

[文章编号] 1000-1182(2015)02-0121-04

• 基础研究 •

釉质早期龋的光学相干断层成像与定量研究

李燕妮 姚晖 连小丽 王冠华 代晓华 张林朴
南开大学口腔医院·天津市口腔医院中心实验室, 天津 300041

[摘要] 目的 探讨光学相干断层成像技术(OCT)对釉质早期龋的成像和量化评估效能,为其在早期龋临床诊断中的应用提供实验依据。方法 采用OCT扫描牛牙光滑面早期人工龋模型和脱矿模型,获取釉质图像和光学信息,并与偏振光显微镜图像和原子吸收光谱测得的矿质损失量进行对比,采用SPSS软件包配对 t 检验和Pearson相关性分析进行数据分析。结果 早期龋及脱矿釉质OCT图像与偏光显微镜图像基本相符;OCT测得的早期龋组釉质的总反射率改变量低于脱矿组($P<0.05$),脱矿深度在两组间无统计学差异($P>0.05$)。釉质总反射率改变量与矿质损失量呈正相关($P<0.05$)。结论 OCT能够无创地、较准确地显示釉质早期龋的矿质改变,量化其病变范围和程度,在早期龋的临床诊断方面具有广阔的应用前景。

[关键词] 光学相干断层成像技术; 早期龋; 矿质改变; 光学成像; 量化评估

[中图分类号] R 781.1 **[文献标志码]** A **[doi]** 10.7518/hxkq.2015.02.003

Imaging and quantitative analysis of early caries using optical coherence tomography Li Yanni, Yao Hui, Lian Xiaoli, Wang Guanhua, Dai Xiaohua, Zhang Linpu. (Research Center, Stomatological Hospital of Nankai University, Tianjin Stomatological Hospital, Tianjin 300041, China)

[Abstract] **Objective** To explore the efficacy of optical coherence tomography (OCT) in imaging and quantitatively evaluating early enamel caries and provide experimental evidence for the clinical diagnosis of early caries. **Methods** The smooth surface of bovine teeth showing early artificial caries and demineralization changes was scanned by an all fiber-based OCT for images and optical profiles, which were compared with images from a polarized light microscope (PLM) and mineral loss from an atomic absorption spectrometer. Data were analyzed by paired-sample t -test and Pearson correlation analysis using SPSS software. **Results** The images of enamel with early caries and demineralization from OCT coincided with those from PLM. The integrated reflectivity loss in the early caries group was significantly lower than that in the demineralized group ($P<0.05$), whereas no significant difference in demineralized depth was found between the two groups ($P>0.05$). A linear correlation was observed between integrated reflectivity loss and mineral loss ($P<0.05$). **Conclusion** OCT can be used to nondestructively and accurately image early caries and quantify lesion extent and degree, suggesting the extensive use of this approach in the clinical diagnosis of early caries.

[Key words] optical coherence tomography; early caries; mineral change; optical imaging; quantitative evaluation

龋病是发病率极高的一种慢性疾病。现代口腔医学强调对龋齿进行非创伤性治疗,即在其形成龋洞之前通过局部治疗方法阻止牙体组织的进一步破坏,使早期龋再矿化,恢复釉质的完整性^[1]。要使这一策略行之有效,首先需要一种能够检出早期龋并监测其发展进程的诊断技术。

光学相干断层成像技术(optical coherence tomo-

graphy, OCT)是一种利用近红外光产生生物组织深度解析图像的非创伤性成像技术,主要基于对背向散射光的定量检测,其空间分辨率可达微米级^[2]。近年来,OCT在医学与生物学领域应用广泛^[3-4]。釉质脱矿后对近红外光的背向散射改变^[5],提示了OCT在早期龋检测中的应用潜能。

龋齿的主要评价指标为脱矿深度和严重程度,本研究旨在通过OCT对发生脱矿及再矿化改变的牛牙釉质的扫描和深度、反射率分析,与原子吸收光谱测得的釉质矿质改变进行对比,探讨OCT用于成像早期龋和定量釉质脱矿深度、程度的效能,以期

[收稿日期] 2014-05-21; [修回日期] 2014-12-08

[基金项目] 国家自然科学基金面上基金资助项目(30770597)

[作者简介] 李燕妮,主治医师,硕士, E-mail: shadeofsmile@126.com

[通信作者] 姚晖,主任医师,学士, E-mail: yaoh2k@163.com

为OCT在早期龋临床诊断中的应用提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 实验仪器和材料

OCT系统(天津市口腔医院与天津大学合作研发,系统中心波长1 310 nm,带宽50 nm,相干长度15 μm ,分辨率10 μm ,牙齿成像深度3.3 mm),原子吸收光谱仪(日立公司,日本),偏振光显微镜(尼康公司,日本), CaCl_2 、 KH_2PO_4 、乙酸、KF、KCl(天津灏洋生物制品科技有限责任公司)。

1.2 方法

1.2.1 样本选择和预备 选取2010年3—5月期间拔除的牛下切牙8颗,新鲜拔除24 h内清洗、切根去髓,经视诊、光学显微镜筛查光滑面无隐裂和龋损,保存于4 $^{\circ}\text{C}$ 去离子水中。

1.2.2 分组和模型制备 沿每一样本牙长轴将其切割为3个样本块,在每个样本块光滑面定位3 mm \times 6 mm的长方形实验区,实验区以外涂布抗酸指甲油。左侧样本块为脱矿组,每天浸入20 mL的脱矿液(2.0 mmol $\cdot\text{L}^{-1}$ CaCl_2 , 2.0 mmol $\cdot\text{L}^{-1}$ KH_2PO_4 , 0.075 mol $\cdot\text{L}^{-1}$ 乙酸, pH=4.3)中, 37 $^{\circ}\text{C}$ 脱矿6 h,冲洗后保存于4 $^{\circ}\text{C}$ 去离子水中;右侧样本块为早期龋组,每天浸入20 mL的脱矿液中, 37 $^{\circ}\text{C}$ 脱矿6 h,冲洗后再浸入20 mL再矿化液(80 mmol $\cdot\text{L}^{-1}$ CaCl_2 , 48 mmol $\cdot\text{L}^{-1}$ KH_2PO_4 , 200 mg $\cdot\text{L}^{-1}$ KF, 0.15 mol $\cdot\text{L}^{-1}$ KCl, pH=7.0), 37 $^{\circ}\text{C}$ 再矿化17 h;中间部分为正常对照组, 4 $^{\circ}\text{C}$ 去离子水中保存。实验周期为8 d。

1.2.3 基于原子吸收光谱的矿质改变量的测定 在脱矿和再矿化过程中,分别收集每个样品的脱矿液和再矿化液,用原子吸收光谱仪测定其 Ca^{2+} 浓度,计算脱矿液中钙的增加量和再矿化液中钙的减少量,根据钙在羟磷灰石结晶中的含量百分比换算为各样本实验区在脱矿过程中的矿质损失量和再矿化过程中的矿质增加量,二者之差即为各组样本实验区最终的矿质损失量(ΔZ)。

1.2.4 OCT扫描 将每个样本牙的3部分组合固定,同时进行连续OCT二维扫描,扫描层数为10层,层间隔为400 μm 。扫描过程中在每个实验区标记第5个断层的位置。在Matlab软件中将光强转化为反射率值,绘制反射率-深度曲线,计算每条曲线下面积的总和,即总反射率(R),根据公式 $\Delta R = (R_c - R_t) / R_c$ 计算总反射率改变量(ΔR),其中 R_c 为正常对照组实验区总反射率, R_t 为脱矿组/早期龋组实验区总反射率。同时计算各实验区的脱矿深度(d)。

1.2.5 偏振光显微镜检测 将样本块沿标志线切割成

1 mm的切片。经粗磨、细磨、抛光制备成厚度为200 μm 的磨片,以水为介质,在明场视野中、5倍物镜下观察磨片并摄图,与OCT扫描图进行对比。

1.3 统计学方法

采用SPSS 13.0软件对脱矿组和早期龋组样本的总反射率改变量、矿质损失量和脱矿深度进行配对 t 检验,对每组样本实验区的OCT总反射率改变量和矿质损失量进行Pearson相关性分析。

2 结果

2.1 OCT扫描图与组织学图像比较

在偏振光显微镜图像中,脱矿组实验区釉质可见明显的正性双折射的病损体部;正常对照组样本实验区釉质呈负性双折射,表面平滑完整;早期龋组表现为典型的表层下脱矿,即负性双折射的釉质表层和表层下正性双折射的病损体部(图1)。OCT二维图像中,脱矿组釉质表面略不平,信号增强区域向表面以下延伸,但其下信号快速衰减至消失;正常对照组样本实验区釉质表面平滑,信号最强,随着深度的增加,信号均匀缓慢衰减;早期龋组釉质表面较平滑,表层以及表层下可见信号增强区,其下无均匀衰减的信号(图1)。与正常釉质相比,早期龋组及脱矿组釉质的脱矿区域在OCT图像中表现为信号增强区,与偏振光显微镜图像中的病损体部基本相符,仅再矿化表层在OCT图像中暂无法辨识。

2.2 样本实验区脱矿深度与总反射率改变量

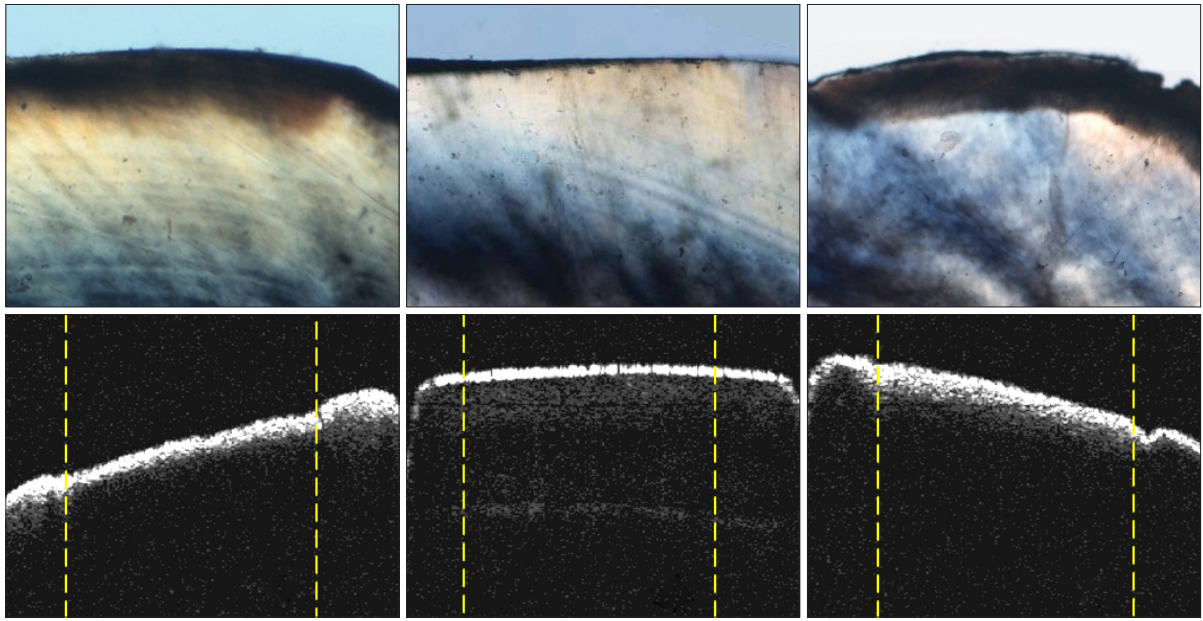
将OCT扫描获得的光强信息转化为反射率,绘制反射率-深度曲线(图2),曲线下面积即为样本总反射率。脱矿组、早期龋组总反射率改变量分别为 0.55 ± 0.02 、 0.38 ± 0.08 ;脱矿深度分别为(122.22 ± 10.24)、(124.60 ± 12.09) μm 。对脱矿组和早期龋组的总反射率改变量进行配对 t 检验,二者间差异有统计学意义($P < 0.05$),脱矿组样本总反射率改变量大于早期龋组。对脱矿组与早期龋组样本脱矿深度进行配对 t 检验,二者间差异无统计学意义($P = 0.259$)。再矿化过程引起总反射率改变量的减小,但未对样本的脱矿深度造成影响。

2.3 样本实验区的矿质损失量

脱矿液的梯度钙标液D与再矿化液的梯度钙标液R分别对应钙标准工作曲线D和R(图3)。根据曲线得到钙离子浓度与吸光度值方程 $y_D = 0.0205x + 0.0312$, $R_D^2 = 0.997$; $y_R = 0.021x + 0.0189$, $R_R^2 = 0.9947$,钙标准工作曲线建立成功,可用于脱矿液及再矿化液中钙离子浓度的测定。将脱矿组与早期龋组样本

脱矿液与再矿化液的吸光度值带入钙标准工作曲线，获得脱矿液与再矿化液中钙离子浓度，进一步计算

其矿质损失量。脱矿组、早期龋组矿质损失量分别为 $41.08 \text{ mg} \pm 6.95 \text{ mg}$ 、 $31.35 \text{ mg} \pm 4.33 \text{ mg}$ 。



左、中、右分别为脱矿组、正常对照组和早期龋组；上：偏振光显微镜图像 偏振光显微镜 $\times 50$ ；下：黄色虚线内为OCT二维图像。

图1 各组样本OCT图像与偏振光显微镜图像

Fig 1 OCT and polarized light microscope images of samples in every group

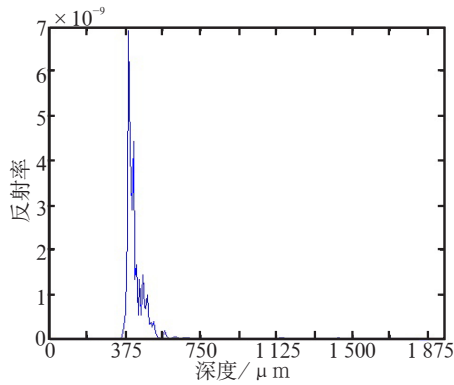


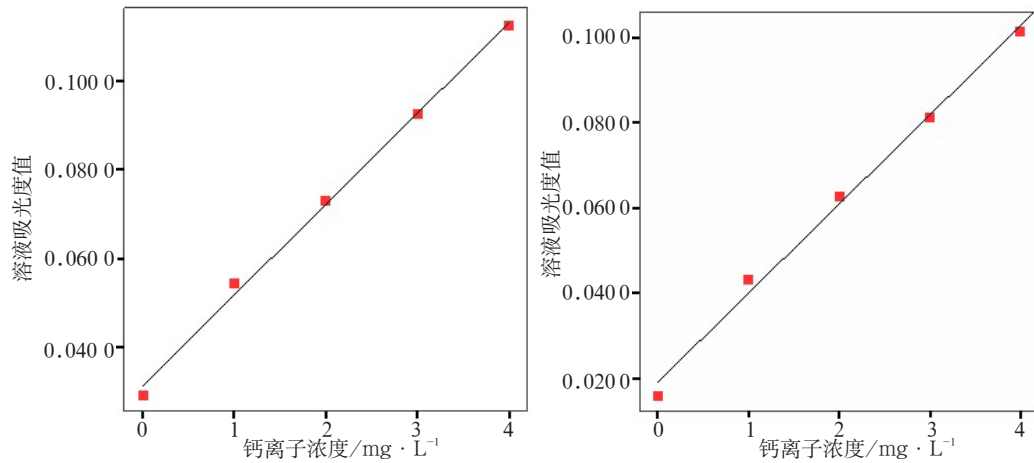
图2 反射率-深度曲线

Fig 2 The reflectivity-depth curve

将早期龋组实验区在脱矿过程中的矿质损失量 ($77.13 \text{ mg} \pm 7.75 \text{ mg}$) 和经过再矿化后的最终矿质损失量 ($31.35 \text{ mg} \pm 4.33 \text{ mg}$) 分别与脱矿组实验区的矿质损失量进行配对 t 检验，早期龋组样本实验区在脱矿过程中的矿质损失量高于脱矿组 ($P < 0.05$)，经过再矿化后早期龋组样本的矿质损失量低于脱矿组 ($P < 0.05$)，再矿化使实验区矿质含量部分恢复。

2.4 总反射率改变量与矿质损失量的相关性

经 Pearson 相关性分析，脱矿组与早期龋组总反射率改变量均与矿质损失量呈正相关， $r_D = 0.964$ ， $P < 0.05$ ； $r_R = 0.759$ ， $P < 0.05$ 。即总反射率改变量随着矿质损失量的增加而增加。



左：脱矿组；右：早期龋组。

图3 钙标准工作曲线

Fig 3 The calcium standard work curves

3 讨论

OCT已逐渐应用于多系统疾病的辅助诊断,其对龋病的成像研究也越来越受到口腔学者的关注。Nakagawa等^[6]采用OCT对93颗离体牙的127个位点进行扫描,发现该OCT对平滑面釉质龋的成像和检测具有较高的敏感性,可用于评估龋损的类型、程度以及是否侵袭至牙本质。Staninec等^[7]通过对咬合面龋的研究发现OCT能够成像咬合面龋,其扫描测得的龋损严重度与横向显微放射照相技术测得的龋损深度正相关。Lenton等^[2]采用OCT成像视诊正常的釉质与复合树脂的交界面,可观察到散射的增强,对继发龋的早期诊断具有重要意义。早期龋的OCT成像和龋损严重度的量化是研究的重点。

本研究采用的是课题组自主研发的全光纤OCT实验系统,对釉质的成像深度可达3.3 mm。脱矿釉质在OCT图像中表现为明显的信号增强区,其下信号快速衰减,与正常釉质的表现差别明显。课题组以往研究已证实代表脱矿釉质的信号增强区的厚度与偏振光显微镜中脱矿釉质病损体部的厚度一致,表明OCT实验系统能够无创地成像早期人工龋,且对脱矿深度的测量具有较高的准确性^[8]。在本研究中脱矿组与早期龋组的脱矿深度之间差异无统计学意义,再矿化对脱矿深度的影响不大。可能是由于再矿化过程是由表及里进行的,样本实验区釉质浅表区域首先发生再矿化形成再矿化表层后,在一定程度上抑制或减缓了矿质向釉质内部的运送,导致随着深度的增加再矿化的程度逐渐减小^[9],再矿化仅部分恢复了脱矿釉质的矿质含量而非完全,因而对脱矿深度的影响不大。

本实验结果显示,脱矿组与早期龋组的总反射率改变量有明显差异($P<0.05$),表明釉质脱矿与再矿化对其反射率有一定的影响。以往研究^[7]多通过OCT反射率与横向显微放射照相技术图像灰度值之间的相关性来间接反映其与矿质含量之间的关联。本实验采用原子吸收光谱法对样本脱矿与再矿化过程中的 Ca^{2+} 改变量进行了精确定量,直接获得了样本的矿质改变量。实验发现,脱矿组样本总反射率改变量与矿质损失量均大于早期龋组,且两组的总反射率改变量与矿质损失量呈正相关($P<0.05$),即样本的总反射率改变量能够量化反映早期龋的矿质改变程度。原子吸收光谱法能够精确定量液体中的痕量离子浓度,对矿质改变量的测定更加客观直接,而矿质改变量的准确定量对于OCT在早期龋诊断的临床应用意义重大。当然,这一定量方法还需

经过大样本量的标准化模型实验,建立起总反射率改变量与早期龋矿质损失量的回归曲线,使二者的关联进一步量化,则可通过总反射率改变量换算得到样本矿质含量的改变。

OCT既能够无创成像早期龋的脱矿改变,反映其病变范围和深度,又可通过光学指标监测早期龋釉质的脱矿程度,预示了其在早期龋的临床筛查和诊断、龋损进程的监测以及再矿化治疗效果的评估等方面广阔的应用前景。

致谢:感谢天津大学精密仪器与光电子工程学院孟卓博士在OCT仪器使用中给予的支持和帮助。

[参考文献]

- [1] Sowa MG, Popescu DP, Friesen JR, et al. A comparison of methods using optical coherence tomography to detect demineralized regions in teeth[J]. J Biophotonics, 2011, 4(11/12):814-823.
- [2] Lenton P, Rudney J, Chen R, et al. Imaging *in vivo* secondary caries and *ex vivo* dental biofilms using cross-polarization optical coherence tomography[J]. Dent Mater, 2012, 28(7):792-800.
- [3] Adhi M, Duker JS. Optical coherence tomography-current and future applications[J]. Curr Opin Ophthalmol, 2013, 24(3):213-221.
- [4] Hsieh YS, Ho YC, Lee SY, et al. Dental optical coherence tomography[J]. Sensors: Basel, 2013, 13(7):8928-8949.
- [5] Hariri I, Sadr A, Shimada Y, et al. Effects of structural orientation of enamel and dentine on light attenuation and local refractive index: an optical coherence tomography study[J]. J Dent, 2012, 40(5):387-396.
- [6] Nakagawa H, Sadr A, Shimada Y, et al. Validation of swept source optical coherence tomography (SS-OCT) for the diagnosis of smooth surface caries *in vitro*[J]. J Dent, 2013, 41(1):80-89.
- [7] Staninec M, Douglas SM, Darling CL, et al. Non-destructive clinical assessment of occlusal caries lesions using near-IR imaging methods[J]. Lasers Surg Med, 2011, 43(10):951-959.
- [8] 李燕妮, 王冠华, 姚晖, 等. 光学相干层析成像技术对光滑面早期牙釉质人工龋的定量检测[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(26):4827-4830.
- [9] Jones RS, Darling CL, Featherstone JD, et al. Remineralization of *in vitro* dental caries assessed with polarization-sensitive optical coherence tomography[J]. J Biomed Opt, 2006, 11(1):014016.

(本文采编 石冰)