NaF 注射投与後のラット血中 F 濃度の時間的推移について

長 谷 川 清 石 田 武
は せ がわ きよし いし だ たけし

伊 集 院 直 邦 西 川 佳 瑋
い じゅう いん なお くに にし かわ よし あき

大阪大学歯学部口腔病理学教室 (主任: 寺崎太郎教授)*

〔受付: 昭和44年9月2日〕

弗化物投与による歯牙形成異常についての研究はすでに数多く行なわれている。しかし、歯牙形成異常の程度と血中 F 濃度との関係についてはほとんど報告されていない。

著者らは、2.5% NaF 溶液をラットの背部皮下に一回注射投与して形成期の歯牙組織におよぼす F の影響を、主として組織学的な立場から研究している。そして、歯牙形成異常の程度と血中 F 濃度との関係を知るため、その研究の一環として、NaF 投与後の血中 F 濃度を時間的経過を追って測定した。

血液中の F を測定する場合には、血液の乾性灰化¹⁾²⁾³⁾を行ったのち、拡散分析、定量を行なうのを通法としているが、灰化操作には 48 時間を要し、またかなりの経費を必要とする。一方、灰化を行なわないでかなり良い成績を得ている報告もある⁴⁾⁵⁾。そこで著者らも、その予備実験として、あらかじめ既知の量の F を血液に添加し、灰化を行わずに Zirconium SPADNS 法と ALC 溶媒抽出法とを併用して定量した。その結果二法とも 80~120% の F 回収率を得たので、これらの二法を用いて NaF 注射投与後のラット血中 F 濃度を測定した。

実験材料ならびに方法

実験動物として約 200 匹の SD 系ラット (阪大微研, 雄, 生後 6~7 週, 体重 140~170g) を用いた。それらを A, B, C 群および対照群に分け

て観察した。

1) A 群 (60 匹)

これらのラットを 5 匹一組として 12 小群に分けた。2.5% NaF 溶液を背部皮下に 10mgNaF/100g の割合で一回注射投与した。12 小群ラットを順次 5 分, 10 分, 15 分, 30 分, 60 分, 6 時間, 12 時間, 24 時間, 48 時間, 5 日, 15 日, 25 日後にネンブタール麻酔下で心臓穿刺を行なった。一匹につき 4 cc の血液を採取し, 1 cc の 3.8% クエン酸ソーダを混じて凝血を防いだ。なお, NaF 投与後 6 時間以上経過したラットのうち約 20% が弗素の急性中毒によって死亡したので, 順次補充した。採取した各々の試料について, まず Zirconium-SPADNS 法で F を定量し, 試料中の F が 5.0 γ /ml 以下であった場合には, ALC 溶媒抽出法を用いて再度定量した。

2) B 群 (60 匹), C 群 (60 匹)

皮下注射量を B 群ラットには 5 mgNaF/100g, C 群ラットには 2.5mgNaF/100g とした。なお, その他の実験条件は A 群と同じである。

3) 対照群 (5 匹)

ネンブタール麻酔 10 分後に, 心臓穿刺を行なって採血した。背部皮下には処置をしなかった。

結 果

実験結果は図 1 に示す通りである。すなわち, 10 mg NaF/100 g, 5mg NaF/100 g 投与群とも, 注射直後より血中 F 濃度は急速に増加し, 5 分後

Studies on the blood fluorine levels in SD-rats, following injection of NaF solution.

By K. Hasegawa, T. Ishida, N. Ijūin and Y. Nishikawa (Department of Oral Pathology, Faculty of Dentistry, Osaka University, Osaka)

* 大阪市北区常安町 32 (〒530)

図 1 2.5% NaF 注射投与後の SD ラット血中 F 濃度の時間的推移

にピークに達し、それぞれ 19.2 ± 2.4 ppm および 15.6 ± 1.2 ppm を示した。その後 F 濃度は一度減少するが、10分後より再度増加し、15分後に二度目のピークに達した。 $(19.1 \pm 3.7, 16.5 \pm 2.8)$ 以後、血中 F 濃度は徐々に減少し、10mgNaF/100g 投与群では注射後48時間で、5mgNaF/100g 投与群では24時間で0.2 ppm 以下となった。なお、注射投与後5分と10分、ならびに10分と15分との血中 F 濃度の平均値の差は、10mgNaF/100g、および5mgNaF/100g 投与群において、ともに有意であった ($P < 0.01$)。

一方、2.5mgNaF/100g 投与群では、血中 F 濃度は NaF 投与後5分でピークに達し、 9.9 ± 2.9 ppm を示したが、10mg および 5mg 投与群にみられたような注射後10分における血中 F 濃度の一時的な低下はみられなかった。以後徐々に減少し6時間後に0.2ppm 以下となった。

考 察

血液に既知量の F を添加してその回収率を調べた結果、80~120% の値を得たが、この事実からただちにラット背部皮下に NaF を注射投与し、その血中 F 濃度を測定する基準とすることにいささかの不安がないわけではない。しかしながら、

血中に入つた F の大部分はイオンとして、あるいは金属イオンと結合して存在すると考えられる。したがって、有機成分と結合する F はほとんどないか、あるとしても極微量であると考えられる。また、妨害イオンの量も同じ血液であるため変らないと考えられる。これらの理由で、NaF 投与後の血中 F の回収率も、80~120 % 程度であると考えるよいのではないか？

NaF 投与量が増加すると血中 F 濃度も、それに応じて増加する。しかし、2.5mgNaF/100g 投与では、血中 F 濃度の上昇が一回であるにもかかわらず、5mgNaF/100g、10mgNaF/100g 投与群ともに二回の血中 F 濃度の上昇を示した。これまでの報告では、投与方法が異なったり、投与量が少ないためか、NaF 一回投与後の血中 F 濃度が二度上昇するものは見られない^{7) 8)}。

多量の F は生体内において強い毒性をもち、血中 Ca イオンを沈澱させてテタニー症状を引き起こし、またプロトロンビンからトロンビンの形成を抑制することによって血液の凝固を阻止する。さらに F は、強い酵素阻害作用をもち、糖質代謝の解糖過程、TCA 回路における諸酵素、カタラーゼ、エステラーゼなどを阻害するといわれている。F を単回多量に投与した場合、F の酵素阻害

作用も考慮しなければならないが、F の生体に対する迅速、かつ著しい影響は、電解質、特に、Ca イオンと結合するために生ずるテタニー症状である。筋痙攣、痙縮は 2.5mgNaF/100g 投与群ではほとんどみられないが、5mgNaF/100g, 10mgNaF/100g 投与群では、注射後 4～5 分で現われ、しばらく持続する。微量の NaF は血管拡大作用を有するといわれているが⁹⁾、5mgNaF/100g 以上の投与量では、テタニー症状と相関連して全身血管が一時的に収縮して、局所からの F 流入量が減少し、その結果、血中 F 濃度の一時的な低下がみられるのかも知れない。

結 語

SD 系ラット背部皮下に、NaF 溶液を 10mgNaF/100g, 5mgNaF/100g, 2.5 mgNaF/100 g の割合で一回注射投与し、それらの血中 F 濃度を測定した。10mgNaF/100g, 5 mgNaF/100g 投与群では、5 分後に血中 F 濃度はピークに達し、一度減少するが、10分後より上昇し、15分後に再度ピークに達した。以後徐々に減少し、48時間後、24時間後に、それぞれ 0.2ppm 以下となった。

2.5mgNaF/100g 投与群では、血中 F 濃度は、5 分後にピークに達し、6 時間後に 0.2ppm 以下となった。

稿を終えるにあたり、御指導いただいた口腔病理学教室主任、寺崎太郎教授、ならびに塩田研次助教授に謝意を表する。

文 献

- 1) 高江州義矩 : Alizarin Complexan による弗素の微量および超微量定量法とその応用. 口腔衛生学会雑誌, 16 : 1-23, 1966.
- 2) Gwirtsman, J., Mavroineanu, R., Coe, R. R. : Determination of fluoride in plant tissue, air and water. Anal. Chem., 29 : 887-892, 1957.
- 3) Hall, R. J. : The spectrophotometric determination of sub-microgram amount of fluorine in biological specimens. Analyst., 88 : 76-83, 1963.
- 4) Singer, L. and Armstrong, W. D. : Determination of fluoride (Procedure based upon diffusion of hydrogen fluoride). Anal. Biochem., 10 : 495-500, 1965.
- 5) Clyde, R. : Multicell diffusion trays for determining in organic fluoride in physiological materials. Anal. Chem., 38 : 1967-1968, 1966.
- 6) Wharton, H. W. : Isolation and determination of microgram amounts of fluoride in materials containing calcium and orthophosphate. Anal. Chem., 34 : 1296-1298, 1962.
- 7) Cox, F. H. and Backer Dirks, O. : The determination of fluoride in blood serum. Caries Res., 2 : 69-78, 1968.
- 8) Muhler, J. C., Stookey, G. K., Spear, L. B. and Bixler, D. : Blood and urinary fluoride studies following the injection of single dosages of fluoride. J. Oral Ther. & Pharmacol. 2 : 241-260, 1966.
- 9) Bishop, J. G., Richardson, A. W. and Muhler, J. C. : The Effect of different fluorides on vascular tone and alteration in the rate of blood flow. J. D. Res., 34 : 478-488, 1955.