原 著

フッ化チタンアンモニウム溶液による エナメル質の耐酸性について*

The Effect of Ammonium Titanium Fluoride on
Acid Solubility of Powdered Enamel*

大 西 重 内**

Junai ONISHI**

Received May 15, 1986; accepted May 29, 1986

Abstract: The purpose of this study was to investigate the contribution of fluoride and titanium uptake in powdered enamel to the acquisition of acid resistance.

Experiments were made in vitro by treatment with solution of $(\text{NH}_4)_2 \text{TiF}_6$ (9000 ppm of F, pH 3.4) or APF (acidulated phosphate fluoride solution) for 3 minutes at 37°C with powdered enamel (particle size 70~140 μm), and 24-hour washing with synthetic saliva or 1M KOH solution was used to distinguish the soluble and permanently bound fluoride. Chemical analyses were performed to determine fluoride, titanium, calcium, and phosphorus. Acid solubility of enamel was evaluated to determine the calcium released from powdered enamel into acetate buffer (pH 4.5). The reaction products were identified by X-ray diffractometry.

A large amount of fluoride uptake, most of it in the form of CaF_2 , was found after application of APF. Synthetic saliva or KOH washing removed most of the fluoride from APF treated enamel, but $(\text{NH}_4)_2 \text{TiF}_6$ -treated enamel had lower levels of fluoride uptake and higher retention after both washings. These facts indicated that a higher level of more permanently bound fluoride formed in $(\text{NH}_4)_2 \text{TiF}_6$ -treated enamel.

Titanium in $(\text{NH}_4)_2 \text{TiF}_6$ -treated enamel was resistant to synthetic saliva washing, but the KOH wash caused a partial release of titanium.

The acid solubility test of fluoride-treated enamel showed the same degree of acid resistance before and after synthetic saliva wash. However, the KOH wash decreased an acid resistance of both types of fluoride-treated enamel. A decrease of acid resistance in APF-treated enamel may contribute to the release of alkali-soluble fluoride such as CaF_2 . In the case of $(\text{NH}_4)_2 \text{TiF}_6$, a decrease of acid resistance might be related to the titanium concentration in enamel. The release of fluoride and titanium from $(\text{NH}_4)_2 \text{TiF}_6$ -treated enamel into 1MKOH solution suggests a hydrolysis of titanium-fluoride compound, which forms an organometallic bond with the enamel protein called "glaze",

* 本論文の要旨は昭和61年2月16日第50回岐阜歯科学会例会において発表した。

** 朝日大学歯学部口腔衛生学教室（主任：可見瑞夫教授）

** *Department of Preventive Dentistry, School of Dentistry, Asahi University (Director: Prof. Mizuo KANI)*

特別掲載

rather than a release of CaF_2 .

As the results, it is suggested that glaze-like substance is soluble in strong alkali such as 1MKOH solution but stable in acid circumstances, and controls acquisition of acid resistance of powdered enamel.

索引用語：フッ化チタンアンモニウム，エナメル質粉末，KOH 洗浄，酸溶解性

Key words: Ammonium titanium fluoride, Human enamel powder, KOH wash, Acid solubility

結 言

近年，う蝕予防剤として金属イオンの効果をも含めたフッ化物の応用が検討されており¹⁻⁶⁾，今後う蝕予防に用いられる可能性のあるものとして，ランタン，ビスマス，モリブデン，ジルコニウム，亜鉛，チタンなどのフッ化物があげられている。Shrestha ら⁶⁾は周期率表 IVB に属するチタン，ジルコニウム，ハフニウムのフッ化物はリン酸酸性フッ化ナトリウム溶液よりも高い耐酸性増強効果を認め，中でもフッ化チタン化合物は最も高い効果を示すことを報告している。

四フッ化チタン溶液については基礎的研究⁸⁻¹⁴⁾のみではなく，臨床応用も行なわれており，う蝕予防効果を認める報告もみられる^{15,16)}。しかし，四フッ化チタン溶液は pH が低く溶液の不安定な点からみて，臨床応用上種々の問題があると考えられる。その点，フッ化チタンアンモニウム溶液は 79 mM 溶液（フッ素濃度：9000 ppm）で pH 3.4 と四フッ化チタン溶液より高く，溶液も安定であるためフッ化物歯面塗布液として臨床応用の可能性は十分あるものと思われる。フッ化チタンアンモニウム溶液については種々の研究が行われ¹⁷⁻²²⁾，特有の反応生成物であるエナメル質表層の glaze 状物質が耐酸性を示すことが報告されている¹⁸⁾。また，この glaze 状物質は蒸留水にて 7 日間洗浄後も変化することなく，耐酸性も持続することを認めている²¹⁾。

四フッ化チタン溶液においてもエナメル質表面に生じる glaze 状の層は強い耐酸性を示し，人工唾液あるいは水酸化カリウム溶液による洗浄後も残留することが走査電子顕微鏡観察により認められている^{10,11)}。Wefel ら¹⁰⁾は 4 種類のフッ化物溶液をエナメル質に作用させ，生成するフッ化カルシウムや遊離のフッ素を除去する目的で，1 M 水酸化カリウム溶液による洗浄を行い，四フッ化チタン溶液作用の場合は APF， NH_4F ， $\text{Na}_2\text{SrF}_6 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ の各溶液作用よりも溶出フッ素量は少なく，残留フッ素量からみて permanently bound fluoride の生成が認められると述べている。これらの報告からみる

と，フッ化チタン化合物溶液はフッ化ナトリウム溶液とは異なる作用機序により，エナメル質に耐酸性を付与することが示唆される。しかし，その作用機序はまだ十分明らかにされておらず，フッ化チタンアンモニウム溶液作用エナメル質中のチタン量との関連性についても，まだほとんど検討されていない。

エナメル質中のチタンの測定は，エナメル質表層へのチタン取り込みが X 線マイクロアナライザ分析により確認されているのみであり^{9,18-20)}，エナメル質粉末の化学分析による定量は行われていない。その理由として適切な定量法がなかったことがあげられるが，最近可見^{23,24)}はエナメル質中のチタンを精度よく定量できる方法として，チタンをクベロン錯体として有機溶媒中に抽出する『溶媒抽出・原子吸光度法』を開発している。

本研究では，この定量法を用いてフッ化チタンアンモニウム溶液作用エナメル質中のチタンの定量を行い，エナメル質の耐酸性とフッ素およびチタンとの関連性について検討する目的で，*in vitro* でフッ化チタンアンモニウム溶液ならびにリン酸酸性フッ化ナトリウム溶液をエナメル質粉末に作用させ，人工唾液および 1 M 水酸化カリウム溶液による洗浄実験を行い，化学分析，酸溶解性試験および X 線回折法による検索を行った。

材料および方法

実験材料には新鮮抜去永久歯（大白歯）30 歯のエナメル質粉末を用いた。歯は十分水洗ののち乾燥し，象牙質を完全に除去して健全エナメル質のみの切片とし，bone crusher およびメノウ乳鉢を用い微粉碎し，100 mesh 標準篩を通過し，200 mesh 標準篩に残留する粉末（70～140 μm ）を収集した。この粉末に蒸留水を加え，6000 r.p.m. にて 10 分間遠沈を行い 2 回水洗ののち 37°C で乾燥させたものを試料とした。

作用溶液にはフッ化チタンアンモニウム溶液（ $(\text{NH}_4)_2\text{TiF}_6$ ，フッ素濃度 9,000 ppm，pH 3.4）およびリン酸酸性フッ化ナトリウム溶液（フッ素濃度 9,000 ppm，pH 3.4，以下 APF 溶液と表す）の 2 種類の溶液を用い，

control には蒸留水を用いた。エナメル質粉末は各実験群にそれぞれ800mgを用いた。

作用実験では試料200mgに対して各溶液40mlを加え3分間作用させた。すなわち37°C恒温振盪器中にて溶液を作用させ、粉末粒子が沈降した直後に作用時間3分の時点で溶液を吸引除去し、蒸留水40mlを加えて水洗を3回繰り返す、恒温器中にて37°Cで乾燥させた。

次にこれらの試料の一部を人工唾液あるいは1M水酸化カリウム溶液（以下1MKOH溶液と表す）に浸漬して24時間洗浄を行った。人工唾液はBirkeland²⁵⁾の処方に従い塩化カルシウム1mM、リン酸二水素ナトリウム3mM、炭酸水素ナトリウム20mM、pH 7.3にて調製した。実験群およびcontrol群の試料200mgにそれぞれ人工唾液あるいは1MKOH溶液200mlを加え、スターラで攪拌しながら24時間洗浄を行った。この間30分後および6時間後に120mlの溶液を交換した。洗浄後の試料は数回水洗を繰り返し、恒温器中にて37°Cで乾燥させた。

1. エナメル質粉末へのフッ素取り込み量の測定

試料20mgを精秤し、6N塩酸1mlを加え60分間攪拌したのち、蒸留水9mlを加えたものを定量用の試料とした。試料溶液中のチタンの妨害を除去する目的で試料10mlに6%エチレンジアミンテトラ酢酸(EDTA)溶液2mlを加えて攪拌し15分間放置した。フッ素の定量はこの溶液にTISAB III（全イオン強度調整用緩衝液、ORION社製）2mlを加え攪拌し、直ちにイオン電極法により定量を行った。測定にはORION社製Ion-analyzer-901型、およびフッ素複合電極96-09型を用いた。

2. エナメル質粉末へのチタン取り込み量の測定

試料30mgを精秤し、6N塩酸3mlを加え60分間攪拌溶解したのち、蒸留水12mlを加え試料溶液とした。定量は可児らの方法²⁶⁾にもとづいて行った。すなわち、メスフラスコ（25ml容量）に1.2N塩酸15mlを加え4°C以下に冷却し、0.25Mクペロン溶液1mlおよび試料溶液5mlを加えて混合し、1.2N塩酸で定容とした。この溶液を分液ロートに移し、メチルイソブチルケトン（MIBK）10mlを加え10分間振盪し、試料中のチタンをクペロン錯体として抽出したのちMIBK層を分離し、原子吸光光度法によりチタンの測定を行った。測定には偏光ゼーマン原子吸光光度計（HITACHI, 180-80型）および高温バーナーを用い、Table 1に示す条件にて測定した。定量はチタン標準液の吸光度より検量線を作成し絶対検量線法により行った。

3. エナメル質粉末のカルシウム量およびリン量の測定

試料20mgを精秤し、2M過塩素酸2mlを加え、スターラを用いて十分攪拌溶解したものを試料溶液とした。カルシウムの定量は原子吸光光度法により行い、測定の際のリン酸による干渉を除去するために硝酸ランタン（ランタン終濃度2,000ppm）を添加した。リンの定量はp-アミノジフェニルアミンを用いる方法²⁶⁾により、分光光度計（HITACHI 124型）を用いてスリット幅1nm、光路10mm、波長350nmの条件で行った。

4. 酸溶解性試験

まず、本実験を行うのに先立ち、pH 3.6, 4.0, 4.5, 5.0の酢酸-酢酸ナトリウム緩衝液を用いて、エナメル質粉末の量と脱灰液の量の関係を検討し、エナメル質粉

Table 1 Chemical analysis of titanium

Solvent extraction technique	Instrumental conditions
<p>* powdered enamel 30 mg</p> <p>* 0.25M cupferron 1 ml</p> <p>* 6N HCl 3 ml</p> <p>* d- water 12 ml</p> <p>↓</p> <p>25 ml</p> <p>↓</p> <p>* solvent extraction</p> <p>* organic phase</p>	<p>Hollow cathode lamp</p> <p>Wavelength (nm) 364.3</p> <p>Lamp current (mA) 12.5</p> <p>Slit width (nm) 0.4</p> <p>Burner : High temperature type</p> <p>Burner hight (mm) 10.20</p> <p>Fuel : C₂H₂ (kg/cm²) 0.37</p> <p>Oxidant : N₂O (kg/cm²) 1.60</p> <p>Integ. time (sec.) 5</p>
<p>* stir</p> <p>* 4°C</p> <p>* stir</p>	<p>Polarized zeeman A.A.S.</p> <p>(HITACHI 180-80)</p>

末からのカルシウム溶出が平衡に達しない条件として以下の方法を設定した。

酸溶解性試験としてはフッ化物溶液作用群および control 群のエナメル質粉末 5 mg に 0.4M 酢酸 (pH 4.5) 40ml を加え、スターラで攪拌しながら室温にて脱灰を行い、脱灰時間が 1, 2, 3, 5, 7, 9 分間になるようにスターラを止め、エナメル質粉末粒子が沈降後脱灰液 2 ml を採取し、先の場合と同様に溶出カルシウム量を原子吸光度法により定量した。カルシウム標準液は 0.4M 酢酸緩衝液 (pH 4.5) を用いて調整した。各脱灰液中のカルシウム量の測定値から各脱灰時間までに溶出した総カルシウム量を算出し、エナメル質の耐酸性を評価した。

5. エナメル質粉末中の反応生成物と人工唾液および 1 MKOH 溶液洗浄後の変化について

各試料をメノウ乳鉢で粉碎し 250mesh 標準篩を通過させたものを X 線回折用の試料とした。X 線回折は Table 2 に示す測定条件にて自動記録式 X 線回折装置 (SHIMADZU, AUTOLUXE, VD-1A 型) を用いて行い、ASTM INDEX により反応生成物の同定を行った²⁷⁾。

実験成績

1. エナメル質粉末へのフッ素取り込み量の測定

フッ化物溶液作用群ではいずれもエナメル質粉末中のフッ素量は増加し、エナメル質へのフッ素取り込みが認められた (Table 3, Fig. 1)。フッ化チタンアンモニウム溶液作用群では 834ppm とかなり低い値であったが、APF 溶液作用群では 14,500ppm と高い値が認められた。人工唾液あるいは 1 MKOH 溶液による洗浄を行った試料では、いずれもフッ素量の減少が認められた。フッ化チタンアンモニウム溶液作用群では、人工唾液洗浄後のフッ素量は 672ppm と減少したが、取り込まれたフッ素の約 80% は残留した。1 MKOH 溶液洗浄後でも約

Table 2 Experimental conditions of X-ray diffraction analysis

Experimental condition	I	II
Count full scale (c/s)	1000	
Scanning speed (°/min.)	2	1/2
Chart speed (mm/min.)	20	
Time constant (sec.)	1	2
Receiving slit	0.2mm	
CuK α (Ni-filtered)	30kV - 30mA	
Counter	Scintillation counter	
Diffractometer	AUTOLUXE VD-1A (SHIMADZU)	

50% (420ppm) のフッ素の残留が認められた。一方、APF 溶液作用群においては取り込まれたフッ素の大部分が洗浄により溶出した。すなわち、人工唾液洗浄後のエナメル質中フッ素量は 3,690ppm と大きく減少し、1 MKOH 溶液洗浄後には取り込まれたフッ素はわずか 7% が残留するのみであった。しかし、フッ化チタンアンモニウム溶液作用群に比べると高い値を示した (Table 3)。

2. エナメル質粉末へのチタン取り込みの測定

フッ化チタンアンモニウム溶液作用により、エナメル質粉末へのチタン取り込みが認められ、作用後 670 $\pm$ 34 ppm, 人工唾液洗浄後で 665 $\pm$ 24ppm と、エナメル質粉末中のチタン量は人工唾液洗浄後もほとんど減少しなかった。しかし 1 MKOH 溶液による洗浄ではチタンの溶出がみられ、初期の取り込み量の約 27% が溶出し、エナメル質中のチタン量は 487 $\pm$ 53ppm と明らかに減少した (Table 4)。なお、control 群のエナメル質粉末中のチタン濃度は、本研究における定量操作では測定限界 (50 ppm) 以下であった。

3. エナメル質粉末のカルシウム量およびリン量の測定

各試料のカルシウム量、リン量の測定値より Ca/P モル比を算出した (Table 5)。フッ素取り込み量の最も高

Table 3 Fluoride concentration in powdered enamel treated with fluoride solutions, followed by washing

	After treatment	Syn. saliva washed		KOH washed	
	F uptake (ppm)	F uptake (ppm)	F retention (%)	F uptake (ppm)	F retention (%)
(NH ₄) ₂ TiF ₆	834	672	80.6	420	50.4
APF	14500	3690	25.5	1016	7.0
control	103	96	93.2	93	90.3

control : treated with distilled water

Fig. 1 Fluoride concentration in powdered enamel

Table 4 Mean titanium concentrations in powdered enamel treated with (NH₄)₂TiF₆ solutions, followed by washing

Treatment	Unwashed ppm ± S.D.	Syn. Sal. wash ppm ± S.D.	KOH wash ppm ± S.D.
(NH ₄) ₂ TiF ₆	670 ± 34	665 ± 24	487 ± 53
control	under the limit of estimation		

い APF 溶液作用後のエナメル質で1.67とやや高い値を示したが、そのほかではフッ化物溶液作用群と control 群にほとんど差はみられなかった。

Table 5 Concentration of calcium and phosphorus in powdered enamel treated with fluoride solutions, followed by washing

		Ca %	P %	Ca/P(mol)
(NH ₄) ₂ TiF ₆	After treatment	36.7	17.4	1.63
	Syn. saliva wash	36.9	17.5	1.63
	KOH wash	36.8	17.6	1.62
A P F	After treatment	36.8	17.3	1.65
	Syn. saliva wash	37.1	17.8	1.61
	KOH wash	36.8	17.8	1.60
control	After treatment	36.5	17.6	1.61
	Syn. saliva wash	36.9	17.6	1.62
	KOH wash	36.5	17.8	1.59

4. 酸溶解性試験

各試料から酢酸緩衝液中への溶出カルシウム量（以下溶出 Ca 量と表す）の平均値を Table 4 にまとめた。フッ化物溶液作用群では溶液作用後、人工唾液洗浄後、1 MKOH 溶液洗浄後いずれも control 群に比べて Ca 溶出は抑制されており、耐酸性獲得が認められた (Table 6, Fig. 2)。人工唾液洗浄後の溶出 Ca 量は各群ともにフッ化物溶液作用後とほぼ同じ値を示し、耐酸性の変化はみられなかった。

フッ化チタンアンモニウム溶液作用群の耐酸性はフッ化物溶液作用後、人工唾液洗浄後ともに APF 溶液作用群よりやや大きく、特に各脱灰時間ごとの溶出 Ca 量を見ると、脱灰の初期（1～3 分）に APF 溶液作用群で control 群の約1/2であるのに対し、フッ化チタンアンモニウム溶液作用群では約1/3の溶出 Ca 量であり、脱灰の抑制が認められた (Table 6)。しかし、脱灰時間の延長に伴い、両フッ化物溶液作用群の溶出 Ca 量の

Table 6 Calcium released into 0.4 M acetate buffer (pH 4.5) from powdered enamel treated with fluoride solutions, followed by washing

		Time (min.)					
		1	2	3	5	7	9
(NH ₄) ₂ TiF ₆	After treatment	24.40	44.92	79.48	163.46	261.06	355.26
	Syn. saliva washed	23.20	52.08	79.08	164.42	250.50	332.40
	KOH washed	66.80	112.78	164.98	263.92	357.68	466.58
APF	After treatment	33.20	67.78	101.98	185.28	261.76	339.46
	Syn. saliva washed	37.20	73.30	101.38	180.60	261.24	349.44
	KOH washed	38.40	104.52	131.88	235.92	331.28	426.08
control	After treatment	71.60	141.52	212.44	336.54	463.58	558.38
	Syn. saliva washed	69.60	145.22	220.82	362.94	487.42	589.12
	KOH washed	84.80	161.94	238.62	395.02	521.42	647.42

Ca(μg)

Fig. 2 Acid solubility test of powdered enamel, treated with fluoride solutions, followed by washing

Fig. 3 X-ray diffraction patterns of powdered enamel treated with fluoride solutions, followed by washing

差は少なくなった。1 MKOH 溶液洗浄後は control 群およびフッ化物溶液作用群いずれにおいても溶液作用後に比べて溶出 Ca 量は増加し、耐酸性の低下が示された (Fig. 2)。

5. エナメル質中の反応生成物と人工唾液および 1 MKOH 溶液洗浄後の変化について

各試料の X 線回折の成績では APF 溶液作用群において溶液作用後にフッ化カルシウムの生成が認められた (Fig. 3)。しかし、人工唾液洗浄により大部分のフッ化カルシウムは溶出し、1 MKOH 溶液洗浄では X 線回折像は control 群と同様の像を示し、APF 溶液作用により生成したフッ化カルシウムは溶出したことが認められた。フッ化チタンアンモニウム溶液作用群では X 線回折

像は control 群と差はなく、エナメルapatite の像を呈しており、フッ化カルシウムは検出されなかった (Fig. 3)。

考 察

フッ化チタン化合物作用によりエナメル質表面に形成される glaze 状物質はエナメル質の耐酸性に関与するものと考えられており⁷⁾ glaze 状物質の耐酸性および安定性についてはいくつかの報告がみられる^{9-12, 18-20)}。

本研究ではフッ化チタンアンモニウム溶液作用によるエナメル質粉末のフッ素およびチタンの取り込みと耐酸性増強効果との関連性について APF 溶液の場合と比較検討した。

エナメル質粉末へのフッ素取り込み量は、APF 溶液作用後の 14,500ppm に比べてフッ化チタンアンモニウム溶液作用群では 834ppm と非常に低い値であった (Table 3)。飯野¹⁹⁾ はフッ素濃度 9,000ppm, pH 3.6 の $(\text{NH}_4)_2\text{TiF}_6$, $\text{SrTiF}_6 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ならびに APF の各溶液をエナメル質粉末に 25 分間作用させ、フッ素取り込み量を測定しており $(\text{NH}_4)_2\text{TiF}_6$ 液作用群では APF 溶液作用群の 110,000ppm に対し、4,560ppm と低い値であると報告している。本研究ではエナメル質粉末の粒子径が 70~140 μm (100~200mesh) とやや大きく、作用時間も 3 分間であるため、両フッ化物溶液ともにエナメル質へのフッ素取り込み量は上記の値より低くなったものと思われるが、その傾向は同様であった。安彦¹⁷⁾ は種々のフッ化チタン化合物のフッ素濃度 10 ppm および 100ppm の溶液について検討を行っており、フッ素濃度 100ppm ではフッ化チタンアンモニウム溶液からエナメル質粉末へのフッ素取り込み量は、同一 pH (pH 3.7) のフッ化ナトリウム溶液よりかなり低く、その理由としてフッ化チタン化合物溶液のフッ素は結合形が多いことを指摘している。Wei ら⁹⁾ はフッ素濃度の計算値が 1.23% の APF 溶液と TiF_4 溶液の遊離フッ素濃度の測定を行い、 TiF_4 溶液ではフッ素濃度は計算値より低くエナメル質へのフッ素取り込み量も APF 溶液より少ないことを認めている。

チタンは水溶液中で容易にフッ素を付加してヘキサフルオロチタン酸イオン $[\text{TiF}_6]^{2-}$ を形成し、化学的に安定な状態になることがわかっており²⁸⁾、フッ化チタン化合物の水溶液中では当然遊離フッ素イオンは少ないことが予想される。そこでチタンと錯イオンを形成するエチレンジアミンテトラ酢酸 (EDTA)²⁹⁾ をフッ化チタンアンモニウム溶液 (フッ素濃度 9,000ppm) に添加して、イオン電極法によりフッ素イオン濃度を測定したところ、フッ化チタンアンモニウム溶液のフッ素量の計算値とほぼ一致した測定値が得られた。また、フッ化チタンアンモニウム溶液 (フッ素濃度 9,000ppm) とエナメル質との反応系では、反応の進行に伴ないフッ素とチタンの錯イオンが解離して、溶液中の遊離フッ素濃度が一時的に上昇することが示されている²²⁾。これらのことはフッ化チタンアンモニウム溶液では、チタンとフッ素が結合した形で存在することを示すものであり、チタンとフッ素の錯体形成により溶液中のフッ素イオン濃度が減少するために、APF 溶液のようにフッ素が全て解離の状態では反応するものに比べて、フッ素取り込み量が低くなるものと考えられる。

エナメル質へのチタン取り込みの測定については、エナメル質表層の X 線 マイクロアナライザ 分析による報告^{11,12,18-20)} がみられるが、粉末試料の化学分析による測定は行われていない。先にも述べたごとく、本研究に用いた定量法は可見らの開発によるもので、エナメル質粉末中のチタンを精度よく測定できる方法である^{23,24)}。化学分析の結果、フッ化チタンアンモニウム溶液作用により、エナメル質中に明らかなチタン取り込みが認められた (Table 4)。

フッ化物溶液作用後の酸溶解性試験の結果では、フッ化チタンアンモニウム溶液作用群の方が耐酸性はやや大きく、特に脱灰の初期に大きな耐酸性を示した (Table 6, Fig. 2)。APF 溶液作用群では X 線回折の結果からも明らかなように多量に生成したフッ化カルシウムが (Fig. 3)、エナメル質の脱灰を抑制したものと考えられるが^{30,31)}、フッ化チタンアンモニウム溶液作用群ではフッ素取り込み量は少なく、X 線回折像にもフッ化カルシウムは検出されなかったため、フッ化カルシウムの生成はごくわずかであると思われる。このことはエナメル質中の Ca/P モル比からも示されるとおりである (Table 5)。本研究ではエナメル質へのフッ素取り込み量の測定にあたり試料を 6 N 塩酸に溶解したが、フッ化チタンアンモニウム溶液作用エナメル質では、2 M 過塩素酸に溶解すると不溶性の物質がみられ、この物質を採取し X 線 マイクロアナライザによる点分析を行ったところチタンとリンが検出された。したがって、フッ化チタンアンモニウム溶液によるエナメル質の耐酸性増強には、フッ化カルシウムよりもエナメル質中のチタンが大きく関与するものと思われる。

このように両フッ化物溶液は、それぞれ異なる作用機序によりエナメル質に耐酸性増強効果をもたらすことが明らかとなった。

エナメル質の耐酸性はエナメル質中のフッ素量と相関のあることが知られている³²⁾。APF 溶液作用によりエナメル質中に生成するフッ化カルシウムはやがて溶出し、エナメル質のフッ素量は減少する^{33,34)}。

本研究では、フッ化カルシウム溶出後のエナメル質の耐酸性を検討する目的で、フッ化物溶液作用エナメル質の人工唾液あるいは 1 MKOH 溶液による洗浄を行い、エナメル質に取り込まれたフッ素のうち、これらの洗浄により溶出するフッ素と、エナメル質と安定に結合しているフッ素を分離して測定し、フッ素およびチタンの溶出と耐酸性との関連を追求した。

人工唾液は Birkeland²⁵⁾ の処方に準じて無機成分の

みで調製して用いたが、Birkeland はこの人工唾液中ではフッ化カルシウムは生成しにくく、溶出する状態にあることを示しており、McCann³⁵⁾ は pH5.5~7.5 の範囲では唾液中に12~15mg/l のフッ化カルシウムが溶解し得るが、フルオロアパタイトは沈殿すると述べている。したがってエナメル質中に生成するフッ化カルシウムはこの処方的人工唾液中には溶出が可能である。本実験ではフッ化物溶液作用エナメル質を人工唾液に24時間浸漬した。人工唾液洗浄後 APF 溶液作用群のフッ素量は大きく減少したが、これはフッ化カルシウムの溶出によることはX線回折像からも明らかである (Fig. 3)。

X線マイクロアナライザ分析の成績では TiF_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{TiF}_6$, $\text{SrTiF}_6 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 作用によりエナメル質表面にチタンとフッ素が取り込まれ¹⁰⁾、蒸留水ならびに人工唾液による洗浄後もチタン、フッ素ともに残留することが確認されている。本研究のエナメル質粉末の化学分析の結果でもチタンはほとんど溶出しなかったことから、人工唾液洗浄により溶出したフッ素はフッ化カルシウム由来であると考えられるが、フッ素の溶出はわずかで取り込まれたフッ素は大部分が安定に結合していることが示された (Table 3)。また、エナメル質表面に観察されるフッ化チタン化合物に特有の glaze 状物質は蒸留水洗浄後、人工唾液洗浄後いずれも安定であることから^{10,11,21)} エナメル質粉末の場合も人工唾液洗浄後に残留したチタンならびにフッ素は glaze 状物質に関連しているものと考えられる。

人工唾液洗浄後のエナメル質粉末の耐酸性は、両フッ化物溶液作用群ともにフッ化物溶液作用後とほとんど差はなかった (Fig. 2)。APF 溶液作用により生成したフッ化カルシウムは大部分が人工唾液中に溶出したが (Fig. 3)、1MKOH 溶液洗浄により溶出したフッ素量からみると、人工唾液洗浄後も APF 溶液作用群ではまだかなりの量のフッ化カルシウムが残留するものと思われる。残留したフッ化カルシウムはエナメル質からのカルシウムの溶出を十分抑制し得ると考えられ³⁰⁾、そのため人工唾液洗浄後も APF 溶液作用群の耐酸性は低下しなかったものと思われる。

一方、フッ化チタンアンモニウム溶液作用群では APF 溶液作用群よりフッ素取り込み量が少ないにもかかわらず、APF 溶液と同程度のカルシウム溶出の抑制がみられた。人工唾液洗浄後に耐酸性の低下しなかった理由としては、チタンの溶出がみられなかったことに関連すると思われ、チタンおよびフッ素は共にエナメル質と安定な形で結合していることが示された。特に、エ

ナメル質粉末の脱灰初期に大きな耐酸性を示した事実は (Fig. 2, Table 6)、エナメル質表面の耐酸性がチタンを含む glaze 状物質に由来することから^{7,9)}、エナメル質粉末の場合も、粉末粒子表面の glaze 状物質が耐酸性を示したものと考えられる。

次いで、フッ化物溶液作用エナメル質の 1MKOH 溶液による洗浄を行った。この方法は Caslavská ら^{36,37)} がフルオロアパタイトを共存させた 1MKOH 溶液中のフッ化カルシウムの溶解性を検討したもので、フッ化カルシウムのフッ素の92~96%が溶出することが認められており³⁸⁾、エナメル質中の遊離のフッ素ならびにフッ化カルシウムとエナメル質と安定に結合したフッ素 (permanently bound fluoride) の分離が可能な方法である。1MKOH 溶液による洗浄後は APF 溶液作用群のフッ素は大部分が溶出し、取り込まれたフッ素の約7%が残留したのみであったが、それでも残留フッ素量はフッ化チタンアンモニウム溶液作用後エナメル質のフッ素取り込み量よりも高い値であった。一方、フッ化チタンアンモニウム溶液作用群ではチタンは 1MKOH 溶液中に初期の取り込み量の約27%が溶出し、フッ素量も約50%減少した (Table 3)。

フッ化チタン化合物とエナメル質との反応では、フッ素と無機相 (エナメル質アパタイト) との反応生成物としてはフルオロアパタイトとフッ化カルシウムであるが²²⁾、エナメル質有機質とはフッ素とチタンは organometallic bond を形成する働きがあると考えられている³⁹⁾。また、 TiF_4 溶液作用エナメル質に種々の有機酸を作用させると glaze 状物質の生成量に影響がみられること⁷⁾、脱有機エナメル質では glaze 状物質の形成が少ないこと⁷⁾などから、チタンによる glaze 状物質の形成にはエナメル質中の有機質が関与していることが示唆されている。 TiF_4 溶液作用によりエナメル質表面に形成される glaze 状物質が 1MKOH 溶液洗浄後も安定であることは、走査電子顕微鏡により観察されている¹⁰⁾。したがって、フッ化チタンアンモニウム溶液作用エナメル質の 1MKOH 溶液洗浄によるチタンおよびフッ素の溶出は、エナメル質中に生成したチタン・フッ素化合物がエナメル質有機質に関連するため、強アルカリである 1MKOH 溶液により加水分解したためと思われる。1MKOH 溶液洗浄後のエナメル質粉末の耐酸性はフッ化物溶液作用後、人工唾液洗浄後に比べるとやや低下し、特に、フッ化チタンアンモニウム溶液作用群の耐酸性は APF 溶液作用群より低下した。これは両群の残留フッ素量の差によることは明らかである。APF 溶液

作用群では 1MKOH 溶液洗浄後に残留したフッ素は、エナメル質の無機質と安定に結合してフルオロアパタイト構造を成していると考えられるので、フッ化カルシウム溶出後は生成したフルオロアパタイトがエナメル質の耐酸性保持に寄与したものと思われる。

フッ化チタンアンモニウム溶液作用群においても、エナメル質に取り込まれたフッ素は大部分がフルオロアパタイト構造を成すと考えられるので、1MKOH 溶液洗浄によるエナメル質の耐酸性の低下は先にも述べたごとく、エナメル質中に生成した glaze 状の耐酸性物質であるチタン・フッ素化合物のアルカリによる加水分解を示すものである。その結果、有機質の分解による glaze 状物質の破壊が生じ、エナメル質粉末の耐酸性の低下をもたらしたものと考えられる。したがって、フッ化チタンアンモニウム溶液作用エナメル質の耐酸性は、glaze 状物質が大きく関与していることが確認された。

結 論

フッ化チタンアンモニウム溶液作用によりエナメル質に取り込まれるフッ素ならびにチタンとエナメル質の耐酸性との関連を明らかにする目的で *in vitro* において実験を行い、溶液作用後のエナメル質粉末に取り込まれるフッ素を、人工唾液あるいはアルカリ溶液に可溶性のものと不溶性のものに分離して APF 溶液作用の場合と比較検討を行い、次の結果を得た。

1) フッ化チタンアンモニウム溶液作用群のフッ素取り込み量は APF 溶液作用群に比べ非常に低い値であったが、洗浄後のフッ素の残留率は高いことを認めた。

2) フッ化チタンアンモニウム溶液作用エナメル質粉末は APF 溶液作用エナメル質と比較して、フッ素取り込み量が少ないにもかかわらず同程度の耐酸性を示し、人工唾液洗浄後もその効果は持続することを認めた。

3) フッ化チタンアンモニウム溶液作用においてはエナメル質へのチタン取り込みが認められ、人工唾液洗浄後も安定した状態を示したが、水酸化カリウム溶液洗浄後では初期の取り込み量の約27%が溶出した。

3) 水酸化カリウム溶液洗浄後、両フッ化物溶液作用群ともに耐酸性の低下がみられたが、フッ化チタンアンモニウム溶液作用群の方がやや大きな低下を示した。

これらのことから、APF 溶液作用エナメル質ではフッ化カルシウムの生成と溶出、およびエナメル質と安定な形で結合したフッ素が耐酸性獲得に関与するのにに対し、フッ化チタンアンモニウム溶液作用エナメル質ではフルオロアパタイト構造を持つフッ素のみではなく、有

機質関連のチタン化合物がアルカリ可溶性ではあるが、唾液中あるいは酸性領域では安定であり、エナメル質の耐酸性保持に大きく関与することが明らかとなった。

稿を終えるにあたり、本研究課題を与えられ、終始御懇篤なる御指導、御校閲を賜りました口腔衛生学講座の可見瑞夫主任教授、ならびに研究の計画と遂行にひとかたならぬ御指導、御助言を賜りました可見徳子助教授に深甚の謝意をささげます。

また、種々御協力をいただいた口腔衛生学教室の諸氏に心より感謝申し上げます。

文 献

- 1) McCann, H. G.: The effect of fluoride complex formation on fluoride uptake and retention in human enamel, *Arch. Oral Biol.*, 14; 521-531, 1969.
- 2) Clarkson, B. H.: The effect of metal/fluoride complexes on fluoride uptake and caries-like lesion formation in enamel, *J. Dent. Res.*, 57; 784-789, 1978.
- 3) 尾関正美, 小林やす子, 武井 盈, 島野僚祐: 希土類元素ランタンによるう蝕抑制, *口腔衛生会誌*, 28; 448-454, 1979.
- 4) 高橋好文: フッ化ビスマス (BiF_3) 溶液のウシエナメル質表層におよぼす影響についての研究, *愛院大歯誌*, 16; 147-169, 1978.
- 5) 谷口 学, 泉谷 明, 落合伸行, 大嶋 隆, 祖父江鎮雄, 西村英明: $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$ によるラット実験齲蝕抑制効果, *小児歯誌*, 19; 150-158, 1981.
- 6) Shrestha, B. M., Mundorff, S. A. and Bibby, B. G.: Enamel dissolution: I. Effects of various agents and titanium tetrafluoride, *J. Dent. Res.*, 51; 1561-1566, 1972.
- 7) Mundorff, S. A., Little, M. F. and Bibby, B. G.: Enamel dissolution: II. Action of titanium tetrafluoride, *J. Dent. Res.*, 51; 1567-1571, 1972.
- 8) Clarkson, B. and Wefel, J.: Titanium and fluoride concentrations in titanium tetrafluoride and APF treated enamel, *J. Dent. Res.*, 58; 600-603, 1979.
- 9) Wei, S. H. Y., Soboroff, D. M. and Wefel, J. S.: Effects of titanium tetrafluoride on human enamel, *J. Dent. Res.*, 55; 426-431, 1976.
- 10) Wefel, J. S. and Harless, J. D.: The effect of topical fluoride agents on fluoride uptake and surface morphology, *J. Dent. Res.*, 60; 1842-1848, 1981.
- 11) Wefel, J. S.: Artificial lesion formation and fluoride uptake after TiF_4 applications, *Caries Res.*, 16; 26-33, 1982.
- 12) Wefel, J. S., Valerio, J. and Wei, S. H. Y.: TiF_4 as a topical fluoride agent, *J.*

- Dent. Res. Special Issue B, 56; abs. 321, B132, 1977.
- 13) Regolate, B., Schait, A., Schmid, R. and Muhlemann, H. R.: The effect of titanium, aluminum and fluoride on rat caries, *Helv. Odont. Acta.*, 18; 92-96, 1974.
 - 14) Shrestha, B. M.: Effect of systemic titanium tetrafluoride (TiF_4) on fluoride uptake by developing rat enamel, *Caries Res.*, 17; 264-266, 1983.
 - 15) Reed, A. J. and Bibby, B. G.: Preliminary report on effect of topical applications of titanium tetrafluoride on dental Caries, *J. Dent. Res.*, 55; 357-358, 1976.
 - 16) Langer, M. and Galon, H.: The effect of mouth rinsing with TiF_4 solution on caries incidence in children, *J. Dent. Res. Special issue C*, 58; abs. 1, 1277, 1979.
 - 17) 安彦良一: 合成アパタイトならびにヒト歯牙に対するフッ化チタン化合物の作用, *神奈川歯学*, 15; 370-393, 1980.
 - 18) 飯野新太郎: フッ化チタン化合物のエナメル質に及ぼす影響に関する研究, *口腔衛生会誌*, 31; 461-476, 1982.
 - 19) 飯野新太郎, 可児徳子, 福岡幸伸, 山田真理子, 磯崎篤則, 伊川英二, 山根 勇, 可児瑞夫: フッ化チタンアンモニウム溶液作用エナメル質のX線マイクロアナライザ分析ならびに走査電子顕微鏡観察, *口腔衛生会誌*, 35; 426-434, 1985.
 - 20) Fukuoka Y., Kani T. and Kani M.: Effect of Ammonium Titanium Fluoride Solution on Artificial Caries Lesion Formation, *J. Dent. Res.*, 64; 111, 1985.
 - 21) 清水真理子, 飯野新太郎, 鷹木 達, 小出雅彦, 奥田 稔, 可児徳子, 可児瑞夫: フッ化チタンアンモニウム作用エナメル質の反応生成物について, *口腔衛生会誌*, 34; 348-349, 1984.
 - 22) 福岡幸伸, 伊川英二, 可児徳子, 可児瑞夫: フッ化チタンアンモニウム溶液とエナメル質の無機相反応生成物の熱力学的考察, *口腔衛生会誌*, 35; 530-531, 1985.
 - 23) 可児徳子, 清水真理子, 福田幸伸, 飯野新太郎, 可児瑞夫: エナメル質粉末中チタン (IV) の定量 第I報 原子吸光度法によるチタン (IV) の定量における基礎的検討, *口腔衛生会誌*, 34; 584-589, 1984.
 - 24) 可児徳子, 清水真理子, 福岡幸伸, 飯野新太郎, 可児瑞夫: エナメル質粉末中チタン (IV) の定量 第II報 溶媒抽出-原子吸光度法によるエナメル質中チタン (IV) の測定, *口腔衛生会誌*, 34; 590-597, 1984.
 - 25) Birkeland, J. M.: The effect of pH on the interaction of fluoride and salivary ions, *Caries Res.*, 7; 11-18, 1973.
 - 26) 飯塚喜一, 大橋勝美: 塩酸 p -アミノジフェニルアミンを用いる無機リンの微量比色定量法の追試と検討: *神奈川歯学*, 3; 78-83, 1968.
 - 27) A. S. T. M.: Inorganic index to the powder diffraction file, 1980.
 - 28) Cotton, F. A. and Wilkinson, G.: Advanced inorganic chemistry, 中原 勝訳: 無機化学下, 培風館, 東京, 1981, 721-729頁.
 - 29) 鎌田 仁: 標準応用化学講座 4 分析化学-I, コロナ社, 東京, 1980, 116-134頁.
 - 30) Ten Cate, J. M. and Duijsters, P. P. E.: Influence of fluoride in solution on tooth demineralization: 1. Chemical data, *Caries Res.*, 17; 193-199, 1983.
 - 31) Tung, M. S., Chow, L. C. and Brown, W. E.: Hydrolysis of dicalcium phosphate dihydrate in the presence or absence of calcium fluoride, *J. Dent. Res.*, 64; 2-5, 1985.
 - 32) 可児瑞夫, 可児徳子: 齲蝕予防のためのフッ化物応用法, I. フッ素の齲蝕予防機序, *岐歯学誌*, 12; 1-12, 1985.
 - 33) Richardson, B.: Fixation of topically applied fluoride in enamel, *J. Dent. Res.*, 46; 87-91, 1967.
 - 34) Baud, C. A. and Bang, S.: Electron probe and X-ray diffraction microanalysis of human enamel treated in vitro by fluoride solution, *Caries Res.*, 4; 1-13, 1970.
 - 35) McCann, H. G.: The solubility of fluorapatite and its relationship to that of calcium fluoride, *Arch. Oral Biol.*, 13; 987-1001, 1968.
 - 36) Caslavská, V., Moreno, E. C. and Brudevold, F.: Determination of CaF_2 resulting from fluoride topical treatments on enamel, *J. Dent. Res.*, 53; abs. 921, 285, 1974.
 - 37) Caslavská, V., Moreno, E. C. and Brudevold, F.: Determination of the calcium fluoride formed from in vitro exposure of human enamel to fluoride solutions, *Arch. Oral Biol.*, 20; 333-339, 1975.
 - 38) Bibby, B. G., and Little, M. F.: Fluorine and titanium and the organic material of dental enamel, *J. Dent. Res. Special Issue*, B. 54; B137-142, 1975.