

研究種目：基盤研究（C）  
 研究期間：2007～2008  
 課題番号：19592199  
 研究課題名（和文） 電氣的・色彩学的手法を応用した修復物の辺縁漏洩に対する臨床診断法の確立  
 研究課題名（英文） The development of clinical diagnostic method for microleakage of restorations using electronic and color evaluations  
 研究代表者  
 岩見 行晃（IWAMI YUKITERU）  
 大阪大学・大学院歯学研究科・助教  
 研究者番号：90303982

## 研究成果の概要：

本研究では、修復物辺縁部の色を画像上で判定する辺縁漏洩の色彩評価法を確立し、ギャップ幅ごとの至適試験条件の設定を行うとともに、本色彩評価法により、辺縁漏洩発生部の位置的な特定や2次う蝕の発生部位、活動性の評価が可能であることを示した。また、我々が従来から研究を進めてきた電氣的辺縁漏洩診断法では、歯髄方向への辺縁漏洩の進展を評価できることもわかった。その結果、電氣的辺縁漏洩診断法と色彩評価法を組み合わせることで、これまで、客観的な診断法が無かった修復物の辺縁漏洩に対して、辺縁部2次う蝕も含めた定量的客観的な3次元評価法が確立できる可能性が示された。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2008年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・保存治療系歯学

キーワード：歯学・電気・色彩・辺縁漏洩・診断

## 1. 研究開始当初の背景

口腔内の修復物における辺縁漏洩は2次う蝕や歯髄炎の主要な原因の一つであるが、客観的にその状態を診断することは困難である。加えて、近年提唱されてきた minimal intervention dentistry の概念においては、既存の修復物の再修復を行う場合、修復物全体を除去するのではなく、最小限の切削による再修復が推奨されている。したがって、辺縁漏洩の発生部位や広がり、歯髄との距離を、口腔内で客観的かつ正確に診断する必要性

が高まっている。

そこで、我々は新たに浸透探傷法を応用した電氣的辺縁漏洩診断法を考案し、その診断結果が窩洞の大きさに影響されず、従来から *in vitro* で用いられてきた色素浸透法による評価結果と有意な相関関係にあることを報告した (Iwami *et al.*, *J Dent* 28, 241-247, 2000)、しかし、本法は、修復物辺縁全体での辺縁漏洩発生状況の把握には不適當であった。

一方、近年、我々が開発した CIE1976L\*a\*b\*

表色系によるう蝕歯質の客観的色彩評価法 (Iwami *et al.*, *Oper Dent* 30, 83-89, 2005) では、歯質の状態を画像上の色の違いで把握できることから、色素溶液で辺縁漏洩部分を染色した修復物に適用した場合、口腔内における辺縁漏洩発生部位のマッピングが可能になると考えられる。また、色彩評価法は、修復物辺縁部における辺縁漏洩の進行とそれに続発した2次う蝕の診断にも有効であると考えられる。

そこで、我々は、本研究において、辺縁漏洩に対する歯髄方向への進行程度の評価に適した電氣的辺縁漏洩診断法と、発生部位や辺縁部2次う蝕の評価に適した色彩評価法を組み合わせて、客観的かつ定量的な修復物辺縁部の総合診断法の確立を試みた。

## 2. 研究の目的

(1) ヒト抜去歯による辺縁漏洩モデル実験系を確立し、その有用性を検討する。

(2) 辺縁漏洩モデル実験系を用いて辺縁漏洩の色彩評価法を確立し、辺縁部のギャップ幅や辺縁漏洩発生部位についての適切な評価条件を検索する。

(3) 健全抜去歯上のコンポジットレジン修復物を使用して、電氣的辺縁漏洩診断法による評価結果と歯髄方向への辺縁漏洩の進行状態との関係を調べる。

(4) 修復物辺縁部の2次う蝕の評価を目指して色彩評価法およびレーザー診断によるう蝕評価法を検討する。

そして、以上の実験より、臨床応用可能な電氣的・色彩学的手法による辺縁部2次う蝕も含めた辺縁漏洩の客観的定量診断法の確立を目指す。

## 3. 研究の方法

本研究では、辺縁性歯周炎や智歯周囲炎による抜去対象の歯を持ち、本研究について十分なインフォームドコンセントにより同意が得られた患者から提供されたう蝕のない抜去歯または露髄を認めないう蝕歯を用いた。

(1) 辺縁漏洩モデル実験系の確立とギャップ幅の再現性

① コンポジットレジンによる辺縁漏洩モデル実験系の確立

ヒト抜去大白歯咬合面のエナメル質を低速回転研磨機 (Ecomet3000, Buehler) で削除した後、削除面の一部を窩洞に見立てて削除し、削除歯質表層に分離剤 (CR セップⅢ, クラレ) を一層塗布した。そして、象牙質接着処理とコンポジットレジン修復を行ったのち、一旦、コンポジットレジン硬化体を分離して、スペーサーを削除歯質の両端に塗布した。その後、歯質とコンポジットレジン硬

化体を再度ネジ固定し、辺縁漏洩モデル実験系とした。

② 辺縁漏洩モデル実験系によるギャップ幅の実測

辺縁漏洩モデル実験系を用いて、分離剤非塗布群、分離剤塗布後未分離群 (コンポジットレジン硬化体を一旦分離しない)、スペーサー非塗布群 (コンポジットレジン硬化体を一旦分離した後、スペーサーを塗布せず再固定)、スペーサー1回塗布群およびスペーサー3回塗布群の辺縁漏洩モデルのギャップ幅を高倍率実体顕微鏡 (3Dデジタルファインスコープ, オムロン) で実測し、ギャップ幅の再現性を評価した。

(2) 辺縁漏洩の色彩評価法の確立

コンポジットレジンによる辺縁漏洩モデル実験系を用いて、CCDカメラによる撮影画像から色補正用色見本の色調変化をもとにした色補正を行って得られた辺縁部および辺縁周囲の色素溶液 (アシッドレッド, カリエステクター, クラレメディカル) 塗布後の  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  (CIE1976  $L^*a^*b^*$ 表色系, Iwami *et al.*, *Oper Dent* 30, 83-89, 2005), 高倍率実体顕微鏡による修復物辺縁部ギャップ幅実測値, 色素染色幅, 余剰色素溶液除去方法との関係を調べた。また、う蝕のあるヒト抜去大白歯について、う蝕検知液 (カリエステクター) を用いてう蝕除去を行い、視診によるう蝕歯質の色評価結果と CCDカメラによる撮影画像から得た  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  の関係を調べ、視診による色評価の客観性を評価した (Iwami *et al.*, *J Dent* 35, 749-754, 2007)。

(3) 電氣的辺縁漏洩診断法による評価結果と辺縁漏洩の進行状態との関係

抜去歯によるコンポジットレジン修復実験系で、ボンディング材を用いずに窩洞深さを変化させることで、様々な深さの辺縁漏洩モデルを作製し、電氣的辺縁漏洩診断法によるコンダクタンス変化量 (Iwami *et al.*, *J Dent* 28, 241-247, 2000) との関係調べた。

(4) 色彩評価法およびレーザー診断による2次う蝕の評価

① う蝕病巣の活動性と色彩評価および細菌学的評価の関係

歯冠部象牙質う蝕を持つ26本のヒト抜去大白歯について、エナメル質う蝕部を削除後、象牙質表層から健全歯質に達するまで  $150\mu\text{m}$  ごとにラウンドバーにて歯質削除を繰り返した。この際、象牙質削除前および削除ごとに、う蝕検知液 (カリエステクター) で染色後、色補正用色見本とともに歯質表面を CCDカメラで撮影し、実験(2)と同様の方法で色補正を行って、歯質表面の  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  を算出

した。また、16S rDNA の保存領域の塩基配列をもとに設計したユニバーサルプライマーを用いて、ラウンドバーに付着した歯質削片から PCR 法により細菌 DNA を検出した。そして、歯質の L\*, a\*, b\* とう蝕病巣の活動性および細菌検出率の関係を調べた。なお、4 本の健全ヒト抜去大白歯を同様の実験に供し、コントロールとした (Iwami *et al.*, *J Dent* 36, 143-151, 2008)。

#### ②停止性う蝕病巣のレーザー診断

停止性歯冠部う蝕 (黒褐色でう蝕検知液にほとんど染色されないう蝕) を持つ 9 本のヒト抜去大白歯について実験 (4) ①と同様に、象牙質表層から健全歯質に達するまで 150  $\mu$ m ごとにラウンドバーにて歯質削除を繰り返す。象牙質削除前および削除ごとにレーザーう蝕診断装置 (DIAGNOdent, KaVo, 以下 DIAGNOdent) による歯質表層の蛍光強度の評価と PCR 法を用いた細菌 DNA の検出を行った。そして、停止性う蝕における DIAGNOdent を用いた診断結果と細菌検出率の関係を調べた (Iwami *et al.*, *Oper Dent*, 投稿準備中)。

### 4. 研究成果

#### (1) 辺縁漏洩モデル実験系の確立とギャップ幅の再現性

ヒト抜去大白歯でコンポジットレジンによる辺縁漏洩モデル実験系をつくり、ギャップ設定条件ごとのギャップ幅を実測した結果、スペーサーを塗布しない 3 群とスペーサーを塗布した 2 群の間には、1 元配置分散分析と Scheffe の検定にて危険率 5% での有意差が認められた。また、本モデル実験系で、数  $\mu$ m から 120  $\mu$ m 程度のギャップ幅を再現できた (図 1)。

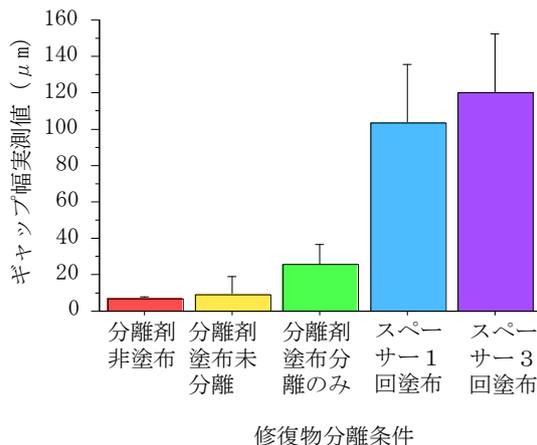


図 1 ギャップ設定条件毎のギャップ幅実測値 (n=3)

#### (2) 辺縁漏洩の色彩評価法の確立

##### ①色素浸透後の処理方法と視認性の関係

辺縁部と辺縁周囲との色差は、ギャップ幅が 10  $\mu$ m 以上では、エアブロー処理および

清拭処理よりも水洗乾燥処理の方が有意に大きくなったが (図 2), 10  $\mu$ m 未満の幅の微小なギャップの探査では、色素塗布方法によって色差に有意差は認められなかった (図 3) (1 元配置分散分析および Scheffe の検定, 危険率 5%)。また、ギャップ幅実測値と色素染色幅の相関係数は、エアブロー処理が最大であった (表 1)。したがって、10  $\mu$ m 未満の幅の微小なギャップの探査にはギャップ幅実測値と色素染色幅の相関係数が大きいエアブロー処理が適当であり、ギャップ幅が 10  $\mu$ m 以上では、色素浸透後、水洗乾燥し、視認性の向上を図るのが適当であった。

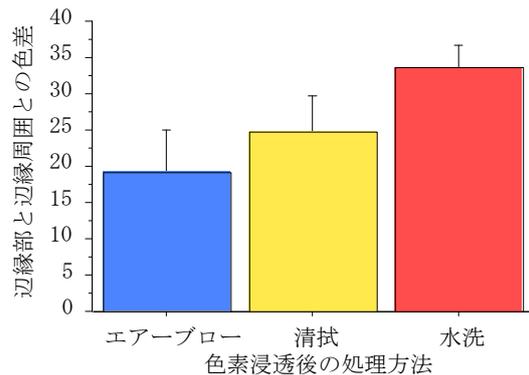


図 2 色素浸透後の処理方法と視認性の関係 (ギャップ幅 10  $\mu$ m 以上, n=10)

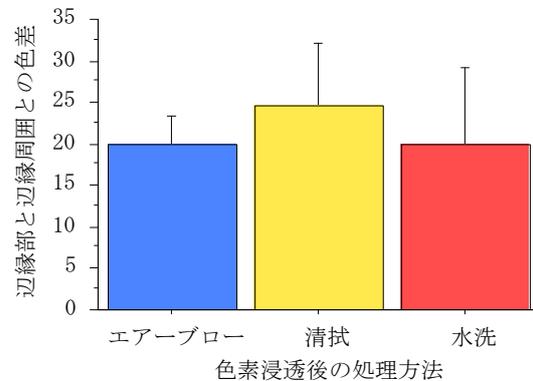


図 3 色素浸透後の処理方法と視認性の関係 (ギャップ幅 10  $\mu$ m 未満, n=5)

表 1 ギャップ幅実測値と色素浸透幅の関係 (n=15)

色素塗布方法	相関係数
エアブロー	0.611
清拭	0.482
水洗乾燥	0.282

②色素浸透後の視診による色判定の客観性  
う蝕検知液によるう蝕除去後の歯質について L\*, a\*, b\* の級内相関係数は 0.36, 0.30,

0.49 となり、視診による色彩評価は客観性が低いことがわかった。

### (3) 電気的辺縁漏洩診断法による評価結果と辺縁漏洩の進行状態との関係

ギャップ形成が歯髄方向に進行するほどコンダクタンス変化量は有意に大きくなったことから（1元配置分散分析および Scheffe の検定、危険率5%、窩洞無し群またはエナメル質群と露髄群の間に有意差有り）、歯髄方向へのギャップの進展は、電気的辺縁漏洩診断法による評価が適していることがわかった（図4）。

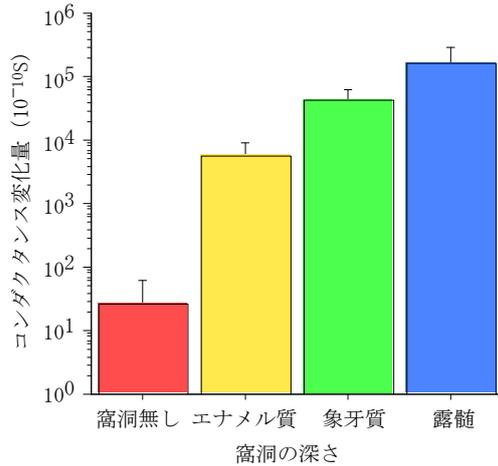


図4 コンダクタンス変化量と窩洞深さの関係 (n=3)

### (4) 色彩評価法およびレーザー診断による2次う蝕の評価

#### ① う蝕病巣の活動性と色彩評価および細菌学的評価の関係

削除前の象牙質表層におけるう蝕検知液染色後の a\* の分布と本実験で用いたう蝕菌の色調や硬さから、活動性う蝕は a\* が 20 以上、停止性う蝕は 20 未満であることがわか

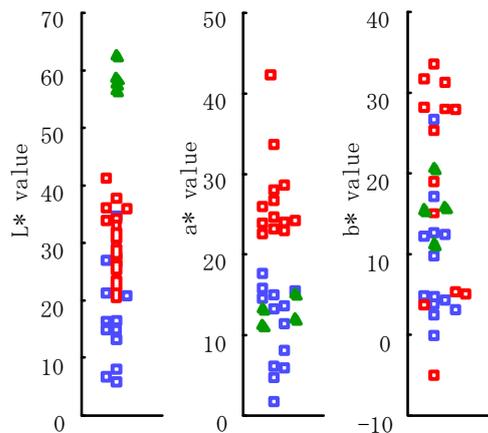


図5 う蝕病巣の活動性とL\*, a\*, b\*の関係  
■ 活動性う蝕 ■ 停止性う蝕 ▲ 健全歯

(Iwami *et al.*, *J Dent* 36, 143-151, 2008) った（図5）。また、活動性う蝕および停止

性う蝕とも、L\*が増加すると細菌検出率が減少する傾向を示し、L\*が60以上のとき、細菌検出率は0%になった。したがって、処置前の象牙質う蝕の活動性についてはa\*、う蝕病巣内部のう蝕の進行程度についてはL\*により客観的に評価できることが判明した (Iwami *et al.*, *J Dent* 36, 143-151, 2008)。

#### ② 停止性う蝕病巣のレーザー診断

停止性う蝕病巣中の象牙質においては、DIAGNOdent 測定値が増加すると細菌検出率は増加し、DIAGNOdent 測定値が10以下の場合、細菌検出率は0%になることがわかった（図6）。また、細菌検出についての受信者動作特性曲線（ROC 曲線）における曲線下の面積は0.88となり、停止性う蝕病巣の細菌検出の診断においてDIAGNOdentが有用であることがわかった (Iwami *et al.*, *Oper Dent*, 投稿準備中)。

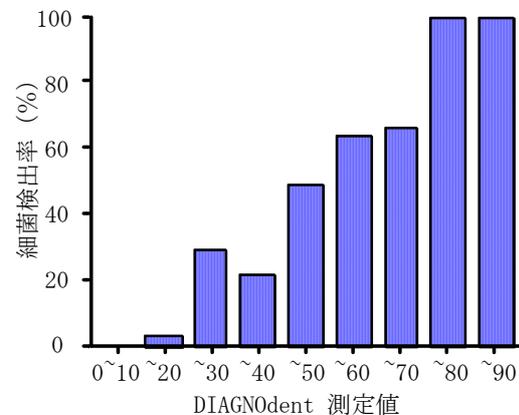


図6 停止性う蝕病巣におけるDIAGNOdent 測定値と細菌検出率の関係

(Iwami *et al.*, *Oper Dent* 投稿準備中)

#### (5) まとめ

本研究では、歯髄方向への辺縁漏洩の進展の評価に適した電気的辺縁漏洩診断法と、辺縁漏洩の発生部位やギャップ幅の評価に適した色彩評価法を組み合わせることで、その発生状況と進行を定量的客観的に3次元評価できる可能性が示された。また、色彩評価法やレーザー診断を行うことで、辺縁部の2次う蝕について、う蝕病巣の活動性や細菌検出率を客観的に評価できる可能性も示された。これらの研究成果は、これまで定量的客観的な診断法が確立されていなかった辺縁部2次う蝕やその原因となる辺縁漏洩の発生部位や進行について、客観的な3次元臨床診断法の開発に直結するものである。しかしながら、これらの診断を効率よく臨床適用するためには、診断機器の改良や精度の検証を今後進めてゆく必要がある。さらには、辺縁漏洩や辺縁部2次う蝕診断後のエビデンスに基づいた最小限で耐久性のある処置方法の確立も今後の課題である。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 16 件)

- ① Eneren ES, Imazato S, Kaneshiro AV, Iwami Y, Ebisu S, Gurgan S: Resistance of surface coating resins against toothbrushing abrasion. *Am J Dent*, in press, 2009, 査読有.
- ② Hayashi M, Seow LL, Lynch CD, Wilson NHF: Teaching of posterior composites in dental schools in Japan. *J Oral Rehabil* 36, 292-298, 2009, 査読有.
- ③ Yabune T, Imazato S, Ebisu S: Assessment of inhibitory effects of fluoride-coated tubes on biofilm formation by using the *in vitro* dental unit waterline biofilm model. *Appl Environ Microbiol* 74: 5958-5964, 2008, 査読有.
- ④ Kaneshiro AV, Imazato S, Ebisu S, Tanaka S, Tanaka Y, Sano H: Effects of a self-etching resin coating system to prevent demineralization of root surfaces. *Dent Mater* 24: 1420-1427, 2008, 査読有.
- ⑤ Hayashi M, Sugeta A, Takahashi Y, Imazato S, Ebisu S: Static and fatigue fracture resistances of pulpless teeth restored with post-cores. *Dent Mater* 24, 1178-1186, 2008, 査読有.
- ⑥ Hayashi M, Koychev EV, Okamura K, Sugeta A, Hongo C, Okuyama K, Ebisu S: Heat treatment strengthens human dentin. *J Dent Res* 87, 762-766, 2008, 査読有.
- ⑦ Hayashi M, Okamura K, Wu H, Takahashi Y, Koychev EV, Imazato S, Ebisu S: The root canal bonding of chemical-cured total-etch resin cement. *J Endod* 34, 583-586, 2008, 査読有.
- ⑧ Iwami Y, Hayashi N, Takeshige F, Ebisu S: Relationship between the color of carious dentin with varying lesion activity, and bacterial detection. *J Dent* 36, 143-151, 2008, 査読有.
- ⑨ Imazato S, Ohmori K, Russell RRB, McCabe J F, Momoi Y, Maeda N: Determination of bactericidal activity of antibacterial monomer MDPB by a viability staining method. *Dent Mater J* 27, 145-148, 2008, 査読有.
- ⑩ Hayashi M, Ebisu S: Key factors in achieving firm adhesion in post-core restorations. *Jpn Dent Sci Rev* 44, 22-28, 2008, 査読無.
- ⑪ Kaneshiro AV, Imazato S, Ebisu S: Comparison of bonding ability of single-step self-etching adhesives with different etching aggressiveness to root

dentin. *Dent Mater J* 26, 773-784, 2007, 査読有.

- ⑫ Iwami Y, Hayashi N, Yamamoto H, Hayashi M, Takeshige F, Ebisu S: Evaluation of objectivity of caries removal with a caries detector dye using color evaluation and PCR. *J Dent* 35, 749-754, 2007, 査読有.
- ⑬ Takeshige F, Kawakami Y, Hayashi M, Ebisu S: Fatigue behavior of resin composites in aqueous environments. *Dent Mater* 23, 893-899, 2007, 査読有.
- ⑭ Yamamoto H, Nomachi M, Yasuda K, Iwami Y, Ebisu S, Komatsu H, Sakai T, Kamiya Y: Fluorine uptake into the human tooth from a thin layer of F-releasing material. *Nucle Instr Meth B* 260, 194-200, 2007, 査読有.
- ⑮ Imazato S, Tay FR, Kaneshiro AV, Takahashi Y, Ebisu S: An *in vivo* evaluation of bonding ability of comprehensive antibacterial adhesive system incorporating MDPB. *Dent Mater* 23, 170-176, 2007, 査読有.
- ⑯ Frencken JE, Imazato S, Toi C, Mulder J, Mickenautsch S, Takahashi Y, Ebisu S: Antibacterial effect of chlorhexidine-containing glass-ionomer cement *in vivo*: a pilot study. *Caries Res* 41, 102-107, 2007, 査読有.

[学会発表] (計 7 件)

- ① 徳川真美, 竹重文雄, 岩見行晃, 阪上隆英, 林美加子, 今里 聡, 恵比須繁之: 赤外線サーモグラフィーを用いた歯根破折診断法の開発 - 摩擦熱発生条件についての検討 - ; 第 129 回日本歯科保存学会秋季大会, 2008. 11. 8, 富山.
- ② 岩見行晃, 林 訓史, 山本洋子, 恵比須繁之: 各種う蝕検知液による齲蝕除去の客観性; 第 128 回日本歯科保存学会春季大会, 2008. 6. 5, 新潟.
- ③ Wu H, Hayashi M, Okamura K, Koychev E, Imazato S and Ebisu S: A comparison bond strengths of fiber posts luted with different resin cement; International Symposium for Adhesive Dentistry, 2008. 2. 16, Kanazawa.
- ④ Izutani N, Imazato S, Takahashi Y, Ebisu S and Russel RRB: Effect of short period exposure to antibacterial monomer MDPB on viability of *Streptococcus mutans*; IDMC, 2007. 11. 24, Bangkok.
- ⑤ Kaneshiro AV, Imazato S, Eneren E, Iwami Y and Ebisu S: Physical and bonding properties of surface-coating resins incorporating antibacterial monomer

MDPB ; IDMC, 2007. 11. 24, Bangkok.

⑥Wu H, Hayashi M, Okamura K, Koychev E V, Imazato S and Ebisu S : The effect of light penetration on the adhesive properties of post-core materials to root canal dentin ; 第 127 回日本歯科保存学会秋季大会, 2007. 11. 8, 岡山.

⑦林 訓史, 岩見行晃, 恵比須繁之 : 齶蝕歯質の客観的評価法に関する研究-齶蝕歯質の硬さ、色ならびに細菌検出の関連性- ; 第 126 回日本歯科保存学会春季大会 2007. 6. 8. 埼玉.

[図書] (計 2 件)

①岩見行晃, 今里 聡 : むし歯が治らないのはなぜ? ; 森本俊文編集 : 口腔の生理からどうしてを解く ; 32, デンタルダイヤモンド社, 東京, 2007.

②岩見行晃, 今里 聡 : むし歯が黒くなるのはなぜ? ; 森本俊文編集 : 口腔の生理からどうしてを解く ; 140, デンタルダイヤモンド社, 東京, 2007.

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

岩見 行晃 (IWAMI YUKITERU)  
大阪大学・大学院歯学研究科・助教  
研究者番号 : 90303982

### (2) 研究分担者

今里 聡 (IMAZATO SATOSHI)  
大阪大学・大学院歯学研究科・准教授  
研究者番号 : 80243244  
林 美加子 (HAYASHI MIKAKO)  
大阪大学・歯学部附属病院・講師  
研究者番号 : 40271027

### (3) 連携研究者

該当者なし