原 著

テトラサイクリン投与ラットの 齲蝕罹患性に関する研究*

Study on the Caries Incidence of Tetracycline Administered Rats

植 野 正 之**

Masayuki UENO**

Received October 14, 1989; accepted November 15, 1989

Abstract: This study was designed to examine the caries incidence of tetracycline administered rats. The experiment was divided into three series. In the first series, the rats were daily injected subcutaneously with tetracycline hydrochloride (50 mg/kg body weight) from 10 days of age to weaning at 21 days of age. Rats injected with saline solution served as controls, and caries incidence was compared. In the second series, the caries inhibitory effects of fluorides (NaF in drinking water or topical application of APF) on tetracycline administered rats were assessed. In the third series, the acid resistance and the Vickers microhardness of enamel were measured in lower first molars.

The results obtained were as follows:

- 1) Compared with the control group, dental caries was significantly increased in tetracycline administered rats.
- 2) Dental caries in tetracycline administered rats was drastically reduced when fluorides were applied.
- 3) The acid resistance in tetracycline-affected enamel was decreased, but it was increased when fluorides were applied.

Microhardness of tetracycline-affected enamel was decreased, but a rehardening was shown when APF was topically applied.

On the basis of these results, I conclude that the caries resistance is decreased in tetracycline administered rats by reduction in acid resistance and hardness of tetracycline-induced hypoplastic enamel, but it is increased when fluorides are applied.

索引用語: テトラサイクリン, 実験齲蝕, 齲蝕罹患性, フッ素

Key words: Tetracycline, Experimental dental caries, Caries incidence, Fluoride

* 本論文の要旨は、第38回日本口腔衛生学会において発表した。

** 東京医科歯科大学歯学部予防歯科学教室 (主任: 岡田昭五郎教授)

** *Department of Preventive Dentistry and Public Health, Tokyo Medical and Dental University, Faculty of Dentistry (Director: Prof. Shogoro OKADA)*

緒 言

エナメル質の形成不全を伴う歯については、齲蝕感受性が高いとする説とそうでないとする説があり、両者の間に古くから論争が行なわれてきた。Mellanby¹⁾ は形成不全の歯をもつ子供の齲蝕罹患率が高く、高度の齲蝕に進行する割合も高いと報告している。これに対して、Staz^{2),3)} は形成不全の歯は正常に形成された歯に比べ齲蝕感受性が低いと報告している。

歯の形成時期に過剰のフッ素を摂取した場合に起こる歯牙フッ素症ではエナメル質の形成不全や石灰化不全を伴うが、齲蝕の発生は極めて少ないことが知られている^{4),5)}。また、歯の形成時期にビタミンDが不足するとエナメル質に形成不全を生じることがあるが、Wilsonら⁶⁾ はクル病の子供の歯を調べ、形成不全の程度が強いほど齲蝕罹患率は高くなると報告している。しかし、Shelling⁷⁾ らはクル病による形成不全歯と齲蝕感受性との間には何ら関係はみられないと報告している。

近年、わが国では重症の歯牙フッ素症やビタミンDの不足によるエナメル質形成不全の歯を見る機会は少なくなったが、全身的な疾患や局所的な要因によるエナメル質形成不全の歯やテトラサイクリン系薬物の影響によると思われる着色歯を見かけることは少なくない。

幼児期にテトラサイクリン系薬物を長期間投与されると永久歯に歯の着色が見られることはよく知られているが、このような歯がエナメル質の形成不全、石灰化不全を伴っている場合があることや、テトラサイクリン系薬物を投与した動物の歯に薬物による着色や石灰化不全が認められることが報告されている⁸⁻¹¹⁾。一方、テトラサイクリン系薬物によると思われる着色歯の齲蝕罹患性については2, 3の報告があるが、齲蝕の多寡については意見の一致を見ていない。

本研究は歯の形成、石灰化時期にテトラサイクリン系薬物の投与を受けた歯の齲蝕罹患性について検討する目的で、ラットを用いた動物実験を行ない、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. 実験動物および飼育方法

動物は日本クレア社より Wistar 系ラットを購入し、本学付属動物実験施設（温度 $23 \pm 2^\circ\text{C}$ 、湿度60%、6～21時点燈、21～6時消燈）で繁殖させ、実験にはその仔ラットを使用した。親ラットの飼育には通常は日本クレア CE-2 飼料を用い、繁殖時にはオリエンタル MNF 飼

料を用いた。授乳期間中は母ラット1匹当たり仔ラット8～10匹として飼育した。実験に使用した仔ラットは21日齢で離乳し、可及的に同腹のラットおよび雌雄が各群に均等になるように配分した。

本研究においては、実験1、実験2、実験3の各々に分けて動物を飼育した。いずれの実験においても離乳後は、動物を自動給水装置付きのステンレススチール製ケージに4～5匹ずつ入れ、動物が齲蝕誘発性食餌（Diet #2000, 船橋農場製）と飲料水を自由に摂取できるようにして飼育を行なった。飲料水は実験2、実験3におけるフッ化物溶液飲用群以外は自動給水装置による水道水給水とした。実験期間中は週1回、動物の体重測定を行なった。

離乳後は、離乳した日を第1日目と数えて、実験1では30日目すなわち50日齢、40日目（60日齢）、50日目（70日齢）、60日目（80日齢）まで、実験2では50日目（70日齢）まで、実験3では10日目（30日齢）まで飼育した。

2. 塩酸テトラサイクリンの投与方法

実験1の第1群、実験2のすべての群、実験3の第1群、第3群、第4群には、粉末塩酸テトラサイクリン（日本レダグリー社製）を生理食塩水で10mg/ml 溶液に調製し、体重10g 当り0.5mg 相当量を10日齢から21日齢まで1日1回合計12回、毎日17～18時に背部に皮下注射した。

実験1の第2群、実験3の第2群には対照として生理食塩水を体重10g 当り0.05ml ずつ10日齢から21日齢まで毎日皮下注射した。

3. フッ化物投与方法

フッ化物溶液飲用群（実験2の第2群、実験3の第3群）の動物については水道水による給水を止め、フッ化ナトリウム（以下 NaF と記す）で20ppm のフッ素を含む水溶液を調整し、合成樹脂容器の給水瓶に入れて与え、動物が自由に摂取できるようにして飼育した。

酸性フッ素リン酸溶液（以下 APF 溶液と記す）を塗布する群の動物（実験2の第3群、実験3の第4群）には、酸性フッ素リン酸溶液（NaF でフッ素0.9%、0.15 M リン酸を含む pH 3.6の溶液）を用意し、22日齢、23日齢、24日齢の連続3日間、上下顎第1、第2臼歯に1日1回塗布を行なった。APF 溶液は歯科用ピンセットを用いてラットを開口させ、小綿球にて上下顎第1、第2臼歯にそれぞれ約1分間ずつ局所塗布した。

4. 齲蝕の評価方法

動物は各実験の予定飼育期間終了後クロロホルム麻酔下で殺し、上下顎を剔出し、食片等の汚物を除去した後

10%中性ホルマリンで1週間固定した。その後標本を水洗し、実体顕微鏡下で JIS 規格10号のメリケン針を用い齦窩の検索を行なった。

齦窩の検索を行なった後、実験1において50日齢、60日齢まで飼育した動物および実験2の各群の動物については初期齦蝕の罹患状態を検索するために、上下顎とも片側を0.5%塩基性フクシン溶液で4時間染色、水洗、乾燥後、BronwillのThin Sectioning Machineを用い、厚さ約100 μ mの薄切切片¹²⁾を1匹につき4~5枚作製した。各切片は実体顕微鏡下、落下光線で観察し、エナメル象牙境に染色域の認められる裂溝を齦蝕裂溝として齦蝕の評価¹³⁾を行なった。

齦蝕の評価は第1臼歯と第2臼歯について行なった。第3臼歯は歯牙の石灰化時期が遅いため評価からは除外した。各群の齦蝕の発生状態は、齦窩あるいは初期齦蝕裂溝のある動物の有病率、1匹平均齦窩数あるいは初期齦蝕裂溝数で比較した。歯種別の齦蝕の比較は、齦窩のある動物の有病率で行なった。

実験結果の平均値の差の有意性の検定はt検定で、母分散の異なる2群の比較は Welch の方法により検定を行なった。百分率の差の有意性の検定は χ^2 検定および Fisher の直接確率計算法で行なった¹⁴⁾。

5. エナメル質耐酸性の測定方法

実験3で飼育した動物について、下顎より第1臼歯を抜き、食片等の汚物を除去、流水中で水洗後、歯肉縁下に相当する部分をスティッキーワックスで被覆し、pH 4.6, 0.1M 酢酸-酢酸ナトリウム緩衝液 1 ml 中に 37°C で6時間浸漬してエナメル質を脱灰させた。この

操作は3回連続して行なった。

脱灰終了後、脱灰溶液中に溶出したカルシウム量（以下 Ca 量と記す）を、自動サンプリング装置（Perkin Elmer AS-1）と原子吸光分光光度計（Perkin Elmer AAS-603号）によって小椋ら¹⁵⁻¹⁷⁾の方法に従い測定した。

耐酸性は脱灰溶液 1 ml 中に溶出した Ca 量 (μ g/ml) として比較した。

6. エナメル質微小硬度の測定方法

実験3で飼育した動物について、下顎片側中央部を近遠心方向に Bronwill の Thin Sectioning Machine を用いて切断し、厚さ約 500 μ m の切片を作製した。切片は測定面をエメリーペーパー（#280~3000）で研磨し、室温で24時間乾燥後、微小硬度の測定を行なった。硬度

Note. This diagram shows the second fissure of lower first molar on ground section. Measured points are indicated 1-7.

Fig. 1 Measured points of microhardness.

Fig. 2 Experimental schedule (experimental 1).

Table 1 Growth of rats between start of experiment and weaning

Group	No. of rats	Wi (g)	Ww(g)	Wi~Ww(g)
1	86	16.5 ± 1.8	33.4 ± 4.1	17.0 ± 3.2
2	84	16.6 ± 1.7	35.5 ± 4.1	18.9 ± 3.3

Mean ± S.D.

n.s.=not significant

*** P <0.001

Wi : Initial weight (10 days after birth)

Ww : Weight at weaning

Wi~Ww : Weight gain between start of experiment and weaning

の測定は微小硬度計 (MVK-C, 明石製作所) を用い、荷重50g, 荷重時間 30 秒の条件でマイクロビッカース硬さを測定した。測定部位は下顎第1臼歯の第2裂溝とし、Fig. 1 に示すエナメル質中の7点を選び、それぞれエナメル質の表層からエナメル象牙境までのほぼ中央部で測定した。

実験結果

1. 塩酸テトラサイクリン投与ラットの齲蝕罹患状態 (実験1)

臼歯の形成、石灰化時期に塩酸テトラサイクリンを投与したラットの齲蝕罹患性を調べる目的で、Fig. 2 に示す実験計画に従って対照群 (生理食塩水投与群) との比較を行なった。齲蝕誘発性飼料による飼育は50日齢、60日齢、70日齢、80日齢までとした。

1) 動物の発育状態

Table 1 に示すように、10日齢の体重は第1群 (塩酸テトラサイクリン投与群) と第2群 (生理食塩水投与群) との間に5%以下の危険率で有意な差はみられなかったが、離乳時の体重および10日齢から離乳時までの体重増加量はいずれも第2群の方が第1群に比べ成長が速く、第1群と第2群との間にはそれぞれ0.1%の危険率で有意な差がみられた。しかし、Table 2 に示すように実験終了時の体重、あるいは離乳時から実験終了時までの体重増加量は、各群とも5%以下の危険率で有意な差はみられなかった。

2) 齲蝕の罹患状態

Fig. 3 に示すように、齲窩をもつ動物の有病率は第1群、第2群とも飼育期間が長くなるに従い高くなる。50日齢、60日齢まで飼育した動物では第1群が第2群に比べ、それぞれ5%、1%の危険率で有意に高い有病率を示したが、70日齢、80日齢まで飼育した場合は第1群の方が高い率を示す傾向にはあるが、5%以下の危険率

で有意な差はみられなかった。

1匹平均齲窩数は Fig. 4 に示すように両群とも飼育期間が長くなるに従い増加する。第1群は第2群に比べいずれの飼育期間の場合も1匹平均齲窩数が多く、50日齢まで飼育した場合は5%の危険率で、60日齢、70日齢、80日齢まで飼育した場合は0.1%の危険率でそれぞれ有意な差がみられた。

50日齢、60日齢まで飼育した動物において、初期齲蝕裂溝をもつ動物の有病率と1匹平均初期齲蝕裂溝数を Table 3 に示す。初期齲蝕裂溝をもつ動物の有病率は第1群と第2群の間に差異は認められなかった。1匹平均初期齲蝕裂溝数は50日齢、60日齢まで飼育した動物ではいずれも第1群の方が高い数値を示す傾向がみられるが、第1群と第2群との間に5%以下の危険率で有意な差はみられなかった。

歯種別、飼育期間別に齲窩をもつ動物の有病率を Fig. 5 に示した。どの歯種においても第1群は第2群に比べ齲窩をもつ動物の有病率は高い傾向がみられるが、下顎第1臼歯では70日齢まで飼育した群、下顎第2臼歯では60日齢まで飼育した群、上顎第2臼歯では80日齢まで飼育した群のみに5%以下の危険率で有意な差がみられた。

2. フッ化物投与の影響 (実験2)

離乳前に塩酸テトラサイクリンを投与したラットについて、離乳後フッ化物を応用した場合の齲蝕抑制効果を検討するために、ラットを Fig. 6 に示す実験計画に従い、次の3群に分けて飼育し、齲蝕の発生状態を比較した。いずれの群の動物も、10日齢より21日齢まで毎日塩酸テトラサイクリンの皮下注射を行ない、21日齢で3群に分け、第1群は対照群とし、第2群は NaF 溶液飲用群、第3群は APF 溶液局所塗布群とした。齲蝕誘発性飼料での飼育期間は離乳時より50日目 (70日齢) までとした。

Table 2 Growth of rats between weaning and end of experiment

Days after birth	Group	Sex	No. of rats	Wf(g)	Ww~Wf(g)
50 days	1	♂	9	156.4 ± 12.4	120.6 ± 10.9
		♀	12	138.4 ± 11.1	102.5 ± 7.6
	2	♂	11	164.5 ± 12.6	126.5 ± 10.4
		♀	9	140.1 ± 10.1	103.2 ± 7.1
60 days	1	♂	9	197.3 ± 16.7	162.7 ± 14.3
		♀	12	154.7 ± 10.9	119.9 ± 9.5
	2	♂	12	201.3 ± 10.9	164.3 ± 9.6
		♀	8	156.5 ± 6.6	120.5 ± 6.6
70 days	1	♂	12	235.1 ± 14.3	201.3 ± 10.6
		♀	10	173.7 ± 9.4	143.4 ± 9.9
	2	♂	14	235.3 ± 16.6	200.8 ± 12.7
		♀	8	172.1 ± 8.8	139.1 ± 9.6
80 days	1	♂	13	252.7 ± 9.5	211.5 ± 9.1
		♀	9	182.7 ± 9.0	151.4 ± 8.7
	2	♂	14	257.4 ± 13.1	223.5 ± 11.1
		♀	8	189.0 ± 12.6	154.8 ± 11.1

Mean ± S.D.

Wf : Final weight

Ww~Wf : Weight gain between weaning and end of experiment

Fig. 3 Percentage of rats with carious cavities.

Fig. 4 Number of carious cavities per rat.

1) 動物の發育状態

Table 4, 5 に示すように、離乳時および実験終了時の体重、飼育期間中の体重増加量は各実験群の間に5%

以下の危険率で有意な差はみられなかった。

2) 齲蝕の罹患状態

齲窩あるいは初期齲蝕裂溝をもつ動物の有病率を Table 6 に示す。齲窩をもつ動物の有病率は第1群に比べ

Fig. 5 Percentage of rats with carious cavities on specific molars.

で第2群、第3群は幾分低い数値を示すが、5%以下の危険率で有意な差は認められなかった。初期齲蝕裂溝をもつ動物の有病率は各群の間に差異が認められなかつ

た。

1 匹平均齲窩数および初期齲蝕裂溝数を Table 7 に示した。離乳後フッ化物を投与した第2群、第3群は第1群に比べ1 匹平均齲窩数が少なく、第2群、第3群はいずれも第1群に比べ0.1%の危険率で有意な差がみられた。第2群と第3群との間には5%以下の危険率で有意な差はみられなかった。

1 匹平均初期齲蝕裂溝数でも、第2群、第3群は第1群に比べて小さい数値を示し、それぞれ0.1%の危険率で有意な差がみられた。また、第2群は第3群に比べ5%の危険率で有意に初期齲蝕裂溝数が少なかった。

Fig. 7 に示すように、歯種別に齲窩をもつ動物の有病率を比較すると、どの歯種でも第1群に比べ第2群、第3群の有病率は低く、上顎第2臼歯、下顎第1臼歯では第2群、第3群と第1群の間に、それぞれ5%、0.1%の危険率で有意な差がみられた。また、どの歯種においても第2群と第3群との間に有意な差はみられなかった。第2群、第3群で上顎第1臼歯に齲窩のある動物は1匹も認められなかった。

3. エナメル質の耐酸性ならびに微小硬度 (実験3)

10日齢から21日齢まで塩酸テトラサイクリンを投与した動物、また、その後にフッ化物を投与した動物のエナメル質の耐酸性の検索と、微小硬度を測定する試料を得るために、Fig. 8 に示す実験計画に従い、次の4群に分け、各群10匹ずつ齲蝕誘発性飼料を与えて30日齢まで飼育した。

Note, T.W.: Tap water NaF: NaF solution
 O: Injection of tetracycline hydrochloride
 Δ: Topical application of APF solution

Fig. 6 Experimental schedule (experimental 2).

Table 3 Percentage of rats with carious fissures and number of carious fissures per rat

Days after birth	Group	No. of rats	P	N
50 days	1	21	100.0(21/21)	7.86 $\pm$ 1.39*
	2	20	100.0(20/20)	7.40 $\pm$ 1.76
60 days	1	21	100.0(21/21)	7.95 $\pm$ 1.28
	2	20	100.0(20/20)	7.30 $\pm$ 1.38

n.s.=not significant

* Mean $\pm$ S.D.

P : Percentage of rats with carious fissures

N : Number of carious fissures per rat on one side of jaw

Table 4 Growth of rats between start of experiment and weaning

Group	No. of rats	Wi(g)	Ww(g)	Wi~Ww(g)
1	21	16.3 $\pm$ 1.8	34.8 $\pm$ 3.0	18.4 $\pm$ 2.0
2	22	16.1 $\pm$ 2.2	34.8 $\pm$ 2.4	18.7 $\pm$ 1.7
3	22	16.2 $\pm$ 1.9	35.0 $\pm$ 3.0	18.8 $\pm$ 1.9

Mean $\pm$ S.D.

Wi : Initial weight (10 days after birth)

Ww : Weight at weaning

Wi~Ww : Weight gain between start of experiment and weaning

Table 5 Growth of rats between weaning and end of experiment

Group	Sex	No. of rats	Wf(g)	Ww~Wf(g)
1	♂	10	230.8 $\pm$ 20.1	195.7 $\pm$ 19.6
	♀	11	172.0 $\pm$ 12.3	137.5 $\pm$ 9.3
2	♂	11	227.7 $\pm$ 17.8	192.3 $\pm$ 15.9
	♀	11	172.5 $\pm$ 7.9	139.3 $\pm$ 8.3
3	♂	11	226.7 $\pm$ 13.9	190.6 $\pm$ 13.4
	♀	11	177.0 $\pm$ 8.5	142.2 $\pm$ 7.1

Mean $\pm$ S.D.

Wf : Final weight

Ww~Wf : Weight gain between weaning and end of experiment

Table 6 Percentage of rats with carious cavities or fissures

Group	No. of rats	Carious cavities	Carious fissures
1	21	100.0(21/21)	100.0(21/21)
2	22	90.9(20/22)	100.0(22/22)
3	22	86.4(19/22)	100.0(22/22)

n.s.=not significant

Table 7 Number of carious cavities or fissures per rat

Group	No. of rats	Carious cavities	Carious fissures
1	21	6.71 ± 3.57	8.76 ± 0.62
2	22	2.77 ± 1.82	6.77 ± 1.63
3	22	2.32 ± 1.76	7.68 ± 1.13

(Carious fissures were counted on one side of jaw)

Mean $\pm$ S.D.

n.s.=not significant

* $P < 0.05$ *** $P < 0.001$

Fig. 7 Percentage of rats with carious cavities on specific molars.

第1群は10日齢から21日齢まで毎日1回塩酸テトラサイクリンの皮下注射を行ない、離乳後水道水を与えて飼育した群とした。第2群はその対照群とし、10日齢から21日齢まで生理食塩水を皮下注射した群とし、離乳後は水道水を与えて飼育した。第3群は第1群と同様塩酸テトラサイクリン注射を行ない、離乳後20ppmのフッ素を含むNaF溶液を飲用させた群とした。第4群は第1群と同様塩酸テトラサイクリン注射を行ない、離乳後3回APF溶液の局所塗布を行なった群とした。

子定飼育期間飼育した後、動物を殺し、各群の動物から下顎第1臼歯を抜去して、エナメル質の耐酸性と微小

Fig. 8 Experimental schedule (experimental 3).

硬度の測定のための試料とした。

1) エナメル質耐酸性

エナメル質耐酸性は各群10試料について、0.1M酢酸-酢酸ナトリウム緩衝液に溶出したCa量で比較した。連続3回の脱灰を行なった各回毎の溶出Ca量、ならびに3回の溶出Ca量の和の平均値をFig. 9に示す。各群の溶出Ca量は連続3回の脱灰操作でも同様の傾向を示し、第1群が最も多く、第2群、第3群、第4群の順に溶出Ca量が少なくなる傾向がみられる。第1回、第2回、第3回の脱灰でいずれも、各群間には5%以下の危険率で有意な差がみられた。

3回の脱灰操作における溶出Ca量の合計では、第1群は他の各群に比べ1%以下の危険率で有意に溶出Ca量が多く、第3群、第4群は第1群、第2群に比べそれぞれ0.1%の危険率で有意に溶出Ca量が少なかった。また、第4群は第3群に比べ0.1%の危険率で有意に溶出Ca量が少なかった。

Fig. 9 Values of dissolved calcium in 0.1M acetic acid buffer.

Fig. 10 Microhardness on enamel.

2) エナメル質微小硬度

各群10試料の下顎第1臼歯の第2裂溝で、エナメル質中に7つの測定点を設定して微小硬度の測定を行なった平均値を Fig. 10 に示す。各群とも裂溝上部では硬度が高く、裂溝底部に向かうに従い硬度が低くなる傾向がみられた。

第1点、第7点では各群間に有意な差はみられなかった。しかし第2点から第6点（裂溝開口部3分の1の測定点から裂溝底部へ向かって設定した各測定点）では、第1群、第3群は第2群、第4群よりもいずれの測定点においても硬度が低い傾向がみられた。第1群、第2群間では第2点から第6点のすべてについて5%以下の危

険率で有意な差がみられた。また、第1群と第3群の間でも4つの測定点で5%以下の危険率で有意な差がみられた。

考 察

テトラサイクリン系薬物は広域性抗菌スペクトルをもつ抗生物質で、感染性疾患の治療に投与されることが多いが、歯の形成期にこの薬剤が投与されると歯に沈着し、後日、歯の着色¹⁸⁻²⁰⁾が審美的に問題となることが多い。

テトラサイクリン系薬剤を投与された既往歴があり、着色の見える歯の齲蝕罹患性についてWallman²¹⁾、Witkop²²⁾、Kline²³⁾はテトラサイクリン系薬剤の投与を受けた歯では齲蝕の発生が多かったと報告しており、Brearley²⁴⁾、Radtke²⁵⁾は逆に齲蝕の発生は少なかったと述べている。また、Weyman²⁶⁾、Hamp²⁷⁾、Genot²⁸⁾、Rebich²⁹⁾は齲蝕の発生に差はなかったと報告している。このようにテトラサイクリン系薬剤による着色歯の齲蝕罹患性については意見の一致を見ていない。

動物を用いた実験齲蝕に関する研究では、テトラサイクリン系薬剤を口腔内微生物の発育を抑制する目的で用いた研究³⁰⁻³⁷⁾は多いが、臼歯の形成時期にテトラサイクリン系薬剤を投与した動物について齲蝕の発生状況を検

討した研究は岡田ら³⁸⁾、田中ら³⁹⁾、Radtke ら⁴⁰⁾の研究の他には見当たらない。

岡田ら³⁸⁾はハムスターに塩酸テトラサイクリンを4日齢より3日毎に6回腹腔内注射し、対照群との齲蝕罹患状態を調べたところ、塩酸テトラサイクリン投与群の臼歯は齲蝕による崩壊が対照群より著しい傾向にはあるが、両群間に有意な差は認められなかったと報告している。田中ら³⁹⁾は塩酸ミノサイクリンを2日齢から50日齢まで1日おきに体重10g 当り0.15mg 腹腔内注射したラットでは、重症の齲蝕が生じたと報告している。また、細菌学的検索を行なった結果では、塩酸ミノサイクリン投与群と非投与群との間に口腔内常在菌の違いが観察されなかったことから、腹腔内に注射した塩酸ミノサイクリンや、歯に沈着した塩酸ミノサイクリンは菌叢に影響を与えるよりもむしろ歯質に対して齲蝕感受性を高める働きをしているのではないかと述べている。Radtke ら⁴⁰⁾は妊娠中にロリテトラサイクリンを投与された母ラットから生まれた仔ラットに対し、22日齢から35日齢まで毎日、体重10g 当り0.25mg のロリテトラサイクリンを腹腔内注射してその齲蝕の進行状況を調べ、ロリテトラサイクリンを投与したラットでは齲蝕の進行が遅く、これはロリテトラサイクリンの抗菌作用によるものではないかと述べている。

動物を使った硬組織形成の研究では、時刻描記法のためにテトラサイクリン系薬剤の投与が行なわれている⁴¹⁻⁴⁴⁾が、テトラサイクリン系薬剤を投与することにより硬組織に石灰化不全を生じることも知られている。Bevelander ら⁴⁵⁾は5mg の塩酸テトラサイクリンを2週齢より毎日連続5日間注射したラットの臼歯には可視光線および紫外線下に顕微鏡で石灰化不全が観察されたと報告しており、Hammarström⁴⁶⁾は体重10g 当り0.5mg の塩酸テトラサイクリンを腹腔内注射したラットの臼歯にマイクロラジオグラムで低石灰化部が認められたと報告している。また、McIntosh ら⁴⁷⁾は種々の濃度と種類のテトラサイクリン系薬剤を用い、形成不全の発生状況を可視光線および紫外線下に顕微鏡で調べ、体重10g 当り0.5mg が臼歯エナメル質に形成不全を起こす最低濃度であったと報告している。

本研究ではテトラサイクリン系薬剤として塩酸テトラサイクリンを体重10g 当り0.5mg、10日齢から毎日1日1回投与したが、前述の報告から考えて、今回使用した濃度と投与量でラットの臼歯のエナメル質には石灰化不全が生じているものと推測される。また塩酸テトラサイクリンの投与方法は、大野の報告⁴⁸⁾を参考にして、塩酸

テトラサイクリンが比較的持続的に吸収されて、歯質に瀰漫性に作用するように皮下注射した。投与時期は、ラットの歯の形成時期^{49,50)}を考慮し、第1、第2臼歯エナメル質の形成期から石灰化期に相当する10日齢から離乳時までとした。

本研究において塩酸テトラサイクリン投与群では10日齢から離乳時までの投与期間中は体重の増加量が少なかった。McIntosh ら⁴⁷⁾、平居⁵¹⁾もテトラサイクリン系薬剤を投与したラットでは体重の増加が悪いと報告しており、本実験の結果も塩酸テトラサイクリン投与の影響によるものと思われた。しかし、投与終了後は体重は順調に増加し、投与期間中の体重の増加不足を補い、飼育終了時には対照群と同程度の体重であった。

1. 塩酸テトラサイクリンを投与したラットの齲蝕罹患状態について

実験1では飼育期間の長短による塩酸テトラサイクリン投与群の齲蝕発生状態を対照群と比較して検討した。10日齢より離乳時まで塩酸テトラサイクリンを投与した実験群とその対照群とはともに飼育期間が長くなるに従い齲窩をもつ動物の有病率ならびに1匹平均齲窩数が増加したが、いずれの飼育期間の場合も実験群の方が対照群に比べ高い数値を示した。しかし、初期齲蝕裂溝の発生状態を検索した結果では、実験群は対照群に比べ1匹平均初期齲蝕裂溝数は多い傾向にあったものの有意な差はみられなかった。この2つのことから、塩酸テトラサイクリンを投与した群では初期齲蝕の発生は対照群と同程度であっても、その後の齲蝕による歯の崩壊が速く、齲窩の形成が早い時期から起こるものと考えられ、これは岡田ら³⁸⁾、田中ら³⁹⁾の報告とも類似している。

武井¹³⁾はラットの臼歯を早期に出産させた場合には、エナメル質に石灰化の未熟なところがあり、齲蝕による歯質の崩壊が著しいことを報告している。本研究において実験群で齲窩の発生が多かったのも、テトラサイクリンの投与によりエナメル質に石灰化不全が生じていたためと推測された。すなわち、歯の形成、石灰化の時期に石灰化不全を起こした歯では、一度齲蝕に罹患すると歯質が崩壊し易く、その後の進行が速くなるものと考えられる。

歯種別に齲窩をもつ動物の有病率を検索した結果では、対照群で齲窩をもつ動物の有病率がどの歯においても飼育期間が長くなるほど高い数値を示す傾向がみられ、下顎第2臼歯(以下 $\overline{M}_2$ と記す)が最も早く高くなり、ついで下顎第1臼歯(以下 $\overline{M}_1$ と記す)、上顎第2臼歯(以下 $\underline{M}_2$ と記す)、上顎第1臼歯(以下 $\underline{M}_1$ と記す)

の順で高い数値になる。このことから、本実験に使用したラットの齧蝕抵抗性は $\overline{M}_2$ が最も低く、次いで $\overline{M}_1$ 、 $\overline{M}_2$ 、 $\overline{M}_1$ の順に高いと考えられた。実験群の動物の場合も同様の傾向がみられるが、いずれの歯でも対照群のそれより高い数値を示し、齧蝕抵抗性は減弱していると考えられた。

実験群と対照群を比較すると $\overline{M}_2$ は60日齢で有意な差がみられ、 $\overline{M}_1$ は70日齢、 $\overline{M}_2$ は80日齢でそれぞれ有意な差がみられた。これは、 $\overline{M}_2$ では実験群は60日齢で対照群との間に差異が認められるほどに齧窩のある動物が増加するが、その後の増加は少ない。一方、対照群では実験群より遅く70日齢、80日齢になって齧窩をもつ動物が多くなるために両群間の差異が認められなくなったものと思われる。

$\overline{M}_1$ は $\overline{M}_2$ に比べると本来の齧蝕抵抗性が少し高いために、60日齢では両群の差の有意性は認められないが、70日齢で差が明らかになり、80日齢では対照群も齧窩をもつ動物が多くなり、差異がみられなくなったと考えられる。 $\overline{M}_2$ ではさらに齧蝕抵抗性が高いため、80日齢でようやく有意な差が認められたものと思われる。 $\overline{M}_1$ では80日齢でも差異は認められなかったが、さらに飼育期間が長くなれば、 $\overline{M}_1$ にも差異が認められるのではないかと推測される。これらの結果を総合して考えると、実験群の動物ではどの歯も齧蝕抵抗性が対照群の動物の歯に比べて低くなっているものと考えられた。

2. 塩酸テトラサイクリンを投与したラットの歯の耐酸性と微小硬度について

Pilz ら⁵²⁾ はオキシテトラサイクリンおよびロリテトラサイクリンを腹腔内注射したウサギのエナメル質の耐酸性は対照群に比べ低かったと報告している。本実験でも塩酸テトラサイクリンを投与した群の $\overline{M}_1$ では対照群のそれに比べ有意にエナメル質の溶出 Ca 量が多く、耐酸性は低い結果が得られ、これが齧蝕抵抗性を低くするひとつの要因となっているものと考えられた。

本実験における微小硬度の測定結果では塩酸テトラサイクリンの投与と如何にかかわらず、両群とも裂溝開口部付近で硬度が最も高く、裂溝底部に向かうに従い硬度は低くなる傾向がみられた。エナメル質の微小硬度は無機質含有量が多いほど高くなる⁵³⁻⁵⁵⁾といわれていることから、本実験に使用した試料では裂溝底部に向かうほど石灰化度は低かったものと思われる。これは裂溝開口部付近に比べ裂溝底部の石灰化時期が遅く⁵⁶⁾、微小硬度の測定に用いた試料が30日齢の $\overline{M}_1$ であるので、萌出後のエナメル質の成熟がまだ十分でないためと考えられた。

須賀⁵⁶⁾によるとエナメル質の石灰化は基質形成期と石灰化期（成熟期）の2期に大別できるという。テトラサイクリンによる石灰化不全は、有機性基質の形成障害により2次的に生じる^{44,46,57)}という説と、テトラサイクリンがカルシウムと複合体を形成し結晶核の形成や結晶成長を阻害することにより生じる^{58,59)}という説がある。本実験においてテトラサイクリンの投与を始めた10日齢では、 $\overline{M}_1$ の裂溝開口部付近はすでに基質形成期から石灰化期への移行期であると考えられ、テトラサイクリンによる障害が少なかったこと、さらに裂溝開口部付近は萌出後唾液などにより2次的石灰化が起こり易い場所であることが重なり、塩酸テトラサイクリンを投与しなかった群と同程度の微小硬度を示したものと思われる。しかし、裂溝中央部から底部にかけては塩酸テトラサイクリン投与の影響が顕著に現れて、微小硬度に差がみられたものと考えられた。

Baker⁶⁰⁾ は、テトラサイクリン系薬剤の投与を受けた歯の微小硬度と比重を測定し、エナメル質のテトラサイクリン系薬剤による着色部は健全部に比べ有意に硬度が低く、比重も低かったと報告している。Pilz ら⁶¹⁾ もオキシテトラサイクリンおよびロリテトラサイクリンを腹腔内注射したウサギのエナメル質の微小硬度は対照群のそれに比べ低かったと述べている。これら先人の報告から考え、歯の形成、石灰化時期にテトラサイクリン系薬剤を投与した動物の歯は、エナメル質の耐酸性、微小硬度が低く、酸に侵され易く、機械的強度も弱い歯であるために、齧蝕に罹患した場合、歯質が崩壊し易いものと思われる。これらの結果が前述の早期に齧窩をもつ動物が多く出現することと関連があると考えられた。

3. フッ化物投与の影響について

実験2では、歯の形成、石灰化期に塩酸テトラサイクリンを投与した動物についてフッ化物を応用し、その予防効果を検討した。フッ化物の作用機序にはエナメル質の耐酸性の向上、口腔内細菌に対する静菌、抗酵素作用、エナメル質結晶構造の安定化、再石灰化の促進などの作用があるとされているが、本実験ではフッ素を作用させ、主に歯質を増強することによってエナメル質の崩壊、齧窩の形成の抑制が可能か否かを検討した。

齧蝕予防のためのフッ化物応用の手段には微量のフッ素を長期にわたって飲用させる方法と、比較的高濃度のフッ素を局所的に応用する方法があるが、本実験ではその両者を別々の群として実験を行なった。

本実験において NaF 溶液の飲用を開始した時期は $\overline{M}_1$ 、 $\overline{M}_2$ の萌出後であるので、NaF 溶液を飲用させた群

では萌出後に直接フッ素が歯に作用したことになる。この群では齲窩、初期齲蝕裂溝ともに顕著な齲蝕抑制効果がみられたが、特に初期裂溝齲蝕に対しては、APF 溶液を局所塗布した場合よりも5%の危険率で有意に高い齲蝕抑制効果がみられた。

飲用に用いた NaF 溶液は Auskaps ら⁶²⁾、Firestone ら⁶³⁾が用いてラットの裂溝齲蝕で齲蝕予防効果が認められたという20ppm の F 濃度溶液を用いたが、最近、Spuller ら⁵⁵⁾、Beiraghi ら⁶⁴⁾は0.25~1 ppm のフッ素濃度でもラットの齲蝕を予防できると報告している。本実験で動物が摂取する NaF 溶液は20ppm としても裂溝底部に到達するフッ素濃度はさらに低くなる可能性はあるが、石灰化不全の歯に対して低濃度でも長期間繰り返し作用することが齲窩の形成や初期齲蝕の発生の防止に効果のあることが示唆された。

裂溝上部に比べ裂溝底部ではその形態的な特徴からフッ素の取り込みは少なく、齲蝕抑制効果も低いと報告されている^{65,66)}。しかし、今回の実験ではフッ化物を応用した2群のいずれにも予防効果が認められた。初期齲蝕の発生において、NaF 溶液飲用群の予防効果が大きかったのは、APF 溶液を局所塗布した群が離乳直後の3回のフッ素に対する暴露であったのに対して、NaF 溶液を飲用させた群の場合は離乳後の飼育期間中毎日 NaF 溶液に繰り返し暴露されるので、比較的到達しにくい裂溝底部にもフッ素溶液の到達する機会が多かったためではないかと考えられた。

歯種別にみると、フッ化物応用群では $\overline{M}_2$, $\overline{M}_1$ で有意に齲蝕の発生が抑制された。 $\overline{M}_2$ は最も齲蝕抵抗性の低い歯であり、フッ化物を応用した2つの群では齲窩をもつ動物の有病率は幾分減少したものの、今回の実験では有意に齲窩の形成を抑制するには至らなかった。これは、この歯の齲蝕抵抗性が本来低いことに加え、塩酸テトラサイクリンを投与してさらに齲蝕抵抗性が低くなったために、今回のフッ化物の応用手段では十分な予防効果を発揮するまでには至らなかったものと考えられる。

$\overline{M}_1$ は $\overline{M}_2$ に比べるとそれほど齲蝕抵抗性が低くないために、この歯ではフッ化物を応用した2つの群で十分齲窩の形成を防止する効果が認められた。 $\overline{M}_2$ は $\overline{M}_1$ に比べると齲窩の形成防止の効果は低かったが、フッ化物を応用した2つの群は5%以下の危険率で有意に齲窩をもつ動物の有病率を低く抑えることできた。また、 $\overline{M}_1$ はこの4本の臼歯の中では齲蝕抵抗性が最も高い歯であるが、フッ化物を応用した2つの群では齲窩の形成は全くみられなかった。すなわち、有意性については計算で

きなかったが、対照としてフッ素を応用しなかった群に比べて齲蝕の発生を予防していると考えられた。

フッ化物を応用した2つの群の耐酸性の測定結果では、フッ化物を応用した群の溶出 Ca 量は少なく、フッ化物の応用により耐酸性が付与されることが示唆された。APF 溶液を局所塗布した群の方が NaF 溶液を飲用させた群よりも溶出 Ca 量が少なかったが、これは、この実験に供した試料が30日齢の動物のものであり、NaF 溶液飲用群ではまだ十分フッ素が歯に取り込まれていないためではないかと考えられる。

微小硬度の測定では、NaF 溶液を飲用させた群では硬度の回復はみられなかったが、APF 溶液を局所塗布した群では歯の形成、石灰化時期に生理食塩水を投与した群とほぼ同程度にまで硬度が回復した。NaF 溶液飲用群のエナメル質の微小硬度が低かったのも耐酸性試験の結果と同様、フッ素がまだ歯に十分取り込まれていないためと考えられた。

フッ素によりエナメル質の初期齲蝕の再石灰化が促進され、硬度が回復することは多くの研究⁶⁷⁻⁷⁰⁾で確認されており、Koulourides⁶⁸⁾はフッ素は再石灰化の速度を4倍に増加させ、軟化したエナメル質の硬度をほとんど完全にもとの状態にまで回復させたと報告している。実験2においてフッ化物を応用した2つの群の場合は、石灰化不全のある歯の不完全な結晶構造の保全や安定化などの作用とともに、再石灰化の促進というフッ素の作用が加わって、齲窩の形成が抑制されたものと考えられた。

Keyes⁷¹⁾は齲蝕の発生要因として、宿主・歯、微生物、基質(食物)の3つの大きな要因を挙げ、これら3要因が互いに悪い条件で部分的に重なり合う場合に齲蝕が発生すると述べている。齲蝕の発生はこれら因子の総合作用によるものとされているが、主要因子の1つが特に顕著な場合は他の因子が微弱でも齲蝕となり得る可能性がある。本実験の結果から考えると、歯の形成、石灰化時期に塩酸テトラサイクリンの投与を受けた歯において石灰化不全が生じている場合には、宿主・歯の要因であるエナメル質の耐酸性や硬度が低下し、たとえ歯に残った塩酸テトラサイクリンに抗菌作用があるとしても相対的には齲蝕抵抗性は低くなり、初期齲蝕に罹患した場合歯質が崩壊し易い状態にあると考えられる。またそのような歯については萌出直後のフッ化物の応用が効果を示すことが示唆された。

テトラサイクリン系薬剤の投与を受けた歯の齲蝕罹患性には多くの要因が関与しており、未だ不明な点も多い。今後、組織学的、細菌学的、更に結晶構造学的検索

を含めた多方面からの検討が必要であると思われる。

結 論

ラットを用い、歯の形成、石灰化時期に塩酸テトラサイクリンの投与を受けた歯の齲蝕罹患性を検討した結果、塩酸テトラサイクリンの投与を受けたラットの歯では齲蝕の進行が速く、齲窩の形成が早い時期から起こり、齲蝕抵抗性が低下していると考えられた。また、このような歯にフッ化物を応用することで齲蝕の発生が抑制されることから、このような歯に対するフッ素の応用は有効な齲蝕予防手段であることが示唆された。

謝 辞

稿を終えるにあたり、終始懇切なご指導とご校閲を賜りました、岡田昭五郎教授、尾崎文子講師に謹んで感謝の意を捧げます。また、本研究の実験に際して、ご指導、ご協力をいただきました本学第1歯科理工学教室、西村文夫助教授、ならびに本学歯科薬理学教室、大谷啓一助教授、俣木志朗講師に、厚くお礼を申し上げます。さらに、本研究に際し、ご援助、ご協力いただきました予防歯科学教室の諸先生方に心からお礼を申し上げます。

文 献

- 1) Mellanby, M.: Diet and the teeth. An experimental study, Part III. The effect of diet on dental structure and disease in man, Med. Res. Council. Special Reports, Series No. 191, 1934.
- 2) Staz, J.: Hypoplastic teeth and dental caries, South African Med. J., 17; 1, 1943.
- 3) Staz, J.: Hypoplastic teeth and dental caries, J. Dent. Res., 23; 220, 1944.
- 4) McKay, F. S.: The establishment of a definite relation between mottled enamel and the liability to decay, Dent. Cos., 71; 747, 1929.
- 5) Dean, H. T.: Endemic fluorosis and its relation to dental caries, Pub. Health Rep., 53; 1685, 1938.
- 6) Wilson, D. C. and Surie, E.: Osteomalacia (late rickets) studies, Part IV. A preliminary note on the incidence of rickets and dental caries among school children in India, Indian J. Med. Res., 17; 903, 1930.
- 7) Shelling, D. H. and Anderson, G. M.: Relation of rickets and vitamin D to the incidence of dental caries, enamel hypoplasia and malocclusion in children, J. Amer. Dent. Res., 23; 840, 1936.
- 8) Harcourt, J. K., Johnson, N. W. and Storey, E.: *In vivo* incorporation of tetracycline in the teeth of man, Arch. Oral Biol., 7; 431-437, 1962.
- 9) Bennet, I. C. and Law, D. B.: Incorporation of tetracycline in developing dog enamel and dentin, J. Dent. Res., 44; 788-792, 1965.
- 10) 蝦原悦郎: ヒトの歯のテトラサイクリンによるラベリング像, 歯学, 5; 900-931, 1974.
- 11) 石川堯雄, 川崎堅三, 田中 秀: 象牙質と Tetracycline について, 歯基礎誌, 17; 219-235, 1975.
- 12) König, K. G., Marthaler, T. M. und Mühlemann, H. R.: Methodik der kurzfristig erzeugten Rattenkaries, Dtsch. Zahn- Mund- u. Kieferheilk., 29; 99-127, 1958.
- 13) 武井啓一: ラットの早期出歯歯牙の齲蝕感受性に関する研究, 口衛誌, 32; 524-540, 1983.
- 14) Armitage, P. and Berry, G.: Statistical methods in medical research. Second edition, Blackwell Scientific Publications, London, 1971, p. 129-132.
- 15) 小椋秀亮, 加藤有三, 山田庄司: 多用途微量金属分析装置による生物試料中の金属定量 I, 口病誌, 44; 257-266, 1977.
- 16) 小椋秀亮, 山田庄司, 加藤有三: 多用途微量金属分析装置による生物試料中の金属定量 II, 口病誌, 44; 483-491, 1977.
- 17) 山田庄司, 加藤有三, 小椋秀亮: 多用途微量金属分析装置による生物試料中の金属定量 III, 口病誌, 47; 391-396, 1980.
- 18) Weyman, J. and Porteous, J. R.: Discoloration of teeth possibly due to administration of tetracyclines, Brit. Dent. J., 113; 51-54, 1962.
- 19) Davis, P. A., Little, K. and Aherne, W.: Tetracycline and yellow teeth, Lancet, 1962 I; 743, 1962.
- 20) Wallman, I. S. and Hilton, H. B.: Teeth pigmented by tetracycline, Lancet, 1962 II; 827-829, 1962.
- 21) Wallman, I. S. and Hilton, H. B.: Prematurity, tetracycline, and oxytetracycline in tooth development, Lancet, 1962 II; 720-721, 1962.
- 22) Witkop, C. J. and Wolf, R. O.: Hypoplasia and intrinsic staining of enamel following tetracycline therapy, J. Amer. Med. Assoc., 13; 1008-1011, 1963.
- 23) Kline, A. H., Blattner, R. J. and Lunin, M.: Transplacental effect of tetracyclines on teeth, J. Amer. Med. Ass., 188; 178-180, 1964.
- 24) Brearley, L. J. and Porteous, J. R.: Cha-

- racteristics and caries experience of tetracycline-affected dentitions, *J. Dent. Res.*, **52**; 508-516, 1973.
- 25) Radtke, G., Erler, K. und Pörschmann, M.: Tierexperimentelle und klinische Untersuchungen zur Kariesaktivität und -progression in tetrazyklinhaltigen Zahnhartgeweben. Teil 2: Klinische Studien, Zahn- Mund- u. Kieferheilkd., **72**; 420-424, 1984.
 - 26) Weyman, J.: Caries incidence in teeth with tetracycline incorporation, *J. Dent. Res.*, **45**; 1817, 1966.
 - 27) Hamp, S. E.: The tetracyclines and their effect on teeth, *Odont. Foren Tidsk.*, **75**; 33-49, 1967.
 - 28) Genot, M. T., Golan, H. P., Porter, P. J. and Kass, E. H.: Effect of administration of tetracycline in pregnancy on the primary dentition of the offspring, *J. Oral Med.*, **25**; 75-79, 1970.
 - 29) Rebich, T., Kumar, J. and Brustman, B.: Dental caries and tetracycline-stained dentition in an american indian population, *J. Dent. Res.*, **64**; 462-464, 1985.
 - 30) Zander, H. A., Lisanti, V. F. and Shiere, F. R.: The validity of hamster studies in caries control, *J. Dent. Res.*, **30**; 139-144, 1951.
 - 31) Stephan, R. M., Fitzgerald, R. J., McClure, F. J., Harris, M. R. and Jordan, H.: The comparative effects of penicillin, bacitracin, chloromycetin, aureomycin, and streptomycin on experimental dental caries and on certain oral bacteria in the rat, *J. Dent. Res.*, **31**; 421-427, 1952.
 - 32) Shaw, J. H. and Sweeney, E. A.: Comparative studies on the influence of antibiotic substances in dental caries in the white rat and the cotton rat, *J. Dent. Res.*, **36**; 349-360, 1957.
 - 33) Zipkin, I., Larson, R. H. and Rall, D. P.: Reduced caries in offspring of rats receiving tetracycline during various prenatal and postpartum periods, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **104**; 158-160, 1960.
 - 34) Larson, R. H. and Zipkin, I.: Effect of tetracycline on the transmission of dental caries in rats, *J. Dent. Res.*, **40**; 264-267, 1961.
 - 35) Larson, R. H., Zipkin, I. and Fitzgerald, R. J.: Effect of dehydroacetic acid and tetracycline on caries activity and its transmission in the rat, *J. Dent. Res.*, **42**; 95-102, 1963.
 - 36) Harndt, R.: Incidence of caries in the teeth of syrian hamsters observed after administration of tetracycline during tooth development, *Caries Res.*, **4**; 316-317, 1975.
 - 37) Harndt, R.: Tetracyclin und Karies, *Dtsch. Zahnärztl. Zeitsch.*, **30**; 741-744, 1975.
 - 38) 岡田昭五郎, 塚田政司, 霞内純史, 木村 俊, 中川英二, 鈴木 武: テトラサイクリン沈着菌の齧蝕り患性について, *口衛誌*, **26**; 156, 1976.
 - 39) 田中 倫, 前田伸子: テトラサイクリン系抗生物質が実験ウ蝕に与える影響. 第1報: 口腔内常在菌叢とウ蝕部菌叢の比較, *口衛誌*, **32**; 265, 1982.
 - 40) Radtke, G., Erler, K. und Pörschmann, M.: Tierexperimentelle und klinische Untersuchungen zur Kariesaktivität und -progression in tetrazyklinhaltigen Zahnhartgeweben. Teil 1: Tierexperimentelle Studien, Zahn- Mund- u. Kieferheilkd., **72**; 11-16, 1984.
 - 41) Frost, H. M. and Villaneuva, A. R.: Tetracycline staining of newly forming bone and mineralizing cartilage in vivo, *Stain Technol.*, **35**; 135-138, 1960.
 - 42) Harris, W., Jackson, R. H. and Jowsey, J.: The in vivo distribution of tetracyclines in canine bone, *J. Bone and Joint Surg.*, **44A**; 1308-1320, 1962.
 - 43) 須賀昭一, 武蔵貞司: いくつかの方法によるエナメル質石灰化像の比較研究, *歯学*, **51**; 187, 1963.
 - 44) 前田光突: Tetracycline 投与による歯牙硬組織のラベリングと形成異常に関する実験的研究, *歯学*, **57**; 40-67, 1969.
 - 45) Bevelander, G., Rolle, G. K. and Cohlan, S. Q.: The effect of the administration of tetracycline on the development of teeth, *J. Dent. Res.*, **40**; 1020-1024, 1961.
 - 46) Hammarström, L.: Tetracycline in developing rat enamel in relation to protein synthesis and maturation, *Acta Odont. Scand.*, **26**; 337-356, 1968.
 - 47) McIntosh, H. A. and Storey, E.: Tetracycline-induced tooth changes, Part 4. Discoloration and hypoplasia induced by tetracycline analogues, *Med. J. Aust.*, **1**; 114-119, 1970.
 - 48) 大野康亮: テトラサイクリンによる形成期硬組織のラベリング像に及ぼす諸条件について, *歯基礎誌*, **20**; 252-269, 1978.
 - 49) Cheyne, V. D.: Production of graded mottling in molar teeth of rats by feeding of potassium fluoride, *J. Dent. Res.*, **21**; 145-155, 1942.
 - 50) Kurahashi, Y., Nagai, N., Watanabe, K., Watanabe, H. and Yama, K.: Chronologi-

- cal observation of the odontogenesis of rat molars, *Bull. Tokyo Dent. Coll.*, **9**; 147-159, 1968.
- 51) 平居タ美子: Oxytetracycline の歯質取り込みと硬組織への影響, *歯科医学*, **40**; 84-100, 1977.
 - 52) Pilz, W. und Radtke, G.: Über die Säurelöslichkeit der Zahnhartgewebe des Kaninchens nach interner Applikation verschiedener Antibiotika, *Zahn-Mund- u. Kieferheilkd.*, **67**; 265-272, 1979.
 - 53) Davidson, C. L., Hoekstra, I. J. and Arends, J.: Microhardness of sound, decalcified and etched tooth enamel related to calcium content, *Caries Res.*, **8**; 135-144, 1974.
 - 54) Featherstone, J. D. B., ten Cate, J. M., Shariati, M. and Arends, J.: Comparison of artificial caries-like lesions by quantitative microradiography and microhardness profiles, *Caries Res.*, **17**; 385-391, 1983.
 - 55) Spuller, R. L., Beiraghi, S., Rosen, S. and Beck, F. M.: The effect of low levels of sodium fluoride in drinking water on the incidence of dental caries in rats, *Caries Res.*, **20**; 556-558, 1986.
 - 56) 須賀昭一: 永久歯萌出期の歯科, 歯界展望別冊, 医歯薬出版, 東京, 1984, 25-40頁.
 - 57) 小椋秀亮: 薬物投与による硬組織の形成障害, *口病誌*, **37**; 69-77, 1970.
 - 58) Kaitila, I.: Effect of tetracycline on mineralization in cycloheximide-treated bones in vitro, *Calc. Tiss. Res.*, **7**; 46-57, 1971.
 - 59) Caswell, A. H. and Hutchinson, J. D.: Selectivity of cation chelation to tetracyclines. Evidence for special conformation of calcium chelate, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **43**; 625-630, 1971.
 - 60) Baker, K. L.: The fluorescent, microradiographic, microhardness and specific gravity properties of tetracycline-affected human enamel and dentine, *Arch. Oral Biol.*, **17**; 525-536, 1972.
 - 61) Pilz, W. und Radtke, G.: Veränderungen der Mikrohärtigkeit der Zahnhartgewebe des Kaninchens nach internen Antibiotikagaben, *Zahn-Mund- u. Kieferheilkd.*, **67**; 689-695, 1979.
 - 62) Auskaps, A. M. and Shaw, J. H.: Hemoglobin concentration, thyroid weight and growth rate in rats during minimum fluoride ingestion, *J. Nut.*, **55**; 611, 1955.
 - 63) Firestone, A. R. and Navia, J. M.: Sulcal plaque pH and remineralization of sulcal caries in rats exposed to dietary and water fluoride, *Caries Res.*, **22**; 177-180, 1988.
 - 64) Beiraghi, S., Spuller, R., Rosen, S., Wilson, S. and Beck, F.: Effect of low-level fluoride and caries incidence in rats, *Caries Res.*, **23**; 168-171, 1989.
 - 65) 可児瑞夫, 可児徳子, 飯野新太郎, 広瀬晃子, 磯崎篤則, 伊川英二, 奥野雅典, 加藤裕久: フッ化チタンアンモニウムによるラット実験う蝕抑制効果, *口衛誌*, **37**; 63-71, 1987.
 - 66) Wetherell, J. A., Robinson, C. and Best, J. S.: Influence of anatomical site on fluoride levels in rat molars, *Caries Res.*, **15**; 386-392, 1981.
 - 67) Head, J.: A study of saliva and its actions on tooth enamel in reference to its hardening and softening, *J. Amer. Med. Assoc.*, **59**; 2118-2122, 1912.
 - 68) Koulourides, T.: Art and science of dental caries research, Academic Press, New York, 1968, p. 335-378.
 - 69) White, D. J. and Featherstone, J. D. B.: A longitudinal microhardness analysis of fluoride dentifrice effects on lesion progression in vitro, *Caries Res.*, **21**; 502-512, 1987.
 - 70) Reintsema, H. and Arends, J.: An in vivo study of microhardness and fluoride uptake in partially demineralized human enamel covered by plaque, *J. Dent. Res.*, **67**; 471-473, 1988.
 - 71) Keyes, P. H.: Present and future measures for dental caries control, *J. Amer. Dent. Assoc.*, **79**; 1395-1402, 1969.
-