原 著

フッ化ナトリウム投与によるラット切歯の 外観と硬度の変化*

Changes in Clinical Appearance and Hardness of Rat Incisors after Sodium Fluoride Administration*

樋口 壽英** 近藤 武** 中根 卓**
笠原 香** 黒岩 茂**

Hisahide HIGUCHI**, Takeshi KONDO**, Takashi NAKANE**,
Kaoru KASAHARA** and Shigeru KUROIWA**

Received July 8, 1993 ; accepted August 3, 1993

Abstract: One often sees cases of black and brown pigmentation on all enamel surfaces in schoolchildren with severe dental fluorosis. This pigmentation gradually disappears by attrition 4-5 years after eruption of the teeth. The reason seems to be decreasing hardness of the enamel. But this pigmentation is not seen all cases of fluorosis. Therefore, we tried to find the relationship between fluoride dose and incidence of pigmentation in the enamel of rats given 3.75-15.00mgF/kg/day in the form of NaF for 10 weeks.

We obtained the following results:

1. Body weight and food intake decreased in group 3 given 15.00mgF/kg/day, but water intake in all experimental groups increased by dose.
2. There was no difference between control and experimental groups in number of erythrocytes, or in hemoglobin and hematocrit values, but leucocytes decreased in all experimental groups.
3. Activity of cholinesterase (Ch-E), creatin kinase (CPK) and triiodothyronine (T_3) decreased by dose, but we could not find any reason for the decrease in activity of CPK and T_3 .
4. Whiteness was found in all incisors of the experimental groups and bands of black and brown pigmentation were especially found in the maxillary incisors of rats given 7.50-15.00mgF/kg/day.
5. Hardness of enamel and dentin of both jaw decreased by dose. The mandibular incisors were harder than the maxillary incisors. But attrition of the mandibular incisors was severer than that of the maxillary incisors irrespective of hardness.

索引用語: フッ化ナトリウム, エナメル質硬度, 咬耗, エナメル質色素沈着

Key words: Sodium fluoride, Hardness of enamel, Attrition, Pigmentation of enamel

* 本論文の要旨は第41回日本口腔衛生学会総会(平成4年10月, 新潟)で発表した。

** 松本歯科大学口腔衛生学講座(主任: 近藤 武)

** Department of Community Dentistry, Matsumoto Dental College(Director: Prof. Takeshi KONDO)

はじめに

重度の歯牙フッ素症に罹患している児童・生徒の中に、歯冠が全面にわたって黒褐色の色素沈着（変色）がしばしばみられる^{4,9)}。これらの変色は萌出して4～5年間はみられるものの、年とともに咬耗により消失して行く。このことから変色歯は形成障害によりエナメル質硬度の低下をきたし、咬耗しやすい性状になっていると思われる。例えば、第一大臼歯では、咬合面は咬耗により表層エナメル質が消失し変色層はみられなくなり、咬耗が生じない歯頸部のみに黒褐色が残るようになる。

しかしこのような変色は、重度の歯牙フッ素症に罹患しているすべての症例にみられるものではない。このため、その発生要因はフッ素の過剰摂取によるものか、もし過剰な摂取によるものであるならば、その用量・反応関係の成立を明らかにするため、実験的に歯牙フッ素症を起しやすいラットを用いて実験を行うことにした^{2,3)}。

方 法

1. 実験動物および飼育条件

1) 供試動物

実験には日本 SLC (株) より購入した、生後4週齢の STD Wistar-KY 系雌ラット24匹を用いた。

2) 飼育条件

プラスチック製ケージ (292×440×200mm) に木屑 (ペグチップ) をおよそ2～3 cm の厚さに敷き、1 ケージ当たり6匹ずつで飼育した。飼料は低フッ素飼料 (0.9ppmF, オリエンタル酵母 K.K. 製の標準配合A)、飲料水は水道水 (0.02ppmF) を自由に摂取させた。室温は23～25°C、湿度は60%に維持した。

2. 実験期間

1992年2月より予備飼育を4週間行なった後、ラットの週齢が8週になったところで実験を開始した。そして10週間にわたって NaF 投与を行い、エーテル麻酔下で腹大動脈より採血し失血死させた。そして解剖を行い、諸検査のための試料を採取した。

3. NaF 投与量および投与方法

NaF を実験群1では3.75mgF/kg/day、実験群2では7.50mgF/kg/day、実験群3では15.00mgF/kg/day になるように脱イオン水で調製し、体重に比例して0.4～0.6ml を金属製ゾンデで胃内に注入した。なお対照群は脱イオン水を同様に投与した。1群の匹数は6匹で、投与回数は1日1回、毎週月～金曜日まで5回投与した。

Fig. 1 Rhombic marks after measurement of hardness in enamel and dentin of rat mandibular incisors

4. 検査項目およびその方法

飼料摂取量、飲水量、体重測定を毎週1回、切歯の写真撮影を週2回、Medical Nikkor 120mm, F4で行った。屠殺時には臓器重量の測定、採血した血液を血球測定、血液生化学検査に供した。血球数測定は Coulter Counter T660、生化学検査は自動生化学分析機 (Roche 社製—COBAS-MIRA)で行った。

5. 切歯の硬度測定法 (Fig. 1)

屠殺時に上下顎骨を摘出して、筋肉などを除去した後、上下の切歯を分離して直径25mm、高さ22mmの亚克力パイプに填入したエポキシレジン中に垂直に包埋し、真空ポンプで陰圧にして、レジン中にある気泡を除去した。そして常温で24時間乾燥後、自動研磨機 (Beuhler 社製, Ecomet III) で研磨し先端の歯質が露出するようにした。

測定はピッカース微小硬度計 (島津製作所製) で、ヌープ圧子によるピッカース硬度測定法によった。圧子に加える加重は 100g、硬度は $Hk = 14.22 \times P/L^2 \times 1,000$ (Hk :ヌープ硬度, P :加重, L :圧痕の対角線の長さ) の式によって求めた。測定箇所は Fig. 1に示すようにエナメル質、象牙質ともに10か所を測定しその平均値を求めた。

結 果

1. 飼料摂取量、飲水量、体重の変化

1) 1匹平均飼料摂取量 (Fig. 2)

1ケージごとに飼料摂取量を測定して、それを動物数 (6匹) で除して、1匹平均飼料摂取量を求めた。実験開始第1週の1匹平均摂取量は93～99gで、対照群と実験群の間には差はみられなかった。実験終了時までには摂取した1匹平均異積飼料摂取量は、対照群813g、実験群1で808g、実験群2で838g、実験群3で743gであった。実験群3では、他の群と比較して減少がみられた。

Fig. 2 Total intake of food per rat during the experimental period

Fig. 3 Total intake of water per rat during the experimental period

2) 1 匹平均飲水量 (Fig. 3)

1 ケージごとに飲水量を測定して、それを動物数 (6 匹) で除して、1 匹平均飲水量を求めた。実験開始第 1 週の 1 匹当たり平均飲水量は、対照群、実験群 1 ~ 2 群では 133 ~ 134 ml と群間に差はなかった。しかし、実験群 3 では 155 ml と多かった。この傾向は第 2 週で一層著しくなり、実験終了時まで飲水した 1 匹平均累積飲水量は、対照群で 1,179 ml、実験群 1 で 1,283 ml、実験群 2 で 1,416 ml、実験群 3 で 1,881 ml と NaF 投与量に比例して飲水量が増加した。

3) 体重 (Fig. 4)

Fig. 4 Growth curves of rats' weight during the experimental period

実験開始時の各群の平均体重は 171 ~ 173 g であったが、実験群 3 で第 7 週から急激な体重減少が生じた。実験終了時には対照群で 245 g、実験群 1 で 237 g、実験群 2 で 246 g と特に群間に差はなかったが、実験群 3 では 216 g で第 7 週以後回復がみられず、 t 検定の結果 5 % の危険率で有意の差が認められた。

2. 屠殺時の所見

1) 体毛および臓器の肉眼所見

対照群および実験群 1 ~ 2 は、体毛のつやもよく特に変化はみられなかった。しかし実験群 3 は、皮下脂肪は少なく体毛にもつやがみられなかった。胃チューブの影響をみるため屠殺時に食道、胃について精査したが、特に炎症など所見はみられなかった。

2) 臓器重量 (Table 1)

脳、心臓、肺、肝臓、脾臓、腎臓を摘出してそれぞれの重量を測定した。実験群 3 では、いずれの臓器で対照群と比較して小さい傾向がみられた。しかし有意の差があったのは肺のみであった。また臓器重量体重比でも特に差はみられなかった。

3. 血液および血液生化学所見

1) 血液所見 (Table 2)

赤血球数についてみると、対照群の平均は 803 万個/mm³ に対して実験群 3 では 781 万個/mm³ と減少しているが、有意の差はみられなかった。また、赤血球数と関係が深いヘモグロビン量、ヘマトクリット値でも特に差はみられなかった。しかし、白血球数についてみると、対照群の平均は 5,433 個/mm³ で実験群では 4,633 ~ 4,400 個/mm³ で、 t 検定の結果いずれも 5 % の危険率

Table 1 Means and standard errors of body and organ weight of rats

Groups	No. of rats	Body weight (g)	Organ Weight (g)					
			Brain	Heart	Lung	Liver	Spleen	Kidney
Cont. $\bar{x}$	6	245.3	1.99	0.86	1.48	8.42	0.51	1.85
SE		3.412	0.033	0.017	0.094	0.322	0.008	0.044
Exp. 1 $\bar{x}$	6	237.3	2.01	0.83	1.53	8.49	0.50	1.80
SE		4.608	0.028	0.024	0.102	0.465	0.022	0.044
Exp. 2 $\bar{x}$	6	245.7	1.92	0.80*	1.44	7.77	0.51	1.76
SE		4.963	0.032	0.014	0.059	0.261	0.024	0.056
Exp. 3 $\bar{x}$	6	216.3*	1.94	0.80	1.22*	7.64	0.46	1.74
SE		4.046	0.027	0.027	0.048	0.621	0.025	0.083

*: $p < 0.05$

Table 2 Mean Values and Standard Errors of Hematologic Values in Rats

Groups	RBC ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	WBC (/mm ³)	Ht (%)	Hb (g/dl)
Cont. $\bar{x}$	803	5,433	45.9	15.4
SE	10.41	237.58	0.60	0.17
Exp. 1 $\bar{x}$	813	4,400*	46.9	15.9
SE	16.31	208.17	0.58	0.25
Exp. 2 $\bar{x}$	821	4,633*	46.8	15.8
SE	8.38	240.37	0.40	0.17
Exp. 3 $\bar{x}$	781	4,283*	43.7	15.0
SE	18.38	186.93	1.15	0.37

*: $p < 0.05$

Table 3 Biochemical Analysis of Blood in Rats

Groups	GOT (U/l)	GPT (U/l)	ALP (U/l)	Ch-E (IU/l)	CPK (U/l)	T-cho (mg/dl)	Ca (mg/dl)	CRP (mg/dl)	T ₃ ng/dl	T ₄ $\mu\text{g/dl}$	TSH $\mu\text{U/ml}$
Cont. $\bar{x}$	104.3	23.2	236.7	39.0	496.2	53.0	10.7	0.12	138	4.6	0.10
SE	10.10	0.48	5.31	3.18	70.41	1.95	0.13	0.048	7.62	0.49	0.00
Exp. 1 $\bar{x}$	101.3	24.0	182.3*	35.7	475.5	53.5	10.9	0.14	135	4.7	0.12
SE	3.71	0.73	9.39	2.20	32.18	1.65	0.10	0.040	5.68	0.30	0.02
Exp. 2 $\bar{x}$	101.2	22.3	143.0*	29.7	378.3	53.0	10.3	0.08	131	4.7	0.10
SE	5.06	1.09	15.84	3.89	41.97	3.65	0.16	0.021	5.33	0.33	0.00
Exp. 3 $\bar{x}$	102.3	27.3	284.0	21.5*	203.5*	53.8	10.9	0.07	109*	4.4	0.10
SE	9.76	4.61	57.92	4.21	20.73	3.09	0.35	0.027	7.37	0.33	0.00

*: $p < 0.05$

で有意の差をもって減少がみられた。

2) 血液生化学所見 (Table 3)

コリンエステラーゼ (Ch-E), クレアチンキナーゼ (CPK), トリヨードサイロニン (T₃) 以外の項目には, 特に異常はみられなかった。Ch-E についてみると, 対照群では39.01IU/l であったが, 投与量に比例して活性

値が低下し実験群3では21.5IU/l と減少し, 5%の危険率で有意の差を認めた。CPK についてみると, 対照群では496.2U/l であったが Ch-E と同様に投与量に比例して低下し, 実験群3では203.5U/l となり, t 検定の結果5%の危険率で有意の差を認めた。T₃ は対照群で138ng/dl であったが, 実験群3では109ng/dl に低下

Fig. 5 Typical cases of black pigmentation and attrition of incisors by group

Table 4 Occurrence of black pigmentation in enamel during 10 weeks

Groups	Week										(%)
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Cont.	0/6										0
Exp. 1	0/6										0
Exp. 2	0/6										67
Exp. 3	0/6										100

し5%の危険率で有意の差が認められた。

4. 歯牙の所見

1) 黒褐色の色素沈着発生状態およびその発生率 (Fig.5, Table 4)

実験群1では実験開始3週, 実験群2～3では, 実験開始後2週で50%の切歯に白濁がみられるようになり, 3週ではすべての下顎切歯が白濁した。その後7週から実験群3では通常の白濁に加えて, Fig. 5にみられる

ように唇面に黒褐色の帯が生じ, 8週ではすべてにみられるようになった。実験終了時では, 下顎唇面の表面は石灰化不全で粗造であった。実験群2では9週からみられるようになり, 10週では67%にみられた。これらの発生状態は実験群3と比較すると軽度であった。しかし実験群1ではみられなかった。以上の結果から用量に比例して, 反応率が高く出たことが明らかとなった。

2) 咬耗状態および咬耗率 (Fig. 5, Table 5)

Table 5 Occurrence of incisor enamel attrition during 10 weeks

Groups	Jaw	Week										(%)
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Cont.	Upper	0/6										0
	Lower	0/6										0
Exp. 1	Upper	0/6										0
	Lower	0/6										17
Exp. 2	Upper	0/6										0
	Lower	0/6										67
Exp. 3	Upper	0/6										50
	Lower	0/6										100

Table 6 Hardness (Hk) of rat incisors

Groups		Enamel		Dentin	
		Maxillary	Mandibular	Maxillary	Mandibular
Cont.	$\bar{x}$	276.5	357.6	73.0	82.7
	SE	7.06	5.99	0.53	0.63
Exp. 1	$\bar{x}$	255.7*	346.1	72.5	79.1*
	SE	5.56	6.46	0.79	0.58
Exp. 2	$\bar{x}$	205.5**	220.6*	72.1	75.3*
	SE	5.34	6.62	1.50	1.00
Exp. 3	$\bar{x}$	128.0*	130.9*	68.0*	68.6*
	SE	4.47	2.59	1.38	1.46

*: $p < 0.05$

実験群2では実験終了時には下顎切歯の67%に咬耗がみられたが、上顎切歯には認められなかった。実験群3についてみると、実験開始6週から下顎切歯では咬耗がみられるようになり、実験終了時にはすべてにみられた。これに対して上顎切歯は50%にしかすぎなかった。また、下顎切歯の咬耗が進むにつれて上顎切歯が挺出する例もみられた。実験群1では下顎切歯に、軽度の咬耗が1例みられたのみであった。

5. 切歯の硬度 (Table 6)

1) エナメル質の硬度

対照群の上顎切歯の硬度は276.5Hk、下顎切歯の硬度は357.6Hkと高く差があった。上顎についてみると、実験群1で255.7Hk、実験群2で205.5Hk、実験群3で128.0Hkと減少し、いずれも5%の危険率で有意の差がみられた。下顎についてみると、実験群1で346.1Hkと減少はみられなかったが、実験群2で220.6Hk、実験群3で130.9Hkと減少がみられ、上顎同様にt検定の

結果5%の危険率で有意の差がみられた。

2) 象牙質の硬度

対照群の上顎切歯の硬度は73.0Hk、下顎切歯の硬度は82.7Hkとわずかな差があった。上顎についてみると、実験群1で72.5Hk、実験群2で72.1Hkと対照群と差がなかった。しかし実験群3で68.0Hkと減少し、いずれもt検定の結果5%の危険率で有意の差がみられた。下顎についてみると、実験群1で79.1Hk、実験群2で75.3Hk、実験群3で68.6Hkと減少がみられ、t検定の結果5%の危険率で有意の差がみられた。

考 察

1. 飼料摂取量、飲水量、体重の変化

1匹平均飼料摂取量についてみると、実験群3では、他の群と比較して減少がみられた。また、実験群3では体重増加量の抑制がみられた。しかし実験群1～2では、投与量と比例した抑制はみられなかった。これに対して、

1 匹平均飲水量は、投与量に比例して増加し、特に実験群3では著しい増加がみられた。この原因についてみると、口渴の生じる基本的な刺激は渴中枢の神経細胞の収縮である⁷⁾。これは浸透圧変化により直接的に影響される一方、浸透圧受容体からの情報にも影響を受ける。動物では原始的な感覚である渴感の発現(飲水量)と、実際の脱水症の程度とは非常に密接であると言われている。NaFは尿細管のNa再吸収を抑制して利尿を起すと言われている⁷⁾。このことにより脱水症状となり、飲水量の増加が生じたものと思われる。

2. 血液および血液生化学所見

1) 血液所見

前報²⁾では同じ投与量の実験群3で赤血球数、ヘマトクリット値、ヘモグロビン量で5%の危険率で有意の差をもって減少がみられた。今回はみられなかったことについて、特にその原因は見出せなかった。しかし白血球数では、逆に今回ではt検定の結果5%の危険率で有意の差をもって減少がみられた。しかしながら、特に原因を考察することは出来なかった。

2) 血液生化学所見

Ch-Eについてみると、急性毒性実験として22.5mg/kgを1回投与時には、24時間後に对照群の約60%に低下したが、今回はそれとほぼ同様の55%の低下が見られている⁸⁾。このことから、フッ化物投与による中毒症状の1つとすることができ、50%程度の低下では死亡することはないと思われた⁸⁾。

CPKについてみると、投与量に比例して活性値の低下が見られたが、T₁は実験群3で有意の減少が認められた。CPKの低下は甲状腺機能亢進の疑いがあり、反面T₂の低下は甲状腺機能低下の疑いがあるとされ、相反する結果となっている^{1,14)}。これらの値については過去の報告と同様に、その意義を見いだすことは出来なかった。

3. 歯牙の所見

1) 黒褐色の色素沈着発生の原因

本来ラットの切歯唇面は均一な褐色を呈しているが、NaFを投与すると褐色の表面に縞模様が発生する。下顎切歯では低濃度群では縞模様ははっきりしているが、高濃度群になるにしたがって縞模様の幅が広くなり、全面が白濁するようになる。それに対して上顎では歯牙の成長速度が遅いためか、縞模様ははっきりしない。この発生機序は従来の鉄沈着の阻害と考えるよりも、むしろフッ素により石灰化障害を受けて“porous”なエナメル質の性状を反映したものと推測できるとしている⁹⁾。

今回は鉄の分布は調べていないので、その関係について述べることはできない。

黒褐色帯の沈着については、実験群2～3でみられたことから、7.5mgF/kg/day以上のフッ素を摂取することによって起るものといえる。ラットとヒトではその感受性に、10倍の差があるといわれている。これをヒトに外挿してみると、ヒトの摂取量は0.75mgF/kg/dayとなる。体重10kgの幼児では7.5mgF/dayとなり、1日1ℓの飲用水を摂取すると7.5ppmの飲料水を飲用することになる。しかしこれまでの事例では、3ppm以上で黒褐色の沈着がみられており、ほぼ一致した結果となっている^{4,9)}。

咬耗状態と色素沈着状態との関係をみると、咬耗が現われる濃度になると、わずかに黒褐色の沈着が生じ、著しい咬耗が見られる濃度はすべてに黒褐色帯の沈着がみられている。このことから、色素沈着と咬耗はNaFの用量反応関係としては、同じ用量で生じる反応と推測される。

2) 咬耗状態と切歯の硬度

咬耗状態については、成熟エナメル質でのCa、Pの減少と有機質の増加などから、硬度の減少によるものであることが明らかにされている¹¹⁾。しかし硬度についてみると、对照群の上顎切歯の硬度は276.5 Hk、下顎切歯の硬度は357.6 Hkと差があった。このことについては、過去の報告でも同様な傾向がみられている^{12,13)}。しかしながら実験群3では上顎の硬度は128.0 Hk、下顎では130.9 Hkでほぼ等しい硬度であるにもかかわらず、下顎の方が咬耗は著しくその発生率も大であった。

硬度の低下と咬耗状態の関係をみると、硬度の減少も影響があるのは当然だが、咬耗そのものは上下の咬合関係が大きく影響し、その結果として下顎の切歯の方が、咬耗を起す度合が著しいことになると思われる。またこれに関連して、下顎の咬耗状態により上顎の切歯が、挺出ぎみとなる傾向がみられている。

ヒトの切歯のエナメル質硬度は360～370 Hk、象牙質硬度は50～55 Hkとされている。また斑状歯についても硬度測定がなされており、エナメル質硬度は300 Hk以下に減少していたとの報告がある^{5,10,11)}。

結 論

1. 実験群3 (15.00mg/kg/day) では、飼料摂取量の減少、それに基づく体重の減少がみられた。飲水量では投与量に比例して増加がみられた。

2. 赤血球についての所見では、群間に差はみられな

かった。白血球数では対照群と比較して、すべての実験群で減少がみられた。

3. 投与量に比例してコリンエステラーゼ、クレアチンキナーゼ、トリヨードサイロニンの活性値に減少がみられたが、後者の2項目についてはその意義を見いだせなかった。

4. 実験群2～3 (7.50～15.00mg/kg/day) では、上顎切歯唇面の白濁に加えて黒褐色の帯状の沈着がみられた。投与量に比例して影響が強くなったことから用量・反応関係が成立し、これらの沈着はフッ化物が原因と示唆された。また、咬耗については、黒褐色の沈着がみられた群では著しかった。

5. 投与量に比例して上下顎のエナメル質、象牙質ともに硬度の減少が見られた。しかし下顎切歯の硬度の方が上顎切歯より高いにもかかわらず、咬耗は下顎切歯の方が上顎よりも著しかった。

謝 辞

硬度測定については、硬度計の貸与そしてご指導いただきました松本歯科大学歯科理工学講座高橋重雄教授に感謝いたします。

文 献

- 1) 原 康二：フッ素症に関する実験的研究—とくに甲状腺機能を中心として—, 口腔衛生会誌, 30; 42-57, 1980.
- 2) 樋口寿英, 中根 卓, 安藤三男, 近藤 武：フッ化ナトリウム経口投与による臓器重量血液所見に対する影響, 口腔衛生会誌, 37: 496-497, 1987.
- 3) 樋口寿英, 安藤三男, 近藤 武：NaF 投与がラット門歯の硬度に及ぼす影響, 口腔衛生会誌, 42; 518-519, 1992.
- 4) 笠原 香, 近藤 武：中国河北省における飲料水中フッ素の除去対策, 口腔衛生会誌, 39; 506-507, 1989.
- 5) 加藤一男：歯牙の物理化学的性質（歯牙の弗素化と化石について）, 日本歯科評論, No. 58; 20-27, 1955.
- 6) 加藤一夫, 中垣晴男, 榊原悠紀田郎：フッ化物飲用ラットの切歯エナメル質における striation と鉄の分布, 愛院大歯誌, 25; 176-182, 1987.
- 7) 北岡建樹：楽しくイラストで学ぶ水・電解質の知識, 52-53, 72-73, 南山堂, 東京, 1987.
- 8) 近藤 武, 吉田睦子, 笠原 香：ラット急性フッ素中毒における血清, 唾液腺コリンエステラーゼ活性値の変動, 口腔衛生会誌, 26; 187-192, 1976.
- 9) 近藤 武, 笠原 香, 中根 卓, 樋口寿英, 安藤三男, 黒岩 茂：児童・生徒に発生した歯牙形成異常と飲料水フッ素濃度の関係, 口腔衛生会誌, 40; 468-469, 1990.
- 10) 見明 清, 東 昇平, 福田弘一, 吉田和子, 多胡 彬, 尾上 章, 花井美智子, 泉地栄寿：人の歯牙硬組織の微小硬度に関する研究 第1報 永久前歯の珐瑯質および象牙質の微小硬度について, 歯科学報, 66; 1103-1122, 1966.
- 11) 二瓶一郎：人歯牙硬度に関する研究Ⅲカリエス歯および咬耗歯の病変部とその周辺部の硬度変化について—, 阪大歯誌, 4; 182-192, 1959.
- 12) Shinoda, H.: Effect of Long-Term Administration Physico-Chemical Properties of the Rat Incisor Enamel, Calcif. Tiss. Res., 18; 91-100, 1975.
- 13) 篠田 寿, 小椋秀亮：歯牙フッ素症におけるエナメル質の微細構造と化学組成に関する実験的研究, 日薬理誌, 80; 209-220, 1982.
- 14) 土田 満, 岡安 敷, 柳沢文徳：低濃度長期フッ素飲用ラットの尿および血清成分値の変動, フッ素研究, No. 65-69, 1984.