

光学相干层析成像对牙釉质矿密度的定量测量

李江华¹ 黄 海² 唐志列^{3*} 刘颂豪¹

¹ 华南师范大学信息光电子科技学院, 广东 广州 510631
² 深圳职业技术学院机电工程学院, 广东 深圳 518055
³ 华南师范大学物理与电信工程学院, 广东 广州 510631

摘要 将光学相干层析(OCT)成像技术应用于牙釉质矿物质密度(MD)的定量测量。该测量是基于骨组织的OCT光衰减系数(OAC)与MD的线性关系来实现的。用OCT扫描密度范围为1.28~1.9 g/cm³的羟基磷灰石(牙釉质主要成分),从OCT图拟合出它们各自的OAC,并绘制OAC与MD直线作为校准直线;用OCT扫描牙釉质并从图中拟合出牙釉质的OAC;从校准直线中获取对应的MD。测量结果显示:正常牙釉质的MD范围为2.5~3.1 g/cm³,此值与相关文献结果相符;而龋齿牙釉质的MD都较小,约为2.0 g/cm³。实验表明OCT是一种高灵敏度的无损成像技术,在早期龋牙的定量研究和临床诊断方面具有潜在的应用前景。

关键词 生物光学;矿物质密度;光学相干层析;牙釉质;羟基磷灰石;光衰减系数

中图分类号 O439 **文献标识码** A **doi**: 10.3788/AOS201333.0817001

Measurement of Enamel Mineral Density by Optical Coherence Tomography

Li Jianghua¹ Huang Hai² Tang Zhilie³ Liu Songhao¹

¹ School for Information and Optoelectronic Science and Engineering, South China Normal University, Guangzhou Guangdong 510006, China

² School of Mechanical and Electrical Engineering, Shenzhen Polytechnic, Shenzhen, Guangdong 518055, China

³ School of Physics and Telecommunication Engineering, South China Normal University, Guangzhou, Guangdong 510006, China

Abstract The measurement on the mineral density (MD) of human tooth enamel with optical coherence tomography (OCT) is done, which is based on the linear relationship between the optical attenuation coefficient (OAC) and MD. Synthetic calcium hydroxyapatite discs (the key component of enamel) with different densities ranging from 1.28 g/cm³ to 1.9 g/cm³ are scanned with OCT, OACs are fitted from OCT images, and MD versus OAC curve as a calibration curve is developed; then the OACs within OCT images of human teeth are obtained; the MD is determined according to the calibration curve of OAC and MD. The MD of sound enamel is found to be 2.5~3.1 g/cm³, which is in agreement with literature values; while the MD of white spot lesions is around 2.0 g/cm³. This non-destructive method has the potential to be used in quantitative determination of demineralization and remineralization of enamel and clinic.

Key words biotechnology; mineral density; optical coherence tomography; enamel; hydroxyapatite; optical attenuation coefficient

OCIS codes 170.4500; 170.1850; 170.4580; 290.5820

1 引 言

龋牙的龋坏过程称为脱矿过程。如果龋坏能在形成龋洞之前被探测到,就有可能通过修复来保全

牙齿。而牙齿的矿物质密度(MD)与牙齿矿化的程度密切相关。因此,量化牙齿MD有助于了解龋变和龋牙的修复程度。目前存在多种测量牙釉质MD

收稿日期: 2013-03-08; 收到修改稿日期: 2013-04-12

基金项目: 国家自然科学基金(31200629)、博士后面资助项目(2012M511581)

作者简介: 李江华(1978—),女,博士,副研究员,主要从事生物光学方面的研究。E-mail: lijiahua25@163.com

* 通信联系人。E-mail: tangzhl@scnu.edu.cn

的方法,如侵入性的化学分析、切片测量、偏振光光谱测量、探针分析和电子传导研究等^[1]。近 20 年出现了一些无损定量测量牙齿和骨头 MD 的方法,如双能 X 线吸收法^[2]、同步辐射 X 射线显微层析术^[3]、微米量级和纳米量级的计算机断层扫描术^[4-5],另一种新兴方法是太赫兹脉冲成像法^[6],它比 X 射线具有更低的能量,因此更具安全性。骨组织对太赫兹波更具透明度,因而散射损失低,能得到更高分辨率的图像。然而,水对太赫兹波吸收强烈,因而在组织应用中很受限制。其他缺点还包括价格昂贵,操作复杂^[7]。总之,上述方法由于存在各种局限性而未在临床上得到使用。

光学方法由于具有高分辨率、快速、无损伤、无辐射等特点而在获取生物组织光学特性参量方向上成为热点。Ugryumova 等^[8]首次用光学相干层析(OCT)成像技术测量到骨头的力学参数——MD。他们发现钙的流失将引起光散射系数的下降,这意味着 OCT 可以应用于测量骨头的 MD。

OCT 能灵敏地反映折射率的变化,可以无损地提供样品结构的特征,它也是一种有效的研究牙齿脱矿的工具^[9-11]。OCT 在牙齿无损成像中证实它能活体再现口腔内软组织和硬组织的结构(如牙釉质,牙本质以及它们的交界)^[12]。

本文尝试用 OCT 技术测量牙釉质 MD。牙釉质 MD 参数结合 OCT 图像,将有助于更好地理解龋牙的进程;而 OCT 能与光纤结合,使实现 OCT 活体测量成为可能。

2 测量材料和方法

2.1 样品

实验中用的 15 颗前白齿(包括 8 颗龋齿和 7 颗健康牙齿)来自 Manitoba 和 Dalhousie 大学牙科学院口腔外科室,以及 Winnipeg 的一些私人诊所。所有的龋齿都在邻近齿上有早期龋齿标志,但是边缘嵴没有变色。牙齿上的软组织已经被剔除,浸泡于去离子水中。每颗牙都由两位牙医用 X 射线的方法检验过。这些龋齿的周围并没有明显的脱钙和脱矿迹象,早期的龋齿是有着完好表面和不透明的牙釉质层。

为了得到校准直线,用羟基磷灰石(HA)作为样品,它是牙釉质的主要矿物成分 $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$ 。将纯的 HA 粉末(Sigma-Aldrich Inc., St. Louis, MO)在 200~650 MPa 的压力下制备成直径为 12.98~13.02 mm,厚度为 0.95~1.54 mm 的小圆

饼。这些小圆饼的质量由精度为 ± 0.001 g 的数字天平称得,直径和厚度由精度为 ± 0.001 mm 的游标卡尺量得,从而得到这些样品的密度 $\rho=m/V$ 。但是,由于制备的羟基磷灰石随着密度的增大,圆饼很容易破碎。有文献报导适宜的制备密度约为 1.4 g/cm³,而牙釉质的理论最大密度为 3.1614 g/cm³^[13]。因此,为了提高制备 HA 圆饼的致密性和均匀性,宜采用煅烧的方法。用煅烧方法制备大密度 HA 在显微层析术及 X 射线显微层析术中已有应用^[13-14]。

煅烧过程为从室温加热到最大温度(200 ℃),升温速度是 2 ℃/min;冷却是从最大温度降至室温,下降速度为 2 ℃/min。每组样品含有 5 个密度值,重复 4 次,得到 4 组不同密度的 $[(1.28\pm 0.001)\sim(1.9\pm 0.001)]$ g/mm³样品。

2.2 OCT 系统

OCT-2000 系统主要由一个光纤式 Michelson 干涉仪组成(原理图可参照文献^[9])。光源是超辐射发光二极管(Humphrey Systems, Dublin, CA),光功率为 750 μ W,中心波长为 850 nm,光斑大小为 10~20 μ m,轴向和横向分辨率分别为 20 μ m 和 15 μ m。这套系统具有 x - y 检流计对和摄像头,前者调节光束,后者采集数据。在成像过程中,检流计只是直线扫描。参考臂轴向扫描,即可检测出牙齿样品信息随深度变化的一维分布,进而对牙齿样品进行横向扫描就可以得到 x - z 平面的二维图像。扫描长度为 4 mm,成像速度为 10 nm/s,系统信噪比为 100 dB。样品置于探头正下方,牙齿的放置有两种方式,调节探头与样品之间的距离,使输出图像清晰。OCT 数据用 Matlab 软件生成图像。

2.3 OCT 测量 MD 原理

光在样品中的吸收和散射属性导致 OCT 信号衰减^[15],OCT 衰减系数可以通过拟合 A-扫描衰减曲线而得到,这条曲线是 OCT 信号与样品深度在单散射与多层散射模型的函数^[16-17]。

在单散射模型中,光子只假定为单次散射,OCT 信号为指数衰减,可描述为

$$I_{\text{backscattered}}(z) = I_0 \exp(-2\mu z), \quad (1)$$

式中 I_0 是入射光光强, μ 是总的衰减系数,它是吸收系数与散射系数之和。 $2z$ 是单散射光在组织的双程深度。基于前人的研究:在这种单散射模型中,OCT 信号在健康牙釉质与早期龋牙牙釉质中的衰减系数有很大区别^[11,18]。

当近红外波段在生物组织中传播时,组织的吸收系数远小于组织的散射系数,因此,总衰减系数可

以用散射系数来近似表达。而介质的散射系数 μ_s 模包含一定密度(ρ)的散射体, 散射横截面为 σ_s , 它们之间的关系为 $\mu_s = \rho\sigma_s^{[8]}$, 即牙釉质的 MD 与散射系数存在正比关系。因此, 基于衰减系数与 MD 的线性关系, 用模拟样品拟合出衰减系数与 MD 的校准直线; 对照这条校准直线和 OCT 图中获得牙齿的衰减曲线, 可求到对应的 MD。

3 实验结果与分析

图 1 是 HA 的典型 OCT 图, 其中横坐标是扫描长度, 刻度为 $40 \mu\text{m}/\text{pixel}$, 总长为 4 mm ; 纵坐标是扫描深度上的光强变化, 刻度为 $20 \mu\text{m}/\text{pixel}$, 总长为 9 mm 。在空气与样品的界面处, 入射光具有

强散射光(表层加亮是由于空气和样品的折射率不同所致)。随着深度的增大, 光强逐渐衰减。图像中的斑点形状是样品中离散散射粒子及斑噪音所致。然而, 相干斑噪音是系统在扫描相干光中不可避免的, 这是光子在组织中多层散射中引起弹道光传播距离的改变所致。为减小在计算衰减系数中斑噪音引起的误差, 平均所有的 A-扫描线(1st~100th), 使拟合模型与单散射模型相近。

图 2(a)是典型的平均 A-扫描线的指数衰减曲线图。其中, 拟合线段为适合单散模型区域 $130 \sim 280 \text{ pixel}$ (约 150 pixel , 对应 $150 \times 20 = 3 \text{ mm}$)。图 2(b)是图 2(a)拟合曲线部分的对数衰减曲线以及

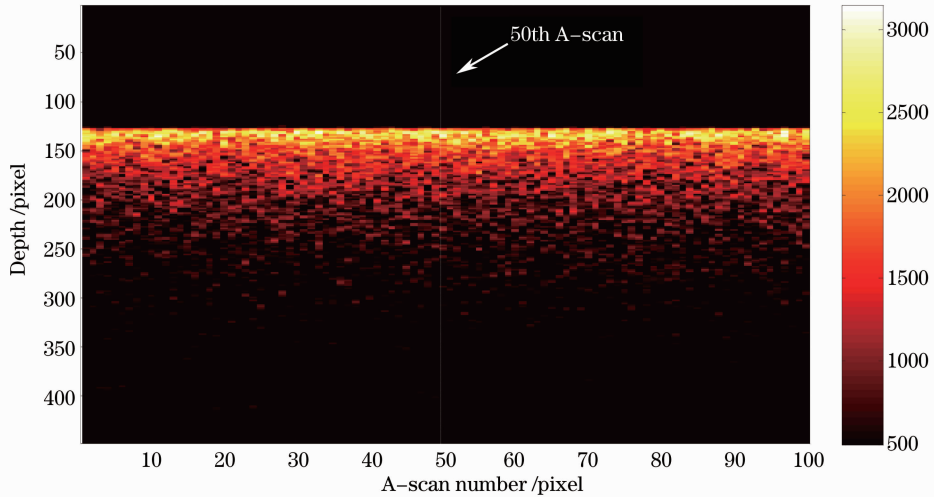


图 1 羟基磷灰石的典型 OCT 图

Fig. 1 Representative OCT image of hydroxyapatite disc

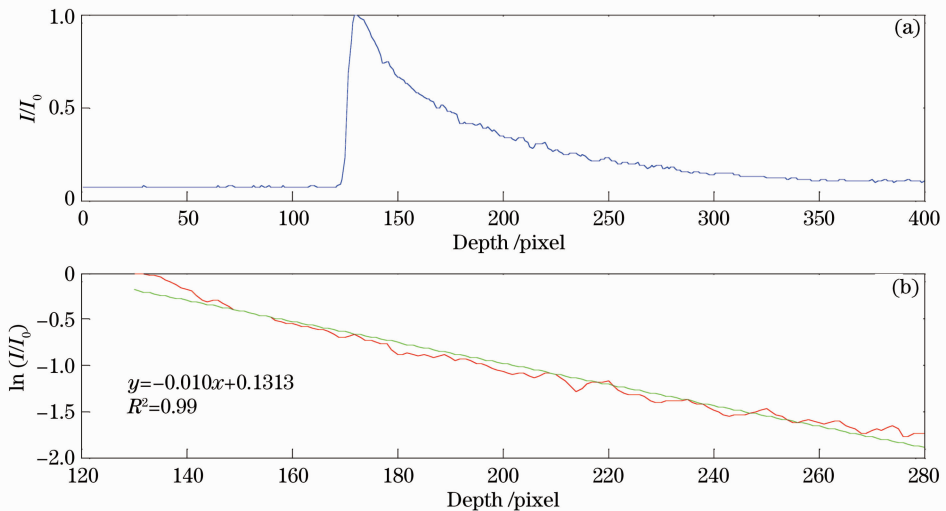


图 2 (a)指数衰减曲线;(b)对数衰减以及拟合曲线

Fig. 2 (a) Exponential attenuation curve; (b) logarithmic decrement and fitting curves

它的拟合直线。回归系数 $R^2 = 0.99$ 说明两者非常接近,也就是选取单散模型是合适的。

用类似的方法,重复实验制备了4组不同密度值的 $1.28 \sim 1.9 \text{ g/cm}^3$ 的 HA 样品,从它们各自的 OCT 图像获得不同的 OAC($0.53 \sim 0.65 \text{ cm}^{-1}$)。然后根据 OAC 与已知 MD 一一对应的关系拟合到的4组直线,回归系数为 0.9(图 3)。从图 3 可以看出,密度越小,即矿物质流失越大,孔就越多,衰减系数越小,因此,穿透深度就越大。回归系数降低主要是由于散射系数近似为衰减系数所致,另外,也可能是由于拟合直线是4组值的平均直线。根据单散射模型中,OAC 与 MD 的线性关系,这条密度与衰减系数的拟合直线是计算牙釉质 MD 的校准直线:如果从牙釉质的 OCT 图像中拟合到它的衰减系数,就可以从这条标准直线中求得牙釉质的 MD。

图 4 是典型的离体龋牙与健康牙釉质的 OCT 图像,横坐标是扫描长度,纵坐标是后向散射光在牙釉质里的穿透深度。比较图 4(a),(b)两图,龋牙中较亮锥形区域为病变区,如点 A 到点 L 所示。最深区域为龋腐蚀时间最长,最严重的位置,这个龋腐蚀向两边扩散。这种图像显示这个区域有矿物质的损失,存在多孔结构,即 MD 变小,散射点变小,衰减系数变小,而引起光穿透强度增强,这就是后向散射

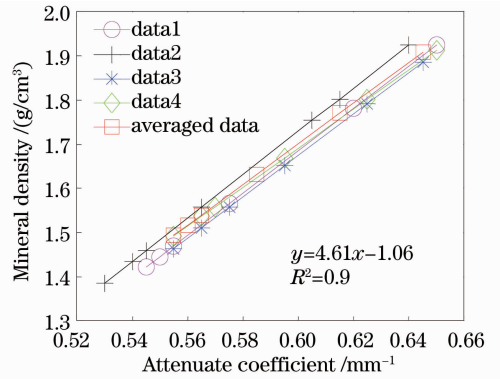


图 3 MD 与 OAC 的 4 组曲线和平均值曲线
Fig. 3 Four group curves and average curve of MD and OAC

光在其中传播时,呈现更明亮区域的原因。这种结构有助于龋牙的诊断和修复依据。龋牙虽然具有完整表面,而入射光表面在该区域上面稍微显亮,可能这是由于龋牙牙釉质具有较薄的表层,以上正是早期龋齿的特征。牙齿矿物质的损失正是从完整表面以下的层次开始。相比之下,健康牙齿的牙釉质图具有均匀简单的结构[图 4(b)];入射光在进入牙釉质层后,由于折射率的变化,在表层发生折射而产生亮层。然后在釉质层迅速衰减,说明该釉质层并无矿物质损失而留下的多孔结构。对比图像可知:OCT 技术可从形态学上区别龋牙与健康牙。但这只是一种定性的描述,具有一定的主观性。

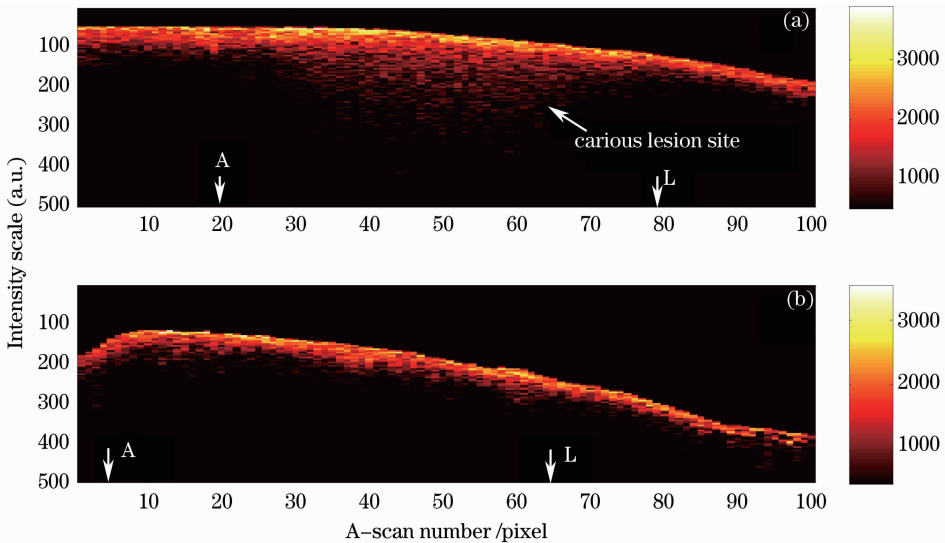


图 4 (a)离体龋牙与(b)健康牙釉质的典型 OCT 图像

Fig. 4 Representative OCT images of (a) carious enamel surface and (b) sound enamel surface

为定量描述牙釉质的矿化程度,尝试从 OCT 图上测量它的 MD。首先,图 4 中获取像素点从 A 到 L[图 4(a)从 20th 到 80th 像素点,图 4(b)从 5th 到 65th 像素点)光的衰减系数:平均每相邻的

5 pixel后,得到去噪后的光滑衰减曲线,依次得到 12 条不同的衰减曲线。这些衰减曲线描述了散射光的传播情况,隐含了组织的光学属性。然后根据上述曲线拟合方法得到的不同衰减系数就是该对应

小区域牙釉质的光散射系数。最后,根据光衰减属性与 MD 的线性关系和图 3 的羟基标准直线可以求得它的 MD。图 5 是对应于图 4(a) 从 20th~80th 像素点和图 4(b) 中从 5th~65th 像素点的 MD。蓝色直方图对应龋齿病变区 MD,从中明显可知;MD 从 2.44 g/cm^3 逐渐减小到 0.94 g/cm^3 , 然后逐渐增大至 2.74 g/cm^3 。这与病变区变化趋势相一致,在锥形尖端处有最小的 MD 值,进一步定量说明这是龋腐蚀最严重,矿物质损失最多的区域。紫色直方图为健康牙釉质的 MD,约为 $2.4\sim 3.1 \text{ g/cm}^3$, 大于龋牙的 MD 值。这也与图 4(b) 相一致,说明几乎不存在矿物质的损失。

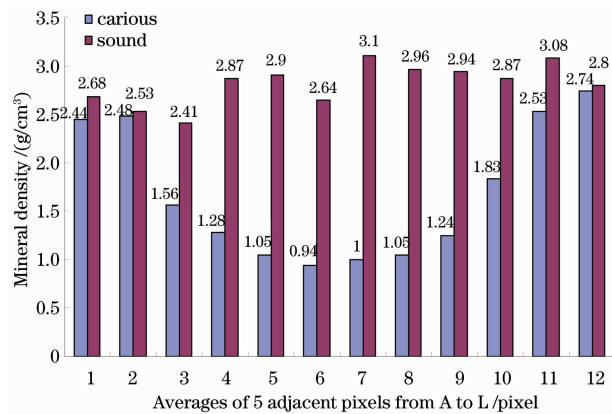


图 5 对应图 4 中从点 A 到点 L, 每相邻 5 个像素点的平均 MD 柱形图

Fig. 5 Bar graphs of MD obtained from averaging groups of adjacent 5 pixels between points A and L from the OCT images in Fig. 4

为验证这种方法的准确性,重复性和普适性。共测量了 15 颗牙, (包括 8 颗龋牙和 7 颗健康牙), 每颗牙约取 8 个数据。可以得到类似的变化趋势, MD 平均测量值如图 6 所示。健康牙牙釉质的 MD 范围为 $2.5\sim 3.1 \text{ g/cm}^3$; 而龋牙病变区的牙釉质 MD 范围为 $2.0\sim 2.5 \text{ g/cm}^3$ ($\pm 95\%$ 可信度区间), 结果具有很好的区分度(标准误差 $P<0.001$), 两者测量值的范围与前人研究结果相符合。

4 实验结果讨论

4.1 校准直线的测定

牙釉质主要成分是羟基磷灰石, 还有一些有机物^[19]。为了模拟牙釉质, 用羟基磷灰石粉末制备成圆饼, 然后在温度约为 $200 \text{ }^\circ\text{C}$ 的火炉中煅烧 2 h, 使得这些模拟样品的 MD 更近似牙釉质的 MD。而且, 经过煅烧后, 模拟样品有更好的均匀度和更大的密度。

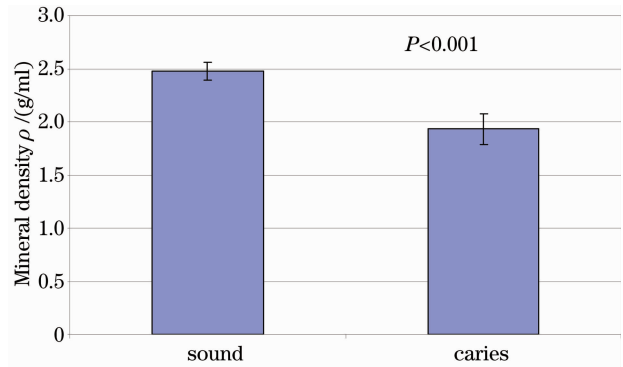


图 6 从 OCT 获取的健康牙 ($n=7$) 和龋牙 ($n=8$) 牙釉质 MD 的平均测量值 ($\pm 95\%$ 可信度区间 $P<0.001$)

Fig. 6 Bar graph of the mean ($\pm 95\%$ confidence intervals $P<0.001$) MD derived from OCT images of sound enamel ($n=7$) and carious enamel ($n=8$). n is the number of OCT images

这些不同密度的羟基磷灰石 ($1.28\sim 1.9 \text{ g/cm}^3$), 用来产生 MD 和散射系数的校准直线。由于羟基磷灰石与牙釉质的成分相似, 因此, 牙釉质的 MD 与散射系数的关系应该遵循这条直线的关系。有趣的是, 当煅烧温度升到 $400 \text{ }^\circ\text{C}$ 时, 所有的样品 MD 虽然增大, 但是 OCT 拟合的 OAC 并没有上升, 反而下降。同样, 拉曼光谱在 $400 \text{ }^\circ\text{C}$ 以上时谱峰已经改变。这可能是因为随着煅烧温度的增大, 样品内已经发生化学反应, 产生一些新的衍生物, 此时的圆饼已经不再是纯的 HA 了。所以, 在本实验中, 样品只是煅烧至 $200 \text{ }^\circ\text{C}$ 。

4.2 牙釉质的 MD 比较

从 OCT 图像中获取的 MD 值, 健康牙釉质的 MD 应该大于龋牙牙釉质的 MD。这与理论分析一致, 因为随着龋病的发生和发展, 牙釉质的空隙越来越大, 甚至变成了龋洞, 而这正是由于矿物质的损失所致, 故称为龋损。从龋牙的 OCT 图中获得的 MD, 其数值的变化趋势也与图像的锥形龋洞相符合: 锥形底部开始由大减小, 到锥顶是最小, 再从最小增大。这也与理论分析相符, 锥底是龋病时间最长, 最严重的区域, MD 损失也应该最多, MD 值最小。本方法所测量龋牙与健康牙牙釉质的 MD 范围也与前人相一致: 健康牙牙釉质 MD 均在 $2.5\sim 3.1 \text{ g/cm}^3$, 相近于前人所测的范围: $2.57\sim 3.10 \text{ g/cm}^3$ ^[3,14]。而龋牙的平均值小于 2.0 g/cm^3 , 这与 X 射线 CT 测量值: $1.48\sim 2.03 \text{ g/cm}^3$ 相接近^[14]。然而, 与前人的结果相比, 范围更大, 这主要可能是由于龋变严重时散射模型已经偏离单散模型, 表现出光子的多层散射。

5 结 论

研究了获取牙釉质的 OCT 二维图和从图定量获取牙釉质 MD 的技术。先用 OCT 对龋牙的病变区定位,然后从二维图像中提取一维信号衰减曲线,该曲线是光散射强度随深度的衰减状况,蕴含组织的光散射和吸收的特性。用 HA 模拟牙釉质,从这些已知密度的模拟样品中得到密度与 OAC 线性关系的直线作为标准直线。其中,OAC 是从 OCT 二维图拟合得出;密度由传统方法计算出。因此,测量到牙釉质 OCT 图像,并从图中获得 OAC 后,就可以从校准直线中求出牙釉质的密度。实验结果显示 OCT 是一种灵敏,无损,可靠的定量区分健康牙与龋牙的有效工具。这种方法在临床上实现早期的龋牙诊断具有潜在的应用价值,对应脱矿和补矿的定量追踪也是很适用的方法。

参 考 文 献

- 1 D R Schwass, M V Swain, D G Purton, *et al.*. A system of calibrating microtomography for use in caries research [J]. *Caries Res*, 2009, 43(4): 314-321.
- 2 A Takeuchi, R Araki, S G Proskurin, *et al.*. A new method of bone tissue measurement based upon light scattering [J]. *J Bone Mineral Res*, 1997, 12(2): 261-266.
- 3 S E P Dowker, J C Elliott, G R Davis, *et al.*. Synchrotron X-ray microtomographic investigation of mineral concentrations at micrometre scale in sound and carious enamel [J]. *Caries Res*, 2004, 38(6): 514-522.
- 4 D M Cooper, J R Matyas, M A Katzenberg, *et al.*. Comparison of microcomputed tomographic and microradiographic measurements of cortical bone porosity [J]. *Calcif Tissue Internat*, 2004, 74(5): 437-447.
- 5 C R Parkinson, A Sasov. High-resolution non-destructive 3D interrogation of dentin using X-ray nanotomography [J]. *Dent Mater*, 2008, 24(6): 773-777.
- 6 Ma Jianjun, Li Dehua, Zhou Wei, *et al.*. Progress of terahertz pulse shaping techniques [J]. *Laser & Optoelectronics Progress*, 2012, 49(9): 090004.
马建军,李德华,周 薇,等.太赫兹脉冲整形技术研究进展 [J]. *激光与光电子学进展*, 2012, 49(9): 090004.
- 7 A Hall, J M Girkin. A review of potential new diagnostic modalities for caries lesions [J]. *J Dent Res*, 2004, 83(suppl1): C89-C94.
- 8 N Ugrumova, S J Matcher, D P Attenburrow, *et al.*. Measurement of bone mineral density via light scattering [J]. *Phys Med Biol*, 2004, 49(3): 469-483.
- 9 Meng Zhuo, X Steve Yao, Yao Hui, *et al.*. Detecting early artificial caries by using optical coherence tomography [J]. *Chinese J Lasers*, 2010, 37(11): 2709-2713.
孟 卓,姚晓天,姚 晖,等.光学相干层析用于检测早期人工龋齿 [J]. *中国激光*, 2010, 37(11): 2709-2713.
- 10 Yao Hui, Li Yanni, Wang Guanhua, *et al.*. Quantification detecting artificial early enamel caries with an ALL-fiber-OCT system [J]. *Int J Biomed Eng*, 2009, 32(2): 65-69.
姚 晖,李燕妮,王冠华,等.全光纤 OCT 量化检出早期釉质龋的研究 [J]. *国际生物医学工程杂志*, 2009, 32(2): 65-69.
- 11 D P Popescu, M G Sowa, M D Hewko, *et al.*. Assessment of early demineralization in teeth using the signal attenuation in optical coherence tomography images [J]. *J Biomed Opt*, 2008, 13(5): 054053.
- 12 F I Feldchtein, G V Gelikonov, V M Gelikonov, *et al.*. In vivo OCT imaging of hard and soft tissue of the oral cavity [J]. *Opt Express*, 1998, 3(6): 239-250.
- 13 T T Y Huang, A S Jones, L H He, *et al.*. Characterisation of enamel white spot lesions using X-ray micro-tomography [J]. *J Dent*, 2007, 35(9): 737-743.
- 14 J M Schmitt, R F Bonner. Measurement of optical properties of biological tissues by low-coherence reflectometry [J]. *Appl Opt*, 1993, 32(30): 6032-6042.
- 15 L Thrane, H T Yura, P E Andersen, *et al.*. Analysis of optical coherence tomography systems based on the extended Huygens Fresnel principle [J]. *J Opt Soc Am A*, 2000, 17(3): 484-490.
- 16 Ye Qing, Li Fuxin, Liu Yu, *et al.*. Dual-wavelength optical coherence tomography system [J]. *Laser & Optoelectronics Progress*, 2010, 47(4): 041701.
叶 青,李福新,刘 宇,等.双波长光学相干层析成像 [J]. *激光与光电子学进展*, 2010, 47(4): 041701.
- 17 M G Sowa, D P Popescu, J Werner, *et al.*. Precision of Raman depolarization and optical attenuation measurements of sound tooth enamel [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2007, 387(5): 1613-1619.
- 18 C Robinson, R C Shore, S J Brookes, *et al.*. The chemistry of enamel caries [J]. *Crit Rev Oral Biol Med*, 2000, 11(4): 481-495

栏目编辑:韩 峰