

# Profiling of subgingival plaque biofilm microflora from periodontally healthy subjects and from subjects with periodontitis using quantitative real-time PCR

Y. Abiko<sup>1</sup>, T. Sato<sup>1</sup>, G. Mayanagi<sup>2\*</sup>,  
N. Takahashi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Division of Oral Ecology and Biochemistry and

<sup>2</sup>Division of Periodontology and Endodontology,  
Tohoku University Graduate School of Dentistry,  
Sendai, Japan

\*Present address: Interface Research Project,  
Tohoku University Graduate School of Dentistry,  
Sendai, Japan.

Abiko Y, Sato T, Mayanagi G, Takahashi N. Profiling of subgingival plaque biofilm microflora from periodontally healthy subjects and from subjects with periodontitis using quantitative real-time PCR. J Periodont Res 2010; 45: 389–395. © 2010 John Wiley & Sons A/S

**Background and Objective:** Qualitative and quantitative changes of the subgingival plaque biofilm microflora in periodontal pockets are thought to be associated with the development and progression of periodontitis. The aims of the present study were to quantify the proportions of nine periodontitis-associated bacterial species and four *Streptococcus* species in subgingival plaque, and to evaluate their relationship with periodontitis quantitatively.

**Material and Methods:** Subgingival plaque samples were obtained from 12 periodontally healthy subjects and from 28 patients with periodontitis. The amounts of total and target bacteria were measured by quantitative real-time PCR using universal and species-specific primers, respectively.

**Results:** The proportion of total obligate anaerobes was found to be higher in subjects with periodontitis than in periodontally healthy subjects ( $p < 0.05$ ). Among obligate anaerobes, *Tannerella forsythia* ( $2.04 \pm 5.27\%$ ,  $p < 0.05$ ), *Porphyromonas gingivalis* ( $0.54 \pm 1.41\%$ ) and *Eubacterium saphenum* ( $0.30 \pm 0.96\%$ ) were detected at high proportions in subjects with periodontitis, but not in periodontally healthy subjects. By contrast, the proportion of total streptococci was lower in subjects with periodontitis ( $p < 0.05$ ). Specifically, the proportion of *T. forsythia*, *P. gingivalis* or *E. saphenum* increased ( $\geq 2.78\%$ ) and the proportion of *Streptococcus* species decreased to virtually undetectable levels, in subjects with periodontitis.

**Conclusion:** Obligate anaerobes, including *T. forsythia*, *P. gingivalis* and *E. saphenum*, were identified predominantly in microflora from subjects with periodontitis, whereas *Streptococcus* species were identified predominantly in microflora from periodontally healthy subjects, suggesting a change in the subgingival environment that resulted in conditions more suitable for the survival of obligate anaerobes. The proportion of these obligate anaerobes in the subgingival plaque of subjects with periodontitis appears to be associated with the status of human periodontitis.

Nobuhiro Takahashi, Division of Oral Ecology and Biochemistry, Tohoku University Graduate School of Dentistry, Sendai, Japan  
Tel: +81 22 717 8294  
Fax: +81 22 717 8297  
e-mail: nobu-t@mail.tains.tohoku.ac.jp

Key words: 16S ribosomal RNA; microflora; periodontitis; quantitative PCR

Accepted for publication July 30, 2009

The human oral cavity is considered healthy when the oral microflora is composed of indigenous bacteria and is balanced properly (1). Numerous environmental changes in the oral microflora, including pH, anaerobiosis and nutrition, may lead to an accumulation of periodontitis-associated bacteria in the subgingival sulcus, resulting in the initiation of human periodontitis (2–6). Both qualitative and quantitative changes in subgingival plaque biofilms in periodontal pockets are thought to be highly associated with both the initiation and progression of periodontitis (6,7). The establishment of anaerobic bacterial culture and molecular biological methods has enabled researchers to isolate and detect various species of periodontitis-associated bacteria from subgingival plaque biofilms (8–11). It has been estimated that more than 600 species of bacteria are present in the human subgingival plaque biofilm (9–11). Of these, *Porphyromonas gingivalis* and *Mogibacterium timidum* are detected more frequently in the subgingival microflora of subjects with periodontitis than in the subgingival microflora of periodontally healthy subjects (8,9,11,12).

However, few studies have specifically investigated the proportions of periodontitis-associated bacteria as well as early colonizers on the teeth (namely *Streptococcus* species) in the subgingival plaque biofilm. The aims of the present study were to quantify the proportions of *P. gingivalis* and *M. timidum*, in addition to seven other periodontitis-associated species of bacteria (*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Campylobacter rectus*, *Eubacterium saphenum*, *Prevotella tamerae*, *Prevotella intermedia*, *Slackia exigua* and *Tannerella forsythia*) and four *Streptococcus* species (*Streptococcus gordonii*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus sanguinis* and *Streptococcus salivarius*) in the subgingival plaque of periodontitis-affected subjects and periodontally healthy subjects by quantitative real-time PCR, and to evaluate the relationship between periodontitis and the quantity of these bacteria.

## Material and methods

### Subjects and sample collection

Twenty-eight subjects with periodontitis (mean age  $62 \pm 9.9$  years; range 41–80 years; mean numbers of residual teeth  $24.5 \pm 4.1$ ) and 12 periodontally healthy subjects (mean age  $26 \pm 1.8$  years; range 22–29 years; mean numbers of residual teeth  $27.9 \pm 1.5$ ) were included in the present study. The subjects had not received periodontal treatment or antimicrobial therapy for at least 6 mo before sampling and were free of systemic diseases. Informed consent was obtained from each subject before the collection of samples. This study was approved by the Research Ethics Committee of Tohoku University Graduate School of Dentistry, Sendai, Japan. Probing depths were measured in all teeth, at six sites per tooth for each subject, and the teeth with the deepest probing depths were chosen as the target sites for sampling. The deepest probing depths were  $< 4$  mm (range 2.0–3.0 mm; mean  $2.4 \pm 0.5$  mm) in periodontally healthy subjects (H1–H12,  $n = 12$ ) and  $\geq 4$  mm (range 4.0–10.0 mm; mean  $6.7 \pm 1.9$  mm) in subjects with periodontitis (P1–P28,  $n = 28$ ). The samples were then collected using sterile periodontal pocket probes. All samples were immediately suspended in 1 mL of sterile distilled water and stored at  $-20^\circ\text{C}$  before extraction of genomic DNA.

### Bacterial strains

Nine strains of anaerobic bacteria, including the microaerophilic bacterial strains *A. actinomycetemcomitans* JCM 8578, *C. rectus* JCM 6301, *E. saphenum* ATCC 49989, *M. timidum* ATCC 33093, *P. gingivalis* W83, *P. intermedia* JCM 12248, *P. tamerae* ATCC 51259, *S. exigua* JCM 11022 and *T. forsythia* JCM 10827, and three mitis groups of *Streptococcus*, including *S. gordonii* JCM 12995, *S. oralis* JCM 12997 and *S. sanguinis* JCM 5708, and the salivarius group of *Streptococcus*, *S. salivarius* JCM 5707, were cultured in an anaerobic glove

box (Model AZ-Hard; Hirasawa, Tokyo, Japan) containing 80%  $\text{N}_2$ , 10%  $\text{H}_2$  and 10%  $\text{CO}_2$  at  $37^\circ\text{C}$  for 2–7 d. One loopful of a colony of each strain was then suspended in 1 mL of sterile distilled water and used for genomic DNA extraction.

### DNA extraction

Genomic DNA was extracted using the GFX Genomic Blood DNA Purification kit (GE Health Care Bio-Science Corp., Piscataway, NJ, USA) and the InstaGene Matrix kit (Bio-Rad Laboratories, Richmond, CA, USA), in accordance with the manufacturer's instructions.

### Quantification of total bacterial levels using quantitative real-time PCR

In order to quantify the total amount of bacteria in the samples, quantitative real-time PCR was undertaken using the 16S ribosomal RNA gene universal primers 357F and 907R (13,14) and iQ SYBR Green Supermix (Bio-Rad Laboratories), according to the manufacturer's instructions. The primer sequences were: 357F, 5'-CTC CTA CGG GAG GCA GCA G-3'; and 907R, 5'-CCG TCA ATT CMT TTR AGT TT-3'. Quantitative real-time PCR cycling conditions have been described previously (14) and were undertaken using an iCycler (Bio-Rad Laboratories) programmed for 3 min at  $95^\circ\text{C}$  for initial heat activation, followed by 40 cycles of 15 s at  $95^\circ\text{C}$  for denaturation, 30 s at  $55^\circ\text{C}$  for primer annealing and 30 s at  $72^\circ\text{C}$  for extension. During the extension step, fluorescence emissions were monitored and data were analyzed using iCycler iQ Software (Bio-Rad Laboratories). Standard curves were analyzed by comparing the universal primer set against a serial dilution of *P. gingivalis* W83 genomic DNA.

### Quantification of specific bacterial species by quantitative real-time PCR

In order to quantify populations of specific bacteria in the samples, quan-

titative real-time PCR was performed as described above, using bacterial species-specific primers (Table 1). Quantitative real-time PCR amplification protocols for each bacterium were as follows. (i) *C. rectus*, *E. saphenum*, *P. gingivalis*, *S. exigua*, *T. forsythia*, *S. gordonii*, *S. salivarius*, *S. sanguinis* and *S. oralis*: initial denaturation at 95°C for 3 min, followed by 40 PCR cycles at 95°C for 15 s, 55°C for 30 s and 72°C for 30 s. (ii) *A. actinomycetemcomitans*: initial denaturation at 95°C for 3 min, followed by 40 PCR cycles at 95°C for 15 s, 55°C for 30 s and 72°C for 30 s, with fluorescence emissions monitored at 83°C for 10 s. (iii) *M. timidum* and *P. tanneriae*: initial denaturation at 95°C for 3 min, followed by 40 PCR cycles at 95°C for 15 s, 55°C for 30 s and 72°C for 30 s, with fluorescence emissions monitored at 82°C for 10 s. (iv) *P. intermedia*: initial denaturation at 95°C for 3 min, followed by 40 PCR cycles at 95°C for 15 s, 55°C for 30 s and 72°C for 30 s, with fluorescence emissions monitored at 81°C for 10 s.

#### Detection frequency of each bacterial species

Based on the results obtained from the quantitative real-time PCR, the detection frequency of each bacterial species in subgingival plaque was calculated (i.e. the prevalence, in per cent, of each bacterial species was determined).

#### Data analysis

Fisher's exact probability test and Tukey tests were used to determine statistical significance. A *p*-value of < 0.05 was considered statistically significant.

#### Results

The quantitative real-time PCR analysis results demonstrated that the total amounts of bacteria per probing depth in periodontitis subjects ( $4.10 \pm 0.85$  Log fg DNA/μL per probing depth mm) were similar to those in periodontally healthy subjects ( $3.86 \pm 0.53$  Log fg DNA/μL per probing depth mm)

(Fig. 1). By contrast, the proportion of total obligate anaerobes (*T. forsythia*, *P. gingivalis*, *E. saphenum*, *M. timidum*, *P. intermedia*, *S. exigua* and *C. rectus*) in subgingival plaque biofilm was higher in the subjects with periodontitis than in the periodontally healthy subjects (*p* < 0.05, Fig. 2). *T. forsythia* ( $2.04 \pm 5.27\%$ , *p* < 0.05), *P. gingivalis* ( $0.54 \pm 1.41\%$ ) and *E. saphenum* ( $0.30 \pm 0.96\%$ ) were detected at high proportions in subjects with periodontitis (Fig. 3) and were not detected at all in periodontally healthy subjects, with the exception of *P. gingivalis*, which was detected in one sample (H12, Fig. 4).

The proportions of *S. exigua*, *C. rectus* and *P. intermedia* were slightly higher in subjects with periodontitis than in periodontally healthy subjects (Fig. 3). *M. timidum* was only detected in subjects with periodontitis, but at a relatively low proportion ( $0.04 \pm 0.21\%$ ). *A. actinomycetemcomitans* and *P. tanneriae* were not detected in either group of subjects in the present study.

Table 1. Target bacteria and their species-specific primers used in the present study

Species	Target genes	Sequence (5' 3')	Product size (bp)	References
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	16S rRNA	CTC AGA GAT GGG TTT GTG CC AGA TTC ACT CCC CAT CGC TG	273	(15)
<i>Campylobacter rectus</i>	16S rRNA	TTT CGG AGC GTA AAC TCC TTT TC TTT CTG CAA GCA GAC ACT CTT	598	(16)
<i>Eubacterium saphenum</i>	16S rRNA	TCT ACT AAG CGC GGG GTG A ATA CCC GAT TAA GGG TAC	430	(17)
<i>Mogibacterium timidum</i>	16S rRNA	AAG CTT GGA AAT GAC GC CCT TGC GCT TAG GTA A	524	(17)
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	16S rRNA	GCG TAT GCA ACT TGC CTT AC GTT TCA ACG GCA GGC TGA AC	518	(15)
<i>Prevotella intermedia</i>	16S rRNA	TCC ACC GAT GAA TCT TTG GTC ATC CAA CCT TCC CTC CAC TC	98	(18)
<i>Prevotella tanneriae</i>	16S rRNA	CTT AGC TTG CTA AGT ATG CCG CAG CTG ACT TAT ACT CCC G	550	(19)
<i>Slackia exigua</i>	16S rRNA	GCC AAG CGG CCT CGT CGA AG GCC GGC TTT AAG GGA TTC GCT CG	697	(17)
<i>Tannerella forsythia</i>	16S rRNA	AGC GAT GGT AGC AAT ACC TGT C TTC GCC GGG TTA TCC CTC	88	(18)
<i>Streptococcus gordonii</i>	<i>gtfG</i>	CTA TGC GGA TGA TGC TAA TCA AGT G GGA GTC GCT ATA ATC TTG TCA GAA A	440	(20)
<i>Streptococcus oralis</i>	<i>gtfR</i>	TCC CGG TCA GCA AAC TCC AGC C GCA ACC TTT GGA TTT GCA AC	374	(20)
<i>Streptococcus salivarius</i>	<i>gtfK</i>	GTG TTG CCA CAT CTT CAC TCG CTT CGG CGT TGA TGT GCT TGA AAG GGC ACC ATT	544	(20)
<i>Streptococcus sanguinis</i>	<i>gtfP</i>	GGA TAG TGG CTC AGG GCA GCC AGT T GAA CAG TTG CTG GAC TTG CTT GTC	313	(20)

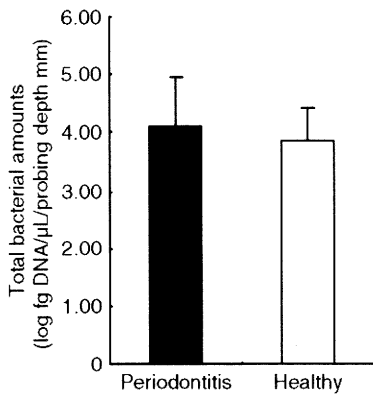


Fig. 1. Comparison of total bacterial amounts per probing depth between subgingival plaque biofilm obtained from subjects with periodontitis and that from periodontally healthy subjects.

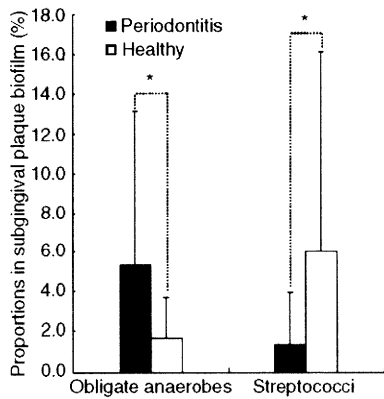


Fig. 2. Proportions of total obligate anaerobes and total streptococci in subgingival plaque biofilm obtained from subjects with periodontitis and in periodontally healthy subjects. \* $p < 0.05$ .

The proportion of total streptococci was significantly higher in periodontally healthy subjects than in periodontitis subjects ( $p < 0.05$ , Fig. 2). In particular, the proportions of *S. oralis* ( $5.53 \pm 9.81\%$ ) and *S. sanguinis* ( $0.33 \pm 0.57\%$ ) were higher in periodontally healthy subjects than in periodontitis subjects (Fig. 3), while the proportions of *S. salivarius* ( $0.32 \pm 1.68\%$ ) and *S. gordonii* ( $0.16 \pm 0.42\%$ ) were slightly higher in periodontitis subjects than in periodontally healthy subjects (Fig. 3).

The detection frequencies of *T. forsythia*, *P. gingivalis*, *E. saphenum*, *M. timidum*, *S. exigua*, *C. rectus*,

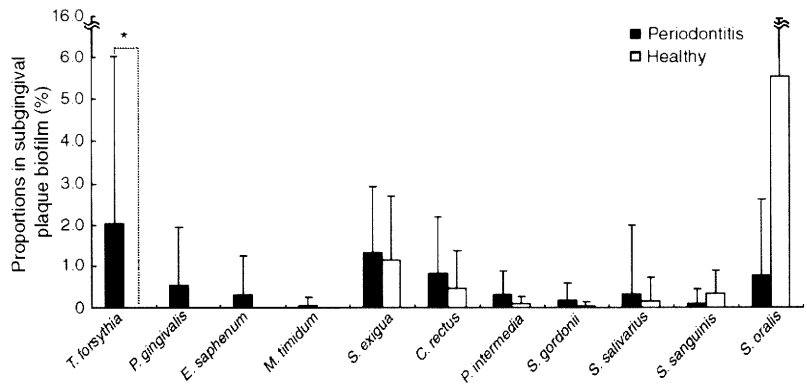


Fig. 3. Proportions of *Tannerella forsythia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Eubacterium saphenum*, *Mogibacterium timidum*, *Slackia exigua*, *Campylobacter rectus*, *Prevotella intermedia*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus sanguinis* and *Streptococcus oralis* in subgingival plaque biofilm obtained from subjects with periodontitis and in periodontally healthy subjects. \* $p < 0.05$ .

*P. intermedia* and *S. gordonii* were higher in subjects with periodontitis than in periodontally healthy subjects (Fig. 5).

The proportions of target bacteria for each sample and its probing depth are shown in Fig. 4. Among obligate anaerobes, *T. forsythia*, *P. gingivalis* and *E. saphenum* were found in 43% of subjects with periodontitis (samples P17–P28), while *Streptococcus* species were detected in small amounts ( $\leq 8.91\%$ ) in 25% of subjects with periodontitis (samples P17–P22, P26). However, *Streptococcus* species disappeared as any of *T. forsythia*, *P. gingivalis* or *E. saphenum* increased (2.78–27.04%) in subjects with periodontitis (samples P23–P25, P27 and P28).

In the subjects with periodontitis, there was no apparent relationship between probing depths and total numbers of bacterial species present or between probing depths and the proportions of the above-mentioned three species (*T. forsythia*, *P. gingivalis* and *E. saphenum*) (Fig. 4).

### Discussion

In the present study, the total bacterial amounts per probing depth in subjects with periodontitis were similar to those in periodontally healthy subjects. However, the predominant bacterial species identified in subgingival plaque

biofilm microflora from subjects with periodontitis differed from those identified in periodontally healthy subjects. The proportions of obligate anaerobes, in particular *T. forsythia*, *P. gingivalis* and *E. saphenum*, were higher in subgingival plaque biofilm microflora from subjects with periodontitis. However, the proportions of *Streptococcus* species, especially *S. oralis* and *S. sanguinis*, were higher in subgingival plaque biofilm microflora from periodontally healthy subjects, indicating that *Streptococcus* species are one of the major components of periodontally healthy subgingival plaque biofilm. Furthermore, the findings of the present study led to an understanding of total subgingival plaque biofilm and its significant difference in health and disease.

Focusing attention on the proportion of *T. forsythia*, *P. gingivalis* and *E. saphenum* that are frequently isolated and detected in human periodontal pockets (8.9,11,21,22), periodontitis subjects were divided into three groups: these were termed the no-detection group (samples P1–P16), the low-level group (0.01–1.38%, samples P17–P22) and the high-level group (2.78–27.04%, samples P23–P28). In order to investigate the relationship between the three obligate anaerobes (*T. forsythia*, *P. gingivalis* and *E. saphenum*) and *Streptococcus*, the proportions of the three obligate

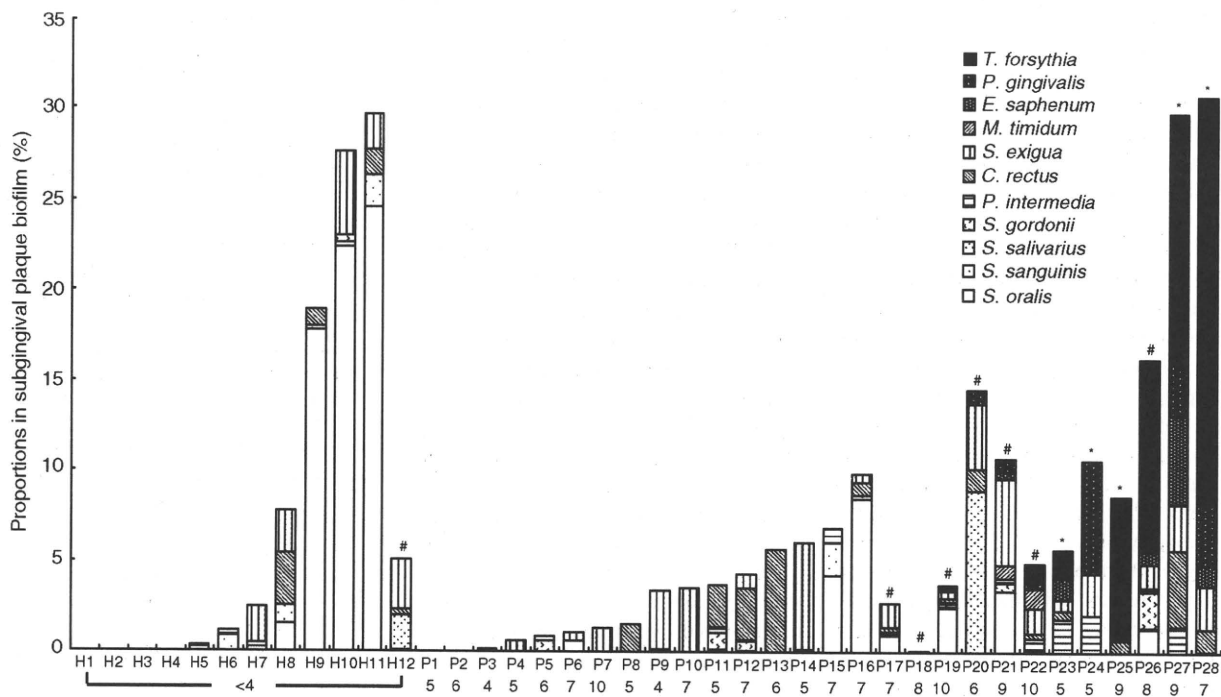


Fig. 4. Proportions of bacteria in the subgingival plaque biofilm of each periodontally healthy subject and each subject with periodontitis. \*Any of *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* and *Eubacterium saphenum* was detected. #Streptococci and any of *P. gingivalis*, *T. forsythia* and *E. saphenum* were detected. Numerals (< 4 and 4 10) below each sample number indicate each probing depth (mm) of periodontally healthy subjects (H1 H12) and periodontitis subjects (P1 P28), respectively.

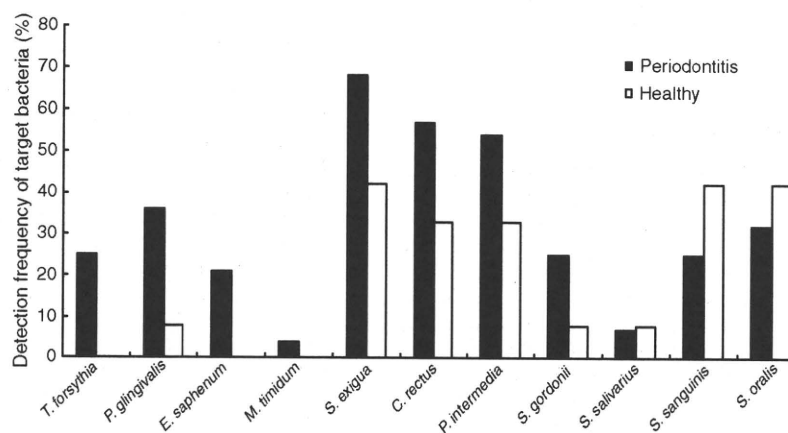


Fig. 5. Detection frequencies of target bacteria in subgingival plaque biofilm obtained from subjects with periodontitis and in periodontally healthy subjects.

anaerobes for each sample are shown in sequence in Fig. 4. *Streptococcus* species were specifically detected in the no-detection group and in the low-level group, but not in the high-level group, with the exception of sample P26 in the present study. These results suggest that environmental conditions, including oxygen concentration, nutritional supply and pH levels, are diverse

among periodontal pockets and that the high-level group have an environment with low oxygen, nitrogenous-compound supply and stable neutral pH, which is suitable for the growth of periodontitis-associated bacteria (6,7).

The proportions of periodontitis-associated bacteria, such as *T. forsythia* and *P. gingivalis*, in subgingival plaque biofilm from subjects with

periodontitis were relatively lower in the present study than in previous studies (18,23,24). This may be ascribed to the fact that the instruments used for sample collection in the present study (periodontal pocket probes), were different from those used in previous studies (Gracey curettes or paper points). Although it has been reported that the subgingival biofilm-forming bacteria detected were different when the sampling technique was different (25–27), the tendency to find higher proportions of periodontitis-associated bacteria in subgingival plaque biofilm from subjects with periodontitis was similar between the present study and previous studies. In addition, to our knowledge, this is the first study that specifically investigated, using real-time PCR, the proportions of early colonizers (such as *Streptococcus* species) in subgingival plaque biofilm isolated from the teeth of subjects with periodontitis.

Because we were unable to find periodontally healthy subjects in the elderly, the mean age of the perio-

dontally healthy subjects was 26 years in the present study. However, it has been reported that the subgingival microflora of periodontally healthy subjects does not change markedly with age (28,29), and thus the mean age of the periodontally healthy subjects may not influence greatly the results of the present study.

The present study demonstrated that bacterial species frequently detected in the subgingival plaque biofilm of subjects with periodontitis did not always represent a major proportion of the microflora (Figs 3 and 5). For example, the detection frequencies of *S. exigua*, *C. rectus* and *P. intermedia* were higher than those of *T. forsythia*, while the proportion of *T. forsythia* was higher than that of these three species. These results indicated the possibility that *T. forsythia* becomes predominant once it colonizes, although this bacterium cannot colonize efficiently, and suggest that the quantitative analysis is more reliable for evaluating bacterial status in the microflora.

In the present study, periodontal pocket depths were not found to correlate with either the total bacterial amounts or the proportions of individual bacteria in the microflora (Fig. 4). For instance, sample P7, obtained from a 10-mm periodontal pocket depth, did not contain *P. gingivalis*, *T. forsythia* or *E. saphenum*, while samples P23 and P24, obtained from a 5-mm periodontal pocket depth, contained large amounts of these bacteria. These results suggest that the depth of the periodontal pocket does not directly reflect the amount of bacteria found in the periodontal microflora.

In conclusion, facultative anaerobes, including *Streptococcus* species, were found to be the predominant bacterial species in subgingival plaque biofilm microflora from periodontally healthy subjects, whereas obligate anaerobes, including *T. forsythia*, *P. gingivalis* and *E. saphenum*, were the predominant bacterial species in subgingival plaque biofilm microflora from patients with periodontitis. The microbial diversity found in the present study suggests that environmental changes occur in the subgingival area,

providing a more suitable environment for the survival of obligate anaerobes and thus the subsequent progression of periodontitis (6,7), and that the proportions of these obligate anaerobes in subgingival plaque from subjects with periodontitis are associated with the status of human periodontitis disease (21). The findings of the present study support the hypothesis that quantification of bacteria in subgingival plaque biofilm microflora is an appropriate tool for the diagnosis and prognosis of periodontitis (21). In addition to a large-scale study on the relationship between the periodontitis status and periodontitis-associated bacteria, a comparative and quantitative study on the changes observed in the oral microflora during the healing process, from periodontitis to healthy status, is required in order to verify the hypothesis.

### Acknowledgements

This study was supported in part by Grants-in-Aid for Scientific Research (18390605, 19390539, 20592220) from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology, Japan.

### References

- Socransky SS, Haffajee AD. Dental biofilms: difficult therapeutic targets. *Periodontol 2000* 2002;**28**:12–55.
- Takahashi N. Acid-neutralizing activity during amino acid fermentation by *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* and *Fusobacterium nucleatum*. *Oral Microbiol Immunol* 2003;**18**:109–113.
- Takahashi N, Saito K, Schachtele CF, Yamada T. Acid tolerance and acid-neutralizing activity of *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* and *Fusobacterium nucleatum*. *Oral Microbiol Immunol* 1997;**12**:323–328.
- Mettraux GR, Gusberti FA, Graf H. Oxygen tension (pO<sub>2</sub>) in untreated human periodontal pockets. *J Periodontol* 1984;**55**:516–521.
- Marquis RE. Oxygen-metabolism, oxidative stress and acid-base physiology of dental plaque biofilms. *J Ind Microbiol* 1995;**15**:198–207.
- Takahashi N. Microbial ecosystem in the oral cavity: metabolic diversity in an ecological niche and its relationship with oral diseases. *Int Cong Ser* 2005;**1284**:103–112.
- Marsh PD. Microbial ecology of dental plaque and its significance in health and disease. *Adv Dent Res* 1994;**8**:263–271.
- Mayanagi G, Sato T, Shimauchi H, Takahashi N. Detection frequency of periodontitis-associated bacteria by polymerase chain reaction in subgingival and supragingival plaque of periodontitis and healthy subjects. *Oral Microbiol Immunol* 2004;**19**:379–385.
- Moore WEC, Moore LVH. The bacteria of periodontal diseases. *Periodontol 2000* 1994;**5**:66–77.
- Paster BJ, Boches SK, Galvin JL, et al. Bacterial diversity in human subgingival plaque. *J Bacteriol* 2001;**183**:3770–3783.
- Uematsu H, Hoshino E. Predominant obligate anaerobes in human periodontal pockets. *J Periodont Res* 1992;**27**:15–19.
- Booth V, Downes J, Van den Berg J, Wade WG. Gram-positive anaerobic bacilli in human periodontal disease. *J Periodont Res* 2004;**39**:213–220.
- Lane DJ. 16S/23S rRNA sequencing. In: Stackebrandt E, Goodfellow M, eds. *Nucleic Acid Techniques in Bacterial Systematics*. Chichester: John Wiley & Sons, 1991:115–175.
- Yamaura M, Sato T, Echigo S, Takahashi N. Quantification and detection of bacteria from postoperative maxillary cyst by polymerase chain reaction. *Oral Microbiol Immunol* 2005;**20**:333–338.
- Wahlfors J, Meurman JH, Vaisanen P, et al. Simultaneous detection of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* by a rapid PCR method. *J Dent Res* 1995;**74**:1796–1801.
- Ashimoto A, Chen C, Bakker I, Slots J. Polymerase chain reaction detection of 8 putative periodontal pathogens in subgingival plaque of gingivitis and advanced periodontitis lesions. *Oral Microbiol Immunol* 1996;**11**:266–273.
- Hashimura T, Sato M, Hoshino E. Detection of *Slackia exigua*, *Mogibacterium timidum* and *Eubacterium saphenum* from pulpal and periradicular samples using the polymerase chain reaction (PCR) method. *Int Endod J* 2001;**34**:463–470.
- Kuboniwa M, Amano A, Kimura KR, et al. Quantitative detection of periodontal pathogens using real-time polymerase chain reaction with TaqMan probes. *Oral Microbiol Immunol* 2004;**19**:168–176.
- Xia T, Baumgartner JC, David LL. Isolation and identification of *Prevotella tamerae* from endodontic infections. *Oral Microbiol Immunol* 2000;**15**:273–275.
- Hoshino T, Kawaguchi M, Shimizu N, Hoshino N, Ooshima T, Fujiwara T. PCR detection and identification of oral streptococci in saliva samples using *gtf* genes.

- Diagn Microbiol Infect Dis* 2004;**48**:195–199.
21. Teles RP, Haffajee AD, Socransky SS. Microbiological goals of periodontal therapy. *Periodontol 2000* 2006;**42**:180–218.
  22. Uematsu H, Nakazawa F, Ikeda T, Hoshino E. *Eubacterium saphenum* sp. nov., isolated from human periodontal pockets. *Int J Syst Bacteriol* 1993;**43**:302–304.
  23. Lyons SR, Griffen AL, Leys EJ. Quantitative real-time PCR for *Porphyromonas gingivalis* and total bacteria. *J Clin Microbiol* 2000;**38**:2362–2365.
  24. Boutaga K, van Winkelhoff AJ, Vandenbroucke-Grauls CM, Savelkoul PH. The additional value of real-time PCR in the quantitative detection of periodontal pathogens. *J Clin Periodontol* 2006;**33**:427–433.
  25. Tanner ACR, Goodson JM. Sampling of microorganisms associated with periodontal disease. *Oral Microbiol Immunol* 1986;**1**:15–20.
  26. Hartroth B, Seyfahrt I, Conrads G. Sampling of periodontal pathogens by paper points: evaluation of basic parameters. *Oral Microbiol Immunol* 1999;**14**:326–330.
  27. Wikstrom M, Renvert S, Dahlen G, Johnsson T. Variance in recovery of periodontitis-associated bacteria caused by sampling technique and laboratory processing. *Oral Microbiol Immunol* 1991;**6**:102–106.
  28. Socransky SS, Smith C, Haffajee AD. Subgingival microbial profiles in refractory periodontal disease. *J Clin Periodontol* 2002;**29**:260–268.
  29. Haffajee AD, Cugini MA, Tanner A *et al*. Subgingival microbiota in healthy, well-maintained elder and periodontitis subjects. *J Clin Periodontol* 1998;**25**:346–353.

# Fluoride Action Network 制作 DVD

(Professional Perspectives on Water Fluoridation) の

## 日本語版 DVD (むし歯予防のフッ素利用専門家の意見) に関する検証

この検証文書は、本研究班の平成 22 年度の成果物として、Fluoride Action Network 制作の DVD (タイトル: Professional Perspectives on Water Fluoridation) に日本語字幕が挿入された「日本語版 DVD (むし歯予防のフッ素利用専門家の意見と題して某市市会議員のもとに送られてきたもの)」の内容を検証したものである。

最初に挿入されている日本語字幕を項目ごとに示し、次に項目ごとに行った検証結果を記載した。

米国版の DVD のタイトルを和訳すれば「水道水フッ素化に対する専門家の意見」となるが、日本語版 DVD では「むし歯予防のフッ素利用専門家の意見」となっている。これから、水道水フッ素化に特化したものではなく、たとえば集団フッ化物局所応用への危険論に転嫁されることが予測できる。

したがって、この検証文書が各地で有効に利用できるように、たとえば「むし歯」といった一般用語を用いたり、ですます調で記載したりした。また、水道水フッ化物濃度調整は「水道水フッ素化」という用語に統一した。

平成 23 年 2 月 2 日

厚生労働科学研究費補助金 (循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業)

「フッ化物応用の総合的研究」班作成

作成者

主任研究者 荒川 浩久

分担研究者 眞木 吉信

小林清吾

岡本 浩一

協力研究者 磯崎 篤則

飯島 洋一

安藤 雄一

佐久間汐子

田浦 勝彦

筒井 昭仁

鶴本 明久

八木 稔



#### 項目 1: アメリカ環境被害研究プロジェクト

- ・フッ素化で子どもの虫歯は半減。
- ・飲料水フッ素化のおかげで我が国の子どもたちは健康に幸せになるでしょう。
- ・フッ素化をためらうような健康被害はない。
- ・良くない物質を使っている。
- ・効果は極めて低くリスクは高い。

#### 項目 2: フッ素は安全

- ・彼らはフッ素化が安全かどうかわかる前に安全宣言をしてしまった。
- ・歯科界はフッ素の毒性を全くしらない。
- ・歯だけの影響ではない。
- ・神経毒である。
- ・国民への毎日の投薬だ。
- ・誰が責任をとる? 過剰でないと言い切れるか?
- ・障害が出る根拠は沢山ある。
- ・現代薬理学の原則に全く反している。

#### 項目 3: フッ素化についての専門家の意見

- ・飲料水フッ素化とは、むし歯予防のためにフッ素化合物を飲料水に加えることである。
- ・1940年代に CDC (国立感染症センター) によって始められたこの政策は 20 世紀の 10 大公衆衛生政策の 1 つとされている。しかし、科学の発展は、安全でなく効果もないことを明らかにしている。
- ・このビデオは、フッ素化を終わらせるため 2000 人以上の健康、科学、医学、歯学、環境に関する専門家に調査と確認をしたものである。

#### 項目 4: フッ素化と医療倫理

- ・フッ素化は投薬である。
- ・薬の運搬である。
- ・フッ素は薬である。
- ・フッ素化は、体内に入れ、その変化を目的としたものである。これは塩素と違う。飲用に適するように水質を改善する他の化学物質と違う。
- ・飲み水の殺菌目的で使われる塩素とは違う。これは治療目的で飲料水に添加される世界中でただ 1 つのものである。
- ・たった 1 つの濃度が全ての人に適用される市販薬はない。現代薬理学では決められた一定の濃度でも個々人の反応は大きく違う。

- ・水の摂取量（フッ素の摂取量）が人によって大きく違う。
- ・アスリートや肉体労働者は水をたくさん飲む。糖尿病も普通より多く水を飲む。
- ・薬理学の原則は、正確な量を必要な人に適切な時に与えることである。フッ素化はそうではない。
- ・個人の使用が良い。医師や歯科医師が患者を診察し効果や副作用を説明し処方すればいい。他の薬はそうであり、フッ素もそうあるべきである。私たちは血圧を下げたり、脳卒中のリスクを下げるために飲料水に何かを入れないし決まった濃度の薬を飲むということもない。
- ・薬を飲料水に加えるのは、インフォームドコンセント（十分な説明に基づく納得治療）医学的問題である。
- ・インフォームドコンセントは個々に必要で住民全てに特定の薬を処方することはできない。インフォームドコンセントなしの投薬はない。
- ・病歴も会ったこともない人に、精神、体、歯に良いとして生涯にわたり薬を処方する医師を考えられるだろうか。
- ・飲料水フッ素化を実施する境目は、51 %（過半数）の住民が賛成すれば町の水道水がフッ素化される。

#### 項目 5：フッ素は必要か

- ・フッ素は必須元素でない。
- ・人体はフッ素を必要としていない。
- ・少なくとも英国で、フッ素は必須栄養素でないことは確かだ。英国厚生省は、人体にとってフッ素の必要性は見出されなかったと述べている。フッ素はビタミンのような栄養素でなく、ビタミン剤と比べ有毒なモノなのだ。

#### 項目 6：フッ素は飲み込む必要があるのか？

- ・フッ素のむし歯予防効果は、全身作用より局所作用にある。
- ・全身効果より局所効果である。
- ・局所効果であり、飲み込み効果ではない。
- ・フッ素を局所応用した人の内臓がフッ素にさらされる正当な理由がない。
- ・日焼けを防ぐのにローションを飲まないで肌に塗るようにむし歯予防のためフッ素を歯に塗るけど飲まないでしょう。
- ・フッ素の局所応用と飲料水フッ素化は違う。これに疑いの余地はない。
- ・歯磨剤を飲み込まないよう気をつけるべき。フッ素入り歯磨剤は飲むためにできていない。歯磨剤は歯に歯の表面にこすりつけられるモノ。これに異存はない。
- ・歯の表面にフッ素を利用し、効果があるというのは承知している。しかし、住民全てが全身応用の飲み込み吸収することは正当化できない。なぜなら、フッ素は歯磨剤や歯科医でも受けられるからだ。従って、局所応用と同じ考え方で飲料水フッ素化を正当化できない。同じでない。
- ・専門家はフッ素を飲み込む必要がないことを知っているのに一般に知らせていない。情報提供が必要で効果がないことを知らせるべき。

### 項目 7：大部分の国はフッ素化しているのか

- ・フッ素推進派が語りたがらない1つが、いかに飲料水フッ素化されていないかである。
- ・西欧諸国の大部分はフッ素化されていない。飲料水フッ素化の国が少数派なのは明確。
- ・世界中の多くの国や先進国では、やめたしフッ素化しなかった。
- ・大部分のヨーロッパの諸国、オーストリア、ベルギー、オランダ、フランス、ドイツ、スウェーデン、ノルウェー、デンマーク、アイスランド、イタリア、ギリシャ、ポルトガルはフッ素化されていない。圧倒的多数の国はしていない。それらの国のむし歯は我々と比べて同じくらい。

### 項目 8：フッ素化した国は虫歯が少ないのか

- ・最も顕著なのは、様々な国で長期間のむし歯の傾向を見ることだ。
- ・アメリカのようにフッ素化された国とされていない国を比べるのは意味がある。
- ・WHO（世界保健機構）のデータベースで12歳の虫歯数を見ると、米国などフッ素化した国で減少したように、していない西欧諸国でも急速に減少している。
- ・フッ素化していない地域でも、同じくむし歯の減少を見ている。
- ・フッ素化された国のむし歯減少のグラフと、されていない国のグラフを区別できないはずだ。フッ素推進派であった私も、このようなむし歯減少は驚くべきものだった。

### 項目 9：私たちはどのくらいフッ素を飲み込んでいるのか？

- ・どうなるかは体にどのくらい溜まっているかである。
- ・子どもは様々な製品から多くとっている。
- ・その量は恐るべき増加で飲料水もその1つである。フッ素化水道水は直接飲んだり、それを利用して炭酸飲料や飲み物、スープの製品などからフッ素をとってしまうのだ。
- ・マーケットの果物や野菜の残留農薬からもフッ素をとっている。殺虫剤の成分として一般的に使われている。
- ・無農薬でないグレープフルーツジュースを飲むと皮についていた農薬の高濃度のフッ素をとることになる。
- ・歯磨剤からもとる。子どもは飲まないように言っても、多量の歯磨剤を飲み込んでいる誤飲しているのだ。子どもは大人のようにフッ素洗口できない。飲み込み反射が充分発達していない。フッ素を飲み込んでいる。
- ・過剰の摂取を誰が測定しているのか。誰もしていない。誰も監視測定していないから過剰摂取の集団も出てきている。
- ・減少させる必要がある。

### 項目 10：子どもはフッ素を取り過ぎか？

- ・2005年 CDC は、フッ素化されていない地区を含む米国の子どもの32%歯フッ素症であると認めた。約3分の1の子どもが歯フッ素症なのは幼児期にフッ素をとりすぎたことを意味する。
- ・歯フッ素症はフッ素汚染による歯のダメージである。歯に白斑や茶色の斑点として現れる。

- ・白い斑点や白い横シマ模様が見え、さらに症状が進むと表面が層状にはがれ落ちて茶色の斑点が見える。重症だと歯の表面に断片化、点状、面状の浸食。歯フッ素症は子どもの歯が形成時期に過剰のフッ素に汚染されたことを示すものだ。現在フッ素の酵素阻害を起こす仕組みが分かっている。フッ素はセリン蛋白分解酵素を阻害し、歯にセリンが残ることで歯フッ素症を引き起こすのだ。歯が形成される重要な時期にエナメル質形成に関係する酵素の幾つかを阻害する。
- ・エナメル質を形成する細胞にフッ素が打撃を与え同じように他の全身の細胞に打撃を与える。
- ・フッ素推進派は、歯の形成、酵素、重要な G タンパク質に障害を与え、他の細胞を損傷させることはない信じている。そんなことはありえない。
- ・フッ素は歯だけを障害するのではない。歯に与える障害は骨にも起きる。なぜなら、骨と歯にハイドロキシアパタイトという同じミネラル構造があるからだ。つまり歯は、骨の窓、骨の変化が見える窓。従って歯に起きる副作用は骨にも起きる。
- ・歯の変化はフッ素中毒が起きている証拠。斑状歯は美容上の問題ではない。

#### 項目 11：フッ素に副作用はあるのか？

- ・斑状歯についてのフッ素論争は 50 年にわたって歯が専門である歯科界で続いて来た。歯の問題は、一部分の問題ではない。
- ・歯科医は、口の病気、病変を診断する。歯科医は歯以外の病気に関心を持たない傾向がある。歯以外の病気を診断するのは免許外だからだ。
- ・歯科界におけるフッ素研究は歯科の狭い視点であった。フッ素中毒の問題は歯科だけでなく中毒の問題である。
- ・2006 年の NRC（全米研究評議会）報告書はフッ素が歯以外の全身に影響していることを知る良い文献である。この報告書の中で最も意味ありものは歯や骨よりフッ素に損傷される器官が多くあることだ。
- ・歯だけからフッ素を見るのではなく、あらゆる器官に影響を与える全身の健康問題として考える必要がある。

#### 項目 12：幼児はフッ素化水を飲むべきか？

- ・弗素化された水で乳児用の粉ミルクを作らないように警告した最近の ADA の声明は画期的である。ADA は遅ればせながら最終的に警告を行った。それは親に乳児用粉ミルクをフッ素化された水で作らないようにという警告である。
- ・アメリカ歯科医師会はフッ素化された水で乳児用粉ミルクを作ったり幼児が飲むために使わないように推奨したのである。この問題の中で特に重要な教訓の 1 つは母乳のフッ素濃度が低いということである。母乳のフッ素濃度は 0,004ppm でフッ素化飲料水のフッ素濃度のその 250 倍である。母乳は良くないと言う人もいるが、大部分の科学者はそうは考えていない。科学者は母乳が最良の乳児食だと考えている。フッ素が低濃度の母乳ならその方がよいだろう。
- ・自然は幼児からフッ素を遠ざけるための仕組みを工夫してきた。我々はフッ素化でわざわざその工夫を台無しにしている。重大な問題だ。
- ・フッ素は非常に活性の強い化学物質で人体に入ると松果体と甲状腺の機能を阻害することを知るべきで

ある。松果体も甲状腺も脳の機能と精神的発達に密接に関連している。

- ・ 幼児に関し本当に心配なのは新生児の血液脳関門が未発達である点である。幼児がフッ素化された水で作られた粉ミルクを飲むと発育中の脳に不適切な大量のフッ素が供給されることになる。これが中国のフッ素による IQ（知能指数）低下の原因の 1 つであろう。
- ・ 皆さんも脳がダメージを受けやすい時期にフッ素に汚染されることを望まないはずである。これは幼児をフッ素に汚染させないという重大な警告。フッ素化すると当然起きる。
- ・ 低所得家庭はどうだろう。フッ素化された水を飲むことから避けられるか？低所得家庭はフッ素の入っていない飲料水を手に入れる余裕がない。低所得の人は飲料水フッ素化によって副作用の危険度が更に高い。

### 項目 13：フッ素と脳

- ・ 私が見る限りフッ素化された水の摂取が脳の神経細胞野の基本的な機能を傷害することは疑いない。
- ・ NRC はフッ素が脳に影響するという情報を検討しさらなる研究が必要であることや発育と中の脳に影響するのは確実で成人の脳にも影響を及ぼすという結論を下した。
- ・ 脳の研究は我々が 1995 年に報告し影響を予測していた。それ以来完全に確かめられている。フッ素が脳を損傷する 30 の動物実験による研究報告がある。さらにフッ素が子供の IQ を低下させることを示す中国からの多数の研究が報告されている。
- ・ フッ素が子どもの知能に影響を及ぼす多くの疫学的証拠がある。中国の疫学研究は全米科学アカデミーが問題にしている。アメリカとの関連はこれからだが一連の研究結果は正当で重要だと述べている。
- ・ フッ素と知能や脳との関係は鉛が 1970 年代初頭に問題になったのと同じだと見ている。70 年代初頭、科学者は高濃度の鉛が子どもの脳を損傷することや他の健康被害を起こすと知っていた。しかし臨床症状の出にくい濃度の鉛は問題ないと考えていた。同じことがフッ素に起きている臨床検査の感度が下がり低濃度フッ素でも IQ の低下や他の悪影響を起こすことが明らかになる。
- ・ 近い将来、確定的な事実が解明されるだろう。フッ素化はそれまで予防原則に従うべきだ。

### 項目 14：フッ素と甲状腺

- ・ フッ素が甲状腺に与える影響は何倍にも及ぶ
- ・ フッ素は 1940 - 1950 年代、特にヨーロッパで甲状腺機能を低下させる目的（甲状腺機能亢進症の治療）で使われた。甲状腺機能を低下させる濃度は全米の多くの人の摂取量と同じだ。
- ・ フッ素が甲状腺機能を低下させるという、ヒトや動物実験による確固たる文献がある。このヒトの摂取量はフッ素化水から取っている量に等しいとされる。
- ・ 米国民の多くは、甲状腺に何らかの問題を抱えている。
- ・ 甲状腺機能低下症患者は環境中にフッ素が多いことと関係がある。
- ・ フッ素の摂取は甲状腺機能に影響を与える。
- ・ 甲状腺機能低下症の人はフッ素化水道水に気をつけるべきだ。症状が悪化することも考えられる。
- ・ フッ素は甲状腺に影響して機能低下を引き起こす。甲状腺ホルモンが減少し境界型でさえ、無気力となり、うつ病になる人も多いだろう。

### 項目 15：フッ素と骨の強さ

- ・合衆国には、フッ素化と骨折の研究があり、フッ素化は骨折を増加させると報告している。
- ・アメリカ医師会雑誌でも、フッ素化程度の摂取量で骨折を増加させるとしている。
- ・動物実験によればフッ素は骨に蓄積し、骨にフッ素が増えるほど骨がもろくなると報告されている。
- ・骨にフッ素が蓄積するとX線上では一見密度が増したように見えるが弱くなる。
- ・股関節骨折は大変コストがかかる。
- ・股関節骨折は歩行困難となる人が多い。

### 項目 16：フッ素と関節炎

- ・地方性骨フッ素症地域で最初に見られる徴候は関節痛である。
- ・骨フッ素症の初期段階は、関節痛と関係がある。
- ・フッ素症は関節痛と同じ症状。
- ・フッ素中毒の初期症状とリウマチや関節痛を見分けることはできない。ほとんど同じだからである。
- ・フッ素化された北米の人を注意深く見ると関節痛の人が流行と言えるぐらい相当いる。
- ・米国では関節炎が流行と言えるぐらい多い。関節炎の原因の1つとしてフッ素があげられる。CDC の発表ではアメリカ人の3人に1人（6800万人）がある種の関節炎にかかっている。
- ・アメリカ人には潜在的なフッ素中毒症による関節炎患者が多い。もしも私が関節炎だったら考えられる全てのフッ素源を解明する。

### 項目 17：フッ素化合物はどこから来るのか？

- ・もし歯科医師に、水道水に入れているフッ化物は何かと尋ねると薬品のフッ化ナトリウムや歯磨剤に入っているものと同じと答える。
- ・使われているフッ素の9割が、珪フッ化水素ガスだとは思ってもよらないだろう。これはリン酸肥料工場から出る産業廃棄物である。
- ・リン酸肥料工場は、およそ100年間大変毒性の強いガスを環境中に（煙突から煤煙として）排出していた。
- ・フッ化水素酸やフッ化珪素酸は水に溶けてフッ化物や珪フッ化物となり毒性を発揮する。この毒性の強い25%液はタンクに入れられ米国中に運搬され水道水に混入される。
- ・産業廃棄物が大気中に拡散すれば大気汚染となり川に流せば河川汚染となる。ところがタンクローリー車に入れて誰かに売り飲料水にすれば水質汚染にならない。マジックである。飲料水に混入すれば河川汚染にもならない。飲料水を直接汚染していることになる。汚染物質はもはや毒物ではなく製品と呼ばれる。
- ・精製されていない化合物は産業廃棄物の混合物であり多くの重金属を含んでいる。フッ素化では言及していない。
- ・フッ素化を論じるとき、混入の産業廃棄物（ヒ素、鉛、水銀、カドミウム、放射性物質など）についても話すことになる。われわれの機関誌に150地域で飲料水中のヒ素濃度がわずかに基準値を上回っていると掲載されている。飲料水中にヒ素を混入する考えが問題でごく微量だからよいということではない。

フッ素化のリスクを理解する研究者が少ない。そういう人が、いまだに強制的な公共水道のフッ素化を言っている。

- ・歯科保健を改善できるよりよい方法があるにもかかわらずフッ素化している。そこをよく考えましょう。
- ・むし歯予防はフッ素の全身的投与では得られない。
- ・それは反倫理的、不必要、効果がなく、危険である。
- ・これははっきりしている。それは不自然。歯はそこにあってよく見えるのに何で産業廃棄物（ゴミ）を飲みたいのですか？
- ・2009年1月現在、2000人以上の医学、科学、環境の専門家が世界中の飲料水フッ素化の中止を求めている。

- ブレント・フォスター : オレゴン シエラ（シーラ）クラブ（全米最大の環境保護団体）
- イアン・チャルマーズ卿 : イギリス ヘルスサービス研究者
- フィルス・ムーレニクス（ムレニクス）博士  
: 薬理学・中毒学者 元ボストンのフォーサイス歯科センター薬剤毒性部長  
フッ素の毒性論文を発表して解雇された
- アービット・カールソン : 理学者 スウェーデン 2000年ノーベル医学・生理学賞
- ビル・オスモンソン博士 : オレゴン州 審美・予防歯科医師 元フッ素推進者
- キャサリン・シエッセン博士 : リスク評価学者 テネシー州オークリッジ リスクアセスメントセンター  
2006年合衆国NRC報告書審査委員
- アール・バルドウィン : イギリス議会 上院議員
- ポール・コネット博士 : 環境化学者 前ニューヨーク セントローレンス大学教授  
FAN 反フッ素ネットワーク代表
- ロバート・カールトン博士 : EPA（環境保護局）前労組委員長
- ウィリアム・ハーツィ博士 : EPA 労組副委員長
- ティム・クロップ博士 : 環境作業グループ
- アービン（ビビアン）・ハワード博士  
: 胎児病理毒性学者
- ハーディ・ライムバック博士 : トロント大学予防歯科部長 カナダのフッ素化の理論的指導者
- ロバート・アイザックソン博士 : NRC 報告書審査委員

日本語訳 秋葉賢司・成田憲一

製作協力 森正明

日本語版製作 日本フッ素研究会

このビデオは FAN の協力により、2008 年 8 月に使用許可された原版をもとに作られています。

一部の音声や画像に不鮮明なところがありますが、ご了承願います。

また、一般向けにわかりやすい日本語訳にしていますので、ご了承願います。

## 「DVD：むし歯予防のフッ素利用専門家の意見」誤謬解説

### 項目1：アメリカ環境被害研究プロジェクト（担当：小林清吾）

- ・フッ素化で子どものむし歯は半減。
- ・飲料水フッ素化のおかげで我が国の子どもたちは健康に幸せになるでしょう。
- ・フッ素化をためらうような健康被害はない。
- ・良くない物質を使っている。
- ・効果は極めて低くリスクは高い。

#### 〔誤謬解説 1〕

この項目の内容は、水道水フロリデーションの効果は低く、リスクが高いというものです。

フロリデーションは、効果が極めて低くリスクが高いという認識は誤っています。また、水道水のフッ素によるむし歯予防方法の英語表記である「water fluoridation」の日本語訳ですが、正しくは“水道水フロリデーション（水道水フッ化物濃度調整）”<sup>1)</sup>と言います。天然にも含まれているフッ化物イオンを適正濃度に上乘せすることであって、水全体の性質を変化させるわけではないので“フッ素化”とは言わないことになっています。

フロリデーションによるむし歯予防効果は、長年の、広範囲な国々と地域における、多数の調査から得られた強力な証拠によって裏付けられています。1945年－1946年に水道水フロリデーションが開始された米国とカナダにおいて、対照地区やフロリデーション実施前と比較した厳密な4つの調査が行われています。それらの結果、小児のむし歯が約半数になったこと、予防率は48.4%－70.1%であったことが報告されています<sup>2)</sup>。その後、この方法が普及した世界23か国の多数調査から得られた永久歯86報告と乳歯66報告からも、フロリデーションによってむし歯の数が約半減することが繰り返し確かめられてきています<sup>3)</sup>。1970年代に歯磨き剤などのフッ素利用が全国的に普及した今日の米国における調査によっても、水道水フロリデーションは確かな有効性があると認められ、特に集団のむし歯予防（ポピュレーション・ストラテジー）として米国国立衛生研究所(NIH)や米国疾病予防管理センター(CDC)によって薦められています<sup>4)</sup>。

水道水に添加する前のフッ化物は薬剤扱いで、水の浄水処理に用いる薬剤と同じ管理責任が必要です。このフッ化物よりも、むしろ消毒用の塩素化合物の方が厳密な管理を要求されています。フロリデーションには良くない物質を使っている、あるいはリスクが高いというのは、フロリデーションのように水に溶けた微量フッ素（フッ化物イオン）とは異なる濃度や使い方をした場合のことと混同しているのではないかと思います。実際、水道水中に100万分の1濃度（0.0001%: 1ppm）で溶けたフッ素（フッ化物イオン）は栄養素のミネラル元素として役立っており、WHOをはじめとする医学・歯学・保健の専門機関によって、その有用性が一貫して認められてきているものです<sup>5,6)</sup>。

#### 〔文献〕

- 1) 日本口腔衛生学会フッ化物応用委員会編：フッ化物応用の科学，口腔保健協会，東京，2010，208頁。



- 2) 小林清吾：第5章フッ化物応用；新予防歯科学第4版，医歯薬出版，東京，2010，90頁.
- 3) MurryJ.J. et al: Fluoride in Caries Prevention, 3<sup>rd</sup> ed, Butterworth-Heinemann Ltd, Oxford, 1991.
- 4) むし歯予防フッ素推進会議訳，フロリデーション・ファクト 2005；Fluoridation Facts 2005: ADA, 2006, 11頁.
- 5) WHO: Appropriate Use of Fluoride for Human Health, Geneva, 1986.
- 6) The British Fluoridation Society, The UK Public Health Association, British Dental Association and the Faculty of Public Health: One in a Million, London, 2004.

## 項目 2：フッ素は安全（担当：小林清吾）

- ・彼らはフッ素化が安全かどうかわかる前に安全宣言をしてしまった。
- ・歯科界はフッ素の毒性を全く知らない。
- ・歯だけの影響ではない。
- ・神経毒である。
- ・国民への毎日の投薬だ。
- ・誰が責任をとる？過剰でないと言い切れるか？
- ・障害が出る根拠は沢山ある。
- ・現代薬理学の原則に全く反している。

### [ 誤謬解説 2 ]

この項目の内容は、水道水フッ素化に用いるフッ化物は歯だけでなく全身的な障害をもたらすというものです。

水道水フッ素化が安全かどうかわかる前に安全宣言をしてしまった、というのは事実と異なります。また、安全性が歯科的な面だけによって検討されてきた、という認識も誤っています。安全性の結論は、実にたくさんの医学的・歯学的な調査研究を重ねたうえで得られた総合的な評価（システマティック・レビュー）として得られたものです。それら科学的調査には、歯だけでなく全身の健康についての調査が多く含まれています。全身の健康問題については、医学、保健の複数専門家からなる公的機関によって検討されてきたもので、むし歯が減る以外、体の障害になるような証拠は認められていません<sup>1,2)</sup>。このような手続きによる結論は、異なる学者の個人的な意見より重く信頼できる判断と言えます。

フッ素が神経毒ではないかとの指摘は、フッ素化に用いる 75-125 倍高い濃度のフッ化物をラットに与えた研究（ミレニックス、1998 年）に由来しています。またその実験では、妊娠期間、1日に 2-3 回、胎仔にフッ化物を注入するという方法がとられました。このような実験方法では、フッ化物以外の刺激で異常を起こすことが指摘され、またミレニックスの結果は追試研究によって再現されることはありませんでした。実際のフッ素化地区と非フッ素化地区の小児を対象として、1年に1回の医学的記録と、6歳、7歳時に母親と教師両方よって小児の行動を評価した結果において、両地区間の差はなく、フッ素化の飲用が神経系に悪影響を及ぼすことは認められませんでした<sup>3)</sup>。

水道水の安全管理は自治体の責任です。日本の水道法では、消毒の塩素イオン濃度を含む 50 の検査項目が定められ、安全管理が守られています。水道水フッ素化では人々の住む水環境を健康な条件に調整するもので、100 万分の 1 濃度で飲料水に含まれるフッ素（フッ化物イオン）は栄養素ミネラル元素として作用しています。生活水としてなんら支障がなく、さらに健康に良い水を提供することは、環境の適正化であり住民への投薬とは全く異なります。また、飲料水中の最適なフッ化物イオン濃度は、国や地域の気温によって決められるものです。わが国の水道法では、全国一律にフッ化物イオンの上限値が 0.8ppm（100 万分の 0.8）とされていますが、これは日本列島のほぼ中央に位置する地域の適正濃度に相当するものです。

[ 文献 ]

- 1) WHO: Appropriate Use of Fluoride for Human Health, Geneva, 1986.
- 2) The British Fluoridation Society, The UK Public Health Association, British Dental Association and the Faculty of Public Health: One in a Million, London, 2004.
- 3) むし歯予防フッ素推進会議訳, フロリデーション・ファクツ 2005 ; Fluoridation Facts 2005: ADA, 2006, 40 頁.

### 項目 3：フッ素化についての専門家の意見（担当：小林清吾）

- ・飲料水フッ素化とは、むし歯予防のためにフッ素化合物を飲料水に加えることである。
- ・1940年代に CDC（国立感染症センター）によって始められたこの政策は 20 世紀の 10 大公衆衛生政策の 1つとされている。しかし、科学の発展は、安全でなく効果もないことを明らかにしている。
- ・このビデオは、フッ素化を終わらせるため 2000 人以上の健康、科学、医学、歯学、環境に関する専門家に調査と確認をしたものである。

#### [ 誤謬解説 3 ]

この項目の内容は、水道水フッロリデーシヨンの安全性と効果は否定されており、2,000 人以上の専門家に確認して水道水フッロリデーシヨンを中止させるために DVD を制作したというものです。この項目までが DVD の総論で、項目 4 から各論になります。

事実は、科学の発展によって水道水フッロリデーシヨンの有効性、安全性がより強化されてきています。安全でなく効果もない、という見解は曲解です。

米国疾病予防管理センター (CDC) は、1999 年 4 月、20 世紀における米国の十大公衆衛生事業 (1: ワクチン普及、2: 交通安全、3: 労働衛生、4: 感染症予防推進、5: 心疾患死亡率の減少、6: 食品衛生、7: 母子保健、8: 家族計画、9: 水道水フッロリデーシヨンの普及、10: タバコ有害性の認知度向上) を発表しました<sup>1)</sup>。すなわち、1945 年に開始されその後の普及につながった水道水フッロリデーシヨンが、1999 年の報告において公衆衛生施策の一つとして米国民に大きな恩恵を与えたことが認められています。この間、科学の発展に伴ってより高度の研究方法が採用され、医学研究調査は膨大な数に及び集積されてきています。もっとも最近の情報である 2009 年 8 月 24 日発表の CDC 報告書において、最新の科学論文を評価したうえで、水道水フッロリデーシヨンは安全で、むし歯予防に有効な施策であるので、継続的な実施と未実施地区への普及拡大を推奨する、との声明文が示されています<sup>2)</sup>。この声明文において、2006 年に提出された米国国立研究協議会 (NRC) 報告書の目的は、天然水のフッ化物濃度上限値、米国環境保護局 (EPA) 基準、を 4ppm から 2ppm へ変更するように薦めていること、そして水道水フッロリデーシヨン (適正フッ化物イオン濃度 0.7–1.2ppm) を推奨する CDC 政策に変更がないことを公表するとあります。この中で、現在、米国国民の 1 億 8,000 万人以上がフッロリデーシヨンの恩恵を受けていることも紹介されています。

#### [ 文献 ]

- 1) CDC: MM Weekly Report, April, 1999.
- 2) CDC: CDC Statement on the 2006 National Research Council (NRC) Report on Fluoride in Drinking Water, August 24, 2009. [http://www.cdc.gov/fluoridation/safety/nrc\\_report.htm](http://www.cdc.gov/fluoridation/safety/nrc_report.htm)