

# 被験者の皆様への説明書

## I. はじめに

この歯磨き剤「NSK-3歯磨剤」の試験について説明させていただきます。この説明書の内容を十分にご理解いただいたうえで、この試験に参加するかどうかを、あなたの自由な意思で決めてください。試験に参加していただける場合は、同意書への署名（サイン）をお願いいたします。

## II. なぜこの試験は必要か

新しい歯磨き剤の開発の最終段階では、多くの方々にご協力を頂いて、その歯磨き剤の効きめ（有効性）を調べることと安全性に問題のないことを確認するための試験（臨床試験）が必要とされています。この試験のことを治験といいます。今回の試験は、新しい歯磨き剤を使った治験です。歯の健康にとってより良い新しい歯磨き剤を開発するためには、皆様のご理解とご協力が是非とも必要となります。

## III. 治験の概要

### 1. 治験の目的

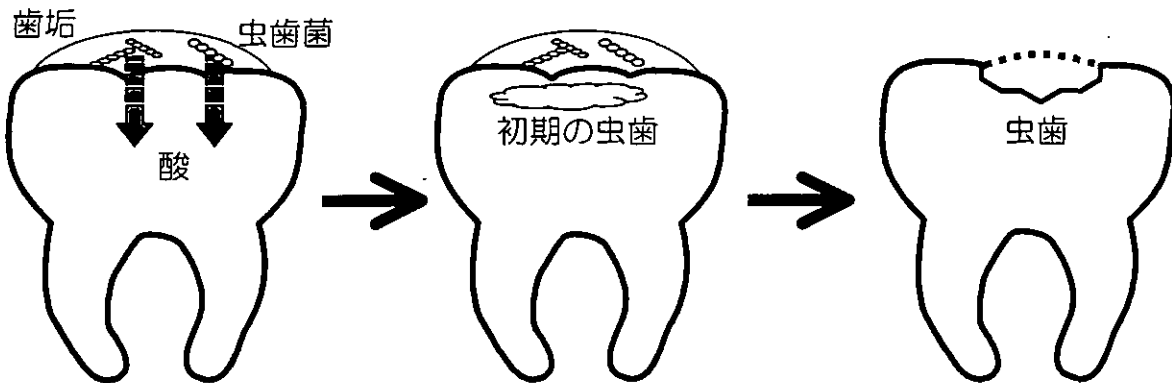
この治験の目的は、「初期の虫歯の修復」に対するNSK-3歯磨剤の効きめ（有効性）を調べることと安全性に問題のないことを確認することです。

### 2. 予測される効果

この歯磨き剤は、初期の虫歯を治す（修復）効果があると期待されています。

### 3. 初期の虫歯とは何か

下の図は、虫歯ができる様子を一部を拡大して示しています。



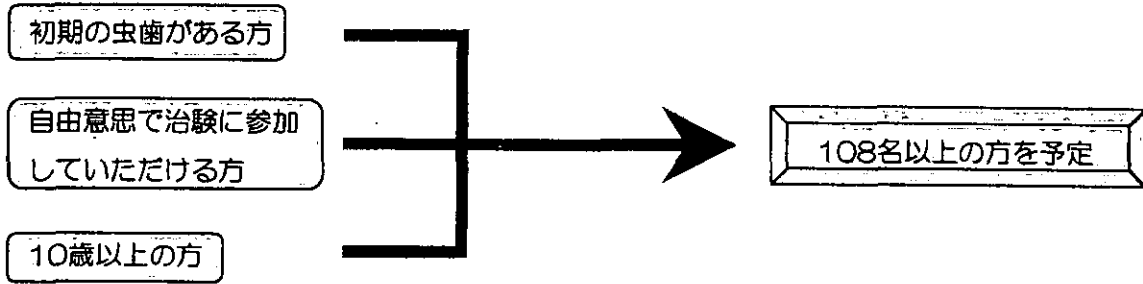
- ・虫歯の原因は、歯垢（しこう）の中の虫歯菌がつくる酸です
- ・酸が歯の中にしみ込んで、まず歯の中を溶かす

- ・歯に穴はあいていない
- ・歯の表面が白くなる

初期の虫歯を放置しておくとそれが進行して歯に穴があく

歯に穴があく前に適切に予防処置をすれば、初期の虫歯は治る可能性が高いことがわかってきました

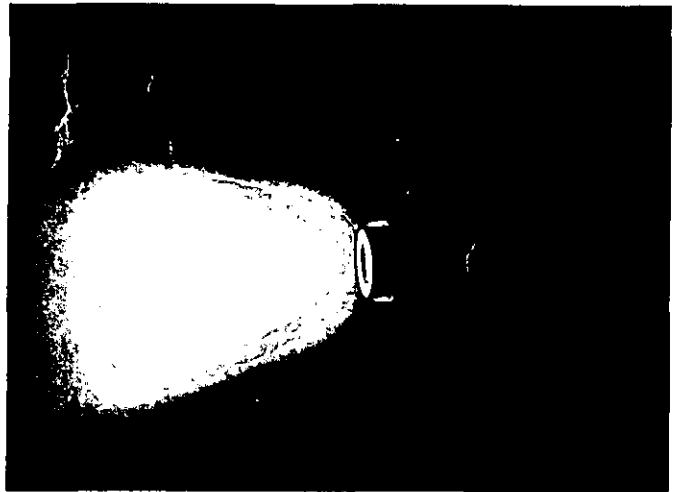
（1）治験参加者



（2）治験の参加者を決める方法

簡単な診査（痛みなどはともないません）

- ①歯の中にできた目に見えない初期の虫歯を調べるために、歯に青い光を当て、専用カメラで撮影します
- ②その他にお口の中の状態を調べます



↓

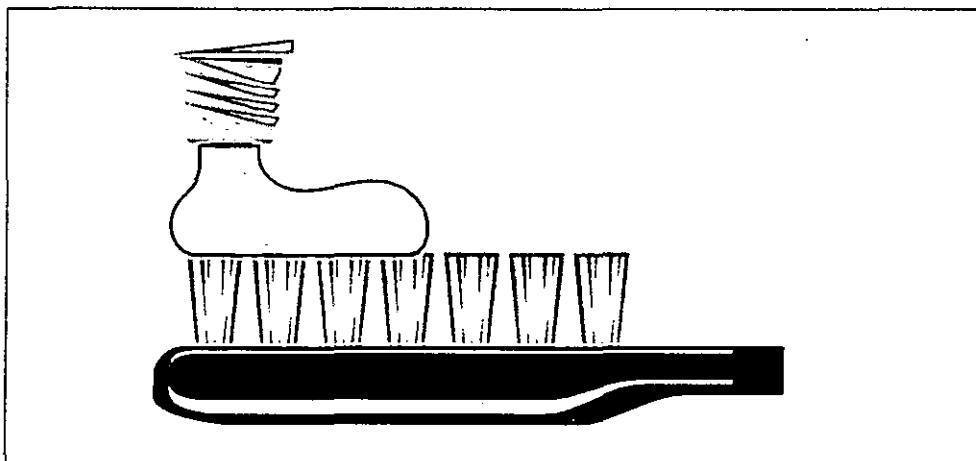
治験の対象となる初期の虫歯がある歯を決めます

↓

その部位の写真を撮影します

診査の結果、今回の治験の対象とならないこともあります。その場合はご了承ください。

（3）お渡しする歯磨き剤と歯ブラシをお使いください。歯磨き剤を歯ブラシの長さの約半分位とり、1日2回（朝と夜）歯磨きしてください。これを1年間使用していただきます。

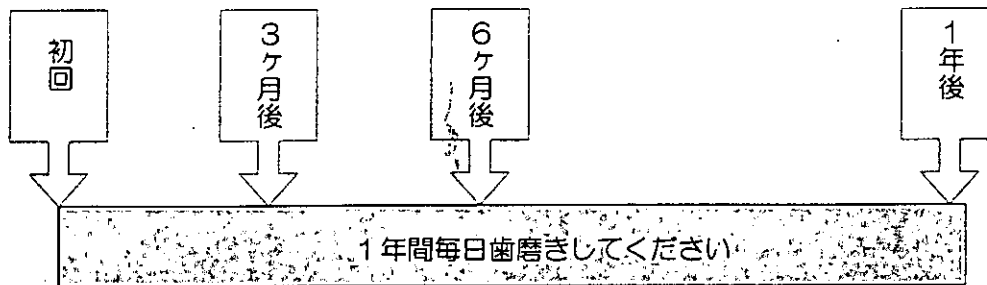


(4) この歯磨き剤の効きめを調べるために、初期の虫歯の修復に対する効果が期待される有効成分を含む歯磨き剤、またはそれを含まない歯磨き剤(\*)のどちらか一方を使用していただきます。それがどちらであるかは、私(歯科医師)にも皆さんにもわからないようになっています。これを二重盲検法といい、治験では広く行なわれている方法です。

\*:この歯磨き剤は、歯及び口腔内を清掃することにより虫歯を防ぐ効果があります。

(5) 治験への参加予定期間は1年間です。この歯磨き剤の使用期間中、3ヶ月後、6ヶ月後、1年後に来ていただきます。その際に行うことは次の通りです。

①歯科医師によるお口の中の診査と問診 ②初期の虫歯の状態の診査と写真撮影



(6) 使用済みの歯磨き剤と歯ブラシは捨てないでください。また、次回以降の診査時には、使用・未使用にかかわらず、お渡ししたビニールバッグに入れて持参してください。新しいものと交換します。

(7) 今回の治験に参加していただける場合、来院毎に交通費として、一律3000円をお支払い致します。また、お口の中を診査しただけで、治験の対象とならなかった場合でも、交通費として3000円をお支払い致します。なお、この治験期間中に、治験のために行なわれる診査や問診に関して皆さんの金銭的な負担はありません。

## 5. 安全性

この歯磨き剤に含まれる成分は、動物を用いた安全性試験等で安全であることが確かめられています。

## 6. 予測される不利益

万が一、お口の中がヒリヒリするなどの不快な症状が起った場合は、治験責任歯科医師又は治験分担歯科医師にすぐに連絡してください。必要に応じて適切な処置を行います。

## 7. 治験期間中の注意事項

(1) 以下の事項は、結果に影響しますので、必ず守ってください。

- 1) お渡しした歯磨き剤と歯ブラシ以外の市販の歯磨き剤や歯ブラシ、洗口剤等は一切使用しないでください。
- 2) 歯科医師によるフッ素歯面塗布、対象となる歯の治療、プロフィペーストによる歯面清掃、スクーリング等はしないでください。もし、これらを行ないたい場合は、治験責任歯科医師又は治験分担歯科医師に連絡して相談し、その指示に従ってください。
- 3) お渡しする歯磨き剤は、ご本人以外は絶対に使用しないでください。兄弟姉妹で、治験に参加される場合は、間違いなく自分の歯磨き剤を使用するようにしてください。

- (2) 何らかの理由（歯の痛み、歯が抜けた、歯が折れた等）で、歯科医院に行きたい場合は、治験期間中いつでも構いませんので、治験責任歯科医師又は治験分担歯科医師に連絡してください。
- (3) 使用上の注意
- 1) お口のまわりの傷などに直接つけないでください。
  - 2) 発疹などの異常が現れたときは使用を中止し、すぐに治験責任歯科医師又は治験分担歯科医師に連絡してください。

#### 8. 初期の虫歯の処置に対して有効な他の方法

歯科医院で行なわれるフッ素塗布等の方法に同様の効果が期待されています。

#### 9. 安全性に関わる中止基準

治験期間中に以下の項目に該当した場合は、この治験を直ちに中止します。

- (1) 治験の継続が困難な程度に口腔内に異常が発現した場合
- (2) 発疹などの異常が発現した場合
- (3) 被験者又は代諾者から同意が撤回された場合
- (4) 歯科医師によるフッ素歯面塗布等の歯磨き剤の有効性を判断できなくなるような処置等を行った場合
- (5) 抜歯、保存治療等で対象となる歯の有効性の評価が不可能になった場合
- (6) その他、治験責任歯科医師又は治験分担歯科医師が継続困難と判断した場合



#### IV. あなたの人権保護への配慮

1. この治験で大切なことは、皆さんの人権と安全を最大限に守ることとこの治験を正しく行うことです。治験には、「医薬品の臨床試験の実施の基準」（GCP省令）と呼ばれる大変きびしいルールがあります。我々歯科医師はそれに基づいて治験を行います。
2. この治験への参加に同意するかどうかは、あなたやあなたの保護者の方の自由です。この治験に参加することに同意した後でも、治験期間中いつでも、この治験への参加をやめることができます。
3. 治験への参加に同意されない場合、又は治験の途中で参加をやめた場合でも、そのために不利な扱いを受けることは、一切ありません。
4. この治験の計画内容については、皆さんの人権を守るために大阪歯科大学附属病院の治験審査委員会で、倫理性や科学性が審議され、承認されています。
5. あなたがこの治験を継続することに関して、重要と考えられる新しい情報が得られた場合には、速やかにお知らせします。

6. あなたのプライバシーを守るために、最大限の注意を払います。そのうえで、GCP省令のルールに従い、治験がきちんと行われているかどうかを調べるために、治験の関係者（モニター、監査担当者、治験審査委員会、規制当局）によって、原資料（あなたのカルテ、同意書等）を調べることがありますが、あなた個人の情報は完全に秘密とされます。また、この治験の結果が、学術論文や厚生労働省へ提出する資料の一部として公表されることがありますが、あなたの住所、氏名、電話番号等の個人情報は、公表されることは絶対ありません。
7. この治験期間中又は終了後、お渡しする歯磨き剤の使用により、万が一、何らかの不快感、あるいは健康上の問題が生じたと思われる場合には、適切な治療を行います。また、それに関して補償を受けることができます。
8. この治験やあなたの権利に関する質問がある場合、又は前記のようにこの治験により、何らかの不快感、あるいは健康上の問題が生じた場合には、治験責任歯科医師又は治験分担歯科医師にお尋ねください。

#### V. 最後に

担当歯科医師からこの治験に関する内容の説明を聞かれたことと思います。何か不明なところや分かりにくかったところがありましたら、何でも遠慮なく担当歯科医師に質問してください。

治験に参加していただける場合、20歳未満の方は、保護者等の代諾者の方が同意書に署名（サイン）と日付を記入してください。この場合、可能であればご本人も署名（サイン）と日付を記入してください。また、20歳以上の方は、ご本人が同意書に署名（サイン）と日付を記入してください。

治験責任歯科医師：神原 正樹

大阪歯科大学口腔衛生学講座 教授 tel 072-864-3019

大阪歯科大学附属病院予防歯科 科長 tel 06-6943-4184

治験分担歯科医師：上村 参生

大阪歯科大学口腔衛生学講座 講師 tel 072-864-3059

大阪歯科大学附属病院予防歯科 tel 06-6910-1047

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

分担研究者 川崎 弘二 大阪歯科大学口腔衛生学講座助手

研究要旨

ヒトエナメル質鏡面研磨／非鏡面研磨エナメル質試料と二種類の脱灰溶液を用い、得られるエナメル質人工表層下脱灰の違いについてQLF（Quantitative Light-induced Fluorescence）法を用いて、検討を行った。さらに、初期う蝕低脱灰試料群および、初期う蝕高脱灰試料群を作製し、異なるフッ素イオン濃度（0 ppm F、0.1 ppm F、1 ppm F）の再石灰化溶液に3～15日間浸漬し、再石灰化の過程をQLF法により観察した。今回のin vitro研究においては、鏡面研磨試料を用いると、溶液の組成にかかわらず安定したエナメル質表層下脱灰試料が得られること、再石灰化溶液中の1 ppm Fフッ素イオンが低脱灰群に対してとくに再石灰化を促進していること、QLF法はエナメル質試料における脱灰／再石灰化観察に有用であることがわかった。

A. 研究目的

in vitroでエナメル質人工表層下脱灰試料を作製する場合、試料として用いるエナメル質の性状や脱灰溶液の組成などの違いにより、得られるエナメル質表層下脱灰の程度に差が見られ、一定のエナメル質表層下脱灰試料が得られていない。また、得られたエナメル質人工表層下脱灰試料の脱灰程度の違いや再石灰化溶液の違いにより、再石灰化の過程に差が見られる。すなわち、個人の齲蝕罹患傾向に基準を設け、それぞれの基準に最適な予防処置システム構築のための基盤を確立するための基礎的情報が十分に得られていないのが現状である。

初期う蝕の脱灰程度を非破壊的に観察する手段としてQLF（Quantitative Light-induced Fluorescence）法がある（図

1）<sup>1～3）</sup>。QLF法はエナメル象牙境付近に多く存在するといわれる蛍光物質を利用し、歯に励起光を照射して得られる自家蛍光のうち、健全部と初期う蝕部の蛍光強度差をもとに初期う蝕を検出し、コンピュータに取り込んだうえで画像処理を行い、初期う蝕を定量的に分析する方法である。初期う蝕の形態学的な観察におけるゴールド・スタンダードとしてマイクロ・ラジオグラフ（MR）法がある<sup>4）</sup>。MR法における初期う蝕部のミネラル喪失量とQLF法における健全部と初期う蝕部の蛍光強度差には、強い相関（ $R = 0.97$ ）があることが報告されている<sup>1）</sup>。

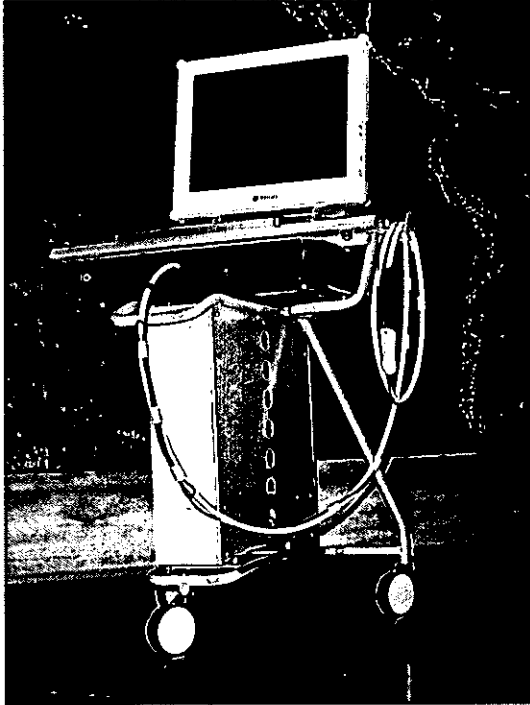


図1 QLFシステム

本研究ではQLF法を用い、得られた鏡面研磨／非鏡面研磨エナメル質試料と、二種類の脱灰溶液を用い、得られるエナメル質人工表層下脱灰の違いについて検討を行った。さらに、QLF法を用い、エナメル質人工表層下脱灰試料の脱灰程度と再石灰化溶液におけるフッ素濃度がエナメル質人工表層下脱灰試料の再石灰化に及ぼす影響を調べた。

## B. 研究方法

### エナメル質試料

鏡面研磨エナメル質試料（以下鏡面試料と略）については、着色や白斑のないヒト抜去上顎中切歯から、ダイヤモンドドリルを用い、流水下で直径4mmのエナメル質

ディスクを取り出した。ディスクの表面は、耐水ペーパー（#600 および#1,000）およびゲル状研磨剤（gamma alumina, 0.05 $\mu$ m）で90分間鏡面研磨した後、15分間超音波洗浄し、鏡面試料を作製し、脱灰させる部位以外を透明マニキュアで被覆した。

非鏡面研磨エナメル質試料（以下非鏡面試料と略）については、着色や白斑のないヒト抜去上下顎第一小白歯を、JETポリッシャーおよびロビンソンブラシにより歯面清掃して作製し、脱灰させる部位以外を透明マニキュアで被覆した。

### 脱灰溶液および脱灰試料の作製

鏡面／非鏡面試料をA液（CaCl<sub>2</sub>; 3mM、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 10mM、NaCl; 100mM、乳酸; 100mM、pH 4.5）、B液（50%飽和ハイドロキシアパタイト、0.2%水溶性レジン、乳酸; 50mM、pH 5.0）それぞれの脱灰溶液に対し、3、6、12、24、48、72時間浸漬したのち、蒸留水で洗浄し、脱灰試料を作製した。

### 表層下脱灰エナメル質の測定

表層下脱灰程度の測定は、QLF（Quantitative Light-induced Fluorescence）法により行った。システムとしてのQLFはInspekter Research Systems社製（オランダ）を使用した。

健全エナメル質に対し95%以下の蛍光を発する部分を表層下脱灰とする条件で、平均蛍光強度（ $\Delta F$ ）の減少程度の解析を行った。

### 表層下脱灰エナメル質の再石灰化測定

鏡面試料を脱灰溶液A液に任意の時間浸

漬した。得られた初期う蝕試料を QLF 法にて観察し、低脱灰初期う蝕試料群（低脱灰群）と高脱灰初期う蝕試料群（高脱灰群）に分けた。

初期う蝕試料はフッ素の入っていない（以下 0 ppm F とする）再石灰化溶液と 2 種類の異なるフッ素濃度（0.1 ppm F, 1 ppm F）の再石灰化溶液（100 mM：塩化ナトリウム, 5 mM：リン酸一カリウム, 1.5 mM：塩化カルシウム, 20 ppm：カゼイン, 0.2%：アジ化ナトリウム, フッ化ナトリウム, pH: 6.5）に浸漬し, 3 日ごとに 15 日間 QLF 法による観察を行った。

### QLF 法

QLF 法は光をエナメル質に照射し、励起される蛍光を CCD カメラを介しコンピュータに取り込み画像解析を行うシステムである。健全なエナメル質では、歯の内部から発せられる蛍光がエナメル小柱を通り外部に達するため歯の表面に蛍光が観察できる。表層下脱灰のあるエナメル質においては、蛍光が表層下脱灰部で乱反射を起こし、外部に達する蛍光が減少する。その結果、表層下脱灰部は暗く見える（図 2）。

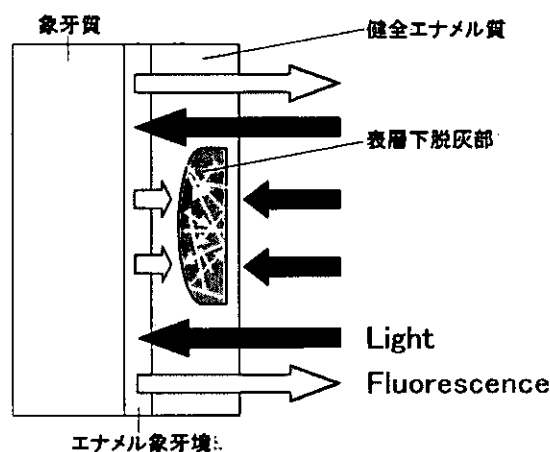


図 2 表層下脱灰部を検知する仕組み

観察される蛍光量の減少程度と、エナメル質表層下脱灰部のミネラル減少度の間には相関関係が示されており<sup>1)</sup>、蛍光量の減少度によりエナメル質表層下脱灰部の状態を定量化することができる。

QLF 法による初期う蝕脱灰程度の評価には、 $\Delta F$  (%)（健全部に対する初期う蝕病変部の平均蛍光強度減少率）<sup>3)</sup>、Area ( $\text{mm}^2$ )（検出した初期う蝕病変部の面積）<sup>3)</sup>、 $\Delta Q$  ( $\Delta F$  を Area に乗じたもので初期う蝕病変部全体の蛍光減少量を示す)<sup>5)</sup> という 3 つの指標が用いられている。表層下脱灰部の蛍光量を平均した値である  $\Delta F$  は、脱灰部位を評価する際の指標として用いられる。



図 3 エナメル質試料の表層下脱灰に伴う QLF で得られる画像の経時的変化

## C. 研究結果

### 表層下脱灰エナメル質観察

QLF 法による観察を行ったところ、脱灰溶液に 72 時間浸漬した試料における  $\Delta F$  の値は、鏡面試料では約 -35% であり（図 2、●および○）、非鏡面試料では約 -17% であった（図 2、◆および◇）。

また、72 時間以前の浸漬時間であっても、すべての浸漬時間で鏡面試料の方が  $\Delta F$  の減少程度は大きかった。すなわち鏡面試料においては、非鏡面試料に比べ、平均蛍光



強度の減少程度は大きかったことが分かった。

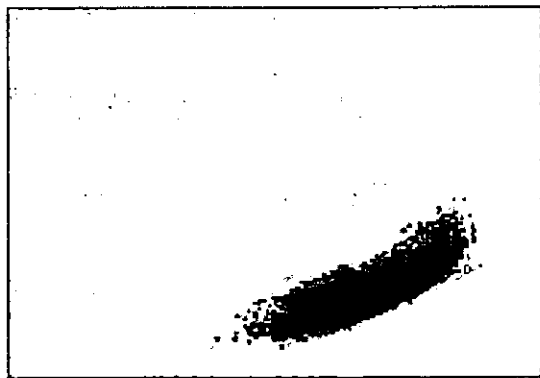
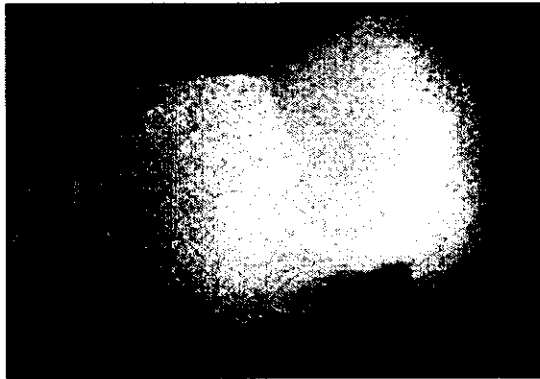


図4 QLF法によるエナメル質表層下脱灰画像解析

鏡面試料も非鏡面試料も浸漬時間が24時間以下では、サンプルごとのばらつきにそれほど差は見られないが、それ以降の浸漬時間では、鏡面試料の脱灰程度のばらつきは大きな変化がみられないのに比べ、非鏡面試料の脱灰程度のばらつきはさらに拡大していく傾向が観察された。

鏡面試料における平均蛍光強度の経時的な減少は、A液では浸漬12時間から24時間の間で大きく変化し(●)、その後の変化は比較的平坦であった。B液では浸漬12時間以降は直線的に減少した(○)。しかし、非鏡面試料では脱灰溶液ごとの違いは観察

されなかった。

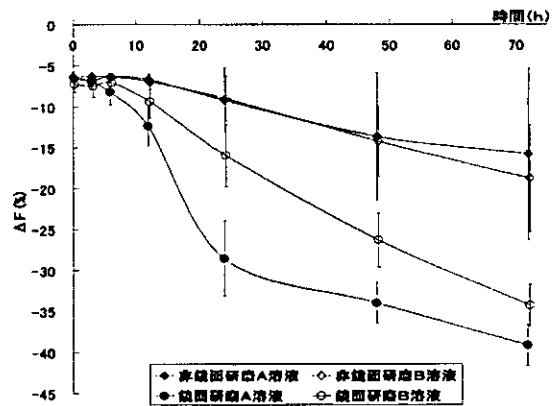


図2 エナメル質試料の表層下脱灰に伴う $\Delta F$ の経時的変化

#### 表層下脱灰エナメル質の再石灰化観察

QLF法による観察を行ったところ、0 ppm F 群においても全ての試料に再石灰化を認めた。0 ppm F 群における再石灰化溶液浸漬15日後の回復率は低脱灰群52%、高脱灰群44%、0.1 ppm F 群では低脱灰群39%、高脱灰群48%であり、両群で有意な差は認められなかった。

1 ppm F 群の再石灰化溶液浸漬15日後の回復率は低脱灰群84%、高脱灰群63%であり、1 ppm F 群の低脱灰群の回復率は0.1 ppm F 群よりも有意に高かった ( $p < 0.05$ ) (図3、4)。

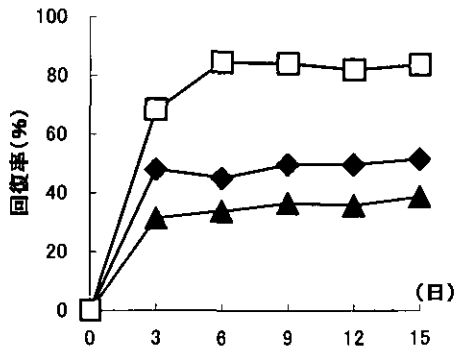


図3 回復率の変化 (低脱灰群)

(□ 1 ppm F、▲ 0.1 ppm F、  
◆ 0 ppm F)

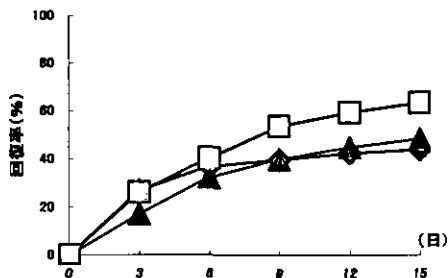


図4 回復率の変化 (高脱灰群)

(□ 1 ppm F、▲ 0.1 ppm F、  
◆ 0 ppm F)

#### D. 考察

##### エナメル質表面性状および脱灰溶液の違いによる表層下脱灰エナメル質の脱灰程度の差異について

鏡面試料において脱灰程度が大きかった理由は、鏡面研磨操作によりエナメル質最表層が200～400 μm取り除かれることにより比較的均質な構造のエナメル質が得られ、脱灰溶液に含まれる酸の影響を受

けやすくなったことによると考えている。また鏡面試料でサンプルごとのばらつきに大きな差は見られなかった理由も、比較的均質な構造のエナメル質が得られたことに起因していると考えている。

鏡面試料において脱灰溶液ごとの違いが観察された理由は、A液の方がpHが低いこと(A液:pH 4.5、B液:pH 5.0)、B液には水溶性レジンが添加されており、溶液に粘性があるためミネラル分の溶出がA液よりゆるやかである可能性があることなど、それぞれの溶液の特徴が反映されたものと考えている。

##### エナメル質人工表層下脱灰試料の脱灰程度と再石灰化溶液におけるフッ素濃度がエナメル質人工表層下脱灰試料の再石灰化に及ぼす影響

唾液中または菌垢中の低濃度フッ素イオンが十分に初期う蝕の再石灰化を促進するという多くの報告<sup>6~10)</sup>から、脱灰/再石灰化における低濃度フッ素イオンの存在の重要性が強調されてきている。しかしながら、再石灰化を促進するフッ素イオン濃度の値は個人のう蝕罹患性や、炭水化物摂取に伴う菌垢中pHの低下度の違いにより異なる<sup>6)</sup>との報告がなされており、再石灰化の促進に適切なフッ素イオン濃度について統一した見解が得られていないのが現状である<sup>11、12)</sup>。

フッ素イオン含有の再石灰化溶液を用いたin vitro研究では溶液中フッ素イオン濃度が1 ppm Fで再石灰化を促進することが報告されており<sup>13、14~17)</sup>、本研究の結果はこれらの報告と一致する。しかし、本研究においては0.1 ppm F条件下で再石灰

化が促進されなかった。これまでに、0.03 ppm F条件下で再石灰化が促進された<sup>18)</sup>との報告がある一方、0.2 ppm F条件下では再石灰化は促進されなかったとの報告もある<sup>19)、20)</sup>。すなわち低濃度のフッ素イオンの存在が再石灰化に及ぼす影響についてはさらなる検討の余地があるのが現状である。

本研究で採用した再石灰化溶液のフッ素イオン濃度モデルは、ヒト唾液中のフッ素イオン濃度についての数多くの報告を根拠としている。これらの報告は水道水フッ化物濃度調整などの全身的にフッ化物を応用した後の唾液中フッ素イオン濃度に関するものと、フッ化物歯面塗布／フッ化物歯磨剤／フッ化物洗口などの局所的応用後の唾液中フッ素イオン濃度に関するものに大きく分けられる。ヒトの唾液中フッ素イオン濃度は日中変動があるため一定の値を示すわけではないものの水道水フッ化物濃度調整が行われていない地域では唾液中フッ素イオン濃度は0.02 ppm以下との報告<sup>21)</sup>がある。それに対して水道水フッ化物濃度調整が行われている地域では0.04 ppm程度と報告されている。一方、フッ化物の局所的応用を口腔内に行った際に唾液中のフッ素イオン濃度は応用直後から指数関数的な著しい減少を示すことが報告されている<sup>22)</sup>。フッ化物含有ガムを用いた研究ではガムを噛んだ後の唾液中フッ素イオン濃度が10分で1/10程度に、3～6時間すると元の値に戻ってしまうと報告している<sup>23)</sup>。フッ化物含有歯磨剤を用いてブラッシングを行った際の唾液中フッ素イオン濃度はブラッシング後30分から1時間後には1 ppm程度であり、2時間後にはほぼ

通常の値に戻ることが報告されている<sup>24)</sup>。フッ化物バーニッシュ／フッ化物歯面塗布／フッ化物洗口の1時間後の唾液中フッ素イオン濃度はそれぞれ20 ppm、10 ppm、3 ppmであるが、応用後3時間ではいずれも1 ppm程度までフッ素イオン濃度が減少してしまう<sup>24)、25)</sup>。また private care においてフッ化物含有歯磨剤の使用を継続すると口腔内のフッ素イオン濃度を0.1 ppm程度に保つことができる<sup>26)、27)</sup>との報告もある。

以上より、我々は private care、professional care を想定し再石灰化溶液のフッ素イオン濃度をそれぞれ0.1 ppm F、1 ppm Fと設定した。本 in vitro 研究の結果では0.1 ppm Fのフッ素イオン存在下で再石灰化が促進されなかったのに比べ、1 ppm Fのフッ素イオン存在下で再石灰化が促進されたため、初期う蝕に十分な再石灰化を起こすには private care に加えて professional care を行う重要性が示唆されたものと考えている。

## E. 結論

①QLF法は経時的に人工的ヒトエナメル質脱灰試料における再石灰化過程を観察することができ、QLF法はヒトエナメル質における脱灰／再石灰化の観察に有用であることがわかった。

②in vitro で作製するエナメル質表層下脱灰試料は、エナメル質試料の作製方法の違いおよび使用する脱灰溶液の組成の違いによって、それぞれ異なる脱灰進行速度のもと形成されていくことがわかった。そのなかでとくに鏡面研磨試料を用いると、溶液の組成にかかわらず安定したエナメル質表

層下脱灰試料が得られることがわかった。  
 ③1 ppm F フッ素が再石灰化溶液中に存在すると、低脱灰の初期う蝕に対してより再石灰化を促進することがわかった。しかし、0 ppm F と 0.1 ppm F 濃度では回復率に差が認められず、本 in vitro 研究では 0.1 ppm F のフッ素イオン濃度は再石灰化を促進していないことがわかった。

#### 引用文献

- 1) Hafstorm-Bjorkman U, Sundstorm F, de Josselin de Jong E et al. : Comparison of laser fluorescence and longitudinal microradiography for quantitative assessment of in vitro enamel caries. *Caries Res* 26 : 241-247,1992.
- 2) AL-Khateeb S, Ten Cate J M, Angmar-Masson B. et al. : Quantification of formation and remineralization of artificial enamel lesions with a new portable fluorescence device. *Adv Dent Res* 11 : 502-506,1997.
- 3) de Josselin de Jong E, Sundstorm F, Westerling H et al. : A new method for in vivo quantification of changes in initial enamel caries with laser fluorescence. *Caries Res* 29 : 2-7,1995.
- 4) Ten Bosch JJ. :Summary of research of Quantitative Light-induced Fluorescence. *Early Detection of Dental Caries II*. Indianapolis, Indiana University., 2000, pp.261-277.
- 5) Fontana M, Yanikoglu FC, Ozturk F et al. : Comparison of QLF, ultrasound and confocal microscopy in the measurement of demineralization/remineralization of enamel lesions developed on natural smooth surfaces. *Early Detection of Dental Caries II*. Indianapolis, Indiana University., 2000, pp.301-316.
- 6) Ismail AI, Brodeur JM, Gagnon P et al. Prevalence of non-cavitated and cavitated carious lesions in a random sample of 7-9 year school children in Montreal Quebec. *Community Dent Oral Epidemiol* 20 : 250-255,1992.
- 7) Lammers PC, Borggreven JMPM, Driessens FCM. : Influence of fluoride and pH on in vitro remineralization of bovine enamel. *Caries Res* 26 : 8-13,1992.
- 8) Featherstone JDB : Prevention and reversal of dental caries : role of low level fluoride. *Community Dent Oral Epidemiol* 27 : 31-40,1999.
- 9) Ten Cate JM : Review on fluoride, with special emphasis on calcium fluoride mechanisms in caries prevention. *Eur J Oral Sci* 105 : 461-465,1997.
- 10) Borsboom PCF, van der Mei HC, Arends J : Enamel lesion formation with and without 0.12 ppm F in solution. *Caries Res* 19 : 396-402,1985.
- 11) Hellwig E, Lussi A : What is the optimum fluoride concentration needed for the remineralization process ? . *Caries Res* 35(Suppl.1) : 57-59,2001.
- 12) Ismail AI. What is the effective

- concentration of fluoride? *Community Dent Oral Epidemiol* 23 : 246-251, 1995.
- 13) Silverstone LM : The effect of fluoride ions on the remineralization of enamel lesions in vitro. *Caries Res* 11 : 134,1977.
  - 14) Feagin FF, Jeansonne BG : Effective fluoride concentrations to promote apatite mineralization at the enamel surface. *Ala J Med Sci* 10:107-114, 1973.
  - 15) Ten Cate JM, Arends J : Remineralization of artificial enamel lesions in vitro. *Caries Res* 11 : 277-286,1977.
  - 16) Wei SHY, Wefel JS : In vitro interactions between the surfaces of enamel white spots and calcifying solution. *J Dent Res* 55 : 135-141,1976.
  - 17) Arends J, De Vries J, Ruben J : The effect of an experimental mouthrinse on enamel lesion remineralization in vitro. *J Biol Buccale* 20 : 63-67,1992.
  - 18) Featherstone JDB, O'Reilly MM, Shariati M et al. : Enhancement of remineralization in vitro and invivo. Factors relating to demineralization and remineralization of the teeth. Edited by Leach SA, IRL press, Oxford, 1986, pp23-34.
  - 19) Amjad Z, Nancollas GH : A kinetic and morphological study of mineralization of bovine tooth enamel surfaces. *Archs oral Biol.*25 : 95-101,1980.
  - 20) Varughese K., Moreno EC : Crystal growth of calcium apatites in dilute solutions containing fluoride. *Calcified Tiss Int.* 33 : 431-439,1981.
  - 21) Oliveby A, Ekstrand J, Lagerlof F. : Effect of salivary flow rate on salivary fluoride clearance after use of a fluoride-containing chewing gum. *Caries Res* 8 : 146-149,1987.
  - 22) Fejerskov O, Ekstrand J, Burt BA: Fluoride in Dentistry. Munksgaard, Copenhagen, 2nd ed., 1996, pp.216-219.
  - 23) Ekstrand j, Lagerlof F, Oliveby A. : Factors relating to demineralization and remineralization of the teeth. Edited by Leach SA, IRL press, Oxford, 1986, pp.91-99.
  - 24) Ekstrand J, Spark CJ, Vogel G : Pharmacokinetics of fluoride in man and its clinical relevance. *J Dent Res* 69(Spec Iss) : 550-555,1990.
  - 25) Twetman S, Larsson KS, Modeer T : Fluoride concentration in whole saliva and separate gland secretions after topical treatment with three different fluoride varnishes. *Acta Odontol scand* 57 : 263-266,1999.
  - 26) Ten Cate JM, Duijsters PP : Influence of fluoride in solution on tooth demineralization. II . Microradiographic data. *Caries Res* 17 : 513-519,1983.
  - 27) Campus G, Lallai MR, Carboni R. : Fluoride concentration in saliva after use of oral hygiene products. *Caries*

Res 37 : 66-70,2003.

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

なし

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.

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.

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.

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

2. 実用新案登録

特になし

3.その他

特になし

<第1号様式>

※受付番号

平成 年 月 日

大阪歯科大学

医の倫理委員会委員長 殿

実施責任者（申請者）

所 属 口腔衛生学講座

職 名 教授

氏 名 神原正樹

印

### 研究等審査申請書

下記について、審査を申請します。

#### 記

1. 課題名 光診査法による歯垢検出技術の評価
2. 所属長（氏名・印） 神原正樹
3. 研究責任者（氏名・印） 川崎弘二
4. 研究等担当者（所属・氏名） 口腔衛生学講座 神原正樹、三宅達郎、上村参生、川崎弘二、上根昌子、伊津元博、田中秀直、高島隆太郎、日吉紀子
5. 研究等の概要 1) 目的 光診査法による歯垢検出技術を応用し、その有効性を評価することを目的とする。 2) 背景及び意義 光診査による蛍光法によってエナメル質表層下脱灰を観察できることは知られているが、近年のコンピュータ技術の進展により、歯垢をも観察できることが我々の研究により明らかとなった。蛍光法による歯垢検出は従来行われてきた色素による染色法と違い、定量的・定性的に歯垢のプロファイルを測定できる点が今までとは大きく異なる。しかし、歯垢は <i>in vitro</i> で作製することが非常に困難で、蛍光法による歯垢検出技術の応用の可否を検討するには被験者を使用した研究が不可欠である。本研究により当技術の有用性が確認されれば、歯垢の性状による健康増進・特異的予防・歯科的処置すべての段階に有益な情報をもたらし、さらに企業との連携による商品化等も期待できる。 3) 対象及び報奨の有無 大阪歯科大学附属病院に来院し同意を得た患者、本講座同門会会員の歯科診療所、本講座が健診を担当している公的施設などを予定し、図書券を報酬とする。 4) 方法 被験者に対し調査記入表（別紙添付）に基づく問診および口腔内診査を行い、得られたデータを統計学的に検討する。

5) 期間

研究の期間は委員会の認可後、平成 15 年度から 16 年度を予定している。

6) 審査を希望する理由

本研究は被験者に侵襲を加えるものではないが、個人情報の取得によるプライバシーの侵害には十分に配慮する必要がある。よって、審査を希望するものである。

6. 研究等の実施場所

大阪歯科大学附属病院・楠葉学舎・附属歯科衛生士専門学校、本講座同門会会員の歯科診療所などで、研究担当者のみが診査を行うことを予定している。

7. 研究等における歯学・医学、倫理的及び社会的配慮

1) 研究等の対象となる個人の権利及び福祉を守るための配慮

ヘルシンキ宣言最新版の諸原則に従う。とくに、被験予定者に対しては十分に説明し、説明内容が適切に理解されたことを確認した上で、自由意志によるインフォームド・コンセントを得る。また、研究中及び研究終了後においても被験者のプライバシーには十分に配慮する。

2) 研究等の対象となる個人にもたらされると予測される利益と不利益

本研究で被験者に行うのは口腔内診査であり、すべての診査は被験者に侵襲を加えるものではない。よって、被験者に不利益は齎されないものとする。また、詳細な口腔内診査を行うため、その情報を被験者に伝えることは各個人の健康増進を惹起し、利益が齎されるものとする。

3) 研究等によってもたらされると予測される歯学・医学的並びに社会的利益

本研究により当技術の有用性が確認されれば、歯垢の性状についてその危険性についてのプロフィール情報をより詳細に得ることができる。この情報は、健康増進・特異的予防・歯科的処置すべての段階においてオーダーメイド治療をするための基礎情報として有益であり、国民の健康増進ひいては国民医療費の削減にも繋がる。

4) 研究等の対象となる個人に理解を求め同意を得る方法

口頭および説明書（別紙添付）を使用し、カウンセリング室内にて被験者に対して齎されるリスクとベネフィットについて十分説明し情報を提供した後、被験者の価値観に基づき判断を仰ぐ。

5) その他考慮すべき事項（研究等の社会的影響等）

被験者に侵襲を加えるものではないため、偶発的な事故等の問題は起こり得ないと考えている。

8. その他の参考事項（本課題に関連した国内外の事情、文献等）

本研究に類似した研究は内外において行われていない。

注) 1. ※は記入しないこと。

2. 審査の対象となる実施計画書及び関連資料を添付すること。

3. 用紙のサイズは A4 とすること。

4. 各項の行数については、この限りではなく、各自自由に拡張し記入すること。



# 説 明 文 書

研究題目：光診査法による歯垢検出技術の評価

はじめに

本研究は大阪歯科大学医の倫理委員会の承認を得て実施される研究です。あらかじめ本研究について正しく理解したうえで、あなた自身の自由な意志に基づいて本研究に参加するか否かの判断をしてください。研究の内容等について具体的に説明しますので、不明な点があれば遠慮なく質問してください。

## 1. 研究を目的とすること及び研究の目的

歯垢は、虫歯や歯周疾患などを引き起こす歯の汚れで、その予防のためには毎日の歯磨きが大切です。しかし、歯垢は一般には目で見えません。これからご説明する光診査器具を用いると、歯垢が目で見えるようになります。皆様のご協力を得て、この用具でどのように歯垢が見えるのか、実態調査をしたいと思えます。

今回、この器具を用いて皆様方のお口の中を見させて頂きたく、本調査にご協力をお願いいたします。本調査の概要について以下に説明させて頂き、この説明書の内容を十分ご理解いただいた上で、この調査に参加されるかどうかを、あなたの自由な意志で決めて下さい。なお、調査に参加いただける場合は、同意書に署名（サイン）をお願い致します。

目的は「光診査器具を用いて歯垢の付着状態の実態を調査する」ことです。

## 2. 研究の意義

光診査によって初期の虫歯を観察できることは知られていました。そして近年のコンピュータ技術の進展により、歯垢をも観察できることが我々の研究により明らかとなりました。光診査による歯垢検出は、従来行われてきた色素染色による歯垢検出と違い、どのぐらいの量がついているか、どのぐらい古いものなのか、など、さまざまな情報を与えることが期待されています。

しかし、歯垢は実験的に作製することが非常に困難で、光診査による歯垢検出技術の応用の可否を検討するには、人間を使用した研究が不可欠です。この研究により当技術の有用性が確認されれば、歯垢の性状による健康増進・虫歯と歯周疾患予防・歯科治療すべてに有益な情報をもたらすものと考えています。

### 3. 研究の方法

①調査参加の意志の確認(同意書への署名)、謝礼と謝礼受領書への署名<所要時間:約5分>

②問診による調査表への記入<所要時間:約3分>

③歯石、歯周疾患についての口腔内診査と写真撮影<所要時間:約5分>

④器具による歯垢・歯石・舌の観察、および写真撮影<所要時間:約6分>

⑤歯磨き<所要時間:約3分>

⑥歯磨後において器具による歯垢の観察、および写真撮影<所要時間:約6分>

⑦虫歯についての口腔内診査<所要時間:約2分>

### 4. 費用負担及び研究資金

必要な資金は厚生労働科学研究のサポートを受けています。

### 5. 被験者に予測される利益と不利益

本研究で行うのは口のなかの診査です。ほとんどの診査は目で見える視診で、器具を使って触るといふ触診を行うのは、歯石があるかどうか針状の器具で調べるときだけです。すなわち、すべての診査は体に侵襲を加えるものではありませんし、痛みもありません。

また、詳細な口のなかの診査を行うので、その情報をお伝えすることはご自身の口のなかの状態を知ることとなり、健康増進につながるものと考えています。

### 6. 研究に参加する期間及び報奨の有無

本日または、ご協力頂ける後日の一日。場合によっては複数日の診査をお願いする場合があります。時間は約30分から一時間です。

報酬は四千元分の図書券を予定しています。

### 7. 健康被害が発生した場合の対処

あなたが研究に参加されて、万一、研究において使用された薬剤、器具等の影響で健康

被害が発生した場合、下記の研究責任者あるいは研究担当者にご連絡ください。その被害に対して研究責任者を通じて補償します。ただし、被害の原因があなた自身の責任によるものである場合、あなたが故意に虚偽の報告をした場合、研究担当者の指示に従わなかった場合は、その対象とはなりません。

#### 8. プライバシーの保護

この研究から得られた情報・成果が教育のために使用されたり、学術目的で発表されたりすることがあります。しかし、氏名をはじめとしてあなた個人を特定できるような情報が公表されることはありません。あなたのプライバシー保護については十分に配慮します。

#### 9. 研究の中止

研究の途中で被験者の病態が悪化したり、被験者に健康被害が生じたりするなど、担当者あるいは責任者が研究の継続に問題があると判断した場合、それらの被験者に対する研究もしくは研究全体が中止されます。

#### 10. 研究に係るその他の必要事項

なし

#### 11. 研究参加の自由

本研究の内容についてよく理解していただいたうえで、あなた自身の判断で研究に参加するかどうか決定してください。研究に参加しなくとも何ら差し支えはありません。

また、研究に参加しないからといってあなたが不利益を受けることはありません。

#### 12. 研究参加撤回の自由

研究への参加に同意された場合でも、いつでもこれを撤回できます。また、そうされたからといってあなたが不利益を受けることはありません。

#### 13. 説明を求める自由

研究について説明を求めたいことや、研究中に心配なことがありましたら、いつでも遠慮なく申し出てください。

#### 14. 研究に関する問い合わせ先及び研究責任者・研究担当者氏名

研究責任者 川崎弘二

研究担当者 川崎弘二

573-1121 大阪府枚方市楠葉花園町 8-1 大阪歯科大学 口腔衛生学講座

電話番号 072-864-3059

厚生労働科学研究費補助金（医療技術評価総合研究事業）  
分担研究報告書

QLF法による歯垢検出技術の評価に関する研究

分担研究者 川崎 弘二 大阪歯科大学口腔衛生学講座助手

研究要旨

インフォームドコンセントによる内容説明を行い参加への同意を得た被験者10名を対象に、ブラッシングの停止により四日間口腔内に歯垢を蓄積させ、QLF法により歯垢の経時的変化の評価を行った。その結果、各被験者の歯垢付着状態に差があることが明確に示され、QLF法により歯垢付着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、歯垢の成熟に比例して平均蛍光強度および最大蛍光強度も増加していくことが示され、その増加の程度は各被験者において異なっていることから、歯垢の成熟度および蓄積速度という定性的な面についてもQLF法により評価できることが明らかとなった。これらの結果により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。

A. 研究目的

QLF (Quantitative Light-induced Fluorescence) 法によってエナメル質表層下脱灰を非破壊的に定量的な観察が行えることは知られているが<sup>1-3)</sup>、QLF法を応用した光学的診査によって、歯垢が発する蛍光をも検出できることが明らかとなってきている<sup>4)</sup>。

従来行われてきた色素を用いる歯垢染色法は、染色により歯垢を顕示することは可能であるが、その定性的・定量的評価は難しいため、各種インデックスによる評価<sup>5)</sup>、<sup>6)</sup>や写真撮影による歯垢付着面積の評価<sup>7)</sup>、<sup>8)</sup>は可能であるが、撮影した画像の標準化が困難であり、さらに、一度染色を行ってしまった歯垢に対して経時的な追跡を行うことも非常に困難である<sup>9)</sup>、<sup>10)</sup>。

QLF法を応用した光学的診査による歯

垢の検出は、歯垢が発する蛍光をデジタル画像として取り込み、画像処理を施すことにより、最大蛍光強度、平均蛍光強度、蛍光を発する面積を測定できる<sup>4)</sup>。すなわち、定量的・定性的に歯垢のプロファイルを評価できる可能性がある。

本研究では、人を対象に口腔内に歯垢を蓄積させ、QLF法により歯垢の経時的変化の評価を行い、その実用化の可能性を評価した。

B. 研究方法

1) 被験者：対象者は大阪歯科大学附属歯科衛生士専門学校一年生の成人10名とした。

倫理面への配慮として、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