

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 19 日現在

機関番号：32665

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24592883

研究課題名(和文)根面齲蝕の活動性把握への光干渉断層画像診断法の応用

研究課題名(英文)Application of optical coherence tomography for monitoring of root caries activity

研究代表者

黒川 弘康 (KUROKAWA, Hiroyasu)

日本大学・歯学部・助教

研究者番号：10291709

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：根面齲蝕処置においては、広範囲な実質欠損となる前に再石灰化療法を行い齲蝕の進行を抑制することが重要となる。しかし、既存の画像診断法では、根面齲蝕病巣内部の歯質の経時的な変化を明瞭に捉えることは困難であり、根面齲蝕が活動性か否かを客観的に判断する指標がないのが現状である。そこで、光干渉断層画像診断法(Optical Coherence Tomography、以後、OCT)の歯科領域への応用を目指して、根面齲蝕における病態変化の観察が可能であるか検討した。その結果、根面齲蝕モデルに再石灰化療法を行った際の病巣内部の状態変化を、OCTを用いての把握することが可能であり、その臨床有用性が示された。

研究成果の概要(英文)：Effects of a fluoride-releasing varnish on dentin demineralization were examined using optical coherence tomography (OCT). Bovine incisors that were sliced and treated with undersaturated 0.1 M lactic acid buffer solution (DE group). A thin film of varnish was applied before demineralization (Coated group). Control was maintained in artificial saliva. Using OCT of selected locations on the dentin surface, peak intensity (dB) and width ( $\mu\text{m}$ ) at 1/e<sup>2</sup> were obtained and integrated values calculated. Although alterations in integrated values were different in each group, there was a slight but not significant increase in those for the control group and a slight but significant increase for the DE group. For the Coated group, integrated values were doubled seven days after experiment initiation, followed by a significant increase. Fluoride-releasing varnish prevented dentin demineralization as detected by optical coherence tomography.

研究分野：歯科保存修復学

キーワード：光干渉断層画像診断法(OCT) 根面齲蝕 脱灰抑制 石灰化

### 1. 研究開始当初の背景

2007年度の歯科疾患実態調査結果報告によれば、過去の調査と比較して齲蝕有病者率は5~25歳未満の各年齢階級で減少するものの、45歳以上では増加する傾向が認められ、とくに75歳以上で顕著であった。このように、齲蝕が高年齢層で減少しない背景には若年層とは異なった病因、すなわち、歯肉退縮に伴う露出歯根面に発症する齲蝕の増加が考えられ、高年齢層をターゲットとした根面齲蝕処置の指針の立案が急務と考えられる。通常、実質欠損を伴う根面齲蝕は環状に進行し隣接面に及ぶ場合も多く、修復操作は困難である。したがって、実質欠損を生じる以前の初期段階で積極的に再石灰化療法を行うことによって根面齲蝕の進行を抑制することが重要となる。しかし、現在一般的に用いられている検査法では、根面齲蝕病巣内部での歯質の経時的な変化を明瞭に捉えることは困難であり、根面齲蝕が活動性か否かを客観的に判断する指標がないのが現状である。

### 2. 研究の目的

光干渉断層画像診断法(Optical Coherence Tomography、以後、OCT)を用いて、高齢者に特有の根面齲蝕における病態変化の観察が可能であるか検討し、その応用法を確立することを目的として、以下の実験を行った。

(1) 象牙質は細管構造を有することから、OCT観察で得られる画像情報に影響を及ぼす因子がエナメル質とは異なる可能性が考えられる。そこで象牙質の微細な状態変化を観察するための基礎的研究として、象牙細管の走行あるいは封鎖状態の違いがOCTイメージ像に及ぼす影響について検討した。

(2) 象牙質はエナメル質と比較して光透過性が低いことから、光の干渉原理を応用したOCTを用いて根面齲蝕病巣に生じた脱灰・再石灰化現象を詳細に解析するには、生体透過性に優れるとともに高い分解能を有する近赤外光の使用が有効と考えられる。そこでOCTの光源であるSLDの波長を変化させた場合のOCTイメージ像の変化について検討した。

(3) 根面齲蝕の予防にはバイオアクティブな性質を有する歯面コーティング材の応用が有効と考えられるものの、病巣内部の脱灰抑制・再石灰化に及ぼす影響については不明な点が多い。そこで、歯質の石灰化を誘導するイオンを供給するとされるPRGフィラー含有歯面コーティング材を根面齲蝕病巣モデルに応用した場合の状態変化を、超音波透過法を用いて検討した。

(4) 根面齲蝕に対して再石灰化療法を行った際に生じる病巣内部の状態変化を、OCTを用いて客観的に捉えることが可能か、口腔内環境を想定したpHサイクルにPRGフィラー含有歯面コーティング材を塗布した象牙質

試片を保管し、OCTを用いて経時的に観察することで検討した。

### 3. 研究の方法

以下の実験において、OCT観察にはSLDを光源として、マイケルソン型光干渉計の応用技術によって構築されたTime-Domain型OCT装置(モリタ東京製作所)を用いた。すなわち、干渉計にプローブを組合せ、パーソナルコンピュータで制御するシステムであり、SLDから発せられる近赤外線を試片に照射し、試片内部から反射あるいは散乱してくる物体光と参照鏡から反射してくる参照光を干渉させることで2次元断層像をイメージ化するものである。また、OCTイメージ像の変化をより客観的に把握することを目的として、測定範囲内の任意の20ヶ所における歯質の表層から深層にわたる反射光分布の信号強度グラフを得ることで信号強度を解析し、ピーク値を算出した。さらに、最大ピークを有する非対称な波形のピーク強度値から86.5%に低下した時点での強度での幅を示す $1/e^2$ 幅を求めた。

超音波測定にはパルサーレーザー(Model5900、Panametrics)内径5mmの縦波用トランスデューサー(V112、Panametrics)と内径15mmの横波用トランスデューサー(V156、Panametrics)およびオシロスコープ(Wave Runner LT584、Lecroy)から構成されているシステムを用いた。パルサーレーザーを周波数500Hz、出力16 $\mu$ Jに設定し、高周波電圧をトランスデューサー内部の水晶振動子に送ることによって10MHzの超音波を発生させた。測定用試片に探触子を接触させ、試片内を伝播する超音波の変化を、オシロスコープを用いて電氣的に増幅することによって波形を検出した。この波形から、1ns単位でセメントを透過する超音波の伝播時間を求め、試片の厚さとの関係から縦波音速を求めた。

(1) 象牙細管の走向および封鎖状態がOCTイメージ像に及ぼす影響

ウシ下顎前歯歯根部象牙質を、直径4~6mm、高さ2~3mmの象牙質で構成されたブロックとして切り出した後、超音波洗浄を行ない、横断面では象牙細管の開口が、縦断面では象牙細管の走向が確認されたものをコントロール試片とした。また、コントロール試片表面に対してナノシールを適用し、レーザ顕微鏡像でナノシールの塗布による析出物によって象牙細管が封鎖された像が観察されたものを象牙細管封鎖試片とした。OCTによるイメージ像の観察は、各試片の横断面および縦断面に対してOCT照射光を垂直に入射させる2条件を設定した。

(2) 照射レーザの波長が象牙質のOCTイメージ像に及ぼす影響

ウシ下顎前歯歯根部象牙質をブロックとして切り出し、耐水性SiCペーパー#2000ま

で研磨した後、歯髄側および側面をワックスで被覆したものを測定用試片とした。測定用試片は実験期間を通じて乳酸緩衝液（pH 4.75）に保管した。OCT イメージ像の観察には、SLD 光源の波長を 830 nm および 1310 nm として用いた。また、OCT の観察時期としては、溶液浸漬前、浸漬から 7、14、21 および 28 日後とした。

(3) PRG フィラー含有コーティング材塗布が象牙質脱灰抑制に及ぼす影響

ウシ下顎前歯歯根部象牙質を 4×4×1 mm のブロック体に調整し、耐水性 SiC ペーパー #2000 まで研磨した後、歯髄側および側面をワックスで被覆したものを測定用試片とした。コーティング材としては、S-PRG フィラーを含有する PRG バリアコート（松風）を用いた。試片の保管条件としては、コーティング材未塗布で実験期間を通じて 37 人工唾液中に保管した試片をコントロール群、コーティング材未塗布で 1 日 2 回、0.1 M 乳酸緩衝液に 10 分間浸漬した後、37 人工唾液中に保管した試片を非コート群とした。コーティング材を塗布し、これを非コート群と同じ保管条件にした試片をコート群とした。超音波伝播時間の測定時期としては、溶液浸漬前、浸漬から 7、14、21 および 28 日後とした。また、一定期間の浸漬を終えた各試片は、三次元レーザ走査顕微鏡（以後、LSM）を用いて表面性状の観察を行った。

(4) PRG フィラー含有コーティング材塗布が根面齲蝕に及ぼす影響-OCT による検討-

ウシ下顎前歯歯根部象牙質をブロックとして切り出し、耐水性 SiC ペーパー #2000 まで研磨した後、歯髄側および側面をワックスで被覆したものを測定用試片とした。コーティング材としては、PRG バリアコートを用いた。試片の保管条件としては、コーティング材未塗布で実験期間を通じて 37 人工唾液中に保管した試片をコントロール群、コーティング材未塗布で 1 日 2 回、0.1 M 乳酸緩衝液に 10 分間浸漬した後、37 人工唾液中に保管した試片を非コート群とした。コーティング材を塗布し、これを非コート群と同じ保管条件にした試片をコート群とした。OCT の観察時期としては、溶液浸漬前、浸漬から 7、14、21 および 28 日後とした。

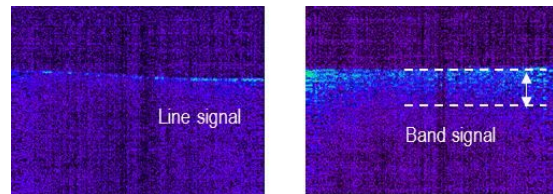
#### 4. 研究成果

(1) 象牙細管の走向および封鎖状態が OCT イメージ像に及ぼす影響

コントロール試片に対して象牙細管と水平に照射光を入射した場合、象牙質表面に線状の高輝度のシグナルが観察されたのに対し、照射光を象牙細管に垂直に入射した場合、象牙質表面から深部に向かって、带状にシグナルの拡大が観察された（図 1）。また、同一試片のいずれの測定面においても、象牙質表面に信号強度ピークが検出されるとともに、歯質内部の変化の指標となる  $1/e^2$  幅は、コン

トロール試片の縦断面に対して垂直に入射した条件で、横断面と比較して有意に大きい値を示し、OCT イメージ像で観察された象牙質内部の変化と一致した。一方、ナノシール試片の OCT イメージ像からは、コントロール試片と比較して象牙質表面でのシグナルが強くなるとともに、縦断面ではシグナルの深さ方向への広がりが少なくなる傾向を示した。

以上の結果から、OCT を用いて象牙質を観察した場合、象牙細管の走行、封鎖性および照射光線の入射角度がイメージ像に影響を及ぼすことが判明した。このことは、象牙質の脱灰および再石灰化など、象牙質の器質的变化を観察する上で重要な因子であり、これらの条件を考慮することで、より詳細な解析が可能であることが示された。



象牙細管に水平照射 象牙細管に垂直照射

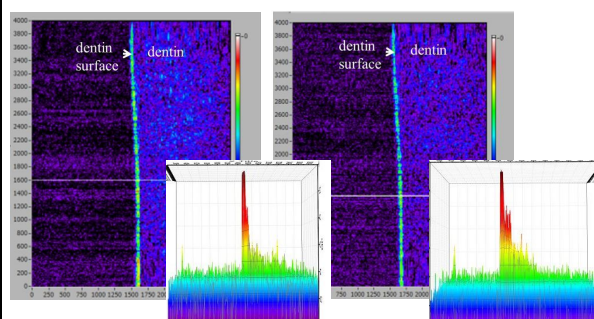
図 1 象牙細管の走向が OCT イメージ像に及ぼす影響

(2) 照射レーザの波長が象牙質の OCT イメージ像に及ぼす影響

歯質表面のピーク強度値は、保管期間の延長に伴っていずれの波長においても増加するものの、その増加傾向は 1310 nm と比較して 830 nm で大きいものであった。一方、 $1/e^2$  幅の変化は 830 nm で少ない傾向を示した（図 2）。1310 nm と比較して分解能に優れた 830 nm の波長を用いた場合、光学的性質の微細な変化を捉えることが可能であり、結果として歯質表面での散乱光の検出が増加することで、深部でのシグナル検出頻度が低下したものと考えられた。一方、1310 nm の分解能は、830 nm と比較して低いことから、光線の深部到達性が影響を受けることなく、 $1/e^2$  幅の変化を捉えることが可能であったと考えられた。

以上の結果から、OCT の照射光の波長を選択することで、象牙質の微細な状態変化を、より詳細に捉えることが可能であることが示唆された。

波長 1310 nm の OCT イメージ像および 3D マッピング



実験開始前

28 日経過後

波長 830 nm の OCT イメージ像および 3D マッピング

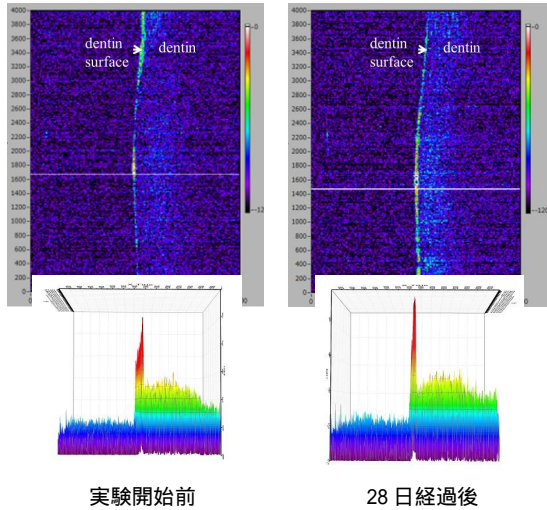


図 2 各波長における OCT イメージ像および 3D マッピングの経時的変化

(3) PRG フィラー含有コーティング材塗布が象牙質脱灰抑制に及ぼす影響

各測定時点における縦波音速は、非コート群では実験期間の経過に伴って音速は低下し、実験開始前と比較して 21 日後で有意に低下した。一方、コントロール群およびコート群では、実験期間の経過に伴って音速の変化は認められないものの、14、21 および 28 日後の音速は、非コート群と比較して有意に高い値を示した(表 1)。超音波透過法における硬組織中を伝播する超音波の音速の変化は、歯質の石灰化の程度と相関があり、無機成分の体積密度の変化に伴って上昇することが判明している。本実験の結果から、コート群と比較して非コート群では音速の有意な低下が認められていることから、S-PRG フィラー含有コーティング材の応用によって、象牙質の脱灰抑制ならびに石灰化促進効果が発揮された可能性が考えられた。象牙質試片における LSM 像は、コート群では象牙細管の封鎖が観察され、非コート群と比較して平坦な表面性状が観察された。このように、象牙質表面の LSM 像からも、コート群においてその脱灰抑制効果が示された(図 3)。

以上の結果から、S-PRG フィラー含有コーティング材は、象牙質表面を被覆することで、象牙質の脱灰抑制効果を有することから、非侵襲的な根面齲蝕の予防に応用可能であることが示唆された。

	Storage time (days)				
	0	7	14	21	28
Control	3732 (65) <sup>a,A</sup>	3764(66) <sup>a,A</sup>	3741 (64) <sup>a,A</sup>	3747 (66) <sup>a,A</sup>	3752 (69) <sup>a,A</sup>
Uncoated	3727 (65) <sup>a,A</sup>	3679(72) <sup>a,b,A</sup>	3623 (72) <sup>a,b,c,B</sup>	3589 (77) <sup>b,c,B</sup>	3552 (70) <sup>c,B</sup>
Coated	3746 (61) <sup>a,A</sup>	3764(74) <sup>a,A</sup>	3775 (78) <sup>a,A</sup>	3779 (81) <sup>a,A</sup>	3785 (80) <sup>a,A</sup>

Unit: m/s, n = 6, values in parenthesis indicate standard deviations.  
 Within groups, means with the same lower-case letter are not significantly different ( $p > 0.05$ ).  
 Between groups at the same storage times, means with the same upper-case letter are not significantly different ( $p > 0.05$ ).

表 1 各条件における超音波縦波音速伝播時間の変化

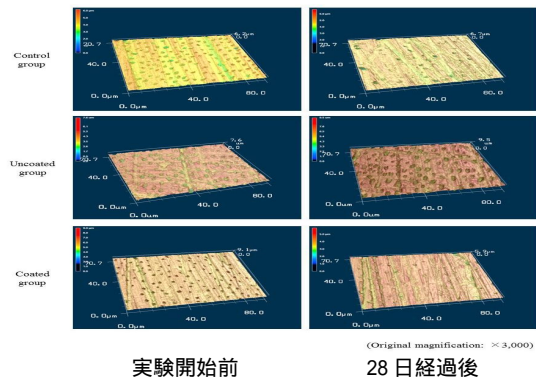


図 3 各条件における LSM 像の経時的変化

(4) PRG フィラー含有コーティング材塗布が根面齲蝕に及ぼす影響-OCT による検討-

OCT 観察の結果から、コントロール群の OCT 像においては、実験期間を通じてシグナルの変化はほとんど認められず、信号強度分布グラフおよび  $1/e^2$  幅ともに変化はなかった(図 4、5)。また、非コート群においてもコントロール群と同様、最大ピーク強度値および  $1/e^2$  幅に変化は認められなかった(図 4、5)。浸漬前のコート群における OCT 像では、実験開始前では象牙質表層に緑～黄色を示すシグナルが観察されたのに対し、実験開始 28 日後では局所的に表層のシグナル輝度の低下が認められるとともに、幅が広がった(図 4)。また、最大ピーク強度値は 28 日後で約 20 dB 低下し、 $1/e^2$  幅は 28 日後で  $40 \mu\text{m}$  増加した(図 5)。これは、コーティング材の被覆によって象牙質表面における脱灰が抑制され、象牙質表面での照射光線の散乱が少なくなるとともに、試片内部への光線透過性が増大したことを示すものである。

以上の結果から、OCT を用いて根面齲蝕の病態変化観察が可能であることが示された。

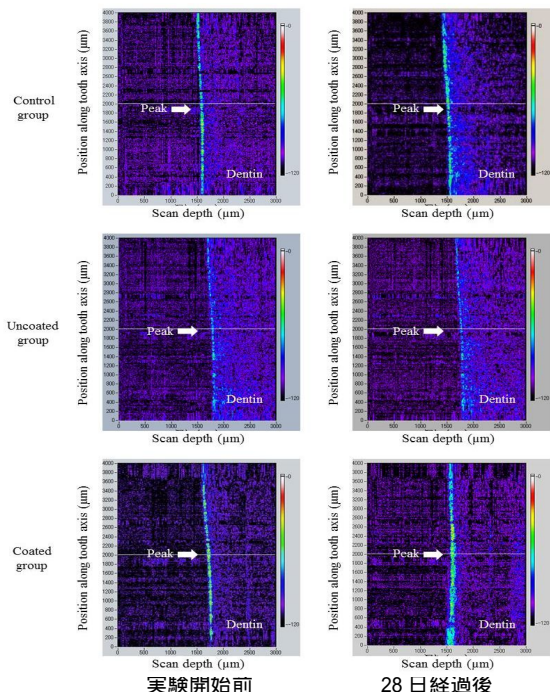


図 4 各条件における OCT イメージ像の経時的変化

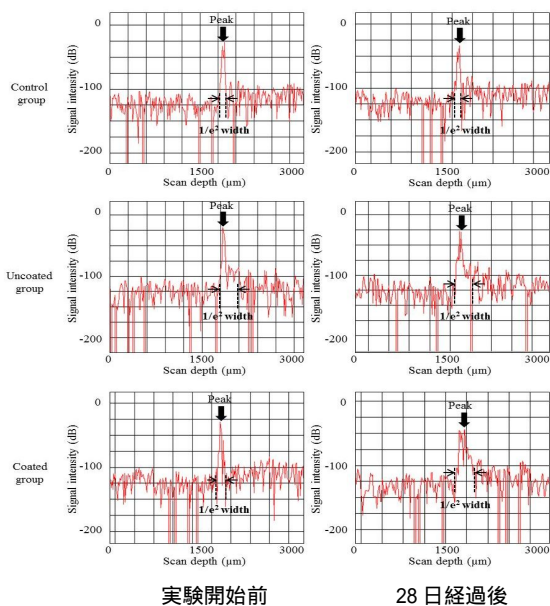


図5 各条件における信号強度ピーク値および  $1/e^2$  幅の経時的変化

## 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5件)

Kotaku M, Murayama R, Shimamura Y, Takahashi F, Suzuki T, Kurokawa H, Miyazaki M, Evaluation of the effects of fluoride-releasing varnish on dentin demineralization using optical coherence tomography, Dental Mater J, 33, 648-655, 2014, 査読有 DOI:10.4012/dmj.2014-072J0IJST.JSTA GE/dmj/2014-072

Iino M, Murayama R, Shimamura Y, Kurokawa H, Furuichi T, Suzuki T, Miyazaki M, Optical coherence tomography examination of the effect of S-PRG filler extraction solution on the demineralization of bovine enamel, Dental Mater J, 33, 1-6, 2013, 査読有

DOI:10.4012/dmj.2013-202J0IJST.JSTA GE/dmj/2013-202

三冨純一、エナメル質表層脱灰の光干渉断層画像解析への  $1/e^2$  幅の応用、日歯保存誌、56巻、488-497、2013、査読有

<http://www.hozon.or.jp/member/kaisi.html>

Murayama R, Furuichi T, Yokokawa M, Takahashi F, Kawamoto R, Takamizawa T, Kurokawa H, Miyazaki M, Ultrasonic investigation of the effect of S-PRG filler-containing coating material on bovine tooth demineralization, Dent Mater J 31, 954-959, 2012, 査読有 doi:10.4012/dmj.2012-153J0IJST.JSTA

GE/dmj/2012-153

島村 穰、歯質の乾燥状態が光干渉断層画像に及ぼす影響、日歯保存誌、55巻、333-339、2012、査読有

[http://www.hozon.or.jp/member/kaisi\\_vol155\\_no5.html](http://www.hozon.or.jp/member/kaisi_vol155_no5.html)

〔学会発表〕(計15件)

Takimoto M, Evaluation of Self-assembling Peptides on Mineralization Using Ultrasonic Device, IADR, 2015.3.14, Boston (USA)

Murayama R, Determinations of Early Carious Lesion of Enamel Using OCT, IADR, 2015.3.12, Boston (USA)

高橋史典、根面齲蝕をターゲットとした再石灰化療法の確立へのペプチド P11-4 の応用、日本歯科保存学会、2014.10.30、山形テルサ(山形県・山形市双葉町)

古宅真由美、OCT をモダリティとしたシーラント填塞状態の観察、日本歯科理工学会、2014.10.4、アステールプラザ(広島県・広島市中区加古町)

鈴木崇之、フッ化物含有 CPP-ACP ペーストが歯質の脱灰抑制に及ぼす影響、日本歯科保存学会、2014.6.20、びわ湖ホール(滋賀県・大津市打出浜)

村山良介、照射レーザーの波長が歯質の OCT 像に及ぼす影響、日本歯科保存学会、2013.6.28、福岡国際会議場(福岡県・福岡市博多区石城町)

飯野正義、歯質残存厚径測定への OCT の応用、日本歯科保存学会、2013.6.28、福岡国際会議場(福岡県・福岡市博多区石城町)

村山良介、OCT による乳歯の脱灰状況の観察、日本歯科保存学会、2012.11.23、広島国際会議場(広島県・広島市中区中島町)

古宅真由美、OCT を用いたシーラント填塞状態の観察、日本歯科保存学会、2012.11.23、広島国際会議場(広島県・広島市中区中島町)

島村 穰、象牙質の湿潤状態が OCT イメージに及ぼす影響、日本歯科保存学会、2012.11.22、広島国際会議場(広島県・広島市中区中島町)

黒川弘康、次世代に向けた診査法 光干渉断層画像診断法(OCT)の歯科臨床への応用、日本歯科医学会総会、2012.11.11、インテックス大阪(大阪府・大阪市住之江区南港北)

島村 穰、象牙細管の走向が OCT イメージ像に及ぼす影響、日本歯科保存学会、2012.6.29、沖縄コンベンションセンター(沖縄県・宜野湾市真志喜)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

黒川 弘康 (KUROKAWA, Hiroyasu)

日本大学・歯学部・助教

研究者番号：10291709

(2) 研究分担者

( )

研究者番号：