

図5. コンポジットレジン(E)硬化体を人工唾液に1週間(E-1)、2週間(E-2)、3週間(E-3)、4週間(E-4) 浸漬して溶出された物質の典型的なHPLCクロマトグラム

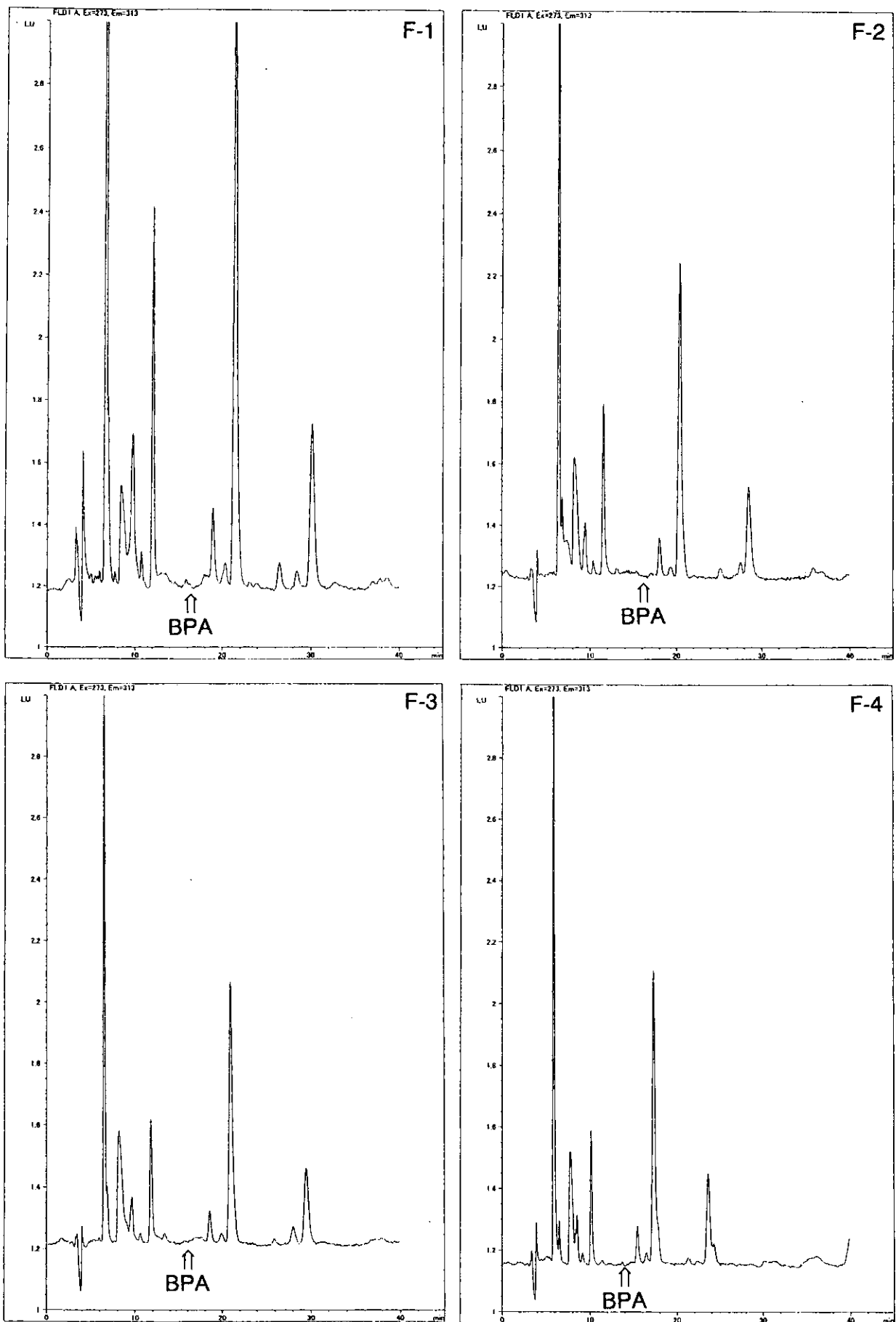


図6. コンポジットレジン(F)硬化体を人工唾液に1週間(F-1)、2週間(F-2)、3週間(F-3)、4週間(F-4)浸漬して溶出された物質の典型的なHPLCクロマトグラム

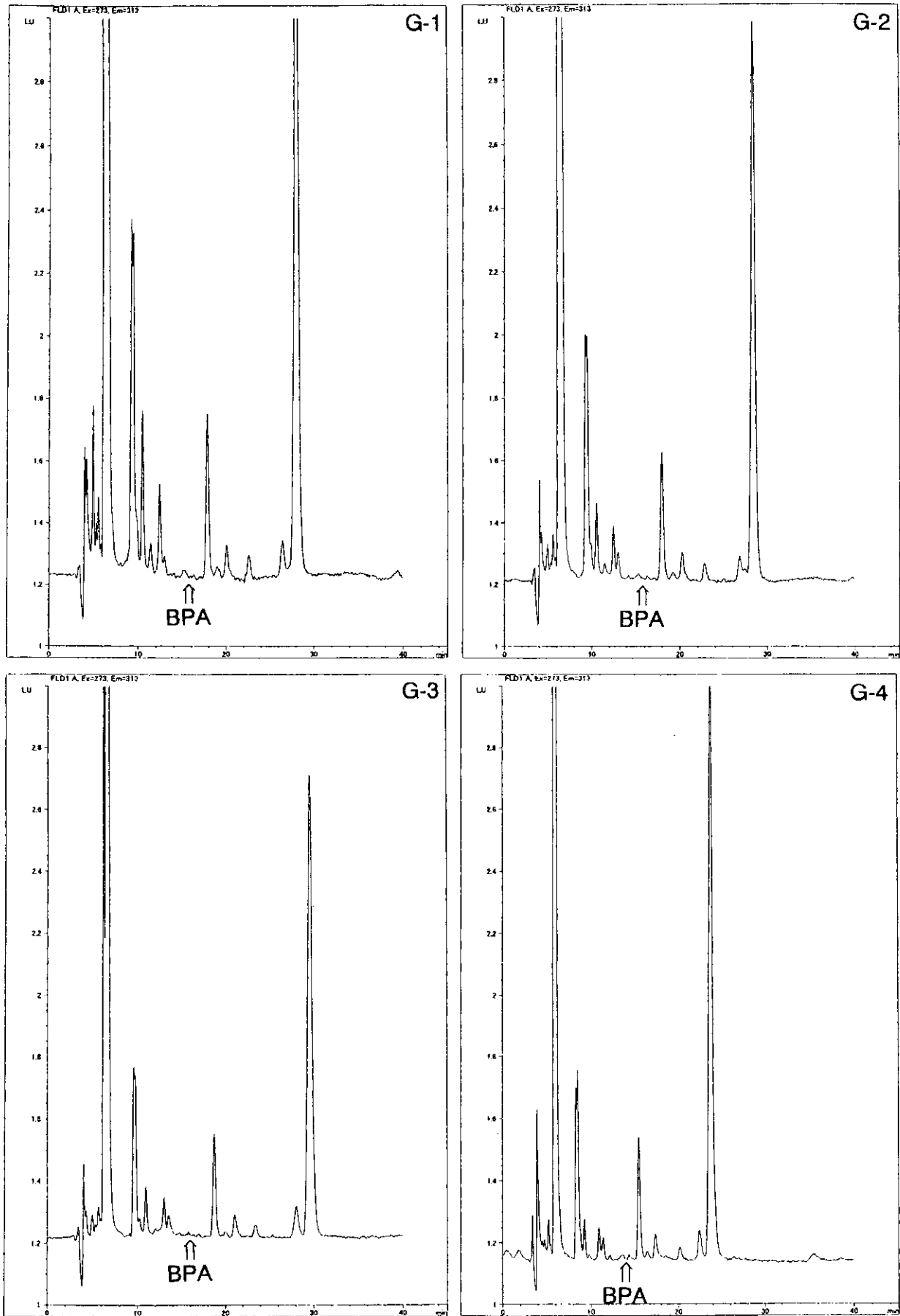


図7. コンポジットレジン(G)硬化体を人工唾液に1週間(G-1)、2週間(G-2)、3週間(G-3)、4週間(G-4) 浸漬して溶出された物質の典型的なHPLCクロマトグラム

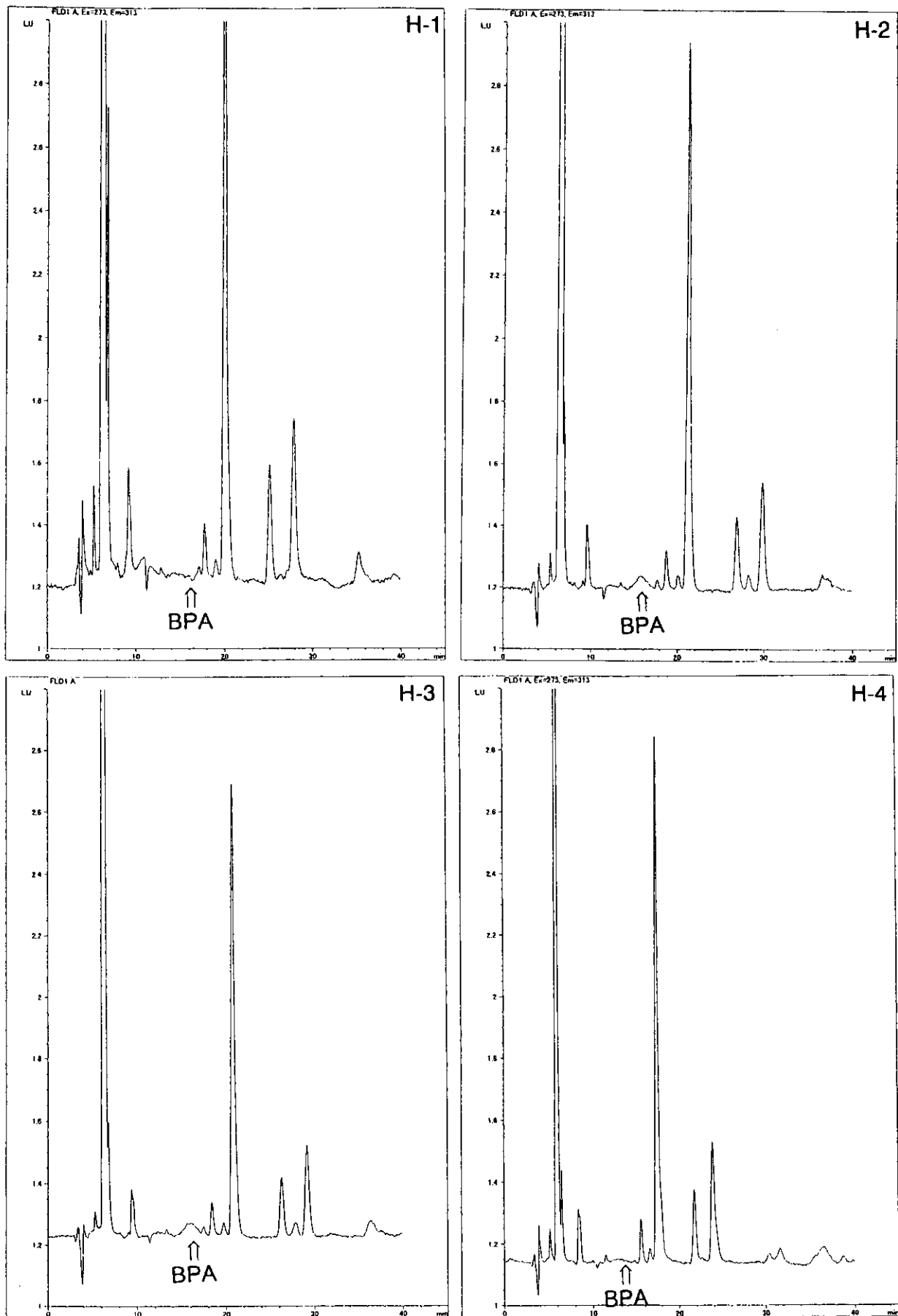


図8. ボンディング材(H)硬化体を人工唾液に1週間(H-1)、2週間(H-2)、3週間(H-3)、4週間(H-4) 浸漬して溶出された物質の典型的なHPLCクロマトグラム

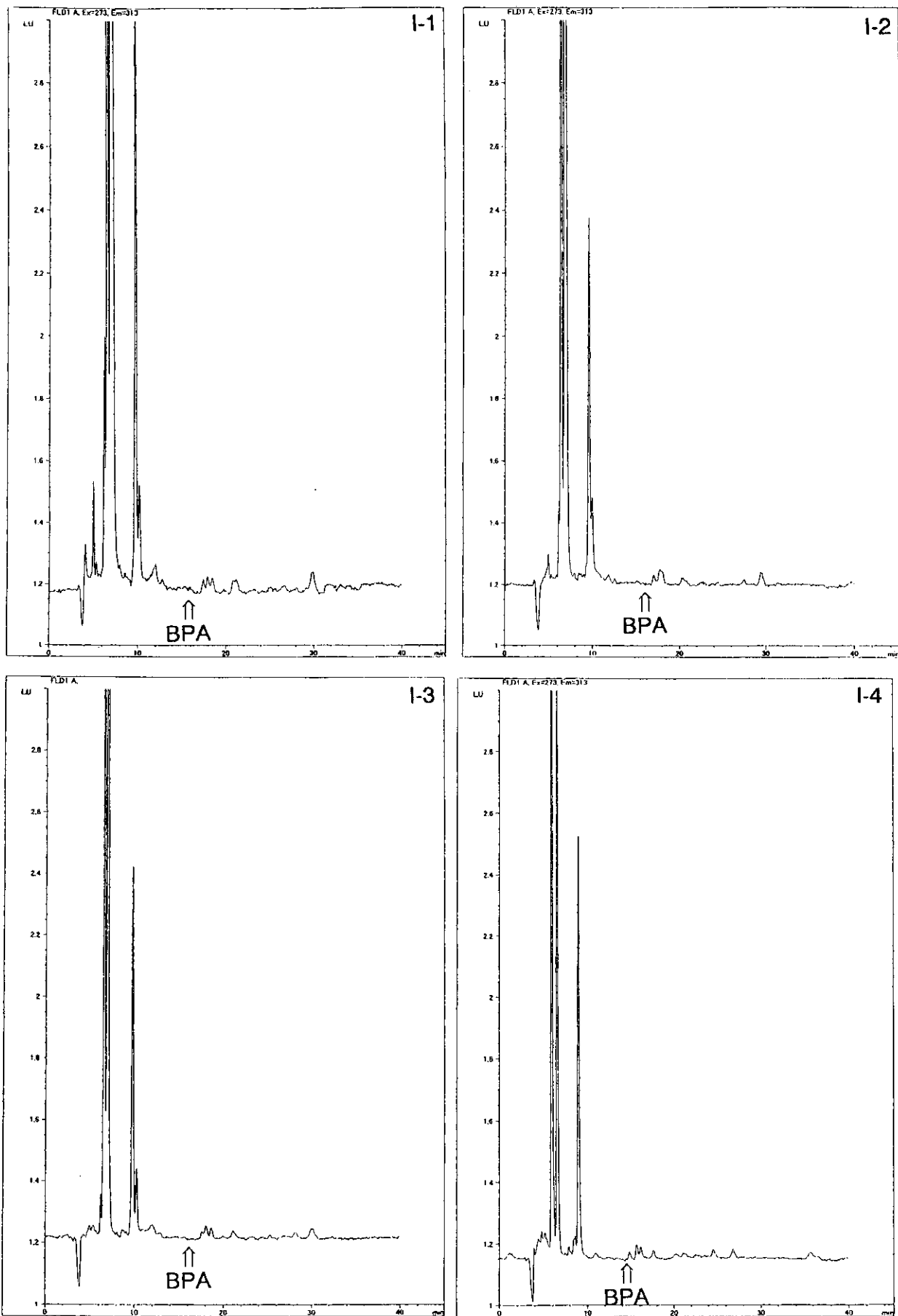


図9. ボンディング材(I)硬化体を人工唾液に1週間(1-1)、2週間(1-2)、3週間(1-3)、4週間(1-4)浸漬して溶出された物質の典型的なHPLCクロマトグラム

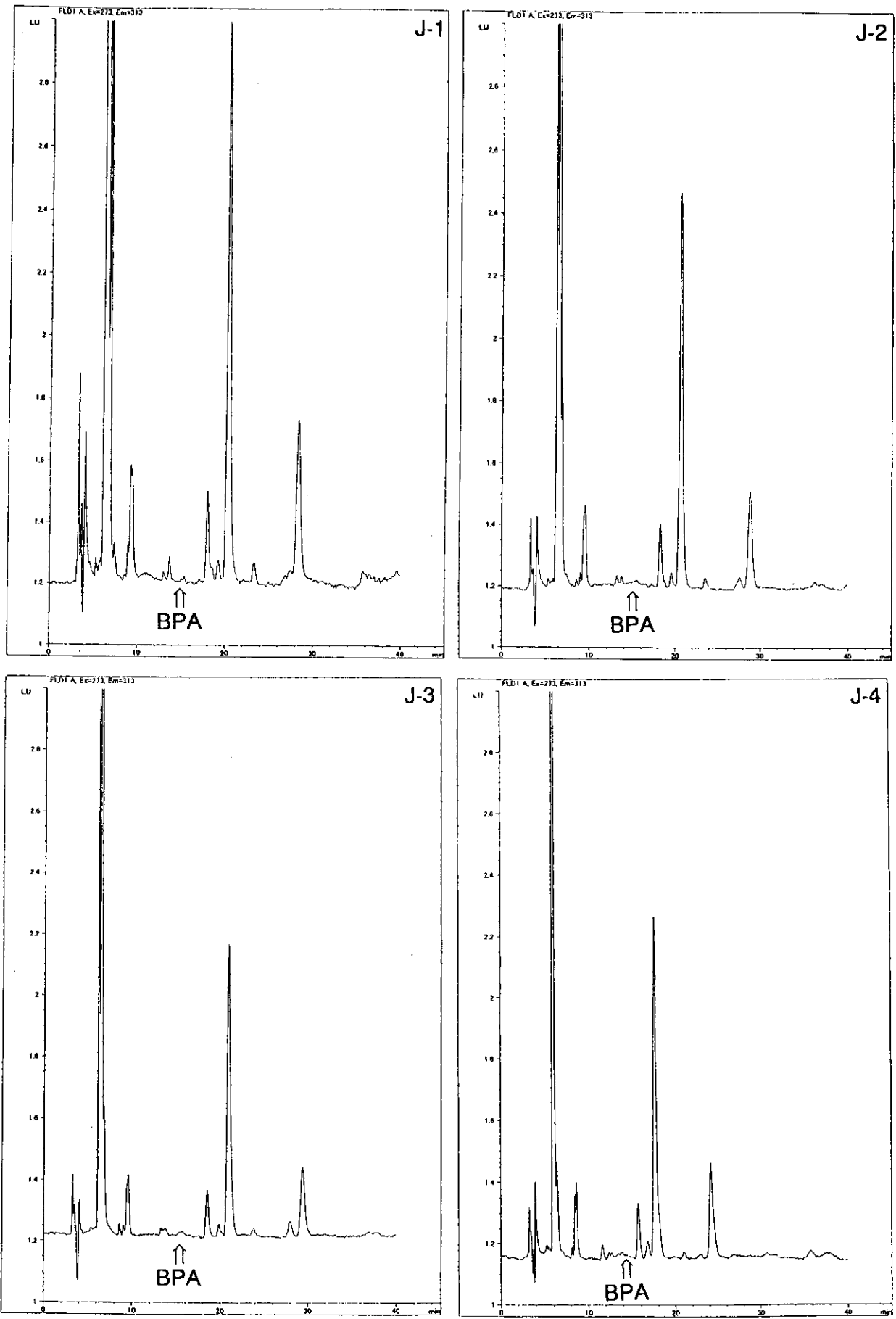


図10. ボンディング材(J)硬化体を人工唾液に1週間(J-1)、2週間(J-2)、3週間(J-3)、4週間(J-4)浸漬して溶出された物質の典型的なHPLCクロマトグラム

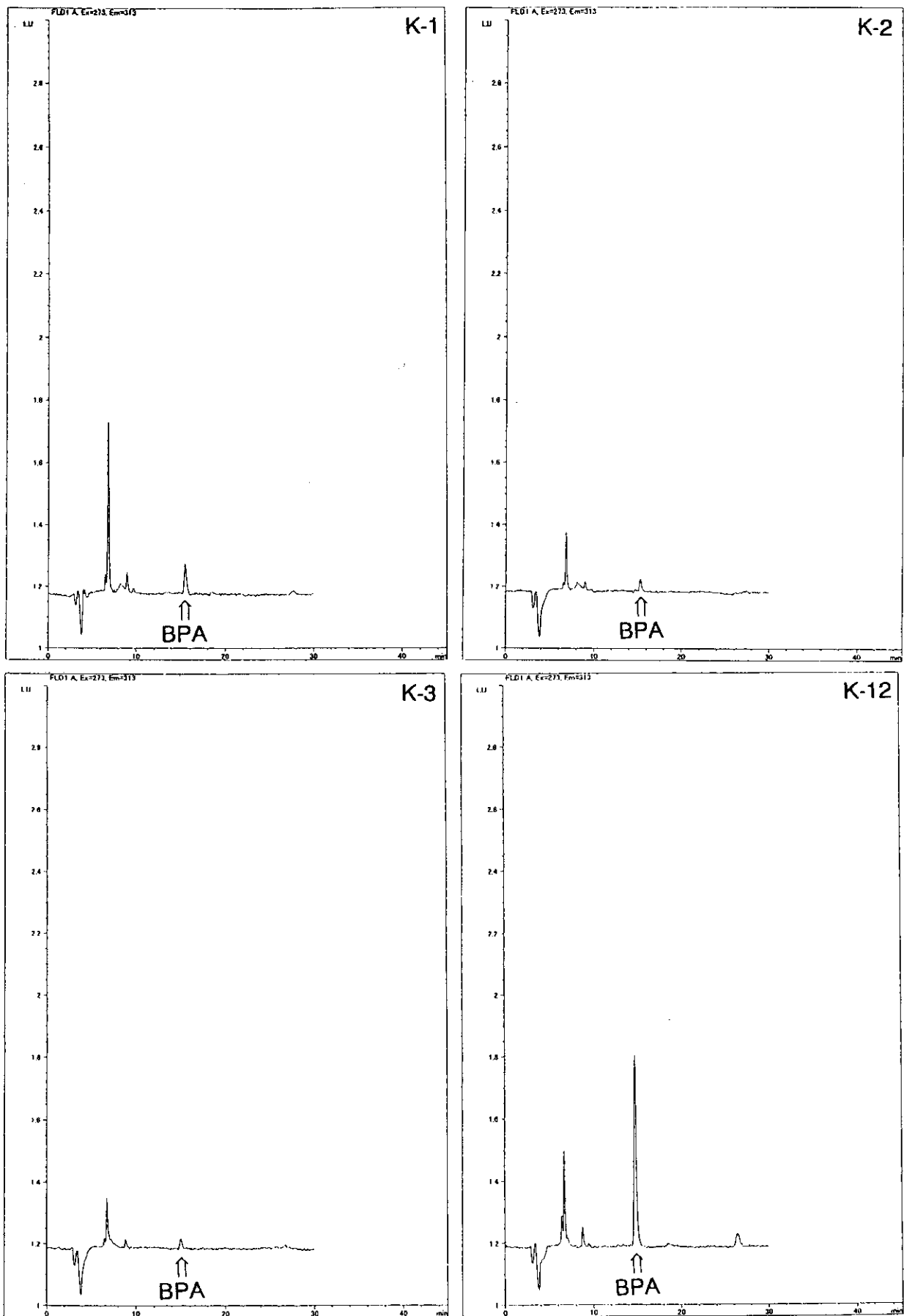


図11. プラスチック製矯正用ブラケット(K)を人工唾液に1週間(K-1)、2週間(K-2)、3週間(K-3)、12週間(K-12、10倍希釈)浸漬して溶出された物質の典型的なHPLCクロマトグラム

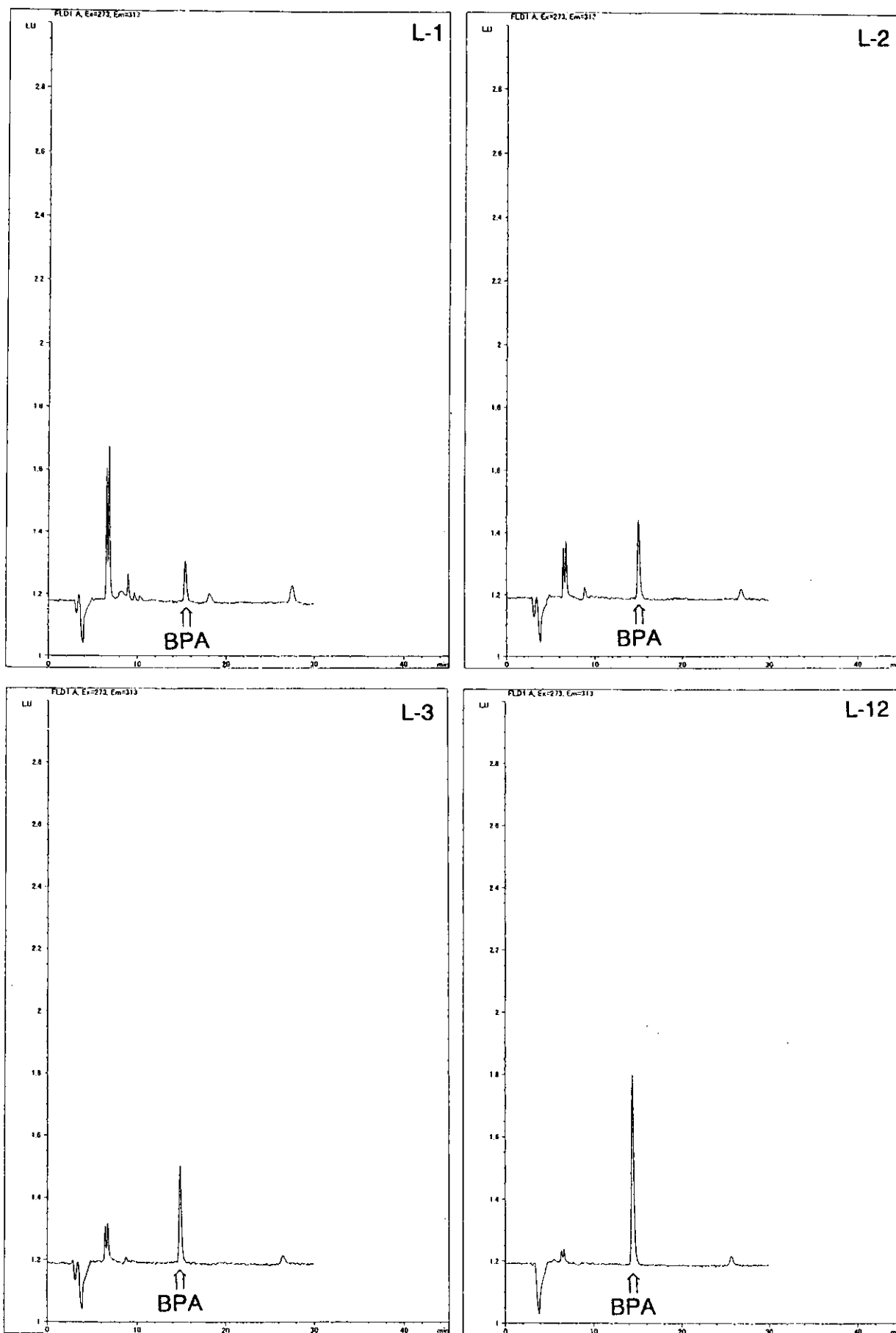


図12. プラスチック製矯正用ブラケット(L)を人工唾液に1週間(L-1)、2週間(L-2)、3週間(L-3)、12週間(L-12、10倍希釈)浸漬して溶出された物質の典型的なHPLCクロマトグラム

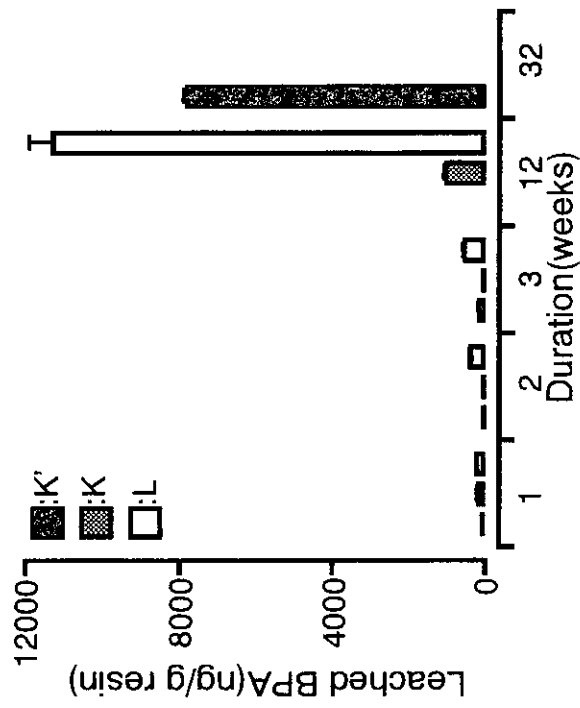


図13. 人工唾液に浸漬したブラケット K, K, L から溶出された suspected BPA の経週の溶出量

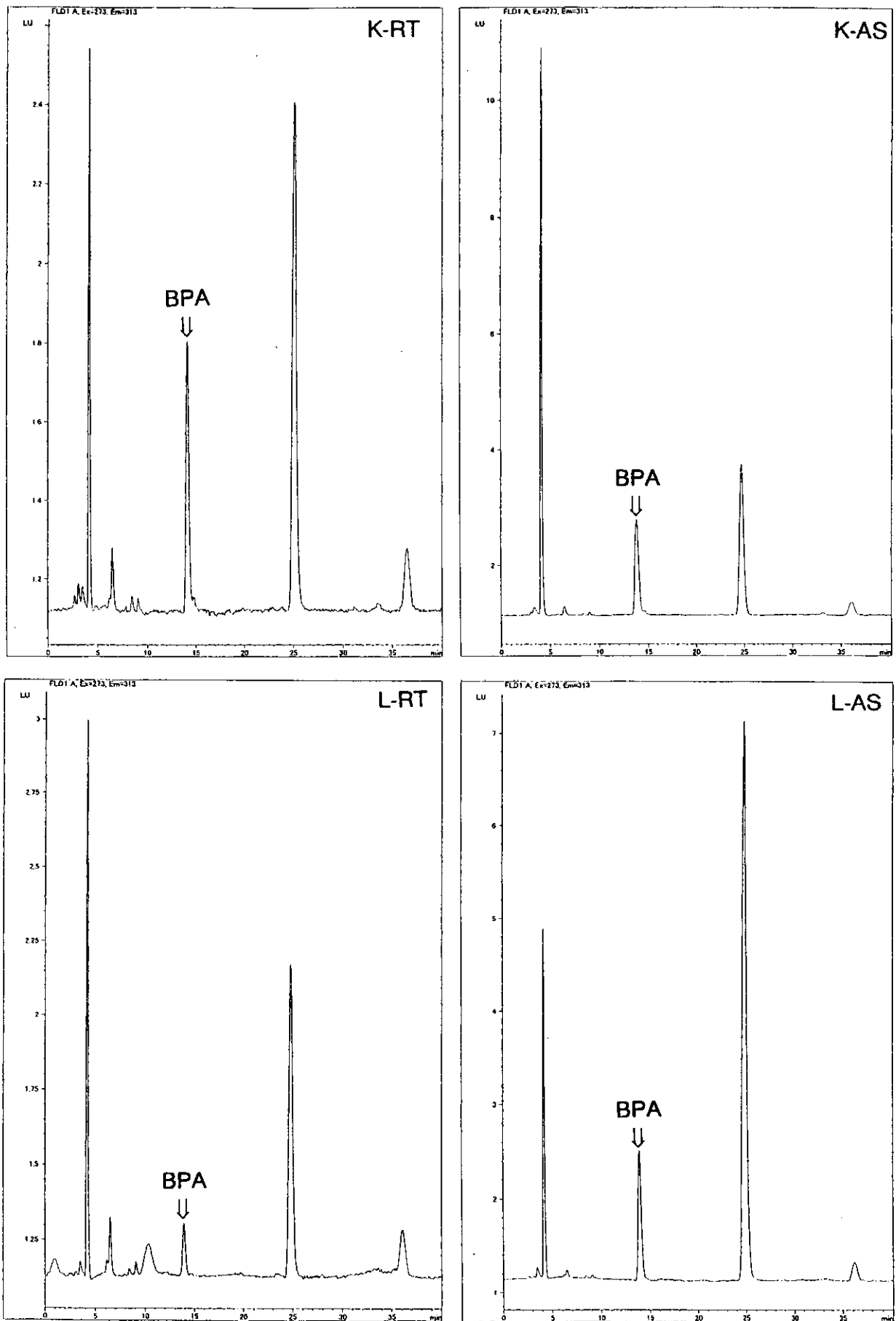


図14. プラスチック製矯正用ブラケットを12週間室温放置(K-RT, L-RT)後及び人工唾液に12週間浸漬(K-AS, L-AS)後に残留している物質の典型的なHPLCクロマトグラム

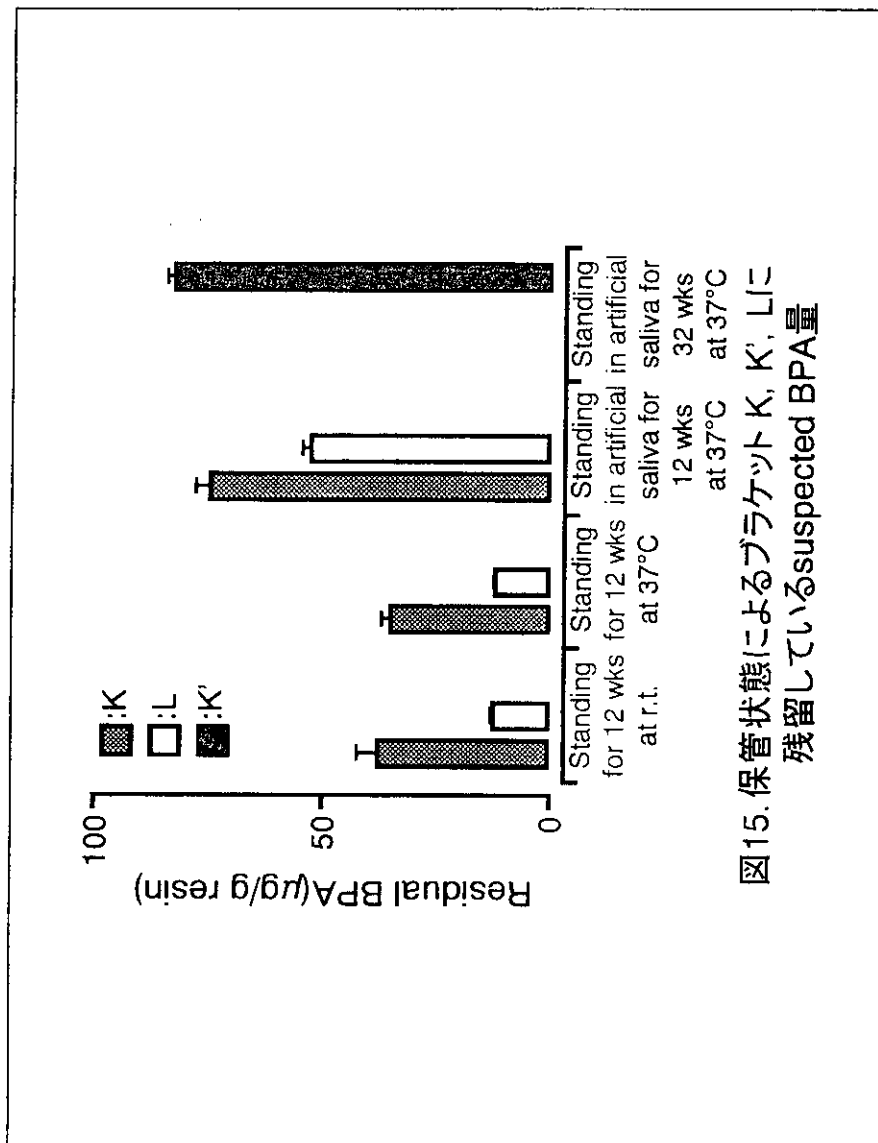


図15. 保管状態によるブラケット K, K', L に残留しているsuspected BPA量

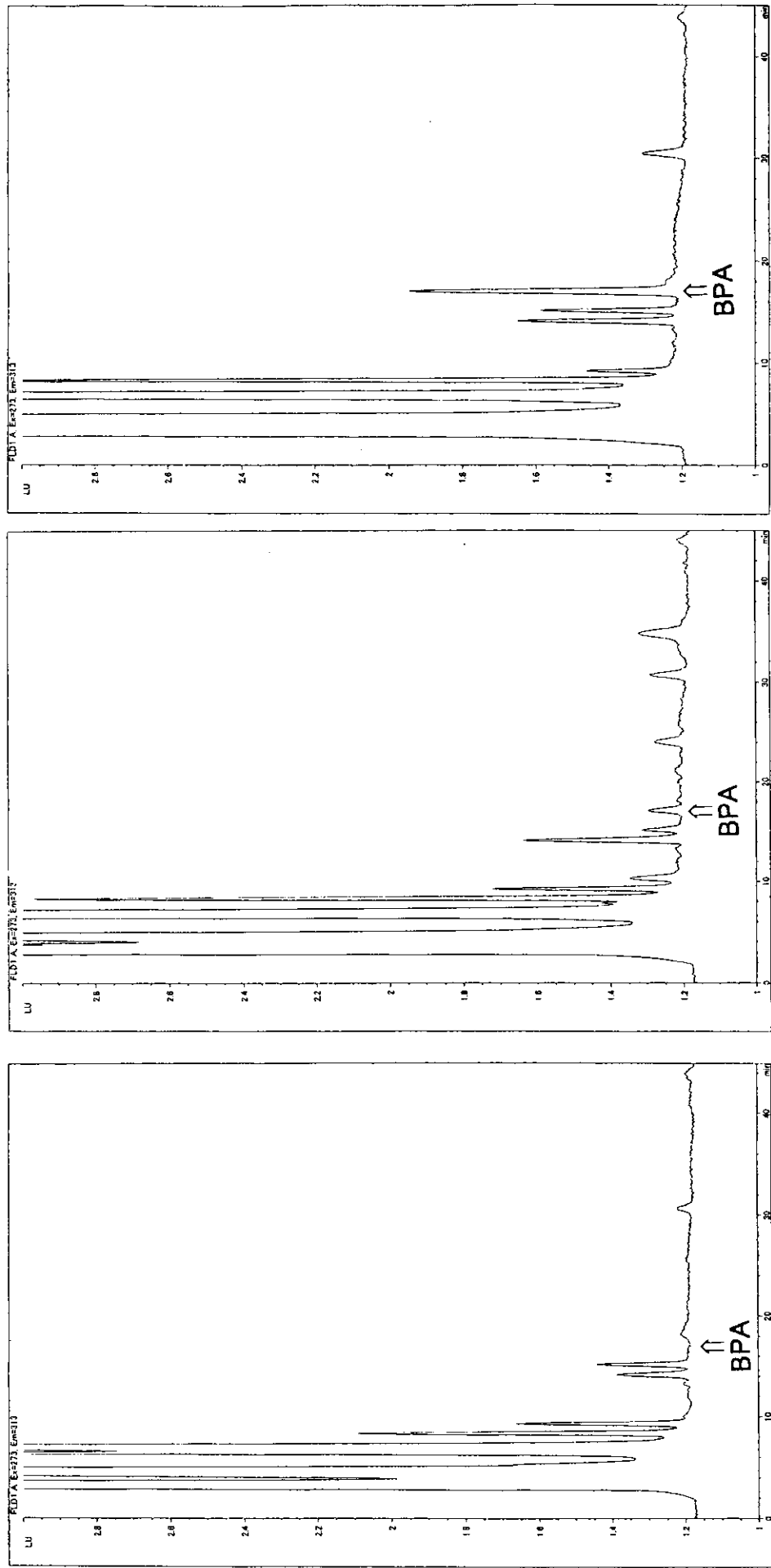


図16. プラスチック製矯正用ブラケット(K, L)を唾液に1週間浸漬して溶出された物質の典型的なHPLCクロマトグラム
 唾液の典型的なクロマトグラム(左)、矯正用ブラケットK浸漬液(中央)、矯正用ブラケットL浸漬液(右)

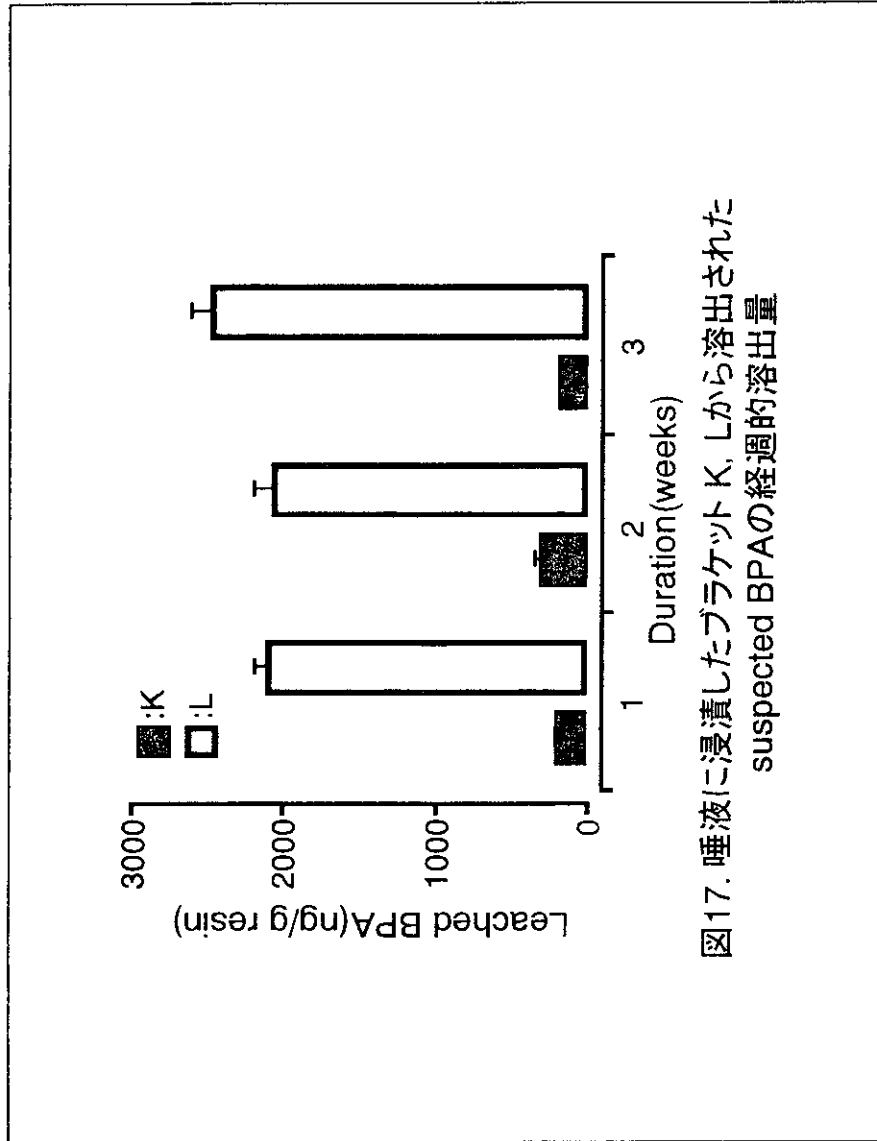


図17. 唾液に浸漬したブラケット K, L から溶出された suspected BPA の経週の溶出量

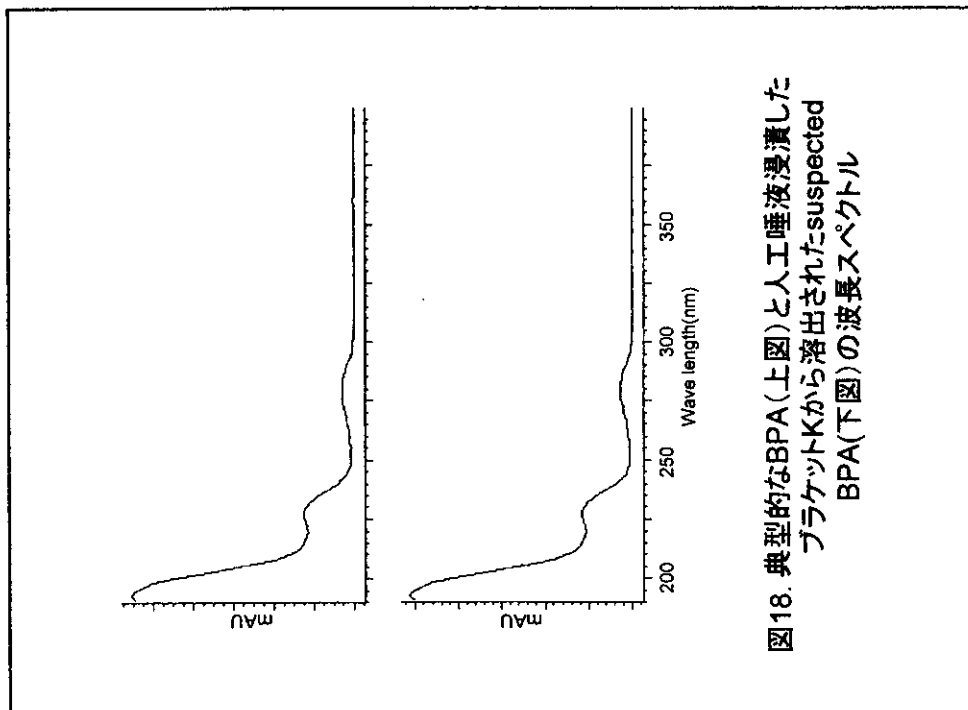


図18. 典型的なBPA(上図)と人工唾液浸漬した
プラスチックKから溶出されたsuspected
BPA(下図)の波長スペクトル

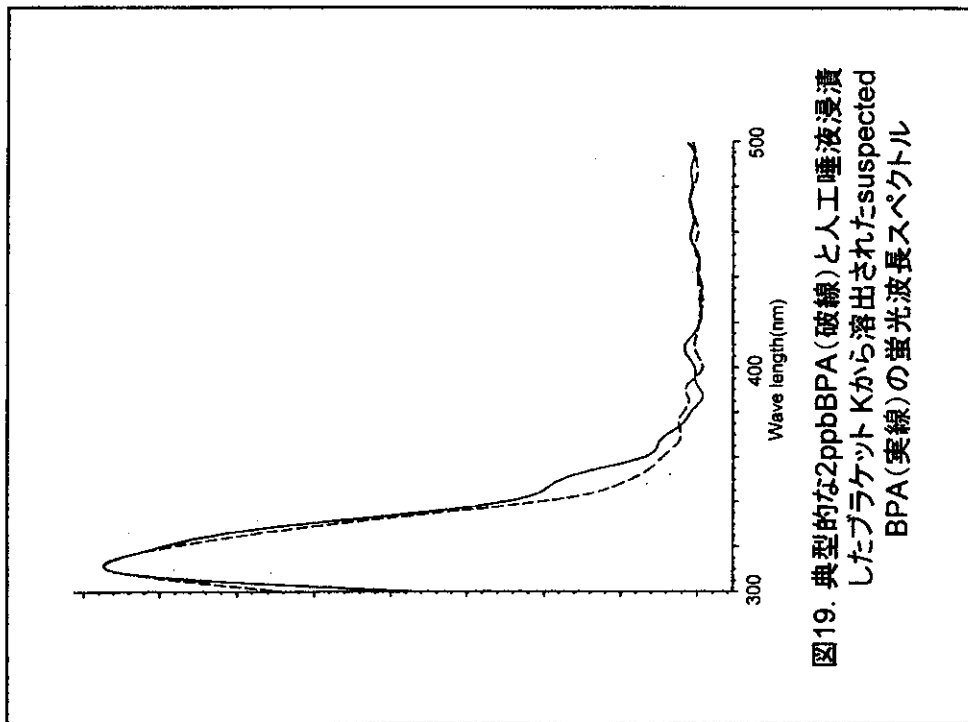


図19. 典型的な2ppbBPA(破線)と人工唾液浸漬
したプラスチックKから溶出されたsuspected
BPA(実線)の蛍光波長スペクトル

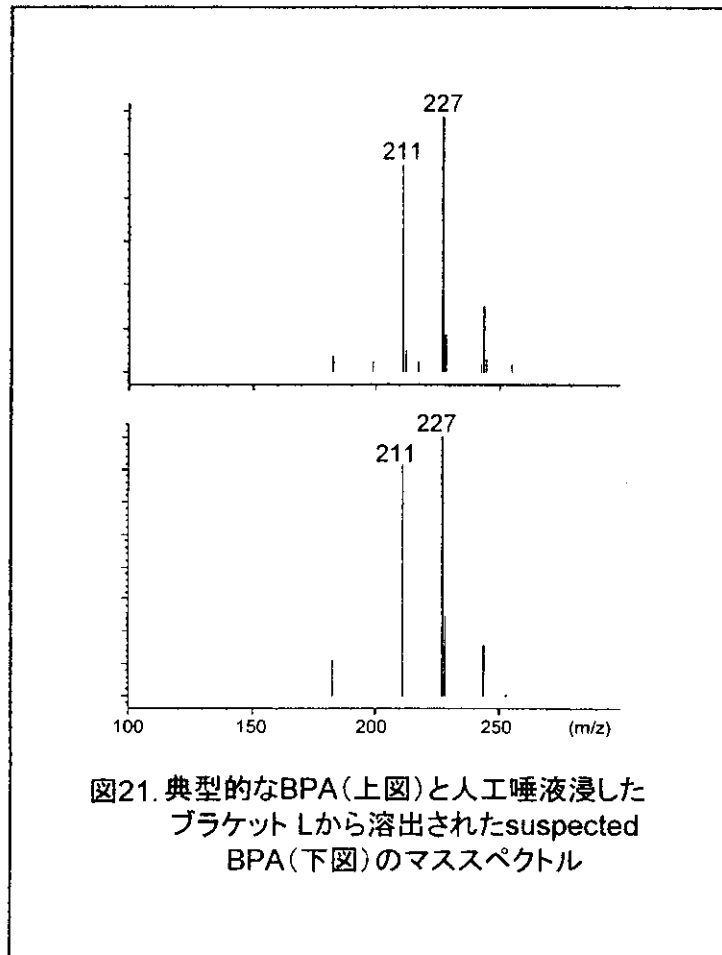
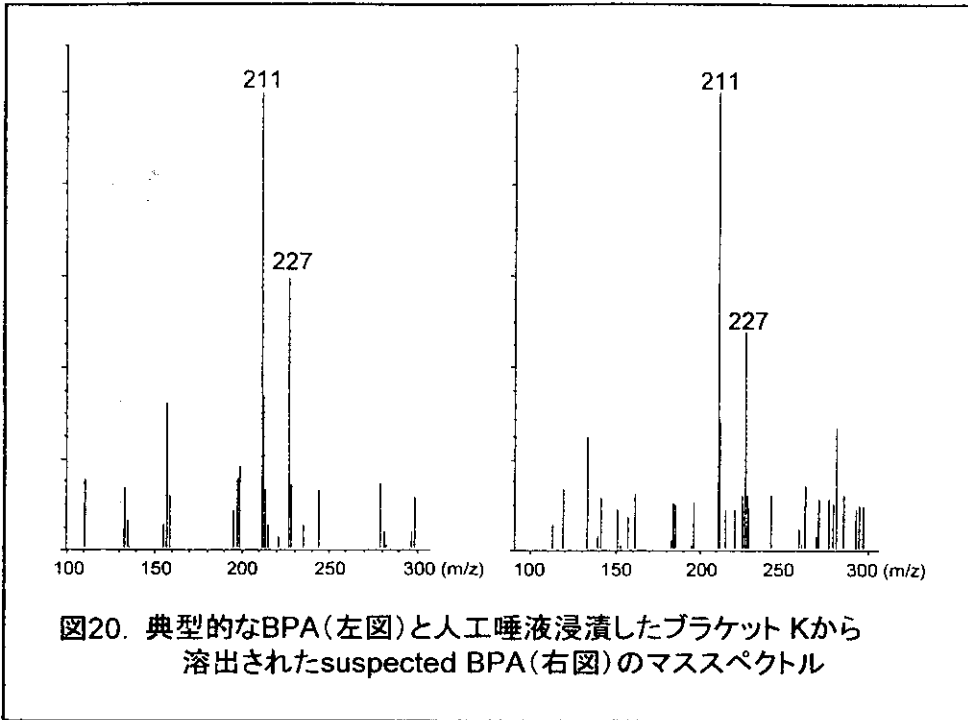


表1. 人工唾液に浸漬した歯科用レジン硬化体からの
ビスフェノールA溶出量

Materials	Leached BPA (ng/g resin)			
	7	14	21	28
Pit & Fissure Sealants				
A	11.0<	11.0<	11.0<	11.0<
B	10.6<	10.6<	10.6<	10.6<
C	10.5<	10.5<	10.5<	10.5<
D	7.7<	7.7<	7.7<	7.7<
Composite resins				
E	5.7<	5.7<	5.7<	5.7<
F	5.7<	5.7<	5.7<	5.7<
G	5.7<	5.7<	5.7<	5.7<
Bonding agents				
H	10.5<	10.5<	10.5<	10.5<
I	15.8<	15.8<	15.8<	15.8<
J	10.8<	10.8<	10.8<	10.8<

別添 3

厚生科学研究費補助金分担研究報告書

歯科材料中の分析

昭和大学 歯学部

佐藤 温重

厚生科学研究費補助金（医薬安全総合研究事業）
分担研究報告書

医療材料などにおけるエンドクリン阻害物質に関する研究
歯科材料中の分析

分担研究者 佐藤 温重 昭和大学歯学部歯科理工学教室・明倫短期大学 教授
共同研究者 本郷 敏雄 東京医科歯科大学歯学部歯科理工学第二講座 助教授
徳永 裕司 国立医薬品食品衛生研究所環境衛生化学部
宮崎 隆 昭和大学歯学部歯科理工学教室 教授

研究要旨

歯科材料中とくに市販裏層材に含まれると想定されるエンドクリン阻害物質の一つであるフタル酸エステルの含有量を明らかにする目的で、市販の裏層材10種の液及び粉末中のフタル酸エステルをガスクロマトグラフィーGC/MS/SIM、GC/MS/SCNにて分析した。9種の裏層材の液成分にはフタル酸ジ-n-ブチルが120-8500 μ g/g、フタル酸ジ-2-エチルヘキシル(微量)が検出された。その他に、Butylcarboboxyethyl phthalate(主成分)と考えられる成分および詳細構造不明なフタル酸エステルが検出された。フタル酸ジ-n-ブチルはエンドクリン阻害作用のほか発癌作用などがあり、使用条件における溶出量、生体作用などの調査が今後必要と考えられる。

A. 研究目的

歯科材料中に含まれると想定されているエンドクリン阻害物質にはBis-GMA及びポリカーボネイトの原材料であるビスフェノールA(以下BA)、可塑剤として添加されているフタル酸エステル類(PAES)、光重合レジンに添加されている紫外線吸収剤のベンゾフェノン等がある。これら化学物質のうちフィッシャーシーラント材から大量溶出する¹⁾と報告されたBAが最も注目され、歯科用レジン中の含有量、生体影響について多数の研究がなされている²⁾。本研究班においても歯科用レジンについて本郷³⁾が、プラスチック医療用具について配島⁴⁾が詳細に検討している。しかし、BA以外の化合物についての研究は少ない。本研究は歯科材料とくに裏層材に含まれている可塑剤のフタル酸エステル類に注目して調査

を行った。

B. 研究方法

1. 試料

下記に示す市販の裏層材10種(A~J:軟質無刺激性床裏装材、SOFT REVERSE, pink、旧製品、Lot WG NISSIN、軟質無刺激性床裏装材、SOFT REVERSE, pink新製品、Lot AA11-1、NISSIN、Soft denture relining material、SOFT-LINER、ティッシュコンディショナー新製品、Lot9912091、GC CORPORATION、Tissue treating and relining material、SOFT-LINER、ティッシュコンディショナー、旧製品、Lot40661、GC CORPORATION、Denture relining and rebasing、Soft type、旧製品、Lot1035、KAMEMIZU CHEM. IND. CO., LTD、Denture relining

and rebasing、 Soften, soft type、新製品、 Lot2506、 KAMEMIZU CHEM. IND. CO., LTD、

Tissue treatment, functional impression and temporary relining materials、 FIT SOFTER、新製品、 L.Lot. 3350057、 P.Lot. 335-164、 Sankin Industry Co., Ltd、 Dental soft resin for denture relining、 TISSUE TENDER soft type、旧製品 Lot. 2601、 KAMEMIZU CHEM. IND. CO., LTD、 Dental soft resin for denture relining、 TISSUE TENDER soft type、新製品、 Lot. 2607、 KAMEMIZU CHEM. IND. CO., LTD、 Tissue treatment、 TISSUE CONDITIONER、 SHOFU INC.) の液および粉末を分析対象とした。

2. 前処理方法

(1) 粉末

粉末試料100mgを秤量後、1mLのヘキサンにて溶出を行い(図1)、GC/MS測定用試料とした。

(2) 液

液状試料をヘキサンで希釈後(図2)、GC/MS測定用試料とした。

3. 測定方法

測定試料溶液10 μ LをGC/MSに注入し、下記条件で測定を行った。

(1) GC/MS/SIM測定時条件

質量分析計 : ThermoQuest Voyager
データ処理 : ThermoQuest Xcalibur
プレカラム : SUPELCO、Non-Polar Fused Silica 15m \times 0.53mm I.D.、
分析カラム : SGE社、BPX-5 25m \times 0.22mm I.D. \times 0.25 μ m Film
オートサンプラー : ThermoQuest AS 2000
ガスクロマトグラフ : ThermoQuest Trace2000 SERIES
注入方法 : Large Volume Injection (LVI)
注入量 : 10 μ L

カラム温度 : 60 $^{\circ}$ C(1min)---10 $^{\circ}$ C/min-300 $^{\circ}$ C(Hold for 10min)

キャリアーガス : He(流速 1.4mL/min)

インターフェース温度 : 280 $^{\circ}$ C

イオン化法 : EI

イオン化電圧 : 70eV

イオン源温度 : 250 $^{\circ}$ C

検出モード : SIM

定量イオン

測定対象物質	定量用イオン
フタル酸エステル類	149
アジピン酸ジ-2エチルヘキシル	129
シリンジスパイク物質	定量用イオン
フェナントレン-d10	188
フルオランテン-d10	212

(2) GC/MS/SCN測定時条件

走査範囲 : m/z 10~500

*その他の測定条件はGC/MS/SIM測定時に同じ。

C. 研究結果

1. 予備検討結果

粉末試料においては、フタル酸エステル類と考えられる成分は、新製品、旧製品双方において、検出下限値以下であった。

一方、液試料においては、主要成分はほぼ同一内容であると考えられ、新製品、旧製品とも同様なクロマトグラムパターンが確認された(図3)。新製品、旧製品双方から、フタル酸ジ-n-ブチル、フタル酸ジ-2-エチルヘキシル(微量)が検出された。その他に、Butylcarbutoxymethyl phthalate(主成分)と考えられる成分および詳細構造不明なフタル酸エステルが検出された。

2. 液試料中フタル酸エステル類の測定

ヘキサンにて希釈した液試料についてGC/MS測定を行った結果、試料B(図4)を除い

て全試料からフタル酸ジ-n-ブチルが検出された。検出された量は製品により差があった。試料Bにおいてもフタル酸ジ-n-ブチルは検出されたが、検量線最下限濃度 ($0.1 \mu\text{g}/\text{mL} = 0.1 \mu\text{g}/\mu\text{L}$ 液試料) 以下であったため、検出下限値以下とした。E、F および Jの3製品でフタル酸ジ-n-ブチルの含有量が多かった(表1)。また、その他に、フタル酸ジプロピル、フタル酸ジペンチル、フタル酸ベンジルブチル、フタル酸ジ-2-エチルヘキシルが全試料から、フタル酸ジエチルが試料A、B、C、D、E、F、G、Hから、フタル酸ジイソブチルが試料Jから検出されたが、いずれも検量線最下限濃度以下であったため、検出下限値以下とした。

D. 考察

調査した裏層材の粉末にはフタル酸エステル類は検出されなかったが、液成分はフタル酸エステル類を含み、とくに一部の製品では比較的多量に含んでいた。検出されたフタル酸エステル類はフタル酸ジ-n-ブチルの他に微量のフタル酸ジプロピルがあった。検出限界以下の極微量であったがフタル酸ジペンチン、フタル酸ジペンチル、フタル酸ベンジルブチル、フタル酸ジ-n-エチルヘキシル、フタル酸ジエチル、フタル酸ジイソブチルがあった。この他 Butylcarbutoxymethyl phthalate と構造不明のフタル酸エステルが検出された。これら2つの化合物のエンドクリン阻害作用については不明である。

フタル酸ジブチル、フタル酸ブチルベンジルは8種類のshort-term estrogenicity tests で結果が一致せず一部の試験でのみエストロゲン作用陽性を示す⁶⁾。フタル酸ジブチルはラットオス胎仔の生殖器発生に障害を与え、その作用機序として抗アンドロゲン作用はアンドロゲンレセプターを介する作用ではなくアンドロゲンシグナリングパスウェイに間接的障害を与えるといわれている⁶⁾⁷⁾。

DBP、ジイソブチルフタレートには発ガン

増強作用、免疫抑制作用がある⁸⁾。フタル酸ジブチルはモルモット腹部皮膚をもちいた *in vitro* 経皮吸収試験⁹⁾ において皮膚を透過することが知られており口腔粘膜からの吸収が推定される。

プラスチック医療用具、歯科用レジン等にはBA、DBP、ベンジルブチルフタレート、p-フェニルフェノールなど複数のエンドクリン阻害物質が含まれている。溶出試験でこれらの化合物は医療用具、歯科用レジンから溶出することが確認されており体内に吸収され生体にたいし累積的に作用する可能性がある。累積作用という観点からプラスチック医療用具、歯科用レジンのみならず環境中、食品中のエンドクリン阻害物質の体系的な検索が必要であると同時に複数の化学物質の累積作用を検索する試験系の開発が必要であろう¹⁰⁾。

E. 結論

市販の裏層材10製品に含まれるフタル酸エステル類について検索した。1製品ではDBPの含量は検出限以下であったが、その他9製品では種々の量 ($120-8500 \mu\text{g}/\text{g}$) のDBPが含まれていた。DBPは裏層材中に比較的多量含まれており、また臨床使用条件で経粘膜的に吸収される可能性がある。さらに発癌性物質の1つであり、安全性評価において注目しておくべきである。

参考文献

1) Olea N., et al. : Estrogenicity of resin-based composites and sealants used in dentistry, *Environ. Health Perspect.*, 104: 298-305, 1996.

2) 歯科器械調査研究委員会: 内分泌攪乱作用が疑われる・ビスフェノールAを主とする化学物質と歯科材料との関わりについて、*歯材器*, 18(4):302-331, 1999.