

Title	う蝕病巣におけるWhitlockite, Brushiteの生成機序に関する研究
Author(s)	野々村, 榮二
Citation	大阪大学, 1980, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/32975
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

り蝕病薬における Whitlockite , Brushite
の生成機序に関する研究

野々村 栄二
大阪大学歯学部 小児歯科学講座*
(主任: 祖父江鎮雄教授)

原稿用紙 64枚

四 16枚

表 16枚

緒言

う蝕病巣では、歯質アパタイトの脱灰と再石灰化の現象が複雑にからみ合っで生じているものと考えられている。そして、このう蝕病巣内には歯質アパタイトとは異なる結晶、いわゆる caries crystal の見出されることか多くの研究者によって報告されている^{1~8)}。1955年 Lenz^{1,2)} が電子顕微鏡によって象牙質う蝕病巣を観察した際、歯質アパタイトとは異なる大きな菱形の結晶を見出し、これをう蝕病巣に固有のものと考え、caries crystal と名づけた。それ以後、Helmke³⁾、Torell⁴⁾、片山⁵⁾、Höhling^{6,7)}、Frank⁸⁾ も同じく電子顕微鏡によって caries crystal を観察している。これらの電子顕微鏡による研究では、caries crystal は象牙質う蝕病巣の象牙細管内や管周基質^{1,2,3,5,6,8)} ならびにエナメル質う蝕病巣の小柱辺縁部に多く観察される^{4,7)} と報告されている。そしてその形態学的な特徴から判断して、caries crystal は Whitlockite (β -Tricalcium phosphate β - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) である

ろうと推察されていた。

caries crystal が最初に結晶学的に同定されたのは、象牙質う蝕病巣について検討した Jackson⁹⁾ による粉末X線回折法および Höhling ら¹⁰⁾ や Vahl ら¹¹⁾ の電子線回折法による結果である。それは Whitlockite であるとされていた。しかしその後、Rowles ら¹²⁾ はう蝕象牙質を粉末X線回折法によって検討した結果、う蝕病巣には歯質アパタイト以外に Whitlockite や Brushite $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、Octacalcium phosphate $\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 、Calcite CaCO_3 、Weddellite $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ などが検出されたと報告している。しかしながら、これらの粉末X線回折法ではう蝕病巣部を粉砕して得た粉末を試料としているため、う蝕病巣の組織学的な変化と対応させて caries crystal を同定し、その局在性について検討することは不可能であった。

元来、Whitlockite は β -Tricalcium phosphate に名づけられた鉱物名であり、鉱物として認められた歴史的背景から¹³⁾、高温下でのみ生成さ

れるものと考えられていた。しかし、^{14, 15)} 歯石
 や唾石¹⁶⁾ をしてもう蝕病巣内にも Whitlockite が検
 出されるという事実から、生体温度条件下で
 も生成されることわかった。そして、その
 生成にはマグネシウムイオンや鉄イオンなど
 の二価の陽イオンの共存が必要とされている
^{10, 17)}。Hayek ら¹⁸⁾ は、マグネシウムイオンを
 含むカルシウムイオンとリン酸イオンの溶液か
 ら 70°C で Whitlockite が生成されたと報告して
 おり、Schroeder¹⁹⁾ は歯石に関する研究からマ
 グネシウムイオンの存在により Brushite は Whitlockite
 へ転化すると述べている。

一方、Brushite は歯石^{14, 15)} や尿石²⁰⁾、骨²¹⁾ 等
 にも存在することが報告されている。山本²²⁾
 は 37°C にマニキュアエナメル質を pH 4.5 の脱灰
 液に浸漬することにより、人工白斑を形成し、
 微小焦点 X 線回折法を用いて反応生成物を検
 討した。その結果、エナメル質人工白斑部に
 Brushite が生成されたと報告し、実際のう
 蝕病巣内にも Brushite は生成されうると述べ

いる。また、岡崎ら²³⁾は合成 Hydroxyapatite $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (以下 HA と略記する) を加圧成型したペレット表面をリン酸イオンを含む pH 4.0 の酢酸緩衝液で脱灰した結果、脱灰表層部において Brushite の生成が認められたと報告している。さらに、青葉ら²⁴⁾はエナメル質アパタイト表面に Brushite、Whitlockite の結晶を析出させ、HA との配向関係を調べた結果、Brushite は HA と (010) 面において epitaxy が起こりうることを確かめ、さらに Whitlockite と HA との間にも epitaxy が起こりうることを考えられると述べている。

これらの caries crystal は、歯質アパタイトの脱灰と再石灰化の現象が複雑に生じているう蝕病巣内で生成されるものであり、caries crystal の生成機序を究明することは、う蝕病巣での再石灰化現象を考察するうえで意義あることと思われる。しかしながら、う蝕病巣内における caries crystal の生成機序については、現在なお明らかでない。

そこで本研究では、う蝕病巣内における caries crystal の生成機序を明らかにすることを目的として、まずう蝕病巣を非破壊的に分析することが可能な微小焦点×線回折法を用い、エナメル質および象牙質う蝕病巣内における caries crystal の同定とその局在性について検索した。さらに、健全エナメル質および象牙質を人工脱灰し、生成される caries crystal の同定とその局在性について調べた。そして、これらの実験結果から caries crystal として検出された Whitlockite、Brushite について、それらの生成条件を *in vitro* の実験により検討した。

材 料 お よ び 方 法

実験1. う蝕病巣内における caries crystal について

う蝕罹患乳歯の研磨切片を用い、偏光顕微鏡およびマイクロラジオグラフィによる観察ならびに微小焦点×線回折法により、エナメル質および象牙質う蝕病巣内における caries crystal

の同定とその局在性について検討した。

材料には大阪大学歯学部附属病院小児歯科に来院した小児患者より得た、充填修復処置のなされていらない蝕羅患乳歯47歯を用いた。

これらの新鮮抜去歯牙を歯科用ダイヤモンドスクリューにて、流水下でう蝕病巣を含むように長軸方向に切断し、エタノールに2日間浸漬、脱水処理後、B. P. S. レジン (Bio-plastic Specimen 樹脂の略称、京都科学標本社製) で包埋し、約 50~100 μm の平行な厚さの研磨切片を作製した。

このようにして得た各試料についてう蝕病巣の、主として無機質相の変化を観察することを目的として、偏光顕微鏡およびマイクロラジオグラフィを用い、組織学的な検討を行った。マイクロラジオグラフィの撮影条件は表1に示す。

つぎに、これらの観察結果をもとに、う蝕病巣の表層から内層にわたって、組織像の異なると思われる部位を選択し、X線回折を

行つた。すなわち、それらの各部位について
微小焦点X線回折装置を用い、直径 $100\mu\text{m}$ のX
線ビームを照射しX線回折を行つた。表2が
微小焦点X線回折法の測定条件である。結晶
の同定は、得られたX線回折像から回折角 2θ
を算出し、A. S. T. M. カード²⁵⁾を用いて行つた。

さらに、象牙質う蝕については、臨床所見
を分類基準として Miller ら²⁶⁾の方法に従い、
材料として用いたう蝕歯を active caries と arrest-
ed caries とに分類し、う蝕病巣の臨床像と検
出された caries crystal の種類との関連性につい
て調べた。

実験2、人工脱灰による Whitlockite, Brushite
の生成について

健全エナメル質および象牙質を人工的に脱
灰し、生成されてくる caries crystal について検
討した。すなわち、種々の pH の脱灰液中に健
全歯牙を浸漬し、各々の脱灰されたエナメル
質と象牙質における反応生成物について実験
I と同様の方法で調べた。

材料には、矯正治療の目的で抜歯された新鮮な健全幼若第1小白歯と埋伏智歯を用いた。まず、各歯牙の歯冠部歯面をフッ素を含まない歯磨剤を付けてラバーカップで十分に清掃後、歯科用ダイヤモンドを用い流水下で長軸方向に分割した。得られた各歯牙片はエナメル質と象牙質とを同時に脱灰することができるように、歯科用ダイヤモンドポイントを用いて流水下で一部のエナメル質を完全に削除し、象牙質を露出させた。そしてエナメル質と象牙質を含む window 部 ($3 \times 4 \text{ mm}^2$) を除いてインレーワークスで被覆した。

脱灰液としては Sperber ²⁷⁾ の酢酸緩衝液 (0.10 M 酢酸 + 0.01 M アスパラギン酸) を用い、pH をそれぞれ 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 5.5 に調整した。そしてこれらの酢酸緩衝液各 200 ml 中に歯牙試験片を浸漬し、37°C で人工脱灰した。この際の浸漬時間は、pH 3.5 と 4.0 の脱灰液では2日間、pH 4.5 では2日間および3日間、pH 5.0 では3日間および6日間、pH 5.5 では

3日間、6日間および12日間とした。

このようにして得た歯牙試験片について、実験Iと同様の方法でエタノールにて脱水処理後、B. P. S. レジンに包埋し、約50~100 μ mの平行厚さの研磨切片を作製した。

そして、各試料のエナメル質および象牙質脱灰部を偏光顕微鏡およびマイクログラフィで観察し、組織学的な特徴の認められた各部位について、微小焦点X線回折法により、反応生成物の同定とその局在性について検討を行った。

実験3、*in vitro* での Whitlockite、Brushite の生成条件について

実験1、2においてう蝕病巣形成に人工脱灰されたエナメル質および象牙質に caries crystal として Whitlockite と Brushite が検出された。

そこで、本実験では Whitlockite、Brushite の生体温度条件下における生成条件について *in vitro* の実験により検討した。

Whitlockite が、生体温度条件下で生成される

には、マグネシウムイオンや鉄イオンなどの二価の陽イオンの共存が必要とされている^{10,17)}。そこで、まず予備実験としてマグネシウムイオンが共存するという条件下で Whitlockite の生成に及ぼす反応温度の影響について調べた。すなわち、70°C で Whitlockite を生成した Hayek ら¹⁸⁾ の実験条件を参考に、 Mg/Ca のモル比を $1/6$ とし、反応温度を変えて実験を行った。その結果、反応温度が 37°C および 45°C では Brushite のみが生成され、50°C では Brushite とともに Whitlockite が生成し、55°C 以上では Brushite は生成されず、Whitlockite のみが生成された。

そこで、本実験では 37°C における Whitlockite、Brushite の生成条件を以下の項目について検討した。すなわち、(1) カルシウムオキシトリン酸イオンの濃度、(2) マグネシウムイオンとカルシウムイオンのモル比、(3) pH、(4) フッ素イオンが共存する場合の影響について調べた。

試薬には、酢酸カルシウム $Ca(CH_3COO)_2 \cdot H_2O$ 、

酢酸マグネシウム $Mg(CH_3COO)_2 \cdot 4H_2O$ および第一リン酸アンモニウム $NH_4H_2PO_4$ (いずれも試薬特級) を用いた。歯質アパタイトの Ca/P モル比は 1.50~1.67 であり、²²⁾ これが脱灰された場合を想定して、上記試薬の各水溶液を $(Ca+Mg)/P$ モル比を 1.5 の割合とし、 $37^\circ C$ で 2 日間攪拌反応させた。各反応生成物は 4000 r.p.m. にて遠心分離し、蒸留水にて 3 回水洗後、 $37^\circ C$ にて 24 時間乾燥した。つぎに、これらの各反応生成物をメノウ乳鉢で微粉砕し、200 mesh の標準篩を通過させたものを試料として、粉末 X 線回折法により同定を行った。表 3 が粉末 X 線回折法の測定条件である。

(1) カルシウムイオンとリン酸イオンの濃度について

まず、カルシウムイオンとリン酸イオンの濃度を変えて反応させた場合の反応生成物について検討した。すなわち、 Mg/Ca のモル比を $1/6$ とし、カルシウムイオンとリン酸イオンの濃度をそれぞれ表 4 に示す濃度として反応

させた。なお、反応時の pH はアンモニア水にて pH 7.4 に調整した。

(2) マグネシウムイオンとカルシウムイオンのモル比について

(1) の実験結果から、Whitlockite と HA の生成が認められた条件下 ($[Ca^{2+}] = 60.0 \text{ mM}$) で、Whitlockite の生成に及ぼすマグネシウムイオンとカルシウムイオンのモル比の影響について検討した。すなわち、 Mg/Ca のモル比が 0 から $1/2$ の各モル比となるように、表 5 に示す各イオン濃度で反応させた。反応時の pH はアンモニア水にて pH 7.4 に調整した。

(3) pH について

(2) の実験結果から、Whitlockite の生成が明確に認められた Mg/Ca のモル比 $1/5$ の実験条件を用いて、pH の影響について検討した。すなわち、カルシウムイオン濃度を 60.0 mM 、 Mg/Ca のモル比が $1/5$ となるようにマグネシウムイオン、リン酸イオンの各濃度を 12.0 mM 、 48.0 mM とし、反応時の pH を変えて反応させた。反応時の pH

は、酢酸あるいはアンモニア水にて pH 4.5, 5.4, 5.8, 6.0, 6.2, 6.6, 7.0, 7.4 および 7.8 にそれぞれ調整した。

(4) フッ素イオンが共存する場合の影響について

生成された Brushite はフッ素イオンが存在するとたやすく HA へと転化することが報告されているが^{24, 25)}, Whitlockite に及ぼすフッ素イオンの影響についてはほとんど研究されていない。

そこで、(3)の実験結果から Whitlockite あるいは Brushite の生成が認められた実験条件下に、フッ素イオンが共存する場合の影響について検討した。すなわち、(3)の実験系において反応時の pH を Brushite の生成される条件として pH 5.4, Whitlockite の生成される条件として pH 6.2 と 7.4 を選んで実験を行った。フッ素イオンにはフッ化ナトリウム NaF を用い、それぞれ表 6 に示すフッ素イオン濃度として反応させた。

結 果

実験 I. う蝕病巣における caries crystal について

(1) caries crystal の同定結果

表 7. 8 は caries crystal の検出されたエナメル質および象牙質う蝕病巣についてまとめたものである。すなわち、エナメル質う蝕病巣では 16 例について、95ヶ所の部位を X 線回折法により検索し、象牙質う蝕病巣では 42 例について、168ヶ所の部位を X 線回折した。その結果、caries crystal として Whitlockite と Brushite が検出された。Whitlockite は 3 例のエナメル質う蝕病巣と 6 例の象牙質う蝕病巣において検出が認められた。一方、Brushite はエナメル質う蝕病巣では検出されなかったが、4 例の象牙質う蝕病巣に検出された。

図 I が微小焦点 X 線回折法により得られたマイクログラウエカメラによる X 線回折像である。検出された Whitlockite の X 線回折像は、すべて明瞭な spot 状の回折像として認められ

た(図1-a,b)。一方, Brushite のそれはすべて Brushite の特性線である(021)面の ring 状の回折像として認めることができた(図1-c)。図1および表7,8に示すように Whitlockite、Brushite のX線回折像がそれぞれ spot 状、ring 状であるところから、う蝕病巢内では Whitlockite は比較的大きな結晶として存在しているのに対し、Brushite は非常に微細な結晶として存在していることがわかった²⁹⁾。

(2) caries crystal の検出部位

1. Whitlockite の検出部位

図2-a,bは Whitlockite の検出された象牙質う蝕病巢の偏光顕微鏡像とマイクロラジオグラムである。この歯牙は咬合面にう蝕の見られた乳白歯で、Miller らの分類法²⁶⁾から arrested caries と診断されたものである。図2-bのマイクロラジオグラムで観察されるように、う蝕病巢の表層および内層のほとんど全域にわたって再石灰化している像が観察された。このう蝕病巢の表層から内層、さらに深部にわた

る。X線透過像やX線不透過像を示す各部位
 (丸印の部位, 1ヶ所) についてX線回折を
 行, た。その結果、矢印で示した再石灰化し
 ていると思われるX線不透過像を示す部位や、
 境界の不明瞭なX線透過像を示す部位に Whit-
 lockite が検出された。

また、図3-a, bの偏光顕微鏡像とマイクロー
 ラジオグラムは、Whitlockiteの検出されたエナ
 メル質う蝕病巣の例である。この試料は両隣
 接面にう蝕の見られた乳前歯の遠心側エナメ
 ル質う蝕病巣である。図3-bの丸印で示した
 8ヶ所の部位についてX線回折を行, た。そ
 の結果、矢印で示した部位において Whitlockite
 が検出された。

これらのう蝕病巣における Whitlockite の検出
 部位は、マイクラジオグラムの所見から再
 石灰化していると思われるX線不透過像を示
 す部位や、境界の不明瞭なX線透過像を示す
 部位であ, た。

(2) Brushite の検出部位

図 4-a, b, c の偏光顕微鏡像とマイクロラジオグラムは、Miller らの分類法²⁶⁾から arrested caries と見られた乳犬歯の遠心側隣接面に認められた象牙質う蝕病巣である。図 4-b の丸印で示した 16ヶ所の部位について X 線回折を行った。その結果、矢印で示した transverse cleft と思われる、境界の明瞭な X 線透過像を示す部位にのみ Brushite が検出された。図 4-c のマイクロラジオグラムがその部位の拡大像である。

また、図 5-a, b, c も Brushite が検出された象牙質う蝕病巣の偏光顕微鏡像とマイクロラジオグラムである。この歯牙は唇面にう蝕の見られた乳前歯で、Miller らの分類法²⁶⁾から arrested caries と分類された。図 5-b の丸印で示した部位について X 線回折したところ、同じく矢印で示した transverse cleft の部位にのみ Brushite が検出された。図 5-c がその拡大像である。この他にも図 6, 7 のマイクロラジオグラムに示す象牙質う蝕病巣 (active caries) に Brushite

が検出された。

これらの Brushite が検出された部位の共通したマイクロラジオグラムの見方は、transverse cleft のように境界明瞭で X 線透過像を示す部位であった。

(3) う蝕病巣の臨床像と caries crystal の種類について

象牙質う蝕病巣を Miller らの分類法²⁶⁾に従って分類し、active caries のう蝕病巣 18 例、arrested caries のう蝕病巣 24 例について、Whitlockite あるいは Brushite の検出されたう蝕病巣の例数を調べた。表 9 がその結果をまとめたものである。すなわち、active caries のう蝕病巣では、Brushite のみか 2 例のう蝕病巣に検出されたにすぎず、Whitlockite は検出されなかった。一方、arrested caries のう蝕病巣では、6 例のう蝕病巣に Whitlockite が検出され、2 例のう蝕病巣に Brushite が検出された。なお、これらのうち Brushite が検出された arrested caries のう蝕病巣における、その検出部位はいずれも transverse

cleft の部位であった (図 4-c, 5-c)。

実験 2. 人工脱灰による Whitlockite、Brushite の生成について

(1) 生成された Whitlockite、Brushite の同定

表 10 はエナメル質および象牙質を種々の pH の酢酸緩衝液で脱灰し、その脱灰部における反応生成物を微小焦点 X 線回折法により同定し、検出された Whitlockite、Brushite についてまとめられたものである。すなわち、pH 4.0 の酢酸緩衝液で 2 日間脱灰した象牙質に Brushite が検出された。一方、pH のより高い pH 5.0 の酢酸緩衝液で 6 日間脱灰した象牙質と、pH 5.5 の酢酸緩衝液で 3, 6 および 12 日間脱灰したエナメル質に Whitlockite が検出された。また、これらの Whitlockite と Brushite の X 線回折像は、それぞれ spot 状と ring 状の X 線回折像を示し、実際のう蝕病巣から得られた Whitlockite、Brushite の X 線回折像と一致していた。

これらの結果から、実際のう蝕病巣内で検出された caries crystal (Whitlockite、Brushite) が

健全な歯牙を人工脱灰することによっても生成することが認められ、さらに結晶の種類を決めるのはpHによる脱灰条件であることがわかった。

(2) Whitlockite、Brushiteの生成部位

図8はBrushiteの生成が認められた象牙質試料(pH 4.0の酢酸緩衝液で2日間脱灰)のマイクログラジオグラムである。このマイクログラジオグラムで見られるように、X線透過像を示す脱灰部には、最表層の高度に脱灰された層とその下部の比較的脱灰程度の低い層の2層が観察された。これらの各層は加藤³⁰⁾やOhgushiら³¹⁾の報告している、いわゆる第1脱灰層と第2脱灰層に相当するものと考えられた。そこで、図8の丸印で示した第1脱灰層、第2脱灰層および脱灰されていない象牙質の各部分についてX線回折を行った。その結果、矢印で示した第2脱灰層においてBrushiteの生成が認められた。また、Whitlockiteの生成が認められた象牙質試料においても、やはり同様

に第2脱灰層で Whitlockite の生成が認められた。

図9は Whitlockite の生成が認められたエナメル質試料 (pH 5.5 の酢酸緩衝液で6日間脱灰) のマイクロラジオグラムである。このマイクロラジオグラムに示されるように、表層下脱灰の像が観察され、丸印の各部位について X線回折を行った。その結果、矢印で示した X線透過像を示す表層下脱灰部において、Whitlockite の生成が認められた。X線不透過像を示す最表層部では Whitlockite は検出されず、エナメル質アパタイトのみが認められた。

他の Whitlockite が検出されたエナメル質試料においても、同様に表層下脱灰部においてのみ Whitlockite の生成が認められた。

実験3 *in vitro* での Whitlockite、Brushite の生成条件について

(1) カルシウムイオンとリン酸イオンの濃度について

表11はカルシウムイオンとリン酸イオンの濃度を変えて反応させた結果、生成した反応

生成物についてまとめたものである。カルシウムイオンとリン酸イオンの濃度が最も低い場合 ($[Ca^{2+}] = 5.0 \text{ mM}$ 、 $[PO_4^{3-}] = 3.9 \text{ mM}$) には、HAのみが生成された。両イオン濃度が高くなるに従い ($[Ca^{2+}] = 60.0 \text{ mM}$ 、 $[PO_4^{3-}] = 46.6 \text{ mM}$) HAとともに Whitlockite が生成し、より高濃度 ($[Ca^{2+}] = 120.0 \text{ mM}$ 、 $[PO_4^{3-}] = 90.0 \text{ mM}$) では、HAは生成されず、Whitlockite とともに Brushite が生成された。そして、さらに高濃度 ($[Ca^{2+}] = 180.0 \text{ mM}$ 、 $[PO_4^{3-}] = 140.0 \text{ mM}$) になると Whitlockite は生成されず、Brushite とともにわずかな Octacalcium phosphate が生成された。

図 10 が各反応生成物の X 線回折像である。カルシウムイオンとリン酸イオンの濃度が最も低い場合には、HA の特性回折線である (002)、(211)、(112)、(300) 面の各回折線が認められた (図 10-1)。そして、濃度が高くなるに従い、HA とともに Whitlockite の (110)、(214)、(220) 面の明瞭な回折線が認められた (図 10-2)。さらに、高濃度では HA の回折

線は消失し、Whitlockite の回折線とともに Brushite の特性回折線である (020)、(021)、(040)、(111) 面などの回折線が認められた (図 10-3)。最も高い濃度では Whitlockite の回折線は見られず、Brushite の回折線とともに Octacalcium phosphate の (100) 面回折線がわずかにあるが認められた (図 10-4)。

(2) マグネシウムイオンとカルシウムイオンのモル比について

表 12 はマグネシウムイオンとカルシウムイオンのモル比を変えて反応させた結果、生成した反応生成物についてまとめられたものである。すなわち、 Mg/Ca のモル比を $1/8$ 以下で反応させた場合には、HA のみが生成されたが、 $1/4$ から $1/3$ の範囲では HA とともに Whitlockite の生成が認められた。さらにマグネシウムイオンの濃度が高くなると ($Mg/Ca = 1/2$)、Whitlockite は生成されず、HA とともに $MgNH_4PO_4 \cdot 6H_2O$ が生成された。図 11 は Mg/Ca のモル比を 0, $1/8$, $1/2$ として反応させた場合の反応生成物の X 線

回折像である。なお、この図11に見られるように、マグネシウムイオン共存下に生成したHAの結晶性は、マグネシウムイオンが共存しない条件下で生成したHAの結晶性に比べて悪くなっているのが認められた。

(3) pHについて

表13は反応時のpHを変えて反応させた結果生成した反応生成物についてまとめたものである。すなわち、反応時のpHがpH4.5から5.8ではBrushiteのみが生成され、pH6.0ではBrushiteとともにわずかなWhitlockiteの生成が認められた。そして、pH6.2になるとBrushiteの生成は認められず、Whitlockiteのみが生成された。さらに、それより高いpH6.6以上ではWhitlockiteとともにHAが生成され、pH7.8ではHAとわずかなWhitlockiteの生成が認められた。このように反応時のpHがpH6.0以下ではBrushiteが生成され、pH6.0以上ではWhitlockiteの生成が認められた。図12は反応時のpHを5.8, 6.0, 6.2, 6.6にして反応させた場合の各反応

生成物の X 線回折像である。

(4) フッ素イオンが共存する場合の影響について。

表 14 は反応時の pH を pH 5.4 に調整し、Brushite が生成される条件下に、種々の濃度のフッ素イオンを共存させて反応させた結果、生成した反応生成物についてまとめられたものである。すなわち、共存するフッ素イオンの濃度が 10 ppm 以下では Brushite のみが生成されたが、フッ素イオン濃度が 20, 50 ppm になると、Brushite とともにわずかな HA の生成が認められた。そして、100 ppm 以上のフッ素イオンでは、Brushite の生成は認められず HA のみが生成された。図 13 がフッ素イオン濃度を 10, 50, 100 ppm にして反応させた場合の各反応生成物の X 線回折像である。

一方、表 15, 16 はそれぞれ反応時の pH を pH 6.2, 7.4 に調整し、Whitlockite が生成される条件下に、種々の濃度のフッ素イオンを共存させて反応させた結果、生成した反応生成物に

ついでにまとめられたものである。Whitlockiteのみが生成される条件下にフッ素イオンが共存する場合(表15)、その濃度が2 ppm 以下ではWhitlockiteのみが生成された。しかし、フッ素イオン濃度が高くなるにつれ、5, 10, 20 ppm の濃度ではWhitlockite とともにHAの生成がわずかに認められ、50 ppm 以上になるとWhitlockiteは生成されず、HAのみが生成された。図14は2, 20, 50 ppm のフッ素イオン濃度で反応させた場合の各反応生成物のX線回折像である。また、Whitlockite とHAの生成される条件下(表16)では、共存するフッ素イオン濃度が5 ppm 以下でWhitlockite とHAの生成が認められた。しかし、その濃度が10 ppm 以上になるとWhitlockite は生成されず、HAのみが生成された。図15は2, 5, 10 ppm のフッ素イオン濃度で反応させた場合の反応生成物のX線回折像である。

このようにWhitlockite あるいはBrushite の生成条件下に、ある濃度以上のフッ素イオンが共

存する場合には、Whitlockite、Brushiteは生成されず、HAのみが生成されることわかった。そして、その際に必要最低フッ素イオン濃度はpH域が高くなるほど低濃度で十分であることが判明した。

考 察

従来、caries crystalの同定に用いられてきたX線回折法は、試料としてう蝕病巣より得た歯牙硬組織の粉末を用いる。いわゆる粉末X線回折法により行われてきた。そのため、光学顕微鏡下で観察されるう蝕病巣の組織学的な変化とcaries crystalの局在性やその種類との関連性について検討することは不可能であった。また、粉末X線回折法では試料全体を粉末化して分析するため、caries crystalかう蝕病巣のきわめて限局した部分に生成している場合は同定に必要な回折線強度が得られず同定されないこともある。一方、本研究で用いた微小焦点X線回折法では、実際のう蝕病巣を破壊

することなく、う蝕歯牙切片そのものを試料
 とすることかでき、それに $100\mu\text{m}$ 径という微
 小な部分にX線ビームを照射することかでき
 る。したがって、従来の粉末X線回折法とは
 異なり、微小焦点X線回折法は偏光顕微鏡像
 やマイクログラジオグラムと対比しなから、う蝕
 病巣内の組織学的な変化を示す微小部分につ
 いて、非破壊的にX線回折を行うことが可能
 であることを特徴としている。本研究ではこ
 の微小焦点X線回折法を用いてう蝕病巣をX
 線結晶学的に検討した結果、caries crystal とし
 てWhitlockite およびBrushiteが検出された。以下
 本研究結果に対して考察を加えてみたい。

1. う蝕病巣におけるWhitlockite、Brushiteの
 検出部位について

caries crystal として認められたWhitlockite、Bru-
 shite の検出部位には、その組織像に差が認
 められた。すなわち、Whitlockiteが検出された
 部位は、マイクログラジオグラムによる所見で、
 再石灰化していると思われるX線不透過像を

示す部位や、境界不明瞭な X 線透過像を示す部位であった。一方、Brushite の検出部位は、transverse cleft のような境界明瞭な X 線透過像を示す部位であった。

これらの検出部位について、本研究の *in vitro* で得られた結果 (実験 3) と合わせ考察すると、まず Whitlockite はマグネシウムイオンが $Mg/Ca = 1/4 \sim 1/3$ (モル比) の条件下で生成され (表 12)、pH 6.0 以上の高い pH 領域で生成されていた (表 13)。このことから考えると、Whitlockite の検出された部位には必ずマグネシウムイオンが存在し、しかも脱灰後 pH が高まり、口腔内の pH 領域に近づいた状態であろうと思われる。つまり、Whitlockite の検出部位は、脱灰がほとんど停止した再石灰化しやすい状態にある部位であろうと推測される。一方、Brushite の生成条件に関する *in vitro* の結果ではカルシウムイオンとリン酸イオンの濃度が比較的高い場合 (表 11) や、pH 6.0 以下の低い pH 領域で生成されていた (表 13)。このことから

Brushite が検出された transverse cleft のような部位は低い pH 領域にあり、しかも歯質アパタイトから溶解したカルシウムイオンやリン酸イオンが速やかに拡散されず、比較的高濃度に保たれた場所であろうと思われる。すなわち、Brushite の認められた部位では、脱灰がおそろく active に生じているのであろうと考えられる。

なお、本研究では同一のう蝕病巣あるいは同一部位において Whitlockite と Brushite の両方の結晶が検出された試料は認められなかった。このことは、*in vitro* での本研究結果（実験 3）からも推測されるように、Whitlockite あるいは Brushite の生成条件がそれぞれ異なること、特にそれらが混在して生成される条件は非常に限定されること（表 11, 13）などが原因と考えられる。

臨床所見に基づいて分類した Miller らの方法²⁶⁾に従って、象牙質う蝕を active caries と arrested caries とに分類し、う蝕病巣の臨床所見

と検出された caries crystal の種類との関連性について調べた。その結果、Whitlockite は active caries のう蝕病巣では検出されず、arrested caries のう蝕病巣にのみ検出されていた。一方、Brushite は active caries と arrested caries の両者に検出された。in vitro での本研究(実験3)において、Whitlockite は pH 6.0 以上の pH 領域で生成され、Brushite は pH 6.0 以下の低い pH 領域で生成されていたことを考慮すると、Whitlockite が active caries で検出されず、arrested caries のみで検出されたこと、Brushite が active caries で検出されたことは妥当な結果であろう。しかし、Brushite は2例の arrested caries においても検出が認められた。このことについては、Brushite の検出部位がいずれも transverse cleft であつた(図4、5)ことを考慮しなくてはならない。すなわち、transverse cleft の部位では、おろらく脱灰が active に生じている低い pH 領域にあり、しかも脱灰により生成したイオンが速やかに拡散されにくい状態にあつて、Brushite の

生成条件に合致したために Brushite が生成したのであろうと考えられる。つまり、これらの arrested caries のう蝕病巣では、一部の限局した transverse cleft の部位においてう蝕が進行していたのであろうと推察される。なお、arrested caries のう蝕病巣に transverse cleft が認められたことについては、高橋³²⁾の報告によるとう蝕病巣の組織像はう蝕病変の進行の速度、進展の程度(う蝕病巣の深さ)、経過した時間の長さなどにより、多様に変化するといわれている。したがって、実際のう蝕病巣では非常に複雑な組織像を示していることが考えられ、arrested caries のう蝕病巣に transverse cleft が認められたことも理解できる。このように、う蝕病巣の臨床所見と caries crystal として検出された Whitlockite、Brushite との間には対応しうる関連性が認められたことは興味深いことである。

2. 人工脱灰による Whitlockite、Brushite の生成について

健全歯牙を人工的に脱灰した場合にも、う蝕病巣内で検出されたものと同じ Whitlockite、Brushite が生成することかわかった。そして、これらの生成部位は象牙質では第2脱灰層、エナメル質では表層下脱灰部であった。人工脱灰された象牙質では、いわゆる第1脱灰層と第2脱灰層が観察された。Ohgushi ら³¹⁾は、これらの層を電子顕微鏡で観察した結果、第1脱灰層には変性したコラーゲン線維とわずかな顆粒状あるいは板状の無機質結晶が観察され、第2脱灰層では変性していないコラーゲン線維とアパタイトの結晶が観察されたと報告している。このような脱灰層のうち、第2脱灰層において Whitlockite あるいは Brushite が生成されていた。このことについては次のように考えられる。すなわち、*in vitro* での本研究結果(実験3)から、カルシウムイオン、リン酸イオンの濃度が非常に低い場合には HA が生成し、Whitlockite や Brushite の生成にはある程度以上の濃度が必要である。このこと

から考えると、第1脱灰層では第2脱灰層に
 比べてイオンが拡散しやすく、カルシウムイ
 オンやリン酸イオンなどの濃度が Whitlockite や
 Brushite が生成しうる濃度にもで高まりにくい
 ことがまず第一に考えられる。さらに、Whit-
 lockite や Brushite と HA との間には epitaxy が生
 じうると報告されていることから²⁴⁾、第2脱
 灰層では脱灰されずに多く残存していると考
 えられるアパタイトとの epitaxy によつて、
 Whitlockite や Brushite がより生成しやすいことが
 考えられる。なお、加藤³⁰⁾は第1脱灰層では
 再石灰化は起こらず、第2脱灰層でのみ再石
 灰化が起こると報告しているが、このことは
 第2脱灰層にのみ Whitlockite や Brushite の生成が
 認められた本研究結果と一致するものである。
 一方、エナメル質では表層下脱灰部に Whitlock-
 ite が生成されていた。この表層下脱灰部の
 成因については種々の考え方がなされてきた
 が、あらかじめ表層を削除したエナメル質³³⁾
³⁴⁾ や合成 HA のペレット²³⁾ においても、表層

下脱灰部を実験的に作る二とが可能ならば、それは脱灰エナメル質の表層における再石灰化によって生ずるものと考えられている。本研究において、表層下脱灰部に Whitlockite が生成されたことを考察すると、カルシウムイオンやリン酸イオンの濃度が高まりにくいと考えられる表層においては、まずこれらのイオンが低濃度条件でも生成しうるアパタイトが再石灰化するものと考えられる。そして、そのために生じた表層下脱灰部では、表層の再石灰化によって次第にイオンの拡散が起りにくくなり、カルシウムイオン、リン酸イオン、マグネシウムイオンなどの濃度が高まり、Whitlockite の生成条件に達したものと考えられる。

ところで、本研究ではエナメル質の蝕病巣や、人工脱灰されたエナメル質において Brushite は検出されなかった。この理由について考察すると、*in vitro* での本研究結果（実験3）から、Brushite の生成には Whitlockite の場合に

比ベテより高濃度のカルシウムイオンやリン酸イオンを必要とすることがわかった。すなわち、Brushite はう蝕病巣内でも特にこれらのイオンが拡散されにくく、高濃度に保たれる場所においてのみ生成するものと考えられた。このことから考えると、エナメル質と象牙質における化学組成や組織構造などの相違によつて、おそらくエナメル質では象牙質に比ベテイオンが比較的拡散されやすいためであろうと推察される。文献的にも Brushite が実際のエナメル質のう蝕病巣に検出されたという報告は見あたらない。しかし、山本²²⁾ はエナメル質の人工白斑部を微小焦点X線回折法により検討した結果、Brushite の比較的大きな結晶が配向して生成していたと報告している。また、Arends³⁵⁾ は健全エナメル質と人工脱灰したエナメル質における HPO_4^{2-} を赤外線吸収スペクトル法により定量した結果、それは健全エナメル質では5%であったのに対し、人工脱灰されたエナメル質では15%に増加して

いたと報告している。したがって、実際のエナメル質の蝕病巣内では HPO_4^{2-} としてはかぶり多く存在していることが考えられる。

3. Whitlockite、Brushiteの生成条件について

Whitlockiteは斜方晶の構造をもつ結晶であり³⁶⁾、鉱物として最初に報告¹³⁾されて以来、高温下でのみ生成されると考えられていた。しかし、歯石や蝕病巣内でも検出されて以来、Whitlockiteは生体温度条件下でも生成されると考えられ、その生成にはマグネシウム、鉄、マンガンなどの2価の陽イオンが必要であるとされている^{10, 17)}。これらの陽イオンの中でも、歯石中に認められたWhitlockiteは Tricalcium phosphate $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ のカルシウムの一部がマグネシウムと置きかわった Magnesian whitlockite $(\text{Ca}, \text{Mg})_3(\text{PO}_4)_2$ であることから、特にマグネシウムイオンが注目されてきた。Hayekら¹⁸⁾は、70°Cの温度でマグネシウムイオンを加えたカルシウムイオンとリン酸イオンの溶液内でWhitlockiteが生成されたと報告している。また

歯石の研究から、その沈着初期には Brushite が生成され、時間の経過とともに次第に Brushite から Whitlockite あるいは Octacalcium phosphate や HA が生成されてくることが報告されており¹⁴⁾、Schroeder¹⁹⁾ はマグネシウムイオンの存在によって Brushite は Whitlockite へ転化すると述べている。また、Whitlockite と HA との間には epitaxy の起こりうることも報告されている²⁴⁾。しかしながら、生体温度条件下における Whitlockite の生成については今まで不明な点が多く、本研究によって始めて生体温度条件下での Whitlockite の生成に関する諸条件を明らかにすることができた。

生体温度条件下で Whitlockite が生成されるにはマグネシウムイオンが必要であるが、その歯質における含有量は、平均乾燥重量で永久歯エナメル質で 0.54%、象牙質で 0.83% であり³⁷⁾、乳歯エナメル質で 0.22%、象牙質で 0.50% であるとされている³⁸⁾。また、エナメル質内のマグネシウム濃度は、表層から歯髓

側へ向かうにつれて増加すること知られて
 いる³⁹⁾。そして、Suga ら⁴⁰⁾はう蝕の進行に際
 して、カルシウムやリンの濃度の減少が認めら
 れた部位よりもさらに深部において、すでに
 マグネシウムの濃度が減少しているのが認め
 られたと報告している。また、Johansen⁴¹⁾も
 う蝕病巣内のマグネシウム量は健全部のそれよ
 りも減少していたと述べている。このマグネ
 シウムイオンは主にアパタイトの結晶表面に
 ある水和殻に存在すると考えられており⁴²⁾、
 Hendricks ら⁴³⁾は $MgOH^-$ の形でアパタイトの結晶
 表面に存在すると述べている。したがって、
 マグネシウムと歯質アパタイトとの結合は弱
 く、わずかの脱灰によってもマグネシウムイ
 オンは溶出しやすく、実際のう蝕病巣内では
 かなりの濃度のマグネシウムイオンが遊離し
 ていることが考えられる。このようないう蝕病
 巣内では、カルシウムイオンやリン酸イオン
 の濃度の高まりと共に、pHの上昇とあいま
 り、Whitlockite が生成しうる諸条件が満足され

ま、はじめに Whitlockite の析出が起こるのであ
 ろう。また、Whitlockite は歯石の場合と同じく
 マグネシウムイオンの存在によつて Brushite か
 ら転化するこゝによつて生成されたり、歯質
 アパタイトとの epitaxy によつて生成されるこ
 となども考えられる。なお、マグネシウムイ
 オンについて Jensen ら¹⁵⁾ は、それがアパタイ
 トの結晶成長を阻害し、Whitlockite の生成を促
 進するよりもむしろ、いったん生成された
 Whitlockite を安定に保つように作用すると述べ
 ている。本研究においてもマグネシウムイオ
 ンは HA の結晶性を低下させているのが認め
 られた(図11)。また、実際のう蝕病巣で検
 出された Whitlockite の結晶は比較的大きなもの
 であったこと(図1, 表7, 8)を考えると、
 生成された Whitlockite はこのマグネシウムイオ
 ンの存在によつて大きく成長しうるものと思
 われる。

一方、Brushite は単斜晶系を示す結晶であり
³⁶⁾、歯石^{14, 15)} や尿石²⁰⁾、骨²¹⁾ などに認められ

ていたが、これまで実際のう蝕病巢内ではほとんど認められていなかった。しかし、山本²²⁾は健全エナメル質を pH 4.5 の脱灰液中に浸漬し脱灰することによって Brushite の生成が認められたと報告している。また、岡崎ら²³⁾は合成 HA のペレットを pH 4.0 の脱灰液に浸漬しておいた結果、Brushite が生成されたと報告している。これらの実験はいずれも低い pH 条件で脱灰を行っていることや、Brushite は pH 4.0 ~ 6.0 で安定であるという報告^{44~46)}を考慮すると、*in vitro* での本研究結果(実験3)で Brushite が pH 6.0 より低い pH 領域で生成されていた事実はこれらの報告と一致するものである。また、Francis ら²⁸⁾は Brushite と HA の原子配置を比較し、それらの (010) 面および (110) 面が非常に似かよっており、epitaxy の可能性があると報告していた。その後、青葉ら²⁴⁾は Brushite と HA とが互いに (010) 面で epitaxy が起こることを実験的に確かめている。したがって、う蝕病巢内で歯質アパタイトが

脱灰されずに残存する場合、Brushite が歯質アパタイトとの epitaxy によって生成することも十分考えられよう。

Brushite は、口腔内のような高い pH 領域にさらされた場合、加水分解して HA に転化するといわれている²⁸⁾。また、pH 7.4 の条件下で極く微量のフッ素イオンが共存すると、Brushite は速やかに HA へ転化すると報告されている²⁴⁾。実際のう蝕病巣内ではフッ素塗布や歯磨剤などからフッ素イオンが Brushite に作用する可能性は大きいものと考えられる。そこで、著者は Brushite に及ぼすフッ素イオンの影響についてさらに検討を行った。すなわち、37°C で pH 5.5 と pH 6.5 の酢酸緩衝液内で攪拌下に 20 ppm のフッ素イオンを Brushite に作用させた結果、Brushite は HA へ転化していくのが認められた。また、Schroeder¹⁹⁾ は Brushite はマグネシウムイオンの存在下では Whitlockite へ転化すると報告している。これらのことから考察すると、う蝕病巣内ではたとえ Brushite が生成

されても、口腔内は Brushite にとって不安定な pH の高い状態にあり、さらにフッ素イオンやマグネシウムイオンなどにより、HA や Whitlockite へと転化することが考えられる。Brushite が実際のう蝕病巣で検出されにくいことや、その結晶が大きく成長しないので微細な結晶として存在していた(図1, 表8)ことは、このような理由によるものとも思われる。

なお、*in vitro* での実験において生成が認められた Octacalcium phosphate (表11) は、実際のう蝕病巣内では検出されなかった。しかし、すでに Rowles ら¹²⁾ はこの結晶がう蝕病巣に存在することを粉末X線回折法により認めている。また Octacalcium phosphate は歯石^{14, 15)} や骨⁴⁷⁾ などにも存在することが報告されており、*in vitro* での本研究結果から考えると、この Octacalcium phosphate はカルシウムイオンやリン酸イオンの濃度がかかり高まった場所に生成されると推察される。また、著者が Brushite を pH 7.0 の酢酸緩衝液中に 37°C で攪拌下に保ったところ、

Brushite は Octacalcium phosphate に転化しているのが認められた。したがって、低い pH 領域で Brushite が生成しても、pH が高くなるにつれて Octacalcium phosphate に転化する可能性も考えられる。しかし、たとえ Octacalcium phosphate が生成されても、この結晶は加水分解されやすく、フッ素イオンが極く微量でも存在するとたやすく HA へ転化することが知られている^{48, 49)}。したがって、Octacalcium phosphate がう蝕病巣内に存在することは十分に考えられるが、このような理由によつて本研究では、う蝕病巣内に検出されなかったものと思われる。

4. 再石灰化現象における Whitlockite、Brushite について

arrested caries の成因については、临床上非常に興味ある問題にもかかわらず、今なお明確にされていない。う蝕の病因については、う蝕原性菌、う蝕誘発性食品、歯牙のう蝕感受性の3つの基本的因子が相互に影響していることが広く知られている⁵⁰⁾。このような観

点から、う蝕の予防や進行抑制を行うために、プラークコントロールやう蝕誘発性食品の摂取頻度の制限、フッ化物の塗布などの方法が広く行なわれている。しかし、う蝕の進行抑制に関しては、一部のフッ化物による効果が報告されているのみである^{51~54)}。臨床上、う蝕の進行が抑制されたと思われる arrested caries のう蝕病巣表層部は、平滑で硬くなっているのが観察される。これは、前述した種々の方法により口腔内環境が改善され、加えてう蝕病巣内で再石灰化が生じていった結果であろうと考えられる。したがって、う蝕病巣における再石灰化現象はう蝕の進行抑制に大きく関与しているものと思われる。う蝕の進行抑制の面から考えれば、再石灰化する際の結晶は、耐脱灰性のある化学的に安定な結晶であることが望ましい。本研究結果から考察すると、再石灰化する際に生成する無機質結晶は、アパタイトや caries crystal といわれる Whitlockite、Brushite などであることがわかっ

た。結晶の化学的安定性はその溶解度からもうかがわれるが、HA、Whitlockite、Brushiteの溶解度積はそれぞれ、 2.57×10^{-50} 、 1.37×10^{-20} 、 2.57×10^{-7} であることから^{55~57)}、これらの中で最も化学的に安定な結晶はHAである。

Andrèsら⁵⁸⁾はHAとWhitlockiteとについてクエン酸に対する溶解性を比較した結果、WhitlockiteはHAに比べ高い溶解性を示したと報告している。したがって、う蝕病巣内ではアパタイト結晶として少しでも多く再石灰化させていくことが、う蝕の進行抑制を考える上で重要であると思われる。

HAの生成については、*in vitro*での本研究結果(実験3)からpHが高いほど生成されやすいことが認められた。また、たとえばWhitlockiteやBrushiteの生成条件下であつても、ある濃度以上のフッ素イオンが共存すると、それらは生成されずHAのみが生成されることもわかった。もし、Brushiteが生成されても高いpH領域にさらされたり、フッ素イオンが存在

すると HA へ転化する²⁴⁾ことが知られている²⁸⁾。これらのことを考慮すると、アパタイトとして再石灰化させう蝕の進行を抑制していくには、う蝕病巣内の pH を上昇させることや、フッ素イオンを作用させることなどの方法が考えられよう。

フッ素の歯質における平均含有量は、健全永久歯のエナメル質で 0.03%、象牙質では 0.047% であり、健全乳歯のエナメル質で 0.03%、象牙質では 0.052% である⁵⁹⁾。Levine⁶⁰⁾ は active caries と arrested caries の象牙質う蝕病巣におけるフッ素濃度について調べ、active caries のう蝕病巣におけるフッ素濃度は健全部のそれと著明な差を認めなかったのに対し、arrested caries では健全部に比べてフッ素濃度は著明に増加していたと報告している。一般にフッ素イオンが作用して生成されてくるアパタイトは、Fluorhydroxyapatite や Fluorapatite であると考えられ、これらの溶解度積は HA よりもさらに小さく^{61, 62)}、より化学的に安定な結晶

である。これらのことから、フッ素イオンはう蝕の進行抑制に非常に重要な役割を果たしていることが推察された。

以上本研究結果から、う蝕病巣における Whitlockite、Brushite の生成機序について考察し、模式図としてまとめたものが図16である。う蝕病巣内で、Brushite は pH の低い脱灰過程で、しかもカルシウムイオンやリン酸イオンが拡散されにくく、比較的高濃度に保たれた場合に生成する。一方、Whitlockite は pH の高まった再石灰化過程で、マグネシウムイオンの共存する場合に生成される。しかしながら、このように Whitlockite あるいは Brushite の生成条件下にある濃度以上のフッ素イオンが共存すると、いわゆる caries crystal と呼ばれる Whitlockite や Brushite は生成されず、アパタイトとして再石灰化するものと考えられる。

また、う蝕病巣において生成された Whitlockite、Brushite の果たす役割については今後の

ように考えられる。まず、再石灰化過程で生成される Whitlockite は、口腔内条件で安定であり、著者が Whitlockite に 100 ppm のフッ素イオンを pH 7.4 の酢酸緩衝液内で攪拌下に 37°C で作用させた場合にも、ほとんど変化せずわずかな HA の生成が認められたのみであった。したがって、一度生成された Whitlockite は比較的安定であり、たとえフッ素イオンが存在してもより化学的に安定なアパタイトには転化しにくいものと思われる。しかし、再び脱灰が生じた際には、Whitlockite はアパタイトに比べてやすく溶解されてしまうことが考えられる。一方、脱灰過程で生成される Brushite については、Brushite が生成されることにより脱灰過程でのカルシウムイオンやリン酸イオンなどの腐蝕病巣外への溶出を防いでいると考えられることができる。さらに、再石灰化過程においては、Brushite は pH の上昇によりやすく HA へ転化することや²⁸⁾、マグネシウムイオンの存在下では Whitlockite に転化するという

報告¹⁹⁾を考慮すると、再石灰化過程において Brushite はアパタイトや Whitlockite が再石灰化する際の、カルシウムイオンやリン酸イオンの供給源になつてゐるものと思われる。また、Brushite は HA よりもフッ素イオンと反応しやすく、フッ素の取り込みをよくするためには Brushite を多く生成させた方が良い⁶³⁾という考えもあり、Brushite はう蝕病巣内におけるフッ素の取り込みにも関与していることが考えられる。このように今までほとんど caries crystal として報告されていなかった Brushite は、う蝕病巣における脱灰と再石灰化の過程で非常に重要な役割を果たしているものと思われる。また、う蝕の進行抑制を考える上で、再石灰化する際の結晶としては caries crystal である Whitlockite、Brushite ではなく、化学的に安定なアパタイトが生成することが望ましいと考えられた。

総括 および 結論

う蝕病巢における caries crystal の生成機序を明らかにすることを目的として本研究を行った。すなわち、う蝕病巢を非破壊的に分析できる微小焦点X線回折法により、う蝕病巢における caries crystal の同定とその局在性を探索し、さらに *in vitro* の実験により Whitlockite、Brushite の生成条件を検討した。その結果、つぎの知見が得られた。

1) う蝕罹患乳歯のう蝕病巢には、caries crystal として Whitlockite あるいは Brushite が検出された。そして、それらのX線回折像から、う蝕病巢内では Whitlockite は比較的大きな結晶として、Brushite は微細な結晶として存在することかわかった。

また、従来の caries crystal に関する電子線回折法やX線回折法による研究は、象牙質う蝕病巢についてなされたものであったから、本研究によりエナメル質う蝕病巢における caries crystal の結晶学的な検討を行うことができた。

2) Whitlockite の検出部位はマイクロラジオグラム の所見から、再石灰化して いると思われる X 線透過像を示す部位や、境界不明瞭な X 線透過像を示す部位であった。そして、その部位ではう蝕による脱灰がほとんど停止した状態にあると思われる。一方、Brushite は transverse cleft のような境界明瞭で X 線透過像を示す部位にのみ検出された。Brushite の検出部位ではう蝕による脱灰が active に生じていると考えられた。

3) 象牙質う蝕のうち active caries のう蝕病巣では、Brushite のみが検出され、Whitlockite は検出されなかった。一方、arrested caries のう蝕病巣では、Whitlockite と Brushite が検出された。ただし、Brushite の検出された arrested-caries のう蝕病巣では、いずれも transverse cleft にその検出を認められた。

4) エタメル質および象牙質表層を人工脱灰した結果、pH の低い脱灰条件の場合に Brushite が生成し、pH の高い脱灰条件の場合に

Whitlockite が生成された。また、これらの生成部位は象牙質では第2脱灰層、エナメル質では表層下脱灰部であった。

5) 生体温度における *in vitro* での Whitlockite, Brushite の生成条件について検討した。その結果、カルシウムイオンとリン酸イオンの濃度が低い場合には HA のみが生成され、高くなるに従い HA とともに Whitlockite が生成し、さらに高濃度では HA は生成せず、Whitlockite と Brushite、ついで Brushite と Octacalcium phosphate が生成した。マグネシウムイオンとカルシウムイオンのモル比については、 $Mg/Ca = 1/8$ 以下では HA のみが生成し、 $Mg/Ca = 1/4 \sim 1/3$ で HA とともに Whitlockite の生成が認められた。また、反応時の pH が 5.8 以下では Brushite が生成され、pH 6.0 では Brushite とともに Whitlockite がわずかに生成された。そして、pH 6.2 では Whitlockite のみが、pH 6.6 以上では Whitlockite と HA が生成した。

6) 上記の Whitlockite, Brushite の生成条件下

において、極く低濃度のフッ素イオンが共存すれば Whitlockite、Brushite は生成されず、HA のみが生成された。

以上の結果から、う蝕病巣内で caries crystal として検出された Whitlockite、Brushite の生成機序について考察すると、Brushite は pH の低い脱灰過程で、しかも脱灰により生じたカルシウムイオンやリン酸イオンが拡散されにくく、比較的高濃度に保たれた場合に生成されると考えられた。一方、Whitlockite は pH の高まった再石灰化過程で生成されると考えられた。しかしながら、フッ素イオンがある濃度以上共存する場合には、caries crystal と言われるこれらの Whitlockite や Brushite は生成されず、アパタイトとして再石灰化することになった。

稿を終るに臨み、ご指導、ご校閲を賜わった小児歯科学講座祖父江鎮雄教授ならびに歯科理工学講座森脇豊助教に深謝の意を表わします。また、この研究に際し終始有益なご

助言、ご教示を頂いた口腔病理学講座青葉孝昭博士に深く感謝いたします。さらに、さますなご援助を下さった小児歯科学講座、および歯科理工学講座の諸先生に厚くお礼を申し上げます。

文献

- 1) Lenz, H. : Elektronenmikroskopische Untersuchungen am normalen und kariösen Dentin, Berl. Gesundheitsblatt, 19:498-502, 1955.
- 2) Lenz, H. : Elektronenmikroskopischer Nachweis der Dentinveränderungen durch Karies, Dtsch. Zahn-, Mund- und Kieferheilk., 22:24-33, 1955.
- 3) Helmcke, J.G. : Neue Wege der Kariesforschung Die Umschau in Wissenschaft und Technik, 56:243-245, 1956.
- 4) Torell, p. : Direct observation of ultrastructural details in carious dental enamel, Odont. Tidsk., 65:24-27, 1957.
- 5) 片山伊九石衛門 : 人乳歯象牙質蝕の電子顕微鏡的研究, 歯医学, 23:837-861, 1960.
- 6) Höhling, H.J. : Elektronenmikroskopische Untersuchungen am gesunden und kariösen Dentin mit Hilfe der Abdruckmethode und der Schnittmethode, Z. Zellforsch., 53:192-200, 1961.
- 7) Höhling, H.J. : Elektronenmikroskopische Untersuchungen am gesunden und kariösen Zahnschmelz unter besonderer Berücksichtigung der Ultramikrotomschnitt-technik an nicht entmineralisierter Substanz, Dtsch. Zahnärztl. Zschr.,

- 16:694-705, 1961.
- 8) Frank, R.M., et al. : Microscopic electronique de la caries an niveau de la dentin humaine, Archs. oral Biol., 9:163-179, 1964.
- 9) Jackson, D. : Initial considerations on the phenomenon of arrested dental caries, J. Dent. Res., 35:95-96, 1956.
- 10) Höhling, H.J., et al. : Kristallisationsversuche und Elektronenbeugungsuntersuchungen zur Anflärung der chemischen Verbindung der Karieskristalle , D. D. Z.(München), 15:706-710, 1961.
- 11) Vahl, J., et al. : Elektronenstrahlbeugung an rhomboedrisch ansshenden Mineralbildungen in Kariösen Dentin, Archs. oral Biol., 9:315-320, 1964.
- 12) Rowles, S.L., et al. : The inorganic composition of arrested carious dentin, Caries Res., 7:360-367, 1973.
- 13) Frondel, C. : Whitlockite: a new calcium phosphate, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, Amer. Mineral., 26:145-152, 1941.
- 14) Jensen, A.T., et al. : Crystallography of dental calculus and the precipitation of certain calcium phosphate, J. Dent. Res., 33:741-750, 1954.

- 15) Jensen, A.T., et al. : Magnesian whitlockite, a major constituent of dental calculus, Acta. odont. Scand., 15:121-139, 1957.
- 16) 福田健 : 人唾石の性状と関する物理化学的研究, 阪大歯誌, 12:59-66, 1967.
- 17) Dickens, B., et al. : Crystallographic studies of the role of Mg as a stabilizing impurity in β - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, J. Solid State Chem., 10: 232-248, 1974.
- 18) Hayek, E., et al. : Über die Existenz von Tricalcium phosphat in wässriger Lösung, Mh. Chem. Bd., 89:88-95, 1958.
- 19) Schroeder, H.E. : Formation and inhibition of dental calculus, Hans Huber, Berne, Stuttgart and Vienna, 1969.
- 20) Moriss, R.H., et al. : X-ray diffraction analysis of 464 urinary calculi, Amer. J. Clin. Path., 48:413-417, 1967.
- 21) Roufosse, A.H., et al. : Identification of brushite in newly deposited bone mineral from embryonic chicks, J. Ultrast. Res., 68:235-255, 1979.
- 22) 山本順子 : 白斑部エナメル質の物理化学的研究, 小児歯誌, 11:181-195, 1973.
- 23) 岡崎正之ほか : 合成ヒドロキシアパタイト

- トペレット表面での固-液界面現象-
ニ。酸脱灰に及ぼすイオン選択性透過膜の影響-
響-, 歯基礎誌, 21:279-284, 1979.
- 24) 青葉孝昭ほか: 歯質アパタイトにおける
Brushite および Whitlockite の配向析出, 歯基
礎誌, 16:252-259, 1974.
- 25) A. S. T. M. カード : Amer. Soc. Testing Materials, Phi-
ladelphia / X-ray diffraction Data Index, No. 9-432, 13-404,
9-77, 11-184.
- 26) Miller, W.A., et al. : Permeability and staining of active
and arrested lesions in dentine, Bri. dent. J., 112:187-197,
1962.
- 27) Sperber, G.H., et al. : Effect of different acids on chara-
cter of demineralization of enamel surface, J. Dent. Res.,
42:707-723, 1963.
- 28) Francis, M.D., et al. : Hydroxyapatite formation from a
hydrated calcium monohydrogen phosphate precursor, Calc.
Tiss. Res., 6:335-342, 1971.
- 29) Klug, H.P. : X-ray diffraction procedures for polycrystall-
ine and amorphous materials, John Wiley & Sons, New York,

- 1966, p.491-538.
- 30) 加藤慎一: 生犬の歯の人工軟化象牙質の再石灰化について, 口病誌, 35:613-625, 1968.
- 31) Ohgushi, K. et al. : Electron microscopic structure of the two layers of carious dentin, J. Dent. Res., 54:1019-1026, 1975.
- 32) 高橋誠一: 乳歯象牙質蝕蝕病変の micro-radiography による研究, 歯学, 63:375-404, 1976.
- 33) Von der Fehr, F.R. : A study of carious lesions produced in vivo in unabraded, abraded, exposed and F-treated human enamel surfaces, with emphasis on the X-ray dense outer layer, Archs. oral Biol., 12:797-814, 1967.
- 34) Silverstone, L. : The influence of acidified organic gels on the enamel surface in vitro ; in Tooth Enamel, John Wright & Sons, Bristol, 1971, p.197-206.
- 35) Arends, J., et al. : HPO_4^{2-} content in enamel and artificial carious lesions, Calc. Tiss. Res., 18:65-79, 1975.
- 36) Arne, R.H. : Structural features of biologically involved phosphates, Acta. Odont. Scand., 31:149-173, 1973.

- 37) Lazzari, E.P., et al. : Dental biochemistry, Lea & Febriger, Philadelphia, 1968, p.15.
- 38) 福島石寿雄 : 邦人乳歯の化学組成, 日歯学誌, 26:641-644, 1933.
- 39) 須賀昭一ほか : 各種動物エナメル質内の Cl, Mg, Na の分布の X線マイクロアナライザーによる観察, 歯基礎誌, 13:85-94, 1971.
- 40) Suga, S., et al. : Electron probe X-ray microanalysis of developing, erupted and carious dental hard tissues, J. Dent. Res., 46:1251-1252, 1967.
- 41) Johansen, E. : The nature of the carious lesion, Dent. Clin. N. Amer. 1962, p.305-320.
- 42) Trantz, O.R. : X-ray diffraction of biological and synthetic apatites, Ann. N.Y. Acad. Sci., 60:696-712, 1955.
- 43) Hendricks, S.B., et al. : The nature of bone and phosphate rock, Proc. nat. Acad. Sci., 36:731-737, 1950.
- 44) Francis, M.D. : Solubility behavior of dental enamel, Amer. N.Y. Acad. Sci., 131:694-712, 1965.
- 45) Moreno, F.C. : Solubility and thermodynamic data for calcium phosphates, Intern. Symp. on structural properties of hydro-

xyapatite, New York, 1969, chap.15.

46) Brown, W. : Physiochemical aspects of decay and decalcification, Proceed of an intern. Symp. on calcified tissues, Nijmegen, 1971, p.71-99.

47) Pellegrino, E.D., et al. : Mineralization in the chick embryo, Calc. Tiss. Res., 10:128-135, 1972.

48) Brown, W.E., et al. : Crystal growth of bone mineral, Clin. Orthop., 44:205-220, 1966.

49) 青葉孝昭ほか : Octacalcium phosphate の Hydroxyapatite への転化に関する X線回折法による検討, 歯基礎誌, 17:1-7, 1975.

50) Keyes, P.H. : Present and future measures for dental caries control, J. A. D. A., 79:1395-1404, 1969.

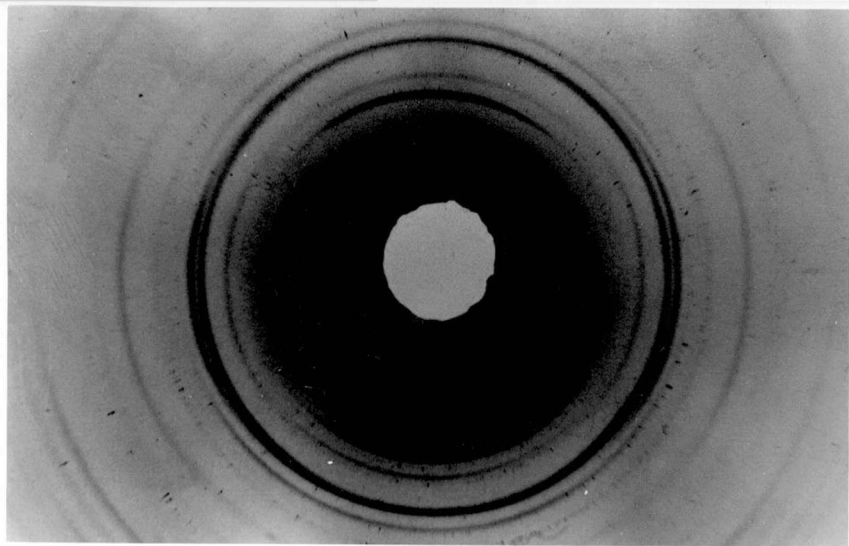
51) MacDonald, R.E., et al. : Superiority of topical application of stannous fluoride on primary teeth, J. Dent. Child., 24:84-86, 1957.

52) 西野瑞穂 : ふっ化ジアンミン銀による乳歯齲蝕の進行抑制に関する研究, 阪大歯誌, 14:1-14, 1969.

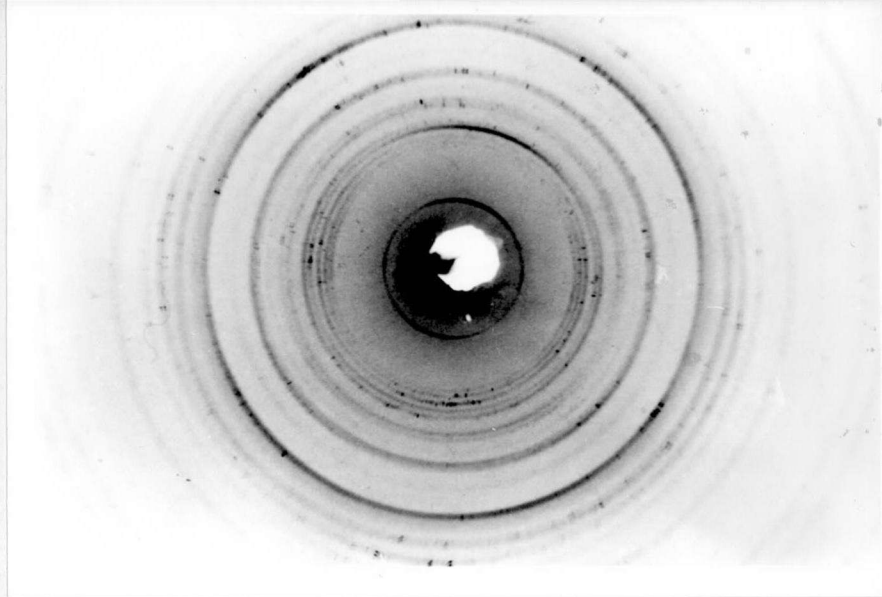
53) 祖父江鎮雄 : 床型保隙装置の隣接面に填

- 塞した SrF₂ 配合セメントの白斑形成に
 対する抑制効果について, 小児歯誌, 9:
 197-216, 1971.
- 54) 森脇豊ほか: フッ化ジアンミン銀の作用
 に関する微小焦点X線回折法による検討
 , 歯理工誌, 15:142-148, 1974.
- 55) McDowell, H., et al. : The solubility of hydroxyapatite at 5,
 15, 25 and 37°C, IADR Program and Abstracts of Papers, No.
 340, 1969.
- 56) Moreno, E.C., et al. : Solubility of whitlockite, β -Ca₃(PO₄)₂,
 IADR Program and Abstracts of Papers, No. 183, 1970.
- 57) Gregory, T.M., et al. : Solubility of CaHPO₄·2H₂O in the
 system Ca(OH)₂ - H₃PO₄ - H₂O at 5, 15, 25, 37.5°C, J. Res.
 Natl. Bur. Stand., 74A:461-475, 1970.
- 58) Andrès, L., et al. : De l'influence de l'addition de certains
 sels minéraux sur la précipitation des phosphates de calcium,
 C. R. Acad. Sci., 234:2285-2287, 1952.
- 59) Ohmori, I., et al. : Biochemical studies on human deciduous
 tooth substances [I] Application of stannous fluoride, Bull.
 Tokyo med. dent. Univ., 9:175-189, 1962.

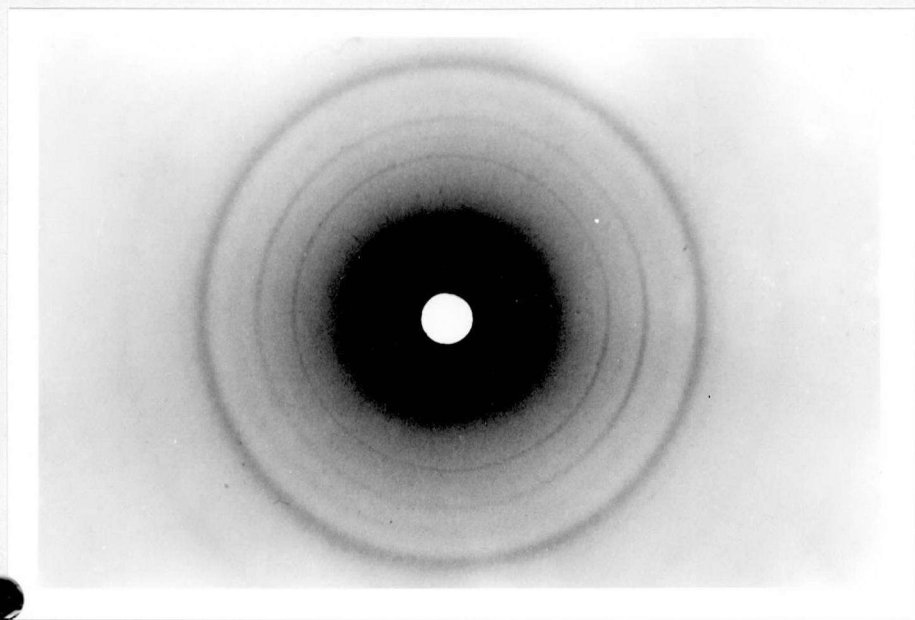
- 60) Levine, R.S. : Distribution of fluoride in active and arrested carious lesions in dentine, J. Dent. Res., 51:1025-1029, 1972.
- 61) Moreno, E.C., et al. : Fluoridated hydroxyapatite solubility and caries formation, Nature, 247:64-65, 1974.
- 62) McCann, H.G. : The solubility of fluorapatite and its relationship to that of calcium fluoride, Archs. oral Biol., 13: 987-1001, 1968.
- 63) Chow, L.C., et al. : Reaction of dicalcium phosphate dihydrate with fluoride, J. Dent. Res., 52:1220-1227, 1973.



a.



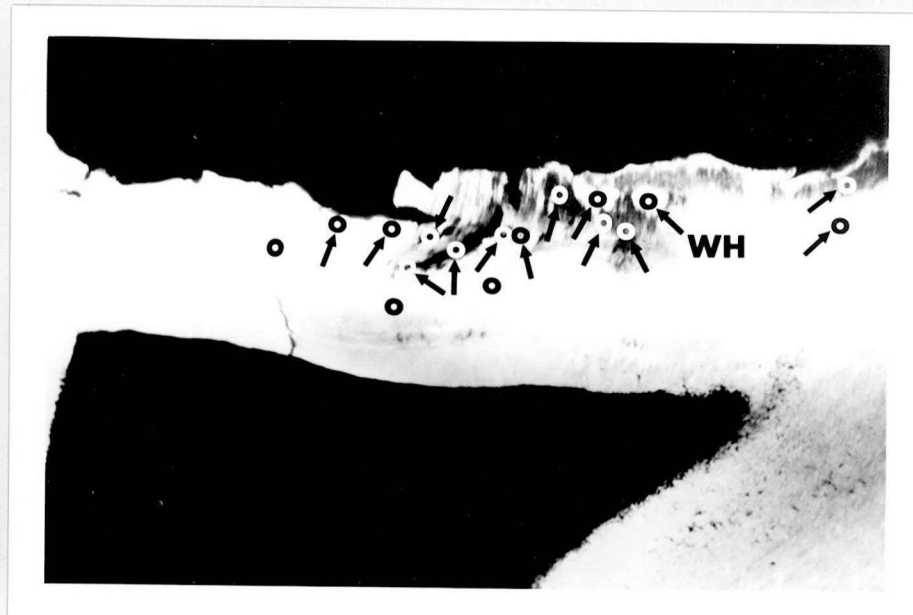
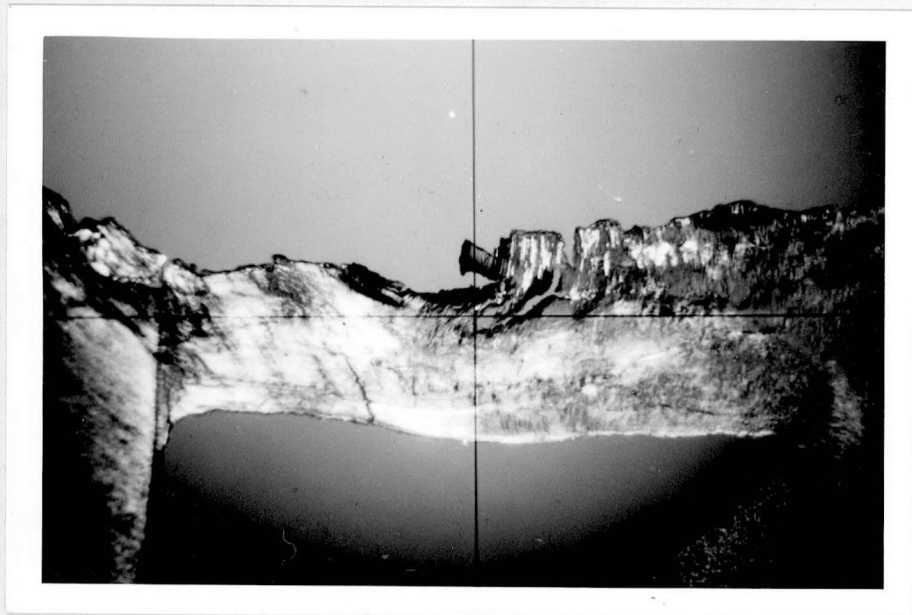
b.



c.

図1. マイクロラウエカメラによるX線回折像

- a. Whitlockiteが確認されたエナメル質う蝕病巣部のX線回折像
- b. Whitlockiteが確認された象牙質う蝕病巣部のX線回折像
- c. Brushiteが確認された象牙質う蝕病巣部のX線回折像



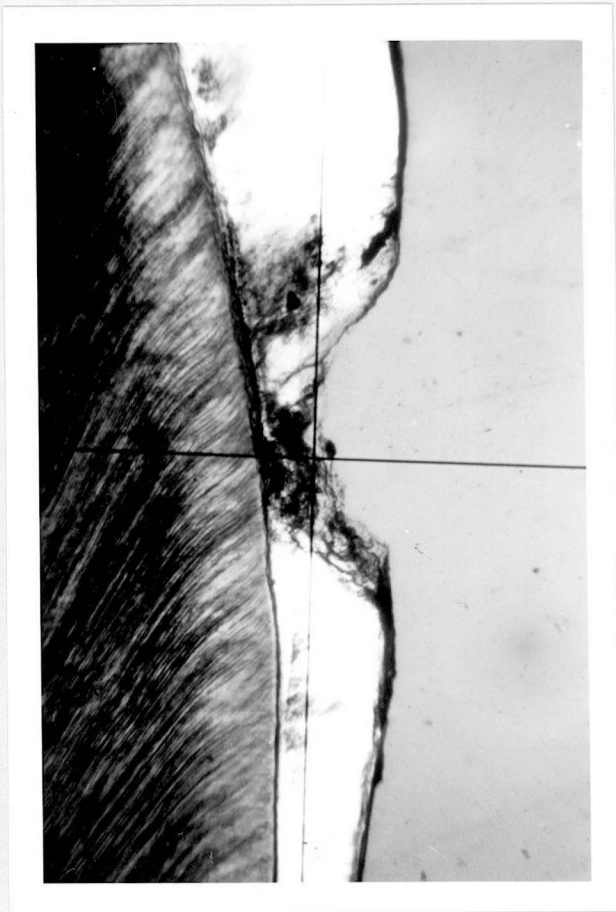
a.

b.

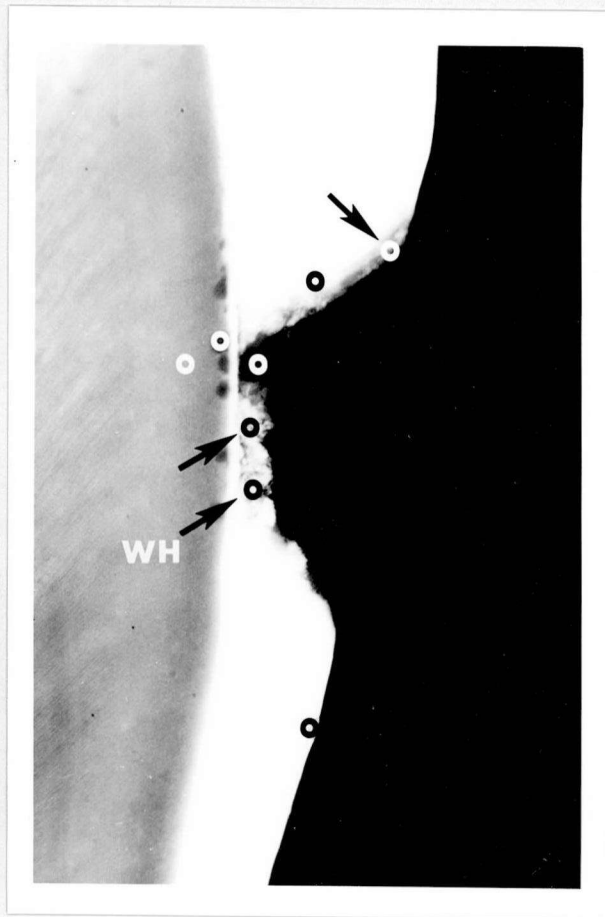
図2. Whitlockite が検出された象牙質の蝕病巣

a. 偏光顕微鏡像 (×20)

b. マイクロラジオグラム (丸印がX線回折部位で、矢印が Whitlockite の検出された部位, WH=Whitlockite, ×20)



a.

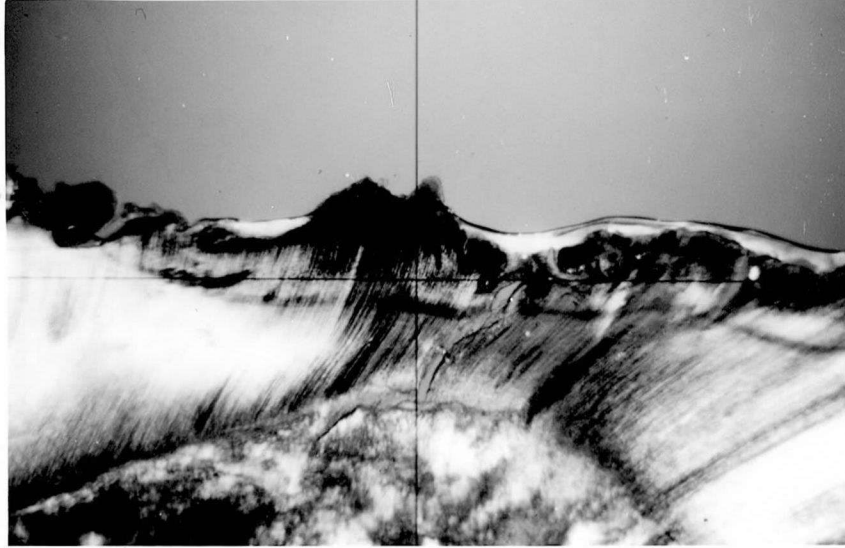


b.

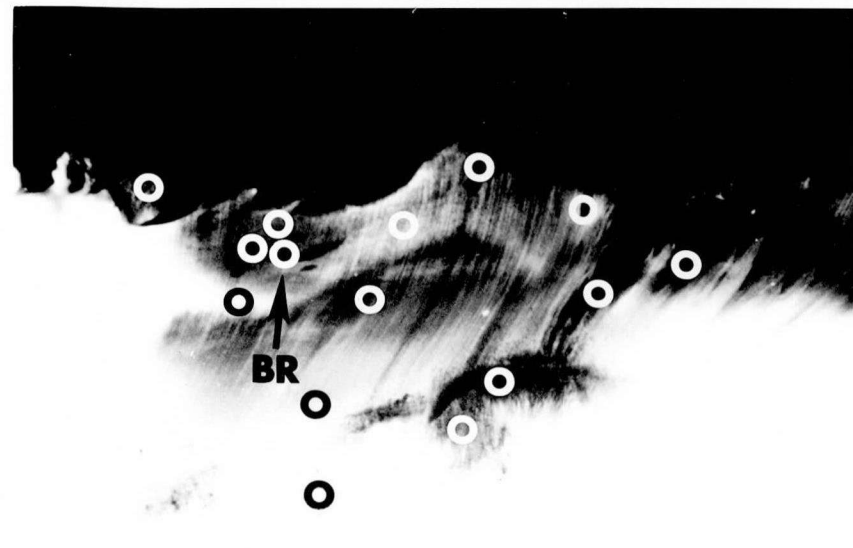
図3. Whitlockiteが検出されたエナメル質う蝕病巣

a. 偏光顕微鏡像 (×20)

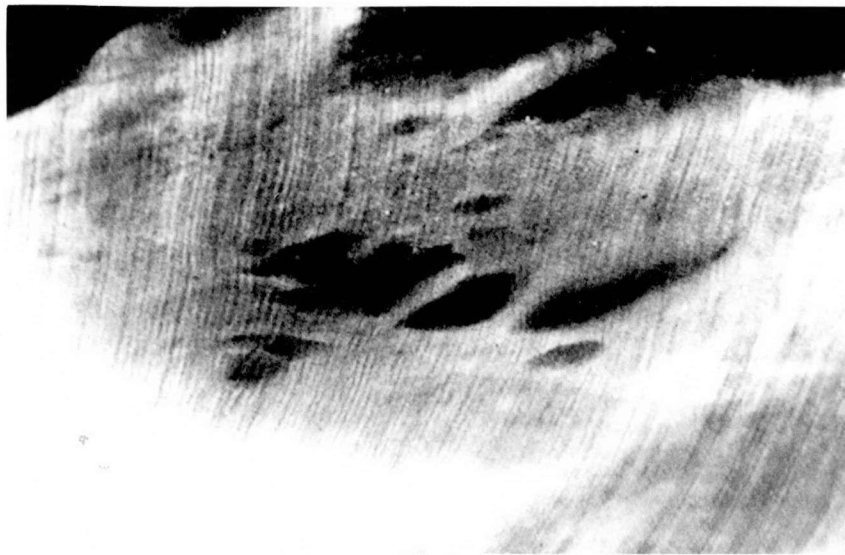
b. マイクロラジオグラム (×20)



a.



b.



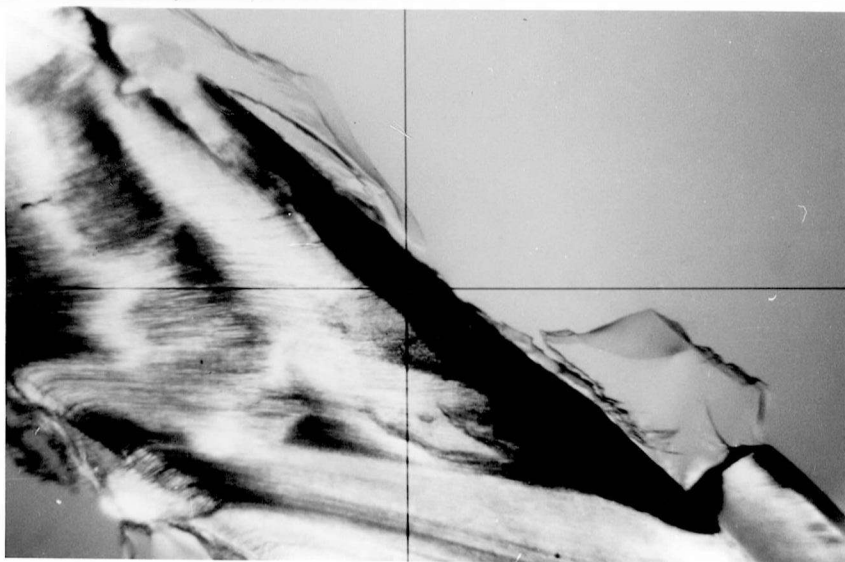
c.

図4. Brushiteが検出された象牙質う蝕病巣

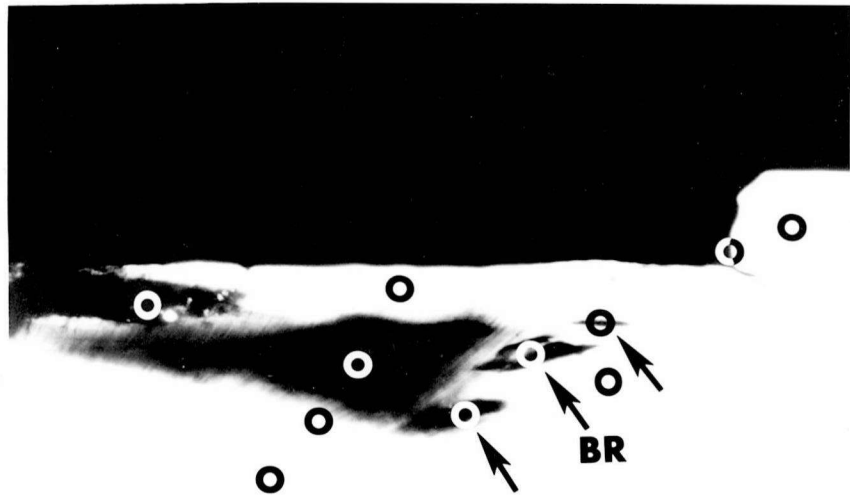
a. 偏光顕微鏡 (×20)

b. マイクロラジエグラム (BR=Brushite, ×20)

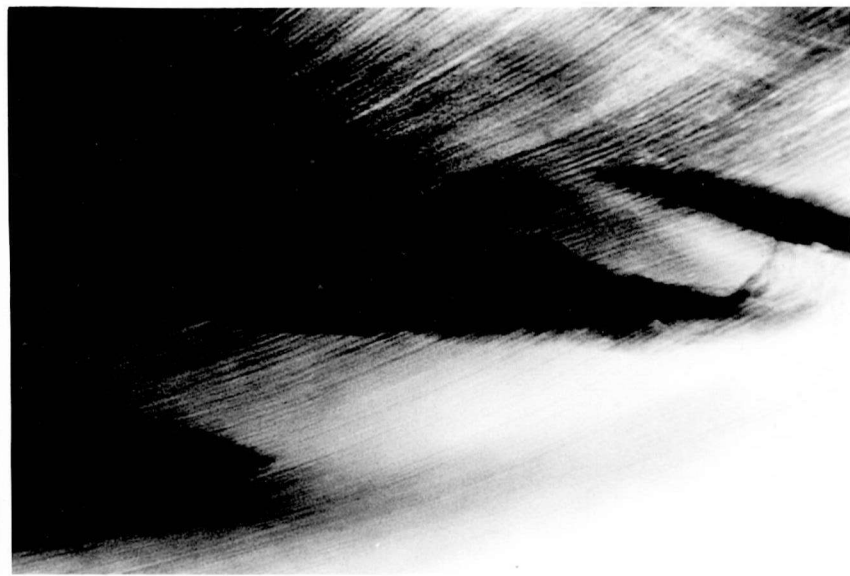
c. Brushiteが検出されたtransverse
cleftのマイクロラジエグラム (×100)



a.



b.



c.

図5. Brushiteが検出された象牙質う蝕病巣

a. 偏光顕微鏡像 (x20)

b. マイクロラジオグラム (x20)

c. Brushiteが検出されたtransverse
cleftのマイクロラジオグラム (x100)

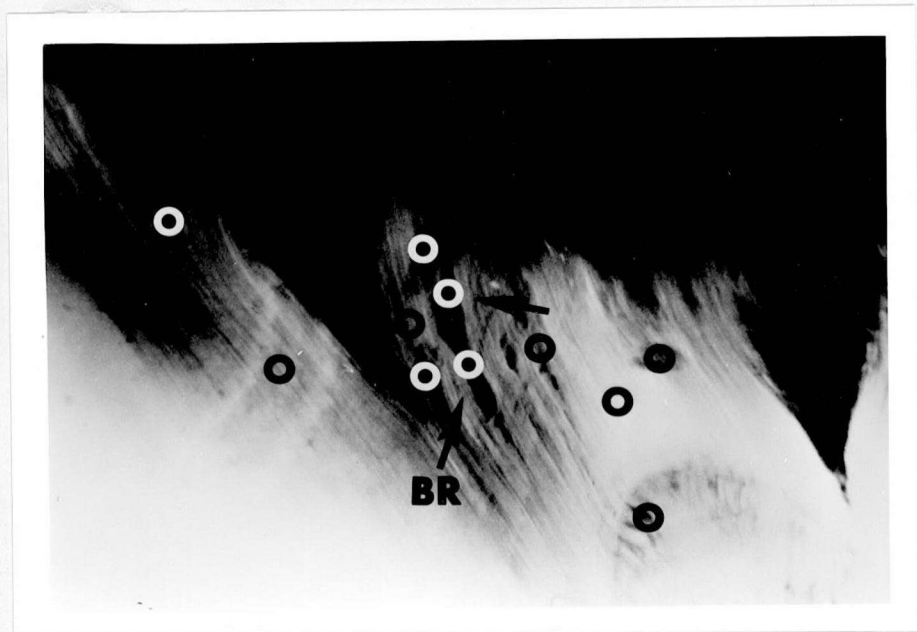


図6. Brushiteが検出された象牙質う蝕病巣
のマイクロラジエグラム (x20)

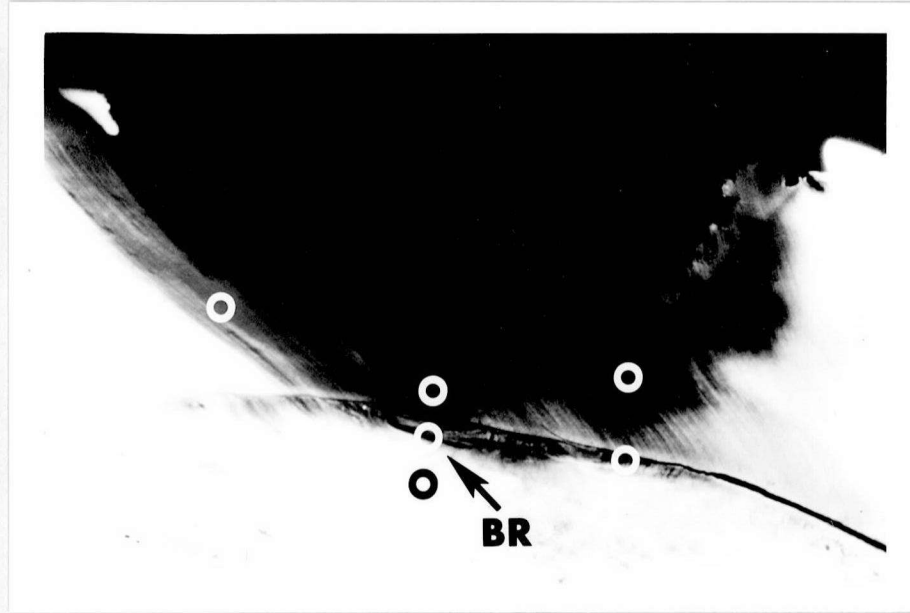


図7. Brushiteが検出された象牙質う蝕病巣
のマイクロラジオグラム (x.20)

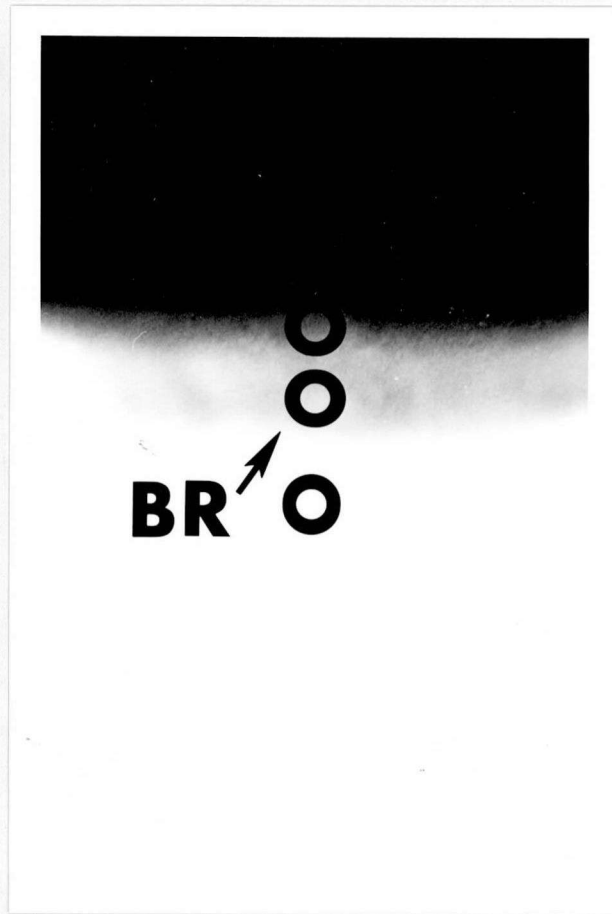


図8. Brushiteの生成が認められたに
象牙質人工脱灰試料のマイクロラジオグラム
(pH 4.0, 2日間脱灰, $\times 100$)

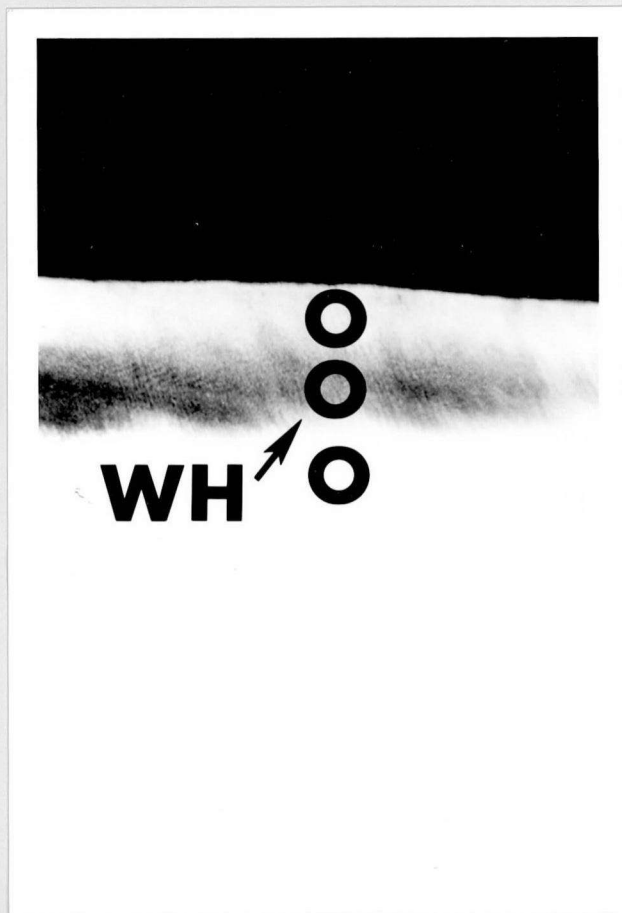


図9. Whitlockiteの生成が認められた
エナメル質入工脱灰試料のマイクロラジオ
グラム (pH 5.5, 6日間脱灰, $\times 100$)

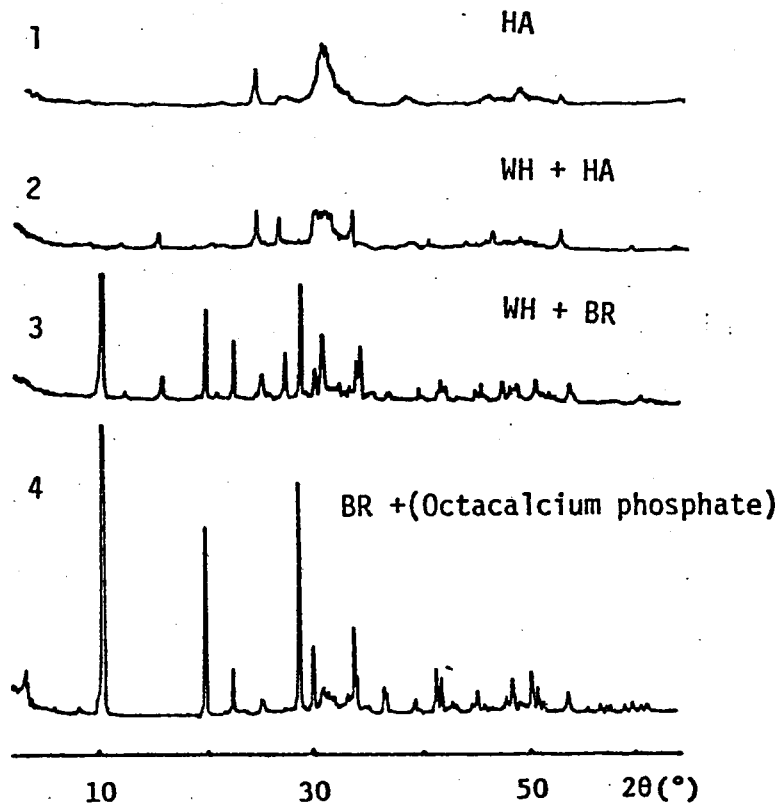


図10. カルシウムイオン、リン酸イオン濃度を変えた場合の
 反応生成物のX線回折像
 (図中1~4は、表IIの試料No.を示す)

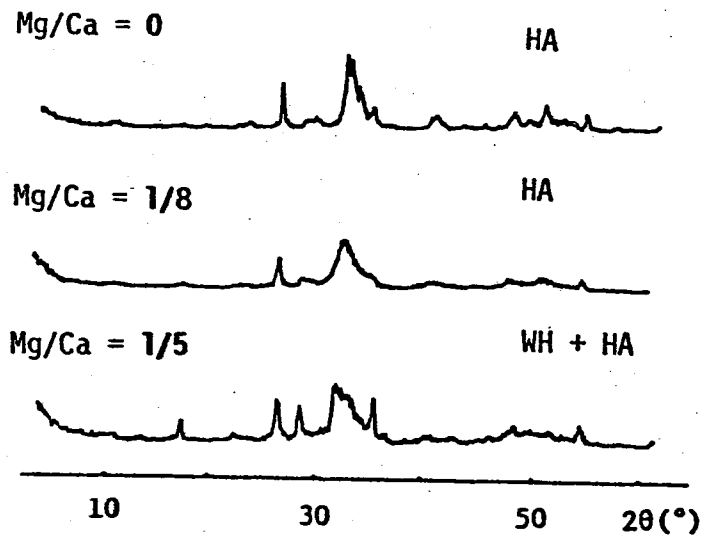


図11. Mg/Ca のモル比を変えた場合の反応生成物のX線回折像

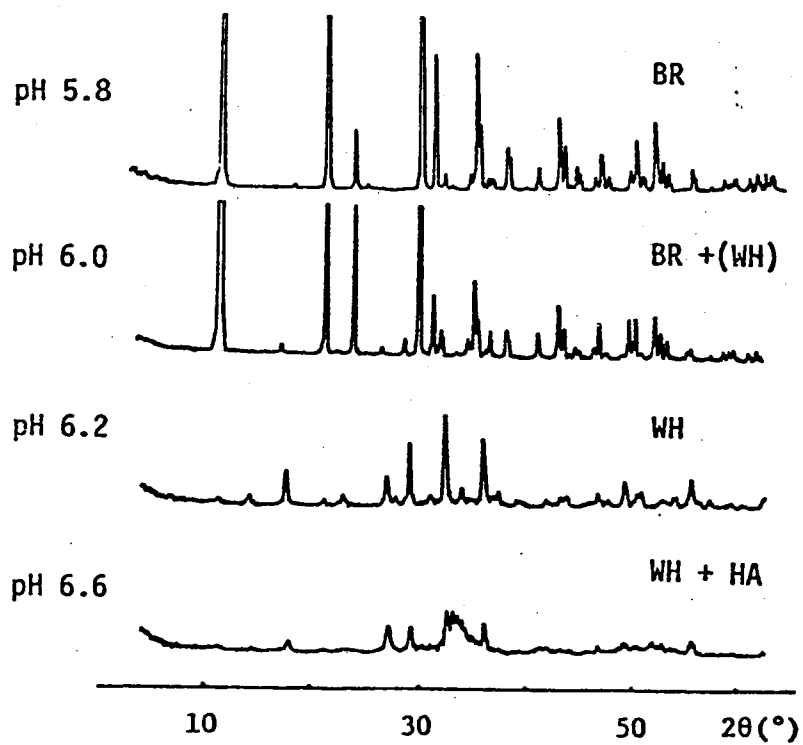


図12. 反応時の pH を変えた場合の反応生成物の X 線回折像

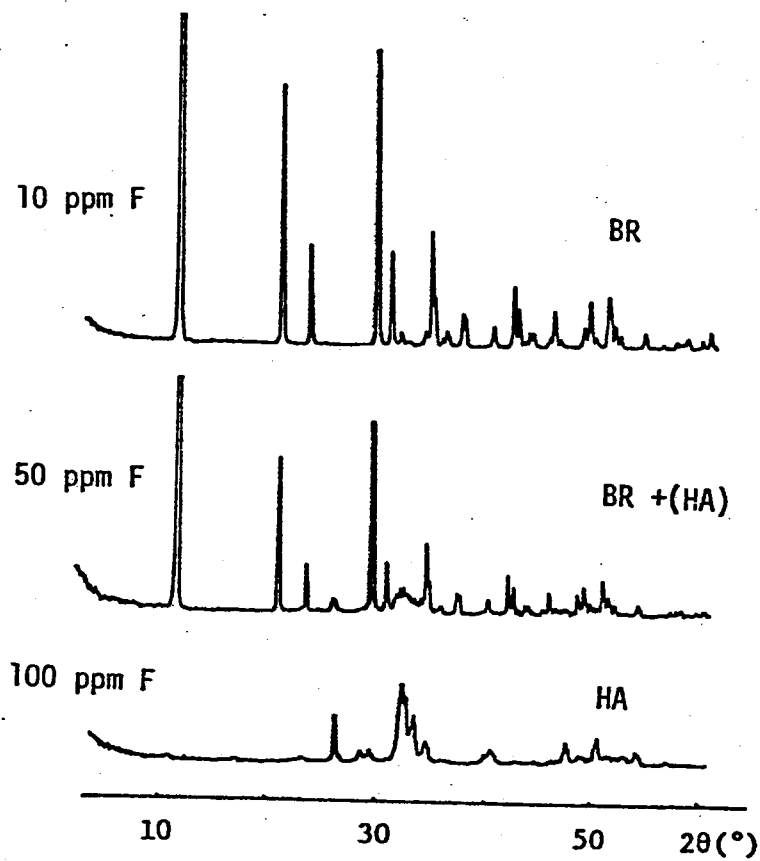


図13. Brushiteの生成条件下(pH 5.4)に、フッ素イオンが共存した場合の反応生成物のX線回折像

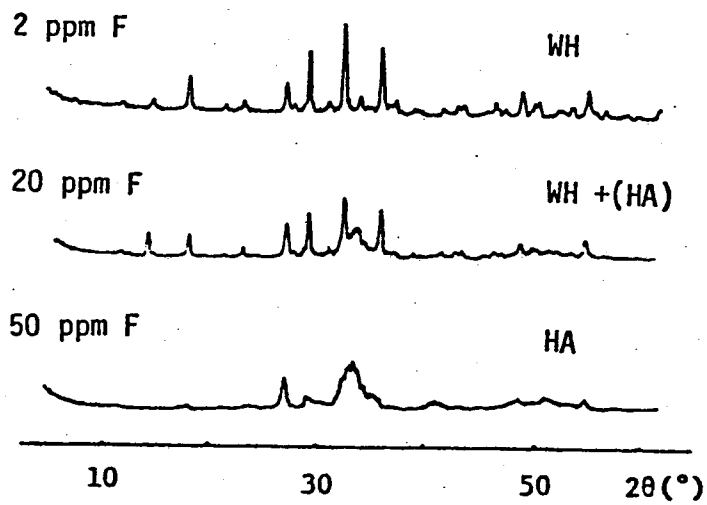


図14. Whitlockiteの生成条件下(pH6.2)に、フッ素イオンが共存した場合の反応生成物のX線回折像

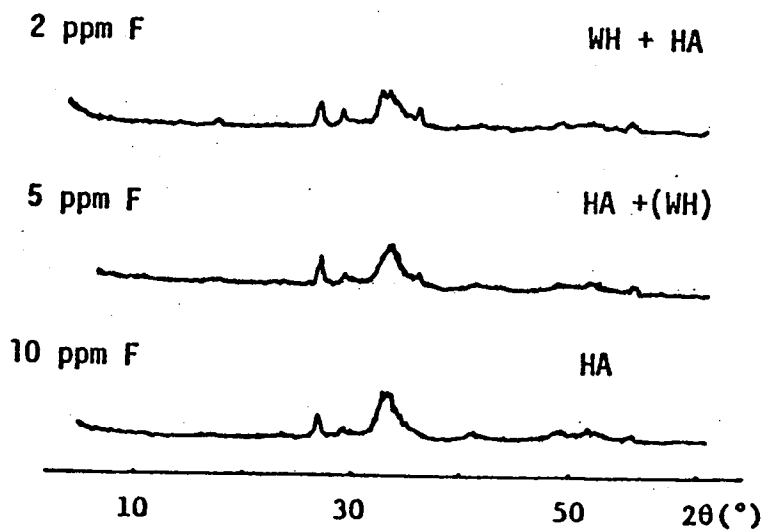


図15. Whitlockite と HA の生成条件下 (pH 7.4) に、フッ素イオンが共存した場合の反応生成物の X 線回折像

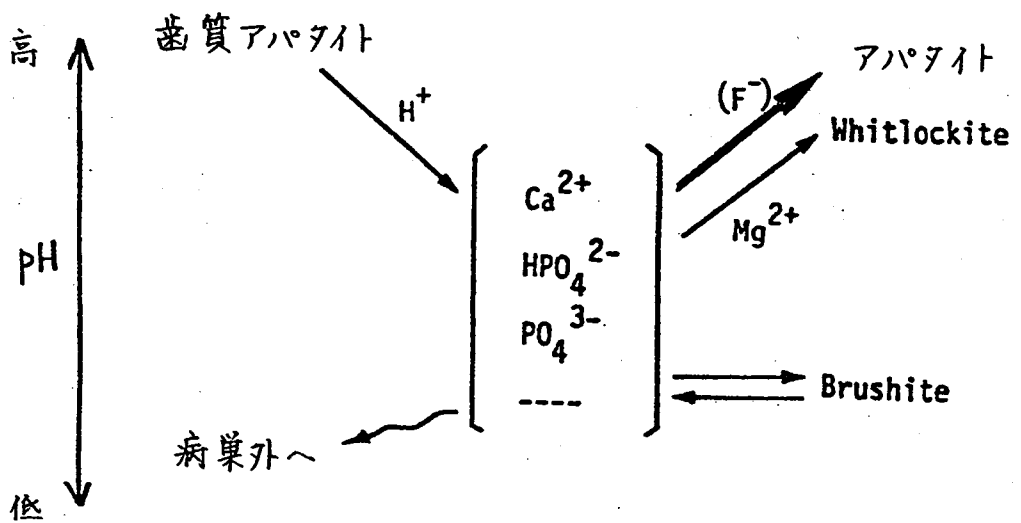


図16. う蝕病巣における Whitlockite, Brushite の生成機序を示す模式図

表1. マイクロラジオグラフィの撮影条件

Target	Cu
Voltage	7 kV
Current	3 mA
Target-Specimen Distance	80 mm
Exposure Time	1/2~2 h
Film	Kodak 649-0
Softex CMR (Nippon Softex)	

表2. 微小焦点X線回折法の測定条件

Radiation	Cu K α
Voltage	50 kV
Current	1.8 mA
Collimeter	100 μ m
Film-Specimen Distance	15 mm
Exposure Time	4~8 h
Film	Fuji Industrial#150
Microfocus Laue Camera & Microflex (RIGAKU)	

表3. 粉末X線回折法の測定条件

Target	Cu
Monochrometer	Graphite
Voltage	35 kV
Current	23 mA
Time Constant	1 sec
Scanning Speed	2°/min
Chart Speed	10 mm/min
Divergency	1°
Receiving Slit	0.2 mm
Counter	Proportional Counter
Diffractionmeter	Geigerflex D-1 (RIGAKU)

表 4. 反応溶液中のカルシウムイオンとリン酸イオンの濃度

試料 No.	カルシウムイオン (mM)	リン酸イオン (mM)
1	5.0	3.9
2	60.0	46.6
3	120.0	90.0
4	180.0	140.0

表5. 反応溶液中のカルシウムイオン, マグネシウムイオン, リン酸イオンの濃度

	Mg/Ca (モル比)								
	0	1/9	1/8	1/7	1/6	1/5	1/4	1/3	1/2
カルシウムイオン (mM)	60.0	60.0	60.0	60.0	60.0	60.0	60.0	60.0	60.0
マグネシウムイオン (mM)	0	6.7	7.5	8.6	10.0	12.0	15.0	20.0	30.0
リン酸イオン (mM)	40.0	44.4	45.0	45.7	46.6	48.0	50.0	53.3	60.0

表6. 反応時の pH と フッ素イオン濃度

pH	フッ素イオン (ppm)							
	0	2	5	10	20	50	100	200
5.4	0	2	5	10	20	50	100	200
6.2	0	2	5	10	20	50	100	
7.4	0	0.01	0.1	1	2	5	50	

表7. 微小焦点X線回折法により, caries crystalの
検出されたエナメル質う蝕病巣

エナメル質う蝕病巣* 試料 No.	Caries crystal	X線回折像
E 2	WH	Spot
E 6	WH	Spot
E15	WH	Spot

WH = Whitlockite

* 試料総数 : 16

X線回折部位総数 : 95

表8. 微小焦点X線回折法により caries crystal が検出された
象牙質う蝕病巣

象牙質う蝕病巣*		Caries crystals	X線回折像
試料No.	病巣の分類**		
D 5	Arrested	WH	Spot
D18	Arrested	WH	Spot
D28	Arrested	WH	Spot
D29	Arrested	WH	Spot
D38	Arrested	WH	Spot
D41	Arrested	WH	Spot
D12	Active	BR	Ring
D23	Active	BR	Ring
D24	Arrested	BR	Ring
D27	Arrested	BR	Ring

WH = Whitlockite, BR = Brushite

* 試料総数：42

X線回折部位総数：168

** Miller & Massler の分類法 (1962)

表9. 象牙質の active caries と arrested caries における
Whitlockite と Brushite の 検出例数

う蝕病巣の分類*	総数	検出例数	
		WH	BR
Active caries	18	0	2
Arrested caries	24	6	2

WH = Whitlockite, BR = Brushite

* Miller と Massler の分類法 (1962)

表10. 人工脱灰によるWhitlockite, Brushiteの生成

pH	脱 灰 時 間 (日)			
	2	3	6	12
3.5	N.D.			
4.0	BR (D)			
4.5	N.D.	N.D.		
5.0	N.D.		WH (D)	
5.5	WH (E)		WH (E)	

WH = Whitlockite, BR = Brushite

N.D.: 検出されず

(D): 象牙質に検出

(E): エナメル質に検出

表11. カルシウムイオン, リン酸イオン濃度と反応生成物

試料 No.	カルシウムイオン (mM)	リン酸イオン (mM)	反応生成物
1	5.0	3.9	HA
2	60.0	46.6	WH + HA
3	120.0	90.0	WH + BR
4	180.0	140.0	BR +(OCP)

(Ca+Mg)/P = 1.5, Mg/Ca = 1/6, pH 7.4 ,
 WH = Whitlockite, BR = Brushite ,
 OCP = Octacalcium phosphate, HA = Hydroxyapatite,
 ()内は、わざわざ生成が認められたもの

表12. マグネシウムイオンとカルシウムイオンのモル比と反応生成物

Mg/Ca (モル比)	反応生成物
0	HA
1/9	HA
1/8	HA
1/7	HA +(WH)
1/6	WH + HA
1/5	WH + HA
1/4	WH + HA
1/3	WH + HA
1/2	HA +(MgNH ₄ PO ₄ ·6H ₂ O)

[Ca²⁺] = 60.0 mM, pH7.4 ,

WH = Whitlockite, HA = Hydroxyapatite,

()内は、わずかに生成が認められたもの

表13. 反応時のpHと反応生成物

pH	反応生成物
4.5	BR
5.4	BR
5.8	BR
6.0	BR +(WH)
6.2	WH
6.6	WH + HA
7.0	WH + HA
7.4	WH + HA
7.8	HA +(WH)

$[Ca^{2+}] = 60.0 \text{ mM}$, $Mg/Ca = 1/5$.

WH = Whitlockite, BR = Brushite.

HA = Hydroxyapatite,

()は、わずかに生成が認められたもの

表14. Brushiteの生成条件下 (pH 5.4) に, フッ素イオンが共存した場合の反応生成物

フッ素イオン (ppm)	反応生成物
0	BR
2	BR
5	BR
10	BR
20	BR +(HA)
50	BR +(HA)
100	HA
200	HA

$[Ca^{2+}] = 60.0 \text{ mM}$, $Mg/Ca = 1/5$,
 BR = Brushite, HA = Hydroxyapatite.

()内は、わずかに生成が認められたもの

表15. Whitlockiteの生成条件下 (pH6.2)に, フッ素イオンが共存した場合の反応生成物

フッ素イオン (ppm)	反応生成物
0	WH
2	WH
5	WH +(HA)
10	WH +(HA)
20	WH +(HA)
50	HA
100	HA

$[Ca^{2+}] = 60.0 \text{ mM}$, $Mg/Ca = 1/5$.

WH = Whitlockite, HA = Hydroxyapatite.

()内は, わずかに生成が認められたもの

表16. Whitlockite と HA の生成条件下 (pH 7.4) に、
フッ素イオンが共存した場合の反応生成物

フッ素イオン (ppm)	反応生成物
0	WH + HA
0.01	WH + HA
0.1	WH + HA
1	WH + HA
2	WH + HA
5	HA + (WH)
10	HA
50	HA

$[Ca^{2+}] = 60.0 \text{ mM}$, $Mg/Ca = 1/5$.

WH = Whitlockite, HA = Hydroxyapatite.

()内は、わずかに生成が認められたもの