

<原著>アドロイ-OH(Adlloy-OH)の経口投与によるラットの成長と齲歯発生

著者名(日)	松井 聡子, 猿田 峻, 松本 仁人, 日景 盛, 中出 修, 賀来 亨, 遠藤 一彦, 相良 昌宏, 大野 弘機
雑誌名	東日本歯学雑誌
巻	9
号	2
ページ	113-119
発行年	1990-12-30
URL	http://id.nii.ac.jp/1145/00007564/

〔原 著〕

アドロイ-OH (Adlloy-OH) の経口投与による ラットの成長と齲歯発生

松井聡子, 猿田 峻, 松本仁人, 日景 盛*, 中出 修**,
賀来 亨**, 遠藤一彦***, 相良昌宏***, 大野弘機***

東日本学園大学歯学部歯科薬理学講座
* 東日本学園大学歯学部歯科補綴学講座 II
** 東日本学園大学歯学部口腔病理学講座
*** 東日本学園大学歯学部歯科理工学講座

(主任: 松本仁人教授)
* (主任: 坂口邦彦教授)
** (主任: 賀来 亨教授)
*** (主任: 大野弘機教授)

Toxic Activities of the Ga-Sn Alloy (Adlloy-OH) on Nutritional Condition and Dental Caries Development in Rats

Satoko MATSUI, Takashi SARUTA, Yoshito MATSUMOTO,
Sakari HIKAGE*, Osamu NAKADE**, Tohru KAKU**,
Kazuhiko ENDO***, Masahiro SAGARA***, and Hiroki OHNO***

Department of Dental Pharmacology, School of
Dentistry, HIGASHI-NIPPOS-GAKUEN UNIVERSITY.
* Department of Crown and Bridge Prosthodontics,
HIGASHI-NIPPON-GAKUEN UNIVERSITY.
** Department of Oral pathology, School of Dentistry,
School of Dentistry, HIGASHI-NIPPON-GAKUEN UNIVERSITY.
*** Department of Dental Materials Science, School of
Dentistry, HIGASHI-NIPPON-GAKUEN UNIVERSITY.

(Chief: Prof. Yoshito MATSUMOTO)
* (Chief: Prof. Kunihiko SAKAGUCHI)
** (Chief: Prof. Tohru KAKU)
*** (Chief: Prof. Hiroki OHNO)

Abstract

The toxic activities of Ga-Sn alloy (Adlloy-OH) in experimental rats, its relations to the nutritional condition and dental caries development, were studied for three months. Adlloy, 0.3g or 3g per body weight (kg), was fed orally with the basal diet consisting of casein, sucrose, bean oil, mineral, and vitamin mixtures. Biochemical assays of serum was carried

受付: 平成2年9月30日

out for total protein, albumin, calcium, inorganic phosphate, glucose, urea, creatine, alkaline phosphatase, GOT, and GPT. There was no convincing evidence of toxic effects on growth and biochemical data by the oral feeding of Adlloy-OH.

Key words: Ga-Sn alloy (Adlloy-OH), Toxic activities, Rat

緒 言

著者らは、各種金属類経口投与によるラットの成長と実験的齲歯発生に関する一連の研究を進めているが、今回は、Adlloy-OH (Ga-Sn合金) の投与について実験を行った。Adlloy-OHは、液相点20°Cの水銀様の金属光沢を有する75 wt%Ga-25Sn合金であり、歯科用貴金属合金の表面を改質するために開発された材料である。これを用いることにより、接着性レジンやポリアクリル酸を含むセメントなどの歯科用接着性材料と貴金属合金を強固に接着させることができる^{6,7)}。

本報では、Adlloy-OHを口腔内で使用する際の生物学的安全性を確かめるために毒性試験を行った。GaやSnの純金属⁸⁾やAg-Ga-Sn-Cu-In-Pd合金^{9,10)}についての毒性試験は、すでに報告されている。また、Ga-Snの二元合金についての毒性試験は、細胞レベルの実験^{11,12)}や経口投与3週間の実験¹³⁾は行われている。しかし、Adlloy-OHの中長期間の経口投与による毒性実験は行われていない。

今回は、ラットにAdlloy-OHを中長期間(3ヶ月)経口投与した場合の成長と齲歯発生におよぼす影響を観察した。

実験方法

1. 実験動物

実験動物として、本学歯科薬理学講座で1979年以來、封鎖的に飼育しているWistar系ラットを用いた。生後21日目に離乳させた雌雄を実験に供した。

Table 1 Constituents of the experimental diet

Milk casem	20.0%
Sucrose	69.0%
Soybean oil	5.0%
Salt mixture	5.0%
Vitamin mixture	0.5%
Choline chloride	0.5%

2. 実験飼料

本実験に用いた飼料は、Table 1に示す田村の報告¹⁾した成分・組成のものである。実験群は、この飼料にAdlloy-OHを体重1 kg当たり0.3gと3 g摂取できるように食餌に配合した。

飼料の給餌量は、田村らの報告のように、ラットの体重100gまでは1日に飼料10g(50cal)、体重100g以上では15g(75cal)とした。飲料水は自由摂取とした。

3. 測定項目および方法

3-1 体重測定

体重測定は、離乳後、毎週2回、12週間の実験終了まで一般状態を観察しながら行った。

3-2 血液の生化学的検査

実験を終了した各群のラットは、エーテル麻酔下で断頭した後、直ちに採血し測定試料とした。

測定項目は次の通りである。calcium (Ca)はO-cresolphthalein complexon法, inorganic phosphorus (Pi)はリンモリブデン酸生成反応, glutamic-oxaloacetic transaminase (GOT), glutamic-pyruvic transaminase (GPT)はReitman-Frankel法, alkaline phosphatase (ALP)はKind-King法, 総蛋白はbiuret法, albuminは4-hydroxyazobenzen carboxylic acid法, 血糖値はglucose oxidase法, creatinine

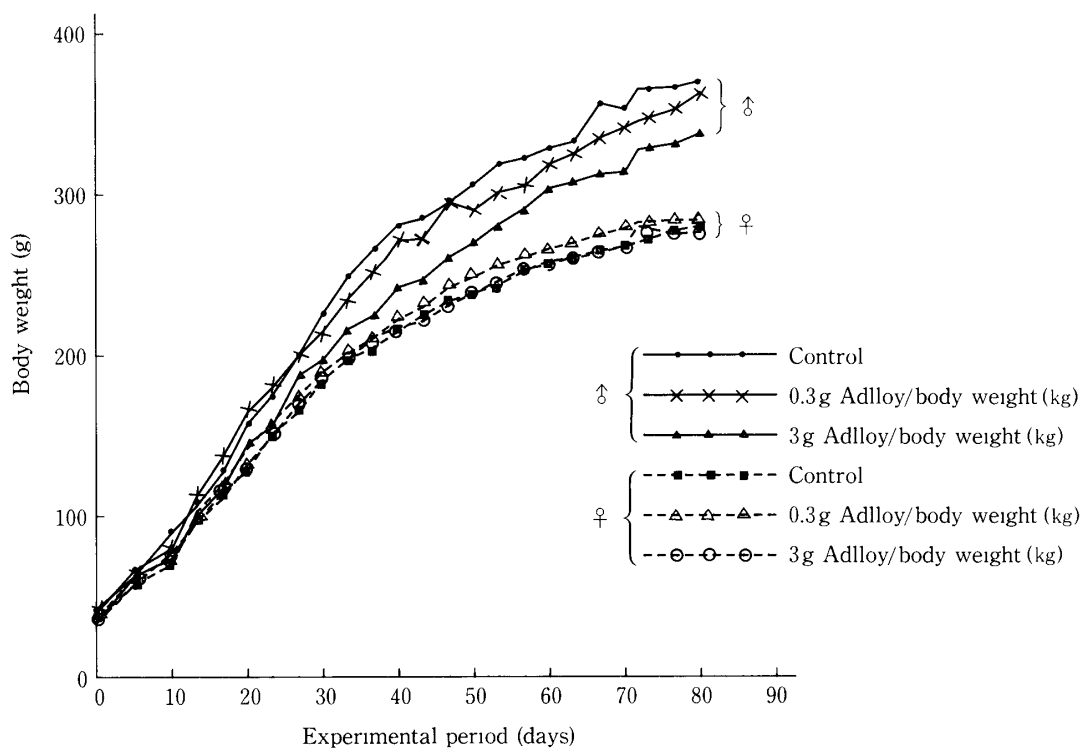


Fig. 1 Body weight increment of control and experiment rats.

Table 2 Biochemical data of sera of rats fed orally with basal diet (control), diet with 0.3g Adlloy/body weight(kg), or diet with 3g Adlloy/body weight(kg).

	Control			0.3g		3g	
	Sex	Mean	S E	Mean	S E	Mean	S E
Total protein (g/dl)	Male	6.28	0.03	6.38	0.08	5.96	0.09
	Female	7.19	0.11	6.42	0.10	6.57	0.20
Albumin (g/dl)	Male	1.54	0.07	1.82	0.12	1.90	0.03
	Female	2.32	0.04	2.10	0.10	2.14	0.15
Alkaline phosphatase (unit)	Male	29.4	2.80	25.1	1.80	20.4	1.75
	Female	13.5	0.17	13.3	0.66	9.9	1.61
Calcium (mg/dl)	Male	11.5	0.08	11.6	0.36	11.5	0.26
	Female	11.7	0.12	11.4	0.20	11.8	0.19
Inorganic phosphate (mg/dl)	Male	6.98	0.22	6.52	0.20	6.84	0.17
	Female	5.98	0.12	5.28	0.18	6.12	0.15
Glucose (mg/dl)	Male	123	5.86	110	2.99	111	9.26
	Female	126	4.72	120	3.48	124	8.60
G O T (Karmen unit)	Male	105	3.18	97	1.86	109	4.21
	Female	91.3	3.65	101	5.64	112	2.58
G P T (Karmen unit)	Male	28.4	0.55	30.5	1.53	45.6	7.29
	Female	29.4	3.21	32.1	2.14	38.4	1.38
Urea-N (mg/dl)	Male	4.22	0.46	3.38	0.28	3.52	0.22
	Female	5.22	0.41	5.14	0.38	5.08	0.19
Creatinine (mg/dl)	Male	0.22	0.03	0.12	0.02	0.18	0.02
	Female	0.06	0.02	0.16	0.04	0.12	0.02

はalkaline picrate法, 尿素窒素はurease indophenol法によって測定した。

3-3 病理学検査

実験終了後, 肝臓を摘出し, 重量を測定した。また, 病理組織学的検査を行った。

3-4 骨の重量測定

実験終了後, 大腿骨を取り, 軟骨を除去して, ethanol-ether混合液中で脱脂後, 105°Cで一晩乾燥させ, 乾燥重量を測定した。

3-5 灰分

乾燥重量測定後, 骨を電気炉で800°C, 5時間灰化し, デシケータ中で冷却後, 灰化重量を測定した。

3-6 齧歯の観察法

齧蝕の進行の判定には, 木津の方法を改良した下記に示した中井の方法^{2,3)}を準用した。

- 1) Grade 1: 初期齧蝕で, 特有の茶褐色を呈する。
- 2) Grade 2: explorerで探知できる齧窩がある。
- 3) Grade 3: 病巣が象牙質まで達し, 拡大されたもの。
- 4) Grade 4: 病巣が歯髄まで達したと思われる, 歯質の崩壊が著しい場合。
- 5) Grade 5: 歯質の崩壊が著しく, 咬頭が消失している場合。

実験成績

1. 栄養成績

Fig. 1は3ヵ月間の体重増加曲線を示したものである。雌雄とも, 対照群と2つの実験群とも有意差がなかった。

2. 血液の生化学的所見

肝臓に関係する生化学的測定値をTable 2に示した。対照群と2つの実験群で有意差を示さなかった。

3. 肝臓の重量及び病理所見

肝臓の体重対重量比をTable 3に示したが, 雌雄で有意差が認められない。また, 肝臓のhematoxylin-eosin染色による光顕的観察でも, Fig. 2に示すように異常所見は認められなかった。

4. 硬組織所見

4-1 骨の乾燥・灰化重量

Table 4に大腿骨の乾燥重量を示した。雌雄ともに, Adlloyの大量投与と少量投与の間に, 有意差が認められない。

Table 5は, 灰化重量を示した。乾燥重量と同様の傾向がある。

4-2 齧歯の観察

Table 6は, 齧歯の観察結果である。実験群と対照群の間に有意差は認められなかった。

Table 3 Liver weight as % of body weight of rats

Sex	No.	Control	0.3g/body weight(kg)	3g/body weight(kg)
Male	1	2.6	3.4	2.5
	2	2.9	2.9	3.1
	3	3.2	3.0	3.3
	4	3.3	3.0	3.2
	5	2.8	2.8	3.1
Female	1	3.5	4.1	3.8
	2	3.7	3.9	4.0
	3	3.4	4.4	3.9
	4	3.8	4.0	3.5
	5	3.3	3.5	4.1

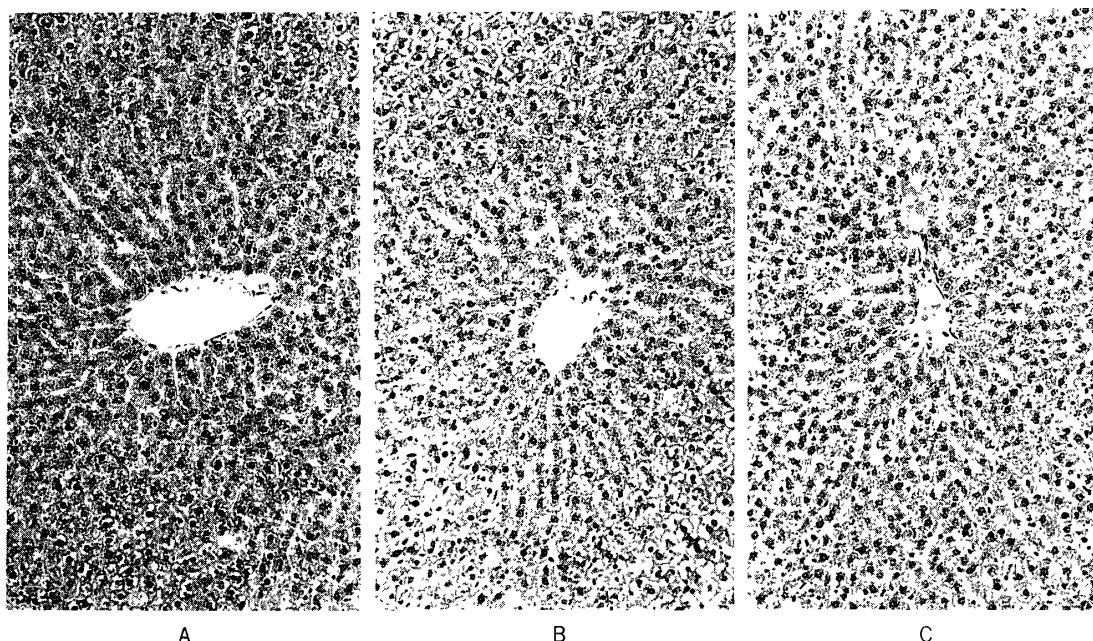


Fig. 2 Photographs of liver after 3 months for histopathological examination (H&E staining, $\times 45$)

- A : Control group
- B : Experimental group fed oral diet with 0.3g Adlloy/body weight (kg).
- C : Experimental group fed oral diet with 3g Adlloy/body weight (kg).

Table 4 Dried bone weight as % of body weight of rats

Sex	No.	Control	0.3g/body weight(kg)	3g/body weight(kg)
Male	1	0.19	0.17	0.14
	2	0.17	0.19	0.18
	3	0.18	0.18	0.18
	4	0.18	0.18	0.18
	5	0.18	0.18	0.17
Female	1	0.20	0.19	0.18
	2	0.21	0.19	0.19
	3	0.20	0.16	0.18
	4	0.20	0.16	0.19
	5	0.20	0.19	0.18

Table 5 Ashed bone weight as % of body weight of rats

Sex	No.	Control	0.3g/body weight(kg)	3g/body weight(kg)
Male	1	0.12	0.10	0.08
	2	0.10	0.11	0.10
	3	0.11	0.11	0.10
	4	0.11	0.11	0.10
	5	0.10	0.11	0.10
Female	1	0.12	0.11	0.10
	2	0.13	0.12	0.11
	3	0.13	0.11	0.11
	4	0.13	0.10	0.11
	5	0.13	0.11	0.10

Table 6 Experimental dental caries in each group fed with basal diet, diet with 0.3g Adlloy/body weight(kg), or diet with 3g Adlloy/body weight(kg).

Sex	No.	Control		0.3 g		3 g	
		Caries incidence	Caries extent	Caries incidence	Caries extent	Caries incidence	Caries extent
Male	1	7	9	10	16	8	10
	2	6	6	9	12	8	11
	3	8	11	9	13	8	11
	4	9	12	8	9	8	8
	5	9	12	10	13	8	8
Female	1	10	15	9	14	12	19
	2	6	10	10	14	10	11
	3	9	13	11	16	11	14
	4	12	20	14	20	9	13
	5	12	17	11	16	12	17

考 察

本報では、貴金属合金の表面を改質し、歯科用接着性材料との接着性を改善するために開発された75%Ga-25Sn合金 (Adlloy-OH) について、口腔内での使用を目的として、その生物学的な安全性を検討するために、中長期間におけるラットの経口投与による動物実験を実施した。

Gaは、人はもとより動物および植物のいずれにとっても必須元素ではない。経口摂取されたGaおよびその化合物は、腸管内がアルカリ性のため、不溶性化合物を形成し、ほとんど体内に吸収されない。従って、動物実験の結果からも経口摂取した場合はほとんど無害と考えられている。また、金属Snまたはその無機化合物の腸管からの吸収率は低いと言われている⁸⁾。

単体では毒性が認められない場合でも、合金化したものについての生物学的安全性を確認する必要があるが、このAdlloy-OHのラットへの経口投与急性毒性試験の結果¹³⁾によると、Adlloy-OHの致死量は5000mg/kgを越える量と推定されている。また、細菌を用いた復帰変異試験の結果でも、変異原性を示さないことが確認されている¹²⁾。また、日景らによって、HeLa細

胞に対して、Adlloy溶出液は細胞毒性が非常に低く、さらに、貴金属表面のAdlloyも細胞毒性は無視できると報告されている¹¹⁾。本実験における中長期間 (3ヵ月) のラット経口投与試験結果においても、体重増加、肝臓の重量および病理所見において、対照群と実験群とでは大きな違いは認められなかった。また、Pb, Sr, Teなどの金属摂取によって引き起こされる石灰化不全による齲歯増加の現象^{4,5)}は、認められなかった。以上の結果から、Adlloy-OHについて、短期、中長期間における有害性が認められなかったことは、本品が吸収あるいは代謝をうけることがないことを示唆するものである。

最近、アマルガム代替材料としてのGa合金の充填材料が開発され、歯科用として実用に供されている¹⁴⁾。この合金のラットに対するLD₅₀値は580mg/kgとされている⁹⁾。また、この合金の亜急性試験の結果、経口毒性はないと報告されている¹⁰⁾。さらに、Ga合金群の歯髓の組織変化に対しては対照群と比べ著明な差異は認められていない^{15,16)}。

Ga-Sn合金のAdlloy-OHとGa合金の充填材料の生物学的安全性を比較すると次の2点でAdlloy-OHの方がはるかに安全な材料であるといえる。まず、Adlloy-OHのLD₅₀値は5000

mg/kg以上であること、また、毒性の強いCuを含まないこと。第2として、口腔内で使用される状態が異なること。つまり、充填材料の場合、直接唾液に触れ、溶出物は体内に導入されるのに対して、Adlloy-OHは金属と接着性レジンなどの材料の接着界面に存在し、口腔内に露出しない。また、仮に、口腔内に露出するような事態になったとしても、その改質層の厚さは、数1000Åと非常に薄い層であるために、体内に導入される量は極微量である。

結 論

ラットに3ヵ月間Adlloy-OHを体重1kg当たり、それぞれ0.3gと3g添加の食餌を給餌した。栄養所見、血液生化学所見、肝臓の組織学的所見、および、齲歯発生率に対照群と実験群とでは大きな差が認められず、上記少量投与では中長期間におけるAdlloy-OHの生物学的為害性のみられないことが確認された。

文 献

1. 田村俊吉：栄養と実験齲蝕，東日本歯学雑誌，2：1-16，1983.
2. 中井一仁：乳児栄養に関する実験的研究，caseinを蛋白源とした高蛋白並びに低蛋白飼料を与えたシロネズミの実験的齲歯の発生及び歯牙の灰分，Ca及びPiについて，歯科学報，66：273-280，1966.
3. 猿田 俊：Gultenおよびその構成成分の栄養並びに実験齲蝕発生に及ぼす影響に関する研究，歯科学報，83：1437-1454，1983
4. 堤 璋二，伊藤春生，前橋 浩，中井一仁，松本仁人：歯科薬理学，第2版，268-281頁，学建書院，東京，1981.
5. 松本仁人，猿田 俊，比嘉 保，狩野智子：実験的齲歯の発生にたいするTelluriumの影響に関する研究，Sodium tellurateの栄養並びに実験的齲歯の発生に及ぼす影響およびそれにたいするGlutathioneの効果に関する研究，歯科学報，83：577-581，1983.
6. 大野弘機，荒木吉馬，遠藤一彦，川島 功，山根由朗，相良昌宏：接着性レジンおよびポリカルボン酸系セメントと強力に接着する被着金属表面の改質法，歯科材料・器械，7（特別号）：1-2，1988.
7. Ohno, H : A new conversion method of metal surfaces for resin bonding—Conversion effect on pure metals in dental precious metal alloys—, Dentistry in Japan, 27 in press, 1990.
8. 後藤 稠，池田正之，原 一郎(編)：産業中毒便覧，245-290，医歯薬出版，東京，1986
9. 増原泰三，中村康則，桑島治博：新しい歯科充填材Ga合金の細胞毒性について—経口投与によるラットおよびマウスの急性毒性試験—，口腔衛生学会誌，37：361-371，1987
10. 増原泰三，中村康則，桑島治博：新しい歯科充填材Ga合金の細胞毒性について—経口投与によるラットの亜急性毒性試験—，口腔衛生学会誌，37：372-378，1987.
11. 日景 盛，大野弘機，坂口邦彦，飯塚恵文：金属表面改質材Adlloy (Ga-Sn合金)の細胞毒性，日本補綴歯科学会雑誌，34（83回特別号）：102，1990
12. 大西瑞男：アドロイOHの細菌を用いる復帰変異試験，毒性試験報告書，1989.
13. 岡崎啓幸：アドロイOHのラットにおける経口投与急性毒性試験，毒性試験報告書，1989
14. 堀部 隆，岡本桂三，成瀬重靖：修復用ガリウム合金に関する研究，第1報2，3の理工学的性質，福岡歯科大学学会雑誌，12：198-204，1986.
15. 本川 渉，久芳陽一，副島嘉男，城島 浩，吉田穰，岡本桂三，堀部 隆：ガリウム合金の生物学的評価1．乳歯歯髄への刺激性について，福岡歯科大学学会雑誌，14：249-257，1987.
16. 吉田治志，辻 満，張逸鴻，東村節男，富永陽助，木下久子，川口政広，松元 仁，岡邊治男：保存修復用ガリウム合金に関する基礎的研究—修復後の歯髄変化について—，日本歯科保存学雑誌，31：1004-1012，1988.