

## 演題 B-18

(修復)

感染象牙質の除去における光誘導蛍光定量法の応用

大阪歯科大学 口腔衛生学講座、\*大阪歯科大学 歯科保存学講座

○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

Application of quantitative light-induced fluorescence method to evaluate bacterially-infected dentin  
Preventive and Community Dentistry, \*Department of Operative Dentistry, Osaka Dental University  
○KAWASAKI Koji, HIROSE Yasuaki\*, TAKASHIMA Ryutaro, SAKAI Reiko, UEMURA Mibu,  
INOUE Masayoshi\*, KAMBARA Masaki

### 目的

う蝕の修復治療において感染象牙質の除去が不十分であった場合、う蝕の再発を招く原因のひとつとなるため、感染象牙質の有無の診断は再発予防を考慮した修復治療における重要なポイントとなる。一般に感染象牙質の診断は視診による色調の変化、触診による象牙質の硬さ、う蝕検知液による染色などが指標となるが、これらの主観的診断は標準化が困難である。

エナメル質の表層下脱灰を、歯の持つ自家蛍光を応用した光誘導蛍光定量法 (Quantitative Light-induced Fluorescence、以下QLF法と略) によって非破壊的な定量的観察が可能であることは知られているが、QLF法により感染象牙質が発する蛍光も検出できることが明らかとなってきた。QLF法による診査は感染象牙質が発する蛍光をデジタル画像としてコンピュータに取り込み画像解析を施すもので、定量的に感染象牙質の性状を詳細に評価できる可能性がある。本研究ではヒトを対象に感染象牙質の除去を行う際に段階的なQLF法による評価を行い、感染象牙質の除去に対するQLF法の応用の可能性について検討した。

### 対象および方法

被験者はX線診査により確定した臨床的に修復治療が必要な象牙質に達するう蝕を持ち、インフォームドコンセントによる内容説明を行い実験の参加に同意を得た健康な成人3名とし、各被験者それぞれ2歯を対象とした。感染象牙質の評価はInspektor Proシステム (Inspektor Research Systems社製、オランダ) および青色発光ダイオードを照明として使用する口腔内カメラ、ペンスコープ (モリタ製作所製) により行った。Inspektor Proシステムでは蛍光が観察された感染象牙質の画像をデジタル画像としてコンピュータに取り込み、画像解析ソフトウェアにて、蛍光が観察された面積 (Area)、感染象牙質が発する蛍光強度の平均 ( $\Delta R$  Average)、感染象牙質が発する蛍光強度の最大値 ( $\Delta R$  Max) を算出した。

感染象牙質の除去は視診による色調の変化、触診による象牙質の硬さを基準としてラウンドバーおよび手用エキスカベータにより行い、その過程を段階的にInspektor Proシステムおよびペンスコープで観察した。

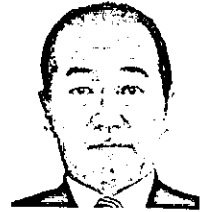
### 結果および考察

Inspektor Proシステムによる画像解析の結果、すべての被験歯において $\Delta R$  Maxはう蝕の開拡に伴って上昇し、エナメル質を除去することによって感染象牙質が露出すると最大値を示し、感染象牙質の除去が進むにつれ低下するという山型の変化を示した。同様の過程において、Areaは次第に減少するケースやほとんど変化を示さないケースがあり一定の傾向を示さず、 $\Delta R$  Average はほぼ一定の値を示した。ペンスコープによる診査では、臨床的に感染象牙質と診断した部位に一致して赤い蛍光が観察された。

Inspektor Proシステムによる解析結果においてAreaが一定の傾向を示さなかったのは、感染象牙質がほぼ除去できたケースや、露髄の危険性があったため感染象牙質の除去途中で暫間的間接覆髄法に移行したケースが存在したためであり、 $\Delta R$  Average がほぼ一定の値を示したのは平均値による表現では局所的な感染象牙質の存在を明示できなかったためと考えている。一方、 $\Delta R$  Max は感染象牙質の除去に対応した局所的な蛍光強度の変化が観察できたものと考えている。以上の結果から、QLF法の応用により感染象牙質が定量的に評価できる可能性のあることが明らかとなった。

## 『早期齲蝕検出法とその意味』

“Early Detection of Incipient Craies and its Importance  
in Orthodontic Treatment”



神原 正樹 (大阪歯科大学 口腔衛生学講座)

Masaki KAMBARA (Dept. of Preventive and Community Dentistry,  
Osaka Dental University)

### 略 歴

昭和 47 年 大阪歯科大学卒業  
昭和 51 年 大阪歯科大学大学院博士課程修了 歯学博士 (大阪歯科大学)  
昭和 51 年～昭和 52 年 大阪歯科大学 口腔衛生学講座 助手  
昭和 52 年～平成 5 年 大阪歯科大学 口腔衛生学講座 講師  
平成元年～平成 2 年 米国ボストン・フォーサイスデンタルセンターおよびオランダ・ワーゲニンゲン大学物理コロイド化学教室に留学  
平成 5 年～現在 大阪歯科大学 口腔衛生学講座 教授  
平成 5 年～現在 大阪歯科大学大学院研究科 教授  
平成 9 年～平成 13 年 大阪歯科大学教育情報センター所長  
平成 13 年～平成 14 年 大阪歯科大学大学院研究科 科長

### 学会および社会における活動など

平成 5 年 4 月～ 日本口腔衛生学会理事、日本口腔衛生学会近畿・中国・四国地方会常任幹事  
平成 6 年 2 月～ 大阪歯科学会常任理事  
平成 8 年 4 月～ 大阪口腔衛生協会副会長、日本歯科医師会産業歯科医検討会委員  
平成 9 年 4 月～ 大阪府歯科医師会生涯歯科保健推進協議会副会長  
平成 9 年 5 月～ 大阪府歯科医師会歯科医療需給関係検討諮問委員会委員長  
平成 9 年 9 月～ 日本歯科医学会情報処理検討委員会委員  
平成 9 年 10 月～ 私立大学情報教育協会歯学情報処理委員会委員長  
平成 9 年 11 月～ 日本レーザー歯学会評議員  
平成 10 年 7 月～ 日本歯科医学教育学会評議員  
平成 10 年 9 月～ 日本歯科人間工学会幹事  
平成 10 年 8 月～ 財団法人歯科医療研修振興財団歯科衛生士試験委員  
平成 12 年 7 月～平成 14 年 6 月 歯科医師試験委員  
平成 13 年 4 月～ 日本口腔衛生学会常任理事  
平成 14 年 4 月～ 共用試験 CBT 試験問題ブラッシュアップ委員会委員  
平成 14 年 4 月～ 日本保健医療行動学会評議員  
平成 15 年 1 月～ International Association for Dental Research Cariology Group President

### 主な著書

「口腔保健学」(医歯薬出版)  
「臨床家のための口腔衛生学」(永末書店)  
「臨床家のための社会歯科学」(永末書店)  
「THE ART OF ORAL HEALTH」(学建書院)  
「スタンダード口腔保健学」(学建書院)

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、齲蝕が顕著に減少し、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など歯科疾患構造や歯科医療への需要構造が変化し、さらに、近年の 8020 推進事業への支援強化、健康日本

21・健康増進法の設立・制定など、歯科医療を取り巻く社会構造も急速に変化していることなどの背景を見れば明らかである。

この構造変化への理念は、多歯科疾患時代における治療中心の時代から、1億2千万人住民の口腔の健康を支援する歯科界への変化であり、この変化への対応を社会から迫られている構図である。

このような急激な歯科医療を取り巻く社会環境が変化してきていることに、歯科界はどのような歯科医療を創造するのであろうか？ 歯科矯正医療も歯科疾患予防や健康増進に向かっているとすれば、あらゆる歯科矯正診療において予防や健康増進の視点からのアプローチが必要であり、この方向性に沿った技術開発を進展させ、応用していくことが肝要である。その中で、齲蝕に対する予防や健康増進のための Evidence-based な技術が出現し始めており、早期齲蝕検出が注目を集めている。

その中で、QLF法は他の早期齲蝕検出法とは異なる特徴（画像表示、定量化、モニタリング）を有しており、得られた興味深い結果を本講演で紹介する。この方法は、口腔の健康を獲得するための各種方面に影響を及ぼす可能性を保持し、歯科矯正医療が Evidence Based な健康保持・予防へ転換するきっかけになる。

## S2-4

### 歯科領域における光学研究の応用

○神原正樹

大阪歯科大学口腔衛生学講座

歯科疾患構造や歯科医療への需要構造が変化し、さらに、近年の8020推進事業への支援強化、健康日本21・健康増進法の設立・制定などの変化の中で、齲蝕に対する予防や健康増進のための光学領域の技術を応用したEvidence-basedな技術が出現し始めており、初期齲蝕早期検出が注目を集めている。

これまでの齲蝕診査は、齲蝕治療が必要な歯や部位を検出することが目的であるのに対し、齲蝕予防や健康増進を目的とした診査は、健全エナメル質から初期齲蝕 (early caries, 表層下脱灰像を示し、再石灰化によって回復するエナメル質齲蝕, 予防処置ですむ段階) の歯の診査を行おうとするものである。このことにより、Caries prevention is invisible (齲蝕予防は見えない)、からCaries prevention is visible (齲蝕予防が見える)、を行おうというのが早期齲蝕検出の意味である。

これらのうち、定量蛍光法 (QLF; Quantitative Light-induced Fluorescence) は、光照射することによる歯の保有する蛍光を励起し、反射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健全部との差を、フィルターを通してCCDカメラでコンピュータに取り込んだ画像を解析 (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) することにより脱灰部の定量化を図るものである。歯が蛍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<sup>6)</sup>が、エナメル質、象牙質の蛍光を可視、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。

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

QLF法を用いた臨床研究 (1年間) の結果では、齲蝕が進行した初期齲蝕は49.5%、齲蝕が回復 (再石灰化) した初期齲蝕41.5%であった。一方、ある種のフッ素配合歯磨剤を指示した初期齲蝕は、1年後71.5%の回復を示した。これまで報告されてきたフッ素配合歯磨剤の齲蝕抑制効果は、30-40%程度であった結果と比較すると非常に高い齲蝕抑制率であ

る。齲蝕検出を視診で行ってきた方法とQLF法の定量化による齲蝕検出との精度の違いを示したものと考えられる。

齲蝕予防実践のための技術、早期齲蝕検出法が完成すると、初期齲蝕の評価(進行・停止・回復)ができ、各歯に応じたテーラーメイド齲蝕予防治療が可能になる。また、現在行われている環境要因を中心とした齲蝕リスク評価に宿主要因を加えることができ、より、精度の高い齲蝕リスク評価を行うことができるようになる。さらに、齲蝕治療(充填処置、補綴処置)の二次齲蝕発現の有効性評価や新たな予防処置・剤の開発にもつながる可能性がある。



**P 028 Quantitative Light-induced Fluorescence (QLF) による早期齲蝕診断への応用**

○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<sup>1)</sup>, 田中秀直<sup>2)</sup>, 高島隆太郎<sup>3)</sup>, 神原正樹  
(大阪歯科大学口腔衛生学講座, <sup>1)</sup>同・大学院口腔衛生学専攻)

今日, 我々歯科医学専門家に対し Evidence Based Dentistry が要求され, 患者・国民への予防・治療に関する納得のいく説明が求められる中, 従来の視診やレントゲン法だけでは, 科学的な初期齲蝕の検出や初期う蝕内部で生じる脱灰・再石灰化の連続的な診断は困難である。そこで今回我々は, 新しく開発された早期齲蝕診断機器である QLF の臨床応用の可能性が示されたので報告する。

シンポジウム 1 S-001

●テーマ1 健康な心と身体は口腔から

# う蝕治療の最前線

モデレーター <sup>まつおたかし</sup> 松尾敬志 (徳島大学大学院 教授 (ヘルスバイオサイエンス研究部歯科保存学分野))



う蝕は人類の進化・発展と共に増加しており、いわば人類の業病と言えよう。う蝕について予防の大切さは言い尽くされてきたが、現在もなお drill and fill (切削と修復) がう蝕処置の中心となっている。「歯質の保存・保全が歯の寿命に重要」という minimal intervention も提唱されている今、初期のエナメル質う蝕に焦点を当て、エビデンスに基づきディスカッションすることは意義深い。今回この分野で活躍されている4人のシンポジストに「エナメル質診断」「PMTcと3DS (Dental Drug Delivery System) によるう蝕病原性バイオフィルムの制御」「再石灰化治療-実践と効果-」「臨床におけるう蝕のリスク診断」のサブテーマでご講演いただき、初期う蝕をどのように診断し、また処置・評価するかを考えて行きたい。

●略歴● 1980年 大阪大学歯学部卒業/1984年 歯学博士 (大阪大学), 日本歯科保存学会理事, 日本歯周病学会評議員



## S-001-1 エナメル質診断



<sup>かんばらまさき</sup> 神原正樹  
(大阪歯科大学 教授 (口腔衛生学講座))

う蝕への対応が歯科医療の中心課題であった時代から、う蝕が減少している時代へ変化してきている今、低う蝕時代に適応した歯科医療確立のために、う蝕の発症したエナメル質への対応から、発症前の一見健全な歯や目に見えないエナメル質内の変化をとらえることなどエナメル質診断へのエビデンスを得ることが望まれている。Prevention is visible. の時代である。

●略歴● 1972年 大阪歯科大学卒業/1976年 歯学博士 (大阪歯科大学), 日本口腔衛生学会常任理事, International Association for Dental Research Cariology Group President

### 歯肉炎の客観的観察法

大阪歯科大学大学院歯学研究科口腔衛生学専攻, \*大阪歯科大学口腔衛生学講座

○ 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\*

### The New Method of Objective Observation of Gingivitis

Graduate Search of Dentistry in Department of Preventive and Community Dentistry, Osaka Dental University, \* Department of Preventive and Community Dentistry, Osaka Dental University

○ Motohiro Izu, Mibu Uemura\*, Tatsuro Miyake\*, Koji Kawasaki\*, Masako Uene\*, Hidenao Tanaka, Masaki Kambara\*

キーワード: 診査機器, 画像解析, 歯肉炎

### 目的

歯肉の状態を客観的に把握する方法として、歯肉を特別に開発したCCDカメラで撮影し、その画像の解析値で歯肉の状態が客観的に観察できるかについて検討した。

### 方法

①被験者15名の前歯歯肉部を試作CCDカメラ(41万画素)で原寸大および40倍で撮影した。

②口腔内清掃を停止した。被験者には口腔内清掃を止めること以外生活行動に注意を与えなかった。

③口腔内清掃停止後1日目、2日目、3日目、5日目、7日目に①を行った。

画像解析方法: 画像解析ソフト IMAQ Vision Builder 6 (National Instruments) を用いて次の項目について解析した。

①3Dイメージ画像, ②炎症部面積および形状, ③色調 (HSVおよびRGB): Photoshop5.0(Adobe)を用い、HSVおよびRGBをモード化することにより歯肉色の可視化を行った。④赤色斑点の個数

### 結果および考察

#### ①炎症部位の定量化と可視化

CCDカメラ撮影部位を3Dイメージ画像として可視化することで、炎症部位の面積(mm<sup>2</sup>)と凹凸程度(mm)を定量化することが可能になった。

#### ②色調のモード化

歯肉部位の色調は、HSVおよびRGBの各パラメータの定量化値(0~255)が経時的に変化を示したが、モード画像の変化を有意に判別することはできなかった。このことから、歯肉の炎症変化を色調で解析する方法に再考の余地があることがわかった。

#### ③赤色斑点の個数

赤色斑点(微細血管)がはっきりと認識できたことにより、赤色斑点の数値化によって歯肉炎症度変化を定量化できる可能性が示唆された。

### 結論

歯肉の炎症度合を経過観察する場合、3Dイメージ画像や赤色斑点によって客観的に表現できた。このことにより、視診によって判断が困難であった経時的歯肉炎症部位を視覚的に表現できる可能性が示唆された。



Q L F法による歯垢付着特性の観察

大阪歯科大学口腔衛生学講座, \*大阪歯科大学歯周病学講座

○川崎弘二, 上村参生, 上田雅俊\*, 今井久夫\*, 神原正樹

Observation of dental plaque using quantitative light-induced fluorescence

Preventive and Community Dentistry, \*Dept. of Periodontology, Osaka Dental University

○Koji Kawasaki, Mibu Uemura, Masatoshi Ueda\*, Hisao Imai\*, Masaki Kambara

キーワード：Q L F, 蛍光, 歯垢

目的

エナメル質に生じた表層下脱灰を、歯の持つ自家蛍光を応用したQ L F (Quantitative Light-induced Fluorescence) 法によって非破壊的に定量的観察が可能であることは知られているが、Q L F法を応用した光学的診査によって歯垢が発する蛍光も検出できることが明らかとなってきている。歯垢の顯示には色素による歯垢染色法が応用されてきたが、色素による歯垢の染色は評価が難しい。各種インデックスや写真撮影による評価を行っても、得られる情報は歯垢付着面積の解析に留まってきたのが現状である。さらに、診査者の主観による各種インデックスや写真撮影による歯垢付着面積の評価は標準化が困難であった。Q L F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コンピュータに取り込み、画像解析を施すことによって、蛍光を発する面積、平均蛍光強度、最大蛍光強度を測定できる。すなわち、定量的な歯垢の性状を詳細に評価できる可能性がある。本研究では、ヒト口腔内に歯垢を蓄積させ、Q L F法による歯垢の経時的な評価を行い、Q L F法による歯垢付着特性を観察した。

研究方法

被験者は、インフォームドコンセントによる内容説明を行い実験の参加に同意を得た健康な成人10名とした。歯垢の評価はQ L Fシステム (Inspektor Research Systems, オランダ) により、蛍光が観察された歯垢の画像をデジタル画像としてコンピュータに取り込み、画像解析ソフトウェアにて、蛍光が観察された面積 (Area)、歯垢が発する蛍光強度の平均 ( $\Delta R$  Average)、歯垢が発する蛍光強度の最大値 ( $\Delta R$  Max) を算出した。被験者に歯口清掃を四日間にわたり停止させ、毎日Q L F法による診査を行ってデジタル画像を取得し、解析は初回と四日目のデータを対象に行った。

結果および考察

Area、 $\Delta R$  Average、 $\Delta R$  Maxの平均値は被験者ごとに異なる値を示した。また、すべての被験者において、被験者ごとのAreaの平均値および $\Delta R$  Maxの平均値は一日目よりも四日目のほうが高値を示した。被験者ごとの $\Delta R$  Averageの平均値についても、一名の被験者を除き一日目よりも四日目のほうが高値を示した。さらに、Area、 $\Delta R$  Average、 $\Delta R$  Maxの変化は被験者ごとに増加の傾向が異なっていることがわかった。以上の結果から、Q L F法の応用により各被験者の歯垢付着面積および蛍光強度に差があること、歯垢の成熟に比例して歯垢付着面積および蛍光強度が増加していくこと、さらに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、歯垢の詳細な性状についてQ L F法により定量的に評価できることが明らかとなった。すなわち、個人の口腔清掃状態の評価をQ L F法により行える可能性のあることが明らかとなった。

## デジタル画像解析による炎症性歯肉の経時的変化

○伊津元博<sup>1)</sup>, 酒井怜子<sup>1)</sup>, 高島隆太郎<sup>1)</sup>, 小室 崇<sup>2)</sup>, 小室美樹<sup>2)</sup>, 鬩斗秀光<sup>2)</sup>, 神原正樹<sup>2)</sup>  
<sup>1)</sup>大阪歯科大学大学院歯学研究科口腔衛生学専攻, <sup>2)</sup>大阪歯科大学口腔衛生学講座

要約：前回の口腔衛生学会総会で報告した歯肉診査システムを用い、男女15名のブラッシング停止後の上顎前歯歯肉を経時的に観察した。その結果、短期間の炎症の広がりを表現する方法として、色調だけで判断するのではなく、3Dイメージ画像で表現することが、視診による判断が困難な経時的歯肉炎症部位を視覚的に表現できる可能性が示唆された。(索引用語：歯肉炎, 診査機器, 3次元化)

口腔衛生会誌 54 (4), 2004

## 目的：

前回の口腔衛生学会総会で報告した歯肉診査システムを用い、ブラッシング停止後の上顎前歯歯肉の変化を経時的に観察した。

## 方法：

1. 被験者：本学学生で健康な男女15名とした。
2. 実験方法：被験者にインフォームドコンセントを行い同意取得後、通法に従いPMTCを行った。3日後より本実験を開始した。なお、この3日間は歯磨剤を使用せずに口腔内清掃を行うよう指示した。

歯肉観察の手順は以下の通りである。

1. 上顎前歯歯肉部をアナログ写真撮影した。
2. 上顎前歯歯肉部を試作 CCD カメラ (41万画素) で撮影した。
3. 口腔内清掃を停止した。ここで、被験者には口腔内清掃を止めること以外生活行動に注意を与えなかった。
4. 口腔内清掃停止後1日目, 2日目, 3日目, 5日目, 7日目に1および2を行った。

画像解析方法：画像解析ソフト IMAQ Vision Builder6 (National Instruments) を用いて次の項目について解析を行った。

1. 3D イメージ画像
2. 炎症部面積および形状
3. 色調 (HSV および RGB) は、画像処理ソフト Photoshop

5.0 (Adobe) を用い、HSV および RGB の定量値をモード化することにより歯肉色の可視化を行った。

## 結果および考察：

## 1. 炎症部位の定量化と可視化

CCD カメラ撮影部位を3Dイメージ画像(図1)として可視化することにより、炎症部位の面積(mm<sup>2</sup>)と凹凸程度(mm)を定量化することが可能になった。これより、炎症部位の広がりを表現できる可能性が示唆された。

## 2. 色調のモード化

辺縁歯肉部位の色調において、HSV および RGB の各パラメータの定量値(0~255)は経時的に変化を示した。しかし、モード画像の変化を顕著に判別することはできなかった。このことから、短期間の歯肉の炎症変化においては色調をモード化して歯肉色を可視化する方法に再考の余地があることがわかった。

以上により、短期間の炎症の広がりを表現する方法として、色調だけで判断するのではなく、3Dイメージ画像を用いて表現する方が有用であることが示唆された。

## 結論：

短期間における歯肉の炎症度合を経過観察する場合、3Dイメージ画像によって客観的に表現できた。このことにより、視診によって判断が困難であった経時的歯肉炎症部位が視覚的に表現できる可能性が示唆された。

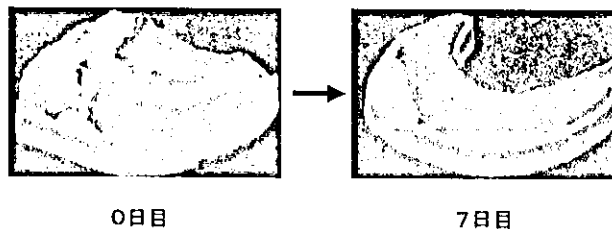


図1 3Dイメージ画像による炎症変化

## 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

○武内博朗<sup>1)</sup>, 的場一成<sup>2)</sup>, 奥田健太郎<sup>3)</sup>, 神原正樹<sup>4)</sup>, 花田信弘<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>国立保健医療科学院口腔保健部, <sup>2)</sup>株式会社モリタ製作所技術開発部, <sup>3)</sup>九州大学大学院歯学府地域口腔保健開発学, <sup>4)</sup>大阪歯科大学口腔衛生学講座

要旨: *Porphyromonas gingivalis* (以下 Pg 菌) は, 代謝産物としてポルフィリンを産生することが知られている. 本菌は, 歯周炎の起炎菌とのエビデンスが蓄積しており, PTC においても Pg 菌関連バイオフィルムを徹底除去することが重要である. 今回, その特異的検出系について報告する.

ポルフィリンに 400nm の可視光線を照射すると 600nm のオレンジ色の蛍光が発生する. この反応を利用して蛍光発色バイオフィルム, ならびに蛍光を発しないバイオフィルムを検出し, それぞれの構成菌比率をリアルタイム PCR 法を用いて, 口腔総菌数, 歯周病関連菌 (*Aa*・Pg・Bf・Pi) 4 菌種について解析を行なった. 対象者は, 軽度及び中等度歯周炎と診断され, かつ検査に同意の得られた者とした. 口腔総菌数に対する歯周病関連菌の比率は, 蛍光を発しないバイオフィルムの比率に対し蛍光発色バイオフィルムで著明に増加していた. また純粋培養した歯周病関連菌のコロニーのうち, Pg 菌が同様の蛍光を発することから, 本検出系は, 歯周病原性バイオフィルムの診断, 専門的検出技術となりうると思われ臨床的に有用と考えられる. (索引用語: バイオフィルム, 歯周病関連菌, *Porphyromonas gingivalis*)

口腔衛生会誌 54 (4), 2004

### 目的:

400nm の可視光線を照射し, 600nm オレンジ色の蛍光を発するバイオフィルムと歯周病原性細菌の相関関係を明らかにして, 光学的な細菌学的リスク因子検出方法を評価する.

### 方法:

口腔内カメラ「ベンスコープ」を使用して, 400nm の可視光線を軽度及び中等度歯周炎の患者の歯列に照射し, その画像より 600nm オレンジ色の蛍光を発するバイオフィルム, 蛍光を発しないバイオフィルムの分別を行った. 分別後 600nm オレンジ色の蛍光を発するバイオフィルム, 蛍光を発しないバイオフィルムを採取し, 同時に画像記録を行なった. なお口腔内カメラは, 白色 LED を使用する通常の照明機構と, 青色 LED を使用する照明機構の両照明機構及び, 不要な画像成分を除去する光学フィルターを備えたカメラである. バイオフィルムは, 100 $\mu$ l の滅菌蒸留水に懸濁し, 歯周病関連菌の PCR 検査のテンプレートとした. 上記 4 菌種についてリアルタイム PCR 法を用いた定量検査を実施し, 菌数 (copy/tube), 比率: % (歯周病関連菌数/口腔総菌数 $\times$ 100) の 2 項目を評価した. 細菌検査は, BML 社の検査システムを用いた. 全バイオフィルム検体の口腔総菌数の平均値を求め, 各バイオフィルム検体の (口腔総菌数/口腔総菌数の平均値) にて各検体間の補正係数を求めた. 各バイオフィルム検体の歯周病関連菌の copy 数に補正係数を乗じ, 補正菌数を算出し, 相互比較した. 歯周病関連菌比率は (補正菌数) / (口腔総菌

数の平均値) $\times$ 100 で算出した. 血液寒天培地上の Pg 菌のコロニーに 400nm の可視光線を照射し, 600nm オレンジ色の蛍光を分光光度計にて測定した. コントロールに他の口腔細菌群を用いた.

### 結果:

軽度及び中等度歯周炎の患者 (n=4) の, 600nm オレンジ色の蛍光を発するバイオフィルム中には蛍光を発しないバイオフィルムと比較して, 歯周病関連菌 (*Aa*・Pg・Pi・Bf) の構成比率が高いことが明らかとなった. 血液寒天培地上の Pg 菌のコロニーに, 400nm の可視光線を照射したところ, 600nm オレンジ色の蛍光を発することが確認された. さらに血液寒天培地上の Bf, *S. sobrinus* のコロニーに 400nm の可視光線を照射しても蛍光は発しなかった.

### 考察:

口腔バイオフィルムの検出技術には, バイオフィルムを一律に染色し, 付着面積および量的評価を知る方法が一般的である. これに対し本研究によって 600nm オレンジ色の蛍光を発するポルフィリン含有バイオフィルム中には, 少なくとも Pg 菌の構成比率は高く, 血液寒天培地上の Pg 菌のコロニーが同様の蛍光を発することが明らかとなった. このことから本法は, 病原性バイオフィルムの選択的検出ならびに質的診断を可能にしており, 臨床的に有用と考えられる.

## 初期う蝕病巣の回復・進行に関わる因子分析

○上村参生<sup>1)</sup>, 三宅達郎<sup>1)</sup>, 土居貴士<sup>1)</sup>, 上根昌子<sup>1)</sup>, 奥村紀子<sup>1)</sup>, 白石雅照<sup>1)</sup>, 奥村 信<sup>1)</sup>, 中嶋省志<sup>2)</sup>, 金子憲司<sup>3)</sup>, 神原正樹<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>大阪歯科大学口腔衛生学講座, <sup>2)</sup>ライオン株式会社オーラルケア研究所, <sup>3)</sup>ライオン歯科衛生研究所

要約：初期う蝕病巣の回復・進行に影響を及ぼす因子を検索する目的で、1年間の初期う蝕病巣の変化について光誘導蛍光定量法 (QLF) による追跡研究を行った。その結果、初期う蝕病巣変化には、QLF 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 配合歯磨剤を使用した場合、初期う蝕病巣変化は、年齢因子に依存していることが明らかとなった。(索引用語：初期う蝕, QLF, 多重ロジスティック回帰分析)

口腔衛生会誌 54 (4), 2004

## 目的：

前回の本学会で、*in vivo* の追跡研究において光誘導蛍光定量法 (QLF) 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 使用による追跡研究で示すことができた。今回、我々は初期う蝕病巣の回復改善・進行拡大に影響を及ぼす因子を検索する目的で、本研究を行った。

## 方法：

## 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。

## 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、QLF システム (QLF™System, Inspektor Research Systems, オランダ) で観察し、画像データとして保存した。保存 QLF 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 ( $\Delta F$  [%]), 最大脱灰深さを表す最大蛍光強度減少度 ( $\Delta Max$  [%]), 初期う蝕病巣の広がり (面積) を表す Area [mm<sup>2</sup>] および脱灰量を表す  $\Delta Q$  ( $\Delta F \times Area$  [%mm<sup>2</sup>]) 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 SPSS12.0J 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: 1,000ppmF 濃度), 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0.5~1.0gの歯磨剤の使用を指示した。また、QLF 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。

## 結果および考察：

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  $\Delta Q$ ,  $\Delta F$  および  $\Delta Max$  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。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。

## 結論：

以上の結果から、初期う蝕病巣の回復・進行の変化には、QLF 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 F 配合歯磨剤の使用法を考慮することが、効率のよい蝕予防を可能にすることが示された。(平成15年度文部科学省科学研究費：課題番号 15390658)



## 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

○上村参生, 川崎弘二, 神原正樹

大阪歯科大学口腔衛生学講座

(uemura@cc.osaka-dent.ac.jp)

## Clinical study of quantitative light-induced fluorescence for early detection of dental caries

Mibu Uemura, Koji Kawasaki, Masaki Kambara

Department of Preventive and Community Dentistry, Osaka Dental University

## 1. 目的

早期う蝕診断の目的は、単に、白斑として認められる初期う蝕の検出だけではなく、白斑以前の初期う蝕の検出、初期う蝕かどうかの判定(科学的な初期う蝕の検出)、あるいは、初期う蝕病巣のプロセス(進行性、停滞性、回復性)の把握、いわゆる初期う蝕のモニタリングである。このような早期う蝕診断が可能になれば、診断に基づくう蝕予防プログラムが構築でき<sup>1)</sup>、効率のよいう蝕予防が可能となる。

そこで、我々は、エナメル質の蛍光反射量の変化によって、初期う蝕の検出および初期う蝕病巣の定量評価が可能であるといわれている Quantitative Light-induced Fluorescence (QLF)<sup>2-5)</sup>を臨床応用して、初期う蝕診断の可能性を検討することを目的に本研究を行った。

## 2. 実験対象および方法

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65名である。なお、対象者には、実験開始時にインフォームドコンセントの取得を試みたところ、すべての対象者から同意が得られた。

初期う蝕の観察には、QLF (QLF<sup>TM</sup> System, Inspektor Research Systems, The Netherlands)を用い、得られた初期う蝕のQLF画像データを画像解析ソフトによって、初期う蝕病巣の脱灰量を表す $\Delta Q$  [% $\times$  mm<sup>2</sup>]および最大脱灰深さを表す $\Delta$  Max [%]の2つの測定パラメータについて分析を行った。

実験期間は1年間とし、開始時および12ヵ月後に測定を行った。対象者には1年間継続的にフッ化物が含有されていない歯磨剤を用い、一日2回のブラッシングとブラッシング1回につき0.5-1.0gの歯磨剤の使用を指示した。

## 3. 結果および考察

$\Delta Q$ の初期値をベースラインとした1年後の $\Delta Q$ 値の分布からみた初期う蝕の変化は、回復した病巣、進行(脱灰量の増加)した病巣および変化なしの3種類に分かれ、それぞれ40.0%、49.2%および10.8%を示した。 $\Delta$  Maxについての結果も同様に、回復病巣、進行病巣および停滞病巣に分かれることが示された。すなわち、すべての初期う蝕は、経時的に多様な進行様相を呈することが明らかとなった。

以上のことから、初期う蝕診断がQLFを使用することにより、可能であることがわかった。

## 4. 結論

QLFを臨床応用することにより、初期う蝕病巣の定量評価が、経時的に可能であり、早期う蝕診断が可能であることを示した。

## 文献

- 1) 神原正樹. 予防歯科へのテクノロジー—齲蝕予防における早期齲蝕診断—, 日本歯科医師会雑誌, 56: 15-22, 2003.
- 2) Stookey GK; Practical applications of early caries detection methods.; in Stookey GK. edit.: Early Detection of Dental Caries, 357-363, Indiana University School of Dentistry, 2000.
- 3) de Josselin de Jong EJ, Sundrom F, Westerling H, Tranacus D, 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) Ando M, Hall AF, Eckert GJ, Schemehorn BR, et al. Relative ability of laser fluorescence techniques to quantify early mineral loss in vitro., Caries Res. 31:125-131, 1997.
- 5) 上村参生, 神原正樹. 早期う蝕診断への機器応用の必要性, 歯科評論, 63:161-165, 2003.

5 QLF 法による歯垢検出技術の評価に関する研究

川崎 弘二・高島隆太郎\*・伊津 元博\*・上村 参生  
 ・朴 容徳\*\*・神原 正樹(大阪歯大・口腔衛生, \*大  
 阪歯大・大学院・口腔衛生, \*\*慶熙大学校歯科大学予防歯科  
 学教室)

QLF (Quantitative Light-induced Fluorescence) 法によってエナメル質表層下脱灰の非破壊的な定量的観察ができることは知られているが, 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我々の研究により明らかとなった。従来, 歯垢を顕示するために色素による歯垢染色法が応用されてきたが, 色素による歯垢の染色は評価が難しく, 各種インデックスや写真撮影による評価を行っても, 得られる情報は歯垢付着面積の解析に留まってきたのが現状である。さらに, 診査者の主観による各種インデックスや写真撮影による歯垢付着面積の評価は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困難であった。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, コンピュータによる画像解析を施すことによって, 蛍光を発する面積, 平均蛍光強度, 最大蛍光強度を測定できる。すなわち, 定量的な歯垢の性状を詳細に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 法による歯垢の経時的な評価を行い, QLF 法による歯垢検出技術の可能性を検討したので報告する。

被験者は, インフォームドコンセントによる内容説明を行い実験の参加に同意の得られた健康な成人 10 名とした。歯垢の評価は QLF システム (Inspektor Research Systems, オランダ) により, 蛍光が観察された歯垢の画像をデジタル画像としてコンピュータに取り込み, 画像解析ソフトウェアにて, 蛍光が観察された面積 (Area), 歯垢が発する蛍光強度の平均 ( $\Delta R$  Average), 歯垢が発する蛍光強度の最大値 ( $\Delta R$  Max) を算出した。被験者に歯口清掃を四日間にわたり停止させ, 毎日 QLF 法による診査を行ってデジタル画像を取得し, 解析は初回と四日目のデータを対象に行った。

その結果, Area,  $\Delta R$  Average,  $\Delta R$  Max の平均値は被験者ごとに異なる値を示した。また, すべての被験者において, 被験者ごとの Area の平均値および  $\Delta R$  Max の平均値は一日目よりも四日目のほうが高値を示した。被験者ごとの  $\Delta R$  Average の平均値についても, 一名の被験者を除き一日目よりも四日目のほうが高値を示した。さらに, Area,  $\Delta R$  Average,  $\Delta R$  Max の変化は被験者ごとに増加の傾向が異なっていることがわかった。以上の結果から, QLF 法の応用により各被験者の歯垢付着面積および蛍光強度に差があること, 歯垢の成熟に比例して歯垢付着面積および蛍光強度が増加していくこと, さらに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, 歯垢の詳細な性状について QLF 法により定量的に評価できることが明らかとなった。すなわち, 個人の口腔清掃状態の評価を QLF 法により行える可能性のあることが示唆された。

Evaluation of dental plaque using quantitative light-induced fluorescence

Koji Kawasaki, Ryutarō Takashima\*, Motohiro Izu\*, Mibu Uemura, Yong-duk Park\*\* and Masaki Kambara (Dept. Preventive and Community Dentistry, Osaka Dental Univ., \*Graduate Sch. Dentistry (Preventive and Community Dentistry) and \*\*Dept. Preventive Dentistry, College of Dentistry, Kyung Hee Univ.)

We investigated the detection and analysis of dental plaque using quantitative light-induced fluorescence (QLF). The QLF examination of the digital image of dental plaque was used to calculate the detected area (Area), the average red-fluorescence intensity ( $\Delta R$  ave) and the maximum red-fluorescence intensity ( $\Delta R$  max) in 10 healthy volunteers who refrained from tooth brushing for three days. Each of the three parameters increased at a different rate for the three days. We concluded that the QLF examination can distinguish and quantify the three parameters, and evaluate the rate of dental plaque formation.

#### 4 デジタル画像による辺縁歯肉の分析

○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\* (大阪歯大・大学院・口腔衛生, \*大阪歯大・口腔衛生)

歯肉炎の診査は、視診による色調の変化や腫脹・発赤の有無、WHO プローブを用いた歯肉の出血などで行っていた。しかし、現状での診査者の主観的な判断や臨床経験に基づいた診査に止まっているのではなく、客観的に歯肉の状態を把握することが、歯肉炎の予防だけでなく、歯周組織の予防においても重要になってくると考えられる。そのため、歯肉の状態を客観的に把握する方法として、歯肉を特別に開発した CCD カメラで撮影し、その画像を解析することによって得られる定量的値で歯肉の状態を表現する方法を考案した。そこで、今回の実験は、歯肉のデジタル画像を解析した定量的値変化がより客観的に歯肉の状態を表現できるか検討してみた。

19~30 歳の成人 25 人の上顎右側中切歯辺縁歯肉を歯肉撮影用 CCD カメラ (41 万画素) にて原寸大および 40 倍拡大で撮影した。その後、3 日間口腔内清掃を停止したのち、前回と同様に撮影を行った。このデジタル画像を画像解析ソフト IMAQ Vision Builder 6 (National Instruments) を用いて、3 次元化による歯肉表面形状、歯肉の色調 (赤味・彩度・明度)、および赤色斑点 (微細血管) の個数について分析を行った。このよう

にして得られた各パラメーターの定量的値を 3 次元化による歯肉表面形状の凹凸差を基準として、3 つのカテゴリーに分類し、各カテゴリーにおいて歯肉の変化が客観的に表現できているかどうか検討してみた。

3 次元化による歯肉表面形状の変化は各カテゴリーともにブラッシング停止後にはほぼ同じ高低差を示し、歯肉の凹凸に変化がみられなくなっていることが表現された。また、歯肉の色調変化は、赤味では各カテゴリーともにブラッシング停止後にはほぼ同様の赤味の定量的値を示していた。彩度 (鮮やかさ) では、初期時に歯肉に凹凸が顕著でなかったカテゴリーは必ず黒くなるのに対して初期時に凹凸がある程度みられたカテゴリーは鮮やかになる変化を示した。明度においては、初期時に歯肉に凹凸が顕著でなかったカテゴリーは暗くなるのに対して初期時に凹凸がある程度みられたカテゴリーは明るくなる変化を示した。このことから、色調変化は初期時の歯肉の凹凸状態により赤黒い色調から白色に近い赤色に変化することが表現された。最後に赤色斑点の個数は各カテゴリーともに減少傾向がみられた。このことから、歯肉の凹凸が顕著でなくなるにつれ歯肉内部の赤色斑点が見えにくくなることが表現された。

これらのことにより、各パラメーターを用いることによって客観的に歯肉の状態を表現している可能性が示唆された。

#### Analysis of marginal gingiva with digital images

Motohiro Izu, Koji Kawasaki\*, Ryutaro Takashima, Masako Uene\*, Tatsuro Miyake\* and Masaki Kambara\* (Graduate Sch. Dentistry (Dept. Preventive and Community Dentistry), and \*Dept Preventive and Community Dentistry, Osaka Dental Univ.)

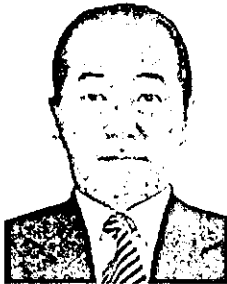
We investigated the use of digital image analysis to objectively evaluate the condition of marginal gingiva. Digital images were taken of the gingiva of 25 subjects using a special CCD camera with various magnifications. The subjects had been requested not to brush for three days. Five parameters were analyzed: hue, lightness, saturation, three-dimensional image, and amount of microvasculature. We found that this apparatus could be useful for the objective evaluation of gingiva because changes could be expressed quantitatively.



## 5. 齲蝕予防における早期齲蝕診断

大阪歯科大学口腔衛生学講座 教授

神原 正樹



## ■略歴

- 1972年 大阪歯科大学卒業
- 1976年 大阪歯科大学大学院博士課程修了
- 1976年 大阪歯科大学口腔衛生学講座助手
- 1977年 大阪歯科大学口腔衛生学講座講師
- 1989年～1990年 米国ボストン・フォーステンタムセンターおよび  
オランダ・ワグeningen大学物理コロイド化学教室に留学
- 1993年 大阪歯科大学大学院研究科・口腔衛生学講座教授
- 1997年～2001年 大阪歯科大学教育情報センター所長
- 2001年～2002年 大阪歯科大学大学院研究科科長

近年の 8020 推進事業への支援強化、健康日本 21 の歯科保健目標・健康増進法の設立・制定など、歯科医療を取り巻く歯科疾患構造・社会構造が急速に変化している。この構造変化の理念は、多歯科疾患時代における治療中心の時代から、1 億 2 千万人住民の口腔の健康を支援する歯科界への変化であり、この変化への対応、すなわち新たな歯科医療体系の構築が社会から迫られていることである。その中で、齲蝕に対する真の予防や健康増進を達成するための Evidence-based な技術が出現し始めており、初期齲蝕（表層下脱灰の再石灰化可能なエナメル質齲蝕）の早期齲蝕検出が注目を集めている。これまでの齲蝕予防は、健全エナメル質から初期齲蝕（early caries）までの変化の過程がモニターできておらず、真の齲蝕予防が実践されていなかったのが現状である。そこで、Caries prevention is invisible（齲蝕予防は見えない）から Caries prevention is visible（齲蝕予防が見える）への変遷を行おうというのが早期齲蝕検出である。この技術により、Caries Lesion（齲蝕窩洞：ある時点における齲蝕の進行段階を表す）や Caries Process（齲蝕進行：Biofilm，歯表面，表層下エナメル質の相互作用として生じる）がとらえられ、Caries Detection（齲蝕検出：齲蝕があるかどうかを決定する客観的方法）や Caries Assessment（齲蝕評価：検出後の齲蝕の特性あるいは監視を目的としたもの）として、Progression of Caries（齲蝕進行性）、Arrestment of Caries（齲蝕停止性）、Regression of Caries（齲蝕回復性）が評価できることになる。また、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出来ることなどが早期齲蝕検出法に要求されている。初期齲蝕の早期検出技術は、21 世紀の歯科医療を予防歯科医療へと変革するターニングポイントである。