

における一日フッ化物摂取量を推定することが要請されていた。これに関連してフッ化物の栄養学的な観点からの「フッ化物の許容上限摂取量」の策定には、米国学術会議の提唱になる「歯のフッ素症発現防止のためのフッ化物摂取の上限基準値：UL (Tolerable Upper Intake Levels) 摂取許容量」と生涯を通した一日フッ化物適正摂取量：AI (Adequate Intake)」があり、わが国においても研究成果によって資料が蓄積されつつある。

すなわち、年齢群別の飲食物からのフッ化物摂取量では(1)乳児(調製粉乳)、(2)幼児(3歳～6歳：陰膳食法とMarket-basket方式)においては試算推定が可能となっている。また水道水フッ化物濃度とそれを用いた調理済み食品(米)のフッ化物濃度との関連性が明らかにされた。さらに水道水フッ化物濃度を考慮したフッ化物摂取量の見積もりも試算されつつある。しかしながら、今後の課題としては、食品分析の対象となる被験者の対象者数と地域分布を考慮した分析が必要である。さらに栄養素の観点からは日常食からのフッ化物摂取量の算定を容易にするためには国民栄養調査成績における食品群別のフッ化物含有量のデータベース作成が急がれるところである。ところで、齲蝕予防効果についての総フッ化物摂取量については、予防効果閾の算定のために歯のフッ素症の鑑別診断とシステマチック・レビューがさらに必要となろう。さらに食品からのフッ化物摂取についてヒトを対象とした出納(国立健康・栄養研究所・西牟田委員)は食品からの生体への見かけのフッ化物吸収率は92%と高率であることが確認さ

れた。

3. 齲蝕予防のための生涯を通した水道水フッ化物添加法または水道水フッ化物濃度調整法 water fluoridation は、1945年に米国ミシガン州ランド・ラピズ市において1.0 mg/Lで開始されて以来、世界的にみると現在約60か国3億6千万人以上の人々に普及している。WHOは上水道水のフッ化物濃度の世界的な上限値を1.5 mg/Lとし(わが国の厚生労働省の水質基準は0.8 mg/L)、齲蝕予防を目的とした上水道フッ化物濃度を0.7～1.2 mg/Lを推奨している。

フッ化物の至適濃度(optimal fluoride concentration)の設定には、いくつかの要件がある。(1)飲料水の天然フッ化物濃度の確認、(2)その地域の気温と気温による飲水量(北緯または南緯の緯度)の確認、(3)日常の飲食物からの年齢層別一日フッ化物摂取量の確認、(4)地域フッ素症指数(Community Fluorosis Index: CFI)の確認などである。すなわち、適正フッ化物摂取量に基づいた至適フッ化物濃度の設定である。

昨年度の調査では、天然飲料水フッ化物含有地区0.6ppmFについてのう蝕有病状況と歯のフッ素症について(1)対照群との比較ではう蝕罹患の低下傾向がみられること、(2)Deanの分類による歯のフッ素症の影響はほとんど見られておらず、これまでの天然フッ化物地区における疫学調査とほぼ一致している。また飲食物からのフッ化物摂取量は、0.5-0.6ppmF地区在住の小児(2-12歳)の体重あたりのフッ化物摂取量は0.024～0.027mg/kgであり、適正摂取量とされる0.05mg/kgの約50%であり低値であった

ことが確認された。

今後は、フッ化物の栄養所要量における基準値策定が検討されるとともに、行政において早急にWHOの推奨する至適フッ化物濃度に関する検討が行われて、わが国の濃度設定が強く望まれるところである。

## E. 結論

1. フッ化物の医学的評価として、フッ化物製剤と骨粗鬆症の systematic review の結果、フッ化物は椎体の骨密度増加作用は認められるが、椎体骨折、非椎体骨折との関連はなかった。2. 水道水フッ化物添加(1ppm)と子宮ガンとの関連性は統計学的にも認められなかった。3. フッ化物の栄養学的評価について成人における食品からの尿、糞便中フッ化物の出納では食事からのフッ化物吸収率は約 95%であり出納は  $30.8 \pm 35.8\%$  という結果であった。4. フッ化物の適正摂取量に関して、幼児のフッ化物摂取は緑茶やウーロン茶と有意に関連している。5. 飲料水フッ化物中等度 0.5-0.6ppm 地区における 2-12 歳児のフッ化物摂取量は  $0.024-0.027\text{mg/kg}$  であった。6. market-basket による 3-6 歳児のフッ化物摂取量は  $0.248-0.293\text{mg}$  と試算された。7. 食品群 (魚類 32 品目) のフッ化物含有量は  $0.02-9.07\text{ppm}$  であり、1ppm 以上のものの多くは小骨を含むものであった。8. 換気式微量拡散法によるフッ化物定量法は、種々の性状の試料も測定可能であり、高い精度(CV 値 1.2-2.4%)であった。さらに時間対応の吸収速度が可能である。9. 沖縄の水道水フロリデーション経験者と非経験者との歯のフッ素症の発現には差はなく、一般の人の審美性

評価でも未経験者との差はなかった。

10. 水道水フロリデーション装置のサチエレーターについて小規模人口 (100 人) に適応可能性を探索した。

以上の研究結果をまとめると、フッ化物の有効性と安全性に関して、歯のフッ素症診断の再検討と分子生物学的探索が必要であり、フッ化物の栄養所要量策定については検討資料が提供できる段階に達しており、今後さらに食品中フッ化物データの蓄積の進展が望まれる。

## F. 研究発表

学会発表

1. Murakami, T., Narita, N., Shibata, T., Goshima, M., Nakagaki, H., Robinson, C.: Fluoride ingestion from dentifrice in Japanese pre-school children., Caries Research, 36:202, 2002. (49<sup>th</sup> ORCA Congress, Naantali, Finland)
2. 戸田真司, 宋文群, 薄井司文歩, 谷武, 広川晃司, 木本一成, 平田幸夫, 荒川浩久: 食品中のフッ化物分析法の基礎的研究—魚肉中のフッ化物含有量測定のための検討—, 神奈川歯学, 37(抄録集): 48, 2002. (第 37 回神奈川歯科大学学会・総会, 横須賀).
3. 佐久間汐子, 八木稔他: 天然フッ化物地区在住の中学生におけるう蝕有病状況および歯のフッ素症の発現状況, 口腔衛生学会雑誌, 52:304-305, 2002. (第 51 回日本口腔衛生学会総会、大阪、2002 年 9 月 13-14 日)
4. 筒井昭仁, 晴佐久 悟: 水道水フッ化物添加実施に至るプロセスに関する文献的考

察. 口腔衛生会誌, 52: 306-307, 2002.  
第 51 回日本口腔衛生学会総会, 大阪

**Project- 1 研究担当者**

主任研究者		中村 修一	九州歯科大学
高江洲義矩	東京歯科大学		生理学助教授
	名誉教授	筒井 昭仁	福岡歯科大学
分担研究者			口腔保健学助教授
田中 栄	東京大学医学部	佐藤 勉	日本歯科大学
	付病院整形外科助手		衛生学助教授
西牟田 守	国立健康・栄養研究所	平田 幸夫	神奈川歯科大学
	栄養所要量研究部室長		口腔衛生学助教授
古賀 寛	東京歯科大学	村上多恵子	愛知学院大学歯学
	衛生学助手		口腔衛生学講師
協力研究者		佐久間汐子	新潟大学歯学部医歯学
小林 清吾	日本大学松戸歯学部		総合研究科講師
	衛生学教授	戸田 真司	神奈川歯科大学
荒川 浩久	神奈川歯科大学		口腔衛生学助手
	口腔衛生学教授	中村 宗達	静岡県東部健康福祉
			センター技監

厚生労働科学研究費補助金（医療技術評価総合研究事業）  
分担研究報告書

フッ化物の医学的評価

フッ化物製剤と骨粗鬆症

分担研究者 田中 栄 東京大学医学部附属病院整形外科・脊椎外科助手

**研究要旨：**フッ化物は古くより骨粗鬆症治療薬として用いられてきたが、近年の evidence-based medicine の考え方に基づいて行われた研究は意外に少なく、骨粗鬆症治療薬としての位置づけはあいまいである。本研究では骨粗鬆症治療薬として確立した地位を築いているビスフォスフォネート製剤、ホルモン補充療法などと比較して、フッ化物の骨粗鬆症への応用について考察する。

A. 研究目的

骨組織は成長を終えてからも休みなく新陳代謝を行っており、骨吸収と骨形成がバランスを取ることにより生体におけるホメオスタシスを保っている。この骨代謝の生体内におけるバランスが骨吸収側（負）に傾くと骨強度の減少をきたし、易骨折性をきたす、すなわち骨粗鬆症と呼ばれる状態になる。骨粗鬆症の原因としては閉経後のエストロゲン欠乏、加齢によるものなどの一次的要因や、ステロイド投与などの二次的要因が挙げられる。つまり骨粗鬆症とは「一次的、二次的要因により骨代謝のバランスが骨吸収側に傾き、骨強度が減少し、骨折しやすくなった状態」と定義することができる。1990年代にはいり、骨組織のカルシウム濃度、いわゆる骨密度の正確な測定が可能になったことが骨粗鬆症の診断学、疫

学、治療学を大きく変えたといわれている。すなわち骨粗鬆症の診断基準が定められ、それまでの方法に比して比較的容易に骨粗鬆症の診断が可能となったこと、そして骨密度の変化によって治療効果を客観的に定量できるようになったことは、近年の evidence-based medicine (EBM) の概念の確立ともあいまって、さまざまな骨粗鬆症治療薬の開発へとつながった。現在骨粗鬆症治療法として、ビスフォスフォネートを中心に据えた治療法がグローバルスタンダードとして確立されようとしている。アレンドロネート、リゼドロネートをはじめとしたビスフォスフォネートは、膨大な基礎研究データの蓄積に加え、大規模かつ広範な臨床研究から骨密度増加のみならず、脊椎骨折、大腿骨頸部骨折の予防効果も確立されたという点で、これまでに類を見ない画期的な

治療薬であるといえる。ビスフォスフォネート以外に実際に臨床で用いられているエストロジェン、ラロキシエンも、その作用機序は骨吸収の抑制であると考えられており、現在使用されている骨粗鬆症治療薬のほとんどは骨吸収抑制剤であるといえる。しかしながらこのような治療コンセプトに不安がないわけではない。ビスフォスフォネートは、破骨細胞にアポトーシスを誘導することにより強力に骨吸収を抑制し、骨代謝回転を低下させる。骨組織に蓄積して効果を発揮するというビスフォスフォネートの特徴から、このような低代謝回転は薬物投与中止後もかなり長期間持続すると考えられており、長期におよぶ低代謝回転の持続が本当に骨組織にとって有害ではないのか？という問題は、特に比較的若年の患者を治療する際には重要なポイントになってくると考えられる。このような視点から、骨組織に対してアナボリックな作用を有する治療薬の開発が望まれているのも事実である。

フッ化物は骨吸収抑制効果のみならず骨形成に対してもアナボリックな効果を有することが知られており、古くより骨粗鬆症治療薬として用いられていた。しかしながら一昨年の本研究班でも報告したように、最近の臨床研究からは、従来用いられてきたフッ化物は骨粗鬆症治療薬としては不適切なものであるとされている。しかしながらこのような欠点がいかなるメカニズムにより生じているのかについては不明である。

本研究の目的は、ビスフォスフォネートなど他の治療薬とフッ化物との骨粗鬆

症治療効果を文献的に比較し、今後の新しい骨粗鬆症治療薬の開発戦略について考察することである。

## B. 研究方法

フッ化物を含め、さまざまな骨粗鬆症治療薬の効果について文献検索を実施した。特にEBM(evidence based medicine)の立場から価値が高いと思われる文献、および最近のsystematic reviewを中心として検討を行った。

## C. 研究結果

### ①ビスフォスフォネート

ビスフォスフォネートは破骨細胞機能を抑制しすることによって骨吸収を抑制する。とくに側鎖にアミノ基を有するアミノビスフォスフォネートは破骨細胞のアポトーシスを誘導することが知られている。現時点でわが国で認可されているビスフォスフォネートはエチドロネート、アレンドロネート、リセドロネートの3種類である。

#### 1) エチドロネート

エチドロネートは最初に認可されたビスフォスフォネートである。一般的にトランスは良好で、胃腸障害の報告も少ない。持続的な投与によって石灰化障害を生じるので、完結的に投与される。エチドロネートの閉経後骨粗鬆症における骨折に対して2つのrandomized control studyが行われている(1, 2)。いずれにおいてもエチドロネートは腰椎BMDを増加させるとともに脊椎骨折を減少させる。大腿骨頸部骨折や非椎体骨折に対する予防効果についてのエビデンスはない。

## 2) アレンドロネート

アレンドロネートはアミノビスフォスフォネートの1種である。アレンドロネートの骨粗鬆症治療効果については詳細に臨床研究が行われた。はじめの3年間の臨床研究ではアレンドロネートは有意に新たな骨折の発生を抑制した(3-5)。すでに椎体骨折のある群ではアレンドロネート投与によって椎体骨折、大腿骨頸部骨折、橈骨遠位端骨折の頻度を3年間で約50%、多発椎体骨折を90%抑制する。また椎体骨折のない群では、骨密度の低い群で骨折予防効果をしめした。アレンドロネートは非椎体骨折予防効果を示すことが明らかになった唯一の薬剤である。

## 3) リセドロネート

2つの大きな multicenter RCT では3年間のリセドロネート治療により椎体骨折の頻度は41-49%、非椎体骨折の頻度は39-33%減少した(6, 7)。また大腿骨頸部BMDの低い患者における大腿骨頸部骨折の頻度を40%、うちすでに椎体骨折を有する患者の大腿骨頸部骨折頻度を60%減少させた。

## ②ホルモン補充療法

ホルモン補充療法 (Hormone Replacement Therapy, HRT) は60年以上も骨粗鬆症治療法として用いられてきたにもかかわらず、つい最近まで大規模なRCTは存在しなかった。Women's Health Initiative (WHI) (8)は米国で行われた大規模な前向きRCTであったが、estrogen-progesteroneのcombination therapyにおいて心血管障害 (hazard ratio[HR] 1.29; 95% nominal CI

1.02-1.63)、乳癌 (HR 1.26; CI 1.00-1.59)、脳梗塞 (HR 1.41; CI 1.07-1.85)、血栓性静脈炎 (HR 2.11; CI 1.58-2.82) の有意な増加を認めたため、この治療法は途中で打ち切られた。この研究から明らかになった利点は、持続的なestrogen-progesterone投与によって大腿骨頸部を含むすべての部位で骨折率の低下が見られたこと (HR 0.66; CI 0.45-0.98)、そして大腸癌のリスクの低下が認められたこと (HR 0.63; CI 0.43-0.92)。エストロゲン単独療法の研究は継続している。これらの結果を鑑みて、HRTは若くしてmenopauseを迎えた患者に使うのがふさわしいと考えられる。

## ③フッ化物

フッ化ナトリウム (NaF) は強力な骨形成促進剤であり、歴史的にも脊椎の骨密度を増加させることが明らかになった最初の薬剤である。1964年にはじめて骨粗鬆症治療薬として研究が行われ、1970年代、1980年代には治療薬として処方されるようになったが、その副作用も認識されるようになった。1990年代に入り、5つのRCTがNaF治療に対して行われた(9-13)。これらは異なった剤型のNaFを用いている (plain NaF, enteric-coated NaF, Na-monofluorophosphate, slow-release fluoride) が、いずれの研究においても椎体のBMDは年間6-8%の増加を認めるにもかかわらず、椎体骨折の有意な減少は認められなかった。

あるひとつの小さなRCT(14)において、平均年齢52歳、平均腰椎T-score -2.74

の男性骨粗鬆症患者 60 名を 2 群に分けて、114 mg の Na-monofluorophosphate (フッ化物イオンとしては 15 mg) で 3 ヶ月治療、1 ヶ月休薬のサイクルで治療を行い、36 ヶ月で椎体骨折を 75% 減少させたと報告されている。

Glucocorticoid 誘発性骨粗鬆症に対するフッ化物治療について、4 つの RCT が存在する(15-18)。これらはいずれも椎体の BMD を増加させたが、骨折予防効果については症例が少なく、はっきりした結果はでていない。

フッ化物治療の副作用は用量依存性であり、剤形のちがいで頻度が異なる。上記の 5 つの研究において有意な胃腸障害、下肢痛、疲労骨折などの骨障害、が認められた。副作用は特に plain fluoride, monofluorophosphate に多く、enteric-coated, slow-release のものには少なかった。

最近 Gutteridge らは 80 歳以下で 1 つ以上の椎体骨折を有し、大腿骨頸部骨折のない閉経後女性に対する enteric-coated NaF と estrogen との combination therapy の効果についての RCT の結果を報告した(19)。NaF を用いた群では腰椎の BMD の増加を認めた。また NaF 単独群では四肢長幹骨 BMD の低下を認めたが、estrogen と併用することによりこの減少は抑えられた。また椎体骨折、非椎体骨折頻度ともに NaF, estrogen 併用群では低かったという。

以上の結果から、フッ化物は椎体の BMD を増加させる役割は認めるものの、骨折予防という点では、まだはっきりしたエビデンスはないといえる。

#### D. 考察および結論

骨粗鬆症治療薬として、フッ化物は椎体の骨密度増加作用という点では一致しているものの、椎体骨折、非椎体骨折の減少を示すようなエビデンスには乏しい。今後剤形の工夫、combination therapy などが期待される。

#### E. 文献

- 1) Storm, T., Thamsborg, G., Steiniche, T., Genant, H.K., and Sorensen, O.H. 1990. Effect of intermittent cyclical etidronate therapy on bone mass and fracture rate in women with postmenopausal osteoporosis. *N Engl J Med* 322:1265-1271.
- 2) Watts, N.B., Harris, S.T., Genant, H.K., Wasnich, R.D., Miller, P.D., Jackson, R.D., Licata, A.A., Ross, P., Woodson, G.C., 3rd, Yanover, M.J., et al. 1990. Intermittent cyclical etidronate treatment of postmenopausal osteoporosis. *N Engl J Med* 323:73-79.
- 3) Liberman, U.A., Weiss, S.R., Broll, J., Minne, H.W., Quan, H., Bell, N.H., Rodriguez-Portales, J., Downs, R.W., Jr., Dequeker, J., and Favus, M. 1995. Effect of oral alendronate on bone mineral density and the incidence of fractures in postmenopausal osteoporosis. The Alendronate Phase III Osteoporosis Treatment

- Study Group. *N Engl J Med* 333:1437-1443.
- 4) Cummings, S.R., Black, D.M., Thompson, D.E., Applegate, W.B., Barrett-Connor, E., Musliner, T.A., Palermo, L., Prineas, R., Rubin, S.M., Scott, J.C., et al. 1998. Effect of alendronate on risk of fracture in women with low bone density but without vertebral fractures: results from the Fracture Intervention Trial. *Jama* 280:2077-2082.
  - 5) Black, D.M., Cummings, S.R., Karpf, D.B., Cauley, J.A., Thompson, D.E., Nevitt, M.C., Bauer, D.C., Genant, H.K., Haskell, W.L., Marcus, R., et al. 1996. Randomised trial of effect of alendronate on risk of fracture in women with existing vertebral fractures. Fracture Intervention Trial Research Group. *Lancet* 348:1535-1541.
  - 6) Reginster, J., Minne, H.W., Sorensen, O.H., Hooper, M., Roux, C., Brandi, M.L., Lund, B., Ethgen, D., Pack, S., Roumagnac, I., et al. 2000. Randomized trial of the effects of risedronate on vertebral fractures in women with established postmenopausal osteoporosis. Vertebral Efficacy with Risedronate Therapy (VERT) Study Group. *Osteoporos Int* 11:83-91.
  - 7) Harris, S.T., Watts, N.B., Genant, H.K., McKeever, C.D., Hangartner, T., Keller, M., Chesnut, C.H., 3rd, Brown, J., Eriksen, E.F., Hoeslyni, M.S., et al. 1999. Effects of risedronate treatment on vertebral and nonvertebral fractures in women with postmenopausal osteoporosis: a randomized controlled trial. Vertebral Efficacy With Risedronate Therapy (VERT) Study Group. *Jama* 282:1344-1352.
  - 8) Rossouw, J.E., Anderson, G.L., Prentice, R.L., LaCroix, A.Z., Kooperberg, C., Stefanick, M.L., Jackson, R.D., Beresford, S.A., Howard, B.V., Johnson, K.C., et al. 2002. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results From the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *Jama* 288:321-333.
  - 9) Gambacciani, M., Spinetti, A., Taponeco, F., Piaggese, L., Cappagli, B., Ciaponi, M., Rovati, L.C., and Genazzani, A.R. 1995. Treatment of postmenopausal vertebral osteopenia with monofluorophosphate: a long-term calcium-controlled study. *Osteoporos Int* 5:467-471.
  - 10) Meunier, P.J., Sebert, J.L., Reginster, J.Y., Briancon, D., Appelboom, T., Netter, P., Loeb, G., Rouillon, A., Barry, S., Evreux, J.C., et al. 1998. Fluoride salts are no

- better at preventing new vertebral fractures than calcium-vitamin D in postmenopausal osteoporosis: the FAVOStudy. *Osteoporos Int* 8:4-12.
- 11) Pak, C.Y., Sakhaee, K., Adams-Huet, B., Piziak, V., Peterson, R.D., and Poindexter, J.R. 1995. Treatment of postmenopausal osteoporosis with slow-release sodium fluoride. Final report of a randomized controlled trial. *Ann Intern Med* 123:401-408.
  - 12) Reginster, J.Y., Meurmans, L., Zegels, B., Rovati, L.C., Minne, H.W., Giacovelli, G., Taquet, A.N., Setnikar, I., Collette, J., and Gosset, C. 1998. The effect of sodium monofluorophosphate plus calcium on vertebral fracture rate in postmenopausal women with moderate osteoporosis. A randomized, controlled trial. *Ann Intern Med* 129:1-8.
  - 13) Riggs, B.L., Hodgson, S.F., O'Fallon, W.M., Chao, E.Y., Wahner, H.W., Muhs, J.M., Cedel, S.L., and Melton, L.J., 3rd. 1990. Effect of fluoride treatment on the fracture rate in postmenopausal women with osteoporosis. *N Engl J Med* 322:802-809.
  - 14) Ringe, J.D., Dorst, A., Kipshoven, C., Rovati, L.C., and Setnikar, I. 1998. Avoidance of vertebral fractures in men with idiopathic osteoporosis by a three year therapy with calcium and low-dose intermittent monofluorophosphate. *Osteoporos Int* 8:47-52.
  - 15) Lippuner, K., Haller, B., Casez, J.P., Montandon, A., and Jaeger, P. 1996. Effect of disodium monofluorophosphate, calcium and vitamin D supplementation on bone mineral density in patients chronically treated with glucocorticosteroids: a prospective, randomized, double-blind study. *Miner Electrolyte Metab* 22:207-213.
  - 16) Guaydier-Souquieres, G., Kotzki, P.O., Sabatier, J.P., Basse-Cathalinat, B., and Loeb, G. 1996. In corticosteroid-treated respiratory diseases, monofluorophosphate increases lumbar bone density: a double-masked randomized study. *Osteoporos Int* 6:171-177.
  - 17) Rizzoli, R., Chevalley, T., Slosman, D.O., and Bonjour, J.P. 1995. Sodium monofluorophosphate increases vertebral bone mineral density in patients with corticosteroid-induced osteoporosis. *Osteoporos Int* 5:39-46.
  - 18) Lems, W.F., Jacobs, W.G., Bijlsma, J.W., Croone, A., Haanen, H.C., Houben, H.H., Gerrits, M.I., and van Rijn, H.J. 1997. Effect of sodium fluoride on the prevention

- of corticosteroid-induced osteoporosis. *Osteoporos Int* 7:575-582.
- 19) Gutteridge, D.H., Stewart, G.O., Prince, R.L., Price, R.I., Retallack, R.W., Dhaliwal, S.S., Stuckey, B.G., Drury, P., Jones, C.E., Faulkner, D.L., et al. 2002. A randomized trial of sodium fluoride (60 mg) +/- estrogen in postmenopausal osteoporotic vertebral fractures: increased vertebral fractures and peripheral bone loss with sodium fluoride; concurrent estrogen prevents peripheral loss, but not vertebral fractures. *Osteoporos Int* 13:158-170.
- F. 研究発表  
論文発表
- 1) Mochizuki T, Asai A, Saito N, Tanaka S, Katagiri H, Asano T, Nakane M, Tamura A, Kuchino Y, Kitanaka C, Kirino T: Akt protein kinase inhibits non-apoptotic programmed cell death induced by ceramide. *J Biol Chem* 2002, 277:2790-2797
- 2) Nakamura I, Kadono Y, Takayanagi H, Jimi E, Miyazaki T, Oda H, Nakamura K, Tanaka S, Rodan GA, Duong LT: IL-1 Regulates Cytoskeletal Organization in Osteoclasts Via TNF Receptor-Associated Factor 6/c-Src Complex. *J Immunol* 2002, 168:5103-5109
- 3) Onodera S, Nishihira J, Iwabuchi K, Koyama Y, Yoshida K, Tanaka S, Minami A: Macrophage migration inhibitory factor up-regulates matrix metalloproteinase-9 and -13 in rat osteoblasts. Relevance to intracellular signaling pathways. *J Biol Chem* 2002, 277:7865-7874
- 4) Yamamoto A, Miyazaki T, Kadono Y, Takayanagi H, Miura T, Nishina H, Katada T, Wakabayashi K, Oda H, Nakamura K, Tanaka S: Possible involvement of IkappaB kinase 2 and MKK7 in osteoclastogenesis induced by receptor activator of nuclear factor kappaB ligand. *J Bone Miner Res* 2002, 17:612-621
- 5) Ioku K, Kawachi G, Fujimori H, Goto S, Fujiwara K, Watanabe M, Oda H, Tanaka S, Matsumoto T: Analysis of apatite in phyma calcified in vivo. *Trans Materials Res Soc Japan* 2002, 27:455-457.
- 6) Nakamura K, Oda, H, Tanaka S, Kuga Y, Yamamoto M, Nishikawa T, Juji T, Shimizu M. Usefulness of absorbable screws in the Sauvé-Kapandji procedure for rheumatoid wrist reconstruction. *Mod Rheumatol* 2002, 12:144-147
- 7) Worland RL, Jessup DE, Johnson GVV, Alemparte JA, Tanaka S, Rex FS, Keenan J. The effect of femoral component rotation and asymmetry in total knee replacements.

- Orthopedics 25: (10) 1045-1048, 2002
- 8) Houle EF, Rousseau S, Morrice N, Luc M, Mongrain S, Turner CE, Tanaka S, Moreau P, Huot J. RK mediates phosphorylation of tropomyosin-1 to promote cytoskeleton remodeling in response to oxidative stress. Impact on membrane blebbing. *Mol Biol Cell* In press.
- 9) Miyazaki T, Neff L, Tanaka S, Horne WC, Baron R. Regulation of cytochrome c oxidase activity by c-Src in osteoclasts. *J Cell Biol* In press.
- 10) Tanaka, S. Adenovirus vector-mediated gene transduction for the treatment of bone and joint destruction of rheumatoid arthritis. *In "Tissue Engineering and Biodegradable Equivalents."* eds. by Lewandrowski, Trantolo, Gresser, Yaszemski, and Altobelli.. Marcel Dekker, Inc. pp467-482, 2002.
- 11) Juji, T., Hertz, M., Aoki, K., Horie, D., Ohya, K., Gautam, A., Mouritsen, S., Oda, H., Nakamura, K., Tanaka, S. A novel therapeutic vaccine approach, targeting RANKL, prevents bone destruction in bone-related disorders. *J. Bone Miner. Metabolism.* 20:266-268, 2002.
- 12) Takahashi, N., Udagawa, N., Tanaka, S., and Suda, T. 2002. Generation of murine osteoclasts from bone marrow. *In "Methods in Molecular Medicine"*. In press.
- 13) Tanaka S, Nakamura I, Inoue J-I, Oda H, Nakamura K. Signal transduction pathways regulating osteoclast differentiation and function. *J Bone Miner Metabolism.* 2003 In press.
- 14) 田中 栄 破骨細胞およびその前駆細胞への遺伝子導入 *日本骨代謝学会雑誌* 19:76-79, 2002
- 15) 田中 栄 知っておきたい 200 words RANKL-RANK *医学のあゆみ* 200:1052, 2002
- 16) 田中 栄 骨粗しょう症の新しい治療 *最新医学* 57:1515-1523, 2002
- 17) 田中 栄 RANKL ワクチンによる新しい骨代謝疾患治療 *CLINICAL CALCIUM* 12:932-934, 2002
- 18) 田中 栄 破骨細胞性骨吸収の制御 *Medical Science Digest* 28:446-449, 2002
- 19) 緒方 徹、山本真一、田中 栄、中村耕三 脊髄損傷修復の試み *整形外科災害外科* 45:1273-1277, 2002
- 20) 門野夕峰、高柳 広、田中 栄 破骨細胞の分化、機能、生存における RANKL/RANK シグナル～IFN シグナルとのクロストークを含めて～ *実験医学 (増刊)* 20:2477-2481, 2002
- 21) 田中 栄 特集 あらたな TNF/TNF 受容体ファミリーと疾患関節疾患治療への応用 *医学のあゆみ* 203:493-494, 2002

- 22) 秋山 達、田中 栄 骨形成・骨吸収のシグナル伝達と創薬 実験医学 20:2616-2620, 2002
- 23) 瀬戸宏明、田中 栄、黒澤 尚、中村耕三 滑膜炎と分化異常 腎と骨代謝 16:21-26, 2003
- 24) 田中 栄 関節リウマチにおける骨関節破壊メカニズム Rheumatology Clinical Update 9:38-39, 2003

#### 学会発表

- 1) The 11th International Rheumatology Symposium (2002.4.23) Kobe:
- 2) A therapeutic vaccine approach to inhibit pathological bone destruction.  
The 3rd International Workshop on Musculoskeletal and Neuronal Interactions (2002. 5.31) Corfu, Greece: Adenovirus vector-mediated ALK gene transduction to synovial cells induces chondrogenic differentiation.
- 3) Osteoporosis Excellence Meeting (2002.11.15-19) New York: A therapeutic vaccine approach to inhibit pathological bone destruction
- 4) セルサイクル研究会 (2002. 6.4) 福岡 破骨細胞の分化と活性化の分子メカニズム
- 5) 第 22 回 日本骨形態計測学会 (2002.6.27-29) 東京 特別講演 「骨関節疾患治療における分子生物学的アプローチ」
- 6) 第 75 回 日本内分泌学会学術総会 (2002.6.28-30) シンポジウム 8 骨疾患とシグナル伝達 「破骨細胞の分化と活性化の細胞内シグナル」
- 7) 第 3 回 運動器科学研究会 (2002.8.30-31) 淡路島 破骨細胞アポトーシスの細胞内シグナル
- 8) 第 8 回 人工関節基礎研究会 (2002.9.6) 東京 破骨細胞をターゲットにした骨関節疾患治療戦略
- 9) 第 1 回 広島整形外科先端医学セミナー (2002.9.11) 広島 破骨細胞をターゲットにした骨代謝疾患治療
- 10) 第 17 回 日本整形外科基礎学術集会 (2002.10.11-12) 青森 シンポジウム 15 骨形成と骨吸収 骨吸収の分子メカニズム
- 11) 第 75 回 日本生化学会大会 (2002.10.14-17) 京都 シンポジウム 3S39-2 骨格系細胞の分化制御機構 オーガナイザー 西村理行 田中 栄
- 12) 第 51 回 東日本整形災害外科学会 (2002.10.24-25) 郡山 シンポジウム 1 整形外科基礎研究と臨床の接点 関節炎における骨関節破壊
- 13) 第 2 回 カルシトニン/副甲状腺ホルモン研究会(2002.12.7)東京 破骨細胞の細胞内シグナルとカルシトニン
- 14) 第 9 回 九州骨軟骨研究会 (2003.1.11) 長崎 破骨細胞の活性化とアポトーシスの分子メカニズム

#### G. 知的所有権の取得状況

特になし

厚生科学研究補助金（医療技術評価総合研究事業）  
分担研究報告書

フッ化物応用の栄養学的評価

食事献立に基づいた成人のフッ化物出納

分担研究者 西牟田 守 国立健康・栄養研究所栄養所要量研究部室長  
分担研究者 古賀 寛 東京歯科大学衛生学助手

研究要旨：フッ化物の全身的応用においては有効性と安全性の評価が必要となるが、フッ化物の代謝実験による出納はその評価指標のひとつである。本研究は食事献立に基づいて日常食からのフッ化物出納評価を成人（18歳から23歳、12名）を対象として実施した。研究結果として、(1)実験食として調理された食事献立に基づく成人のフッ化物摂取量は、0.293–1.372mgの範囲となり、過去のわが国における成人の食品または食事献立によるフッ化物摂取量と比較しても同程度であり、さらに8日間の一日当りのフッ化物摂取量は0.645mg/dayである。(2) フッ化物吸収率は93%（SD2%）でとなり、従来の報告値よりやや高値であった。(3) 尿中排泄量は一日当たり0.251-0.592mg、フッ化物出納は0.198mg/day(SD0.231mg)、体内保有率は30.7%(SD35.8%)を示した。これらの結果から飲料水フッ化物濃度を考慮しない日常の実験食からのフッ化物は生体に90%以上吸収され、さらに体内に約31%保有される。フッ化物の有効性評価には、さらに血液中フッ化物濃度や一日フッ化物摂取量の水準を考慮した出納評価を行う必要がある。

A. 研究目的

生涯を通じた口腔疾患予防の手段としてはフッ化物局所応用とフッ化物の全身的応用が推奨されている<sup>8)</sup>。後者のフッ化物の全身的応用を一次予防として実施していくためには、その有効性と安全性を考慮しておく必要がある。生体内におけるフッ化物の有効性と安全性の評価法としてフッ化物の代謝を観察することが従来から行われている<sup>7)</sup>。本研究は成人を対象としたヒューマンスタディによる飲料

水フッ化物濃度を考慮しない実験食に基づいた、フッ化物の吸収、排泄から代謝メカニズムを評価するために計画されたものである。大学生12人に実験食を摂取してもらい、経時的に食事摂取量、尿、糞便を採取、計測してフッ化物の出納を評価することを目的としている。昨年度は食事中フッ化物分析を実施して食事献立によるフッ化物摂取量の再現性を検討した。本年度は尿と糞便中フッ化物量からフッ化物出納を評価したので報告する。

## B. 研究方法

### 1. 被験者

フッ化物の代謝実験に参加していただいた被験者は、予め実験の趣旨説明を受けて同意（インフォームド・コンセント）を得た都内女子大学に通学する 18 歳から 23 歳までの健康状態が良好な学生 12 名である。被験者にはあらかじめ慢性疾患の有無、健康状態の良否について医師資格をもつ研究者が問診を含む健診を行って参加の適否を最終的に決定した。実験は国立健康栄養研究所栄養所要量研究部に付設された施設で実施された。この施設は調理場、食事室、休憩室そしてトイレなどの日常生活を営める設備が完備されている。実験期間は予備日を含めて 2000 年 7 月 30 日から 8 月 14 日までの 16 日間である。被験者 12 名の身体特性は、年齢 18~23 歳（平均 20 歳、SD1 歳）、身長 160.6cm（SD5.3cm）、体重 51.61kg（SD4.83kg、最終）である（Table-1）。

### 2. 実験計画

#### 1) 実験のプロトコール（Fig. 1）

実験期間のプロトコールは Fig.1 に示している。食事摂取区分は 7 月 30 日を予備日として 7 月 31 日から 4 日間を 1 クールとして 4 クールに区分している。それらの区分は①Pre.,②Step 1, ③Step2, ④Post とし最後の 1 日を別区分としている。したがって食事摂取期間は 15 日である。区分毎の食事量はそれぞれ同量摂取し、水分補給は脱イオン水である。食事内容は毎食異なっているが 1 区分ごとの食事は同じメニューで調理されている。

#### 2) 日常生活のサイクル

被験者の日常生活のサイクルは表 2 に示

している。起床は 6 時で臨床検査を実施して、8 時半に採尿、朝食その後、13:00 に採尿、昼食、18:30 に採尿、夕食、22:00 に採尿と体重、身長、皮脂肪、血圧、体温などの測定を行った。区分ごとに一定の時間帯に種類の異なる作業負荷を与えている。

#### 3) 食事献立

食事の献立は 1 区分を 4 日間として、第 1 日目を No.1 の食事献立、第 2 日目を No.2 の食事献立、第 3 日目を No.3 の食事献立、そして第 4 日目を No.4 の食事献立をそれぞれ摂るように設定した。それらの食事献立(No.1~4)は、朝食、昼食、夕食に分かれている。調理水は純粋な食事に基づいた微量元素の出納を評価目的にしているので水道水の微量元素の影響を排除するためにイオン交換水を使用した。

#### 4) 食事の前処理と凍結乾燥

食事は調理後に摂取量を一律に同量摂取することとしているので、各被験者の食事量はすべて同量となる。日程と朝、昼、夕食の食事毎の摂取重量を記録した。食事の前処理の手続きは、まず食事に蒸留水を加えて、全量を 1200g から 1400g の定容量として、食品粉碎のミキサーで十分攪拌混合した。それから一部を予め風袋重量を測定しておいたプラスチック容器 50ml（10%硝酸洗浄済み）に約 30g 採取した。その後大型の凍結乾燥機を用いて乾燥を行った。いくつかの食事試料を 12 時間毎に重量を測定しほぼ恒量になる時点を終点とする予備実験を試みて、凍結乾燥により恒量となるのに平均 3 日間(72hr)を要したので全ての食事試料で 72hr の凍結乾燥を実施した。

### 3. 食事、糞便および尿中フッ化物分析法

#### 1) 食事、糞便のフッ化物分析

凍結乾燥した食事のフッ化物濃度分析は、灰化を行わない微量拡散-F イオン電極法で測定した。乾燥食品のフッ化物分析の操作法は次の通りである。乾燥試料 0.5g を拡散容器に採取して、分離拡散溶液として HMDS 過飽和 5M $\text{HClO}_4$  を 4 ml 加えて、60°C・12 時間以上の拡散を行った。フッ化物捕集液は 0.1M NaOH 1ml とした。重量補正後 TISAB III を 0.1ml 加えて複合型 F イオン電極 (96-09BN, Orion Research, Inc. MA) で定量した。実験は同一試料による 3 回の繰り返し測定とした。糞便も食事と同様に凍結乾燥後に微量拡散-F イオン電極によって定量した。

#### 2) 尿中フッ化物分析

尿中フッ化物濃度は、-20°C で冷凍保存した尿を室温に戻した後、F イオン電極法 (Orion 9606BN, A290-ionalyzer) によって直接分析した。TISAB III を試料量に対して 1/10 量添加し、F イオン電極電位の終点は安定表示が 2 回目を示した時点とした。

### C. 研究結果および考察

本実験は成人を対象として日常の実験食によるフッ化物出納を評価することを目的として計画された。日常食のフッ化物濃度と一日フッ化物摂取量を計算した後、フッ化物の出納計算に必要な尿と糞便中フッ化物濃度からフッ化物の代謝を評価したものである。

#### 1. 実験食中フッ化物濃度と摂取量

表 2 には試験期間中における食事毎の

フッ化物濃度および摂取量の計算結果を示している。表の左の項目から日付、献立の種類、食事フッ化物(mg)、そして一日フッ化物摂取量(mg)である。乾燥試料のフッ化物濃度( $\mu\text{g/g}$ )が実際の微量拡散法-F イオン電極による測定値である。食事中フッ化物濃度(mg)は食事摂取量に換算した値である。最初の予備期間 (7/31-8/3) における総フッ化物摂取量は 2.679mg (0.670mg/day)、次いで Step 1 では 3.106mg そして Step 2 では 2.052mg であった。原則的には同じ食事献立なのでフッ化物総量は同量となるはずであるが最大で 1mg の差がみられた。一日フッ化物摂取量としては、1mg 以下であり、調理水に脱イオン水を用いているので他の研究報告と比較するとやや低値である<sup>1-6)</sup>。

#### 2. フッ化物の尿排泄量

食事を摂取すると胃において食事から遊離されてくるフッ化物は胃酸の影響で HF の化学形態で存在するようになる。この HF の存在様式で胃から体内へ吸収され血中へと移行していく。そして従来からの血液中フッ化物に新たにフッ化物イオンが付加されることになる。そして腎臓においてフッ化物は濾過されて尿へ排泄されており、一方、唾液中フッ化物も血中フッ化物濃度に濃度勾配的に依存しながらフッ化物の体内再帰の役割を果たしている。このようにフッ化物は吸収と排泄、再吸収を経時的に繰り返している。表 3 には被験者 12 名の一日 (24 時間) 尿量を示している。被験者 12 名の一日平均尿排泄フッ化物量は 0.251~0.592mg であり、とくに第 7 日と 11 日は尿排泄フ

ッ化物量がそれぞれ 0.559mg、0.592mg と多い。これは食事中フッ化物量が 1.51mg と 1.2mg と他より 2 倍以上も多いので、個人差というよりも食事由来のフッ化物の影響を強く受けているためと考えられる。

### 3. フッ化物の吸収と出納

フッ化物の生体吸収と出納の結果は、Pre (予備) と後の Step 1 と Step 2 を合わせた一日あたりの指標で示している (表 4)。Step 1 と 2 (8 日間) においてフッ化物摂取量は 0.645mg/day であり、これは個人間で差はなく SD が 0 を示している。糞便中フッ化物量は 0.045mg (SD0.016mg) と低値となり個人間での変動も小さい。したがって見かけの吸収率(%)は 93% (SD2%) と高く、食事由来フッ化物吸収率は非常に高いことが認められた。井川ら (1990) 7) も 4 日間の実験日常食の出納ではフッ化物吸収率 87.8%(SD4.8%) と報告しわれわれの値と同程度である。尿からのフッ化物排泄量は  $0.402 \pm 0.228$ mg である。被験者 b において他の比べて極めて排泄量が多い。そしてフッ化物出納はフッ化物摂取量から糞便中排泄量と尿中排泄量を差し引いた値である。その結果は 0.198mg (SD0.231mg) であった。しかもこれから日常食からのフッ化物の体内保有率は 30.7%(SD35.8) ということになる。

### D. 結論

本研究は食事献立に基づいて日常食の微量元素出納実験の一環としてフッ化物に着目したものである。フッ化物出納実験の結果は以下の通りである。

- 1) 食事献立のフッ化物量は 0.293mg - 1.372mg の範囲となり、過去のわが国における成人の食品または食事献によるフッ化物摂取量と比較しても同程度であることが確認された。
- 2) 8 日間の一日当りのフッ化物摂取量 0.645mg/day である。
- 3) フッ化物吸収率は 93% (SD2%) であり、従来の報告値よりやや高値である。
- 4) 尿中排泄量は、0.251-0.592mg であった。そしてフッ化物出納は 0.198mg/day (SD 0.231mg) であり、体内保有率は 30.7% (SD 35.8%) という結果であった。

これらの結果より日常の実験食からのフッ化物は生体に 90% 以上吸収され、さらに体内保有率は約 31% であり、このことはフッ化物が食事負荷性の影響を絶えず受けて、血液や他の体液中に付加されつつ存在していることを意味している。

### 謝辞

本研究の微量元素出納実験に 2 週間もの間参加いただいた 12 名の学生諸君には感謝いたします。ありがとうございました。また実験食を注文どおりに調理いただいた管理栄養士の方ならびに国立健康・栄養研究所栄養所要量研究部の研究員にも厚くお礼申し上げます。

### E. 文献

- 1) 鮫島一夫: 日本人沸素摂取量に関する研究, 口衛会誌, 8:37~45, 1958.
- 2) 斎藤博業: 日本人成人男子の日常摂取する食餌のフッ素含有量に関する研究, 防衛衛生, 7: 313~325, 1960.

- 3) 飯塚喜一: フッ素に関する衛生学的研究 第2編 日本における人歯牙, 食品および上下水道中のフッ素量, 日衛誌, 19: 1~7, 1964.
- 4) 角田文夫, 国田博子: 動植物中ふっ素について—自然と汚染—, 公害と対策, 9: 613~619, 1973.
- 5) 友松俊夫, 鈴木二郎, 中沢久美子, 木村康夫(1976): フッ素の衛生学的研究 (第3報) 各種食品中のフッ素含有量の分析および食餌からのフッ素摂取量の評価, 東京衛生年報, 27:174~178, 1976.
- 6) Taves, D.R. : Dietary intake fluoride ashed (total fluoride) v. unashed (inorganic fluoride) analysis of individual foods, Br. J. Nutr., 49:295-301, 1983.
- 7) 井川智司: 成人の実験的日常生活摂取によるフッ素の出納について、口腔衛生学会雑誌 40:2-23, 1990.
- 8) WHO : Expert Committee on Oral Health Status and Fluoride Use ; Fluorides and Oral Health, WHO Technical Report Series 846, 1994, Geneva.
- 表」その特色と効果的活用 栄養学研究の立場から? ビタミン・ミネラル、臨床栄養: 98(5): 530-534, 2001.5
- 4) 西牟田 守: マグネシウムの必要量と中毒量 (輸液も含める)、JJPEN: 23(9): 471-475, 2001.

H. 知的財産権の出願・登録状況  
特になし。

## F. 研究発表

### 論文発表

- 1) 西牟田守、萩原清和、山下光雄、渡邊智子: 100kcal/100g 日本食品成分表、(株) 建帛社、東京、2001.
- 2) 渡邊智子、鈴木亜夕帆、西牟田守: 液状食品の 100ml 成分表 ? 五訂成分表収載食品について、栄養学雑誌: 59(4): 197-202, 2001.
- 3) 西牟田 守: 「五訂日本食品標準成分

Table 1 Characteristics of subjects (2000 summer)

Subject	Sex	Age (yr)	Height (cm)	Weight (kg)		SFT* (mm)	Blood Pressure (mmHg)	
				Initial	Final		Systolic	Diastolic
a.	f.	21	170.9	57.68	57.82	44.0	98	54
b.	f.	19	151.4	52.11	51.45	47.5	100	66
c.	f.	20	158.6	41.89	41.95	21.5	92	50
d.	f.	21	162.9	52.52	52.77	31.0	106	64
e.	f.	19	161.5	56.68	56.34	40.5	104	60
f.	f.	20	156.1	44.71	44.70	22.0	106	54
g.	f.	20	163.1	50.77	52.10	27.0	92	54
h.	f.	21	156.8	48.90	48.98	30.5	98	50
i.	f.	18	156.4	53.40	53.85	38.5	110	70
j.	f.	18	168.3	60.55	59.25	34.0	96	64
k.	f.	22	163.1	50.82	50.92	28.0	92	56
l.	f.	19	158.0	49.29	49.22	37.5	112	68
mean		20	160.6	51.61	51.61	33.5	101	59
s.d.		1	5.3	5.02	4.83	8.0	7	7

\*SFT:skin fold thickness  
(sum of upper arm back and subscapula)

Experimental Design (2000 summer)

1 day 8:30 a. → 8:30 a.m. next day

Menu number	A	Pre.				Step 1				Step 2				Post		
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	A
Samples																
Meal		○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
24-U		○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
Spot-U		○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
Pat-U				○		○	○	○		○	○	○				
Faeces (marker)		←														→
		○				○				○				○		

A:ad-lib

Fig. 1 : 実験プロトコール

出納期間は1期4日、連続2期(Step1, 2)の8日間とし、出納期間の前後にはそれぞれ4日間と3日間の予備期間(Pre., Post)を設けた。

食事(menu)は1期4日のサイクルメニューとした。

尿は、午前8時30分から翌朝の午前8時30分までを24時間尿(24-U)としたが、午前6時から8時30分までの尿は早朝尿(Spot-U)として別途採取した。分割尿(Pat-U)は、Pre.の3日目およびStep1, 2のそれぞれ初日から3日間採取した。

糞便(Faeces)は各StepおよびPre., Postの各初日にカルミンを服用し、各期の食事に由来する糞便を区別した。

採血(Blood)はPre.初日およびPostを除く各期最終日の早朝空腹時に行った。

被検者を各6名ずつ2群に分け、A群(Group A)、B群(Group B)とし、A群はStep 1、B群はStep 2のうち3日間、1日ずつ3種類のストレスを負荷した。

なお実験における一日は8時30分から翌朝の8時30分とした。

表2 食事献立毎のフッ化物濃度と摂取量

	献立	食事	F濃度( $\mu$ g/g)	食事中F濃度(mg)	食事からの一日F摂取量(mg)	期間毎の総フッ化物摂取量(mg)
7月31日	No.1	朝	0.365	0.123	0.328	Pre
	No.1	昼	0.259	0.074		
	No.1	夕	0.243	0.131		
8月1日	No.2	朝	1.256	0.407	0.674	
	No.2	昼	0.703	0.234		
	No.2	夕	0.099	0.033		
8月2日	No.3	朝	0.271	0.087	0.271	
	No.3	昼	0.39	0.149		
	No.3	夕	0.0804	0.035		
8月3日	No.4	朝	0.732	0.330	1.405	2.679
	No.4	昼	2.24	0.967		
	No.4	夕	0.303	0.108		
8月4日	No.1	朝	1.28	0.438	0.613	Step 1
	No.1	昼	0.176	0.051		
	No.1	夕	0.266	0.124		
8月5日	No.2	朝	1.28	0.391	0.645	
	No.2	昼	0.576	0.208		
	No.2	夕	0.128	0.047		
8月6日	No.3	朝	0.201	0.067	0.334	
	No.3	昼	0.432	0.220		
	No.3	夕	0.131	0.047		
8月7日	No.4	朝	1.06	0.517	1.514	3.106
	No.4	昼	2.33	0.881		
	No.4	夕	0.346	0.117		
8月8日	No.1	朝	0.149	0.048	0.130	Step 2
	No.1	昼	0.102	0.028		
	No.1	夕	0.132	0.055		
8月9日	No.2	朝	0.822	0.257	0.451	
	No.2	昼	0.452	0.155		
	No.2	夕	0.101	0.039		
8月10日	No.3	朝	0.177	0.056	0.274	
	No.3	昼	0.367	0.191		
	No.3	夕	0.076	0.027		
8月11日	No.4	朝	0.632	0.271	1.197	2.052
	No.4	昼	2.13	0.812		
	No.4	夕	0.284	0.114		
8月12日	No.1	朝	0.229	0.076	0.243	.....
	No.1	昼	0.173	0.047		
	No.1	夕	0.279	0.120		

表3 フツ化物の尿排泄量(24時間)

被験者	a	b	c	d	e	f	g	h	i	j	k	l	mean	s.d.
	mg/d	mg/d	mg/d	mg/d	mg/d	mg/d	mg/d	mg/d	mg/d	mg/d	mg/d	mg/d	mg/d	s.d.
31日合計	0.237	0.541	0.115	0.466	0.327	0.150	0.855	0.249	0.219	0.218	0.233	0.270	0.323	0.207
8/1日合計	0.294	0.451	0.185	0.386	0.307	0.288	0.452	0.338	0.259	0.348	0.340	0.295	0.329	0.076
2日合計	0.195	0.580	0.191	0.873	0.190	0.174	0.392	0.231	0.140	0.201	0.169	0.182	0.293	0.221
3日合計	0.310	0.839	0.342	0.780	0.299	0.205	0.524	0.333	0.142	0.356	0.258	0.272	0.388	0.217
4日合計	0.183	0.698	0.220	0.245	0.175	0.166	0.343	0.174	0.197	0.215	0.180	0.214	0.251	0.149
5日合計	0.270	0.894	0.208	0.278	0.273	0.259	0.469	0.277	0.308	0.267	0.276	0.274	0.338	0.186
6日合計	0.264	0.879	0.296	0.270	0.290	0.221	0.480	0.256	0.313	0.249	0.288	0.272	0.340	0.182
7日合計	0.426	1.542	0.492	0.448	0.468	0.400	0.596	0.437	0.454	0.395	0.468	0.581	0.559	0.316
8日合計	0.201	1.019	0.238	0.178	0.440	0.228	0.372	0.257	0.329	0.271	0.246	0.349	0.344	0.226
9日合計	0.294	1.145	0.327	0.324	0.394	0.305	0.465	0.401	0.355	0.312	0.352	0.347	0.418	0.234
10日合計	0.251	1.133	0.248	0.296	0.318	0.266	0.504	0.269	0.322	0.338	0.215	0.299	0.371	0.250
11日合計	0.532	1.555	0.451	0.516	0.539	0.446	0.665	0.599	0.484	0.402	0.467	0.443	0.592	0.312
12日合計	0.253	0.721	0.232	0.216	0.236	0.215	0.294	0.248	0.251	0.230	0.184	0.233	0.276	0.143
13日合計	0.357	0.555	0.305	0.311	0.251	0.288	0.542	0.356	0.396	0.180	0.333	0.305	0.348	0.108