

①検証的解析

解析モデルを「 $Y4 = Y1 + \text{群}$ 」とし、共分散分析を実施した。その結果、共変量である Y1 及び群の p 値はそれぞれ $p < 0.0001$ 及び $p = 0.0076$ であり、両群間に高度な有意差が認められ、フッ化物応用の有効性が立証された (図18)。

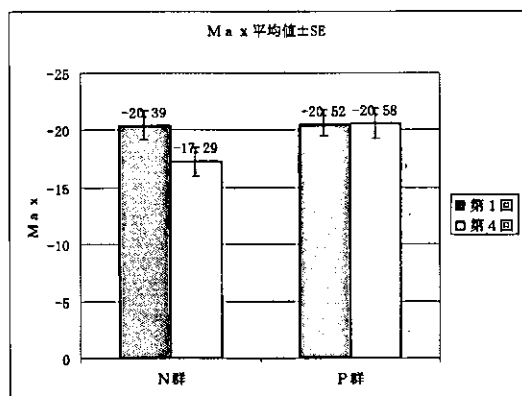


図18 Max 平均値

両群間のデータの分布 (図19) から若干の交互作用が予想された。そこで、解析モデルを

$$Y4 = Y1 + \text{群} + Y1 \times \text{群} + e$$

とし、共分散分析を実施した。その結果、

Y1、群及び Y1×群の p 値はそれぞれ $p < 0.0001$ 、 $p = 0.0074$ 、 $p = 0.13$ であり、両群間に高度な有意差が認められ、フッ化物応用の有効性が確認された。また、交互作用は認められなかったことから、Max の解析に於いては、比 (Y4/Y1) によるモデルで解析する必要は認められなかった。

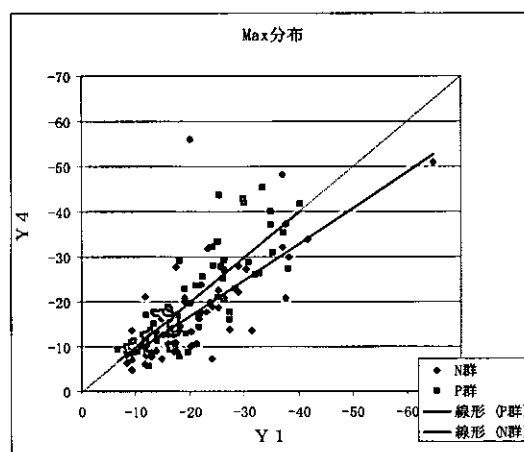


図19 Max の分布

②探索的解析

データの分布を対称にする目的で、Log に変数変換したモデルで探索的に検討した。解析モデルを

$$\text{「Log}Y4 = \text{Log}Y1 + \text{群} + e \text{」}$$

として、共分散分析を実施した。その結果、LogY1 及び群の p 値はそれぞれ $p < 0.0001$ 及び $p = 0.0013$ であり、両群間に高度な有意差が認められた (図20)。

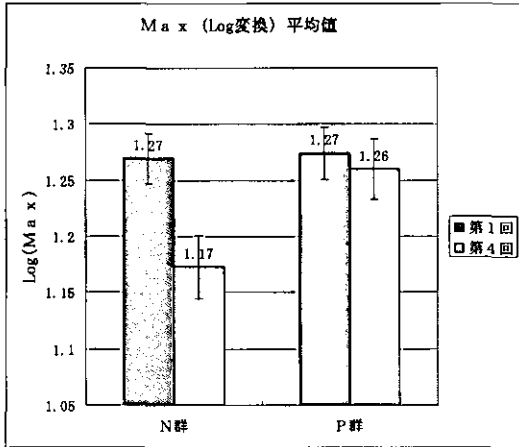


図20 Max (log変換) の平均値

共変量との交互作用を検討するため解析モデルを

「 $\text{Log}Y_4 = \text{Log}Y_1 + \text{群} + \text{Log}Y_1 \times \text{群} + e$ 」
として、共分散分析を実施した。その結果、
交互作用は有意ではなかった ($p=0.99$)
(図21)。

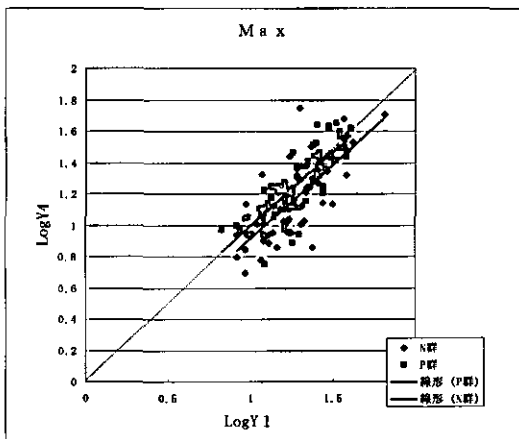


図21 Max 共分散分析結果

7) 施設間交互作用

共分散分析により下記のモデルで交互作用を検討した(表3)。その結果、全てのモデルで交互作用が認められなかった。

表3 施設間交互作用共分散分析

特性値	解析モデル	交互作用 p 値
ΔQ	① $Y_4 = Y_1 + \text{群} + \text{施設} + \text{群} \times \text{施設} + Y_1 \times \text{群} + e$	0.4984
	② $\sqrt[3]{Y_4} = \sqrt[3]{Y_1} + \text{群} + \text{施設} + \text{群} \times \text{施設} + e$	0.9694
Max	③ $Y_4 = Y_1 + \text{群} + \text{施設} + \text{群} \times \text{施設} + e$	0.3543
	④ $\text{Log}Y_4 = \text{Log}Y_1 + \text{群} + \text{施設} + \text{群} \times \text{施設} + e$	0.3833

3. QLF法によるエナメル質人工初期う蝕試料の脱灰および再石灰化に関する研究
分担研究報告(1)に詳述。

4. QLF法による歯垢検出技術の評価に関する研究
分担研究報告(2)に詳述。

5. 口腔内蛍光測定用のプローブ開発
分担研究報告(3)に詳述。

6. 歯列不正と齶蝕との関連評価、臨床試験
分担研究報告(4)に詳述。

D. 考察

1. 歯および歯垢の発する蛍光の分光的分析

歯の蛍光に関しては Kalorinska 研究所等の報告している値とほぼ近似した値が得られ、QLF 法によって歯の蛍光が観察が可能であることが明らかとなった。

一方、プロトポルフィリンの蛍光に関しては、口腔内微生物である *Actinomyces odontolyticus*、*Prevotella intermedia*、*Pseudomonas aeruginosa*、*Candida albicans*、*Corynebacterium* などが発する蛍光のピークとほぼ同じ値が得られ、歯垢の典型的な蛍光ピークが QLF 法によって観察可能であることが明らかとなった。

2. QLF 法を応用した初期う蝕改善効果に関する臨床研究

二つのエンドポイント（脱灰量、最大蛍光減少値）に関し、最終十二ヵ月後における初回からの変化量を解析した結果、いずれの場合も対照群では統計的に有意な差を認めなかったが、フッ化物応用群では高度の有意さをもって、初期う蝕の改善が認められた（図 2 2、2 3）。

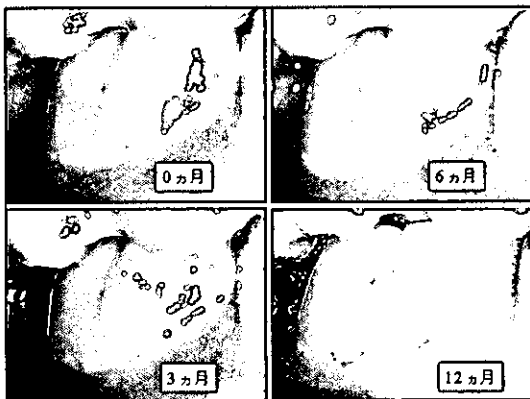


図 2 2 初期う蝕の進行を示す口腔内写真

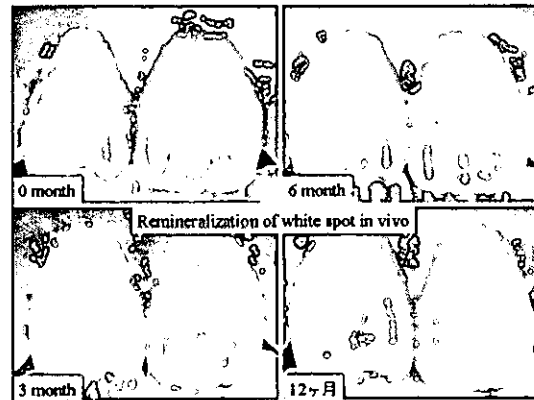


図 2 3 初期う蝕の改善を示す口腔内写真

QLF 法を用いた臨床研究の結果から、介入を行わない自然状態での初期う蝕の一年間の推移は、う蝕が進行したものは 49.5%、う蝕が回復（再石灰化）したものは 41.5% であった。回復（再石灰化）を示した初期う蝕が半数もあり、いままでほとんど定量的な検討が行われてこなかった口腔内の自然回復能の高さが示されたことは大きな意義を持つと考えている。

一方、フッ化物を歯磨剤の内容物として応用した群では、一年間で 71.5% の回復を示した。これまで報告されてきたフッ化物配合歯磨剤のう蝕抑制効果は 30~40% であったことと比較すると非常に高いう蝕抑制率であった。う蝕検出を視診で行ってきた方法と QLF 法の定量化によるう蝕検出との精度の違いが示されたものと考えている。

3. QLF 法によるエナメル質人工初期う蝕試料の脱灰および再石灰化に関する研究 分担研究報告（1）に詳述。

4. QLF 法による歯垢検出技術の評価に関する研究

分担研究報告（2）に詳述。

5. 口腔内蛍光測定用のプローブ開発

分担研究報告（3）に詳述。

6. 歯列不正と齲蝕との関連評価、臨床試験

分担研究報告（4）に詳述。

E. 結論

in vitro study と clinical study との両面から QLF 法による研究を行った結果、以下の点が明らかとなった。

1. In vitro study

1) QLF 法の照射光の波長特性、エナメル・象牙境界部の励起光特性の検討を行い、400nm 前後の紫外光でエナメル質内の蛍光物質が励起することを明らかにした。

2) 低濃度フッ化物（1 ppmF）による初期人工表層下脱灰の再石灰化に及ぼす影響を検討し、低濃度フッ化物が再石灰化に有効であることを QLF 法により明示できることを確認し、初期表層下脱灰の脱灰程度により再石灰化への動態に相違があることを明らかにした。

3)「QLF で使用される励起光波長や蛍光波長の光を吸収すると同時に疾患部分に吸着するプローブの開発は QLF 法を拡張してさらに極初期疾患発見の可能性をもたらす」との考えから実験系を模索した結果、プローブとして極めて初期の齲蝕部位に結合する微粒子の開発は今後この方法を飛躍的に有用にする可能性があるとの感触を得

た。

2. Clinical study

1) フッ素配合歯磨剤の初期齲蝕に及ぼす影響を1年間にわたり検討し、非フッ素配合歯磨剤群の初期齲蝕が1年後に進行するものと再石灰化を示すものが半々であること、フッ素配合歯磨剤により初期齲蝕が70%再石灰化をすることを明確にした。

2) QLF 法の応用により歯垢の付着面積における定量的評価が可能であることが明らかとなった。さらに、QLF 法の応用により個人の歯垢の成熟度および蓄積速度の差異という定性的評価が可能であることが明らかとなった。このことから個人の口腔清掃状態の評価に QLF 法が応用できる可能性が示唆された。

3) 臨床現場への QLF 法の応用では、各歯面（平滑面・隣接面・咬合面・根面）の初期齲蝕への QLF 法の応用の可能性、各年齢群・症例（矯正患者、義歯装着患者など）への応用、齲蝕治療への応用等に分け、症例を蓄積中である。

4) 歯列不正と咀嚼機能障害の関連評価に関しては、本年度議論を重ね具体的研究計画の作成を作成した。

F. 健康危険情報

研究の結果、得られた成果の中で健康危険情報として厚生労働省に報告すべき点はみられなかった。

G. 研究発表

1. 論文発表

上村参生, 神原正樹. 早期う蝕診断への機器応用の必要性. 日本歯科評論 63 (6) : 161-165 ; 2003.

神原正樹. 予防歯科へのテクノロジー—齶蝕予防における早期う蝕診断—. 日本歯科医師会雑誌 56 (7) : 611-618 ; 2003.

Yang B, Furusawa K, Matsumura H. Adsorption state of PC vesicles on solid colloidal particles and their aggregation behavior induced by the PC vesicle. *Langmuir* 19 : 9023-9027 ; 2003.

Furusawa K, Matsumura H, Majima T. Characterization of silica coated hematite and application to the formation of composite particles including PC liposomes. *J Colloid Interface Sci.* 264 : 95-100 ; 2003.

松村英夫. リポソーム含有複合微粒子. 植田充美編. ナノバイオテクノロジーの最前線. シーエムシー, 東京. 2003 ; 71-76.

上村参生, 神原正樹. 早期う蝕診断装置「QLF」の実力. *Dental Diamond* 29 (1) : 72-75 ; 2004.

Kambara M, Uemura M, Izu M, Tanaka H, Nakashima S. Effect of

dentifrice containing fluoride on incipient caries using QLF method. *Dentistry in Japan* 40 : 83-84 ; 2004.

2. 学会発表

高島隆太郎, 川崎弘二, 神原正樹. エナメル質表層化脱灰試料の作製に及ぼす脱灰溶液の影響. 歯科基礎医学会雑誌 45 (5) : 297 ; 2003.

上村参生, 三宅達郎, 土居貴士, 上根昌子, 日吉紀子, 長沼 健, 松山和正, 中嶋省志, 金子憲司, 神原正樹. QLFを用いた初期う蝕に及ぼすフッ素配合歯磨剤の影響について. 口腔衛生学会雑誌 53 (4) : 336 ; 2003.

坂本吉史, 上村参生, 神原正樹. In vivoにおけるQLFによる早期う蝕診断に関する研究—初期う蝕病巣の定量評価について—. 口腔衛生学会雑誌 53 (4) : 374 ; 2003.

川崎弘二, 高島隆太郎, 上村参生, 安達 郁, 吉田邦晃, 石川博敏, 神原正樹. エナメル質初期脱灰試料作製法に対するQLF観察. 口腔衛生学会雑誌 53 (4) : 376 ; 2003.

中嶋省志, 齊藤浩一, 藤川晴彦, 氏家高志, 上村参生, 中矢健二, 薬師寺健太郎, 伊津元博, 田中秀直, 神原正樹. QLF法によるフッ素歯磨剤の初期う蝕改善効果に関する臨床研究 第一報: 初期う蝕の改善効果. 口腔衛生学会雑誌 53 (4) : 384 ; 2003.

大塚秀人, 三宅達郎, 神原正樹. In vivo
における QLF による早期う蝕診断に
関する研究 - 初期う蝕病巣の一年間
の追跡結果について -. 口腔衛生学会
雑誌 53 (4) : 468 ; 2003.

高島隆太郎, 川崎弘二, 神原正樹. エ
ナメル質人工初期う蝕の再石灰化に対
する QLF 観察. Cariology Today
in Japan. The 4th Workshop in
Osaka Program& Abstracts 4 : 10 ;
2003.

Uemura M, Kambara M. Early
detection of dental caries with new
clinical technologies. Japanese
Association for Dental Research.
51st Annual Meeting Program and
Abstracts of Papers 51 : 71 ; 2003.

Uemura M, Miyake T, Uene M,
Okumura N, Yakushiji K, Izu M,
Tanaka H, Nakashima S, Saito K,
Kambara M. Clinical study of
fluoride dentifrice on
remineralization of incipient lesions.
Journal of Dental Research
83 (Special Issue A) : Seq#95 0799 ;
2004.

Takashima R, Kawasaki K,
Kambara M. The effect of fluoride to
remineralization of incipient enamel
lesion. Journal of Dental Research
83 (Special Issue A) : Seq#220 2040 ;

2004.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
特になし (計画中)

2. 実用新案登録
特になし

3. その他
特になし