弗素の歯牙に対する作用に就ての実験的研究

窪 田 賢 三

北海道大学医学部薬理学教室（主任 真崎教授）

Experimental Studies on the Effect of Fluorine on Teeth

Kenzo Kubota

From the Department of Pharmacology, Faculty of Medicine,
Hokkaido University (Prof. T. Masaki)

It has already been demonstrated that fluorine has some influence on the tooth, but histological study was very rarely reported. The main purpose of this investigation was to make a histological study of the changes in the dentin of rabbit tooth which was administered by fluorine intravenously.

The dentin stratification which might be induced by fluorine injection is so resistant to weak acid that it can be easily differentiated from other part of dentin under the microscope. It has been assumed that fluorine would deposit as calcium fluoride or fluoro-apatite.

The most part of injected fluorine seems to be excreted rapidly and the rest is effective to the odontoblasts. Very small amount of fluorine, therefore, is sufficient enough to cause the dental changes. Moreover it is believed that fluorine exerts a direct local action on the odontoblasts and that the changes observed in the dentin are not produced primarily by changes in blood calcium and phosphorus. It was also considered fluorine has no effect on the alkaline phosphatase in the dental pulp.

緒 言

弗素は古くより一般原形質毒として重要な薬物ではあつたが医学的脚光を浴びたのは所謂 Mottled teeth の発生因子として確認されてからであり、近來齲蝕抑制剤としての予防医学的応用が極めて広範囲に進められて來た。然し弗素の中毒症に就てはかなり詳細な研究が行われて居るにも拘らず¹⁻³⁾、硬組織の形成障害と齲蝕発生の抑制と云う全く相反した作用機転の相関性に就ては未だ明確なる解答が与えられて居ない。歯牙に対する作用は石灰化期に全身的に作用する場合と萌出後その表面より局所的に作用する場合とではかなり異つた機序があるものと考えるが、殊に前者に

就ての研究は水道水の弗素化と関連して重要な問題である。更にまたウラニウム分離に重要な役割を果すと云われる弗素は原子力工業の発展に伴つて種々なる化学工業的応用面が飛躍的に開拓され、一般社会との接触機会は一層密接になつた。就中、工業中毒その他による人体への影響は今や等閑に附せられない問題である。

そこで歯牙形成期に摂取した弗素が如何なる作用機序で硬組織形成障害を惹起するか就て実験的研究を試みた。

実験方法並びに実験成績

I. 歯牙硬組織に現れる変化

弗化物投与によつて硬組織形成の障碍される。

ことは既に知られて居り、殊にエナメル質及び象牙質に変質層板の出現することは Schour & Smith⁴⁾、岡田・三村⁵⁾、Euler & Eichler⁶⁾ 及び Irving⁷⁾ によつて観察されて居る。更に岡田・三村⁸⁾ は弗素注射日に相当する日周期層の耐酸性が極めて大なることから、硬組織生体染色の一法として応用して居る。斯る変質層板出現の機序及び石灰代謝との関係に就て以下の如く組織学的検索を進めた。

実験動物には全て成熟家兎を使用し、試料として下顎切歯象牙質を用いたが、必要に応じて他の歯牙に就ても実験を行つた。

A) 弗素変質層板の出現に就て

弗化物を静注し一定日後屠殺、歯牙を横断研磨して水洗、乾燥後、この面の Methylmethacrylate 転写膜に就て鏡検するに象牙質研磨面は平滑で層状構造は認められない。次に研磨面を pH4 程度の醋酸緩衝液中に5分間浸漬して表面を軽く脱灰した後の転写膜に就て観察すると、構造は一変して凹凸の層状構造を示し所謂象牙質の正常縞模

図1 家兎象牙質横断面
a, b, c, d, e: 弗素変質層板
p: 歯髓腔

様が見られる他に、殊に弗素注射日に相当する層板は浮き彫りを施した如く明瞭に現れて来る(図1)。この変質層板は極めて緻密な構造を呈し他の層板と比較して脱灰度の差は著明であつて、かなり耐酸性の強いことが窺える(図2)。その組成が無機質より成ることは斯る横断面歯牙を苛性カリ-グリセリン液中で煮沸して有機質を除去する場

図2 家兎象牙質横断面
0.5 mg/kg 弗素静注2日間隔
a, b, c, d, e: 弗素変質層板
p: 歯髓腔

合、その像が変わらずにむしろ凸凹が明瞭となる事実から確實である。以上の実験は弗化曹達、弗化カリ及び珪弗化曹達の各々に就て試みたが何れも

図3 家兎象牙質横断面
a, b: 0.5 mg/kg 弗素静注
c, d: 0.2 mg/kg 弗素静注
e, f: 0.1 mg/kg 弗素静注
g: 0.5 mg/kg 弗素静注
a, b, c, d, e 各2日間隔
e, f, g 連日

作用強度に差は認められないので、以下の実験では全て弗化曹達を使用することとした。

次に投与する弗素量によって変質層板の幅径及び脱灰度に差のあることから、その出現する限界量を決定することにした。0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg, 0.5 mg/kg 及び 1.0 mg/kg の弗素量を静注したが、0.2 mg/kg 以上では1回の注射で確実に変質層板の証明が出来、0.1 mg/kg では殆ど認めることがない。即ち静注による限界量は 0.1 mg/kg と 0.2 mg/kg との間にある(図3)。

更に4時間、6時間、12時間、24時間間隔に同量弗素の静注を行い日周期層の幅径を基準にして変質層板の幅径を測定するに、0.5 mg/kg 弗素量の作用持続時間は4時間前後であることを知った。

B) 動注と静注との比較に就て

以上の如く弗素静注によって出現する象牙質変質層は、血中に入った弗素イオンが直接造歯細胞に作用して耐酸性大なる弗化カルシウム或は弗化燐酸カルシウムの形成を行つたものと考えるが、然らば頸動脈内注射を行つて多量の弗素を歯牙に到達させた場合には更に強度の変質層板が見られる筈である。反之、動注の場合に変質層板の出現が弱いなら血中に入った弗素は循環中に他の物質と結合し、硬組織に沈着し易い形に置換されて後に初めて歯牙に作用するものと考えられる。この点を明らかにする為に同一家兎に 0.5 mg/kg 弗素を頸動脈内及び同側耳静脈内に夫々24時間以上の間隔を置いて注射し、或はその間隔を換え、又は順序を逆にして多数の家兎に就て試み、前述の実験法に従つて観察を進めた。

全例に於て両者の差はなく、更に注射側歯牙許りでなく反対側歯牙にも全く同程度の変質層板を認めた。また股動脈内注射と静脈内注射との比較に於ても全く同様の結果が得られた(図4)。

そこで注射速度を色々に換えて血液との接触時間に変化を与えた場合の比較を行うこととし、0.5 mg/kg 弗素(約2.5 cc 溶液)を10秒、20秒、30秒、1分及び2分の注射速度で頸動脈内注射を行つたが、変質層板の出現には何等の変化も認めない。

図4 家兎象牙質横断面

a, c, e: 0.5 mg/kg 弗素静注

b, d: 0.5 mg/kg 弗素動注

a, b 3日間隔

c, d, e 連日

p: 歯髄腔

以上の結果から弗素は血中に於てその性質を変化することなく、安定な弗化物又はイオンの形で循環を続け逐次造歯細胞に作用するものと考えられる。動注と静注の比較に於て差の無いのは血液循環速度から考えて解決出来ることと思われる。

C) 石灰代謝との関係に就て

歯牙の石灰代謝機能を攪乱した時に弗素イオンの象牙質への介入は如何に変化するかを知る為に、Acidosis 及び Alkalosis を起させた場合、或は絶食期、更には甲状腺並びに上皮小体剔除後の弗素変質層板に就て観察した。斯る体液変化に伴う硬組織形成障害に就ては岡田・三村⁹⁾及び松本¹⁰⁾等の実験によつて既に確認されて居る。

0.1 規定塩酸 5 cc/kg を5時間間隔で前後2回腹腔内注射した後に、弗素 0.5 mg/kg を耳静脈内注射する。之を1~2日間隔に行い、その前後に弗素注射のみを行つて対照とした。その結果 Acidosis による石灰化不良状態に於ける変質層板は正常時に見られるそれと全く同一で増強も減弱も認められなかつた(図5)。

同様に3%重曹 20 cc/kg を5時間間隔で2回皮下注射後 0.5 mg/kg 弗素を静注したものに就て観察したが、Alkalosis の場合には石灰化良好な象牙質形成が行われるにも拘らず変質層板には変化が現れない。

図5 家兎象牙質横断面

a, b, d, f: 弗素静注のみ
c, e, g: 塩酸注射後弗素静注
a, b 連日
b, c, d, e, f 2日間隔
f, g 1日間隔

また家兎を絶食させて弗素注射を続けても変質層板は正常時と変りなく、更に数日間絶食させた後に Vitamin D₂ 10万 i. u. (Chocola D を使用した) 1日2回筋注を続けても変化はなかった。

更にまた弗素 1.0mg/kg, 0.5mg/kg, 0.2mg/kg 及び 0.1 mg/kg を連日静注した家兎の甲状腺並びに上皮小体を剔出し、手術日、1週後、2週後、3週後及び4週後より各々4日間前記弗素量を連日静注し術前、術後の変質層板に就て観察を行った。術後全身状態の悪化する場合にも変質層板の出現度には変化なく、幾分明確になる傾向もあるが全般的に見て顕著な差は認められない(図6)。術後種々なる時期に甲状腺ホルモンのThyradin 1cc (日本薬局法甲状腺 0.2g に相当する) を連日皮下注射した場合にも変化は見られなかった。

図6 甲状腺及び上皮小体摘出家兎象牙質横断面

A: 術後1週弗素変質層板
B: 術後2週弗素変質層板
C: 術後3週弗素変質層板
D: 術後4週弗素変質層板
p: 歯髓腔

以上の如く血中に入つた弗素イオンは硬組織に於ける石灰代謝の良否とは無関係に歯牙に到達し、造歯細胞に直接作用して歯牙形成障害を惹起するものらしい。即ち変質層板の出現は血中に於ける Ca, P の変動に伴う二次的結果とは考えられない。この点 Schour & Smith⁴⁾ 及び Irving⁷⁾ の説に一致して居る。

II. 歯髓内 Alkaline-phosphatase に及ぼす影響

弗素が酵素阻害性を有することは広く知られて居るが、生体硬組織形成に重要な役割を果すと言われる Alkaline-phosphatase^{11, 12)} (以下 A. ph と略す) に対してどの様に作用するかを知る為に、歯牙形成に直接関与する歯髓内 A. ph の消長に就て検討した。実験動物には2~3kgの成熟白色家兎を選び実験1に於て十分硬組織変性を惹起した弗素量、即ち 1.0 mg/kg (弗化曹達を使用した) を1日1回耳静脈内注射を行い、2, 5 及び 10 日間之を続けて最終注射2時間後に屠殺し、直ちに歯牙を抜去、破碎して歯髓を摘出し、以下

Gomori 法¹³⁾に従つて組織化学的検索を進めた。

1) 固定：冷アセトン中 12~24 時間氷室保存，その後室温で 6 時間毎 2 回アセトン交換。

2) パラフィン包埋：脱水にはベンゼンを用い 30 分毎 2 回交換，パラフィン炉 55°C，2 時間以内に包埋する。

3) 切片：4~8 μ の連続切片とし，キシロール及びアルコールで脱パラフィン。

- 4) Incubation
2 % Sod. barbital	25 cc
2 % Sod. β -glycerophosph.	25 cc
2 % Calc. chloride	5 cc
2 % Mg. sulfate	2 cc
Aq. dest	50 cc

上記混合液中 (pH 9.1 に補正) 37°C，1~2 時間浸漬。

5) 水洗→1 % 硝酸コバルト中 5 分。

6) 水洗→1 % 硫化アンモン中 2 分。

7) 水洗→脱水→封入。

A.ph は磷酸エステルを加水分解して磷酸を遊離するエステラーゼであるから，組織より遊離させた磷酸に Ca イオンを結合させ不溶性の磷酸塩としてその位置に沈着させたものを更に硫化コバルトの形に置き換えて可視的にする。A.ph 反応ある部分は黒褐色に染色されるので鏡検は容易である。対照観察には Sod. β -glycerophosph. を除いた混合液中で Incubation した試料を Hämatoxylin-eosin 重染色を行い両者を比較検討した。

正常歯髓に於ける A.ph 反応は直接象牙質形成に関与する造歯細胞層に最も多く見られ，血管壁が之に次ぎ，歯髓固有細胞には少量であつた (図 7, 8)。弗素注射 2 日目の所見では造歯細胞層に軽度の A.ph 反応減弱を認めるが，その後 10 日間連続注射しても減弱の度合に変化はない。その他の部分では更に軽度の抑制を認める程度であつて，全体として歯髓内 A.ph に対する弗素の影響は極めて僅かである (図 9)。即ち微量弗素の静注は歯牙の石灰沈着に軽度の阻害作用を与えるが，然し無機質結合体の変化によつてむしろ組成を強

図 7 正常家兎歯髓
(Hämatoxylin-eosin 染色)

- a: 造歯細胞
b: 血管
c: 歯髓固有細胞

図 8 正常家兎歯髓 (A. ph 反応)

- a: 造歯細胞
b: 血管
c: 歯髓固有細胞

図 9 弗素注射家兎歯髓 (A.ph 反応)

- a: 造歯細胞
b: 血管
c: 歯髓固有細胞

図 10 モノ沃度醋酸注射家兎歯髓(A.ph 反応)

- a: 造歯細胞
b: 血管
c: 歯髓固有細胞

固にし耐酸性を賦与することの方がより重要な作用点と考えられる。

一方また酵素毒であるモノ沃度醋酸は歯牙表面塗布によつて弗化物と同様に齲蝕抑制効果があると言われて居るので¹⁴⁾、その A.ph に対する作用を検討し弗素作用との比較を行つた。1.0 mg/kg モノ沃度醋酸の静注を連日行い前法同様に歯髓内 A.ph の定量を試みるに、極めて著明な抑制を認めることが出来た(図 10)。即ち、歯牙の石灰代謝にはかなり影響を齎らすものと考えられる。このことは Grethe et al.¹⁵⁾ が牛角に於ける実験で認めている。然し乍ら斯る歯牙を実験 I の方法で鏡検しても変質層板は全く見られないことから考えて、モノ沃度醋酸に齲蝕抑制効果があるとすれば弗素の如く歯牙耐酸性の増強によるものではなく酵素毒的局所作用に因るものであらうと思われる。このことは弗素の歯牙表面に於ける作用機転解明に益するものであらう。

III 硬組織への移行弗素量

静注した弗素は直接歯牙に到達してその石灰化機転に参画し硬組織組成に介入する事は以上の実験から考えて十分予測出来るのではあるが、更にその確証を得る可く先人の業績¹⁶⁻²¹⁾を追試して体内摂取弗素量に就て硬組織移行の在否を確めた。

実験動物には 150 g 前後の同腹ウイスター系白鼠を選び、弗素 2 mg (弗化曹達を使用した)を 1

日 1 回 5 日間連続皮下注射し総量 10 mg 弗素を摂取せしめ、屠殺後、上下顎前歯及び両側大腿骨に就て定量を行つた。試料は 70 %アルコール中に 2 時間以上浸漬固定後、粉碎して歯髓及び骨髓を可及的に除去し 500~600°C で 3 時間灼熱する。次いで之を乳鉢中で粉化し更に 2 時間灼熱して有機質を完全に除いたものを定量試料とした。弗素定量法は Willard & Winter の蒸溜法及び Sanchis の Zirconium-alizarin 比色法を夫々改良して用いた²²⁾。測定値は全て 100 mg Ash に就ての弗素量を mg で示して居る。

表 1 歯牙及び骨の弗素量

	平均値±標準誤差 (mg/100 mg 灰分)	
	対 照 群	弗素注射群*
歯 牙	0.0742±0.00088	0.1338±0.00068
大 腿 骨	0.1732±0.00092	0.3380±0.00106

* 10 mg/kg 弗化曹達静注

図 11

図 12

歯牙の弗素量は対照群 0.0742 ± 0.00088 mg, 注射群 0.1338 ± 0.00068 mg で両者の間にはかなりの差が見られる。大腿骨に於ても対照群 0.1732 ± 0.00092 mg, 注射群 0.3380 ± 0.00106 mg で更に著しい差を認めることが出来る(表 1, 図 11)。

以上の平均値有意性 $\left(\sqrt{\frac{M_1 - M_2}{m_1^2 + m_2^2}} > 3 \right)$ は歯牙

54, 骨 118 で何れも有意であり, 又 T-test $\left(t = \frac{\bar{x}_2 - \bar{x}_1}{\sqrt{\frac{1}{N_1} + \frac{1}{N_2}}} \right)$ に於ても歯牙 47.6, 骨 105.0 の t 値を示し, 1% 危険値 $t = 5.04$ に較べて極めて有意なることが確認出来る。10 mg 弗素の皮下注射によつて歯牙及び大腿骨の弗素量は明らかに

増大を示して居ることになる。然らば注射群値より対照群値を差引いた量, 即ち歯牙及び大腿骨へ夫々移行した弗素量は注射弗素量に対して如何程の割合になるかを算定するに歯牙 6.0%, 大腿骨 16.5% であつて前者に比べて後者への移行量が遙かに多いことを知る(図 12)。

之等のことから血中に入つた弗素の一部は形成過程にある硬組織に到達し, その正常組成に変化を与えることは確実である。

IV 血液内弗素濃度の消長

微量弗素の静注にも拘らずその作用時間が極めて長く持続することは既に変質層板幅径の測定によつて観察したが, これに関連して血中を循環する弗素量の時間的経過は如何なるものであるかを知る為に次に実験を行つた。

実験動物には 2~3 kg の成熟白色家兔を選び, 耳静脈より弗素を注入し頸動脈を通過する血液弗素量に就て観察した。即ち弗素 10 mg/kg (弗化曹達を使用した) を 1~1.5 分の注射速度で一側耳静脈より注入し, 注入終了直後及び 10 分, 15 分, 30 分, 60 分, 2 時間, 3 時間, 4 時間, 5 時間後に夫々同側頸動脈より採血してその全血中弗素量に就て測定する。弗素定量法は実験 III と同様 Willard & Winter 法及び Sanchis 法を改良して行つた。採血量は最初の 2 例は各 10 cc 宛, 後の 2 例は各 5 cc 宛であるが, 測定値は全て 10 cc 血液中弗素量を mg で示すことにした。

弗素注射 30 分前の同側頸動脈血を対照として採血, 定量した。その弗素量は 0.091 mg で注射直後は 0.771 mg の最高値を示し, その後は 30 分以内に極めて急速な下降を行い 0.165 mg となるが, 次いで緩かな曲線を書いて下降を続け 4 時間後には殆ど注射前の値に戻る(表 2, 図 13)。即ち弗素は安定な形で血中を循環し乍ら注射直後より逐次硬組織形成を障碍するものであり, また 0.5 mg/kg 弗素静注によつて出現する変質層板幅径が 4 時間に相当することから考えて, 血中弗素量はかなり微量濃度に低下しても尚作用を持続するものと思われる。

次に血中に於ける弗素が血液成分の変化を招き

表2 血 中 弗 素 量

定 量 値 (mg/10 cc 血液)											
注 射 前		弗素注射*	注 射 後								
30 分	10 分		15 分	30 分	60 分	70 分	2 時時	3 時時	4 時間	5 時間	
No. 1	0.072	0.760				0.156		0.106		0.070	0.070
No. 2	0.102		0.361		0.166		0.147				
No. 3	0.100							0.130	0.107	0.102	0.101
No. 4	0.090	0.782		0.242	0.163	0.156		0.105			

* 10 mg/kg 弗化曹達静注

図 13

或は酵素系，ホルモン系の障碍を来すことは一応
考え得ることであるから，先ず血液成分との関係

表3 全血及び血清中弗素量

	定量値 (mg/10 cc 血液)			
	注射前		注 射 後	
	30 分	弗素注射*	30 分	2 時間
全 血	0.092	0.793	0.164	0.129
血 清	0.069	0.718	0.147	0.112
Hematocrit 値 (%)	40.2	38.3	32.8	31.9

* 10 mg/kg 弗化曹達静注

図 14

に就て実験を進めた。前実験と同様の方法で採血
したものに就て一部は全血の儘，一部は分離した
血清のみに就て弗素定量を行い，血清部分と血球
部分の何れに重要な関係をもつかを確めた。採血

による負担を軽減する為に2頭の家兎より同時に採血し両者を混合したものに就て定量した。血清中弗素量は全血10cc中の血清部に含まれる弗素量のことで Hematocrit 測定値より計算して求めた。

全血弗素量と同じく血清弗素量も注射直後に最高値を示し、その後急激な下降曲線を書いて居るが、血清内と血球内との割合から言つても注射直後には血清弗素量はかなり増大して居る。即ち対照に於て全血弗素量の76%が血清内に含有されて居たものが注射直後に90%に増加して居る(表3, 図14)。之は採血の反覆による Hematocrit 値の低下にも起因するが、両者の絶対値に著しい差があることから考えて血清部分により多くの重要性が秘められているものと思う。

総括並びに考按

Mottled teeth は地方病として現れる歯牙形成不全症で、珐瑯稜柱間にある粘着質の不足または欠如が著明でその部分は白斑乃至着色斑として認められ、また象牙質には球間象牙質の増加が見られる。之等のことは古くから観察²³⁻²⁵⁾されて居たのではあるが、その原因が弗素含有飲料水の常用によるものと確認されたのは極めて近年のことで、その後多くの研究者は実験的に弗素原因説の裏付を行つた²⁶⁻²⁸⁾。爾来この研究は益々盛に検討されて来たのであるが、軽度の弗素中毒症に於ては齲蝕罹患が減少して居ることに着目されて以来、研究の主題は弗素による齲蝕予防へと漸次移行する様になつた²⁹⁻⁴⁰⁾。硬組織の形成障害を惹起する薬物が一方で齲蝕抑制作用をもつと云うことは一見かなり矛盾したものと考えられるが、之を詳細に検討すれば次の様な仮説が成立することは現在までに判明して居る。

1) 口腔内細菌に対する抑制作用^{41, 42)}

齲蝕発生に関与する連鎖球菌、乳酸菌に対する殺菌力は in vitro で認められることが出来る。事実、弗素地帯住民の口腔内細菌数は減少して居ると云われる。然し乍ら齲蝕抑制を齊らす飲料水中弗素濃度では細菌に対する影響は殆ど見られな

い。

2) 酵素毒的作用^{43, 44)}

弗素に酵素毒作用のあることは知られて居るが就中、炭水化物の酸酵機転は著明に阻止される。歯垢中に生じた酸によつて歯牙脱灰の開始される際に弗素はその酸発生を抑制し齲蝕機転を停止せしめる。この場合にも有効弗素濃度との間に可成の開きがある。

3) 歯牙の耐酸性獲得^{45, 56)}

歯牙の無機成分は Ca, Mg の磷酸塩及び炭酸塩であるが、弗素の介入によつて弗化カルシウム或は弗化磷酸カルシウムが形成される。この形の複塩は酸に対する溶解度が極めて低いので齲蝕発生による歯牙溶解が阻止される。

齲蝕発生そのものが既に複雑な機構より成立して居ることから考えて、その抑制作用も単一のものではなく、少く共以上3説には夫々因子的可能性が存在するものであろう。

以上の如く歯牙硬組織に及ぼす弗素作用に就ては多くの研究が行われて来たのであるが、その殆ど全てが歯牙表面よりの弗素吸着に就ての実験であつて成長過程に血行路より介入する機序に關しての研究は詳かでない。齲蝕発生が歯牙表面より行われること、更に近年広く実施されて居る弗素の歯牙表面塗布による齲蝕予防から考えて従来の研究法は当を得たものではあるが、翻つて Mottled teeth の発生機転及び水道水弗素化に着目すればその解明法は不十分と云わねばならない。硬組織に取り入れられた弗素の組織学的証明法は従来全く知られて居なかつたことがこの研究に大きな障害を齊らして居たのである。

最近、岡田・三村は歯牙硬組織に出現する縞模様変化を追求することから極めて簡単に弗素介入層板を証明したが、これは弗素研究の新しい分野を開拓する意味に於て極めて意義あるものである。そこで私はこの方法を応用して家兎象牙質に出現する組織変化の詳細を検討することにした。

弗素注射時刻に形成される象牙質は耐酸性が增強され、極めて Contrast の強い変質層板として観察されるが、これは弗素イオンの介入によつて

弗化カルシウム或は弗化磷酸カルシウムの形成が行われた為と考える。その組成変化に就ては電子顕微鏡的観察を行つて居るので詳細は他の機会に発表する。

切片標本を通法に従つて Hämatoxylin-eosin 染色した場合に象牙質層板に変化の現れることは既に報告されて居たのであるが、それらは極めて粗雑な観察に過ぎず、殊に微量弗素の影響に関しては不明であつた。齲蝕予防に効果のある飲料水中濃度は 0.3 乃至 1.0 p.p.m. と云う微量であるが、本実験によつて 0.2 mg/kg 静注が歯牙変化の限界量であることを明確にしたことは重要なことであらうと思う。

また変質層板幅径の差から作用時間及び作用強度を知ることが出来るのでその出現機序に就ての種々なる考察が可能となる。先ず種々なる弗化物を同一の条件で別々に静注してその差を観察したが無れの場合にも全く同様な変質層板の出現をみた。De Eds et al.⁵⁷⁾, Smith et al.⁵⁸⁾ 及び Mc Clure⁵⁹⁾ は弗化物の種類によつて中毒症状に差のないことを報告して居るが、歯牙変化に就ても同じことが言える。

次に静注と動注との比較から血中を循環する弗素が歯牙に到達するまでの変化の有無を検討し、更に石灰代謝機能を攪乱した状態に於ける歯牙への弗素介入が如何なるものかに就ての実験を試みた。弗素を摂取した場合、体液が酸性に傾き血中 Ca 量が低下して尿中及び唾液中 Ca 量の増加を見るが、之は組織中の可溶性 Ca 塩を不溶性の形に換える為であつて之によつて全身障害が惹起されるものである^{60, 61)}。斯る中毒症状は Ca 摂取量と逆比例すると言われて居る^{62, 63)}。この場合、歯牙及び骨の Ca 量は増加、P 量は減少し従つて Ca/P は増大すると言う報告もあるが^{64, 65)}、微量弗素の静注時には歯牙石灰化の良否と無関係に変質層板の形成を認めることが出来る。即ち血中に入つた弗素は直接造歯細胞に到達して歯牙形成を障碍するもので、血中 Ca 及び P の変動によつて歯牙形成障碍を惹起するものではない。

然らば弗素が歯牙へ介入する際、幼若象牙質の

石灰化には如何なる作用を齎らすものかを知る為に A.ph に対する影響に就て組織化学的観察を行つた。Ph は含水炭素、磷脂質及び核蛋白の如く生体に於て重要な物質の新陳代謝に關与することは衆知の事実であつて、殊に A.ph は硬組織の石灰化に欠く可からざる因子であると言われて居る。歯牙内 Ph に関しては既に多くの報告があつて可成詳細な検討が加えられて居るが⁶⁶⁻⁶⁸⁾、これに対する弗素の影響に就ては報告が少ない。Smith & Lantz⁶⁹⁾, Thomas et al.⁷⁰⁾ 及び Roholm et al.⁷¹⁾ は白鼠の実験で弗素投与によつて A.ph の抑制されることは極めて少いことを、松田・深川⁷²⁾ は海狸に於てはアルカリ性及び酸性 Ph 共に著しい変化はなく実質細胞変性部に軽度の減弱を認めて居る。その他何れの報告に於ても弗素の A.ph に対する影響は極めて僅微であり、私の実験に於ても又之等の実験と同一の結果が得られた。

弗素の酵素阻害機転に就ては今日尙不明であるが、Mg 及び Ca の酵素賦活性除去説がある。然しながら摂取された弗素の大半は速かに排泄処分されるので臓器組織の酵素機能を直接抑制する能力は可成乏しいものと考ええる。

因みに Robison & Rosenheim⁷³⁾ は骨及び軟骨に於ける正常石灰化機転に就て in vitro の実験で次の如く説明して居る。

1) A.ph によつて磷酸エステルは加水分解を受け組織液中に過剰の骨塩が出現する。

2) その度合が充分過剰に達した時に初めて組織基質部に Ca 塩の沈着をみる。

この考え方からすれば弗素は第 1 機転に殆ど影響を及ぼさないが、造歯細胞に直接作用することによつて第 2 機転に強い作用を与え Ca 塩に弗素の介入した異常石灰化層を形成するものである。

以上の如く体内に摂取された弗素イオンは形成過程にある歯牙硬組織に介入することは確実であるから、化学定量によつてその増加量を確認することが出来る筈である。人歯牙の固有弗素含有量は 0.05 % 前後で象牙質は珐瑯質より多量である。

Mottled teeth は正常歯 に比べて 2~3 倍の弗素を含有すると言われ、また工場中毒者に於ては 10 倍にも増加したと報告されて居る⁷⁴⁾。動物に弗素を投与して組織内弗素量の増加を実験的に確めた報告も既に見られて居る^{75,76)}。骨は歯牙に比べて 2~3 倍多量に含有するもので^{77,78)}、私の成績に於ても静注弗素の移行量は 100 mg Ash 当り 3 倍近く骨の方が多くなつて居る。然し乍ら生体内で最も弗素の沈着すると言われる硬組織に於てさえ投与量の極く一部の移行を認めるに過ぎないことから考えて、その大半は速かに排泄されると思われる。

そこで弗素投与後の血中濃度は極めて急激な変動を示すことが予想されるので、頸動脈を通過する弗素量に就てその時間的経過を測定した。注射直後に最高値を示す弗素量は 30 分後には約 90 % が血中より姿を消しその後約 4 時間までは正常値に比べて僅かに多量の弗素が循環を続けて居る。之は 10 mg/kg 弗素静注時の測定値であるから、変質層板の出現を齊らす 0.5 mg/kg 弗素の場合には血中濃度は更に微量なものとなる訳である。而もこの場合でさえ 4 時間前後も作用を続けて居ることから考えて、歯牙に影響を齊らす血中弗素濃度は極めて微量で充分なことが理解出来る。

他方、血中に於ける弗素は安定な状態を保ちながら循環を続けるものらしいが、血液成分のどの部分に親和性をもつかを知ることはその作用機序の解明に必要な事と思う。白鼠を弗素含有食で飼育すれば 30 日で Hemoglobin の一過性低下が見られ、血液変化は歯牙組織像の変化より早期に出現すると言う報告⁷⁹⁾はあるが、血液組成との関係に就ての研究は他に殆ど見られない。循環弗素量の大半は血清中にあるもので、弗素静注によつて更にその割合を増加することを本実験に於て確認したが、その後の分解及び解毒が如何なる機序で行われるかは今後の研究に残された課題であろう。

結 論

1. 微量弗素の静注によつて家兎象牙質には耐酸性大なる変質層板が出現する。之は注射時に形

成される象牙質層に弗素イオンが介入して弗化カルシウム又は弗化磷酸カルシウムを構成する為であろうと思われる。

2. 弗素イオンが確実に歯牙に移行して居ことは化学的定量実験より実証出来る。

3. 血中に入つた弗素の大半は速かに排泄されるが、極めて微量の残部は尙安定な形で循環を続け逐次造歯細胞に作用して歯牙に沈着する。この際硬組織に介入する弗素は血中 Ca, P の変動と直接の関係がない。

4. 歯牙の石灰化機転に重要な役割を果す歯髓内 Alkaline-phosphatase に対しても弗素は殆ど影響を及ぼさない。

稿を終るに当り終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜わつた恩師真崎教授に満腔の謝意を捧げます。

文 献

- 1) Sollmann T.: A Manual of Pharmacol. 7: 804, 1949.
- 2) Eichler, O.: Heffters Handb. exper. Pharmacol. 10: 1032, 1950.
- 3) Greenwood, D. A.: Physiol. Rev. 20: 582, 1940.
- 4) Schour, I. & Smith, M. C.: J. A. D. A. 22: 796, 1935.
- 5) 岡田・三村: 日薬物誌, 29: 75, §, 1940.
- 6) Euler, H. & Eichler, O.: Dtsch. Zahn-Mund-Kieferhik. 9: 1, 1942.
- 7) Irving, J. T.: J. D. Res. 28: 144, 1949.
- 8) 岡田・三村: 日薬理誌, 48: 200 §, 1952.
- 9) 岡田・三村: 日薬理誌, 29: 71 §, 1940.
- 10) 松本・日薬理誌, 50: 204 §, 1954.
- 11) Robison, R.: Biochem. J. 17: 286, 1923.
- 12) Kay, H. D.: J. Biol. Chem. 89: 249, 1930.
- 13) Gomori, G.: Am. J. Clin. Path. 16: 347, 1946.
- 14) Massler, M.: Dentistry. 4: 546, 1944.
- 15) Grethe, H. et al.: Naunyn-Schmiedeberg's Arch. 214: 398, 1952.
- 16) Klemment, R.: Ber. Dtsch. Chem. Gesellschaft. 68, 2012, 1935.
- 17) Bowes, J. H. & Murray, M. M.: Biochem. J. 29: 102, 1935.
- 18) Lowater, F. & Murray, M. M.: ibid. 31: 837, 1937.
- 19) Armstrong, W. D.: J. Biol. Chem. 119: V, 1937.

- 20) Martin, D. J. : J. D. Res. 27 : 27, 1948.
- 21) Myers, H. M. et al. ibid. 31 : 743, 1952.
- 22) 窪田 : 口腔病学会雑誌 20 : 259, 1953.
- 23) McKay, F. S. & Black, G. V. : Dent. Cosmos 58 : 477, 627, 1916.
- 24) Pierle, C. A. : J. A. D. A. 13 : 999, 1926.
- 25) Smith, M. C. et al. : J. D. Res. 12 : 149, 1932.
- 26) Smith, M. C. & Lantz, E. M. : J. Biol. Chem. 101 : 677, 1933.
- 27) Dean, H. T. et al. : Pub. Health Rep. 49 : 1075, 1934.
- 28) Smith, M. C. et al. : J. A. D. A. 22 : 814, 817, 1935.
- 29) Dean, H. T. : Pub. Health Rep. 53 : 1453, 1933.
- 30) Hodge, H. C. & Finn, S. B. : Proc. Soc. Exper. Biol. & Med. 42 : 318, 1939.
- 31) Bibby, B. G. : J. D. Res. 22 : 207, 1943.
- 32) Knutson, J. M. & Armstrog, W. D. : Pub. Health. Rep. 62 : 425, 1947.
- 33) Keyes, P. H. & Shourie, K. L. : J. D. Res. 28 : 133, 1949.
- 34) Muhler, J. C. & Day, H. G. : J. A. D. A. 41 : 528, 1950.
- 35) Muhler, J. C. & Day, H. G. , J. Nutrit. 44 : 413, 1951.
- 36) Rickles, N. H. & Becks, H. : J. D. Res. 30 : 757, 1951.
- 37) Massler, M. : ibid. 32 : 703, 1953.
- 38) Muhler, J. C. et al. : J. A. D. A. 46 : 290, 1953.
- 39) Muhler, J. C. & Shafer, W. G. : Science 119 : 687, 1954.
- 40) Muhler, J. C. et al. : J. D. Res. 33 : 33, 1954.
- 41) Bibby, B. G. & Vankesteren, M. : ibid. 19 : 391, 1940.
- 42) Dean, H. T. et al. : Pub. Health Rep. 56 : 365, 1941.
- 43) Miller, B. F. : Proc. Soc. Exper. Biol. & Med. 39 : 389, 1938.
- 44) Eichler, O. et al. : Naunyn-Schmiedebergs Arch. 206 : 82, 1949.
- 45) Volker, J. F. : Proc. Soc. Exper. Biol. & Med. 42 : 725, 1939.
- 46) Volker, J. F. et al. : ibid. 43 : 643, 1940.
- 47) Gerould, G. H. : J. D. Res. 24 : 223, 1945.
- 48) Muhler, J. C. & Van Huysen, G. : ibid. 26 : 119, 1947.
- 49) Zipkin, I. & McClure, F. J. : ibid. 28 : 151, 1949.
- 50) Manly, R. S. & Bibby, B. G. : ibid. 28 : 160, 1949.
- 51) Scott, D. B. & Wyckoff, R. W. G. : Pub. Health Rep. 65 : 43, 1950.
- 52) Fischer, R. B. & Muhler, J. C. : J. D. Res. 31 : 751, 1952.
- 53) Muhler, J. C. et al. : ibid. 31 : 756, 1952.
- 54) Rathje, W. : ibid. 31 : 761, 1952.
- 55) 増原 : 口腔病学会雑誌 20 : 67, 1953.
- 56) Fischeret, R. B. al. : J. D. Res. 33 : 50, 1954.
- 57) De Eds et al. : Proc. Soc. Exper. Biol. & Med. 31 : 824, 1933.
- 58) Smith, M. C. & Leverton, R. H. : Ind. Eng. Chem. 26 : 791, 1934.
- 59) McClure, F. J. : Pub. Health Rep. 65 : 1175, 1950.
- 60) Jodlbauer, A. : Naunyn-Schmiedebergs Arch. 164 : 464, 1932.
- 61) Greenwood, D. A. et al. : J. Am. Vet. Med. Ass. 39 : 28, 1935.
- 62) Irving, J. T. : J. D. Res. 28 : 17, 1949.
- 63) Massler, M. & Schour, I. : J. A. D. A. 44 : 159, 1952.
- 64) Smith, M. C. & Lantz, E. M. : J. Biol. Chem. 101 : 677, 1933.
- 65) Sobel, A. E. et al. : J. D. Res. 28 : 61, 1949.
- 66) Harowitz, N. H. : ibid. 21 : 519, 1942.
- 67) Greep, R. O. et al. : J. A. D. A. 36 : 427, 1948.
- 68) Morse, A. & Greep, R. O. : J. D. Res. 31 : 284, 1952.
- 69) Smith, M. C. & Lantz, E. M. : J. Biol. Chem. 112 : 303, 1935.
- 70) Thomas, J. O. et al. : J. Pharmacol. & Exper. Therap. 54 : 160, 1935.
- 71) Roholm, K. et al. : Proc. Soc. Exper. Biol. & Med. 37 : 376, 1937.
- 72) 松田・深川 : 東京医事新誌 70, 263, 1953.
- 73) Robison, R. & Rosenheim, A. H. : Biochem. J. 28 : 684, 1934.
- 74) Roholm, K. : Hefters Handb. exper. Pharmacol. 10 : 1094, 1950.
- 75) Phillips, P. H. et al. : J. Nutrit. 10 : 93, 1935.
- 76) Volker, J. F. et al. : J. Physiol. 132 : 707, 1941.
- 77) Murray, M. M. : ibid. 87 : 388, 1936.
- 78) Lawrenz, M. et al. : J. Nutrit. 20 : 383, 1940.
- 79) Matt, M. M. : J. D. Res. 32 : 667, 1953.