

Fig. 6 Three-dimensional images of longitudinal changes in the surface roughness of the marginal gingiva.

着歯肉部に広がっていく変化を明確に示すことができた。すなわち、画像を3次元化処理することにより、軽度な初期歯肉炎の腫脹の経時変化を視覚的（色調の変化として）、また立体的に示すことが可能となった。

Fig. 5の被験者の解析結果を用い、臨床的歯頸部から3mmに位置する歯肉を歯頸部に沿って明度を示したのがFig. 7である。このグラフから、歯肉の細部変化が全体的に同じような傾向で進行していくのではなく、多様に腫脹変化が進行していることが明らかになった。すなわち、歯肉の腫脹変化を近心歯間乳頭から遠心歯間乳頭まで横断的に細分化して定量化して観察できる可能性が示唆された。さらに、Fig. 8は、相対的な炎症性歯肉の腫脹における経時変化を定量的に示すため、各被験者の取得デジタル画像の解析結果から、臨床的歯頸部から3mmに位置する歯肉の明度の経日の変化を示したものである。すなわち、歯肉の明度が、周期的に悪化および回復を繰り返しながら増加する傾向を示しており、歯肉の腫脹部位の明度情報を利用して、定量的および客観的に経日の観察が行える可能性が示唆された。

3. QLF法による歯肉分析

Fig. 9にブラッシング停止後から7日目までの右側中切歯歯肉の経時変化をQLF法で使用するCCDカメラで撮影したデジタル画像を示す。

QLF法による歯肉のデジタル画像から、この画像の検出能の1つである赤色プラークの付着は経日的に増加する変化が観察された。

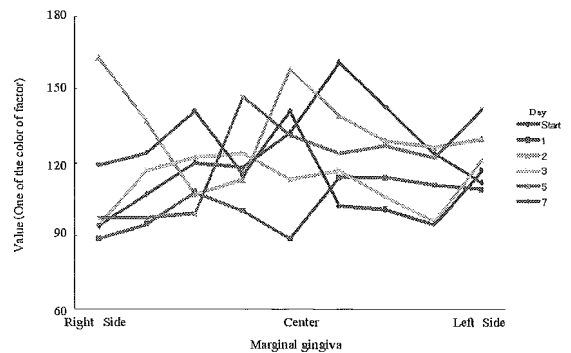


Fig. 7 Relative longitudinal changes in the surface roughness of the marginal gingiva 3 mm from the clinical gingival margin determined from three-dimensional images.

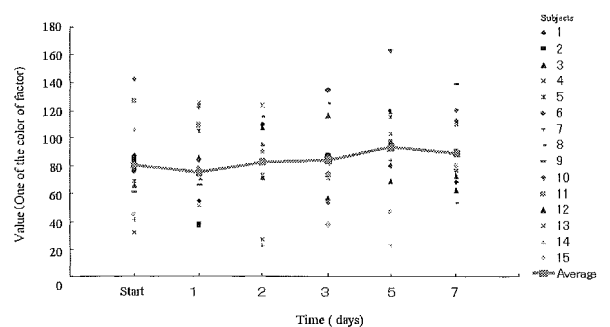


Fig. 8 Relative longitudinal relative changes in the average surface roughness of the marginal gingiva 3 mm from the clinical gingival margin determined from three-dimensional images of all subjects.

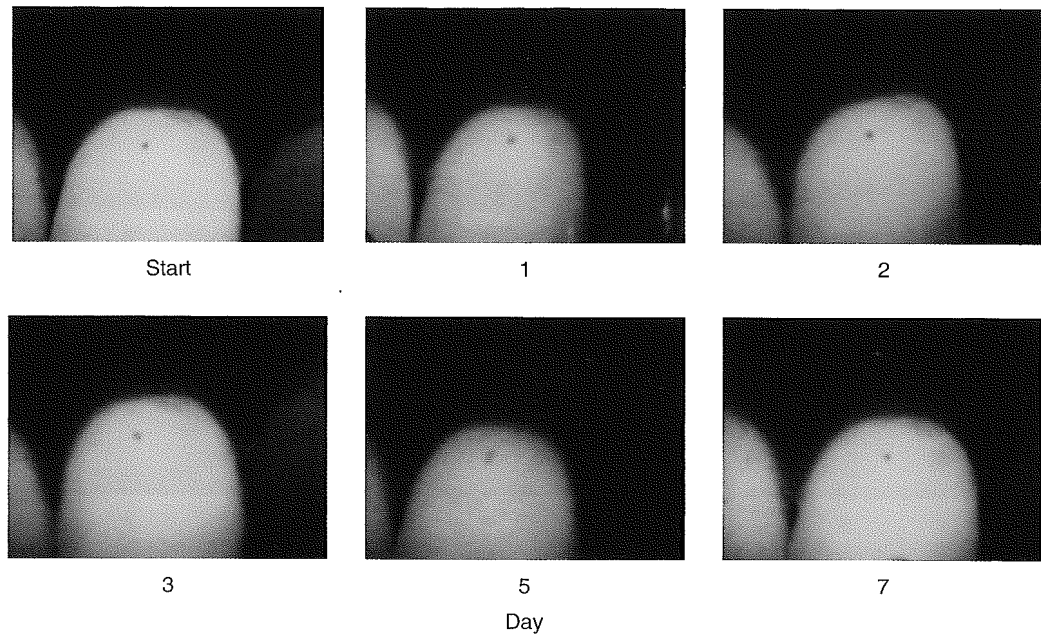


Fig. 9 Gingival digital images after processing with the QLF system.

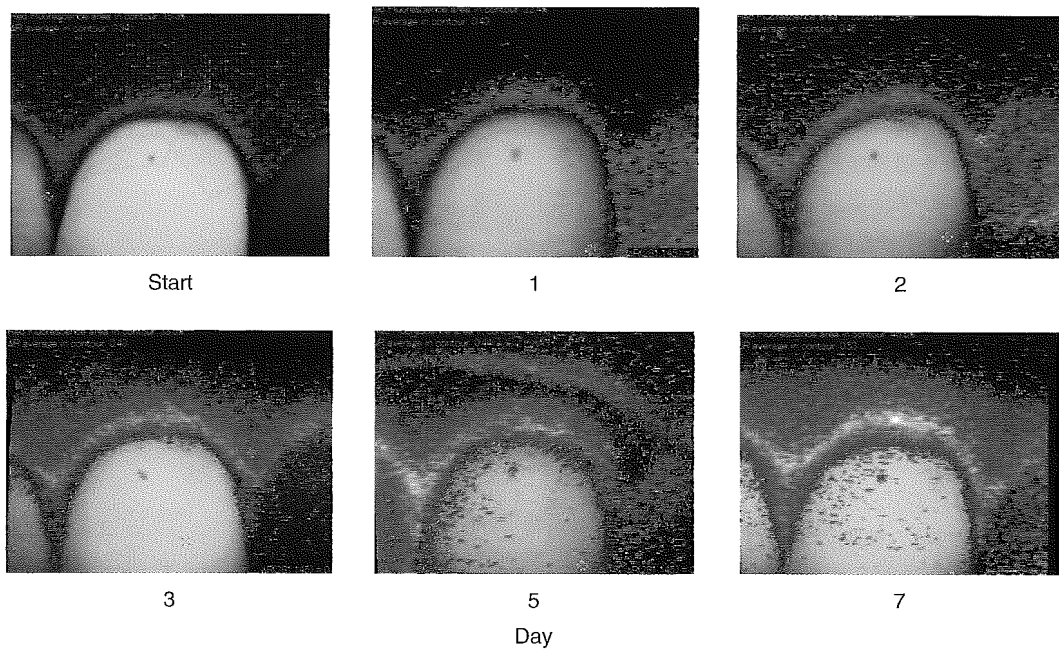


Fig. 10 Longitudinal changes in the red of the gingiva obtained by QLF analysis.

また、Fig. 10に Fig. 9の画像を解析した結果得られた  $\Delta R$  のデジタルイメージ画像を示す。

この画像から、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2次元で視覚的に示され、この画像から、歯頸部

に沿って帯状の強い赤味をおびた部位が存在し、また、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変化が明らかになった。すなわち、 $\Delta R$  の画像処理を行うことにより、軽度な初期歯肉炎の腫脹における経時的観察が視覚的に見える可能性が示唆され

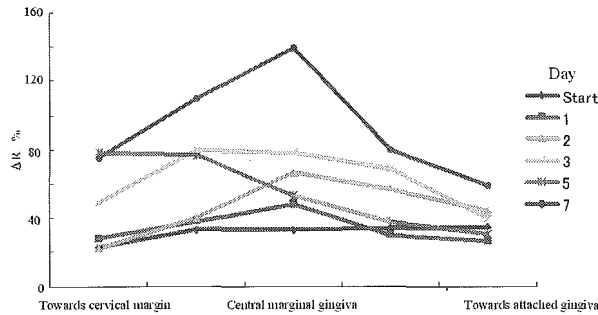


Fig. 11 Longitudinal changes in the red ( $\Delta R$ ) of the central marginal gingiva obtained by QLF analysis.

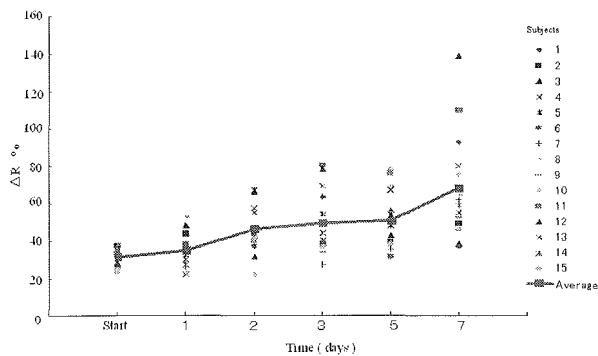


Fig. 12 Longitudinal changes in the average red ( $\Delta R$ ) of the central marginal gingiva obtained by QLF analysis of images of all subjects.

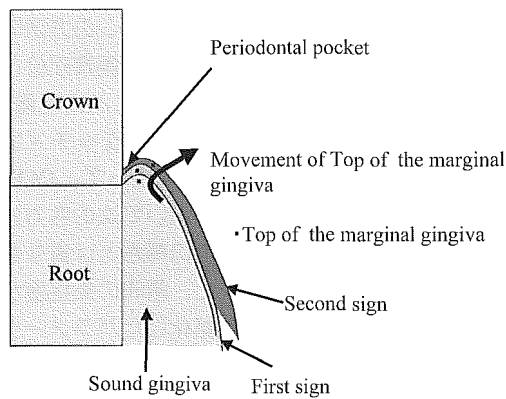


Fig. 13 Progression of early gingivitis.

た。

次に Fig. 11 は Fig. 9 の画像を辺縁歯肉中央部から縦断的に  $\Delta R$  で示したグラフであり, Fig. 12 は辺縁歯肉中央部を縦断的に観察した  $\Delta R$  値の平均値を示したグラフである。Fig. 11 から, 歯肉の炎症の進行変化は歯頸部歯肉から離れた部位で炎症が生じはじめ, 時間がた

つにつれて遊離歯肉の先端の方, すなわち, 歯頸部寄りに炎症部位が広がった後, 再び歯頸部から離れる方向に腫脹することが明らかになった。また, Fig. 12 から, 被検者ごとの歯肉の  $\Delta R$  の平均値は経時的に増加することが明らかとなった。

### 考 察

歯肉炎の臨床的判定は, これまで術者の視診による主観的評価, すなわち, 炎症の徴候である発赤, 腫脹, 出血などの変化を肉眼的に観察することでなされてきた。また, 歯肉の定量化は, 各歯肉の指数の評価基準に示されているように, 歯石やポケットの深さや歯槽骨の吸収を X 線フィルムで確認し, 総合的に判断されている。この評価パラメーターは現在最も広く使用されている CPI においても, 出血, 歯石の有無, 歯周ポケットの深さが評価項目であるように, 歯周治療を目的とした評価基準となっているのが現状である。しかし, 歯周疾患の予防や健康増進のために必要な診査は, 健康な歯肉を対象にその変化を観察・評価することにある。なぜなら, 健康な状態を維持・増進することが歯周疾患の予防・健康増進を意味するからである。

歯周疾患の初期状態である歯肉炎も, 健康な歯肉から歯肉炎発症までの変化の結果であり, 健康な歯肉は, きわめて健全な状態から歯肉炎発症直前まで広い範囲のことになる。また, 歯肉炎も初期歯肉炎から, 歯周疾患罹患直前までの広範囲を有する。これらの範囲は, 言葉では健全な歯肉や単に歯肉炎と表題されているだけで, 予防を対象とした診査に繋がる評価がなされていない。21 世紀を歯科領域でも健康世紀とするためには, この点の技術的解決が急務である。

本研究では, 健全な歯肉から初期歯肉炎 (ブラッシング・歯周初期基本治療で改善する歯肉炎) までの歯肉を対象にし, この歯肉の変化の詳細な観察を目的とした。

#### 1. 歯肉測定方法について

これまでの歯肉観察方法としては, 1) 視診 (Index), 2) 口腔内撮影による観察, 3) 測色器機による色計測法, 4) 生化学的方法, 5) デジタル画像の画像解析などの方法が用いられてきた。

まず, 視診 (Index) は, 現在, 臨床的に最も使用されている歯肉の観察方法である。簡便に, 容易に, 比較的短時間で歯肉の状態を数値化できる。しかし, 歯肉診査の際に, 診査者の主観的判断が大きく反映されるため, 同じ歯肉の観察において歯科医師の評価が異なり, 継続的評価での測定誤差の原因となり, 現在の Index

を用いた歯肉観察法だけでは、診査結果の信頼性・再現性・妥当性を得にくいと考えられる。

口腔内撮影による観察は、現在行われている歯肉の客観的診査法として、最も多く用いられている方法である。この写真による歯肉観察は、1970年代から数多く報告されてきており、<sup>15-18</sup> 比較的短時間で歯肉の現状を画像として保管することにより、歯肉の状態の経時的比較観察が可能である。しかし、屋内照明の外光等の照明条件、観察部位とカメラとの距離等の撮影条件を一定にすることが必要である。また、カラーフィルムを用いて写真画紙に印刷する場合、フィルムの性状の相違や現像や焼付けの過程での不均一化のため、色調に誤差が生じる可能性が高い。また、軽度な初期歯肉炎の比較のような色調変化の乏しい場合には、色調の相違を捉えることが困難であるばかりでなく、担当歯科医師の主観的な判断に大きく左右されるために、客観性に乏しいといえる。

色差計による歯肉測定法は、色彩計を用いる方法<sup>19</sup>と分光計測計を用いる方法<sup>20</sup>がある。色彩計を用いる方法は、簡便かつ容易であるが、屋内照明の外光等の照明条件などの歯肉の測定環境により得られる数値が大きく変動する。また、分光計測計は、非接触であるため、接触などによって生じる色調のノイズをなくすることができるが、現状のシステムでは、口腔内のすべての歯肉部位を計測することは不可能である。

生化学的方法による観察は、現在、細菌学的診査(局所細菌検査法)、宿主側の検査(歯肉溝滲出液の検査法)、または遺伝子診査がある。現在、歯周病の早期診断法として研究が盛んに行われている分野である。細菌学的検査および宿主側の検査のパラメーターの中には、歯周病のハイリスク患者と高い相関性をもつものもいくつか報告<sup>21</sup>されており、重度な歯周病患者の早期発見の指標としては、今までの出血、形態および色調変化と比較して利点も多い。しかし、現状では検査費が高く、検査結果の分析も簡便にはできない。また、現状では、この2つの検査は歯周疾患が進行した状態でないと判定がきわめて困難である。そのため、我々が対象とする健全な歯肉から初期歯肉炎(ブラッシング・歯周初期基本治療で改善する歯肉炎)までの歯肉の状態を観察することは現状ではできない。一方、遺伝子診査は、今後の研究結果によるエビデンスの出現が期待される。また、これらの生化学的診査は、歯周疾患に対する早期診断やリスク判定としては、有効であると考えられるが、歯周疾患の経時的観察には不向きである。とくに歯肉炎は活動期と非活動期とが繰り返しにより進行していくと報告さ

れていることから、<sup>1,21</sup> 現状の歯肉の状態を正確に把握し、歯肉の変化を経時的に観察していくことは困難である。

今回我々が試作、検討を加えたデジタル画像の画像解析による歯肉の観察は、口腔内撮影の画像を用いて歯肉診査する部分を解析処理することにより、より客観的に歯肉の色調などを把握することが可能である。この画像解析による観察は、1990年代から現在まで多数報告されている。<sup>22-25</sup> この観察法は、現状の歯肉の状態を正確に把握し、歯肉の変化を経時的に観察していくことや客観性、定量性、画像保存、さらにインフォームドコンセントの確立への利用等の長所があり、今までの観察法の中では最も優れているといえる。しかし、口腔内撮影の観察法と同様に、歯肉の撮影環境面では、屋内照明の外光等の照明条件、観察部位とカメラとの距離等の撮影条件を一定にする必要があるため、口腔内にカラーバーを装着して口腔内写真撮影を行い、このカラーバーの色情報をもとに画像解析ソフトなどを用いて画像の色調補正を行っている。<sup>23</sup> しかし、この方法では、前歯部の撮影は可能であるが、臼歯部および前歯部の細部を撮影することが難しい。

本実験では、健全な歯肉から初期歯肉炎(ブラッシング・歯周初期基本治療で改善する歯肉炎)までの歯肉を対象にし、この歯肉の変化を客観的、かつ経日的に観察することに最も優れている方法のデジタル画像解析による歯肉の観察方法を採用した。ここで、この方法の欠点でもある屋内照明の外光等の照明条件、観察部位とカメラとの距離等の撮影条件を一定にすることに配慮した。改良 CCD カメラによる歯肉観察にはアタッチメントと画像処理時の補正プログラミングによって、QLF 法による歯肉観察には画像撮影環境において次の各方法の測定結果の項で述べるように今までの報告とは異なる方法を用いて歯肉撮影を行った。また、歯肉の炎症度合いの表現方法においても、色調を数値化したパラメーターで数値のみで表現するのではなく、パラメーターを用いて炎症度合いを視覚化することにより、容易にかつ鮮明に歯肉の状態を表現することを試みた。この工夫により、歯肉の初期の炎症変化を色調としての明度変化と  $\Delta R$  変化、さらに形態変化としてとらえることが可能になった。

## 2. 測定結果について

### 1) 口腔内撮影用一眼レフカメラによる歯肉観察

歯肉の撮影環境において、屋内照明の外光等の照明条件、観察部位とカメラとの距離等の撮影条件を一定にす

ることは、一般診療室内のチェアサイドで通法<sup>14</sup> に準じて行った本観察では困難であった。一方、視診により歯肉の炎症度合いを測定する際、軽度な歯肉炎の比較であったため、色調変化の乏しく、色調の相違をとらえることが困難であるばかりでなく、歯科医師の主観的な判断に大きく左右される可能性が非常に大きいと考えられる。これらのことにより、今回の口腔内撮影用一眼レフカメラによる歯肉観察結果 (Fig. 3, 4) から、初期歯肉炎の変化を示すことはできなかった。

### 2) 改良 CCD カメラによる歯肉観察

今回用いた撮影装置は、川田ら<sup>28</sup> が皮膚病変部位を画像診断にて定量評価する際に用いた CCD カメラによる撮影法を口腔領域に応用し、装置・分析方法に改良を加えた。口腔内領域が湿潤環境下であるため、画像撮影時にはハレーション等の画像ノイズが問題になるが、画像解析時に平滑化処理にて画像ノイズ情報を除去することにより問題を最小限におさえた。また、外乱光の遮断および表面の立体形状を精度よく再現するため、均一照度の照明があたる照明条件 (擬似積分球方式) で白色発光ダイオードを配置し、円筒状拡散防止板で照明装置全体を覆った観察部位と円筒状拡散板を垂直に接触させることにより、画像の再現性の向上を図った。

一方、色を数値化して表現する方法としては、光の三原色を用いた赤 (R)、青 (B)、緑 (G) の情報に分解して表現する方法が最も一般的な表現方法であるが、本研究では、歯肉の炎症変化を色調による変化で表現するのではなく、歯肉表面の凹凸状態を明るさの相違によって表現するために、光の 3 属性にあたる HSV 表色系の 3 要素である色相、彩度、明度の情報のうち、明度を利用する HSV 表色系の 3 要素を用いて色の情報を表現することにした。

上記方法により、歯肉表面の擬似的な凹凸状態のシュミレーションによる変化は歯肉の炎症による腫脹変化が歯間乳頭・辺縁歯肉から付着歯肉部位へ間歇的に拡大していく結果を得た。また、歯頸部に沿って数値によって客観的に表現すると、歯肉の変化が全体的に同じような傾向で進行していくのではなく、多様に腫脹変化が進行していることが示された。ここまで細分化して歯肉の腫脹変化を画像で捉えた報告が過去にはなかったが、これからの歯肉炎の診断において、初期歯肉炎を対象に細分化して歯肉の腫脹変化を観察することが重要視されることは明確であり、本観察方法が有効であることが示唆された。

### 3) QLF 法による歯肉観察

QLF 法は著者らの講座で開発、研究を行っている画像診断により、う蝕の初期脱灰病変を客観的に診査する方法である。原理<sup>27-29</sup> は、キセノンランプを光源として使用し、その白色光をフィルターを通して光強度 13 mW/cm<sup>2</sup>、波長 290~450 nm の青紫色光に調整し、この光を歯の表面に照射すると、エナメル象牙境付近に存在する蛍光物質が励起し、540 nm をピークとする黄緑色蛍光を発する。この条件で撮影した画像上では健全歯質と脱灰歯質の蛍光強度の差が顕著となり、初期脱灰病変部は黄緑色の健全部に囲まれた黒色部分として明確に可視することができ、画像診断によりう蝕の初期脱灰病変を客観的に診査することが可能である。また、この条件下では、ハレーション等の画像ノイズが抑制されるために、画像撮影の際に画像ノイズが大きな問題となる歯肉の撮影に対しても応用できると考え本研究に適用した。

本研究で使用される色を数値化して表現する解析法は、初期う蝕の定量等を行うための画像解析ソフトではなく、川崎ら<sup>30,31</sup> が用いている歯垢の性状等を分析する画像解析法を使用した。すなわち、この画像解析法は三原色を用いた赤 (R)、青 (B)、緑 (G) の情報に分解して表現する方法のうち、R の情報に注目して表現していることが特徴である。本観察での R 値の上昇は、炎症が生じて微細血管の増加、拡張がみられるために血流の主な色調情報である R 値が関連して上昇してくると考えられる。今回得られた結果 (Fig. 10) において、歯頸部に沿って帯状の強い赤味をおびた部位が見られ、これは、歯肉溝の底部に入り込んだプラークが原因となって歯肉の初期炎症が生じたためと推測される。また、炎症部位が歯間乳頭部から辺縁歯肉部に広がっていている画像変化も歯肉炎の経時的変化の過程と一致した。<sup>1</sup> これらのことから、この画像処理方法で、歯肉ポケットの底部から炎症が生じそれが時間経過とともに遊離歯肉のほうに炎症部位が移行していく様子が QLF 法での観察確認された。

### 3. 初期歯肉炎の観察について

初期歯肉炎の発症は、実験的歯肉炎の観察方法として、Theilade ら<sup>32</sup> が 1965 年に報告した「Experimental Gingivitis in Man」の実験方法に準じて行った。この研究では、現在の歯周疾患治療の基本的処置であるプラークコントロールの基礎になる研究であり、歯垢と歯肉炎の関係、すなわち歯肉炎の発症には歯垢がかかわっていることをはじめて示した方法である。本実験では、実験に先立ち、健全歯肉状態、すなわちコントロールの設定

には、実験開始3日前に PMTC による歯面清掃を行い、その後1週間の歯口清掃を中止した。口腔内写真画像および上顎右側中切歯歯肉拡大像では、明確な歯肉炎症像の観察はできなかった。Theilade の研究では、歯口清掃中止後歯垢の蓄積にともない、2, 3日目位から Gingival Index の上昇を観察している。今回の観察では、このような歯肉炎症像の変化を示さなかったのは、実験開始3日前に行った PMTC や被検者の年齢が20代と若年者であったことの影響であると考えられる。すなわち、若年者では PMTC が歯肉炎抑制に効果であることを示す結果であり、また今後、高齢者に対しても同様の研究が必要であるといえる。

一方、今回用いた改良 CCD カメラや QLF 法により得た画像に対する分析では、視診による観察ではとらえられなかった歯肉の変化をとらえることができた。すなわち、辺縁歯肉の頂点部位が、炎症が進行するにつれて、一度歯頸部側によってから外のほうへ張り出していくという動きを示すことが示唆された。また、活動期と非活動期が繰り返して歯肉炎が進行していく様子に関しては、歯周病の進行に関する新しい概念である暴発進行(バースト)仮説<sup>2)</sup>と一致する。このことから、初期歯肉炎の進行を詳細かつ客観的に観察でき、歯肉炎の予防のための診査技術の1つを示すことができたと考えている。

以上より、初期歯肉炎の診査方法として、2つの方法を用い、1週間の歯口清掃中止後の歯肉を観察した結果、以下の結論を得た。

1. 口腔内撮影用一眼レフカメラによる初期歯肉炎変化の観察はできなかった。
2. 改良 CCD カメラで撮影したデジタル画像の3次元処理により、初期歯肉炎のわずかな変化、すなわち腫脹および色調の拡大を観察することができた。
3. QLF 法による初期歯肉炎の画像を  $\Delta R$  として分析した結果、歯肉の初期変化を実験的に観察することができた。
4. 初期歯肉炎は、形態的に一方向に拡大腫脹するのではなく、歯肉最大豊隆部は一担歯頸部より腫脹した後、全体的に歯頸部から離れる方向に腫脹することがわかった。
5. 改良 CCD カメラおよび QLF 法により得た画像の画像処理により、初期歯肉炎の評価の可能性が示唆された。

稿を終えるにあたり、本研究を行うに際しまして、

適切なるご助言をいただきました口腔衛生学講座の諸先生方をはじめ、研究にご協力していただきました多くの方々の暖かいご支援に深く感謝いたします。

なお、本研究は本学中央歯学研究所の画像処理施設を使用して行った。

本研究の一部は平成14年度大阪歯科大学学術奨励金(課題番号 A 02-01)、科学研究費補助金(15390658 基盤研究 B-2)、および厚生労働科学研究費補助金(H 15-医療-019)の補助によって行った。

本論文の要旨は、第496回大阪歯科学会(2004年12月11日、枚方市)で発表した。

## 引用文献

1. 荒川浩久, 神原正樹, 安井利一. スタンダード口腔保健学—健康科学として考える—. 東京: 学健書院, 2003; 169.
2. Lindhe J, Karring T, Lang NP. 臨床歯周病学とインプラント 基礎編. 第3版. 東京: クインテッセンス出版, 1999; 196-207.
3. 池田克己監修, 鴨井久一, 山田 了, 伊藤公一. 標準歯周病学. 第3版. 東京: 医学書院, 2000; 106.
4. 神原正樹. THE ART OF ORAL HEALTH—口腔衛生学の基本技法—. 東京: 学健書院, 2000; 10-13.
5. Bengel W. Mastering dental photography. Berlin: Quintessenz Verlags, 2002; 57.
6. 熊谷 崇, 熊谷ふじ子, 鈴木昇一. 口腔内写真の撮り方. 第2版. 東京: 医歯薬出版, 1998; 2-13.
7. 伊津元博, 西島典幸, 小室美樹, 土居貴士, 上村参生, 神原正樹. 初期表層脱灰の検出に関する研究. 口腔衛生学会雑誌 2002; 52: 646-647.
8. 上村参生, 三宅達郎, 土居貴士, 上根昌子, 日吉紀子, 長沼 健, 松山和正, 中嶋省志, 金子憲司, 神原正樹. QLF を用いた初期う蝕に及ぼすフッ素配合歯磨剤の影響について. 口腔衛生学会雑誌 2003; 53: 336.
9. Kambara M, Uemura M, Izu M, Tanaka H, Nakashima S. Effect of dentifrice containing fluoride on incipient caries using QLF method. Dent Jpn 2004; 40: 83-84.
10. 上村参生, 三宅達郎, 土居貴士, 上根昌子, 奥村紀子, 白石雅照, 奥村 信, 中嶋省志, 金子憲司, 神原正樹. 初期う蝕病巣の回復・進行に関わる因子分析. 口腔衛生学会雑誌 2004; 54: 316.
11. 土居貴士, 上村参生, 川上富清, 伊津元博, 上根昌子, 三宅達郎, 神原正樹. 歯牙酸蝕症診査への DIFOTI™ の応用. 口腔衛生学会雑誌 2002; 52: 650-651.
12. 土居貴士, 上村参生, 奥村 信, 岡田友之, 大塚秀人, 伊津元博, 田中秀直, 神原正樹. DIFOTI™ 応用によるエナメル質 erosion の検出および定量評価について. 歯科医学 2003; 66: 302-306.
13. Axelsson P. An introduction to risk prediction and preventive dentistry. Illinois: Quintessence Publishing, 1999; 49-51.
14. 清野 尚. アドバンス臨床写真コース. 東京: クインテッセンス出版, 1994; 51-63.
15. Suomi JD, McClendon BJ, Frandsen AM. The evaluation of gingival inflammation from color slides. J Dent

- Res 1972 ; 51 : 663.
16. Johnson RH, Rozanis J, Schofield ID, Haq MS. A comparison of clinical and photographic assessment of plaque and gingivitis. *Dent J-J Dentaire* 1977 ; 43 : 576-580.
  17. 道上由美子, 阿部吉晴, 蛭間重能, 曾田麻美子, 河合さか江, 中村治郎. ポラロイド写真の歯周臨床実習への応用. *鶴見歯学* 1977 ; 3 : 29-34.
  18. Fukada H, Kobayashi A, Hoshino S, Miyazawa H, Akasaka M, Miyake Y. A colorimetric study on the gingival color of infants by an application of color film. *J Nihon Univ Sch Dent* 1983 ; 25 : 56-68.
  19. 麻生智子, 石田洋子, 麻賀多美代, 鈴鹿祐子, 保坂誠. 歯肉の色彩計を用いた検討. *日本歯周病学会誌* 1999 ; 41 (秋季特別号) : 200.
  20. 天野優一郎. 非接触型分光測色計を用いた顔面皮膚色の測定. *顎顔面補綴* 2003 ; 26 : 1-11.
  21. 奥田克爾, 安孫子宜光, 石川 烈, 岡田 宏, 古賀敏比古, 野口俊英, 村山洋二. 歯周病学最前線-オーラルケアが守る長寿社会のQOL. 東京:日本歯科評論社 2000 ; 23-33.
  22. Arnbjerg D, Poulsen S, Heidmann J. Evaluation of a photographic method for diagnosis of gingivitis and caries. *Scand J Dent Res* 1992 ; 100 : 207-210.
  23. 飯山正夫, 吉田和史, 堀内 博. コンピュータデジタル画像解析による歯肉発赤認識機序の解明. *日本歯周病学会誌* 1999 ; 41 : 166-172.
  24. Weidlich P, Lopes de Souza MA, Oppermann RV. Evaluation of the dentogingival area during early plaque formation. *J Periodontol* 2001 ; 72 : 901-910.
  25. 緒方智壽子, 上田雅俊. 歯肉色調の画像解析について. *歯科医学* 2003 ; 66 : 227-235.
  26. Kawada A, Kameyama H, Asai M, Shiraishi H, Aragane Y, Tezaka T, Iwakiri K. A new approach to the evaluation of whitening effect of a cosmetic using computer analysis of video-captured image. *J Dermatol Sci* 2002 ; 29 : 10-18.
  27. de Josselin de Jong E, Sundstrom F, Westerling H, Traanaeus S, ten Bosch JJ, Angmar-Mansson B. A new method for in vivo quantification of changes in initial enamel caries with laser fluorescence. *Caries Res* 1995 ; 29 : 2-7.
  28. van der Veen MH, de Josselin de Jong E. Application of quantitative light-induced fluorescence for assessing early caries lesions. *Assess of Oral Health* 2000 ; 17 : 144-162.
  29. 安藤昌俊. 定量蛍光法 (Quantitative Light-Induced Fluorescence) による初期う蝕検出. *日本歯科評論* 2003 ; 728 : 155-160.
  30. 川崎弘二, 酒井怜子, 高島隆太郎, 伊津元博, 朴 容徳, 西島典幸, 川上富清, 田中浩二, 河村泰治, 神原正樹. 歯垢の検出に対する QLF 法の応用. *口腔衛生学会雑誌* 2004 ; 54 : 313.
  31. 川崎弘二, 上村参生, 上田雅俊, 今井久夫, 神原正樹. QLF 法による歯垢付着特性の観察. *日本歯周病学会誌* 2004 ; 46 (秋季特別号) : 113.
  32. Loe H, Theilade E, Jensen BS. Experimental Gingivitis in man. *J Periodontol* 1965 ; 36 : 177-187.

## Early detection of gingivitis by image analysis

Motohiro Izu and Masaki Kambara\*

*Graduate School of Dentistry (Preventive and Community Dentistry), Osaka Dental University and \*Department of Preventive and Community Dentistry, Osaka Dental University, 8-1 Kuzuhahanazono-cho, Hirakata-shi, Osaka 573-1121, Japan*

**Abstract** We investigated the use of two types of digital image analyses for the objective evaluation of gingival condition. The subjects were 15 adults with a mean age of  $24 \pm 2$  years who were informed about the goals of this study and agreed to participate. Photographs of the gingiva were taken with an oral digital camera and the images were analyzed with a quantitative light-induced fluorescence system. Subjects were told not to brush for 7 days and then were re-examined by the same methods after days 1, 2, 3, 5 and 7. Analysis of the gingival digital images revealed changes in the subjects' gingival swelling when the surface shape was expressed in three-dimensions. When images of the gingiva were analyzed with the QLF system, it was found that changes in the color of the gingiva were more objectively expressed with red in the gingiva than with the green fluorescence of the sound surface of teeth. We found that this apparatus could be useful for the objective evaluation of gingivitis because it could express changes quantitatively. **Shika Igaku (J Osaka Odontol Soc) 2005 Mar ; 68(1) : 99-110.**

**Key words** : Gingivitis ; Early detection ; Digital imaging



ザ・クインテッセンス  
the Quintessence

—口腔内カメラを用いたバイオフィーム検出—

## 1. バイオフィーム検出における 口腔内カメラ活用の意義と使用解説

神原正樹／川崎弘二／上村参生

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

Signification and Description of Intraoral Camera for the Detection of Oral Biofilm

Masaki Kambara, Koji Kawasaki, Mibu Uemura



### はじめに

プラークはう蝕および歯周疾患の共通の病原因子である。Theilarde と Løe の「Experimental Gingivitis in man(実験的初期歯肉炎)」(1965年)<sup>1</sup>の研究において、歯口清掃を中止するとプラークの堆積に続いて、2、3日遅れで歯肉炎が発症し、逆に歯口清掃を再開すると歯肉炎が治まると報告されている。それによりプラークと歯肉炎との関係が明らかになり、プラークコントロールの重要性が認識されるようになった。

平成11年の歯科疾患実態調査の結果にも示されるように、少なくとも1日1回以上歯を磨く人が98%を超え、1日2回、3回磨く人が増加してきているなど、日本人の生活習慣に歯口清掃習慣は定着している。

近年、プラークの研究が機器の進展により進み、プラーク自体が単なる細菌の塊ではなく、1つの生態系であるバイオフィームとしてとらえられるようになってきた。バイオフィームの特徴として

プラーク中の液体流路の存在、微量元素の分布が表層・深部で異なること、外表膜の堅固さにより薬液が浸透しにくいなどの点があげられる。バイオフィームの除去には、手用歯ブラシによるだけでなく、専門的にエンジンなどを用いたPMTC(Professional Mechanical Tooth Cleaning)による除去が推奨されている。プラークのとらえられ方がバイオフィームに変化し、これにともなうブラッシング指導や保健指導は、健康を目指した歯科医療の中に位置づけるよう変化させることが望まれている。



### 口腔内バイオフィームの 臨床的検出

歯口清掃の基本である口腔内バイオフィームの検出には、バイオフィームが口腔内では歯と同じ色をしているために、これまでヨードや色素により染色して顕示が行われてきた。しかし最近、ある波長の光をバイオフィームに照射すると、バイオフィームがもつ赤色の蛍光が励起されることが報告<sup>2</sup>され、バイオフィームの検出機器が市販されるようになった。バイオフィーム中の赤色の蛍光物質は現在のと

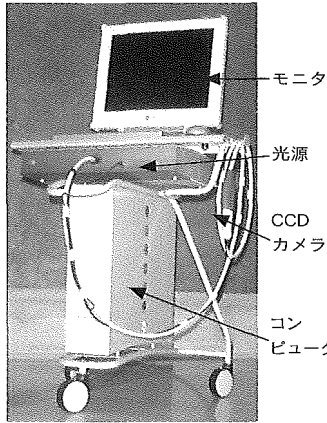


図1 QLFシステム(Inspektor Pro).

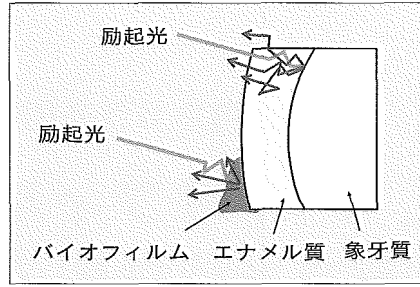


図2 QLF法による歯垢の蛍光を解析する原理.

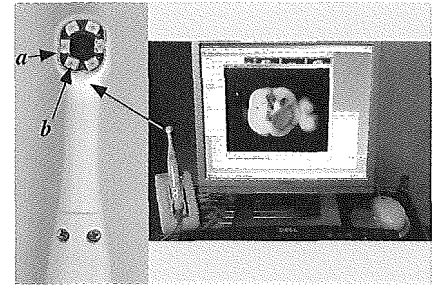


図3 ペンスコープ. a: CCDカメラ, b: 発光ダイオード.

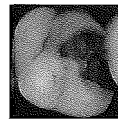
ころポルフィリンであると推定されている。

もともと歯に蛍光物質が存在することは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、多くの研究がなされ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た。また、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と報告しているが、これは有機物であるらしいとの認識段階である。

上記の研究を踏まえ初期う蝕(表層下脱灰)、感染象牙質、歯石の検出にこの方法が応用されるようになってきている。日本でも臨床的に使用されているDIAGNOdent(KaVo社製、ドイツ)は感染象牙質中の細菌が産生する蛍光物質をレーザー照射により励起し検出する方法であり、う蝕治療の診断、治療に使用されている。

ある波長の光を照射する光誘導蛍光定量法(QLF法: Quantitative Light-Induced Fluorescence)は、初期う蝕検出のための代表的な方法である。測定機器としてInspektor Pro (Inspektor Research Systems社製、オランダ/図1)がある。Inspektor Proの特徴として定量化、画像取得、継続的観察、う蝕リスク診断にホストからのアプローチ、インフォームドコンセントが得やすいなどの点があげられる<sup>7-16</sup>。またIns-

pektor Proは、バイオフィームの赤色蛍光を検出できることから、バイオフィーム評価への応用が図られようとしている(図2)。さらに最近、青色ダイオードを光源の一部として口腔内カメラの周りに配置した、バイオフィームの検出が可能なペンスコープ(モリタ製作所、京都/図3)が市販された。原理的にはQLF法と同じである。



### Inspektor Pro および ペンスコープの応用例

Inspektor Pro およびペンスコープによるバイオフィーム検出への応用例を示す。

図4は、歯石付着抜去歯をInspektor Pro およびペンスコープで取得した画像を示す。両方法とも歯石が赤い蛍光を発している。カメラ、励起波長、出力、フィルターおよび画像処理調整度合いの違いにより、歯の色調がInspektor Proでは緑、ペンスコープでは白に近い色を呈しているが、歯石の赤は明瞭に示されている。

図5,6は、Inspektor Proの特徴であるバイオフィームの定量化を示す。取得した画像の歯面全体を囲み、レファレンスを健全歯面のある任意の箇所を設定し、バイオフィームの分析を行うと以下の3つのパラメータが自動的に算出される。

- ①バイオフィームの付着面積(mm<sup>2</sup>)
- ②プラークが発する平均蛍光強度(%)
- ③プラークが発する最大蛍光強度(%)

患者への説明では赤のバイオフィームの顯示だけ

図4a | 図4b | 図4c  
図4d | 図4e | 図4f

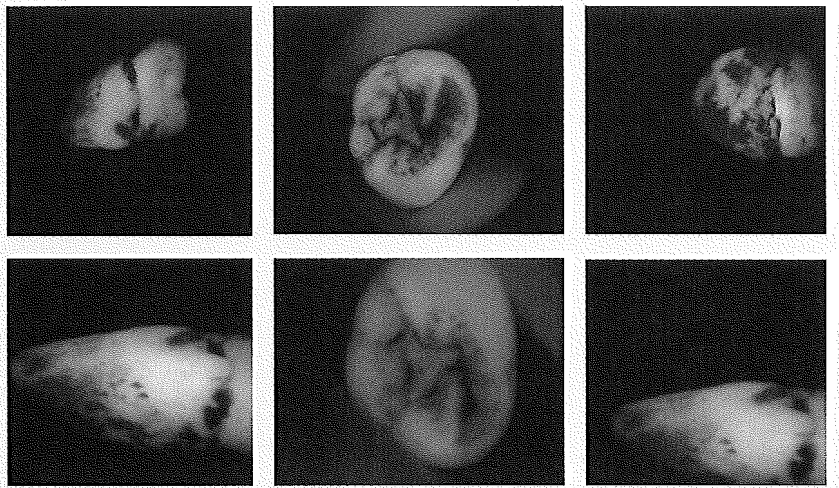
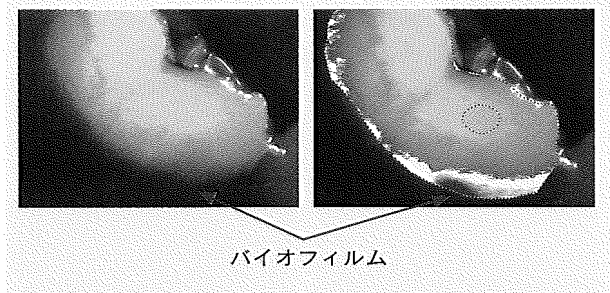
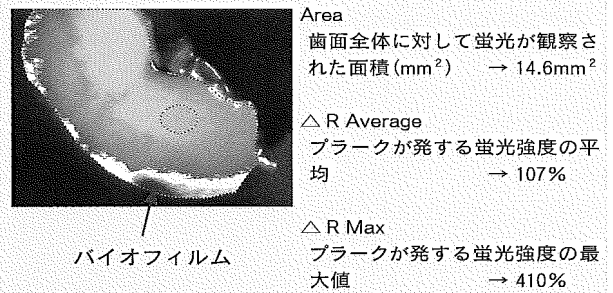


図4a~f 上段(a~c)：ペンスコープ，下段(d~f)：Inspektor Pro.



バイオフィーム

図5 Inspektor Pro によるプラークの蛍光を解析する原理.



バイオフィーム

図6 Inspektor Pro により算出される3パラメータ.

図7a | 図7b | 図7c

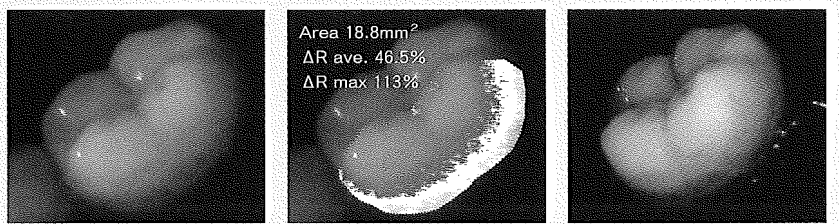


図7a~c バイオフィームの比較. a, b : Inspektor Pro, c : ペンスコープ.

図8a | 図8b | 図8c

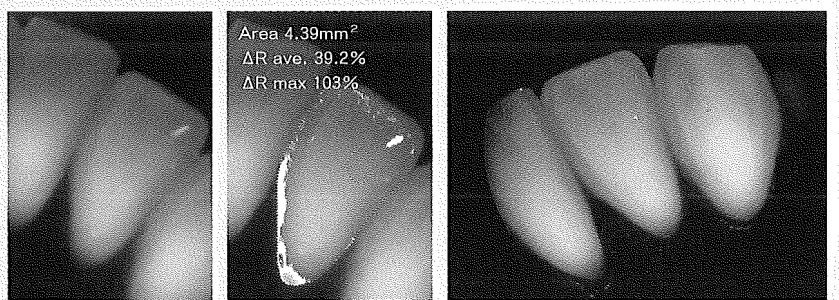


図8a~c 下顎前歯部舌側バイオフィームの比較. a, b : Inspektor Pro, c : ペンスコープ.

でも十分であるが、バイオフィームの定量化により客観的比較観察などが可能となる。

図7, 8にInspektor Pro およびペンスコープにより取得したバイオフィーム画像を示す。図7が白歯部バイオフィーム、図8が下顎前歯部舌側付着のバイ

オフィームである。付着バイオフィームが赤い蛍光を発している状態が明確に示されている。赤い蛍光は先に示したように歯石でもみられるため、下顎舌側の場合、歯石との鑑別に、視診による診査を併用して行う必要がある。

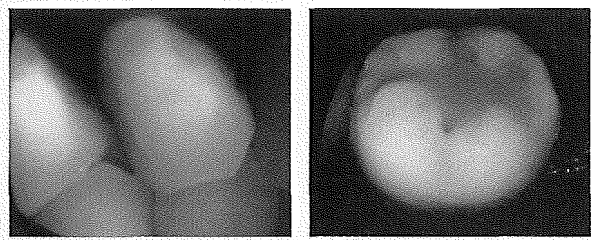


図9 保存治療患者での充填物周囲のバイオフィーム画像。  
a: Inspektor Pro, b: ペンスコープ。 図9a|図9b

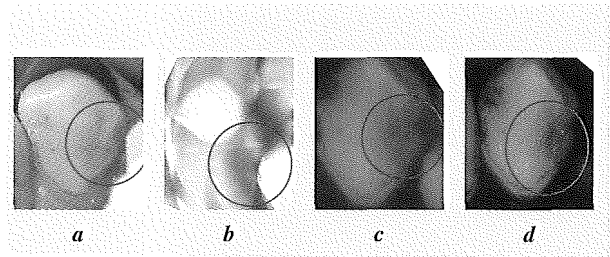


図10 ヒドンカリエスの蛍光画像。a: 実体写真, b: X線画像, c: Inspektor Pro, d: ペンスコープ。

図11a | 図11b | 図11c

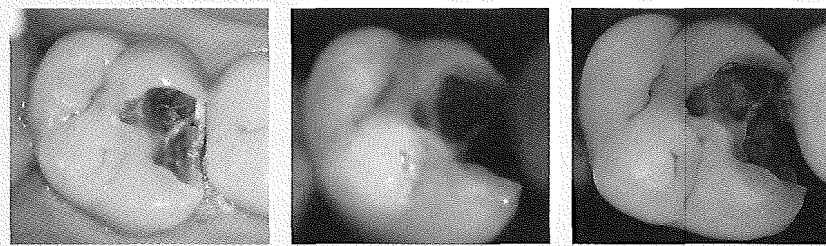


図11 感染象牙質の赤色蛍光。a: 実体写真, b: Inspektor Pro, c: ペンスコープ。

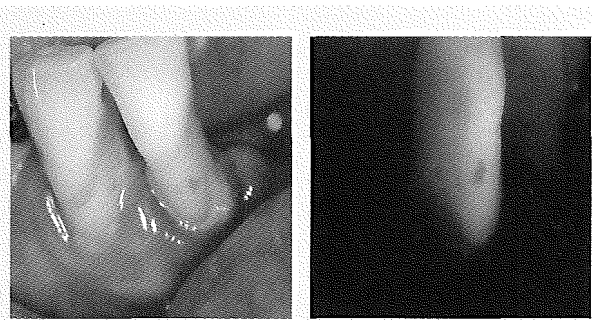
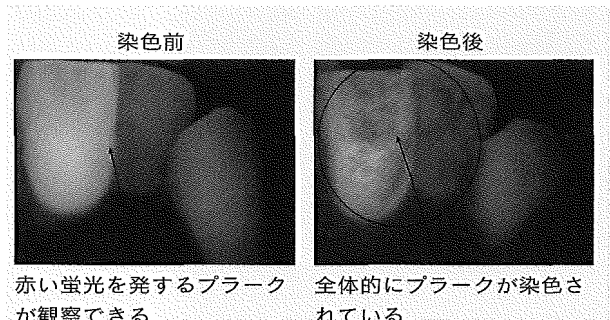


図12a, b 歯周病患者のバイオフィーム。 図12a | 図12b



赤い蛍光を発するプラーク 赤い蛍光を発しないプラーク  
全体的にプラークが染色されている。

図13a, b 赤い蛍光を発するプラークと発しないプラーク。  
図13a | 図13b

図9に保存治療患者の充填物周囲のバイオフィームを示す。二次う蝕の原因となる充填物周囲のバイオフィームの存在が明確に示されている。充填物の周囲に付着するバイオフィームが、充填物の部位特性があるのか、充填物と歯質との不適合によるのかなどが可視的に示される。

図10は、歯質内のヒドンカリエス(hidden caries)の例を示す。実体写真では明確でなく、X線写真撮影により初めて検出されるヒドンカリエスも、Inspektor Pro およびペンスコープにより、赤い蛍光として検出される。これもう蝕内に進入した細菌が産生するポルフィリンに由来する赤色の蛍光が励起された結果を示している。そのことは図11に示す開拡したう窩内の感染象牙質が、非常に明るい赤色の蛍光を示すことから明らかである。

図12に歯周病患者のバイオフィームを示す。健康歯肉者のバイオフィームに比べ、赤い蛍光強度は強いようである。

図13は、Inspektor Pro によるQLF画像である。隣接面に赤色蛍光を示すバイオフィームがみられる。これを染色剤で染色すると赤色蛍光部以外にも染色されている(図13右)。そこで赤色蛍光部とを別々に採取し、バイオフィーム内の歯周病関連細菌数をPCR法で調べた。蛍光を発した赤色蛍光部のバイオフィームには、蛍光を発しない部のバイオフィームに比較して、歯周病関連細菌が数十倍多くみられた。歯周病患者のバイオフィームの質的評価をこれらの方法を組み合わせて行える可能性があると考えている。

図14に矯正患者のバイオフィーム像を示す。装

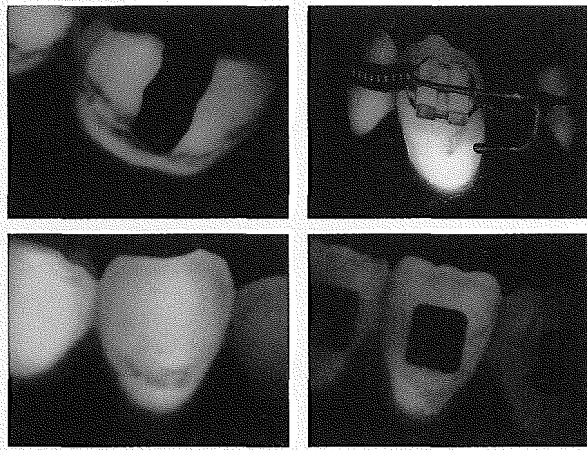


図14 矯正治療患者のバイオフィルム。

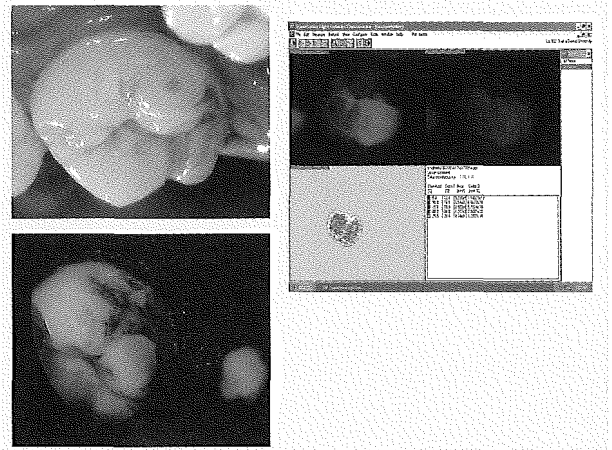


図15 右側第二大臼歯頬側面のバイオフィルム像。

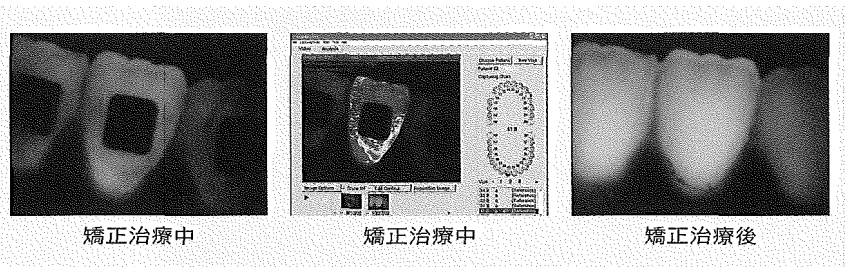


図16 矯正治療中と治療後のQLF像。

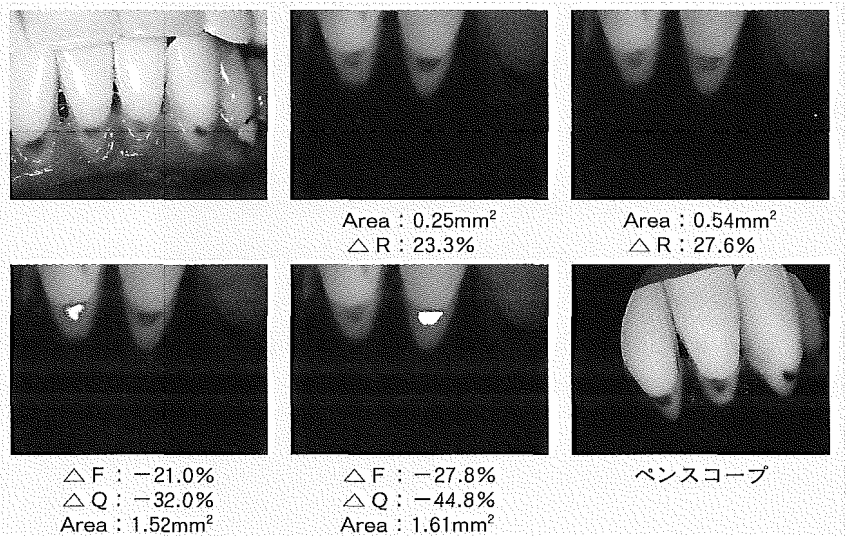


図17 根面う蝕とバイオフィルム。

着した矯正ブラケット周囲のバイオフィルムの付着が明瞭に観察されている。矯正治療後の初期う蝕の発現との関連性や、矯正治療中のう蝕予防に効果的であるといえる。図15は、矯正治療中の好発う蝕発現部位である臼歯部頬側面の Inspektor Pro およびペンスコープ像である。明瞭にバイオフィルム付着と初期う蝕像が観察される。図16に矯正治療中と治療後のバイオフィルム付着と装置除去後の歯面

を示す。予防処置や保健指導が適切に行われると、ブラケット除去後の歯面に初期う蝕像は認められていない。

以上、患者別にその応用例を示したが、他に補綴患者のデンチャープラーク、鉤歯のバイオフィルム、小児患者のバイオフィルム、咬合面・根面(図17)など面別バイオフィルムなどその応用範囲は広く、より詳細にバイオフィルムを観察することにより、口

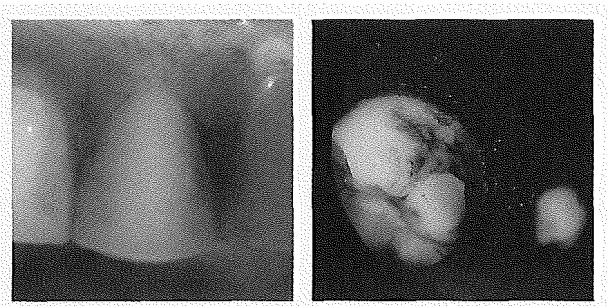
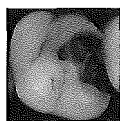


図 18 暗視野の確保ができなかった例。

腔の予防や健康増進の新たな歯科医療の展開が期待される。



## Inspektor Pro および ペンスコープの使用上注意点

Inspektor Pro およびペンスコープの臨床応用時の注意点として以下の事項があげられる。

### 1) 測定環境の獲得

光測定のため外光の進入をできるだけ避ける必要がある。できれば周囲のライトの消灯や、自作の箱を用意し、明確な蛍光の撮影のため暗視野を確保する必要がある(図 18)。

### 2) ハンドピースと歯面との角度、位置調整

ハンドピースヘッドと被検歯・プラークとの角度をできるだけ上下顎、左右の歯がモニタ画面上で理解しやすい画像となるように調整する。とくに白歯部バイオフィルムの画像取得には注意を要する。位置調整は Inspektor Pro に位置調整ソフトが組み込まれているので継続観察の比較には適している。

### 3) 被検歯の乾燥

被検バイオフィルムや歯が唾液で被覆した状態での撮影は、焦点が合わせ難いのでできるだけ歯を乾燥した状態で行う。

### 4) 被検対象物の明確化

バイオフィルム付着対象物(歯、充填物、補綴物、矯正用ブラケット、軟化牙質など)を明確にイメージし、これを含めた画像の取得に努める。

### 5) 口腔内写真との併用で撮影

後日整理する際や患者への説明に、口腔内写真と並列して供覧できるようにしておくとう理解しやすい。

### 6) 時間の短縮

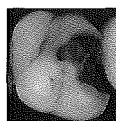
機器操作に慣れるまでは画像取得に手間取るので、アシスタントと口腔内の操作とコンピュータ操作の役割を分担して行うと時間短縮と正確な画像取得が図れる。

### 7) 画像の整理

画像管理ソフトを使用し整理に努める。

### 8) 眼に近づけない

励起光は近紫外領域の波長をもつが、太陽光の紫外線よりはるかに弱いので安全上問題がない。しかし、直接眼に照射したり、近づけることは避ける。これは光硬化性レジンなどに使用されている光重合照射装置と同様である。



## まとめ

Inspektor Pro およびペンスコープは、21世紀の健康を対象とした歯科医療に対応するものである。歯科医療を健康医療、すなわち健康からアプローチする歯科医療にするための初めての技術である。これを基点に、今後、国民の視点に立った予防から健康増進への歯科医療に変換していくことを望んでいる。

本稿は2004年度日本歯科保存学会・秋季大会で報告した内容をもとに、新たに加筆・構成したものである。

## 参考文献

1. Theilade E, Loe H, Jensen. Experimental Gingivitis in man. *J Periodontol* 1965; 36: 177-187.
2. 伊津元博, 神原正樹. 画像解析を応用した初期歯肉炎診査. *歯科医学* 2005; 68: 投稿中.
3. H.C. Benedict. Note on the fluorescence of teeth in ultra-violet rays. *Science* 1928; 67: 442.
4. Armstrong WG. Fluorescence characteristics of sound and carious human dentine preparations. *Arch Oral Biol* 1963; 8: 79-90.
5. Foreman PC. The excitation of emission spectra of fluorescent components of human dentine. *Arch Oral Biol* 1980; 25: 641-647.
6. Spitzer D, ten Bosch JJ. The total Luminescence of bovine and human dental enamel. *Calcif Tissue Res* 1976; 20: 201-208.
7. Early Detection of Dental Caries II. Stookey GK(edit), *Proceedings of the 4th Annual Indiana Conference, Indiana University School of Dentistry*, 2000.
8. Early detection of Dental Caries III, Indiana Conference, Indiana University School of Dentistry, Indianapolis, Indiana, 2003.
9. 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* 2004; 56: 611-618.
10. 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* 2003; 63: 161-165.
11. Uemura M, Kambara M. Results of clinical trials of fluoride dentifrices using quantitative light fluorescence; Early Detection of Dental Caries III, Indiana Conference, 2003.
12. 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* 2004; 67: 257-265.
13. 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* 2004; 67: 266-273.
14. de Josselin de Jong E, Sundstrom F, Westerling H et al. A new method for in vivo quantification of changes in initial enamel caries with laser fluorescence. *Caries Res* 1995; 29: 2-7.
15. van der Veen MH, de Josselin de Jong E. Application of quantitative light-induced fluorescence for assessing early caries lesions. *Asses of Oral Health* 2000; 17: 144-162.
16. 高島隆太郎, 川崎弘二, 上村参生ら. エナメル質人工う蝕試料の再石灰化におけるQLF観察. *日本口腔衛生学会雑誌* 2005; 55: 投稿中.

### 最新号案内

THE INTERNATIONAL JOURNAL  
OF

## PERIODONTICS & RESTORATIVE DENTISTRY

ペリオのスペシャリストが  
臨床家におくる国際誌

A4判変形  
1部定価4,410円  
(本体4,200円・税5%)  
年間購読料 定価26,460円  
(本体25,200円・税5%)

### Volume 13 Number 1 目次より

- ・直径を減じたインプラント体における応力の伝達状況: 生体力学的分析 By Çehreli MC et al
  - ・歯肉弁を最大限に減張し, 歯冠側移動を可能にする表層部分層弁: 外科的手法 By Greenwell H et al
  - ・歯周病治療における, 抗菌作用を示す有効量以下のドキシサイクリン投与の効果について: 詳細な評価検討 By Greenstein G
  - ・抜歯後のティッシュマネージメント: 軟組織へのパンチテクニック By Jung RE et al
  - ・生体吸収性遮蔽膜と除タンパクしたウシ骨を併用した粘膜貫通型インプラント即時埋入: 短期間の比較対照臨床試験 By Cornellini R et al
  - ・上顎洞への移植術を行った部位に埋入したインプラントの生存率に関するレビュー By Del Fabbro M et al
  - ・rhBMP-2の骨再生効果の測定: 市販のソフトウェアプログラムを使用したX線学的研究 By Bianchi J et al
  - ・濃縮血小板を応用した歯肉退縮の治療: 2症例の報告 By Griffin TJ et al
- 日本オリジナル企画—米国歯周病学会誌から知る最新情報

クインテッセンス出版株式会社



〒113-0033 東京都文京区本郷3丁目2番6号 クイントハウスビル  
Tel(03)5842-2272 Homepage <http://www.quint-j.co.jp/> E-mail [info@quint-j.co.jp](mailto:info@quint-j.co.jp)



—口腔内カメラを用いたバイオフィルム検出—

## 2. 光学的手法による 歯周病関連バイオフィルムの検出法の検討

武内博朗\*<sup>1,2</sup> / 奥田健太郎\*<sup>3</sup> / 西川原総生\*<sup>1</sup> / 泉福英信\*<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

連絡先：〒351-0197 埼玉県和光市南2-3-6

\*<sup>2</sup>医療法人社団 武内歯科医院

連絡先：〒252-1131 神奈川県綾瀬市寺尾北3-12-32

\*<sup>3</sup>九州大学大学院歯学部地域口腔保健開発学

連絡先：〒812-8582 福岡県福岡市東区馬出3-1-1

\*<sup>4</sup>国立感染症研究所細菌第一部

連絡先：〒162-8640 東京都新宿区戸山1-23-1

New Detectable Method of the Dental Biofilm Related to Periodontal Disease Using Light-Fluorescence

Hiroaki Takeuchi, Kentaro Okuda, Fusao Nishikawara, Hidenobu Senpuku, Nobuhiro Hanada



### はじめに

現在、口腔バイオフィルムの検出は通常歯垢染色剤で行っている。口腔疾患の主たる原因であるバイオフィルムを正確に検出、ビジュアル化するステップは大変重要である。単一色素を用いた染色剤の他にバイオフィルムを古い部分、新しい部分に染め分ける機能をもった2色性染色剤、ニューツートーン染色剤(ヘルスデンタルマテリアル)などが知られており、プロフェッショナルケア、セルフケアの実施時に一定の役割を果たしている(図1a~d)。バイオフィルムの付着状態ばかりではなく質的な情報診断も視野に入れた染色剤といえる。

本稿では、従来の染色法とはまったく異なる光学的手法による歯周病関連バイオフィルムの検出系について紹介する。本法は、400nmの可視光線を歯列に照射し、バイオフィルム中のある成分を発光させて検出する。発光するバイオフィルムは、病原性が強いと思われるデータが得られている。さらに本法は染色法と異なり瞬時に光照射によって特異的バ

イオフィルムを浮かび上がらせながら除去操作を行うことも可能にしており、予防歯科臨床上大変有用である。



### 歯周病関連バイオフィルムとポルフィリン

ある種の口腔細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。このポルフィリンに400nmの可視光線を照射すると630nmのオレンジ色の蛍光が発生する(ペンスコブ原理図/図2)。細菌代謝活性があるう蝕病変も同様の原理で検出されるとのことであるが<sup>1,2</sup>、本稿では主として歯周病のバイオフィルム検出について取り上げる。

*Porphyromonas gingivalis*(以下P.g.)もヘムから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。このポルフィリンはヘモグロビンなどの生体物質から細菌の生育に必要な鉄イオンを奪われた(ヘムからFeイオンを取り除いた)ものである(図3a, b)。

本菌は歯周炎の主要な起炎菌とのエビデンスが蓄積しており、歯周炎の予防、治療において歯周病関連バイオフィルムを徹底除去することが重要である。

# エナメル質人工初期う蝕試料の再石灰化における QLF 観察

The QLF Observation of Remineralization on Artificial Enamel Lesions

高島隆太郎 川崎 弘二 上村 参生 酒井 怜子  
川上 富清 小室 崇 西島 典幸 田治米元信  
多名部 実 小室 美樹 神原 正樹

Ryutaro TAKASHIMA, Koji KAWASAKI, Mibu UEMURA, Reiko SAKAI,  
Tomikiyo KAWAKAMI, Takashi KOMURO, Noriyuki NISHIJIMA,  
Motonobu TAJIME, Minoru TANABE, Miki KOMURO and Masaki KAMBARA

口腔衛生学会雑誌 55 巻第 1 号別刷

(平成 17 年 1 月発行)

THE JOURNAL OF DENTAL HEALTH Vol. 55 No.1

(Jan. 2005)

原 著

## エナメル質人工初期う蝕試料の再石灰化における QLF 観察

高島隆太郎 川崎 弘二\* 上村 参生\* 酒井 怜子  
川上 富清\* 小室 崇\* 西島 典幸\* 田治米元信\*  
多名部 実\* 小室 美樹\* 神原 正樹\*

**概要：**ヒトエナメル質を用いて初期う蝕低脱灰試料群（低脱灰群）および、初期う蝕高脱灰試料群（高脱灰群）を作製し、異なるフッ化物イオン濃度（0 ppmF, 0.1 ppmF, 1 ppmF）の再石灰化溶液に 15 日間浸漬し、再石灰化の過程を QLF（quantitative light-induced fluorescence）法により経時的に観察した。その結果、再石灰化溶液浸漬 15 日後には、低脱灰群において 0 ppmF 群は 47%、0.1 ppmF 群は 43%、1 ppmF 群は 89% の回復率、高脱灰群において 0 ppmF 群は 33%、0.1 ppmF 群は 39%、1 ppmF 群は 52% の回復率の回復率を示した。今回の *in vitro* 研究においては、再石灰化溶液中の 1 ppmF フッ化物イオンが低脱灰群のヒトエナメル質初期う蝕に対して、特に再石灰化を促進していることがわかり、QLF 法はエナメル質試料における脱灰/再石灰化観察に有用であることがわかった。

**索引用語：**初期う蝕, 脱灰, 再石灰化, QLF (quantitative light-induced fluorescence)

口腔衛生会誌 55 : 41-49, 2005

(受付：平成 16 年 8 月 10 日/受理：平成 16 年 11 月 15 日)

### 緒 言

近年、若年層において象牙質にまで達するう蝕の数は減少傾向にあるものの、う窩を伴わないエナメル質初期う蝕（以下、初期う蝕と略）は増加傾向にあるといわれている<sup>1,2)</sup>。そのため、21 世紀の歯科保健は初期う蝕に対し一層の対応が求められているのが現状である。

初期う蝕の再石灰化にフッ化物イオンが与える影響は数多くの研究で検討され、低濃度フッ化物イオンの存在下で再石灰化は促進されると報告されている<sup>1,3-7)</sup>。現在、初期う蝕に対してフッ化物応用をはじめとする再石灰化治療が行われているものの、治療後に初期う蝕が健全な状態にまで回復しなかったという報告は多い<sup>8-11)</sup>。これは初期う蝕が再石灰化する過程において、初期う蝕表層のエナメル質に唾液由来の無機成分が沈着し過石灰化することにより、病体部の再石灰化に必要なミネラルの拡散が起こらないためと考えられており<sup>12)</sup>、特にフッ化物を応用することで無機成分が表層へ沈着しやすくなり、それ以上は脱灰や再石灰化が進行しない停止性の初期う蝕となることが知られている<sup>1,8,9,13)</sup>。さらに初期う

蝕における脱灰病変の大きさやミネラル喪失量<sup>14,15)</sup>、初期う蝕表層のエナメル質性状<sup>8)</sup>が再石灰化量に影響を与えるという報告もあり、初期う蝕の再石灰化機構についてはいまだ不明な点も多い。それゆえ初期う蝕の再石灰化治療において、より高い回復量を得る方法についてはコンセンサスが得られていないのが現状である。

*In vivo* で認められる初期う蝕は出現部位、進行程度、口腔内環境によりさまざまな様相を示す<sup>13)</sup>ことが知られているが、侵襲を与えることなく初期う蝕の様相を観察する手段は限られている。初期う蝕の脱灰程度を非破壊的に観察する手段として QLF (quantitative light-induced fluorescence) 法がある<sup>16-18)</sup>。QLF 法はエナメル象牙境付近に多く存在するといわれる蛍光物質を利用し、歯に励起光を照射して得られる自家蛍光のうち、健全部と初期う蝕部の蛍光強度差をもとに初期う蝕を検出し、コンピュータに取り込んだうえで画像処理を行い、初期う蝕を定量的に分析する方法である。初期う蝕の形態学的な観察におけるゴールド・スタンダードとしてマイクロ・ラジオグラフ (MR) 法がある<sup>19)</sup>。この MR 法における初期う蝕部のミネラル喪失量と、QLF 法における健全

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

部と初期う蝕部の蛍光強度差には、強い相関( $R=0.97$ )があることが報告されている<sup>10)</sup>。MR法では、超薄切片としたエナメル質試料に軟X線を照射することでフィルム上に得られたX線画像から脱灰により喪失した無機成分量・脱灰部の性状を観察する。MR法では超薄切片を作製し観察を行うため、試料の部分的な情報しか得られず、得られる情報は二次元的である。しかしながら、QLF法では上記のように初期う蝕部における蛍光強度の減少量により脱灰程度を算出するため、得られる情報より初期う蝕全体の動態を三次元的に捉えることができる。また、QLF法ではX線を用いるMR法よりも早い時期に表層下脱灰を検出できるとの報告もある<sup>13)</sup>。非破壊的に三次元的な初期う蝕病変の動態観察が可能なQLF法は臨床のみならず、*in vivo* 研究、臨床疫学的な調査においても有用と考えられる。しかしながら、QLF法を用いた初期う蝕における再石灰化の観察を行った基礎的な研究<sup>8,20)</sup>は十分になされていないのが現状である。

本研究では、再石灰化溶液中のフッ化物イオン濃度が *in vitro* 条件にて作製した脱灰程度の異なるエナメル質初期う蝕脱灰試料（以下、初期う蝕試料と略）の再石灰化に及ぼす影響をQLF法により観察した。

## 材料および方法

### 1. 鏡面研磨エナメル質試料の作製

ヒト天然抜去歯上顎中切歯30本(肉眼的に認められる大きな破折線、テトラサイクリン歯、フッ素症、修復、減形成、う蝕のあるものは除外した)の頬側面からダイヤモンドドリル(Continental Diamond Tool, New Heaven, アメリカ)を用い、流水下で直径4mmのエナメル質ディスクを取り出した。エナメル質ディスクは中空のアクリリックロッド(森コルク, 大阪)に即時型重合レジン(プロビナイス, 松風, 京都)を用いて包埋し、耐水ペーパー#1000(ウインゴ商事, 大阪)にて15分間、ゲル状研磨剤(Gamma Alumina, 0.05  $\mu\text{m}$ , Buehler, アメリカ)にて研磨を90分間行い、200~400  $\mu\text{m}$ の表層エナメル質を除去した後に、超音波洗浄を蒸留水中で15分間行い鏡面研磨エナメル質試料とした<sup>20,21)</sup>。

### 2. エナメル質人工初期う蝕試料の作製

鏡面研磨エナメル質試料の表面中央に初期う蝕を作製するため、2×2mmの脱灰予定窓以外をネイルバーニッシュで被覆したのち、脱灰溶液(100mM塩化ナトリウム, 10mMリン酸一カリウム, 3mM塩化カルシウム, 100mM乳酸, pH; 4.5)にそれぞれ12, 48時間の間、37°C下で浸漬し、2種類の脱灰程度をもつ試料を15試料ずつ作製した。作製した初期う蝕試料は蒸留水にて洗浄

したのち、アセトンによりネイルバーニッシュを除去した。

### 3. QLF法による初期う蝕脱灰程度の評価

QLF法<sup>16,17,22)</sup>(QLF™ Clin System, Inspektor Research Systems, オランダ)により初期う蝕試料の脱灰程度の観察を行った。観察は試料表面についた水滴を濾紙にて吸いとったのちに、25°Cの室温環境にて15分間自然乾燥させたのちに行った<sup>23)</sup>。

QLF法により得た画像は画像解析ソフト(QLF™ Clin Software Ver 2.00 f, Inspektor Research Systems)により解析した。

QLF法による初期う蝕脱灰程度の評価には、 $\Delta F$  (%) [健全部に対する初期う蝕病変部の平均蛍光強度減少率<sup>18)</sup>]、Area ( $\text{mm}^2$ ) [検出した初期う蝕病変部の面積<sup>18)</sup>]、 $\Delta Q$  [ $\Delta F$ をAreaに乗じたもので初期う蝕病変部全体の蛍光減少量を示す<sup>24)</sup>]という3つの指標が用いられている。今回は脱灰程度の指標として $\Delta F$ を用い解析を行った。なお、QLF法による測定は鏡面研磨エナメル質試料作製後および初期う蝕試料作製後に行った。

### 4. 再石灰化溶液への浸漬

3種類の異なるフッ化物イオン濃度(0, 0.1, 1 ppmF)の再石灰化溶液(100mM塩化ナトリウム, 5mMリン酸一カリウム, 15mM塩化カルシウム, 20ppmカゼイン, 0.2%アジ化ナトリウム, フッ化ナトリウム, pH; 6.5)に初期う蝕試料を37°Cにて合計15日間浸漬した。再石灰化溶液は3日ごとに新たに調製し交換した。

### 5. QLF法による再石灰化程度の評価

再石灰化後の初期う蝕試料の状態をQLF法にて観察した。観察は再石灰化溶液交換時(3, 6, 9, 12日目)および再石灰化過程終了時(15日目)の合計5回行った。再石灰化程度の指標として $\Delta F$ 値を解析に用いた。

### 6. QLF法による再石灰化過程における回復率の評価

再石灰化前と後の脱灰程度の変化は、次に示す回復率という指標を算出し、評価を行った。回復率は次のように設定した。

回復率:

$$\frac{\text{脱灰溶液浸漬後の } \Delta F \text{ 値} - \text{再石灰化 } n \text{ 日後の } \Delta F \text{ 値}}{\text{脱灰溶液浸漬後の } \Delta F \text{ 値} - \text{脱灰溶液浸漬前の } \Delta F \text{ 値}} \times 100$$

(n=3, 6, 9, 12, 15)

### 7. 統計・分析方法

$\Delta F$ 値の経時的変化および各条件群間での $\Delta F$ 値を比較検討する際の統計学的分析は一元配置分散分析を行ったのちに、Schefféの方法により分析を行った。有意水準は $p=0.05$ および $0.01$ とした。なお、分析には統計ソフト(SPSS®10.0J for Windows)を用いた。