

200400978A

厚生労働科学研究費補助金

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16年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 神原 正樹

平成17(2005)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. *In vitro*における各種フッ化物応用が再石灰化に及ぼす影響

川崎弘二

----- 25

2. QLF法およびPCR法の応用による歯垢特性の評価

川崎弘二

----- 32

3. 感染象牙質の除去におけるQLF法の応用

川崎弘二

----- 36

4. 口腔内蛍光測定用のプローブ開発

松村英夫

----- 42

5. 歯列不正と齲蝕との関連評価、臨床試験

相馬邦道

----- 46

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

----- 53

IV. 研究成果の刊行物・別刷

----- 58

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 *in vivo* study との両面から Q L F (quantitative light-induced fluorescence) 法による研究を行った。その結果、①初期う蝕の回復・進行に関わる因子分析においては、フッ化物が配合されていない歯磨剤を使用すると、初期う蝕病巣の回復・進行の変化には、DMF 歯数、嗜好食品摂取頻度が影響しているが、フッ化物配合歯磨剤を使用すると年齢のみが影響を及ぼす因子であることが明らかとなった。②*In vitro* における各種フッ化物応用が再石灰化に及ぼす影響においては、高脱灰の初期う蝕に対しては、高濃度のフッ化物塗布を行わず、低濃度のフッ化物を継続的に作用させることがより高い回復を導く可能性があることが明らかとなった。③Q L F 法および P C R 法の応用による歯垢特性の評価においては、蛍光を発する歯垢のなかには、歯周病関連菌が多いことがわかった。④感染象牙質の除去における Q L F 法の応用においては、感染象牙質の露出および除去の状態が定量的に評価できることが明らかとなった。⑤画像解析を応用した初期歯肉炎診査においては、Q L F 法により取得したデジタル画像の画像処理により、初期歯肉炎を定量的に観察できることが明らかとなった。⑥口腔内蛍光測定用のプローブ開発においては、新規開発したプローブの使用により、通常の Q L F 法では判別が難しい極めて初期のう蝕検出の可能性が高くなることがわかった。⑦歯列不正と齲蝕との関連評価、臨床試験においては、叢生がある部位では赤色蛍光を発する歯垢の付着が多い傾向が認められ、矯正歯科治療後では歯垢の付着が減少していることが明らかとなった。すなわち、

1. *in vitro* study では、

- 1) 初期う蝕の再石灰化現象は 100%の回復が生じていないことがわかった。
- 2) 初期う蝕の脱灰程度により、再石灰化の回復程度が異なることから、初期う蝕の脱灰程度による回復の基準を設ける必要のあることがわかった。
- 3) 初期う蝕の効率的な再石灰化のために、多様な方法を開発する必要のあることがわかった。
- 4) 初期う蝕の再石灰化への唾液由来の有機物質の関与を明らかにする必要性がある。
- 5) 蛍光歯垢の基礎的研究の必要性が明らかとなった。

2. *in vivo* study では、

- 1) 初期う蝕再石灰化への口腔内環境のかかわりを解明する必要性がある。

- 2) host 要因を含めたカリエスリスク判定方法の研究
 - 3) 低う蝕歯科医療のための予防歯科 system の構築
 - 4) 歯面別う蝕（平滑面、咬合面、隣接面）、二次う蝕、補綴物とう蝕、歯列不正とう蝕についての初期検出
3. QLF法が初期う蝕の検出以外に蛍光歯垢検出、初期歯肉炎検出という新たな可能性を保有していることが明らかとなった。

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
主任研究員

相馬邦道
東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究
科咬合機能矯正学分野
教授

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

笹井啓史
日本大学松戸歯学部総合口腔医学講座
助教授

松本芳郎
東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究
科咬合機能矯正学分野
講師

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

上根昌子
大阪歯科大学口腔衛生学講座
研究技術員

A. 研究目的

1. 早期う蝕検出の意味

21世紀の歯科医療が住民主体の歯科疾患予防や口腔の健康増進に向かっていることは論を待たない。これは、う蝕が顕著に減少し、目に見えない歯科疾患が増加し、これまでの歯科領域になかった住民の歯科に対する需要が増加していることによるものである。この口腔疾患の予防や健康増進のための新たな歯科医療を構築することが、歯科医学に要求されている急を要す課題である。その中で、う蝕に対する Evidence-based な技術が出現し始めており、リスク管理としてのう蝕検査システムや早期う蝕検出が注目を集めている。

予防や健康増進のための歯科医療は、う蝕に対してはできるだけ早期に検出し、現在行われているような歯を切削して充填することなく予防処置で回復させることを目指すことになる。予防処置による回復はう蝕の早期段階であれば、フッ化物による再石灰化が生ずることが明らかにされており、これを利用することになる。

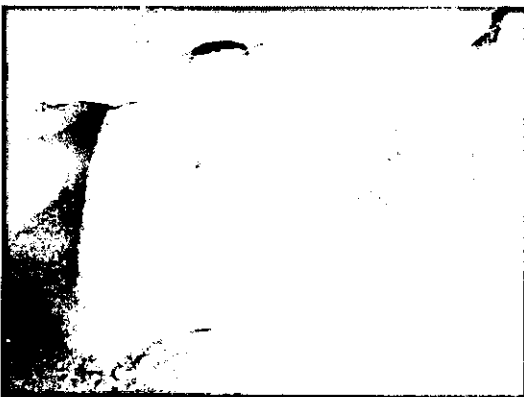


図1 初期う蝕の臨床像

う蝕の早期段階、すなわち初期う蝕とは臨床的には白斑として認識されており、組織学的には表層下脱灰像を呈する可逆的う蝕を意味する(図1)。

すなわち、X線による診査では検出しえない初期う蝕を検出し、予防処置を行うなどの健全歯に対する管理を行うことになる。このことは、Caries prevention is invisible (う蝕予防は見えない) から Caries prevention is visible (う蝕予防が見える) への変遷を導き、このことが早期う蝕検出の必要性の意味であるといえる。この背景には、歯の自然史(萌出した健全歯が充填を繰り返し、歯冠修復が行われ、喪失してしまう歯の顛末)のエビデンスやこれに対する反省、健全歯の増加、国民の健康志向の上昇、新たな歯科医療の模索、歯科医学の進展などがあり、健全歯の質的評価や初期う蝕の検出などの課題解決が望まれていることがある。

う蝕リスク診断は、う蝕発病の危険度を診査することであるが、病原因子、環境因子、生活習慣因子、すなわち、う蝕侵襲因子のみに限られているのが現状であり、宿主要因についてのリスク分析ができていない。そのため今後の歯科医療、健康な歯をどのように維持・管理していくかとの視点では、歯のリスク要因の客観的評価をおこなえるようにすることが必要である。

健全歯のリスク評価は、歯の形態評価(小窩裂溝の複雑性、深さ、色等)、歯の質的評価(フッ化物含有量、抵抗性等)などの客観的評価法を確立することが必要である。ついで、初期う蝕(予防処置で回復可能な表層下脱灰; incipient or early caries、whitespot)の Assessment of incipient

caries (初期う蝕評価)、すなわち初期う蝕検出後の初期う蝕の特性あるいは監視を行うとの目的に沿った以下の評価が出来るようにするべきである。①Progression of Caries (う蝕進行性：深部に拡がろうとしている状態にあるう蝕)、②Arrestment of Caries (う蝕停止性：進行せず、回復もしない安定状態にあるう蝕)、③Regression of Caries (う蝕回復性：健全に戻ろうとしているう蝕)。

2. 早期歯再蝕診断法 (QLF法)

早期う蝕診断法としては、その具備条件に、非侵襲性であることはもちろんであるが、TMRなどのエナメル質内部での表層下脱灰との相関性、再現性や、脱灰状態の定量化、さらには画像表示ができることなどが早期う蝕検出法に要求されている。現在開発をされている、あるいは商品化された早期う蝕検出技術には、レーザーを照射し、う蝕窩洞内の細菌産生の蛍光物質を検出する方法、歯の電気抵抗性の変化を測定する方法、歯の透過光による影を観察する方法、光誘導蛍光定量法などがある。個々技術の検出原理は異なるが、長年にわたり研究されてきた継続性が今日の使用できる技術となって実を結んできている。

その中で、唯一初期う蝕の定量化が可能なのがQLF法である。光誘導蛍光定量法 (QLF ; quantitative light-induced fluorescence) は、歯に光を照射することにより、エナメル質と象牙質境界部にとくに多く存在するといわれている蛍光物質を励起し、発生する蛍光が表層下脱灰部において乱反射することにより、初期う蝕部は黒色を呈する。この画像はフィルターを通

してCCDカメラによりコンピュータに取り込み、取り込んだ画像をコンピュータにより画像解析し (健全エナメル質との比較で判断し、脱灰面積、最大深さ、平均深さ、脱灰量として数値化)、脱灰部の定量化を図るものである (図2、3)。

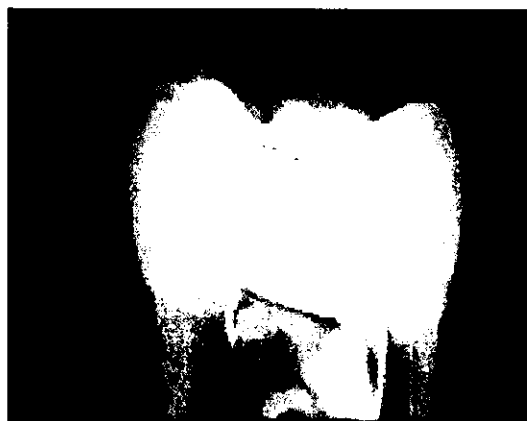


図2 象牙質の発する自家蛍光

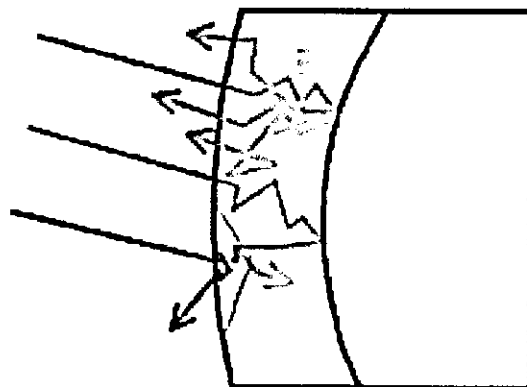


図3 初期う蝕の検出原理

歯が堂光を有していることは、歴史的に古くから知られており、1926年 Benedict が、エナメル質、象牙質の堂光を可視、紫外線 (UV) 範囲で励起できることを初めて示したとされている。それ以来、多数の研究者により研究されてきているが蛍光物質の特定にはいまだいたっていない。1963

年 Armstrong は象牙質の蛍光は各種無機物質と有機物質の複合体であると示唆し、1980年 Foteman は象牙質の蛍光物質がトリプトファンと未知物質であると報告し、1976年 Sphzer と ten Bosh はエナメル質の蛍光物質は有機物質であるとしたなどの報告があるが、有機物であるらしいとの認識段階である。

QLF法が他の早期う蝕検出法とは異なる特徴を有しているのは、初期う蝕の定量化（う蝕面積、脱灰深さならびに脱灰量）および初期う蝕脱灰部位の画像化である。

本研究の目的は、実質欠損に至るまでのエナメル質内のう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法を用いて、病巣の微細な変化をモニタリングする定量的診断方法および適切な処置プログラムを確立し、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。

B. 研究方法

1. 初期う蝕の回復・進行に関わる因子分析

前年の本事業にかかる報告書において、*in vivo*の追跡研究に光誘導蛍光定量法（QLF法）を用いることにより、初期う蝕病巣の定量評価が可能であり、病巣の評価に利用できることが証明された。また、初期う蝕病巣の改善および再石灰化の促進に、フッ化物（F）配合歯磨剤の使用が有効であることを *in vivo*のQLFを応用した追跡研究で示すことができた。本年度の研究において、初期う蝕病巣の回復改善・進行拡大に影響を及ぼす因子の検索を行った。

①対象者

対象者は、10歳以上で、全永久歯唇（頬）側部に少なくとも1つの白斑部（初期う蝕）をもっている129名であった。なお、対象者には研究開始時にインフォームドコンセントの取得を行ったところ、すべての対象者から同意を得た。

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の一

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 1 g (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 1 g 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 950 ppm) 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、有効性及び安全性の評価は、原則として各被験者に対し同一の診査者が実施する。

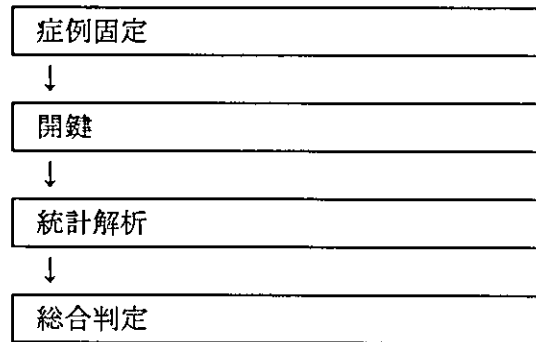
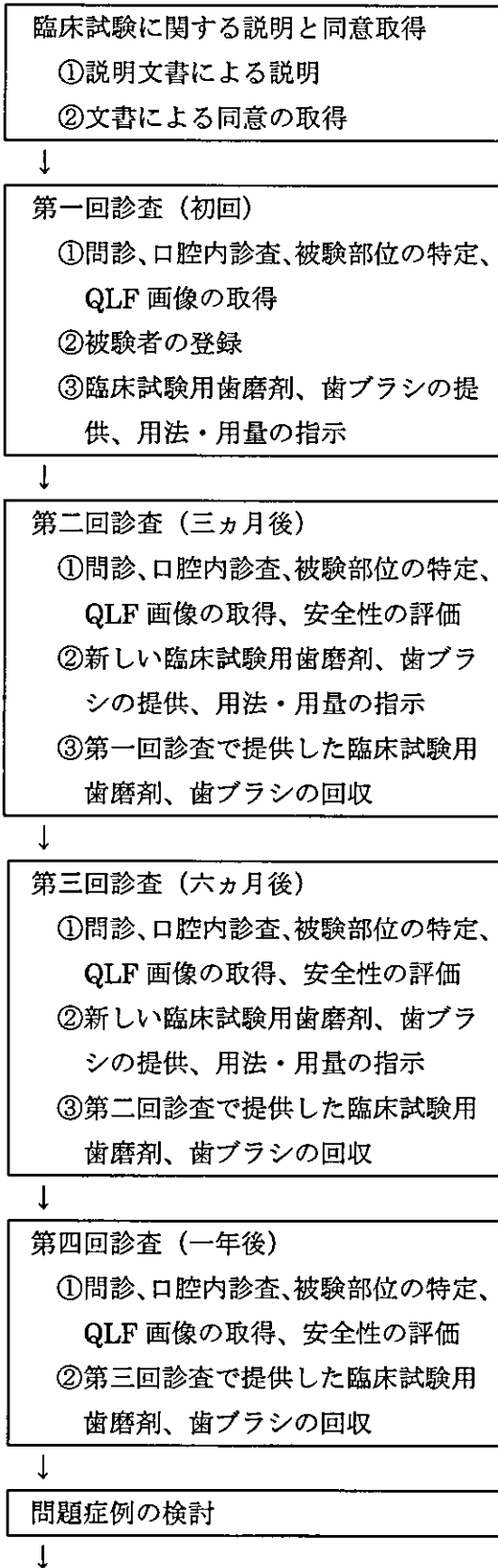
- 1: 口腔内診査、口腔内清掃および問診を行う。
- 2: 初期う蝕の有無およびその数を確認する。
- 3: 初期う蝕が認められた場合 QLF 法にて観察する。
- 4: 選択基準を満たし、かつ除外基準に該当しない場合に被験者として登録する。
- 5: その歯を被験部位とし、観察を行う。
- 6: QLF 法により被験部位の初回蛍光像を獲得する
- 7: 被験部位を写真撮影する。
- 8: 必要に応じその他所見等を記録する。

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。



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
- ・C 2 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

②初期う蝕の観察およびパラメータの算出

1 人の対象者につき 1 つの初期う蝕を対象として Q L F システム (QLF™ System、Inspektor Research Systems、オランダ) により観察し、画像データとして保存した。保存した画像データは、画像解析ソフト (QLF™ Software、Inspektor Research Systems、オランダ) によって、初期う蝕病巣の平均脱灰深さを表す、平均蛍光強度減少度 (ΔF (%))、最大脱灰深さを表す最大蛍光強度減少度 (ΔMax (%))、初期う蝕病巣の広がり (面積) を表す Area (mm^2) および脱灰量を表す ΔQ ($\Delta F \times Area$ (% $\times mm^2$)) を算出した。

③要因分析

各パラメータの 1 年後の変化量 (進行、回復および変化なし) を目的変数に、年齢、各パラメータの初期値、DMF 歯数、白斑検出歯数および嗜好食品摂取頻度の 8 項目を説明変数に、多重ロジスティック回帰分析を変数減少法にて行った。なお、統計処理には SPSS 12 for Windows (SPSS、東京) を使用した。

④方法

研究期間は 1 年間とし、二重盲検法にて F 配合歯磨剤 (NaF : 1,000 ppm F)、あるいは F 非配合歯磨剤のどちらかを対象者に供与し、1 日 2 回のブラッシングとブラッシング 1 回につき 0.5~1.0 g の歯磨剤の使用を指示した。また、Q L F 画像データの撮影および各パラメータの算出は、開始時および 1 年後に行った後、要因分析を試みた。

2. In vitroにおける各種フッ化物応用が再石灰化に及ぼす影響

分担研究報告(1)に詳述。

3. QLF法およびPCR法の応用による歯垢特性の評価

分担研究報告(2)に詳述。

4. 感染象牙質の除去におけるQLF法の応用

分担研究報告(3)に詳述。

5. 画像解析を応用した初期歯肉炎診査

本事業において、う蝕の初期脱灰病変を客観的に診査するため、Quantitative Light-Induced Fluorescence (QLF)法、すなわち、ある特定条件下で歯の初期脱灰病変部位をデジタル画像で取得し、その画像を解析して得られた定量値による客観的評価方法の検討を行ってきた。

この診査方法や考え方の歯肉への応用、すなわち、歯肉をデジタル画像で取得し、その画像を解析して得られた定量値により初期歯肉の状態を把握する診査方法の確立を試み、二種類の測定機器で撮影した歯肉のデジタル画像を各々の解析方法で分析し、得られた定量値により、初期の炎症性歯肉の経日的変化を客観的に観察し、初期歯肉炎のinvisibleな変化を解析することを目的に本研究を行った。

①被検者

本研究の主旨に同意の得られた健康な成人15名を被検者とした。なお、本研究は大阪歯科大学医の倫理委員会の承認取得後に行った。

②観察期間

観察開始3日前に全被検者に対し歯面清掃時に研磨剤を使用せず全顎のPMTCを行った。また、実験開始までの3日間、歯磨剤を使用せずに口腔内清掃を行うよう指示し、実験開始後7日間、歯口清掃行動を禁止し、それ以外の日常生活行動は変化のないよう指示した。

実験期間は1週とし、観察開始日、1日目、2日目、3日目、5日目、7日目に歯肉の診査、観察および測定を行った。

③口腔内撮影用一眼レフカメラによる歯肉撮影

上下顎正中部および上顎正中部前歯部正面観を口腔内撮影用一眼レフカメラ(DENTAL-EYE II[®]、京セラ社製、京都)によりアナログ画像として撮影した

④CCDカメラによる歯肉撮影

CCDカメラによる撮影は、外乱光の遮断および表面の立体形状の高精度再現のため、均一照度の照明があたる照明条件(擬似積分球方式)で照射されるように白色発光ダイオードが配置され、上部に直径14mmの窓のあいた円筒状拡散防止板で覆った照明内蔵型アタッチメントを有した41万画素のCCDカメラ(コアフロント社製、東京)(図4)を用いた。そして、アタッチメントの窓と観察歯肉部位を垂直に接触させた後、閉鎖系照明条件下にて等倍で撮影した。

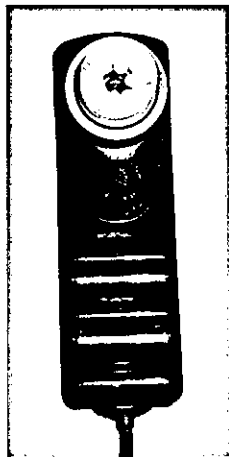


図4 CCDカメラ外観

⑤QLF法による歯肉撮影

Inspektor Pro™ (Inspektor Research Systems 社製、オランダ) を用い、歯肉部位をデジタル画像として取得した。

⑥改良CCDカメラによる取得デジタル画像の解析

画像解析ソフト IMAQ Vision Builder 6° (National Instruments 社製、米国) を用い、デジタル画像を平滑化処理にて画像ノイズ情報を除去し、HSV 表色系の 3 要素である色相 (hue)、彩度 (saturation)、明度 (value) の情報に分解した。次に、明度比を高低差に変換した後、歯肉表面の擬似的な凹凸状態のシミュレーションを行った。また画像上の臨床的歯頸部から 3 mm の歯肉部位を、Line Profile 機能を用いて画像上の相対的高低差を示した。

⑦QLF法による取得デジタル画像の解析

画像解析ソフト (Inspektor Pro™ Ver. 1.2.0.4) を用い、各被検者取得画像の 0 日目の位置を基準とし、位置補正を行ってから健全部 (黄緑色) を基準部位として ΔR 値の解析を行った。

6. 口腔内蛍光測定用のプローブ開発
分担研究報告 (4) に詳述。

7. 歯列不正と齲蝕との関連評価、臨床試験
分担研究報告 (5) に詳述。

C. 研究結果

1. 初期う蝕の回復・進行に関わる因子分析

F 配合歯磨剤を 1 年間使用した場合、1 年後の初期う蝕病巣の ΔQ 、 ΔF および ΔMax の変化量 (回復・進行) には、各パラメータの初期値、DMF 歯数および嗜好食品の摂取頻度などの影響は認められなかった。

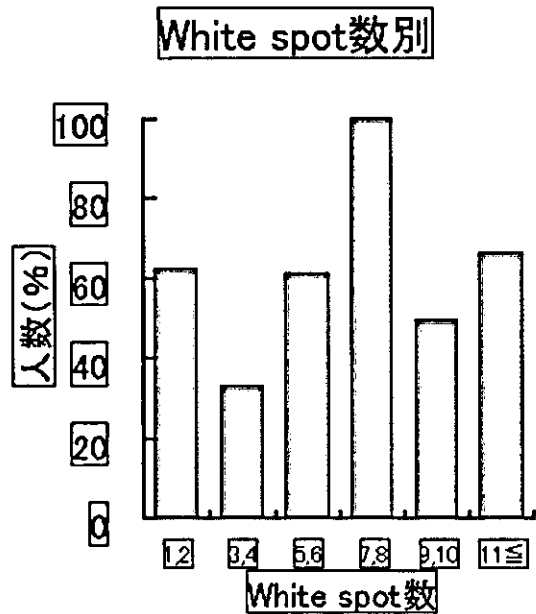


図5 プラシーボ群における、ホワイトスポット数と ΔQ 回復の割合との関係

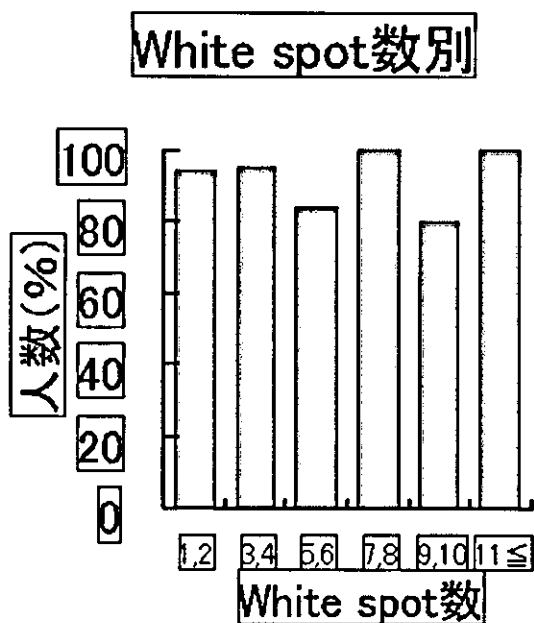


図6 F配合歯磨剤群における、ホワイトスポット数とΔQ回復の割合との関係

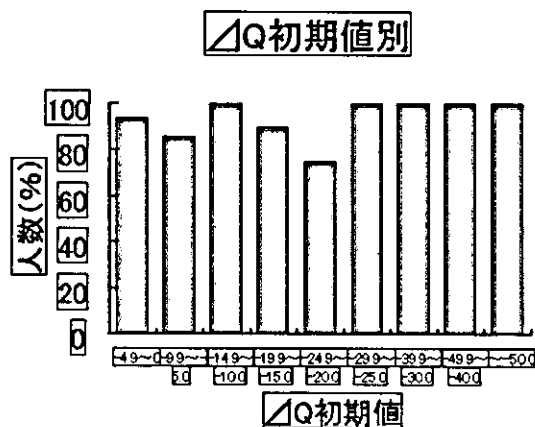


図8 F配合歯磨剤群における、ΔQ初期値とΔQ回復の割合との関係

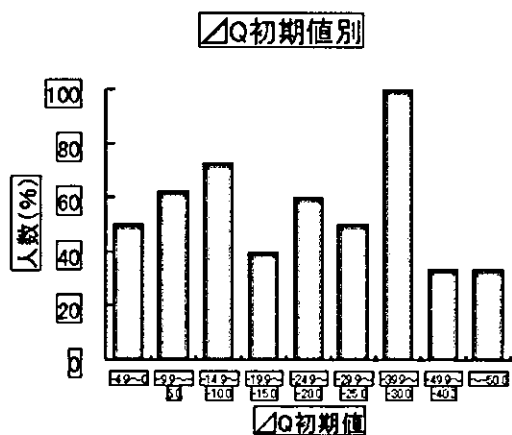


図7 プラシーボ群における、ΔQ初期値とΔQ回復の割合との関係

Placebo	オッズ比 (95%CI)
DMF歯数	1.16 (1.04-1.29)
嗜好性食品 摂取頻度	2.69 (1.02-7.09)

F歯磨剤	オッズ比 (95%CI)
年齢	1.12 (1.00-1.26)

表1 ΔQの進行に関わる因子のオッズ比

しかし、初期う蝕の病巣面積 (Area) の変化には、年齢の影響 (低年齢で回復傾向が強い) が強いことが明らかであった。一方、F配合歯磨剤を使用しなかった場合、1年後の初期う蝕病巣の変化には、QLFパラメータの初期値、DMF歯数および嗜好食品摂取頻度が有意に影響していることが認められた。

2. *In vitro* における各種フッ化物応用が再石灰化に及ぼす影響

分担研究報告 (1) に詳述。

3. QLF法およびPCR法の応用による 歯垢特性の評価

分担研究報告(2)に詳述。

4. 感染象牙質の除去におけるQLF法の 応用

分担研究報告(3)に詳述。

5. 画像解析を応用した初期歯肉炎診査

①口腔内撮影用一眼レフカメラによる歯肉 観察

図9にブラッシング停止後の上顎正中前
歯部歯肉正面観の経時的变化を口腔内撮影
用一眼レフカメラで観察した画像を示す。

歯肉の炎症症状である腫脹および色調の
明らかな変化を観察することは困難であっ
た。このことから、従来の口腔内撮影写真
からの視診による軽度な初期歯肉炎の経時
的観察は困難であることがわかった。

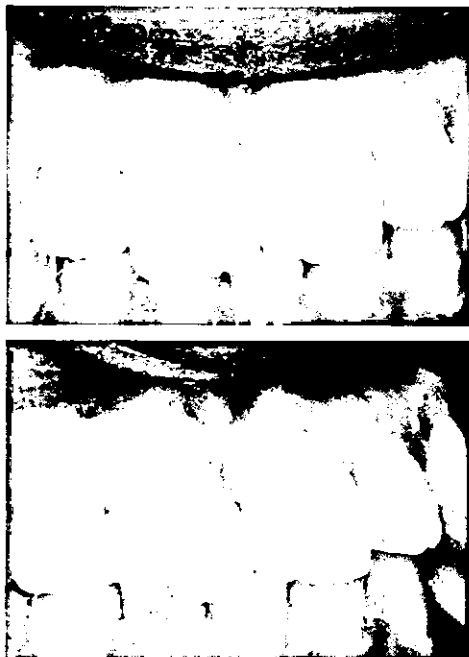


図9 上顎正中前歯部歯肉正面観(上:0日
目、下:7日目)

②CCDカメラによる歯肉観察

図10にブラッシング停止後の上顎右側
中切歯歯肉の変化をCCDカメラによって
撮影したデジタル画像、その画像の解析に
より得られた明度をもとに、三次元化処理
を行った画像を図11に示す。

三次元化処理を行った画像では、歯肉の
腫脹を可視化することができ、腫脹が周期
的に悪化および回復を繰り返しながら腫脹
部が辺縁歯肉部から歯間乳頭部および附着
歯肉部に広がっていく変化を明確観察でき
た。

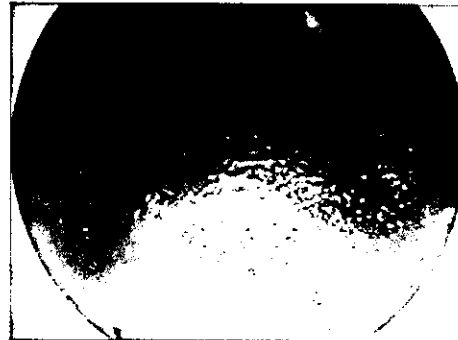


図10 ブラッシング停止7日後の上顎右
側中切歯歯肉

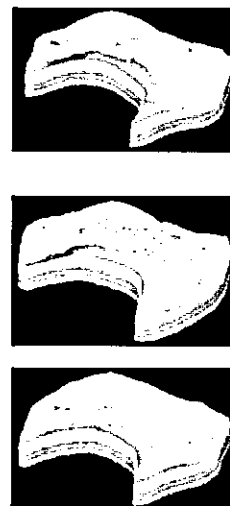


図11 三次元化処理を行った画像(上:1
日目、中:3日目、下:7日目)

③QLF法による歯肉分析

図12にブラッシング停止後の右側中切歯歯肉の変化をQLF法により撮影し、 ΔR の解析を行った画像を示す。歯肉の色調で赤が強調されている部分、すなわち初期歯肉炎が発症してから進行していく部分が視覚的に示され、歯頸部に沿って帯状の強い赤味をおびた部位が存在し、炎症部位が辺縁歯肉部から歯間乳頭部および付着歯肉部に広がっていく様子が観察された。

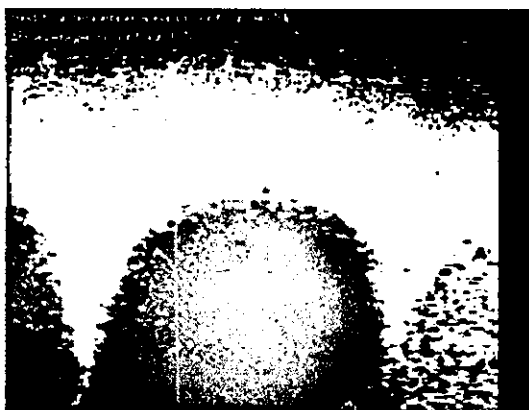
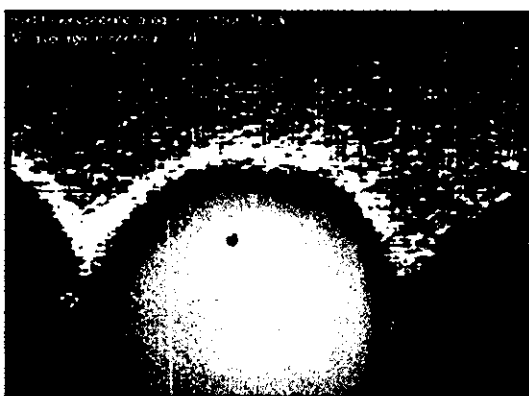


図12 QLF法による ΔR 解析画像
(上：0日目、下：7日目)

6. 口腔内蛍光測定用のプローブ開発

分担研究報告(4)に詳述。

7. 歯列不正と齲蝕との関連評価、臨床試

験

分担研究報告(5)に詳述。

D. 考察

1. 初期う蝕の回復・進行に関わる因子分析

F配合歯磨剤の使用における初期う蝕病巣の回復・進行の変化には、年齢のみが影響を及ぼす因子であることが明らかとなった。

プラシーボ歯磨剤の使用における初期う蝕病巣の回復・進行の変化には、DMF数、嗜好食品摂取頻度が影響していることが明らかとなった。

フッ化物配合歯磨剤の使用は説明変数を打ち消すほどの効果があることがわかった。

2. *In vitro*における各種フッ化物応用が再石灰化に及ぼす影響

分担研究報告(1)に詳述。

3. QLF法およびPCR法の応用による歯垢特性の評価

分担研究報告(2)に詳述。

4. 感染象牙質の除去におけるQLF法の応用

分担研究報告(3)に詳述。

5. 画像解析を応用した初期歯肉炎診査

本研究では口腔内写真画像および上顎右側中切歯歯肉拡大像では、明確な歯肉炎症像の観察はできなかった。このような歯肉炎症像の変化を示さなかったのは、実験開始3日前に行ったPMTTCや被検者の年齢が20代と若年者であったことの影響であ

と考えている。すなわち、若年者ではP M T Cが歯肉炎抑制に効果的であることを示す結果であり、また今後、高齢者に対しても同様の研究が必要であるといえる。

一方、CCDカメラやQLF法により得た画像に対する分析では、視診による観察ではとらえられなかった歯肉の変化をとらえることができた。すなわち、辺縁歯肉の頂点部位が炎症が進行するにつれて、一度歯頸部側によってから外のほうへ張り出していくという動きを示すことが示唆された。また、活動期と非活動期が繰り返して歯肉炎が進行していく様子に関しては、歯周病の進行に関する新しい概念であるバースト仮説と一致する。このことから、初期歯肉炎の進行を詳細かつ客観的に観察でき、歯肉炎の予防のための診査技術の一つを示すことができたと考えている。

6. 口腔内蛍光測定用のプローブ開発

分担研究報告(4)に詳述。

7. 歯列不正と齲蝕との関連評価、臨床試験

分担研究報告(5)に詳述。

E. 結論

1. 初期う蝕の回復・進行に関わる因子分析

初期う蝕病巣の回復・進行の変化には、パラメータの初期値、DMF歯数、年齢および嗜好食品摂取頻度が影響していることが明らかとなった。一方、F配合歯磨剤の1年間使用時、初期う蝕病巣の回復・進行は、年齢因子に依存していることが明らかとなり、年齢別におけるF配合歯磨剤の使

用法の考慮が、効率のよいう蝕予防を可能にすることが示された。

2. In vitroにおける各種フッ化物応用が再石灰化に及ぼす影響

①ΔF値が-16%までの低脱灰の初期う蝕においては、フッ化物応用の種類にかかわらず高い再石灰化率がみられることがわかった。

②ΔF値が-24%以上の高い脱灰を示す初期う蝕に対しては、高濃度のフッ化物塗布を行わず、低濃度のフッ化物を継続的に作用させることがより高い回復を導く可能性があることが明らかとなった。

3. QLF法およびPCR法の応用による歯垢特性の評価

蛍光を発する歯垢のなかには、歯周病関連菌が多いことがわかり、各被験者の歯垢付着状態、成熟度および蓄積速度のみならず、歯垢の質的評価にもQLF法が応用できることがわかった。

4. 感染象牙質の除去におけるQLF法の応用

①QLF法の応用により、Hidden cariesの検出が可能であることが明らかとなった。

②QLF法の応用により感染象牙質の露出状態が定量的に評価できることが明らかとなった。

③QLF法の応用により感染象牙質の除去の程度が定量的に評価できることが明らかとなった。

5. 画像解析を応用した初期歯肉炎診査

CCDカメラで撮影したデジタル画像の

三次元処理により、初期歯肉炎のわずかな変化、すなわち腫脹および色調の拡大を観察することができた。

また、QLF法による初期歯肉炎の画像を解析した結果、歯肉の初期変化を実験的に観察できることが明らかとなった。

6. 口腔内蛍光測定用のプローブ開発

通常のQLF法では判別が難しい極めて初期のう蝕検出の可能性が、新規開発したプローブの使用により高くなることがわかった。

7. 歯列不正と齲蝕との関連評価、臨床試験

歯科医師の歯垢付着の状況をQLF法により予備的に調査したところ、以下の結果が得られた。

①叢生がない部位に比べ、叢生がある部位、特に舌側転位している歯の唇側面、唇側転位している歯の舌側面および捻転歯では赤色蛍光を発する歯垢の付着が多い傾向が認められた。

②矯正歯科治療後では、叢生が減少し、歯垢の付着も減少している傾向にあった。

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

神原正樹. QLF (Quantitative Light-induced Fluorescence) による齲蝕診断. 細胞 37 (3); 84-87 : 2005.

伊津元博, 神原正樹. 画像解析を応用した初期歯肉炎診査. 歯科医学 68 (1); 99-110 : 2005.

神原正樹, 川崎弘二, 上村参生. バイオフィルム検出における口腔内カメラ活用の意義と使用解説. The Quintessence 24 (3); 567-573 : 2005.

高島隆太郎, 川崎弘二, 上村参生, 酒井怜子, 川上富清, 小室崇, 西島典幸, 田治米元信, 多名部実, 小室美樹, 神原正樹. エナメル質人工初期う蝕試料の再石灰化におけるQLF観察. 口腔衛生学会雑誌 55 (1); 41-49 : 2005.

Matsumura H, Neytchev V, Terezova N, Tsoneva I. Ca ion permeation through liposome membranes with heat generation by square-wave electric field. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 33 (3); 243-249 : 2004.

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1年間の追跡調査について. 歯科医学 67 (3/4); 266-273 : 2004.

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. 歯科医学 67 (3/4); 257-265 : 2004.

2. 学会発表

- Uemura M, Doi T, Miyake T, Sakamoto Y, Kambara M. Clinical trials on early caries detection using QLF technique. *Journal of Dental Research* 84 Special Issue A ; Seq #229 2061 : 2005
- Kawasaki K, Sakai R, Takashima R, Kambara M. Evaluation of red-fluorescent dental plaque using QLF method. *Journal of Dental Research* 84 Special Issue A ; Seq #229 2059 : 2005.
- Sakai R, Takashima R, Kawasaki K, Kambara M. *In vitro* QLF observation of remineralizing effect in fluoride applications. *Journal of Dental Research* 84 Special Issue A ; Seq #229 2051 : 2005.
- Izu M, Miyake T, Uene M, Tanaka H, Takashima R, Nishijima N, Kambara M. New analysis method of gingiva with quantitative light-Induced fluorescence. *Journal of Dental Research* 84 Special Issue A ; Seq #127 1069 : 2005.
- 伊津元博, 神原正樹. 画像解析を応用した初期歯肉炎診査. *歯科医学* 68 (1) ; 153-154 : 2005.
- Kishikawa R, Tsubaki E, Koiwa A, Otsuki M, Kambara M, Matoba K, Tagami J. Oral examination using a new oral scope. *Japanese Association for Dental Research 52nd Annual Meeting Program and Abstracts of Papers* 52 ; 101 : 2004.
- 川崎弘二, 高島隆太郎, 酒井怜子, 上村参生, 神原正樹. QLF法を応用した感染象牙質の診査および除去について. *Cariology Today in Japan The 5th Workshop in Tokyo Program & Abstracts* 5 ; 3 : 2004.
- 川崎弘二, 廣瀬泰明, 高島隆太郎, 酒井怜子, 上村参生, 井上正義, 神原正樹. 感染象牙質の除去における光誘導蛍光定量法の応用. *日本歯科保存学雑誌* 47 (秋季特別号) ; 57 : 2004.
- 上村参生, 三宅達郎, 上根昌子, 川崎弘二, 日吉紀子, 土居貴士, 伊津元博, 田中秀直, 高島隆太郎, 神原正樹. Quantitative Light-induced Fluorescence (QLF)による早期う蝕診断への応用. 第20回日本歯科医学会総会プログラム・事前抄録集 57 ; 396 : 2004.
- 神原正樹. エナメル質診断. 第20回日本歯科医学会総会プログラム・事前抄録集 57 ; 342 : 2004.
- 伊津元博, 上村参生, 三宅達郎, 川崎弘二, 上根昌子, 田中秀直, 神原正樹. 歯肉炎の客観的観察法. *日本歯周病学会会誌* 46 (秋季特別号) ; 155 : 2004.
- 川崎弘二, 上村参生, 上田雅俊, 今井久

夫, 神原正樹. QLF法による歯垢付着特性の評価. 日本歯周病学会誌 46(秋季特別号); 113: 2004.

伊津元博, 酒井怜子, 高島隆太郎, 小室崇, 小室美樹, 熨斗秀光, 神原正樹. デジタル画像解析による炎症性歯肉の経時の変化. 日本口腔衛生学会雑誌 54(4); 461: 2004.

竹内博朗, 的場一成, 奥田健太郎, 神原正樹, 花田信弘. *Porphyromonas gingivalis* によるバイオフィルムの光学的手法を用いた臨床検出法の検討. 日本口腔衛生学会雑誌 54(4); 439: 2004.

上村参生, 三宅達郎, 土居貴士, 上根昌子, 奥村紀子, 白石雅照, 奥村信, 中嶋省志, 金子憲司, 神原正樹. 初期う蝕の回復・進行に関わる因子分析. 日本口腔衛生学会雑誌 54(4); 316: 2004.

川崎弘二, 酒井怜子, 高島隆太郎, 伊津元博, 朴容徳, 西島典幸, 川上富清, 田中浩二, 河村泰治, 神原正樹. 歯垢の検出に対するQLF法の応用. 日本口腔衛生学会雑誌 54(4); 313: 2004.

上村参生, 川崎弘二, 神原正樹. 光誘導蛍光定量法(QLF)の応用による早期う蝕診断に関する臨床研究. 日本レーザー医学会誌 25(2); 120: 2004.

川崎弘二, 高島隆太郎, 伊津元博, 上村参生, 朴容徳, 神原正樹. QLF法による歯垢検出技術の評価に関する研究. 歯

科医学 67(3/4); 289: 2004.

伊津元博, 川崎弘二, 高島隆太郎, 上根昌子, 三宅達郎, 神原正樹. デジタル画像による辺縁歯肉の分析. 歯科医学 67(3/4); 288: 2004.

神原正樹. 齲蝕予防における早期齲蝕診断. 小児歯科学雑誌 42(2); 62: 2004.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

現在出願中。

2. 実用新案登録

特になし

3. その他

特になし

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

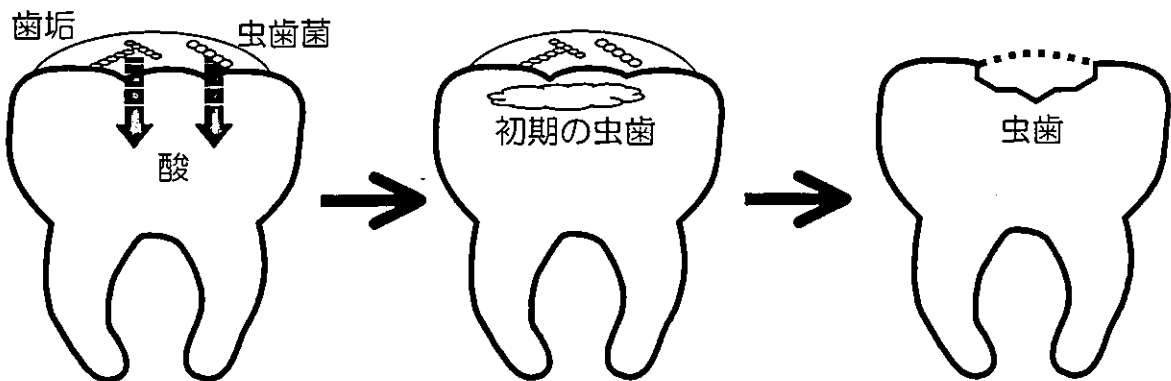
この治験の目的は、「初期の虫歯の修復」に対するNSK-3歯磨剤の効きめ（有効性）を調べることと安全性に問題のないことを確認することです。

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