

平成 30 年 6 月 1 日現在

機関番号：32665

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K11130

研究課題名(和文) 次元OCT装置を応用した初期齲蝕病巣の検出

研究課題名(英文) Detection of early carious lesion using optical time domain reflectometer

研究代表者

村山 良介 (MURAYAMA, Ryosuke)

日本大学・歯学部・専修医

研究者番号：70706811

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の最大の成果は、むし歯の初期段階で発生するホワイトスポットと呼ばれるエナメル質の白色の部分に近赤外線を利用した画像診断法として確立することが可能であったことである。これらは、むし歯の早期発見につながり、早期治療や予防に応用できるものである。さらにこの装置は、X線を用いない非侵襲的な診断手法である。また、試作した装置の先端をペン型にすることによって、より実践的な診療機器として使用することが可能であることがわかった。

研究成果の概要(英文)：The greatest result of this research is that it was possible to establish as a diagnostic imaging method using near infrared rays with white spot lesions occurring in the initial stage of dental caries. These facts lead to early detection of dental caries and can be applied to early treatment and prevention. Furthermore, this apparatus is a noninvasive diagnostic method without using X-rays. We also found that it is possible to use it as a more practical medical care device by making the probe of the prototype one - dimensional OCT device into a pen type probe.

研究分野：歯科保存学

キーワード：OCT OTDR 初期う蝕 近赤外線 早期診断 予防

1. 研究開始当初の背景

初期う蝕は歯質の脱灰が初期におけるものであり白斑を呈するものであるが、脱灰深さは浅く、X線による診断は不可能である。さらに Minimal intervention という概念は健全歯質を可及的に保存し、う蝕病変部のみを除去することはであるが、その確実性を向上させるためにはう蝕病変部の明示化が必須である。現在における主な診断方法はX線による透過像であるが、空間的分解能に乏しく、切削が必要な歯質を定量化することは難しい。チェアサイドでは感染象牙質を染色によって判定するが、エナメル質には応用できない。例えばエナメル質白斑病変、すなわち初期う蝕に対する処置にあたって、エナメル質の表層下脱灰を定量化した報告はまだない。そのため、介入の指標と成りうる診断技術に乏しいのが現状である。これまで、エナメル質の脱灰および再石灰化の定量化に用いられて来たのは、ミネラル濃度を TMR を用いて分析したもの、あるいは微小押し込み硬さから類推したものである。これらはいずれも抜去後、破壊的試験をおこなったものである。これに対して、私たちは近赤外光の干渉原理を応用した OCT 装置を用いた歯質の脱灰、再石灰化部位の検出に関する研究は発表を行ってきた。(Dent Mater J. 33(1):48-53,2014) 歯質に認められるホワイトスポットと呼ばれるエナメル質の白斑部は、結晶構造が周囲健全エナメル質と異なるため、光の屈折率に差が生じ、その結果として現れるものである。そのため、干渉光による計測が最も適している。しかし、白斑病変部はエナメル質表層数 μm の領域に発現するため、その詳細を解析するには、分解能の高い装置を開発する必要があった。この OCT の原理を用いて試作した二次元装置を用いて検出する試みを研究の背景とした。

2. 研究の目的

本研究の目的はエナメル質に生じた初期う蝕を二次元 OCT 装置を用いて検出することである。装置の波長は近赤外領域にある 1310nm であり、生体に対する侵襲性は皆無である。さらに、プローブをペン型にすることにより、チェアサイドでの応用を検討するものである。さらに、これら実験から得られたデータを基に、臨床応用への可能性を検討するものである。

3. 研究の方法

本研究では二次元 OCT の原理を利用して試作した二次元 OCT 装置の信号強度分布機能を使い、歯質の表層下脱灰部を検出する。また、測定で得られたデータは、二次元信号強度分布として表示され、脱灰状況は、健全部のピーク波形と、脱灰部のピーク波形を比較することによって評価を行う。本研究では、ピーク波形の変化を定量化し、数値解析を行うために、アルゴリズムとして $1/e^2$ 幅を用いる。 $1/e^2$ 幅は、ピーク波形がガウス分布であるとき、その強度の 86.5%が含まれる点にお

ける基底幅である。これまでの研究では、脱灰傾向にあるピーク波形の経時的变化は、その波形の形状において、ピーク値は増幅し、 $1/e^2$ 幅は減少する傾向が明らかとなっている。一方、再石灰化傾向にあるピーク波形の形状の経時的变化は、ピーク値は減衰し、 $1/e^2$ 幅は増加する傾向が得られている。この $1/e^2$ 幅の経時的变化における数値解析を詳細に行うことによって、白斑病変部の信号強度分布と、健全部の信号強度分布を分離し、歯質表層の変化を捉えようとするものである。さらに、再石灰化療法を行った歯質の変化を、定量化し、介入の指標とするものである。また、この装置のプローブはペン型であり、測定スポットは 1mm 平方であるため、点状の白斑病変部位であっても、目視下にて術野に配置することができる。そのため、チェアサイドにおいて非常に簡便に応用できることが特徴である。

(1) 人口初期齲蝕領域の作成

抜歯直後、直ちに冷凍保管を行った齲蝕の無いウシ下顎前歯抜去歯エナメル質中央に直径 1.5 mm の人工脱灰部位を作成するため、プラスチックチューブにピペットを装着、pH4.6 の 0.1mol/l の乳酸溶液を注入する乳酸 2 層法 (Caries Res 15, 393-398, 1981.) により、初期齲蝕病巣モデルを作製する。さらに、作成した初期齲蝕領域再石灰化を促すためのコーティング処置を行うために、PRG-Barrier coat (松風) を用いた。

(2) 二次元 OCT (OTDR) による観察

実験開始前および実験開始 1, 7, 14, 21 および 28 日経過後とし、あわせて、形状測定レーザマイクロスコープ (VK-9710, キーエンス, 現有) を用いて歯質の表面性状を観察した。

(3) データの分析

OCT から得られたデータ、輝度 (dB) と $1/e^2$ (μm) 及び積分値 ($\text{dB} \cdot \mu\text{m}$) は数値解析ソフトウェアを用いて経時的な変化として解析を行った。

4. 研究成果

人工初期齲蝕作成前をベースラインとした健全なエナメル質の二次元 OCT (以後 OTDR) の波形と、人工初期齲蝕病巣から得られた OTDR の波形を示す (図 1)。図に示した矢印は、エナメル質表層におけるピークである。ベースラインではその値は約 -56dB であった。一方、人工初期齲蝕病巣では約 -65dB であり、人工初期う蝕の輝度は低下する傾向にあることがわかった。波形の特徴としては、ベースラインでは鋭いピークを持つのに対し、人工初期齲蝕の OTDR グラフでは、ピーク波形の基底幅は広がり、エナメル質表層のピークの直下に微小なピークを有する二峰性の波形を認めた。これは、光線の透過性は表層下に及んでいること、つまり表層下の脱灰部は透過性が向上していることを示している。このことは、後述する $1/e^2$ 幅の増加に大きく関与している。すなわち、OTDR 計測におい

て、人工初期う蝕病巣の脱灰の程度が歯質の近赤外光透過性に関与しており、その影響をOTDRプローブが検出した結果として得られたことがわかる。

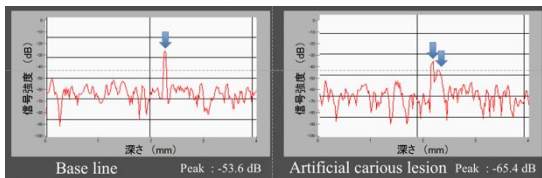


図1 得られたOTDRの波形

次に、ベースラインと人工初期齲蝕のOCTイメージを比較した結果を示す。OCTは断層画像であるため、三次元的な深さ方向に対するデバイスとして有効である。OCTにおける輝度の変化は、疑似カラーを用いて表示される。すなわち-60dB以上が緑、水色、黄色、赤と変化することで輝度を表している。(図2)健全エナメル質におけるシグナルの分布は、表層が約-70dBの緑色から水色で表示されているのがわかる。その信号強度の分布は深さ方向に対して減衰していることがわかる。それに対して、人工初期齲蝕病巣では、緑色及び水色の分布は、表層化に帯状に広がり、ベースラインよりも深さ方向へ進展していることがわかる。これは、波形解析で得られたデータと一致し、表層化の脱灰を示す裏付けとなるものである。つまり、近赤外領域の光が表層化脱灰で干渉する現象をOTDRが検出した結果である。すなわち、 $1/e^2$ 幅の有意な増加は、近赤外光の深さ方向への進展を示すものであることがわかった。

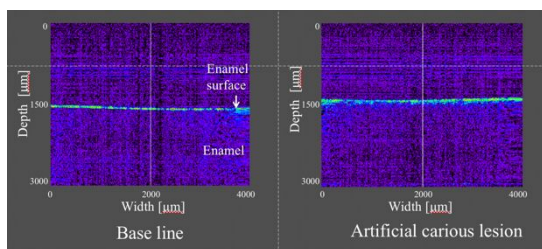


図2 OCTによる輝度の変化

次にOCTの信号強度分布グラフを示す。(図3)計測点は図2に示した2000μm(中央部の白線)部位である。ベースラインでは、シグナル強度のピークは-34dBであったのに対し、人工初期齲蝕では-59dBに変化した結果が得られた。エナメル質表層のピークの下に微小なピークを認めた。グラフのピーク波形の基底幅を示す $1/e^2$ 幅は、人工初期齲蝕の値は約二倍になり、ベースラインに比べ有意に大きいものであった。このことは、人工初期齲蝕はエナメル質表層下に脱灰部位を形成したため、そのエナメル質構造が喪失した部位への光線の到達を表すものと考えられた。基底幅の増加に伴い、ピーク波形の面積を示す積分値もまた、人工初期齲蝕が有意に増加した結果となった。この信号強度分布グラフは、ベースライン、人工初期う蝕ともにOTDRから得られたものと波形の外形が一致する結果が得られた。このことは、OTDRのプロー

径が小さく、装置も簡易的なものであるにもかかわらず、OCT同様に初期う蝕病巣の干渉を検出可能であることが裏付けられた。

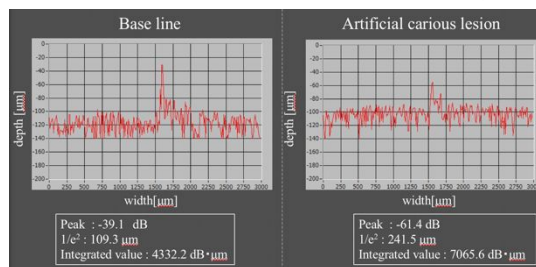


図3 OCTによる波形の比較

次に、OTDRから得られた波形を有する部位のOCT像を用いて検証した結果を示す(図4, 5)。図4では鋭いピークとして表示された波形はエナメル質表面を表していることがわかる。それに対して、図5では鈍いピークと規定幅の広がった波形は人工初期う蝕の表層化脱灰部位を表していることがわかる。このようにOTDRの波形を解析することによって脱灰部位を特定することが可能であることがわかった。

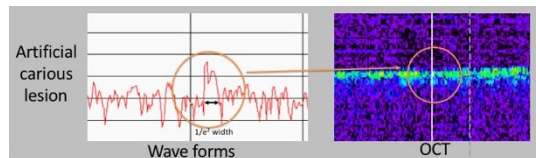


図4 ベースラインでの比較

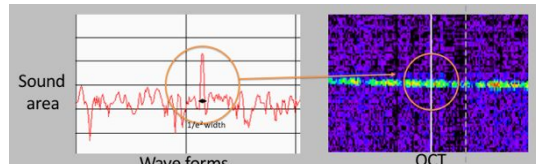


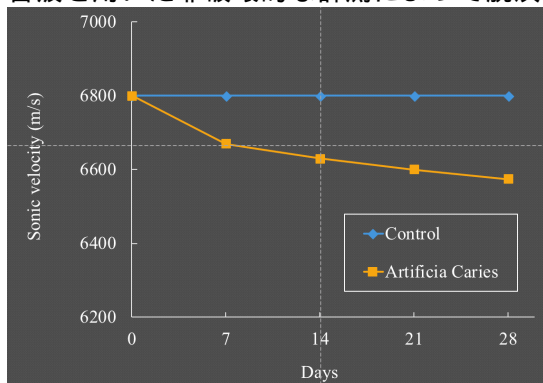
図5 人工初期う蝕部位での比較

本研究ではアルゴリズムとして $1/e^2$ 幅を用いた。以下に得られた結果を示す(図6)。人工初期う蝕の $1/e^2$ 幅はベースラインと比較して14日目に減少するが、28日目には増加する結果が得られた。これは、人工初期う蝕領域は、形成直後は浅く広範囲に脱灰が進むが、深さ方向へはあまり侵入を認めない。しかし、平均14日過ぎでは、酸による感受性が低下した部位が出現し、脱灰が進んだエナメル質部位と残存するエナメル質が混在する状態になる。これは表層下脱灰を人工的に作り出した状況を呈しており、光線透過性は深部に進展する。すなわち、信号強度分布では、 $1/e^2$ 幅と定義されたピーク波形の底面が増加した結果を示すものであった。



図6 $1/e^2$ 幅の経時的変化

次に人工初期齲蝕の脱灰程度を超音波透過法を用いて評価した結果を示す(図7)。人工初期齲蝕の縦波音速は経時的に低下する傾向が認められた。このことは、試片の脱灰は経時的に進んでいることを示している。超音波透過法は、10MHz帯のトランスデューサを歯面に接触させることによってその透過波を検出する非破壊的処方である。本実験で用いた人工初期う蝕の評価は、このように超音波を用いた非破壊的な計測によって脱灰



を定量評価し、OTDRによる計測実験に用いられた。

図7 超音波透過法による脱灰の評価

レーザ顕微鏡による表面性状の観察では、人工初期齲蝕のエナメル表面は非常に複雑な構造を有していることがわかった。(図8)左図では、エナメル質の脱灰によって形成された空隙は、エナメル質内部で空洞状に広がっていることが確認出来た。さらに下の図では、脱灰で作成した人工齲窩の表層に、一層のエナメル質を認めた。これらは表層下脱灰と同様の組織学的構造を呈していると考えられた。このことは、OTDRおよびOCTにおける信号強度分布ピークの二峰性は、表層下脱灰におけるエナメル質表層とその下底を表現していると考えられた。すなわち、脱灰面は表層に一部のエナメル質が残存し、表層化には空洞が存在するため、透過性は向上する。この深部到達性を示すものが $1/e^2$ 幅であり、OTDRではこの表層化脱灰部を検出することが可能であることが示された。

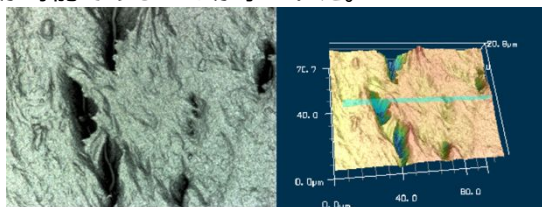
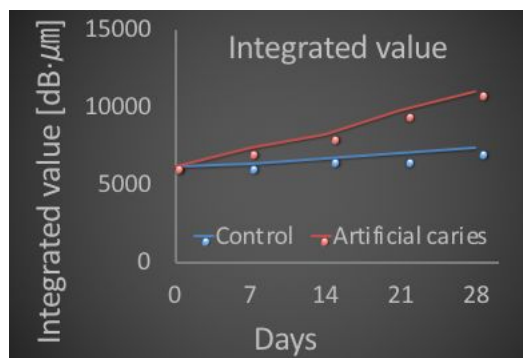


図8 人工初期う蝕病巣のレーザ顕微鏡像

積分値による波形解析の結果を図9に示す。積分値はピーク波形の面積を示すものであり、脱灰部位では大きくなる傾向があることがわかっている。前述の $1/e^2$ 幅が増加した場合、波形の底面が増加することになるため、必然的に積分値は増加する。しかしながら、人工初期う蝕部位における輝度は低下する傾向にあるため、必ずしも面積が増加することにはならない。実験で得られた結果は、脱灰が進行するにつれ、積分値は増加する結果

が得られた。このことは、脱灰における輝度



の低下に対して、 $1/e^2$ 幅の増加の方が優位に影響することがわかった。

図9 積分値による波形の解析

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 1 件)

Murayama Ryosuke, Nagura Yuko, Yamauchi Kabun, Moritake Nobuyuki, Iino Masayoshi, Ishii Ryo, Kurokawa Hiroyasu, Miyazaki Masashi, Hosoya Yumiko. Influence of a coating material containing surface reaction-type pre-reacted glass-ionomer filler on the prevention of primary enamel demineralization detected by optical coherence tomography, Journal of oral science, in press, 査読有, 2018

〔学会発表〕(計 4 件)

Saki Matsuyoshi, Ryosuke Murayama, Toshiki Takamizawa, Hiroyasu Kurokawa, Masashi Miyazaki, J. A. Platt, Enamel remineralization effect of a dentifrice containing calcium sodium phosphosilicate (CSP): an optical coherence tomography observation, 47th Annual Meeting of the AADR 2018

R. MURAYAMA, M. IINO, T. FURUICHI, Y. SHIMAMURA, Y. KUROKAWA, M. MIYAZAKI, J. A. Platt, Determinations of Early Carious Lesion of Enamel using Optical Time-Domain Reflectometer, International association dental research 2017

村山良介, 古市哲也, 飯野正義, 川本 諒, 黒川弘康, 宮崎真至, 試作光リフレクトメータを用いた人工初期齲蝕モデルの観察, 143回日本歯科保存学会, 2015

村山良介, 高橋史典, 古市哲也, 鈴木崇之, 島村 穰, 崔 慶一, 黒川弘康, 宮崎真至, 三畑幸則, 近藤 貢, 人工初期齲蝕モデルにおけるレジン浸透材のOCTを用いた評価, 第66回日本歯科理工学会, 2015

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)
〔その他〕
なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

村山 良介 (MURAYAMA, Ryosuke)

日本大学・歯学部・専修医

研究者番号: 70706811

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし

(4)研究協力者

三畑 幸則 (MIHATA, Yukinori)