

平成22年 5月 19日現在

研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2007～2009
 課題番号：19791416
 研究課題名（和文） う蝕病変の μ CT立体構築と再石灰化現象の4次元解析
 研究課題名（英文） Four-dimensional μ CT analysis of remineralization in enamel and root caries
 研究代表者
 東理 頼亮（KANRI YORIAKI）
 日本歯科大学・新潟生命歯学部・講師
 研究者番号：40366761

研究成果の概要（和文）：

本研究は、天然歯う蝕を対象に μ CT法による歯質内部での質的・量的変化の非破壊的検出法の確立とう蝕を対象とした再石灰化実験モデルへの応用を目標とした。う蝕病変を含むヒト抜去歯から歯質をボックス状に切り出し、再石灰化溶液に浸漬し経時的に μ CT立体像観察とミネラル濃度変化を定量解析した。結果的に、う蝕の病巣領域の3次元的な視覚化、歯質の無機塩濃度分布の立体表示、再石灰溶液への浸漬に伴う表層下脱灰病巣の石灰化度の変化を時間軸で追跡する4次元観察法が再現性よくデータに得られた。

研究成果の概要（英文）：

My study is the longitudinal remineralization study of carious lesions at occlusal, fissure and root regions, i aimed at extending the μ CT-3D reconstruction technology to non-invasively visualize and monitor site-specific changes in mineral density. Tooth blocks were prepared from the coronal and root region of human extracted molars including fissure-, smooth surface-, and root-carries. Remineralization solutions used with the addition of Xylitol gum extracts. Reconstruction and visualization was conducted using computer software. To date, 12 enamel caries lesions and 2 root dentin caries were monitored over remineralization periods for 28 days. For individual demineralized lesions, 3D reconstructs with the identical contour and volume were achieved reproducibly at various time points of remineralization treatment. The average increase in mineral density of the 12 enamel lesions was 13.3(\pm 5.0) % at the end of remineralization treatment. The mineral density of two root carious lesions also increased 12.1 and 13.1% during the same period. Inspection of the reconstructed carious lesions in 4D motion views proved the advancing mineralization at multi-foci including peripheral and central portions of the originally demineralized lesion. Conclusion: The overall results indicate that the computer-assisted μ CT reconstruction of enamel and root caries is useful in visualization and assessment of remineralization inside the demineralized lesions.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,100,000	0	1,100,000
2008年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2009年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,100,000	600,000	3,700,000

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：病理学、齲蝕、脱灰、再石灰化
 μ CT、立体構築、4次元観察

1. 研究開始当初の背景

近年、齲蝕予防に向けてフッ化物応用が普及するとともに表層エナメル質は外来性のフッ素イオンによる再石灰化促進効果によって硬く維持されているが、一方では、脱灰病巣が歯質内部に広まった不顕性齲蝕の問題を生じさせている。従来の齲蝕病巣の確定診断と再石灰化処理の効果判定に向けて、非脱灰標本の偏光顕微鏡観察あるいは標準物質を参照した顕微X線法（デンシトメトリーによる無機塩濃度の測定）が基本的な方法となっている。これらの組織観察は2次元情報に基づいているが、齲蝕病巣の全体像を把握する目的では、硬組織薄切操作により連続非脱灰標本（これまでの報告では100 μ m前後の厚さが選ばれている）を作製し、標本別に撮影した顕微鏡画像あるいは無機塩濃度プロファイルを積層する3次元観察も試みられてきた。これらの非脱灰標本作製に基づく観察方法では、薄切操作に伴う試料損失を避けることができない固有の問題を抱えている。現在市販されている硬組織薄切装置での切断刃の厚さは最小でも100 μ m幅であり、この切断刃の厚さによる損失を防ぐことはできず、硬組織の連続薄切片による立体観察での空間分解能は数100 μ mの範囲に止まっているのが実情である。これらの組織観察法が抱える問題点を補う上で、歯の表面から内部構造を判定する非破壊的観察法も考案されており、可視非光の散乱強度やレーザー励起による蛍光強度を指標とする臨床診断法が注目されている。ただし、これらの非破壊的な観察法で得られる情報は歯質の組成・構造の変化と一義的に関連するとは限らず、測定内容から病態診断に至る上で不確実さを残している。文献的にも歯の表面からの診断情報については病理組織観察による確証を必要とすることが強調されており、裂溝齲蝕形態の多様性や裂溝壁の性状変化の診断能については未解決の課題を多く残している。研究代表者は歯質内部の変化を連続的に非破壊的に捉えて、歯質組成の違い（石灰化度）を定量評価するためにマイクロフォーカスX線トモグラフィ（ μ CT）の導入が不可避と考えた。歯科臨床では、マクロCTと共にデンタルCTの開発・導入も進んできた。トモグラフィに基づく歯の3次元観察の報告も増えてきている。現状での歯を対象としたCT診断法の問題点は、歯の形状の立体観察にとどまる場合が多く、エックス線濃淡レベルに基づき無機

塩濃度を反映した歯の内部構造の観察には至っていないことが挙げられる。研究代表者はこれまで、歯や骨の硬組織研究に μ CT法を導入し、濃淡画像の最適二値化処理に基づき石灰化度の異なる組織要素（例えば、健全なエナメル質・象牙質・歯髄腔、あるいは齲蝕罹患歯では脱灰歯質や再石灰化部位）を抽出したうえで、それぞれの組織要素の空間局在を明示した立体構築法と3次元形態計測法を確立している。

2. 研究の目的

これからの齲蝕研究と臨床治療においては、小窩裂溝う蝕の診断・予防と再石灰化による齲蝕病変の回復が大きな課題となっている。本研究課題では、天然歯裂溝う蝕を対象として、 μ CT法による歯質内部での質的・量的変化についての非破壊的検出法を確立し、再石灰化実験モデルへの応用を到達目標とする。 μ CT法による4次元観察では、ヒト臼歯裂溝う蝕の病巣の拡がりや3次元的に視覚化し、再石灰溶液への浸漬時間とともに表層下脱灰病巣の広がり範囲と石灰化度の変化を時間軸で追跡する。再石灰化処理による齲蝕病変への効果判定に際しては、アパタイト密度を変えた標準物質の検量線に基づき、歯質の無機塩濃度分布を立体表示し、無機塩濃度の経時的变化を精度高く測定する。

3. 研究の方法

実験プロトコールの概要として、ヒト抜去歯から齲蝕病変を含む歯質ブロックを切り出し、健全歯質領域とう蝕病変領域について脱灰処理あるいは再石灰化処理を施す。処理歯面（2 x 2 mm²）を除いてワックスで被覆し（window法）、処理操作とともに歯質無機塩量の変化を計測するための内部標準とする。測定用の歯質ブロックはX線透過性のポリウレタンで自作した試料容器に設置し、水溶液中に浸漬した状態で保管する。 μ CT撮影時には容器ごと μ CT装置に設置し、異なる時間間隔で同一方位より3次元画像を撮影する（図1）。

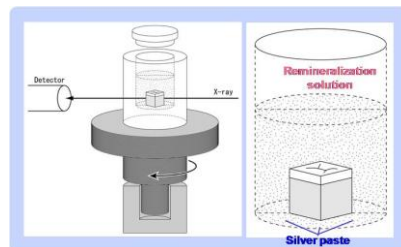


図1 撮影方法の概略図

反応時間軸で記録した3次元画像の空間座標を揃えることで、歯質輪郭と内部の無機塩量の経時変化を視覚化するとともに、無機塩濃度を定量する。特に、4次元観察により再石灰化反応が惹起される部位的特異性と裂溝形状との関連を明らかにする目的で、無機塩濃度表示した立体構築像の間での差分演算により、再石灰化処理による無機塩濃度の向上が認められた領域を同定する。

4. 研究成果

齲蝕病変の無機塩濃度表示に向けては、既知の無機質密度を持つ標準物質として、ハイドロキシアパタイトと樹脂の混合物とアルミ箔および健全ヒトエナメル質を実験試料と同条件下で撮影し、無機塩量の空間分布を視覚的に捉えることができた(図2)。結果、平滑面表層下脱灰病変に加えて裂溝齲蝕と根面象牙質齲蝕における表層下脱灰病変を μ CT立体構築と石灰化度の定量表示により観察できた(図3)。

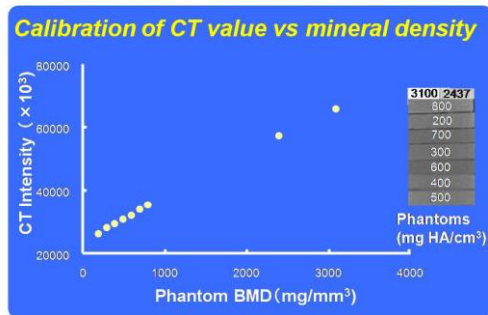


図2 濃淡スケール vs CT 値から無機塩濃度域を換算

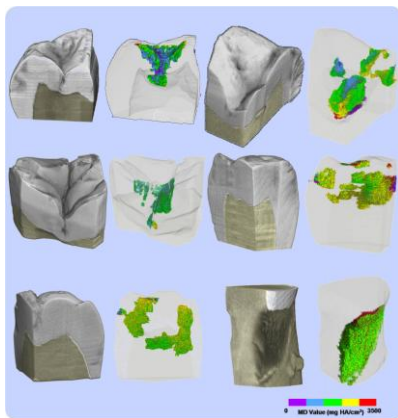


図3 天然歯齲蝕の立体構築像と内部の齲蝕病巣

また、同一試料を用いて時間軸に沿った変化を画像処理の技術を用いて比較・提示する4次元観察の場合、3次元画像間での空間座標位置合わせの演算処理の所要時間の短縮と座標変換に伴う立体構築像の容積誤差を抑えることが重要となる。今回実験に用いた歯質ブロックにはエックス線に不透過な銀ペーストにてマーキングを行い、画像処理内での指標とした。その結果、下記のような同一方法の図示が可能となった。この技術を用い

て齲蝕病巣の再石灰化処理を裂溝齲蝕、根面齲蝕、平滑面齲蝕の3種類の病巣を有した歯質ブロックで各々を経時的に観察した結果、病巣域の無機塩濃度の向上が認められた。実験開始当初は歯質の脱灰により低濃度の石灰化を示す寒色の領域が大部分をなすが、比を追うごとに暖色の部分の増加が確認できた。裂溝齲蝕を例にみる4次元観察結果を示す(図4)。

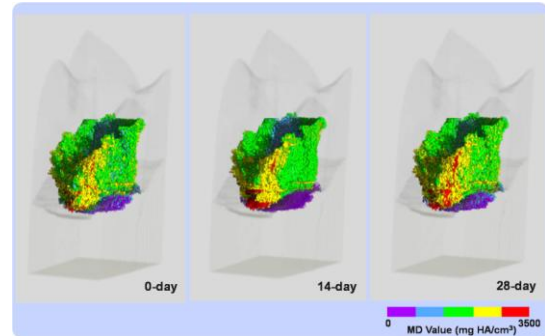


図4 裂溝齲蝕領域の再石灰化処理による経時変化

無機塩濃度の変化をグラフにすると、石灰化濃度の向上を示す暖色領域の増加が確認できる(図5)。

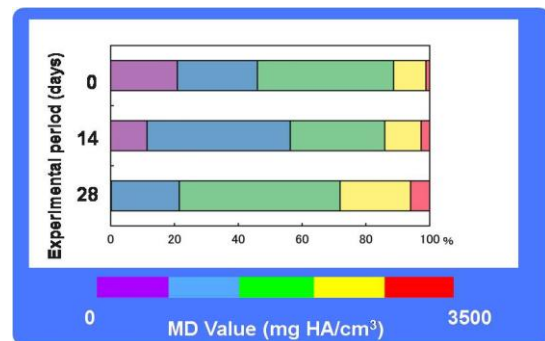


図5 裂溝齲蝕の再石灰化処理による無機塩濃度の変化

齲蝕領域全域にみる石灰量の変化にも、増量が見られた(図6)。

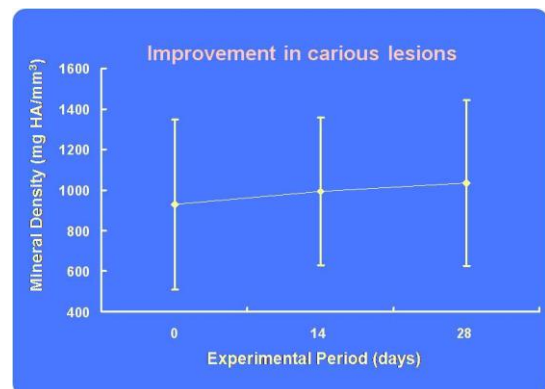


図6 裂溝齲蝕領域全域の無機塩濃度の変化

これらの変化は根面齲蝕および平滑面齲蝕の試料にも同様にみられた(図7,8)。

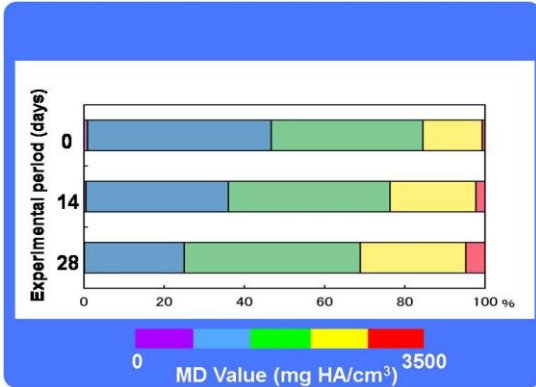
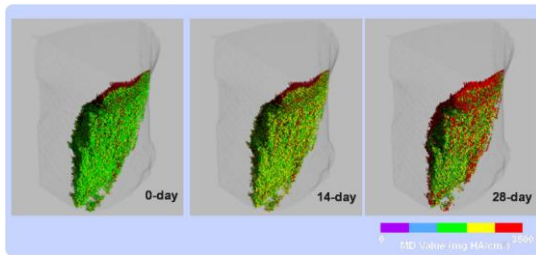


図 7 根面齲蝕領域の再石灰化処理による経時的変化と無機塩濃度の変化

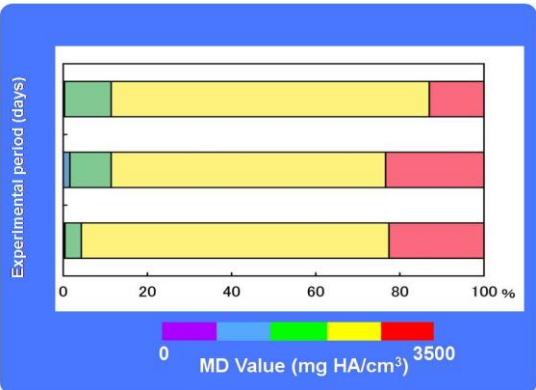
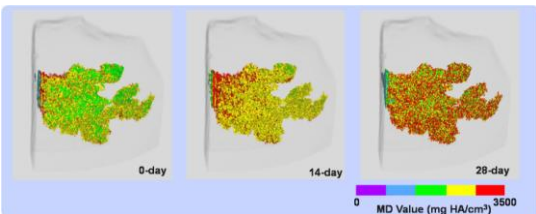


図 8 平滑面齲蝕領域の再石灰化処理による経時的変化と無機塩濃度の変化

以上、従来の齲蝕病巣の確定診断と再石灰化処理の効果判定に使用されていた非脱灰標本の偏光顕微鏡観察あるいは標準物質を参照した顕微 X 線法と比較して、非破壊的に病巣の形態を把握することが可能な μ CT 法の応用は、歯質の無機塩濃度分布を立体表示することで、無機塩濃度の経時的変化を精度高く測定することができた。今後は齲蝕病巣への処理を近年臨床応用されている CO_2 レーザ照射処理へと移行し、今回確立された実験方法・結果を基軸に、より一層の臨床に密

接した初期齲蝕に対する再石灰化現象の研究を進めていく次第である。

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)

[学会発表] (計 2 件)

① 東理頼亮 Four dimensional μ CT Analysis of Remineralization in Enamel and Root caries. 2008 IADR, 86th General Session & Exhibition of the IADR. 2008年7月3日 Metro Toronto Convention Centre, ON, Canada.

② 東理頼亮 μ CTによる表層下脱灰と再石灰化の4次元観察 第50回歯科基礎医学学会学術大会 2008年9月23日 東京都TOC有明コンベンションホール

[その他]

ホームページ等

http://www.ndu.ac.jp/~pathhome/patho04/04_09html

6. 研究組織

(1) 研究代表者

東理 頼亮 (KANRI YORIAKI)

日本歯科大学・新潟生命歯学部・講師

研究者番号：40366761