

**S-PRG フィラー溶出液の
エナメル質脱灰抑制効果に関する
OCT を用いた検討**

日本大学大学院歯学研究科歯学専攻

飯野 正義

(指導：宮崎 真至 教授，黒川 弘康 助教)

概 要

Minimal Intervention という治療概念の普及に伴って、初期エナメル質齲蝕に対して積極的に再石灰化を促すことの重要性が認識されている。Surface Pre-reacted Glass-ionomer (S-PRG) フィラーは、グラスアイオノマーセメントと類似のイオン徐放能およびリチャージ能を有し、歯質の脱灰抑制および再石灰化能を示すとされている。また、その溶出液は、酸緩衝能を有するとともに各種イオンを含有していることが報告されており、齲蝕予防への応用が期待されているものの、エナメル質に適用した場合の詳細については不明である。そこで、S-PRG フィラー溶出液がエナメル質の脱灰抑制あるいは再石灰化に及ぼす影響について、歯質内部の微細な状態変化を非破壊的に把握可能な光干渉断層画像法 (Optical Coherence Tomography, 以後 OCT) を用いて経時的に観察するとともに、信号強度分布から最大ピーク強度値およびその座標における $1/e^2$ 幅を求めることによって検討した。

ウシ下顎前歯を用いて、その歯冠部唇側面中央付近の歯質からエナメル質で構成されたブロックを切り出した。このブロック全面を、耐水性 SiC ペーパー# 2,000 で調整した後、エナメル質ブロックの底面 (象牙質側) および側面をワックスで被覆したものを測定用試片とした。これらの測定用試片は、実験期間を通じて 37°C 人工唾液中に保管し、脱灰を行わないものをコントロール群、1 日 2 回、0.1 M 乳酸緩衝液に 10 分間浸漬したものを未処理群、1 日 2 回、S-PRG フィラー溶出液で 10 分間処理した後に 0.1 M 乳酸緩衝液に 10 分間浸漬したものを処理群とした。

測定には、マイケルソン型光干渉計の応用技術によって構築された Time-Domain 型

OCT 装置 (モリタ東京製作所) を用いて断層イメージ像を得るとともに, A-scan mode から最大ピーク強度値, $1/e^2$ 幅およびこれらの積を算出した。また, 形状測定レーザー マイクロスコープ (VK-9710, キーエンス, 以後 LSM) を用いて歯質の表面性状を観察することによって表面粗さ (R_a , μm) を測定した。なお, 観察時期としては, 実験開始前および実験開始 7, 14, 21 および 28 日後とし, 試片の数は各条件についてそれぞれ 6 個とした。

その結果, 未処理群における OCT イメージ像は, 実験開始前と比較して 28 日後でエナメル質表層のシグナル輝度に局在的な上昇が認められ, 最大ピーク強度値は 28 日後で約 6 dB 増加するものの, $1/e^2$ 幅は 20 μm 低下した。また, 同一試片の LSM 像においては, 実験期間の経過に伴ってスマイヤ層が除去されるとともに, 表面粗さが大きくなる傾向が認められた。これは, 繰り返し人工脱灰液に測定用試片を浸漬することで, エナメル質表面における脱灰が進行したために, エナメル質表面における OCT 照射光線の散乱が大きくなり, 測定用試片内部への透過光線量が減少したことを示すものと考えられた。一方, 処理群における OCT イメージ像は, 28 日後でエナメル質表層のシグナルの輝度の低下が認められるとともにシグナルの幅の増加を認めた。最大ピーク強度値は約 13 dB 低下し, $1/e^2$ 幅は 60 μm 増加した。最大ピーク強度値と $1/e^2$ 幅の積は, 実験開始前と比較して 7 日後から約 2 倍に増加した。また, 同一試片の LSM 像からは, 未処理群と比較して平坦な表面性状が観察され, 表面粗さは実験期間を通じて変化が少なかった。

エナメル質の光学的特性は, その表面性状だけでなく, 内部構造の変化によっても

影響を受け、エナメル質中の微細な空隙の存在によって屈折率は変化する。したがって、脱灰環境に曝されたエナメル質の OCT イメージ像およびその解析値は、エナメル質表層における形態的变化と内部における光線透過性の変化を表すものとなる。処理群では、エナメル質表層での OCT イメージ像においてシグナル輝度が低下するとともに、最大ピーク強度値と $1/e^2$ 幅の積が実験開始から経時的に増加したことから、各種イオンが作用することでエナメル質の緻密化が生じたことを示すものと考えられた。

以上のように、本実験の結果から S-PRG フィラー溶出液は、エナメル質の脱灰抑制効果を有することが明らかとなり、洗口剤として応用することによって齲蝕リスクを低減化させることが可能であることが示唆された。

なお、本論文は原著論文 Iino M, Murayama R, Shimamura Y, Kurokawa H, Furuichi T, Suzuki T, Miyazaki M. Optical coherence tomography examination of the effect of S-PRG filler extraction solution on the demineralization of bovine enamel. Dent Mater J 2014; 33: 48-53. を基幹論文とし、これにレーザ顕微鏡を用いたエナメル質の表面性状の観察と表面粗さを新たな実験データとして加えることによって総括したものである。

緒 言

齲蝕は、脱灰と再石灰化の動的平衡が崩れた結果生じるものと考えられている^{1,2)}。したがって、口腔内環境を改善し、齲蝕リスクを低減化させることでその発症を防止するとともに、実質欠損を形成する以前の初期エナメル質齲蝕病変に対しては、再石灰化療法を行うことが重要となる³⁻⁷⁾。

Surface Pre-reacted Glass-ionomer (S-PRG) フィラーは、フルオロボロアルミノシリケートガラスを粉碎し、ポリアクリル酸によって表面処理を行うことで、ガラス表層部に安定なガラスアイオノマー相を形成させたものである^{8,9)}。S-PRG フィラーは、ガラスアイオノマーセメントと類似のイオン徐放能およびリチャージ能を有し、歯質の脱灰抑制および再石灰化能を示すとされている¹⁰⁾。また、S-PRG フィラーを蒸留水と混合した溶液を濾過して得られた S-PRG 溶出液は、酸緩衝能を有するとともに F⁻をはじめとした各種イオンを含有していることが報告され^{11,12)}、齲蝕予防への応用が期待されている。

そこで著者は、S-PRG フィラー溶出液がエナメル質の脱灰抑制および再石灰化に及ぼす影響について、歯質内部の微細な状態変化を非破壊的に把握可能な光干渉断層画像法¹³⁾ (Optical Coherence Tomography, 以後 OCT) を用いて経時的に観察するとともに、信号強度分布から最大ピーク強度値およびその座標における $1/e^2$ 幅を求めることによって検討した。さらに、エナメル質の表面性状の経時的变化を、レーザ顕微鏡 (LSM) を用いて観察することで考察資料とした。

材料および方法

1. 試片の調整

ウシ（2～3 歳齢）の下顎前歯で、石灰化不全および破折の著しい歯などを除き、抜去後直ちに抜髓して、その歯冠部を用いた。使用に際して、唇側面中央付近の歯質を直径 4～6 mm、厚さ 2～3 mm のエナメル質ブロックが得られるようにモデルトリマー（TC251, アロー電子）を用いて調整した。このエナメル質ブロック全面を、耐水性 SiC ペーパー# 2,000 まで研磨装置（Ecomet 4000, Buehler）を用いて露出面が平坦となるよう 4×4×2 mm の大きさに調整し、超音波洗浄を 5 分間行った。次いで、このエナメル質ブロックの底面（象牙質側）および側面をワックスで被覆し、これを測定用試片とした。

2. S-PRG フィラー溶出液

S-PRG フィラーと蒸留水を 1 : 1（1000 g : 1 L）の重量比で混合したものを、24 時間振盪させた後、遠心分離機を用いてフィラーと水溶液を分離させた¹¹⁾。この上澄み液を、フィルターを用いて濾過し S-PRG フィラー溶出液とした。

3. 試片の処理と保管条件

測定用試片は、以下の条件群に分類した。

- 1) コントロール（Control）群：測定用試片を、実験期間を通じて 37°C 人工唾液中に保管
- 2) 未処理（Untreated）群：測定用試片を実験期間中 1 日 2 回、0.1 M 乳酸緩衝液（pH 4.75, 0.75 mM CaCl₂ · 2H₂O および 0.45 mM KH₂PO₄）¹⁴⁾に 10 分間浸漬し、37°C の

人工唾液中に保管

- 3) 処理 (Treated) 群 : 測定用試片を実験期間中 1 日 2 回, S-PRG フィラー溶出液で 10 分間処理した後, 0.1 M 乳酸緩衝液に 10 分間浸漬し, 37°C の人工唾液中に保管
- なお, 人工唾液としては, 14.4 mM NaCl, 16.1 mM KCl, 0.3 mM MgCl₂ · 6H₂O, 2.0 mM K₂HPO₄, 1.0 mM CaCl₂ · 2H₂O および sodium carboxymethyl cellulose 0.10 g/100 mL を加えて pH 7.0 に調整したものをを用いた¹⁵⁾。

4. OCT 測定

測定には, マイケルソン型光干渉計の応用技術によって構築された, Time-Domain 型 OCT 装置 (モリタ東京製作所) を用いた。この OCT は, 干渉計にプローブを組合せ, パーソナルコンピュータで制御することで断層画像を得るシステムである (Fig. 1)。

測定用試片内部の状態変化の観察は, 光源である Super Luminescent Diode (以後 SLD) からの照射光線が唇側面の中央に対して垂直に照射されるように測定用試片をサンプルステージに静置し, プローブと試片表面との距離を 2 mm に固定して行った (Fig. 2)。人工唾液から取り出した測定用試片は, エアブローを 10 秒間行った後, 歯質表面の水分を, キムワイプを用いて除去した状態で観察を行った。測定には, B-scan mode とともに A-scan mode を用い, 測定範囲内の任意の 20 箇所における歯質の表層から深層にわたる反射光分布の信号強度情報を得た。なお, OCT イメージ像の観察時期としては, 実験開始前および開始 7, 14, 21 および 28 日後とし, 試片の数は各条件についてそれぞれ 6 個とした。

5. 信号強度解析

A-scan mode の信号強度分布から最大ピーク強度値を検出し、その座標を割り出した。次いで、この座標を中心として 86.5% の信号強度が含まれる範囲を算出し、その波形幅として $1/e^2$ 幅を求めた¹⁶⁾。さらに、最大ピーク強度値および $1/e^2$ 幅とから、その積 ($\text{dB} \times \mu\text{m}$) を求めた。

6. LSM 観察

試片表面の観察は、形状測定 LSM (VK-9710, キーエンス) を用いて行った。また、付属のソフトウェア (VK analyzer, キーエンス) を用いて表面粗さ ($R_a, \mu\text{m}$) を求めた。

7. 統計処理

各グループ内において得られた最大ピーク強度値、 $1/e^2$ 幅およびそれらの積の経時的変化については、分散分析を行うとともに Dunnet test によって統計学的検討を行った。また、各グループ間での最大ピーク強度値、 $1/e^2$ 幅および積の比較は、重複測定分散分析を行うとともに Tukey-Kramer post-hoc test によって有意水準 5% の条件で統計学的検定を行った。

結 果

実験開始前および 28 日後の代表的な OCT イメージ像および信号強度分布グラフを Figs. 3, 4 に示した。また、信号強度分布から得られた最大ピーク強度値、 $1/e^2$ 幅および最大ピーク強度値と $1/e^2$ 幅の積の経時的変化を Tables 1~3 に示した。

コントロール群における OCT イメージ像は、実験開始前でエナメル質表層に緑～黄色で幅の狭いシグナルが観察され、実験期間を通じて変化は認められなかった。未処理群においては、実験開始前ではコントロール群と同様に緑～黄色のシグナルが観察されたが、28 日後では黄色のシグナルが多くなり、局所的なシグナル輝度の上昇が認められた。一方、処理群においては実験開始前では緑～黄色のシグナルが観察されたのに対して、28 日後では表層のシグナルの輝度が低下してその幅が広がったものの、内部断層像には変化が認められなかった。

コントロール群における最大ピーク強度値は実験期間を通じて変化は認められなかったものの、 $1/e^2$ 幅は有意に増加した。未処理群においても、最大ピーク強度値は実験期間を通じて変化は認められなかったが、 $1/e^2$ 幅は実験開始前で $90 \mu\text{m}$ であったものが 28 日後では $70 \mu\text{m}$ と有意に低下した。一方、処理群の最大ピーク強度値は実験開始前で -33.6 dB であったものが 7 日後から有意に低下し、28 日後では -46.1 dB に、 $1/e^2$ 幅は実験開始前で $90 \mu\text{m}$ であったものが 7 日後で有意に増加し、その後 $150 \mu\text{m}$ となった。

コントロール群における最大ピーク強度値と $1/e^2$ 幅の積は $2,889 \sim 3,370 \text{ dB} \cdot \mu\text{m}$ であり、実験開始から 7 日後で有意に上昇した。一方、未処理群および処理群の積の変化はコントロール群と比較して顕著であり、未処理群では $3,042$ から 28 日後には $1,932 \text{ dB} \cdot \mu\text{m}$ と有意な低下を、処理群では $3,024$ から 7 日後で約 2 倍の $6,645 \text{ dB} \cdot \mu\text{m}$ と有意に上昇し、その後の変化は小さかった。また、実験開始 7 日以降で、各保管条件における積の間に有意差が認められた。

実験開始前および 28 日後の代表的な試片表面の LSM 像および Ra の経時的変化を Fig. 6 および Table 4 に示した。

コントロール群では、実験期間の経過に伴って、スマヤー層が除去されるとともに、試片研削時の削状痕が観察され、Ra 値は実験開始 7 日以降で有意に大きな値を示した。未処理群では、スマヤー層が除去されるとともにエナメル小柱が明瞭となり、Ra 値は実験開始の 7 日後で有意に大きな値を示し、その後の変化は小さかった。一方、処理群ではスマヤー層が除去されたものの、未処理群と比較して表面性状の変化は少なく、Ra 値は実験期間を通じて変化は小さく、有意差が認められなかった。

考 察

Minimal Intervention^{17, 18)}という治療概念の普及に伴って、初期エナメル質齲蝕に対して積極的に再石灰化を促すことの重要性が認識されている。S-PRG フィラーは、フィラー表層部にある水和ゲルから F⁻に加えて Al³⁺、BO₃²⁻、Na⁺、SiO₃²⁻および Sr²⁺などを安定して供給するとともに、酸緩衝能を示すことが明らかとなっている^{9, 11)}。したがって、S-PRG フィラー溶出液を洗口剤として応用することによって、歯質の脱灰を抑制し、再石灰化を促進させることが期待される。すなわち、日常行われる口腔清掃のひとつとして、S-PRG フィラー含有洗口剤を用いることで齲蝕の進行を抑制できる可能性があるが、エナメル質に適用した場合の詳細については不明である。そこで、S-PRG フィラー溶出液を応用した場合のウシ歯エナメル質の脱灰抑制あるいは再石灰化促進について、OCT を用いて検討するとともに LSM 観察を行うことで考察資料

とした。

その結果、未処理群における OCT イメージ像は、28 日後でエナメル質表層のシグナル輝度に局在的な上昇が認められた。また、同一試片の LSM 像からは、スミヤーク層が除去されるとともに、エナメル小柱の露出による凹凸が観察され、表面粗さも実験期間の経過に伴って有意に大きくなった。本研究で用いた OCT は、中心波長が 1,310 nm の近赤外線を歯質に照射してその表層および内部で反射あるいは散乱する光の様相を光学干渉計によって捉えることで断層像を構築している¹⁹⁻²¹⁾。そのため、透過率の高い部分は照射された光線の反射光強度が少なく暗部として、逆に散乱の強い部分では明部として可視化される²²⁾。したがって、未処理群の OCT イメージ像において、pH サイクル適用後にエナメル質表層のシグナルの輝度が上昇した理由としては、脱灰によってエナメル質の表面粗さが大きくなり、OCT 照射光線の反射および散乱が増加した²³⁾ためと考えられた。

一方、処理群の OCT イメージ像は、28 日後でエナメル質表層のシグナルの輝度の低下が認められるとともに、シグナルの幅が広がった。また、同一試片の LSM 像からは、未処理群と比較して平坦な表面性状が観察され、表面粗さも実験期間を通じてほとんど変化が認められなかった。S-PRG フィラーから徐放されるイオンのうち SiO_3^{2-} は、水和ケイ酸ゲルの存在下で hidroキシアパタイトの形成に関与する²⁴⁾。すなわち、水和ケイ酸ゲルが有するシラノールによって周囲環境から Ca^{2+} および PO_4^{3-} を誘導し、hidroキシアパタイトの核形成を促す作用を発揮する²⁵⁾。さらに、 F^- および Sr^{2+} は、hidroキシアパタイトの水酸基や Ca と置換することによって、

耐酸性に優れたフルオロアパタイトやストロンチウムアパタイトを形成する^{26,27)}。本実験の結果から、未処理群と異なり処理群では表面性状に有意な変化が認められないことから、S-PRG フィラー溶出液はエナメル質の脱灰抑制効果を示したものと考えられた。

次いで、OCT イメージ像の変化を数値化するために、A-scan mode における最大ピーク強度値および $1/e^2$ 幅を求め、これらの積を算出した。その結果、未処理群の最大ピーク強度値は、実験開始前と比較して 28 日後で約 6 dB 増加するものの、 $1/e^2$ 幅は 20 μm 低下した。これは、繰り返し人工脱灰液に試片を浸漬することで、エナメル質表面における脱灰が進行したために、エナメル質表面における OCT 照射光線の散乱が大きく、試片内部への透過光線量が減少したことを示したものと考えられた。一方、処理群では最大ピーク強度値が約 13 dB 低下し、 $1/e^2$ 幅は 60 μm 増加した。また、これらの積は、実験開始前と比較して 7 日後で有意に上昇し、約 2 倍の値を示した。エナメル質の光学的特性は、その表面性状だけでなく、内部構造の変化によっても影響を受け、エナメル質中の微細な空隙の存在によって屈折率は変化する²³⁾。したがって、脱灰環境に曝されたエナメル質の OCT イメージ像およびその解析値は、エナメル質表層における形態的变化と内部における光線透過性の変化を表すものとなる²⁸⁾。処理群では、エナメル質表層での OCT イメージ像においてシグナル輝度が低下し、最大ピーク強度と $1/e^2$ 幅の積が実験開始から経時的に増加したことから、各種イオンが作用することでエナメル質の緻密化²⁹⁾、すなわち再石灰化が生じたことを示すものと考えられた。

以上のように、本実験の結果から S-PRG フィラー溶出液は、エナメル質の脱灰抑制効果を有することが明らかとなり、洗口剤として応用することによって齲蝕リスクを低減化させることが可能であることが示唆された。

結 論

S-PRG フィラー溶出液がエナメル質の脱灰抑制および再石灰化に及ぼす影響について、OCT およびレーザ顕微鏡を用いて検討した結果、以下の結論を得た。

1. OCT イメージ像は、実験期間の経過に伴って、未処理群では表層の局在的なシグナル輝度の上昇が認められたのに対し、処理群では表層のシグナルの輝度の低下とともにシグナルの幅が広がった。
2. OCT の最大ピーク強度値は、実験期間の経過に伴って、未処理群では変化は認められなかったものの、処理群では有意に低下した。
3. OCT の $1/e^2$ 幅は、実験期間の経過に伴って、未処理群では有意に低下したものの、処理群では有意に増加した。
4. 最大ピーク強度値と $1/e^2$ 幅の積は、実験期間の経過に伴って、未処理群では有意に低下したものの、処理群では有意に増加した。
5. レーザ顕微鏡観察からは、実験期間の経過に伴って未処理群では粗糙な、処理群では平坦な表面性状を呈し、表面粗さは未処理群で有意に大きかった。

文 献

- 1) Featherstone JDB. The continuum of dental caries-evidence for a dynamic disease process. *J Dent Res* 2004; 83: 39-42.
- 2) Featherstone JDB. Remineralization, the natural caries repair process - the need for new approaches. *Adv Dent Res* 2009; 21: 4-7.
- 3) Yamaguchi K, Miyazaki M, Takamizawa T, Inage H, Moore BK. Effect of CPP-ACP paste on mechanical properties of bovine enamel as determined by an ultrasonic device. *J Dent* 2006; 34: 230-236.
- 4) Cochrane NJ, Cai F, Huq NL, Burrow MF, Reynolds EC. New approaches to enhanced remineralization of tooth enamel. *J Dent Res* 2010; 89: 1187-1197.
- 5) Paris S, Meyer-Lueckel H. Inhibition of caries progression by resin infiltration in situ. *Caries Res* 2010; 44: 47-54.
- 6) Shen P, Manton DJ, Cochrane NJ, Walker GD, Yuan Y, Reynolds C, Reynolds EC. Effect of added calcium phosphate on enamel remineralization by fluoride in a randomized controlled in situ trial. *J Dent* 2011; 39: 518-525.
- 7) Elkassas D, Arafa A. Remineralizing efficacy of different calcium-phosphate and fluoride based delivery vehicles on artificial caries like enamel lesions. *J Dent* 2014; 42: 466-474.
- 8) Ikemura K, Tay FR, Endo T, Pashley DH. A review of chemical-approach and ultramorphological studies on the development of fluoride-releasing dental adhesives comprising new pre-reacted glass ionomer (PRG) fillers. *Dent Mater J* 2008; 27:

- 315-339.
- 9) Kamijo K, Mukai Y, Tominaga T, Iwaya I, Fujino F, Hirata Y, Teranaka T. Fluoride release and recharge characteristics of denture base resins containing surface pre-reacted glass-ionomer filler. *Dent Mater J* 2009; 28: 227-233.
 - 10) Han L, Okamoto A, Fukushima M, Okiji T. Evaluation of a new fluoride-releasing one-step adhesive. *Dent Mater J* 2006; 25: 509-15.
 - 11) Fujimoto Y, Iwasa M, Murayama R, Miyazaki M, Nagafuji A, Nakatsuka T. Detection of ions released from S-PRG fillers and their modulation effect. *Dent Mater J* 2010; 29: 392-397.
 - 12) Wang Y, Kaga M, Kajiwarra D, Minamikawa H, Kakuda S, Hashimoto M, Yawaka Y. Ion release and buffering capacity of S-PRG filler-containing pit and fissure sealant in lactic acid. *Nano Biomed* 2011; 3: 275-281.
 - 13) Colston BW, Sathyam US, DaSilva LB, Everett MJ, Stroeve P, Otis LL. Dental OCT. *Opt Express* 1998; 3: 230-238.
 - 14) Silverston LM. The primary translucent zone of enamel caries and of artificial caries-like lesions. *Br Dent J* 1966; 120: 461-471.
 - 15) Adair SM, Whitford GM, McKnight-Hanes C. Effect of artificial saliva and calcium on fluoride output of controlled-release devices. *Caries Res* 1994; 28: 28-34.
 - 16) 三富純一. エナメル質表層脱灰の光干渉断層画像解析への $1/e^2$ 幅の応用. *日歯保存誌* 2013; 56: 488-497.

- 17) Tyas MJ, Anusavice KJ, Frencken JE, Mount GJ. Minimal intervention dentistry –a review. FDI Commission project 1-97. *Int Dent J* 2000; 50: 1-12.
- 18) Mount GJ, Ngo H. Minimal intervention: a new concept for operative dentistry. *Quintessence Int* 2000; 31: 527-533.
- 19) Huang D, Swanson EA, Lin CP, Schuman JS, Stinson WG, Chang W, Hee MR, Flotte T, Gregory K, Puliafito CA, Fujimoto JG. Optical coherence tomography. *Science* 1991; 254: 1178-1181.
- 20) Chinn SR, Swanson EA, Fujimoto JG. Optical coherence tomography using a frequency-tunable optical source. *Opt Lett* 1997; 22: 340-342.
- 21) Otis LL, Everett MJ, Sathyam US, Colston BW. Optical coherence tomography: a new imaging technology for dentistry. *J Am Dent Assoc* 2000; 131: 511-514.
- 22) Fried D, Featherstone JDB, Darling CL, Jones RS, Ngaotheppitak P, Bühler CM. Early caries imaging and monitoring with near-infrared light. *Dent Clin North Am* 2005; 49: 771-793.
- 23) Darling CL, Huynh GD, Fried D. Light scattering properties of natural and artificially demineralized dental enamel at 1310 nm. *J Biomed Opt* 2006; 11: 34023.
- 24) Saito T, Toyooka H, Ito S, Crenshaw MA. In vitro study of remineralization of dentin: effects of ions on mineral induction by decalcified dentin matrix. *Caries Res* 2003; 37: 445-449.
- 25) Tanahashi M, Yao T, Kokubo T, Minoda M, Miyamoto T, Nakamura T, Yamamuro T.

- Apatite coated on organic polymers by biomimetic process: improvement in its adhesion to substrate by NaOH treatment. *J Appl Biomater* 1994; 5: 339-347.
- 26) Featherstone JD, Shields CP, Khademazad B, Oldershaw MD. Acid reactivity of carbonated apatites with strontium and fluoride substitutions. *J Dent Res* 1983; 62: 1049-1053.
- 27) Thuy TT, Nakagaki H, Kato K, Hung PA, Inukai J, Tsuboi S, Nakagaki H, Hirose MN, Igarashi S, Robinson C. Effect of strontium in combination with fluoride on enamel remineralization in vitro. *Arch Oral Biol* 2008; 53: 1017-1022.
- 28) Mandurah MM, Sadr A, Shimada Y, Kitasako Y, Nakashima S, Bakhsh TA, Tagami J, Sumi Y. Monitoring remineralization of enamel subsurface lesions by optical coherence tomography. *J Biomed Opt* 2013; 18: 46006.
- 29) Angmar-Månsson B, Al-Khateeb S, Tranaeus S. Monitoring the caries process. Optical methods for clinical diagnosis and quantification of enamel caries. *Eur J Oral Sci* 1996; 104: 480-485.

表および図

Table 1 Influence of different treatment procedures on signal intensity

	Storage time (day)				
	0	7	14	21	28
Control group	-32.1 (6.4) ^{a, A}	-32.7 (5.6) ^{a, A}	-32.1 (4.0) ^{a, A}	-33.7 (4.9) ^{a, A}	-34.1 (4.2) ^{a, A}
Untreated group	-33.8 (6.2) ^{a, A}	-29.6 (7.6) ^{a, A}	-29.7 (3.8) ^{a, A}	-28.1 (4.9) ^{a, A}	-27.6 (3.6) ^{a, B}
Treated group	-33.6 (6.2) ^{a, A}	-44.3 (6.9) ^{b, B}	-45.6 (8.3) ^{b, B}	-45.9 (5.6) ^{b, B}	-46.1 (4.5) ^{b, C}

Unit: dB, n = 6, values in parenthesis indicate standard deviations.

Within groups, means with the same lower-case letter are not significantly different ($p > 0.05$).

Among groups at the same storage times, means with the same upper-case letter are not significantly different ($p > 0.05$).

Table 2 Influence of different treatment procedures at $1/e^2$ width

	Storage time (day)				
	0	7	14	21	28
Control group	90 (12.0) ^{a, A}	110 (11.0) ^{b, A}	100 (10.0) ^{a, A}	100 (13.0) ^{a, A}	110 (12.0) ^{b, A}
Untreated group	90 (10.0) ^{a, A}	80 (11.0) ^{a, B}	80 (10.0) ^{a, B}	70 (11.0) ^{b, B}	70 (11.0) ^{b, B}
Treated group	90 (11.0) ^{a, A}	150 (12.0) ^{b, C}	150 (13.0) ^{b, C}	150 (12.0) ^{b, C}	150 (14.0) ^{b, C}

Unit: μm , n = 6, values in parenthesis indicate standard deviations.

Within groups, means with the same lower-case letter are not significantly different ($p > 0.05$).

Among groups at the same storage times, means with the same upper-case letter are not significantly different ($p > 0.05$).

Table 3 Influence of different treatment procedures on integrated value

	Storage time (day)				
	0	7	14	21	28
Control group	2,889 (74) ^{a, A}	3,297 (65) ^{b, A}	3,210 (65) ^{b, A}	3,370 (65) ^{b, A}	3,351 (56) ^{b, A}
Untreated group	3,042 (77) ^{a, B}	2,368 (90) ^{b, B}	2,376 (46) ^{b, B}	1,967 (49) ^{b, B}	1,932 (48) ^{b, B}
Treated group	3,024 (80) ^{a, B}	6,645 (80) ^{b, C}	6,684 (75) ^{b, C}	6,885 (76) ^{b, C}	6,915 (68) ^{b, C}

Unit: dB· μm , n = 6, values in parenthesis indicate standard deviations.

Within groups, means with the same lower-case letter are not significantly different ($p > 0.05$).

Among groups at the same storage times, means with the same upper-case letter are not significantly different ($p > 0.05$).

Table 4 Influence of different treatment procedures on surface roughness (Ra)

	Storage time (day)				
	0	7	14	21	28
Control group	0.03 (0.01) ^{a, A}	0.06 (0.01) ^{b, A}	0.07 (0.02) ^{b, A, B}	0.07 (0.01) ^{b, A}	0.07 (0.02) ^{b, A}
Untreated group	0.03 (0.01) ^{a, A}	0.07 (0.02) ^{b, A}	0.08 (0.02) ^{b, A}	0.09 (0.01) ^{b, B}	0.11 (0.02) ^{b, B}
Treated group	0.03 (0.01) ^{a, A}	0.05 (0.01) ^{a, A}	0.05 (0.02) ^{a, B}	0.05 (0.01) ^{a, C}	0.06 (0.01) ^{a, A}

Unit: μm , n = 6, values in parenthesis indicate standard deviations.

Within groups, means with the same lower-case letter are not significantly different ($p > 0.05$).

Among groups at the same storage times, means with the same upper-case letter are not significantly different ($p > 0.05$).

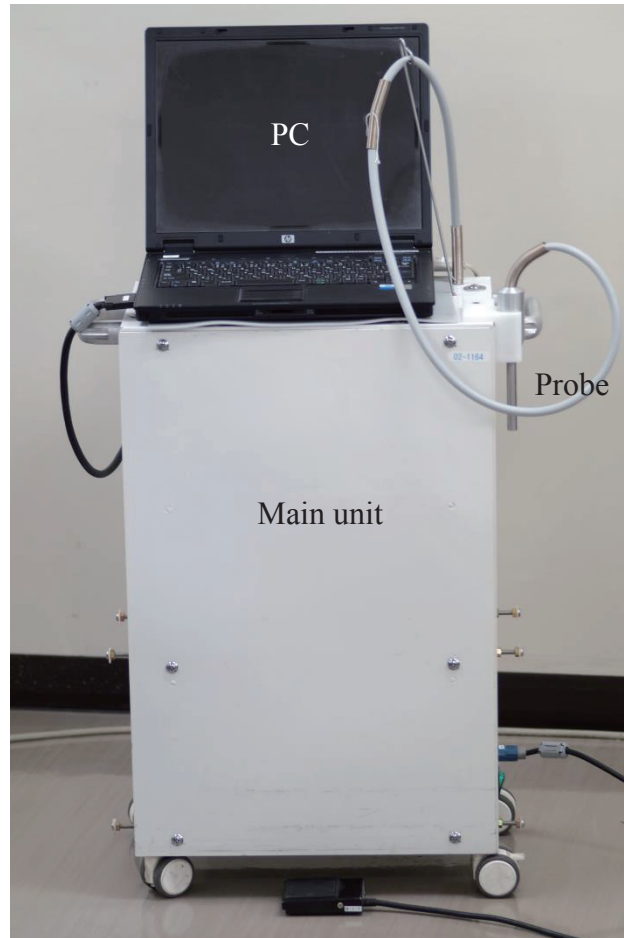


Fig. 1 TD-OCT system used in this study.

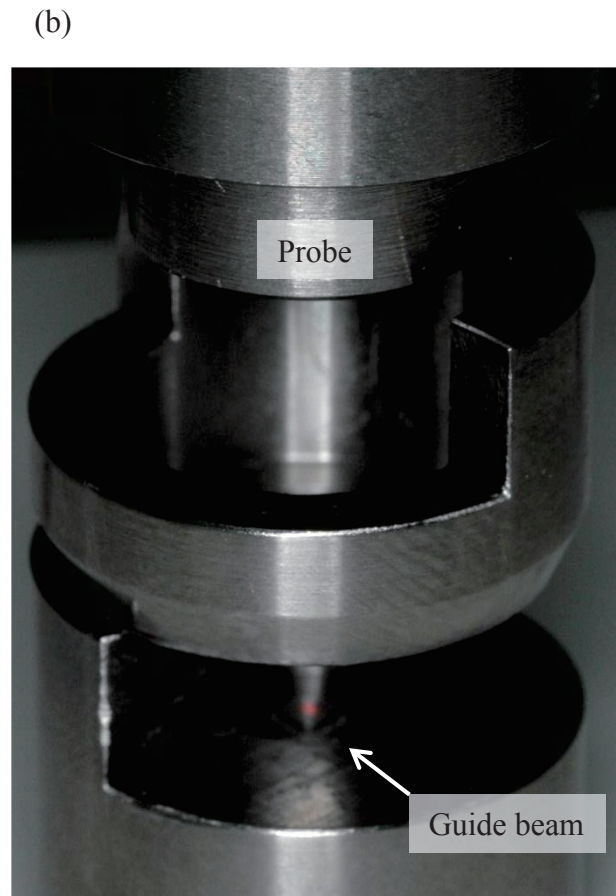
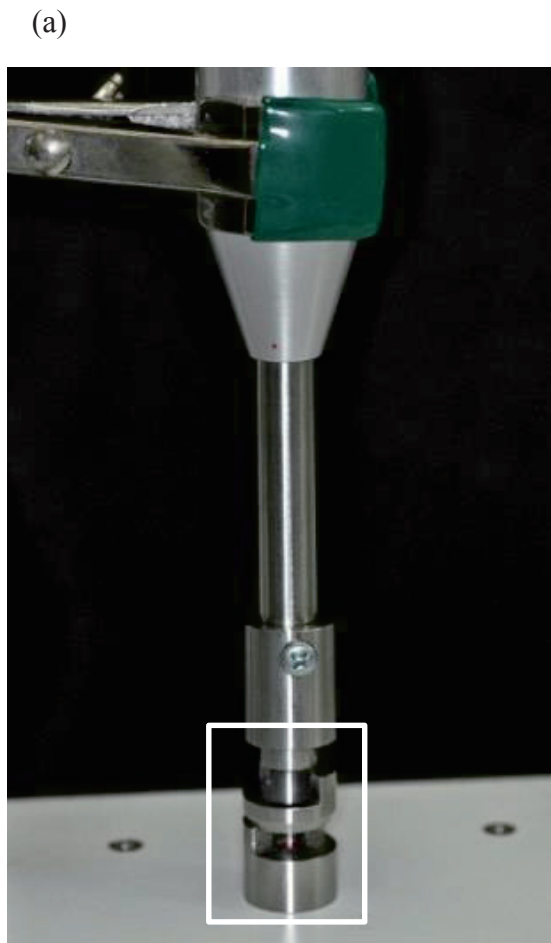


Fig. 2 Scanning beam was set at a right angle to the specimen (a); magnified view (b).

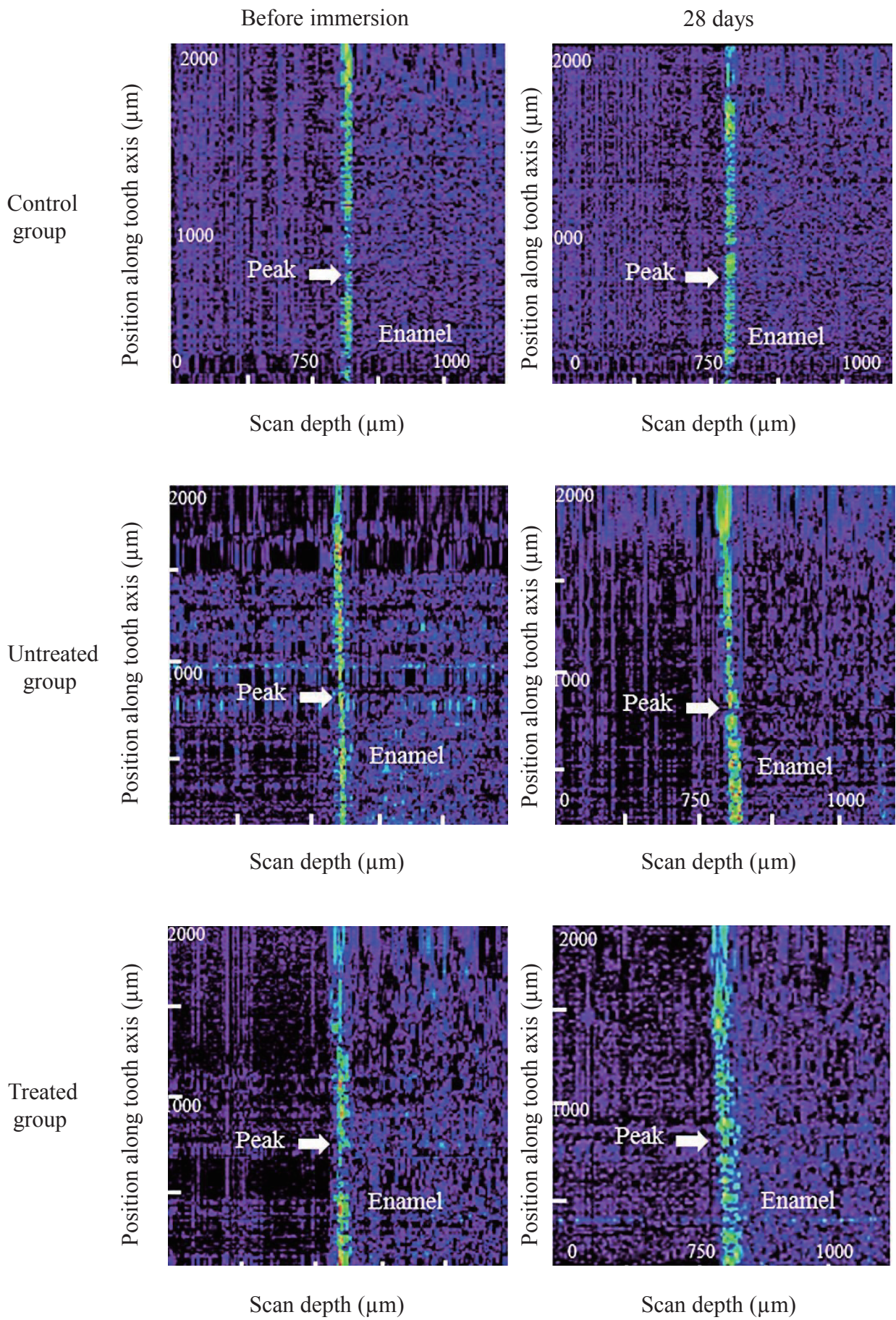


Fig. 3 Representative B-scan images of enamel surface.

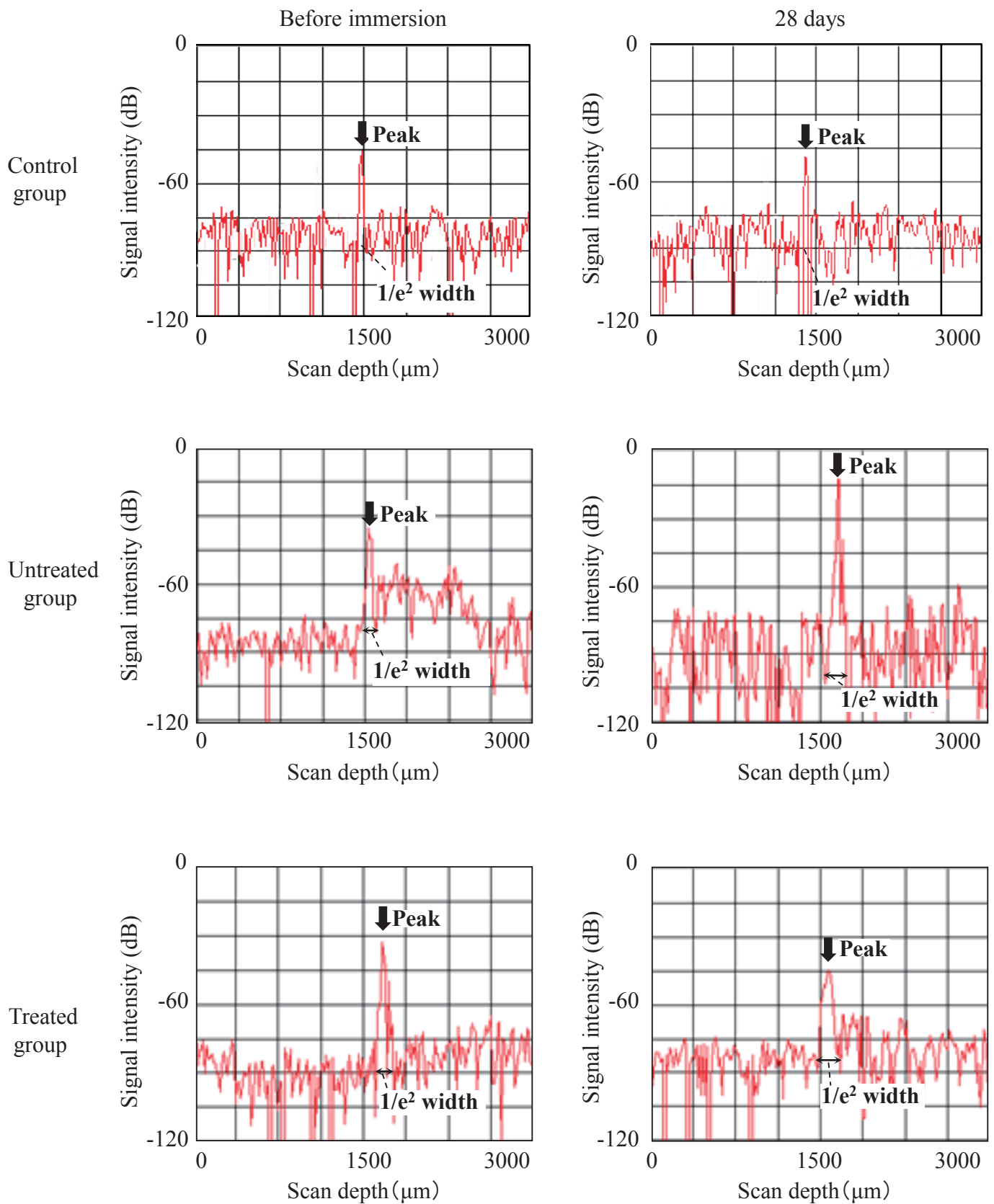
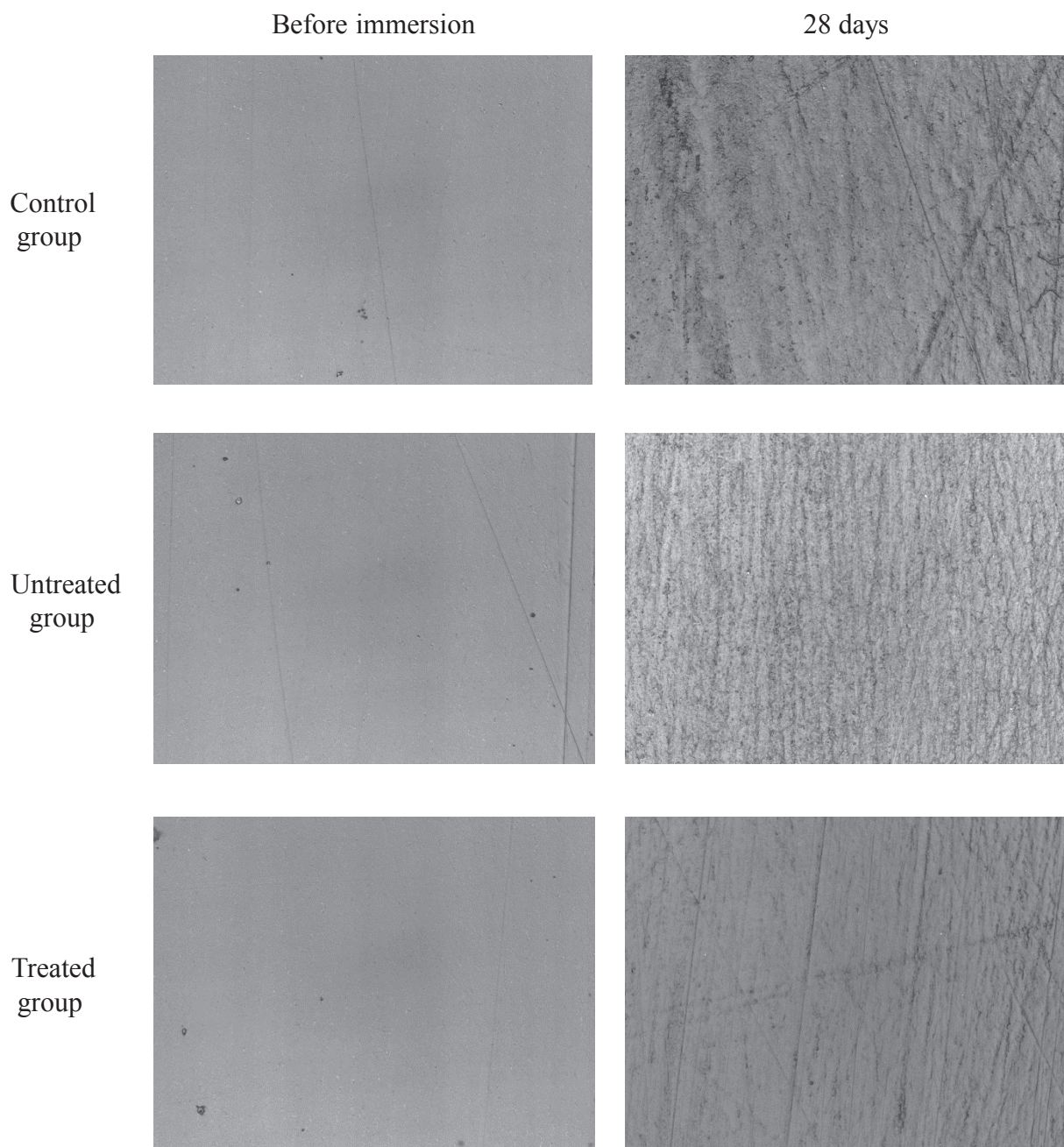


Fig. 4 Representative A-scan signal intensities of enamel surface.



(Original magnification: $\times 3,000$)

Fig. 5 Representative LSM images of enamel surface.