

であった。これからこの分析条件の DEHP 検出下限値は 0.6ng/mL であり、定量下限値は 2.1ng/mL であった。一方、50ng の MEHP を添加して、その添加回収を実施したところ、 55.0 ± 0.3 ng/mL で CV は 0.6% であった。このことからこの分析条件から検出下限値は計算上、1.0ng/mL、定量下限値は 3.3ng/mL となるが、MEHP の検出下限値はクロマトグラムの S/N 比から 10ng/mL とした。用いた唾液中に DEHP が検出され、その濃度は 2.8ng/mL であった。

グローブ A から DEHP が経時的に溶出された。その溶出量は唾液と接触時間が 1 時間では 10.1 ± 2.5 ng/cm²、2 時間で 11.6 ± 2.6 ng/cm²、6 時間で 27.7 ± 3.2 ng/cm²、24 時間で 37.1 ± 5.3 ng/cm² であった。一方、MEHP は検出下限値未満であった。グローブ B では DEHP 及び MEHP は何れも検出下限値未満であった。これは PVC 製グローブの可塑剤として DEHP 以外の可塑剤を使用している可能性が高いと考えられる。昨年度では 24 時間唾液接触により唾液への移行量は $2.3 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ であったが、その移行量は本年度調査したグローブでは顕著に低下していた。

D. 考察

D-1. 唾液中に浸漬した Bis-GMA 系歯科充填用コンポジットレジン硬化体からの溶出物の分析

1996 年に Olea ら (2) により、歯科充填用材料から、BPA が溶出するというセンセンショナルな報告が発表されて、BPA と歯科治療との関連で社会的な問題を惹

起した。文献的に調査したところ、歯科充填用材料からの BPA 溶出に関しては 1983 年の宮崎らの報告(45)と 1995 年に Olea らの材料と同じ材料で GC により、未硬化体中に 0.015% BPA が存在していることを Jolanki らが報告している(46)。

しかしながら、BPA の内分泌攪乱作用が社会的な問題になる以前に MSDS(Material Safety Data Sheets)で 1991 年 12 月 17 日に作成され、1993 年 6 月 23 日に改訂された 1961A CONCISE ORTHODONTIC BONDING SYSTEM PASTE B には成分として 1%未満の BPA が添加されていることが記載されている(47)。このことから、かつては一部の歯科材料に BPA が添加されていた可能性が非常に高いが、現在では成分として添加されている可能性は殆どないと考えられる。特に Olea らの報告(2)による BPA 溶出量が非常に多かったので、そのデータの真偽に疑問を投げかけている研究者が多いのにも拘わらず、現時点でも歯科充填用材料から BPA が溶出していることを記載している報告書が散見される。この Olea らの報告に対して、いち早く対応した組織である American Dental Association では Position Statements で Olea らの BPA 溶出量に対して否定的な見解を記載している(48)。同様に British Dental Association(49)でも同様な見解を BDA Fact File で公表している。

Bis-GMA 系歯科充填用材料は BPA を原材料として Bis-GMA を合成している(1, 50)。そのため、微量の BPA が夾雑物として Bis-GMA に混入している可能性は否定できない。これは物質として 100%純

粹な物質が存在しないことから明白である。99.999%の純度でも 0.001%の不純物が常に存在している。この 0.001%を重量にすると 0.01mg/g 即ち 10 μ g/g(ppm)という値に相当する。現在、歯科充填用材料として使用されている Bis-GMA 中に混入している BPA 量は数 ppm 程度(50)若しくは 1ppm 未満(9)と報告されている。従って、現在の Bis-GMA に混入している BPA は重量%として、0.0003%未満と考えられる。歯科充填用材料として使用される Bis-GMA は多くても 60%程度であり、仮に治療に充填する重量を 1g とするとその 60%が Bis-GMA となる。Bis-GMA に混入している BPA を 3 μ g/g とするとこの充填に伴う BPA 混入量は 1.8 μ g となる。この全てが 24 時間以内に唾液に溶出し、摂取した BPA の全てが吸収され、排泄がないと仮定すると体重が 20kg の子供の血中濃度は 1.2 μ g/L となり、摂取量は 90ng/kg 体重/日となる。この値はレジンの未硬化体を 1g 摂取した事実と同じことを示していて、本来あり得ないことである。そのような条件下でも FDA が食品に接触する物質の摂取量を規定している BPA の CEDI(Cumulative estimated daily intake, 累積推定 1 日摂取量)は 185ng/kg 体重/日(51)であり、歯科材料の未硬化体を 1g 摂取した場合と同じである値は FDA が規定している値の約半分である。EU の SCF(18)では最悪の場合として缶詰中の BPA 濃度を約 20 μ g/kg として、体重 18kg (4-6 才)の子供が 1 日に 1.05kg 摂取した場合の 1 日の推定摂取量が 1.2 μ g/kg 体重/日であり、成人(60kg)では缶詰 (1 日の摂取量を 1.05kg) とワイン

(1 日の摂取量を 0.75L) からの 1 日の推定摂取量をそれぞれ 0.37 μ g/kg 体重/日と 0.11 μ g/kg 体重/日であると報告している。この食品由来の BPA 曝露量と比較しても上述の仮の歯科材料からの BPA 摂取量はほぼ同等かそれ以下である。

日本歯科理工学会の報告書(1)並びに表 1 から、溶出される BPA の最大量は 75% エタノールで 1.4mg/g resin(12)であり、唾液及び水性溶媒では 1.8 ~ 18.62mg/g resin(2)と 856 μ g/g(14)であった。Moon らの 75%エタノールによる溶出で BPA が 1 日で 1.4mg/g resin 溶出する結果は 0.14% の BPA が溶出していることになる。この製品は Bisco 製の Pit & Fissure Sealant である。Bisco のこの製品の MSDS を調べてもこの製品が市場に流通しているかは不明である。同様に Olea ら(2)の BPA 溶出量が 18.62mg/g resin である報告も約 1.86%の BPA が溶出していることになる。この製品は Delton 製の Sealant で現在は入手不可能である。更に Delton 製の Sealant(Batch:940218)で 856 μ g/g resin 溶出することが報告されている(14)がこれも 0.0856%の BPA が溶出していることになる。Olea らの報告(2, 14)で使用された Delton 製の sealant 硬化体を生理食塩水に 24 時間浸漬しても検出下限値(5ppb)であったが、ヒトに適応後、3 時間の唾液に最大 105.6ppb の BPA が検出された(11)。これは 32mg を適応し、30mL 唾液中の濃度であることから 99 μ g/g resin となり、体重 20kg の子供にこの 1g が適応されたと仮定すると 4.95 μ g/kg 体重/日となる。同様にヒトに適応後 2 時間で 2.8ppm が唾液に検出された報告(8)では適応量が不明

なのでレジン当たりに換算は出来なかった。しかし、レジン硬化体を蒸留水に浸漬したレジン重量が約 38mg と記載されているのでその値を採用すると採取された唾液は 5mL なので 0.37mg/g resin となった。体重 20kg の子供が 1g のシーラントを適応され、溶出した BPA の全てを摂取したと仮定すると摂取量は 18.4 μ g/kg 体重/日となる（実際には適応後、2 時間の唾液である）。これらの報告で用いられた Delton 製材料にはビスフェノール A ジメタクリレート (bisphenol A dimethacrylate, CAS No: 3253-39-2) が使用され、それが唾液と接触することにより BPA が検出された可能性も否定できない。しかし現在、この材料は市販されていないことを付記しておく。また、歯科治療では治療後、水や温水で口腔内を嗽口しているので、実際の曝露量はこれよりも低値であると考えられる。

Pulgar ら (14) により、BPA 溶出量が多いコンポジットレジンでは 3M の SILUX PLUS であり、165 μ g/g resin 溶出していることを報告している。これは 0.0165% に相当する。SILUX PLUS の MSDS によると 15-20% の Bis-GMA が成分として添加されている。もし 20% 添加されていたとすると、165 μ g BPA/200mg Bis-GMA となり、825 μ g/g Bis-GMA となる。これは原材料である Bis-GMA に 825ppm の BPA が混入していたことになる。この値は Bis-GMA に安定化剤として BPA を添加していない限り、あり得ない値である。しかしながら、SILUX PLUS に関して入手できた MSDS にはそれらに関する記載は認められなかった。

平成 10 年度厚生科学研究費補助金報告書(52)で Olea らの報告以前に市販されているコンポジットレジンなどの硬化体を人工唾液に浸漬すると硬化体で最大 24.4ng/mg resin (人工唾液浸漬 21 日間)、未硬化体で最大 5.78ng/mg resin の suspected BPA が検出されたことを報告した。この硬化体からの suspected BPA が人工唾液浸漬 21 日間で 24.4ng/mg resin 溶出していることから体重 20kg の子供に 1g 適応したとするとその摂取量は 58.1ng/kg 体重/日と FDA の 185ng/kg 体重/日(51)と比較するとその約 3 割であった。EU の仮の TDI(18)が 10 μ g/g 体重/日と比較しても遙かに低値である。この BPA 曝露で用いたコンポジットレジンやボンディング材は Olea らの報告以前に流通していた製品であり、本報告で用いた現在、流通している材料に関しては唾液浸漬した硬化体からの溶出量は検出限界以下なので、歯科充填用材料からの曝露は遙かに小さいと考えられる。1999 年後半から 2000 年初めに市販されているコンポジットレジン、ボンディング材などを人工唾液に 28 日間浸漬した材料からの BPA 溶出量は検出限界以下で計算上、最大 15.8ng/g resin であり、また、未硬化体も検出限界以下であることを報告した(4, 53)。BPA 検出値を 15.8ng/g resin と仮定して、体重 20kg の子供にこの充填材を 1g 適応したとすると、BPA 摂取量は 28.2pg/kg 体重/日となり、BPA 摂取量は食品などからの摂取量に比べて遙かに低値になる。

これらの報告は国際誌、国際学会などの報告に着目したものを考察した。しか

し国内学会報告や国内誌でも数多くの報告なされているが、それらの多くは分析の信頼性についての言及がなされていないのでここでは全てを敢えて考察しないこととした。その中で、シーラント及びコンポジットレジン硬化体をリン酸緩衝液中に浸漬するとそれぞれ 0.9 $\mu\text{g/g}$ resin/日と 1.73 $\mu\text{g/g}$ resin/日と報告されている(54)。この値は現在市販されている材料中の BPA 量として非常に高濃度存在していることを示しているが、その測定方法に問題がある。この測定は化学発光を利用した酵素免疫法で測定している。しかし、この抗体の特異性に疑問がある。それは BPA には特異性はあるらしいが、Bis-GMA の夾雑物に関するデータが示されていない。そのため、それら夾雑物を同時に測定している可能性がいつまでも否定できないでいる。この 1.73 $\mu\text{g/g}$ resin/日が溶出し、体重 20kg の子供にこの材料を 1g 適応したとすると 86.5ng/kg 体重/日となり、FDA の規制値と比較しても約半分である。また、硬化体のアセトニトリル 3 日間の抽出で、Bis-GMA をベースモノマーとするコンポジットレジン 2 種で 151 及び 178ng/g コンポジットの BPA が検出されたことを報告した論文(55)がある。しかし、この論文の検出値が 1ppb BPA と記載されているが、用いている装置の検出下限値は 1ppb 以上であることから得られた値の信頼性に欠けている。このような問題点はあるが、BPA 摂取量(178ng/g コンポジット)を計算すると体重 20kg の子供にこの材料を 1g 適応したとすると BPA 摂取量は 3ng/kg 体重/日となり、食品などからの BPA 摂取量に比べて低値と

なる。

唾液にレジン硬化体を浸漬しても BPA は検出限界以下であり、ピークとして確認できなかった。このことから BPA 溶出量はコンポジットレジン A では定量下限値が 0.9ng/mL であることから 9.2ng/g resin 未満、コンポジットレジン B では 11.0ng/g resin 未満であると考えられる。従って、体重 20kg の子供にこの材料を 1g 適応したとすると BPA 摂取量は 78.7pg/kg 体重/日(唾液浸漬 1 週間の場合)となる。唾液浸漬期間が 6 週間の場合にはこの BPA 摂取量は更に低値になる。このように歯科用コンポジットレジンからの BPA 摂取量は缶詰食品由来に比べて遙かに低値であると考えられる。また、BPA リスク評価に関する EU SCF の報告(18)では仮の TDI (temporary TDI) を 10 $\mu\text{g/kg}$ 体重としていること並びに低用量作用があるといわれている 2ng/g (2 $\mu\text{g/kg}$) (16) に比較しても遙かに小さい値である。

人工唾液などの水性及び有機溶媒に硬化体を浸漬すると TEGDMA や Bis-GMA の夾雑物若しくは加水分解体が検出されることを既に報告している(44, 56)が唾液にレジン硬化体を浸漬すると TEGDMA は検出限界以下であった。これは唾液中のエステラーゼ、リパーゼなどにより TEGDMA が加水分解され、TEG とメタクリル酸になったためと考えられる。これら加水分解物を解析することは本報告の目的外なので、今後の検討を要することであると考えられる。

一方、紫外線防止剤若しくは退色防止剤として使用されている BP-3 も唾液浸漬硬化体からは検出限界以下であった。

このことから BP-3 溶出量はコンポジットレジン A では定量下限値が 3.2ng/mL であることから 32.6ng/g resin 未満, コンポジットレジン B では 39.2ng/g resin 未満であると考えられる。

コンポジットレジンからこの BP-3 が培地中に 0.23 μ g/mL 以上溶出することが報告されている(22)が, 2mL の培地の濃度であることから絶対量として 0.46 μ g 溶出していることになる。概算として, 使用したレジン重量は 70 ~ 80mg と推定できるので (径 5mm, 厚さ 1.5mm), レジン重量を 70mg と仮定して計算すると 6.6 μ g/g resin となる。これは唾液浸漬した硬化体で得られた値に比べて約 170 倍も高値である。従って, この BP-3 が唾液中に溶出しているならば, 充分検出可能な濃度であるにも拘わらず検出されていない。このことは BP-3 が 0.23 μ g/mL 以上溶出するという報告 (22)は BP-3 ピークを誤認している可能性が高いと考えられる。また, BP-3 の毒性に関しては特に内分泌攪乱作用で, *in vitro*(57, 58)及び *in vivo*(58)でエストロゲン様作用のあることが報告されているが, 特に *in vivo* に関して EU の Scientific Committees(59)では非常に弱いエストロゲン様作用はあるが, その用量が非常に高濃度あることから, BP-3 によるエストロゲン様作用により重篤な健康障害を来す可能性には否定的な結果を報告している。しかし, その報告書内でも今後継続的な調査が必要であることも付記されている。この BP-3 は単離肝臓細胞で代謝され, 2,4-ジヒドロキシベンゾフェノンや 2, 2'-ジヒドロキシ-4-メトキシベンゾフェノンなどになり, こ

れらの物質が MCF-7 の増殖を促進するが BP-3 にはその作用がないことから, 体内に取り込まれた BP-3 が代謝され, エストロゲン様作用を発現する可能性を報告している(58)。このことに関しては公表されている報告が少ないので今後の研究の進展を待たなければ, リスク評価は出来ないであろう。また, BP-3 などは医療用具, 食品包装・容器などの各種プラスチック製品及び紫外線防止剤として化粧品などに使用されているので, 実態調査及び代謝活性に関して早急に対応すべきことであると考えられる。

Bis-GMA 系歯科充填用材料ではその硬化体を人工唾液に浸漬すると Bis-GMA 由来の物質が溶出していることを既に報告している(52)。本研究で唾液に硬化体を浸漬すると溶出物にビスフェノール A ビス (2,3-ジヒドロキシプロピル) エーテル (bisphenol A bis (2, 3- dihydroxypropyl) ether, CAS No: 5581-32-8, BADGE-2H₂O) と推定できるピークが確認された (図 22)。定性的な解析の段階であるが, 図 22 の A は 25ppb BADGE-2H₂O のクロマトグラムで, 唾液にこの BADGE-2H₂O を添加したクロマトグラムが図 22 の B である。図 22 の C はコンポジットレジン A のクロマトグラムで, これに等量の BADGE-2H₂O を添加した試料のクロマトグラムが図 22 の D である。図 22 の E はコンポジットレジン B のクロマトグラムである。このように BADGE-2H₂O に該当するピークが検出されているが, BADGE-2H₂O に近傍の分離が不完全なので同定定量は出来ていない。この物質の毒性に関する報告は殆どない。しかし,

缶詰などのコーティング剤として、ビスフェノール A グリシジールエーテル (bisphenol A diglycidyl ether, CAS No: 1675-54-3, BADGE) が加水分解して生成される物質である(61, 62). BADGE-2H₂O の食品中への移行を調べた報告によると 0.25 未満～4.3 μg/kg(62)及び2.6 mg/kg 程度(63)が検出されている. この物質のエストロゲン様作用の可能性も指摘されていること並びに曝露量が高いということから EU の SCF ではリスク評価を実施中である(64).

Bis-GMA 系充填用材料ではこの物質が多量に溶出している可能性が高いことから、唾液中への移行量を把握する必要性があり、早急に対応すべき課題ではないかと考えられる.

D-2.唾液中に浸漬した PC 製矯正用ブラケットからの溶出物の分析

PC 製品から食品への BPA 移行について詳細な報告(17)が EU でなされている. この報告の経口による曝露評価では PC 製容器からの BPA 曝露量を年齢 1.5 ～4.5 才(体重 14.5kg)で BPA を 0.010mg 摂取している場合では 1 日の摂取量(本文では Estimated Body Burdens, p249)を 700ng/kg 体重/日であり、缶詰からの BPA 摂取量を 1400ng/kg 体重/日(食品からの BPA 摂取量を 0.2mg とした場合)と評価している. 成人では缶詰とワインから 1 日当たり BPA 摂取量を 9000ng/kg 体重/日(食品からの BPA 摂取量を 0.6mg とした場合)と評価している. 前述したように EU の SCF(18)では最悪の場合として缶詰中の BPA 濃度を約 20μg/kg とし、体

重 18kg (4-6 才)の子供の 1 日の推定摂取量が 1200μg/kg 体重/日であり、成人(60kg)では缶詰とワインからの 1 日の推定摂取量をそれぞれ 480ng/kg 体重/日であると報告している. 加えて、US FDA では食品中の BPA 濃度を 3.7ppb BPA とし、CEDI(Cumulative Estimated Daily Intake, 累積推定 1 日摂取量)を 185ng/kg 体重/日(51)としている. これらの報告で FDA では食品に接触する物質の CEDI を BPA では 185ng/kg 体重/日としているので、EU の報告よりも FDA の報告を採用し、比較検討することとした.

PC 製矯正用ブラケットからの BPA 溶出に関する報告は極めて少ない. 2000 年初めまでの報告は日本歯科理工学会の歯科器材調査研究委員会報告書(1)にまとめられている. ブラケットの浸漬条件が異なるため、水系浸漬溶媒では BPA 溶出量は 0.01ppm (蒸留水, 37℃, 1 時間) (65) から 35.0ppm (蒸留水, 60℃, 14 週間) となっている. 人工唾液浸漬 (37℃, 12 週間) では最大 BPA 溶出量は 12.6μg/g resin で、最大 BPA 残留量は 35.2μg/g resin であることを報告している(53). しかし、これらの報告の多くは、使用実態とは懸け離れた条件での溶出である. 従って、極力、使用実態に近い環境であるヒト唾液を用いて、PC 製矯正用ブラケットからの BPA 溶出量を検討したところ、24 週間で最大 30.2μg/g resin であった. 従って、この値を用いて PC 製矯正用ブラケットからの BPA の 1 日推定摂取量を計算した. 条件として体重 20kg で 20 歯(レジン重量として約 360mg)にこのブラケットを適用したとすると 1 日当たりの推定

摂取量は 3.2ng/kg/日となる。この値は缶詰食品などからの BPA 推定摂取量(17, 18), 仮の TDI(18), FDA の CEDI(51)並びに低用量作用を発現する用量に比べて遙かに小さく、歯科用コンポジットレジン硬化体からの摂取量と同じように重篤な健康障害を来すとは考えにくい。が、歯科用コンポジットレジン硬化体からの摂取量に比べて PC 製矯正用ブラケットからの摂取量は多い。

PC は BPA を原材料として重合されるポリマーである。その重合調節に使用される物質としてフェノール、t-BuP、p-CP などが FDA(66)で使用されている。調べた PC 製矯正用ブラケットで重合調節剤として、同定された物質は t-BuP と p-CP であった。これらの物質も微量ではあるが唾液に移行していた。FDA では PC 重量の 5%以上は添加できない(66)となっているがその量に比べると溶出量は遙かに低値である。t-BuP の Log Pow は BPA の値に近いが、p-CP の Log Pow は 4.49 なので、BPA や t-BuP に比べて極性が高いと考えられる。従って、p-CP は水性溶媒には溶出しにくい物質である。ところがこれらの物質は唾液や人工唾液に PC 製矯正用ブラケットを浸漬すると材質中のそれらの量が必ず増加していた。同様に蒸留水に 37℃で 12ヶ月浸漬したところ残留 BPA が浸漬前に比べて 3.8 倍増加していた(67)ことから、PC 製矯正用ブラケットは水性溶媒に浸漬すると残留 BPA が増加すると考えられる。残留 BPA に加えて、残留 t-BuP と残留 p-CP 量も増加することから、PC 製矯正用ブラケットは水性溶媒では加水分解されていると考えら

れる。重合調節(停止)剤である t-BuP と p-CP の残留量が増加していることから、その加水分解はポリマーの重合停止部位から生じているのではないかと考えられる。

唾液でも同じ結果であり、またオートクレーブにより、唾液を変性させた場合にも残留 BPA、残留 t-BuP、残留 p-CP 量が増加すること(23)から、唾液中のエステラーゼやリパーゼなどによる加水分解の関与は小さいと考えられる。従って、PC 製矯正用ブラケットに残留している BPA、t-BuP、p-CP が唾液浸漬により増加しているので、これら物質の唾液への移行の可能性も考えられる。この移行はアーチワイヤーなどによるブラケットの物性的変化や食物などによる刺激により、唾液への移行が実験で用いた条件より過酷なため、増加することが懸念される。更に残留量が増加していることから継続的にこれら物質が溶出する可能性もある。更に前述したように t-BuP や p-CP もエストロゲン様に作用することが知られていること並びにこれら物質の毒性に関する情報が極端に少ないことなどからこのような物質の摂取を極力避けることが望ましいと考えられる。t-BuP の一般毒性は NTP(68)や EU の SCCNFP(69)で記載されているだけであり、p-CP に至ってはその記載(27)は皆無に等しい。

BPA の毒性について、NTP(16)や EU の ECB(18)の報告以後にも数多く報告されており、特に低用量作用(Low-dose effect)についても報告されている。

2 細胞期の胚を 1nM の BPA で培養すると未分化胚芽細胞期に到達する時間が

早まること即ち発育促進作用が認められ、更に BPA に曝露した未分化杯芽細胞である胚盤胞を胚移植することで生後 21 日における体重の有意な促進作用を報告し、着床前の BPA 曝露により次世代の発育に影響を与える可能性を示唆している(70)。この結果を支持するように、妊娠 6 日から授乳期間に飲料水から 0.1 と 1.2mg BPA/kg 体重/日で摂取させたラットの仔の体重が増加していることから、周産期では BPA に対する胎児の感受性が増加していることを報告している(71)。妊娠 11 から 17 日に（この間、毎日投与したか否かに関しては論文からは明きからではない）マウスに 2 μ g/kg 若しくは 20 μ g/kg BPA 皮下注して、出生してきた仔に対する影響を検討したところ 20 μ g/kg BPA で仔の雌で膈開口が有意に早くなっていることから BPA の低用量により、膈開口が早まることを報告し(72)、BPA の低用量作用の可能性を追認する結果となっている。100pM BPA で卵巣の顆粒膜細胞生存が抑制されたことから BPA によるアポトーシス並びに G2-M 期の停止が惹起されていることも報告されている(73)。

また、BPA を投与したラット子宮で *c-fos* が有意に発現されることも報告(74)され、BPA による遺伝子発現に関する報告も散見されるようになっていく。核受容体スーパーファミリーの 1 つとして、オーファン核受容体、SXR (Steroid and Xenobiotic Receptor) が発見され、CYP3A4 遺伝子が SXR の標的となっている。この SXR 発現誘導に種差があるので、動物種による内分泌攪乱作用の相違が明確になる可能性が考えられる。HepG2 細胞を

用いて、BPA がヒト SXR/PXR による転写を刺激するか否かをレポータージーンアッセイで検討したところ、BPA は生体異物応答エレメントのヒト SXR を介した転写を活性化し、BPA が CYP3A4 遺伝子のヒトに特異的なインデューサーであることを報告している(75)。これは内因性ステロイドや外因性物質の代謝などに影響を与える可能性を示唆している。同様にオーファン核受容体である Nur77 (NR4A1) も精巣のライディヒ細胞で黄体形成ホルモンによるステロイド合成に重要な役割を果たしているが、マウスライデッヒ腫瘍細胞である K28 細胞で BPA がこの Nur77 遺伝子発現を一過性に惹起し、その作用はプロテインキナーゼ阻害剤で抑制されることから、精巣ライデッヒ細胞のステロイド合成に影響を与える可能性も報告されている(76)。

エストロゲンなどはアロマトラーゼ (CYP19) により、アンドロゲンから合成されることが知られているが、このアロマトラーゼ遺伝子である *Cyp19* を欠損させたノックアウト (ArKO) マウスに 0.1% 若しくは 1% (w/w) BPA 含有飼料を 5 ヶ月間与えたところ、卵巣変性、子宮重量減少や大腿骨減少が用量依存的に改善された。このことから BPA により生殖器や骨組織に対してエストロゲン様作用を示すことが明らかにされた(77)。

これらの知見に加えて、PC 製矯正用ブラケット中に BPA, t-BuP, p-CP 残留量が増加していることから継続的にこれら物質が溶出する可能性がある。また、矯正用ブラケットには金属並びにポーセレンなどの代替品があること、加えて環境

や食品などからの BPA 摂取量が多いことから BPA, t-BuP や p-CP の摂取を極力少ないことが望ましい患者に対しては PC 製矯正用ブラケットの使用は回避すべきであると考えられる。

D-3. PVC 製グローブから唾液への移行量

可塑剤である DEHP を含有していると考えられる PVC 製グローブを片面唾液に接触させ、唾液中への DEHP 及びその加水分解物である MEHP を分析した。昨年度(41)では検出された DEHP 量は約 $0.8 \sim 2.3 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、MEHP 量は約 $0.04 \sim 0.47 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ であったが、本年度では昨年度と同じ製品で DEHP が検出された。しかし、その検出量は 24 時間唾液接触で約 $37 \text{ng}/\text{cm}^2$ と昨年度に比べて検出量が低下していた。昨年度検出されていた MEHP は本年度では検出限界以下 ($10 \text{ng}/\text{mL}$) であり、他の 1 製品では DEHP 及び MEHP は検出されなかった。概算ではあるが、グローブの片手指先部分 (5 指) の全表面積は約 110cm^2 なので、この指先部分が口腔内に常に接触し、唾液により濡れていたとする。この唾液に移行した DEHP を全て、摂取したと仮定するとその摂取量は $4.1 \mu\text{g}$ となる。しかしながら、この値は PVC 製グローブの指先を口腔内に常に含んだ状態であること、またその接触が 24 時間であること並びに歯科治療では治療後、必ず水や温水で嗽口することなどを考慮すると、歯科治療中に経粘膜吸収を無視した場合の DEHP 摂取量は少ないと考えられる。体重 10kg の子供が唾液に移行した DEHP を全て摂取したとすると、その推定摂取量は $0.41 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日

となる。これに対して、病院給食からの日本人の DEHP の 1 日推定摂取量が $519 \mu\text{g}$ であると報告されている (78)。この値と歯科治療で使用された PVC 製グローブからの摂取量を比較しても食品由来より、遙かに低値である。成人では PVC 製グローブから経皮的に $6.7 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日の DEHP を摂取していることが報告されている (28, 79) が、この値と比較しても低値である。また、室内空気 ($4.4 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日)、グローブ ($6.7 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日) や車内 ($0.9 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日) からの DEHP 複合曝露で成人では $12 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日を摂取しているが子供では室内空気 ($22 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日)、玩具で経口的に ($200 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日) と経皮的に ($9 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日)、車内 ($2 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日) からの複合曝露で DEHP の推定摂取量が $234 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日と報告されている (28, 79)。US CDC が子供の尿中のモノフタル酸エステル類の実態調査 (80, 81) をしたところ、DEHP の代謝物である MEHP よりもモノブチルフタル酸エステル (CAS No:131-70-4) の検出量が高かったこと並びに日本と韓国の飲料水やジュース中などのフタル酸エステル類の実態調査 (サンプル数が少ないが) をしたところ日本製赤ワインとビール中にジブチルフタル酸エステル (CAS No:84-74-2) と DEHP がそれぞれ、 $0.275 \text{mg}/\text{kg}$ と $0.127 \text{mg}/\text{kg}$ 存在していることを報告している (82) など、食品や玩具などからの摂取量が多いと考えられる。

DEHP の生殖毒性に関する報告は各国でリスク評価されている。特に医療用具からの曝露量が多いことと生殖器官の発達時期にある胎児、新生児、乳児及び子

供に対する危険性が危惧されている。

DEHP の TDI に関しては WHO では 25 μ g/kg/日 (83), EU の SCTEE では 37 μ g/kg/日 (29), 厚生省では 40-140 μ g/kg/日 (84), オランダでは 4 μ g/kg/日 (85), US EPA では RfD として 20 μ g/kg/日 (86) となっており, 調査した PVC 製グローブから摂取する DEHP 量はこれらの値に比較して遙かに低値である。これらのことから, 用いた PVC 製グローブからの曝露量は重篤な健康障害を惹起するとは考えにくい。しかし, PVC 製グローブの可塑剤として DEHP が使用されていない場合には他の可塑剤を使用しているため, どの様な可塑剤を使用しているかにより, その毒性が変わってくるために, また新たな問題が生じてくる可能性も否定できない。

摂取された DEHP の吸収は 200mg/kg まではラット, ヒト以外の霊長類, ヒトで約 50% (28) であり, 吸収された DEHP は肝臓や脂肪組織に蓄積され, DEHP 及びその代謝物の推定半減期はラット肝臓や脂肪組織及び他の組織ではそれぞれ 3-5 日と 1-2 日である (28, 83)。また, 排泄は種によりかなり異なるが, 尿中排泄はラット, マーモセット, ヒトではそれぞれ約 90%, 約 1% と 11-25% と記載されている (83)。DEHP の毒性に関しては前述のように各種報告がなされているが, その標的部位は精巣で, DEHP による雄性生殖・発生毒性が危惧されている。DEHP は主にセルトリ細胞に作用し生殖毒性を惹起する。そのために生殖細胞欠損を惹起することが *in vitro* や *in vivo* で報告されている (28)。また, DEHP の内分泌攪乱作用も高濃度 (1mM) では *in vitro* でエ

ストロゲン受容体と相互作用するが, *in vitro* の酵母スクリーニングやラット子宮肥大試験ではエストロゲン様作用を示さないこと並びに *in vivo* で抗アンドロゲン様作用を示すことも報告されている (28, 79) など極力, DEHP の摂取量を軽減することは国民の健康福祉の向上を考える上で重要なことであると考えられる。

E. 結論

唾液に 1, 6 週間浸漬した 2 種類の Bis-GMA 系コンポジットレジン硬化体溶出液を分析したところ, BPA, TEGDMA と BP-3 は何れも検出限界以下であった。

4 種類の PC 製矯正用ブラケットを 24 週間唾液に浸漬したところ, 最大溶出量は BPA, t-BuP と p-CP ではそれぞれ 30.2 μ g/g resin, 0.6 μ g/g resin, 1.6 μ g/g resin であり, それぞれの残留量は唾液浸漬前に比べて増加していた。また, 各物質の溶出量及び残留量は製品によりその値はかなり異なっていた。

2 種類の PVC 製グローブを 24 時間, 唾液に片面接触させたところ, DEHP は約 37ng/cm² と昨年度に比べて検出量が低下していた。昨年度検出されていた MEHP は本年度では検出限界以下 (10ng/mL) であった。他の 1 製品では DEHP 及び MEHP は検出されなかった。

現時点ではこれら検討した歯科材料からの溶出物による重篤な健康障害を来すとは考えにくい。PC 製矯正用ブラケットには金属並びにポーセレンなどの代替品があること, 加えて環境や食品などからの BPA 摂取量が多いことから, BPA

などによる低用量作用の問題が解決するまでは BPA, t-BuP や p-CP の摂取を極力少ないことが望ましい患者に対しては PC 製矯正用ブラケットの使用は回避すべきであると考えられる。

F.健康危険情報

特記事項なし。

G.研究発表

該当なし。

H.知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

該当なし。

I. 参考文献

- (1)日本歯科理工学会歯科器材調査研究委員会(平成 12 年 3 月): 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
- (2)Olea, N., Pulgar, R., Perez, P., Olea-Serrano, F., Rivas, A., Novillo-Fertrell, A., Pedraza, V., Soto, A.M., Sonnenschein, C., (1996), Estrogenicity of resin-based composites and sealants used in dentistry, *Environ. Health Perspect.*, 104, 298-305.
- (3)Nathanson, D., Lertpitayakun, P., Lamkin, M.S., Edalpour, M., Chou, L.L., (1997), In vitro elution of leachable components from dental sealants, *JADA*, 128, 1517-1523.
- (4)Hamid, A., Hume, W.R., (1997), A study

of component released from resin pit and fissure sealants in vitro, *Dent. Mater.*, 13, 98-102.

- (5)Spahl, W., Budzikiewicz, H., Geurtsen, W., (1998), Determination of leachable components from four commercial dental composites by gas and liquid chromatography/mass spectrometry, *J. Dent.*, 26, 137-145.
- (6)Geurtsen, W., Spahl, W., Leyhausen, G., (1999), Variability of cytotoxicity and leaching of substances from four light-curing pit and fissure sealants, *J. Biomed. Mater. Res.*, 44, 73-77.
- (7)Lewis, J.B., Rueggeberg, F.A., Lapp, C.A., Ergle, J.W., Schuster, G.S., (1999), Identification and characterization of estrogen-like components in commercial resin-based dental restorative materials, *Clin Oral Invest*, 3, 107-113.
- (8)Arenholt-Bindslev, D., Breinholt, V., Preiss, A., Schmalz, A., (1999), Time-related bisphenol-A content and estrogenic activity in saliva samples collected in relation to placement of fissure sealants, *Clin. Oral Invest.*, 3, 120-125.
- (9)Schmalz, G., Preiss, A., Arenholt-Bindslev, D., (1999), Bisphenol-A content of resin monomers and related degradation products, *Clin. Oral. Invest.*, 3, 114-119.
- (10)Noda, M., Komatsu, H., Sano, H., (1999) HPLC analysis of dental resin composites components, *J. Biomed. Mater. Res.*, 47, 374-378.

- (11) Fung, E.Y.K., Ewoldsen, N.O., St. Germain, JR, H.A., Marx, D.B., Miaw, C-H., Siew, C., Chou, H-N., Gruninger, S.T., Meyer, D.M., (2000), Pharmacokinetics of bisphenol A released from a dental sealant, *J.A.D.A.*, 131, 51-58.
- (12) Moon, H-J., Lim, B-S., Lee, Y-K., Kim, C-W., (2000), Determination of residual monomers in dental pit and fissure sealants using food/oral simulating fluids, *Bull. Korean Chem. Soc.*, 21, 1115-1118.
- (13) Örtengren, U., Wellendorf, H., Karlsson, S., Ruyter, I.E., (2001), Water sorption and solubility of dental composites and identification of monomers released in an aqueous environment, *J. Oral Rehabil.*, 28, 1106-1115.
- (14) Pulgar, R., Olea-Serrano, M.F., Novillo-Fertrell, A., Pazos, P., Pedraza, V., Navajas, J-M., Olea, N., (2000), Determination of bisphenol A and related aromatic compounds released from Bis-GMA-based composites and sealants by high performance liquid chromatography, *Environ. Health Perspect.*, 108, 21-27.
- (15) National Toxicology Program, National Toxicology Program Chemical Repository, Bisphenol A.
- (16) National Toxicology Program, U.S. Department of Health and Human Services National Institute of Environmental Health Sciences, National Institutes of Health, (2001), National Toxicology Program's Report of the Endocrine Disruptors Low-Dose Peer Review.
- (17) European Chemicals Bureau, (2002), Risk Assessment of Bisphenol A (Draft, R325_0202_env_hh), *Human Health*, 89-280.
- (18) European Commission, Scientific Committee on Food, (2002), Opinion of the Scientific Committee on Food on Bisphenol A, SCF/CS/PM/3936 Final.
- (19) 経済産業省化学物質審議会管理部会・審査部会 内分泌かく乱作用検討小委員会, (2002), 「内分泌かく乱作用を有すると疑われる」と指摘された化学物質の個別物質有害性評価書について, ビスフェノール A の有害性評価.
- (20) Lee, S. -Y., Hung, H.-M, Lin, C.-Y, Shin, Y.-H., (1998), Leached components from dental composites in oral simulating fluids and the resultant composite strengths., *J. Oral. Rehabil.*, 25, 575-588.
- (21) Spahl, W., Budzikiewicz, H., Geurtsen, W., (1998), Determination of leachable components from four commercial dental composites by gas and liquid chromatography/mass., *J. Dent.*, 26, 137- 145.
- (22) Tarumi, H., Imazato, S., Wada, H., Narimatsu, M., Matsuo, M., Ebisu, S., (2002), Estrogenic activity of proprietary composites including photostabilizer, 2-hydroxy-4-methoxybenzophenone., *J Dent Res*, 81(SI A), A-83.
- (23) Hongo, T., Namiki, T., Hikage, S., Nakazawa, Y., Hamazaki, T., Sato, A., (2002), Leachability of bisphenol A from plastic bracket immersed in human

- saliva, *J Dent Res*, 81(SI A), A-83.
- (24)Routledge, E.J., Sumpter, J.P., (1997), Structural features of alkylphenolic Chemicals associated with estrogenic activity., *J Biol Chem.*, 272, 3280-3288.
- (25) Yamasaki, K., Takeyoshi, M., Yakabe, Y., Sawaki, M., Imatanaka, N., Takatsuki, M., (2002), Comparison of reporter gene assay and immature rat uterotrophic assay of twenty-three chemicals, *Toxicology*, 170, 21-30.
- (26)Hashimoto, Y., Moriguchi, Y., Oshima, H., Kawaguchi, M., Miyazaki, K., Nakamura, M., (2001), Measurement of estrogenic activity of chemicals for the development of new dental polymers., *Toxicology in Vitro*, 15, 421-425.
- (27)General Electric Company, (2000), Robust summary on p-cumylphenol, January 28 2000.
- (28)European Chemicals Bureau(2001): Risk Assessment of bis(2-ethylhexyl) phthalate (Consolidated Final Report, R042_0109_env_hh_4-6).
- (29)European Commission, Scientific Committee on Toxicity, Ecotoxicity and the Environment, (1998), Opinion on Phthalate migration from soft PVC toys and child-care articles-Data made available since the 16th of June 1998, opinion expressed at the 6th CSTEE plenary meeting, Brussels, 26/27 November 1998.
- (30)MAFF U.K.,(1996), Phthalates in infant formulae. Food Surveillance Information Sheet 83.
- (31)U.S. Department of Health and Human Services, National Toxicology Program, Center for the Evaluation of Risks to Human Reproduction, (2000), NTP-CERHR Expert Panel Report of Di(2-ethyl-hexyl)phthalate, NTP-CERHR-DEHP-00.
- (32)Inspectorate for Health Protection, The Netherlands, (2001), Plasticisers in Soft PVC Toys, Report number: NDTOY002 /01.
- (33)U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Agency for Toxic Substances and Disease Registry,(2000), Draft Toxicological Profile for Di(2-ethylhexyl)phthalate.
- (34)Food and Drug Administration, Center for Biologics Evaluation and Research, Center for Devices and Radiological Health, (1999), Workshop on plasticizers, Scientific issues in blood collection, storage and transfusion (Plasticizers in blood bags), October 18 1999.
- (35)U.S. Food and Drug Administration, Center for Devices and Radiological Health(2001), Safety Assessment of Di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) Released from PVC Medical Devices.
- (36)Health Canada, Medical Devices Bureau, Therapeutic Products Directorate, Health Products & Foods Branch, (2001, Revised:2002), DEHP in Medical Devices: An Exposure and Toxicity Assessment, February 2002.
- (37)Tickner, J.A., Schettler, T., Guidotti, T., McCally, M. and Rossi, M., (2001),

- Health risks posed by use of Di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP) in PVC medical devices: A critical review, *Am. J. Ind. Med.*, 39, 100-11.
- (38)経済産業省化学物質審議会管理部会・審査部会 内分泌かく乱作用検討小委員会, (2002), 「内分泌かく乱作用を有すると疑われる」と指摘された化学物質の個別物質有害性評価書について, フタル酸ジ (2-エチルヘキシル) の有害性評価.
- (39)Tsumura Y, Ishimitsu S, Kaihara A, Yoshii K, Nakamura Y, Tonogai Y.,(2001), Di(2-ethylhexyl) phthalate contamination of retail packed lunches caused by PVC gloves used in the preparation of foods. *Food Addit Contam.* , 18, 569-579.
- (40)Tsumura Y, Ishimitsu S, Saito I, Sakai H, Kobayashi Y, Tonogai Y., (2001), Eleven phthalate esters and di(2-ethylhexyl)adipate in one-week duplicate diet samples obtained from hospitals and their estimated daily intake. *Food Addit Contam.*, 18, 449-460.
- (41)佐藤温重, 本郷敏雄, 宮崎 隆, 玉置幸道, 井口詔雄, 佐久井徳広, 医療用具の溶出試験情報の調査, 平成12年度厚生科学研究費医薬安全総合研究事業, 医療用具の適正使用に関する研究, 155-172.
- (42)厚生労働省「塩化ビニル製手袋の食品への使用について」, 衛化第31号 平成12年6月14日.
- (43)日本薬学会編, (2000), 衛生試験法・注解2000, 593-595.
- (44)本郷敏雄, 日景 盛, 西村文夫, 佐藤温重, 一條秀憲, (2000), Bis-GMA系歯科材料からのビスフェノール A 溶出について, *歯科材料・器械*, 19(特別号 36), 39.
- (45)宮崎光治, 堀部 隆, 水上義文, 井上 廣, (1983), コンポジットレジンからの溶出物の高速液体クロマトグラフィーによる分析, (第1報) 2ペースト型コンポジットレジンについて, *歯科材料・器械*, 2, 8-17.
- (46)Jolanki, R., Kanerva, L., Estlander, T.,(1995), Occupational allergic contact dermatitis caused by epoxy diacrylate from ultraviolet light cured paint, and bisphenol A from dental composite resin. *Contact Dermatitis*, 33, 94-99.
- (47)1961A CONCISE ORTHODONTIC BONDING SYSTEM PASTE B, MATERIAL SAFETY DATA SHEET, <http://msds.pdc.cornell.edu/msds/siri/msds/h/q162/q403.html>.
- (48)Tennessee Department of Health, Bureau of Health Services, Oral Health Services Section, Standards of Practice for Dental Public Health,(2000), American Dental Association Statement on estrogenic effects of bisphenol A lacking in dental sealants in Section 7, American Dental Association, Position Statements, 7-7 ~ 7-8, November 2000.
- (49)British Dental Association, (1998), BDA Fact File, Bisphenol A, July 1998.
- (50)Söderholm, K-J., Odont, M.P., Mariotti, A., (1999), Bis-GMA – based resins in dentistry: are they safe., *J.A.D.A.*, 130,

- 201-209.
- (51) U. S. Food and Drug Administration, Center for Food Safety & Applied Nutrition, Office of Food Additive Safety, (2002), CEDI/ADI Table in "Food Contact Substance Notification Program's Cumulative Estimated Daily Intake/Acceptable Daily Intake Database", May 2002.
- (52) 本郷敏雄, 大槻昌幸, 田上順次, 佐藤温重, (1999), 歯科材料中の分析, 平成 10 年度厚生科学研究費補助金報告書, 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, 22-32.
- (53) 本郷敏雄, 日景 盛, 大槻昌幸, 田上順次, 佐藤温重, (2000), 歯科材料中の分析, 平成 11 年度厚生科学研究費補助金報告書, 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, 21-53.
- (54) 宮谷信太郎, 柳澤洋之, 芝 樺彦, 丸谷喜彦, 塚崎弘明, (2001), 光重合型充填材から溶出する BPA の測定, 歯科材料・器械, 20 (特別号 38), 110.
- (55) 平林 茂, 平澤 忠, 西村文夫, (2000), コンポマー及びコンポジットレジン組成とそれら硬化体からのビスフェノール A の溶出, 歯科材料・器械, 19, 519-532.
- (56) 本郷敏雄, 佐藤温重, (1998), 高分子有機材料からのモノマー等の溶出動態, 平成 9 年度厚生科学研究費補助金報告書, 高分子有機材料系医療用具に関する研究, 7-19.
- (57) Schlumpf, M., Cotton, B., Conscience, M., Haller, V., Steinmann, B., Lichtensteiger, W., (2001), In vitro and in vivo estrogenicity of UV sunscreens, Environ. Health Perspect., 109, 239-244.
- (58) Nakagawa, Y., Suzuki, T., (2002), Metabolism of 2-hydroxy-4-methoxybenzophenone in isolated rat hepatocytes and xenoestrogenic effects of its metabolites on MCF-7 human breast cancer cells.
- (59) European Commission, Scientific Committee for Cosmetic Products and Non-Food Products intended for Consumers, (2001), Opinion on the Evaluation of Potentially Estrogenic Effects of UV-filters adopted by the SCCNFP during the 17th Plenary meeting of 12 June 2001.
- (60) European Commission, Scientific Committee on Food, (1999), Opinion on Bisphenol A diglycidyl ether (BADGE), SCF/CS/PM3343 Final, 6/04/99.
- (61) UK Food Standard Agency, (2000), BADGE and Related Substances in Canned Foods, Food Surveillance Information Sheet, Number 9/00, November 2000.
- (62) Munguia-Lopez, EM, Soto-Valdez, H., (2001), Effect of heat processing and storage time on migration of bisphenol A (BPA) and bisphenol A-diglycidyl ether (BADGE) to aqueous food simulant from Mexican can coatings., J Agric Food Chem, 49, 3666-3671.
- (63) Hammarling, L, Gustavsson, H, Svensson,

- K, Oskarsson, A., (2000), Migration of bisphenol-A diglycidyl ether (BADGE) and its reaction products in canned foods., *Food Addit Contam*, 17, 937-943.
- (64)EU Commission, (2002), Commission Directive 2002/16/EC of 20 February 2002, *Official J Europ Commun.*, L51/27-31.
- (65)Suzuki, K., Ishikawa, K., Sugiyama, K., Furuta, H., Nishimura, F., (2000), Content and release of bisphenol A from polycarbonate dental products., *Dent Mater J.*, 19, 389-395.
- (66)US FDA, Indirect Food Additives: Polymers, *Federal Register* 1 April, 2000., §177.1580 Polycarbonate resins, 288-289.
- (67)Watanabe M, Hase T, Imai Y., (2001), Change in the bisphenol A content in a polycarbonate orthodontic bracket and its leaching characteristics in water, *Dent Mater J*, 20, 353-358.
- (68)European Commission, Scientific Committee for Cosmetic Products and Non-Food Products intended for Consumers, (2001), Concerning an Initial List of Perfumery Materials Which must not Form Part of Fragrances Compounds Used in Cosmetic Products, Adopted by the SCCNFP during the 12th Plenary meeting of 3 May 2000, SCCNFP/0320/00, final.,
- (69)National Toxicology Program, National Toxicology Program Chemical Repository, 4-tert-butyl phenol.
- (70)Takai, Y., Tsutsumi, O., Ikezuki, Y., Kamei, Y., Osuga, Y., Yano, T., Taketani, Y., (2001), Preimplantation exposure to bisphenol A advances postnatal development., *Reprod Toxicol.*, 15, 71-74.
- (71)Rubin, B.S., Murray, M.K., Damassa, D.A., King, J.C., Soto, A.M., (2001), Perinatal exposure to low doses of bisphenol A affects body weight, patterns of estrous cyclicity, and plasma LH levels., *Environ. Health Perspect.*, 109, 675-680.
- (72)Honma, S., Suzuki, A., Buchanan, D.L., Katsu, Y., Watanabe, H., Iguchi, T., (2002), Low dose effect of in utero exposure to bisphenol A and diethylstilbestrol on female mouse reproduction., *Reprod Toxicol.*, 16, 117-122.
- (73)Xu, J., Osuga, Y., Yano, T., Morita, Y., Tang, X., Fujiwara, T., Takai, Y., Matsumi, H., Koga, K., Taketani, Y., Tsutsumi, O., (2002), Bisphenol A induces apoptosis and G2-to-M arrest of ovarian granulosa cells., *BBRC*, 292, 456-462.
- (74)Steinmetz, R., Mitchner, N.A., Grant, A., Allen, D.L., Bigsby, R.M., Ben-Johnathan, N., (1998), The xenoestrogen Bisphenol A induces growth, differentiation, and c-fos gene expression in the female reproductive tract., *Endocrinol*, 139, 2741-2747.
- (75)Takeshita, A., Koibuchi, N., Oka, J., Taguchi, M., Shishiba, Y., Ozawa, Y., (2001), Bisphenol-A, an environmental

- estrogen, activates the human orphan nuclear receptor, steroid and xenobiotic receptor-mediated transcription., *Eur. J. Endocrinol.*, 145, 513-517.
- (76) Song, K-H., Lee, K., Choi, H-S., (2002), Endocrine disrupter bisphenol A induces orphan nuclear receptor Nur77 gene Expression and steroidogenesis in mouse testicular Leydig cells., *Endocrinol.*, 143, 2208-2215.,
- (77) Toda, K., Miyaura, C., Okada. T., Shizuta, Y., (2002), Dietary bisphenol A prevents ovarian degeneration and bone loss in female mice lacking the aromatase gene (*Cyp19*), *Eur. J. Biochem.* 269, 2214-222.
- (78) 外海泰秀, 酒井 洋, 小林ゆかり, 斎藤 勲, 石光 進, 津村ゆかり, 開原亜樹子, (2000), フタル酸エステル類の食品汚染実態及び摂取量に関する調査研究, 平成 11 年度厚生科学研究費補助金 (生活安全総合研究事業) 5-50.
- (79) European Commission, Scientific Committee on Toxicity, Ecotoxicity and the Environment, (2002), Opinion on the results of the Risk Assessment of Bis(2-ethylhexyl)phthalate, REPORT VERSION (Human Health), September 2001, Carried out in the framework of Council Regulation(EEC)793/93 on the evaluation and control of the risks of existing substances., C2/JCD/csteeop/DEHP/HH/09012002/D(02), Opinion expressed at the 29th CSTE plenary meeting, Brussels, 09 January 2002.
- (80) Broock, J.W., Caudill, S.P., Silva, M.J., Hilborn, E.D., (2002), Phthalate monoesters levels in the urine of young children., *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 68, 309-314.
- (81) US Centers for Disease Control and Prevention, (2001), National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals, March 2001.
- (82) Yano, K., Hirosawa, N., Sakamoto, Y., Katayama, H., Moriguchi, T., Joung, K.E., Sheen, Y.Y., Asaoka, K., (2002), Phthalate levels in beverages in japan and korea., *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 68, 463-469.
- (83) Di(2-ethylhexyl)phthalate, (1996), Guidelines for drinking-water quality, 2nd ed., Vol. 2. Health criteria and other supporting information., Geneva, World Health Organization, 530-540.
- (84) 厚生省, (2000), 塩化ビニル製手袋の食品への使用について, 衛化第 31 号, 平成 12 年 6 月 14 日, (別添 2) DEHP の安全性評価について (概要).
- (85) The Netherlands, National Institute of Public Health and the Environment, (2001), Phthalates, Bis(2-ethylhexyl) phthalate, Dibutyl phthalate, Diethyl phthalate and Butylbenzyl phthalate, In Re-evaluation of human-toxicological maximum permissible risk levels, RIVM report 711701 025, 134-142.
- (86) US EPA(2002), IRIS, Di(2-ethylhexyl)-phthalate.

表 1 歯科用充填材料からのBPA溶出量

歯科材料	製品名	分析法	未硬化体中のBPA量	硬化体からの溶出量	抽出条件	精度管理	文献
コンポジットレジン	Tetric, Charisma, Pekalux	HPLC, UV(280, 254nm)	5-877µg/g (pH7)				1
	30			ND			4
	Definite, Dyract AP, Z100, Solitaire, Clearfil AP-X, Tetric Ceram						5
	21	HPLC, UV(208nm)	Bisfil P, Fluoroshieldで検出		5mL アセトニトリル		6
	CLEARFIL AP-X, Restorative Z-100, Lite Fil, Estio LC, PRODIGY	HPLC, UV(205nm)	0.1-2.2ng/mg (BPAと疑われる成分として)		500mgをアセトニトリルに溶解	100ng/mL検出値	9
	TPH Spectrum	HPLC, UV(205, 225nm)		ND	5mL 水, 37°C, 4h, 24h, 7日, 60日, 180日間浸漬		12
セメント	Brilliant, Pekalux, Slux, Z-100, Charisma, Polofil, Tetric	HPLC, UV(280nm)	<2-1550ng/mg (pH7)	6-12ng/mg (pH7)	硬化体1mL水, 24h:未硬化体1mL水に分數	検出限界:0.2µg/mL, 定量下限値:0.23µg/mL	13
	Alcaglass, C&B Cement, Sono-Cem, Targis, Vario-Link II	HPLC, UV(205, 225nm)		ND	5mL 水, 37°C, 4h, 24h, 7日, 60日, 180日間浸漬		12
シーラント	Delton	HPLC, UV(280, 254nm)	74µg/g(pH7)	89.8-931.0µg (50mg適用後1時間でえられた唾液中の濃度), 16例	口腔内唾液, 18時間		1
	Delton, Concise, Helioseal, PrismaShield, Seal-Rite I, Seal-Rite II, Defender	HPLC, UV(215nm), Diode array UV(210-400nm), GC/MS		ND(GC/MSでもDeltonのみではND)	95% エタノール, 4分間		2
	Concise, UltraSeal, Pit and Fissure Sealant, Prisma Shield Compules, Helioseal F, Delton(2パッチ)	HPLC, UV(215nm)			4mL 水, 室温		3
	Fissurit F, Helioseal, Visio seal, Delton Plus	GC/MS		ND	5mL, 24h, 水若しくはDMEM		5
	8	HPLC, UV(208nm)	Deltonで検出		5mLアセトニトリル		6
	Visio-Seal, Delton LC pit and fissure sealant Clear,	HPLC, FL (Aex: 275nm, Aem:300nm)		Visio-Sealで0.1ppm以下, Deltonで0.1ppm以下-2.8ppm	ヒトに適用直後の唾液, 適応後1, 24時間後の唾液をエタノールで除蛋白した溶液	検出下限値:0.1ppm, 定量下限値:0.3ppm	7
	Delton Opaque Light-cure Pit and Fissure Sealant	HPLC, FL (Aex: 278nm, Aem:315nm)		硬化体を5mL生食に24時間浸漬した場合は検出限界以下, ヒトに適用1, 3時間後の唾液に5.8-105.6ppb検出, 24時間後と血清には検出されない	Extract-Clean(500mg)の固相抽出	5ppb	10
	Bisco Pit & Fissure Sealant, Elite, Fissurit F, Ultraseal XT Plus, Concise	HPLC, GC/MS		Bisco Pit & Fissure Sealant, Fissurit Fで75%エタノール浸漬1日で0.13, 1.4µg/mg, 28日で0.18, 3.96 µg/mg	10mL人工唾液, 95%エタノール, 37°C, 1, 7, 14, 21, 28日間浸漬		11
Delton	HPLC, UV(280nm)	6ng/mg (pH7)	856ng/mg (pH7)	硬化体1mL水, 24h:未硬化体1mL水に分數	検出限界:0.2µg/mL, 定量下限値:0.23µg/mL	13	

表2 物理化学的性状

物質名	CAS番号	系統名	分子式	分子量	性状	物性									
						沸点	融点	比重	蒸気圧	Log Pow	溶解度	pKa	UV max		
ビスフェノール A (BPA)	80-05-7	4,4'-(1-メチルエチリデン)ビスフェノール	C ₁₅ H ₁₆ O ₂	228.29	白色結晶若しくは薄片状で特異的フェノール臭(1)	250-252°C(18mmHg) (2), 220°C(4mmHg) (4)	152-153°C(2), 153-156°C (4)	1.2 (2)	87Pa(190°C) (2), 193°C (4)	3.32 (2)	水には実際には不溶(1,2)だが25°Cでは120mg/L(3), 21.5°Cでは<1000mg/L溶解(4), アルカリ性水溶液・アルコール・アセトンに可溶(1)		エタノール中で285, 278, 227nm, メタノール中で279, 226.5nm (4)		
p-tert-Butylフェノール (t-BuP)	98-54-4	4-(1,1-ジメチルエチル)フェノール	C ₁₀ H ₁₄ O	150.22	白色結晶若しくは薄片状(4)	237°C(1), 239°C(4)	98°C(1), 101°C(4)	0.908 (80/4), (4)	1mmHg (70°C) (4)	2.4-3.4(2), 3.31 (3)	冷水には不溶(1)だが, 25°Cでは580mg/L(3), アルコール・エーテルに可溶(1)	10.4(25°C) (3)			
p-クミルフェノール (p-CP)	599-64-4	4-(α,α-ジメチルベンジル)フェノール	C ₁₅ H ₁₆ O	212.29		335°C(5)	72°C (5)			4.49 (5)					
2-ヒドロキシ-4-メトキシベンゾフェノン (BP-3)	131-57-7	2-ヒドロキシ-4-メトキシベンゾフェノン	C ₁₄ H ₁₂ O ₃	228.25	白色から灰色がかかった白色粉末(4)	150-160°C(5mmHg) (4)	65°C(3), 66°C(4)		1.42E-006 mmHg (3)	3.79(3)	水には不溶(1mg/mL, 20°C(4), 69.6mg/L, 25°C(3)), DMSOとアセトンには>100mg/mL, 20°C(4), 95%エタノールでは10-50mg/mL, 20°C(4), トルエンには可溶(4)		メタノール中で325, 287, 242, 220nm (4)		
トリエチレングリコールジメタクリレート (TEGDMA)	109-16-0	2,2'-エチレンジオキシジエチルジメタクリレート	C ₁₄ H ₂₀ O ₆	286.33		170-172°C(5.00E+00mmHg) (3)			0.00094mmHg (25°C) (3)	1.88(3)	水には37°Cで3600mg/L(3)				

(1) The Merck Index 13th (2001) Whitehouse Station, NJ, Merck & Co., Inc.
 (2) International Chemical Safety Cards. Bisphenol A ICSO 0634, para-tert-Butylphenol 0637
 (3) SFG The Physical Properties Databases(PHYSPROP)
 (4) NTP, NTP CHEMICAL REPOSITORY
 (5) Robust Summary On p-Cumylphenol, General Electric Company, January 28 2000

表3 フタル酸ジ-2-エチルヘキシルの測定条件

GC		Trace(サーモクエスト)、Voyager(サーモクエスト)	
カラム	SGE社、BPX-5 25m×0.22mm I.D.×0.25µm Film		
カラム温度	60°C(0.05min)－10°C/min－300°C(3min)		
注入口温度	250°C		
キャリアーガス	He(1.4mL/min)		
インレット温度	260°C		
注入方法	スプリットレス注入法(1µL)		
MS			
イオン化法	EI		
イオン化電圧	70eV		
イオン源温度	250°C		
検出モード	SIM		
定量イオン			
対象物質の測定イオン			
測定対象物質	定量用イオン	確認用イオン	
フタル酸ジ-2-エチルヘキシル	149	167	
サロゲート物質の測定イオン			
サロゲート物質	定量用イオン	確認用イオン	
フタル酸ジ-2-エチルヘキシル-d4	153		
シリンジスパイク物質の測定イオン			
シリンジスパイク物質	定量用イオン	確認用イオン	
フタル酸ジ-n-オクチル-d4	153		

表4 フタル酸モノ-2-エチルヘキシルの測定方法

GC/MS		
GC		Trace(サーモクエスト) Voyager(サーモクエスト)
GC条件		
カラム	SGE社、BPX-5 25m×0.22mm I.D.×0.25µm Film	
カラム温度	60°C(2min)－10°C/min－300°C(10min)	
注入方法	スプリットレス	
注入口温度	250°C	
注入量	1µL	
キャリアーガス	He(1.4mL/min)	
インレット温度	280°C	
MS条件		
イオン化法	EI	
イオン化電圧	70eV	
イオン源温度	250°C	
検出モード	SIM	
定量イオン		
測定対象物質の測定イオン		
対象物質	定量イオン	確認イオン
Mono-ethylhexylphthalate	163	149
内標準物質物質の測定イオン		
内標準物質物質	定量イオン	
Di-n-butylphthalate-d4	153	
シリンジスパイク物質の測定イオン		
シリンジスパイク物質	定量イオン	
Di-n-octylphthalate-d4	153	

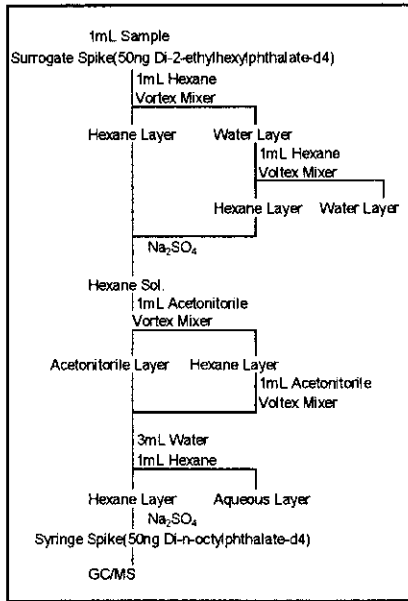


図1 フタル酸ジ-2-エチルヘキシルの前処理方法

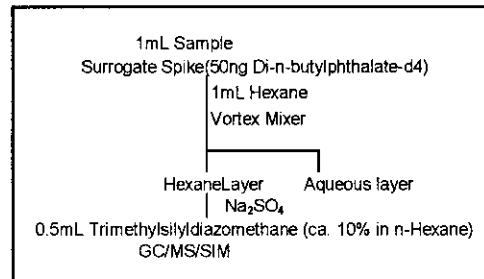


図2 フタル酸モノ-2-エチルヘキシルの前処理方法

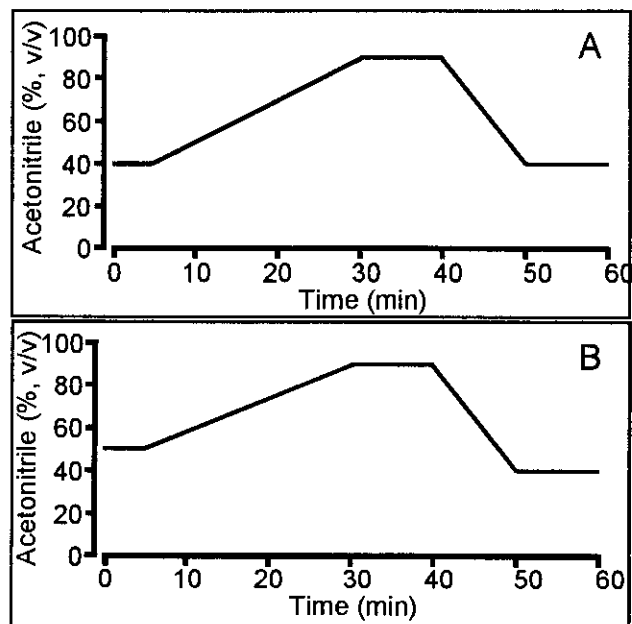


図3 Linear gradientの条件