

Fig.4 Permeation of DEP after Treating with water and 10mM SDS for 2 hours at 32°C

DEPは約10.05~14.1時間 (n=6, 平均時間12.23時間) のLag timeの後から receptor側に現れ、時間の経過と共に直線的に増加することが明らかになった。同様に、10mM-BK溶液あるいは0.5% POE.OE溶液1.0mLで剥離皮膚を処理した後のDEPの剥離皮膚の透過を検討し、その結果をTable 1に示した。また、同時に、それらのLag timeも示した。

Table 1 Lag time and Flux of DEP after treating with surfactants

	Lag time (hr)	Flux (μ g/cm ² /hr)
Water	12.23	1.67
SDS(10mM)	13.67	3.17
BK(10mM)	9.66	2.91
POE.OE(0.5%)	12.00	1.84

また、同様に、DEPの皮膚透過実験(2)に従い、DEPの20%エタノール溶液およびDEPとSDSの混液1.0mLを用い、界面活性剤のSDSの存在下でのDEPの皮膚透過を検討し、その結果をFig.5に示した。

両者のLag timeは9.35~14.28時間 (n=6, 平均値12.37時間)であり、皮膚透過実験(1)の結果の平均値12.23時間との間に差はなかった。透過速度は1.04~3.15 μ g/cm²/hr (n=6, 平均値2.11 μ g/cm²/hr)であり、皮膚透過実験(1)での

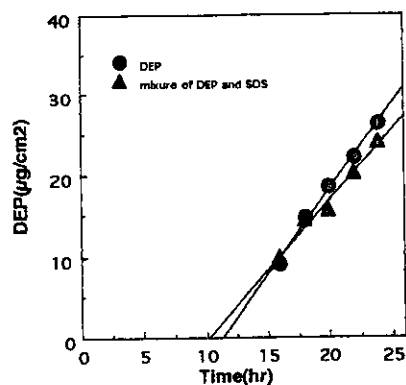


Fig.5 Permeation of DEP in 20% EtOH and the mixture of 10mM SDS

結果、1.42~2.09 μ g/cm²/hr (n=6, 平均値1.67 μ g/cm²/hr)の平均値に比べ小さいが、得られた剥離皮膚の部位差あるいは個体差によるものと考えられ、両者の間には統計的な差が認められなかった。それらの結果をBKあるいはPOE.OEの混在下での結果と合わせてTable 2に示した。

Table 2 Lag time and Flux of DEP with the Mixture of Surfactants

	Lag time (hr)	Flux (μ g/cm ² /hr)
Water	12.37	2.11
SDS(10mM)	10.10	1.73
BK(10mM)	14.29	2.23
POE.OE(0.5%)	12.56	2.10

D. 考察

モルモットの剥離皮膚を装着したFranz型拡散セルにDEPの20%エタノール溶液1mLをdonor側に添加したとき、使用したモルモットの個体差によるが、9.35~14.28時間(平均値12.37時間)のLag timeの後、DEPがreceptor側に透過することが明らかになった。著者らは、既に、防腐剤の一種であるメチルパラベン、サリチル酸及びエチルパラベンを用いて同様の実験を行っており、それらのLag timeは1~2時間と報告している。メチルパラベン、サリチル酸及

びエチルパラベンの $\log P$ (P は n -オクタノール/水への分配係数) は、それぞれ、1.945、0.988 及び 2.465²⁾ である。DEP の $\log P$ はエチルパラベンより大きいため、分配係数の違いが Lag time の違いとして現れていることが示唆された。皮膚透過には、polar pathway と non-polar pathway の二種類があると説明されている。Table 1 から得られた各種界面活性剤で処理した後の DEP の Flux を用いて考察してみた。DEP は疎水性が高いため、non-polar pathway の透過が仮定される。SDS 溶液、BK 溶液あるいは POE、OE 溶液で 2 時間処理した後の DEP の Flux は処理しなかったものに比べて Flux が増加しており、Flux の増加率は control に比べて、それぞれ、190%、174% 及び 110% であった。今回検討した 3 種類の界面活性剤は皮膚角質層の non-polar pathway に影響を与え、DEP の皮膚透過を増強させる方向に働き、SDS の場合が最も大きな影響を与えた。透過実験 (2) で示した界面活性剤が同時に存在した場合、SDS を使用したときに DEP の皮膚透過は低下し、その低下率は 82% であった。BK あるいは POE、OE の場合にはほとんど変化がなく、それぞれ、106 および 99% であった。DEP の溶解性が界面活性剤の SDS が存在することにより増加し、皮膚角質層への自然拡散が減少したことが示唆された。24 時間後の剥離皮膚 1 cm^2 当たりの DEP の累積透過量は、透過実験 (2) の場合、 $15.2 \sim 37.4\ \mu\text{g}/\text{cm}^2$ (平均値 $21.8\ \mu\text{g}/\text{cm}^2$) であった。

E. 結論

今年度の研究の結果、以下のことが明らかになった。

1. DEP の剥離皮膚を用いた経皮透過的な実

験に ODS カラム及び紫外吸光光度計を用いる液体クロマトグラフ法を確立することができた。

2. モルモットの腹部剥離皮膚を用いた DEP の皮膚透過実験 (2) では Lag time の平均値は 12.37 時間であり、Flux の平均値は $2.11\ \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{hr}$ であった。24 時間後の累積透過量は $21.8\ \mu\text{g}/\text{cm}^2$ であった。

3. 界面活性剤の SDS、BK あるいは POE、OE で処理された剥離皮膚での DEP の Flux は増加し、3 種類の界面活性剤が皮膚角質層の non-polar pathway に影響することが示唆された。

4. 3 種類の界面活性剤が DEP と混在した場合、SDS の場合にのみ影響が現れ、DEP の皮膚透過を減少させた。

F. 参考文献

- 1) N.R. Calfmeyer, B.B. Wolfson: Possible leaching of diethyl phthalate into levodopa sodium tablets, Am. J. Hosp. Phar., **48**, 735-739 (1991).
- 2) 徳永裕司、内野 正、安藤正典: エチルパラベンを透過指標物質とする界面活性剤のモルモットの剥離皮膚への影響、化粧品誌、**21**, 114-121 (1997).

G. 研究発表

1. 論文発表

徳永裕司、鄭 然孫、内野 正、安藤正典: ビスフェノール A の in vitro 経皮吸収に関する研究、粧技誌、投稿中

2. 学会発表

徳永裕司、鄭 然孫、内野 正、安藤正典: ビスフェノール A の in vitro 経皮吸収に関する研究、第 40 回日本化粧品技術者会研究討論会 (1999.6).

別添 1

厚生科学研究費補助金総合研究報告書概要

別添 1 厚生科学研究費補助金総合研究報告書概要

研究費の名称=厚生科学研究費補助金

研究事業名=医薬安全総合研究事業

研究課題名=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

国庫補助金精算所要額（円）=14,000,000

研究期間（西暦）=1998-1999

主任研究者名=佐藤 温重（昭和大学）

分担研究者名(所属施設名)=江馬 眞(国立医薬品食品衛生研究所大阪支所)、本郷敏雄(東京医科歯科大学)、配島由二(国立医薬品食品衛生研究所)、徳永裕司(国立医薬品食品衛生研究所)

研究目的=医療材料等に含まれると想定されるエンドクリン阻害物質のビスフェノールA (BA)、フタル酸エステル類(PAES)の含有量を把握し、その使用の際の溶出量、吸収量、曝露レベルにおける生体に対する作用を明確にすることは、リスク評価のために不可欠であるが、未だ明らかにされていない。そこで、1) フタル酸エステルの発生毒性及びその発現の感受期、2) 歯科材料中の BA 及び PAE の含有量の計測と BA の唾液、人工唾液への溶出量の計測、3) プラスチック医療用具の血液透析器中の BA の分析、BA の血清ほか溶媒への溶出量計測と血清擬似溶媒の開発、4) 化粧品、医薬部外品中の分析として爪化粧品の賦形剤のポリカーボネイト(PC)の出発物質の BA、及び化粧品の溶剤として使用されるフタル酸ジエチル(DEP)の経皮吸収と界面活性剤の影響について総合的に検討し、医療材料などの溶出試験基準及びリスク評価の基礎を確立することを試みた。

研究方法=1) フタル酸エステルの発生毒性：ジブチルフタレート(DBP)を0, 0.5, 1.0, 2.0%添加した飼料で妊娠11日 Wistar ラットを飼育し妊娠21日に着床数、生存及び死亡胎仔数、胎仔体重、肛門-生殖突起間距離(AGD)、AGD /胎仔体重比、精巣下降不全の有無を調べた。また、発生毒性感受期を調べるため、妊娠12-14日、妊娠15-17日または妊娠18-20日にDBPを500, 1000,または1500mg/kgを強制経口投与して、妊娠21日に開腹し、上述の発生異常を調べた。2) 歯科材料中の分析：旧ロット(12種)及び新ロット(10種)の歯科用レジン(径5mm 厚さ1mm)、PC製矯正用ブラケット2種の試料をメタノールで抽出し、BA含有量、及び各試料を無菌の人工唾液、唾液中に37℃、1-32週間浸漬し、BA溶出量を経過的に計測した。BAの定性定量は分光蛍光光度計を装着したHPLC及びLC/MSで行った。また裏装材10種の液および粉末中のPAESを定量した。液試料はヘキサンに溶解し、また粉末試料はヘキサンにて溶出してGC/MSにて測定を行った。

た。3) 市販プラスチック医療用具中の分析：市販の PC 及びポリスルホン (PS) 製血液透析器 4 種の原材料及び血液透析器を無蛍光水または血清 250ml で 16 時間循環したときの各溶媒中に溶出した BA を HPLC、GC/MS、LC/MS、NMR により計測した。また、牛血清循環時と同じ溶出量を与える擬似溶媒組成を検索するため 0, 5, 10, 15, 20 %エタノール/無蛍光水を血液透析器の中空系内外を 16 時間循環させた。循環溶媒を分取し減圧下で乾固させた後アセトニトリル/無蛍光水に溶解し HPLC で BA の分析を行った。

4) 化粧品、医薬部外品中の分析：ハートレー系雄性モルモットの腹部皮膚を剥離し、無処置または界面活性剤処理した後 Franz 型拡散セルに装着、donor 側に BA または DEP 溶液を単独または界面活性剤の 10 mMドデシル硫酸ナトリウム(SDS)溶液、10mM 塩化ベンザルコニウム(BK)溶液あるいは 0.5%ポリオキシエチレン 10 オレイルエーテル(POE・OE)溶液と共に加え、16-24 時間後に receptor 側に透過した BA または DEP を HPLC にて測定し、Flux を求めた。

結果と考察=1) フタル酸エステルの発生毒性：DBP を飼料中に加え妊娠 11 日ラットに反覆投与するとオス胎仔の精巣下降不全、AGD の短縮、AGD /胎仔体重比の低下が認められた。妊娠各期のラットに DBP を強制経口投与する実験から、オス胎仔における AGD の短縮及び精巣下降不全の発現の感受期は妊娠 15 - 17 日であることが明らかとなった。

(江馬分担) 2) 歯科材料中の分析：フィッシャーシーラント、コンポジットレジン、ボンディング材の旧ロット各製品の硬化体には BA が微量含まれていたが、新ロット製品では検出限界(0.5ng/g)以下であり、製品の安全化がメーカーによりなされていた。PC 製品の矯正用ブラケットには BA が微量含まれており、唾液または人工唾液 1-32 週間浸漬により BA が溶出し、12 週間の人工唾液への総溶出量は製品 K 及び L で $1.7 \pm 0.4 \mu\text{g/g}$ レジン及び $12.6 \pm 0.7 \mu\text{g/g}$ レジンであった。唾液中の BA 溶出量は人工唾液中のそれより 2 - 5 倍多かった。人工唾液への溶出量の経時的計測により 1 週間浸漬では、K で 202.7 ± 26.4 、L で $239.0 \pm 10.3\text{ng/g}$ レジン/1 週間であった。12 週間後には K と L でそれぞれ 1067.9 ± 46.0 、及び $11331.9 \pm 608.6\text{ng/g}$ レジン/1 週間となり、溶出量の著しい増加があった。このことは PC が水溶液中で加水分解することを示唆するものである。最大 32 歯にブラケットを装着したと仮定すると BA 溶出量は 12 週間で $7.3 \mu\text{g}$ であり、全量吸収されたと仮定しても体重当たりの摂取量は 4ng/kg/日 であり vom Saal らの報告している生殖異常惹起濃度 $2 \mu\text{g/kg}$ に比して低値である。裏装材 10 製品中 1 製品を除いて液試料にフタル酸ジ-n-ブチルが $120 - 8500 \mu\text{g/g}$ 、フタル酸ジ-2-エチルヘキシルが微量検出された。その他ブチルカルボトキシメチルフタレートと考えられる成分、詳細構造不明のフタル酸エステルが検出された。(佐藤分担) 3) プラスチック製医療用具の分析：市販の PC 及び PS 製血液透析器の原材料の PC ペレットの BA 含有量は $4.2-7.2 \mu\text{g/g}$ 、PS ペレットで $34.5 \mu\text{g/g}$ であった。血液透析器を無蛍光水または牛血清で循環すると BA が溶出する。BA の溶出量は循環溶媒で異なり牛血清循環で多かった。牛血清 16 時間循環の BA 溶出量は $140.7\text{ng/個} - 2.09 \mu\text{g/個}$ で製品により異なっていた。溶出試験からみた血液透析器からの BA 溶出量は米国環境保護庁が設定した一日摂取許容量相当値 0.05mg/kg/day に比し低値と考えられる。牛血清と同じ溶出量を与える溶媒について検索し 17.2 %エタノールが擬似溶媒となることが明らかとなった。17.2 %エタノールによる血液透析器からの BA

溶出量の定量分析では、前処理が不必要であり BA 溶出試験に有効である。4) 化粧品、医薬部外品中の分析：モルモット剥離皮膚を装着した Franz 型拡散セルでの検討の結果 BA 及び DEP の Flux は 1.9-6.9 μ g/cm²/hr 及び 1.04 ~ 3.15 μ g/cm²/hr であった。界面活性剤 SDS、BK、POE・OE で剥離皮膚を 2 時間処理した後の BA 及び DEP の皮膚透過 Flux は無処理皮膚の 100、160、120% 及び 190、174、110 % と変化した。また、BA 及び DEP の Flux は界面活性剤 SDS、BK、POE・OE が共存していた場合、それぞれ単独の 120、10、22% 及び 81.9、105.7、99% となり、BA、DEP の生体作用に対し可溶剤が影響することが明らかとなった。化粧品、医薬部外品によるエンドクリン阻害物質のリスクが示唆された。

結論= DBA は、妊娠ラットにおいてオス胎仔の生殖器発生に異常を惹起する作用があり、その作用発現の感受期は妊娠 15 - 17 日である。歯科用フィッシャーシーラント、コンポジットレジン、ボンディング材の旧ロット 12 製品には BA が微量含まれ、人工唾液浸漬により持続的に微量溶出していたが、新ロット 10 製品では BA が検出感度以下であり、製品の安全性が向上していた。PC 製矯正用ブラケット 2 製品には BA が微量含まれており、唾液及び人工唾液中に浸漬すると BA が溶出した。BA 溶出量は人工唾液中に長期間浸漬すると著しく増加し PC の水溶液中での加水分解が示唆された。市販裏装材の液成分には 10 製品中 1 製品を除き PAES が含まれ、その含有量は製品により異なっていた。PC 及び PS 製血液透析器を無蛍光水及び牛血清で循環すると BA が溶出する。溶出量は血清中で多い。17.2% エタノールは牛血清と同じ溶出量を与える疑似溶媒として、BA 溶出試験溶媒として適用できる。BA 及び DEP は、モルモット剥離皮膚を用いた透過試験で皮膚を透過する。皮膚を界面活性剤処理すると、透過量は増加する。以上の結果から、医療材料、歯科材料、化粧品などには BA、PAES が含まれており、体液中に溶出し、生体に吸収される可能性が示唆されたが、BA に関しては溶出量は微量であり、現在このレベルの溶出量では生体に対して毒性を示すという知見はない。PAES は、裏層材に比較的少量含まれる上、エンドクリン阻害作用の他、発ガン作用が知られており、今後の検討が必要である。医療材料などには複数のエンドクリン阻害物質が含まれており、それらの累積的作用に注目する必要がある。

別添 2

厚生科学研究費補助金総合研究報告書

厚生科学研究費補助金（医薬安全総合研究事業）
総合研究報告書

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

主任研究者 佐藤温重 昭和大学歯学部歯科理工学教室教授

研究要旨

医療材料などに含まれると想定されるエンドクリン阻害物質のリスク評価、溶出基準の基礎を確立するためジブチルフタレート（DBP）の生殖毒性、歯科材料、プラスチック製医療用具中のビスフェノールA（BA）、フタル酸エステル（PAE）含有量、溶出量、及び化粧品、医薬部外品中のBA、PAESの経皮吸収動態について総合的に研究した。PAEの一つであるフタル酸ジブチル(DBA)は、妊娠ラットに反覆投与することにより、オス胎仔の生殖器発生に異常を惹起する作用があり、その作用発現時期には感受期があり、ラット妊娠15～17日が高感受期であった。Bis-GMAを含有する歯科用コンポジットレジン、フィッシャーシーラント、ボンディング材の旧ロット10製品はBAを微量含有し、人工唾液に浸漬したとき浸漬液中にBAが微量溶出したが、新ロット10製品では人工唾液1～4週間の浸漬中におけるBA溶出量は検出限界以下であった。PC製矯正用ブラケット2製品はBAを微量含有し、人工唾液及び唾液中に浸漬すると微量のBAが溶出し、溶出量は唾液浸漬で人工唾液浸漬の2-5倍多かった。また溶出量は浸漬12及び32週後で著しく増加し(11331.9±608.6ng/gレジン)、PCの加水分解が示唆された。裏装材10製品の液体成分には1製品を除きPAEが120-8500 μ g/g含まれていた。PC及びPS製血液透析器原材料ペレットはBAを微量含有していた。透析器を水及び血清で循環すると、BAが循環溶媒中に溶出した。溶出量は血清循環で多く、0.14-2.09 μ g/個であった。17.2%エタノールは牛血清と同じ溶出量をあたえる疑似溶媒であった。BA及びフタル酸ジエチルは、モルモット剥離皮膚を用いた透過試験で皮膚を透過し、皮膚を界面活性剤処理すると、透過量は増加した。

医療材料などにはBA, PAEが含まれており、体液中に溶出し、また生体に経皮吸収される可能性が示唆されたが、BAに関しては含有量、溶出量は製品により異なるが微量であり、現在このレベルでは生体に対して毒性を示すという知見はない。PAEに関しては、裏層材中の含有量が比較的多い上エンドクリン阻害作用の他、発ガン作用が知られており、今後の検討が必要である。医療材料などには複数のエンドクリン阻害物質が含まれており、それらの累積的作用についての検討が重要である。

分担研究者

江馬 眞	国立医薬品食品衛生研究所大 阪支所生物試験部室長	配島由二	国立医薬品食品衛生研究所療 品部室長
本郷敏雄	東京医科歯科大学歯学部歯科 理工学第2講座助教授	徳永裕司	国立医薬品食品衛生研究所環 境衛生化学部室長

A. 研究目的

医療材料、化粧品、および医薬部外品の中に含まれると想定されるエンドクリン阻害物質にはビスフェノールA、フタル酸ジ-n-ブチル、フタル酸ジエチル、ベンゾフェノンなどがあり、それらが溶出し生体に吸収されることによる生体影響が懸念されている。医療材料などに含まれるエンドクリン阻害物質の量を把握し、その溶出量、吸収量、および曝露レベルにおける生体に対する作用を明確にすることは、医療材料などのリスク評価のために不可欠であるが、未だ明らかにされていない。本研究は4つの課題、すなわち1) フタル酸エステルの発生毒性、2) 歯科材料中の分析、3) プラスチック製医療用具中の分析、及び4) 化粧品、医薬部外品中の分析について総合的に研究した。

フタル酸エステル (PAE) の発生毒性に関しては、PAEが地球規模の環境汚染物質であり、そのエンドクリン阻害作用については世界的規模の研究が行われ実態が明らかになりつつある^{21, 22)}。発生毒性の詳細をin vivoで研究する重要性が高まっている。内分泌攪乱作用物質の評価法にはin vivo試験として2世代哺乳動物生殖毒性試験、齧歯類3日間子宮増殖アッセイ、齧歯類14日間非去勢成熟雄性アッセイなど、in vitro試験としてホルモン受容体結合試験、レポーター遺伝子アッセイ、MCF-1細胞を用いる方法などがある⁴⁾。本研究班では妊娠ラットにおける発生毒性及び発生毒性発現の感受期について検討した。

歯科材料中のエンドクリン阻害物質の量、溶出量については、Oleaら⁵⁾がBis-GMAを含むフィッシャーシーラント充填患者の唾液中にBAが溶出していることを報告したのを契機として多数の研究が行われている^{6), 7)}。一方これらの研究の基本となるBAの微量定量分析法については確立した分析法がない

現状である。そこで歯科材料中の分析においては各種分析法について検討したのち、試料のクリーンアップが不用で試料をそのまま分析できるHPLCに、必要な検出感度を得るため分光蛍光検出器を装着した分析法を用いて、歯科材料中のBA及びPAESの含有量およびそれらからのBAの溶出量の計測を行った。

医療用具中のエンドクリン阻害物質についての研究はなされていないので、プラスチック製医療用具の分析においては、分析法のバリデーションを行った上で血液透析器の原材料中のBA含有量、血液透析器を無蛍光水または牛血清を循環したときのBA溶出量ならびにBA溶出試験のための血清擬似溶媒の開発を行った。得られた歯科材料、医療用具からの溶出量をもとにリスクの評価を行った。

化粧品、医薬部外品中の分析に関しては、化粧品の賦形剤のポリカーボネイト (PC) の原材料であるBA及び爪化粧品の溶剤として用いられているPAESの経皮吸収と吸収に及ぼす界面活性剤の影響について検討した。

以上により医療材料などのエンドクリン阻害物質のリスク評価および溶出試験基準作成の基礎の確立を試みた。

B. 研究方法

1) フタル酸エステルの発生毒性：発生毒性を調べる実験では、各群11匹の確定妊娠11日Wistar系ラットに0.5、1.0または2.0%のジブチルフタレート (DBP) を含む飼料を、対照群にはDBP無添加飼料を与えた。妊娠21日目に開腹し、着床数、生存および死亡胎仔数、吸収胚数、胎仔体重、外表奇形発生頻度、骨奇形頻度、肛門-生殖突起間距離 (AGD)、AGD/胎仔体重比を調べた。感受期を調べる実験では、Wistarラットの妊娠12-14日、妊娠15-17日または妊娠18-20日にDBPを500、1000、または1500mg/kgを強制経口投与して、妊娠21日に開腹し、上記と同

様に生殖毒性を調べた。

2) 歯科材料中の分析: Bis-GMAを含む市販歯科用レジン(旧ロット) A1~K1すなわち光重合性フィッシャーシーラント3種(Teethmate、Concise1930W、HeliOSEal)、コンポジットレジン2種(Z100、Clearfil AP-X)、ボンディング材5種(Clearfil Liner Bond II Σ、Single Bond、Tokuso MAC、One step、Fluorobond)の各光重合体および歯科用レジン(新ロット) A2~J2すなわち光重合型フィッシャーシーラント4種〔Teethmate(Kuraray Co Ltd)、Concise light cure white sealant resin(3M Dental Products)、HeliOSEal(Vivadent)、Palfique light sealant(Tokuyama Corp.)〕、コンポジットレジン3種〔Z-100(3M Dental Products)、Clearfil AP-X(Kuraray Co Ltd)、Charisma(Heraeus Kulzer GmbH)〕、ボンディング材3種〔Clearfil Liner Bond II Σ Bond A(Kuraray Co Ltd)、Tokuso MAC II(Tokuyama Corp.)、Single Bond(3M Dental Products)〕、PC製矯正用ブラケット2種K、L〔Clear Bracket(Sunkin Kogyo)、Plastic Bracket(Tomy International)〕を材料とした。光重合レジンにはテフロン製リング(内径5mm、厚さ1mm)中に材料を挿入し、光照射(ラクスールで40,000ルクス)を2分間行い重合させた。

溶出試験はA1~L1及びA2~J2の各試料を1mlの人工唾液に37°C遮光下にて1-4週間浸漬した。ブラケット各試料を同様に人工唾液または唾液に1-32週間浸漬した。浸漬中のBAは分光蛍光光度計を装置したHPLC及びLC/MSにより定性定量した。

市販の裏装材10種A~J〔Soft Reverse旧ロット(Nissin)、Soft Reverse新ロット(Nissin)、Soft Reverse新ロット(GC Corporation)、Soft-Liner旧ロット(GC Corporation)、Soften旧ロット(Kamemizu Chem Ind Co Ltd)、Soften新ロット(Kamemizu Chem Ind Co Ltd)、Fit Softer新ロット(Sankin Ind

Co Ltd)、Tissue Tender旧ロット(Kamemizu Chem Ind Co Ltd)、Tissue Tender新ロット(Kamemizu Chem Ind Co Ltd)、Tissue Conditioner新ロット(Shofu Inc)〕の液および粉末中のフタル酸エステル類(PAES)を定量した。液試料はヘキサンに溶解しGC/MSで、また粉末試料はヘキサンにて溶出してGC/MSにて測定を行った。

3) 市販プラスチック医療用具中の分析: 市販PCおよびポリスルホン(PS)製血液透析器の原材料ペレット、ハウジング単体、血液透析器の充填RO水、血液透析器を250ml無蛍光水またはウシ血清(4倍希釈)で16時間循環後の無蛍光水または血清中のBAをHPLC、GC/MS、LC/MS、MNRで分析した。牛血清浸漬時と同じ溶出量を与える擬似溶媒組成を検索するため、0、5、10、15、20%エタノール/無蛍光水(250ml)を血液透析器(A社製II型)の中空糸内外に10ml/minの流速で16時間循環させた。循環溶媒25mlを分取し減圧下で乾固させた後アセトニトリル/無蛍光水に溶解したのちHPLCでBAの分析を行った。擬似溶媒の溶出能を確認するためA社製セルロース/PC製血液透析器I型、B社製PS/PC製血液透析器、C社製PS/ポリスチレン製血液透析器に循環させBAの回収量を牛血清のそれと比較した。

4) 化粧品、医薬部外品中の分析: BA及びフタル酸ジエチル(DEP)の経皮吸収試験を行った。ハートレー系雄性モルモットの腹部皮膚を剥離し、無処置または界面活性剤2時間処理後にFranz型拡散セルに装着、donor側に水、10mMドデシル硫酸ナトリウム(SDS)溶液、10mM塩酸ベンザルコニウム(BK)溶液あるいは0.5%ポリオキシエチレンオレイルエーテル(POE・OE)溶液を加え、receptor側に20%プロピレングリコール溶液を加え32°Cで2時間放置後、donor側の溶媒を除去、BA溶液(0.05w/v% 5%プロピレングリコール溶液)、DEP溶液(0.05% DEP 20%エ

タノール)を単独または界面活性剤10mMSDS、10mMBK、または0.5%POE・OEを混合してdoner側に加え、BAでは32°Cで14-24時間後に、DEPでは16-24時間後にreceptor側の溶液を0.2ml採取し、HPLCにてBAまたはDEPの測定を行った。

動物実験は国立医薬品食品衛生研究所動物倫理規定に従った。

C. 研究結果

1) フタル酸エステルの発生毒性：妊娠11日ラットに10日間、0.5、1.0、2.0%DBP添加飼料を投与すると、1.0%、2.0%投与群で母体重の増加が低下し、飼料摂取量も有意に低下した。0.5、1.0、2.0%投与群におけるDBP平均摂取量は331、555、661mg/kg/dayであった。DBP投与群の吸収胚数および死亡胎仔数、胚死亡率は対照群と差がなかった。オス胎仔のAGD及びAGD/胎仔体重比は1.0%および2.0%投与群で対照群に比し有意に短縮していた。メス胎仔のAGDにはDBP投与群と対照群との間に差がなかった。胎仔の外形奇形は対照群では認められなかったが、2.0%投与群では152胎仔中6例(主として口蓋裂)観察された。骨格奇形は2.0%投与群で101例中56胎仔に胸骨核癒合が観察された。外部奇形および骨格奇形はメス、オス胎仔に認められた。内部器官奇形としてオス胎仔の精巣下降不全が1.0%投与群で46胎仔中7例、2.0%投与群で51胎仔中27例観察された。DBPは妊娠後期ラットに10日間継続飼料中に混合して投与するとオス、メス胎仔の口蓋裂、胸骨核癒合発症率を上昇させ、オス胎仔に対し精巣下降不全、AGD短縮を惹起した。

DBPのオス胎仔に対する障害作用の感受期を調べるためDBPを妊娠各期のWistarラットに強制経口投与した。妊娠12-14日にDBPを投与すると母体体重増加及び摂取飼料量は対照群に比べ有意に低かった。1500mg/kg投与群における胎仔の精巣下降不全発現頻

度が有意に高かった。オス胎仔のAGDはわずかに短かかった。しかしAGD/胎仔体重比は変化しなかった。妊娠15-17日にDBPを投与したとき、DBP投与群で精巣下降不全の発現頻度は有意に高かった。1000及び1500mg/kg投与群におけるオス胎仔のAGDはメス胎仔のそれと同程度であった。しかしメス胎仔のAGDは投与群と対照群との間に差はなかった。妊娠18-20日にDBPを投与したとき、DBP投与群において精巣下降不全を有する胎仔は観察されなかった。DBP投与群のオス胎仔のAGDは有意に短かかったが、AGD/胎仔体重比は変化しなかった。オス胎仔におけるAGDの短縮及び精巣下降不全の発現の感受期は妊娠15-17日であることが明らかとなった。

2) 歯科材料中の分析：市販3種のフィッシャーシーラント旧ロット製品A1、B1、C1の光硬化体中のメタノール抽出によるBA量はB1、C1で 4.18 ± 0.38 、 5.78 ± 0.09 ng/mgレジンであった。A1に関してはBAが検出されなかった。

6種ボンディング材旧ロット製品F1、G1、H1、I1、J1、K1光重合体からBAが 4.40 ± 0.86 、 1.20 ± 0.15 、 3.39 ± 0.35 、 1.15 ± 0.21 ng/mgレジンおよび 3.58 ± 0.28 ng/ μ レジン検出された。Bis-GMAを含まないK1からは検出されなかった。

フィッシャーシーラントの硬化体試料を人工唾液中に1-169日浸漬したとき溶出したBA量は、1日、3日浸漬では検出限界以下であったが、7日ではB1、C1でBAの溶出が認められた。C1では7日間浸漬で 0.11 ± 0.02 ng/mgレジン、169日浸漬でも 0.73 ± 0.16 ng/mgレジン溶出していた。

2種のコンポジットレジン旧ロットの硬化体から人工唾液中へのBAの溶出が認められた。溶出量はE1試料の21日浸漬で 14.5 ± 0.4 pg/mgレジンであった。

ボンディング材F1、G1試料の21日浸漬で 14.5 ± 0.9 、 24.3 ± 2.8 pg/mgレジンの溶出

を認めた。唾液浸漬液中のBAのHPLCによる分析条件について検討し、移動相の成分比を58%蒸留水とするとBAのピークと唾液夾雑物のピークの分離ができた。

Bis-GMA含有歯科用レジン新ロット硬化体の人工唾液浸漬液中のBAはフィッシャーシーラントA2、B2、C2、D2で11.0、10.6、10.5、7.7ng/gレジン未満であった。コンポジットレジンE2、F2、G2ではいずれも5.7ng/gレジン未満、ボンディング材H2、I2、J2では10.5、15.8、10.8ng/gレジン未満であった。

PC製ブラケット新ロットの人工唾液1週間浸漬においてはBAの溶出があり、K、Lで 202.7 ± 26.4 、 239.0 ± 10.3 ng/gレジンであった。KにおけるBA溶出量は2、3週と経過的に減少したが、Lでは増加していた。12週間浸漬ではBA量はK、Lでそれぞれ 1067.9 ± 46.0 、 11331.9 ± 608.6 ng/gレジンといずれも顕著に増加した。

PC製ブラケットを唾液に浸漬した場合、1週間浸漬でKでは 207.1 ± 9.3 、Lでは 2101.6 ± 84.9 ng/gレジンで人工唾液浸漬と比較してKでは差がないが、Lでは9倍高い値を示した。唾液浸漬では人工唾液浸漬に比べBAが溶出しやすいことが示唆された。

裏装材10製品中の液試料からフタル酸-n-ブチルが検出された。試料Bでは検出下限以下の濃度であったが、その他A、C～Jからは120～8500 μ g/g検出された。3製品で含有量が多かった。またフタル酸ジ-2-エチルヘキシルが微量検出された。その他ブチルカルボトキシメチルフタレートと考えられる成分、詳細構造不明のフタル酸エステルが検出された。粉末試料からPAESは検出されなかった。

3) プラスチック製医療用具の分析：PC製およびPS製血液透析器4種の原材料となるPCペレット2種には、 4.0μ g/gおよび 7.2μ g/g BAが、PSペレットには 34.5μ g/gのBAが含

まれていた。血液透析器から中空糸とポリウレタン製サポート部分を除いたハウジング単体の無蛍光水100ml、16時間抽出において11.7ng/個（抽出液中濃度117.4ppt）、13.7ng/個（抽出液中濃度137.2ppt）、メタノール抽出において296ng/個（抽出液中濃度2.96ppb）、345ng/個（抽出液中濃度3.45ppb）であった。A社製とB社製血液透析器に充填されているRO水中にBAがA社製I型に11.7ppt、B社製に31.1ppt検出された。C社製の充填水中のBAは検出限界以下であった。

血液透析器の水循環水（250ml、16時間）中にはA社製I型、II型、B社製およびC社製でそれぞれ137.2ppt（34.3ng/個）、567.1ppt（141.8ng/個）、124.0ppt（31.0ng/個）および15.2ppt（3.78ng/個）検出された。また血液透析器の循環血清（250ml、16時間）中には784.2ppt（196.1ng/個）、8.35ppb（2.09 μ g/個）、4.04ppb（1.01 μ g/個）および562.7ppt（140.7ng/個）のBAが検出された。

分析法のバリデーションをFUMI理論により行った。HPLCにおけるUV検出と蛍光検出は95%信頼区間が狭く、信頼度の高い分析が可能である。GC/MS法では注入誤差のため95%信頼区間が広い。くり返し測定値から求めた実験値のRSDとFUMI理論から求めたRSDとの比較によりUV検出、蛍光検出、GC/MSのいずれの方法においても理論値と実験値とはよく一致している。測定精度が33%RSDとなる濃度を検出限界とするとUV検出16.0ppb、蛍光検出0.65ppb、GC/MS0.16ppbとなる。このことは検出限界付近における検出ではGC/MSの分析精度が最も高いことを示している。定量下限を10%RSDとすると、UV検出、蛍光検出、GC/MSの各定量限界はそれぞれ48.0ppb、2.0ppb、1.9ppbとなる。なお、この計算には注入誤差は入っていない。サンプル濃度が20-100ppbではGC/MS法より蛍光法の方が精度がよい。

これは注入誤差があるためである。UV検出の精度はGC/MSと同等かあるいはそれ以下である。しかし、1 ppb以下（限界付近）ではGC/MSの方が蛍光検出より高い精度である。この濃度ではUV検出では検出不可能である。

市販のPS/PC製血液透析器の溶出試験のために種々濃度のエタノールを循環するとエタノールの濃度の上昇にともないBA回収量が増加する傾向が認められ0, 5, 10, 15, および20%エタノール溶液でそれぞれ141.8, 479.7, 866.4, 1423.4, および3060.9ng/個のBAが回収された。その結果牛血清と同じ溶出量を与える擬似溶媒は17.2%エタノールであるとが判明した。17.2%エタノールにより血液透析器からのBA溶出量の定量分析では、前処理が不必要であることも明らかになった。また他の血液透析器に適用した場合B社製PS/PC製血液透析器から986.4ng/個回収され、牛血清循環と疑似溶媒循環の間に良好な相関関係が認められた。17.2%エタノール溶液を用いてA社製セルロース/PC製血液透析器I型、およびC社製PS/ポリスチレン製血液透析器からそれぞれ173.8個及び153.3ng/個のBAが回収され、本溶液は中空糸またはハウジングが異なる材質から構成されている血液透析器の溶出試験にも適用できることが明らかとなった。

4) 化粧品、医薬部外品中の分析：化粧品、医薬部外品中に含まれるBA及びDEPの経皮吸収と吸収に及ぼす化粧品、医薬部外品の界面活性剤（可溶化剤）の影響についてモルモット剥離皮膚を装着したFranz型拡散セルでの検討の結果、BAは約7-12時間のLag timeの後、拡散セルのreceptor側に移行し、Fluxは1.9-6.9 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{hr}$ （平均3.7 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{hr}$ ）であった。24時間後の累積透過量は30-102 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ （平均51 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ）であった。界面活性剤が共存するとLag timeには変化はみられなかったが、BAのFluxは変化し10m

MSDS共存では5.02 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{hr}$ （対照群4.05 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{hr}$ ）と増大したが、10mMBK共存では0.75 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{hr}$ （対照群6.93 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{hr}$ ）、0.5%POE・OE共存では0.73 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{hr}$ （対照群3.25 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{hr}$ ）とFluxが著しく抑制された。皮膚を界面活性剤で2時間処理した後のBAのFluxは増加した。

DEPは9.35~14.28時間のlag timeの後、皮膚を透過し、Fluxは1.04~3.15 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{hr}$ であった。界面活性剤SDS、BK、POE・OEで剥離皮膚を2時間処理した後のDEPの皮膚透過Fluxは無処理皮膚の190%、174%及び110%と増加した。また、DEPのFluxはSDS、BK、POE・OEが共存していた場合、それぞれ81.9%、105.7%、99%となり、SDS共存ではDEP透過が低下することが明らかとなった。

D. 考察

DBPは、0.5%添加飼料の反覆投与では生殖毒性を認めなかったが、2.0%飼料投与群でメス、オス胎仔における口蓋裂などの奇形発現頻度の上昇、また1.0%及び2.0%飼料群（555及び661mg/kg）でオス胎児の精巣下降不全率の上昇、AGDの短縮が認められた。DBPのオス胎仔への発生毒性の検索において、感受期を明らかにすることが重要である。既にMylchreestら¹⁰⁾はDBPのsensitive windowは妊娠12-21日と報告しているが詳細は不明である。本研究においては、オス生殖器官に対する影響を明確にするため比較的高い投与量のDBPを妊娠各期のラットに投与した。妊娠12-14日及び18-20日におけるDBP投与ではオス胎仔のAGDの短縮はわずかであり外見上メス胎仔との識別が可能であったが、妊娠15-17日におけるDBP投与ではAGDの短縮は著しく、外見上メス胎仔との識別が困難であった。AGDは体重によって変化すると考えられるので、AGD/胎仔体重比から検討した。AGD/胎仔体重比は妊娠12-14日及び18-20日の投与では低下は認められなかったことから妊娠12-14日及び18-20日でのDBP投与

ではオス胎仔のAGDに影響しないものと考えられた。これに対し妊娠15-17日におけるDBP500mg/kg以上の投与ではAGDの有意の低下が認められ、また精巣下降不全が高頻度で観察され、妊娠15-17日が臨界期であることが示された。

オスの表現型の決定要因はテストステロン及びジヒドロテストステロンなどアンドロゲンである。出生前の精巣下降はテストステロンに調節され、外部生殖器の男性化はジヒドロテストステロンに依存している。これらの過程が妊娠15-17日のDBP投与により強く影響を受けるものと考えられる。DBPの作用機序については十分解明されていないが、DBPはアンドロゲンレセプターを介した作用ではなく、アンドロゲンシグナルパスウェイを間接的に障害することによって起こると考えられている。DBPはアンドロゲンにより調節される性分化を攪乱するか、またはDBPがアンドロゲンレセプターの拮抗剤として作用する可能性がある。

DBPのエストロゲン活性は酵母法によると 17β エストラジオールを100としたとき、DBPは0である。また、マウス子宮重量法によると5ng 17β エストラジオール投与後4日の子宮重量/体重は0.172であるのに対し、DBP5mg投与では0.091であり、投与前と同一である。一方ニジマスのエストロゲンレセプターへの 17β エストラジオール結合に対してDBPは $10^{-6}\sim 10^{-3}$ Mという濃度で抑制し、DBPはエストロゲンレセプターと結合する。

市販のBis-GMA含有歯科用フィッシャーシーラント、コンポジットレジン、ボンディング材の旧ロット製品の中にはBAが $3.39\pm 0.35\sim 12.82\pm 2.18$ ng/mgレジン¹¹検出された。またこれらの硬化体及びPC製ブラケットを人工唾液中浸漬するとBAが微量溶出した溶出量は、フィッシャーシーラント14日間浸漬で 0.19 ± 0.05 、コンポジットレジン21日間浸漬で $0.02\pm 0.00\sim 0.18\pm 0.01$ 、ブラケットでは7日間浸漬で 0.12 ± 0.01 ng/gレジン¹²で

あった。これら試料中のBAの含有量、溶出量は製品より異なるが、いずれも極めて微量であり、Bis-GMA中の夾雑物に由来するものと考えられた。

Bis-GMAを含む歯科用レジン10製品の新しいロットの硬化体では人工唾液浸漬によるBAの溶出は検出限界以下であり、歯科用レジンの安全性が向上したといえる。PC製矯正用ブラケットの人工唾液、唾液浸漬でBAの溶出が認められた。BA溶出量の経時的計測で持続的に溶出が認められるが、特に12及び32週に溶出量が著しく増加することが見出されたことは、PCが生体内環境で加水分解する可能性を示唆するものとして注目される。しかし、12週間のBA総溶出量は製品により異なるが、 $1.7\mu\text{g/gレジン}$ あるいは $12.6\mu\text{g/gレジン}$ であり、微量である。全歯にブラケットを装着(PC560mg相当)し、溶出BAがすべて吸収されたと仮定しても小児体重当たりの摂取量は $4\text{ng}/10\text{g}/\text{日}$ であり vom Saal¹³の報告している生殖異常をきたす量 $2\mu\text{g}/\text{kg}$ と比して低値である。低用量のBAの生殖毒性についての研究は不十分であり、ブラケットによる生体為害性の有無については現時点で断定できない。

裏層材中に比較的多量のPAESが検出されたが、PAESはエンドクリン阻害作用のほか発ガン作用を有する物質であり¹⁴、より詳細な研究が必要である。

PC及びPS製血液透析器の原材料にBAが含まれていた。牛血清、無蛍光水等を溶媒とした血液透析器循環において、いずれの透析器からもBAが溶出した。しかし溶出量は極めて微量で、250ml血清16時間循環におけるBA溶出量は $140.7\text{ng}/\text{個}$ (567.2ppt) $\sim 2.09\mu\text{g}/\text{個}$ (8.35ppb)で製品によって異なっていた。血清循環時に溶出する量は無蛍光水循環時に溶出する量に比較して多い。溶出試験において溶媒の選択が重要であることを示している。溶出溶媒として血液透析器の場合血清が理想的であるが分析に困難を

伴うので、血清と同等の溶出を示す血清疑似溶媒の開発が必要である。本研究により開発された疑似溶媒である17.2%エタノール無蛍光水系はBA分析の試料の前処理不用で低コストである。

BAのモルモット剥離皮膚を用いた経皮透過実験においてBA及びDEPは皮膚を透過し、その透過量が皮膚を界面活性剤処理あるいはBAまたはDEPと界面活性剤と混合した条件下で変化したことは、エンドクリン阻害物質の生体作用を検討する上で化粧品等に含まれる界面活性剤に注目する必要があることを示唆するものである。

医療材料などのエンドクリン阻害物質の溶出規準、リスク評価には、曝露量に影響する要因である医療材料等における含有量、溶出量、吸収量、代謝排泄量、体内蓄積量、乳汁中分泌量、経胎盤性ならびに生体の感受性（性差、年齢差、個体差など）を考慮した総合的判断が必要である。

本研究で明らかにされた歯科材料、血液透析器に含まれるBA量および体液等への溶出量は微量である。¹⁴CBAを用いた体内動態研究で800mg/kgをオスラットに投与したとき、投与1日後で投与した¹⁴Cの28%が尿中に、56%が糞中に排泄され、投与8日後に体内に¹⁴Cの残留を認めない¹³⁾。BAのエストロゲン受容体への結合能は17βエストラジオールの $10^{-3} \sim 10^{-4}$ 倍である¹⁴⁾。ラット母親を妊娠2日から21日までBAを0.005～50mg/L飲料水中に投与したとき5～50mg/L群で母乳へのBAの分泌を認めたが、母ラットにエストロゲン作用、メス出生仔の性成熟、性周期、下垂体-視床下部による制御に影響がない^{15) 16)}。以上のように本研究で明らかとなった医療材料等に含まれるBA量によってヒトに重大な障害を与えるという知見はない。しかしエンドクリン阻害物質は微量であっても作用を引き起こすという指摘があり、詳細な検討が必要である。裏層材中には比較的多量にPAESが含まれてい

る。PAESはオス胎仔の生殖異常惹起作用の他発癌性があり、今後リスク評価が必要である。

E. 結論

PAESの一つのDBAは、妊娠ラットに反覆投与することにより、オス胎仔の生殖器発生に異常を惹起する作用がある。その作用発現時期には感受期があり、ラット妊娠15～17日が高感受期であった。

Bio-GMAを含有する歯科用コンポジットレジジン、フィッシャーシーラント、ボンディング材の旧ロット製品にはBAが微量含まれ、人工唾液浸漬により溶出する。しかし新ロットの10製品で作成した硬化体の人工唾液浸漬でのBA溶出量は検出限界（0.5ng/ml）以下であった。PC製矯正用ブラケット2種にはBAが微量含まれており、人工唾液中に溶出した。その溶出量は12週及び32週後に著しく増加し、PCの加水分解を示唆する。12週間浸漬時の総溶出量は 1.7 ± 0.4 、 $12.6 \pm 0.7 \mu\text{g/g}$ レジジンであった。市販製品の裏装材には1製品を除いてPAESが $120 \sim 8500 \mu\text{g/g}$ 含まれていた。

PC及びPS製血液透析器を水及び血清で循環すると、BAが循環溶媒中に溶出した。17.2%エタノールは血清と同じBA溶出量が得られ、溶出試験の疑似溶媒として使用することができた。

BA及びPDBは、モルモット剥離皮膚を用いた透過試験で皮膚を透過した。透過量は皮膚を表面活性剤処理すると増加した。

以上により、医療材料などにはBA、PAEが含まれており、体液中に溶出し、また生体に吸収される可能性が示唆されたが、含有量、溶出量は微量であり、BAに関しては、現在このレベルでは生体に対して毒性を示すという知見はない。米国環境保護庁が設定したBAの一日摂取許容量相当値0.05mg/kg/dayあるいはvan Saalらの生殖異常をきたす最小量（ $2 \mu\text{g/g}$ ）を考慮すると、現段階

ではBis-GMA含有歯科材料、およびPCまたはPS製の血液透析器の使用による重大な障害はないと考えられる。しかし微量であっても作用を引き起こすという指摘があり、詳細な検討が必要である。PAEは、エンドクリン阻害作用の他、発ガン作用が知られており、PAESを含む医療材料などについて今後の検討が必要である。医療材料などには複数のエンドクリン阻害物質が含まれており、それらの累積的作用に注目する必要がある。

F. 研究発表

1. 論文発表

Ema, M., Miyawaki, E. and Kawashima, K. : Reproductive effects of butyl benzyl phthalate in pregnant and pseudopregnant rats. *Reprod. Toxicol.*, 12, 127-132, 1998

Ema, M., Miyawaki, E. and Kawashima, K. : Further evaluation of developmental toxicity of di-n-butylphthalate following administration during late pregnancy in rats. *Toxicol. Lett.*, 98, 87-93, 1998

長谷川隆一, 広瀬明雄, 紅林秀雄, 江馬眞, 黒川雄二 : ジクロロ酢酸の毒性評価と経口摂取による耐用1日摂取量の算定, 水環境学会誌, 22, 821-826 1999.

Ema, M., Miyawaki, E. and Kawashima, K. : Developmental effects of plasticizer butyl benzyl phthalate after a single administration in rats. *J. Appl. Toxicol.*, 19, 357-365 1999.

Ema, M., Miyawaki, E. and Kawashima, K. : Adverse effects of diphenyltin dichloride on initiation and maintenance of pregnancy in rats. *Toxicol. Lett.*, 108, 17

-25, 1999.

Ema, M., Miyawaki, E. and Kawashima, K. : Suppression of uterine decidualization as a cause of implantation failure induced by triphenyltin chloride in rats. *Arch. Toxicol.*, 73, 175-179, 1999.

Ema, M., Miyawaki, E. and Kawashima, K. : Developmental toxicity of triphenyltin chloride after administration on three consecutive days during organogenesis in rats. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 62, 363-370, 1999.

Ema, M., Miyawaki, E. and Kawashima, K. : Critical period for adverse effects on development of reproductive system in male offspring of rats given di-n-butyl phthalate during late pregnancy. *Toxicol. Lett.*, 111, 271-278, 2000.

Ema, M., Miyawaki, E. and Kawashima, K. : Effects of dibutyl phthalate on reproductive function in pregnant and pseudopregnant rats. *Reprod. Toxicol.* (in press).

徳永裕司, 鄭然孫, 内野正, 安藤正典 : ビスフェノールAのin vitro経皮吸収に関する研究, 粧技誌, 投稿中

2. 学会発表

江馬 眞、宮脇英美子、川島邦夫 : 可塑剤 butyl benzyl phthalate の妊娠及び偽妊娠ラットにおける生殖障害. 第25回日本トキシコロジー学会

江馬 眞、宮脇英美子、川島邦夫 : ラットの妊娠後半に投与したdibutyl phthalate の発生毒性. 第38回日本先天異常学会

本郷敏雄 他：蛍光による歯科用レジンの高感度分析法. 歯材器、17 (SI. 32) : 19、1998

本郷敏雄 他：プライマー、ボンディング材成分のHPLCによる同定. 日歯保誌、41, 36、1998

本郷敏雄ら：歯科用レジンの高感度分析法. 歯科材料器械、18 (S. I、34) 1999.

矢島功ら：歯科用ポリカーボネイト中のビスフェノールA. 日本内分泌攪乱化学物質学会、第2回研究発表会要旨集、P、27、1999.

配島由二, 矢上健, 林譲, 松田りえ子, 中村晃忠：ポリカーボネイトおよびポリスルホン製血液透析器からのビスフェノールAの溶出, 日本薬学会第119年会1999. 6

Ema, M., Miyawaki, E. Kawashima, K. : Early embryonic loss induced diphenyltin dichloride (DPTCl) in rats. The 38th Annual Meeting of Society of Toxicology.

参考文献

1) Illinois Environment Protection Agency (1997) : Illinois EPA Endocrine Disruptors Strategy.

2) Ema, M. et al. (1994) : Characterization of the developmental toxicology of di-n-butyl phthalate in rats, Toxicology, 86, 163-174.

3) Gray, L. E. et al. (1998) : Dibutyl phthalate (DBP) induces antiandrogenic but not estrogenic in vivo effects in L

E hooded rats, Toxicologist, 42, 176.

4) 井上達, Kyung-Sun Kaug (1998) : 内分泌攪乱化学物質—作用の特徴と試験法, The Journal Toxicological Science, 23(5), App. 191-199.

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

6) 歯科器械調査研究委員会 (1999) : 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、歯科材料・器械、18(4), 302-331.

7) Nathanson D., et al. (1997) : In vitro elution of leachable components from dental sealants, JADA, 128, 1517-1523.

8) Hamid A. and Hume W. R. (1997) : A study of component release from resin pit and fissure sealants in vitro, Dent. Master., 13, 98-102.

9) Spahl W., et al. (1998) : Determination of leachable components from four commercial dental composites by gas and liquid chromatography/mass spectrometry, J. Dentistry, 26, 137-145.

10) Mylchreest, E., et al. (1998) : Di(n-butyl)phthalate disrupts prenatal androgen-regulated male reproductive development in a manner different from flutamide, Toxicologist, 42, 176.

11) Kleinsasser, N. H. et al. (2000) : Comparing the genotoxic sensitivities of

human peripheral blood lymphocytes and mucosa cells of upper aerodigestive tract using the Comet assays, *Mutat. Res.*, 467(1), 21-30.

12) vom Saal, F.S. et al. (1998) : A physiologically based approach to the study of bisphenol A and other estrogenic chemicals on the size of reproductive organs, daily sperm production, and behavior, *Toxicol. Ind. Health*, 14, 239-260.

13) Knaak J.B. and Sullivan L.J. (1966) : Metabolism of bisphenol A in the rat, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 8, 175-184.

14) Nagel, S.C. et al. (1997) : Relative binding affinity-serum modified access (RBA-SMA) assay predicts the relative in vivo bioactivity of the xenoestrogens bisphenol A and octylphenol, *Environ. Health Perspect.*, 104, 70-76.

15) Gould J.C., et al. (1998) : Maternal effects and secretion into milk of low doses of bisphenol A given to rats via drinking water, SOT Annual Meeting, No. 866.

16) Liaw I.J., et al. (1998) : Reproductive development on female rats prenatally and lactationally exposed to bisphenol A, SOT Annual Meeting, No. 867.

19990733

これ以降「p97-p137」は雑誌/図書等に掲載された論文となりますので、「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。

「研究成果の刊行に関する一覧表」

Ema M, Miyawaki E, Kawashima K, **Further evaluation of developmental toxicity of di-*n*-butyl phthalate following administration during late pregnancy in rats.** Toxicology Letters. 1998; 98: 87-93

Ema M, Miyawaki E, Kawashima K, **Reproductive effects of butyl benzyl phthalate in pregnant and pseudopregnant rats.** Reproductive Toxicology. 1998; 12:127-132

Ema M, Miyawaki E, Kawashima K, **Developmental effects of plasticizer butyl benzyl phthalate after a single administration in rats.** J Appl Toxicol. 1999; 19: 357-365

Ema M, Miyawaki E, Kawashima K. **Critical period for adverse effects on development of reproductive system in male offspring of rats given di-*n*-butyl phthalate during late pregnancy.** Toxicology Letters. 2000; 111: 271-278

Ema M, Miyawaki E, Kawashima K. **Effects of dibutyl phthalate on reproductive function in pregnant and pseudopregnant rats.** Reproductive Toxicology. 2000; 14: 000-000