

文章编号: 0253-2239(2009)02-0454-05

基于荧光特征光谱的龋齿诊断新技术

唐 静 刘 莉 李 颂 战

(武汉科技学院电子信息工程学院, 湖北 武汉 430073)

摘要 通过研究激光与牙齿组织相互作用机理及组织再发射光谱与组织光学特性之间的关系, 提出了一种将后向散射光, 反射光以及自体感生荧光三者相结合的新型荧光光谱龋齿诊断方法。激光与龋齿相互作用过程中, 不仅产生反射光, 还会产生自体荧光和后向散射光, 而这些后向散射光和自体荧光含有有关龋齿组分、结构、空间构象等的大量信息。为了获得三种信息和龋损状态的关系, 实验建立了离体龋齿的组织光谱诊断装置, 该装置以频率与细菌特征频率相近的 He-Ne 激光为激励源, 激光器的功率为 (2.0 ± 0.1) mW, 在不采用滤光片的情况下获得了 104 个离体样本的荧光光谱, 以瑞利散射为特征光谱的标准化参数, 定义了表征组织形态变化的反斯托克斯散射归一化系数 C_1 和表征牙组织病理变化的斯托克斯荧光归一化系数 C_2 , 结合两者对离体龋齿的龋损状态进行表征。实验结果表明, 该方法克服了现有的激光龋齿诊断方法的不足, 能够准确表征离体龋齿的龋损状态, 并且对早期的白点龋, 填充的牙齿和牙结石的诊断更敏感。

关键词 光谱学; 诊断; 荧光; 龋齿; 激光

中图分类号 TN249 **文献标识码** A **doi**: 10.3788/AOS20092902.0454

A New Method of Caries Diagnosis Based on Fluorescence Spectrum

Tang Jing Liu Li Li Songzhan

(College of Electronics and Information Engineering, Wuhan University of Science and Engineering,
Wuhan, Hubei 430073, China)

Abstract A new caries detection method of fluorescence spectrum which contains backscattering, back-reflected and auto-fluorescence is proposed after researching on the interaction mechanism of laser with dental tissue and relationship between remitted light and optical properties of the tissue. Not only auto-fluorescence but also back-reflected and back-scattering were produced in the process of the interaction. All of these lights contained rich information related with caries components, structure, spatial conformation, and so on. In order to obtain the relationship between those information and various stages of dental caries, an experiment of caries in vitro was designed and carried out. Investigation was performed on 104 samples by using He-Ne laser ($\lambda=632.8$ nm, 2.0 ± 0.1 mW) as a source of probing radiation. Using the Rayleigh scattering to normalize the intensity of measured spectrum, we defined anti-Stoke's scattering normalization coefficient C_1 , which can describe morphological changes in dental tissue, and Stoke's fluorescence normalization coefficient C_2 , which can describe chemical changes in tooth, and then, we evaluate various stages of dental caries by analyzing two normalization coefficient of caries characteristic spectrum. Preliminary results showed a high potential of using this new method to diagnose various stages of dental caries, and it is more sensitive to white caries, filling and Dental calculus.

Key words spectroscopy; diagnosis; fluorescence; caries; laser

收稿日期: 2008-08-26; **收到修改稿日期**: 2008-10-15

基金项目: 武汉市青年科技晨光计划(20065004116-38)、湖北省教育厅重点项目(D200717003)和武汉科技学院研究生创新课题基金资助课题。

作者简介: 唐 静(1984—), 女, 硕士研究生, 主要从事激光光谱和组织光谱检测等方面的研究。

E-mail: tangjing1205@126.com

导师简介: 刘 莉(1972—), 女, 博士后, 副教授, 主要从事光电子技术应用方面的研究。

E-mail: li_liu2006@yahoo.com.cn(通信联系人)

1 引 言

龋齿是一种由细菌感染所致口腔疾病,它不仅严重地危害着人类健康,并且具有高发性。在牙科医疗中,龋齿诊断应该倍受重视。灵敏、非破坏性的早期龋的诊断将使牙科医师能通过促进再矿化的措施而使龋病中止和恢复。研究早期龋的诊断技术具有重要的现实意义和市场应用前景。

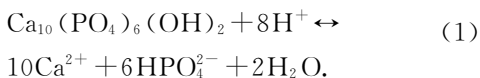
近年推出的成型的诊断设备——DIAGNOdent 龋齿诊断仪,它是基于激光感生荧光技术,依据牙齿在 655 nm 激光照射下产生的自体荧光信号,利用分子荧光作为信息载体对牙齿进行分析和检测^[1]。这种技术对牙齿组织不会构成损伤,更不会影响生物组织的病理生理状态。后来 Victor I. Masychev 等^[2]的 PNC(Photo undulatory nonlinear conversion)方法中,采用波长为 632.8 nm 的 He-Ne 激光作为激励源,获得更强功率与强度荧光信号,并且提出了荧光光谱中的后向散射光中包含有关组织的组分、结构等的大量信息,可以用以龋齿的诊断。但是,这两种探测装置在信息采集前均加入长波通滤光片消除激励激光对探测到的荧光的干扰,这样就滤除了后向散射和瑞利散射信息,因而填充的牙齿以及牙结石等常常被诊断为龋齿。因此,探索可以克服这一弱点的诊断技术将成为未来研究的趋势。

本文提出一种将后向散射光,反射光以及自体感生荧光三者相结合的新型荧光光谱龋齿诊断方法,并用理论分析结合实验研究加以验证。

2 诊断机理

2.1 龋齿的形成

通常认为龋齿形成的原因是口腔不卫生,口腔内积聚的细菌和食物残渣打破了牙体的平衡态,微生物产生的酸类物质,牙齿环境的 pH 值降低到约为 3.5,致使牙齿自身机体的修复能力远远低于龋损的速度,最终形成不可逆转的破坏^[3]。酸化的过程可表示为



2.2 激光与牙齿的作用

激光与龋齿相互作用过程中,不仅产生反射光,还会产生自体荧光和后向散射光。散射是光子与物质分子相互作用,发生传输方向改变的过程,牙齿光散射特性可以体现分子形态上的变化^[4,5]。这个过程中光子能量不变的称为瑞利散射。瑞利散射光的

波长和原激发波长一致,因此对相同的物质,瑞利散射光可以作为较好的比较标准。在散射过程中,二次激发的后向散射光中必然包含有关龋齿组分、结构、空间构象等的大量信息,这些信息可以反映出牙齿的状态,矿化程度以及颜色等信息^[6,7]。因此,实验中不采用滤光片,以保存较好的后向散射光信息。

入射到组织内的一部分光,被组织内荧光团吸收后以荧光的形式重新逸出组织表面。不用外源性荧光物质,生物组织在光激发下产生的荧光为自体荧光(Autofluorescence)^[8]。细菌在牙齿的龋化过程中起主导作用,而细菌就是内源性荧光物质。龋齿在损坏过程中伴随着细菌的不断繁殖,所产生的荧光强度也随之改变,龋齿的特征频率对应了原卟啉等的特征频率,在 590 nm,620 nm 和 635 nm 处有最大值,用波长为 632.8 nm 的 He-Ne 激光器可以进行共振技法,获得较强的荧光信号,并且荧光信号的强度与牙齿的龋损状态相关^[9,10]。

3 实验材料和方法

实验装置如图 1 所示,光源采用 He-Ne 激光器,经过衰减后聚焦照射到牙齿表面,光信号经单色仪,光电倍增管(PMT)采集后进入计算机。

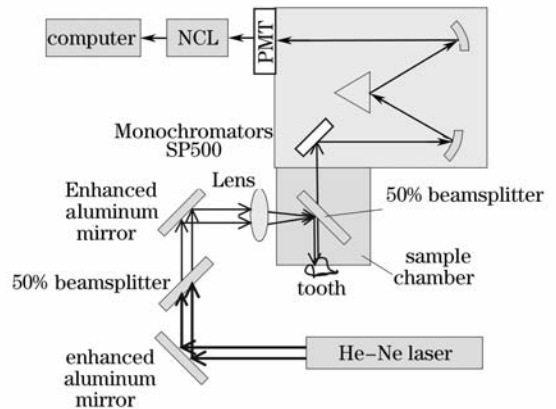


图 1 荧光特征光谱测量系统

Fig. 1 System measuring fluorescence spectrum

牙齿样品选取新鲜萃取的牙齿 104 颗,保存于 0.9%生理盐水溶液中,牙齿从萃取到实验的时间不超过 3 天。牙齿样本均由武汉科技学院医务室口腔科提供,并由口腔科两位经验丰富的医师经临床常规检查确诊其龋损的程度,其中健康牙齿 15 颗,早期龋齿 25 颗,中度龋齿 32 颗,重度龋齿 32 颗。在这 104 颗萃取牙齿中,诊断有 7 颗有结石现象,同时有 10 颗龋洞中已有填充物。实验过程中,功率计测得辐射牙齿表面的激光功率值为 (2.0 ± 0.1) mW,

环境温度(25±2)℃。扫描每颗牙齿的特征荧光光谱,并记录。

4 结果与分析

4.1 特征光谱

图2给出了针对四个龋损阶段牙齿的特征光谱。如图所示,为了避开光源对结果的影响,分别扫描600~632 nm和633~700 nm两部分光谱。可以看出,特征光谱有三个部分组成:斯托克斯散射光、反斯托克斯散射光、致龋细菌的自体感生荧光。在相同的实验条件下,随着龋齿损坏程度的加重,斯托克斯和反斯托克斯两部分的光信号均明显加强。图2(a)中反斯托克斯散射的特征峰值在(629±1) nm处,

图2(b)斯托克斯荧光特征光谱中,重度和中度龋齿在636 nm,644 nm和650 nm处出现荧光峰值特征,早期龋齿的特征较弱,而健康牙齿则整个荧光特征区域谱线很平滑,几乎没有峰值特征。

图3比较了牙结石组织和重度龋齿的特征光谱。图3(a)中,反斯托克斯散射光则比重度龋齿弱很多,这说明牙结石处虽病理上荧光呈现重度龋齿状态,但是其组织结构与重度龋齿有较大的差异。图3(b)明显可以看出,牙结石组织在636 nm,644 nm和650 nm处自体感生荧光均强于重度龋齿,整个荧光部分呈现为重度龋齿的状态,证明了牙结石的形成是细菌性沉积物,结石处的细菌类内源性荧光物质更多。

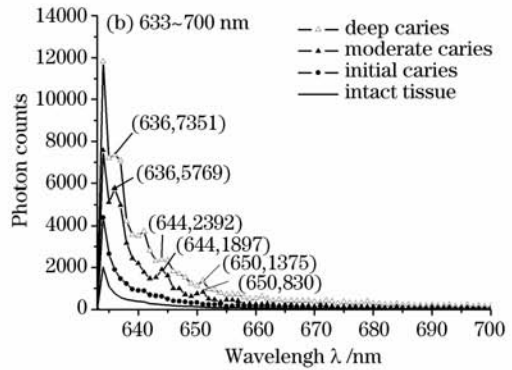
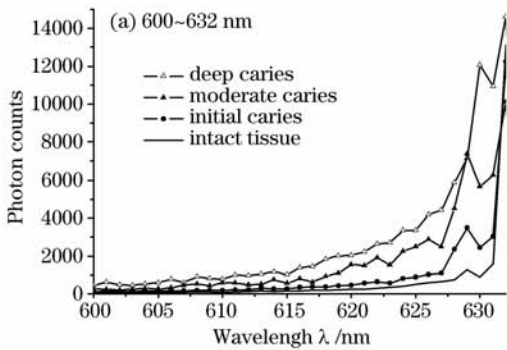


图2 龋齿各阶段的特征光谱

Fig.2 Spectrum of various stages of caries

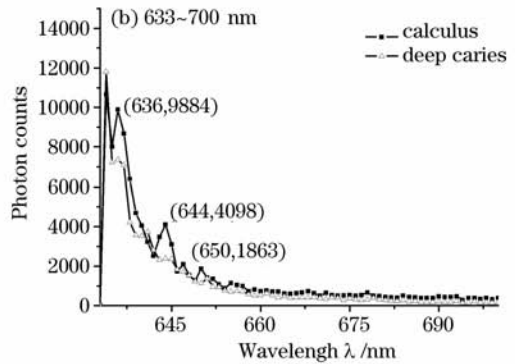
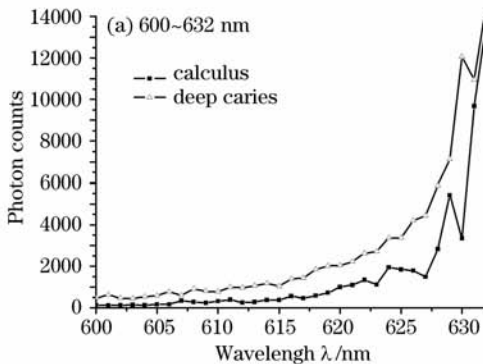


图3 结石牙组织和重度龋齿的特征光谱

Fig.3 Spectrum of dental with calculus and deep caries

图4比较了钻孔后牙齿和健康牙齿的特征光谱。填充的牙齿通常是有龋洞的牙齿,填充之前医师通常会将有龋损部分的牙齿通过钻孔的方式除去,所以钻孔以外的牙齿是目测呈现健康形态的牙齿。但从特征荧光光谱可以看出,牙齿中菌群已经

很少,接近了健康状态,但是由于之前龋损矿化和钻孔等操作,牙齿呈现断裂状态,形态结构已经发生了很大的变化,致使其反斯托克斯散射光部分强于健康的牙齿,而且峰值波长更短,出现在626 nm附近。

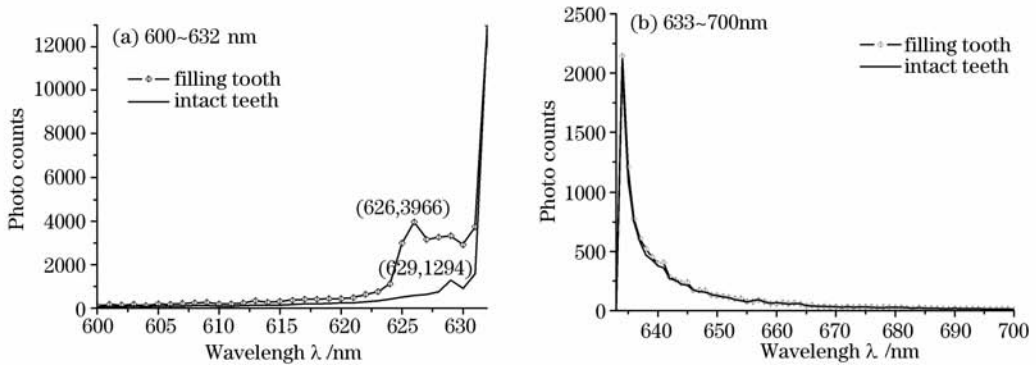


图 4 填充的牙齿和健康牙齿的特征光谱

Fig. 4 Spectrum of dental with filling and intact teeth

4.2 诊断的实现

对 104 个样本的实验结果表明,在自体荧光部分,荧光的量和龋损的状态有高度的一致性,同时后向散射光和牙齿组分结构有关,但目测特征光谱也存在很大的误判性。为了达到定量诊断,对实验的所有特征光谱数据进行归一化处理^[12],得到反斯托克斯散射归一化系数 C_1 和斯托克斯荧光归一化系数 C_2 :

$$C_1 = I_1/A_{m1}, \quad C_2 = I_2/A_{m2}, \quad (2)$$

(2) 式中 I_1 为反斯托克斯散射光部分(600~631 nm)的整体荧光强度, I_2 为斯托克斯荧光部分(635~700 nm)的整体荧光强度, A_{m1} 和 A_{m2} 为区域内光强的最大值。图 5 给出了所有实验数据统计的二维诊断结果。

内, C_1 则大约在 3.8~5.5, 同时, 随龋损程度的加重, C_2 的值分散度增大。5 区域为有结石牙齿, 其荧光系数在中度和重度龋损的范围内, 反斯托克斯散射系数则较小于没有结石的牙齿。6 区域为已经填充过的牙齿, 荧光系数 C_2 在 3.3~4.5 之间, 属于健康或早期的区域, 而区别的关键是其反斯托克斯散射系数比健康牙齿和浅龋要大, C_1 在 6.5 以上。由此说明, 定义的荧光系数 C_2 的值表征了龋损的状态, 而反斯托克斯散射系数 C_1 也进一步表征了牙齿的组分结构和空间构象等信息。因此, 进一步说明了后向散射光, 反射光和荧光三者相结合可以更准确的表征龋损的状态。

4.3 可重复性实验

为了验证整个实验系统的稳定性, 对其中一个牙齿样本进行了可重复性实验^[12]。连续扫描特征光谱 7 次, 每次扫描间隔时间为 5 s, 实验结果如图 6 所示。在 7 次的连续试验中, C_1 和 C_2 值的变化幅度不大, 相邻两次值的差距不超过 0.1, 可见实验的可重复性较好。图中可见, 连续的扫描中, C_1 值略有上升, 而 C_2 值略有下降, 说明了激光的照射下, 牙齿的细菌活性逐渐降低, 同时牙齿的组分结构也有细微的变化。

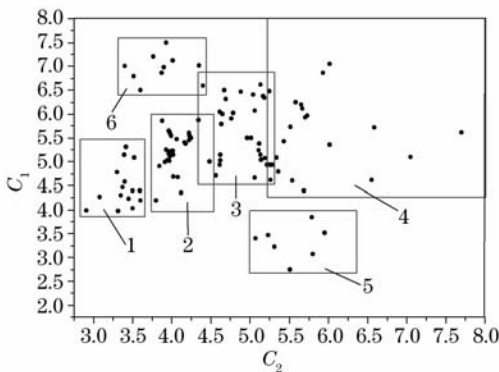


图 5 104 颗牙齿样本的二维诊断图

Fig. 5 2D-diagnostics diagram of 104 samples

图中 1, 2, 3, 4 的区域分别为健康牙齿, 浅龋, 中度和重度龋齿分布的区域。随着 C_2 系数的增大龋损的程度也在加大, 而且在健康和浅龋之间有较明显的区分度。健康龋齿分布在 C_2 小于 3.7 的范围

5 结 论

实验研究了不同状态的牙齿在 He-Ne 激光辐射下的特征荧光光谱, 提出了一种将后向散射光, 反射光以及自体感生荧光三者相结合的新型荧光光谱龋齿诊断方法, 该方法依据龋齿组分结构形态变化和细菌性病理变化对龋齿进行诊断, 实验结果证实了该诊断方法的有效性。

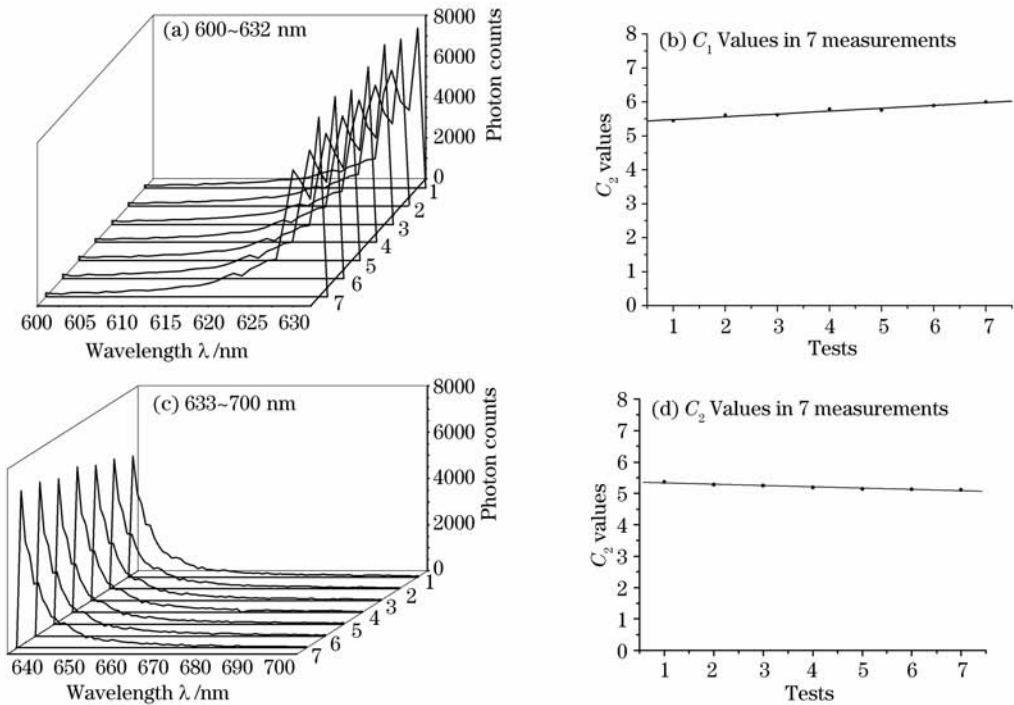


图 6 可重复性实验

Fig. 6 Reproducibility of spectra, recorded sequentially with interval 5 s

参 考 文 献

- 1 Tang Jing, Liu Li, Li Songzhen *et al.*. Optic diagnosis technology of early dental caries[J]. *Laser J.*, 2008, **29**(4): 75~77
唐静, 刘莉, 李颂战等. 早期龋齿的光学诊断技术[J]. *激光杂志*, 2008, **29**(4): 75~77
- 2 Victor I. Masychev, Michail T. Alexandrov. Real-time caries diagnostics by optical PNC-method[C]. *SPIE*, 2000, **4162**: 254~259
- 3 Liu Li, Huang Chuyun, Li Zhengjia. Investigation on caries prevention by 1.06 μm laser[J]. *Laser Technology*, 2005, **29**(6): 255~260
刘莉, 黄楚云, 李正佳. 1.06 μm 激光防龋作用研究[J]. *激光技术*, 2005, **29**(6): 255~260
- 4 A. Hall, J. M. Girkin. A review of potential new diagnostic modalities for caries lesions[J]. *J. Dent. Res.*, 2004, **83**: C89~C94
- 5 Du Lingyan, Deng Yong, Ju Shan *et al.*. Measurement of polarized backscattering differential spectra for tissue phantom[J]. *Acta Optica Sinica*, 2007, **27**(11): 2038~2041
杜玲艳, 邓勇, 鞠珊等. 组织模型偏振后向散射差分光谱的测量[J]. *光学学报*, 2007, **27**(11): 2038~2041
- 6 Takahiro Izawa, Moriaki Wakaki. Application of laser Raman spectroscopy to dental diagnosis[C]. *SPIE*, 2005, **5687**: 1~8
- 7 J. R. Zijp, J. J. Ten Bosch, R. A. J. Groenhuis. He-Ne laser light scattering by human dental enamel[J]. *J. Dent. Res.*, 1995, **74**(12): 1891~1898
- 8 Yang Dong, Zeng Chaoying. Analysis on the clinical applicability of laser excited autofluorescence spectra for oral cancer diagnosis[J]. *Chinese J. Lasers*, 1991, **18**(2): 144~148
杨栋, 曾超英. 氩激光激发自体荧光诊断口腔癌的适用性研究[J]. *中国激光*, 1991, **18**(2): 144~148
- 9 Victor I. Masychev. Optical caries diagnostics. Comparison of laser spectroscopic PNC-method with method of laser integral fluorescence[C]. *SPIE*, 2000, **4162**: 260~264
- 10 Zhao Nanjing, Liu Wenqing, Cui ZHicheng *et al.*. Analysis of dissolved organic matter in water using spectral fluorescent signature[J]. *Acta Optica Sinica*, 2005, **25**(5): 687~690
赵南京, 刘文清, 崔志成等. 用特征光谱荧光标记技术分析水中溶解有机物特性[J]. *光学学报*, 2005, **25**(5): 687~690
- 11 Chen Rong, Zeng Haishan, Huang Baohua *et al.*. Fluorescent spectrum of skin with trichrome vitiligo[J]. *Acta Optica Sinica*, 2007, **27**(1): 124~128
陈荣, 曾海山, 黄宝华等. 具有三种颜色的白癜风皮肤的荧光光谱[J]. *光学学报*, 2007, **27**(1): 124~128
- 12 G. Kesler, V. Masychev *et al.*. Photon undulatory non-linear conversion diagnostic method for caries detection: A pilot study[J]. *J. Clinical Medicine & Surgery*, 2003, **21**(4): 209~217