原 著

低フッ素累代飼育のラットに及ぼす影響

とくにフッ素の離乳仔への移行について

鈴木 隆 男*

概要：低フッ素基礎飼料(F 0.45 ppm)を与えながらF濃度それぞれ0, 0.5, 1, 10および50 ppmの飲用群をつくり, Sprague-Dawley 系雌雄ラットを2代にわたり飼育して, 体重, 血球数, 血清 ALP, GOT, 出産率, 哺育率を比較した。さらに0および10 ppm の2レベルは3代まで観察を続行した。また硬組織のF濃度を最新のFイオン電極法で測定し, 世代の間, 親仔の間のF濃度の推移を追求した。その結果は, 体重の増加の抑制が50ppm および第2代の10ppm 群にみられた以外は血球数, 血清酵素などについてF投与レベル間に有意の差を認めなかった。第1代雄成育仔の組織F濃度は, 大腿骨14.1, 切歯15.1ppm まで低下したが(市販固形飼料飼育のそれぞれ3%および9%の低値)その仔, すなわち第2代生育仔との間には有意の差を認めなかった。世代を重ねても組織濃度が低下しない原因は, 試作飼料の除Fが十分でなく, 離乳後飼料より摂取したFが蓄積して, 一定期間後は, ほぼ同一水準に達するためと考えられる。F投与群は飲用F濃度に比例して有意の体内蓄積を示すが, 投与Fレベル0~1 ppm の範囲では離乳仔の骨濃度は常に9~10 ppm に止り, 胎盤, 乳腺に生理的 barrier があることを示す。しかし10 ppm より高レベルでは, 仔の硬組織濃度は親の10%を保持するが, 移行した絶対値は投与量に比例して当然高くなり, 単なる物理化学的濾過に止まると考えられる。

EFFECTS OF LOW FLUORIDE FEEDING THROUGH SUCCESSIVE GENERATIONS ON RATS

— With Particular References to the Transfer of Fluoride to Weanlings —

Takao SUZUKI*

For the purpose to elucidate the nutritional essentiality or non-essentiality of minute fluoride and also the magnitude of the placental and mammary barrier for fluoride, the experiments of feeding rats defluoridated feed and fluoride water of graded dose through three generations were conducted.

1. The determination of minute fluoride was done with the latest device, the fluoride ion electrode. It was found to be very quick and reliable.
2. The basal diet contained 0.45 ppm F which was as low as one hundredth of commercial rat compressed feed. The graded doses of fluoride water were 0, 0.5, 1, 10 and 50 ppm.
3. The growth was retarded at 50 ppm in both generations and at 10 ppm in males of the second generation.
4. No significant difference was found in blood examinations between the dose levels,

* 東京歯科大学大学院歯学研究科衛生学専攻(指導: 上田喜一教授)

Department of Hygiene, Tokyo Dental College

本研究は一部昭和43年度文部省科学研究費(高江洲義矩奨励研究)の補助による。

昭和44年2月7日受付

including erythrocytes and leucocytes count, hematocrit, ALP and GOT.

5. The adult male rats of the first generation of low fluoride feeding contained 14.1 ppm F in femurs and 15.1 ppm F in incisors, decreasing to only three per cent and nine per cent resp. of that on commercial rat compressed feed.

6. The adult male rats of the second generation showed no significant decrease of hard tissue fluoride compared with that of the first generation. It may be attributed to the accumulation from not so completely defluoridated feed through the growth.

7. The mandible of weanlings of the second generation contained fluoride as low as 8.7 ppm F, equivalent to 40 per cent of the mother rats.

8. The mandible of weanlings of the third generation contained 7.5 ppm F, equivalent to 50 percent of the dams.

9. At all dose levels through 0, 0.5, to 1 ppm of fluoride, the bones of weanlings were keeping a constant level of fluoride around 10 ppm, indicating an active physiological barrier in placenta and mammary glands.

10. At 10 and 50 ppm of dose level, the reduction of fluoride in hard tissues of weanlings showed a constant ratio around 10 per cent of that of dams, suggesting a passive physico-chemical filtration. The absolute level in tissues of pups was consequently increased.

11. At higher dose level, the pups of the second generation contained significantly higher fluoride in hard tissues compared with that of the first generation.

は し が き

高濃度フッ素の影響に関しては古くから多数の業績があるが、逆に超低濃度のフッ素が生理的に意義があるか否かについては研究発表は非常に少ない。その原因は超低フッ素の作製が困難であるからと考える。

フッ素が必須栄養素であるかとの疑問に関しては古く Sharpless と McCollum¹⁾ (1933) の実験に始まり、最近の Maurer²⁾ (1957) らの研究まで数編の論文^{3) 4) 5) 6)} があるが、古いものはフッ素測定値が信頼できず、新しい研究も未だ観察項目が少く結論には達していない。

著者はこの点に興味を持ち、最新のフッ素分析法を応用して新知見を求めようと考え、本実験に着手した。

従来の成績によると、硬組織に蓄積したフッ素は抜け難く、低フッ素飼育で世代を重ねてようやく低下しうるとの報告が多いから、著者もまた累代繁殖試験を行うことが必要となつた。この事は必然的に最も興味ある胎仔へのフッ素移行問題^{7) 8) 9) 10)} をとりあげることとなり、胎盤、乳腺の

フッ素に対する障壁 (barrier) の意義も研究することとなつた。

著者はこの2つのテーマに沿って本実験を組立てた。

まず、なるべく簡易な方法で飼料の脱フッ素精製を行い市販固形飼料の $1/100$ の低フッ素飼料 (0.45ppm) を得てこれを基礎飼料としてラットを3代にわたつて飼育し、種々の生理値、硬組織へのフッ素蓄積を測定した。

この際、最新のフッ素電極による微量定量法を採用したので、1日30検体以上を完全に処理することができ、また従来の比色法では到達し得ない低フッ素でしかも微量試料すなわち低フッ素食離乳仔歯牙なども十分精確に分析し得たので、先人の業績に対して多少の知見を加え得たと信じる。

また低フッ素3代飼育の後、実験のカリエスの罹患度に及ぼす影響を実験したが、その成績は次報に述べることとする。

実 験 方 法

1) 実験動物

市販の固形飼料オリエンタル N.M. で、当教室で3代飼育した生後約4カ月の Sprague-Dawley 系ラット、体重雄400~500 g、雌250~300 g のものを親として出発した。

雄20匹、雌40匹を1週間後述の低フッ素(F)基礎飼料で飼育後、交配、出産させて得た仔を第1代の子孫として実験した。

さらに各フッ素(F)濃度群ごとに第2代第3代の子孫を出産せしめた。

2) 基礎飼料

市販固形飼料¹¹⁾は約45 ppm の多量のFを含有するので(表1)、自家製低F基礎飼料を調製した。飯塚¹²⁾による処方を改変した組成で表1の様にドライミルクを多くして塩類混合物を比較的少量にした。これは塩類混合物からの多量のFが混入するのを防ぐためである。

分析の結果F量は0.45 ppm であつた。表1に示すようにオリエンタル N.M. と比べて栄養構成成分はほぼ同様であるが、F量は $1/100$ に減少している。

第2代の実験では、天然高F食としてのフィッシュミールとF飲料水との硬組織F沈着率を比較する計画³⁵⁾を加えたので、フィッシュミール群の飼料を次の如く調製した。

小麦粉53、ドライミルク25、フィッシュミール20、塩類混合物2、総合ビタミン液0.2ml/100g、分析の結果フィッシュミール中のF量は約90~100 $\mu\text{g/g}$ であつたのでフィッシュミール飼料のF量は20ppm となるように作製した。

3) 混合塩類の精製

なるべくF量が低減することが望ましいので、F量の多い塩類混合物を Sharpless¹⁾ や McClen-don¹³⁾らの方法を参考にして次の如き簡単な方法で精製を行なった。

NaCl は稀塩酸に溶かし蒸留水を加えガラス玉を入れて、加熱濃縮をくり返した。

CaCO₃ は Magregian¹⁴⁾の方法を参考にして精製した。KH₂PO₄ は蒸留水に溶かしアルコール

表1 低フッ素飼料の組成

組 成	百分率(%)	(Cal) カロリー	蛋白質(g)	脂 質(g)	糖 質(g)	F 量 (ppm)
小 麦	57	2029	4.7	0.5	4.3	0.30
カゼイン	15	553	12.6	0.2	0.2	0.33
ドライミルク	25	1168	4.5	4.9	1.4	0.7
混 合 塩	3					2.2
総 計	100	375	21.8	5.6	5.9	0.45
市販固形飼料オリエンタルNM		360	26.5	6.1	5.0	45

低フッ素飼料100gにつき総合ビタミン液0.2ml添加

表2 混合塩組成

NaCl	13
KH ₂ PO ₄	39
CaCO ₃	35
MgSO ₄	10
FePO ₄	2
K ₂ Al ₂ (SO ₄) ₂ ·12H ₂ O	1

McCollum 混合塩類51およびJones-Foster 混合塩処方を改変

を加えて再結晶させる操作を数回くり返した。MgSO₄、FePO₄は蒸留水から再結晶させ硫酸に溶かした後、乾燥後赤熱した。K₂Al₂(SO₄)₂·12H₂Oは蒸留水で数回再結晶した。

4) 実験計画 (図1)

第1代の離乳仔を1群雄5匹、雌10匹とし0(蒸留水)、0.5、1、10、50 ppm のF濃度を有するNaF 溶液を自由に飲ませた。投与後65日で各群雄雌を1:2で同居、交配させた。交配の確認は胎脂こう形成および塗抹標本による精子証明¹⁵⁾によつた。

投与後75日で雄全部と、各群未妊娠雌ラット3匹を心臓穿刺採血して屠殺した。

第2代は各群雄6匹、0と10ppm F群雌のみ

図1 実験計画

図2 眼窩静脈叢採血，毛細管を挿入しているところ

図3 眼窩静脈叢採血。採血（約1ml）しているところ

さらに6匹を加えてそれぞれ第1代と同様に飼育した。第2代からは天然高F飼料としてのフィッシュミール群を追加した。投与後70日で0 ppm 群と10 ppm 群をそれぞれ同居，交配させた。投与後90日で雄を屠殺した。各群の離乳親と任意に選んだ離乳仔を屠殺し親から仔へのF移行を知るため分析に供した。

投与後1ヶ月，2ヶ月目にラットの眼窩静脈叢から採血し，ヘマトクリット値(Ht)，アルカリフォスファターゼ値(ALP)を測定し，第2代では赤，

白血球，ヘモグロビンを追加し，時間的変化を観察した。

採血の方法¹⁶⁾はラッテをエーテルで麻酔し固定器にのせ，上下瞼を引っ張り眼球を突出させ，眼球と下眼瞼の間から，ヘパリン処理済みの先端を鋭がらした毛細管ガラス（内径1.4~6 mm 長さ75mm）で斜後方にさしこみ，蝶形骨に達して，少し戻すと血液が毛細管を上昇してくる。体重150g のもので1 ml，250g のもので2 ml を貧血その他の後障害なしに，1ヶ月1度採血できた。

図 4 第 1 代体重増加曲線

A B.D.+0ppm B B.D.+0.5ppm
C B.D.+1ppm D B.D.+10ppm
E B.D.+50ppm
M(♂) 1 群 5 匹 F(♀) 1 群 10 匹

図 5 第 2 代体重増加曲線

A B.D.+0ppm B フィッシュミール
C B.D.+0.5ppm D B.D.+1ppm
E B.D.+10ppm F B.D.+50ppm
M(♂) 1 群 6 匹 F(♀) 1 群 6 匹

屠殺時は心臓穿刺採血で GOT を測定した。ALP は 0.05 ml の微量血清で測定できるヤトロン社製の Kind-King 改良法キットを用いた。GOT はヤトロン社製のライトマン—フランケル改良法キットを用いた。

飼料、飲水量は 2 日に 1 度、体重は 1 週 1 度測定し、一般状態、切歯エナメル質表面変化、出産状況を観察した。

5) F 定量法

飼料の分析には水蒸気蒸留—SPADNS 法¹⁷⁾と Alizalin Complexan 法¹⁸⁾ (以下 ALC と略) で比較定量し、必要ある時は当教室高江洲の微量拡散—ALC 法¹⁹⁾を応用した。ラット硬組織の F 分析は当教室近藤ら²⁹⁾が発表した、F イオン電極法で測定した。F イオン電極法の試料前処理として最初に Singer-Armstrong²¹⁾に従い灰化を行って定量したが、低 F 試料とくに離乳仔の硬組織の F 値が従来の定量法による測定値と著しく異なる高値を得たので、次に McCann^{22), 23)}の方法に準じて灰化を省略して分析を行った。

すなわち 60 mesh に粉碎、脱脂、乾燥 (100°C 3 時間) した試料を小型スチロール共栓容器に、10~20 mg 採取し、0.5 M 過クロール酸 1 ml で溶解させ、必要あれば 1 時間時々振とうして放置後 0.50 M クエン酸ナトリウム 4 ml を加え総計 5

ml とし、あらかじめ F 標準液で調整ずみの F イオン電極メーターで測定した。標準溶液の作製は 0.5 M 過クロール酸 100 ml, 1 M クエン酸ナトリウム 200 ml に 0.05, 0.1, 0.5, 1, 10 F μg/ml とするように NaF を加え蒸留水で 500 ml とした。

6) 有意差検定

本実験では各群の動物数が 4~10 例と小数でしか、酵素活性、F 含有量など母集団が正規分布をするかどうか不明な測定項目があるので、母集団の分散に無関係な検定法 (non-parametric) である Wilcoxon²⁵⁾の順位統計法 (Rank method) を用いて有意差検定をした。本法は通常比較する両群の個体数が同数の場合しか発表されていないので、本実験のように例数の不一致の実験を含む場合には不便であったが、幸にオランダの Wabeke と Eeden²⁴⁾の拡張した検定表を入手し得たので全面的に本法を採用した。

Wilcoxon の順位検定法は計算が極めて簡単でしかも例数の少い時はより信頼し得るとされている。試みに体重増加度 (表 3) について通常の複雑な分散を用いる t 検定と Wilcoxon 法とを併用してみたが有意差の判定は全く一致した成績を得た。

表 3 体 重 増 加

F レベル ppm	第 1 代			第 2 代	
	♂	♀		♂	♀
0	288	155	183	265	152
	301	162	184	294	186
	315	167	189	314	215
	319	170	203	333	227
	328	180	204	335	230
M±s	307±162	180±164		308±293	208±326
0.5	307	139	174	271	
	314	161	191	303	
	328	162	195	308	
	332	164	200	308	
	341	167	211		
M±s	325±258	177±221		299±179	
1.0	246	130	179	265	
	272	143	179	275	
	320	163	182	282	
	338	166	192	294	
	360	176	201	315	
M±s	306±461	173±216		286±192	
10	233	151	189	150	173
	288	163	189	184	173
	289	164	194	234	182
	292	165	203	234	183
	302	179	204	240	187
M±s	280±273	180±184		220±447	186±163
50	234	125	162	235	
	245	128	176	250	
	258	131	188	255	
	269	143	190	256	
	296	144	191	264	
M±s	260±239**	158±269*		257±149**	
フィッシュミール				288	
				303	
				308	
				330	
				331	
M±s				335	
				316±189	

- 注 1. 各レベルの数値は10週目体重から初体重をひいた値を示す。
 2. M 平均 s 平均値の標本分散
 3. 0 ppm レベルと比較して *(<0.05) **(<0.01) に有意の差を認めた

実験成績

1) 体 重

体重増加曲線は第1代の仔(図4)第2代の仔(図5)は概して平行して上昇しているが、最終体重は、F10および50 ppm 群では劣るように見える。しかし各個体の体重増加量を比較すると表3に示すように、F50 ppm 群は第1代、第2代とも0 ppm 群(基礎飼料群)との間に有意差があったが、10 ppm では第2代の雄のみが明かに劣る成績となった。

2) ラット出産状況(表4)

母体当たり平均仔数は、投与Fレベル間で有意の

差は認められなかった。

3) 血液所見(表6, 7)

a) ヘマトクリット値(Ht)

第1代、第2代とも成長に従って増加しているが、1ヶ月と2ヶ月の間の増加がより著しい。F投与各群の間には有意差はない。

b) 赤血球数、白血球数

ヘモグロビン量も成長に伴って増加の傾向があるが、F濃度各群間には有意な差はなかった。

c) アルカリフォスファターゼ値(ALP)

この値は逆に成長と共に低下している。

各個体値の変動が甚しいので平均値の間に有意差は認められなかった。僅かに第2代成育仔(表

表 4 ラット出産状況

	F レベル (ppm)	総母体数	総生仔数	母体別平均仔数
親		23	174	7.6
(第1代)	0	5	29	5.8
	0.5	4	21	5.0
	1.0	7	64	9.1
	1.0	6	43	7.2
	5.0	3	27	9.0
(第2代)	0	5	39	7.8
	1.0	6	33	5.6

注：低F基礎飼料2ヶ月

表 5 ラット歯牙フッ素症出現時期

	F レベル ppm	1 W	2 W	3 W	4 W	5 W	6 W
第1代	10ppm 群 ♂ ♀				M ₀ 4/6	M ₁ 1/6	M ₁ 4/6
					M ₀ 7/10	M ₁ 2/10	M ₁ 3/10
	50ppm 群 ♂ ♀	M ₀ 2/6 M ₁ 5/6			M ₂ 1/6	M ₂ 3/6	M ₂ 3/6
		M ₀ 3/10 M ₁ 5/10			M ₂ 4/10	M ₂ 6/10	M ₂ 7/10
第2代	10ppm 群 ♂ ♀				M ₀ 1/6	M ₀ 4/6 M ₀ 1/6	M ₀ 4/6 M ₀ 1/6
	フィッシュミール 群 (♂)				M ₀ 5/6 M ₁ 2/6		
	50ppm 群	M ₁ 2/6 M ₂ 1/6			M ₀ 1/6	M ₂ 1/6	M ₃ 1/6

判定基準 M₀ 僅かに褪色M₁ 明らかに白色を帯びてくる、切端、周囲部のみM₂ 全体に白色を帯びるM₃ チョーク様(大理石様)変化

表現方法 総匹数中強度に歯牙変化を起した匹数

表 6 第 1 代 検 査 成 績

F レベル (ppm)		ヘマトクリット値 (%)		アルカリフォスファターゼ値 (K.A. 単位)			臓器重量体重比 (%)	
		I	II	I	II	III	肝	腎
B.D. + 0	♂	41.8	44.5	45.5	34.1	29.2	3.02	0.677
	♀					23.5	2.74	0.627
0.5	♂	42.8	46.4	40.4	3.6	24.6	2.68	0.651
	♀					17.7	3.72	0.738
1.0	♂	42.0	49.1	45.3	2.6	20.5	2.76	0.558
	♀					16.3	2.90	0.673
1.0	♂	44.8	50.6	39.8	2.8	25.7	3.31	0.580
	♀					26.7	3.48	0.609
5.0	♂	41.8	49.3	38.4	30.6	3.0	2.92	0.593
	♀					25.8	2.91	0.524

♂ 5 匹
♀ 3 匹の平均値

I : 投与後 30 日

II : " 60 日

III : " 75 日

表 7 第 2 代 検 査 成 績

F レベル (ppm)	ヘマトクリット値 (%)			赤血球数 ($10^4/mm^3$)		白血球数 ($10^2/mm^3$)		ヘモグロビン (g/dl)		ALP 値	GOT 値
	I	II	III	I	II	I	II	I	III	K.A. 単位)	(カルマン 単位)
0	37.3	46.2	47.6	501.8	584.4	9.68	9.96	11.4	14.5	13.7	72.0
0.5	4.0	47.3	52.0	542.4	598.2	8.38	8.24	12.3	15.6	14.0	67.0
1.0	3.9	46.8	50.2	531.8	600.8	7.60	8.12	12.4	15.0	11.2	59.8
1.0	3.8	45.8	49.8	505.4	637.0	8.24	9.16	11.7	15.0	16.3	68.4
5.0	4.0	45.9	50.0	510.6	651.6	8.38	9.68	12.9	16.3	18.3	69.2
フインシユミール			48.0						14.5	11.4	65.5

(注) I : 投与後 1 ケ月

II : " 2 ケ月

III : " 3 ケ月

注 : 1 群 5 匹の平均値

表 8 離乳親の血漿酵素活性

Fレベル ppm	第 1 代			第 2 代			
	ALP (K-A 単位)	GOT (Karmen 単位)	体重 (g)	ALP (K-A 単位)	GOT (Karmen 単位)	Ht (%)	体重 (g)
0	302	106	255	378	69	475	278
0.5	278	89	271				
1	209	104	246				
10	277	102	257	390	98	430	256
50	208	93	222				

第1代 3～4匹
第2代 5～6匹
の平均値

表 9 離乳時ラット硬組織F量（親仔の比較）

a) オリエンタルNM固形飼料飼育

		下 顎 骨	大 腿 骨	歯 牙 ^{米*}
妊 娠 20日(出産2 日前) 屠殺	1	405	385	147
	2	430	491	172
	3	350	391	184
	平均	395	422	167
離 乳 親	1	497	477	226
	2	494	449	217
	3	532	450	227
	4	410	423	167
	平均	483	450	209
離 乳 仔	1	168	187	166
	2	247	175	174
	3	210	210	168
	4	236	228	179
	5	560	610	261
	平均	284	282	189

* 右側 *米 下顎切歯2本

F濃度：乾燥重量当り ppm

表 10 離乳時ラット硬組織 F 量 (親仔の比較)
b) 低 F 飼育 2 ヶ月の親と仔

	動物番号	顎 骨	大 腿 骨	歯 牙
第 0 代 離乳 親	♂ 1	2 5 8	2 5 1	4 1
	2	3 0 0	2 6 5	4 7
	3	3 0 7	2 5 6	4 3
	4	3 0 3	2 6 5	4 5
	5	3 0 2	2 5 6	4 7
	6	2 6 8	2 6 5	4 7
	7	2 8 9	2 6 0	5 1
	8	2 7 7	2 6 6	3 9
	平均	2 8 8	2 6 1	4 5

	動物番号	顎 骨	大 腿 骨	歯 牙
第 1 代 離乳 仔	♂ 1	1 9 7	8 8	5 7
	2	1 1 1	8 6	6 2
	3	9 2	9 6	5 4
	4	9 6	6 7	6 4
	5	9 7	8 1	6 2
	6	9 1	8 6	5 8
	7	1 0 9	8 1	7 4
	8	1 2 4	9 6	6 4
	9	9 1	8 6	6 2
	平均	1 0 3	8 5	6 2

F 濃度 : 乾燥重量当り ppm

7) の中で最低値を示した 1 ppm 群と、最高値 50ppm 群との間に 5% の危険率で有意差を認めただけである。表 8 に示した離乳親の各群間にも有意差はなかった。

d) トランスアミナーゼ値 (GOT)

血液量の関係で、GPT を省略し、GOT のみを行った。第 1 代の仔についても分析したのであるがガラス製注射筒を用いたため溶血しやすく、その影響のため 200 以上の異常高値を得たので測定成績を捨てることとした。第 2 代の仔からはヘパリンでうるおしたジントン社製のプラスチック注射筒を用いたので溶血による障害を防ぎ得た。

有意差検定で第 2 代の最低値 (1 ppm 群) と対照 (0 ppm 群) の間に有意差が認められた。(P < 0.05), 第 2 代の 1 ppm 群が GOT, ALP が共に最低値であったのは偶然であるかどうかは他の項目のデータと併せ考える必要がある。

4) 臓器重量体重比

第 1 代の仔の雌の腎に異常低値が認められるが検定により有意差を証明できなかった。(表 6)

5) 歯牙フッ素症

著者は表 5 に記載したような判定基準に従って追跡観察を行ったところ、第 1 代の F 10 ppm 群では第 4 週から、50 ppm 群は第 2 週で歯牙表面に褪色がみられるようになった。第 2 代では 10 ppm およびフィッシュミール群 (天然フッ素 20 ppm) は 4 ~ 5 週から褪色が始り、50 ppm は 2 週からすでに帯白色となり、6 週では 1 例にチョーク様変性をみた。

著者の観察によると、ラット歯牙表層の変化は持続的に一定でなく、実験期間中においてその表層の様相の変動が認められた。このことはラット下顎切歯において特有な現象であった。

ラットの歯牙フッ素症については、すでにカラー写真²⁶⁾を発表してあるので今回は省略する。50 ppm 群の第 2 代の方が早期に起り、重症であることは世代による蓄積と考えられるが、この点は歯牙の F 分析の項で考察されよう。

6) 硬組織フッ素分析

成育した第 1 代仔 (75 日) と第 2 代仔 (100 日) の F レベル別分析値を表 11, 13 に示した。また出

表 11 第1代成育ラット (75日) 硬組織F量 ppm

F レベル ppm	動物 No	雄			動物 No	雌			
		大腿骨	歯	牙		顎	骨	大腿骨	歯
0	1	18.6	16.5		1	14.1	18.6	11.0	
	2	12.0	13.0		2	13.3	22.2	12.5	
	3	12.6	18.0		3	12.4	24.0	18.5	
	4	12.0	12.5						
	5	15.6	15.5						
	平均	14.1	15.1			13.2	21.6	14.0	
0.5	1	30.0	22.7	1	32.4	38.0	38.1		
	2	34.8	22.6	2	31.2	32.8	24.3		
	3	30.0	23.7	3	31.0	39.2	32.5		
	4	42.6	30.8						
	5	35.7	25.1						
	平均	34.6	24.9			31.5	36.6	31.6	
1.0	1	57.6	29.9	1	51.0	64.2	59.1		
	2	40.9	33.1	2	50.0	50.0	40.4		
	3	45.0	32.2	3	48.4	34.9	39.1		
	4	55.1	33.6						
	5	45.8	35.0						
	平均	48.8	32.7			49.8	49.7	46.2	
10	1	61.1	20.0	1	52.3	51.8	24.5		
	2	44.7	19.9	2	42.0	35.0	22.9		
	3	45.5	22.0	3	42.4	47.5	21.6		
	4	35.9	23.5						
	5	27.7	14.8						
	平均	42.9	20.0			45.9	44.7	23.0	
50	1	184.6	94.3	1	278.8	229.0	107.3		
	2	274.4	152.6	2	213.2	264.0	119.1		
	3	187.6	105.9	3	205.4	261.9	108.2		
	4	154.5	97.4						
	5	138.6	110.9						
	平均	187.9	112.2			232.4	251.6	111.5	

産後3週で離乳した親と、離乳した仔との間の胎盤、乳汁を介してのF移行を知ろうとして、市販固形飼料(表9)低F飼育の親と第1代仔(表10)、第1代親と第2代仔(表12)、第2代親と第3代仔(表14)の4組の親子について、離乳時に殺して、硬組織を分析比較した。

a) 市販固型飼料群 (表9)

すでに述べたように市販オリエンタル固形飼料は、魚粉を混入しているので、これに原因する天然Fが極めて高く約45ppmに達する。食物を介するF吸収は、飲用より劣るといわれるが、骨には400~500ppm(乾燥重量当り)歯にはその1/2程度が含まれている。離乳仔の骨は5.9%~6.3%、歯は11.3%程度の低濃度で胎盤、乳腺におけるF抑制を示している。

b) 第1代成育仔の硬組織F濃度 (表11)

第1代の仔の離乳仔(表10) 大腿骨平均Fは8.5

ppm、歯牙6.2ppm(9例平均)であったが、75日低F基礎飼料(F 0.45ppm)で飼育すると雄は大腿骨14.1、歯牙15.1ppm(5例平均)と有意の差を以て増加している。これは基礎飼料中の微量のFが硬組織に蓄積して行つたためである。しかし此の硬組織レベルは、市販固形飼料飼育成育ラット群の硬組織Fレベルのそれぞれ3%および9%に低下している。F投与群は0.5、1、10、50ppm群と硬組織F濃度は有意の差をもつて増加している。

雌は例数が不足なので、ここでは雄についてだけ論じると、各群の平均値から基礎飼料からのFのとり込み、すなわち0ppm群の基礎飼料による蓄積14.1および15.1を差引くと、各レベル純増F濃度の比は次のようになる。(1ppm基準)

この成績は投与Fレベル比にほぼ比例して硬組織F濃度が増加することを示している。ただ50

表 12 離乳時ラット硬組織F量

c) 低F飼育親仔の比較

Fレベル ppm	離乳親 (第1代)				離乳仔 (第2代)			
	顎	骨	大腿骨	歯 牙	顎	骨	大腿骨	歯 牙
0		14.5	25.2	19	10.2	本文参照	本文参照	
		14.5	13.8	11.5	7.7			
		36.7	29.4	16.5	9.4			
		21.5	23.4	19.5	7.6			
	平均	21.8	22.9	16.6	8.7			
0.5		36.7	31.0	21.9	9.0	"	"	
		49.7	58.9	36.6	7.6			
		30.3	38.7	24.5	11.8			
		41.2	43.2	29.2	9.7			
	平均	39.4	42.9	28.1	9.1			
1.0		84.6	64.2	52.5	8.9			
		72.2	71.8	40.5	8.6			
		82.0	59.6	48.0	11.4			
		79.0	61.6	56.0	14.5			
	平均	79.5	64.3	49.3	11.2			
10		770	546	336	56.0			
		635	529	346	57.4			
		530	495	496	31.0			
		540	496	418	42.0			
	平均	619	517	399	49.2			
50		3280	2951	2744	500	514	348	
		2768	3134	3086	247	292	183	
		2920	2862	2058	572	547	349	
					566	522	212	
	平均	2989	2982	2629	497	486	303	

Fレベル (ppm)	0.5	1	10	50
骨F濃度	20.5	34.7	414.9	1864
同上比	0.6	1	12	64
歯F濃度	9.8	17.6	184.9	1107
同上比	0.56	1	10.5	63

ppm レベルでは組織F増加率の方がやや大きい。

c) 第2代成育仔の硬組織F濃度 (表13)

低F飼育第2代の仔は離乳時は、顎骨8.7ppm程度であつた。大腿骨、歯牙については前述したように分析値を棄却した。

この仔を基礎飼料中のFを蓄積した生後110日目では大腿骨12.9、歯牙10.6ppmに達した。

この骨と歯のF濃度は第1代成育仔と有意差はない。即ち著者の基礎飼料程度の低Fでは、離乳後に飼料から入るF量が多く、世代を重ねても体内F濃度低下には役立たないことが明かとなつた。F投与群は、投与レベルに比例して硬組織F濃度が有意の差を似て増加をしていることは第1代と同傾向であるが、0.5、1ppmの低濃度群で

は第2代の歯牙Fは第1代のそれより低く、F高濃度群 (10、50ppm) ではこの関係が見られない印象を受ける。しかし、はたして有意の差であるかの検定結果は後述の成績一覧表の項 (表15) に譲る。

フィッシュミール群は天然フッ素添加の意味で追加したが、実測値、飼料中20ppmであるにもかかわらず、硬組織F濃度は飲用10ppm群よりはるかに低かつた。飲水量は飼料摂取量の2倍であるとして摂取F量を等しくしたつもりであるが、蓄積率 (利用率) は食物経由の方が劣つた。

d) 離乳仔の硬組織F濃度と親仔の関係

市販固形飼料 (F約45ppm) で飼育しても離乳仔の組織F濃度は著しく低いことは、すでに(a)項で述べた。

固形飼料から低F飼料に変更して2ヶ月後の離乳親は表10に示すように、すでに硬組織F濃度は骨で60%、歯で27%に低下していた。この親から

表 13 第2代成育ラット (90日) 硬組織F量 (ppm)

Fレベル ppm	動物 No	大腿骨	歯	牙	Fレベル ppm	動物 No	大腿骨	歯	牙
0	1	134	158		10	1	678	254	
	2	127	105			2	716	323	
	3	121	99			3	433	179	
	4	146	96			4	769	281	
	5	118	70			5	487	182	
	平均	129	106			平均	617	244	
0.5	1	329	158		フィッシュ ミール群	1	250	168	
	2	377	179			2	391	161	
	3	373	191			3	362	168	
	4	370	190			4	421	219	
	5	250	145			5	430	182	
	平均	362	173			平均	367	191	
1	1	521	234		50	1	2960	1259	
	2	558	223			2	2398	1317	
	3	518	225			3	2600	977	
	4	407	279			4	1988	1097	
	5	473	364			5	2419	1234	
	平均	496	265			平均	2487	1151	

離乳した仔のF濃度は下顎骨10.3, 大腿骨8.5, 歯牙6.2ppm でそれぞれ親の3.7, 3.3, 11.5%に相当する。

第1代 (表12)

第1代の成育仔の離乳親とその離乳仔(第2代)とを前述したように常法に従い電気炉で灰化したところ仔の硬組織はフッ素電極法では異常高値を与え他の分析値(非灰化, 酸溶解)と比較できないから省略した。しかし非灰化法で分析した下顎骨についてのみ論じれば, 蒸留水群では親の40%に低下し, 8.7ppm の低値に達した。F0.5ppm 投与群では, 親の23%, 1ppm レベルでは, 親の14%, 10ppm レベルでは9.5%, 50ppm レベルでは16.6%の低下率を示した。

幸いに歯のデータがある50ppm では親の歯に比べ11.5%に低下した。

第2代 (表14)

第2代の仔の成育した離乳親とその離乳仔(第3代)の関係は, 親の下顎骨は15, 大腿骨19, 歯牙8.4ppm と一見して第1代の親, 仔より低い印象を与えるが, 後述するように有意差検定では否定され僅かに, 第1代と第2代の親の大腿骨と歯牙間それぞれ有意の差があつた。(表16)

親と仔の低下率は, 顎骨50%, 大腿骨49%, 歯牙94%で歯牙だけがほとんど親と不変な成績を得

た。この異常の現象は離乳親の歯のF濃度が異常に低かつたことに帰せられる。

10ppm 投与群の親の測定値は第1代の10ppm の親より有意差を似て高い。これは代を重ねた蓄積と考えられる。仔に関しては第1代10ppm では下顎骨の分析値しかないが, これも高くなっている。

親仔の減少率は下顎骨9%, 大腿骨11%, 歯牙8%で, ほぼ10%を中心とする減少率であつた。

7) 成育ラット硬組織F分析値一覧表と有意差検定

第1代と第2代の成育仔の分析値の平均値を表15に示し, Wilcoxon²⁵⁾の順位統計法による有意差検定($P < 0.05$)の結果を述べる。ただし雌は各群3匹の少数のため統計処理に不都合なので検定から除外し, 雄についてだけ述べる。0ppm群(低F基礎飼料)では骨と歯の濃度間に有意差がない。第1代と第2代の骨, 歯それぞれの差も有意でない。

0.5と1ppm群では, 第1代, 第2代ともに骨>歯また歯牙相互の比較では歯(1)>歯(2)……(1)1代, (2)2代……10ppm群では, 骨(1)≠骨(2), 歯(1)≠歯(2)50ppm群では, 骨(1)<骨(2), 歯≠(1)歯(2), フィッシュミール群とオリエンタル

表 14 離乳時ラット硬組織F量

d) 低F飼育の親仔の比較(第2代と第3代)

動物系	顎	骨	大 腿 骨	歯
第2代 離乳親	1	1 3 6	2 8 4	9 3
	2*	(1 6 1)	(3 6 0)	(8 4)
	3	1 3 3	1 7 6	6 9
	4	1 4.2	1 5.4	6 5
	5	1 9.2	1 7 6	1 0 6
	6	1 4.9	1 6 0	8 8
	平均	1 5 0	1 9 0	8 4

* 非妊娠

動物系	顎	骨	大 腿 骨	歯
第3代 離乳仔	1	7 7	1 0 6	7 2 **
	2	6 8	9 9	
	3	5 9	7 8	8 4 **
	4	7 0	7 1	
	5	6 8	1 0 2	8 0 **
	6	6 7	9 4	
	7	1 1.7	1 0 2	
	平均	7 5	9 3	7 9

** 2匹の下顎切歯を用いた。

e) F10 ppm 第2代と第3代の比較

動物系	顎	骨	大 腿 骨	歯
第2代 離乳親 F10 ppm	1	7 6 6	7 1 3	3 6 1
	2	8 1 5	7 0 1	3 6 6
	3	8 0 6	6 1 7	3 8 5
	4	9 6 0	8 3 8	3 4 4
	5	8 8 8	9 7 2	7 5 0
	6	1 1 8 3	7 0 2	8 0 0
	平均	8 9 8	7 5 7	5 0 1

動物系	顎	骨	大 腿 骨	歯
第3代 離乳仔 F10 ppm	1	8 7	6 2	4 2.8 **
	2	7 2	7 1	
	3	1 0 1	6 8	3 5.2 **
	4	8 4	9 3	
	5	6 6	1 0 0	3 5.1 **
	6	8 7	8 4	
	7	7 7	8 9	
	平均	8 2.1	8 1.0	3 7.7

固形飼料群(表9)の間に骨も歯も有意差がない。

8) 離乳親と離乳仔の硬組織F分析値一覧表と有意差(表16)

本表は複雑であるので誤差検定を行って有意差のないもの相互間にだけ共通符号を付けた。その他の数値間には有意差があることになるが、下顎骨と大腿骨のF濃度は直観的にも知られるように有意差はないが、複雑となるので表16では符号を

つけていない。有意差のないものを特別に記載すれば、低F飼育(0ppm 群)の親の下顎骨1代と2代、離乳仔の下顎骨については低F2ヶ月の親の仔第1代0, 0.5, 1ppm 群と第2代の0ppm 群に有意差がない。大腿骨も同一傾向にあるが、分析法の失敗のため第1代仔のデータが不足している。

第2代の離乳親の歯牙F濃度が前述のように異

表 15 成育ラット硬組織F沈着量平均値一覧表

Fレベル ppm	第 1 代						第 2 代		
	♂		♀				♂		
	大腿骨	歯 牙	顎 骨	大腿骨	歯 牙		大腿骨	歯 牙	
0	14.1	15.1	13.2	21.6	14.0		12.9	10.6	
0.5	34.6	24.9	31.5	36.6	31.6		36.2	17.3	
1.0	48.8	32.7	49.8	49.7	46.2		49.6	26.5	
1.0	42.9	20.0	45.9	44.7	23.0		61.7	24.4	
5.0	187.9	112.2	232.4	251.6	111.5		248.7	115.1	
マイシム ミール							36.7	19.1	

♂ 5～6匹の平均値

♀ 3匹の平均値

F: ppm(乾燥重量)

表 16 離乳親と離乳仔のF沈着量一覧表

世 代	F レベル PPm	下 顎 骨			大 腿 骨			歯 牙		
		親	仔	%	親	仔	%	親	仔	%
親	A オリエンタル	483	284	59	450	282	63	209	189	9
	B 低F飼料 (2ヶ月)	288	103 ⁺	36	261	85 ^o	33	45	62	14
第 1 代	0	21.8 ^x	87 ⁺	40	229			166		
	0.5	394	91 ⁺	23	429			281		
	1.0	795	112 ⁺	14	643			493		
	1.0	619	492	8	517			399		
	5.0	2989	497	17	2982	486	16	2629	303	12
第 2 代	0	150 ^x	75 ⁺	50	190	93 ^o	49	84	79	94
	1.0	898	821	9	757	81	11	501	377	8

注: 離乳親 4～6匹の平均値

F ppm(乾燥重量)

離乳仔 5～7匹の平均値

×、°および+印各同符号間に有意差なし

常に低かったので (8.4 ppm), 第3代離乳仔の歯 7.9ppm との間に有意差なく, 第1代の0 ppm 親 (16.6ppm) の歯とは有意の差があった。

考 察

1) フッ素分析法

本実験において試料のF分析には最近, 開発された米国 Orion 社製のイオンメーター (Model 404) によるフッ素電極法を用いた。F電極法はとくにF含量の少いしかも微量試料の分析 (50ppm 以下, 3~20mg) に適している。従来法とくらべて測定値の変動が少く, しかも多量の試料を短時間で定量できる利点をもち, 1日30試料は十分に分析可能である, Grøn, Brudevold²³⁾らは本法により唾液中のFを定量しているが, 本法は現在F定量法の主流となりつつある。

しかし, このF電極法にも, 多少の疑問点がある。Armstrong²¹⁾らは, 試料のF含量が少い時, 定量値が低めにでるため, Ca と Mg を標準溶液に添加することを推奨している。本実験でも低F濃度の試料, とくに離乳仔の灰化処理した試料は, 乾燥試料 (非灰化) の分析値に比べて成育ラットで10~20%増, 離乳仔で約5倍の異常高値を示したため, データとして利用できなかった。この原因が, 試料の有機質の含量と関係があるのか否かを現在追求中であるが, 当教室の近藤の実験によれば, ある程度までの Ca と Mg 共存は, 大きな測定誤差を来さないという。

試料の前処理において, 強酸抽出のみでは, Fが解離しにくい組織では, 灰化法やその他, 酸素フラスコによる熱分解法と微量拡散法との併用による分析が必要とされるのではないかと考えられるが, このことについては, 現在, 当教室で検討中である。

2) 血液所見 (Ht 値, 赤血球, 白血球, Hb 量, ALP, GOT),

生体に摂取されたFが血液に与える影響について Leon²⁷⁾らは高F給水地区 (8 ppm) の Bartlett 116名と対照地区 (0.4ppm) Cameron 地区121名について10年間以上検査地区に居住しているものを選んで調査を行った。

その結果は, 好中球の異常者の比率がやや高かった程度で, 問題にするほどの差はなかったと報告している。副島²⁸⁾らは高F地区桜島 (0.40~0.96ppm) と対照地区吉野 (0.05ppm 以下) の調査結果では, 有意の差を認めないが, 赤血球数, 血色素量値が高F地区において低く, 阿蘇地区 (0.82~3.30ppm) との比較においては, 赤血球数, 血色素量は少なく, 網状赤血球, 白血球数が増加していると報告している。さらに家兎による動物実験では, 1日 F 5.478mg を耳静脈より注射して100~160日間観察し, 白血球の減少を認めた程度と報告している。

著者の実験でも, Ht 値, 赤血球 白血球数, Hb 量は正常値の範囲であり, Fによる影響を見いだすことはできなかった。

アルカリフォスファターゼ (ALP), トランスアミナーゼ (GOT)

Robinson²⁹⁾が骨成長における化骨部には ALP が, 多量に存在していることをとりあげ, その後 Philips³⁰⁾がF中毒症における ALP の増加を報告して以来, 多数の報告がある。

低F飼育のラットの実験では, Maurer ら²⁾ (0.007ppm の基礎飼料) は, ALP 活性に有意の差がないとしており, Maplesden⁸⁾ら (3ppm の基礎飼料) も, ALP 活性には変化がないとしている。ごく最近の Doberenz⁶⁾らの実験では低F飼育ラット (基礎飼料中 F < 0.005ppm) 群と飼料に 2 ppm を添加した群, さらに対照として飲料水にFを2.67ppm を添加した3群の間には, ALP, GOT とも有意差がなかったと報告している。

本実験では, ALP は成長に従って漸減したが, 1 ppm 群が僅かに低値を示している程度で各群の間には同様に有意の差を見出せなかった。マグネシウムの関与している多くの酵素は, とくに燐酸の存在下でフッ化物阻害を受けやすい。しかし酵素の感受性の相違によつて, フッ化物阻害についてある法則性を見いだすことはむずかしいようである。例えば, マグネシウムと関係の深い Polynucleotide phosphorylase はフッ化物に対して, 全く感受性がないといわれる。Robinson³¹⁾らはその後 (1953), in vitro の石灰化実験で 10^{-4} M

のFが石灰化障害を起し得るにもかかわらず、この程度の濃度のFは、ALPの作用に影響を与えないことを知つて、ALP以外の酵素が石灰化に関していることを予想し石灰化の second mechanism が存在することを主張している。

3) 低フッ素飼料について

1933年に Sharpless¹⁾らが低フッ素飼料を試作したが、現在の低F飼料のレベルからすれば十分でなかった。その後 Phillips³⁾(1934~1939)らは0.1~0.2ppmの低F飼料を調整し、Muhler⁴⁾(1954)が0.1ppm, Maurer²⁾(1957)らは、0.007ppm以下、飯塚¹²⁾(1964)は0.6ppm, Doberenz⁶⁾(1964)らは0.005ppm程度の低F飼料による実験成績を報告している。

低F飼育でラットのF要求を分析した Venkateswarler³²⁾の成績によれば、低F飼育の2群と蒸留水飲用による対照群およびF 10ppm投与群について、出産率を検べてみると、低F群に減少があり、3代以後の繁殖が失敗に終わったという。その原因として飼料の調整法や保存法に問題があり、いわゆる人工飼料からある有毒性な因子が影響した結果ではないかと推察している。

Muhlerは低F飼料(0.001ppm以下)によってラットによる実験を試みたが、累代繁殖が得られず観察ができなかったという。

Maurer²⁾らの低F実験によれば、Fによる影響は歯のう蝕抑制効果以外には特異な知見を認められず、栄養学的にも non-essential ではないかと結論している。

このようにラットの低F飼育実験による現在までの成績には、満足な結論が得られていない。その原因の1つとして、従来の定量法では、0.1ppm以下の飼料中Fの測定に難点があつたのではないかと考える。その論拠として、このような低F飼育にかかわらず、彼等の動物の硬組織には相当なFが蓄積している。

実際、Doberenz⁶⁾, Maurer²⁾らが発表している0.005, 0.007ppm以下の低F飼料を作製することは、飼料の組成分から検討してみても、かなりの困難を伴う。著者は本実験において、0.45ppmの低F飼料を調整し得たがドライミルク、カゼイ

ン、塩類成分の一部から、さらに除フッ素を完全に行えば、0.1ppm前後の低F飼料をつくり得るのではないかと検討している。

4) 低F飼育動物の硬組織F濃度

前述のような各研究者の低F飼料で組織Fをどの程度まで低下し得たかの比較はやや困難がある。第1に研究年代の差で分析法の精度が問題となり、ことに飼料中の公表F濃度には信頼性が少ない。次にラットの測定時の日令が不一致で正確な比較に適しない。しかし極力近似する条件のものを選ぶと下表の如くなる。

	飼料F (ppm)	ラット大腿骨F (ppm)	
		離乳仔	成育仔
Evans and Phillips (1939) ³⁾	0.1(?)	3.5~ 5.7	8~16 (120日以上)
Muhler (1954) ⁴⁾	0.1		23~29(90日)
Maurer et al (1957) ²⁾	0.007		1.2~2.7 (105~325日) (灰分より換算)
Doblentz (1964) ⁶⁾	<0.005		2.92(90日)
飯塚(1964) ¹²⁾	0.6		22(90日)
鈴木(1969)	0.45	7~9	13~14 (90~100日)

著者の飼料の除F度は、米国の研究者らには及ばないが、ラット硬組織F蓄積量からみるとMaurer²⁾, Doblentz⁶⁾の超低Fを除けば、他の研究者とは同程度に達している。しかもMaurer, Doblentzらは実験群の設定が少く、後者はことに動物数が少ない。

5) フッ素の胎盤乳腺移行

フッ素の胎盤移行については多くの研究がある。Muhlerの母犬にF0, 1, 3, 5, 10, 25, 50ppmの飲料水を飲ました実験によると、生後1, 10, 30日の仔の体内F量は5ppmまで差がなく、10ppmで僅かに増え、25, 50ppm群では、0ppmに比して2~3倍のF量があつたという。この結果はKnouff³³⁾のデータと一致している。

ラットを用いた実験については、多くの研究がなされているが、現在、飲料水中8~10ppmFまでのFは胎盤の抑制をうけ、胎仔に移行しないが、このレベル以上だと非生理的に胎仔に移行するといわれている。

Murray³⁴⁾はF 500ppmの飲料水群と対照群の

母体の胎仔はそれぞれ5.1と1.1 ppm であり、F はまた母乳を通して仔に移行すると結論した。

著者の実験では胎仔の分析をしていないが（現在、F 電極法で定量することを検討中である）、F 0, 0.5, 1ppm の離乳仔は各群の間に有意差はないが、10ppm の離乳仔は明らかな有意の増加がみられた。これは先人の研究者の限界濃度と一致したが彼らは新生仔についての所見であり、著者ののは、生後3週の離乳仔についての分析値である点で異っている。したがって著者の場合は胎盤通過だけでなく、母乳からの摂取、即ち乳腺の生理的障壁機能が併せ考慮していることになる。しかし著者の実験は1 ppm レベルの次に10ppm レベルに跳んでいるので、この中間の如何なる濃度（例えば5 ppm か8 ppm か）が限界点かについては情報を呈供することができない。

しかしFの胎盤移行度は動物の種差に従って大差があり、ラットの成績を直ちに人体に適用はできない。最近では胎盤の解剖的構造から、モルモットが最もヒトに似るとして、モルモットによる胎盤移行が研究されているが(Muhler)⁷⁾著者の研究と比較することは数値のオーダーが異なるため困難であるので引用しない。

総 括

フッ素は栄養的に必須ミネラルであろうかという疑問に対する解答、および親から仔への移行、すなわち胎盤、乳腺のフッ素に対する生理的障壁機能の程度を知るために累代低フッ素飼育実験を企画した。同時にこれに4段階のフッ素濃度の飲料水を与え、平行的に観察した。

1) 小麦粉、カゼイン、ドライミルクおよび精製塩類を主成分とする低F基礎飼料(F 0.45ppm)をつくつた。

2) フッ素定量には最新のFイオン電極法を採用し、F含量の少い硬組織の前処理は過クロール酸溶解法を用いた。

3) Sprague-Dawley 系ラットを2ケ月上記の低F飼料で飼育し、その仔に0（蒸留水）、0.5, 1, 10および50ppm のF飲料水を、自由に与え、各群の体重増加、血液所見、酵素活性および硬組

織F濃度を第2代まで追求し、第3代では0および10ppm 群のみ実験した。

4) 体重増加はF 50ppm で雌雄とも、F 10 ppm で第2代の雄にのみ抑制がみられた。

5) 眼窩静脈叢採血および心臓穿刺血による血球数、アルカリフォスファターゼ、GOT 検査は投与Fレベル間に有意の差を示さなかつた。

6) 歯牙フッ素症は、世代を重ねる程出現時期が早まり、親からのフッ素移行を示唆した。

7) 第1代成育仔0 ppm の大腿骨はF 14.1, 切歯は15.1ppm で、市販固形飼料飼育ラットのそれぞれ3%および、9%に低下した。

8) 第2代の低F飼育成育仔の硬組織F濃度は第1代成育仔と有意差を示さなかつた。この原因は著者の基礎飼料が理想的な低Fに達していないので、発育の経過中に第1代、第2代とも飼料からほぼ等量のFをとり込むためである。

9) 第1代の離乳親とその離乳仔（第2代）の下顎骨のF濃度の関係は、仔は親の40% (8.7ppm) に低下した。歯牙間の比較は分析に技術上の難点がありデータを提出できない。

10) 第2代の離乳親とその離乳仔（第3代）の下顎骨F濃度は50%に低下（7.5ppm）したが切歯は僅かに94%に低下したに過ぎなかつた。これは第2代離乳親の歯牙F濃度が異常に低かつたことに原因がある。

11) 低F飼育の親の下顎骨1代と2代の間、離乳仔の下顎骨第1代のF 0, 0.5, 1 ppm 群の間にそれぞれ有意差がない。

12) F投与群の硬組織では、F 0.5, 1, 10, 50 ppm 群の間に有意の差を似てF濃度が増加する。しかしその離乳仔では0, 0.5, 1ppm レベルの間に有意差がない。これは、この濃度までは胎盤、乳腺の生理的 barrier がよく働いて、仔への蓄積を一定レベルに抑えていると考えたい。

13) 10ppm 以上(1~10ppmの間は著者のデータがない) 50ppm までは離乳仔の骨、歯のF濃度低下はほぼ親に対して10%の一定率を示すが、そのことは仔の濃度の絶対値は親の濃度に比例して増加することを意味し、あたかも物理化学的経過を思わせる。

14) フィッシュミール群(天然 F 20ppm)と10 ppm 飲用群の比較は, 前者の硬組織F濃度の方が有意に低かった。硬組織を含まない魚肉中のF利用率さえも, 飲料水からのF吸収に劣ることを確認した。

本研究に対して終始御指導を賜った上田喜一教授に深謝し, また貴重な助言と援助を惜しまれなかつた西村正雄助教授, 高江洲義矩講師に感謝します。その他青木講師, 近藤講師, 前橋講師をはじめ教室員諸氏の温い御協力に謝意を表します。さらに低フッ素飼料の作成に關して, 種々の助言を頂いた神奈川歯科大飯塚喜一教授に深く感謝します。

本研究は第17回口腔衛生学会総会(昭和43年7月)に発表した。

参考文献

- 1) Sharpless, G. R. and McCollum, E. V.: Is fluorine an indispensable element in the diet? *J. Nutr.*, 6: 163-178, 1933.
- 2) Maurer, R. L. and Day, H. G.: The non-essentiality of fluorine in nutrition. *J. Nutr.*, 62: 561-573, 1957.
- 3) Evans, R. J. and Phillips, P. H.: A new low fluorine diet and its effect upon the rat. *J. Nutr.*, 18: 353-360, 1939.
- 4) Muhler, J. C.: Retention of fluorine in the skeleton of the rat receiving different levels of fluorine in the diet. *J. Nutr.* 58: 481, 1954.
- 5) Muhler, J. C.: Is fluorine a Dietary Essential? *J. Am. Col. Den.* 25: 287-288, 1958.
- 6) Doberenz, A. R., Kurnick, A. A., Kurtz, E. B. and Reid, B. L.: Effect of a minimal fluoride diet on rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, 117: 689-693, 1964.
- 7) Hudson, J. T., Stooky, G. K. and Muhler, J. C.: The placental transfer of fluoride in the guinea pig. *Archs oral Biol.*, 12: 237-246, 1967.
- 8) Maplesden, D. C., Motzok, I., Oliver, W. T. and Branion, H. D.: Placental transfer of fluorine to the fetus in rats and rabbits. *J. Nutr.*, 71: 70-76, 1960.
- 9) Babeaux, W. L. and Zipkin, I.: Dental aspects of the prenatal administration of fluoride. *J. Oral Therap. and Pharmacol.*, 3: 124-135: 1966.
- 10) Anonymous: Prenatal exposure to fluoride. *Nutrition Reviews*, 25: 330-332, 1967.
- 11) オリエンタル酵母工業株式会社: オリエンタル固型飼料. N. M.
- 12) 飯塚喜一: フッ素に関する衛生学的研究, 第3編 飲料水および食物から摂取したフッ素の吸収および蓄積について, 歯科学報, 64: 726-734, 1964.
- 13) McClendon, J. F.: A method for producing fluoride-free salts and a fluoride-free diet. *J. Dent. Res* 38: 199, 1959.
- 14) Megregian, S.: Chemical analysis, Vol. III. Colorimetric Determination of Nonmetals. pp. 231-239, edited by Boetz D. F., New York 1958.
- 15) 小山良修: 動物実験手技, 105-114, 協同医書出版, 1958.
- 16) Halpern, B. N., et: A. Pacaud: Technique de prélèvement d'échantillons de sang chez les petits animaux de laboratoire par ponction du plexus optalmique. *C. R. Soc. Biol.*, 145, 1465-1466, 1951.
- 17) 飯塚喜一: フッ素に関する衛生学的研究, 第1編 フッ素の定量法に関する研究, 日本衛生学雑誌, 18: 427-438, 1964.
- 18) 高江洲義矩, 近藤武, 上田喜一: 簡易水中フッ素濃度測定法に関する研究(学会抄録), 歯科学報, 66: 484, 1967.
- 19) 高江洲義矩: Alizarin Complexan によるフッ素の微量および超微量定量法とその応用, 口腔衛生学雑誌, 16: 1-20.
- 20) 近藤武, 高江洲義矩: フッソ電極による唾液中フッ素測定およびその臨床的応用(学会抄録), 歯科学報, 69: 44, 1969.
- 21) Singer, L. and Armstrong, W. D.: Determination of fluoride in bone with the fluoride electrode. *Anal. Chem.*, 40: 613-614, 1968.
- 22) McCann, H. G.: Determination of fluoride in mineralized tissues using the fluoride ion electrode. *Archs oral Biol.*, 13: 475-477, 1968.
- 23) Grøn, P., McCann, H. G. and Brudevold, F.: The direct determination of fluoride in human saliva by a fluoride electrode. Fluoride levels in parotid saliva after ingestion of single doses of sodium fluoride. *Archs oral Biol.*, 13: 203-213, 1968.
- 24) Wabeke and Van Eeden: Handleiding voor de toets van Wilcoxon, Report S 176(M 65), Mathematisch Centrum, Statistische Afdeling, Amsterdam, 1955
Cited from Documenta Geigy Scientific Tables(6th ed.) pp. 124-125, 191,
J. R. Geigy S. A., Basel, Switzerland. 1962.
- 25) ① Wilcoxon, F.: Some rapid approximate statistical procedures. *Ann. New York Acad. Sci.* 52: 888-814, 1950.
② 高橋暁正: 順序統計量を用いる簡単な差の検定法, 化学の領域, 増刊, 36: 11-26, 南江堂, 1959.

- 26) 上田喜一ほか：日本の斑状歯クラブ，歯界展望，31：7，1968.
- 27) Leone, N. C., Shimkin, M. B., Arnold, F. A., Stevenson, C. A., Zimmerman, E. R., Geiser, P. A. and Lieberman, S. E. : Medical Aspects of Excessive Fluoride in a Water Supply. Pub. Health Rep. 69 : 925-936, 1954.
- 28) 副島侃二：慢性弗素中毒症に関する研究，日本口腔科学会誌，6：1-29，1957.
- 29) Robinson, R. and Soames, K. M. : The possible significance of hexosephosphoric esters in ossification Biochem. J. 18(3, 4) 740-754, 1924.
- 30) Phillips, P. H., Star, F. J. : A study of respiration and certain reducing substances in chronic fluorosis and scurvy in the guinea pig J. Biol. Chem. : 106 : 41, 1934.
- 31) Robinson, R., and Rosenheim, A.H. : Calcification of hypertrophic cartilage in vitro. J. Biol. Chem. 161 : 53, 1953.
- 32) Fluoride and Human Health, Vol. II. pp. VI. 25-26, WHO. Geneva. 1967 より引用.
- 33) Knouff, R. A., Edwards, L. F., Preston, D. W. and Kitchen, P. C. : Permeability of placenta to fluoride. J. Dent. Res. 15, 291-294, 1936.
- 34) Murray, M. M. : Maternal transference of fluorine J. Physiol, 87 : 388-393, 1936.
- 35) Hadjimarkos, D. M. : Dietary fluoride and fluorosis in Thailand. Amer. J. Pub. Hlth., 56 : 391-392, 1966.