



Title	フッ化モリブデン酸アンモニウムの象牙質に及ぼす影響
Author(s)	楽木, 正実
Citation	大阪大学, 1986, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/35186
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

フッ化モリブデン酸アンモニウムの象牙質に
及ぼす影響

Key word : $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$, 象牙質, 鹹蝕抑制

楽木 正実

大阪大学歯学部 小児歯科学講座

大阪府吹田市山田丘1-8

主任：祖父江 鎮雄教授

緒 言

フッ化物による齲蝕予防の手段のひとつとして、歯面塗布が有効なことは、Cheyne¹⁾による報告以来、多くの研究者によって確認され^{2,3,4)}ており、現在もなお研究が続けられている。

臨床の場で歯面塗布剤として使用されてきたフッ化物には、2%フッ化ナトリウム溶液^{5,6)}、8%フッ化第一錫溶液^{7,8)}、酸性フッ素リン酸溶液^{9,10)}および38%フッ化ジアンミン銀溶液（以下フッ化ジアンミン銀と記す）などがある。

なかでも、フッ化ジアンミン銀は、他のフッ化物が齲蝕予防効果（齲蝕発生の抑制）を示すに過ぎないにもかかわらず、齲蝕進行抑制効果（発生した齲蝕の増悪化の抑制）をも有し、強い齲蝕抑制効果を示す。このために、齲蝕活動性の高い小児を対象とするこの多い小児歯科臨床において、フッ化ジアンミン銀は、広く用いられている。しかし、フッ化ジアンミン銀は銀を含有するため、歯質を黒変させるという審美的な面での欠点があり、

のことから、フッ化ジアンミン銀の応用範囲は限られたものになっている。そこで、齲蝕予防効果とともに齲蝕進行抑制効果をも有し、しかも歯質を変色させない薬剤の出現が、小児歯科領域のみならず、一般歯科領域からも渴望されている。

一方、フッ素以外の微量元素についても抗齲蝕性の面から研究が行われている。^{13~17)} モリブデンは、生物にとって必須の元素であり、^{18,19)} 疫学調査や、動物実験によって、抗齲蝕作用のあることが認められ、*mildly cariostatic minerals* の1つとして位置づけされている。^{20,21,22)} ^{23~28)}

このような背景をふまえて、谷口ら²⁹⁾や泉谷ら³⁰⁾は、フッ素とモリブデンの両者を含有するフッ化物であるフッ化モリブデン酸アンモニウム（以下 $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ と記す）について、ラット実験齲蝕系を用いて、齲蝕進行抑制効果を検討した。すなわち、 $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ の局所歯面塗布法による齲蝕抑制効果が、齲蝕予防剤として最も広く用いられている酸性フッ

素リン酸溶液や、最も齲歯進行抑制効果があるとされるフッ化ジアンミン銀との間で比較検討された。その結果、酸性フッ素リン酸溶液と同フッ素濃度の $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ 溶液は、ほぼ同程度の齲歯予防効果を示した。さらに、10% $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ 溶液は38%フッ化ジアンミン銀溶液とほぼ同程度の齲歯進行抑制効果を示した。しかも、 $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ においては、歯質の着色は認められなかった。また、石田ら³¹⁾は、ラットを用いた亜急性毒性の試験から、 $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ 溶液の毒性は、フッ化ジアンミン銀溶液とほぼ同程度にすぎないと報告している。以上の各種研究結果より、 $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ が齲歯抑制剤として有望であると推察される。

落合³²⁾は、 $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ の歯質無機質相に及ぼす影響について検討した。その研究結果より、 $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ は合成炭酸イオン含有ヒドロキシアバタイト(以下 $\text{CO}_3\text{-Apatite}$ と記す)と反応して、Fluoridated apatiteおよび CaF

F_2 を、フッ素のみの効果を主体としたフッ化物より速やかに生成し、同時に CO_3 -Apatite 中の炭酸含有量を減少させ、モリブデンは apatite 結晶格子内に置換する可能性が示唆された。また、高濃度の $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ 処理により、健全エナメル質の耐酸性は向上し、フッ素およびモリブデンは健全エナメル質中に浸透し、表層部においては CaF_2 の生成およびモリブデンの存在が判明した。

しかしながら、エナメル質と同じく歯牙硬組織の構成成分である象牙質に及ぼす影響については今なお全く解明されていない。象牙質はエナメル質に比べて、無機質の結晶性が悪く、有機質相に富み、さらに象牙細管が存在するためイオンの移動や細菌の侵入が容易であるといった組織学的特徴がある。そこで、本研究においては、本剤の象牙質の無機質および有機質に及ぼす影響のメカニズムを明らかすることを目的とし、さらに、臨床応用を想定し、象牙質片を用いて歯面塗布法に

よる耐酸性への影響および象牙細管の経時的
変化を検討した。

材料と方法

供試フッ化物：実験に供したフッ化物は、
 $(NH_4)_2MoO_2F_4$ 溶液（ビーブランド・メディコ
デンタル，大阪），フッ化ナトリウム（NaF）
(和光純薬工業，大阪)，フッ化アンモニウ
ム（NH₄F）（関東化学，東京）およびAg(NH₃)₂
F 溶液（ビーブランド・メディコデンタル，
大阪）である。

象牙質粉末の作製：新鮮抜去牛前歯を抜髓
し、エナメル質およびセメント質をエアータ
ーピンを用い注水下で切削除去した。得られ
た象牙質を遠心粉碎機（日本精密製作所，東
京）で粉碎後、さらにメノウ乳鉢にて粉碎し、
350meshの篩を通して象牙質粉末とした。

X線回折法による分析：表1に示した測定条件でX線回折を行った。得られた回折線をJC
PDSカード値と比較することにより反応生成

物を同定した。

フッ素の定量：試料中のフッ素濃度は McCann³⁴⁾の方法に準じて定量した。すなわち、各試料30mgを0.05N HClO₄溶液3ml中で溶解した。

ついで、0.5M Na₃C₆H₅O₇·2H₂O溶液12mlを加え、pH5.9で、ionalyzer(Orion Research社, 901)およびフッ素イオン電極(Orion Research社, 94-09, 90-01)を用いてフッ素濃度を定量した。

モリブデンの定量：モリブデン濃度は蛍光X線法により定量した。すなわち、各試料100mgをセルロース粉末5.0g中にまぜ、200kgで加圧成型し、ダブルベレットを作製して蛍光X線分析装置を用いてモリブデン濃度を定量した。蛍光X線分析の測定条件を表2に示す。←表2

統計処理：検定は、t検定法によったが、分散に差が認められた場合には、Welchの方法に従った。(P<0.05)

実験1：(NH₄)₂MoO₂F₄と象牙質粉末との反応

10,000 ppm F pH 7.4 の $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$, NaF , NH_4F の各溶液および対照として蒸留水 20ml に、象牙質粉末 500mg を入れ、各々 10, 20, 40 分間 37°C で攪拌下で浸漬反応させた。浸漬終了後、5,000 r.p.m. で 5 分間遠心分離し、沈殿物を回収した。水洗後、37°C で 72 時間乾燥し、X 線回折に供した。X 線回折法による反応生成物の同定後、試料中のフッ素とモリブデン濃度を定量した。

実験 2 : $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ の Brushite および Whitlockite の生成に及ぼす影響

Brushite ($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) および Whitlockite ($\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) の合成は、Hayek らの方法を ³⁵⁾ 改良した野々村の方法によった。すなわち、試薬には、酢酸カルシウム ($\text{Ca}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$) 、酢酸マグネシウム ($\text{Mg}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) および第一リン酸アンモニウム ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$) を用いた。上記試薬の各水溶液を計 400ml で、カルシウムイオン 60mM 、マグネシウムイオン 12mM 、リン酸イオン 48mM となるように混合し、

37°Cで48時間攪拌下で反応させた。反応時のpHは、アンモニア水あるいは酢酸にてpH4.6, 5.4, 6.2に調整した。以上の合成系に、フッ化物として最終濃度が50 ppm Fおよび100 ppm Fとなるように $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$, NaF, NH_4F を添加し、無添加の場合と比較した。反応終了後、5,000 r.p.m.で5分間遠心分離し、沈殿物を、水洗後、37°Cにて72時間乾燥した。得られた試料から、X線回折法により反応生成物を同定し、ついでフッ素濃度を定量した。

実験3： $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ のコラーゲンの溶解に及ぼす影響

市販の不溶性コラーゲン(Sigma社, Type I) 50mgを、10% $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ 溶液pH7.5 20ml中に浸漬し、ただちにHClを添加して、pHを7.5, 6.5, 6.0, 5.5, 5.0, 4.5に調整し、37°C 4時間攪拌下で反応させた。対照として、蒸留水20mlにコラーゲンを浸漬した。浸漬終了後、コラーゲンを遠心分離、水洗し、凍結乾燥したもの処理試料とした。ついで、各処理試

料を、1,700単位のコラゲナーゼ(Sigma社, Type I)を含む0.05Nトリス塩酸緩衝液pH7.4(0.001MのCaCl₂を含有)20mlに加え、37°C 2時間攪拌下でインキュベートした。インキュベート終了後、5mlのエチルアルコールを加えて酵素反応を停止し、可溶化したコラーゲンを得るために遠心分離し、上清液を採取した。減圧乾燥後、6N HCl 0.2mlを加えて封管し、110°Cで20時間加水分解した。脱気後、Neumann & Logan氏法³⁷⁾でハイドロキシプロリン量を定量した。

また、(NH₄)₂MoO₂F₄溶液の構成成分であるフッ素イオンおよびアンモニウムイオンの影響を検討するために、2%NaF pH7.2、ならびに10%(NH₄)₂MoO₂F₄とフッ素濃度を同一にした6.17%NH₄F pH6.9とを用いて、pH未調整の状態とpH6.0およびpH5.5の状態で、同様の実験を行った。

実験4：(NH₄)₂MoO₂F₄の象牙質の耐酸性に及ぼす影響

健全牛前歯歯冠部のエナメル質を注水下で切削除去して得られた象牙質片に、インレーワックスにて、4.0×6.0mmのwindowを作製した。象牙質片6個を1群として5群に分け、1群は蒸留水塗布の対照群とし、他の4群はそれぞれ1%, 5%, 10%, 20% $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ 塗布群とした。各薬剤の塗布時間は4分間とし、塗布後充分水洗し、処理試料を0.2M pH4.6酢酸緩衝液4ml中に、30分、1時間、2時間、3時間、6時間および9時間浸漬し、溶出カルシウム量を原子吸光分光光度計（島津製作所、model AA-640-02）を用いて定量した。

さらに、上記の方法に準じて10% $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ (32,000ppmF) と2% NaF (9,000ppmF) および38% Ag(NH_3)₂F (45,000ppmF) の象牙質の耐酸性向上作用を、対照として蒸留水を用いて比較検討した。

同様に、2% NaFとフッ素濃度を同一にした2.8% $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ および7.66% Ag(NH_3)₂Fについても検討を加えた。

次に、フッ化物を塗布した象牙質を、人工組織液に浸漬保存し、耐酸性向上作用を比較検討した。すなわち、10% $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ ，2%NaF，38% $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ および対照として蒸溜水を塗布した象牙質片を、Gey's B.S.S. (NaHCO_3 は含まず)15ml中に、7日間浸漬した。³⁸⁾なおGey's B.S.S.は、24時間毎に交換した。浸漬保存後、耐酸性の向上作用を、前述の方法に準じて比較検討した。

実験5： $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ の象牙質の微細構造に及ぼす影響

健全牛前歯より、象牙細管の走行に垂直な破断面をもつ象牙質片を作製した。薬剤塗布面とした破断面以外をインレーワックスで被い、10% $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ ，2%NaF，38% $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ を4分間塗布した。対照として、フッ化物を塗布した象牙質片に隣接していた象牙質片に蒸留水塗布を行った。水洗後、Gey's B.S.S. (NaHCO_3 は含まず)15mlに37°C 8週間浸漬保存した後、水洗、乾燥した。なおGey's B.S.S.

は、24時間毎に交換した。塗布直後および8週間浸漬保存後の象牙質処理試料を2分割し、一方を通法に従いB.P.S.樹脂に包埋し、塗布面に垂直な面が得られるように、ライブ研磨機（ウイング社、Type 025-097）を用いて研磨した。研磨後、カーボン蒸着し、X線マイクロアナライザー（以下EPMAと略す）（島津製作所、JXA-50A）を用いて、試料表層から内層に向かって、F, Mo, Ca, P, Ag (Agについては、 $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ 塗布試料のみ)について、表3に示す条件で、線分析を行った。他方は、金蒸着後、走査型電子顕微鏡（以下SEMと略す）（日立一明石、MSM-4S）にて、象牙質表面を観察した。さらに、SEMによる観察に用いた象牙質片から、あらかじめ約1mm角の微少部分を切出しておき、未脱灰でEPON樹脂に包埋し、未染色で象牙質最表層部分の超薄切片を作製した。得られた厚さ約600Åの超薄切片を透過型電子顕微鏡（以下TEMと略す）（日立製作所、HU-12Aおよび日本電子、2000EX）を用いて観察 ←表3

し、X線分析および電子線回折により反応生成物を同定した。

実験結果

実験1：(NH₄)₂MoO₂F₄と象牙質粉末との反応

X線回折による分析結果：10,000 ppm Fの(NH₄)₂MoO₂F₄, NaF, NH₄F溶液ならびに蒸留水で処理した各試料のX線回折像を図1に示す。いずれの試料においてもapatite構造を示す回折像が得られた。さらに10,000 ppm F (NH₄)₂MoO₂F₄およびNH₄F処理試料においては、2θが28.3°, 47.0°および55.8°にapatite以外の回折線が認められた。この回折線は、JCPDSカード値と比較することにより、CaF₂の(111), (220)および(311)回折線であることが判明した。図中では、CaF₂の回折線を●印で示した。その強度は浸漬時間の延長とともに増加したが、逆にapatite回折線の強度は減少した。さらにCaF₂の(111)とapatiteの(211) ←図1

)回折線の強度比から、 $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ の方が NH_4F より CaF_2 を速やかに生成することが判明した。一方 NaF 処理試料では、40分間浸漬後もX線回折像からは、 CaF_2 の回折線は認められなかつた。

試料中のフッ素濃度：各処理試料中のフッ素濃度を図2に示す。フッ素の取込み量は、 $\xleftarrow{\text{図2}}$ $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ 処理試料が有意に最も多く、40分間浸漬後には6.90%に達した。ついで NH_4F 処理試料が高く、40分後に5.08%であった。 NaF 処理試料では、40分後も1.32%に達するにすぎなかつた。

試料中のモリブデン濃度： $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ 処理試料中のモリブデン濃度を、図3に示す。 $\xleftarrow{\text{図3}}$ $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ 処理試料では、10分間浸漬した試料で約570ppmのMoが検出されており、その後浸漬時間が増加しても、Mo濃度の上昇は認められなかつた。

実験2： $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ のBrushiteおよびWhitlockiteの生成に及ぼす影響

X線回折による分析結果：図4に示すよう ←図4
に合成系のpHをpH4.6とpH5.4とし、フッ化物
を添加しなかった場合にはBrushiteが生成し、
pHをpH6.2とした場合には、BrushiteとWhit
lockiteが生成した。

Brushiteの生成された条件、すなわちpH4.
6およびpH5.4において、50ppmFおよび100ppm
Fの $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ 、NaF、 NH_4F を添加して得ら
れた反応生成物のX線回折像を図5、6に示 ←図5,6
す。50ppmFのフッ化物を添加した場合には、
いずれのフッ化物であっても、Brushiteに加
えて、 $2\theta = 25.9^\circ, 28.1^\circ, 31.8^\circ, 32.2^\circ, 32.9^\circ$
などに新しい回折線が出現し、apatiteの(00
2), (102), (112), (300)などの回折線であると
判定された。さらに100ppmFの各種フッ化物
を添付した場合には、ほとんどの回折線がap
atiteのものとなり、Brushiteの生成は 2θ
 11.6° の(020)回折線などにわずかに認められ
たのみであった。

BrushiteとWhitlockiteが生成された条件

、すなわちpH6.2において、50 ppmFおよび100 ppmFの $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ 、NaF、 NH_4F を添加して得られた反応生成物のX線回折像を図7に示す。50 ppmFのフッ化物を添加した場合には、いずれのフッ化物であっても、Whitlockiteの回折線は消え、apatiteの(002),(102),(211)回折線が出現した。さらに100 ppmFのフッ化物を添加した場合には、BrushiteおよびWhitlockiteは生成されず、apatiteのみが生成された。

以上この合成系にどのフッ化物を添加した場合であっても、同程度にapatiteが生成した。

反応生成物中のフッ素濃度：BrushiteおよびWhitlockiteの合成系にフッ化物を添加して得られた各種反応生成物中のフッ素濃度を図8に示す。どのフッ化物の場合も添加量が多いほど、またpHが低いほど、フッ素の取込み量は増加した。なお、各フッ化物間では取込みフッ素量に差は無かった。

以上より、50 ppm F および 100 ppm F の $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ は、Brushite および Whitlockite 合成系において、NaF や NH_4F と同程度に、Fluoridated apatite の生成に寄与する可能性が示唆された。

実験 3 : $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ のコラーゲンの溶解に及ぼす影響

10% $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ 溶液および蒸留水処理したコラーゲンのうちコラゲナーゼによって溶解したコラーゲン中のハイドロキシプロリン量を図 9 に示す。蒸留水および pH 7.5, 6.5, 5.0, 4.5 の 10% $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ で処理したコラーゲンでは、約 5 mg のハイドロキシプロリンが溶出した。しかし pH 6.0 および pH 5.5 の 10% $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ 処理したコラーゲンでは、ハイドロキシプロリンが全く溶出されず、コラゲナーゼによる溶解を全く受けていないことが判明した。 ← 図 9

次に、2% NaF、ならびに 10% $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ と F 濃度を同一にした 6.17% NH_4F とで処理した

場合、溶出したハイドロキシプロリン量を図 ←図10 10に示す。いずれのpHのNaFおよびNH₄Fで処理しても、平均約4mgのハイドロキシプロリンが溶出した。なお、1番目と2番目の実験で溶出したハイドロキシプロリン量には、統計的に有意差は認められなかった(N=6, P<0.05)。

実験4：(NH₄)₂MoO₂F₄の象牙質の耐酸性に及ぼす影響

1, 5, 10, 20% (NH₄)₂MoO₂F₄および蒸留水を4分間塗布した象牙質片の耐酸性を、脱灰溶液中に溶出したカルシウム量で評価した結果を図11に示す。いずれの濃度においても (NH₄)₂MoO₂F₄ 塗布群では蒸留水塗布群に比べて、有意に溶出カルシウム量が減少していた。さらに、1, 5, 10% (NH₄)₂MoO₂F₄ 塗布群間においては、濃度が高いほど、溶出カルシウム量も有意に減少した。しかし、10%と20% (NH₄)₂MoO₂F₄ 塗布群間においては、有意差は認められなかった。以上より、(NH₄)₂MoO₂F₄の象牙質における耐酸性の大きな向上作用は、10%濃度

でほぼ最大に達することが判明した。

次に、 $10\%(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ ， $2\%\text{NaF}$ ， $38\%\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ および蒸留水を塗布した直後の象牙質片の耐酸性の評価の結果を図12に示す。3種のフッ化物塗布群は、蒸留水塗布群より有意に溶出カルシウム量が減少していた。 $10\%(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ と $38\%\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ 塗布群との間には有意差は認められなかつたが、両群は、 $2\%\text{NaF}$ 塗布群より有意に溶出カルシウム量が減少していた。
←図12

$2\%\text{NaF}$ にフッ素濃度を合せた、 $2.8\%(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ および $7.66\%\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ を塗布した直後の象牙質片の耐酸性の評価の結果を図13に示す。 $2\%\text{NaF}$ と同一フッ素濃度にした場合も、3種のフッ化物塗布群は蒸留水塗布群より有意に溶出カルシウム量が減少していた。3種のフッ化物間では有意差は認められなかつたが、 $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ 塗布群の溶出カルシウム量は、他のフッ化物塗布群より低い傾向が認められた。
←図13

次に $10\%(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ 、 $2\%\text{NaF}$ 、 $38\%\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ および蒸留水を塗布した象牙質片を、 NaHCO_3 を含まない Gey's B.S.S. 中に 7 日間浸漬した後の耐酸性の評価の結果を図 14 に示す。3 ←図14
種のフッ化物塗布群は、蒸留水塗布群より有意に溶出カルシウム量が減少していた。 $10\%(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ 塗布群は、 $2\%\text{NaF}$ 塗布群より有意に溶出カルシウム量が減少していたが、 $38\%\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ 塗布群との間では有意差を認めなかつた。

実験 5 : $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ の象牙質の微細構造に及ぼす影響

$\text{F}, \text{Mo}, \text{Ca}, \text{P}, \text{Ag}$ の濃度分布 : $10\%(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ 、 $2\%\text{NaF}$ 、 $38\%\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ および蒸留水を塗布した直後の象牙質片を、表層から内層に向かって EPMA により線分析した結果を図 15 に示す。←図15
蒸留水塗布試料では、 $\text{FK}\alpha$ および $\text{MoL}\alpha$ は検出されず、 $\text{CaK}\alpha$ および $\text{PK}\alpha$ の強度は表層から内層に向かってほぼ一定であった。 $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ 塗布試料においては、 $\text{FK}\alpha$ および MoL

α の強度は内層約 $40 \mu\text{m}$ まで増加していた。P
 $K\alpha$ は逆に内層約 $40 \mu\text{m}$ まで減少していたが、
 $\text{CaK}\alpha$ の強度はほぼ一定であった。さらに内
層約 $5 \mu\text{m}$ までは、 $\text{FK}\alpha$ の著明な上昇および $\text{PK}\alpha$
の著明な減少が認められた。NaF塗布試料
においては、 $\text{MoL}\alpha$ は検出されず、 $\text{FK}\alpha$ の強
度の上昇も認められなかった。 $\text{CaK}\alpha$ および $\text{P}\alpha$
の強度も表層から内層までほぼ一定であ
った。 $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ 塗布試料においては、 $\text{FK}\alpha$
は内層約 $10 \mu\text{m}$ まで上昇し、 $\text{AgL}\alpha$ は内層約 73
 $0 \mu\text{m}$ まで上昇していたが、 $\text{MoL}\alpha$ は検出され
ず、 $\text{CaK}\alpha$ および $\text{PK}\alpha$ の強度もほぼ一定であ
った。

局所塗布後 8 週間 NaHCO_3 を含まない Gey's
B.S.S. 中に浸漬保存した象牙質片の EPMA によ
る線分析の結果を図 16 に示す。蒸留水、 $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ 、
 NaF 、 $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ のいずれの塗布試
料においても、 $\text{FK}\alpha$ 、 $\text{MoL}\alpha$ は検出されず、 $\text{CaK}\alpha$ および $\text{PK}\alpha$ の強度もほぼ一定であつた。
←図16

形態学的変化： $10\%(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ 、 $2\%\text{NaF}$ 、

38% $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ の各溶液を局所塗布した直後の象牙質表面の走査型電子顕微鏡像を図17に示す。 $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ 塗布試料では、象牙質表面に直径約 $0.2 \mu\text{m}$ の球状の生成物を認めた。この反応生成物について同定を行うために、表面を平滑にした牛前歯由来の象牙質片に 10% $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ を塗布し、X線回折した結果を図18に示す。 $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ 塗布試料においては、 CaF_2 の回折線が認められ、SEMで観察された球状の生成物は、 CaF_2 であることが推察された。 NaF 塗布試料では、蒸留水塗布試料と比べて、著明な変化は認められなかつた。 $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ 塗布試料では、 $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ 塗布試料と同様に球状の生成物(点A)が観察され、さらに表面が平滑な部位(点B)には、X線分析の結果により、カルシウム、リン以外に銀が大量に存在することを認めた(図19)。

10% $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ 、2% NaF 、38% $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ の各溶液を局所塗布した象牙質の、可及的に表層に近い部分の透過型電子顕微鏡を図20に示す。

す。TEMによる観察からは、 $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ 塗布試料においては、象牙細管内に直径0.1~0.2 μm の球状の生成物(点a)が認められた。NaF塗布試料においては、蒸留水塗布試料に比べて変化は認められなかった。 $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ 塗布試料においては、象牙細管内に電子密度の高い微粒子(点b)が観察された。

点a, bおよび管間象牙質点itについて、X線分析を行った結果を図21に示す。点aにおいては、Ca/P比が点itに比べて増加していた。点bでは、CaとP以外にAgとSが検出された。次に点a, bおよび点itの部分を同定するため電子線回折を行った(図22)。管間象牙質である点itでは、Hydroxyapatiteの回折パターンを示したが、 $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ 塗布により生成した点aでは CaF_2 の(111)および(220)回折線が観察され、 CaF_2 の生成が象牙細管内にもおよぶことが判明した。 $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ 塗布により生成した点bでは、apatiteの回折パターンに加えて、 Ag_2S の(121)と(213)のスポット

ットおよび CaF_2 の(220)回折線が観察された。

次に、各フッ素溶液塗布後8週間Gey's B.S.S.に浸漬保存した象牙質の表面の走査型電子顕微鏡像を図23に、透過型電子顕微鏡像を ←図23
図24に示す。 ←図24

SEMによる観察から、8週間経過後には、10% $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ 塗布試料では蒸留水塗布試料に比べて表面が平滑になり、同様の傾向は2%NaF塗布試料においても認められた。38%Ag(NH_3)₂F塗布試料においては、表面は小柱状の結晶で被われていた。

TEMによる観察から、 $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ 塗布試料では、象牙細管内に針状の結晶(点c)の成長を認めた。蒸留水およびNaF塗布試料では、そのような像は観察されず、塗布直後に比べて変化を認めなかった。Ag(NH_3)₂F塗布試料では、象牙細管内に小柱状の結晶(点d)が多数成長している像が観察された。

象牙細管内に成長した結晶である点c, dおよび管間象牙質である点itについての電子

線回折の結果を図25に示す。点cおよびdは、←図25
いずれも点itと同様にHydroxyapatiteの回折
パターンを示し、 $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ は $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$
にはおよばないものの、Hydroxyapatiteの生
成による象牙細管の封鎖傾向を有することが
示唆された。

考 察

$(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ の象牙質無機質相との反応様
式を検討するにあたり、フッ素濃度および対
照としたフッ化物は次の理由により選んだ。
すなわちフッ素濃度としては、谷口ら²⁹⁾や泉谷
ら³⁰⁾により齲歯抑制効果を検討したラット実験
齲歯系において、約9,000 ppmFから約32,000 p
pmFという高濃度が用いられたこと、および
局所歯面塗布に用いられる2%NaFが約9,000
ppmFであることを考慮して、10,000 ppmFに設
定した。対照として供試したフッ化物としては、本剤には、フッ素イオンのみならずモリ
ブデンやアンモニウムイオンの作用をも有す

る可能性のあることを考慮する必要があることから、NaF溶液とNH₄F溶液とを選んだ。

10,000 ppm F(NH₄)₂MoO₂F₄およびNH₄Fは象牙質粉末と反応してCaF₂を生成し、その生成量は浸漬反応時間の延長と共に増加した。さらに(NH₄)₂MoO₂F₄は、NH₄Fより速やかにCaF₂を生成させ、Fの取込み量も、3種類のフッ化物の中で最も多かった。なおNaFでは、40分間反応後もX線回折の結果からはCaF₂の生成は認められなかった。これらの結果は、象牙質粉末のかわりにCO₃-Apatiteを用いて同様の実験方法で本剤の反応様式を検討した落合の報告と一致していた。³²⁾ 本実験に用いた牛の象牙質は落合が用いたCO₃-Apatiteに比べ結晶性が悪く、かつ約20%の有機質を含んでいたにもかかわらず、(NH₄)₂MoO₂F₄とその無機質相との反応が同様であった。したがって、本剤のCO₃-Apatiteとの反応を検討した落合の研究成果を10,000 ppm Fという高濃度においては、象牙質の場合にも適応可能であろう。

$(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ が 3 種のフッ化物のなかで最も速やかに CaF_2 を生成させた理由としては、本剤がフッ素のほかにモリブデンやアンモニウムイオンを含んだフッ化物であることに起因するものと考えられる。アンモニウムイオンを含む NH_4F は同フッ素濃度の NaF よりエナメル質へのフッ素の取込み量が多いことが報告されている。^{39,40,41)} また、 NaF 溶液により生成される CaF_2 に比べて、 NH_4F によるもののほうが水に溶けにくく、低濃度のフッ素の供給源として、長期間作用するとの報告もある。本実験においても NH_4F は、 NaF と比べて速やかに CaF_2 を生成し、フッ素の取込み量も多いことが示された。したがって、 $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ が NH_4F とともに CaF_2 の生成を促進させた因子として、アンモニウムイオンの影響が考えられる。

モリブデンとapatiteの反応について森脇⁴²⁾ は、 Na_2MoO_4 溶液中に CO_3 -apatite を浸漬した結果、 CaMoO_4 が生成したことを報告している。また、紺井⁴³⁾ は、 $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ の Hyd

roxyapatiteに対する作用について、 $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ のHydroxyapatiteの表面への吸着と CaMoO_4 が生成することにより、Hydroxyapatiteの耐酸性が向上すると報告している。本実験においては、Moは象牙質粉末に取り込まれることは明確になつたものの、 CaMoO_4 の生成は確認できなかつた。また、モリブデンのapatite結晶格子内への置換の可能性については⁴⁴⁾、山賀はモリブデンは MoO_4^{2-} の形でapatite内の PO_4^{3-} の位置に置換して歯質強化を果すのだろうと推察している。モリブデンは、水溶液中では酸化数がMo(6価)状で安定であり、中性付近では MoO_4^{2-} 型のオキソ型アニオンとして溶けていることが報告されており、 $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ 溶液中においても MoO_2^{2+} ではなく、 MoO_4^{2-} の形で存在し、apatite結晶格子内へ置換されることが推察される。落合はOH-Apatite合成時に、モリブデンを添加すると、apatiteのc軸方向の格子定数は減少し、a軸方向の格子定数は増加すること、50 ppm Fと1,

000 ppm $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ と $\text{CO}_3\text{-Apatite}$ の反応により apatite の (002) 回折線が高角度側へ peak shift し、c 軸方向の格子定数が減少することを解明した。また、50 ppm F および 1,000 ppm F の $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ を $\text{CO}_3\text{-Apatite}$ と反応させると、apatite の (002) 回折線は高角度側へ peak shift することから、モリブデンは apatite 格子内への置換を推察した。しかし、本実験においては、明確な回折線の得られる apatite の (002) 回折線について詳細に peak shift の有無を検討したが、その存在は認められなかつた。落合³²⁾も 10,000 ppm F では peak shift を認めていはない。したがってこのような高濃度の $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ と象牙質無機質相との反応では、モリブデンの apatite 結晶格子への置換は、存在するにしてもわずかであるものと考えられる。 $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ が NH_4F より速やかに CaF_2 を生成し、F の取込み量が多いのは、モリブデンによる影響もあるものと推察されるが、その作用機序については不明である。モリブ

デンは、第2，第3遷移金属のなかで、唯一^{18,19)}の生体必須元素であり、生体内では(6価)，(5価)，(4価)，(3価)，(2価)と多くの酸化数⁴⁵⁾をとり、工業的には石油精製過程に反応触媒として用いられ⁴⁶⁾、生体内では xanthine oxidase, aldehyde oxidase および sulfite oxidase^{45,47)}といった酵素の機能発揮に必要であることなどから、フッ素と象牙質apatiteとの反応の際にも触媒的に関与しているのかもしけない。そして、 $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ と象牙質の反応により多量に生成した CaF_2 は、 HPO_4^{2-} を含む溶液中では不安定で、徐々に溶出し、Hydroxyapatite と反応して Fluoridated apatite を生成⁴⁸⁾することが報告されており、口腔内においても同様の反応が生じると考えられる。

一方本実験では、 $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ と象牙質粉末との置換反応によって生成されると考えられる Fluoridated apatite の生成についての X 線回折による検討は、象牙質apatite の回折線がブロードであるため不可能であったの

で行わなかつた。しかし、 $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ は $\text{CO}_3\text{-Apatite}$ との反応で他のフッ化物より速やかに $\text{Fluoridated apatite}$ を生成することから推察して、 $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ は象牙質においても $\text{Fluoridated apatite}$ を生成するものと考えられる。³²⁾

次に $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ の脱灰と再石灰化によぼす影響を検討するためには、BrushiteおよびWhitlockiteの生成に及ぼす $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ の影響について検討した。BrushiteおよびWhitlockiteは齲歫象牙質中に caries crystal としての存在が確認されている。野々村は、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、Whitlockiteは pH の高まつた再石灰化過程で生成されると考えた。また Brushiteは齲歫象牙質のみならず、エナメル質初期齲歫病変における再石灰化過程と表層下脱灰のメカニズムに関連してその役割が注目^{36,49)} ³⁶⁾。

50,51)
されている。結晶の化学的安定性はその溶解度からも判定できるが、Hydroxyapatite、Whitlockite、Brushiteの37°Cでの溶解度積は、それぞれ、 7.36×10^{-60} 、 2.83×10^{-30} 、 2.37×10^{-7} であるから、この中で最も安定な結晶はHydroxyapatiteであり、齲歯病巣ではapatiteとして再石灰化させていくことが、齲歯の進行抑制を考えるうえで重要であると考えられる。一方、BrushiteおよびWhitlockiteの生成条件下において、低濃度のフッ素イオンが共存すれば、Whitlockiteは生成されず、^{36,53)} Hydroxyapatiteが生成することが知られている。本実験においては、BrushiteおよびWhitlockiteの合成系に50 ppmF～100 ppmFといったCaF₂を生成しないような低濃度の(NH₄)₂MoO₂F₄を添加し、NaFやNH₄Fを添加した場合とその反応生成物を比較検討した。結果はこのような濃度では、(NH₄)₂MoO₂F₄は他のフッ化物と同程度にapatiteの生成を促進し、フッ素の取込みも同程度であり、象牙質粉末との

反応の場合と異なり、特にモリブデンやアンモニウムイオンによる効果は認められなかつた。しかし、高濃度の $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ 溶液を齧歎象牙質に塗布した場合には、 CaF_2 が生成される⁵⁴⁾ことについて考慮する必要があると考えられる。Tungは、 CaF_2 はBrushiteのapatiteへの加水分解を促進すると報告しており、高濃度の $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ はフッ素イオンの作用だけでなく CaF_2 を生成するという点からも、再石灰化においてapatiteの生成を促進することが推察される。

以上 $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ の作用について無機質相を対象に考察を進めてきたが、象牙質では約20%の有機質を含む点を考慮する必要がある。象牙質有機質は、アミノ酸分析の結果90%がコラーゲンであり、さらに⁵⁶⁾Streptococcus mutans GS-5株および6715株がコラーゲンを溶解することが報告されている。さらに、口腔中に存在するClostridium属の細菌の產生するコラゲナーゼが象牙質の有機質に作用する^{57,58)}

ことが知られており、象牙質齲歯を考慮する際には、コラーゲンの溶解について検討する必要があると思われる。そこで、本実験では、⁶⁾ 谷崎の方法に準拠して、象牙質のコラーゲンと遺伝子的に同じである Type I の市販コラーゲンのコラゲナーゼによる分解を定量することにより、 $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ の作用を調べた。その結果、pH 6.0 および pH 5.5 の $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ で 4 時間処理したコラーゲンはコラゲナーゼにより溶解されなかった。この抑制作用の機序については次の 2 つが考えられる。(1) コラーゲンに構造的変化が生じたためコラゲナーゼにより分解されなかった。(2) $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ の構成要素のどれか、または、特定の pH で生じた生成物が、処理したコラーゲンを水洗した後も残留していたため、それがコラゲナーゼの酵素活性を抑制した。(2) の可能性について検討するため、 $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ の構成要素のうち、フッ素イオンまたはアンモニウムイオンがコラゲナーゼの分解を抑制しうるか

どうかを NaF および NH_4F を使って検討したが、これらのイオンには、抑制作用は認められなかった。一方 $\text{pH} 6.0$ および $\text{pH} 5.5$ では、 $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ 溶液にモル比で $\text{Mo} : \text{F} = 1 : 1$ の沈殿物が生じることが確認されており、その沈殿物 100mg を未処理コラーゲン 50mg に加えてインキュベートしたところ、コラゲナーゼによる溶解は生じなかつた（データは示さなかつた）。したがつて、 $\text{pH} 6.0$ および $\text{pH} 5.5$ で生じた沈殿物が水洗後も残留したために、コラゲナーゼの酵素活性が抑制されたものと考えられる。一方、(1)の可能性についてはなめし反応との関連が推察される。なめし反応とは、(1)コラーゲンのポリペプチド側鎖の反応基になめし剤が吸着する反応、(2)コラーゲン・ヘリックス間に架橋を形成する反応、(3)コラーゲン分子間あるいは線維間になめし剤の粗大粒子が充填する反応から成立ち、これらのコラーゲンの変性反応によってコラゲナーゼによる分解を受けなくなることが考

えられる。事実、重要ななめし剤として用いられているタンニン剤で処理したコラーゲンがコラゲナーゼの溶解を受けないことはすでに報告されている。本実験において、 $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ がなめし反応を生じるかについては検討していないが、0.1Nモリブデン酸ナトリウム(Na_2MoO_4)の硝酸溶液はpH 5.0以下で凝集し、充実した柔らかい、最大で 68°C の熱収縮温度(pH 4.45)の革が得られた⁶³⁾という報告があり、 $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ 溶液においても pH 6.0～5.5での沈殿によりなめし反応を生じた可能性も否定できないと考えられる。いずれにしても、実際の臨床の場において $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ を健全象牙質および齲歫象牙質に局所塗布した場合を想定すると、細菌の產生する酸により局所のpHが5.5程度まで低下することは十分起り得ると考えられ、その際の反応によって $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ が有機質の崩壊を抑制する効果を有するようになる可能性があると考えられる。

次に、 $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ の臨床応用として高濃

度の歯面塗布法による龋歫予防法を想定し、検討した。すなわち、一般に龋歫予防法の効果判定のための重要な要因となっている耐酸性に及ぼす影響を、象牙質片を使って調べた。まず、歯面塗布に適切な $(NH_4)_2MoO_2F_4$ 濃度を決定するため、 $(NH_4)_2MoO_2F_4$ の濃度を1, 5, 10, 20%と変化させて調べた。なお塗布時間は臨床応用を考えて4分間とした。結果は、 $(NH_4)_2MoO_2F_4$ 処理により、象牙質の耐酸性は向上し、1, 5, 10%と濃度が上昇するに従って耐酸性はより向上することを示した。しかし、10%と20%の $(NH_4)_2MoO_2F_4$ 塗布時間では溶出カルシウム量に有意な差はなく、 $(NH_4)_2MoO_2F_4$ は10%濃度以上では耐酸性の向上作用は、ほぼ限界に達することが推察された。一方、エナメル質に1, 5, 10%の $(NH_4)_2MoO_2F_4$ を塗布した実験においても同様の傾向が示されており、ラット実験龋歫系においても、本剤は10%溶液の3分間局所歯面塗布法により、38%Ag(NH_3)₂Fと同等の龋歫進行抑制効果を示している。^{32), 33)}

さらに、ラットを用いた毒性試験においても、
10% $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ の毒性は38% $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ とほ
ぼ同程度であったことを考慮すると、本剤の臨
床応用時の濃度の決定に際しては、塗布回数
および臨床効果との相互関係などについての
さらに詳細な検討は必要であるものの、現時
点においては、10%溶液が妥当であると考え
られる。

そこで、10% $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ 溶液を用いて、
臨床で広く用いられているフッ化物として、
2%NaF溶液、38% $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ 溶液を選び、塗布
直後の象牙質の耐酸性向上作用を比較検討し
た。 $10\%(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ は38% $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ と同程
度に耐酸性を向上させ、両フッ化物の塗布に
より2%NaFより有意に溶出カルシウム量が減
少した。また、この3種のフッ化物の濃度を
2%NaFに合せた実験では、各フッ化物間に差
はなかった。このことから、 $10\%(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$
を用いることにより、塗布回数を減らしても
2%NaFと同等の効果が期待できると推察さ

れる。

さらに、局所塗布後の口腔内環境、特に唾液中の無機イオンとの相互作用を考慮して、耐酸性の面から検討した。すなわち、局所塗布により生成した CaF_2 は唾液のように HPO_4^{2-} を含む水溶液中では、徐々に Fluoridated apatite⁴⁸⁾ に変化することから、Gey's B.S.S. 中に局所塗布した象牙質片を浸漬することにより、 HPO_4^{2-} をはじめとして、apatite の生成に関与すると考えられる Ca^{2+} , Mg^{2+} などのイオンの供給を行い、象牙質の耐酸性の経時的变化を調べた。浸漬時間としては、予備実験において $10\%(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ 塗布により生成した CaF_2 は、Gey's B.S.S. 中に 7 日間浸漬することにより、象牙質表面から消失することが走査型電子顕微鏡による観察から判かっていたので、7 日間に設定した。また予備実験から、 NaHCO_3 を添加した Gey's B.S.S. 中では、浸漬保存中に象牙質表面に沈殿物の被膜が形成され、この沈殿は CaCO_3 であると X 線回折

により推察されたので、本実験では、 NaHCO_3 を添加しなかった。それにより Gey's B.S.S. の pH は 7.4 から 6.8 に低下したが唾液の生理的 pH⁶⁴⁾ の範囲内であり問題ないと判断した。7 日間経過後においても 10% $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ 処理試料は 38% $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ と同程度の耐酸性を維持し、しかも 2% NaF よりも溶出カルシウム量は少なかった。したがって、10% $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ は塗布直後も、また口腔内環境を想定した実験系においても、38% $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ と同程度の耐酸性の向上作用を有していることが示された。

最後に、 $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ の健全象牙質の構造に及ぼす影響をフッ素およびモリブデンの浸透状態、反応生成物、および象牙細管における影響の面から象牙質片を用いて検討した。供試した $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ 溶液の濃度は、耐酸性実験の結果から 10% とした。他にフッ化物として耐酸性実験で用いた 2% NaF 溶液と 38% $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ 溶液を用いた。さらに、象牙細管が閉鎖した場合、真に閉鎖したのか、観察部位の

象牙細管の直径が始めから小さかったのかを見極めるために、象牙質片は局所塗布直前に2分割し、一方にフッ化物塗布し、他方に蒸留水を塗布して、常に蒸留水塗布群と比較できるようにしておいた。塗布後の経時的変化を観察するためには、耐酸性の実験と同じく、 NaHCO_3 を含まないGey's B.S.S.中に浸漬保存する方法を用いた。経時的な変化を観察するためには、動物実験により、口腔内で窩洞を形成し、フッ化物を塗布して観察する方法も考えられるが、今回はin vitroで実験した。in vitroで行った主たる理由は、(1)in vivoでの実験においては、生理的な状況で唾液との反応が行われるという利点はあるものの、食物残渣やブラークの付着によって、結果におよぼす条件が複雑になるだけでなく、それらの汚染物により塗布面そのものを直接観察しにくくなること、(2)in vivoの実験においては窩洞形成をしなければならず、その際にsmear layerが生じるため、本実験で用いた

ような破断面と異なり、象牙細管がもし封鎖していてもそれが smear layer 由来のものである可能性を判別しにくいくことなどである。

EPMAの結果より、 $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ を象牙質に塗布した直後には、表層から内層約40 μm までフッ素濃度は上昇し、逆にリン濃度は減少していた。特に内層5 μm まではこの傾向は著明であった。またSEMおよびTEMにより観察されたように、表層は CaF_2 で被われており、象牙細管内にも CaF_2 の生成が確認された。したがって、フッ素濃度の上昇と、リン濃度の減少は、 CaF_2 の生成とその際のリンの流失によるものと推察される。さらにこの結果から CaF_2 は内層約40 μm までは象牙細管内に生成し、同時に内層約40 μm まで Fluoridated apatite への変換も生じていた可能性が推察された。モリブデン濃度は内層約40 μm まで上昇していたが、別の部位の線分析結果により、フッ素とモリブデン濃度が常に同じ深さまで上昇していたわけではないことがわかっている。

2%NaF塗布試料においては、形態学的観察から、蒸留水塗布試料と比べて変化は認められず、 CaF_2 の生成も認められず、EPMAによる分析によつてもフッ素濃度の上昇は認められなかつた。これはEPMAにおいては軽元素であるフッ素は検出しにくく、NaF塗布によつて取り込まれたフッ素は微量であつたため、検出限界以下になつたためと考えられる。

38% $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ 塗布試料においては、EPMAによる分析によると、フッ素濃度は内層約10 μm まで上昇し、銀濃度は内層約730 μm まで上昇し、リンおよびカルシウム濃度はほぼ一定であつた。⁶⁵⁾下岡は、38% $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ を象牙質窩洞に3分間塗布することにより、フッ素は内層約50～100 μm まで浸透し、銀はそれよりも深いところまで浸透したと報告している。また内田⁶⁶⁾は、 $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ 塗布により、フッ素および銀濃度は表層部で高い値を示し、さらに銀濃度は深部でも高い部分があつたと報告している。本実験でもほぼ同様の結果が得られ

た。また $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ 塗布においては、 $(\text{NH}_4)_2\text{MnO}_2\text{F}_4$ 塗布と同様に、象牙細管内に及ぶ CaF_2 の生成が認められたが、それ以外に Ag_2S の存在が確認された。 Ag_2S のイオウの由来について、本実験系にあっては唾液由来のイオウによるものとは考えられず、歯質側から供給されたものであると推察される。一条らは、⁶⁷⁾ *intratubular layer* の内側に、未石灰化のコラーゲン線維ならびに crystal 沈着の未完成な有機成分の多いコラーゲン線維の部分が、*tube* 状に存在することを報告しており、そのコラーゲンからイオウが供給されたのではないかと推察される。

8週間浸漬保存後のフッ化物処理象牙質試料において、EPMAの結果からは、蒸留水処理試料と同じく、フッ素、モリブデンは検出されず、リン、カルシウムの濃度にも変化は認められず、 $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ 塗布試料において、銀の残留が確認されたのみであった。

8週間後の2%NaF塗布試料においては、SEM

およびTEMからも、蒸留水塗布試料と同様に、apatiteの生成は認められなかつた。これは、2%NaF塗布によって、直後にCaF₂の生成が認められなかつたこととを考えあわせると、以後CaF₂が溶解することによって、Fluoridated apatiteの新生が期待できなかつたことで説明されよう。

8週間後の10% $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ 塗布試料においては、SEMによる観察では、蒸留水塗布に比べて、表面が平滑になり、象牙細管内にapatiteの結晶が成長しているのが確認された。さらに8週間後の38%Ag(NH₃)₂F塗布試料においては、象牙細管内にapatiteの結晶が多数成長しているだけでなく、象牙質表面もapatiteと考えられる結晶によって被われていた。これらの新しく生成したapatiteの結晶は、塗布直後に生成したCaF₂がGey's B.S.S.中で経時的にFluoridated apatiteを生成させたものと考えられる。また、 $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ 塗布試料においては象牙細管内のみにapatite

eの成長が認められたのに比べ、 $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ 塗布試料では象牙細管内ばかりではなく象牙質表面にも多数のapatiteの成長が認められた。 $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ 塗布試料においては、象牙質表面の CaF_2 は早期に溶出したが、象牙細管内の CaF_2 は溶出しにくく長期間にわたり F^- の供給が行われたため、象牙細管内にのみapatiteが成長したのに対し、 $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ では銀あるいは銀の化合物（例えば Ag_2S ）が CaF_2 の溶出を抑制したか、Fluoridated apatiteの生成を促進したためと考えられる。一方、犬を使った実験においては、38% $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ を塗布することにより、28日後には象牙細管が狭窄・封鎖されることが報告されており、in vivoにおいては、 $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ や $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ による象牙細管の封鎖作用は本実験の結果以上に速やかに生じることが推察される。 $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ が $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ にはおよばないものの象牙細管の封鎖傾向を有するという結果は、硬組織の保護だけでなく、象牙細管を経由した刺激

の遮断や、細菌の侵入の抑制に役立つものと考えられる。

結論

$(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ の腐蝕抑制機序を、象牙質に及ぼす影響の面から検討することを目的に本研究を行った。すなわち、 $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ の健全象牙質の無機質相との反応様式、脱灰と再石灰化における役割を考慮し Brushite および Whitlockite の合成系に添加した時の作用、および象牙質の有機質に対する作用としてのコラーゲンにおよぼす影響を検討した。さらに、より臨床的な応用を想定し、象牙質片を用いて高濃度の $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ 溶液の歯面塗布法による耐酸性への影響および象牙細管の経時的变化を調べた。その結果、以下の知見が得られた。

- 1) $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ は、象牙質粉末との反応においてフッ素のみを主体としたフッ化物よりも CaF_2 を速やかに生成し、フッ素の取り込み量

も増加させた。

2) BrushiteおよびWhitlockite合成系においては、 $(NH_4)_2MoO_2F_4$ は他のフッ化物と同程度にapatiteを生成させたにとどまり、モリブデンの影響は確認できなかった。

3) pH 6.0およびpH 5.5に調整した $(NH_4)_2MoO_2F_4$ で処理したコラーゲンは、コラゲナーゼによる分解を受けず、 $(NH_4)_2MoO_2F_4$ が象牙質の有機質の溶解を抑制する可能性が示唆された。

4) $(NH_4)_2MoO_2F_4$ の歯面塗布による象牙質の耐酸性の向上作用は、10%濃度でほぼ上限に達し、この効果は、塗布直後のみならず口腔内環境を想定して人工組織液中に浸漬した後も、38%Ag(NH_3)₂Fと同程度であった。

5) 10% $(NH_4)_2MoO_2F_4$ を象牙質に塗布した場合、直後には象牙質表面だけでなく象牙細管内にもおよぶCaF₂の生成ならびにフッ素とモリブデンの内層への浸透を認め、8週間経過後には38%Ag(NH_3)₂Fにはおよばないもののapatiteの成長による象牙細管の封鎖傾向を認めた。

以上の研究結果から、 $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ は、歯質を着色させることなく、象牙質に対しても抗齲歯作用を付与させることができた。

稿を終えるにあたり、本研究を行う機会を与えていただき、御懇篤なる御指導と御校閲を賜りました本学小児歯科学講座祖父江鎮雄教授に衷心より謝意を表します。

本研究に際し、終始御教示と御助言をいただきました本学小児歯科学講座、本学歯科理工学講座の諸先生方に厚く感謝の意を表します。さらに試料の分析にあたり、有益なる御教示と御助言をいただきました本学中央研究室石丸昌司先生ならびに理学電気工業株式会社応用研究室の諸先生方に深く感謝致します。

文献

- 1) Cheyne,V.D.: Human dental caries and topically applied fluorine: A preliminary report, J.A.D.A., 29:804-807
- 2) Brudevold,F. and Naujoks,R.: Caries-preventive fluoride treatment of the individual, *Caries Res.*, Suppl. 12:52-64, 1978.
- 3) Gron,P.: Chemistry of topical fluorides, *Caries Res.*, 11:172-204, 1977.
- 4) Ripa,L.W.: Professionally(operator) applied topical fluoride therapy: a critique, *Int.Dent.J.*, 31:105-120, 1981.
- 5) Kuntson,J.W. and Armstrong,W.D.: The effect of topically applied sodium fluoride on dental caries experience, *Publ. Hlth. Rep.*, 58:1701-1715, 1943.
- 6) Jordan,W.A., Wood O.B., Allison J.A. and Irwin,V.D.: The effects of various numbers of topical applications of sodium fluoride, *J.A.D.A.*, 33:1385-1391, 1946.
- 7) Muhler,J.C. and Huysen,G.V.: Solubility of enamel protected by sodium fluoride and other compounds, *J.Dent.Res.*, 26:119-127, 1946.
- 8) McLaren,H.R. and Brown,H.K.: A study of the use of a topically applied stannous fluoride solution in the prevention of dental caries, *Canad.J.Publ.Hlth.*, 46:387-395, 1955.
- 9) Brudevold,F., Savory,A., Gardener,D.E., Spinelli,M. and Speirs,R.: A study of acidulated fluoride solutions I .In vitro effect of enamel, *Archs.oral Biol.*, 8:167-177, 1963.
- 10) Wellock,W.D., Maitland,A. and Brudevold,F.: Caries increments, tooth discoloration, and state of oral hygiene in children given single annual applications of acid phosphate-fluoride and stannous fluoride, *Archs.oral Biol.*, 10: 453-460, 1965.
- 11) 山賀礼一: フッ化アンモニア銀の作用機序とその使用法について, *日歯評論*, 328:180-187, 1970.
- 12) 山賀礼一, 横溝一郎 監修: フッ化ジアンミン銀とその応用, 医薬出版, 東京, 1978.
- 13) Buttner,W.: Trace elements and dental caries in experiments on animals, *Caries Res.*, 3:1-13, 1969.

- 14) Curzon,M.E.J.and Losee,F.L.: Dental caries and trace element composition of whole human enamel: Eastern United States, J.A.D.A., 94:1146-1150, 1977.
- 15) Hadjimarkos,D.M.: Effect of trace elements on dental caries. In advances in Oral Biology. P.H.Staple(ed), Academic Press, New York, 1968, p.1229-1235.
- 16) Losse,F.L.and Ludwig,T.G.: Trace elements and caries, J.Dent.Res., 49:1229-1235, 1970.
- 17) Navia,J.M.: Effect of minerals on dental caries, Advance in chemistry series 94, American Chemical Society, Washington D.C., 1970, p.123-160
- 18) Underwood,E.J.(日本化学会訳編): 微量元素, 丸善株式会社, 東京, 1975, p.113-124.
- 19) 江上不二夫: 金属酵素, 序, 有化合協会誌, 34:794, 1976.
- 20) Adler,P. and Straub,J.: A water-borne caries-protective agent other than fluorine, Acta.Med.Sci.Hung., 4:221-227, 1953.
- 21) Ludwig,T.G.,Healy,W.B.and Losee,F.L.: An association between dental caries and certain soil conditions in New Zealand, Nature, 186:695-696, 1960.
- 22) Anderson,R.J.: Dental caries prevalence in relation to trace elements, Brit. Dent.J., 15:271-275, 1966.
- 23) Adler,P.: Experiments with albino rats upon the caries-protective effect of water-borne molybdenum, Odont.Rev., 8:202-207, 1957.
- 24) Adler,P. and Porcsalmi,I.: Neuere Versuche über den Karies-Protektiven Effekt des im Trinkwasser Enthaltenen Molybdäns, Archs. oral Biol., 4:193-198, 1961.
- 25) Ludwich,T.G.,Malthus,R.S.and Healy,W.B.: An association between soil conditions and dental caries in rats, Nature, 194:456-458, 1962.
- 26) Kruger,B.J.: Influence of Boron, Fluorine, and Molybdenum on the Morphology of the Rat Molar, J.Dent.Res., 41:215, 1962.
- 27) 小菅良章: 幼若ラットにおけるMolybdenumの実験的齲歯の発生に及ぼす影響及び栄養成績について, 歯科学報, 73:965-967, 1973.
- 28) 矢沢正人: モリブデンによるハムスターによる歯齲歯抑制に関する研究, 口病誌, 48:277-291, 1981.
- 29) 谷口学, 泉谷明, 落合伸行, 大嶋隆, 祖父江鎮雄, 西村英明: $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4\text{F}_4$ によるラ

- ット実験う蝕抑制効果, 小児歯誌, 19:150-158, 1981.
- 30) 泉谷明, 落合伸行, 墓典夫, 楽木正実, 谷口学, 大嶋隆, 祖父江鎮雄, 西村英明: ラット実験齧歯系における $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_2$ および SrTiF_6 の抑制効果, 小児歯誌, 20:625-632, 1982.
- 31) 石田武, 小川裕三, 八木俊雄, 西村英明: フッ化モリブデン酸アンモニウムの亜急性毒性に関する病理学的研究, 歯基礎誌, 23:859-878, 1981.
- 32) 落合伸行: $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ の歯質無機質相に及ぼす影響に関する研究, 小児歯誌, 22:36-66, 1984.
- 33) Jenkins, G.N. (河村洋二郎 監訳): 口腔の生理・生化学, 第4版, 72-73, 医歯薬出版, 東京, 1980.
- 34) McCann, H.G.: Determination of fluoride in mineralized tissues using the fluoride ion electrode, Archs.oral Biol., 13:475-477, 1968.
- 35) Hayek, E. und Newesely, H.: Über die Existenz von Tricalciumphosphat in Wägriger Lösung, Mh. Chem., 88:89-95, 1958.
- 36) 野々村栄二: う蝕におけるWhitlockite, Brushiteの生成機序に関する研究, 小児歯誌, 18:393-412, 1980.
- 37) Neuman, R.E. and Logan, M.A.: The determination of hydroxyproline, J. Biol. Chem., 184:299-306, 1950.
- 38) 堀田進: 細胞培養, 朝倉書店, 東京, 1976. p.13.
- 39) Gron, P. and Caslavská, V.: Fluoride deposition in enamel from application of sodium, potassium or ammonium fluoride, Caries Res., 15:459-467, 1981.
- 40) Caslavská, V., Brudevold, F., Vrbic, V. and Moreno, E.C.: Response of human enamel to topical application of ammonium fluoride, Archs.oral Biol., 16:1173-1180, 1971.
- 41) 山村利貞: リン酸性フッ化アンモニウムのエナメル質におよぼす影響について, 口腔衛生会誌, 35:62-76, 1985.
- 42) 森脇豊, 井田一夫, 山賀礼一: 炭酸イオンを含むヒドロキシアバタイトの結晶性におよぼす各種イオンの影響, 日化誌, 5:801-807, 1975.
- 43) 紺井拡隆: モリブデンのう蝕抑制に関する基礎的研究ーとくにハイドロキシアバタイトへの取り込み様式についてー, 歯科医学, 46:490-512, 1983.

- 44) 山賀礼一, 東節男: 予防歯科材料(その1), 歯材器誌, 13:1-6, 1966.
- 45) 上山憲一, 中村晃: モリブデン酸化酵素とそのモデル錯体, 蛋・核・酵別冊 金属蛋白質とそのモデル, 26:189-199, 1983.
- 46) 化学大辞典編集委員会: 化学大辞典9, 共立出版, 東京, 1964. p.290-293.
- 47) Harper Harold A: Harper's review of biochemistry, ed. by Martin, D.W., Mayes, P. A., Rodwell, V.W. 19th ed., Lange Med. Pub., Los Altos, 1983, p.583.
- 48) 米林光三: 象牙質Apatiteに生成されたCaF₂の反応に関するX線結晶学的研究, 阪大歯誌, 12:79-93, 1967.
- 49) Rowles, S.L. and Levine, R.S.: The inorganic composition of arrested carious dentine, Caries Res., 7:360-367, 1973.
- 50) Moreno, E.C. and Zahradnik, B.M.: Chemistry of enamel subsurface demineralization in vitro, J. Dent. Res. Suppl., 53:226-235, 1975.
- 51) Brown, W.E.: Physicochemical mechanisms of dental caries, J. Dent. Res., Suppl., 53:204-216, 1974.
- 52) Moreno, E.C., Zahradnik, R.T., Glazman, A. and Hwu, R.: Precipitation of hydroxyapatite from dilute solutions upon seedling, Calcif. Tiss. Res., 24:47-57, 1977.
- 53) 青葉孝昭, 石田武, 長谷川清, 森脇豊, 山内孝行: 歯質アバタイトにおけるBrushiteおよびWhitlockiteの配向析出, 歯基礎誌, 16:252-259, 1974.
- 54) 谷京子, 楽木正実, 祖父江鎮雄: (NH₄)₂MoO₂F₄の齲歯象牙質に及ぼす影響, 小児歯誌, 23:800, 1985(抄).
- 55) Tung, M.S., Chow, L.C. and Brown, W.E.: Hydrolysis of dicalcium phosphate dihydrate in the presence or absence of calcium fluoride, J. Dent. Res., 64:2-5, 1985.
- 56) Armstrong, W.G.: A quantitative comparison of the amino acid composition of sound dentine, carious dentine and the collagenase resistant fraction of carious dentine, Archs. oral Biol., 5:115-124, 1961.
- 57) Rosengren, L. and Winblad, B.: Proteolytic activity of streptococcus mutans(GS-5), Oral Surg., 42:801-809, 1976.
- 58) Despres, S., Métivier, H., and Weill, R.: Dégradation du collagène par des

Bactéries cariogènes, streptococcus mutans, C.R.Acad.Sc.Paris, 290:41-44, 1980.

- 59) Evans,D.G.and Prophet,A.S.: Disintegration of human dentine by bacterial enzymes, Lancet,1:290-293, 1950.
- 60) Evans,D.G.and Prophet,A.S.: Enzymes of clostridium welchii type A and clostridium histolyticum that disintegrate decalcified human tooth dentine, J.Gen.Microbiol., 4:360-364, 1950.
- 61) 谷崎幸司: タンニン, フッ化物合剤による二次う蝕の抑制に関する基礎的研究, 日本歯保存誌, 21:279-296, 1978.
- 62) 久保田穰: 無機なめしー主として鉄およびアルミニウムなめしについて, 皮革化学, 20:1-13, 1974.
- 63) 久保田穰: 無機化合物によるなめしー主として4価元素化合物なめしについて, 皮革化学, 31:51-59, 1985.
- 64) 押鐘篤: 歯学生化学, 医歯薬出版, 東京, 1976, p.515-516.
- 65) 下岡正八: 硝酸銀と弗化ジアミン銀溶液の正常歯質微細構造への浸透について, 歯学 59:534-566, 1972.
- 66) 内田昭次: フッ化ジアンミン銀塗布後唾液中に露出させた象牙質の微細構造の変化, 阪大歯誌, 21:100-124, 1976.
- 67) 一条尚, 山下靖雄, 小野毅, 脇田稔, 鈴木駿介, 小沢幸重, 後藤仁敏: 象牙質の基質繊維と象牙細管の構造について, 口病誌, 42:75-139, 1975.

↔ 片山
トレス
栗木 正寛

表1 X線回折の条件

X-Ray	Cu-K α (Ni filtered)
Voltage	35 kVp
Current	23 mA
Count Full Scale	200, 400 C.P.S.
Time Constant	2 sec
Scanning Speed	2°/min
Chart Speed	10 mm/min
Divergency	1°
Receiving Slit	0.2 mm
Soller Slit	4.9°
Glancing Angle	ca. 5°
Geigerflex D-1 (RIGAKU)	

↑↓片段
トレス
榎木正典

表 2 蛍光X線分析の測定条件

Spectrum	Mo-L α
X-ray tube	Ph
Voltage	50 kV
Current	50 mA
Analysing Crystal	Ge
Detector	F-P.C.
Fixed time	40 sec
Geigerflex 3064M (RIGAKU)	

↔両段
トレス
渠木正実

表3 X線マイクロアナライサーの測定条件

	Ca	P	F	Mo	Ag
Accelerating Voltage	20kv	20kv	20kv	20kv	20kv
Specimen Current	5×10^{-8} A				
Analysing Crystal	PET	RAP	RAP	PET	PET
Scanning Speed	10 μ m/min	10 μ m/min	10 μ m/min	10 μ m/min	10 μ m/min (200 μ m/min)
Chart Speed	20mm/min	20mm/min	20mm/min	20mm/min	20mm/min
Full Count Scale	50kC.P.S.	50kC.P.S.	500C.P.S.	50C.P.S.	1kC.P.S., 500C.P.S.
Scanning Electron Microscope	JXA-50A (JEOL)				

↔ 両段
トレス
栗木正実

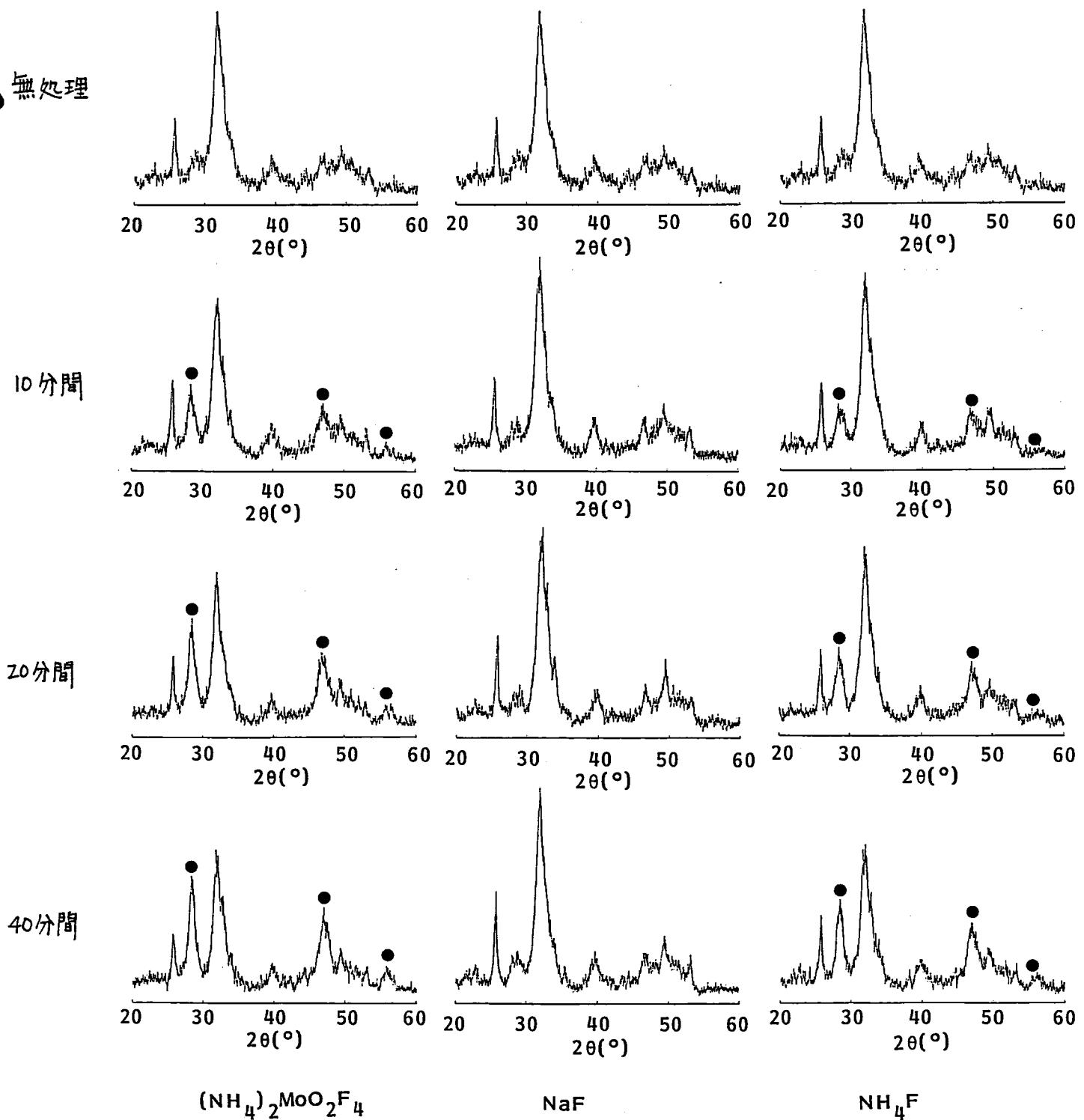


図 1 10,000 ppm F の $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$, NaF , NH_4F の各溶液で処理した試料の
X線回折像 (●印: CaF_2 の回折線)

↑ 片段
トレー入
渠木正実

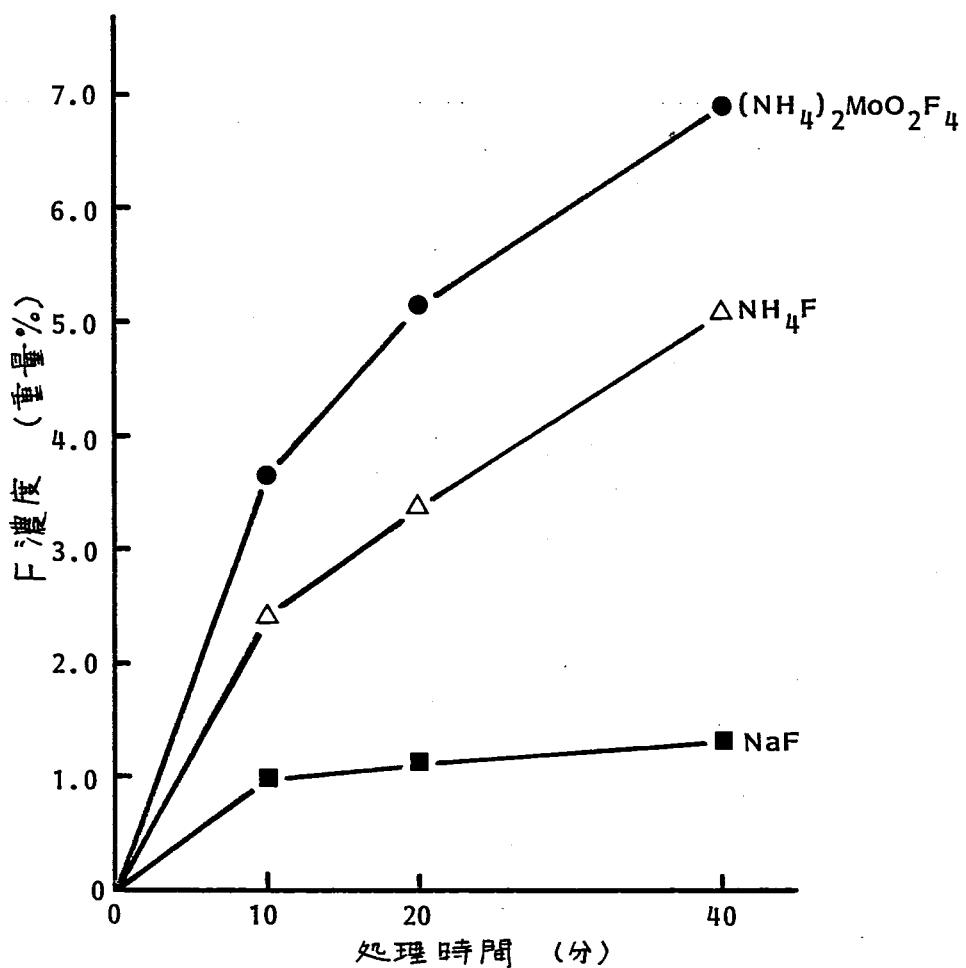


図 2 10,000 ppm F の $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$, NaF および NH_4F 溶液で
処理した各試料中の F 濃度

片段
トレス
栗木正実

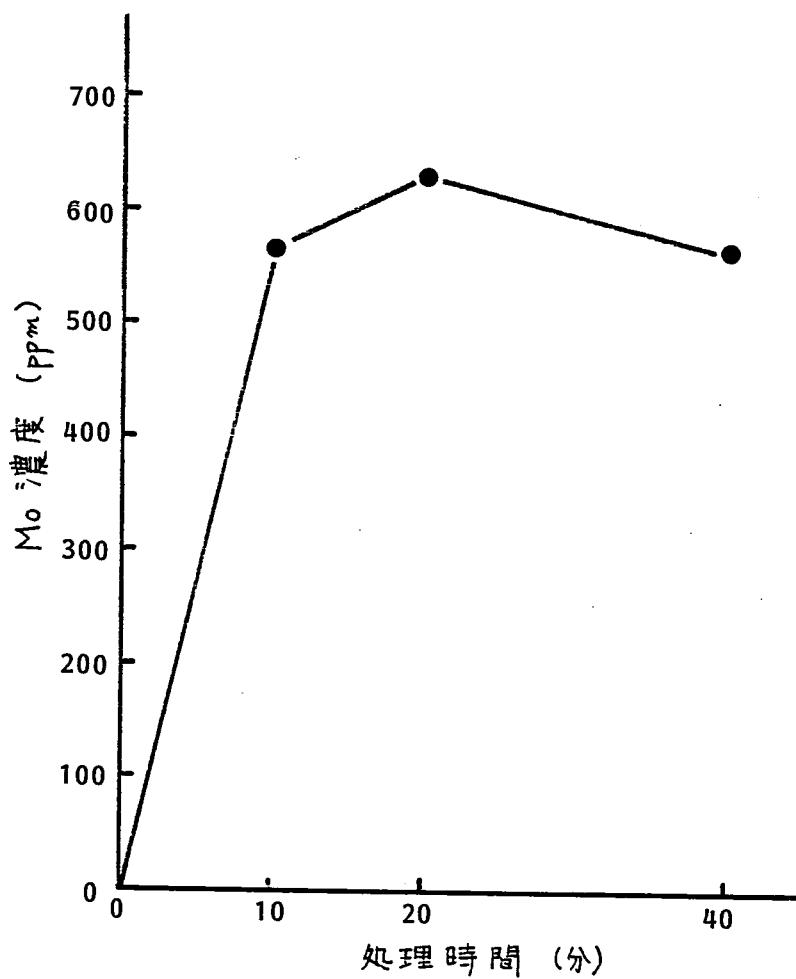


図3 10,000 ppm F の $(NH_4)_2MoO_2F_4$ 溶液で処理した
各試料中の Mo 濃度

↔ 片歴
トレス
渠木 正奥

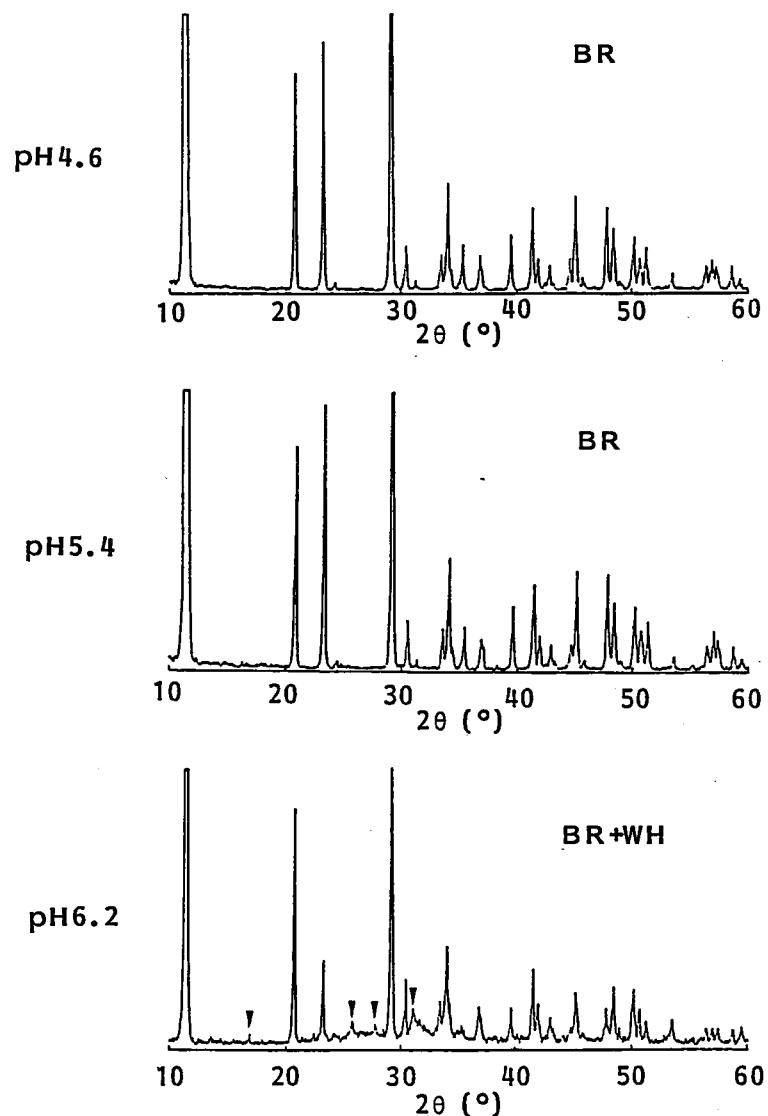


図4 フッ化物無添加で反応時のpHを変化させた場合の反応生成物のX線回折像 (BR=Brushite, WH=Whitlockite:▼)

↑ 開段
トレス
栗木正寛

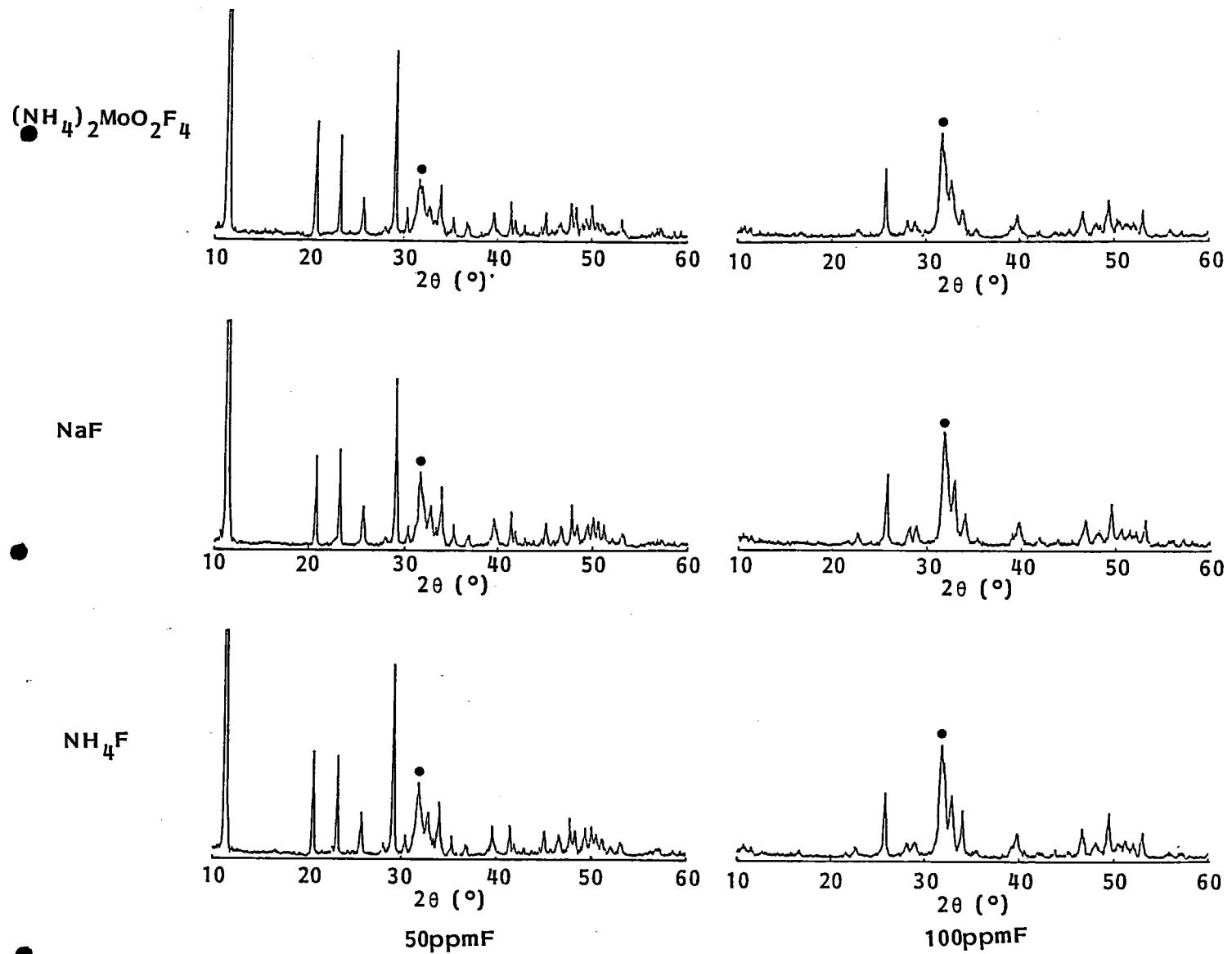


図5 Brushiteの生成条件下 (pH 4.6) に、フッ化物が共存した場合の反応生成物のX線回折像 (●印: apatite の (211) 回折線)

↔ 両段
トレース
渠木正実

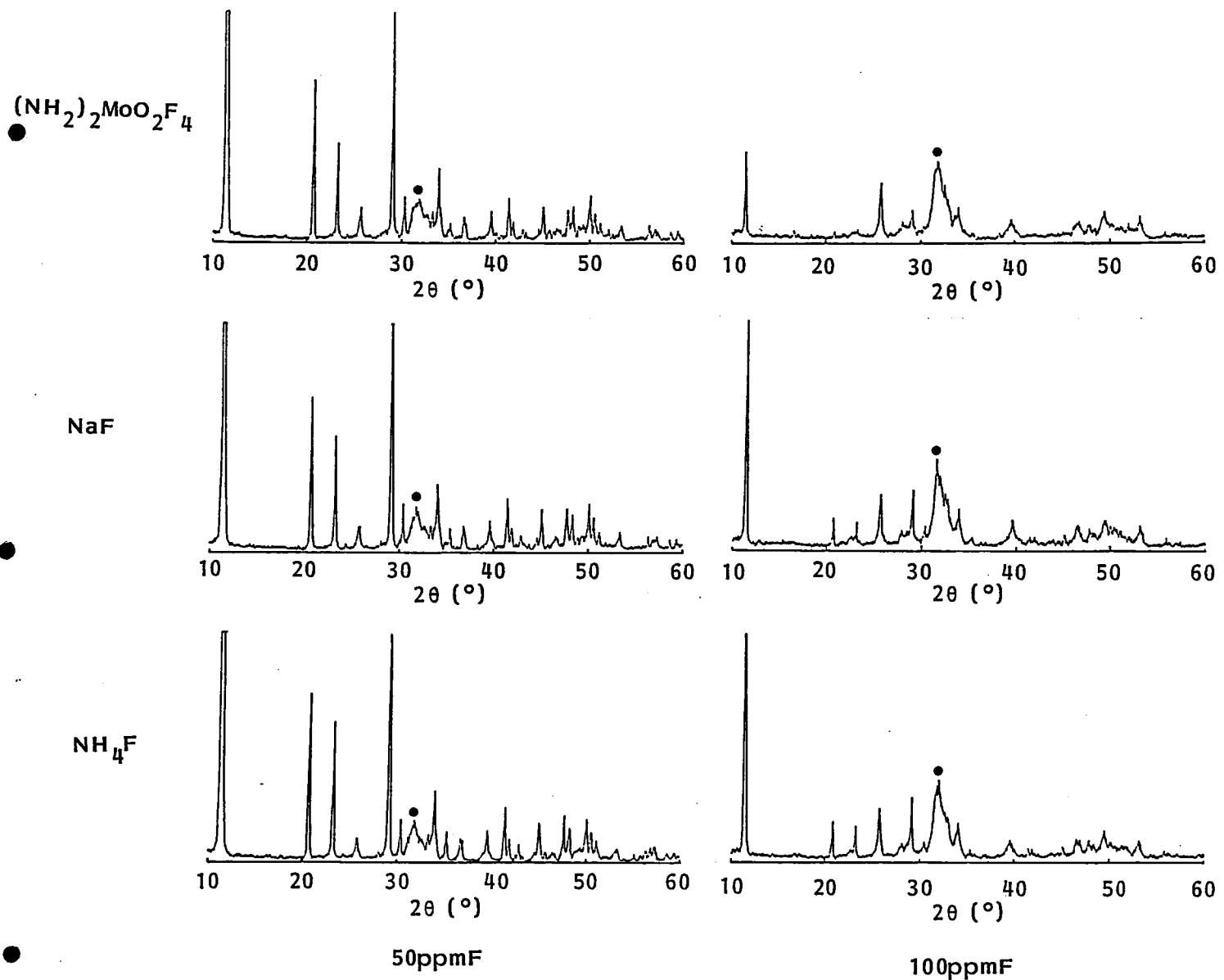


図6 Brushiteの生成条件下(pH5.4)に、フッ化物が共存した場合の反応生成物のX線回折像 (●印: apatiteの(211)回折線)

↔ 両段
トレース
栗木正典

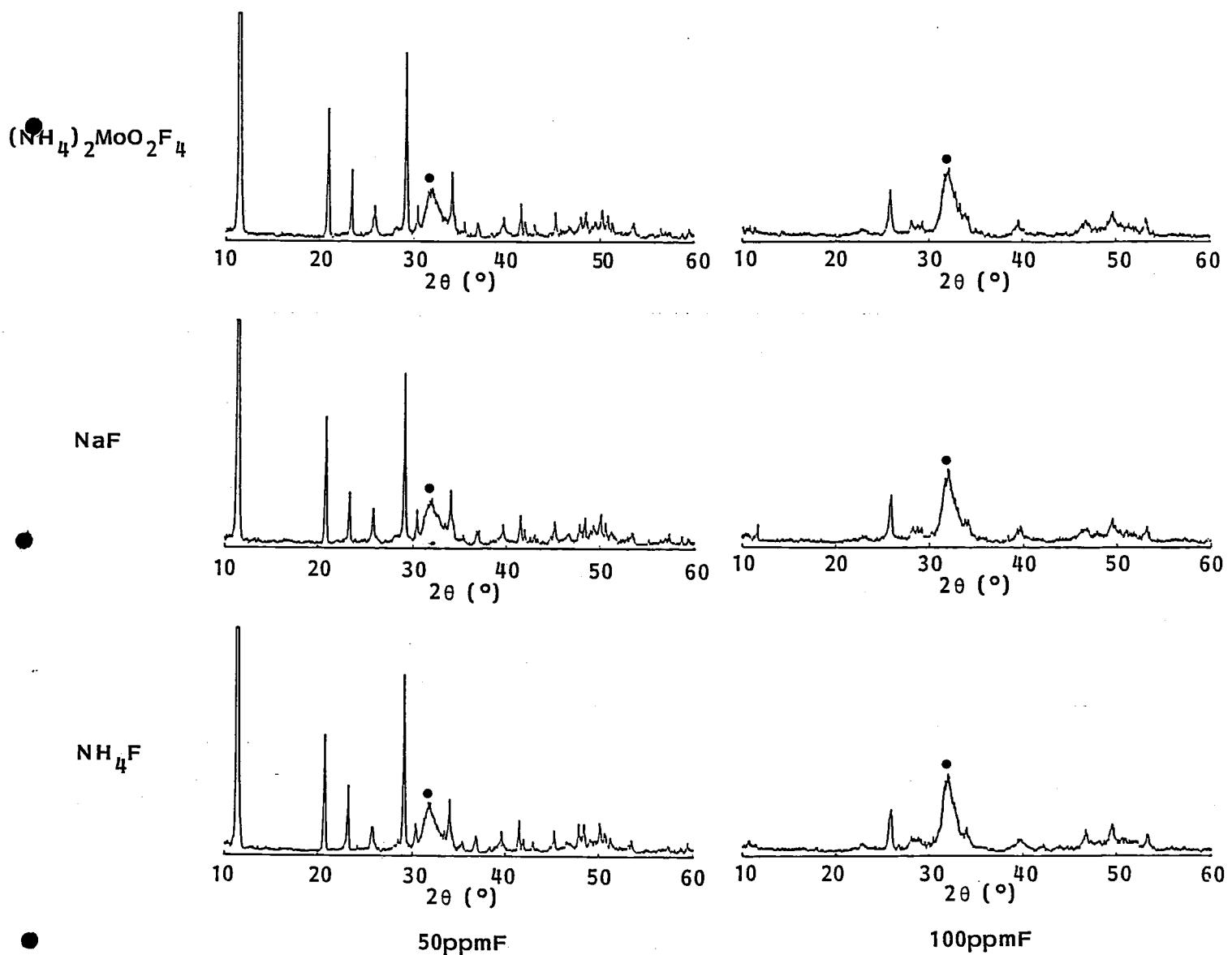


図7 BrushiteとWhitlockiteの生成条件下(pH 6.2)に、フッ化物が共存した場合の反応生成物のX線回折像 (●印: apatiteの(211)回折線)

↔ 片段
トレス
渠木正実

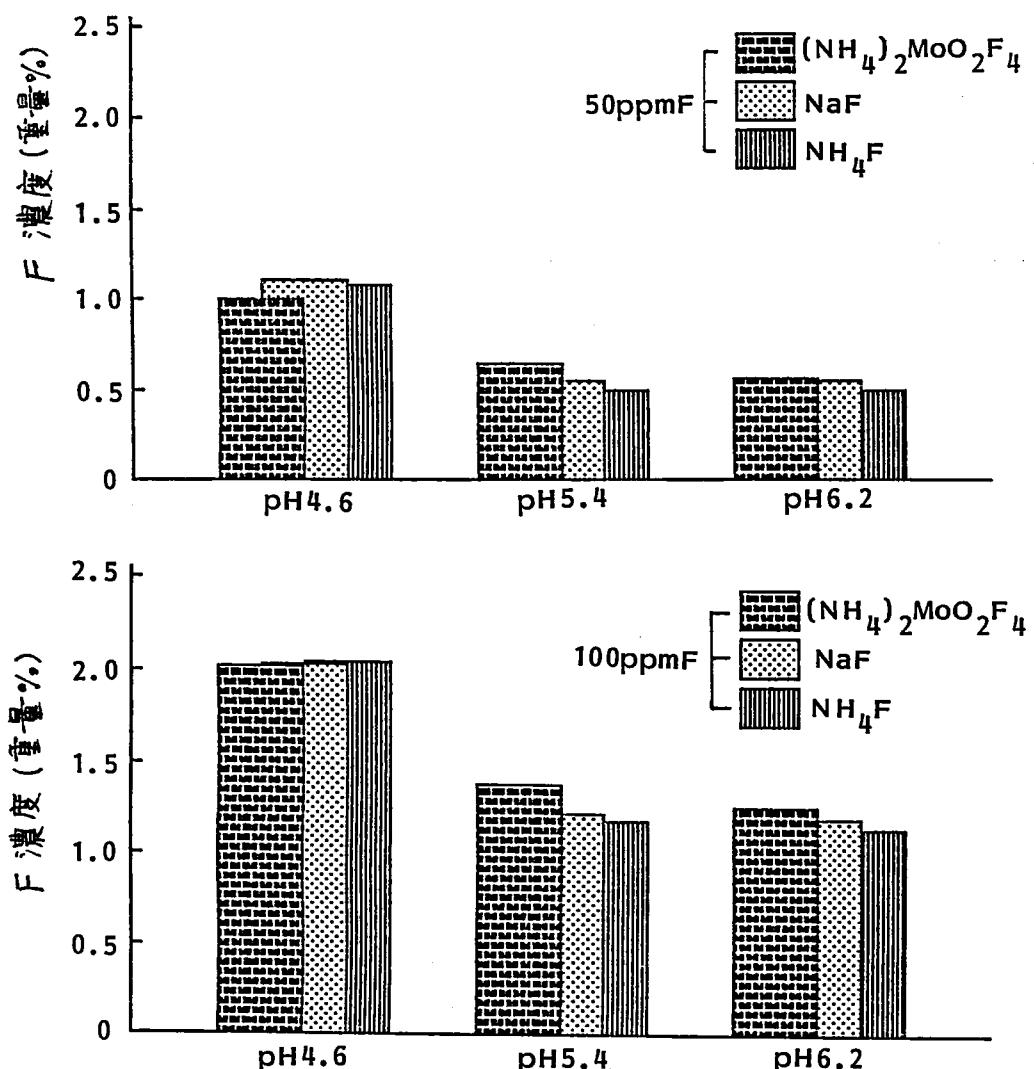


図 8 合成時にフッ化物を添加して得られた生成物の F 濃度

↔ 片段
トレス
栗木正実

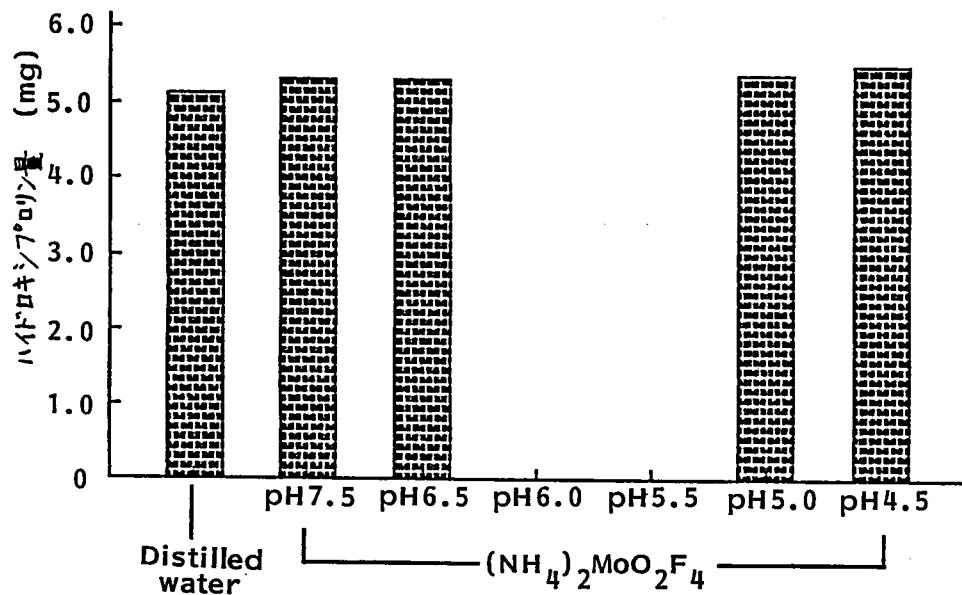


図9 10% $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ 溶液および"蒸留水"で処理した
コラーゲンからコラケ"ナーセ"により溶解したコラーゲン
中のハイドロキシプロリン量 (N=6)

↑ 片段
トレス
凍木正義

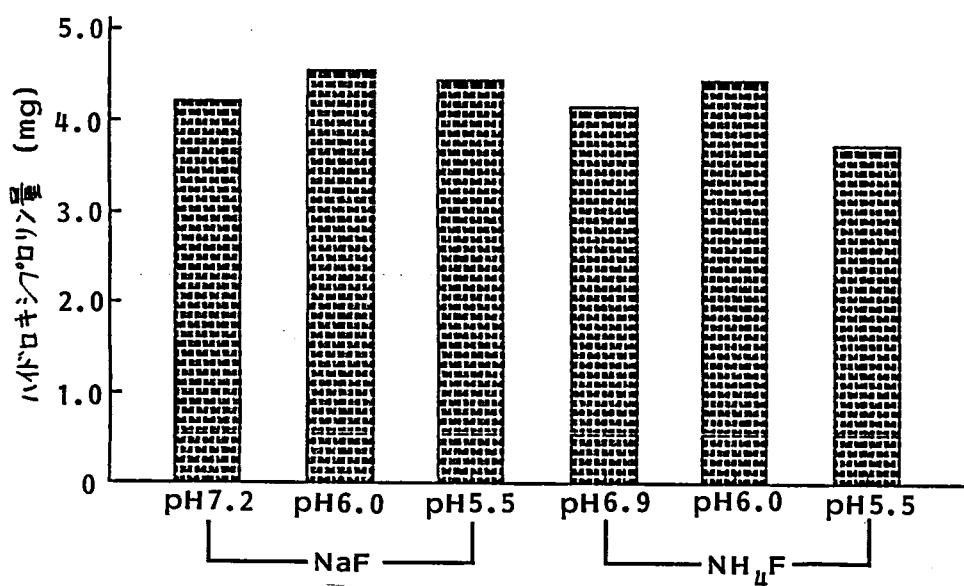
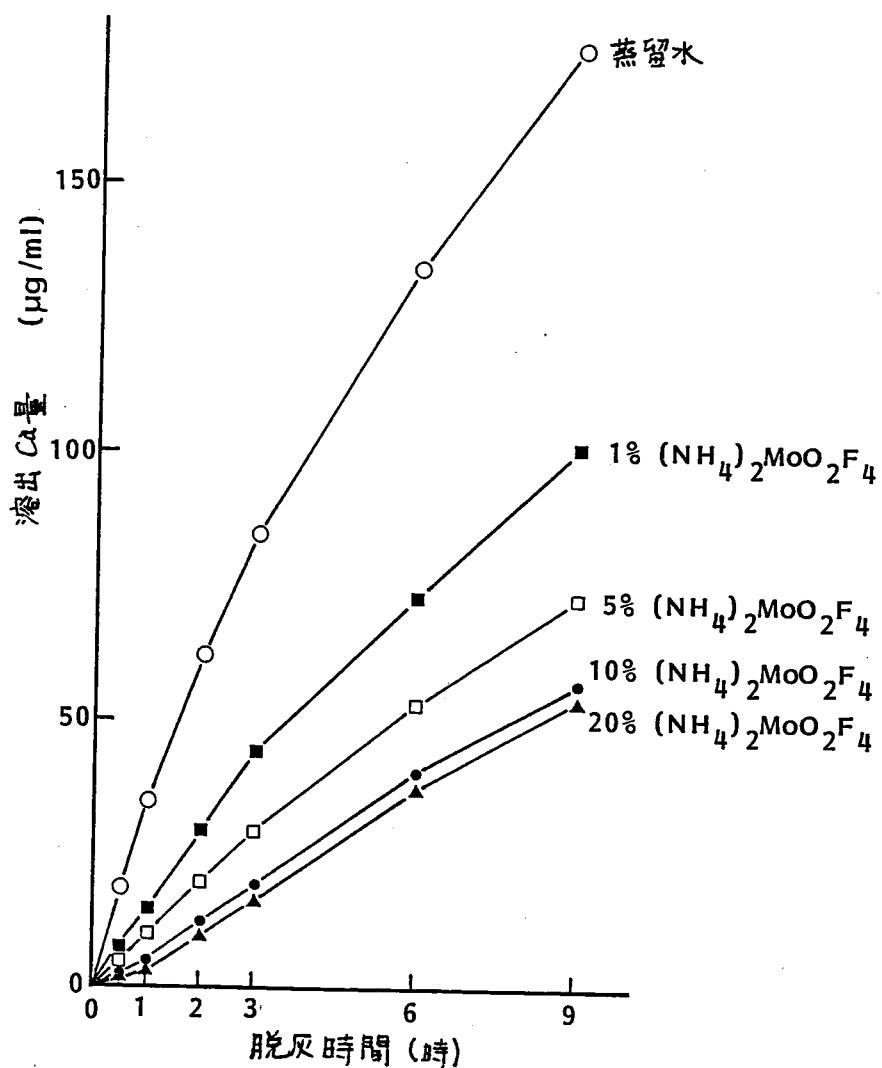


図10 各種 pH の 2% NaF および 6.17% NH₄F 溶液で処理した
コラーゲンからコラゲナーゼにより溶解したコラーゲン中の
ハイドロキシプロリン量 (N=6)

↔ 片段
トレス
渠木正実



図II 1, 5, 10, 20% $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ 溶液を塗布した象牙質の
耐酸性 (N=6)

↑ 片
トレス
塗付正裏

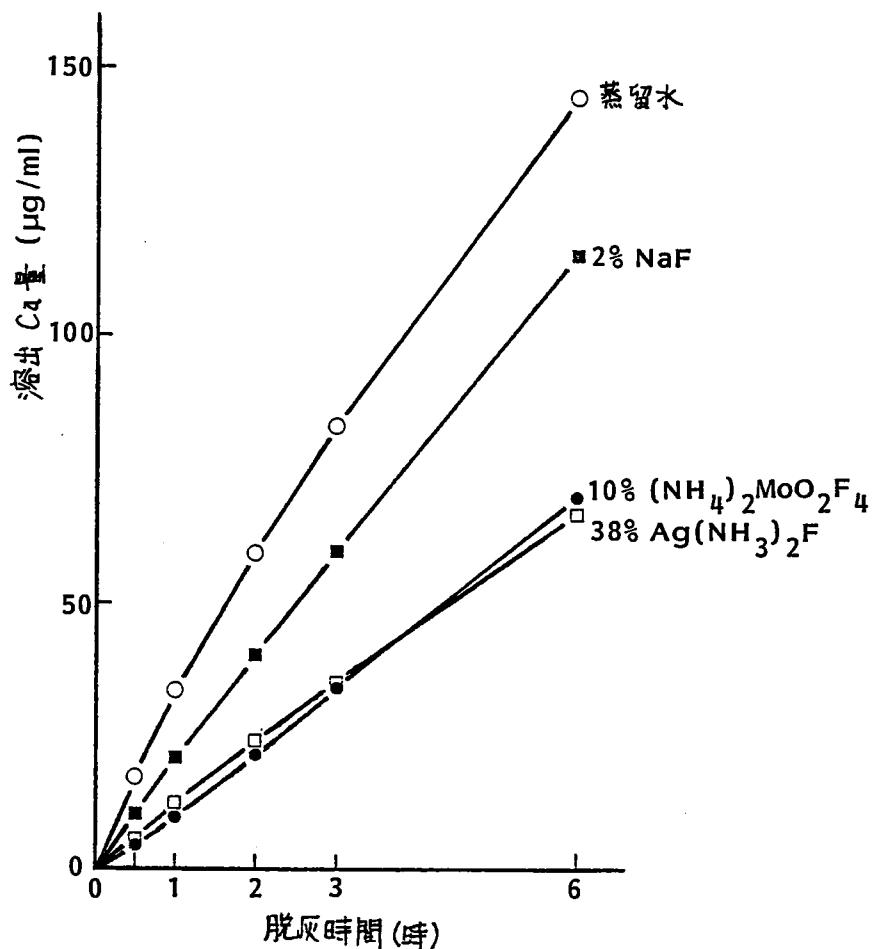


図12 10% $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$, 2% NaFおよび38% $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ 溶液
を塗布した象牙質の耐酸性 (N=6)

↔ 片倉
トレス
澤木正興

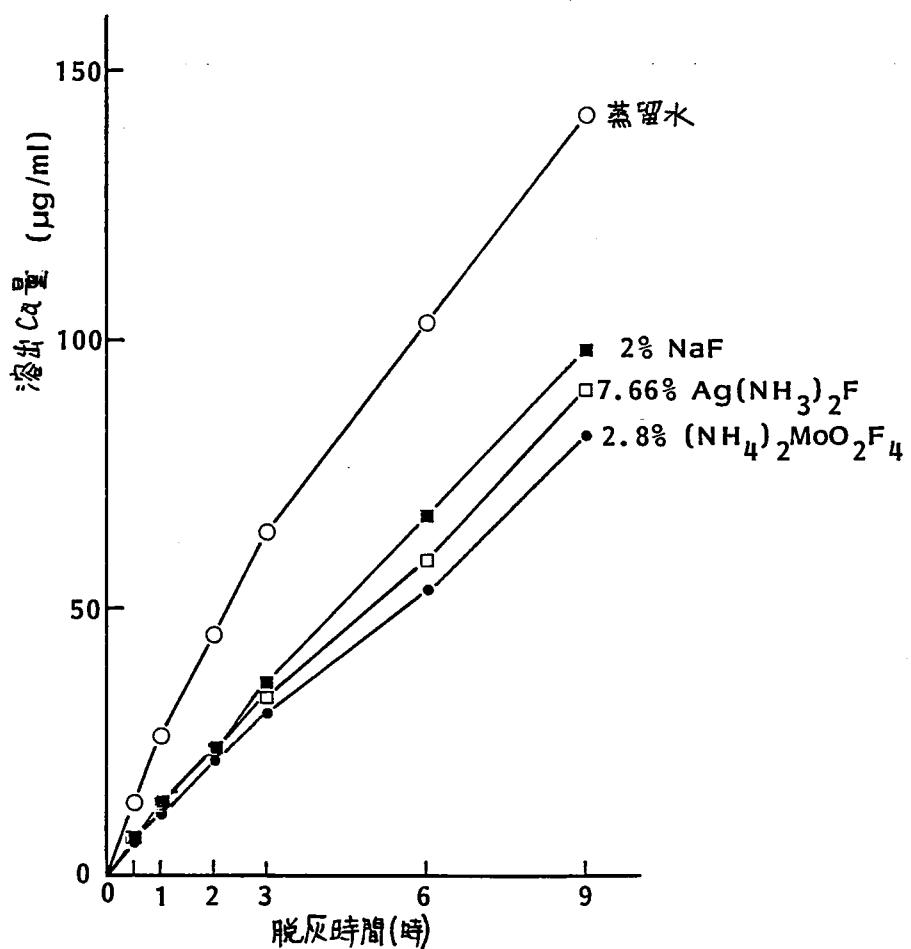


図13 同一フッ素濃度 (9,000 ppmF) で $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$, NaF および $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ 溶液を塗布した象牙質の耐酸性 (N=6)

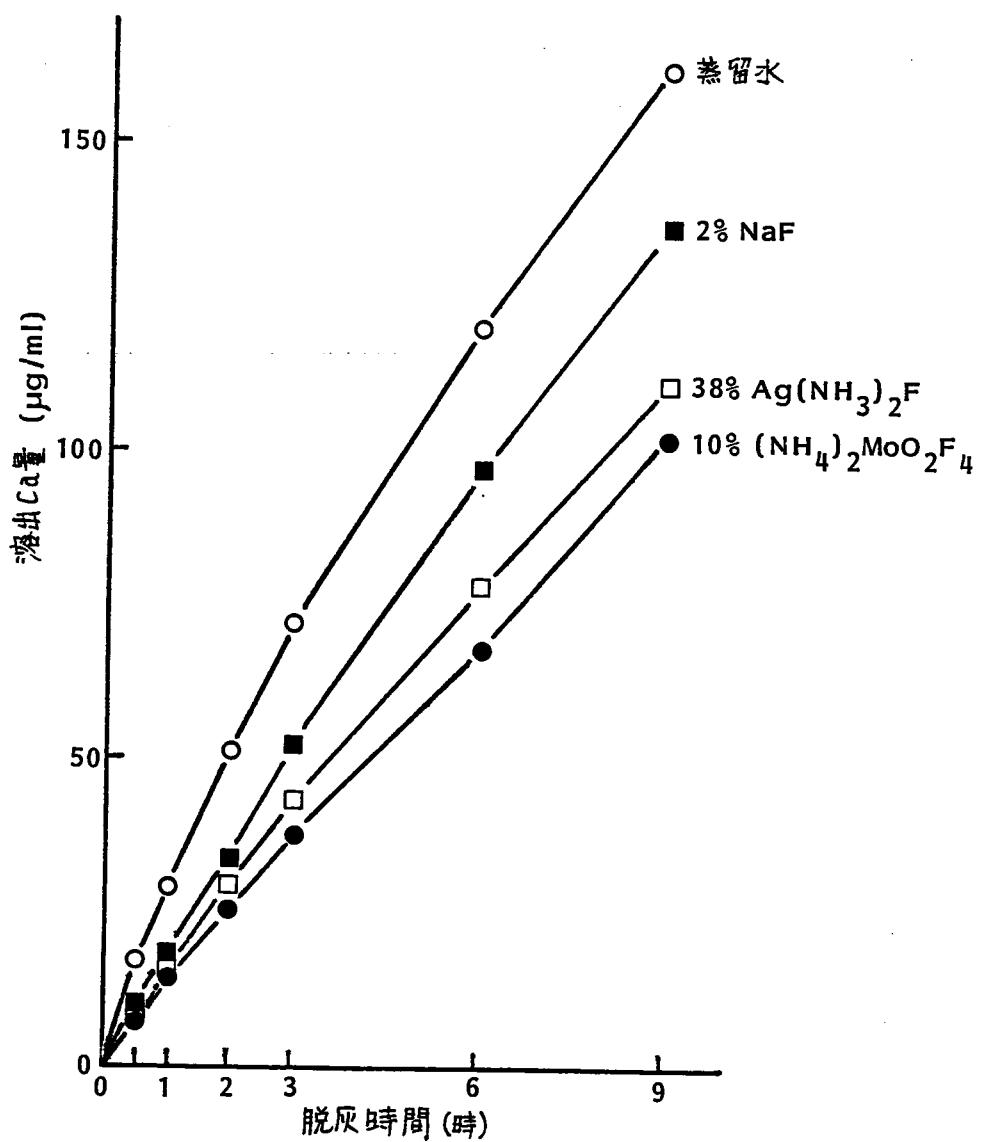


図14 10% $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$, 2% NaFおよび38% $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ 溶液を
塗布後7日間浸漬保存後の象牙質の耐酸性 (N=6)

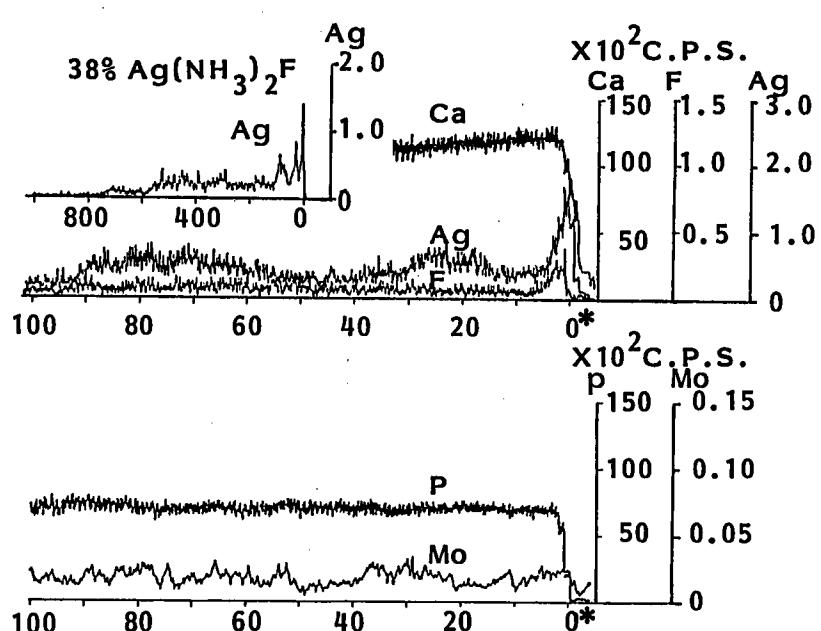
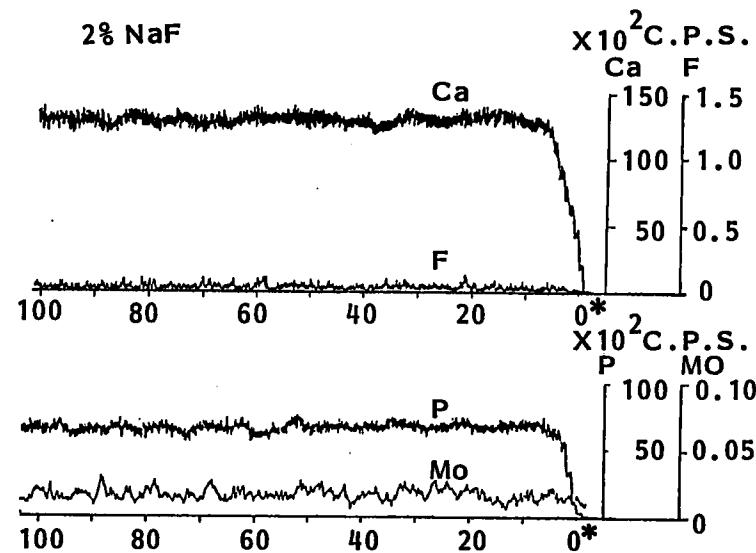
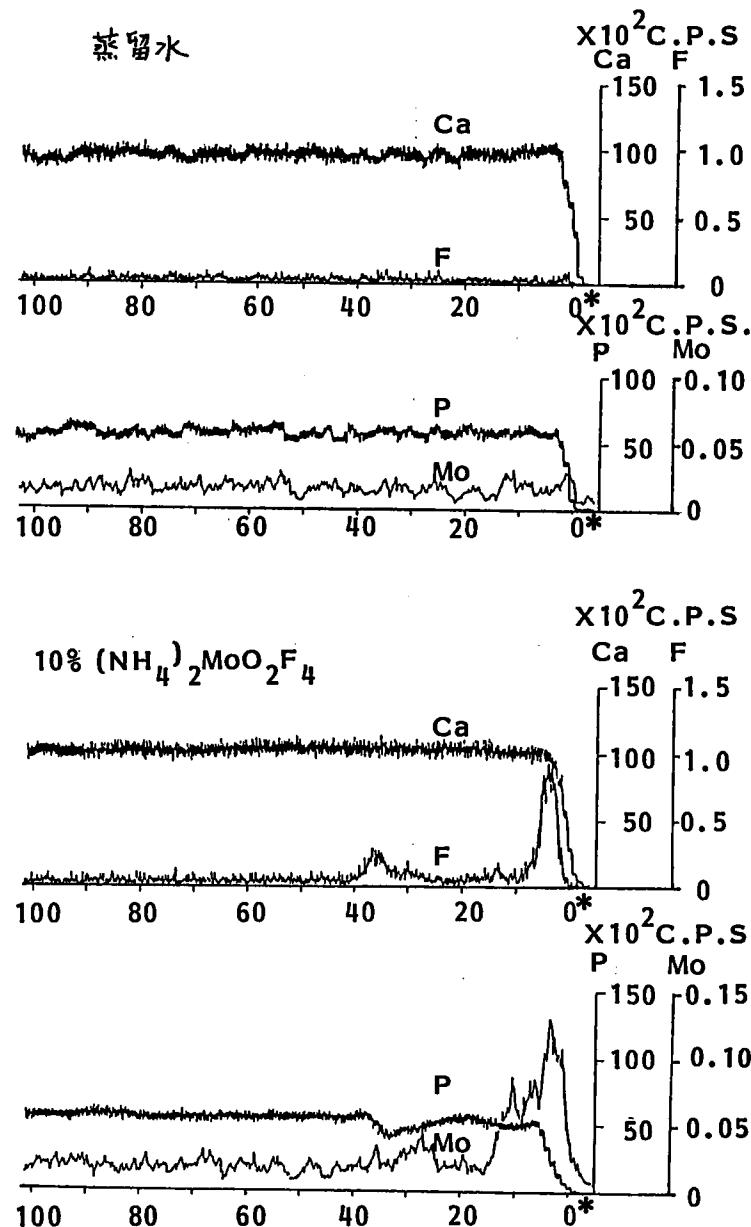


図15 塗布直後の象牙質表層から内層への $\text{Ca K}\alpha$, $\text{P K}\alpha$, $\text{F K}\alpha$, $\text{Mo L}\alpha$ および $\text{Ag L}\alpha$ の X 線強度変化
* 試料表面からの距離 (μm)

↔ 両段
トレース
栗木正実

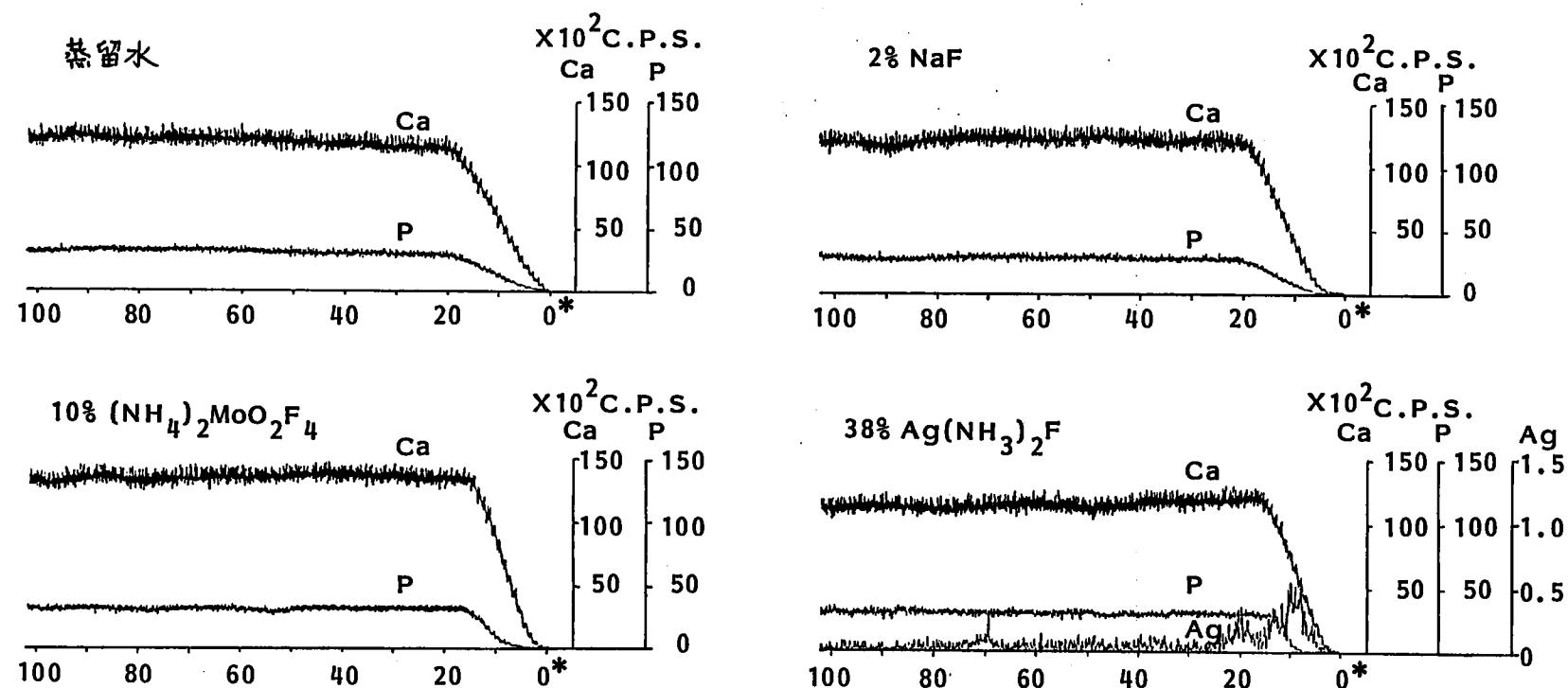
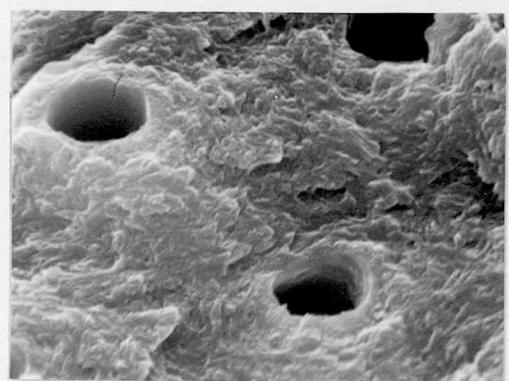
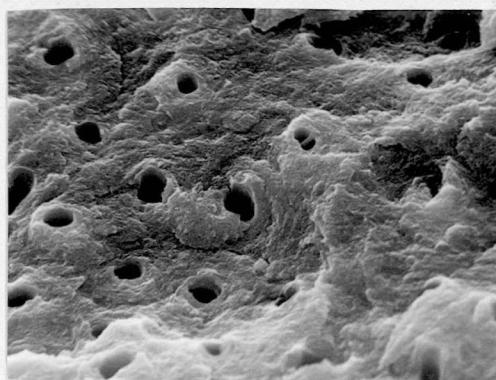


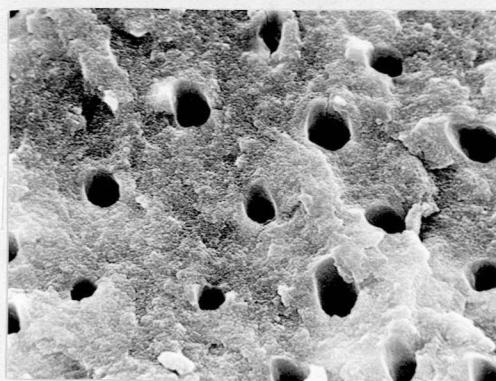
図16 8週間経過後の象牙質表層から内層への Ca $K\alpha$, P $K\alpha$ および Ag $L\alpha$ のX線強度変化 (F $K\alpha$, M $L\alpha$ は検出されなかった。 *試料表面からの距離 (μm)

↔ 両段
トレース
栗木 正実

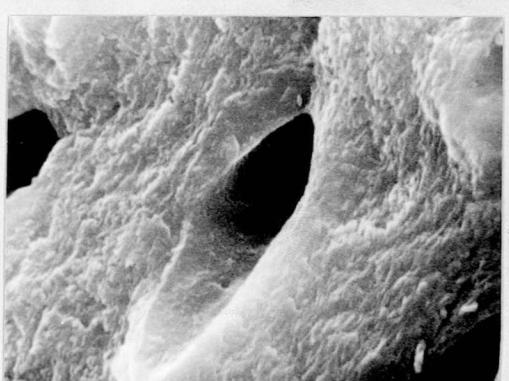
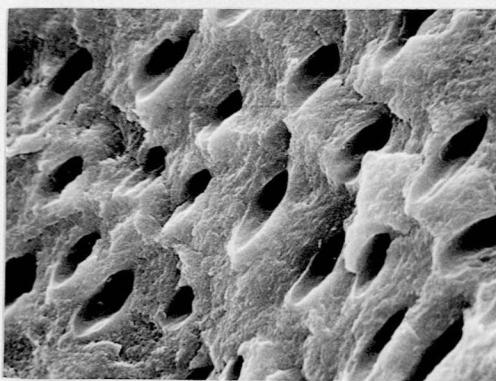
蒸留水



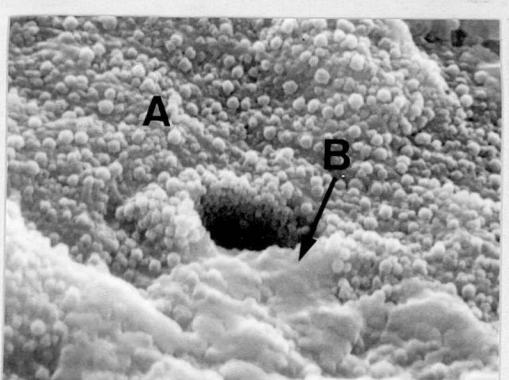
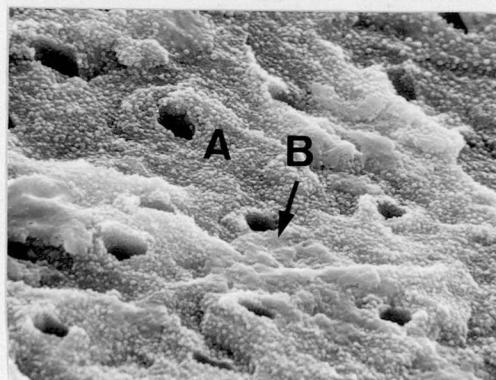
10%
 $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$



2% NaF



38% $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$



5μm

1.5μm

図17 各種フッ素溶液塗布直後の象牙質表面の走査型電子顕微鏡像

↑ 片段
トレース
栗木正東

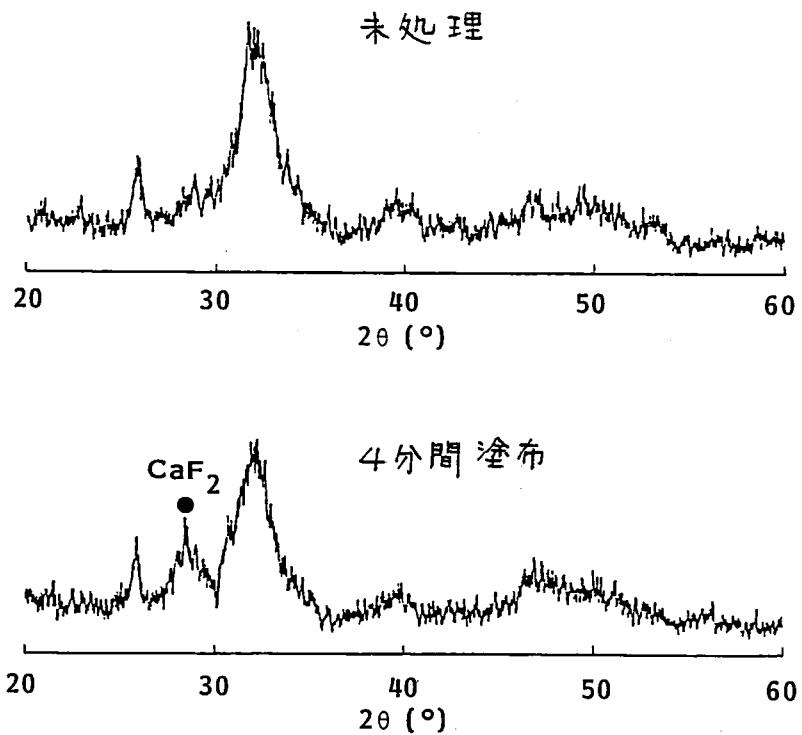


図18 10% $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4\text{F}_4$ 溶液を塗布した象牙質片の
X線回折像

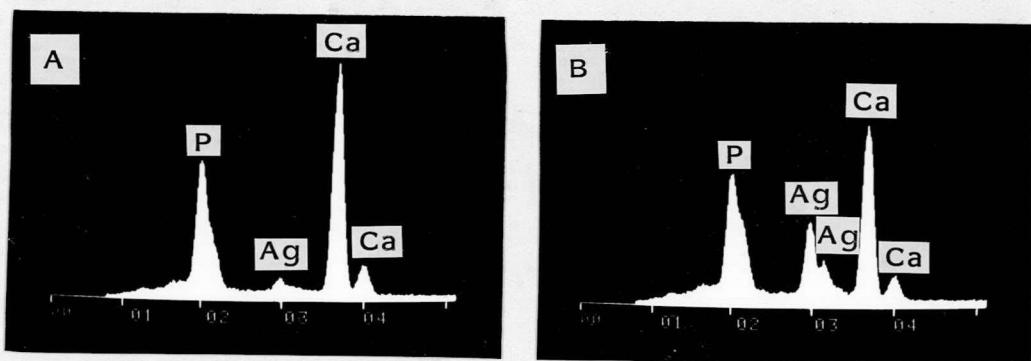
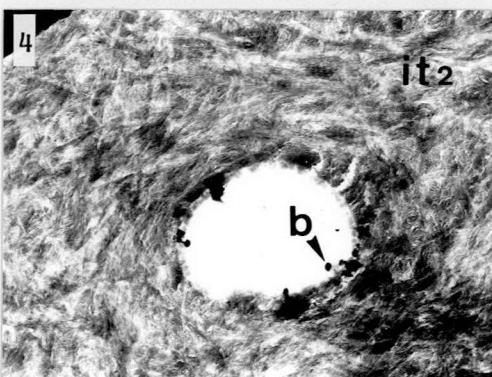
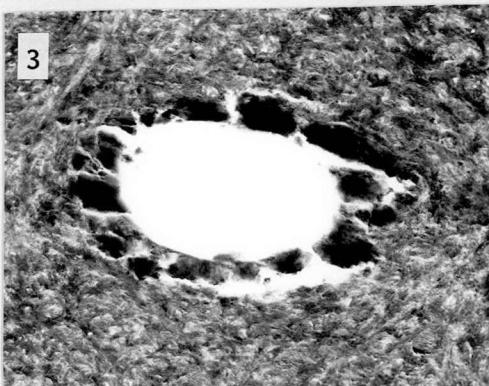
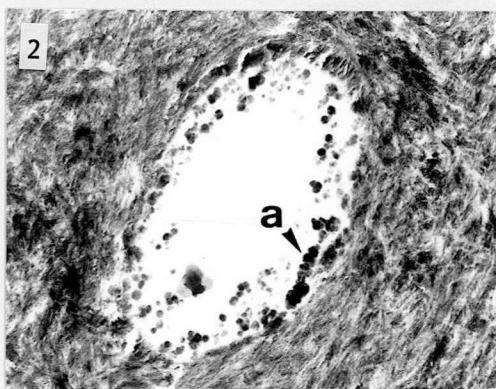
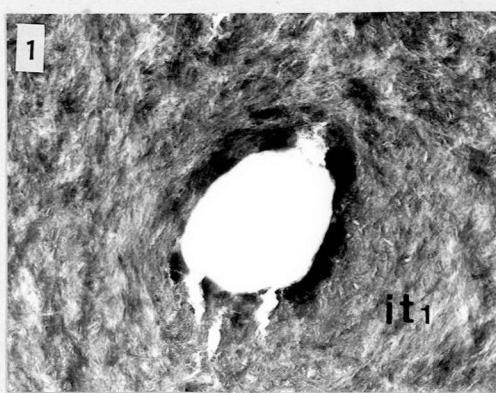


図19 38% $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ 溶液を塗布直後の象牙質表面のX線分析結果
 A: 球状の生成物で被われていた部位
 B: 矢印で示した表面が比較的平滑な部位



1μm

図20 各種フッ素溶液塗布直後の象牙質表面に近い部分の透過型電子顕微鏡像

1 : 蒸留水塗布, 2 : 10% $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4\text{F}_4$ 塗布,
3 : 2% NaF 塗布, 4 : 38% $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ 塗布

↔ 片段
トレス
栗本正典

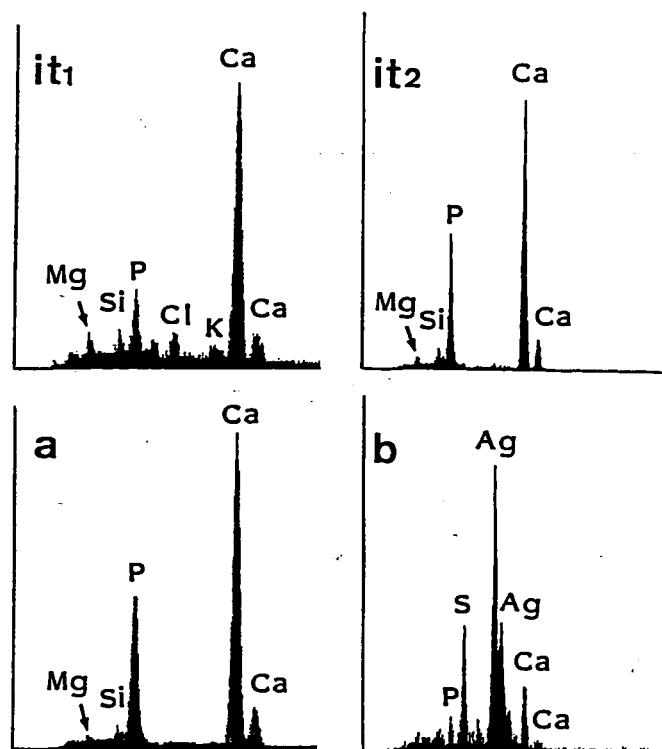


図21 塗布直後のX線分析結果

it₁, it₂: 管間象牙質

a: 10% (NH₄)₂M₀O₄F₄ 塗布により生じた球状の生成物

b: 38% Ag(NH₃)₂F 塗布により生じた微粒子

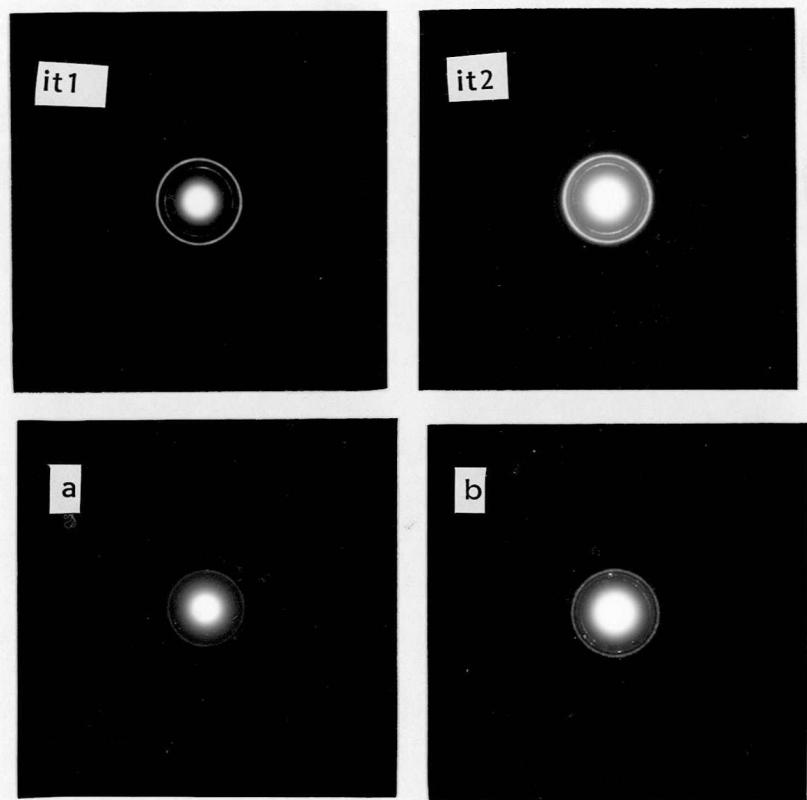


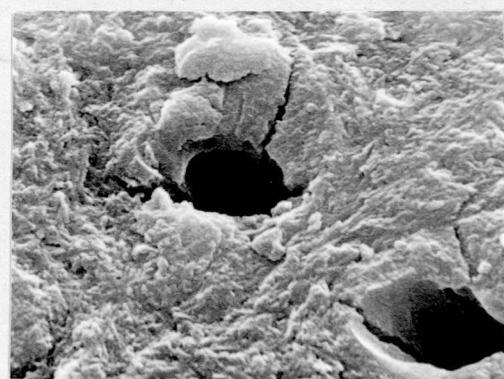
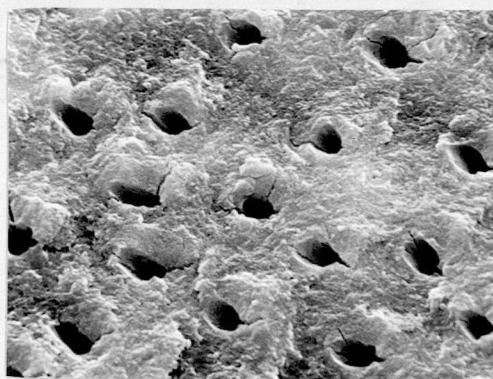
図22 塗布直後の電子線回折写真

it1, it2: 管間象牙質

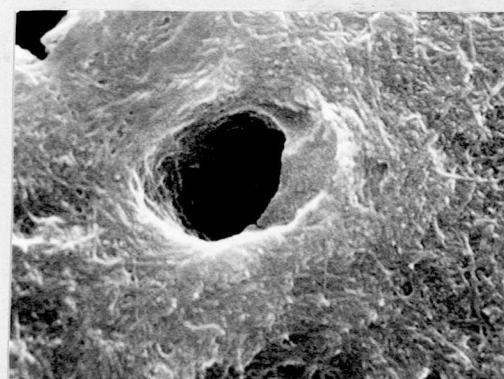
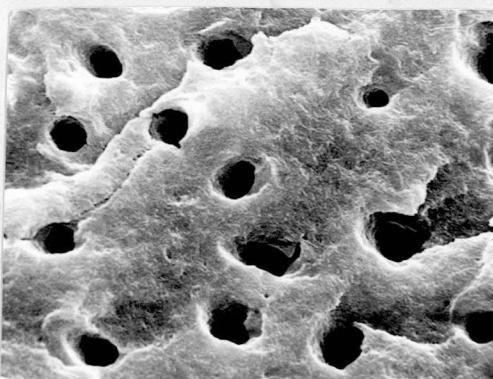
a : 10% $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ 塗布により生じた球状の生成物

b : 38% $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ 塗布により生じた微粒子

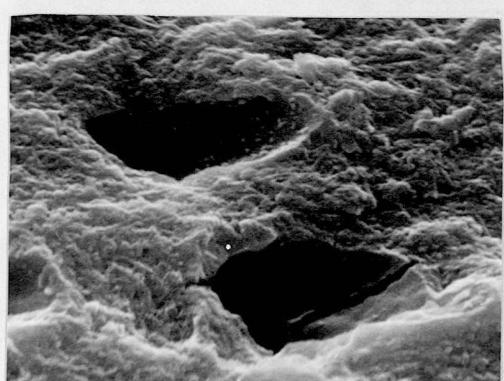
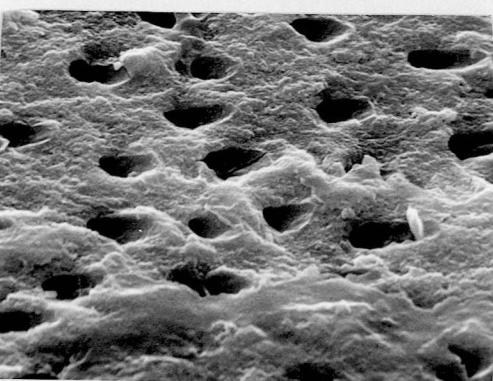
蒸留水



10%
 $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$



2% NaF



38% $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$



5μm

1.5μm

図23 各種フッ素溶液塗布後8週間経過後の走査型電子顕微鏡像

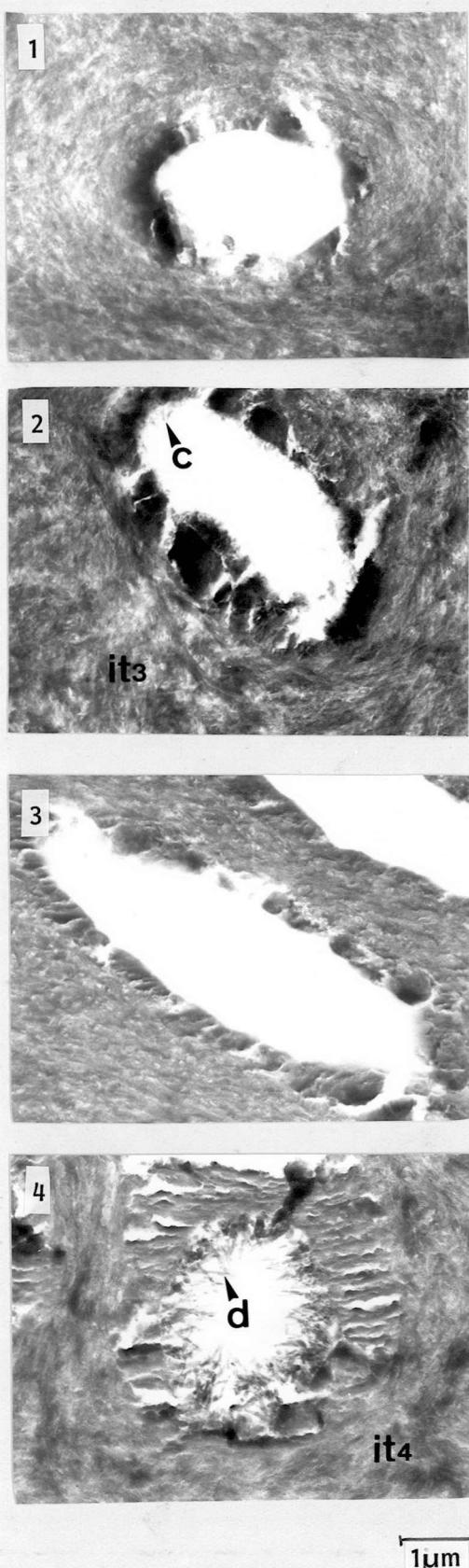


図24 各種フッ素溶液塗布後8週間経過後の象牙質表面に
近い部分の透過型電子顕微鏡像
1:蒸留水塗布, 2:10% $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ 塗布,
3:2% NaF塗布, 4:38% $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ 塗布

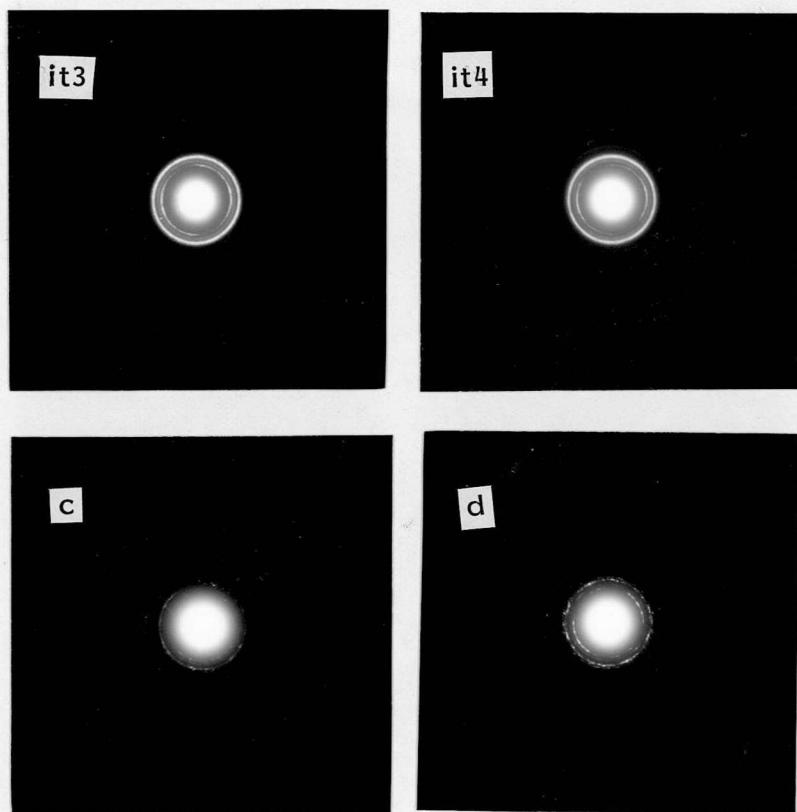


図25 8週間経過後の電子線回折写真

it3, it4: 管間象牙質

c: 10% $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ 塗布象牙質の象牙細管内に成長した針状の生成物

d: 38% $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ 塗布象牙質の象牙細管内に成長した小柱状の生成物

要旨

フッ化モリブデン酸アンモニウム $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ の腐蝕抑制機序を、象牙質に及ぼす影響の面から検討した。

その結果、 $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ は、健全象牙質粉末と反応して、フッ素のみを主体としたフッ化物よりも CaF_2 を速やかに生成させ、フッ素の取り込み量も増加させた。無機質における脱灰と再石灰化を想定し、BrushiteおよびWhitlockite合成系に $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ を添加した実験においては、他のフッ化物と同程度にapatiteを生成させた。

pH 6.0 および pH 5.5 に調整した $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ で処理したコラーゲンはコラゲナーゼによる分解を受けず、 $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ は象牙質有機質の溶解を抑制する可能性が推察された。

さらに臨床応用を想定し、 $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ を歯面塗布した場合には、象牙質の耐酸性の向上作用は、10%濃度でほぼ上限に達し、この効果は、塗布直後のみならず人工組織液に浸

漬後も 38% $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ と同程度であった。

10% $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ を象牙質に塗布した場合、直後には象牙質表面だけでなく象牙細管内にもおよぶ CaF_2 の生成ならびにフッ素とモリブデンの内層への浸透を認め、8週間経過後には 38% $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ にはおよびないものの apatite の成長による象牙細管の封鎖傾向を認めた。以上の研究結果から、 $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ は歯質を着色させることなく、象牙質に対しても抗齲歎作用を有することが示唆された。

Study on the effects of $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ on dentin

Masami Rakugi

Department of Pedodontics, Osaka University, Faculty of Dentistry

(Director: Prof. Shizuo Sobue)

Fluoride is known to have a strongly cariostatic effect, and molybdenum is thought to have a mildly cariostatic effect. $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ containing both fluoride and molybdenum has been shown to prevent dental caries and also depress the severity of dental caries in rat experiments. Furthermore, $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ has not discolored the teeth.

The purpose of this study was to investigate the mechanism of the cariostatic effect of $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ from the viewpoint of the effects on dentin. The reaction of $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ with dentin powder, the effect of $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ on Brushite and Whitlockite formation, on collagen, and on intact dentin blocks were examined. The results were as follows:

- 1) Reaction of 10,000ppmF $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ with dentin powder produced CaF_2 and increased F uptake more than NaF and NH_4F . It is considered that molybdenum enhance the effects of fluoride.
- 2) $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$, similar to NaF and NH_4F , produced apatite in the synthesis of Brushite and Whitlockite.
- 3) The collagen treated with $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ at pH5.5-6.0 was resistant to collagenase.
- 4) $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ increased the acid resistance of dentin not only immediately after the treatment but also 8 weeks after.
- 5) With $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ treatment of dentin, CaF_2 was produced and both fluoride and molybdenum penetrated into dentin. After 8 weeks, apatite crystals growthed in the dentinal tubules.

In summary, these results suggest that $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ gives cariostatic properties to dentin.

英文抄録の和訳

フッ素は強い抗齲歯作用を有しており、モリブデンは、穏やかな抗齲歯効果を持っていると考えられている。フッ素とモリブデンの両方を含有する $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ はラット実験系において齲歯予防効果とともに齲歯進行抑制効果の両方を示した。

この研究の目的は、 $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ の齲歯抑制の作用機序について象牙質への影響の観点から研究することである。そこで、象牙質粉末と $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ の反応、BrushiteおよびWhitlockiteの形成に及ぼす影響、collagenへの影響、健全象牙質片への影響が検討された。結果は、以下のとおりである：

- 1) 10,000 ppm F $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ は象牙質粉末と反応して、NaFやNH₄Fより速やかにCaF₂を生成させフッ素の取り込み量も増加させた。
- 2) pH 5.5 ~ 6.0 に調整した $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ で処理したcollagenはcollagenaseによ

り分解されなかつた。

3) $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ は、塗布直後も 8 週間経過後も、象牙質の耐酸性を向上させた。

4) $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ を象牙質に塗布することにより、直後には CaF_2 の生成とフッ素とモリブデンの象牙質内層への浸入を認めた。8 週間経過後には、apatite 結晶の象牙細管内での成長を認めた。以上の結果より、 $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_2\text{F}_4$ が象牙質に抗歯蝕作用を付与することが示唆された。