

Ⅲ) APF群：実験開始前にAPFゲル(9000 ppm F)をエナメル質試料に5分間作用させた。

e) QLF法による脱灰程度の評価

Inspektor Pro システム (QLF™、Inspektor Research Systems 社製、オランダ)により初期う蝕試料の脱灰程度の評価を行った。デンタル画像の取得は試料表面について水滴を吸い取り、25℃にて15分間乾燥させたのちに撮影した<sup>9,4)</sup>。得られたデジタル画像は付属の画像解析ソフト(QLF200h)により解析した。今回は脱灰程度の指標としてマイクロラジオグラムによる脱灰量と相関する指標であるΔQ値を用いて解析を行った。脱灰程度の評価は、24、48、72、96時間目に行った。

#### ④唾液タンパク質および各種フッ化物応用がエナメル質の再石灰化に及ぼす影響

a) 唾液総タンパク質の精製

パラフィルム咀嚼により採取したヒト刺激全唾液(n=2)の遠心分離(10,000 g、10分)上清に最終濃度1 mMになるように0.2 M フェニルメチルスルフォニルフルオリドを添加し、透析膜(MW cutoff: 8,000)を用い蒸留水で一昼夜4℃にて透析を行い、再び遠心分離し(10,000 g、10分)上清を凍結乾燥させ唾液総タンパク質を得た。

b) エナメル質初期う蝕試料の作製

ウシエナメル質試料(直径5 mm)の表面を耐水ペーパー(#600、#1000、#1500)ゲル状研磨剤(gamma alumina: 0.05 μm)にて鏡面研磨した後、脱灰溶液(乳酸: 100

mM、ハイドロキシアパタイト: 3 g/L、カルボキシメチルセルロース: 0.2 g、PH: 5.0)に37℃で48および96時間浸漬し、低脱灰群および高脱灰群の初期う蝕試料を各40試料作製した。

c) 初期う蝕試料の再石灰化およびフッ化物応用

初期う蝕試料は再石灰化溶液(KCl: 130 mM, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>: 0.9 mM, CaCl<sub>2</sub>: 1.5 mM、HEPES: 20 mM, 0.2%アジ化ナトリウム, PH: 7.0)に浸漬した。フッ化物応用は以下の4種を行った。

I) 対照群：再石灰化溶液のみに浸漬。

II) タンパク質添加群：唾液総タンパク質を添加した再石灰化溶液(タンパク質濃度: 0.1 mg/ml)に浸漬。

III) フッ化物配合歯磨剤群：(II)に加え1日3回、フッ化物配合歯磨剤(950 ppm F)溶液(1 g/14 ml)に浸漬。

IV) フッ化物配合歯磨剤+APF群：(III)に加えAPFゲル(9,000 ppm F)を実験開始前および実験開始後14日目に5分間作用。

d) QLF法による観察

再石灰化の観察はQLF法(Inspektor Research Systems, The Netherlands)により行った。QLF法は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し、初期う蝕を定量的に評価する方法である。QLF法の測定は再石灰化の過程を実験開始前および実験開始後3、6、9、12、15、21、28日目に行い、

脱灰量を示す $\Delta Q$  ( $\% \cdot \text{mm}^2$ ) 値を算出した。

### ⑤QLF法による歯垢検出技術の評価に関する研究

#### a) 被験者

対象者は健康な成人女性10名とした(平均年齢24.5歳)。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、安全、福祉および利益を最大限に優先した。大阪歯科大学医の倫理委員会に実施計画書、説明文書を提出し実施の承認を得た(受付番号11)。承認済みの説明文書をもとに対象者に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。

#### b) 歯垢の評価法

QLF法(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(Inspektor Pro; Inspektor Research Systems、オランダ)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(図22、23)。

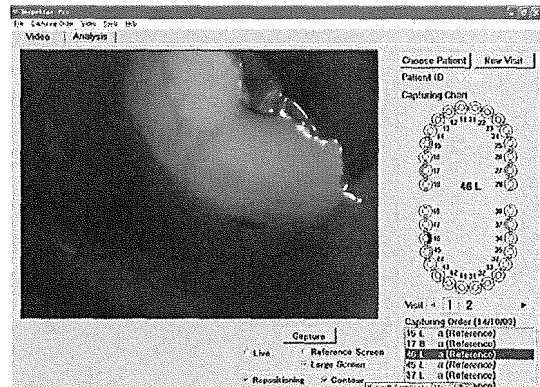


図22 QLF法により撮影した口腔内画像

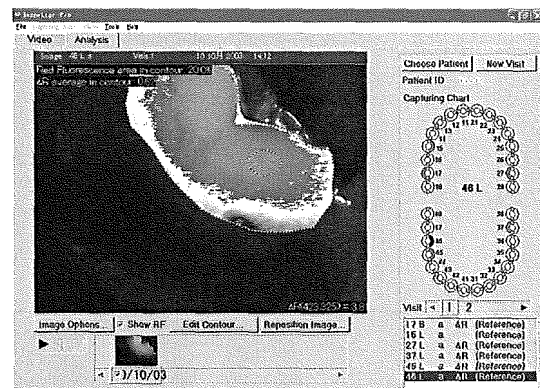


図23 QLF法による口腔内画像解析

蛍光が観察された面積(Area)は、撮影した歯面における蛍光の観察された面積をパーセント表示したものである。歯垢が発する蛍光強度の平均( $\Delta R$  Average)は、健全歯面が発する蛍光をリファレンスとし、それに対する歯垢の蛍光強度の平均を求めたもので、歯垢が発する蛍光強度の最大値( $\Delta R$  Max)も同様に求められる。

#### c) 診査スケジュールおよび解析

被験者に歯口清掃を四日間にわたり停止させ、毎日診査を行ってQLF画像を撮影した。解析は初回と四日目のデータを対象

に行った。

#### ⑥ Q L F 法および P C R 法の応用による歯垢特性の評価

##### a) 被験者

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（大阪歯科大学医の倫理委員会 承認番号 11）。

##### b) 歯垢の評価

歯垢の評価は Q L F システム (Inspector 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。

##### c) 診査スケジュール

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。

##### d) 歯垢の P C R 解析

各被験者から採取した赤い蛍光を発する歯垢と、赤い蛍光を発しない歯垢について、BML 社 (東京) の P C R 法による歯周病関連菌の検査を行い、口腔内総細菌数に占める歯周病関連菌の割合を算出した。解析を行った歯周病関連菌は以下の通りである。

*Actinobacillus actinomycetemcomitans*

*Porphyromonas gingivalis*

*Prevotella intermedia*

*Tannerella forsythensis*

*Treponema denticola*

#### ⑦ 歯周疾患患者における光診査法の応用による歯垢特性の評価

##### a) 被験者

被験者は、大阪歯科大学附属病院の歯周治療科に来院した患者で、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成人 11 名とした（大阪歯科大学医の倫理委員会 承認番号 11）。

##### b) 歯垢の評価

蛍光歯垢の付着部位の観察には、ペンスコープ (モリタ製作所、京都) を用い、全歯面 (1 歯 4 歯面) における蛍光性歯垢の付着歯面を記録、総被検歯面に占める蛍光性歯垢の付着部位の割合 (%) を算出した。また、ペンスコープで蛍光性歯垢が確認された部位のうちの一箇所を Inspector Pro (Inspector Research System 社、オランダ) を用いてデジタル画像としてコンピュータに取り込み、画像解析を行って、蛍光を発する歯垢の平均蛍光強度 ( $\Delta R$  Average)、最大蛍光強度 ( $\Delta R$  Max) を算出した (図 24)。

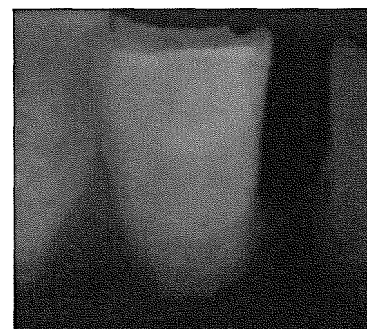


図 24 Inspector Pro により撮影した  
蛍光性歯垢

### c) 歯周組織の診査

Russell の Periodontal Index (PI) <sup>98)</sup> により歯周組織の臨床症状を診査し、被験者の歯周疾患の重症度とした。また、6 点法にて全歯のポケット深さの測定を行った。

Inspector Pro により撮影を行った歯は、アタッチメントロス、プロービング後の出血の有無についても診査した。

### d) 歯垢の菌叢の解析

歯肉縁上の歯垢はスケーラーをもちいて直接採取したものを検体とし、縁下の歯垢はペーパーポイントを2本歯肉溝内に挿入、10秒経過後にとりだして検体とした。得られた検体はBML(社)の歯科検査サービスを利用して、PCRインベーター法により歯周病関連菌の検査を行って、口腔内総細菌数に占める各歯周病関連菌の割合(%)を算出した。解析を行った歯周病関連菌は以下の6菌種である。

*Actinobacillus*

*actinomycetemcomitance (A.a)*

*Porphyromonas gingivalis (P.g)*

*Prevotella intermedia (P.i)*

*Bacteroides forsythensis (B.f)*

*Treponema denticola (T.d)*

*Fusobacterium nucleatum (F.n)*

### ⑧感染象牙質の除去におけるQLF法の応用

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

Inspector Pro システム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、図25)により行った。

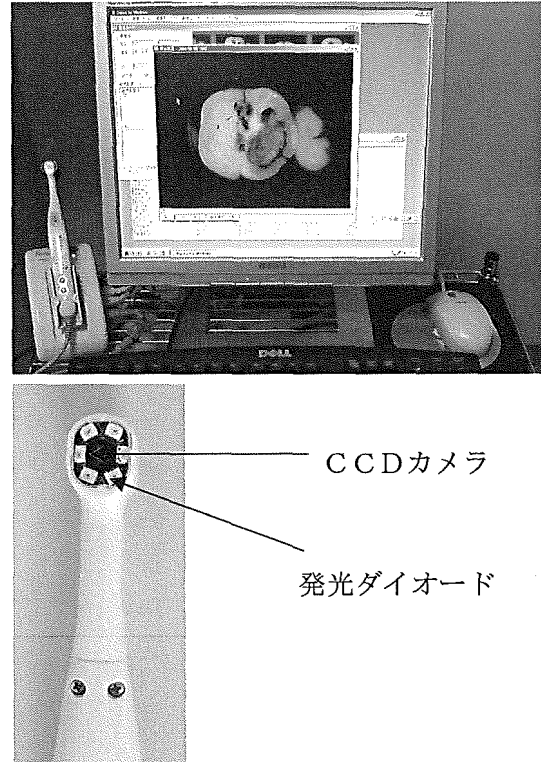


図25 ペンスコープ

Inspector 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 Inspector

Pro システムおよびペンスコープで観察した。

#### ⑨義歯装着患者に対するQLF法の応用

被験者は本学附属病院に来院され、欠損歯部を可撤性局部床義歯にて補綴されている成人3名（被験者A、B、C）で、実験開始前にインフォームドコンセントの取得を行った。なお、本研究は本学の倫理委員会の承認を得て行った。

被験者Aは70歳女性、義歯装着後約2年で、義歯清掃は1日に1回手用歯ブラシで、被験者Bは50歳女性、義歯装着後約半年で、義歯清掃は1日に2回手用歯ブラシで、被験者Cは74歳女性、義歯装着後約7年で、義歯清掃は1日に2回手用歯ブラシにて行っている。すべての被験者において夜間は装着せず水に浸けており、義歯洗浄剤は使用していなかった。



図26 被験者Aの義歯

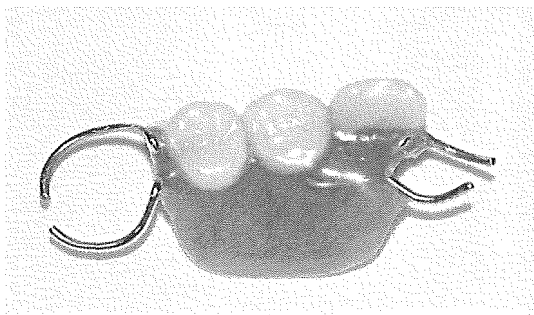


図27 被験者Bの義歯

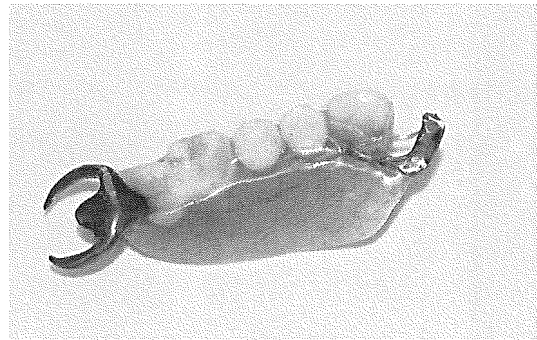


図28 被験者Cの義歯

各被験者について、残存歯の頬、舌、咬合面、義歯の義歯床面、人工歯およびクラスプをInspektor Proシステム（Inspektor Research Systems社、オランダ）およびペンスコープ（モリタ製作所）による撮影を行った。Inspektor Proシステムでは撮影した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Inspektor Proプログラム（Inspektor Research Systems社、オランダ）にて蛍光強度の評価を行った。

#### ⑩画像解析を応用した初期歯肉炎診査

##### a) 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。

##### b) 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PMT C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。

c) 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

d) CCD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 14 mm 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) 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。

e) QLF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。

f) 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。

g) QLF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  $\Delta R$  値の解析を行った。

⑩口腔内蛍光測定用のプローブ開発

方法論としては、極めて初期のう蝕部位に結合するとともに、QLFで使用される励起光波長 (青色光) や蛍光波長 (緑黄色あるいは赤色) の光を吸収する微粒子の開発をおこない、均一的蛍光発光の健全歯部位と極初期う蝕部位との区別化を行うことである。

歯試料に接触・吸着させる微粒子系としてヘマタイト微粒子 (約 2 ミクロン) をもちいた。これは QLF において使用される励起光波長や蛍光波長の光を吸収する光特性をもつ。ヘマタイト粒子の表面性状を変えるため種々の分子量の Poly-L-lysine

(PLL) をその表面に吸着処理をおこなった。それぞれ分子量、2,900、22,400、189,400 の Poly-L-lysine 塩酸塩の水溶液にヘマタイト粒子を加え回転攪拌装置で混合攪拌を行い吸着処理した。このとき、Poly-L-lysine はヘマタイト粒子に比べ過剰量とした (図 1)。

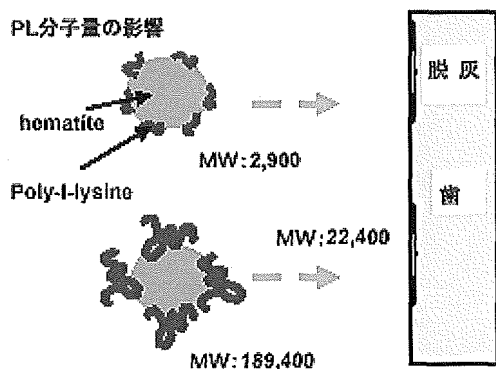


図 29 ヘマタイト微粒子の吸着

抜歯試料（人歯）を準備し標準的脱灰液を含浸した脱脂綿あるいは濾紙のパッチを歯試料の特定部位に任意時間付着させる。脱灰液組成はCaCl<sub>2</sub>：3 mM、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>：10 mM、NaCl：100 mM、乳酸：100 mM、pH 4.5である。任意の処理時間後にパッチを外し、蒸留水で洗浄後プローブ微粒子分散液と接触させる。水洗後蛍光顕微鏡観察をおこなう。抜歯サンプル全体の観察は低倍率の実体顕微鏡に蛍光観察用光源として水銀ランプ光源を付加したものを使用し、また倍率をあげた観察は倒立型蛍光顕微鏡（Xeランプ光源）を用いて行った（対物レンズ×5、×20倍）。

#### ⑫歯列不正と齲蝕との関連評価、臨床試験

東京医科歯科大学歯学部附属病院矯正歯科外来の9歳から29歳までの外来来院患者の術前・術中診査並びに口腔衛生指導時の資料を用いた。

矯正歯科治療前患者の上下顎前歯部（永久中切歯・側切歯・犬歯）について、歯列不正、不正咬合のうち叢生、空隙の有無、低位咬合（犬歯低位唇側転位や開咬、萌出

中などで咬合線に達していないもの）の有無、口腔清掃状態、その他の特記事項等を記録した。必要に応じて、小白歯・大白歯部、欠損部や抜歯部位の周囲などについても記録した。

QLF法におけるリアルタイム口腔内蛍光ビデオカメラ（Inspektor Pro 口腔内蛍光カメラ、Inspektor Research Systems BV, Amsterdam, The Netherlands）を用いて、アングルワイダーを装着して口腔内全体の蛍光観察を行った。

次に、上下顎中切歯・側切歯・犬歯の唇側面と舌側面、および必要に応じた部位の静止画を撮影し、デジタル画像としてパーソナルコンピュータ内のハードディスクドライブに保存した。静止画の撮影にあたっては可及的に、ガーゼやエアダスターにより歯面の乾燥を保つこと、外光が入らないようにカメラの周囲を手で覆うこと、カメラの向きを規格化することについて配慮した。歯垢・歯石や着色が顕著であった場合は、初期う蝕が確認できるよう研磨清掃し、再度撮影を行なった。

さらに、必要に応じて、付属の画像解析ソフトウェア（Inspektor Pro Software, Inspektor Research Systems BV, Amsterdam, The Netherlands）により、初期う蝕病巣に関しては、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（ $\Delta Max\%$ ）、初期う蝕病巣の面積を表すArea（mm<sup>2</sup>）、脱灰量を表す $\Delta Q$ （ $\Delta F \times Area$ ）を算出した。

歯垢・歯石が発する赤色蛍光に関しては、各歯面において設定した解析エリア内における、設定した基本エリアの赤色蛍光レベ

ルより高い赤色蛍光強度がある面積 (Area)、赤色蛍光強度の平均 ( $\Delta R$  Average)、赤色蛍光強度の最大値 ( $\Delta R$  Max) を算出した。

得られたデータは、叢生、空隙の有無、低位咬合の有無などで分類し、統計解析ソフト (SAS Enterprise Guide Ver.3.0, SAS Institute INC, North Carolina, USA) を用いて Fisher の正確な検定を行った。

### C. 研究結果

#### ①QLF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

##### a) 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31、●および○)、非鏡面試料では約-17%であった (図31、◆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。

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。

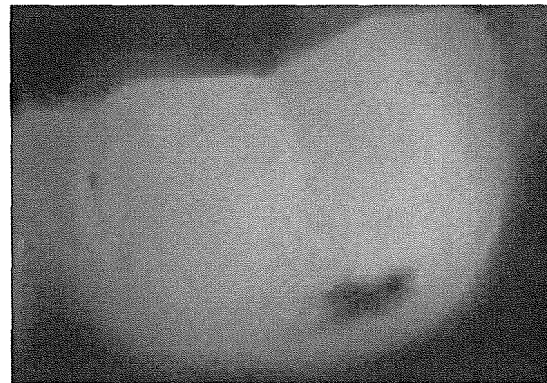


図30a QLF法によるエナメル質表層下脱灰像

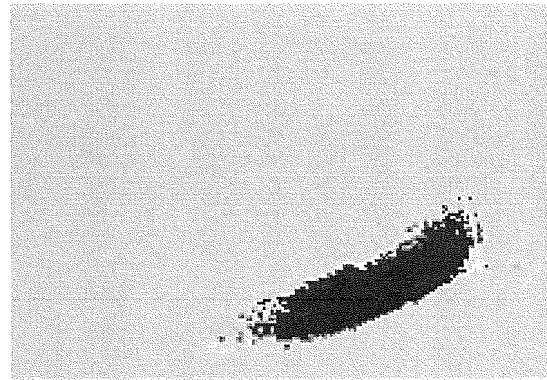


図30b QLF法によるエナメル質表層下脱灰画像解析

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。



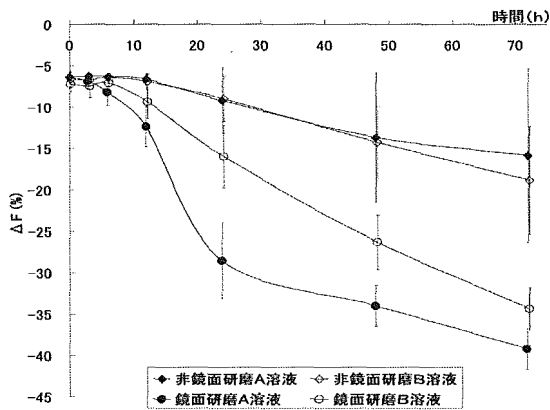


図3 1 エナメル質試料の表層下脱灰に伴う  $\Delta F$  の経時的变化

b) 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および0.1 ppm F 群よりも有意に高かった ( $p < 0.05$ ) (図3 2、3 3)。

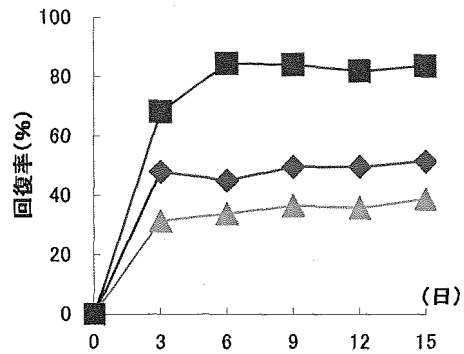


図3 2 回復率の変化 (低脱灰群)

(■ 1 ppm F、▲ 0.1 ppm F、  
 ◆ 0 ppm F)

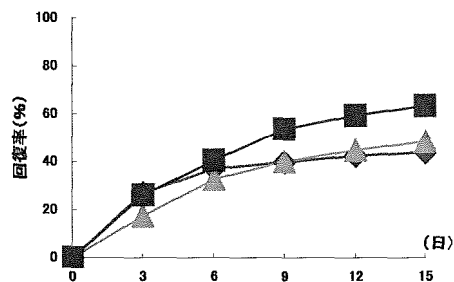


図3 3 回復率の変化 (高脱灰群)

(■ 1 ppm F、▲ 0.1 ppm F、  
 ◆ 0 ppm F)

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

a) 低脱灰群の初期う蝕試料の再石灰化

$\Delta F$  値が $-8\%$ および $-16\%$ （それぞれ $\pm 4$ ）を示した初期う蝕試料を低脱灰群と群分けした。再石灰化過程の評価の結果、すべてのフッ化物応用において、 $-8\%$ 群（図34）は3日、 $-16\%$ 群（図35）は6日以内に平衡状態に達した。コントロール群とフッ化物配合歯磨剤群、APF群とフッ化物配合歯磨剤+APF群はそれぞれ近似した $\Delta F$  値の変化を示し、前者と後者の統計的有意差は、 $-8\%$ 群は3日目、 $-16\%$ 群は6日目に現われた。

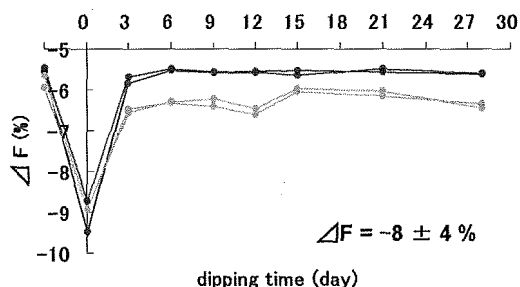


図34  $\Delta F = -8\%$ 群の再石灰化過程

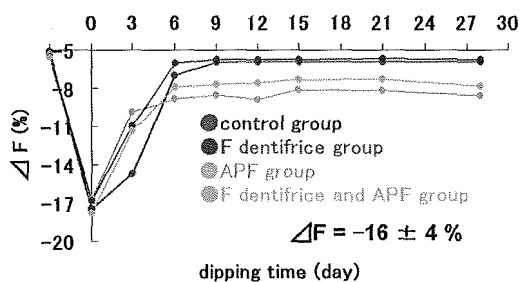


図35  $\Delta F = -16\%$ 群の再石灰化過程

b) 高脱灰群の初期う蝕試料の再石灰化

$\Delta F$  値が $-24\%$ および $-32\%$ （それぞれ $\pm 4$ ）を示した初期う蝕試料を高脱灰群と群分けした。再石灰化過程の評価の結果、コントロール群とフッ化物配合歯磨剤群、 $-24\%$ 群（図36）および $-32\%$ 群（図37）は15日目以内に平衡状態に達した。APF群およびフッ化物配合歯磨剤+APF群は、 $-24\%$ 群では9日目以内、 $-32\%$ 群では12日目以内に平衡に達した。コントロール群とフッ化物配合歯磨剤群、APF群とフッ化物配合歯磨剤+APF群の統計的有意差は、 $-8\%$ 群および $-16\%$ 群において9日目に現われた。

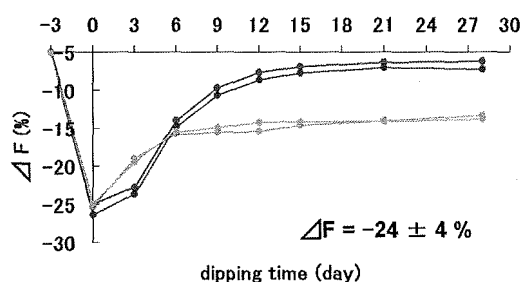


図36  $\Delta F = -24\%$ 群の再石灰化過程

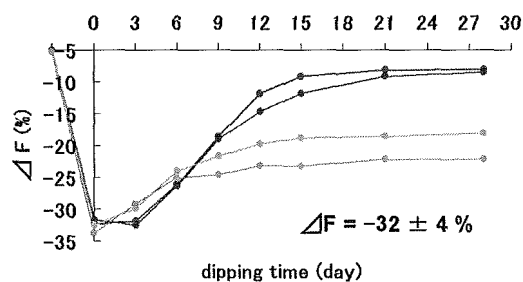


図37  $\Delta F = -32\%$ 群の再石灰化過程

③唾液タンパク質およびフッ化物応用がエナメル質の脱灰に及ぼす影響

a) コントロール群（フッ化物非応用）の経時的な脱灰の評価

ムチン非添加の場合、四日目の $\Delta Q$ 値は約 $-160$  ( $\text{mm}^2 \cdot \%$ )を示した。0.29 mg/mlの濃度でムチンを添加すると、脱灰はやや抑制され、4日目の $\Delta Q$ 値は約 $-130$  ( $\text{mm}^2 \cdot \%$ )であった。0.87 および 2.70 mg/mlの濃度でムチンを添加した場合、脱灰の傾向はほぼ同じ様相を示し、4日目の $\Delta Q$ 値は約 $-85$  ( $\text{mm}^2 \cdot \%$ )であった。

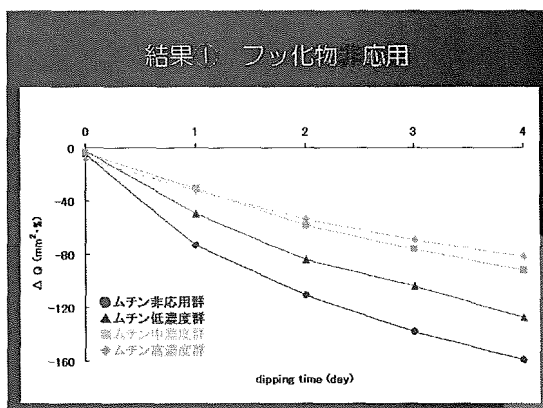


図38 コントロール群の経時的な脱灰過程

b) フッ化物配合歯磨剤群の経時的な脱灰の評価

ムチン非添加の場合、四日目の $\Delta Q$ 値は約 $-30$  ( $\text{mm}^2 \cdot \%$ )を示した。0.29、0.87 および 2.70 mg/mlの濃度でムチンを添加した場合、脱灰の傾向はほぼ同じ様相を示し、四日目の $\Delta Q$ 値は約 $-13$  ( $\text{mm}^2 \cdot \%$ )であった。

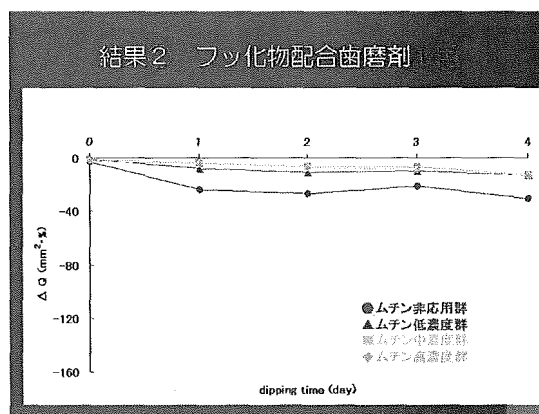


図39 フッ化物配合歯磨剤群の経時的な脱灰過程

c) APF群の経時的な脱灰の評価

ムチンの濃度に関わらず、脱灰の傾向はすべての試料でほぼ同じ様相を示し、4日目の $\Delta Q$ 値は約 $-7$  ( $\text{mm}^2 \cdot \%$ )以下であった。

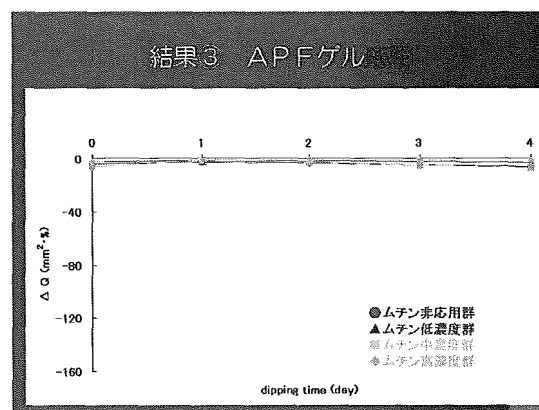


図40 APF群の経時的な脱灰過程

④唾液中タンパク質および各種フッ化物応用がエナメル質の再石灰化に及ぼす影響

再石灰化の指標は $\Delta Q$ 値をもとに回復率で評価した。低脱灰群はすべての群が近似した回復率の変化を示し6日目以内で90%以上再石灰化後、平衡に達した。高脱灰群においてはフッ化物配合歯磨剤+APF 応用群以外が近似した回復率の変化を示し15日目以内で80%以上再石灰化後、平衡に達した。またフッ化物配合歯磨剤+APF 応用群は15日目以降、対照群に比べ有意に再石灰化率の低下がみられた( $p<0.05$ )。

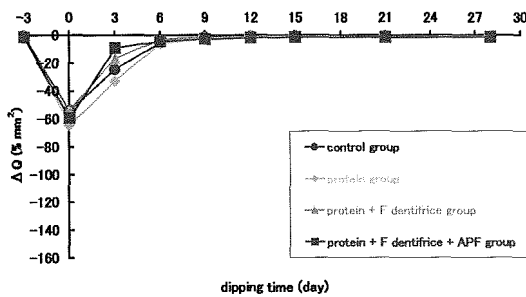


図4.1 低脱灰群の再石灰化時間に伴う $\Delta Q$ 値の変化

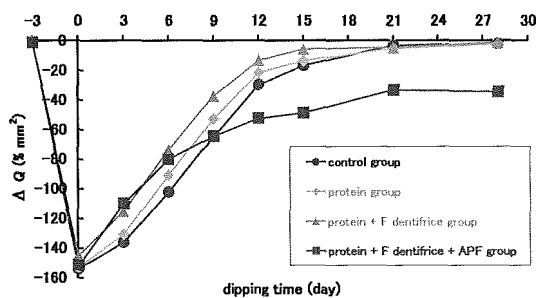


図4.2 高脱灰群の再石灰化時間に伴う $\Delta Q$ 値の変化

表1 各フッ化物処理群における $\Delta Q$ 値の統計的有意差 ( $P<0.05$ )

	control group		protein group		protein + F dentifrice group	
	低脱灰群	高脱灰群	低脱灰群	高脱灰群	低脱灰群	高脱灰群
protein group	3日目					
	6日目					
	9日目					
	12日目					
	15日目					
	21日目					
protein + F dentifrice group	3日目		*			
	6日目					
	9日目					
	12日目					
	15日目					
	21日目					
protein + F dentifrice + APF group	3日目	*	*			
	6日目					
	9日目					
	12日目			*		*
	15日目		*	*		*
	21日目		*	*		*

⑤QLF法による菌垢検出技術の評価に関する研究

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(図4.3、4.5)。被験者ごとの $\Delta R$  Averageの平均値についても、1名の被験者を除き1日目よりも4日目のほうが高値を示した(図4.4)。

Areaにおける被験者全体の平均値は約13%から20%に増加し、 $\Delta R$  Averageにおける被験者全体の平均値は0.40から0.46に増加し、 $\Delta R$  Maxにおける被験者全体の平均値も0.88から1.27に増加した。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。

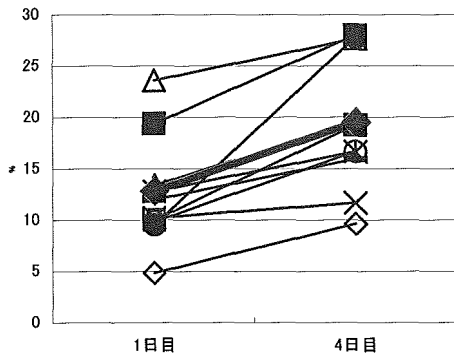


図 4 3 Area の平均値の経日的変化 (赤は被験者全体の平均値を示す)

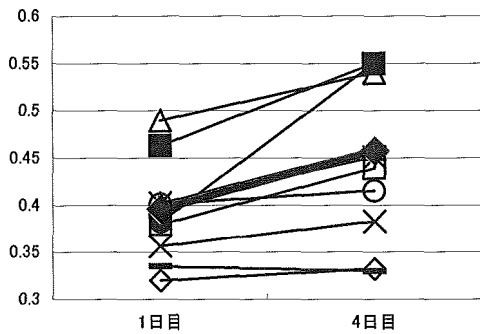


図 4 4 ΔR Average の平均値の経日的変化 (赤は被験者全体の平均値を示す)

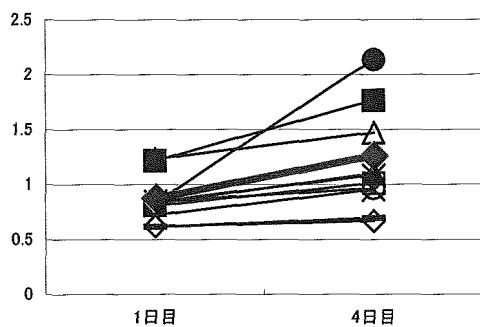


図 4 5 ΔR Max の平均値の経日的変化 (赤は被験者全体の平均値を示す)

#### ⑥QLF法およびPCR法の応用による歯垢特性の評価

図 4 6 に示すように、PCR法による歯垢構成菌の分析結果によると、赤い蛍光を発する歯垢には歯周病関連菌が多く存在していた。

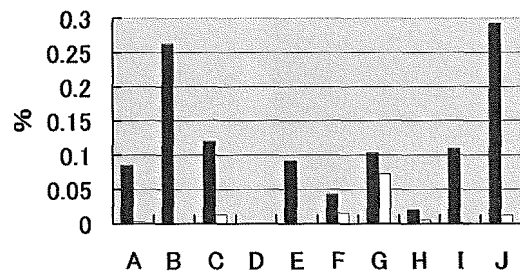


図 4 6 各被験者ごとの総細菌数に占める歯周病関連菌の割合 (赤いバーは赤い蛍光を発する歯垢、白いバーは赤い蛍光を発しない歯垢の分析結果を示す)

#### ⑦歯周疾患患者における光診査法の応用による歯垢特性の評価

図 4 7 に示すように、蛍光性歯垢の付着割合と P I との間に関連性は認められなかった。また、蛍光性歯垢が認められた歯の平均ポケット深さは  $3.00 \pm 0.75$  mm、認められなかった歯は  $2.96 \pm 1.09$  mm であり、大きな差は認められなかった。さらに、Inspector Pro により撮影を行った歯のポケット深さ、アタッチメントロス、プロービング後の出血の有無と ΔR Average、ΔR Max との関連性も認められなかった。

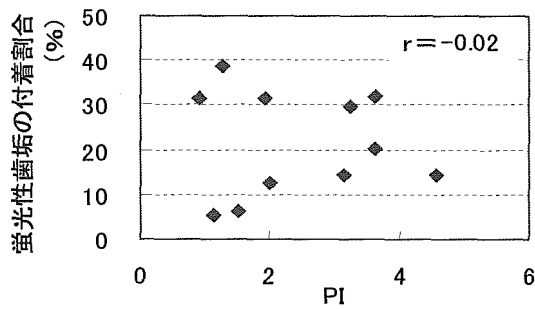


図4.7 蛍光性菌垢の付着割合とPIとの関連

次に、 $\Delta R$  Average および  $\Delta R$  Max を独立変数とし、各歯周病関連菌の割合を従属変数として回帰分析を行ったところ、 $\Delta R$  Average と歯肉縁上および縁下の *T.d* の割合、 $\Delta R$  Max と縁下の *T.d* の割合との間に関連が認められた (表2、表3)。

表2  $\Delta R$  Average と各歯周病関連菌の割合との関連

	決定係数	有意確立
A.a	縁上	0.201 0.170
	縁下	0.130 0.277
P.g	縁上	0.000 0.993
	縁下	0.085 0.385
P.i	縁上	0.093 0.362
	縁下	0.024 0.651
B.f	縁上	0.216 0.150
	縁下	0.140 0.257
T.d	縁上	0.451 <b>0.024</b>
	縁下	0.909 <b>0.000</b>
F.n	縁上	0.050 0.507
	縁下	0.162 0.220

表2  $\Delta R$  Max と各歯周病関連菌の割合との関連

	決定係数	有意確立
A.a	縁上	0.350 0.055
	縁下	0.232 0.133
P.g	縁上	0.004 0.849
	縁下	0.045 0.529
P.i	縁上	0.044 0.535
	縁下	0.018 0.693
B.f	縁上	0.140 0.257
	縁下	0.211 0.155
T.d	縁上	0.146 0.247
	縁下	0.818 <b>0.000</b>
F.n	縁上	0.043 0.540
	縁下	0.306 0.078

⑧感染象牙質の除去におけるQLF法の応用

エックス線写真の撮影により、う蝕の存在が疑われる部位を実体写真により撮影すると、表面の連続性が保たれているためう蝕の存在は視診では明確ではない (図4.8 a、b)。

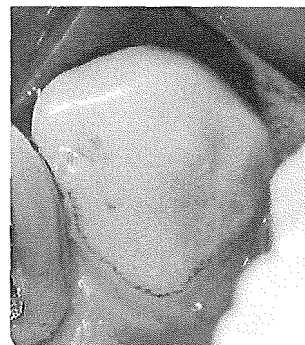


図4.8 a 実体写真

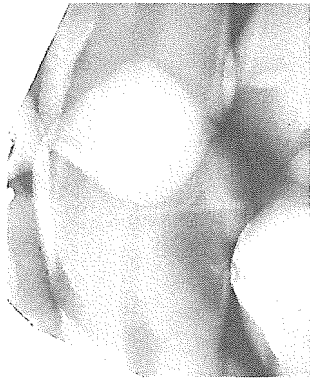


図48b エックス線写真

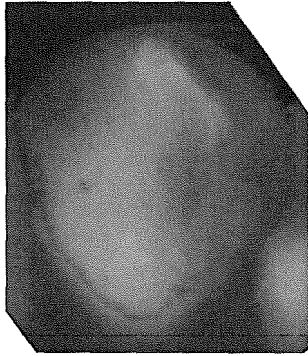


図48c Inspektor Pro



図48d ペンスコープ

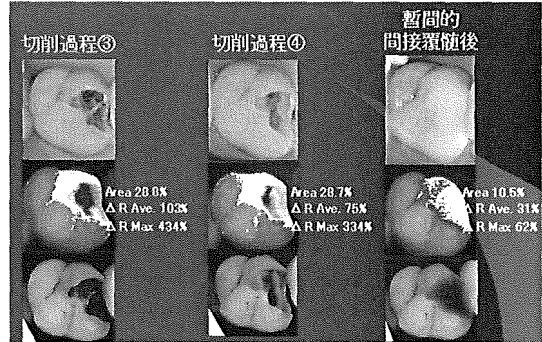
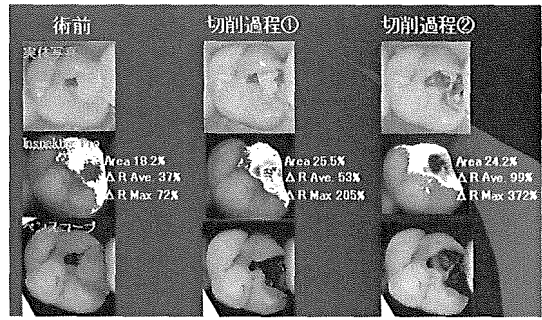


図49 う窩の開拡に伴う赤色蛍光の変化

しかし、Inspektor Pro システムおよびペンスコープによるデジタル画像ではう蝕部位と一致して赤い蛍光が観察された。

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 はう窩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 (図50)。

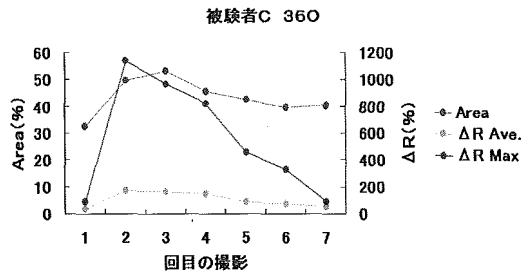
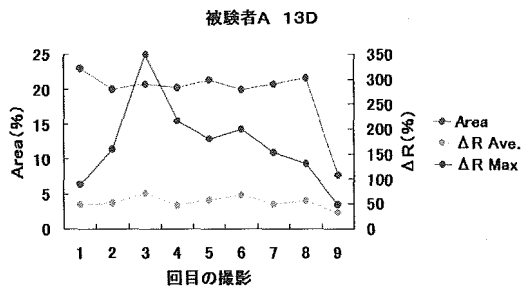


図50 う窩の開拡に伴うQLFパラメータの推移（上：被験者A、下：被験者C）

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、ΔR 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。

⑨義歯装着患者に対するQLF法の応用

被験者の義歯を観察した結果、義歯床部、クラスプ、残存歯のうち全部鑄造冠などの金属部には蛍光が観察されなかった。一方、残存天然歯、人工歯（レジン歯、硬質レジン歯）には蛍光が観察された。

初期う蝕の観察については、多くの支台歯には全部鑄造冠が装着されており、蛍光を発しなかったためQLF法による評価ができなかった。しかし、歯垢や歯石の存在を示す赤色蛍光は、画像解析の結果、最大蛍光強度を示すΔR Max の値は被験者B

の支台歯で29%、被験者Cの人工歯表面で502%であった。

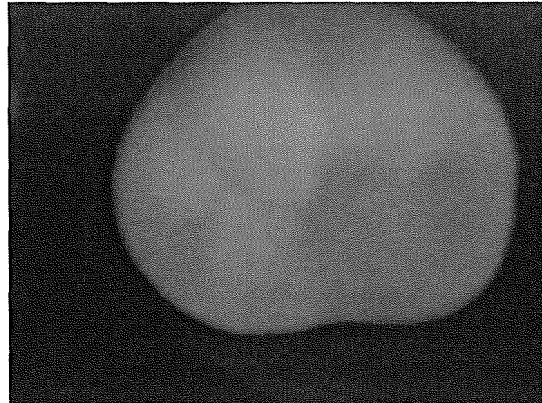


図51 Inspektor Pro システムにより取得したレジン歯のデジタル画像

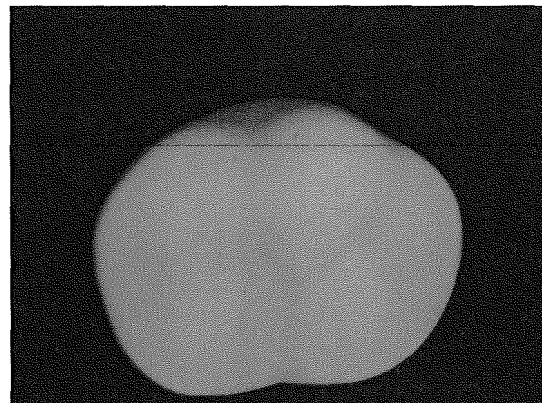


図52 ペンスコープにより取得したレジン歯のデジタル画像

⑩画像解析を応用した初期歯肉炎診査

a) 口腔内撮影用一眼レフカメラによる歯肉観察

図53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。

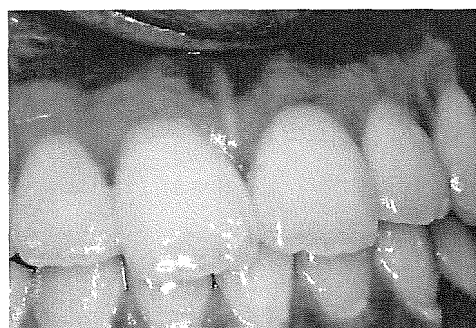


図 5 3 上顎正中前歯部歯肉正面観  
(上：0日目、下：7日目)

#### b) CCDカメラによる歯肉観察

図 5 4 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 5 5 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付着歯肉部に広がっていく変化を明確観察できた。

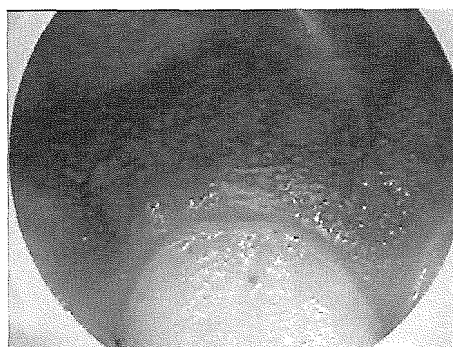


図 5 4 ブラッシング停止 7 日後の上顎右側中切歯歯肉

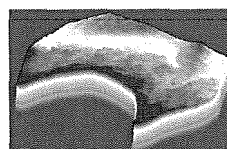
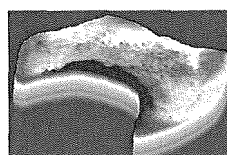
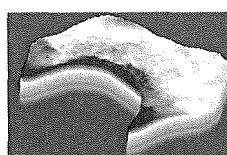


図 5 5 三次元化処理を行った画像  
(上：1日目、中：3日目、下：7日目)

#### C) QLF法による歯肉分析

図 5 6 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、 $\Delta R$  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。

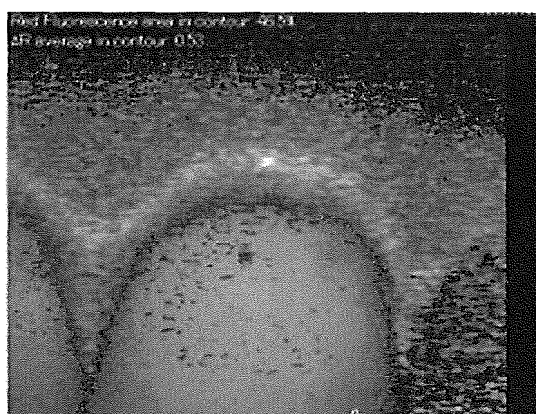


図56 QLF法による $\Delta R$ 解析画像  
(上：0日目、下：7日目)

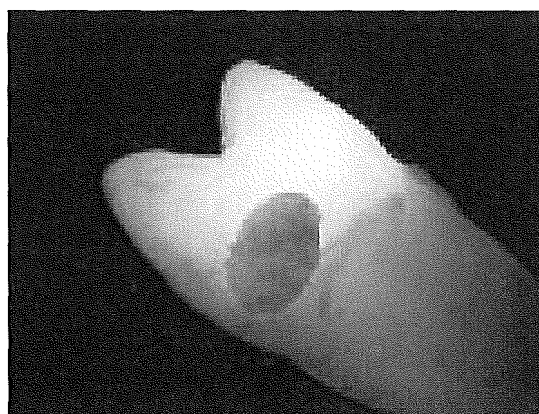


図57a 脱灰処理中の歯試料



図57b 脱灰処理後の歯試料

#### ⑩口腔内蛍光測定用のプローブ開発

図57a及び図57bに標準的脱灰液を  
含浸した脱脂綿を載せた状態で脱灰処理を  
行っている歯試料と脱灰処理後に脱脂綿を  
除いた歯試料の写真を示す。この脱灰処理  
はQLFで容易に暗部画像として観察でき  
る程度のものである。

図58は図57の試料をPLL吸着処理  
したヘマトイト粒子分散液と混合した後水  
洗した試料の顕微鏡写真を示す。図53b  
の脱灰部と非脱灰部の境界付近の拡大写真  
である。

このうち図58a、bはPLL分子量  
2,900、図58cは分子量、189,400の場合  
である。図58aの低倍率像の右側下部に  
見られる暗部は脱灰部である。図58bの  
高倍率像には非脱灰部と脱灰部の境界付近  
に微粒子が付着した黒点が観察されるが完  
全な脱灰部で黒点を観察するのは難しい。

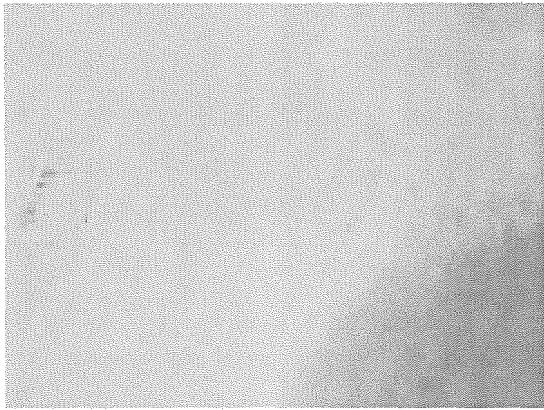


図58a 対物レンズ ×5倍

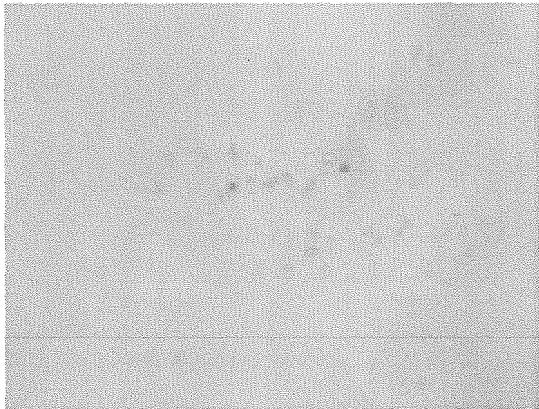


図58b 対物レンズ ×20倍

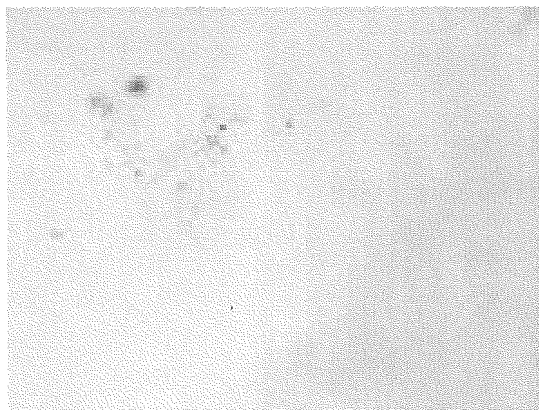


図58c 対物レンズ ×20倍

図58cは高分子量のPLL (189,400)を用いた場合の図58bに相当する像である。やはり、非脱灰部と脱灰部の境界付近

に微粒子が付着した黒点が観察されるが完全な脱灰部には黒点はみられない。

次に、脱灰処理の程度が大きくない場合について述べる。図59aと図59bはそれぞれ脱灰液を含んだ濾紙パッチを着けたときと処理後剥がしたときの像である。図59bから判るように実体顕微鏡でのQLF像からは暗部が観察されない程度の脱灰処理によるものである。

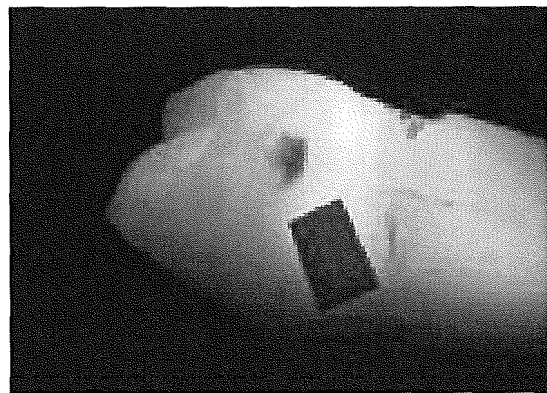


図59a 濾紙パッチを貼付した歯

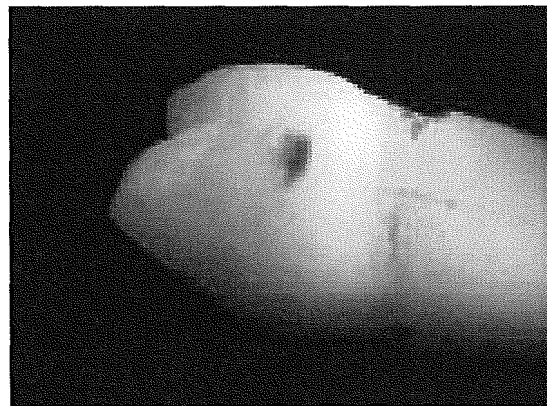


図59b 濾紙パッチを除去した状態

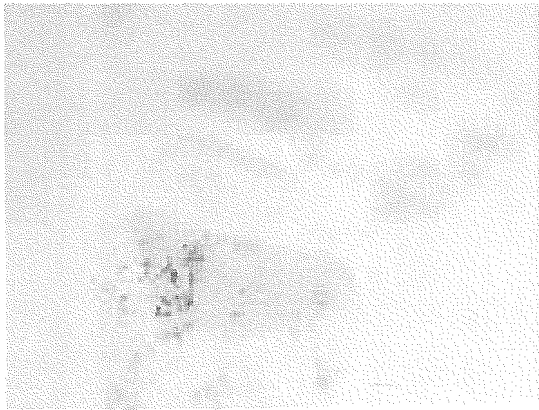


図59c 対物レンズ ×20倍

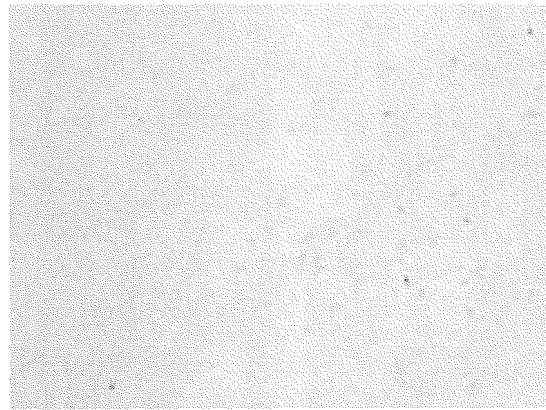


図60b PLL (22,400)

図59cにはPLL (189,400) 吸着処理粒子分散液に歯試料を入れた後洗浄乾燥した試料の顕微鏡像を示す。図59bでは暗部が観測されなかった領域でも微粒子が付着した黒点が観測され、歯表面が脱灰している可能性を示している。

別の歯試料において上記と同様な実験をPLLの分子量を変えて行った結果を図60に示す。分子量が大きいPLL (189,400) とPLL (22,400) では粒子吸着による黒点が観察されたが、分子量が極めて小さいPLL (2,900) では黒点は容易には観察されなかった。

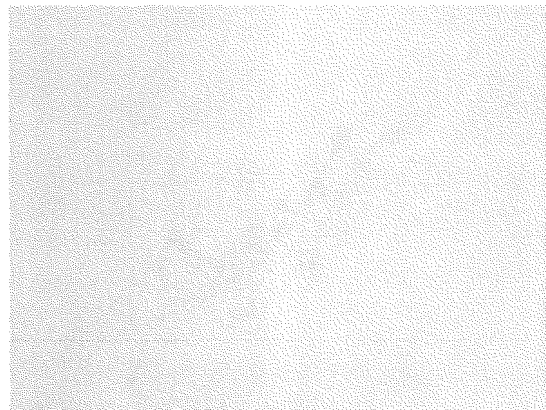


図60c PLL (2,900)

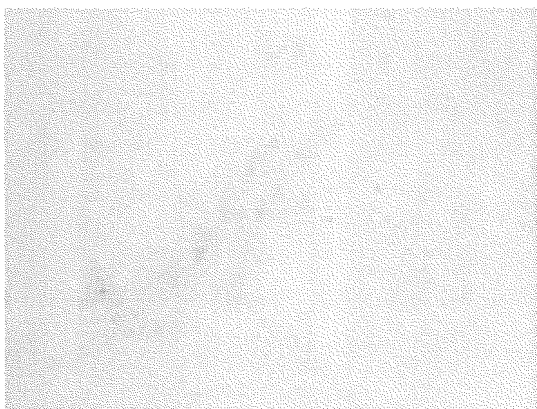


図60a PLL (189,400)

#### ⑫歯列不正と齲蝕との関連評価、臨床試験

叢生がある部位では叢生がない部位に比べ、治療済みのう蝕が多かった。まれに初期う蝕が検出されることもあった(図61)が、多くの成人症例では初期う蝕の段階で検出することは困難であった。

口腔清掃不良の若年者では、叢生、低位咬合部位により多くの初期う蝕が認められる傾向にあった(図62)。