

Title	ラット急性フッ素障害エナメル質中のフッ素およびカルシウム分布の定量分析
Author(s)	財間, 至宏
Citation	大阪大学, 1987, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/35563
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 大阪大学の博士論文について をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【64】

氏名・(本籍)	さい 財	ま 間	よし 至	ひろ 宏
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	7579	号	
学位授与の日付	昭和62年3月12日			
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当			
学位論文題目	ラット急性フッ素障害エナメル質中のフッ素およびカルシウム 分布の定量分析			
論文審査委員	(主査)			
	教授	後藤	稠	
	(副査)			
	教授	北村	旦	教授 四方 一郎

論文内容の要旨

[目 的]

急性フッ素症に罹患したラット切歯エナメル質中には高石灰化層と、低石灰化層の2層が出現する。これらの2層構造は、フッ素の直接作用によるものと考えられている。すなわち、低石灰化層は、フッ素によるエナメル芽細胞の機能低下ないしは機能停止が原因となって形成され、高石灰化層は、フッ素によってアパタイトの結晶成長が促進されると考えられている。しかし、これらの部位のフッ素量の定量は、未だ行われていない。本論文は、この質中のフッ素量とカルシウム量を直接定量することを目的とする。

[方法ならびに成績]

ラットの切歯エナメル質中のフッ素の定量が成功しなかった理由には、1. 硬組織中の微量フッ素の定量が技術的に困難であること。2. 試料そのものが微量であること。および、3. 傷害部位を外部から正確に推定できないことの3点があげられる。

著者は、ガスクロマトグラフ法を用いた微量フッ素の定量法について、測定に影響を及ぼす諸条件に対して検討をくわえ、ng単位のフッ素を高い精度で測定できる方法を既に明らかにしている。そこで、フッ素によるラットの切歯エナメル質内の形成障害部位を外部から推定するために、ラットの上顎切歯が円弧状を呈することに注目し、障害部位の角度による表示を試みた。

実験動物には、SD系のラット(♂, 体重 160 ± 5 g) 20匹を用いた。そのうち4匹は無処理群とし、他をフッ素投与群とした。

投与群には、体重100 gあたり25% NaF水溶液0.2ml (NaFとして5 mg) を後頸部の皮下に注射した。

これをランダムに4群に分け、それぞれNaF投与後4日目、7日目、10日目および14日目に屠殺して上顎切歯を剔出し、10%中性ホルマリンで固定した脱水した後、通法によりポリエステル樹脂を包埋した。

樹脂包埋した1対の上顎切歯のうち、片側の切歯を、砥石を用いて研磨し、歯軸に平行で厚さ30~40 μm の標本とした。この標本から得たコンタクトマイクロラジオグラフから15倍に拡大した写真を焼き、その写真上で切歯外表面の曲率半径と曲率中心を図形的に求めた。この曲率中心と、切歯切縁を通る半径を基準線として、石灰化障害部位の角度による定位を行なった。その結果、測定誤差は各群とも 3° 以内であることが明らかになった。

この角度による定位法を用いることにより、歯軸に垂直で、エナメル質のほぼ中央に石灰化障害部位の存在する標本を作成することができた。

約200 μm の厚さに作成した横断面標本は、コンタクトマイクロラジオグラフを撮影の後、X線マイクロアナライザを用いてエナメル質中のリンとカルシウムについて線分析を行なった。その後、同じ標本のエナメル質内のフッ素とカルシウムの定量を行なった。

標本の横断面にはネイルエナメルを塗布してエナメル表面のみを露出した。ガラス製Vバイアルに15%過塩素酸水溶液100 μl を入れ、上記の方法で作成した標本のエナメル質表面を浸漬(5~30秒)してエッチングを行ない、表面から順次、層状に溶解した。試料表面を蒸留水150 μl で洗浄し、すべての水をバイアル中に入れた。これにフッ素抽出液50 μl を加え、 5°C で1分間振とうしてフッ素の抽出を行ない、ガスクロマトグラフ法により、フッ素の定量を行なった。水溶液層中のカルシウム量は、原子吸光法により定量を行なった。

実験に用いた切歯は、未だ石灰化の完了しない成熟期にあるため、フッ素やカルシウムの含有量は、重量%を用いなくて、単位体積あたりの重量で表示した。エッチングによる溶解量は、その前後の顕微鏡写真の断面積の変化をトレース用紙の重量変化から求め、それに標本の厚さを乗じて求めた。

以上の結果、フッ素とカルシウムはいずれも高石灰化層で高いことが明らかになった。さらに、フッ素/カルシウムの比でみると、高石灰化層で最も大きくなり、この部分にフッ素が特に多くなっていることが明らかになった。

[総括]

実験的に急性フッ素症を発症させたラットの上顎切歯エナメル質中の形成障害部位を、外部から正確に推定することが出来た。また、エナメル質中のフッ素とカルシウムの定量を行ない、石灰化亢進部位にフッ素が多く含まれることが確認された。これよりエナメル質の石灰化に際し、フッ素がアパタイトの結晶化に直接関与していることが示唆された。

論文の審査結果の要旨

本論文は、従来測定が困難であった、急性フッ素障害ラットの切歯エナメル質中フッ素分布の定量を

行なったものである。

フッ素の定量法には、ガスクロマトグラフ法を用い、ng単位のフッ素試料の定量を可能にする方法を確立した。また、ラットの上顎切歯外形が、円弧を呈することに着目し、その曲率中心を求めた。この曲率中心を中心とした切歯切端からの角度で、フッ素によるエナメル質の形成障害部位を表示できることに成功した。これにより、フッ素障害部位を、外部から正確に推定する方法が確立された。

その結果、高石灰化層には、正常ラットに比べ、カルシウムのみならず、フッ素も多量に含まれることを明らかにした。

本研究は、今後のエナメル質の石灰化過程の解明に、画期的な方法を開発したものと考えられ、学位の値するものと認められる。