原 著

フッ素摂取量とラット母獣・新生仔の血漿 および骨フッ素濃度に関する研究

A Study of the Relationship between Fluoride Intake and Its Concentrations in Plasma and Bone of Female Rats and Their Newborn Pups

渡 辺 猛*

Takeshi WATANABE*

概要：低フッ素摂取環境下で、母獣ラットの摂取したフッ素が胎仔に移行する様相を検討した。

ウィスター系ラットに低フッ素飼料（F=0.3ppm）と蒸留水を与えて繁殖させた。次代の雌ラットを離乳後、飼料と飲料水のフッ素濃度差によって9群に分けた。すなわち、低フッ素飼料と蒸留水および0.1~10ppmのフッ素濃度の飲料水を投与した8群を0, 0.1, 0.2, 0.5, 1, 2, 5, 10ppm群とし、普通飼料（F=33ppm）と水道水（F=0.1ppm）を投与した群を水道水群と呼んだ。これら各群のラットを交配させ、出産直後に母獣の血漿と大腿骨、新生仔の血漿と下肢骨を試料として採取した。これらの試料について、母獣と新生仔の血漿無機フッ素濃度と骨フッ素濃度を拡散・電極法で測定した。さらに、母獣の血漿総フッ素濃度を灰化・拡散・電極法で測定し、フッ素摂取量とこれらフッ素濃度との関連を検討した。

母獣の血漿無機フッ素濃度と総フッ素濃度は、互いに近似した値を示した。母獣の血漿無機フッ素濃度は、0~1ppm群で2~4ppbの一定レベルにあり、1~10ppm群と水道水群で4ppbから74ppbに変化し、フッ素摂取量に応じて上昇した。新生仔の血漿無機フッ素濃度は全群を通じて2~6ppbのレベルにあった。母獣と新生仔の骨フッ素濃度は、各々7ppmから763ppmに、7ppmから56ppmに変化し、フッ素摂取量に応じて上昇した。

0~1ppm群におけるフッ素摂取量と新生仔の骨フッ素濃度の関連から、低フッ素摂取環境下でラットの胎仔に移行するフッ素量は、母獣のフッ素摂取量を反映することが認められた。これより、ラットの胎盤において、フッ素は単純拡散し受動輸送されと考えられる。また、約3ppbの血漿無機フッ素濃度は、血漿中に最低限必要とされる濃度かもしれない。

ラットの血漿中有機フッ素の存在は、確認できなかった。

索引用語：フッ素、血漿、骨

緒 言

Dean らが飲料水中フッ素濃度とう蝕有病率および斑状歯発症率との関連を発見¹⁻³⁾して以来、う蝕予防を目

的とした水道水フッ化物添加等フッ化物の公衆衛生的な応用が専門機関によって推奨され^{4,5)}、国際的にも広く普及している⁶⁾。そして、現在では、多くの国からフッ化物を全身のあるいは局所的に応用した成果の報告^{7,8)}

* 新潟大学歯学部予防歯科学教室（主任：堀井欣一教授）

* Department of Preventive Dentistry, Niigata University School of Dentistry (Director: Prof. Kin-ichi HORII)

昭和60年7月15日受付

が相次いでいる。

一方、フッ化物応用の普及とともに、フッ素の生体における分布や代謝についても数多くの研究がなされ^{98,10,119)}、かなりの部分が解明されてきている。しかし、今日においても未解決と思われる問題の一つとして、フッ素の胎盤通過性の問題がある。これは、生まれてくる子供のう蝕予防のために妊婦がフッ素を全身応用することの有用性を考える際の判断材料になるとともに、フッ素に対する胎盤の特異な機能の有無を確認することにもなる。

妊婦に対するフッ化物応用の有効性に関する報告は多数ある¹²⁻²⁷⁾が、有効性の有無について未だに見解の一致をみていない²⁸⁾。また、フッ素の胎盤通過性についても多くの報告があり、これらをまとめると次のようになる。①高フッ素地区では、永久歯斑状歯に比べ乳歯斑状歯の発症頻度が低く軽症である²⁹⁻³¹⁾。②出産時の胎盤組織のフッ素濃度が高い³²⁻³⁶⁾。③胎仔に移行したフッ素は硬組織に沈着し^{37,38)}、母体のフッ素摂取量の増大にともなって、胎仔硬組織フッ素濃度は上昇する^{14,39-43)}が、母体に沈着するフッ素量に比べ、胎仔に沈着する量は非常に少ない⁴²⁻⁴⁵⁾。④母体の血液フッ素濃度より、臍帯や胎仔の血液フッ素濃度の方が低い^{34,35,46-50)}。

これらの現象の説明として、胎盤には胎仔にフッ素を安定して供給する特異な機能が存在するとの説^{4b)}と、フッ素は胎盤において単純拡散し胎仔に受動輸送されるにすぎないとする説⁴⁹⁾があり、統一的な見解は未だになされていない^{11b)}。この2説の相違点の1つとして、低フッ素摂取環境下の母体のフッ素摂取量と胎仔に移行するフッ素量に用量反応関係が認められるか否かがあげられる。これに関する研究では、低フッ素摂取環境下で胎仔に移行するフッ素量は母体のフッ素摂取量の多少にかかわらず一定である、との報告^{34,39,42-44)}が見受けられるが、まだ普遍的なものとは言い難い。

以上のべた観点から、低フッ素摂取環境下で繁殖させたラットの母獣・新生仔の血漿および骨フッ素濃度を測定し、フッ素摂取量とこれらフッ素濃度との関連を検討し、興味ある知見を得たので報告する。

実験材料および方法

1. 実験動物と飼育室

実験動物は、新潟大学医学部附属動物実験施設を通じて入手した8週令のウィスター系ラットの雄(体重約260g)20匹と雌(体重約180g)40匹を繁殖させたラットを使用した。ラットの飼育室は、前記の動物実験施設の

Table 1 Components of low fluoride diet and vitamins added to drinking water

a) Low fluoride diet

Substance	%
Flour	68
Skim milk	20
Casein	10
Inorganic salts*	2
NaCl	-1.13
KH ₂ PO ₄	0.39
CaCO ₃	0.35
MgSO ₄	0.10
FePO ₄	0.02
K ₂ Al ₂ (SO ₄) ₂ ·12H ₂ O	-0.01

b) Vitamins added to drinking water

Substance	Amount in 100 ml
Vitamin A	600 I.U.
Vitamin D ₃	120 I.U.
Vitamin B ₂	0.6 mg
Vitamin B ₆	0.8 mg
Vitamin C	3.0 mg
Nicotinic acid	6.9 mg

ラット室である。この飼育室は、空気調節と12時間毎の明暗調節がなされている。

2. 飼料と飲料水

ラットに供した低フッ素飼料は Table 1a の組成⁴⁹⁾で日本クレア社に特別注文した特殊飼料、普通飼料は飼育繁殖用飼料(CE-2, 同社)である。これら飼料中フッ素濃度は、灰化・拡散・電極法による測定の結果、それぞれ0.3ppm と33ppm であった。

ラットに供した飲料水は、蒸留水に NaF 1級試薬(和光純薬社)を加えて、0.1, 0.2, 0.5, 1, 2, 5, 10 ppmF に調製した7溶液と蒸留水と水道水(F≒0.1 ppm)の計9種類である。なお、低フッ素飼料にはビタミンの不足が考えられたので、Table 1b に掲げるビタミンを水道水を除いた飲料水に添加して補給した。

3. 分析器材

電気炉：試料を灰化するためにマッフル炉(NMR 23SK, いすゞ製作所)を使用した。灰化時の試料の汚染防止のため、マッフル炉の扉の中央を穿孔し、灰化時は屋外の空気を注入し換気した⁵¹⁾。

るつぼ：灰化時の試料容器として、32ml 容の蓋付き白金るつぼを使用した。

拡散容器：微量拡散のため、スチロール製の蓋付き容器、87×57×19mm(外室)、の内側に、ひとまわり小

な容器、34×33×10mm（内室）、を接着させた拡散容器⁴⁸⁾を使用した。拡散容器は、外室の一方と他方に2種類の溶液を入れ、蓋をしたのち、これら2液を混和できるようにになっている。

フッ素電極：フッ素の定量にはイオン電極法を用いた。複合フッ素電極（96-09型、オリオン社、以後、電極と略す）をデジタルイオナライザー（901型、同社）に接続して使用した。

4. 試薬

標本固定剤：標本の脱水・固定・保存用に無変性95%アルコール溶液を使用した。

固定剤（3M MgCl₂ 溶液）：灰化法の固定剤として、次のとおり調製した。MgCl₂・6H₂O 特級試薬（和光）80g に蒸留水を加えて400ml にし、HCl 特級試薬（和光）を加えて pH 1 に調整した。通風室内でヘキサメチルジシロキサン（HMDS）最純試薬（半井化学薬品社）3ml を随時加えながら、4時間以上かく拌してフッ素を拡散し除去した。これを煮沸して1/3以下に濃縮し、蒸留水を加えて130ml にした。さらに、NH₄OH 特級試薬（和光）を加えて pH 8 に調整した。数日間放置して得た上清を 3M MgCl₂ 溶液として保存した。

拡散液（2N H₂SO₄ 溶液、1N H₂SO₄ 溶液、2.7M HClO₄ 溶液）：それぞれ血漿、灰化血漿、骨の各試料を拡散法に供するとき使用する拡散液である。これら拡散液を次のとおり調製した。2N H₂SO₄ 溶液は、H₂SO₄ 特級試薬（和光）28ml に蒸留水を加え、1N H₂SO₄ 溶液は H₂SO₄ 特級試薬14ml に同様蒸留水を加えて各々500ml にした。2.7M HClO₄ 溶液は、HClO₄ 特級試薬（和光）226ml に蒸留水を加えて、500ml にした。それぞれ通風室内で HMDS 試薬3ml を随時加えながら、4時間以上かく拌してフッ素を拡散除去した。これらを拡散液として保存した。使用時に、それぞれの必要量を取り、HMDS 試薬 1ml を加えて通風室内で数分間かく拌して HMDS 飽和溶液にした。

捕捉液（0.1N NaOH 溶液）：拡散法の捕捉液として次のように調製した。NaOH 特級試薬（和光）4.2g に蒸留水を加えて500ml にした0.2N NaOH 溶液を蒸留水で等倍に希釈し、捕捉液 0.1N NaOH 溶液として保存した。なお、0.2N NaOH 溶液はフッ素標準液の調製にも使用する。

全イオン強度調整緩衝液：電極法の試料溶液に加える緩衝液として、TISAB III（94-09-11、オリオン社）を使用した。

フッ素標準液：電極法の検量線作成用標準液を次のよ

うに調製した。NaF 特級試薬（和光）1.105g に蒸留水を加えて500ml にしたものを1000ppmF 溶液とした。この溶液を蒸留水で希釈して、4, 10, 20, 40, 100, 200, 400ppbF, 1, 2, 4, 10, 20, 40, 100, 200, 400 ppmF の溶液例を作った。この溶液列と0.2N NaOH 溶液を等量ずつ混合して、2, 5, 10, 20, 50, 100, 200, 500 ppbF, 1, 2, 5, 10, 20, 50, 100, 200 ppmF・0.1N NaOH の溶液列を作り保存した。使用時は、これら溶液と TISAB III を 10:1 の割合で混合して標準液とした。

5. 飼育

ラットは3週令で離乳可能となり、初発情期が8週令、繁殖適令期が12週令、性周期が4日、妊娠期間が21, 22日間であることを参考にして、ラットの飼育計画をたてた。雌ラットの飼育計画を Fig. 1 に示す。

Fig. 1 Time schedule for breeding female rats

購入した8週令の初代雌ラットに低フッ素飼料と蒸留水を与えた。1週間の予備飼育後、雄1匹と雌2匹の組み合わせで同居させ、妊娠を確認した時点で別居させた。出生した仔を1代ラットとして、同様低フッ素飼料で飼育した。3週令で離乳した1代雌ラットは、Table 2 に示すように、飼料と飲料水のフッ素濃度差によって9群に分けた。すなわち、低フッ素飼料と蒸留水および0.1~10ppm のフッ素濃度の飲料水を投与した8群を0, 0.1, 0.2, 0.5, 1, 2, 5, 10ppm 群とし、普通飼料と水道水を投与した群を水道水群と呼んだ。1代雌ラットは、12週令時に、0代と同様に雄と雌を1:2の割合で同居させた。同居期間は、最大7週間を設けた。同居期間外の雄ラットには、普通飼料と水道水を与えた。なお、飼育期間中の飼料と飲料水の摂取は自由にさせ、1代雌ラットの飼料と飲料水の消費量および体重を適時測定した。

6. 試料の採取

1代雌ラットの出産時期には、1日2回午前7時と午後6時に出産の有無を確認し、新生仔の血漿と下肢骨、母獣の血漿と大腿骨と下顎切歯の各試料を次のとおり

Table 2 Estimated fluoride intake of 11 week-old virginal rats

Group	Diet	Drinking water	Fluoride intake*6 (mg/kg BW*7/day)		
			Source		Total intake
			Diet	Drinking water	
0 ppm	Low*1	D.W.*3	0.02	0.00	0.02
0.1 ppm	Low	0.1 ppmFsol.*4	0.02	0.01	0.03
0.2 ppm	Low	0.2 ppmFsol.	0.02	0.02	0.04
0.5 ppm	Low	0.5 ppmFsol.	0.02	0.05	0.07
1 ppm	Low	1 ppmFsol.	0.02	0.11	0.13
2 ppm	Low	2 ppmFsol.	0.02	0.21	0.23
5 ppm	Low	5 ppmFsol.	0.02	0.53	0.55
10 ppm	Low	10 ppmFsol.	0.02	1.05	1.07
Tap water	Ordinary*2	Tap water*5	2.11	0.01	2.12

*1: Low fluoride diet (F=0.3 ppm)

*2: Ordinary breeding diet (F=33 ppm)

*3: Distilled water

*4: Solution

*5: F=0.1 ppm

*6: It is calculated on the assumption that the rat weighs 219 g and takes in 14 g of diet and 23ml of drinking water per day.

*7: Body weight

うな手順で採取した。

新生仔の血漿試料: 出産の確認後ただちに新生仔を母獣一腹単位に断首屠殺し、ヘパリン溶液0.1ml 入りの容器に採血し、氷冷し遠沈した。上清 1 ml を拡散容器外室に移しとり、凍結保存した。

新生仔の骨試料: 母獣一腹単位の新生仔の屍体を95%アルコール溶液に1週間浸漬し、脱水・固定した。下肢を切断し、熱湯で10分間煮沸したのち、軟組織と骨端を除去して、大腿骨と脛骨の骨体を採取し乾燥保存した。

母獣の血漿試料: 出産確認後2時間断食させ、エーテル麻酔下で断首屠殺し、ヘパリン溶液0.1ml 入り容器に採血した。氷冷し遠沈した上清を拡散容器外室に1 ml、スピッツ管に3 ml 移しとり、凍結保存した。

母獣の骨試料: 母獣から左大腿骨を切断した。新生仔骨と同様に脱水・固定し、煮沸後、軟組織と骨端を除去して得た大腿骨の骨体を粉碎し、乾燥保存した。

母獣の下顎切歯試料: 母獣の屍体から下顎切歯を抜去してアルコール保存をした。

7. 血漿無機フッ素濃度の測定

Guy (1979)⁵¹⁾ は、ヒトの血漿中フッ素についての総説の中で、ヒトの血漿無機フッ素濃度の通常値は8~30ppbの範囲にあり、拡散・電極法と抽出・電極法は、その測定値がこの通常値の範囲内にあることにより、血

漿無機フッ素濃度の正確な測定法であろうとのべている。今度の実験では、母獣と新生仔の血漿無機フッ素濃度測定に、Guy (1972)⁵¹⁾ と Whitford (1979)⁵²⁾ の報告を参考にした拡散・電極法を採用した。測定精度の確認のため、基礎試験として、電極法の回収試験、拡散・電極法のブランク試験、回収試験、添加回収試験を試料の測定と並行して行なった。

拡散容器の外室に入れて凍結保存した母獣もしくは新生仔の血漿試料 1 ml に、蒸留水 2 ml を加えて室温で解氷し、外室の他方に拡散液として 2N H₂SO₄ 溶液 3 ml を入れ、内室に捕捉液として 0.1N NaOH 溶液 1 ml を入れた。蓋をして外室の内容物を混和し、室温で一昼夜放置後、捕捉液に TISAB III 0.1ml を加えて試験液とした。予備実験等の結果から各試験液について予測フッ素濃度を設定し、これに近接したフッ素濃度の高低2種の標準液と試験液の3溶液を1群として、低濃度から高濃度に向かうように順に電極電位を測定した。なお、試験液の予測フッ素濃度が 2ppb 未満の場合は、2ppbF と 5ppbF の2種の標準液とともに電極電位を測定した。電極電位の測定にあたり、溶液に電極を浸漬してから5分毎の電位を記録し、5分間の電位変動が-0.5~+0.3mV の範囲内にあるとき、電極電位が安定したとみなしてその電位を採用した。2種の標準液のフッ

素濃度と電極電位および試験液の電極電位を Nernst の方程式⁵⁹⁾に代入して試験液のフッ素濃度を算出した。このフッ素濃度 (ppb) から試料のフッ素検出量 (ng) を求め、ブランクと添加回収試験の回収率をもとに補正を加えたのち、血漿試料量 (mL) から血漿無機フッ素濃度 (ppb) を算出した。

8. 血漿総フッ素濃度の測定

前記の Guy (1979)¹¹⁰⁾ は、ヒトの血漿中フッ素についての総説の中で、血漿総フッ素濃度の測定法は、未だにヒトの血漿総フッ素濃度の通常値を決定するまでに至っておらず、まだ十分に確立した方法とは言い難いとのべている。今度の実験では、母獣の血漿総フッ素濃度測定に、Guy (1972)⁵¹⁾ の報告を参考にした灰化・拡散・電極法を採用した。新生仔の血漿総フッ素濃度は、血漿試料量が十分でなかったため測定しなかった。測定精度の確認のため、基礎試験として、ブランク試験、回収試験、添加回収試験を試料の測定と並行して行なった。

スピッツ管に入れて凍結保存した母獣の血漿試料 3 mL を温湯で解氷してろつばに移し、蒸留水 1 mL でスピッツ管を洗浄した液もろつばに移した。ろつばに固定剤として 3M MgCl₂ 溶液 0.2 mL を加えて混和した。ろつばを通風室内のホットプレートで 1 時間加熱乾燥後、電気炉にて 600°C で 2 時間灰化した。灰化終了後、ろつば内の灰分収集前後および洗浄後のろつばを秤量することによって、その収集率を求めた。拡散容器の外室の一方に灰分を入れ、他方に拡散液として 1N H₂SO₄ 溶液 3 mL を入れ、内室に捕捉液として 0.1N NaOH 溶液 1 mL を入れた。血漿無機フッ素濃度の測定と同様に、蓋をして外室の内容物を混和し、室温で一昼夜放置後、捕捉液に TISAB III 0.1 mL を加えて試験液とした。通法どおり試験液群の予測フッ素濃度を設定し、その範囲を十分におおうフッ素濃度範囲の標準液群を準備し、標準液と試験液の溶液群を低濃度から高濃度に向かうように順に電極電位を測定した。電位から試験液のフッ素濃度 (ppb)、試料のフッ素検出量 (ng) を求め、灰分の収集率とブランクと添加回収試験の回収率をもとに補正を加え、血漿試料量 (mL) から血漿総フッ素濃度 (ppb) を算出した。

9. 骨フッ素濃度の測定

母獣と新生仔の骨フッ素濃度測定に、小林 (1982)⁴⁸⁾ の報告を参考にした拡散・電極法を採用した。測定精度を確認するため、基礎試験として、ブランク試験、回収試験、添加回収試験を試料の測定と並行して行なった。

拡散容器の外室の一方に乾燥保存した母獣の骨試料

10~50mg もしくは新生仔の骨試料全量を入れ、外室の他方に拡散液として 2.7M HClO₄ 溶液 3 mL を入れ、内室に捕捉液として 0.1N NaOH 溶液 2 mL を入れた。蓋をして外室の内容物を混和し、孵卵器中で 50°C で 1 時間加温後、室温で一昼夜放置した。捕捉液に TISAB III 0.2 mL を加えて試験液とした。試験液のフッ素濃度の測定は、血漿総フッ素濃度の測定と同様にして行なった。試験液のフッ素濃度 (ppm) から試料のフッ素検出量 (μg) を求め、添加回収試験の回収率をもとに補正を加え、骨試料量 (mg) から骨フッ素濃度 (ppm) を算出した。

10. 歯牙の色調

母獣の下顎切歯試料の色調を肉眼で観察した。

11. 統計的手法

データの平均値の差の統計的有意性検定として、F-test, t-test, Cochran-Cox の近似式⁵⁴⁾を用いた。単回帰分析として分散分析を用いた。単相関分析として相関係数を求め、その意義の検定を行なった。これらの検定において、危険率が 5%未満のとき統計的な有意性を認めた。

結 果

1. 推定フッ素摂取量

11週令の 1 代処女ラット 163 匹中、体重測定を行なった 102 匹の平均体重は 219 ± 18g (M ± SD) で、体重にフッ素摂取条件と対応した特定の関連は認められない。ケージ毎に測定した 11週令の 1 代処女ラット 97 匹の 1 匹 1 日当たりの平均飼料消費量は 14g、飲料水消費量は 23 mL で、これらの消費量にフッ素摂取条件と対応した特定の関連は認められない。これらの結果より、11週令 1 代処女ラットのフッ素摂取量は、例えば 0, 1, 10 ppm 群、水道水群において、それぞれ 0.02, 0.13, 1.07, 2.12 mg/kg 体重/日と推定した (Table 2)。妊娠期間中は、体重、飼料消費量、飲料水消費量ともに増大したが、14~21週令 1 代妊娠ラットの単位体重当たり推定フッ素摂取量は、11週令 1 代処女ラットとほぼ等量であった。

2. 母獣一腹当たりの新生仔数

ラットの母獣と新生仔を 158 組得た (Table 3)。1 代母獣の出産後体重の平均値は 258~279g の範囲にあり、母獣一腹当たりの新生仔数の平均値は 10.8~14.3 匹の範囲にあり、これらにフッ素摂取量と対応した特定の関連は認められない。

Table 3 Body weight of female rats after delivery and litter size

Group	N	Body weight g Mean±SE	Litter size (live born) Mean±SE
0 ppm	19	258 ± 3	12.4 ± 0.7
0.1 ppm	18	259 ± 4	12.1 ± 0.8
0.2 ppm	17	272 ± 7	13.2 ± 0.5
0.5 ppm	18	273 ± 6	14.3 ± 0.4
1 ppm	18	279 ± 6	12.9 ± 0.6
2 ppm	19	264 ± 5	11.0 ± 0.9
5 ppm	16	274 ± 7	13.8 ± 0.9
10 ppm	16	276 ± 6	14.0 ± 0.9
Tap water	17	275 ± 7	10.8 ± 1.4

N : Number of samples

SE : Standard error

3. 血漿および骨試料の量

母獣ラットと母獣一腹単位の新生仔から採取した血漿試料と骨試料の量は、次のとおりであった。

母獣の血漿試料として4mlを採取できたものが150例あり、3.9ml以下のものが8例、最少量が2.9mlであった。母獣の骨試料は、全158例において測定に十分な量であった。また、新生仔の血漿試料として1mlを採取できたものが73例あり、0.9ml以下のものが85例、最少量が0.3mlであった。新生仔の骨試料量の平均は45mgで、範囲は5～70mgであった。

4. 血漿無機フッ素濃度**1) 測定法の基礎試験成績**

血漿無機フッ素濃度の測定法の基礎試験を行ない、次のような成績を得た。

電極法の回収試験：0.1N NaOH・NaF溶液1mlとして与えた1～50ngの範囲の基礎フッ素量について行なった。平均回収率は103%、最低量の1.0ngを除いて変異係数は18%以下で、基礎フッ素量5.0ng以上では10%以下であった（Table 4）。

拡散・電極法のブランク試験：94例のブランクの測定結果は $5.1 \pm 2.3 \text{ ngF}$ (M±SD)，範囲は0.9～13.6ngFであった。

拡散・電極法の回収試験：NaF溶液1mlとして与えた4～100ngの基礎フッ素量について行ない、平均回収率は97%、変異係数は19%以下であった（Table 5）。

拡散・電極法の添加回収試験：ヒトの保存血漿1mlに10～100ngのフッ素量をNaF溶液1mlとして添加し、添加回収試験を行なった。検出量の変異係数は11%

Table 4 Recovery of fluoride in analysis with an electrode (n=4)

Original amount, ng	Amount found (Amount recovered)		
	Mean ± SD, ng	%	CV, %
1.0	1.0 ± 0.3	100	30
2.0	2.4 ± 0.4	120	17
3.5	3.8 ± 0.7	109	18
5.0	5.9 ± 0.6	118	10
7.5	7.0 ± 0.4	93	6
10.0	10.5 ± 1.0	105	10
15.0	14.7 ± 1.1	98	7
20.0	19.0 ± 0.4	95	2
35.0	34.4 ± 0.9	98	3
50.0	48.6 ± 1.0	97	2

SD : Standard deviation

CV : Coefficient of variation

Table 5 Recovery of fluoride in analysis with an electrode following H₂SO₄-diffusion procedures (n=4)

Original amount, ng	Amount found (Amount recovered)		
	Mean±SD, ng	%	CV, %
4.0	4.4 ± 0.6	110	14
10.0	9.6 ± 1.8	96	19
20.0	18.5 ± 1.2	93	6
40.0	35.1 ± 3.8	88	11
100.0	100.0 ± 0.6	100	1

以下、平均回収率は97%、回収量の変異係数は16%以下であった（Table 6）。

なお、ヘパリン溶液中フッ素濃度は、電極法による測定の結果6.6ppbであったが、使用時に希釈され測定値に与える影響は極めてわずかであることが想定されたため、ヘパリン溶液中のフッ素は考慮の対象としなかった。

2) 母獣と新生仔の血漿無機フッ素濃度

母獣と新生仔の血漿無機フッ素濃度を測定したとき、フッ素の検出量が未補正值においてブランクの平均値を下回る試料が母獣では0 ppm群と0.2 ppm群に1～2例、新生仔では水道水群も含めて全群に2、3例ずつ認められた。これらの未補正值の下限は2.5ngFであり、ブランクの分布の大体1SDの範囲内にあった。したがって、これら28例の血漿無機フッ素濃度を0 ppbとして処理し、母獣と新生仔の血漿無機フッ素濃度を求めた（Table 7, Fig. 2）。

Table 6 Recovery of fluoride added to 1ml of human plasma in analysis with an electrode following H_2SO_4 -diffusion procedures (n = 4)

Original amount Mean $\pm$ SD, ng	Amount added ng	Amount found		Amount recovered		
		Mean $\pm$ SD, ng	CV, %	ng	%	CV, %
3.4 $\pm$ 0.6	10.0	11.7 $\pm$ 1.3	11	8.3	83	16
3.4 $\pm$ 0.6	20.0	24.8 $\pm$ 2.7	11	21.4	107	13
3.4 $\pm$ 0.6	40.0	43.3 $\pm$ 1.5	3	39.9	100	4
3.4 $\pm$ 0.6	100.0	100.1 $\pm$ 1.6	2	96.7	97	2

Table 7 Inorganic fluoride concentrations in plasma of female rats and their newborn pups

Group	N	Females ppb Mean $\pm$ SE	Pups ppb Mean $\pm$ SE	Difference
0 ppm	19	2.2 $\pm$ 0.5 _{NS}	3.1 $\pm$ 0.8 _{NS}	NS
0.1 ppm	18	2.9 $\pm$ 0.6 _{NS}	2.8 $\pm$ 0.8 _{NS}	NS
0.2 ppm	17	2.6 $\pm$ 0.4 _{NS}	2.4 $\pm$ 0.5 _{NS}	NS
0.5 ppm	18	3.0 $\pm$ 0.5 _{NS}	2.0 $\pm$ 0.7 _{NS}	NS
1 ppm	18	3.6 $\pm$ 0.5 _{***}	2.6 $\pm$ 0.6 _{NS}	NS
2 ppm	19	8.2 $\pm$ 0.6 _{***}	2.4 $\pm$ 0.8 _{NS}	***
5 ppm	16	14.2 $\pm$ 0.8 _{***}	6.0 $\pm$ 1.5 _{NS}	***
10 ppm	16	30.4 $\pm$ 2.1 _{***}	5.9 $\pm$ 1.5 _{NS}	***
Tap water	17	73.8 $\pm$ 5.2 _{***}	4.1 $\pm$ 0.8 _{NS}	***

NS : No significance

*** : $P < 0.001$ **Fig. 2** Inorganic fluoride concentrations in plasma of female rats and their newborn pups

母獣の血漿無機フッ素濃度の平均値は、0, 0.1, 0.2, 0.5, 1ppm 群の5群において2.2~3.6ppb の範囲にあ

り、フッ素摂取量の増大とともに、母獣の血漿無機フッ素濃度の上昇する傾向は認められない。しかし、1, 2, 5, 10ppm 群と水道水群の5群の間では、フッ素摂取量の増大とともに、血漿無機フッ素濃度の平均値が3.6ppb から73.8ppb に変化した。これら5群の平均値間の差には、 $P < 0.001$ の高度の有意性が認められる。一方、新生仔の血漿無機フッ素濃度の平均値は、全群を通じて2.0~6.0ppb の範囲にあり、フッ素摂取量が増大しても、新生仔の血漿無機フッ素濃度の上昇する傾向は認められない。

また、2, 5, 10ppm 群と水道水群の4群において、母獣の血漿無機フッ素濃度の平均値が新生仔の血漿無機フッ素濃度の平均値より高い値を示し、両者間に高度の有意性が認められる。特に10ppm 群で5倍、水道水群で18倍の濃度比を示した。

5. 血漿総フッ素濃度

1) 測定法の基礎試験成績

灰化・拡散・電極法の基礎試験を行ない、次ののべる

Table 8 Recovery of fluoride in analysis with an electrode following ashing and diffusion procedures (n=4)

Original amount, ng	Amount found (Amount recovered)		
	Mean $\pm$ SD, ng	%	CV, %
30.0	25.2 $\pm$ 3.8	84	15
60.0	57.3 $\pm$ 5.8	96	10
120.0	112.4 $\pm$ 9.6	94	9
300.0	277.0 $\pm$ 12.6	92	5

ような成績を得た。

ブランク試験：61例のブランクの測定結果は、18.0 $\pm$ 5.0ngF (M $\pm$ SD), 範囲は10.3~29.8ngF であった。

回収試験：NaF 溶液 3ml として与えた30~300ng の基礎フッ素量について行なった。平均回収率は91%, 変異係数は15%以下であった (Table 8)。

添加回収試験：ラットとヒトの保存血漿 3ml に30~300ng のフッ素量を NaF 溶液0.3ml として添加し, 添加回収試験を行なった。検出量の変異係数は17%以下, 平均回収率は89%, 回収量の変異係数は32%以下であっ

た (Table 9)。

2) 母獣の血漿総フッ素濃度

母獣の血漿総フッ素濃度を測定したとき, フッ素の検出量が未補正值においてブランクの平均値を下回る試料が, 0.1ppm 群と0.5ppm 群に1例ずつ認められた。血漿無機フッ素濃度と同様に, この2例の血漿総フッ素濃度を0ppb として処理した。母獣の血漿総フッ素濃度の測定結果を無機フッ素濃度と対比させ, Table 10 と Fig. 3 に示した。

母獣の血漿総フッ素濃度と無機フッ素濃度は, 0, 0.5, 1, 5ppm 群の4群で両者の平均値の差に有意性を認めるが, その差はわずかであり, 両者は全群を通じて極めて近似していることが認められる。

6. 骨フッ素濃度

1) 測定法の基礎試験成績

拡散・電極法の基礎試験を行ない, 次ののべるような成績を得た。

ブランク試験：12例のブランクの測定結果は, 6.9 $\pm$ 1.6ngF (M $\pm$ SD), 範囲は5.0~10.0ngF であった。

回収試験：NaF 溶液0.1ml として与えた0.2~40 μ g

Table 9 Recovery of fluoride added to 3ml of plasma in analysis with an electrode following ashing and diffusion procedures

Source	Original amount, ng	Amount added ng	Amount found ng		Amount recovered		
	Mean $\pm$ SD (n)		Mean $\pm$ SD (n)	CV, %	ng	%	CV, %
Rat	19.3 $\pm$ 5.6(3)	30.0	44.3 $\pm$ 5.0(4)	11	25.0	83	20
Human	46.5 $\pm$ 5.4(4)	60.0	101.2 $\pm$ 17.3(4)	17	54.7	91	32
Human	46.5 $\pm$ 5.4(4)	120.0	145.7 $\pm$ 9.5(4)	7	99.2	83	10
Human	46.5 $\pm$ 5.4(4)	300.0	340.5 $\pm$ 6.4(4)	2	294.0	98	2

Table 10 Fluoride concentrations in rat plasma determined by ashing (total F) and other (inorganic F) procedures

Group	N	Total F ppb Mean $\pm$ SE	Inorganic F ppb Mean $\pm$ SE	Difference
0 ppm	19	3.7 $\pm$ 0.6	2.2 $\pm$ 0.5	P < 0.05
0.1 ppm	18	3.6 $\pm$ 0.5	2.9 $\pm$ 0.6	NS
0.2 ppm	17	3.4 $\pm$ 0.4	2.6 $\pm$ 0.4	NS
0.5 ppm	18	4.9 $\pm$ 0.5	3.0 $\pm$ 0.5	P < 0.05
1 ppm	18	5.1 $\pm$ 0.5	3.6 $\pm$ 0.5	P < 0.01
2 ppm	19	8.6 $\pm$ 0.6	8.2 $\pm$ 0.6	NS
5 ppm	16	18.7 $\pm$ 1.2	14.2 $\pm$ 0.8	P < 0.001
10 ppm	16	30.9 $\pm$ 2.0	30.4 $\pm$ 2.1	NS
Tap water	17	72.4 $\pm$ 4.3	73.8 $\pm$ 5.2	NS

Fig. 3 Fluoride concentrations in rat plasma determined by ashing (total F) and other (inorganic F) procedures

の基礎フッ素量について行なった。平均回収率は106%, 変異係数は4%以下であった (Table 11)。

添加回収試験: ラットの大腿骨試料29.2~35.3mg に0.4~40 μ g のフッ素量を NaF 溶液0.1ml/ として添加し, 添加回収試験を行なった。平均回収率は110%, 回収量の変異係数は2%であった (Table 12)。

なお, ブランク6.9ngF が骨試料のフッ素検出量0.1~4.8 μ gF に比べ極めて低いレベルにあったので, ブランク補正を行なう必要性は認められない。

Table 11 Recovery of fluoride in analysis with an electrode following HClO_4 -diffusion procedures (n=4)

Original amount, μ g	Amount found (Amount recovered)		
	Mean $\pm$ SD, μ g	%	CV, %
0.20	0.22 $\pm$ 0.00	110	0
0.40	0.41 $\pm$ 0.01	103	3
1.00	1.00 $\pm$ 0.04	100	4
2.00	2.07 $\pm$ 0.06	104	3
4.00	4.35 $\pm$ 0.06	109	1
10.00	11.05 $\pm$ 0.17	111	2
20.00	20.62 $\pm$ 0.49	103	2
40.00	42.47 $\pm$ 0.60	106	1

Table 12 Recovery of fluoride added to 29.2-35.3 mg of rat femur in analysis with an electrode following HClO_4 -diffusion procedures (n=4)

Original concentration Mean $\pm$ SD, ppm	Amount added μ g	Amount recovered		
		Mean $\pm$ SD, μ g	%	CV, %
7.42 $\pm$ 0.30	0.40	0.43 $\pm$ 0.01	108	2
7.42 $\pm$ 0.30	4.00	4.48 $\pm$ 0.10	112	2
7.42 $\pm$ 0.30	40.00	44.01 $\pm$ 1.10	110	2

2) 母獣と新生仔の骨フッ素濃度

母獣と新生仔の骨フッ素濃度を測定し, Table 13 の

Table 13 Bone fluoride concentration in females rats and their newborn pups

Group	N	Females ppm Mean $\pm$ SE	Pups ppm Mean $\pm$ SE	Difference	Females : Pups
0 ppm	19	7.3 $\pm$ 0.3 ^{***}	6.7 $\pm$ 0.5 ^{NS}	NS	1 : 1
0.1 ppm	18	13.3 $\pm$ 0.4 ^{***}	7.2 $\pm$ 0.5 ^{NS}	***	2 : 1
0.2 ppm	17	19.4 $\pm$ 0.6 ^{***}	8.8 $\pm$ 0.8 ^{NS}	***	2 : 1
0.5 ppm	18	35.8 $\pm$ 1.1 ^{***}	9.5 $\pm$ 0.8 ^{NS}	***	4 : 1
1 ppm	18	60.4 $\pm$ 1.7 ^{***}	10.1 $\pm$ 0.8 ^{NS}	***	6 : 1
2 ppm	19	118.5 $\pm$ 3.6 ^{***}	14.2 $\pm$ 0.8 ^{***}	***	8 : 1
5 ppm	16	278.2 $\pm$ 7.7 ^{***}	27.9 $\pm$ 2.6 ^{***}	***	10 : 1
10 ppm	16	569.5 $\pm$ 17.1 ^{***}	40.7 $\pm$ 2.6 ^{***}	***	14 : 1
Tap water	17	762.5 $\pm$ 23.9 ^{***}	55.6 $\pm$ 3.6 ^{***}	***	14 : 1

NS : No significance

* : $P < 0.05$

** : $P < 0.01$

*** : $P < 0.001$

Fig. 4 Bone fluoride concentrations in female rats and their newborn pups

結果を得た。骨フッ素濃度を対数軸にとって図示したものが Fig. 4 である。母獣の骨フッ素濃度の平均値は、フッ素摂取量の増大にともなって、7.3ppm から762.5 ppm に変化した。これら各群の平均値の差には $P < 0.001$ の高度の有意性が認められる。一方、新生仔の骨フッ素濃度の平均値は、フッ素摂取量の増大にともなって、6.7ppm から55.6ppm に変化した。このうち、0, 0.1, 0.2, 0.5, 1ppm 群の5群の平均値の差には、隣接群間に有意性が認められないが、この5群におけるフッ素摂取量に対する新生仔の骨フッ素濃度の回帰は $P < 0.01$ で有意である。1, 2, 5, 10ppm 群と水道水群の5群の平均値の差には有意性が認められる。よって、新生仔の骨フッ素濃度は、全群を通じてフッ素摂取量の増大にともなう上昇傾向がみられた。

また、0 ppm 群を除く8群において、母獣の骨フッ素濃度が新生仔の骨フッ素濃度より高い値を示し、両者の平均値の差に $P < 0.001$ の高度の有意性が認められる。特に5 ppm 群で10倍、10ppm 群と水道水群で14倍の濃度比を示した。

7. 歯牙の色調

母獣の下顎切歯試料の色調は、肉眼観察の結果、全群を通じてほぼ一様で、歯牙の色調に群間の差は認められなかった。

考 察

1. フッ素の分析法

1) 血漿フッ素濃度の測定法

フッ素の分析法として、Frant (1966)⁵³⁾ が電極法を、Taves (1968)⁵⁵⁾ がシリコン拡散法を、Fresen (1968)⁵⁶⁾ がシリコン抽出法を開発し、Taves (1968)⁵⁷⁾ がヒトの血清中に無機型以外に灰化して初めて分離できる有機型のフッ素の存在を発見して以来、血液中のフッ素についての解明が進んでいる。今度の実験では、血漿無機フッ素濃度測定に、拡散・電極法を用い、血漿総フッ素濃度測定には、灰化・拡散・電極法を用いた。これらの測定法の基礎試験成績を詳細に記載しているものとして、Guy (1972)⁵¹⁾ の報告があげられる。

血漿無機フッ素濃度測定において、Guy は、ブランクが45例で $3.4 \pm 1.5 \text{ ngF}$ ($M \pm SD$)、回収試験の回収率が2~200ngF の範囲で95%、血漿試料を3回繰り返し測定するときの変異係数が、検出量10~19ngF において9%、19~38ngF において6%であったと報告している。今度の成績は、ブランクが $5.1 \pm 2.3 \text{ ngF}$ 、回収試験の回収率が4~100ngF の範囲で97% (Table 5)、血漿試料を4回繰り返し測定するとき、検出量12~100 ngF において変異係数は2~11%の範囲にあり、検出量の増大とともに変異係数は低下した (Table 6)。

また、血漿総フッ素濃度測定において、Guy は、ブランクが20例で $8.6 \pm 2.7 \text{ ngF}$ 、回収試験の回収率が2~200ngF の範囲で93%、血漿試料を3回繰り返し測定するときの変異係数が、検出量103ngF において8%であったと報告している。なお、この変異係数について、Taves (1968)⁵⁷⁾ は検出量836ngF において8%、Singer ら (1969)⁵⁸⁾ は検出量380ngF において9%と報告している。今度の成績は、ブランクが $18.0 \pm 5.0 \text{ ngF}$ 、回収試験の回収率が30~300ngF の範囲で91% (Table 8) であった。血漿試料を4回繰り返し測定するとき、検出量101ngF において変異係数は17%と大きかったが、検出量が44, 146, 341ngF において変異係数は2~11%の範囲にあった (Table 9)。

今度の血漿フッ素濃度測定の成績は、これらの成績と大体一致したので、測定精度は一応満足できるものであろうと考えられる。

2) 骨フッ素濃度の測定法

今度の実験では、骨フッ素濃度測定に拡散・電極法を用いた。精度確認のための基礎試験の成績は、ブランクが $6.9 \pm 1.6 \text{ ngF}$ ($M \pm SD$)、回収試験と添加回収試験による回収率が各々106, 110%、回収量の変異係数がいずれの試験においても4%以下であった (Table 11, 12)。

このような微量フッ素量の範囲の骨フッ素濃度測定法の

報告は見当たらない。今度の成績は、ブランク、回収率、変異係数とも良好な値を示したので、測定精度は満足できるものであろう。

2. 母獣・新生仔の血漿および骨フッ素濃度

1) 母獣の血漿中有機フッ素

今度の実験で、母獣の血漿総フッ素濃度と無機フッ素濃度は極めて近似していた (Table 10, Fig. 3)。

Taves (1971)⁵⁹⁾ は、低フッ素食と高フッ素食 (フッ素摂取量は明示されていない) を与えたラットの血清フッ素濃度を測定し、血清無機フッ素濃度はそれぞれ19, 228ppb であったが、血漿総フッ素濃度と無機フッ素濃度の差はいずれも6ppb 未満であり、ラットの血清中に有機フッ素はほとんど存在しないと報告している。しかし、ラットの血清や血漿中有機フッ素が31~85%存在するとの報告^{60, 61)}もある。今度の実験では、ラットの血漿中有機フッ素の存在を確認できなかった。

一方、ヒトにおいて Guy ら (1976)⁶²⁾ は、飲料水フッ素濃度が0.1ppm 以下、1ppm, 5.6ppm の3地区の住民の血漿無機フッ素濃度がそれぞれ7, 17, 82ppb であるのに対し、血漿総フッ素濃度から無機フッ素濃度を減じた有機フッ素濃度は、23, 30, 21ppb であったと報告している。Belisle (1981)⁶³⁾ も同様に、飲料水フッ素濃度が異なっても、それにとまってヒトの血漿有機フッ素濃度が変化しないことを報告している。これらのことより、ヒトの血漿中有機フッ素は、摂取した無機フッ素から体内で合成されたものではなく、外来の食物等からそのままの形で摂取されたものと考えられている^{11d, 62, 63)}。

2) 母獣の血漿無機フッ素濃度

今度の実験で、母獣の血漿無機フッ素濃度は、0, 0.1, 0.2, 0.5, 1ppm 群の5群において2.2~3.6ppb の一定レベルにあり、1, 2, 5, 10ppm 群、水道水群の5群において3.6ppb から73.6ppb に変化した (Table 7, Fig. 2)。これより、フッ素摂取量の増大にともなって母獣の血漿無機フッ素濃度が2~4ppb の一定レベルから上昇傾向に転ずる点が、1ppm 群と2ppm 群の間にあると考えられる。

Angmar ら (1984)⁶⁴⁾ は、3週令のラットに低フッ素飼料 (F=0.5ppm) と0~60ppm のフッ素濃度の飲料水を与えて飼育し、11週令時の雄と不妊の雌ラットの血漿無機フッ素濃度を測定している。ただし、採血前に断食期間を設けていない。血漿無機フッ素濃度を図から読み取ると、飲料水フッ素濃度が0, 10, 25, 60ppm の群でそれぞれ10ppb 以下、57, 130, 240ppb であり、フッ素摂取量の増大にともなってラットの血漿無機フッ素濃

度の上昇することを報告している。ここで、飲料水フッ素濃度が10ppm の群の血漿無機フッ素濃度が57ppb で、今度の結果の30ppb より高濃度を示すことの理由としては、採血前の断食の有無^{65, 66)}等の条件の差異によるものと考えられる。この他にも、フッ素摂取量の増大にともなってラットの血漿無機フッ素濃度が上昇するとの報告が多数認められる^{11e, 52, 60, 61, 65-69)}。しかし、今度の実験のような低フッ素摂取環境下のラットにおいて、フッ素摂取量と血漿無機フッ素濃度の関連を観察した報告は見当たらない。

一方、ヒトにおいては、水道水フッ素濃度が0.2, 1ppm の両地区の入院患者の血漿無機フッ素濃度がそれぞれ17, 25ppb で有意差ありとする報告⁷⁰⁾や、飲料水フッ素濃度が0.1ppm 以下と1ppm の両地区住民の血漿無機フッ素濃度がそれぞれ7, 17ppb で有意差ありとする報告⁶²⁾があり、飲料水フッ素濃度の上昇にともなってヒトの血漿無機フッ素濃度の上昇することが認められている。

3) 新生仔の血漿無機フッ素濃度

今度の実験で、母獣一腹単位の新生仔ラットの血漿無機フッ素濃度は全群を通じて2.0~6.0ppb のレベルにあった (Table 7, Fig. 2)。

動物やヒトの母体にフッ素を一過性に投与して胎仔 (児) の血液フッ素濃度の経時変化を観察した報告^{35, 46-48, 71)}や、ヒトの通常の出産時の母親と臍帯の血液フッ素濃度を観察した報告^{34, 36, 49, 50, 72)}は認められるものの、今度の実験のように長期間にわたって母体のフッ素摂取を制限して新生仔の血液フッ素濃度を観察した報告は見当たらない。

4) 母獣の骨フッ素濃度

今度の実験で、母獣の大腿骨フッ素濃度は、フッ素摂取量の増大にともなって7.3ppm から762.5ppm に変化した (Table 13, Fig. 4)。

鈴木 (1969)⁴²⁾ は、離乳仔ラットに低フッ素飼料 (F=0.45ppm) と0~50ppm のフッ素濃度の飲料水を与えて11週間飼育し、大腿骨フッ素濃度を測定している。飲料水フッ素濃度が0, 0.5, 1, 10, 50ppm の群で骨フッ素濃度は22, 37, 50, 447, 2516ppm であり、フッ素摂取量の増大にともなって骨フッ素濃度が上昇することを報告している。これと同様の傾向は、Ekstrand (1981)⁶⁵⁾、石田 (1981)⁷³⁾、Angmar ら (1984)⁶⁴⁾ も報告している。今度の結果は、これらの報告とほぼ一致すると考えられる。

5) 新生仔の骨フッ素濃度

今度の実験で、母獣一腹単位の新生仔の下肢骨フッ素

濃度は、母獣のフッ素摂取量の増大にともない6.7ppmから55.6ppmに変化した (Table 13, Fig. 4)。

動物やヒトの胎児 (児)、新生仔、離乳仔の骨フッ素濃度等を測定することによって、母体の摂取したフッ素の胎児 (児) に移行する様相が検討されている³⁸⁻⁴⁴⁾。前記の鈴木 (1969)⁴²⁾ は、低フッ素飼料とフッ素飲料水を与えて繁殖させた次代の3週令の離乳仔ラット、各群5～7匹の下顎骨フッ素濃度を測定している。この骨フッ素濃度は、飲料水フッ素濃度が0, 0.5, 1, 10, 50ppmの群で8.7, 9.1, 11.2, 49.2, 497ppmを示し、0～1ppmの3群間の骨フッ素濃度に有意差が認められなかったと報告している。今度の実験では、0～1ppm群においてフッ素摂取量の増大にともない新生仔の骨フッ素濃度の上昇する傾向が認められたけれど、数値的に鈴木と同様な結果を得た。

ラット以外の動物で、フッ素摂取量と新生仔の骨フッ素濃度の関連を詳細に観察したものとして小林(1982)⁴³⁾の報告があげられる。小林は、マウスに低フッ素飼料 (F=0.55ppm) と0～20ppmのフッ素濃度の飲料水を与えて交配させて得た新生仔の四肢骨フッ素濃度を母獣一腹単位に、各群11～25例について測定している。この骨フッ素濃度は、飲料水フッ素濃度が0, 0.25, 0.5, 1, 2ppmの群で17, 16, 16, 15, 19ppmを示し、この5群間の骨フッ素濃度に有意差が認められず、飲料水フッ素濃度に対応した特定の傾向も認められなかったと報告している。今度の実験では、0～1ppm群の隣接5群間の新生仔の骨フッ素濃度に有意差が認められなかったが、この5群において、母獣のフッ素摂取量に応じて新生仔の骨フッ素濃度の上昇する傾向が認められた。これは、マウスとラットの動物種差かもしれない。

3. 各指標の相互関係

母獣のフッ素摂取量 (mg/kg 体重/日)、血漿無機フッ素濃度 (ppb)、骨フッ素濃度 (ppm) と新生仔の血漿無機フッ素濃度 (ppb)、骨フッ素濃度 (ppm) の5指標の相互関係の分析を試みた。前述のとおり、フッ素摂取量の増大にかかわらず母獣の血漿無機フッ素濃度が一定レベルにある0～1ppm群の5群90例を低フッ素摂取群とし、フッ素摂取量の増大にともなって血漿無機フッ素濃度が上昇傾向を示す1～10ppm群、水道水群の5群86例を中フッ素摂取群として区別した。これら両群において、上記指標のうち2つずつの組み合わせについて単相関分析を行なった (Fig. 5)。

その結果、 $r > 0.5$ の強い正相関の認められる組み合わせは、低フッ素摂取群 (Fig. 5a) ではフッ素摂取量と

Fig. 5 Correlation between pairs of 5 factors, fluoride intake (mg/kgBW/day), plasma fluoride in mothers (ppb), bone fluoride in mothers (ppm), plasma fluoride in pups (ppb) and bone fluoride in pups (ppm) = : $r > 0.5$ and $P < 0.001$, — : $r \leq 0.5$ and $P < 0.05$, - - - : No significance

母獣の骨フッ素濃度のみである。中フッ素摂取群 (Fig. 5b) でフッ素摂取量と強い相関があるのは、母獣の血漿無機フッ素濃度、母獣の骨フッ素濃度、新生仔の骨フッ素濃度である。同じく中フッ素摂取群の母獣の血漿無機フッ素濃度との間で、母獣の骨フッ素濃度、新生仔の骨フッ素濃度に強い相関がみられる。さらに、この群の母獣の骨フッ素濃度と新生仔の骨フッ素濃度間でも同様に

ある。

また、有意で $r \leq 0.5$ の弱い正相関の認められるのは、低フッ素摂取群において、フッ素摂取量と新生仔の骨フッ素濃度の間、母獣の血漿無機フッ素濃度と母獣の骨フッ素濃度および新生仔の血漿無機フッ素濃度の間、母獣の骨フッ素濃度と新生仔の骨フッ素濃度の間である。中フッ素摂取群では、新生仔の血漿無機フッ素濃度とその骨フッ素濃度の間に有意の相関が認められる。

1) 母獣のフッ素量の指標

上記の結果から、母獣の骨フッ素濃度は低フッ素摂取群と中フッ素摂取群の両群を通じてフッ素摂取量をよく反映しており、摂取されたフッ素のうち骨に沈着する量はかなり正確にフッ素摂取量を反映することが認められる。一般に、動物やヒトに摂取されたフッ素の一部は骨に移行し沈着することが認められており^{67,73-86)}、骨フッ素濃度は長期間にわたるフッ素摂取量¹¹⁾や食物中フッ素の利用率⁸⁷⁾の指標にされている。

一方、母獣の血漿無機フッ素濃度は、中フッ素摂取群(1~10ppm 群、水道水群)においてフッ素摂取量をよく反映するものの、低フッ素摂取群(0~1 ppm 群)においてはフッ素摂取量を反映しなかった。一般に、血漿無機フッ素濃度は、摂食によるフッ素の供給と尿中へのフッ素排泄、骨への沈着の影響を受け、一定レベルに保たれると考えられている¹¹⁶⁾。そのため、血漿無機フッ素濃度は断食開始後下降し、通常の摂食では数時間以内に骨フッ素濃度と平衡に達した濃度で維持されると考えられる。今度の実験では、母獣からの採血に際し、採血直前の摂食の影響を防ぐため⁶⁶⁾2時間の断食期間を設けた。低フッ素摂取群の母獣において、血液を経由して骨に移行するフッ素量がフッ素摂取量をよく反映するのに、血漿無機フッ素濃度はフッ素摂取量を反映していない。これは、血漿無機フッ素濃度が2時間の断食期間に下降し、2~4 ppb (Table 7)のこれ以下にさがらないレベルにまで達したためと考えられる。この約3 ppbの血漿無機フッ素濃度は、ラットの血漿において最低限必要とされる無機フッ素の濃度かもしれない。また、フッ素摂取量の増大にともなって血漿無機フッ素濃度が約3 ppbの一定レベルから上昇傾向に転ずる点が1 ppm群と2 ppm群の間に認められたので、この点の骨フッ素濃度は60ppmと119ppmの間にあると考えられる (Table 13)。

2) 新生仔のフッ素量の指標

新生仔の骨フッ素濃度は、両群を通じて母獣のフッ素摂取量を反映した。母体から胎仔に移行したフッ素は、

Fig. 6 A scheme of the relationship between fluoride intake and its concentrations in plasma and bone of female rats and their newborn pups

大半がその硬組織に沈着することが認められている⁸⁷⁾。今度の結果から、母獣に摂取されたフッ素が血液循環に入り、胎盤を経由して胎仔の血液から骨に移行する量は、フッ素摂取量を反映するものと考えられる。

一方、新生仔の血漿無機フッ素濃度は、他の指標との間に有意な相関がほとんど認められなかった。胎仔の血液を経由して骨に移行するフッ素量が母獣のフッ素摂取量を反映したのに、新生仔の血漿無機フッ素濃度は両群を通じて2~6 ppb (Table 7)のレベルにあり、フッ素摂取量を反映しなかった。母獣におけるのと同様に、新生仔においても約3 ppbの血漿無機フッ素濃度が最低限必要とされる濃度かもしれない。そして、Fig. 6に示すように、母獣におけるのと同様に、フッ素摂取量の増大にともなって新生仔の骨フッ素濃度が60~119ppm (Fig. 6のb')を示すとき、その血漿無機フッ素濃度が2~6 ppbのレベルから上昇傾向に転ずる (Fig. 6のb)か否か興味がもたれた。

3) 胎仔に移行するフッ素量

これらのことより、胎仔に移行するフッ素量は、0~1 ppm群のフッ素摂取量が0.02~0.13mg/kg 体重/日 (Table 2)という低フッ素摂取環境下においても、フッ素摂取量を反映すると考えられる。よって、ラットの胎盤は胎仔にフッ素を安定して供給する特異な機能を有すると考えるよりも、むしろ胎盤においてフッ素は単純拡散し、母体から胎仔に受動輸送されると考える方が妥当であろう。

また、母体から胎仔に移行したフッ素量を観察すると

き、出生後まもない新生仔の骨フッ素濃度は有用な指標であると考えられる。

結 論

低フッ素摂取環境下でラットを繁殖させ、母獣・新生仔の血漿および骨フッ素濃度を測定した。母獣のフッ素摂取量とこれらの関連を検討した結果、いくつかの知見が得られた。

1. 母獣の血漿総フッ素濃度と無機フッ素濃度は、互いに極めて近似した値を示した。ラットの血漿中有機フッ素の存在は、確認できなかった。

2. フッ素摂取量と母獣の骨フッ素濃度に強い正相関が認められた。フッ素摂取環境が長期間にわたって一定の場合、骨に沈着するフッ素量はフッ素摂取量をかなり正確に反映する。

3. 母獣の血漿無機フッ素濃度は0～1 ppm 群で3 ppb 前後のレベルにあり、新生仔の血漿無機フッ素濃度は全群を通じて2～6 ppb のレベルにあることが認められた。約3 ppb の血漿無機フッ素濃度は、ラットの血漿中に最低限必要とされる濃度かもしれない。

4. 母獣の血漿無機フッ素濃度が、フッ素摂取量の増大にともなって約3 ppb の一定レベルから上昇を始める点が1 ppm 群と2 ppm 群の間にあり、このとき母獣の骨フッ素濃度は60～119 ppm の間にあった。

5. フッ素摂取量と新生仔の骨フッ素濃度に正相関が認められた。フッ素の胎盤通過性に関し、ラットの胎盤は胎仔にフッ素を安定して供給する特異な機能を有すると思われるよりも、むしろラットの胎盤においてフッ素は単純拡散し、母体から胎仔に受動輸送され则认为る方が妥当であろう。

6. 母体から胎仔に移行したフッ素量を観察するとき、出生後まもない新生仔の骨フッ素濃度は有用な指標である。

謝辞：稿を終えるにあたり、終始懇切なる御指導と御校閲を賜りました堀井欣一教授ならびに境脩助教授に心から感謝の意を捧げます。

また、本研究の遂行にあたり、暖かい御援助を惜しまれなかった教室員諸氏に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) Dean, H. T.: Endemic fluorosis and its relation to dental caries, Public Hlth. Rep., 53 ; 1443-1452, 1938.
- 2) Dean, H. T., Jay, P., Arnold, F. A. and Elvove, E.: Domestic water and dental

- caries, Public Hlth. Rep., 56 ; 761-792, 1941.
- 3) Dean, H. T., Arnold, F. A. and Elvove, E.: Domestic water and dental caries, Public Hlth. Rep., 57 ; 1155-1179, 1942.
- 4) The Royal College of Physicians of London (堀井欣一訳): フッ素と歯と健康, 学建書院, 東京, 1977.
- 5) 日本口腔衛生学会・フッ素研究部会: う蝕予防プログラムのためのフッ化物応用に対する見解, 口腔衛生会誌, 32 ; 421-430, 1982.
- 6) FDI: Basic Fact Sheets, 1981.
- 7) Ericsson, Y.: Progress in caries prevention, Caries Res., 12 (Suppl. 1) ; 7-64, 1978.
- 8) 堀井欣一, 境 脩, 小林清吾, 滝 口 徹: 歯科領域におけるフッ素利用, 日本歯科評論, 458 ; 133-160, 1980.
- 9) Adler, P., et al.: Fluorides and human health, WHO, Geneva, 1970, a: p. 75-223, b; p. 128-139.
- 10) Murray, J. J.: Fluorides in caries prevention, John Wright & Sons Lim., Bristol, 1976, p. 147-163.
- 11) Johansen, E., Taves, D. R. and Olsen, T. O.: Continuing evaluation of the use of fluorides, Westview Press, Colorado, 1979, a; p. 125-221, b; p. 175-177, c; p. 125-147, d; p. 138-141, e; p. 159-185, f; p. 149.
- 12) Feltman, R. and Kosel, G.: Prenatal and postnatal ingestion of fluorides, J. Dent. Med., 16 ; 190-198, 1961.
- 13) Stookey, G. K., Osborne, J. and Muhler, J. C.: Effects of pre-and postnatal fluorides on caries, Dental Prog., 2 ; 137-139, 1962.
- 14) Blayney, J. R. and Hill, I. N.: Evanston dental caries study, JADA, 69 ; 291-294, 1964.
- 15) Tank, G. and Storvick, C. A.: Caries experience of children one to six years old in two Oregon communities, JADA, 69 ; 749-757, 1964.
- 16) Bawden, J. W.: Prenatal administration of fluorides, J. North Carolina D. Soc., 47 ; 10-16, 1964.
- 17) Horowitz, H. S. and Heifetz, S. B.: Effects of prenatal exposure to fluoridation on dental caries, Public Hlth. Rep., 82 ; 297-304, 1967.
- 18) Katz, S. and Muhler, J. C.: Prenatal and postnatal fluoride and dental caries experience in deciduous teeth, JADA, 76 ; 305-311, 1968.
- 19) Kailis, D. G., Taylor, S. R., Davis, G. B., Bartlett, L. G., Fitzgerald, D. J., Grose, I. J. and Newton, P. D.: Fluoride and caries, Med. J. Aust., 2 ; 1037-1040, 1968.

- 20) Prichard, J. L.: The pre-natal and post-natal effects of fluoride supplements on West Australian schoolchildren, aged 6, 7, and 8, Perth, 1967, *Aust. Dent. J.*, **14**; 335-338, 1969.
- 21) Lemke, C. W., Doherty, J. M. and Arra, M. C.: Controlled fluoridation, *JADA*, **80**; 782-786, 1970.
- 22) Forrester, D. J. and Schultz, E. M.: International workshop on fluorides and dental caries reductions, School of Dentistry University of Maryland, Baltimore, 1974, p. 33-85.
- 23) Glenn, F. B.: Immunity conveyed by a fluoride supplement during pregnancy, *J. Dent. Child.*, **44**; 391-395, 1977.
- 24) Glenn, F. B.: Immunity conveyed by a fluoride supplement during pregnancy, *J. Dent. Child.*, **46**; 17-24, 1979.
- 25) Horowitz, H. S., et al.: Perspectives on the use of prenatal fluorides, *J. Dent. Child.*, **48**; 100-133, 1981.
- 26) Glenn, F. B., Glenn, W. D. and Duncan, R. C.: Fluoride tablet supplementation during pregnancy for caries immunity, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **143**; 560-564, 1982.
- 27) Glenn, F. B. and Glenn, W. D. and Duncan, R. C.: Prenatal fluoride tablet supplementation and improved molar occlusal morphology, *J. Dent. Child.*, **51**; 19-23, 1984.
- 28) Wei, S. H. Y.: Clinical uses of fluorides, Lea & Febiger, Philadelphia, 1985, p. 65-74.
- 29) McKay, F. S. and Black, G. V.: An investigation of mottled teeth, *Dental Cosmos*, **58**; 477-484, 1916.
- 30) Smith, M. C. and Smith, H. V.: Mottled enamel of deciduous teeth, *Science*, **81**; 77, 1935.
- 31) Thylstrup, A.: Distribution of dental fluorosis in the primary dentition, *Comm. Dent. Oral Epidemiol.*, **6**; 329-337, 1978.
- 32) Gardner, D. E., Smith, F. A., Hodge, H. C., Overton, D. E. and Feltman, R.: The fluoride content of placental tissue as related to the fluoride content of drinking water, *Science*, **115**; 208-209, 1952.
- 33) Feltman, R. and Kosel, G.: Prenatal ingestion of fluorides and their transfer to the fetus, *Science*, **122**; 560-561, 1955.
- 34) Gedalia, I., Brzezinski, A., Zukerman, H. and Mayersdorf, A.: Placental transfer of fluoride in the human fetus at low and high F-intake, *J. Dent. Res.*, **43**; 669-671, 1964.
- 35) Ericsson, Y. and Malmnäs, Cl.: Placental transfer of fluorine investigated with F^{18} in man and rabbit, *Acta Obstet. Gynecol. Scand.*, **41**; 114-158, 1962.
- 36) Armstrong, W. D., Singer, L. and Makowski, E. L.: Placental transfer of fluoride and calcium, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **197**; 432-434, 1970.
- 37) 岩本康公: 弗素の排泄, 沈着に関する実験的研究, *日本口腔科会誌*, **32**; 47-51, 1957.
- 38) Gedalia, I., Zukerman, H. and Leventhal, H.: Fluoride content of teeth and bones of human fetuses, *JADA*, **71**; 1121-1123, 1965.
- 39) Brzezinski, A., Gedalia, I., Danon, A. and Sulman, F. G.: Fluoride metabolism in pregnant rats, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **108**; 342-345, 1961.
- 40) Gedalia, I., Brzezinski, A., Portuguese, N. and Bercovici, B.: The fluoride content of teeth and bones of human foetuses, *Archs. Oral Biol.*, **9**; 331-341, 1964.
- 41) Hudson, J. T., Stookey, G. K. and Muhler, J. C.: The placental transfer of fluoride in the guinea pig, *Archs. Oral Biol.*, **12**; 237-246, 1967.
- 42) 鈴木隆男: 低フッ素累代飼育のラットに及ぼす影響, *口腔衛生会誌*, **19**; 51-70, 1969.
- 43) 小林清吾: マウス親仔の骨フッ素濃度に及ぼすフッ素摂取量の影響, *口腔衛生会誌*, **32**; 51-70, 1982.
- 44) Buttner, G. and Muhler, J. C.: Fluoride placental transfer in the rat, *J. Dent. Res.*, **37**; 326-329, 1958.
- 45) 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.
- 46) Ericsson, Y. and Hammarström, L.: Mouse placental transfer of F^{18} in comparison with Ca^{45} , *Acta Odont. Scand.*, **22**; 523-538, 1964.
- 47) Bawden, J. W., Wolfkoff, A. S. and Flowers, C. E.: Placental transfer of F^{18} in sheep, *J. Dent. Res.*, **43**; 678-683, 1964.
- 48) Ericsson, Y.: Isotope studies on the physiology of fluoride, *Odont. Revy.*, **17** (Suppl. 10); 15-31, 1967.
- 49) Shen, Y. W. and Taves, D. R.: Fluoride concentrations in the human placenta and maternal and cord blood, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **119**; 205-207, 1974.
- 50) Weiss, V. and DeCarlini, Ch.: Placental transfer of fluoride during methoxyflurane anaesthesia for Cesarean section, *Experimentia*, **31**; 339-341, 1975.

- 51) Guy, W. S.: Fluorocompounds of human plasma, Doctoral Thesis, Univ. of Rochester, Rochester, N. Y., 1972.
- 52) Whitford, G. M. and Reynolds, K. E.: Concentrations during chronic acid-base disturbances, *J. Dent. Res.*, **58**; 2058-2065, 1979.
- 53) Frant, M. S. and Ross, J. W.: Electrode for sensing fluoride ion activity in solution, *Science*, **154**; 1553-1555, 1966.
- 54) 水島治夫: 簡易統計学, 南江堂, 東京, 1963.
- 55) Taves, D. R.: Separation of fluoride by rapid diffusion using hexamethyldisiloxane, *Talanta*, **15**; 969-974, 1968.
- 56) Fresen, J. A., Cox, F. H. and Witter, M. J.: The determination of fluoride in biological materials by means of gas chromatography, *Pharm. Weekblad*, **103**; 909-914, 1968.
- 57) Taves, D. R.: Evidence that there are two forms of fluoride in human serum, *Nature*, **217**; 1050-1051, 1968.
- 58) Singer, L. and Armstrong, W. D.: Total fluoride content of human serum, *Archs. Oral Biol.*, **14**; 1343-1347, 1969.
- 59) Taves, D. R.: Comparison of organic fluoride in human and nonhuman serums, *J. Dent. Res.*, **50**; 783, 1971.
- 60) Singer, L. and Armstrong, W. D.: Determination of fluoride in ultrafiltrates of sera, *Biochem. Med.*, **8**; 415-422, 1973.
- 61) Ophaug, R. H. and Singer, L.: Influence of variations in fluoride intake on the ionic and bound fractions of plasma and muscle fluoride, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **155**; 23-26, 1977.
- 62) Filler, R.: Biochemistry involving carbon-fluorine bond, *Am. Chem. Soc. Symp. Ser.*, No. 28, 1976, p. 117-134.
- 63) Belisle, J.: Organic fluorine in human serum, *Science*, **212**; 1509-1510, 1981.
- 64) Angmar-Månsson, B. and Whitford, G. M.: Enamel fluorosis related to plasma F levels in the rat, *Caries Res.*, **18**; 25-32, 1984.
- 65) Ekstrand, J., Lange, A., Ekberg, O. and Hammarström, L.: Relationship between plasma, dentin and bone fluoride concentrations in rats following long-term fluoride administration, *Acta Pharmacol. Toxicol.*, **48**; 433-437, 1981.
- 66) DenBesten, P. K. and Crenshaw, M. A.: The effects of chronic high fluoride levels on forming enamel in the rat, *Archs. Oral Biol.*, **29**; 675-679, 1984.
- 67) Ericsson, Y., Gydell, K. and Hammarskiöld Th.: Blood plasma fluoride, *J. Int. Res. Comm.*, **1**; 33, 1973.
- 68) Angmar-Månsson, B., Ericsson, Y. and Ekberg, O.: Plasma fluoride and enamel fluorosis, *Calcif. Tiss. Res.*, **22**; 77-84, 1976.
- 69) Fejerskov, O., Larsen, M. J., Josephsen, K. and Thylstrup, A.: Effect of long-term administration of fluoride on plasma fluoride and calcium in relation to forming enamel and dentin in rats, *Scand. J. Dent. Res.*, **87**; 98-104, 1979.
- 70) Hanhijärvi, H., Penttilä, I., Pekkarinen, A. and Hakulinen, A.: The effect of age on free ionized plasma fluoride concentrations in patients from artificially fluoridated and non-fluoridated drinking water communities, *Proc. Finn. Dent. Soc.*, **10** (Suppl. 3); 25-34, 1974.
- 71) Maduska, A. L., Ahokas, R. A., Anderson, G. D., Lipshitz, J., Morrison, J. C.: Placental transfer of intravenous fluoride in the pregnant ewe, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **136**; 84-86, 1980.
- 72) Gedalia, I., Brzezinski, A., Bercovici, B. and Lazarov, E.: Placental transfer of fluorine in the human fetus, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **106**; 147-149, 1961.
- 73) 石田覚也: フッ素症に関する実験的研究, *口腔衛生会誌*, **31**; 74-89, 1981.
- 74) Jackson, D. and Weidmann, S. M.: Fluorine in human bone related to age and the water supply of different regions, *J. Nutr.*, **40**; 451-459, 1950.
- 75) Zipkin, I. and McClure, F. J.: Deposition on fluorine in the bones and teeth of the growing rat, *J. Nutr.*, **47**; 611-620, 1952.
- 76) Weddle, D. A. and Muhler, J. C.: The effects of inorganic salts on fluorine storage in the rat, *J. Nutr.*, **54**; 437-444, 1954.
- 77) Miller, R. F. and Phillips, P. H.: The effect of age on the level and metabolism of fluorine in the bones of the fluoridated rat, *J. Nutr.*, **59**; 425-433, 1956.
- 78) Zipkin, I. and Scow, R. O.: Fluoride deposition in different segments of the tibia of the young growing rat, *Am. J. Physiol.*, **81**; 81-84, 1956.
- 79) Suttie, J. W. and Phillips, P. H.: The effect of age on the rate of fluorine deposition in the femur of the rat, *Archs. Biochem. Biophys.*, **83**; 355-359, 1959.
- 80) Weidmann, S. M. and Weatherell, J. A.: The uptake and distribution of fluorine in bones, *J. Path. Bact.*, **78**; 243-255, 1959.
- 81) Blayney, J. R., Bowers, R. C. and Zimmerman, M.: Evanston dental caries study, *J.*

- Dent. Res., 41 ; 1037-1044, 1962.
- 82) 飯塚喜一：フッ素に関する衛生学的研究，齒科学報，64 ; 726-736, 1964.
- 83) Růžička, J. A. and Mrklas, L. : Effect of the water intake on the fluoride incorporation into skeleton of adult mice, Caries Res., 2 ; 253-261, 1968.
- 84) Růžička, J. A., Mrklas, L. and Rokytová, K. : Incorporation of fluoride in bones and teeth and dental fluorosis in mice after administration of complex fluorides, Archs. Oral Biol., 19 ; 947-950, 1974.
- 85) Parkins, F. M., Tinanoff, N., Moutinho, M., Anstey, M. B. and Waziri, M. H. : Relationships of human plasma fluoride and bone fluoride to age, Calcif. Tiss. Res., 16 ; 335-338, 1974.
- 86) Charen, J., Taves, D. R., Stamm, J. W. and Parkins, F. M. : Bone fluoride concentrations associated with fluoridated drinking water, Calcif. Tiss. Intl., 27 ; 95-99, 1979.
- 87) Navia, J. M., Lopez, H. and Bradley, E. L. : Biological rat assay for total fluoride availability in foods, J. Nutr., 111 ; 755-761, 1981.

Abstract ; A Study of the Relationship between Fluoride Intake and Its Concentrations in Plasma and Bone of Female Rats and Their Newborn Pups. Takeshi WATANABE. The purpose of this study was to gain more definitive information on the placental transfer of fluoride in rats at low maternal intake level.

Wistar rats (8 week-old) were used in this study, and they received a low fluoride diet ($F=0.3$ ppm) and distilled water. They were mated after being kept a week under the experimental conditions. Female offspring born from them were randomly assigned to nine groups with various levels of fluoride intake at 3 weeks of age. They received a low fluoride diet and 0-10 ppmF (as NaF) solution, or an ordinary breeding diet ($F=33$ ppm) and tap water ($F\approx 0.1$ ppm). The nine groups were called the 0, 0.1, 0.2, 0.5, 1, 2, 5, 10ppm group, and tap water group. They were mated with male rats at 12 weeks of age. Females were killed immediately after delivery. Plasma and left femurs were obtained from 158 females, and plasma and tibiofemoral bones of the newborn pups were taken from each litter. Plasma inorganic fluoride and bone fluoride were analyzed with the electrode method following diffusion procedures. Total plasma fluoride in females was analyzed with the electrode method following ashing and diffusion procedures.

Close agreement was found between inorganic and total values of plasma fluoride in females. Plasma inorganic fluoride in females of the 0-1 ppm groups was constant, ranging from 2-4 ppb, but it rose from 4 ppb to 74 ppb in proportion to fluoride intake in the 1-10ppm and tap water groups. The fluoride in pups of all groups were ranging 2-6 ppb. Bone fluoride concentrations in adult females rose from 7 ppm to 763 ppm, and those in pups rose from 7 ppm to 56ppm in proportion to fluoride intake in all groups.

These findings suggest that (1) there is little organic fluorine in rat plasma, (2) plasma fluoride in rats may be maintained at a level above about 3 ppb, (3) the amount of fluoride transferred to rat fetuses increases in proportion to fluoride intake even at low maternal intake levels, and (4) bone fluoride in newborn pups is an excellent index of the amount of fluoride transferred to fetuses.

Key words : Fluoride, Blood plasma, Bone