人歯牙中微量元素の濃度分布

Distribution of Concentration of Trace Metals in Human Teeth

国立公衆衛生院

三 島 昌 夫

東京医科大学

星 合 尚

大分医科大学

菅 原 和 夫

Masao Mishima

Department of Industrial Hygiene, The Institute of Public Health, Tokyo

Takashi Hoshiai

Department of Public Health, Tokyo Medical College, Tokyo

Kazuo Sugawara

Department of Public Health, Oita Medical College, Oita

Fifty-nine samples of teeth were taken from healthy children 7 to 13 years of age residing in Tokyo. Cadmium, iron, lead and zinc were determined by atomic absorption spectrometry with flame and graphite furnace atomizer systems, after separation of the enamel and dentine.

The results were as follow:

- 1) The distributions of trace metals in human teeth were approximately log-normal distributions, both for essential and non-essential metals.
- 2) Trace metals in teeth showed both mono-peak and double-peak profiles.
- 3) Significant positive correlations have been found between enamel and dentine for iron.

1. 緒 言

人歯牙中の微量元素について、金属種の同定および含有量と、個人差、年齢差、性差および地域差、さらに同一個人において形成時期を異にする歯種間の差異などに関して、それら相互の関連性が未だ解明されていない^{1,2)}。また微量元素の代謝や疫学的意義についても、ほとんど知られていないのが現状である。この原因は、歯牙中の微量元素の定量をおこなうにあたって、主成分であるハイドロオキシアパタイト $[\text{Ca}_5(\text{OH})(\text{PO}_4)_3]$ による妨害、干渉作用が影響していることによる^{3,4)}。

一方、歯牙が試料として採取される時点までに取り込んだ微量元素について、金属種および金属濃度等を解析することにより、個人と生活環境の1指標となる可能性

がある。そこで近年、歯牙を分析試料として、金属による環境汚染と体内への波及の程度を検討しようとする試みが注目されている⁵⁾。

このような時期にあたって本研究は分析化学的な見地から、基礎医学とくに予防医学的な目的をもって微量元素による健康障害の診断に有効な手掛りを把握するに必要な資料の1つとして、歯牙中に存在する微量元素の濃度分布に関する研究をおこなった。本研究では7歳から13歳までの矯整歯牙を対象として、数種の微量元素について定量分析し、その結果に基いて歯牙中微量元素の濃度分布を検討したものである。

2. 実 験

2.1 歯牙試料

東京都内に在住する7～13歳の男女の矯整歯牙59本を対象試料とした。年齢分布と性別の内訳をTable 1に示した。

2.2 試料の前処理

歯牙試料を水洗し、凍結乾燥法を用いて十分に乾燥したのち、機械的に破砕した。この破砕した歯牙試料をエナメル質および象牙質に分離する場合、従来おこなわれている沈殿法等の分離方法では、試薬による試料の金属汚染を生ずるため、紫外線吸収法により分離した。この方法は象牙質に紫外線を照射すると蛍光を発すること⁶⁾を応用したもので、選別に多少の技術と手間を要するがエナメル質との分離には有効な方法である。象牙質とエナメル質に分離した試料を、さらに乾燥(110°C, 24時間)したものを精秤した。

2.3 定量分析法⁷⁾

エナメル質および象牙質からなる人歯牙の主成分は、ハイドロオキシアパタイト $[\text{Ca}_5(\text{OH})(\text{PO}_4)_3]$ で、カルシウム約35%, リン酸約18%によって構成されている^{8,9)}。この大多量に存在するリン酸カルシウムを、微量金属と分離したのち、定量分析を行った。

低温凍結乾燥法により十分に乾燥した人歯牙試料を、機械的に破砕してエナメル質および象牙質に分離する。分離後乾燥器を用いて恒量になるまで乾燥(80°C)したのち、秤量した。分離した試料に14 N 硝酸1 mlを加え、一昼夜放置後わずかに加温して溶解した。この溶液を水で0.1 N 硝酸に希釈したのち、陽イオン交換樹脂塔(Dowex 50 W-X 8, H型, $1\text{ cm}^3 \times 10\text{ cm}^H$)に通過させてリン酸を分離した。2 N 塩酸を用いて、陽イオン交換樹脂に保持している微量金属と、カルシウムを溶離した。この溶離液を陰イオン交換樹脂塔(Dowex 1×8, Cl型, $1\text{ cm}^3 \times 10\text{ cm}^H$)に通過させてカルシウムを分離した。陰イオン交換樹脂に交換吸着している微量金属のクロロ錯体は、1 N 硝酸で溶離して原子吸光法で定量分析した。またカルシウムはEDTA 滴定法で、リン酸はリンモリブデン酸アンモニウムを6 N 水酸化ナトリウムで溶解、1 N 塩酸による逆滴定法により定量した。

なお硝酸および塩酸は使用にあたって、精密分析用試

薬をあらかじめ非沸騰式蒸留装置で、純水はイオン交換水を石英製二段蒸留装置を用いて再蒸留したものを使用した。

3. 結果と考察

歯牙および骨の成分比を示す場合、他の成分と共にカルシウムとリンの比をもって表わすことが慣例とされている。本研究もこの慣例に従って、微量金属以外に同一試料中のカルシウムとリンの濃度も同時に定量した。カルシウムおよびリンを含めた人歯牙中微量金属の定量分析結果を、Table 2に示した。表には各元素の最高値、最低値、平均値および標準偏差を示した。またエナメル質および象牙質に含有する微量金属の濃度を、各元素ごとにヒストグラムを作成した。これをもととして累積度数を求め、確率紙にプロットした。その結果、いずれの金属も対数正規確率紙にプロットしたとき直線性を示した。これをFig. 1～4に示した。この対数正規確率紙にプロットして得た累積度数直線の勾配は、エナメル質または象牙質中に含有する微量金属の濃度分布型(プロフィール)を示すものである。したがって本報告では対数正規確率紙で得た直線勾配を、歯牙中微量金属濃度の分布のプロフィールとして考察を進めた。

3.1 カドミウム¹⁰⁾

人歯牙中のカドミウム濃度に関する研究は、カドミウム汚染で社会問題化した、富山県の神通川流域¹¹⁾および群馬県安中市にある東邦亜鉛製錬所を中心に半径2 km以内の住民に対する報告等¹²⁾がみられる。しかし、神通川流域の報告では人歯牙中カドミウム濃度の増加を、また東邦亜鉛周辺の住民を対象とした場合の報告は有意差なしと報告している。これは、人歯牙中カドミウム濃度の標準値¹³⁾に対する判定の差異によって生じたものと考えられる。

本実験におけるカドミウム濃度は、

エナメル質	$3.98 \pm 2.80\text{ ng-Cd/g-tooth}$
象牙質	$2.94 \pm 3.12\text{ ng-Cd/g-tooth}$

であった。

また濃度分布型は、エナメル質および象牙質のいずれも一峰性の対数正規分布を示したが、分布型は異なるプロフィールを示した(Fig. 1)。人歯牙中に含有するカドミウムの挙動、蓄積、影響等について解析を進めるには、この金属の持つ特異性から、多くの関連する各種データを十分に蓄積する必要があると考える。

3.2 鉄¹³⁾

生体中の鉄は多種類の鉄蛋白および鉄酵素の不可欠因

Table 1 Age distribution of subjects from whom teeth were taken

Sex \ Age	7	8	9	10	11	12	13	Unknown	Total
Male	5	3	5	3	3	—	1	—	20
Female	2	2	6	5	14	6	1	3	39
Total	7	5	11	8	17	6	2	3	59

Table 2 Total metal levels in teeth

Material	Element	Number of samples	Unit	Maximum level	Minimum level	Mean	Standard deviation
Enamel	Calcium	58	%	44.7	35.0	37.6	1.6
	Phosphorus	55	%	22.4	15.0	16.6	2.5
	Cadmium	20	ng/g	94.1	26.6	39.8	28.0
	Iron	56	μg/g	223	19	78	71
	Lead	51	ng/g	261	32	48	45
	Zinc	51	μg/g	634	112	175	121
Dentine	Calcium	58	%	32.2	20.0	27.4	2.1
	Phosphorus	54	%	18.9	10.0	12.8	2.0
	Cadmium	36	ng/g	79.7	13.5	29.4	31.2
	Iron	56	μg/g	61	12	27	25
	Lead	37	ng/g	117	22	21	26
	Zinc	54	μg/g	683	144	179	146

Fig. 1 Cumulative cadmium frequency in human teeth
○ Dentine
△ Enamel

子として、重要な役割を持っている。しかし歯牙中の鉄については、切歯の正常な発育に必須な金属である程度しか、解明されていない¹⁴⁾。

本実験による人歯牙中の平均鉄濃度は、
エナメル質 78.3±71 μg-Fe/g-tooth
象牙質 26.8±25 μg-Fe/g-tooth

で、エナメル質の鉄濃度は象牙質の約3倍を示した。またエナメル質および象牙質中の鉄濃度の分布型は、酷似した対数正規分布を示した (Fig. 2)。さらにエナメル質および象牙質間における鉄の相関¹⁵⁾を求めたところ、

$$y=0.25x+4.0$$
$$r=0.509^{**} \quad (p<0.01)$$
$$n=59$$

と1次回帰で高い有意性を示した。本実験ではエナメル質および象牙質間で、このように高い有意性を示す金属は他にみられなかった。

以上を総合すると、人歯牙中の鉄はエナメル質および象牙質のいずれの場合も、摂取、蓄積および反応などの挙動機構が類似していると推定する。

3.3 鉛

人歯牙中の鉛に関する研究は、他の金属にさきがけて古くからおこなわれ、比較的多くの報告¹⁶⁻¹⁹⁾がみられる。しかしこれらの報告の多くは、製錬、鉛管、印刷など鉛による慢性曝露で職業病となった患者を対象としたものである。

本実験による人歯牙中の平均鉛濃度は、
エナメル質 48±45 ng-Pb/g-tooth
象牙質 21±26 ng-Pb/g-tooth

で、エナメル質の鉛濃度は象牙質の約2倍を示した。また鉛濃度の分布型は、エナメル質は二峰性、象牙質では一峰性の対数正規分布型を示し、濃度分布型に相異が認められた (Fig. 3)。分希型に相異を示す金属としてはカドミウムがある。鉛とともに生体にとって不要金属であるこれらの金属は、鉄、亜鉛など必須金属とは分布型で

Fig. 2 Cumulative iron frequency in human teeth
 ○ Dentine △ Enamel

Fig. 3 Cumulative lead frequency in human teeth
 ○ Dentine △ Enamel

顕著な相異を示した。これは歯牙の必須金属と不要金属の摂取機構の相異、および不要金属に対する生体の制御機構の作用によるものと推定する。

3.4 亜鉛^{20,21)}

人歯牙中の亜鉛は、エナメル質では表層に、象牙質では歯髄に近いほど濃度が増加する傾向を示し、中心部に向うほど低下する²²⁾。これは歯牙内部において、カルシウムと亜鉛が交換反応するため、亜鉛が表層に蓄積するものと考ええる。

本実験による人歯牙中の平均亜鉛濃度は、

Fig. 4 Cumulative zinc frequency in human teeth
 ○ Dentine △ Enamel

エナメル質 $175 \pm 121 \mu\text{g-Zn/g-tooth}$

象牙質 $179 \pm 146 \mu\text{g-Zn/g-tooth}$

で、エナメル質と象牙質の間には平均値および濃度範囲 (Table 2) のいづれにも差を認められなかった。

歯牙中亜鉛の濃度分布は、エナメル質が象牙質よりやや高濃度側に位置する対数正規分布を示した (Fig. 4)。また分布のプロファイルは、鉄と同様にエナメル質と象牙質は同一の傾向を得たが、両者間における相関性は有意を示さなかった。さらに、鉄と亜鉛は累積度数分布図 (Fig. 2 および 4) から明らかなように、金属の濃度分布型が類似していることから、エナメル質および象牙質中の鉄と亜鉛の全相関を求めたが、いづれも有意な結果は得られなかった。

したがって金属濃度の分布型が類似性を示しても、相関係数が有意を示さない場合は、そこに含有する金属について推論することは不適当と考える。

4. 結 語

近年歯牙中微量元素については、比較的多くの報告がみられるようになった。しかしこれらの報告は、分析例数が少ない上金属濃度分布の傾向等について、化学的な立場から明らかにしたものは少ない。臨床化学的な観点で歯牙中微量元素の上限、いわゆる正常値の上限界を知ることができたならば、異常値の定義づけ、ひいては金属による健康障害の診断に大切な因子を提供することは明白である。しかし上限、下限値はもとより濃度分布さえ明確にされずに標準値を得ることは、現在のところ測

定例数の増加、測定地域の指定などをはじめとして、多くの疫学的な測定項目を固定した上で論じなければならぬのが現状である。

今回の測定は東京都内に在住する年少者の矯正歯牙59例を対象としたものである。したがって、この結果をもって東京都内に在住する年少者の代表値を得たとは言えず、また歯牙中微量元素と健康水準について論ずることも不可能である。しかし数種の歯牙中微量元素の濃度分布の傾向について、今回の実験によりある程度把握できた。

1. 今回測定対象とした金属 (Cd, Fe, Pb, Zn) の濃度分布は、エナメル質、象牙質のいずれも対数正規分布を示した。
2. 必須金属 (Fe, Zn) は、エナメル質、象牙質で極めて類似した分布型を示し、不要金属では異なる分布型を示した。
3. エナメル質および象牙質中の鉄濃度分布型は、酷似した対数正規分布を示すとともに、両者間における鉄の相関係数は危険率1%以下で有意であった。これらのことから、エナメル質および象牙質中の鉄の挙動は類似したものと推定した。

本実験を実施するにあたり、試料提供とで助言をいただいた愛児歯科、藤井信雅院長に感謝いたします。またエナメル質と象牙質の分離技術に日本歯科大学、丹羽源男講師、原子吸光装置についてはアナリティカ、内田正美氏に多大なご協力を得た。ここに厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) Mori, M., Yoshioka, W., Mizushima, T. and Amatsu, N.: Histochemical observation of phosphatase and nucleotidase activity in the developing teeth, *Arch. Histol. Jap.*, **20**(4), 513-522 (1960).
- 2) 中山彬, 吉岡仁司: 歯牙硬組織内の微量元素について, *阪大歯誌*, **4**(3), 705-708 (1959).
- 3) Thompson, M., Walton, S. J. and Wood, S. J.: Statistical appraisal of interference effects in the determination of trace elements by atomic-absorption spectrometry in applied geochemistry, *Analyst*, **24**(4), 299-312 (1979).
- 4) Christine A. Helsby: Determination of strontium in human tooth enamel by flameless atomic-absorption spectrometry, *Talanta*, **24**, 46-48 (1977).
- 5) 金子芳洋: 歯の微量元素に関する研究, *口腔衛生学会誌*, **21**(3), 53-66 (1971).
- 6) Hartles & Leaver: The fluorescence of teeth under ultraviolet irradiation, *Bioch. J.*, **54**, 632 (1953).
- 7) 三島昌夫, 星合尚, 綿貫知彦, 菅原和夫: 歯牙中微量元素の定量, *公衆衛生院研究報告*, **30**(1), 40-45 (1981).
- 8) Shapio, I. M., Gail Mitchel, M. A. and Solomon, H. K.: The lead content of teeth, *Arch. Environ. Health*, **30**(10), 483-486 (1975).
- 9) 須賀昭一: 歯の構造と化学組成, *科学と実験*, **30**(7), 552-559 (1979).
- 10) Langmyhr, F. J. and Sundli, A.: Atomic absorption spectrometric determination of cadmium and lead in dental material by atomization directly from solid state, *Analytica Chimica Acta*, **73**, 81-85 (1974).
- 11) 岩倉政城: Cadmium 汚染地区における歯牙中 Cadmium について: *口腔衛生学会誌*, **22**(1), 1-9 (1972).
- 12) 金子芳洋: 歯の微量元素に関する研究, *口腔衛生学会誌*, **22**(1), 79-97 (1972).
- 13) Lyengar, G. V., Kollmer, W. E. and Bowen, H. J. M.: The Elemental Composition of Human Tissues and Body Fluids, p. 116-120, Verlag Chemie, New York (1978).
- 14) 押鐘 篤監修: 歯学生化学, p. 157, 医歯薬出版, 東京 (1966).
- 15) 三島昌夫, 池沢淑子: 血中金属と他の因子との相関性, *公衆衛生院研究報告*, **25**(4), 189-198 (1976).
- 16) Shapiro, I. M., Dobkin, B., Tuncay, O. C. and Needleman, H. L.: Lead levels in dentine and circumpulpal dentine of deciduous teeth of normal and lead poisoned children, *Clinica Chimica Acta*, **46**, 119-123 (1973).
- 17) Attramadal, A. and Jonsen, J.: The content of lead, cadmium, zinc and copper in deciduous and permanent human teeth, *Acta Odont. Scand.*, **34**, 127-131 (1976).
- 18) Brudevold, F. and Steadman, L. T.: The distribution of lead in human enamel, *J. Dent. Res.*, **35**, 430-437 (1956).

- 19) Wilkinson, D. R. and Palmer, W.: Lead in teeth as a function of age, *Internat. Lab.*, May-June, 41-46 (1975).
- 20) Ishiwata, Y. and Mishima, M.: Zinc and magnesium content in human teeth, *Jap. J. Hygiene.*, **34**, 697-705 (1979).
- 21) Cruickshank, D. B.: The frequency distribution of the zinc concentrations in the dental tissues of the normal population, *J. Biochem.*, **44**, 299-302 (1949).
- 22) Steadman, L. T., Spinelli, M. A., Amdur, B. H. and Grøn, P.: A study of zinc in human teeth, *Arch. Oral. Biol.*, **8**, 135-144 (1963).

(受付 1981年6月30日)