

[教育講演記録]

生体アパタイト結晶形成機構と フッ素イオンの影響

Mechanism of biological apatite formation and influence by fluoride ions

寛 光夫 Mitsuo Kakei *

Although the harmful effects of fluoride on various soft tissues have been reported, it is generally believed that a small amount of fluoride would lead to strengthening of the tooth quality and be able to prevent dental caries. In this study, we would like to present the biological effect of fluoride on the hard tissues during the apatite formation and the mechanism of crystal defects caused by fluoride exposure. Furthermore, we would like to propose that fluoride might be one of the risk factors in the osteoporosis.

はじめに：古くから、高濃度のフッ素を摂取すると、歯や骨におけるフッ素症を引き起こすことが知られていたが、予防歯科では、低濃度のフッ素を使用することは無害で、むしろ虫歯予防の立場から推奨している。さらに、WHOもまた、ある濃度以内の使用は安価な虫歯予防という観点から推奨している。しかしながら、こうしたフッ素の効果に対して疑問視している研究者も多いが、低濃度での生体アパタイト結晶における影響に対して明確な答えを出すまでには至っていない。特に、硬組織では軟組織の場合と異なりフッ素イオンの生化学的役割が十分に解明されていないのが現状である。一般に、フッ素はエナメル質の歯質強化面だけに関心が向いており、常にremodelingが行われている骨に対しての意識が欠けているように見受けられる。おそらく、上皮由来のエナメル質と結合組織性の象牙質、骨における石灰化機構がいまだに異なると考えている研究者が多く、統一した石灰化機構の概念が行き渡っていないことがひとつの要因と考えられる。そこで、

フッ素の硬組織における影響を理解するためには基本的な石灰化機構、特に核形成過程を正しく理解することが重要である。

歯のエナメル質、象牙質および骨には、生体鉱物としてリン酸カルシウムからなるアパタイト結晶が形成されていることは周知の事実である。これら結晶がどのような過程を経て形成されているのかはまだ十分に解明されていない。特に、結晶核形成に関しては様々な説がある。こうした中で、我々は中心線説が最も有力な説と考えている。これは、結晶中に他の格子と異なるアクセントを持った一本の格子として区別される。また、結晶の核形成から成熟が薄い有機質の被膜構造内で起こることも明らかとなっている。いずれも、各硬組織に共通して観察されている。この中心線の存在が、電子顕微鏡によって初めてエナメル質の結晶に確認されたのは50年代の終わりであるが、低倍率では認められても、高倍率では消失するため単なる現象として捉えられていた。80年代になりこれが単なる現象ではないことが確認された(図1)(文献①)。

*寛 光夫
明海大学 歯学部 口腔解剖学分野

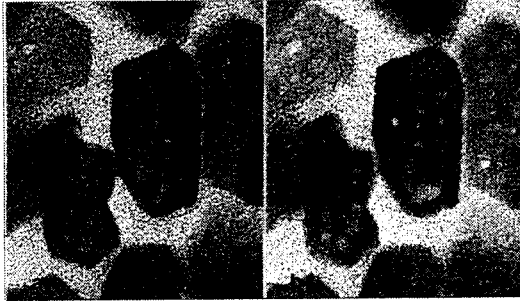


図1；ラット切歯エナメル質の結晶における電子線による中心線のダメージ前 (a) とダメージ後 (b) の電子顕微鏡写真。矢印；中心線

さらに、象牙質、骨、歯石などの各硬組織の結晶にも中心線の存在が確認された。いまでは結晶の核として位置づけられている。しかしながら、中心線の構成成分については、多くの研究者により、アパタイトの前駆体であるオクタカルシウム・ホスフェイト (OCP) であると考えられている。これに対して、我々は、物理的特性が異なることなどを挙げて反論を行っている。これ以前に、我々は論文のなかで、核である中心線形成には炭酸脱水酵素が直接関わっていることを報告した。この酵素の結晶核形成時における局在、Mg、CO₃無機イオンの動向などを基に、我々は独自の核形成のメカニズムを提唱している。それ故、フッ素を摂取させたラット切歯エナメル質の結晶形成過程の観察を通して何が起きているのかを予測することは容易であった。

フッ素の歯科予防に効果があるとしている主な根拠をここに挙げる。

- 1、フッ素イオンがアパタイト結晶の水酸基と置き換わり酸に溶けにくいフロールアパタイト (フロール化) に変化する。
- 2、フッ素イオンが結晶形成過程で、直接関与してフロールアパタイトを形成する。
- 3、歯のエナメル質表層が形成されたフッ化カルシウム (CaF₂) により覆われ耐酸性

が向上する。

4、再石灰化を促進する。

5、酸産生口腔内細菌を殺す。

これらに関して、我々の実験結果を基に可能な限り考察を行った。

結果と考察：はじめに、顕微ラマン装置を用いてフッ素処理した歯と合成アパタイト結晶にフロール化が本当に生じているか否かについて分析結果を報告する。結果は処理時間にかかわらずメディアを通じて宣伝されているような結晶構造中におけるフッ素イオンの置換は認められずフロール化は起こっていない (図2)。

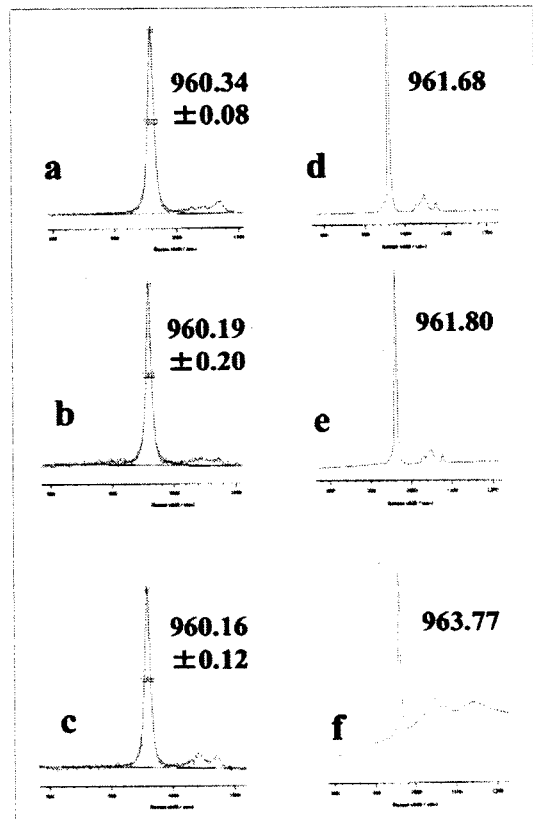


図2；フッ素処理前後の人エナメル質と合成アパタイト結晶の顕微ラマン分析。a；コントロール、人のエナメル質結晶、b；フッ素30分処理、c；フッ素5時間処理、d；コントロール・合成アパタイト、e；24時間処理、f；フロールアパタイト。

1939年ごろに、フロール化が起こるのではないかと推測した報告が出されて以来、フッ素に対する有効性の議論が始まったと思われる（文献②）。当時は、結晶構造の変化を直接分析できる高性能な装置は無く、試料中におけるフッ素量増加の分析結果を基に推測したにすぎなかったが、フッ素処理することにより難溶性のフロールアパタイトが形成されることとして多くの研究者に受け入れられて、今日に至っている。さらに、顕微ラマン分析装置の出現にもかかわらず、現在予防歯科で行われている処理方法で作成した試料のラマンデータの分析報告が見当たらない。むしろ、論文に記載されている試料の処理過程は、歯科で行われている虫歯予防処理とはるかにかけ離れ、非現実的である。ある論文では、エナメル質を72時間フッ素処理してCaF₂の検出を報告している（文献③）。しかしながら、最も説得力のあるフロール化が検出されていればCaF₂の形成にこだわる必要はないにもかかわらず、フロール化についての記述が見当たらない。これらのことから、フッ素の有効性を無理やりに作り出そうと努力していることが伺える。今回、歯科医院で使用されているフッ素処理剤を用いて行った実験で明らかのように、処理時間にかかわらずいずれの試料にもフロール化は認められなかった。いわゆる歯質の強化はありえないことが明らかとなった。

次に、フッ素摂取によるエナメル質と骨の結晶にみられる結晶の構造異常と、炭酸脱水酵素に与える影響について観察、分析を行った。ラット切歯では、フッ素の影響として、エナメル質結晶に構造的欠陥が生じることが観察された。低濃度（0.5ppm）のフッ素を

摂取させたラット切歯エナメル質では、結晶の中心部が形成されずに孔を有する少数の結晶が観察された。そこで、さらに濃度を2ppmに上げて実験を行うと、孔のある異常な結晶や結晶の断片が多く形成されることが認められた（図3）。結晶の縦断と横断像から、結晶核形成が阻害され、孔を有する結晶形成過程が明らかとなった。

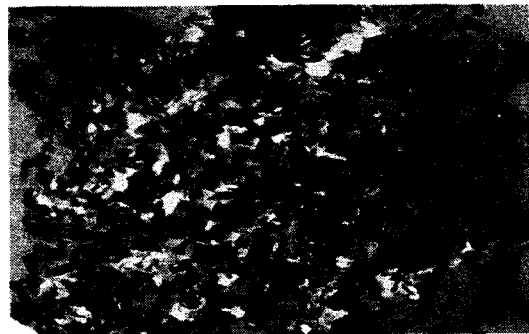


図3；フッ素摂取によるエナメル結晶構造への影響。中心部が欠損した結晶がみられる。

一方、骨の結晶では非結晶構造が形成される。また、炭酸脱水酵素の生化学的分析から細胞内での合成がわずかな濃度のフッ素でも阻害されていることが明らかとなった。すなわち、フッ素は結晶形成過程に直接関与するのではなく、硬組織を形成する細胞内で酵素の合成阻止に働き、間接的に結晶形成過程に影響していることを示すものである。フッ素症のエナメル質では、結晶の中心部が欠損して孔が生じることが報告されていたが、しかしながら、初期虫歯の結晶と形態が類似しているため、虫歯によるものと解釈されていた。また、エナメル質結晶におけるこうした構造的欠陥と耐酸性との関係について説明すると、本来、生体アパタイトの結晶は、耐酸性に対して均一ではなく中心部が酸に弱いことが知られている。すなわち、中心部を欠く結晶がフッ素の影響で形成されると、耐酸性

が増す現象を引き起こすと考えられる。さらに、目に見える軽度なフッ素の影響として、white-spot現象が歯のエナメル質で知られているが、これも結晶の透明性が孔により損なわれた結果と考えられる。しかしながら、骨の結晶ではこうした孔をもつ結晶は観察されない。フッ素を与えた骨の結晶の微細構造は、中心線を持った正常な結晶が減少し、かわりに格子構造をもたない非結晶構造を示すものが多く観察された。これは、結晶核形成過程において十分な炭酸イオンの供給が行われなかったことを示唆している。この違いは、骨の結晶核形成が阻害されたためと考えられる。

今回の結果から、フッ素は、その濃度にかかわらず、硬組織形成過程、特に核形成時に間接的に阻害効果をもたらしていることが明らかである。本来、フッ素は食物や飲みものなどから摂取されており、その多くは排泄されている。したがって、排泄能力を超える不必要なフッ素摂取は避けるべきである。医学分野では、骨粗しょう症治療にフッ素療法を勧めている向きがある。これは歯科分野におけるフッ素に対する誤解が基になっていると考えられる。アパタイト結晶をより溶質し難いフロールアパタイト結晶へと変換するとは考えにくい。フッ素を含んだ歯磨き剤は日常的に使用されており、予防歯科ではフッ素が口腔内になるべく長く留まるように指導していると聞くが、最終的にフッ素は体内に摂取され、骨形成に影響することを示唆している。では、何故虫歯予防にフッ素が役に立っていたのかを考えてみると、1940年に、その最もと思われる報告がある(文献④)。5)にあるように、酸産生の口腔内細菌をその毒性を

もって減少させているというのである。これは、歯科医師国家試験にも出題される。しかしながら、フッ素のような毒性の強いものをあえて使用するほどの価値があるとは思えない。骨はエナメル質と異なり、常にremodelingが行われ結晶が形成される。フッ素の結晶形成に対する影響を考慮すると、フッ素を用いた虫歯予防は、骨に少なからず悪影響をもたらすことが容易に推測される。特に、歯と異なり骨でのフッ素の影響は外からは目に見えにくいため、より一層の精査が必要となる。これらの結果から、フッ素は歯質強化に役立つどころか、むしろ、細胞内での結晶核形成に直接関わる酵素合成阻害を引き起こし、結晶核形成に障害をもたらすのみである。

また、再石灰化(ダメージを受けた結晶の修復)について、実験方法に工夫を行い観察してみたが、現在、臨床で行われているような条件下でのフッ素による結晶の修復は認められなかった。再石灰化の点については、ある論文で、2本の中心線がひとつの結晶中にあり、さらに60度で交差している電顕写真を証拠として示しているが、このような所見はエナメル質結晶にときに観察されることもあり、再石灰化による癒合の根拠とするには無理があると考えられる(図4)(文献⑤)。

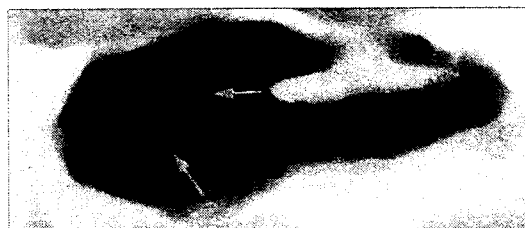


図4；2本の中心線が60度で交差しているのがみられる人エナメル質の結晶。

また、X線分析結果では、フッ素がエナメ

ル質表層に残ることが確認されており、粉末状にして処理した試料では多少なりとも耐酸性を高める可能性はある。しかしながら、これもまたフッ素の骨組織における悪影響を考慮する必要がある。

材料と方法：人の臼歯、合成アパタイトとフロールアパタイトを試料として、歯科医院で使用されているフッ素処理剤にて処理後、顕微ラマン分析装置を用いてフロール化の有無を検討した。結晶における影響を観察するために、3週令のラットに低濃度のフッ素を含む水を5～12週間与え、エナメル質と頭頂骨を試料として電子顕微鏡観察を行った。炭酸脱水酵素の生化学的分析には、8週令の下顎切歯の未成熟エナメル質を試料としてイムノブロット法による検出および酵素活性の測定を行い、コントロールと比較検討した。再石灰化の実験では一部脱灰処理した結晶を再

石灰化処理液にて2週間放置後、結晶を観察した。

引用文献

1. A. F. Marshall and K. P. Lawless, J. Dent, Res. 1981(60)1773-1782.
2. J. F. Volker, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1939(42)725-727.
3. H. Tsuda and J. A. Arends, Caries Res. 1993(27)249-257.
4. B. G. Bibby and M. Van Kesteren, J. Dent. Res. 1940(19)391-402.
5. Y. Miyake et al., J. Electron Microsc. 2003(52)605-613,

共同研究者

寒河江登志朗；日本大学松戸歯学部、組織、発生、解剖学
吉川正芳；明海大学歯学部、矯正学分野
田村典洋；明海大学歯学部、化学

謝 辞：ラマン測定にはレニショーKK,ラマンシステム部の村石修一氏にご協力を頂きました。この場をかりて深く感謝の意を表します。