

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 12 日現在

機関番号：12602

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24592861

研究課題名(和文) Hidden Caries の非侵襲的トモグラフィーを用いた3D評価

研究課題名(英文) 3D assessment of hidden caries using non-invasive tomography

研究代表者

島田 康史 (Shimada, Yasushi)

東京医科歯科大学・医歯(薬)学総合研究科・助教

研究者番号：60282761

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は波長走査型光干渉断層計(SS-OCT)を用い、精度の高いHidden cariesの診断を実現するために行われた。まず臼歯咬合面にう蝕病原性バイオフィルムを作用させ、脱灰の様子を観察した。次に咬合面の裂溝をSS-OCT観察し、シーラント処置前後の状態を比較した。また抜去歯ならびに臨床において咬合面う蝕を観察し、Hidden cariesの診断を試みた。さらにコンポジットレジン修復下の象牙質う蝕の断層画像を3D画像構築から抽出した。結果、SS-OCTではう蝕が明るく画像表示され、in vitroならびにIn vivoの条件で咬合面う蝕やHidden cariesを診断することができた。

研究成果の概要(英文)：This study aimed to investigate swept source optical coherence tomography (SS-OCT) as a detecting tool for hidden caries. First, SS-OCT scanning was performed to the occlusal fissure after the artificial demineralization induced by cariogenic biofilm. Second, occlusal fissure before and after the penetration of sealant was observed using SS-OCT. Third, SS-OCT was evaluated as a diagnostic tool for the detection of occlusal caries and hidden caries. Forth, SS-OCT scanning was performed over the composite resin restoration bonded on the dentin caries in order to determine the diagnostic capacity for secondary caries. Within the limitation of this study, the demineralization induced by caries process could be clearly discriminated as a highlighted area due to scattering of light in SS-OCT. SS-OCT could image the cross-sectional view of occlusal caries lesions both in vitro and in vivo situations. SS-OCT appears to be a potential detecting method for assessment of hidden caries.

研究分野：保存修復学

キーワード：hidden caries SS-OCT tomography

1. 研究開始当初の背景

光干渉断層計 (optical coherence tomography, OCT) は、2つの異なる光路をもつ光が合波した時に生じる干渉を利用して、画像を構築する技術であり、1991年に Fujimoto らによって開発された。高分解能での生体内部のイメージングが可能であり、電離放射線を用いないことから、非侵襲的な医療撮影技術として、注目を集めている。OCT は、電離放射線を用いずに、組織の断層画像を病理組織切片に近い精度で観察できる。特に近赤外レーザー光の波長を変換し、超高速で走査して画像を構築する波長走査型光干渉断層計 (swept-source OCT, SS-OCT) は、歯や修復物の断層画像を非破壊に提供することができ、また3D画像構築も可能であることから、う蝕や修復適合性の診査など、歯科臨床での応用が期待されている。

若年者の臼歯咬合面に発症する hidden caries (不顕性う蝕) は、フッ素によって表面のエナメル質が白濁化しており、発見の困難な疾患である。従来から行われているデンタルX線写真や視診による診断では、う蝕検出の感度が低く、臨床現場では気づかれずに進行し、歯髄処置が必要となることもあり、大きな問題となっている。

2. 研究の目的

SS-OCT を用いると、歯の断面を観察できることから、hidden caries など、従来の診断技術では検出困難なう蝕も高い精度で診断することができるものと考えられる。本研究は、SS-OCT を用いた hidden caries の診断法の確立を目的として行われた。

3. 研究の方法

研究1. バイオフィームを用いた人工う蝕モデルにおける SS-OCT 評価

う蝕は感染症であり、う蝕病原性細菌のバイオフィームによって発症することが知られている。本研究では37に設定した人工口腔内装置を用い、ヒト抜去歯にう蝕病原性細菌のバイオフィームを形成し、人工脱灰病変を作製した。まず、供試細菌として *Streptococcus mutans* MT8148 (*S. mutans*) を用い、Brain Heart Infusion 液体培地にて培養後、リン酸緩衝液 (PBS) 中で洗菌し、再懸濁した細菌懸濁液を準備した。次に、ヒト抜去歯を人工口腔装置内に設置し、細菌懸濁液、リン酸緩衝液、スクロース含有 Heart

infusion (HI) を滴下し、試料表面に sucrose 依存性のバイオフィームを形成した。所定の期間培養後、それぞれの実験に使用した。

小窩裂溝にう蝕のみられない健全ヒト抜去臼歯を使用し、小窩裂溝を含むように縦5mm×横5mm×高さ3mmに切断し、試料として用いた。人工口腔装置に試料を設置し、バイオフィームを形成後、インキュベーター内でスクロース含有 HI 液体培地を用いて2、4、6週間培養を行った。SS-OCT を用いてバイオフィーム形成前ならびに培養後の小窩裂溝の変化を観察した。また、歯を切断し研磨後、CLSMを用いて脱灰の様相を観察した。

培養2週間では、SS-OCT 画像においてエナメル質範囲内に限局した輝度の上昇が裂溝部にみられ、培養4週間後、6週間後では、周囲のエナメル質の変化と比較して、裂溝部の輝度の上昇はさらに深く侵入し、hidden caries 様の脱灰がみられる例も観察することができた。また、CLSM 画像と SS-OCT 画像を比較することで、SS-OCT の脱灰深さ計測および hidden caries 検出への有用性が認められた。

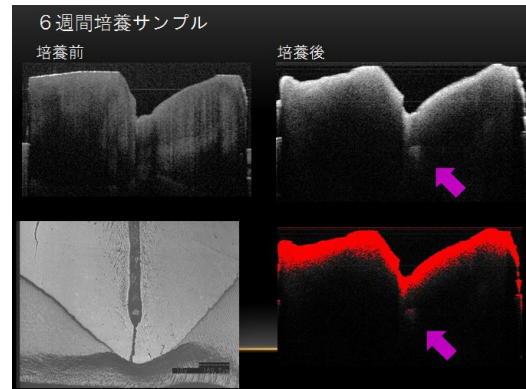


図1. バイオフィーム培養6週間後の観察例。SS-OCT 画像の矢印に、hidden caries 様に脱灰が内部に進行したと思われる輝度の上昇がみられる。

研究2 小窩裂溝の評価とシーラントの浸透性

幼若永久歯はう蝕感受性が高く、特に小窩裂溝はう蝕好発部位である。小窩裂溝予防填塞 (フィッシャーシーラント) は、この小窩裂溝を予防填塞材で封鎖し、う蝕の抑制を図るものであり、高いう蝕抑制効果が報告されている。一方、予防填塞の適応歯か否かは術者の視診や触診に主に委ねられており、客観的評価が求められている。また、予防填塞の

予後を左右する因子として、予防充填材と歯面との接着が挙げられ、小窩裂溝部への予防充填材の浸透性が重要と考えられる。本研究では、小窩裂溝の観察ならびに予防充填材の浸透性の評価における SS-OCT の有用性を検討することを目的とした。

ヒト抜去臼歯 15 本の小窩裂溝より無作為に 30 部位を検査部位として選択した。まず、3 人の検査者が視診または SS-OCT (Santec-2000[®]、Santec) を用いて、裂溝の深さの評価を行った。裂溝周囲のエナメル質の厚みを 1 とし、裂溝底の位置により以下の通りに分類した。スコア 0: 裂溝底が表層にあるもの、スコア 1: エナメル質表層 1/3 にあるもの、スコア 2: エナメル質中間層 1/3 から 2/3 にあるもの、スコア 3: エナメル質内層 2/3 以上にあるもの の 4 グループに分類した。次に、裂溝に予防充填材 (ティースメイト[®]F-1 2.0、クラレノリタケデンタル) をメーカー指示通りに充填し、充填材の裂溝への浸透性を SS-OCT を用いて評価した。評価後、各部位を切断し研磨後、走査型レーザー顕微鏡 (CLSM) により小窩裂溝形態および予防充填材の浸透性を評価し、統計処理を行った。

術前の裂溝の深さの評価は、SS-OCT の方が視診よりも高い感度が得られ、予防充填材の浸透性を画像表示することができた。2/3 以上の深さの裂溝では底部付近の脱灰が多くみられ、また予防充填材の深部への浸透が困難であった。

SS-OCT を用いることにより、予防充填前の小窩裂溝の断層画像を観察でき、視診と比較し予防充填の適応歯か否かの客観的評価を行うことができることが示唆された。また、裂溝に対する予防充填材の浸透性の断層画像も観察できるため、SS-OCT は予防充填後の予後観察にも適していると考えられる。また、CLSM の画像より小窩裂溝が表層より 2/3 以上の深さの裂溝では予防充填材が底部まで浸透していないことがあり、臨床において経過観察が必要と思われた。

研究 3 . 乳歯咬合面う蝕の診断

現在う蝕の診断には、視診、触診に加えて、X 線写真で確認してから確定診断が行われている。しかし初期う蝕は、X 線写真など従来の診断法だけでは発見が難しい。特に小児は発育途上であり、放射線感受性が成人と比較して高いことから、X 線に代わるより安全な装置での診断が望まれる。OCT は、生体に

無害な近赤外線を用いた断層画像撮像機器であり、電離放射線による被曝を伴わず、リアルタイムで何度でも撮影できるため、小児には特に適していると考えられる。そこで本研究では、画像解像度ならびに深度に優れた SS-OCT を用い、乳歯咬合面う蝕の検出を行い OCT 画像の有効性を検討した。

咬合面裂溝に着色または C1 から C2 程度のう蝕を有する、26 本のヒト抜去乳臼歯を用いて、健全部を含めた 38 の裂溝部を選択し、実験に使用した。OCT 診断経験を持つ歯科医師 6 名が着色またはう蝕裂溝部に対し、視診により、(スコア 0)う蝕なし、(スコア 1) エナメル質に限局したう蝕で、エナメル質の実質欠損を伴わない (表層下) 脱灰、(スコア 2) エナメル質に限局し、エナメル質の実質欠損を伴うう蝕、(スコア 3) 象牙質にまで及ぶう蝕、の 4 段階評価を行った。次に同部位に対し、SS-OCT (Prototype 2、パナソニックヘルスケア) による断層画像診査を行い、視診と同様、4 段階評価した後、ダイヤモンドブレードにて半切、研磨後、走査型レーザー顕微鏡 (CLSM) にて観察した。エナメル質脱灰病変 (カットオフ値 0-1)、エナメル質う蝕 (カットオフ値 1-2)、象牙質う蝕 (カットオフ値 2-3) につき、視診と SS-OCT の感度、特異度、Az 値 (ROC 曲線) を求め、有意水準 5% で統計処理を行った。

SS-OCT を用いた乳歯小窩裂溝におけるう蝕の検出は、散乱した光の輝度変換によって得られ、全てのう蝕診断において、SS-OCT は視診に比べて感度、Az 値とも有意に高かった。特異度に関しては、視診と SS-OCT で有意差は認められなかった。

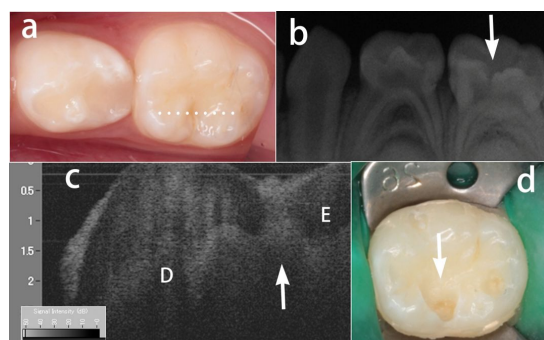


図 2 乳歯 hidden caries の SS-OCT 観察例。a. 術前。b. デンタル X 線写真。c. SS-OCT 画像。矢印に hidden caries が画像表示されている。d. 窩洞形成途中。

OCT 画像における輝度の上昇は、脱灰により微小な欠陥が生じ、エナメル質と空隙とい

う、屈折率の異なる媒体に光が散乱し、その変化を捉えたものと考えられる。裂溝部の崩壊は少なく中で広がっている hidden caries においても、視診では検出が難しかったが、SS-OCT では有意に感度が高かった。OCT は断層画像をチェアーサイドで何度でも撮影することが可能であり、乳歯においても SS-OCT は有効な診断手段であることが示唆された。

研究4 コンポジットレジン修復下の象牙質う蝕の OCT 3D 評価

臨床におけるう蝕の診断には、視診、レントゲン診査が多く用いられている。レントゲン診査は、進行したう蝕の検出には有用であるものの、コンポジットレジン修復下の二次う蝕の検出は困難であり、また、放射線被曝というデメリットがある。本研究は、新規 SS-OCT にて修復物の 3D 画像構築を行い、そこから断層画像を抽出し、コンポジットレジン修復下のう蝕の検出について評価した。

う蝕ならびに健全なヒト抜去歯をそれぞれ 20 本トリミングし、う蝕象牙質を含む平坦面と健全象牙質の平坦面を作製した。作成した象牙質平坦面を 2 群に分け ($n = 10$)、クリアフィルメガボンドにてメーカー指示通りに処理を行い、エステライト クイックを厚さ 1mm または 2mm 充填し、試料とした。次に、新規試作 SS-OCT (吉田製作所) を用い、コンポジットレジン表面から試料の 3D 画像構築を行い、そこから断層画像を抽出し、評価に用いた。評価者は臨床経験 3 年以上の 10 名とし、断層画像から、1mm または 2mm 充填したコンポジットレジン修復下におけるう蝕の有無を判定した。得られた結果から、感度、特異、Az 値 (ROC 曲線) を求め、SS-OCT の有用性を検討した。同様に、接着界面のデンタル X 線写真を撮影し、感度、特異度、Az 値を求め、SS-OCT と比較した。

コンポジットレジン修復下に象牙質う蝕が存在する場合、SS-OCT 画像での輝度が上昇し、健全象牙質と区別することができた。コンポジットレジン修復の厚さが 1mm の場合、感度：0.97、特異度：0.92 であり、また、厚さ 2mm の場合、感度：0.87、特異度：0.88 であった。また、Az 値は 1mm：0.95、2mm：0.88 であった。1mm と 2mm の結果を比較すると、1mm の感度と Az 値は、2mm よりも有意に高かった ($p < 0.05$)。またデンタル X 線写真の感度と Az 値は、SS-OCT よりも有

意に低かった。

SS-OCT を用いることにより、修復物下に存在するう蝕を画像表示し検出することができた。これは、う蝕象牙質において脱灰による微小な欠陥が生じており、そこで光を散乱することによって考えられる。実際の臨床では、修復物下にう蝕が発症した場合、接着界面においてギャップが形成することが予想され、光をより強く反射するものと考えられる。したがって、本実験結果よりも高い精度で検出することが可能と思われる。2mm において感度と Az 値がやや低下したが、評価者が OCT 画像の特性を理解することにより改善できると思われた。

厚さ 1mm ならびに 2mm のコンポジットレジン修復において、SS-OCT を用いた 3D 画像から接着界面の断層画像を抽出し、修復物下の象牙質う蝕を検出することができた。またその検出精度はデンタル X 線写真よりも高かった。

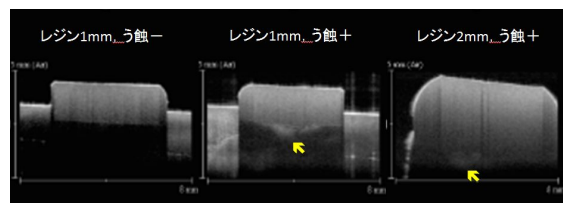


図3 . SS-OCT によるコンポジットレジン修復下の象牙質う蝕の観察性。3D 画像構築から、断層画像を抽出した。左 . 健全象牙質。中 . レジンの厚さ 1mm の場合。右 . レジンの厚さ 2mm。矢印に、う蝕が表示されていることがわかる。

4 . 研究成果

本研究において、SS-OCT を用いた hidden caries の診断の可能性につき検討した結果、以下の成果が得られた。

- ・臼歯咬合面に *S. mutans* を作用させて小窩裂溝に作成した咬合面う蝕モデルでは、SS-OCT によって脱灰の進行する様子を観察することができた。

- ・ヒト抜去歯の小窩裂溝について SS-OCT 観察し、またその後のシーラントの浸透状態を観察した結果、SS-OCT によって咬合面裂溝の深さと形態ならびにシーラントの浸透状態を観察できることがわかった。またシーラントの浸透状態は、小窩裂溝が表層より 2/3 以上の深さの裂溝では予防充填材が底部まで浸透していないことがあり、臨床において経過観察が必要と思われた。

・乳歯咬合面のう蝕を SS-OCT 観察した結果、咬合面う蝕を高い精度で診断することができ、また臨床では hidden caries を画像表示することができた。

・コンポジットレジン修復下の象牙質う蝕を SS-OCT の 3D 画像から評価した結果、デンタル X 線写真よりも高い精度で観察することがわかった。

以上の結果から、SS-OCT によって hidden caries の 3D 画像構築を行い、画像診断を行えば、う蝕の検出のみならず修復治療後の予後の観察が可能と思われた。

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 4 件)

1. Shimada Y, Sadr A, Sumi Y, Tagami J. Application of optical coherence tomography (OCT) for diagnosis of caries, crack, and defects of restorations. Current Oral health Reports 2015; 2: 73-80. 査読有
2. Wada I, Shimada Y, Ikeda M, Sadr A, Nakashima S, Tagami J, Sumi Y. Clinical assessment of non carious cervical lesion using swept-source optical coherence tomography. J Biohotonics. 2014 doi: 10.1002/jbio.201400113. [Epub ahead of print] PMID: 25504772. 査読有
3. Nakajima Y, Shimada Y, Sadr A, Wada I, Miyashin M, Takagi Y, Tagami J, Sumi Y. Detection of occlusal caries in primary teeth using swept source optical coherence tomography. J Biomed Opt. 2014 Jan;19(1):16020. 査読有
4. 島田康史, 田上順次, 角保徳 . 光干渉断層計(OCT)を用いたう蝕と亀裂診断の可能性と限界 .日本レーザー歯学会誌 2014. 25 巻 3 号 159-164.

[学会発表](計 17 件)

1. Ueno T, Shimada Y, Matin K, Alireza S, Tagami J, Sumi Y. Optical evaluation of enamel and dentin demineralization by cariogenic biofilm using SS-OCT. 6th IAD, Bangkok, Thailand. January 31, 2015.
2. Zhou Y, Shimada Y, Matin K, Sadr A, Tagami J, Sumi Y. Assessment of biofilm-induced enamel and dentin demineralization around composite restoration by swept source optical coherence tomography (SS-OCT). 6th IAD,

Bangkok, Thailand. January 31, 2015.

3. Horie K, Shimada Y, Matin K, Sadr A, Tagami J, Sumi Y. Monitoring of cariogenic demineralization at adhesive interface using SS-OCT. IADR General Session, Boston, USA. March 14, 2015.
4. Tezuka H, Shimada Y, Matin K, Sadr A, Tagami J, Sumi Y. Assessment of cervical tooth demineralization induced by Streptococcus mutans using SS-OCT. IADR General Session, Boston, USA. March 14, 2015.
5. Turkistani A, Sadr A, Shimada Y, Nakashima S, Tagami J, Sumi Y. Effect of adhesives on caries lesion progress around composite restorations. IADR General Session. Boston, USA. March 14, 2015.
6. Bakhsh TA, Sadr A, Shimada Y, Mandurah M, Alsayed E, Tagami J. Cryo-FIB/TEM for characterization of dental hard tissue interface. IADR General Session Cape Town, South Africa. June 26, 2014.
7. 松浦千尋、島田康史、サダルアリレザ、田上順次、角保徳 . コンポジットレジン修復における窩底部象牙質う蝕の SS-OCT 3D 評価 . 日本歯科保存学会秋季学術大会 (第 141 回) 山形市、平成 26 年 10 月 31 日 .
8. 田端倫子、島田康史、サダルアリレザ、田上順次、角保徳 . 接着修復窩縁部に生じたエナメル質亀裂の SS-OCT 評価 . 日本歯科保存学会秋季学術大会 (第 141 回) 山形市、平成 26 年 10 月 31 日 .
9. 中島幸恵、島田康史、サダルアリレザ、宮新美智世、田上順次、角保徳 . SS-OCT による乳歯咬合面う蝕診断の評価 . 第 139 回日本歯科保存学会秋季学術大会、秋田市、2013 年 10 月 17, 18 日 .
10. 伊藤幸子、中島幸恵、高木裕三、島田康史、サダルアリレザ、田上順次、角保徳 . SS-OCT による咬合面裂溝ならびに予防充填材の断層画像評価 . 第 139 回日本歯科保存学会秋季学術大会、秋田市、2013 年 10 月 17, 18 日 .
11. Nakajima Y, Shimada Y, Miyashin M, Sadr A, Tagami J, Sumi Y. SS-OCT assessment of occlusal caries in primary teeth. IADR general session, Seattle, 2013.
12. Shimada Y, Nakagawa H, Sadr A, Nakajima M, Nikaido T, Otsuki M, Tagami J, Sumi Y. Non-invasive cross-sectional imaging of proximal caries using SS-OCT in vivo. 91th IADR general session, Seattle, March 20-23, 2013.
13. Wada I, Shimada Y, Sadr A, Nakashima S, Tagami J, Sumi Y. Assessment of

non-carious cervical lesions using optical coherence tomography. 91th IADR general session, Seattle, March 20-23, 2013.

14. 上野智香、島田康史、マテインカイルール、サダルアリレザ、田上順次．バイオフィルムによる小窩裂溝う蝕の形成とSS-OCTを用いた非破壊観察．第138回日本歯科保存学会春季学術大会，福岡市，2013年6月27，28日．
15. 手塚弘樹、島田康史、マテインカイルール、サダルアリレザ、田上順次．Streptococcus mutansを用いた歯頸部の脱灰とSS-OCTによる評価．第138回日本歯科保存学会春季学術大会，福岡市，2013年6月27，28日．
16. 堀江 圭、島田康史、マテインカイルール、サダルアリレザ、田上順次．接着修復物の二次う蝕に関する研究．バイオフィルムによる脱灰層のSS-OCT評価．第138回日本歯科保存学会春季学術大会，福岡市，2013年6月27，28日．
17. 中島幸恵、島田康史、宮新美智世、高木裕三、田上順次、角保徳．光干渉断層画像診断法(OCT)による乳歯咬合面齲蝕の診断法の有用性．第50回日本小児歯科学会大会，東京，2012年5月12,13日．

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

6．研究組織

(1)研究代表者

島田 康史 (SHIMADA, Yasushi)
東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・助教
研究者番号：60282761

(2)研究分担者

サダル アリレザ (SADR, Alireza)
東京医科歯科大学・国際交流センター・特任講師
研究者番号：20567755

田上 順次 (TAGAMI, Junji)
東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・教授
研究者番号：50171567