EDTA による歯牙の脱灰過程の研究*

—殊にカルシウムと燐酸について

大 森 郁 朗

東京医科歯科大学歯学部保存学教室 (主任 檜垣教授)

東京医科歯科大学歯学部生化学教室 (指導 荒谷教授)

Decalcifying Process of Human Teeth by EDTA (Calcium and Phosphorus)

Ikuo Ohmori

Department of Operative Dentistry, School of Dentistry, Tokyo Medical
and Dental University (Prof. R. Higaki)

Department of Biochemistry, School of Dentistry, Tokyo Medical and
Dental University (Prof. S. Araya)

As the basic investigation of decalcification by EDTA, the author has observed how calcium ion in various materials, e. g., triturated human teeth, bovine bone, marble and fluoroapatite, is removed at varied pH of decalcifying media.

Phosphorus which dissolves simultaneously in the decalcifying media has been also determined.

In summary, the following results were obtained.

1) The modes of the reaction are found to be different in the decalcifying media of varied pH; i. e., second-order reaction in the weakly acid medium (pH 4.3), the first-order reaction in the neutral and weakly basic media (pH 7.0-10.3). But dentin and bovine bone in these media do not behave as the above unless their organic matrices are eliminated.

From these findings, it is deduced that the decalcifying action of EDTA is disturbed mechanically by the organic matrices in dentin or bovine bone.

Author's conception about the different modes of reaction mentioned above is that EDTA in the weakly acid medium reacts with calcium ion which dissolved out of materials through the acidity of medium, and in the neutral or weakly basic medium it directly attacks calcium on the grains of materials.

2) In the case of the first-order reaction in the neutral and weakly basic media, the velocity constants of marble, dentin and bovine bone free of their organic matrices, are much greater than those of enamel and fluoroapatite.

In the case of the second-order reaction in the weakly acid medium, the velocity constants of marble and dentin are also greater than that of enamel.

3) In the neutral and weakly basic media, the lower its pH is, the faster the

* 本研究は昭和31年度文部省科学研究費の援助により行われたものである。

decalcifying velocity becomes. And the weakly acid medium gives a faster velocity, but in this case acid could have the decalcifying action by itself.

4) As to the ratio of removed calcium and phosphorus, it seems that other calcium salts than calcium phosphates, e. g., calcium carbonate or organic calcium salts, are more soluble than calcium phosphates in the early period of the decalcification.

歯牙組織の構造については従来多くは形態学的な問題として検討されており、近來の電子顕微鏡技術の進歩は硬組織の無機質と有機質の相互関係さえもかなりはつきり推知せしめうるようになってきた¹⁾。しかもそこに示唆されたような有機質と無機質の複雑でおそらくは非常に合目的な関係を分子構造的にとらえようとするような歯牙の化学構造の研究は、歯牙の生化学的な諸問題を解決するための直接の基礎となるものであらうと思われる。

本学歯学部で生化学教室ではそのような歯牙の化学的構造の研究方法の一つとして、歯牙の様々な物質に対する化学的な反応性を研究しているが、著者はその中でも最も基礎的なものとして EDTA による歯牙粉末の脱灰過程を追求してみた。

EDTA は 1947 年頃からスイスの Schwarzenbach がこれを水質硬度測定に応用して以来広く知られてきた chelating agent で Ca^{2+} , Mg^{2+} のようなアルカリ土金属とも強固なキレート化合物をつくるので、そのような金属イオンの定量に盛んに用いられているものであるが、近來は硬組織の脱灰剤としてもその特殊な有用性が注目されて屢々用いられるようになった物質である。即ち、従来硬組織の脱灰には主として色々な酸が用いられていたもので、酸により組織中の有機物が破壊される危険は避けられなかつた。然るにこの EDTA によると中性からアルカリ性にかけてさえ脱灰が可能になるので、硬組織の有機物の研究殊に蛋白質、ムコ物質、酵素などの研究には現在かけがえのない程有用なものとなつてゐる。

本研究は上記のように歯牙の化学的構造研究の第一歩として始められたものではあるが、同時に

脱灰剤としての EDTA の基礎的な研究の意味をもつし、また硬組織の生物学的な融解現象では何か生物によつてつくられる特殊なキレート剤による脱灰がまず起るのだらうと想像されている^{2), 3)}ことを思い併せると、その方面の問題にも示唆するところがあるかと思つたのである。

実 験

I. 実験材料

実験材料としては人の齶蝕のない抜去永久歯を用い、これに比較試料としては牛骨、燐灰石及び大理石を用いた。

歯牙はこれを鉄乳鉢中で粉碎して粉末とした。粉碎操作に当りエナメル質は水晶位の硬さを持つてゐる組織なので、普通の粉碎機では粉碎が困難である。現在我々は jaw crusher と coffee mill 型粉碎機とを連結したものを使用している。

こうしてえた歯牙粉末を Manly, Hodge の floatation method^{4), 5)}によつてエナメル質、象牙質及びその他の 3 部分に分け、これらのうちエナメル質と象牙質を用い、更に標準篩によつて粒子の大きさを 100~200 mesh に限定した。エナメル質と象牙質の分離はほぼ Manly, Hodge の原法によつたが、この分離法によつて得たエナメル質及び象牙質の分離精度はそれぞれ 99%, 97% 以上である。

Manly, Hodge の floatation method はエナメル質、象牙質等の比重の相違を利用して、この両者を遠心分離する方法である。原法ではこの分離液を bromoform と acetone を適当に配合する事によつて作製しているが、實際行つてみると bromoform の刺戟臭のために操作は容易でない。そこで市販の bromoform の 4% alcohol

溶液を求めこの比重を検したところ、 $S.G.=2.54 \sim 2.62$ ($14^{\circ} \sim 15^{\circ}C$)であつたのでこの溶液をそのまま第一分離液として使用した。また、象牙質とセメント質その他の分離に原法では $S.G.=2.07$ の bromoform-aceton 溶液を用いているが、この場合も bromoform 4% alcohol 溶液に適当量の aceton を加えて、 $S.G.=2.05 \sim 2.07$ の溶液を作製して用いた。

この溶液をつくるには、例えば回収 bromoform ($S.G.=2.49$) が 200 cc あるとすれば、aceton ($S.G.=0.795$) を 70 cc 加えれば $S.G.=2.05$ の第二分離液をつくる事ができる。

また、原法では試料としてのエナメル質及び象牙質、殊にエナメル質の大量生産には可成りの時間を要するので、分離能率を向上させるために我々は原法よりも寸法を大きくした分離遠心管を用いている。

次に分離精度であるがこれは試料粉末の大きさに関係して来る。即ち、比較的粗大なものでは精度が高く、細いものではそれに比して低い。又、エナメル質と象牙質ではその粉末の大きさに関係なく前者の方が精度が高い。粗大なエナメル質粉末は殆んど 100% に近い値を示すのに反して、象牙質は粗大なものでも 97%，細いものでは 94% 程度の精度を示す。なお、300 mesh を超える細い象牙質になると分離操作を行つても、その粉末中に微細なエナメル質粉末が残つており、急激にその精度は落ちて 80~90% 程度となる。分離精度の検査は原法通り作製した medium によつて、Becke 氏線の移動を検したが、これは有効な方法であることを認めた。検査に当り、接眼レンズに偏光レンズを入れるとより算定し易いように思う。

以上のような改良法によつて得た試料の精度は表 1 の通りである。

この結果から、各試料とも実験には 100~200 mesh の大きさの粉末を用いることにした。

歯牙と比較するために用いた牛骨、燐灰石、大理石も歯牙と同様 100~200 mesh の大きさの粉末として試料にした。牛骨は大腿骨の骨幹部の骨

表 1

実 験 材 料		分離精度 (%)
エナメル質	100~200 mesh	99.2
	200~300 mesh	97.8
象 牙 質	100~200 mesh	97.3
	200~300 mesh	94.4

膜及び骨髓をとり、aceton で洗滌したものを用いた。象牙質及び牛骨はその中の有機物を除去したのも試料として用いたが、これは材料をアルカリ性の glycerin でたいてその中の有機物を除去する Gabriel の方法⁶⁾によつた。

II. 測定方法

1) 試 薬

i) M/100 $CaCl_2$ 標準溶液: $CaCO_3$ 1.000 g を精秤し、これを少量の HCl に溶解、蒸留水を加えて全容を 1 l として標準溶液とする。

ii) M/100 EDTA 溶液(滴定液): 2 Na-EDTA (和光純薬) 4.0 g をとり、これを蒸留水に溶解、全容を 1 l とし $CaCl_2$ 標準溶液により力価を検定する。調製に当り NaOH 溶液を加えて pH を 12 位にあげておくと、滴定の際好都合である。

iii) M/200 EDTA 溶液(脱灰作用液): 2 Na-EDTA (和光純薬) 4.0 g をとり、これを蒸留水に溶解、全容を 2 l とする。この溶液の pH は 4.3 である。作用液の pH をあげる時には NaOH 溶液を適宜加えた。又、4 Na-EDTA (第一化学) を用うと、NaOH 溶液を加えることなく pH=10.3 の溶液が得られる。

iv) M/200 $CdCl_2$ 溶液: $CdCl_2$ 1.14 g をとり、これを蒸留水に溶解し全容を 1 l とする。

v) N/25 NaCN 溶液: NaCN 1.96 g をとり、これを蒸留水に溶解、全容を 1 l とする。

vi) 1 N NaOH 溶液: 飽和 NaOH 溶液を稀釈して調製する。

vii) Murexide 指示薬(MX): MX の NaCl 稀釈粉末(和光純薬) 0.1 g をはかりとり、滴定指示薬とする。

2) 器 具

i) magnetic stirrer: 脱灰操作中の溶液の攪

拌に用いる。

ii) glass filter 3 G 4: 作用液と試料を分離するための吸引濾過に用いる。

iii) 2 cc microburette: M/100 EDTA 溶液による滴定に用いる。

3) 脱灰操作

実験材料を torsion balance でそれぞれ 50 mg ずつとり試料とする。これを 100 cc の三角コルベンにとつた M/200 EDTA 溶液 100 cc 中に入れ脱灰を開始する。

脱灰中はこれを magnetic stirrer で常に攪拌し、一定時間毎に suspension の状態にあるこの溶液の一部を駒込ピペットでとり出し、直ちに glass filter で吸引濾過してとり出した溶液の脱灰を停止させる。この濾液中の EDTA と結合した Ca^{2+} 量を時間を追って測定すれば脱灰の進行状態を知ることが出来る。

そして作用液の pH を弱酸性、中性、弱アルカリ性と変え、それぞれの試料について実験を行った。

4) Ca^{2+} の測定法

Ca^{2+} の測定にはキレート滴定法^{2) 7) 8) 9) 10)}を次の如く modify して用いた。定量に当り脱灰された Ca^{2+} は EDTA と結合してしまっているから、遊離の状態に残っている方の EDTA 量を測定すればよいように思われるが、そうすると脱灰時に EDTA と結合した Mg^{2+} のような他の金属イオンも測定にかゝってくるので Ca^{2+} だけの測定というわけにはいかない。そこで、EDTA と結合した Ca^{2+} を追出すために Ca^{2+} よりも EDTA との親和性が強く、且つ MX に対して Ca^{2+} と同様に反応する Cd^{2+} を加え、そこで遊離して来た Ca^{2+} を滴定することにした。滴定の際は、濾液 5 cc に M/200 CdCl_2 溶液 6 cc を加え、次いで妨害イオンの隠蔽剤として N/25 NaCN 溶液を約 2 cc 加え更に 1 N NaOH 溶液を加えて pH = 12 とする。これに指示薬 MX を加えて、M/100 EDTA 溶液で滴定した。この滴定では追出された Ca^{2+} と過剰の Cd^{2+} の両者を測定することになるので、この値から過剰の Cd^{2+} 量を bl-

ank として差引いて Ca^{2+} 量を出している。このようにしてえられた Ca^{2+} 量は即ち、各時間での脱灰の経過を示すものである。滴定に当り妨害イオン除去のために NaCN 溶液を加えているが、 Ca^{2+} を追い出すために用いている Cd^{2+} が CN^- によつて隠蔽されるかどうかを知るために次のような実験を行つた。即ち、M/200 EDTA 溶液 ($F=1.002$) 5 cc をとりこれに M/200 CdCl_2 溶液 ($F=0.994$) 6 cc を加え更に N/25 NaCN 溶液約 2 cc を加えたものと、このシアンのみを加えないものとの両者を pH = 12 で M/100 EDTA 溶液 ($F=1.002$) で滴定した。この滴定値の理論値は 0.476 cc (Cd^{2+} として 0.536 mg) であるが、前者の実験値の平均は 0.483 cc (Cd^{2+} として 0.544 mg) であつた。又、シアンを加えたものは pH を 12 に上げても被検液は清澄で指示薬の変色も鋭敏であるが、シアンを加えなかつたものは指示薬に色の“もどり”があり滴定に時間がかゝるばかりでなく終点が不明瞭であつた。NaCN 溶液を加えると被検液が濁濁しないので従つて終点も鋭敏であることは恐らく、遊離の状態の Ca^{2+} , Cd^{2+} が CN^- と錯塩をつくり EDTA は最初にこの錯塩から Ca^{2+} , Cd^{2+} を奪い次いで MX と結合している Ca^{2+} , Cd^{2+} を奪うためではないかと考えられる。

この実験結果から Cd^{2+} は CN^- によつて隠蔽されず MX を指示薬にして滴定出来ることを知つた。また、この方法による滴定誤差は 1.5 % と計算された。

5) Ca/P の測定

これは各時間毎に溶出してきた Ca 量と P 量との比を求めたもので、Ca の測定は前述の方法により、P の測定は Fiske & Subba Row 法¹¹⁾によつたが、P の測定に当り試薬は原法の $1/10$ 容量を用い容器は 10 cc の有栓メス試験管を用いた。

測定は還元試薬を加えてから 10 分後に spectrophotometer によつて波長 720 m μ で比色した。

実験成績並びに考按

I. 弱酸性での脱灰

図1は2Na-EDTA の M/200 溶液 100 cc (pH=4.3)をエナメル質、象牙質及び大理石の粉末各 50 mg にそれぞれ作用させて2時間に亘つて Ca^{4+} の溶出状況を調べた結果で、縦軸は試料中に含まれている全 Ca 量を100とした時の溶出率であるが(実線乃至点線で絡んであるのはそれぞれの平均値で、その他の点は実測値を示している。以下各図も同様である。)、象牙質及び大理石は30分で約90%脱灰され2時間で殆んど100%脱灰される。しかるにエナメル質は30分で50%しか脱灰されず、2時間でも80%位しか脱灰されていない。

図1 2Na 塩による脱灰

なお、表2はこの方法によつて試料を完全に脱灰し、試料中に含まれている全 Ca 量を測定した結果である。人の歯質の Ca 含有量についての実験は今迄にも数多くなされ、またその数値もまちまちであるが、こゝには Leicester, H. M. のまとめた資料¹²⁾を参考にあげておく。

図にみられるようにエナメル質と象牙質等とは、反応速度がこのように異つてゐることは両者の中の結晶の大きさにも関係している問題であらうし、又結晶エネルギーの違いをも示唆しているのかも知れない。

表 2

重量百分率 実験材料	Ca 量	
	大 森	Leicester
エナメル質	37.4	36
象 牙 質	37.6	27
大 理 石	38.4	—

そこで、この反応の内容を検討するために反応の次数を調べてみた。即ち、この反応速度が EDTA と Ca^{4+} の濃度に関する二次反応であるとして次の式によりその速度恒数を求めてみると、表3に示すように可成りよく一致した値を得た。

$$K = \frac{2.303}{(a-b)t} \log \frac{b(a-x)}{a(b-x)}$$

a: EDTA のモル濃度, b: Ca のモル濃度

x: a, b の反応量

表 3

実験材料	エナメル質	象牙質	大理石
温度 °C	24	14	24
作用時間 (分)	×10	×10	×10
5	0.758	3.82	3.24
10	0.745	3.71	3.69
20	0.821	3.26	4.55
30	0.677	3.33	4.53
40	0.795	2.74	4.62
50	0.741	3.03	4.72
60	0.808	2.70	4.89
120	0.686	—	4.03
平 均 値	0.754	3.22	4.28
標 準 偏 差	0.050	0.41	0.52

こゝで計算に用いている Ca^{4+} 濃度は大理石や歯牙の粉末中に含まれているすべての Ca^{4+} 量で実際はその粒子の内部に存在しているような Ca^{4+} がはじめてから反応に関与する事はない筈である。それにも拘らず、表3のように一応二次反応として良く合うということについては、次のように考えられる。

即ち、この反応は弱酸性で行われているために、酸によつて溶け出て来た Ca^{4+} が EDTA と

反応するような反応機構であると考え、反応速度は粒子から Ca^{2+} が溶け出す速さに比例する。そして、その溶け出し方は粒子の表面積に比例するが先に考えた Ca^{2+} 濃度は粒子の体積に比例した数値なので結局、粒子の表面積は Ca^{2+} 濃度と考えているもの $\frac{2}{3}$ 乗に比例したものとなる筈である。それ故反応速度は

$$\frac{dx}{dt} = (a-x)(b-x)^{2/3}$$

となつて理論的には $\frac{5}{3}$ 次の反応と考えられるが、実験の精度等のために二次反応と区別出来ないであろう。

II. 弱アルカリ性での脱灰

図2、図3は媒質の pH を弱アルカリ性にして即ち、EDTA の 4Na 塩 (pH=10.3) や 3Na 塩 (pH=9.6) を用いて、弱酸性の場合と同様の実験を行つた結果である。しかもこれらの結果は表4に示すように大理石、エナメル質、燐灰石では、その反応速度が EDTA の濃度のみに関する一次反応としてよく合っている。一次反応の速度式は、

$$K = \frac{2.303}{t} \log \frac{a}{a-x}$$

a: EDTA のモル濃度, x: EDTA の反応量

図2 4Na 塩による脱灰

一方、象牙質及び骨の脱灰曲線は脱灰初期においては急勾配を示すのに、時間を経るに従つて勾配は小さくなりその反応速度もエナメル質と同程

図3 3Na 塩による脱灰

表 4

実験材料	燐 灰 石		エナメル質		大 理 石	
pH	10.3	9.6	10.3	9.6	10.3	9.6
温度 °C	28		30		24	
作用時間 (分)	28		30		27	
5	—	—	—	—	3.32×10^{-2}	5.09×10^{-2}
10	—	—	—	0.884	3.03	4.88
15	—	0.451	0.579	—	—	—
20	—	—	—	0.661	3.05	5.58
30	—	0.434	0.622	0.698	3.41	5.48
40	—	—	—	0.721	3.65	5.52
45	0.291	0.436	0.570	—	—	—
50	—	—	—	0.674	3.28	4.92
60	0.267	0.449	0.587	0.735	3.21	—
70	0.275	0.442	0.554	—	—	—
75	0.243	—	—	—	—	—
80	0.276	0.422	0.579	—	—	—
90	0.240	0.414	0.554	0.667	—	—
100	0.265	0.419	0.522	—	—	—
105	0.214	—	—	—	—	—
110	0.247	0.421	0.540	—	—	—
120	0.246	0.422	0.521	0.686	—	—
平均値	0.256	0.431	0.563	0.717	3.28	5.27
標準偏差	0.021	0.013	0.035	0.068	0.19	0.29

度となる。

しかもこの反応を検討してみると、一次反応に

合わず表5に示す如く反応速度は時間と共にどんどん低下していく。

しかしながら、象牙質及び牛骨中の有機物を除いたものでは図4のように反応速度はずつと高まり、且つエナメル質等と同様に一次反応の形式をとるようになる。

表 5

実験材料	有機物を除去してないもの		有機物を除去したもの	
	牛 骨	象牙質	牛 骨	象牙質
温度 °C	30	26	22	21
作用時間 (分)	$\times 10^{-2}$	$\times 10^{-2}$	$\times 10^{-2}$	$\times 10^{-2}$
5	1.353	—	2.170	1.889
10	0.930	—	2.111	2.469
15	—	1.137	—	—
20	0.609	—	2.165	2.554
30	0.487	0.793	2.024	2.391
40	0.440	—	2.075	2.215
45	—	0.663	—	—
50	0.373	—	1.948	2.070
60	0.347	0.552	1.803	1.860
90	0.292	0.459	—	—
120	0.277	0.403	—	—
平均 値	—	—	2.042	2.207
標準 偏差	—	—	0.121	0.257

pH: 10.3

図4 脱灰に及ぼす有機物の影響

このことから考えると、象牙質や骨の粉末に EDTA のような可成り大きな分子が直接作用する場合には、それ等の固体の中には有機物が多い

ので、それが機械的に反応を阻げるものと思われる。それ故、有機物を除去すれば、反応速度も上り、反応の形式も正しいものになるのであろう。

ところで、何故弱アルカリ性ではこのように一次反応になるのか未だよくわからないが、前述の実験結果からこのような pH では弱酸性での反応と異なり、EDTA が溶け出した Ca^{2+} と反応するのではなく、粉末に直接作用して Ca を奪取することゝ関係しているのではないかと想像している。

III. pH による脱灰速度の変化

図5は EDTA による脱灰速度が pH によってどのように変わるかを示したもので、これは有機物の影響のないエナメル質の例であるが、pH が小さい程反応速度は大きい。

しかし、表6に示す如く中性からアルカリ性での反応は一次反応であるのに対して、弱酸性での反応は二次反応である点、こゝでは酸による Ca の溶解という現象が反応に関与している事を推知させる。

図5 pH による脱灰速度の変化(エナメル質)

IV. 脱灰経過に伴う Ca/P の推移

図6、図7はエナメル質及び象牙質を 4 Na-EDTA で処理した場合の Ca/P を示したものであり、エナメル質の場合は脱灰開始後15分では

表 6

実験材料	エナメル質			
pH	4.3	7.0	9.6	10.3
温度 °C	24	21	30	24
作用時間 (分)				
	$\times 10$	$\times 10^{-2}$	$\times 10^{-2}$	$\times 10^{-2}$
5	0.758	—	—	—
10	0.745	—	0.884	—
15	—	1.049	—	0.579
20	0.821	—	0.661	—
30	0.677	1.040	0.698	0.622
40	0.795	—	0.721	—
45	—	1.134	—	0.570
50	0.741	—	0.674	—
60	0.808	1.212	0.735	0.587
70	—	—	—	0.554
80	—	—	—	0.579
90	—	1.215	0.667	0.554
100	—	—	—	0.522
110	—	—	—	0.540
120	0.686	1.161	0.686	0.521
平均値	0.754	1.135	0.717	0.563
標準偏差	0.050	0.070	0.068	0.035

Ca の溶出状況に較べて P の溶け出し方が少く、そのために Ca/P は大きくなっているが、30分以降ではほぼ 2.0 に近い一定の値を示している。

これに比して象牙質は脱灰開始後 3～10 分では Ca/P はエナメル質と同様、大きい値を示しているが、15 分に至つては既に一定の値に近くなっている。

このような現象については Dallemagne 等¹³⁾ も $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ と CaCO_3 との混合物及び骨に酸を作用させて同じようなことを認めているが、EDTA で脱灰した場合も恐らく、脱灰の初期に歯質中の CaCO_3 或いは有機の Ca 塩が $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 等の溶出に先立つて溶け出すために、脱灰当初 Ca/P が大きく、脱灰が進むにつれて $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 或いは hydroxylapatite の形のものが溶け出すので Ca/P が次第に一定の値に近づくのではないかと考えられる。

事実、前に示したように CaCO_3 からなる大理

図6 脱灰に伴う Ca/P の推移(エナメル質)

図7 脱灰に伴う Ca/P の推移(象牙質)

石の反応速度は、燐灰石等に較べて非常に大きい事からみても、 CaCO_3 や $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 或いは hydroxylapatite が混合したような組織では比較的早く CaCO_3 などが反応することは、有りそうな事と考えられる。

総 括

1) 弱酸性の medium での反応と、中性から弱アルカリ性での反応とではその反応様式を異にする。

即ち、弱酸性の medium での反応はエナメル

質、象牙質、大理石とも、二次反応の形式をとるが、この反応は理論的には $\frac{5}{3}$ 次反応と考えられる。

中性から弱アルカリ性での反応においては、エナメル質、大理石、燐灰石は一次反応の形式をとるが、象牙質及び牛骨はそのままでは一次反応の形式に合わず、これらの中に含まれている有機物を除去すれば、一次反応の形式をとるようになる。このことから、象牙質や牛骨中に含まれている有機物は、EDTAの脱灰作用を機械的に阻害するものと考えられる。

2) EDTAを硬組織などに作用させる時の脱灰の反応速度は、エナメル質と象牙質でも、また大理石や燐灰石でも非常に異なる。

即ち、中性及び弱アルカリ性時の一次反応において、大理石、有機物を除去した象牙質及び牛骨の速度恒数はエナメル質及び燐灰石のそれに比して桁違いに大きい。弱酸性時の二次反応においても、大理石及び象牙質の速度恒数はエナメル質のそれよりも桁違いに大きい。

3) 脱灰速度についてみると、中性から弱アルカリ性においてはpHが小さい程速やかに脱灰が行われ、弱酸性ではそれらよりも更に速い。但し、弱酸性の場合には酸による脱灰作用が関与していると思われる。

4) 溶出するCa/Pからみると、脱灰の初期には $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 以外のカルシウム塩、例えば、 CaCO_3 或は有機のカルシウム塩がより多く溶け出るらしい。

擱筆するに当り、御指導および御校閲をいただいた荒谷真平教授並びに御校閲をいただいた檜垣麟三教授に深く感謝の意を表します。

本研究の要旨は、第28回日本生化学会総会(1955年11月)及び口腔病学会例会(1956年2月)において発表した。

文 献

- 1) 荒谷真平：歯と蛋白質，歯界展望 12：432，1955.
- 2) 荒谷真平，大森郁朗，鬼久保博昭：歯科領域から見たEDTA，歯界展望 13：681，1956.
- 3) McLean, F. C., and Urist, M. R.: Bone, Chicago, 1955, The University of Chicago Press., p. 65.
- 4) Manly, R. S., and Hodge, H. G.: Density and refractive index studies of dental hard tissues I., J. D. Res. 18:133, 1939.
- 5) Manly, R. S., and Hodge, H. G.: Density and refractive index studies of dental hard tissues II., J. D. Res. 18:203, 1939.
- 6) Hoppe-Seyler, Thierfelder: Handb. Physiol. Path. Chemischen Analyse, Berlin, Göttingen, Heidelberg, 1953, Springer-Verlag, Bd. 5, p. 624.
- 7) Diehl, H., Goetz, C. A., and Hach, C. C.: The versenate titration for total hardness, J. A. W. W. A. 42:40, 1950.
- 8) Betz, J. D., and Noll, C. A.: Total hardness determination by direct colorimetric titration, J. A. W. W. A. 42:49, 1950.
- 9) Martel, A. E., and Calbin, M.: Chemistry of the metal chelate compounds, New York, 1952, Prentice-Hall Inc.
- 10) 上野景平：キレート滴定法，東京，1956，南江堂.
- 11) Hawk, P. B. et al.: Practical physiological chemistry, New York, 1951, Blakiston Co., p. 889.
- 12) Leicester, H. M.: Biochemistry of the teeth, St. Louis, 1949. Mosby Co., p. 20.
- 13) Armstrong, W. D.: Metabolic interrelation, New York, 1950, Josiah Macy, Jr. Foundation, p. 11.