

令和 6 年度厚生労働科学研究費補助金（労働安全衛生総合研究事業）

分担研究報告書

労働安全衛生法に基づく歯科医師による健康診断のより適切な実施に資する研究

分担研究者 佐藤 涼一 東京歯科大学衛生学講座 講師

研究要旨

酸蝕症は微生物の作用が関与しない化学的作用による歯の溶解と定義される。歯科臨床における酸蝕症の予防方法はフッ化物応用による歯質耐酸性の向上が第一選択であるが、セルフケアおよびプロフェッショナルケアのフッ化物応用による酸蝕症予防のエビデンスは乏しい。職場の作業時における浮遊酸性物質による酸蝕症のように歯牙が短時間に大量の酸に曝露される場合、従来の齲蝕予防法であるフッ化物歯面塗布法・洗口法では十分な防護・予防効果を発揮できていないと報告されているが、労働現場や歯科医院における酸蝕症に特化した予防方法はいまだ開発されていない。健診後には事後処置と対応が必要であり、もし健診で歯科医師が酸蝕症を認めた場合には職場の管理者への連絡と同時に、患者自身への受診勧告や指導、さらに予防法の提示が求められる。そのためにも酸蝕症に対するフッ化物応用後の耐酸性向上効果検証や基礎データの収集、新規予防法の開発は急務である。

Intraoral Fluoride Releasing Device (IFRD)は長時間にわたって低濃度のフッ化物が歯質に効果的に取り込まれる費用対効果に優れたフッ化物応用法である。本研究は 3D 積層造形技術を応用した新規 IFRD の開発、および新規 IFRD に内包されるカチオン化ヒドロキシセルロースを基材とした新規 Slow release フッ化物ゲルによる齲蝕および酸蝕症の予防法開発を目的とした。さらに、新開発したカチオン化フッ化物徐放ゲル (cationic fluoride slow-release gel) と非カチオン化ゲルのエナメル質耐酸性向上効果の違いを in vitro で明らかにすることを目的とした。上顎歯顎模型の光学スキャンデータから生体適合性透明樹脂によって設計および積層造形された IFRD は機械的維持が得られ、内部に約 200mg のゲルを有することが可能であった。IFRD 用のゲルは、ヒドロキシセルロース(SE600)とカチオン化ヒドロキシセルロース(L200)を原料に合成した。蒸留水に 60 分浸漬後の各ゲルの遊離フッ化物イオン濃度は、SE600 が 0.68 ± 0.08 ppm、L200 が 4.24 ± 0.83 ppm であり、カチオン化により大幅に増加することが明らかとなった。牛歯エナメル質と人工唾液による各ゲル応用後のエナメル質耐酸性を、実質欠損量および偏光顕微鏡観察、電子顕微鏡観察、マイクロラジオグラフィによる喪失ミネラル量および脱灰深度で定性および定量的に分析した。カチオン化した L200 群は SE600 群よりもミネラル喪失量 (ΔZ) および脱灰深度 (Ld) を有意に減少させ、エナメル質の耐酸性を向上させることが明らかとなった。本方法は産業現場の酸蝕症予防や予防歯科の臨床だけではなく、十分な口腔ケアが困難な病棟管理や介護施設、訪問歯科臨床の新たな治療への応用が期待できる。

A. 研究背景・目的

酸蝕症の予防方法はフッ化物応用による歯質耐酸性の向上が第一選択であるが、フッ化物配合歯磨剤によるセルフケアやフッ化物洗口、フッ化物歯面塗布といったプロフェッショナルケアはう蝕予防を前提として設計されており、短時間に唾液緩衝能を上回る大量の酸に暴露される酸蝕症に対しては十分な予防とならないことが危惧されている。酸蝕症に対する予防方法の開発は急務である。

近年、口腔内に微量のフッ化物イオンを長時間にわたって放出をする歯科材料の開発が進んでいる。保存修復に使用されるコンポジットレジンフィラーにフッ化物徐放作用のあるアルミノシリケートを応用したコンポマーや小児のシーラントに使用するグラスアイオノマーセメントなど、口腔内のフッ化物徐放を補助効果としている歯科材料はあるが、徐放量は低く副次的な効果にとどまり口腔内のフッ化物濃度を長時間一定に維持することは難しい。また、修復材料においてはフッ化物イオンの放出量と機械的特性の間にトレードオフの関係があることが知られている。フッ素放出量が多い材料は圧縮強度が低い傾向があり、荷重を受ける部分での使用が制限される可能性がある。副次的な機能としてではなく、フッ化物イオンの放出と唾液中フッ化物イオン濃度の維持を主目的とした材料や予防方法は極めて少ない。

米国の Southern Research Institute や英国の研究機関などによって開発された Intraoral Fluoride Releasing Device (IFRD) は、口腔内のフッ化物イオン(F-) 濃度を長期間一定に維持することが可能であり、低

濃度のフッ化物が歯質に効果的に取り込まれる費用対効果に優れたフッ化物応用法として注目されてきた。IFRD は局所応用と全身応用の中間に位置する応用法であるが、全身応用と比較して血清中のフッ素濃度に重大な影響を与えることなく、唾液と歯垢中のフッ素濃度が上昇させることが可能である。IFRD は、口腔環境中のフッ化物濃度を高め、歯質の耐酸性を向上させ、初期のう蝕病変の再石灰化を促進する能力がある方法として期待されているが、デバイスの開発や臨床試験データの不足などから未だ臨床応用までは進んでいない。IFRD はう蝕や酸蝕症リスクの高い集団や定期的な歯科受診の難しい患者、局部義歯、歯列矯正中の患者、口腔乾燥症患者にとって効果的な齲蝕予防方法となる可能性がある。

我々はフッ化物徐放と口腔内のフッ化物濃度の長時間の維持を第一目標としたカチオン化 HEC (アルカリ存在下で Hydroxyethyl Cellulose, CAS 番号 9004-62-0, $C_{29}H_{52}O_{21}$, HEC にグリシジルトリメチルアンモニウムクロリドを付加して生成される高分子化合物)を基材とした新型 IFRD 用ゲルと、光学印象と 3D プリンティング技術により患者の口腔内に合わせた口蓋設置型 IFRD を新たに設計・開発した。本装置は従来の局所応用法のように高濃度かつ短時間の応用とは異なり、長時間の低濃度フッ化物放出が可能である。従来の IFRD とは異なり、装置内部にセットするゲルの量と組成を変えることで、患者自身がフッ化物イオンの放出量や作用時間を自由にコントロールできる特徴がある。また、3D プリンタを用いた生体適合素材の積層造形技術により、複数患者の装置を同時、短時間かつ

全自動で作成することが可能になった。複雑な技工操作必要だった装置内部の中空構造や辺縁形態の作成が容易であり設計の自由度も高い。本研究は積層造形技術をIFRDへ応用することによる新規フッ化物徐放装置の開発とエナメル質の耐酸性向上によるう蝕抑制効果の *in vitro* での実証を目的とした。

B. 研究方法

B-1. IFRD 用カチオン化 HEC ゲルによる *in vitro* エナメル質脱灰抑制効果の検討

本研究は、牛歯歯冠部唇側象牙質を鏡面研磨し試料とした($n=48$, 各群 $n=8$)。IFRD 用のフッ化物徐放ゲルはカチオン化なし HEC として HEC DAICEL (SE600, 化粧品グレード, SE タイプ:分散改良型, Daicel Miraizu Ltd., Tokyo, Japan)、カチオン化 HEC として CELQUAT L-200 (L-200, Polyquaternium-4, ヒドロキシエチルセルロースジメチルジアリルアンモニウムクロリド, Nouryon, Amsterdam, Netherlands)を基材として合成した。各 HEC 粉末を蒸留水に加え 1%(w/w)の水溶液とし、フッ化ナトリウム (NaF, CAS 7681-49-4, FUJIFILM Wako Pure Chemical Corp. Tokyo, Japan)を 1.4%(w/w)添加後、約 24 時間攪拌し完全に溶解させた。攪拌後、得られた溶液を人工透析膜 (Spectrum™ Spectra/Por™ 6 Pre-wetted Standard RC Dialysis Tubing, 1-50 kD MWCO, Thermo Fisher Scientific Inc., Massachusetts, USA)に移し、24 時間透析処理することで高分子化合物とイオン結合していない溶液中の遊離イオンを除去した。透析後の溶液はロータリーエバポレーター (Rotavapor® R-100, BUCHI Corp. New

Castle, USA)、ダイアフラム型ドライ真空ポンプ (DAP-15, ULVAC KIKO, Inc., Miyazaki, Japan)および循環式冷却装置 (Recirculating Chiller F-100, BUCHI Corp. New Castle, USA)にて高真空濃縮処理を行い、流動性のないゲル状になるまで濃縮した (図 1)。

予防処置法は (1) Control 群 (ゲル曝露なし), (2) SE600 群 (IFRD 用カチオン化なし HEC), (3) L200 群 (IFRD 用カチオン化 HEC)の 3 群に設定した。我々は IFRD 使用した口腔内環境を再現するため専用の人工唾液還流装置を設計・作成した。装置の概要を図に示す (図 2)。本研究では、ゲルを使用中の口腔内を再現した IFRD gel treatment phase と乳酸緩衝溶液による Demineralization phase の 2 つの phase を 4 回繰り返す pH-cycling 法を採用した。ゲルのフッ化物イオン徐放量はゲルを蒸留水中に静置し、蒸留水中の遊離フッ化物イオン濃度をイオン電極法で計測した。歯質表層の脱灰性状は走査型電子顕微鏡 (SEM)

(SU6600, 日立, 東京)の二次電子像観察, 3D 測定レーザー顕微鏡 (LEXT OLS4000, Olympus, 東京)による高低差プロファイルにより評価した。また、コンタクトマイクロラジオグラフィー (CMR)解析のため、樹脂包埋後 (Rigolac, 日新 EM, 東京)、100 μm 厚の研磨切片を作成し、軟 X 線発生装置 (CMR-3, Softex, 東京)を用いて 1 段 20 μm のアルミニウムステップウェッジと共に管電圧 15kV、管電流 3mA、照射時間 5 分間で撮影した。撮影画像は画像解析システム (HC-2500/OL: OLYMPUS, 東京)を用いて画像解析用ソフトウェア (ImagePro-Plus, version 6.2, Media Cybernetics Inc.

Silver Spring)にてグレースケール8 bit, 256階調に変換し濃度プロファイルを取得した。ミネラル喪失量(ΔZ)および脱灰深度(Ld)を測定し脱灰程度の比較を行った。

B-2. 生体適合素材の三次元積層造形技術を用いた IFRD の設計および造形

上顎歯顎模型 (D18FE-500E, Nissin 社) に対して、CAD ソフトウェア (3-matic, Materialise 社)を用いて試作型上顎 IFRD トレーの設計を行った。上顎歯顎模型の形状は光学スキャナ (Atos Core, GOM 社)を用いて standardized triangular language (stl) 拡張子データとして採得した。まず、口蓋部および歯列舌側に適合する厚さ 5.0 mm の装置のアウトラインを設計し、0.2mm のクリアランスと歯牙のアンダーカット部を除去した。続いて、IFRD ゲルを貯留するためのタンク部として直径 2.5 mm の円柱と、そこから各歯面に連続する直径 1.5 mm の円柱を設計した。さらに、タンク部を横断するように装置を上下に分割し、復位と連結をするためのノッチ部を設計した。IFRD トレーの造形には 3D プリント (Objet 260 Connex, Stratasys 社)を用いた。マテリアルとして、生体と接触するトレー表面とタンク部には生体適合性透明樹脂 (MED 610, Stratasys 社)を、ノッチ部には白色樹脂 (FullCure835 VeroWhitePlus, Stratasys 社)を用いた。

C. 研究結果および考察

C-1. カチオン化の有無によるフッ化物イオン徐放量の比較

図 3 に SE600 群とカチオン化した L200 群のフッ化物イオン徐放量を 10 秒間隔で 3

時間連続測定したグラフを示す。各群 8 サンプルあたりの平均値±標準偏差を示し、60 分、120 分、180 分において 2 群間の有意差の有無を示している。SE600 群のフッ化物イオン徐放量は 60 分で 0.682 ± 0.079 mg/L、120 分で 0.749 ± 0.077 mg/L、180 分で 0.756 ± 0.079 mg/L であり、60 分までは緩やかな増加を認めたが、その後はほとんど増加せず 180 分まで一定の濃度であった。一方、L200 群のフッ化物イオン徐放量は 60 分で 4.241 ± 0.825 mg/L、120 分で 5.240 ± 0.635 mg/L、180 分で 5.560 ± 0.574 mg/L であり、60 分経過後も 120 分、180 分と上昇幅を縮小しながら緩やかにフッ化物イオンの放出が継続した。60 分、120 分、180 分において 2 群間を比較すると、全てのタイムポイントにおいて L200 群のフッ化物イオン徐放量が SE600 群より約 5-8 倍有意に大きいことが明らかになった ($p < 0.01$)。

C-2. pH-cycling 後の 3D 段差プロファイル

図 4 に人工唾液還流装置を用いた pH-cycling 後の 3D 測定レーザー顕微鏡による段差プロファイルの画像と結果のグラフを示す。図 4a-c の左側はワックスで保護されて脱灰がされていない対照面 (Reference surface: RS) を示し、右側は脱灰されている実験面 (Experimental surface: ES) を示している。Control 群では、実験面が著しく脱灰し、 $22.63 \pm 5.07 \mu\text{m}$ の欠損が認められた。SE600 群は Control 群の約 10 分の 1 の $2.46 \pm 1.41 \mu\text{m}$ まで欠損量が減少し、L200 群ではさらに $0.64 \pm 0.48 \mu\text{m}$ に欠損が減少した。しかし、SE600 群と L200 群間には有意差は認められなかった ($p > 0.05$,

図 4d)。

C-3. 偏光顕微鏡を用いた偏光反応領域の深さ (RAd) の測定

図 5 は、酸負荷後に偏光顕微鏡で観察したグラフと RAd 像を示す。Control 群では、エナメル質の表面から深層まで黄色と青色の偏光領域が均一に観察され、RAd は $158.14 \pm 27.26 \mu\text{m}$ であった。SE600 群の RAd は $99.75 \pm 21.47 \mu\text{m}$ に減少し、さらに青色の偏光領域が増加した。SE600 群の RAd は、コントロール群よりも有意に小さかった ($p < 0.05$)。さらに、L200 群の RAd は $75.36 \pm 20.63 \mu\text{m}$ と Control 群および SE600 群よりも低かったが、SE600 群と L200 群の間には有意差は認められなかった ($p > 0.05$)。

C-4. pH-cycling 後の断面 SEM 観察

pH-cycling 後の実験面を垂直に切断した二次電子像を図 6 に示す。コントロール群では表層から約 $5 \mu\text{m}$ の小さな範囲に、周囲組織よりも信号強度の高い耐酸性層が限局して観察された。耐酸性の直下から $50 \mu\text{m}$ の範囲で信号強度の低下とエナメル小柱間隙の拡大を認め、特に表層下 $25\text{--}50 \mu\text{m}$ に小柱構造の崩壊を伴う深刻な表層化脱灰像を認めた (図 5a, 5b)。脱灰像は複数の層状を示し、サイクリングによる脱灰と再石灰化を繰り返したエナメル質の特徴を認めた。SE600 群は Control 群と比較して脱灰による信号強度の低下した範囲は減少したが、表層の $5 \mu\text{m}$ ほどの耐酸性層の直下にエナメル小柱構造の崩壊と小柱間隙の拡大を認めた (図 5c, 5d)。L200 群は表層からグラデーション様の信号強度の低下を認め、

表層から $5\text{--}10 \mu\text{m}$ の範囲に軽度のエナメル小柱構造の崩壊を認めた (図 5e, 5f)。表層から $20\text{--}30 \mu\text{m}$ より深部のエナメル質の構造は健全なエナメル質と差を認められなかった。

C-5. CMR 解析によるミネラル喪失量および脱灰深度の計測

図 7 は各群のミネラル喪失量 ($\Delta Z, \text{vol}\%$ μm) の深度による変化を示したグラフと CMR 解析による各群のミネラル喪失量 ($\Delta Z, \text{vol}\%$ μm) と脱灰深度 ($L_d, \mu\text{m}$) を示す。コントロール群では歯質表層から $10 \mu\text{m}$ と $25 \mu\text{m}$ に二峰性の強度の高い領域が存在し、 $30\text{--}40 \mu\text{m}$ の領域で構造の破壊を伴う著しい脱ミネラルによる強度の低下が認められた (図 7a)。SE600 群は表層から $0\text{--}10 \mu\text{m}$ の浅い深度からミネラル量の回復が認められた。しかし、 $60 \text{vol}\%$ からグラフの傾きが鈍化し、 $100 \mu\text{m}$ の深度まで緩やかにミネラル量が回復した。L200 群は SE600 群と同様に表層から $0\text{--}10 \mu\text{m}$ の浅い深度からミネラル量の回復が認められ、 $40\text{--}50 \mu\text{m}$ までに $90 \text{vol}\%$ を上回った (図 7a)。

コントロール群の ΔZ は $6260.75 \pm 609.28 \text{vol}\% \mu\text{m}$ であり、他のすべての群と比較して有意に大きかった ($p < 0.05$, 図 7b)。SE600 群は $3266.38 \pm 491.92 \text{vol}\% \mu\text{m}$ とコントロール群の約半分までミネラル喪失量が減少した。L200 群は $2543.05 \pm 331.33 \text{vol}\% \mu\text{m}$ とすべての群の中で最も小さい値であり、SE600 群と有意差を認めた ($p < 0.05$, 図 7b)。コントロール群の L_d は $74.36 \pm 10.97 \mu\text{m}$ とすべての群で最も大きく、SE600 群では $69.30 \pm 17.26 \mu\text{m}$ とコントロール群と比較して減少したが、有意差は認

めなかった ($p > 0.05$, 図 7c)。L200 群の Ld はすべての群で最も小さく $50.81 \pm 8.09 \mu\text{m}$ 、他のすべての群と有意差を認めた ($p < 0.05$)。

C-6. 3D 積層技術によるヒト上顎用 IFRD デバイスの作成

光学印象と 3D 積層技術により成形した試作型のヒト上顎用 IFRD デバイスを示す (図 8)。トレーは本体パーツとカバーパーツの 2 つのパーツで構成されており、機械的な嵌合力で一体化する (図 8a, 8b)。本体パーツとカバーパーツには長さ $15\text{mm} \times$ 幅 $3\text{mm} \times$ 深さ 0.5mm の溝が形成されておりパーツを一体化させるとリザーバタンクが形成される。タンクからは太さ 0.5mm 中空のフローパイプが各歯の歯頸部に開口するように形成され、口腔内でトレーが唾液に触れると毛細管現象でタンクまで唾液が誘導され、唾液中にフッ化物イオンが放出されるように設計されている。タンク内のゲルが唾液によって希釈され崩壊すると、歯頸部および歯冠隣接面にフッ化物イオンが送達される。トレー内部のリザーバタンク内には約 200mg のフッ化物徐放ゲルを収納することができ、試作型トレーは上顎歯顎模型に適合しアンダーカット域の設計による機械的維持が認められた (図 8c)。

D. 結論

本研究は、脱灰抑制に効果的な濃度のフッ化物徐放の能力を持つ IFRD 用ゲルを開発し、カチオン化によってエナメル質の脱灰抑制効果を高めることが出来ることを組織学および理工学的手技を用いて定性・定量的に証明した。また光学印象と 3D プリ

ンティング技術により患者の口腔内に合わせたゲルを内部に装填できる口蓋設置型 IFRD を新たに設計・出力し、模型上でゲルの収納と維持を確認した。

本装置は IFRD のセルフケアでの応用、装置製作の簡略化および低コスト化、劇的なチェアタイムの短縮を可能にし、齲蝕や酸蝕症のハイリスク患者や口腔ケアの難しい術後の管理の新たな選択肢となると考えられる。

E. 研究発表

1. 論文発表 (3 編)

1) Suzuki S, Yoshino K, Takayanagi A, Onose Y, Ohyama A, Shibuya T, **Satou R**, Eguchi T, Kamijo H, Sugihara N: Oral Health Status of Workers in Acid Exposure Environments in Japan: A Cross-sectional Study, Bull Tokyo Dent Coll., 65(2-3):47-52, 2024, Doi: 10.2209/tdcpublication.2023-0034.

2) Ouchi T, Kono K, **Satou R**, Kurashima R, Yamaguchi K, Kimura M, Shibukawa Y: Upregulation of Amy1 in the salivary glands of mice exposed to a lunar gravity environment using the multiple artificial gravity research system, Front. Physiol., 15, 2024. Doi: 10.3389/fphys.2024.1417719

3) **Satou R**, Odaka K, Sako R, Ando M, Sugihara N: Improving Enamel Acid Resistance by an Intraoral Fluoride-Release Device Incorporating Cationic Hydroxy Cellulose Gel Using 3D

Printer Molding, Materials, 17(23), 5731, 2024. Doi: 10.3390/ma17235731

2. 学会発表 (2 回)

1) 岩崎美友, 佐藤涼一, 杉原直樹, 口腔衛生学会フッ化ナトリウム (NaF) とリン酸酸性フッ化ナトリウム (APF) の併用によるエナメル質耐酸性向上, 第 73 回日本口腔衛生学会・総会, 2024 年 5 月 10-12 日, 岩手県, 口腔衛生学会雑誌, 74-2:27, 2024

2) 佐藤涼一, 小高研人, 佐古亮, 杉原直樹, 生活リズム再現型 pH-cycling 酸蝕症モデルによる AP-MFP 歯面塗布の効果検討, 第 317 回東京歯科大学学会・例会, 2024 年 06 月 01 日, 東京都, 歯科学報, 124-2:147, 2024

3. プロシーディングス・図書 (8 件)

1) 佐藤涼一, 上條英之, ナノ粒子卵殻由来アパタイトと高濃度フッ化物の作用による新規酸蝕症予防法の開発, 日本労働衛生研究協議会雑誌, 第 30 巻 (1):34-36, 2024

2) 佐藤涼一, 研究成果報告 (1) 学長奨励研究助成成果報告「酸性モノフルオロリン酸ナトリウム歯面塗布法による酸蝕症・根面齲蝕予防」, 歯科学報, 124-3: 169-171, 2024

3) 佐藤涼一, 特集「齲蝕予防 UP TO DATE フッ化物を再考し歯磨きを見

直そう！」Part4 効果的な歯磨きの方法 ①イエテボリ法, デンタルハイジーン, Vol.44 No.6, 622-624, 2024

4) 佐藤涼一, 特集「齲蝕予防 UP TO DATE フッ化物を再考し歯磨きを見直そう！」Part5 効果的な歯磨きの方法 ②PTD 法, デンタルハイジーン, Vol.44 No.6, 625-627, 2024

5) 澁川義幸, 黄地健仁, 佐藤涼一, [研究成果] 月面重力環境はストレスフル? : 宇宙実験棟きぼうで飼育されたマウスでは唾液アミラーゼ上昇が見られる。., 東京歯科大学・東京歯科大学短期大学ホームページ TOPICS, 2024

6) 澁川義幸, 黄地健仁, 佐藤涼一, 2022 年度選定「きぼう」利用マウスサンプルシェアテーマ「低重力環境における口腔歯科医学展開にむけた基礎研究基盤」の組織解析の成果が論文に掲載されました, JAXA 宇宙航空研究開発機構ホームページ 宇宙実験棟きぼう利用成果速報, (2024.07.19), 2024

7) 澁川義幸, 黄地健仁, 佐藤涼一, 杉原直樹, 東京歯科大学「宇宙で唾液とストレスが関係 東歯大が可能性示す」日本歯科新聞, 第 2375 号 (7) (2024.07.30), 2024

8) 澁川義幸, 黄地健仁, 佐藤涼一, 宇宙空間はストレスを感じる マウス実験で唾液に変化、東京歯科大, Science Portal HP, (2024.09.05), 2024

F. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

特記事項なし

2. 実用新案登録

特記事項なし

3. その他

特記事項なし

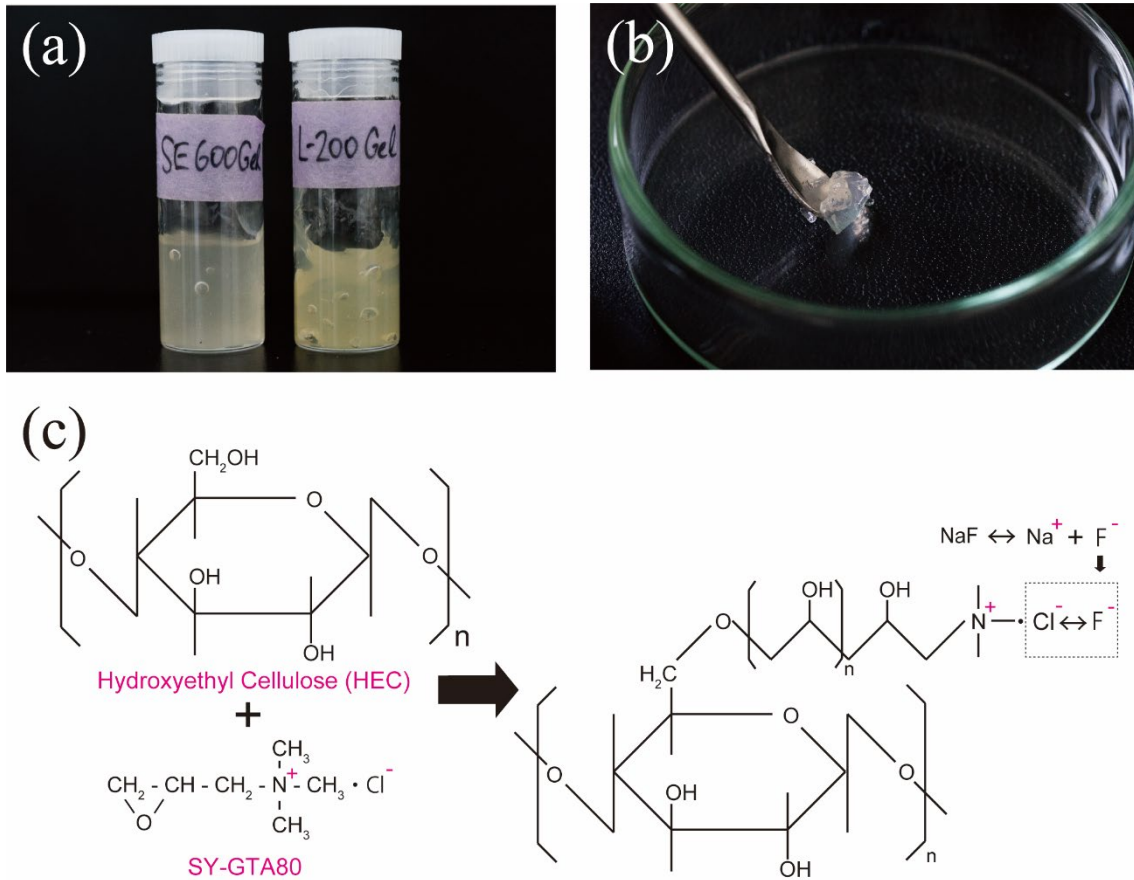


図 1. 新規 IFRD 用 HEC (SE600) およびカチオン化 HEC (L200) ゲルの性状と設計

(a) Images of HEC gel (SE600) and cationized HEC gel (L200) stored in ampules. (b) Image of L200 placed on a Petri dish showing elastic non-fluid gel-like properties. (c) Manufacturing method of L-200 and a hypothetical theory for introducing F ions by ion replacement in an aqueous solution are demonstrated.

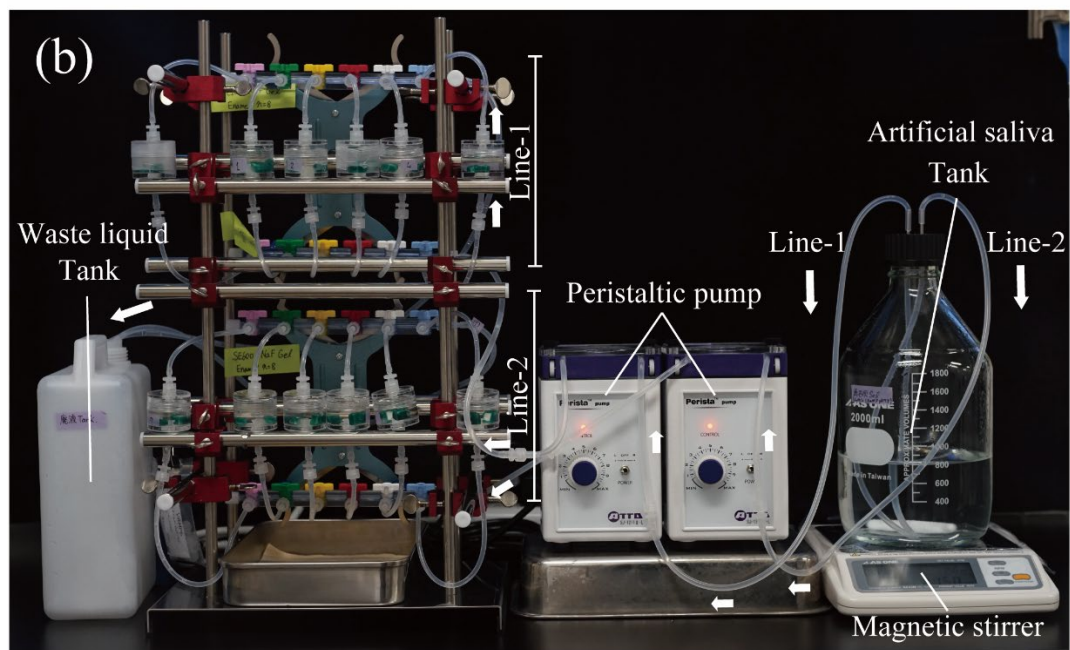
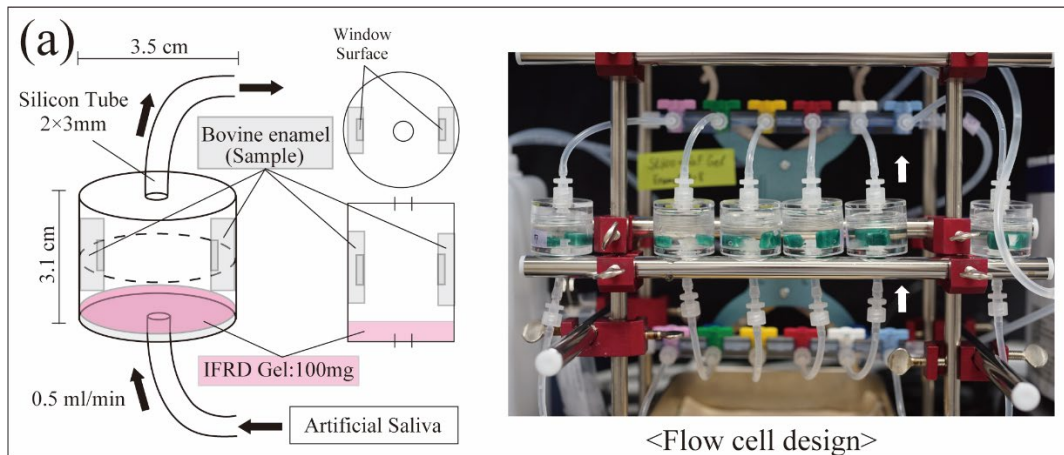


図 2. IFRD ゲル実験用人工唾液還流装置の概要と設計

(a) Overview of the flow cell for the artificial saliva reflux device, including the design drawing (left) and operational flow cell (right). Arrows indicate the direction of the flow of the solution. (b) The solution was pumped from the artificial saliva tank by a peristaltic pump, returned to each cell of Line-1 (top) and Line-2 (bottom), and subsequently disposed to the waste tank. Each line could handle up to 12 samples simultaneously, allowing the entire device to process 24 samples simultaneously.

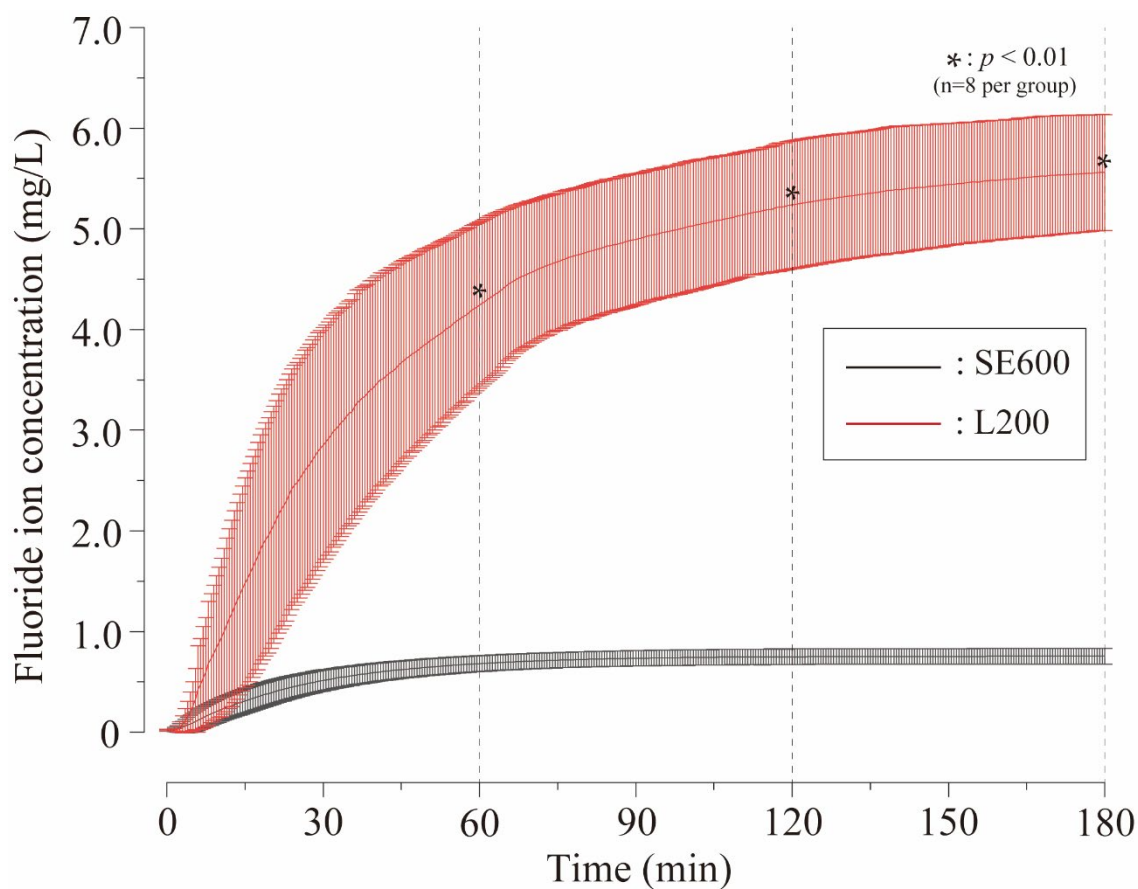


図 3. SE600 ゲルと L200 ゲルの経時的フッ化物徐放量の比較

The graph depicts the mean \pm SD of F⁻ concentration in the non-cationized SE600 and cationized L200 groups, which was measured continuously for 3 h at 10-s intervals (n = 8/group). Significant differences in the concentrations were noted between the two groups at 60, 120, and 180 min (*p < 0.01).

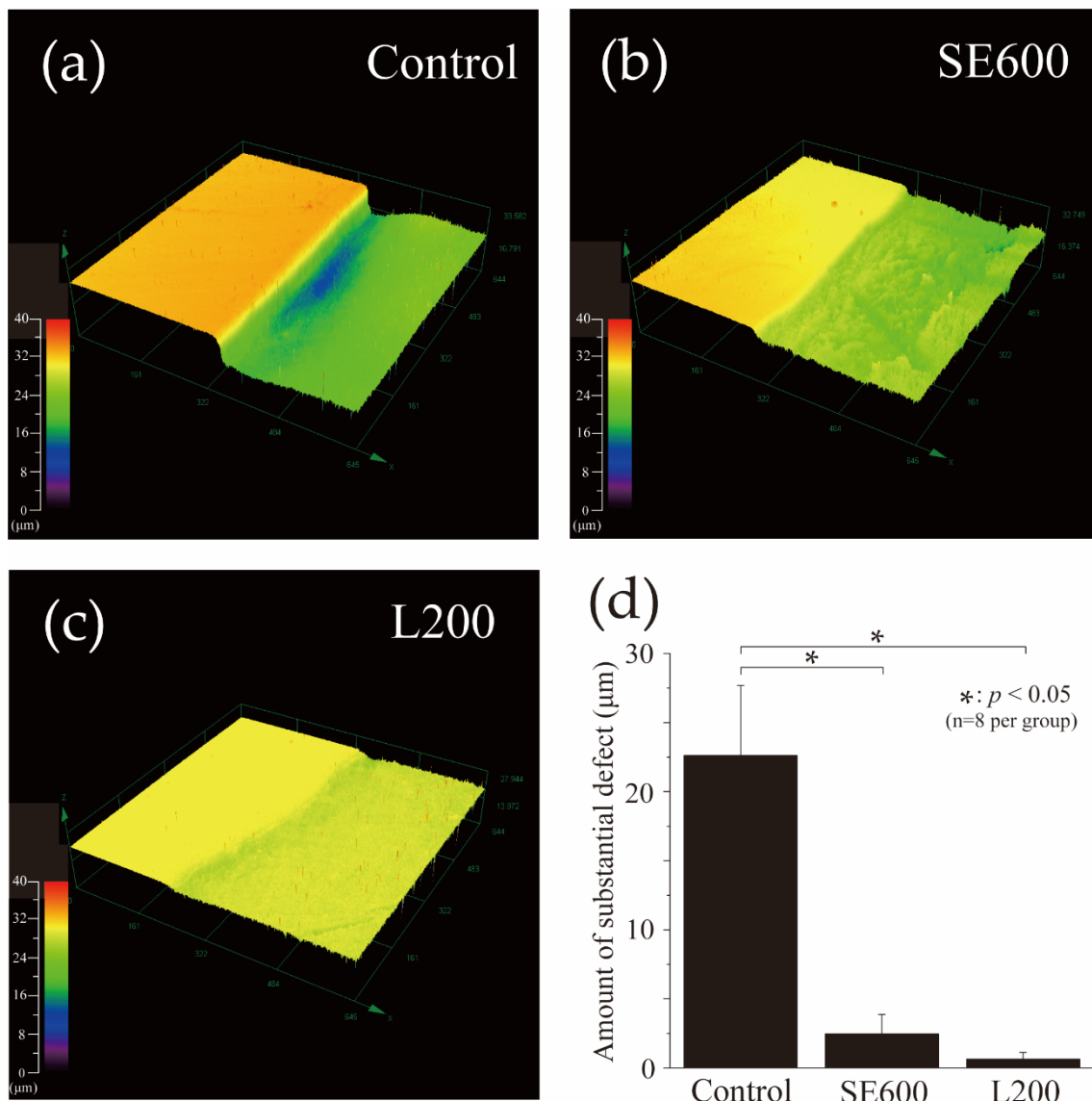


図 4. 3D 測定レーザー顕微鏡による pH-cycling 後の段差プロファイル比較

Boundary images of RS and ES of (a) control, (b) SE600, and (c) L200 groups after acid challenge. The left sides of Figure a-c show the RS protected by wax and not demineralized. The right side shows an ES exposed to acid for a long period. (d) Graphical representation of substantial defects due to demineralization (n = 8/group, *p < 0.05).

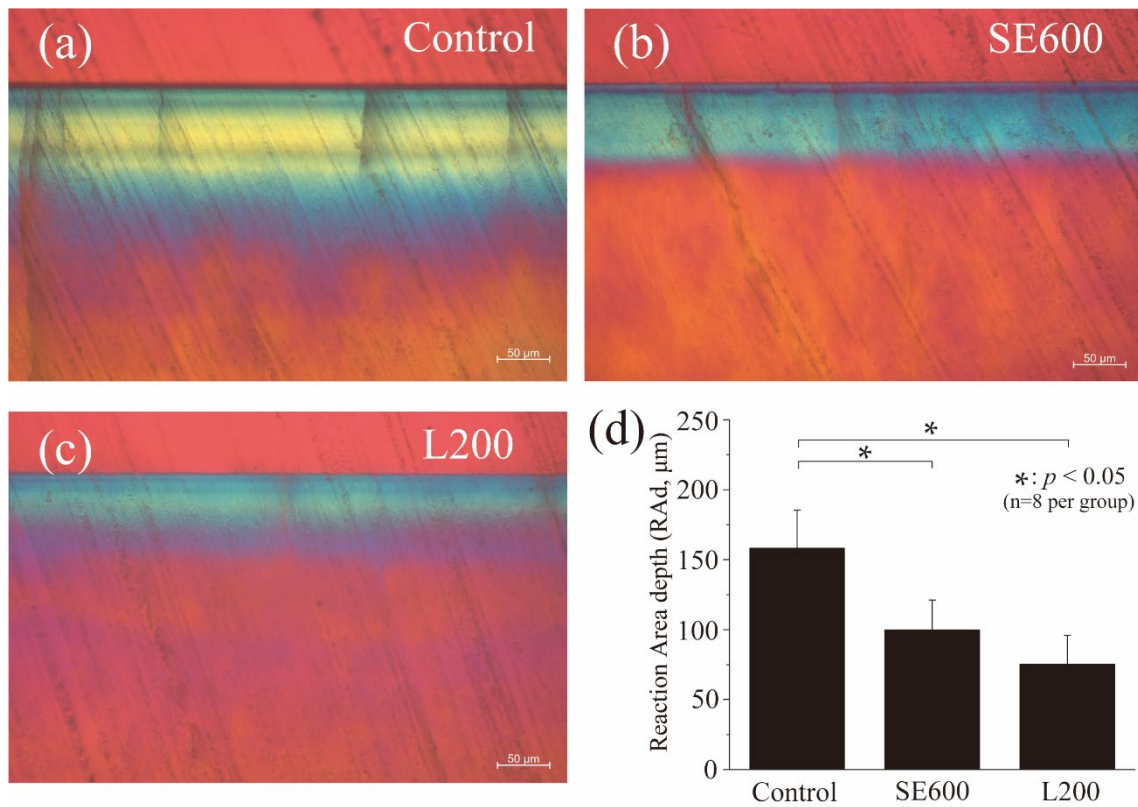


図 5. 偏光顕微鏡による薄切切片の偏光反応領域(RAd)の測定

Cross-sectional images of the experimental surface after the acid challenge were obtained by polarizing microscopy in the (a) control, (b) SE600, and (c) L200 groups. Scale bar: 50 μm . (d) Graphical representation of the reaction area depth due to demineralization (n = 8, * p < 0.05).

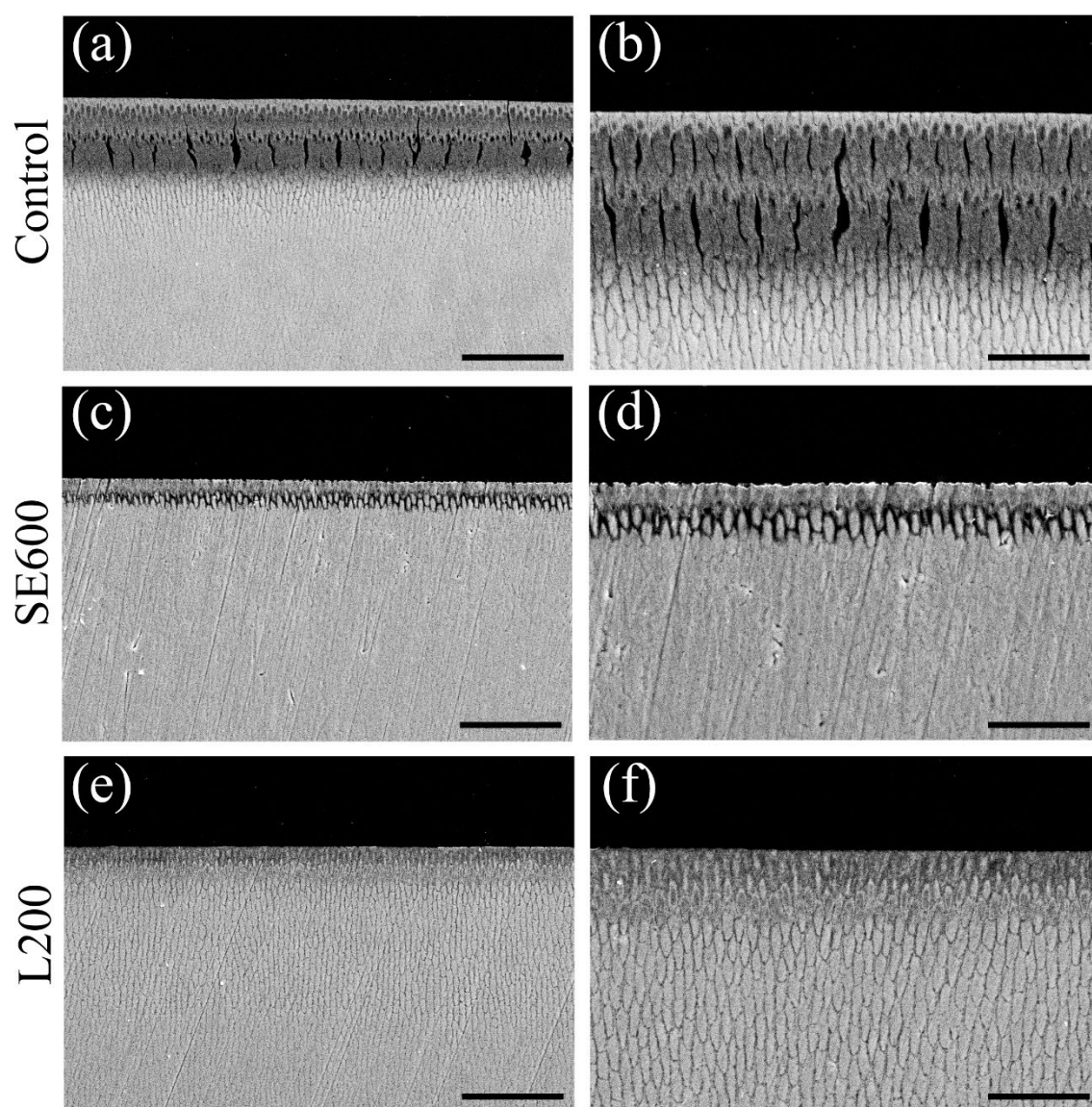


図 6. 電子顕微鏡二次電子像による断面観察

Cross-sectional SEM images of control (a, b), SE600 (c,d), and L200 (e, f) groups. (a, c, e) Scale bar: 50 μ m (500-fold magnification). (b, d, f) Scale bar: 25 μ m (1000-fold magnification). (a–f) Images were recorded after carbon evaporation from the sample.

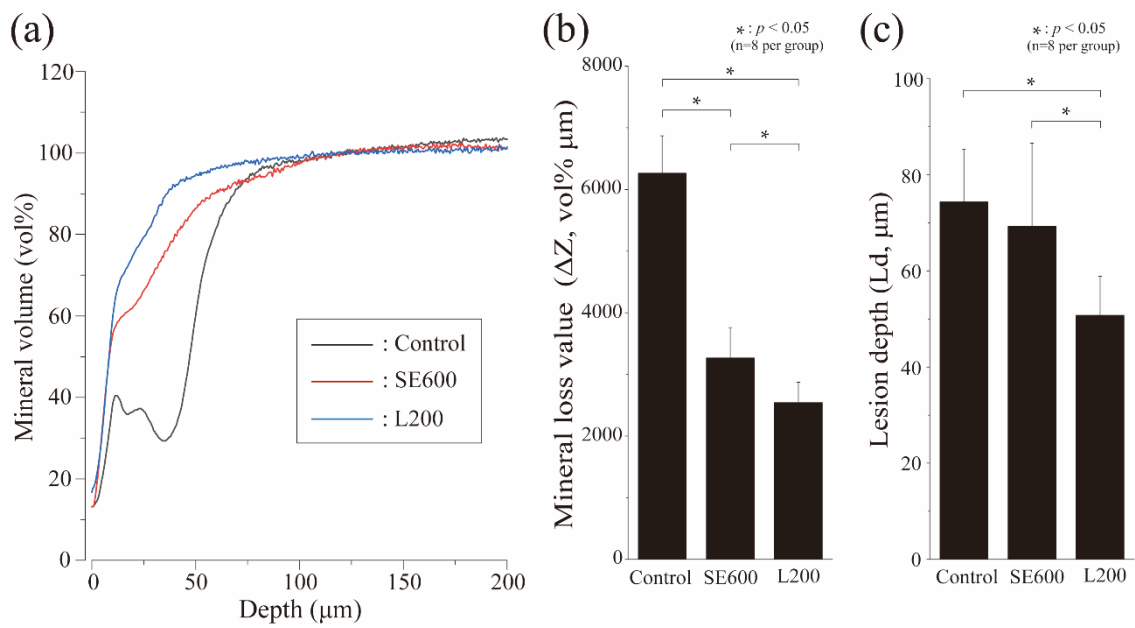


図7. 軟X線ラジオグラフィーによるミネラル喪失量 (ΔZ) と脱灰深度 (Ld) の計測

(a) Mineral values by tooth depth: control (black), SE600 (red), and L200 (blue).

(b) ΔZ ($n = 8$, $*p < 0.05$): mean \pm SD. (c) Ld ($n = 8$, $*p < 0.05$): the demineralization depth was determined to be up to 95% of that of healthy enamel.

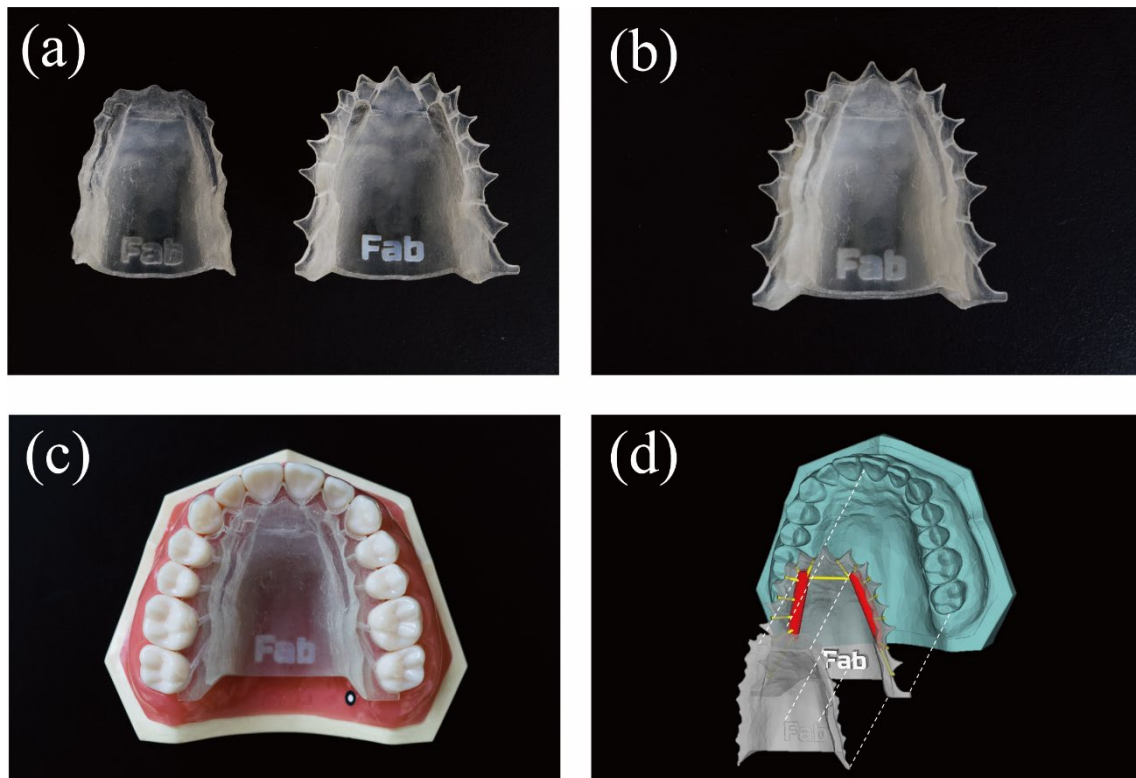


図 8. 3D 積層技術によるヒト上顎用 IFRD デバイスの作成

(a) Upper (left) and lower (right) parts of the IFRD tray. (b) Assembled trays with integrated parts via mechanical interlocking. (c) Tray positioned on the maxillary jaw model (diagram of oral cavity use). (d) Schematic showing the assembly of each part and the maxillary teeth jaw model. Red represents the gel reservoir tank for the IFRD, and yellow indicates the flow pipe.