

表1 界面活性剤を使用している代表的な薬剤

薬剤名	薬効分類	使用界面活性剤・可溶化剤
シクロスポリン	免疫抑制剤	ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油
タクロリムス	免疫抑制剤	ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油60
ミコナゾール	深在性真菌症治療剤	ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油60
パクリタキセル	抗悪性腫瘍剤	ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油
エノシタピン	抗悪性腫瘍剤	ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油60
エトポシド	抗悪性腫瘍剤	ポリソルベート80
アルプロスタジル	血小板凝集抑制剤	レシチン
脂肪乳剤	静注用脂肪乳剤	レシチン、ダイズ油

表2 添付文書でDEHP溶出を注意する薬剤例

薬効分類	薬剤名	商品名	製造 or 販売元
免疫抑制剤	シクロスポリン	サンディミュン注射液	チバ・ガイボル/ハルティス
抗悪性腫瘍剤	パクリタキセル	タキソール注	ブリストル・マイヤーズ・スクイブ
抗悪性腫瘍剤	エノシタピン	注射用サンラピン	旭化成
抗悪性腫瘍剤	エトポシド	ラステッド注	日本化薬
		ベプシド注	ブリストル・マイヤーズ・スクイブ
静注用脂肪乳剤	脂肪乳剤	イントラリピッド	大塚製薬
		イントラファット	日本製薬/武田
		イントラリポス	ウエルファイド

表3 「フロリードF注」添付文書（抜粋）

【組成・性状】		
1. 組成		
本剤は1管（20mL）中に下記の成分を含む。		
成 分		含 量
有効成分	日局 ミコナゾール	200mg
添加物	ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油 60	2g
以下省略		
【用法・用量】		
点滴静注		
本剤を、ミコナゾールとして200mgあたり200mL以上の生理食塩液又は5%ブドウ糖注射液で期初空くし、通常、成人にはミコナゾールとして初回200mgより開始し、以後1回200mg～400mgを1日1～3回、30～60分以上かけて点滴静注する。		
以下省略		

表4 実験に供した医療用具類一覧

医療用具類	商品名	品番	製造元等	主材料
生理食塩水	テルモ生食 100mL	TP-A01NS	テルモ	ポリチレン
輸液セット	テルフュージョン輸液セット	TS-A450PK	テルモ	塩ビ樹脂
	ニプロ輸液セット	IS-1C1 00	ニッソー	塩ビ樹脂
	JSM輸液セット	JY-A600KCN	JMS	塩ビ樹脂
	テルフュージョン輸液セット	TS-J351PK027	テルモ	ポリブタジエン
フィルター付輸液セット	テルフュージョン高加圧輸液セット	TS-F357L11	テルモ	塩ビ樹脂
	高加圧輸液用ニプロフィルターセット	FG-20BY	ニッソー	塩ビ樹脂
	JMS輸液フィルター付輸液セット	JY-F610BD	JMS	塩ビ樹脂
	テルフュージョン輸液セット	TS-K352P507	テルモ	ポリブタジエン
	JMSニトログリセリン用輸液セット	JY-NF232RL01	JMS	ポリチレン
翼状針	テルモ翼付静注針	SV-22CLK	テルモ	塩ビ樹脂
留置針	サーフーF&F	SR-FF2232	テルモ	ポリウレタン
	サーフー留置針	SR-OT2232	テルモ	フッ素樹脂
	インサイト	3874228	BD**	ポリウレタン
中心静脈(IVH)カテーテル	テルフュージョンCVフレックス	SR-CV163CK	テルモ	ポリウレタン
	メディカットカテーテルキット	1218-8-P	シャーウッド	塩ビ樹脂
	メディカットUK-IIカテーテルキット*	1118-8-P	シャーウッド	ポリウレタン

*表面ウロキナーゼコーティング、**Becton Dickinson

表5 点滴実験組合せ

NO	薬剤	輸液セット	カテーテル等
5	生食	テルフュージョン輸液セット(PVC)	—
6	生食	テルフュージョン輸液セット(PVC)	サーフローF&F(ウレタン)
7	生食+HCO*	テルフュージョン輸液セット(PVC)	—
8	生食	ニプロ輸液セット(PVC)	インサイト(ウレタン)
9	生食+HCO*	ニプロ輸液セット(PVC)	—
10	生食	JSM輸液セット(PVC)	テラ翼付静注針(PVC)
11	生食+HCO*	JSM輸液セット(PVC)	—
12	生食	テルフュージョン輸液セット(PB)	サーフロー留置針(フッ素樹脂)
13	生食+HCO*	テルフュージョン輸液セット(PB)	—
16	生食	テルフュージョン高加リ輸液セット(PVC)	—
17	生食+HCO*	テルフュージョン高加リ輸液セット(PVC)	—
18	生食	高加リ輸液用ニプロフィルターセット(PVC)	—
19	生食+HCO*	高加リ輸液用ニプロフィルターセット(PVC)	—
20	生食	JMS輸液フィルター付輸液セット(PVC)	—
21	生食+HCO*	JMS輸液フィルター付輸液セット(PVC)	—
22	生食+HCO*	テルフュージョン輸液セット(PB)	テルフュージョンCVフレックス(ウレタン)
23	生食+HCO*	テルフュージョン輸液セット(PB)	メディカットカテーテルキット(PVC)
24	生食+HCO*	テルフュージョン輸液セット(PB)	テルフュージョンCVフレックス(ウレタン)
25	生食+HCO*	JMS輸液フィルター付輸液セット(PE)	メディカットUK-II(ウレタン)
BL1	生食	—	—
BL2	生食+HCO*	—	—

*HCO 界面活性剤、

PVC：塩化ビニル樹脂、PB：ポリブタジエン、PE：ポリエチレン

表6 溶出測定結果

単位：ppb

NO	薬剤/セツ/カテール	DEHP	DBP	NP	DEHA
5	生食/PVC/ー	0.85	0.3	<0.5	<0.5
6	生食/PVC/ウレタン	1.4	0.2	<0.5	<0.5
7	HCO/PVC/ー	1370	4	<50	<50
8	生食/PVC/ウレタン	1.6	0.3	<0.5	<0.5
9	HCO/PVC/ー	1760	4	140	<50
10	生食/PVC/PVC	4	0.8	<0.5	<0.5
11	HCO/PVC/ー	1680	18	112	<50
12	生食/ホリブタ/フッ素樹脂	0.2	0.3	<0.5	<0.5
13	HCO/ホリブタ/ー	24	8	<50	<50
16	生食/PVC/ー	0.4	0.3	<0.5	<0.5
17	HCO/PVC/ー	1800	18	<50	<50
18	生食/PVC/ー	0.4	0.2	<0.5	<0.5
19	HCO/PVC/ー	2460	14	116	<50
20	生食/PVC/ー	0.5	0.4	0.7	<0.5
21	HCO/PVC/ー	1980	22	132	<50
22	HCO/ホリブタ/ウレタン	<10	6	<50	<50
23	HCO/ホリブタ/PVC	98	6	<50	<50
24	HCO/ホリブタ/ウレタン	<10	14	<50	<50
25	HCO/ホリエレン/ウレタン	16	30	<50	<50
BL1	生食/ー/ー	1.1	0.4	<50	<50
BL2	HCO/ー/ー	<10	6	<50	<50

注) HCO:界面活性剤使用、ー:未使用、<〇〇:検出限界〇〇以下

表7 輸液ラインからのDEHP溶出検討結果まとめ

	塩化ビニル樹脂		塩化ビニルフリー	
	小児(3kg)	成人(50kg)	小児(3kg)	成人(50kg)
生食	1ppb×350mL =0.35μg/day 1/340<TDI ◎	1ppb×2000mL =2.0μg/day 1/1000<TDI ◎	0.2ppb×350mL =0.07μg/day 1/1700<TDI ◎	0.2ppb×2000mL =0.4μg/day 1/5000<TDI ◎
界面活性剤	1980ppb×350mL =690μg/day >TDI ×	1980ppb×1200mL =2400μg/day =TDI ×	24ppb×350mL =8.4μg/day 1/14<TDI ○	24ppb×1200mL =29μg/day 1/69<TDI ○

平成 12 年度 厚生科学研究費補助金（生活安全総合研究事業）

分担研究報告書

高分子素材からなる生活関連製品由来の内分泌かく乱化学物質の分析及び動態解明

医療用具を含む高分子素材中の重金属類の分析

主任研究者 中澤裕之（星薬科大学）

分担研究者 宮崎 豊（愛知県衛生研究所）

研究協力者 益川邦彦、藤巻照久、平山クニ
（神奈川県衛生研究所）

研究要旨

医療用具及び食品の容器包装材料などの高分子素材中に内分泌かく乱化学物質として疑いのある Cd、Pb などの金属の有無について検討した。測定には高周波プラズマ発光分析装置を用い、Cd、Pb を含む 21 金属について 53 検体の高分子素材を分析した。その結果、Cd は全ての検体で不検出であった。Pb については経皮胆道カテーテル 1 検体から 24.6ppm 検出された。他に体内に残留する静脈留置針から Ba（18.6 ～ 32200ppm）、Al（ND ～ 28400ppm）、Sr（2.73 ～ 754ppm）などの金属が高濃度検出された。

A. 研究目的

医療用具及び食品の容器包装材料などの高分子素材中に内分泌かく乱化学物質として疑いのある Cd、Pb などの金属の有無について検討した。

B. 実験方法

B・1 試薬

硝酸及び硫酸は、関東化学の電子工業用を用いた。水は逆浸透及びイオン交換を行ったミリポア超純水を用いた。金属の標準品は、SPEX 社製の XSTC-13（Al,As,Cd,Co, Cr,Cu,Fe,Pb,Mn,Ni,Se,Ag,Tl,Zn,Ba,Ca,K,Mg, Na,Sr 各 10ppm）、関東化学製 ICP 発光分光分析用標準溶液 D（Ba,Ca,Mg,K,Na,Sr 各 100ppm）及び和光純薬製の原子吸光分析用標準液（1000ppm）を用いた。

B・2 試料

手術用縫合糸 10 検体、ドレーンチューブ・カテーテル類 6 検体、静脈留置針 5 検体、エクステンションチューブ、輸液セット類 7 検体、デスポーザブル注射筒 2 検体、医療用手袋及び家庭用手袋 10 検体、食品包装用ラップフィルム 7 検体、電子レンジ加熱料理用シート 4 検体、弁当箱、ポリ塩化ビニール製袋各 1 検体の 53 検体を用いた。

B・3 装置及び分析条件

装置：高周波プラズマ発光分析装置 ICPS-7000（島津製作所）

分析条件：高周波出力 1.0kW、クーラントガス 8.0L/min、補助ガス 0.60L/min、キャリアガス 0.60L/min、観測方向 軸方向、定量分析元素の測定波長 Na 588.995nm、Mg 279.553nm、Al 396.153nm、K 766.491nm、Ca

393.366nm、Cr 267.716nm、Mn 257.610nm、Fe 259.940nm、Co 228.616nm、Ni 231.604nm、Cu 327.396nm、Zn 213.856nm、As 193.696nm、Se 196.026nm、Sr 407.771nm、Ag 328.068nm、Cd 226.502nm、Sn 189.989nm、Ba 455.404nm、Tl 190.864nm、Pb 220.351nm。積分時間は5秒で、測定は3回繰り返した。

B・4 試験溶液調製法及び標準溶液の調製
細切した試料 0.5g を磁製るつぼに入れ、硫酸を 3mL 加えた。徐々に加熱し、100～150℃で大部分の硫酸分を蒸発させた後、直火上で乾固した。さらに電気炉で500℃、24時間加熱し、灰化した。ほとんど白色の灰分が得られるまでこの操作を繰り返した。この残留物に1N硝酸を5mL加えた後、加温して溶解させた。これをろ過し、ろ液に水を加えて正確に50mLとした。標準溶液は微量成分用標準溶液としてSPEX社製のXSTC-13及び和光純薬製の原子吸光分析用すず標準液を用いて1ppmの希釈溶液を調製した。主成分用標準溶液として関東化学製ICP発光分光分析用標準溶液Dを用いて10ppmの希釈溶液を調製した。Ba及びAlで100ppm以上の試料を希釈して測定する場合は、各々100ppmの標準品を用いた。

C. 研究結果

C・1 装置の検出限界及び実試料の定量下限値

装置のシグナル強度の標準偏差 σ から 3σ を濃度に換算した値を装置の検出限界とした。実試料の前処理に関しては10試料に1回の割合で試薬の操作ブランクをとった。6回のブランク値の標準偏差 σ の10倍の値を実試料の定量下限値とした。各金属ごと

の装置の検出限界及び実試料の定量下限値を()内に示した。Al 0.0028ppm (14.7ppm)、As 0.005ppm (0.0167ppm)、Cd 0.0003ppm (1.26ppm)、Co 0.0013ppm (1.09ppm)、Cr 0.0004ppm (1.17ppm)、Cu 0.0015ppm (7.36ppm)、Fe 0.0004ppm (41.5ppm)、Pb 0.0028ppm (11.2ppm)、Mn 0.0001ppm (4.3ppm)、Ni 0.0005ppm (22.5ppm)、Se 0.0025ppm (1.67ppm)、Ag 0.0009ppm (1.53ppm)、Tl 0.0113ppm (0.0367ppm)、Sn 0.0030ppm (3.08ppm)、Zn 0.0003ppm (99.7ppm)、Ba 0.0001ppm (1.04ppm)、Ca 0.0005ppm (234ppm)、K 0.0228ppm (174ppm)、Mg 0.0002ppm (22.1ppm)、Na 0.0629ppm (380ppm)、Sr 0.0001ppm (0.72ppm)。

C・2 分析結果

測定した金属は21種類である。内分泌かく乱化学物質として疑いのあるCd、PbのうちCdは全ての検体から不検出であった。Pbは経皮胆道カテーテル1検体から24.6ppm検出された。静脈留置針(カテーテル部分)すべてからBaが検出された。特にX線不透過型静脈留置針4検体からBaが873～32200ppm検出された。X線透過型静脈留置針は18.6ppmであった(図-1、図-2)。Baが高濃度、検出されたX線不透過型静脈留置針のすべてからSrが38.3～754ppm検出された。また、4検体中3検体からAl、Cu、Mg、K、Ca、Mn、Fe、Naが検出されており、Alは4550～28400ppmと高濃度であった。4検体中2検体からCr(1.66～2.47ppm)も検出された。ドレーンチューブ・カテーテル類の6検体中3検体からはBaが373～873ppm検出された。検出された3検体は、いずれもX線不透

過のチューブであった。同一検体から Sr も 25.6 ~ 54.9ppm 検出されている。縫合糸は 10 検体中 4 検体から Cr (1.18 ~ 68.5ppm) を検出した。また、10 検体中 2 検体から Sn (3.6 ~ 4.4ppm)、Sr (4.55 ~ 12.2ppm) を検出した。Sn は、エクステンションチューブや家庭用手袋からもそれぞれ 12.8ppm、14.6ppm 検出された。エクステンションチューブ・輸液セット類の 8 検体中 1 検体から Zn が 140ppm 検出された。全ての手袋から Zn (173 ~ 1630ppm) 及び Sr (1.25 ~ 37.2ppm) が検出された。また、全ての家庭用の手袋から Ba (11.8 ~ 1220ppm) 及び Al (92 ~ 169ppm) が検出された。Ni は血管カテーテル 1 検体から 633ppm 検出している。Ag は縫合糸 1 検体から 4.94ppm、電子レンジ用弁当箱から 6.4ppm 検出した。塩化ビニル樹脂製ラップフィルム 2 検体から Mg (244 ~ 319ppm)、Al (125 ~ 247ppm)、Zn (129 ~ 155ppm) が検出された。また、電子レンジ用加熱料理用シート 4 検体の全てから Ba (3.4 ~ 21.0ppm)、Sr (0.72 ~ 2.24ppm)、Al (23 ~ 114ppm)、Mg (31 ~ 87ppm) が検出された。

D. 考察

X 線不透過型静脈留置針は Pb を含有していないが、Ba 等多くの金属を高濃度に含有していることがわかった。縫合糸は長期間にわたり体内に残留するもので、特に 10 検体中 4 検体は体内で分解するタイプの繊維であるが、Cr、Co、Sr、Sn、Al、Ba などを検出するものがあつた。Ba、Sr、Al

は 53 検体中 19 検体の同一サンプルから検出され、Ba の含有量の多い検体からは Sr、Al の検出量も多い傾向にあつた。Ag は縫合糸と弁当箱から検出されているが防菌作用を目的に添加された可能性がある。Sn はジブチルスズ、ジオクチルスズなど合成樹脂の安定剤として添加されている可能性があるため今後、検討する必要がある。今回、分析した医療用具の中で縫合糸、ドレーンチューブ・カテーテル類及び静脈留置針は体内に残留するものである。また、エクステンションチューブ、輸液セット類及びデスポーザブル注射筒は体外で使用するものであるが輸液等に溶出するものは体内に入るものと思われる。今後、材質試験の結果から溶出試験による詳細な検討が必要と思われる。

E. 結論

体内に残留する留置針からかなり高い濃度の金属が検出された。縫合糸やカテーテルなどからも Pb、Cr、Ni 及び Sn が検出されている。今後、他の機器や分析法による確認や、溶出試験を行う必要がある。

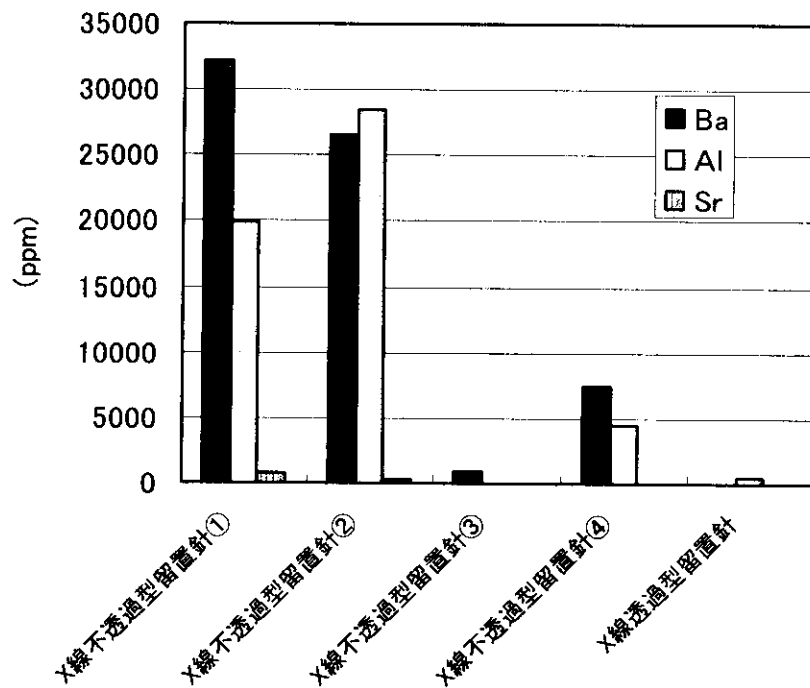


図-1 留置針(カテーテル部分)のBa, Al, Sr含有量

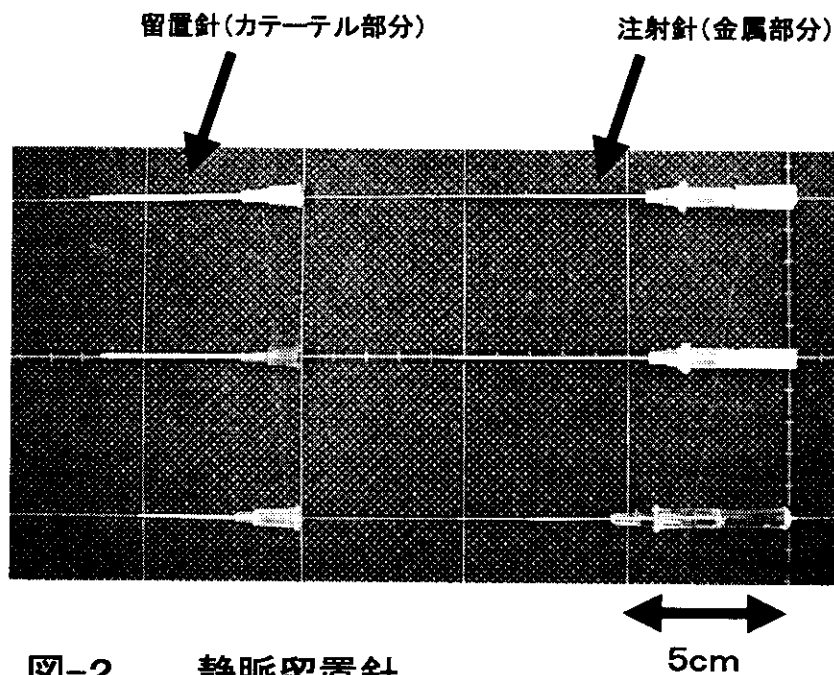


図-2 静脈留置針

平成12年度厚生科学研究費補助金（生活安全総合研究事業）

分担研究報告書

高分子素材からなる生活関連製品由来の内分泌かく乱化学物質の分析及び動態研究

歯科・医用高分子素材由来の内分泌かく乱化学物質－ポリカーボネート製矯正用ブラケット中のビスフェノールAとp-t-ブチルフェノールの分析－

主任研究者 中澤 裕之 星薬科大学
研究協力者 本郷 敏雄 東京医科歯科大学

研究要旨

歯科用材料ではポリカーボネート（PC）は、テンポラリークラウン、レジン歯矯正用ブラケットなどに用いられ、人工唾液にこれら材料を浸漬するとビスフェノール A（BPA）などが溶出され、特に矯正用ブラケットからの BPA 溶出量が多かったため、模擬口腔内環境を想定して 12 週間唾液に浸漬した矯正用ブラケットからの BPA 溶出量などについて検討したところ、人工唾液浸漬に比べて唾液浸漬では BPA 溶出量が高く、また、微量ではあるが p-t-ブチルフェノール（t-BuP）が溶出していることも明らかとなった。また、残留 BPA 及び残留 t-BuP も唾液に浸漬するとそれらの残留量が増加していたことから、口腔内環境下では PC 製矯正用ブラケットは加水分解されていることが推測された。

A. 研究目的

ポリカーボネート(PC)は耐衝撃性などに優れており、ガラスフィラーなどを添加することによりその機械的性質が更に向上することから歯科用材料として矯正用ブラケット、テンポラリークラウン(暫間被覆冠)、レジン歯、義歯床などに用いられている。特に矯正用ブラケットに添加されているフィラーは材料により異なるが約 10～20%程度も添加されている。

PC は合成前駆体である BPA や重合調節材である p-t-ブチルフェノール（t-BuP）、

紫外線安定剤などが添加されている。従って、口腔内環境下では PC からこれらの物質が溶出される可能性が推測される。模擬口腔内環境として人工唾液にこれら PC 製歯科材料を浸漬したところ、微量ではあるが検討した全ての PC 製歯科材料から BPA が溶出していることを明らかにした。それら材料で特に矯正用ブラケットは長期にわたり口腔内に存在していること並びに矯正用ブラケットを咬合調整のために子供にもその使用が汎用されているので、PC 製矯正用ブラケットからの BPA などの溶出量

の実態把握が急務の問題である。

PCの重合調節剤として、汎用されているt-BuPにもエストロゲン様作用が弱いながらも指摘されている¹⁾ので、t-BuPの溶出量の実態把握も必要である。また、模擬口腔内環境として、人工唾液を浸漬溶媒として用いることよりも、浸漬溶媒として唾液を使用した場合でのBPA溶出量が多いことが推測されるので、本研究はヒト唾液に浸漬した矯正用ブラケットからのBPA、t-BuP溶出量並びに唾液に浸漬した矯正用ブラケットに残留しているそれら物質の量を蛍光検出器を具備した高速液体クロマトグラフィー(HPLC)で検討した。

B. 研究方法

B-1. 材料及び試薬

PC製矯正用ブラケットとして、クリアーブラケット(三金工業)、プラスチックブラケット(トミーインターナショナル)の上顎1若しくは2のものを材料として用いた。用いた試薬は全て残留農薬試験用若しくはHPLCグレードのものを使用した。

採取したヒト唾液は唾液中に含まれている細胞や食物残渣などを除去するために4℃で3000rpm、15分間の遠心した。遠心後、無菌的にするためにボトルトップフィルター(0.22μm、旭テクノグラス)で濾過滅菌し、得られた溶液を滅菌した容器に保存し、その後の操作は極力無菌的

に実施した。唾液採取に関して、唾液提供者に対して口頭でこの研究の趣旨を説明し、プライバシーに関してはそれを守秘し、提供された唾液を本研究以外の目的に使用しないことを説明した。

B-2. HPLC分析条件

HPLCの分析条件はガードカラムとしてCAPCELL C₁₈ UG120(2.0x10mm、資生堂製)、分離カラムとしてCAPCELL PAK C₁₈ UG120(2.0x250mm、5μm、資生堂製)を用い、移動相は蒸留水/アセトニトリル混合液(混合比は58:42)、カラム温度は40℃、流量は0.2mL/minとし、検出波長は217nmで定量した。用いたHPLCシステムはHP1100シリーズ(Hewlett Packard製)を用い、同時に同定にはHP1100シリーズ・ダイオードアレイ検出器(Hewlett Packard製)を用い、検出波長を190nmから400nmとして測定し、HPケミステーションLC 3Dシステム(Hewlett Packard製)にて解析した。この検出法と同時に励起波長273nm、蛍光波長313nmとしてBPA量を定量し、蛍光波長解析には蛍光波長を300~500nmとした。溶出物の定量には絶対検量線法を用い、その検量線の相関係数は0.999以上の場合のみを用いた。

B-3. 材質試験

材質試験は食品衛生試験法²⁾に準じた

が、矯正用ブラケットは小さいためブラケット重量に対しての試薬量として使用した。適量のジクロロメタンに溶解させ、スターラーで攪拌しながらアセトンをゆっくり滴下し、高分子化合物を析出させた。3000rpm で 10 分間遠心分離後、上清液を約 2mL まで減圧濃縮(40 °C 以下)した。アセトニトリル 8mL を用いてメスフラスコに洗い込み、精製水で 20mL とした。そして適量をメンブランフィルターでろ過後、分析試料とした。

B-4. 溶出試験および添加回収

矯正用ブラケットを無菌的に唾液中に浸漬させ、37 °C の恒温槽で遮光下静置した。唾液中に溶出された BPA を抽出するために、有機溶媒による抽出操作を実施した。唾液中に存在する蛋白質を除去するために、0.5mL 唾液に 1mL メタノールを添加し、十分攪拌後、3000rpm で 10 分間の遠心し、上清を採取した。沈渣に 0.5mL 67 % メタノールを添加し、十分攪拌後、3000rpm で 10 分間の遠心した上清を上記の上清に加えた。この上清に適量の 1N HCl を添加・攪拌後、6mL のジクロロメタンを添加して十分攪拌した。得られたジクロロメタン分画を濃縮乾固し、0.5mL の蒸留水/アセトニトリル混合液(混合比 50:50)を添加し、濃縮乾固物を溶解させ、HPLC の試料とした。この抽出による回収率を求めするために、唾液に 10ng/mL BPA と t-BuP

の混合液を添加し、前述と同様にし、添加回収実験を実施した。得られた値はレジンのグラムあたりの BPA 及び t-BuP 量として表した。使用したガラス器具類はすべてアセトンで 3 回洗浄後、実験に使用した。

C. 研究結果

C-1. HPLC 分析条件

HPLC 分析条件で、使用する移動相の成分は BPA と t-BuP 分析で重要なファクターとなるので移動相成分比を 50、52、53、54、56、58、60 % 蒸留水と変化させて、BPA の検出限界を検討したところ 56%、58% 蒸留水で BPA と t-BuP の検出限界として 0.5 ~ 1ng/mL を確保できた。更に矯正用ブラケットを浸漬した唾液を用いて、移動相の成分比を変化させて成分分離状態を確認したところ、58 % では BPA ピークと唾液由来の他の成分のピークとの分離状態が良かったので、移動相の成分比を 58 % 蒸留水 - 42 % アセトニトリルとした。この条件で蛍光による BPA の定量再現性を確認するために 5ng/mL BPA を用いて、HPLC 装置の再現性を確認したところ、10 回注入した平均値は 4.9 ± 0.1 ng/mL BPA、 4.9 ± 0.1 ng/mL t-BuP であった。これから、検出下限値は計算上、0.4ng/mL BPA, 0.3ng/mL t-BuP (絶対量としてそれぞれ 8pg、6pg) であ

り、定量下限値は 1.4ng/mL BPA、1.1ng/mL t-BuP（絶対量としてそれぞれ 28pg、22pg）となったが、実測値から検出下限値をそれぞれ 0.5ng/mL とした。また、BPA と t-BuP の混合標準液を用いた検量線はその相関係数は何れも 0.999 以上であった（図 1）。

唾液に 10ng/mL BPA と t-BuP の混合液を添加して、液-液抽出による添加回収の結果は BPA では $103.1 \pm 3.7\%$ （CV は 3.6 %）、t-BuP では $99.3 \pm 1.9\%$ （CV は 1.9 %）と非常に回収率が良好なので、唾液浸漬液中の BPA と t-BuP 量は特に回収率を換算せずに実測値とした。

C-2. 唾液への BPA、t-BuP 溶出

人工唾液に矯正用ブラケットを浸漬すると微量の BPA が溶出されたが、唾液浸漬ではその溶出量が増加していた。唾液に浸漬した矯正用ブラケットの典型的な HPLC クロマトグラフパターンが図 2 と図 3 に示してある。唾液浸漬 1～3 週では BPA 溶出量は何れの矯正用ブラケットでもあまり大きな変化は認められず、ほぼ一定の溶出量であったが、浸漬 12 週では見かけ上、顕著に BPA 溶出量が増加していたが、この値を 12 週で割った値は 1～3 週の値と大きな変化は認められなかったことから、少なくともこの 12 週間では一定量が溶出していた。図 4 と 5 に示すように矯

正用ブラケットの種類により、BPA 溶出量は変化し、矯正用ブラケット B は矯正用ブラケット A に比べて何れの浸漬期間でも約 6～8 倍高かった。12 週間の総溶出量では矯正用ブラケット B の BPA 溶出量は矯正用ブラケット A の約 8 倍であった。

一方、t-BuP は微量ではあるが、いずれの矯正用ブラケットから唾液に溶出していた。その溶出パターンは BPA とは異なり、唾液浸漬 12 週では特に矯正用ブラケット A ではその溶出量は殆ど認められなかった（図 2～5）。t-BuP 溶出量は何れの浸漬期間でも矯正用ブラケット B は矯正用ブラケット A よりも 2～3 倍ほど、多かった。

C-3. 矯正用ブラケット中の残留 BPA、t-BuP 量

唾液に浸漬した矯正用ブラケットから BPA と t-BuP などが溶出され、特に BPA では 12 週浸漬では多量に溶出されていることから、PC が水性環境下で加水分解されている可能性が考えられるので、その材質試験を実施し、残留 BPA と t-BuP 量について検討を加えた。

矯正用ブラケットを溶解した試料の典型的な HPLC クロマトグラフパターンを図 6 に示してあるが、矯正用ブラケットの保存条件により、BPA 量は大きく変化していた。残留物の

多くはフェノール（図中 PH）、BPA と t-BuP であったが、分離状態から PH の定量は不可能であった。図 7 と 8 に示すように残留 BPA と t-BuP 量は矯正用ブラケット A より、矯正用ブラケット B で顕著に高かった。また、保存条件では残留 BPA と t-BuP に関しては室温で 12 週間保存と 37 °C で 12 週間保存で、顕著な差は認められなかった。しかし、12 週間唾液中に浸漬した試料は何れのブラケットでも残留 BPA 量が顕著に増加し、残留 t-BuP 量も若干増加していた。唾液浸漬矯正用ブラケット A と B では室温保存と比較すると残留 BPA 量はそれぞれ 3.5 倍と 2.3 倍増加していた。

D. 考察

人工唾液浸漬した矯正用ブラケットよりも唾液浸漬した場合での BPA 溶出量が増加していたが、残留 BPA 量に関しては、人工唾液並びに唾液浸漬した矯正用ブラケットでは殆ど差が認められなかった。

更に、製品により残留 BPA 量並びに溶出 BPA 量が異なっていたことは下記のようなことによるものと考えられる。PC 製矯正用ブラケットは PC ペレットを 310 °C 位で溶解し、射出成型法により作製されているので、製品によりその溶解温度並びに原材料が異なっている。また、PC 製矯正

用ブラケットにはその機械的性質を向上させるためにフィラーを 10 ~ 20 % 程度、添加している。従って、製品により残留 BPA や t-BuP 量が異なっていることが推測される。残留量が多ければ、その材料からの溶出量も多いと推測できるが、残留 t-BuP 量は少なくとも BPA よりも多いのに比べ、その溶出量は BPA よりも少なかった。また、PC を溶解する温度により、PC の熱分解が生じ、PC の低分子化が起き、PC の加水分解反応が起きやすくなっていることも推測される。これらのことから、残留 BPA が多い場合には溶出 BPA 量も多くなるが、t-BuP に関してはその化学的性質から水性環境下では PC 中からは溶出されにくいものと考えられる。

特に人工唾液浸漬した矯正用ブラケットに残留する BPA 量と唾液中に浸漬した矯正用ブラケットに残留する BPA 量にあまり差がなかったことは、この水性環境下での PC の加水分解は水との接触による単純な加水分解反応であり（図 9）、唾液中に含有されている酵素であるリパーゼ、エステラーゼなどの関与は少ないと考えられる。しかしながら、溶出 BPA 量は人工唾液浸漬に比べて唾液浸漬で顕著に増加していたことは、唾液中の脂肪などの影響により、唾液中で、より溶出されやすい環境になっているためと考えられる。同様に残留

t-BuP が増加していることは残留 BPA 量の増加と同じようにポリマー末端に重合している t-BuP が単純な加水分解反応を受けるためであると考えられる。しかしながら、t-BuP は BPA よりも溶出されにくいため矯正用ブラケット中に残留しているものと考えられる。

従って、このような材料の溶出試験法としては単純な水性系では、その溶出傾向は判断できるが、その正確な溶出量を求めることはできない。口腔内で使用される材料ならば、溶出試験法として採用すべき溶媒としてはヒト唾液そのものを使用すべきである。しかし、ヒト唾液もサーカディアンリズム並びに個体差があるので、唾液採取時間を常に一定にすることと採取した唾液をバルクの形で実験に使用すると再現性のあるデータが得られる。

溶出された BPA 量が実際にどの程度摂取されるかについては表 1 に示してある。PC 製矯正用ブラケットを人工唾液に浸漬すると 12 週間で約 13 μ g/g レジン溶出され、唾液浸漬では約 35 μ g/g レジン溶出される。ここで、仮定として咬合調整用に 20 歯に矯正用ブラケットを適用し、その患者の体重を 30kg とし、20 歯に適用すると 20 個の矯正用ブラケットが必要である。従って矯正用ブラケットの重量は約 350mg となる。溶出された

BPA は人工唾液浸漬と唾液浸漬でそれぞれ 4.6 と 12 μ g となる。これは 12 週間で溶出された値なので、均等に溶出し、また溶出された全てが摂取されたと考ええると、一日当たりの溶出量は人工唾液と唾液浸漬ではそれぞれ 55 と 143ng/day となる。体重が 30kg の子供なので、体重あたりに換算すると人工唾液と唾液浸漬では 1.8 と 4.8ng/kg/day となる。また、一日当たりの血中濃度は人工唾液と唾液では 0.02 と 0.06ng/mL となった。この唾液に浸漬した場合の摂取量が 4.8ng/kg/day と推定されたが、この値は vom Saal らの報告³⁾で生殖異常をきたす濃度といわれている用量である 2 μ g/kg に比べて低値であり、この歯科用矯正用ブラケットからの摂取量は現時点では特に大きな問題ではないが、低値であるから問題がないとも断定できない。これらに関しては今後の BPA の毒性情報の結果を待つ必要性がある。しかしながら、この矯正用ブラケットにはポーセレンや金属などの代替品があるので、子供や妊婦、授乳中の母親などには代替品の使用を考慮すべきである。しかし、金属材料にも各種毒性が報告されているので、それらのベネフィットとリスクを考慮して、使用すべきであると考えられる。

E. 結論

蛍光分析による HPLC の条件検討を行い、簡便で高感度な分析法を構築し、本法を用いて唾液に浸漬した PC 製矯正用ブラケット中に残留している BPA と t-BuP 量、並びに唾液に溶出した BPA と t-BuP 量を測定した。唾液に浸漬した矯正用ブラケットの溶出 BPA 量は人工唾液に浸漬した場合に比べて増加していたが、残留 BPA 量は人工唾液に浸漬した場合に比べて殆ど差は認められなかった。また、残留 t-BuP 量は唾液に浸漬した矯正用ブラケットで若干増加していた。以上のことから、唾液浸漬などの水性環境下では PC 製矯正用ブラケットは加水分解され、BPA が溶出される可能性が考えられ、口腔内でも同じように矯正用ブラケット作製時に残留している BPA の溶出並びに PC の加水分解による BPA と t-BuP の溶出の可能性が考えられる。

F. 参考文献

- 1) Milligan SR, Khan O, Nash M.: Gen Comp Endocrinol, 112, 89-95(1998)
- 2) 食品衛生試験法 1009-1010 (1998)
- 3) Howdeshell K. Hotchkiss A. Thayer K. Vandenberg J. vom Saal F.: Nature, 401:763-764 (1999)

G. 研究業績

学会発表

- 1) 矢島 功、中澤裕之、大槻昌幸、田上

順次、西村文夫、本郷敏雄、一條秀憲
：歯科材料・器械：19(SI35)、36(2000)

- 2) 矢島 功、中澤裕之、日景 盛、大槻昌幸、田上順次、西村文夫、本郷敏雄
：歯科材料・器械：19(SI36)、38(2000)

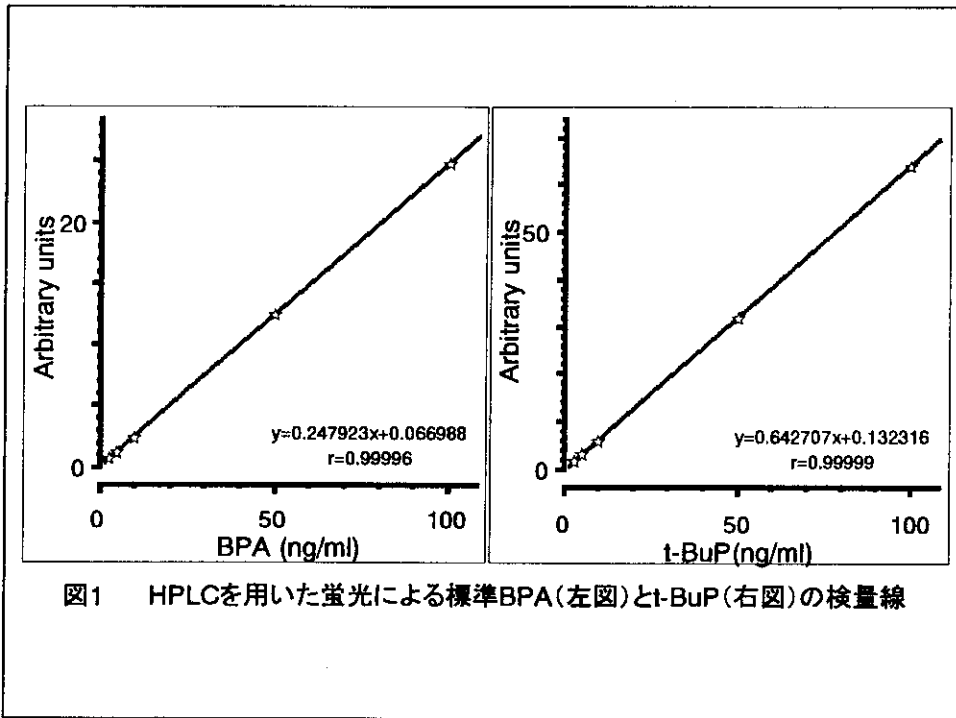


図1 HPLCを用いた蛍光による標準BPA(左図)とt-BuP(右図)の検量線

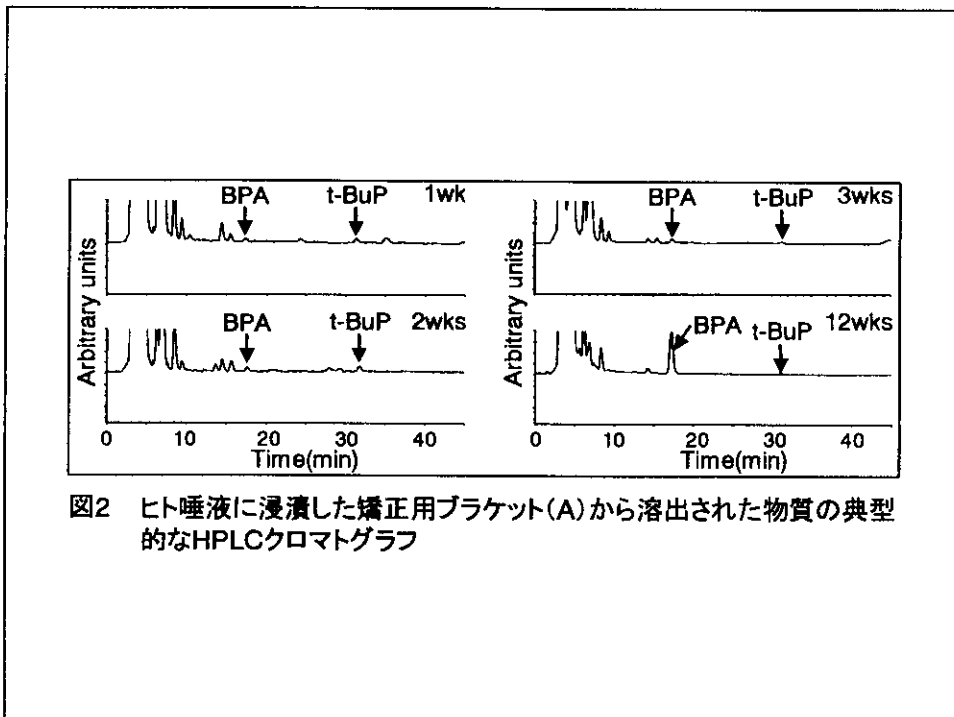


図2 ヒト唾液に浸漬した矯正用ブラケット(A)から溶出された物質の典型的なHPLCクロマトグラフ

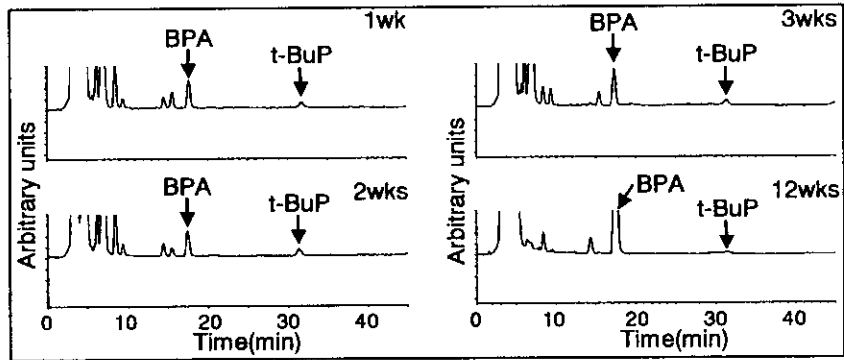


図3 ヒト唾液に浸漬した矯正用ブラケット(B)から溶出された物質の典型的なHPLCクロマトグラフ

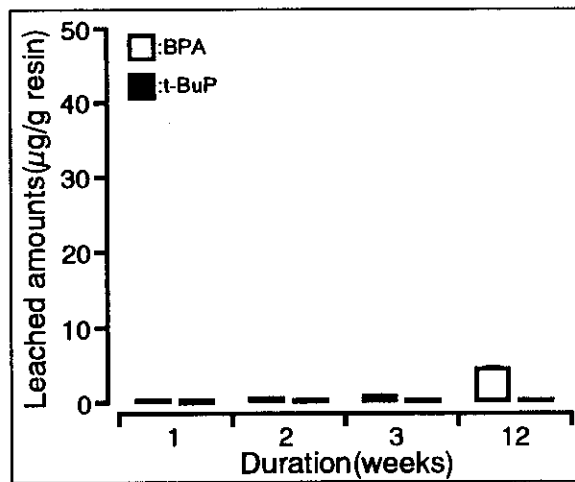


図4 ヒト唾液に浸漬した矯正用ブラケット(A)から溶出されたBPAとt-BuPの経時変化

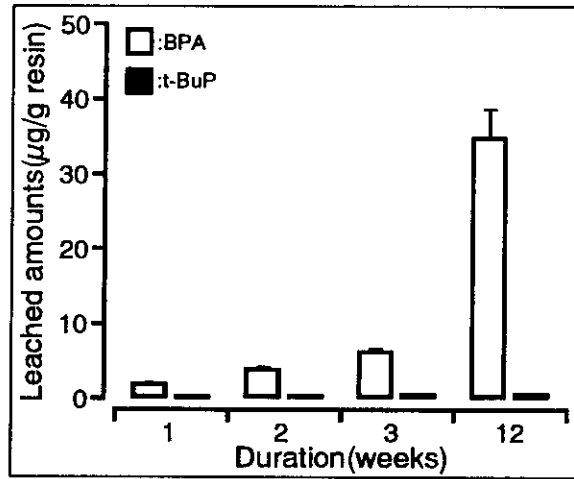


図5 ヒト唾液に浸漬した矯正用ブラケット(B)から溶出されたBPAとt-BuPの経時変化

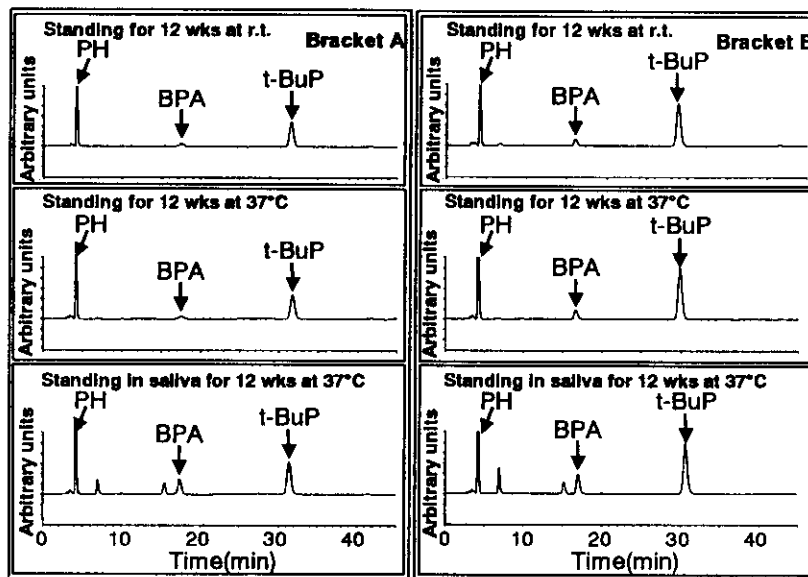


図6 12週間ヒト唾液に浸漬した矯正用ブラケット並びに12週間室温、37°Cに放置したブラケットに残留している物質の典型的なHPLCクロマトグラフ

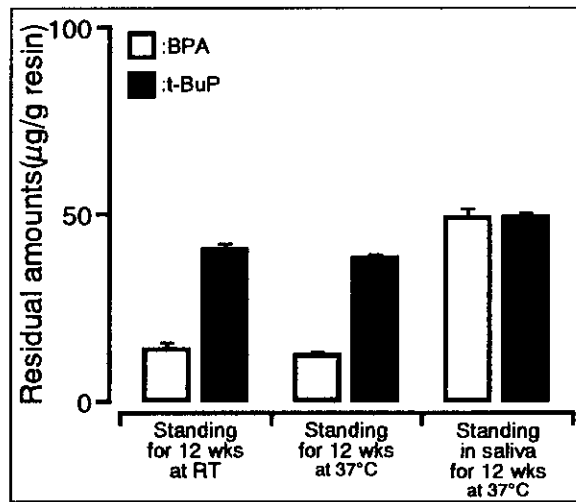


図7 各種条件下に放置した矯正用ブラケット(A)に残留しているBPAとt-BuP量

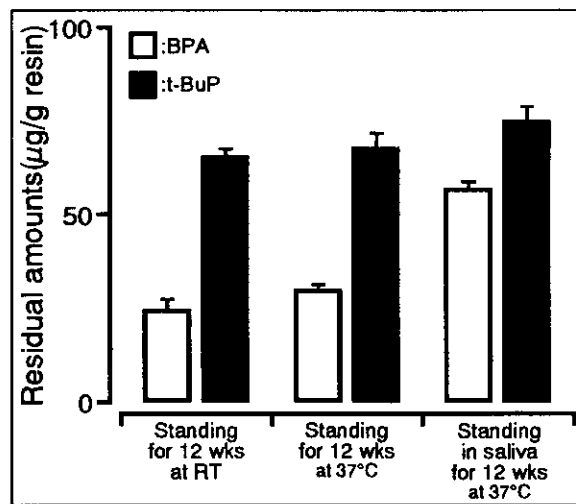


図8 各種条件下に放置した矯正用ブラケット(B)に残留しているBPAとt-BuP量

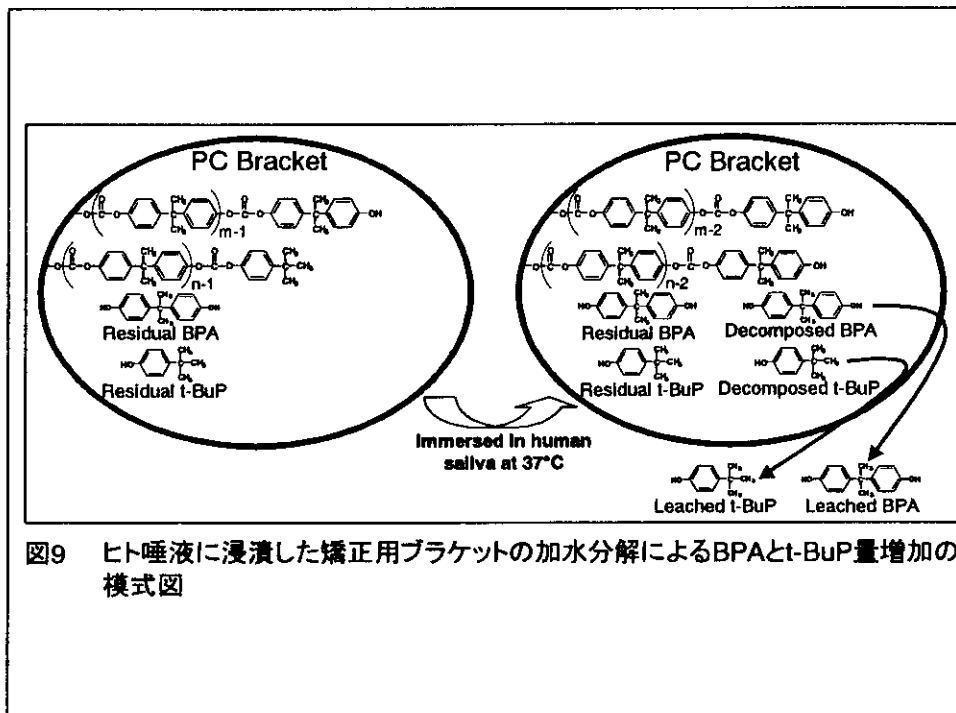


表1 12週間人工唾液並びにヒト唾液中に浸漬したPC製矯正用ブラケットから溶出するBPAの摂取量の比較

	$\mu\text{g/g}^1$	μg^2	ng/day^3	ng/kg/day^4	ng/ml^5
Artificial Saliva	13	4.6	55	1.8	0.02
Human Saliva	35	12	143	4.8	0.06

1): Total amount of leached BPA from orthodontic plastic bracket for 12 weeks
 2): BPA amount in case of installing onto 20 teeth (ca 350mg PC)
 3): BPA intake per day during 12 weeks (84 days)
 4): In case of body weight being 30 kg
 5): The amount of blood in case of body weight being 30 kg was estimated ca 2300ml