

**Table 1** Application of dentifrice slurries and rinsing solution products in different experimental groups (groups 1–7) with various fluoride (F) agents, fluoride concentrations and pH-levels. Five root samples in each group.

| Product               | F concentration (p.p.m. F) | Application   | F-salt   | pH  | Branch     | Group |
|-----------------------|----------------------------|---------------|----------|-----|------------|-------|
| Dentifrice + solution | 1400                       | Twice per day | NaF      | 7.0 | n          | 1     |
|                       | 0                          | Once per day  | –        | 7.0 | ps         |       |
|                       | 1400                       | Twice per day | AmF      | 4.7 | Elmex-sen  | 2     |
|                       | 0                          | Once per day  | –        | 7.0 | ps         |       |
|                       | 1400                       | Twice per day | AmF      | 4.7 | Elmex-sen  | 3     |
|                       | 0                          | Once per day  | AmF + KF | 4.7 | Elmex-sen+ |       |
|                       | 1400                       | Twice per day | AmF      | 4.7 | Elmex-sen  | 4     |
|                       | 250                        | Twice per day | AmF + KF | 4.7 | Elmex-sen+ |       |
|                       | 0                          | Twice per day | –        | 7.0 | pd         | 5     |
|                       | 0                          | Once per day  | –        | 7.0 | ps         |       |
|                       | 1250                       | Twice per day | NaF      | 7.0 |            | 6     |
|                       | 0                          | Once per day  | –        | 7.0 | ps         |       |
|                       | 1250                       | Twice per day | AmF      | 4.7 | Elmex-cp   | 7     |
|                       | 0                          | Once per day  | –        | 7.0 | ps         |       |

n, normal dentifrice; Elmex-sen, Elmex sensitive dentifrice; Elmex-cp, Elmex caries protection; pd; placebo dentifrice; Elmex-sen+, Elmex sensitive plus rinse solution (test); ps, placebo solution; NaF, sodium fluoride; AmF, amine fluoride; KF, potassium fluoride.

resistance behaviour during drying with air under conditioned circumstances on root dentin at the start of the trial (baseline) and after 3 and 6 weeks respectively. Each root caries lesion area was analysed 10 times, by randomly positioned measuring points within the exposed root surface area of approximately 2 × 3 mm. Electrical resistance measured was expressed in Ohm units.

Dentine sections of each root surface lesion, 350 µ thick, were cut transversally from the remineralised human root samples after the last measurements with the ECM. TMR of the root samples were made together with an aluminium step wedge on film (Fuji Z&W POS/71337; Fuji Photo Film Co. Ltd, Tokyo, Japan) in the range of 0–300 µm using a monochromatic X-ray generator (Philips PW 1730, Philips Research, Eindhoven, the Netherlands), at 25 kV and 25 mA. After development using D-19 developer (Kodak, Tokyo, Japan) for 10 min, fixing and drying, the film was mounted in a light microscope (Nikon Eclipse, Tokyo, Japan). A charge-coupled device (CCD) camera (Teli CS 8310, Tokyo, Japan) was interfaced to a personal computer equipped with a frame grabber card. Using the CCD camera at standardised settings of magnification ×20 objective magnified macroradiographic images of a blank area and each aluminium step wedge as well as the lesions were digitised into images with 640 × 480 pixels at a resolution of 256 grey levels. The scan area of the dentine was 410 × 340 µ. Further image processing analysis was performed using the National Institute of Health-image pro-

gram, to calculate lesion depths (microns) and mineral loss (Vol. × µm). Three scans were made of each dentine microradiograph sample.

Differences between the experimental groups were tested for statistical significance by using the non-parametric Wilcoxon Signed Rank test.

## Results

The results are presented in Tables 1–5 including a product specification (Table 1). ECM mean values were similar and not significantly different between experimental groups (groups 1–7) at baseline. After 6 weeks of the varied F treatments and remineralisation, ECM mean values showed a variance between 23.19 MΩ in group 5 (placebo dentifrice plus rinsing with a placebo solution) to a mean of 60.77 MΩ in group 4, treated with a dentifrice containing amine fluoride (AMF) (Elmex sensitive®) plus twice daily rinsing procedures with a 250 p.p.m. F solution containing amine fluoride and potassium fluoride (KF) (Elmex sensitive plus®) (Table 2). All F treated root specimens showed statistically significant elevated ECM mean-values compared with the samples in group 5 (Table 3). Lesion depth from the microradiograph was significantly lower in groups 3 and 4 compared with the other groups (Table 4). Statistically significant lower mineral loss (Vol.% × µm) was also found for the specimens in groups 3 and 4 treated with a dentifrice containing AmF (Elmex sensitive®) and rinsed with the Elmex sensitive plus® solution (Table 5).

**Table 2** Electric Caries Monitor (MΩ) mean values (SD) after 10 measurements on each root surface lesion in seven different experimental groups (1–7), see Table 1, at baseline and after 3 and 6 weeks treatment respectively.

|          | Group 1       | Group 2       | Group 3       | Group 4       | Group 5       | Group 6       | Group 7       |
|----------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| Baseline | 6.47 (2.69)   | 7.76 (3.63)   | 7.32 (3.92)   | 7.82 (3.64)   | 7.71 (3.11)   | 7.77 (3.34)   | 9.56 (3.55)   |
| 3 weeks  | 26.96 (12.47) | 23.95 (11.19) | 30.25 (16.20) | 29.75 (9.44)  | 15.76 (6.64)  | 17.78 (6.61)  | 29.26 (13.19) |
| 6 weeks  | 44.77 (19.70) | 54.09 (18.49) | 60.77 (17.50) | 77.16 (17.33) | 23.19 (13.37) | 33.09 (18.84) | 44.17 (14.15) |

**Table 3** Cross tabulation of statistical comparison of Electric Caries Monitor measurements ( $n = 10$ ) on each root surface specimen in different experimental groups (groups 1–7) after 6 weeks of *in vitro* treatment and remineralisation. Non-parametric Wilcoxon Signed Rank test was used. Mean values (MΩ) are within parenthesis.

|         | Group 1 | Group 2 | Group 3 | Group 4 | Group 5 | Group 6 | Group 7 |
|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| Group 1 | 44.77   | ns      | ns      | *       | **      | ***     | ns      |
| Group 2 | ns      | 54.09   | ns      | *       | ***     | ***     | ns      |
| Group 3 | ns      | ns      | 60.77   | ns      | ***     | ***     | ns      |
| Group 4 | *       | *       | ns      | 77.16   | ***     | ***     | **      |
| Group 5 | **      | ***     | ***     | ***     | 23.19   | **      | ***     |
| Group 6 | ns      | ***     | ***     | ***     | **      | 33.09   | **      |
| Group 7 | ns      | ns      | ns      | **      | **      | **      | 44.17   |

ns, not significant; \* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$ ; \*\*\* $p < 0.001$ .

**Table 4** Micro radiographic parameter, lesion depths ( $\mu\text{m}$ ): mean (SD) of lesion depth in microns of root surface lesions specimens in different experimental groups (group 1–7) after 6 weeks of treatment and remineralisation *in vitro*. Group 8 is a control group without treatment or remineralisation.

| Group 1      | Group 2      | Group 3       | Group 4       | Group 5      | Group 6      | Group 7      | Group 8      |
|--------------|--------------|---------------|---------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| 172.6 (25.0) | 169.9 (24.8) | 157.7* (21.8) | 154.7* (16.1) | 180.8 (14.1) | 166.7 (12.1) | 170.4 (18.3) | 198.3 (23.4) |

\* $p < 0.05$ .

**Table 5** Micro radiographic parameter, mineral loss value (Vol.%  $\times \mu\text{m}$ ): mean (SD) of root surface lesion specimens in different experimental groups (groups 1–7), after 6 weeks of treatment and remineralisation. Group 8 is a control group without treatment or remineralisation.

| Group 1    | Group 2    | Group 3     | Group 4     | Group 5    | Group 6    | Group 7    | Group 8    |
|------------|------------|-------------|-------------|------------|------------|------------|------------|
| 5407 (865) | 5375 (919) | 4661* (714) | 4401* (760) | 6034 (879) | 5723 (766) | 5255 (908) | 6145 (818) |

\* $p < 0.05$ .

## Discussion

The present short-termed *in vitro* study was designed to simulate clinical situations as much as possible in order to compare the effects of different fluoride containing products to remineralise root caries lesions. Therefore a placebo dentifrice and solution were included in the experiment.

Clinical data have shown that root caries lesions can be remineralised and arrested clinically by reinforcing oral hygiene and other preventive

measures<sup>4,18,20,39,41</sup>. It has been further shown that Fs when applied in rinses, gels and dentifrices can control root caries<sup>3,44–46,65</sup>. All F dentifrices tested in this trial had F concentrations of between 1250 and 1400 p.p.m. F but differed with regards to pH and F containing agents (Table 1). Thus, the dentine specimens in groups 2, 3, 4 and 7 were treated with a dentifrice containing AmF at pH 4.7. Lowering of pH has a strong potential effect on F uptake and retention both in enamel and dentine<sup>42,66,67</sup> and thereby promotes remineralisation potential.

This may be one of the explanations for the relatively higher ECM values recorded in groups 3 and 4 (Tables 2 and 3), as the dentifrice used in these groups showed a low pH (4.7). A high ECM value indicates less porosities in the apatite. The additional rinsing with a 250 p.p.m. F solution (pH 4.7) containing AmF and KF is an additional factor which may have favoured the remineralisation processes of root caries lesions as they require a higher F uptake compared with enamel<sup>43,47,68</sup> to promote remineralisation. The optimum F concentration needed for the remineralisation process is still however not defined for root dentine. In enamel, a F concentration higher than 1000 p.p.m. causes less pronounced caries development compared with lower F concentration, although there is evidence that F levels in dentifrices have no effect on progression of radiographically detectable caries lesions<sup>8,43</sup>. High F concentration, up to 5000 p.p.m. F has been suggested for use in gels and dentifrices as a means of preventive management of root caries. Recently, Baysan *et al.*<sup>47</sup> compared the ability of a dentifrice with 5000 and 1100 p.p.m. F to reverse primary root lesions clinically in favour of a 5000 p.p.m. F dentifrice. They were also using ECM to measure electrical resistance behaviour reflecting remineralisation processes in root caries lesions. After 3 months a statistically significant remineralisation of primary root caries lesions exposed to the 5000 p.p.m. dentifrice had occurred.

Using the ECM, the electrical resistance measurements have been performed on fissure caries in enamel<sup>59,61-64</sup>. In general, electrical resistance increases considerably when the pore volume decreases in enamel or dentine, similar to the remineralisation process of caries lesions. The relationship between clinical criteria used to detect primary root caries with electrical measurements has been investigated by Baysan *et al.*<sup>47</sup> and a significant correlation for ECM readings and early caries lesions in root dentine were found.

However, as electrical resistance in biological apatites is determined by the fluid saturation and the conductivity of the fluid, measurement variations of the ECM can therefore be expected<sup>68</sup>. Variation of electrical resistance values in teeth also depends on the presence and variation of pore structure and pore volume. This seems to differ locally in both enamel and root dentine surfaces within relatively small distances (mm). Variations of ECM output measurements also reflect the grade of standardisation and measurement precision. Each experimental surface was measured 10 times with the ECM unit and the precision of the method

was calculated as  $\pm 7-15\%$  for root dentine. Therefore the ECM can be used for diagnostic purposes to detect early caries lesions and consequently follow and determine caries lesion progression in both enamel and dentine.

Lesion depths ( $\mu\text{m}$ ) and mineral loss values ( $\text{Vol.}\% \times \mu\text{m}$ ) were measured from microradiographic analyses (Tables 4 and 5). Only the specimens receiving a combination of AmF dentifrice and rinsing solution in groups 4 and 5 showed a statistically significant lower lesion depth. This effect was also significant for the mineral loss parameter, indicating a remineralising effect of the AmF compound. The mineral loss values observed in the different experimental groups tested were also valid for the variation found in the lesion depths.

AmF has been shown to have a caries inhibiting effect by both promoting the formation of calcium fluoride ( $\text{CaF}_2$ ) and by the intrinsic antiglycolytic activity on bacteria<sup>49,51,52</sup>. Whereas most of the studies performed with this substance investigated the effect of individual products on dental enamel, the present study investigated the effect of a treatment regime (Elmex<sup>®</sup> sensitive) consisting of a dentifrice and a dental rinse solution (Elmex sensitive plus<sup>®</sup>) on remineralisation of root surface lesions.

The favourable effect in this study on root lesion remineralisation after daily application of a dentifrice containing AmF (Elmex sensitive<sup>®</sup>) and rinsing with a solution containing AmF and KF (Elmex sensitive plus<sup>®</sup>) is clear. *In vivo* AmF by itself also shows similar anti-cariogenic properties by having an antiplaque effect<sup>31</sup>. As previously studied, the lowered pH (4.7) is also a potential factor to promote remineralisation by forming  $\text{CaF}_2$ <sup>42,45,66,67,69</sup>.

Although, *in vitro* studies do not reflect the physiological situation in the human oral environment, they are often necessary to facilitate an understanding of chemical principles and reactions and are therefore practised to screen and compare the effect of various pharmaceutical agents with different properties<sup>43</sup>.

The short treatment and follow up time (6 weeks) is normally too short to record remineralization processes using clinical criteria. However, the use of the ECM makes it possible to monitor small changes of electrical resistance within small areas of root surfaces even after only a short experimental time. Indeed, Baysan *et al.*<sup>47</sup> in a clinical study recorded statistically significant changes of primary root caries lesions by measuring electrical resistance after 3 months. Although the lesion depths between the different groups did not

differ significantly for the group receiving both AmF dentifrice and rinsing solution, the average values are comparable with lesion depths presented by Nyvad *et al.*<sup>20</sup> for arresting root surface caries *in situ*.

## Conclusions

All F-containing toothpaste products tested led to a relatively higher degree of remineralisation of root surface lesions compared with placebo products as measured using the ECM method. Additional rinsing twice a day with an AmF-KF solution (250 p.p.m. F) was superior when compared with an AmF-dentifrice alone.

The ECM measuring electrical resistance behaviour in the tooth is a useful diagnostic tool to study variations of de- and remineralisation in biological apatites.

The TMR data support the remineralisation efficacy for the combination of a dentifrice containing AmF and rinsing twice daily with a solution containing AmF and KF with a total concentration level of 250 p.p.m. F.

## Acknowledgements

This study was supported by Gaba International AG, Münchenstein, Switzerland. The staffs of Maxillo-facial Unit, Central Hospital, Halmstad, Sweden and Department of Community and Preventive Dentistry, Osaka Dental University, Osaka, Japan are greatly acknowledged for laboratory service and support. We thank Dr Julian Holmes, London UK for English revision of the manuscript and Dr Amir Baigi for valuable statistical advice and help.

## References

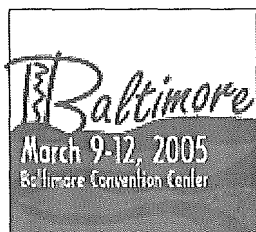
1. Bjarnasson S, Finnbogason SY. Effect of different fluoride levels in dentifrice on the development of approximal caries. *Caries Res* 1991; **25**: 207–212.
2. ten Cate JM. Review on fluoride, with special emphasis on calcium on calcium fluoride mechanisms in caries prevention. *Eur J Oral Sci* 1997; **105**: 4461–4465.
3. Featherstone JD. Fluoride remineralization and root caries. *Am J Dent* 1994; **7**: 271–274.
4. Shay K. Root caries in the older patient: significance, prevention, and treatment. Review. *Dent Clin North Am* 1997; **41**: 763–793.
5. Zimmer S. Caries-preventive effects of fluoride products when used in conjunction with fluoride dentifrice. *Caries Res* 2001; **35** (Suppl. 1): 18–21.
6. Beck JD. The epidemiology of root surface caries. *J Dent Res* 1990; **69**: 1216–1221.
7. Clarkson JE. Epidemiology of root caries. *Am J Dent* 1995; **86**: 329–334.
8. Fejerskov O, Baelum V, Ostergaard ES. Root caries in Scandinavia in the 1980's and future trends to be expected in dental caries experience in adults. *Adv Dent Res* 1993; **7**: 4–14.
9. Fure S. *Studies of Root Surface Caries. Prevalence and Associated Factors*. (Thesis). 1990, Göteborg University, Göteborg, Sweden.
10. Fure S. Five-year incidence of coronal and root caries in 60-, 70- and 80-year-old Swedish individuals. *Caries Res* 1997; **31**: 249–258.
11. Fure S, Zickert I. Incidence of tooth loss and dental caries in 60-, 70-, and 80 year-old Swedish individuals. *Community Dent Oral Epidemiol* 1997; **25**: 137–142.
12. Galan D, Lynch E. Epidemiology of root caries. *Gerodontology* 1993; **10**: 59–71.
13. Gilbert GH, Duncan RP, Dolan TA, *et al.* Twenty-four month incidence of root caries among a diverse group of adults. *Caries Res* 2001; **35**: 366–375.
14. Jones JA. Root caries: prevention and chemotherapy. Review. *Am J Dent* 1995; **8**: 352–357.
15. Leake JL. Clinical decision-making for caries management in root caries. *J Dent Educ* 2001; **65**: 1147–1153.
16. Angmar-Månsson B. How to measure the effects of fluoride treatments in clinical trials? Assessments: modern versus traditional methods. *Caries Res* 2001; **35** (Suppl. 1): 30–33.
17. Billings RJ, Banting DW. Future direction for root caries research. *Gerodontology* 1993; **10**: 114–119.
18. Fejerskov O. Recent advancements in the treatment of root surface caries. *Int Dent J* 1994; **44**: 139–144.
19. Kjeltjens H, Schaeken T, van der Hoeven H. Preventive aspects of root caries. Review. *Int Dent J* 1993; **43**: 143–148.
20. Nyvad B, ten Cate JM, Fejerskov O. Arrest of root surface caries *in situ*. *J Dent Res* 1997; **76**: 1845–1853.
21. Ravald N. Root surface caries. *Curr Opin Periodontol* 1994; **Review**: 78–86.
22. Ravald N, Birkhed D. Prediction of root caries in periodontally treated patients maintained with different fluoride programmes. *Caries Res* 1992; **26**: 450–458.
23. Scheinin A, Pienihäkkinen K, Tiekso J *et al.* Multifactorial modelling for root caries prediction: 3 year-follow up results. *Community Dent Oral Epidemiol* 1994; **22**: 126–129.
24. ten Cate JM. Current concepts on the theories of the mechanisms of action fluoride. *Acta Odontol Scand* 1999; **57**: 325–329.
25. ten Cate JM. Consensus statements on fluoride usage and associated research questions. *Caries Res* 2001; **35** (Suppl. 1): 71–73.
26. Featherstone JD. Prevention and reversals of dental caries: role of low level fluoride. *Community Dent Oral Epidemiol* 1999; **27**: 31–40.

27. **Beighton D, Lynch E.** Relationships between yeasts and primary root-caries lesions. *Gerodontology* 1993; **10**: 105–108.
28. **Beighton D, Lynch E, Heath MR.** A microbiological study of primary root-caries lesions with different treatment needs. *J Dent Res* 1993; **72**: 623–629.
29. **Beighton D, Lynch E.** Comparison of selected microflora of plaque and underlying carious dentine associated with primary root caries lesions. *Caries Res* 1995; **29**: 154–158.
30. **Lynch E.** Relationship between clinical criteria and microflora of primary root caries. In: *Proceedings of the First Annual Indiana Conference*. 1996. Indianapolis: Indiana University, School of Dentistry, 195–242.
31. **Lynch E, Beighton D.** Relationships between mutants streptococci and perceived treatment need of primary root-caries lesions. *Gerodontology* 1993; **10**: 98–104.
32. **Lundgren M, Emilson CG, Osterberg T.** Root caries and some related factors in 88-year-old carriers and non-carriers of *Streptococcus sobrinus* in saliva. *Caries Res* 1998; **32**: 93–99.
33. **Nyvad B.** Microbial colonization of human tooth surfaces. *APMIS* 1993; **32** (Suppl.): 1–45.
34. **Schüpbach P, Osterwalder V, Guggenheim B.** Human root caries: microbiota in plaque covering sound, carious and arrested carious root surfaces. *Caries Res* 1995; **29**: 382–395.
35. **Schüpbach P, Osterwalder V, Guggenheim B.** Human root caries: microbiota of a limited number of root caries lesions. *Caries Res* 1996; **30**: 52–64.
36. **Van Houte J, Lopman J, Kent R.** The final pH of bacteria compromising the predominant flora on sound and carious human root and enamel surfaces. *Caries Res* 1996; **75**: 1008–1014.
37. **Van Louvren C.** Antimicrobial activity of fluoride and its in vivo importance: identification of research questions. *Caries Res* 2001; **35** (Suppl. 1): 65–70.
38. **Emilson CG, Ravald N, Birkhed D.** Effects of a 12-month prophylactic programme on selected oral bacterial populations on root surfaces with active and inactive carious lesions. *Caries Res* 1993; **27**: 195–200.
39. **Galan D, Lynch E.** Prevention of root caries in older adults. *J Can Dent Assoc* 1994; **60**: 427–430.
40. **Lynch E.** Antimicrobial management of primary root caries lesions: a review. *Gerodontology* 1996; **13**: 118–129.
41. **Nyvad B, Fejerskov O.** Active root surface caries converted into inactive caries as a response to oral hygiene. *Scand J Dent Res* 1986; **94**: 281–284.
42. **Derand T, Petersson LG.** Inhibiting effect on demineralization of permanent root surfaces after different topical application of fluorides and a solution containing Fe- and Al-ions. *Swed Dent J* 1982; **6**: 117–120.
43. **Hellwig E, Lussi A.** What is the optimum fluoride concentration needed for the remineralization process? *Caries Res* 2001; **35** (Suppl. 1): 57–59.
44. **Jensen ME, Kohout F.** Effect of fluoridated dentifrice on root and coronal caries in a group of older adults. *Rev-Dent-Chile* 1990; **81**: 48–52.
45. **Herkströter FM, Witjes M, Arends J.** Demineralization of human dentine compared with enamel in a pH-cycling apparatus with a constant composition during de- and remineralization periods. *Caries Res* 1991; **25**: 317–322.
46. **Mukai Y, Lagerweij MD, ten Cate JM.** Effect of a solution with high fluoride concentration on remineralization of shallow and deep root caries surface caries in vivo. *Caries Res* 2001; **35**: 317–324.
47. **Baysan A, Lynch E, Ellwood R et al.** Reversal of primary root caries using dentifrices containing 5000 and 1100 ppm fluoride. *Caries Res* 2001; **35**: 41–46.
48. **Lynch E, Baysan A.** Reversal of primary root caries using a dentifrice with a high fluoride concentration. *Caries Res* 2001; **35** (Suppl. 1): 60–64.
49. **Banoczy J, Nemes J.** Effect of amine fluoride (AmF)/stannous fluoride (SnF<sub>2</sub>) toothpaste and mouthwash on dental plaque accumulation, gingivitis and root-surface caries. *Proc Finn Dent Soc* 1991; **87**: 555–559.
50. **Chan JC-Y, Hill FJ, Newman HN.** Uptake of fluoride by sound and artificially carious enamel in vitro following application of topical sodium and amine fluorides. *J Dent* 1991; **19**: 110–115.
51. **Gehring F.** Aminfluorid und Natriumfluorid auf Keime der Plaqueflora. *Dtsch zahnärztl Z* 1983; **38**: 36–40.
52. **Klimek J, Ganss C, Schwan PR et al.** Fluoride uptake in enamel after application of amine fluoride and sodium fluoride toothpaste-an in situ study. *Oralprophylaxe* 1998; **20**: 192–196.
53. **Banting DW.** Diagnosis and prediction of root caries. Review. *Adv Dent Res* 1993; **7**: 80–86.
54. **Banting DW.** The diagnosis of root caries. *J Dent Educ* 2001; **65**: 991–996.
55. **Banting B, Birkhed D, Nilsson K et al.** Reproducibility of clinical caries diagnosis on coronal and root surfaces. *Caries Res* 1996; **30**: 1–7.
56. **Hotz PR, Lussi A.** Root caries. Its diagnosis and therapeutic principles. *Schweiz Monatschr Zahnmed* 1996; **106**: 248–257.
57. **Newbrun E.** Problems in caries diagnosis. *Int Dent J* 1993; **43**: 133–142.
58. **Rosen B, Birkhed D, Nilsson K et al.** Reproducibility of clinical caries diagnoses on coronal and root surfaces. *Caries Res* 1996; **30**: 1–7.
59. **Ashley PF, Blinkhorn S, Davies RM.** Occlusal caries diagnosis: an in vitro histological validation of the Electronic Caries Monitor (ECM) and other methods. *J Dent* 1998; **26**: 83–88.
60. **Fennis-Ie YL, Verdonshot EH, Van't Hof MA.** Performance of some diagnostic systems in the prediction of occlusal caries in permanent molars in 6- and 11-year-old children. *J Dent* 1998; **26**: 403–408.

61. **Huysmans MCDNJM, Verdonshot EH, Rondel P.** Electrical conductance and electrode area on sound smooth enamel in extracted teeth. *Caries Res* 1995; **29**: 88–95.
62. **Ie YL, Verdonshot EH, Schaeken MJM et al.** Electrical conductance of fissure enamel in recently erupted molar teeth as related to caries status. *Caries Res* 1995; **29**: 94–99.
63. **Lussi A, Firestone A, Schoenberg V et al.** In vivo diagnosis of fissure caries using a new electrical resistance monitor. *Caries Res* 1995; **29**: 81–87.
64. **Schulte A, Gente M, Pieper K.** Post-eruptive changes of electrical resistance values in fissure enamel of premolars. *Caries Res* 1999; **33**: 242–247.
65. **Reich E.** How to measure the effects of fluoride treatments in clinical trials? The role of caries prevalence and caries assessment. *Caries Res* 2001; **35** (Suppl. 1): 34–39.
66. **Ögaard B, Rølla G, Arends J.** Relative cariostatic effects of KOH-soluble and KOH-insoluble fluoride in vivo. *J Dent Res* 1990; **69**: 1505–1507.
67. **Ögaard B.** CaF<sub>2</sub> formation: cariostatic properties and factors of enhancing the effect. *Caries Res* 2001; **35** (Suppl. 1): 40–44.
68. **Wefel JS.** Root caries histopathology and chemistry. *Am J Dent* 1994; **7**: 261–265.
69. **Ueberschär M, Gunay H.** Root Caries incidence with regular use of AmF/SnF<sub>2</sub> mouth rinse. *Dtsch Zahnärztl Z* 1991; **46**: 566–568.

*Correspondence to:*

Lars G Petersson,  
Maxillofacial Unit, Central Hospital,  
Halmstad, 30185, Sweden.  
Tel.: (46)35 134 071  
Fax: (46)35 134 064  
E-mail: lars.g.petersson@lthalland.se

**ABSTRACT: 2005 IADR/AADR/CADR 83rd General Session & Exhibition****2061****Clinical trials on early caries detection using QLF technique***M. UEMURA\*, T. DOI, T. MIYAKE, Y. SAKAMOTO, and M. KAMBARA, Osaka Dental University, Japan*

- > Abstracts by Program
- > Search
- > Author Index
- > Subject Index
- > Program Book
- > CD Help
- > Main Menu

**Objective:** The present study was clinically to determine the ability of a quantitative light-induced fluorescence (QLF) technique for detection and quantification of white spot lesion. **Methods:** Sixty five of white spot lesions in 65 patients (Mean age: 20.378.3) were selected by visual inspection of oral examination and then evaluated using a QLF technique. The QLF images were saved at the initial visit and were compared with images done one year later. This allows us to quantify demineralization and/or remineralization. The image of each white spot lesion was analyzed for four parameters. The average depth of the lesion was measured as the average of fluorescence loss ( $\Delta F$ , %). The maximum lesion depth was measured as the maximum fluorescence loss ( $\Delta \text{Max}$ , %) as maximum lesion depth. The lesion size ( $S$ ,  $\text{mm}^2$ ) was also analyzed from each QLF image of white spot lesion. The mineral loss ( $\Delta Q$ ,  $\% \times \text{mm}^2$ ) was calculated by the both of  $\Delta F$  and  $S$  for each white spot lesion. **Results:** All of white spot lesions detected at the initial visual inspection were judged as early caries lesion with QLF measurements ( $\Delta Q$  was  $-14.8\% \text{mm}^2$ ,  $\Delta F$ :  $-8.9\%$ ,  $\Delta \text{Max}$ :  $-20.5\%$  and  $S$ :  $1.4 \text{mm}^2$ ). The white spot lesions detected with QLF at the initial measurement progressed in 53.8% at one year later. 43.1% of the lesion regressed and 3.1% arrested at one year later. **Conclusion:** Based on these results, we concluded that QLF technique is suitable for early detection and assessment of dental caries clinically.

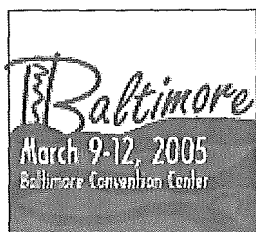
Seq #229 - Early Diagnosis Posters

2:00 PM-4:00 PM, Friday, 11 March 2005

Baltimore Convention Center Exhibit Hall E-F

[Back to the Cariology Research Program](#)

[Back to the IADR/AADR/CADR 83rd General Session \(March 9-12, 2005\)](#)

**ABSTRACT: 2005 IADR/AADR/CADR 83rd General Session & Exhibition****2059 Evaluation of red-fluorescent dental plaque using QLF method**

K. KAWASAKI\*, R. SAKAI, R. TAKASHIMA, and M. KAMBARA, *Osaka Dental University, Hirakata-shi Osaka, Japan*

- > Abstracts by Program
- > Search
- > Author Index
- > Subject Index
- > Program Book
- > CD Help
- > Main Menu

**Objectives:** We investigated the detection and analysis possibility of red-fluorescent dental plaque using quantitative light-induced fluorescence (QLF) method. **Methods:** The QLF (Inspektor Research Systems B. V., The Netherlands) examination of the digital image of red-fluorescent 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 four days. The collected samples of red-fluorescent dental plaque were analyzed by the technique of polymerase chain reaction (PCR) for detecting periodontal disease related bacteria (*Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Bacteroides forsythus* and *Treponema denticola*). **Results:** The most of red-fluorescent dental plaque were observed at buccal and lingual surfaces of molar teeth, and the lingual surface of lower anterior teeth. Each of the three QLF parameters increased at a different rate for the four days. The average value of each parameters showed a different value for every subject, and a different increasing tendency. As the result of analyzing the red-fluorescent dental plaque by the PCR method, it turns out that the periodontal disease related bacteria exists at red-fluorescent dental plaque. **Conclusion:** We concluded that the QLF examination can distinguish and quantify the three parameters, and evaluate the rate of dental plaque formation.

[Seq #229 - Early Diagnosis Posters](#)

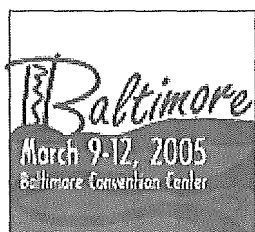
[2:00 PM-4:00 PM, Friday, 11 March 2005](#)

[Baltimore Convention Center Exhibit Hall E-F](#)

[Back to the Cariology Research Program](#)

[Back to the IADR/AADR/CADR 83rd General Session \(March 9-12, 2005\)](#)





**ABSTRACT: 2005 IADR/AADR/CADR 83rd General Session & Exhibition**

**2051 In vitro QLF observation of remineralizing effect in fluoride applications**

R. SAKAI\*, R. TAKASHIMA, K. KAWASAKI, and M. KAMBARA, *Osaka Dental University, Hirakata, Osaka, Japan*

- > Abstracts by Program
- > Search
- > Author Index
- > Subject Index
- > Program Book
- > CD Help
- > Main Menu

**Objectives:** The purpose of this *in vitro* study is to evaluate the remineralizing process of incipient enamel lesions in topical fluoride applications with quantitative light-induced fluorescence (QLF). **Methods:** 160 bovine enamel specimens (5 mm in diameter) were mounted in acrylic rod and polished. Incipient lesions were formed in specimens by 12 to 96 hour immersion in demineralizing solution (Lactic acid: 100 mM, Hydroxiapatite: 3 g/L, Carboxymethyl cellulose sodium salt: 0.2 g, pH: 5.0). These lesions were quantitatively calculated with  $\Delta F$  (% / ratio of fluorescent loss which describes lesion depth) and divided into 4 groups ( $\Delta F = -8, -16, -24$  and  $-32$ ). These groups were further divided by treatment (control, Fluoride dentifrice, APF and Fluoride dentifrice + APF). Specimens were immersed in artificial saliva for 28 days (KCl: 130 mM,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ : 0.9 mM,  $\text{CaCl}_2$ : 1.5 mM, HEPES: 20 mM, pH: 7.0). Surface images of the remineralizing process were recorded on days 3, 6, 9, 12, 15, 21 and 28 with QLF (Inspektor Reserch Systems, The Netherlands). **Results:** In low demineralized groups ( $\Delta F = -8$  and  $-16$ ), recovery rates reached the plateau within 6 days. In high demineralized groups ( $\Delta F = -24$  and  $-32$ ), recovery rates in the two APF treated groups reached the plateau in 6 days, and in others, the rates kept raising for 2 weeks. In all lesion specimens, rates of the control and Fluoride dentifrice groups were higher than the two APF treated groups. ( $p < 0.05$ ). There was no difference between the two APF treated groups, and neither was there between control group and Fluoride dentifrice group ( $p > 0.05$ ). **Conclusion:** This *in vitro* study showed that the difference in recovery rates among 4 types of fluoride treatment could be observed using QLF. This suggests the usefulness of QLF in clinical applications.

Seq #229 - Early Diagnosis Posters  
 2:00 PM-4:00 PM, Friday, 11 March 2005  
 Baltimore Convention Center Exhibit Hall E-F

[Back to the Cariology Research Program](#)  
[Back to the IADR/AADR/CADR 83rd General Session \(March 9-12, 2005\)](#)



- > Abstracts by Program
- > Search
- > Author Index
- > Subject Index
- > Program Book
- > CD Help
- > Main Menu

**ABSTRACT: 2005 IADR/AADR/CADR 83rd General Session & Exhibition**

**1069 New Analysis Method of Gingiva with Quantitative Light-Induced Fluorescence**

*M. IZU\*, T. MIYAKE, M. UENE, H. TANAKA, R. TAKASHIMA, N. NISHIJIMA, and M. KAMBARA, Osaka Dental University, Japan*

**Objectives:**The purpose of this study was to evaluate the condition of gingiva objectively by a new digital image analysis with Quantitative Light-Induced Fluorescence (QLF).

**Methods:**15 adults (mean age; 22-26 years old) who were informed about the aim of this study and agreed to participate, were selected as the subjects. Photographs of the gingiva were taken with an oral CCD camera (COREFRONT CORPORATION, Tokyo, Japan) and INSPEKTOR PRO(Inspektor Research Systems B.V., Amsterdam, The Netherlands). Subjects were prohibited brushing for 7 days. They were re-examined by same methods after 1, 2, 3, 5 and 7 days. The condition of gingiva was analyzed from the digital images obtained from INSPEKTOR PRO by a computer program (Inspektor-Pro 1.2.0.4, Inspektor Research Systems B.V., Amsterdam, The Netherlands).

**Results:**On inspection, changes in the gingiva after each day could hardly be observed. However, when analyzing the images of gingiva, it was observed that a change in the color tone of the gingiva was more objectively expressed with red in the gingiva over green in the teeth fluorescence radiance that on the reference point increase, and the change of their gingival inflammation was to quantitatively with this parameter in %.

**Conclusions:**As a result of analyzing the digital images of gingiva by QLF, it was suggested that this newly developed analyzing method could be useful for gingival examination, as changes in the quantitative value expressed the condition of the gingiva.

Seq #127 - Diagnosis, Aggressive Periodontitis, Clinical States  
 2:00 PM-4:00 PM, Thursday, 10 March 2005  
 Baltimore Convention Center Exhibit Hall E-F

[Back to the Periodontal Research - Diagnosis / Epidemiology Program](#)  
[Back to the IADR/AADR/CADR 83rd General Session \(March 9-12, 2005\)](#)

# QLF (Qualitative Light-induced Fluorescence) による齲蝕診断

神原 正樹

大阪歯科大学口腔衛生学講座

2005年37巻3月増大号 (通巻480号)

細胞 (p.6~p.9)

ニューサイエンス社

# 【QLF (Qualitative Light-induced Fluorescence) による齲蝕診断】

Early Detection of Incipient Caries Using QLF

神原 正樹

Kambara Masaki

Key words

Incipient caries, Detection,  
Diagnosis, QLF

## Abstract

初期齲蝕（白斑、可逆的齲蝕、表層下脱灰）の段階で齲蝕を検出し、画像処理により定量化することが可能な新たな技術が出現してきているが、その中に、優れた特徴を有する光誘導蛍光定量法（QLF法、Quantitative Light-induced Fluorescence）がある。ある波長の光を歯に照射するとエナメル質と象牙質の境界部に存在する蛍光物質が励起され、反射するが、初期齲蝕部では乱反射し、黒色を呈するというQLF法の原理を解説するとともに、歯科医療における初期齲蝕早期検出の意味（齲蝕臨床の科学的裏づけ、齲蝕窩洞の定量化、画像取得、初期齲蝕評価、インフォームド・コンセントの確立）やQLF法の応用例（*in vitro*, clinical study, 臨床応用）を紹介する。

## はじめに

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。これは、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ことによる。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、歯科医学に突きつけられた急を要する課題である。その中で、齲蝕に対するEvidence-basedな技術が出現し始めており、リスク管理としての齲蝕検査システムや早期齲蝕検出が注目を集めている<sup>1,2)</sup>。

## 1. 早期齲蝕検出の意味

予防や健康増進のための歯科医療は、齲蝕に対し

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、齲蝕の早期段階であれば、フッ化物による再石灰化の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。齲蝕の早期段階、すなわち初期齲蝕とは、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齲蝕を意味する（図1）。すなわち、X線による診査では検出しえない初期齲蝕を検出し、予防処置を行うなど、健全歯の管理を行うことになる。このことは、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）への変遷を行うことになり、このことが早期齲蝕検出の必要性の意味である。この背景には、歯の自然史（萌出した健全歯が、充填を繰り返す、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齲蝕の検出などの課題解決が望まれていることがある。

齲蝕リスク診断は、齲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、すなわち齲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が行えるようにすることが必要である。

大阪歯科大学口腔衛生学講座：Department of Preventive and Community Dentistry, Osaka Dental University  
〒573-1121 大阪府枚方市楠葉花園町8-1 Fax: 072-864-3119 E-mail: kambara@cc.osaka-dent.ac.jp

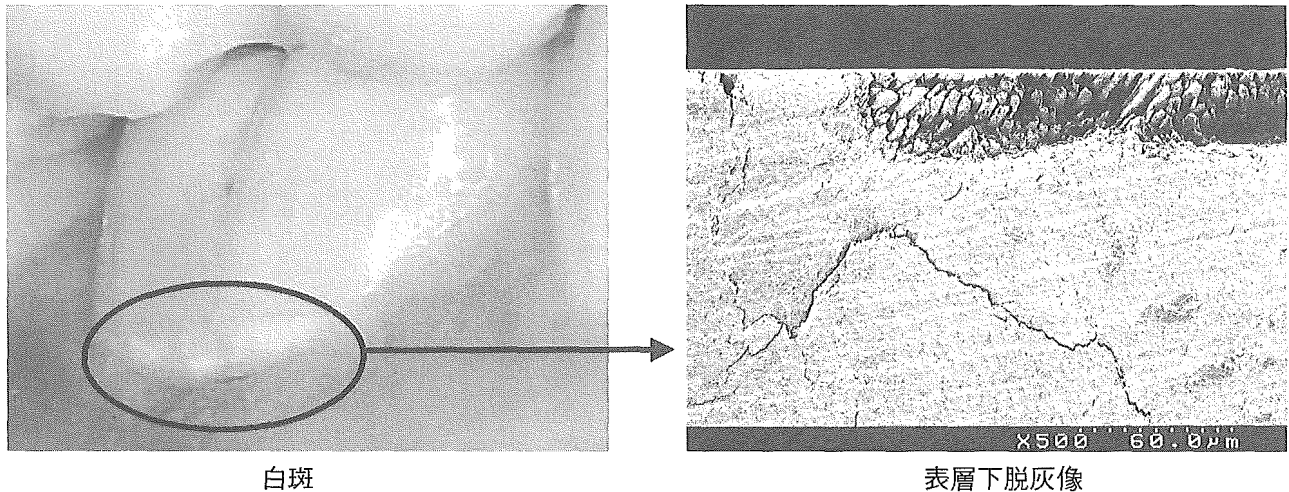


図1 初期齲蝕（白斑）の臨床像と組織像

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、初期齲蝕（予防処置で回復可能な表層下脱灰；incipient or early caries, white spot）の Assessment of incipient caries（初期齲蝕評価）、すなわち初期齲蝕検出後の初期齲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（齲蝕進行性：深部に拡がろうとしている状態にある齲蝕）、②Arrestment of Caries（齲蝕停止性：進行せず、回復もしない安定状態にある齲蝕）、③Regression of Caries（齲蝕回復性：健全に戻ろうとしている齲蝕）。

## 2. 早期齲蝕診断法（QLF法）

早期齲蝕診断法としては、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出来ることなどが早期齲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齲蝕検出技術には、レーザーを照射し、齲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、光誘導蛍光定量化などがある。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、唯一初期齲蝕の定量化が可能なのがQLF法である。光誘発蛍光定量化(QLF; Quantitative Light-induced Fluorescence)は、光照射することにより歯のエナメル質と象牙質境界部に存在する蛍光を励起し、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黒色を呈する。この画像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み、取り込んだ画像を画像解析し（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）。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>3)</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。1963年Armstrong<sup>4)</sup>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<sup>5)</sup>は象牙質の蛍光物質がアミノ酸tryptophanと未知物質であると報告し、1976年Spitzer & ten Bosh<sup>6)</sup>はエナメル質の蛍光物質は有機物質である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法により、実用化に向けて、QLF法の有用性について研究を進めている段階であるが、我々の講座で得られた興味深い結果を以下に示す。

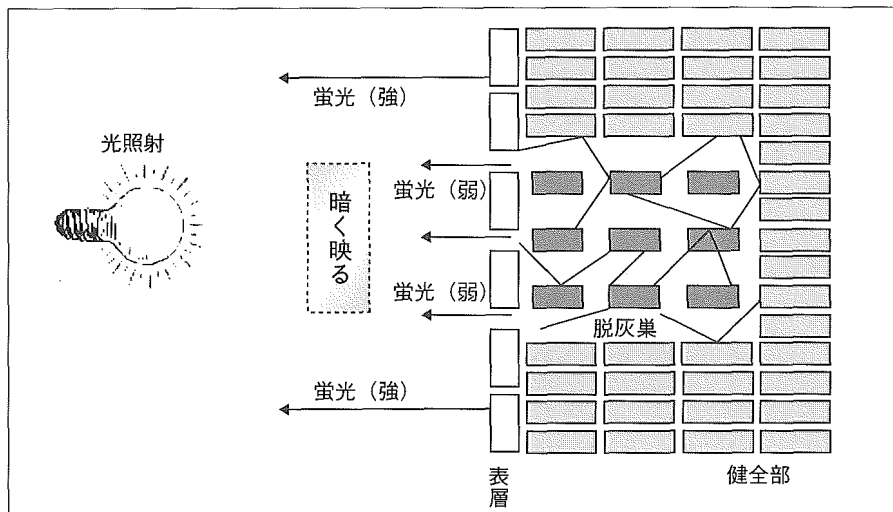


図2 QLF法 初期齲蝕検出原理

### 1) *in vitro* 研究

フッ化物による人工的初期齲蝕再石灰化のQLFによる実験では、初期齲蝕の窩洞が小さいものの方が再石灰化は100%に近いところまで起こるが、初期窩洞が大きいと再石灰化は完全には元に戻らない。フッ化物の濃度が高いと、再石灰化は元に戻らないなど、再石灰化は条件により異なることが明らかになってきている。初期齲蝕の程度に応じ、どの条件で再石灰化が最も起こりやすいか等、フッ化物の効果的応用方法の解明の可能性が広がったと考えている。

### 2) 臨床研究

QLF法を用いたフッ化物配合歯磨剤の臨床研究(1年間)の結果を示す。コントロールであるフッ化物非配合歯磨剤使用の初期齲蝕における1年後の結果は、齲蝕が進行した初期齲蝕は53.8%、齲蝕が回復(再石灰化)した初期齲蝕43.1%であった。回復(再石灰化)をする初期齲蝕が半数見られること、口腔内での人間の自然回復能には驚きを覚える。一方、ある種のフッ化物配合歯磨剤を指示した初期齲蝕は、1年後87.5%の回復を示した<sup>7-10)</sup>。これまで報告されてきたフッ化物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。

### 3) 臨床応用

QLFでの臨床応用した例を図3に示す。3歯の初

期齲蝕を1週ごとに3回観察した結果であるが、上段と下段の初期齲蝕画像に変化は見られず、停滞性の齲蝕であると評価できる。一方、中段の初期齲蝕は拡大傾向にあり、進行性齲蝕であると評価できる。このように、間隔をあけて初期齲蝕を観察することにより、初期齲蝕の定量的に評価(進行性、停滞性、回復性)をすることができ、しかもこの結果を画像として示すことが可能である。画像での表示は、患者とのインフォームドコンセントの取得に有用であり、歯科治療に科学的裏づけを与えることになる。

### まとめ

齲蝕予防を実践するための技術、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。

このように、早期齲蝕検出法が確立されようとしている現在、初期齲蝕検出後の新たな予防処置システムの確立が望まれる。さらに、早期齲蝕検出法は、歯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持っており、歯科医療がEvidence Basedな健康保持増進・予防へ転換するきっかけになることを信じてやまない。

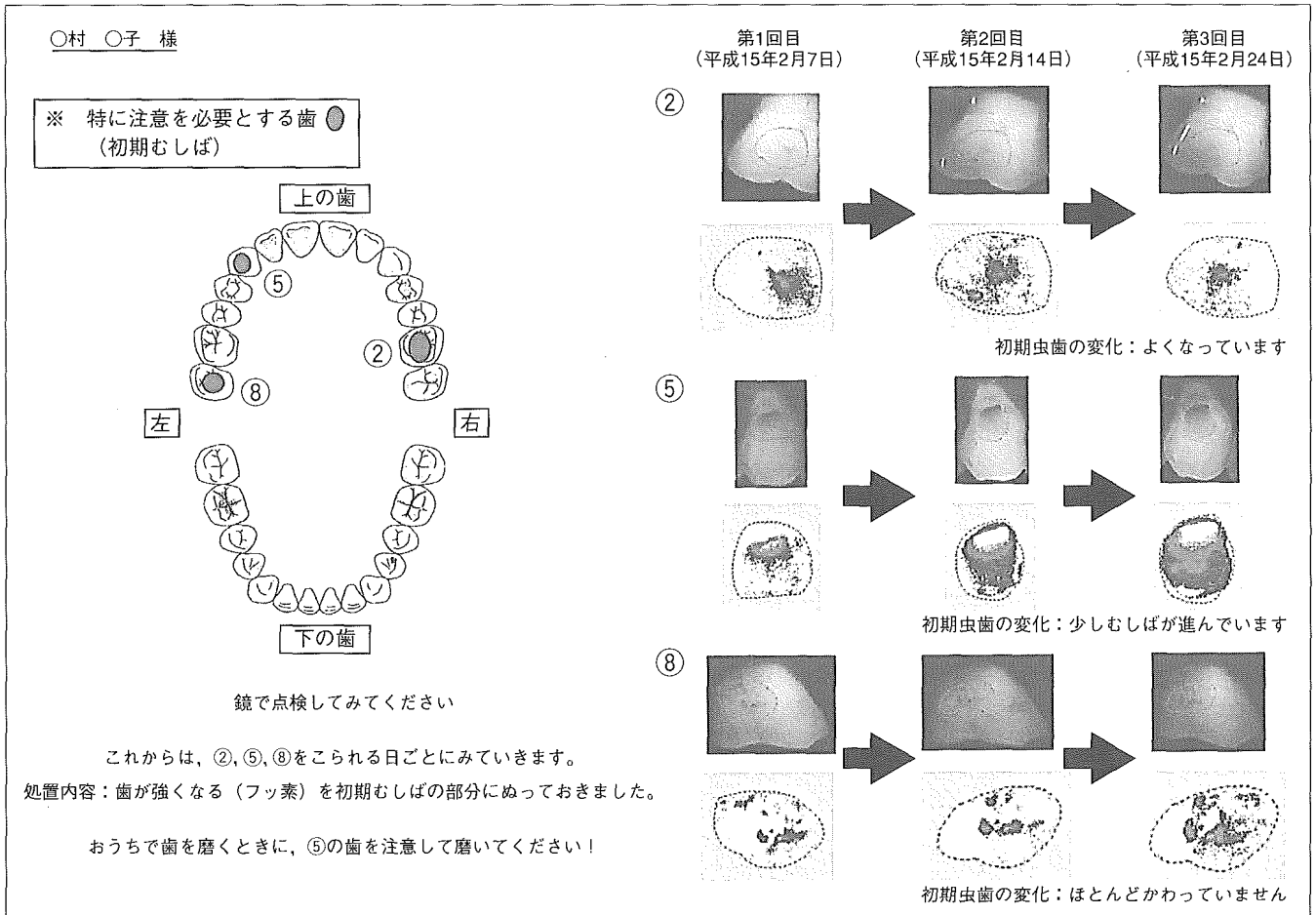


図3 QLF法の臨床応用例（ある患者の3回取得したQLF画像）

文 献

- 1) 神原正樹.: 予防歯科へのストラテジー—齲蝕予防における早期齲蝕診断—. 日本歯科医師会雑誌. 56: 611-618, 2004.
- 2) Early Detection of Dental Caries II, Edited by G.K. Stookey, Proceedings of the 4th Annual Indiana Conference, Indiana University School of Dentistry, 2000.
- 3) H C Benedict.: Note on the fluorescence of teeth in ultraviolet rays. Science. 67: 442, 1928.
- 4) W G Armstrong.: Fluorescence characteristics of sound and carious human dentine preparations: Arch Oral Biol. 8: 79-90, 1963.
- 5) P C Foreman.: The excitation of emission spectra of fluorescent components of human dentine. Arch Oral Biol. 25: 641-647, 1980.
- 6) D Spitzer, J J ten Bosch.: The total Luminescence of bovine and human dental enamel. Calcif Tissue Res. 20: 201-208, 1976.
- 7) 上村参生, 神原正樹.: 早期齲蝕診断への機器応用の必要性. The Nippon Dental Review. 63: 161-165, 2003.
- 8) M. Uemura, M. Kambara. Results of clinical trials of fluoride dentifrices using quantitative light fluorescence; Early Detection of Dental Caries III, Indiana Conference, 2003.
- 9) 坂本吉史, 上村参生, 神原正樹.: *In vivo*におけるQLFによる早期齲蝕診断に関する研究—初期齲蝕病巣の定量評価について—. 歯科医学. 67: 257-265, 2004.
- 10) 大塚秀人, 三宅達郎, 神原正樹.: *In vivo*におけるQLFによる早期齲蝕診断に関する研究—初期齲蝕病巣の1年間の追跡結果について—. 歯科医学. 67: 266-273, 2004.

■表紙写真の解説■

定量的光誘導蛍光法（QLF法）により撮影した口腔内の天然歯。歯全体に象牙質から発せられる緑色の蛍光が観察される。歯頸部にみられる黒い影が初期齲蝕像である。初期齲蝕は肉眼で観察するのは困難であるが、QLF法による光学的診査により明瞭に初期齲蝕の検出および画像処理による定量的評価を行うことができる。  
（表紙写真の提供・解説：神原 正樹）

# 画像解析を応用した初期歯肉炎診査

伊津元博 神原正樹\*

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

歯科医学 第68巻第1号 別刷

(平成17年3月25日発行)

Reprinted from Shika Igaku (J Osaka Odontol Soc)

Vol. 68, No. 1, 99-110, 2005



## 画像解析を応用した初期歯肉炎診査

伊 津 元 博      神 原 正 樹\*

い    つ    も    と    ひ    ろ            かん    ぼ    ら    ま    さ    き

抄録：歯肉炎の診査はこれまで主観的診査を中心に行われてきているため、診査結果の信頼性・再現性・妥当性は高くないのが現状である。歯肉の客観的な診査方法を確立することは、歯肉炎や歯周炎の予防に必要不可欠であり、歯肉炎のリスク診断の予測精度を向上させることにつながる。本研究は、2種類の歯肉デジタル画像を各々の解析方法で得られた定量値により、初期歯肉炎の経日的変化を客観的に観察する目的で行った。

23～25歳の成人15名を被検者とし、7日間歯口清掃の停止を指示した。歯口清掃停止1日、2日、3日、5日、7日後に口腔内診査を行い、上顎右側中切歯歯肉の被検部位を改良 CCD カメラ（41万画素）（コアフロント社製、東京）と Quantitative Light-Induced Fluorescence (QLF) 法の撮影条件下にて INSPEKTOR PRO™ (Inspektor Research Systems B. V. 社製、オランダ) とを用いて撮影した。得られた口腔内写真のデジタル画像は、画像解析ソフト IMAQ Vision Builder 6® (National Instruments 社製、米国) を用い、歯肉の表面状態を定量化するとともに、デジタル画像上の明度比により歯肉の凹凸を視覚化した。また、QLF デジタル画像は QLF 法画像解析ソフト Inspektor Pro 1. 2. 0. 4™ を用い、歯肉の色調の強さを定量化し、歯肉の変化について検討した。

改良 CCD カメラのデジタル画像により、歯肉表面の凹凸を視覚化した結果、歯肉の表面形態の経日的変化を定量化することができ、歯肉炎症の広がりを3次元画像として視覚的に表現することができた。また、QLF 法による画像解析により、歯肉の赤色色調部分の経日的変化を定量化することができ、この値から初期歯肉炎の経日的変化は歯肉中央部から辺縁歯肉、さらに付着歯肉側へと広がることが明らかになった。

### 緒 言

歯周疾患の多くは歯肉炎から始まり、歯周疾患へと移行する。<sup>1</sup> すなわち、歯肉に限局していた炎症が進行し、歯根膜や歯槽骨まで波及すると、歯周炎に移行し、歯周炎が進行していくと、付着上皮は破壊され、歯槽骨は吸収される。<sup>1,2</sup> また、歯周疾患は慢性経過をたどることが多く、自覚症状もそれほど顕著ではないため、患者が自覚しないまま緩慢に症状が進行し、その結果、歯の喪失という非可逆的な結末に至る。<sup>1,3</sup> このため、歯周疾患の初期症状でもある歯肉の炎症の初期状態を客観的に把握することは、歯周疾患の予防に必要不可欠であり、歯肉炎のリスク診断の予測精度を向上させることにもつながる。これまで、歯肉炎症状態の把握のための診査は、PMA Index 等の視診による色調の変化や腫脹・発赤の有無、また、Community Periodontal Index (CPI) の WHO プ

ロープを用いた歯肉の出血など炎症の主要症状である発赤・腫脹・出血のパラメーターを主観的に評価しているのが現状である。<sup>4</sup> しかし、これらの主観的診査は、診査結果の信頼性・再現性・妥当性が得られないため、歯肉の炎症状態をより客観的に診査する必要がある。現在行われている簡便な歯肉の客観的診査法には、チェアサイドで撮影した口腔内写真画像を用い、その色調による歯肉炎の診査が行われている<sup>5,6</sup> が、多くの解決すべき課題、撮影条件や被検部位の制限等がある。

一方、著者らの講座では、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<sup>7-10</sup> や Digital Imaging Fiber-Optic Trans-Illumination (DIFOTI) 法<sup>11,12</sup> 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を開発し、逐次報告してきた。

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  
〒573-1121 大阪府枚方市橘葉花園町 8-1

この診査方法や考え方の歯肉への応用, すなわち, ある特定条件下で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た. また, 口腔内は意図的に乾燥および防湿は行わず, 湿潤環境下にて行った. すなわち, 2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, 初期歯肉炎の invisible な変化の解析を目的として本研究を行った.

## 実験材料および方法

### 1. 被検者

本研究の主旨に同意の得られた本学学生の中から健康な成人 15 名 (男性 11 名, 女性 4 名, 24±1 歳) 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い (2004 年 3 月 16 日付 (受付番号: 15)), 被検者に対する説明と同意取得は, 本委員会の遵守事項に従った.

### 2. 実験方法

#### 1) 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 Professional Mechanical Tooth Cleaning (PMTC)<sup>13</sup> 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, さらに, 実験開始後, 7 日間, 一切の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 (0 日目), 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.

#### 2) 歯肉観察方法

##### (1) 口腔内撮影用一眼レフカメラによる歯肉撮影

通法<sup>14</sup> に従って, 上下顎正中中部 (0.5 倍) および上顎正中中部前歯部正面観 (1.0 倍) を口腔内撮影用一眼レフカメラ (DENTAL-EYE II<sup>®</sup>, 京セラ社製, 京都) により, アナログ画像 (フィルム; カラーフィルム ISO 100 24 枚撮, 富士フィルム社製, 東京) として撮影した. 現像は通法の現像処理を行った (カラー写真画紙; Royal PAPER<sup>®</sup>, コダック社製, 東京).

また, 写真のデジタル化は, スキャナー (ES-6000, エプソン社製, 東京) にて, 通法によりデジタル化処理 (画像処理ソフト; Photoshop 5.0 Limited Edition<sup>®</sup>, Adobe Systems 社製, 米国) を行い, TIFF ファイル形

式で保存した.

##### (2) 改良 CCD カメラによる歯肉撮影

撮影には, 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 の窓のあいた直径 32 mm, 高さ 50 mm の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) (Fig. 1) を用いた. そして, プラークが取れないように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. なお, デジタル画像取得の際, 画像取得機器 (GV-BCTV 3/USB<sup>®</sup>, I・O DATA 社製, 石川) および画像取得ソフト (LAN ボード Navigator<sup>®</sup> Ver. 1.06, BUFFALO 社製, 愛知) を用い, ビットマップ方式 (24 bit) で大きき 320×240 pixel にて保存した.

##### (3) QLF 法による歯肉撮影

QLF 法の初期う蝕観察条件環境を応用し, INSPEKTOR PRO<sup>™</sup> (Inspektor Research Systems B. V. 社製, オランダ) (Fig. 2) を用い, 歯肉部位をデジタル画像

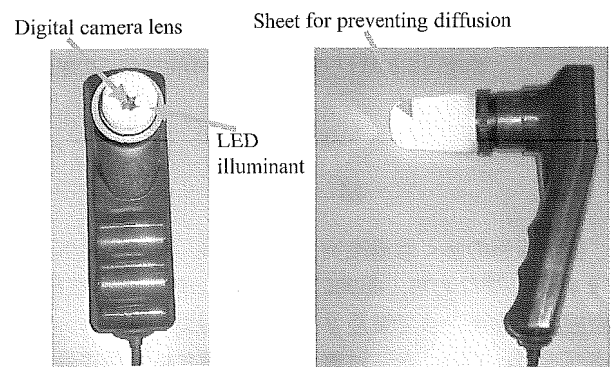


Fig. 1 Improved oral digital camera.

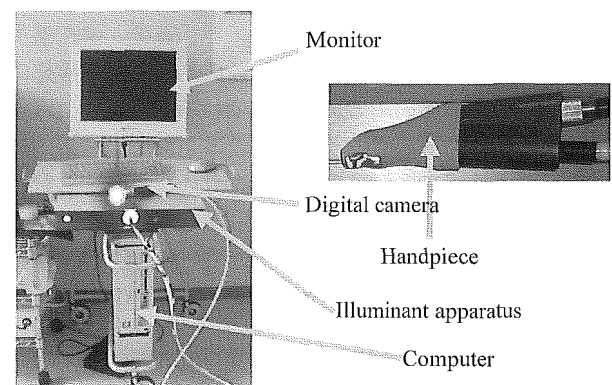


Fig. 2 Quantitative light-induced fluorescence (QLF) system.

として取得した。なお、画像取得の際、画像取得ソフト (Inspektor Pro™ Ver. 1. 2. 0. 4 を用い、ビットマップ方式 (24 bit) で大きさ 382×287 pixel にして保存した。

なお、観察環境は、大阪歯科大学附属病院新館 10 階予防歯科を歯肉観察場所とし、観察に際しては、太陽光が直接入射しないようにロールカーテンを閉め、診療椅子の无影灯を使用せず、病院内設置の蛍光灯下にて観察した。室内温度および湿度は 2004 年 4 月から 5 月期病院内空気調節設備設定環境下に準じた。また、口腔内は意図的に乾燥および防湿は行わず、湿潤環境下にて行った。

3. 画像解析方法

1) 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。これらの解析結果から、炎症時の腫脹による歯肉表面の凹凸変化の客観的観察について検討した。

2) 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、最初に各被検者取得画像の 0 日目の歯の位置を基準とし、1 日目、2 日目、3 日目、5 日目および 7 日目の観察歯肉部位の位置補正を行ってから、この補正画像をグレーレベルに変換し、QLF 法にてプラークが検出されていない健全部 (黄緑色) を基準部位として、光の 3 原色である赤 (R)、緑 (G)、青 (B) の 3 色のうち R について分析した。ここで、取得デジタル画像の平均 R 値から基準部位の R 値を差し引いた値を基準部位の R 値と対比した割合を  $\Delta R$  値、取得デジタル画像の R 値の最高値から基準部位のグレーレベル R 値を差し引いた値を基準部位の R 値と対比した割合を  $\Delta R$  Max 値と定義した。また、 $\Delta R$  20% 以上を示す部分に色をつけて示すように画像処理を行った。これらの解析結果を用いて、R 値に注目した色調による歯肉の炎症変化の客観的観察法について検討した。

結 果

1. 口腔内撮影用一眼レフカメラによる歯肉観察

Fig. 3 および Fig. 4 に、ブラッシング停止後から 7 日目までの口腔内上下顎前歯部および上顎正中前歯部歯肉正面観の経時変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。

上下顎前歯部歯肉撮影画像 (Fig. 3) および上顎正中前歯部歯肉撮影画像 (Fig. 4) とともに、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が

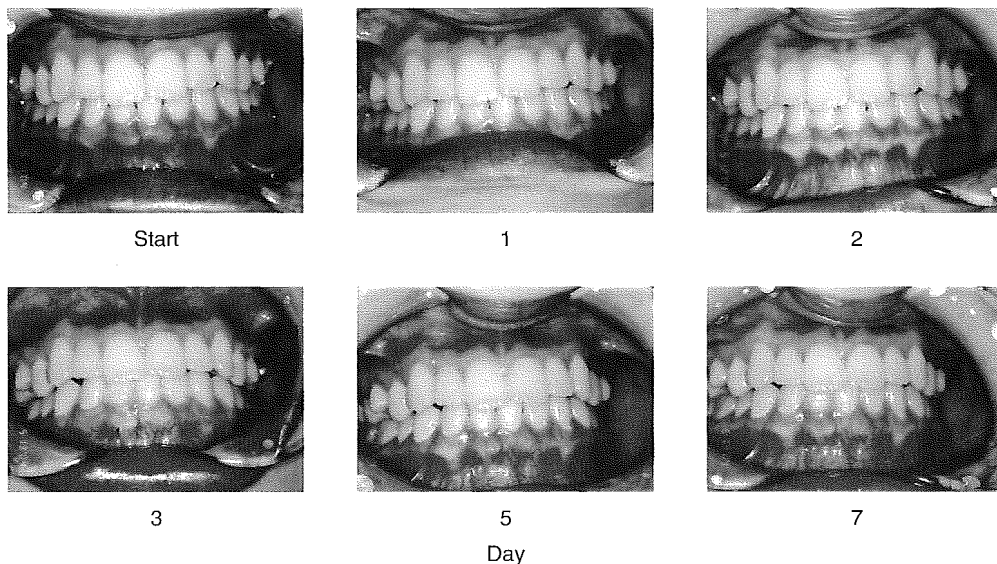


Fig. 3 Analog images of the maxillary and mandibular gingiva.

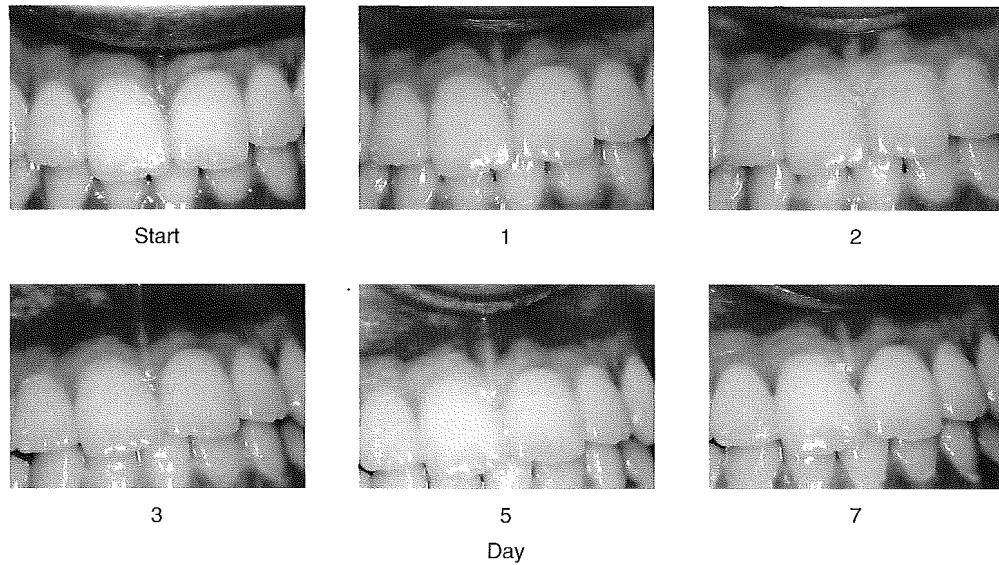


Fig. 4 Analog images of the maxillary anterior gingiva.

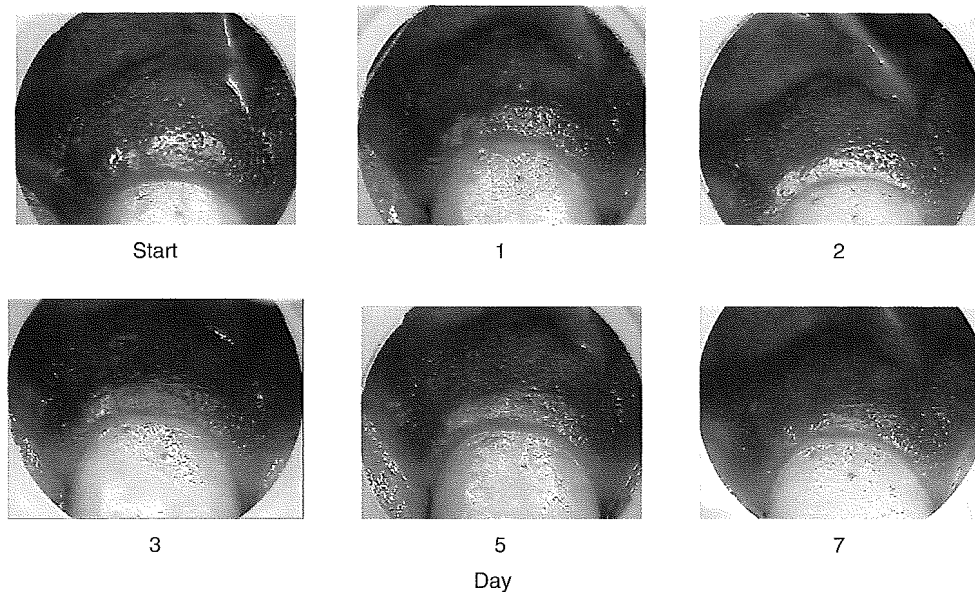


Fig. 5 Digital images of the gingiva.

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。

## 2. 改良 CCD カメラによる歯肉観察

Fig. 4 にブラッシング停止後から7日目までの上顎右側中切歯歯肉の経時変化を改良 CCD カメラによって撮影したデジタル画像を示す。

観察部位だけに絞ったデジタル画像 (Fig. 5) においても、口腔内撮影用一眼レフカメラを使用したときと同

様、炎症による歯肉の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 Fig. 5 の各デジタル画像の解析により得られた明度をもとに、各デジタル画像の3次元化処理を行った画像を Fig. 6 に示す。

3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