

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***

李燕妮¹, 王冠华¹, 姚晖¹, 孟卓², 代晓华¹, 梁雨², 连小丽¹, 万木森², 张林朴¹, 石博雅², 姚晓天², 刘铁根²

Quantitative detection of early enamel artificial caries on the smooth surface using optical coherence tomography

Li Yan-ni¹, Wang Guan-hua¹, Yao Hui¹, Meng Zhuo², Dai Xiao-hua¹, Liang Yu², Lian Xiao-li¹, Wan Mu-sen², Zhang Lin-pu¹, Shi Bo-ya², Yao Xiao-tian², Liu Tie-gen²

Abstract

BACKGROUND: Optical coherence tomography (OCT) is a noninvasive imaging modality with high resolution. It can produce depth-resolved images of tooth utilizing near-infrared light and quantitatively examine the caries by detecting the backscatter signals.

OBJECTIVE: To explore the ability of imaging the early enamel caries on the smooth surface and the accuracy of quantifying the caries depths with OCT via the comparative study of OCT and polarized light microscope.

METHODS: The early enamel caries model on the smooth surface was prepared through a pH cycling model with calf (< 6 years old) lower incisor as sample, and detected by an all fiber-based OCT and polarized light microscope. The images and caries depths from both methods were compared using ANOVA and Pearson correlation.

RESULTS AND CONCLUSION: OCT could image the early enamel caries. The reflectivity within the demineralized subsurface enamel was markedly greater than the sound enamel in the OCT images. There were no differences in caries depths between OCT and polarized light microscope. OCT, which could accurately quantify the caries depths, may be used to evaluate the longitudinal progress of the early caries. There was no correlation between the lesion depth and demineralization time ($P > 0.05$). The altered depths between interior and exterior of the test region were calculated. The increased depths were correlated with the demineralization time ($r = 0.954, P < 0.05$). Results suggested the wide prospect of this nondestructive and high-resolution method on the research and clinical diagnosis of early caries.

Li YN, Wang GH, Yao H, Meng Z, Dai XH, Liang Y, Lian XL, Wan MS, Zhang LP, Shi BY, Yao XT, Liu TG. Quantitative detection of early enamel artificial caries on the smooth surface using optical coherence tomography. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2010;14(26): 4827-4830. [http://www.crter.cn http://en.zgckf.com]

摘要

背景: 光学相干层析成像技术是一种高分辨率、非创伤性成像技术,它能够利用近红外光产生牙体组织的深度解析图像,并通过检测背向散射信号来对龋损进行定量检测。

目的: 通过与偏振光显微镜的对比,验证光学相干层析成像技术对光滑面早期釉质龋的成像能力及对龋损深度定量检测的准确性。

方法: 以6岁龄牛下切牙为样本,采用pH循环法建立光滑面早期龋人工模型,分别应用全光纤光学相干层析成像技术和偏振光显微镜进行检测,比较两种方法获得龋损图像和深度值,进行方差分析和相关性分析。

结果与结论: 光学相干层析成像系统能够清晰成像光滑面早期龋,表层下脱矿区域信号显著增强,并且测得的脱矿深度值与偏振光显微镜结果一致,即该系统对深度的测量具有较高的准确性,可用于对早期龋纵深进展的评估。光学相干层析成像技术测得的人工龋模型开窗区的深度值与脱矿时间无相关性($P > 0.05$)。计算开窗区平均深度值与开窗区外平均深度值的差值即深度变化值(ΔD),则 ΔD 与脱矿时间呈正相关($r = 0.954, P < 0.05$)。结果提示了这种无创、高分辨率的光学成像技术在早期龋的定量研究和临床诊断方面具有广阔的应用前景。

关键词: 光学相干层析成像; 早期人工龋; 光滑面; 定量检测; 数字化图像与影像技术

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2010.26.019

李燕妮, 王冠华, 姚晖, 孟卓, 代晓华, 梁雨, 连小丽, 万木森, 张林朴, 石博雅, 姚晓天, 刘铁根. 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. [http://www.crter.org http://cn.zgckf.com]

¹Research Center of Stomatological Hospital, Nankai University, Tianjin Stomatological Hospital, Tianjin 300041, China; ²College of Precision Instrument and Opto-Electronics Engineering, Tianjin University, Tianjin 300072, China

Li Yan-ni★, Master, Physician, Research Center of Stomatological Hospital, Nankai University, Tianjin Stomatological Hospital, Tianjin 300041, China shadeofsmile@126.com

Correspondence to: Yao Hui, Chief physician, Master's supervisor, Research Center of Stomatological Hospital, Nankai University, Tianjin Stomatological Hospital, Tianjin 300041, China yaoh2k@163.com

Supported by: the General Program of the National Natural Science Foundation of China, No. 30770597*; the Key Science and Technology Foundation of Tianjin Stomatological Hospital*

Received: 2010-02-24 Accepted: 2010-03-29

0 引言

早期牙釉质龋是指发生在釉质表面的具有完整表层的脱矿改变。平滑面早期牙釉质龋在光学显微镜下表现为底位于釉质表面,尖端朝向釉牙本质界的三角形,表面覆盖一层类似正常釉质结构的完整表层^[1]。此时牙釉质表面虽无肉眼可见龋洞形成,但已经发生表层下脱矿。

在此阶段,可通过氟化物、抗生素、饮食改变或低强度的激光辐射阻止甚至逆转龋损的进展,避免创伤性外科治疗^[2]。

目前临床上使用的龋病的常规检测方法主要包括视诊、探诊和X射线摄片。视诊和探诊主观性较强,受到检查者临床经验和口内操作熟练度的影响,对早期龋的诊断准确性差。X射线摄片根据脱矿牙体硬组织透射度增大的特点诊断龋病,但它仅适用于较大的或已形成龋洞的

¹天津市口腔医院暨南开大学附属口腔医院实验研究中心, 天津市300041; ²天津大学精密仪器与光电子工程学院, 天津市300072

李燕妮★, 女, 1980年生, 河北省张家口市人, 汉族, 2007年天津医科大学毕业, 硕士, 医师, 主要从事肿瘤分子病理、口腔医学研究。shadeofsmile@126.com.

通讯作者: 姚晖, 主任医师, 硕士生导师, 天津市口腔医院暨南开大学附属口腔医院实验研究中心, 天津市300041 yaoh2k@163.com.

中图分类号: R318
文献标识码: B
文章编号: 1673-8225 (2010)26-04827-04

收稿日期: 2010-02-24
修回日期: 2010-03-29
(20100224002/GW-A)

龋病, 而对于无龋洞形成的早期龋的检测没有足够的敏感性和特异性^[3]。由于这些常规诊断技术无法客观有效地检测早期龋, 更不能对龋损进程进行定量监测, 往往使患者丧失保守治疗的最佳时机。因此急需一种准确、安全、量化的成像技术来检测早期龋并对治疗干预措施进行监控。

光学相干层析成像技术(optical coherence tomography, OCT)是一种高分辨率、非创伤性成像技术, 它能够利用近红外光产生生物组织的深度解析图像, 并通过检测背向散射信号来对龋损进行定量^[4]。已有研究表明该技术在检测早期龋和监控龋损进展中有着广阔的应用前景^[5]。本实验的目的是探讨OCT对人工龋的成像能力以及对龋损深度检测的准确性, 在纵深方向评估早期龋的进展, 为实现OCT对早期龋的临床诊断提供实验依据。

1 材料和方法

设计: 对照观察实验。

时间及地点: 于2009-08/12在天津市口腔医院实验研究中心完成。

材料: 实验用牛离体牙样本为新鲜拔除的6岁龄牛下切牙; CaCl₂等化学试剂购自天津市北方天医化学试剂厂; 恒温电热培养箱(天宇牌, 天津); OCT系统(天津大学与天津市口腔医院合作研发); 偏振光显微镜(尼康50iPOL, 日本); 微型电机(SAESHIN STRONG 204, 韩国)。

实验方法:

光滑面人工龋模型的制备: 收集新鲜拔除的牛下切牙, 经过清洗并去除牙根、牙髓后, 在体视显微镜下筛选出无隐裂和龋损的牛恒牙4颗。沿牙齿长轴在牙冠唇面定位3 mm×8 mm的长方形开窗区, 开窗区以外的釉质表面涂布抗酸指甲油。人工龋的制备是通过一个8 d的pH循环完成的^[6-7]。每日将离体牙暴露于20 mL的乳酸脱矿液中6 h, 脱矿液成分为乳酸0.1 mol/L, 羟基磷灰石500 mg/L, 两性霉素B 2.5 mg/L, 保持pH为4.5, 温度37 °C, 去离子水冲洗后, 再浸入再矿化液中17 h, 再矿化液的成分为80 mmol/L CaCl₂, 48 mmol/L KH₂PO₄、200 mg/L KF, 0.15 mol/L KCl, 保持pH为7.0, 温度37 °C。4个样本随机进行2, 4, 6, 8 d的pH循环。

OCT系统扫描: 本实验采用的OCT系统为全光纤扫描系统, 系统中心波长1 310 nm; 带宽50 nm; 相干长度15 μm; 分辨率10 μm。沿样

本横轴在开窗区内等间距(1.5 mm)标记出4条直线作为OCT扫描路径, 利用红光定位系统, 按照标记的扫描线进行OCT扫描, 每个样本获得4个连续B-scan图像, 包括开窗区及周围正常釉质区域。将扫描所得信号强度在Matlab软件中换算, 并将测得的光学深度除以釉质折射率, 得到实际龋损深度^[8]。

组织学评估: 根据标记的扫描路径, 在不断加水的条件下, 应用高速微型电机(韩国SAESHIN STRONG 204)、水砂纸和外径千分尺将人工龋样本制成厚度100 μm左右的磨片, 在双盲条件下进行偏振光显微镜(polarized light microscope, PLM, 日本尼康50iPOL)检测, 并通过测量软件在开窗区等间距的测量20个点的龋损深度, 获得开窗区的平均龋损深度值^[9]。

主要观察指标: ①OCT对早期龋的成像能力。②OCT对早期龋龋损深度的评估。③OCT测得的龋损深度与脱矿时间的相关性。

设计、实施、评估者: 实验设计和评估由第一、三作者完成, 操作由全体作者实施。

统计学分析: 实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 的形式表示, 应用SPSS 13.0统计软件包对深度值进行方差分析和Pearson相关性分析, $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。统计学处理由第一作者完成。

2 结果

2.1 OCT对早期人工龋的成像能力 图1为人工龋样本开窗区B-scan图像。釉质表面由于Fresnel反射呈现强信号; 表层下釉质信号明显增强; 不同pH循环周期的人工龋样本均表现出不同深度的表层下信号增强。即本实验所采用的OCT系统能够对早期人工龋表层下脱矿区域成像。

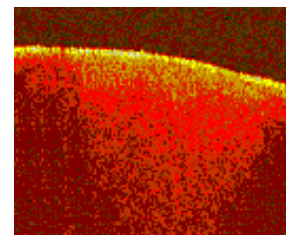
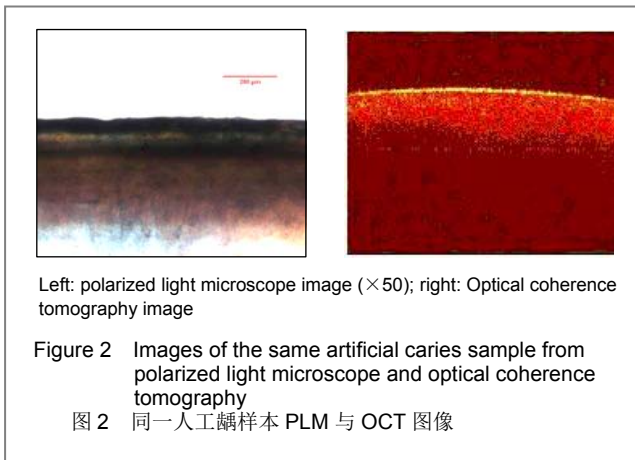


Figure 1 Image of the artificial caries test region
图1 人工龋样本开窗区OCT图像

将同一人工龋样本相同部位的OCT图像和PLM图像进行比较。PLM下可见清晰完整的再

矿化釉质表层, 呈现与正常釉质相似的双折射特性, 不同于表层下脱矿区域所表现的暗带; 但OCT图像中未见明显的、区别于脱矿釉质的表层影像, 见图2。



2.2 OCT对早期人工龋模型龋损深度的评估 OCT与PLM测得的龋损深度值见表1。经方差分析, OCT获得的深度值与PLM测得的深度结果一致, 二者之间的差异无显著性意义($P > 0.05$)。即OCT对深度的检测准确性较好, 可用于对早期龋纵深进展的评估。

表1 OCT与PLM测得的龋损深度值比较
Table 1 Comparison between the lesion depths from polarized light microscope and optical coherence tomography ($\bar{x} \pm s, \mu\text{m}$)

No.	Depth from optical coherence tomography (μm)	Depth from polarized light microscope (μm)	F	P
1	34.6 \pm 2.74	38.0 \pm 2.56	4.104	0.077
2	82.8 \pm 7.28	86.5 \pm 5.27	4.763	0.061
3	66.4 \pm 6.29	59.6 \pm 4.17	3.979	0.150
4	105.2 \pm 5.19	110.5 \pm 7.32	3.569	0.230

2.3 OCT测得的龋损深度值与脱矿时间的相关性分析 采用Pearson相关性分析, OCT测得的人工龋模型开窗区的深度值与脱矿时间无相关性($P > 0.05$); 考虑到实验前干扰因素和样本个体差异, 计算开窗区平均深度值与开窗区外平均深度值的差值即深度变化值(ΔD), 则 ΔD 与脱矿时间呈正相关($r=0.954, P < 0.05$), 见图3。

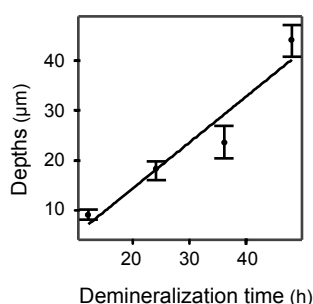


Figure 3 Profile of lesion depths from optical coherence tomography with increasing demineralization time
图3 OCT测得的龋损深度改变值随脱矿时间变化图

3 讨论

光滑面早期龋多发生于牙齿邻接面接触点下方、唇颊舌面龈缘上方牙颈部。由于光滑面质地较均一, 且便于检测, 一直是早期龋探索性研究中的首选对象。本实验应用全光纤OCT对pH循环建立的光滑面早期龋的人工模型进行了成像和定量分析, 发现所采用的OCT系统能够清晰成像光滑面早期龋, 表层下脱矿区域信号显著增强, 并且测得的脱矿深度值与PLM测量值之间无明显差异, 即该系统对深度的测量具有较高的准确性, 这与Jones等^[10]的研究一致; 但本次实验中再矿化后散射信号无明显降低, 与以往研究不尽相同^[11]。还有学者发现釉质脱矿后, 散射信号反而降低, 可能是由于未进行再矿化的直接脱矿引起釉质表面的粗糙增加了表面漫反射, 入射光强度减低, 从而减少了散射信号^[12]。

值得注意的是, 作者应用OCT系统测得的龋损深度值与脱矿-再矿化时间未表现出以往研究所示的相关性^[13], 究其原因可能为: 实验前样本可能已存在某些干扰OCT检测的釉质改变^[14]; 目前应用的龋损深度计算程序存在一定的局限性, 也可能导致结果的偏倚。考虑到上述影响因素, 本次实验以开窗区以外的唇面作为自身对照, 用开窗区内外的平均深度值之差作为OCT测得的实际脱矿深度, 它与处理时间呈正相关, 即排除了实验前的影响因素和个体差异后, 脱矿深度随着脱矿时间的增加而增加。

此外, 本次实验中, PLM可清晰辨认出由于再矿化而恢复双折射特性的表层, 但在OCT图像中, 表层及表层下釉质没有明显的分界, 无法与PLM对应。可能是由于釉质表面强反射掩盖了表层信息的存在, 或釉质表层厚度太小, 超过了OCT的分辨率所能识别的范围。对于第一种可能, 已有文献报道, 在OCT系统中增加偏振系统, 即采用偏振敏感OCT可以减少表面强反射的干扰, 获得更多的表面以下信息^[15]。为验证第二种可能, 下一步作者将改进OCT系统性能, 提高分辨率, 同时延长实验周期, 调整脱矿与再矿化时间比例, 以期获得更清晰完整的再矿化表层图像, 从而提高OCT对早期龋的定量检测能力。

OCT自问世以来, 由于无辐射、无创伤、可定量、分辨率和敏感度高等优越性, 在眼科^[16]、胃肠道^[17]、心血管^[18]、皮肤等领域中已经取得了多方面的进展^[19], 也越来越受到口腔学者和临床工作者的重视。将OCT应用于早期龋的检测, 可以弥补目前临床使用的龋病常规检测手段主观性强或敏感性差的不足, 同时, 对早期龋的进程进行定量, 更便于临床监测和干预措施的效果评

估。当然, 该技术在现阶段也存在一定的局限性, 例如常用定量指标反射率^[20]、衰减系数^[21]等只能间接反映矿质改变^[21], 还缺乏更为直观有效的定量指标。随着这项技术的日趋成熟, 必将为早期龋的实验研究和临床诊断提供更有力的依据。

4 参考文献

- [1] Yu SF, Gao Y. Beijing: Beijing Daxue Yixue Chubanshe. 2004. 于世凤, 高岩. 口腔组织学与病理学[M]. 北京: 北京大学医学出版社, 2004.
- [2] Choo-Smith LP, Dong CCS, Cleghorn B, et al. Shedding new light on early caries detection. J Can Dent Assoc. 2008;74(10): 913-918.
- [3] Ko AC, Choo-Smith LP, Hewko M, et al. Ex vivo detection and characterization of early dental caries by optical coherence tomography and Raman spectroscopy. J Biomed Opt. 2005;10(3): 031118.
- [4] Chen Y, Otis L, Piao D, et al. Characterization of dentin, enamel, and carious lesions by a polarization-sensitive optical coherence tomography system. Appl Opt. 2005;44(11):2041-2048.
- [5] Darling CL, Huynh GD, Fried D. Light scattering properties of natural and artificially demineralized dental enamel at 1310-nm. J Biomed Opt. 2006; 11(3):034023.
- [6] Jin SF, Zhou XD, Liu XR, et al. Xiandai Kouqiang Yixue Zazhi. 2006; 20(2):151-154. 靳淑凤, 周学东, 刘兴容, 等. 酪蛋白磷酸肽-磷酸钙溶液体外再矿化作用的化学分析及显微硬度测试[J]. 现代口腔医学杂志, 2006, 20(2): 151-154.
- [7] Jones RS, Fried D. Remineralization of enamel caries can decrease optical reflectivity. J Dent Res. 2006;85(9):804-808.
- [8] Hsu DJ, Darling CL, Lachica MM, et al. Nondestructive assessment of the inhibition of enamel demineralization by CO₂ laser treatment using polarization sensitive optical coherence tomography. J Biomed Opt. 2008;13(5):054027.
- [9] Ngaohetpitak P, Darling CL, Fried D. Measurement of the severity of natural smooth surface (interproximal) caries lesions with polarization-sensitive optical coherence tomography. Lasers Surg Med. 2005;37(1):78-88.
- [10] Jones RS, Darling CL, Featherstone JD, et al. Imaging artificial caries on the occlusal surfaces with polarization-sensitive optical coherence tomography. Caries Res. 2006;40(2):81-89.
- [11] Jones RS, Darling CL, Featherstone JD, et al. Remineralization of in vitro dental caries assessed with polarization-sensitive optical coherence tomography. J Biomed Opt. 2006;11(1):014016.
- [12] Amaechi BT, Podoleanu A, Higham SM, et al. Correlation of quantitative light-induced fluorescence and optical coherence tomography applied for detection and quantification of early dental caries. J Biomed Opt. 2003;8(4):642-647.
- [13] Fried D, Xie J, Shafi S, et al. Imaging caries lesions and lesion progression with polarization sensitive optical coherence tomography. J Biomed Opt. 2002;7(4):618-627.
- [14] Otis LL, Everett MJ, Sathyam US, et al. Optical coherence tomography: a new imaging technology for dentistry. J Am Dent Assoc. 2000;131(4):511-514.
- [15] Manesh SK, Darling CL, Fried D. Polarization-sensitive optical coherence tomography for the nondestructive assessment of the remineralization of dentin. J Biomed Opt. 2009;14(4):044002.
- [16] Brar M, Yuson R, Kozak I, et al. Correlation between morphologic features on spectral-domain optical coherence tomography and angiographic leakage patterns in macular edema. Retina. 2010; 30(3):383-389.
- [17] Kubo T, Imanishi T, Kashiwagi M, et al. Multiple coronary lesion instability in patients with acute myocardial infarction as determined by optical coherence tomography. Am J Cardiol. 2010; 105(3):318-322.
- [18] van Soest G, Goderie T, Regar E, et al. Atherosclerotic tissue characterization in vivo by optical coherence tomography attenuation imaging. J Biomed Opt. 2010;15(1):011105.
- [19] Morsy H, Kamp S, Thrane L, et al. Optical coherence tomography imaging of psoriasis vulgaris: correlation with histology and disease severity. Arch Dermatol Res. 2010;302(2):105-111.
- [20] Manesh SK, Darling CL and Fried D. Polarization-sensitive optical

- coherence tomography for the nondestructive assessment of the remineralization of dentin. J Biomed Opt. 2009;14(4):044002.
- [21] Popescu DP, Sowa MG, Hewko MD, et al. Assessment of early demineralization in teeth using the signal attenuation in optical coherence tomography images. J Biomed Opt. 2008;13(5): 054053.

来自本文课题的更多信息--

基金资助: 国家自然科学基金面上项目(30770597), 天津市口腔医院重点科技基金资助项目。

利益冲突: 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

课题的创新点:

技术创新: 光学相干层析成像是继超声、X射线计算机断层摄影、核磁共振成像等技术之后发展起来的又一种新的生物组织成像技术。口腔光学相干层析成像在国外只有为数不多的团队在进行体外研究, 在国内更是处于起步阶段, 除本课题组外尚未见光学相干层析成像对龋齿定量研究的报道。本次实验就是应用光学相干层析成像技术对平滑面早期人工龋进行成像并量化研究。所采用全光纤的光学相干层析成像系统分辨率高达 10 μ m, 缩小了系统体积, 提高了集成度, 推进了光学相干层析成像技术向医学临床的应用发展。

方法创新: 本实验采用了自身对照, 计算开窗区内外深度值之差, 从而减少了实验干扰因素的影响, 确保了光学相干层析成像测得的龋损深度的准确性和科学性, 便于更直观有效的对早期龋进行评估和分析。

课题评估的“金标准”: 目前国外研究评估龋病中矿物质含量改变的“金标准”为横断面数字显微放射成像技术(transverse microradiography, TMR), 本实验中未采用是由于国内缺乏能够显微定量的 TMR 系统, 而普通 TMR 需人工测量误差大, 无法精确定量。除 TMR 方法外, 国内外文献中普遍采用组织学评估方法如偏振光显微镜法研究龋病, 本实验就是以偏振光显微镜法为参比标准, 将偏振光显微镜与光学相干层析成像获得的早期龋图像和龋损深度进行对比, 评估光学相干层析成像对早期龋的成像能力以及测量深度的准确性。

设计或课题的偏倚与不足: 首先, 由于龋损深度和矿物质含量的改变是评估龋病的两个重要指标, 本实验中仅对龋损深度进行了探讨, 缺乏对矿物质含量的改变的研究。后续实验将重点针对这一目标展开研究。其次, 研发的光学相干层析成像系统仍需进一步改进, 如光学相干层析成像在进行早期龋成像时, 受到牙齿表面强反射的干扰, 可能掩盖部分表面以下的部分信息, 可通过加入偏振系统进行改善。

提供临床借鉴的价值: 将光学相干层析成像应用于早期龋检测, 能够客观有效地使未成洞的早期龋成像, 敏感性高, 可以弥补目前临床使用的龋病常规检测手段主观性强或敏感性差的不足; 同时, 光学相干层析成像能够定量早期龋的进程, 便于临床监测和干预措施的效果评估。如果能够应用于临床, 就可以使龋病早期发现, 早期控制, 早期逆转, 从而避免创伤性外科治疗。