



歯科用貴金属合金
安全性試験レポート
Vol.3

メタルセラミック修復用貴金属合金及び金合金
溶出試験と *in vitro* による細胞毒性試験

目次

1. はじめに	2
2. 歯科用合金の構成と金属アレルギー	3
2.1 歯科用合金の構成	3
2.2 金属アレルギーを発症する可能性がある金属	3
3. 試験方法	5
3.1 使用貴金属合金の種類	5
3.2 試験溶液	6
3.3 各試験方法	6
4. 試験結果	9
4.1 溶出試験結果	9
4.2 細胞毒性試験結果	10
5. 考察	11
5.1 メタルセラミック修復用貴金属合金の溶出試験結果及び細胞毒性試験結果	11
5.2 金合金の溶出試験結果及び細胞毒性試験結果	11
6. まとめ	11

メタルセラミック修復用貴金属合金及び金合金 溶出試験と *in vitro* による細胞毒性試験

山本貴金属地金株式会社
生体科学安全研究室

1. はじめに

現在、医療分野では、高度医療の充実が拡大されるとともに、福祉や保険制度、インフォームドコンセントなどの広がりを見せている。更に情報化社会の発展も伴い、医療従事者の枠を越えて、あらゆる化学物質の生体に対する安全性について社会的関心が高まりつつあり、歯科医療でも同様のことである。

歯科材料は、口腔内の厳しい環境で使用されるため、為害性のない安定した材質と機能性を有することが条件である。

2005年4月に薬事法が改正され、従来よりもハイレベルで、確実な安全性を提供することが歯科材料を含めた医療機器に求められるようになった。

当社では、このような社会的変化や薬事法の重要性を考慮し、安全性を提供するメーカーとして、物理化学的性質、機械的性質にさらに安全性を強化した製品開発へ大きくシフトした。そのため、2003年から高知大学医学部腫瘍病態学講座口腔腫瘍制御学との共同研究に取り組むとともに、2005年には同大学医学部内に生体科学安全研究室を設置した。そして、安全性試験の実施状況をレポート化し、Vol.1の“安全性シリーズ”では試験の詳細な解説を行い、Vol.2では“ZEO METALシリーズによる「溶出試験と *in vitro* による細胞毒性試験」を紹介した。

貴金属を主体とした歯科用合金は、銅、亜鉛、錫、インジウムなどの多種の非貴金属が添加されており、非貴金属の種類や添加量は、合金によって異なる。合金の操作性や物理化学的性質などの特性については、詳細な報告が多いが、^{1)~5)} 溶出特性や細胞毒性の報告例はまだ少ない。したがって、少しでも多くのこれらに関する安全性情報を提供することが歯科医療従事者や患者の安心にもつながると確信している。

今回の“安全性シリーズ Vol.3”では、Vol.2の追加としてメタルセラミック修復用貴金属合金7種類と金合金7種類の「溶出試験と *in vitro* による細胞毒性試験」をまとめた。

今回の溶出試験液では、MO5培養液のみを用いているが、これはMO5培養液が擬似生体内環境であり、細胞毒性試験と直接リンクしていることから、データとして最も信頼があり、他の試験への応用も可能と考えられる。

今後“安全性シリーズ”が、当社の製品をより安心して使っていただく為の何らかの手助けになっていただければ幸いである。

2. 歯科用合金の構成と金属アレルギー

2.1 歯科用合金の構成

歯科用合金は、金、銀、白金、パラジウムなどの貴金属を主体としたものやニッケル、クロム、コバルト、チタンなどの非貴金属を主体としたものがあり、用途に応じて使い分けられる。また、充填用として水銀を含有したアマルガム合金も古くから使用されている。歯科用合金は、特長や効果を持たすために合金の種類によっては数種類もの金属から構成されているが、当然のことながら、毒性を示すカドミウム、ベリリウム、鉛などは使用できない。これらの添加金属の役割については、今後機会があれば解説することにした。

2.2 金属アレルギーを発症する可能性がある金属^{6)~18)}

金属アレルギーが発症するまでのメカニズムについては、“安全性シリーズ Vol.2”で解説したが、今回の解説では、どの金属がアレルギーを発症する金属であるか、また起こしやすいかについて触れていくこととする。

この話を結論から述べると「金属アレルギーを発症する可能性のある金属は使用金属全て」である。これに対して、「金は王水にしか溶けないのではないか」また「チタンは生体適合性が良く金属アレルギーを発症しないのではないか」と考える人がいるのではないと思われる。しかし、金属アレルギーが発症する為には金属がイオン化し、更に抗体に感作される必要があることを“安全性シリーズ Vol.2”で解説した。この点から考えると、「王水にしか溶けない金が何故アレルギーを起こすのか」と疑問に思われても当然である。実は金は、口腔内においても溶出している。しかしながら安定性が非常に良く、他の金属の溶出量と比較しても極めて少ない溶出量である。

また、生体適合性が非常に高いと言われているチタンについても、近年適用される患者数の増加に伴い、金属アレルギーの報告例が見られる。これはチタンが生体適合性に優れていることと同時に、以前は日常生活でチタンに触れる事があまり無かったことが要因と考えられる。

国内で歯科用として使用されている代表的な金属を表1の周期表に示す。主要構成から微量添加まで約30種類の金属（周期表中の黄色部分）が使用されている。また、それらの中で主に金属アレルギー報告例が見られる金属を青文字で示し、更に中でも特に報告例の多いトップ4を赤文字で示した。

表1 周期表

族	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
周期	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
1	H 1																	He 2
2	Li 3	Be 4											B 5	C 6	N 7	O 8	F 9	Ne 10
3	Na 11	Mg 12											Al 13	Si 14	P 15	S 16	Cl 17	Ar 18
4	K 19	Ca 20	Sc 21	Ti 22	V 23	Cr 24	Mn 25	Fe 26	Co 27	Ni 28	Cu 29	Zn 30	Ga 31	Ge 32	As 33	Se 34	Br 35	Kr 36
5	Rb 37	Sr 38	Y 39	Zr 40	Nb 41	Mo 42	Tc 43	Ru 44	Rh 45	Pd 46	Ag 47	Cd 48	In 49	Sn 50	Sb 51	Te 52	I 53	Xe 54
6	Cs 55	Ba 56	※1	Hf 72	Ta 73	W 74	Re 75	Os 76	Ir 77	Pt 78	Au 79	Hg 80	Tl 81	Pb 82	Bi 83	Po 84	At 85	Rn 86
7	Fr 87	Ra 88	※2															
	※1 ランタノイド	La 57	Ce 58	Pr 59	Nb 60	Pm 61	Sm 62	Eu 63	Gd 64	Tb 65	Dy 66	Ho 67	Er 68	Tm 69	Yb 70	Lu 71		
	※2 アクチノイド	Ac 89	Th 90	Pa 91	U 92	Np 93	Pu 94	Am 95	Cm 96	Bk 97	Cf 98	Es 99	Fm 100	Md 101	No 102	Lr 103		

- 国内で歯科用として使用されている代表的な金属
- 金属アレルギー報告例の多い金属
- 金属アレルギー報告例の最も多い金属

3. 試験方法

3.1 使用貴金属合金の種類

下表に示す当社の歯科用貴金属合金を用い溶出試験及び細胞毒性試験を行った。

表2 試験に使用した歯科用貴金属合金の組成

メタルセラミック修復用貴金属合金

種類	製品名	主な成分 (%)				
		Au	Pt	Pd	Ag	その他
プレシャス系 (白色タイプ)	スーパークリスタルKP-5	75	6.7	12.3	1.8	(Sn, In, Cn, Fe, Ga, Re, Ir,) 4.2
	クリスタルハードSG	77	5	11.4	3.8	(Sn, In, Fe, Re, Ir,) 2.8
セミプレシャス系 (シルバー含有タイプ)	クインテスセラフィー	56	2	24.5	13	(Sn, In, Ru) 4.5
	クインテス52	52	1	28.3	13	(Sn, In, Cu, Ir,) 5.7
	トレンド40	40	-	38.5	13	(Sn, In, Zn, Ga, Ir,) 8.5
パラジウム系 (シルバー含有タイプ)	トレンドケイワン	10	-	57	21.5	Sn7, (In, Fe, Ga, Ru) 4.5
	ステイタス	-	-	60.5	27	Sn6, In 5.5, (Zn, Ga, Ru) 1

金合金

種類	製品名	主な成分 (%)					
		Au	Pt	Pd	Ag	Cu	その他
ハイカラット (白金加金)	BIエロー	71	4	-	12.3	12.1	(Zn, Ir) 0.6
	ベネフィットG	70	4.5	2	13.6	8.8	(Zn, Ir) 1.1
	ベネフィットジャスティ	68	7	-	16.2	8	(Zn, Ir) 0.8
カラット別金合金	エスジーK 20	83.5	0.4	-	7	8.8	(Zn, Ir) 0.3
	エスジーK 18	75	0.4	-	9	14.6	(Zn, Ir) 1
パラジウムカラット別 金合金	ワイピーK 14	58.4	-	3	15	22	(Zn, Ir) 1.6
セミカラット白金加金	スペイシーJ	50	4.5	3.2	32.7	9	(Zn, Ir) 0.6

3.2 試験溶液

3.2.1 溶出試験溶液

試験溶液のMO5培養液は、JIS T 0304（金属系生体材料の溶出試験方法）記載の試験溶液例から選出した。

3.2.2 細胞毒性試験溶液

試験溶液は、溶出試験と同様MO5培養液を用いた。

3.3 各試験方法

3.3.1 溶出試験

本試験は、JIS T 0304（金属系生体材料の溶出試験方法）に基づいて行った。

貴金属合金の試験片は、鋳造体を作製し、表面を180番から1200番の耐水研磨紙で研磨を行い、試験片の総面積が6 cm²になるように仕上げた。この試験片を試験溶液50ml中に浸漬し、37°Cの5%CO₂インキュベーター（写真1）中で7日間静置抽出した。その後、試験液の前処理（写真2）を行い、プラズマ発光分光分析装置（ICP-MS）を使用し、定性及び定量分析を行った。なお、測定は2回繰り返し行った。



写真1 インキュベーター

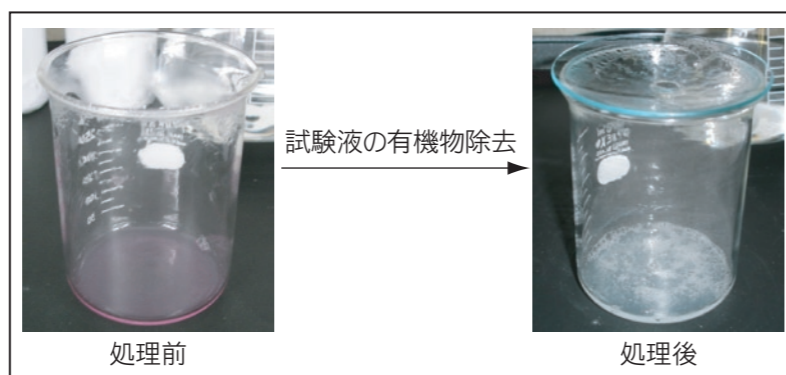
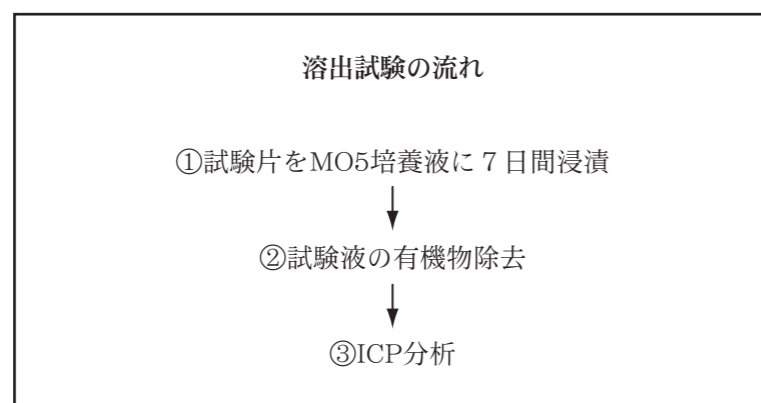


写真2 ICP分析のための試験液の前処理



3.3.2 細胞毒性試験

本試験は、ISO 10993-5 Biological evaluation of medical devices-Part 5 : Tests for *in vitro* cytotoxicityに基づいて行った。

溶出試験を行ったMO5培養液を試験原液（100%）とし、この試験原液を0.22 μmのフィルターでろ過滅菌後、MO5培養液を用いて50%、25%、12.5%、6.25%、0%に濃度調整した。

続いて単層に増殖したV79細胞（チャイニーズハムスター肺細胞）をトリプシン処理により剥離し、細胞数のカウント（写真3）、MO5培養液を用いて細胞浮遊液の作製（写真4）を行い、200個/mLの細胞浮遊液を調整した。この細胞浮遊液を組織培養プレートの各ウェルに0.5mLずつ播種し、37°Cの5%CO₂インキュベーター中で約6時間培養した。

培養後、細胞がウェルの底面に接着していることを確認してから培養液を除き、各濃度の試験液、空抽出試験液を各々4個のウェルに0.5mLずつ加え、37°Cの5%CO₂インキュベーター中で約6日間培養した。

培養終了後、各ウェルを10%中性リン酸緩衝ホルマリン溶液で30分間固定し、0.1%メチレンブルー溶液で15分間染色し、コロニーを計数した。なお、試験は2回繰り返し行った。

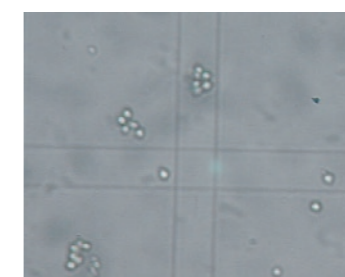
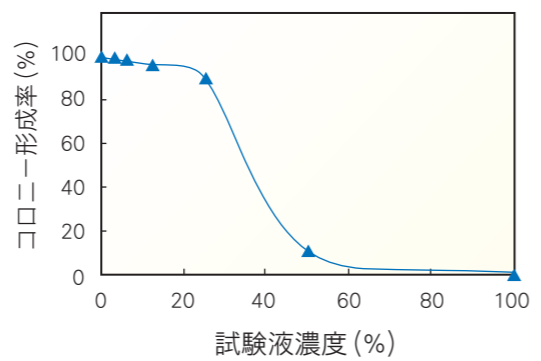
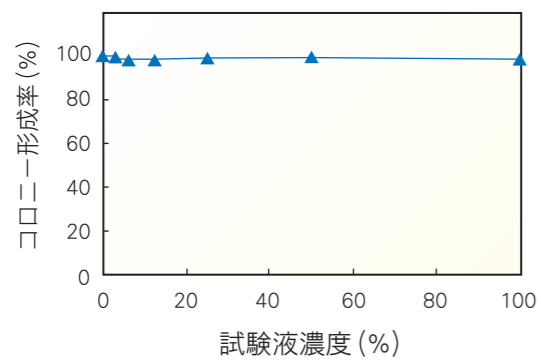
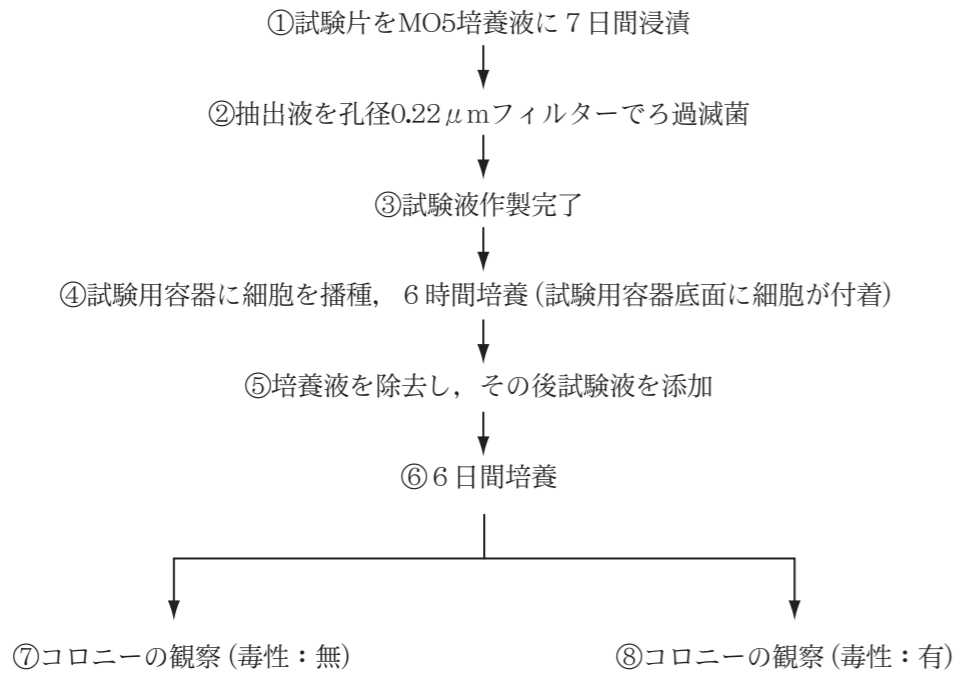


写真3 細胞数のカウント



写真4 細胞浮遊液の作製

細胞毒性試験の流れ



4. 試験結果

4.1 溶出試験結果

メタルセラミック修復用貴金属合金の溶出試験結果を図1に, 金合金の溶出試験結果を図2に示す。
メタルセラミック修復用貴金属合金のクリスタルハードSG, クインテスセラフィー, トレンド40, トレンドケイワンでは, Ag, ステイタスではZnのみの溶出が見られた。スーパークリスタルKP-5では, AgとFe, クインテス52では, AgとCuの溶出が見られた。これらの溶出は, すべて低量の溶出量であった。

また, 金合金のBIイエロー, ベネフィットG, ベネフィットジャスティでは, Agのみの溶出が見られた。エスジー-K20, エスジー-K18, ワイピー-K14, スペイシー-Jでは, Zn, Ag, Cuの溶出が見られた。これらの溶出量は, 全て低量の溶出であった。

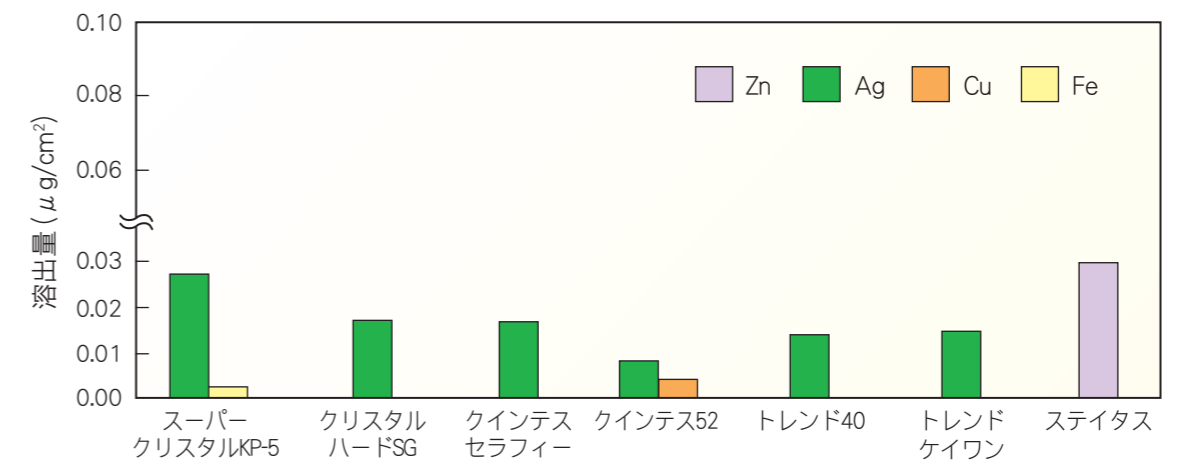


図1 メタルセラミック修復用貴金属合金の溶出試験結果

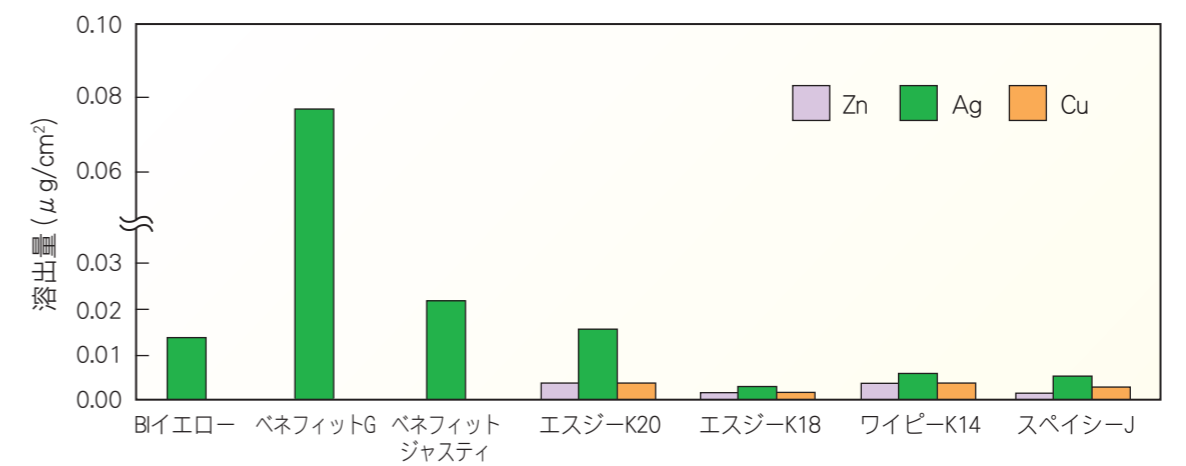


図2 金合金の溶出試験結果

4.2 細胞毒性試験結果

メタルセラミック修復用貴金属合金の細胞毒性試験結果を図3に、金合金の細胞毒性試験結果を図4に示す。

今回試験した貴金属合金は、試験液濃度（0～100%）に関係なくコロニー形成阻害は示さなかった。

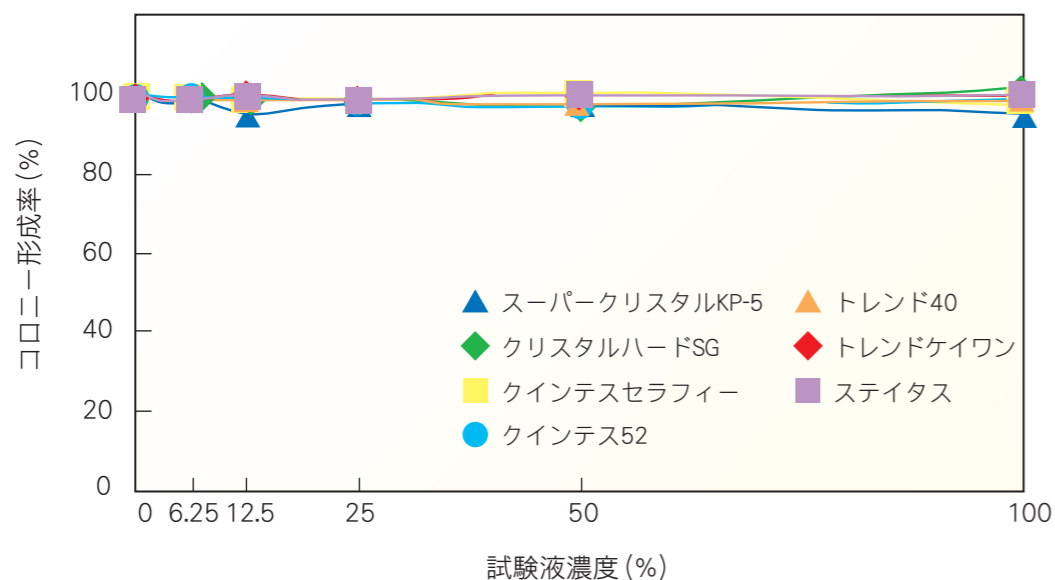


図3 メタルセラミック修復用貴金属合金の細胞毒性試験結果

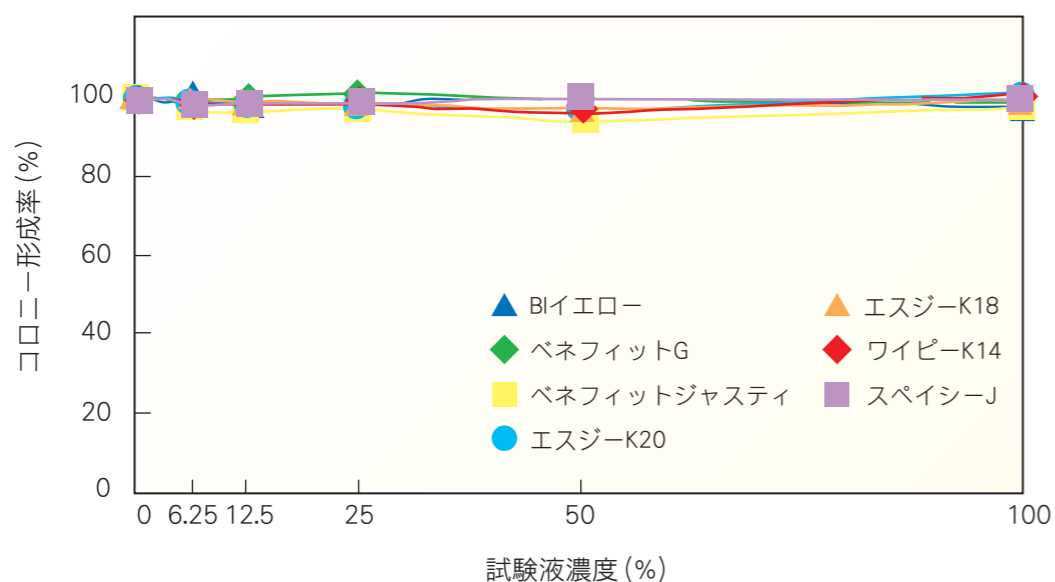


図4 金合金の細胞毒性試験結果

5. 考察

5.1 メタルセラミック修復用貴金属合金の溶出試験結果及び細胞毒性試験結果

メタルセラミック修復用貴金属合金の溶出試験では、Zn, Ag, Cu, Feの金属イオンが検出されたが、低量の溶出量であった。今回の貴金属合金は、金、白金、パラジウムの貴金属が多く含有していることから、溶出が抑制され貴金属の含有量と溶出特性は相関関係にあると考えられる。この結果は、タンマンの作用限とよく一致している。

また、細胞毒性試験結果においても、コロニー形成阻害は見られず、細胞毒性は示さないと考えられる。

しかしながらあえて問題点をあげるとするならば、パラジウムは含有量、溶出量の割に感作率が高い事が指摘されており¹⁶⁾、パラジウムの含有量が多い合金は、パラジウムに対する感作率が高くなる可能性も考えられる。

5.2 金合金の溶出試験結果及び細胞毒性試験結果

金合金の溶出試験では、Zn, Ag, Cuの金属イオンが検出されたが、低量の溶出量であった。理由としては、メタルセラミック修復用貴金属合金と同様な傾向と考えられる。

しかしながら、今回の溶出試験では金の含有量の多いベネフィットGから、最も多いAgの溶出量が見られた。この結果については、0.08ppm以下と溶出量が微量であることから、試験片の研磨状況、培養液中のタンパク質（血清成分）濃度の影響による誤差範囲内と考えられる。

また、細胞毒性試験結果においても、コロニー形成阻害は見られず、細胞毒性を示さないと考えられる。

6. まとめ

溶出試験結果及び細胞毒性試験結果

今回の溶出試験においては、特筆すべき溶出傾向は見られなかった。

細胞毒性試験結果においても、コロニー形成阻害が見られなかった。このことから今回の金属溶出量では、生体の安全性について特筆すべき問題点はないと考えられる。

しかし、金属アレルギーの観点から、溶出金属のみが金属アレルギーを誘発するものではない。金属アレルギー感作対象は、合金の構成金属全てが関与する可能性を持つことを医療従事者は十分注意しなければならない。

本試験は、高知大学医学部腫瘍病態学講座 口腔腫瘍制御学との共同研究で実施されたものである。

《参考文献》

- 1) 遠藤一彦, 中嶋智仁, 大野弘機, 川島 功, 山根由朗: 鑄造用 Ag-In 合金の耐食性に及ぼす Au 添加の影響, 歯科材料・機器, 23, 139, 2004
- 2) 高橋正敏, 菊地聖史, 高田雄京, 奥野 功: Ti-Nb-Cu 合金の切削加工性と機械的性質, 歯科材料・機器, 23, 348, 2004
- 3) 中西徹, 新家光雄, 赤堀俊和, 武田涼仁, 戸田裕之, 森正樹, 福井壽男: 歯科用 Ag-Pd-Cu-Au-Zn 合金の引張り応力負荷時における耐食性, 歯科材料・機器, 23, 349, 2004
- 4) 遠藤一彦, 大野弘機, 川島 功, 山根由朗: 金銀パラジウム合金およびパラジウム合金の表面に形成された不動態皮膜の構造と保護性, 歯科材料・機器, 23, 351, 2004
- 5) 緒方敏明, 田中康弘, 三浦永理, 詫間康子, 白石孝信, 久恒邦博: 試作歯科用 Ti-Zr-Sn 系合金の鑄造性と機械的性質, 歯科用材料・機器, 24, 240-246, 2005
- 6) 三宅理史, 高田雄京, 木村幸平, 奥野攻: Au-Ag-Pd-Cu 系合金の組成と溶出イオンに関する研究, 歯科材料・機器, 23, 75, 2004
- 7) 武田昭二, 白石孝信, 中村正明: パラジウム無添加貴金属合金の細胞毒性, 歯科材料・機器, 24, 376, 2005
- 8) 赤木誉, 武田昭二, 中村正明: 金銀パラジウム合金の溶出と細胞毒性, 歯科材料・器機, 19, 179-186, 2000
- 9) 坂根清文, 武田昭二, 中村正明: 細胞培養環境下における貴金属系合金の溶出挙動, 歯科医学, 64, 253-260, 2001
- 10) 三浦康伸, 武田昭二, 生体: 生体用金属材料の細胞毒性評価に及ぼす抽出条件の影響, 歯科材料・器機, 14, 253-264, 1995
- 11) 武田昭二, 垣内英也, 土井ひでき, 中村正明, : 非貴金属系合金を構成する純金属の細胞毒性について, 歯科材料・器機, 8, 648-652, 1989
- 12) 松前久子: 生体材料としてのタンタルムおよびジルコニウムに関する実験的研究, 口科誌, 37, 862-878, 1988
- 13) 市野瀬志津子: 歯科用金銀パラジウム合金の各種溶液中での腐食, 歯科用材料・器機, 11, 149-168, 1992
- 14) 佐藤温重: 歯科材料の副作用と安全性, 24 ~ 31, 学建書院, 1997
- 15) 井上昌幸, 中山秀夫: 歯科と金属アレルギー, 22 ~ 53, デンタルダイヤモンド社, 1993
- 16) 井上昌幸, 中山秀夫, 松村光明: GPC のための金属アレルギー臨床, 34 ~ 181, デンタルダイヤモンド社, 2003
- 17) 海老原全, 松村光明, 濱野英也: チェアーサイドの歯科とアレルギーガイドブック, 38 ~ 41, デンタルダイヤモンド社
- 18) 日本化学会編: 微量金属の生体作用, 95 ~ 104, 学会出版センター

《安全性試験レポート 既刊》

- Vol.1 国際水準の品質と安全を求めて(2004年12月)
- Vol.2 「ZEO METAL」シリーズ 溶出試験と*in vitro*による細胞毒性試験(2005年6月)
- Vol.3 メタルセラミック修復用貴金属合金及び金合金 溶出試験と*in vitro*による細胞毒性試験(2005年12月)
- Vol.4 「ルナウイング」の生物学的評価(2006年6月)
- Vol.5 高カラット金合金の物性・安全性レポート(2007年10月)
- Vol.6 歯科材料の物性から生物学的影響まで 硬質レジン, メタルセラミック修復用合金, 金合金における検討(2008年5月)
- Vol.7 金合金「ネクシオキャスト」の物性・安全性レポート(2008年10月)

編集者 安楽 照男
発行者 山本 隆彦
印刷所 株式会社 ウラノ 大阪
発行年月日 2005年12月20日

YAMAKIN株式会社

本社：〒543-0015 大阪市天王寺区真田山町3番7号 TEL.(06)6761-4739(代) FAX.(06)6761-4743
生体科学安全研究室：〒783-8505 高知県南国市岡豊町小蓮 高知大学医学部 歯科口腔外科学講座研究室内
東京・大阪・名古屋・福岡・仙台・高知・生体科学安全研究室
<http://www.yamakin-gold.co.jp>

ISO 9001/13485 ISO 14001 認証取得



認証範囲
本社及び支店工場



QAC/JP/0455
認証範囲：高知工場

営本20100310
20170707W