種々のヒト細胞の形態に及ぼす Sodium Lauryl Sulfate と Glycerine の影響

西口 栄子^{*1} 鈴木 幸江^{*1} 山口 和美^{*1} 神部 芳則^{*2}

^{*1}湘南短期大学歯科衛生学科

^{*2}自治医科大学口腔外科学教室

(2001 年 1 月 6 日受理)

Influence of Sodium Lauryl Sulfate and Glycerine on the Various Cells

Eiko Nishiguchi^{*1}, Yukie Suzuki^{*1}, Kazumi Yamaguchi^{*1} and Yoshinori Jinbu^{*2}

^{*1}Department of Dental Hygiene, Shonan Junior College

^{*2}Department of Dentistry and Oral Surgery, Jichi Medical School

Accepted for publication 6 January 2001

To evaluate the safety of dentifrice and mouthwash solution, we investigated the influence of sodium lauryl sulfate (SLS) and glycerine contained in most of the commercially available dentifrice and mouthwash solution on various cells. The effect of various concentrations of SLS on the morphology of human keratinocytes was observed. As a result, immediately after applying 0.01% SLS, a decrease in the size of the cells was observed, then most of the cells showed lyses and disappeared in one minute. In cases of applying 0.001% SLS, a decrease in the size of the cells started three minutes after application; however, the rate of the decrease was small. After applying various concentrations of SLS to human erythrocytes, the morphology of the erythrocytes changed from the normal discocytes to the echinocytes depending on the concentration of SLS. In cases of applying more than 0.004% SLS, the erythrocytes showed hemolyses one minute after application. After applying various concentrations of SLS to normal human aortic endothelial cells (HAEC), in cases of applying more than 0.0022% SLS, the cells showed changes one minute after application, then most of the cells showed lyses and disappeared in five minutes. After applying glycerine to the various cells, the damage to the cells by glycerin was not great under the conditions of low concentrations and short periods of application. Observation of the action sites of SLS on the human erythrocytes suggested the involvement of membrane proteins.

From these findings, it is necessary to be careful with the use of SLS and glycerine, especially because even a minute amount of SLS caused damage to the various cells. J. Jpn. Soc. Periodontol., 43 : 1~12, 2001

Key words : SLS, glycerine, dentifrice, mouthwash solution, keratinocytes

要旨 : 歯磨剤、洗口剤の安全性を検討する目的で、市販されている歯磨剤、洗口剤の多くに含まれているラウリル硫酸ナトリウム (SLS) と glycerine の各種ヒト細胞に及ぼす影響を検討した。ヒト歯肉上皮細胞に各種濃度の SLS を作用させて細胞の形態を観察した結果、細胞は、SLS の濃度依存的に変化した。0.01% SLS を作用させた場合、作用直後細胞が小型化し、1 分後にはほとんどの細胞が溶解した。0.001% SLS を作用させた場合、作用後 3 分で細胞が小さくなり始めたがその程度は弱かった。ヒト赤血球に各種濃度の SLS を作用させると、赤血球は、SLS の濃度依存的に形態が正常の円盤型から外方突出型の金平糖状に変化し、0.004% 以上では作用後 1 分で溶血した。ヒト大動脈血管内皮細胞 (HAEC) に各種濃度の SLS を作用させると、0.0022% 以上では作用後 1 分で変化が起こり、5 分ではほとんどの細胞が溶解した。諸細胞に glycerine を作用させた場合、glycerine による細胞の障害は低濃度、短時間では大きいものではなかった。ヒト赤血球を用いて SLS の作用点

を観察した結果、膜蛋白質の関与が観察された。

これらの結果から、SLS や glycerine, 特に SLS は、微量で、短時間の作用でも諸細胞に障害を与えるため、使用に際しては十分な注意が必要と考える。

索引用語: SLS, glycerine, 歯磨剤, 洗口剤, 歯肉上皮細胞

緒 言

界面活性剤は、その長鎖アルキル基が水溶液中で電離して生じるイオンの種類によって、陽イオン界面活性剤、陰イオン界面活性剤、両性界面活性剤に分けられ、電離しないものは非イオン界面活性剤と呼ばれる。これらの界面活性剤のうち陰イオン界面活性剤は、他の型のものに比べて最も泡立ちやすく、ぬれ、分散、洗浄などの作用をよく発揮するためさまざまな用途に利用され、特に家庭の洗剤として広く使用されている。

プラークがう蝕や歯周疾患の発生に関係していることは、多くの臨床的、基礎的研究によって明らかにされている。う蝕や歯周疾患を予防するためにはプラークを除去することが大切である。プラークを除去する方法として、機械的な方法や化学的な方法は良く知られている。機械的な方法としては、ブラッシングによる方法が有力な手段であり、その時歯磨剤を併用するが多い。また、化学的な方法は、天然或いは、人工の化学物質を用いてプラーク形成を阻止、或いは抑制しようとするものである。化学物質を投与する時の媒介をするものとして歯磨剤、洗口剤がある。

歯磨剤は、基本成分として研磨剤、湿潤剤、発泡剤、粘結剤、香味剤、着色剤、保存剤などから構成されている。構成成分のうち、発泡剤として陰イオン界面活性剤であるラウリル硫酸ナトリウム (SLS) が多く使用されている。洗口剤は、香料、アルコール、溶剤、抗菌剤等によって構成されているが可溶化剤として、界面活性剤が含まれており、市販洗口剤の多くのものに SLS が含まれている。

歯磨剤や洗口剤は口腔内で使用されるものであることと、使用中に一部飲み込まれる可能性があること、また、医薬品のように専門家の指示や指導のもとに使用されるものではなく、自由に使用される製品で日常的に長期にわたって使用されるものであることなどのためにその安全性については十分な配慮が必要である。歯磨剤について、安全性の条件として、1. 飲み込んだ場合の障害¹⁾ 2. 口腔軟組織に対する障害^{2~5)} 3. 歯牙硬組織に対する障害^{6,7)}等の面から多くの検討がなされ、その安全性が一応確認されている⁸⁾。しかし、SLS が諸細胞に障害を与えるとの報告が多い。

例えば、Bossard⁹⁾ は、界面活性剤により口腔軟組織が膨化することを報告し、Herlofson and Barkvoll^{10,11)} は、SLS により口腔粘膜が剥離することを報告し、更に、Arenholt-Bindslev et al.¹²⁾ は、口腔粘膜上皮細胞に対する SLS の毒性を、Babich H. and Babich P.¹³⁾ は、歯肉上皮細胞に対する SLS の毒性を報告している。また、牛村¹⁴⁾と井出¹⁵⁾は、Neutral Red 法により歯肉上皮細胞に対する歯磨剤、洗口剤の毒性を報告している。我々も各種市販歯磨剤を用いて、かいわれ大根の発芽・成長、ミミズの育成状態を観察した結果、SLS と湿潤剤として添加されている glycerine がこれらの発芽・成長、生育を抑制する結果を得た (未発表 data) ことから、市販歯磨剤の安全性を再確認する目的で、飲み込んだ場合の障害として、大動脈血管内皮細胞と赤血球への SLS と glycerine の影響、口腔軟組織に対する障害として、歯肉上皮細胞への SLS, glycerine, 各種市販歯磨剤、各種市販洗口剤等の影響を形態的に観察した。

材料と方法

1. 正常ヒト歯肉上皮細胞の初代培養方法

歯肉片の採取にあたっては、対象となる患者の人権保護を目的としたヘルシンキ宣言の精神に沿って患者に十分な説明を行って同意を得た。ヒト口腔粘膜からの歯肉上皮細胞の初代培養細胞は、18~45 歳までの健常人の第 3 大臼歯を埋伏抜歯時に肉眼的に炎症が認められない辺縁歯肉を採取して、歯肉を培養した。これらの組織は、overnight, 4°C にて dispase (500 protease unit/ml, Godo Shusei Co. Ltd, Japan) 処理をして上皮層を分離した。分離した上皮層を 0.025% trypsin/0.01% EDTA 溶液に 37°C, 10 min incubate して、上皮細胞を分離した。Keratinocyte basal medium (KBM) (Clonetics, USA) (7.5 mg/ml bovin pituitary extract, 0.1 µg/ml epidermal growth factor, 0.5 mg/ml hydrocortisone, 50 mg/ml gentamycinsulfate 含有) 中に細胞を懸濁させ (約 $3.0 \times 10^4 / 100 \mu l$) マイクロプレート (1.8 cm², Falcon) に分注し、5% CO₂, 37°C で約 1 週間培養し、ほぼ confluent の状態で実験した。

2. 歯肉上皮細胞に及ぼす SLS, glycerine, 市販歯磨剤、洗口剤の影響

通常、歯磨剤中に SLS は 0.5~2.0%, glycerine は、10~70% 含まれている。別の実験で、口腔内での安静時唾液の分泌量が $3.1 \pm 0.85 \text{ ml}/3 \text{ min}$ ($N=39$) を得ており、これに歯磨き操作の刺激による分泌量を考慮して、実際の歯磨き操作時には、歯磨剤のほぼ 5 倍程度の濃度になると仮定した。歯磨剤を 5 倍希釈すると、歯磨剤中の SLS の濃度は、0.025~0.1% となる。この濃度を基準として、歯肉上皮細胞への障害が見られなくなる濃度まで作用させ、作用直後、作用後 1 分、3 分、5 分、10 分、15 分、30 分時の細胞の状態を位相差顕微鏡 (Nikon, TE 300-2) で観察した。glycerine の濃度は、歯磨剤を 5 倍希釈すると 5~35% となる。この濃度を基準に各種濃度の glycerine を作用させ、作用直後、作用後 1 分、3 分、5 分、10 分、15 分、30 分時の細胞の状態を位相差顕微鏡で観察した。

各種市販歯磨剤は、歯磨剤を培地で 5 倍希釈して遠心 ($500 \times g$, 10 min) し、その上清を作用させた。作用直後、作用後 1 分、3 分、5 分、10 分、15 分、30 分時の細胞の状態を位相差顕微鏡で観察した。各種洗口剤についても同様に培地で 5 倍希釈して作用させ、作用直後、作用後 1 分、3 分、5 分、10 分、15 分、30 分時の細胞の状態を位相差顕微鏡で観察した。

3. ヒト赤血球に及ぼす SLS, glycerine の影響

健康成人女子より採取した血液 (抗凝固剤を作用させたもの) を $1,000 \times g$, 15 min 遠心し、buffy coat、白血球を除去して赤血球を得た。赤血球を 0.9% NaCl で $1,000 \times g$, 15 min, 3 度遠心洗浄した。遠心洗浄した赤血球を PBS (一) に再懸濁して、各種濃度の SLS, glycerine を作用させ、作用直後、作用後 1 分、3 分、5 分、10 分、15 分、30 分、60 分時の赤血球の状態を位相差顕微鏡で観察した。また、各種濃度の抗バンド 3 蛋白質を洗浄赤血球に 37°C , 10 min 作用させて後、各種濃度の SLS を作用させて赤血球の状態を位相差顕微鏡で観察した。

4. ヒト大動脈血管内皮細胞 (HAEC) に及ぼす SLS と glycerine の影響

HAEC は、クラボウ Co. Ltd. より入手し、継代 5 代目の培養細胞を用いた。1 well (1.8 cm^2 , Falcon) の細胞数は、 $10,000/\text{cm}^2$, HuMedia-EG₂ (クラボウ Co. Ltd.) を用いて 5% CO₂, 37°C で約 1 週間培養した。ほぼ confluent な状態の細胞に各種濃度の SLS, glycerine を作用させ、作用直後、作用後 1 分、3 分、5 分、10 分、15 分、30 分、60 分時の細胞の状態を位相差顕微鏡で観察した。

5. 赤血球膜バンド 3 蛋白質のポリクローナル抗体の調整

ヒト赤血球膜バンド 3 蛋白質は、Kawano ら¹⁶⁾の方法に従って精製し、始めに 200 mg, 次いで、100 mg ずつ 5 回, Freund's adjuvant と 1:1 に混濁して、2 週毎, Japanese white rabbits に対して免疫して調整した。抗体価は、ペルオキシダーゼ反応を使用して ELISA 法により測定した。

6. 安静時唾液量の測定

口腔内の安静時唾液量は、安静な状態で脱脂綿 1 g を舌下に置いて 3 分後に唾液を含んだ脱脂綿の重量を測定した。

結 果

1. ヒト歯肉上皮細胞に及ぼす各種濃度の SLS と glycerine の影響

培養 10 日目のヒト歯肉上皮細胞を各種濃度の SLS を含む KBM 培地で培養し、作用直後、作用 1 分、3 分、5 分 (data not shown) 時に細胞の形態を観察した結果、control では細胞に変化はみられなかった (図 1 A)。SLS 濃度 0.01% のものは、作用直後細胞が小さくなり、作用後 1 分でほとんど溶解した (図 1 B)。0.005% のものは、0.001% のものと同じような現象を示し、作用直後細胞が小さくなり始め、作用後 3 分で細胞のほとんどは小さくなり、かなりの細胞が溶解した (図 1 C)。0.001% のものは、0.01%, 0.005% のものと同様の現象を示すが、作用後 3 分では小型化する程度は減少していた (図 1 D)。また、各種濃度の glycerine を含んだ培地でヒト歯肉上皮細胞を培養し、作用直後、5 分、15 分、30 分時の細胞の状態を観察した。その結果、10% glycerine では作用後 15 分、1% glycerine では作用後 30 分で細胞が小さくなった。0.1% のものは、形態上大きな変化を示さなかった (data not shown)。

2. ヒト赤血球に及ぼす各種濃度の SLS, glycerine の影響

洗浄赤血球に 0.0011% (図 2 b), 0.0016% (図 2 c), 0.0022% (図 2 d), 0.0028% (図 2 e) の SLS を作用させ、5 分後、細胞の状態を観察した結果、SLS の濃度依存的に赤血球は、正常の中凹みの円盤型 (discocytes) (図 2 a) から外方突出型の金平糖状 (echinocytes) (図 2 b, c) を経て球形 (spherocytes) を呈し (図 2 d, e), 0.0039% 以上では溶血した。次に、20% glycerine を作用させると作用後 5 分で形態が変化し始め、作用後 60 分ではほとんどの赤血球は echinocytes になった (data not shown)。

図1 歯肉上皮細胞に及ぼす SLS の影響

A : control B : SLS 0.01% C : SLS 0.005% D : SLS 0.001%

a : SLS 作用前 b : SLS 作用直後 c : SLS 作用後 1 分 d : SLS 作用後 3 分

3. ヒト大動脈血管内皮細胞 (HAEC) に及ぼす各種濃度の SLS, glycerine の影響

ほぼ confluent の状態の HAEC に 0.0011% の SLS を作用させると、作用後 3 分で細胞の形態が変化し始め (図 3 b), 60 分後にはほとんど溶解した (図 3 b')。0.0022% の SLS を作用させると培養後 3 分以内にほとんどの細胞が溶解した (図 3 c, c')。また、20% glycerine を作用させると作用後 60 分で細胞に変化が現れ、1 日でかなりの細胞がプレートから離れた (data not shown)。

4. ヒト赤血球における SLS の作用点の検討

ヒト赤血球膜蛋白質であるバンド 3 蛋白質の抗体を 37°C, 10 min 赤血球にあらかじめ作用させて観察した。無処理赤血球に 0.0015% SLS を作用させると赤血球が echinocytes に変化し (図 4 b), 0.0028% SLS を作用させると、赤血球が spherocytes に変化した (図 4 c) が、あらかじめ抗バンド 3 蛋白質を 120 μ g/0.5 ml, 10 min 作用させて後、0.0015% SLS (図 4 b'), 0.0028% SLS (図 4 c') を作用させても、赤血球の形態変化は起こらなかった。

5. ヒト歯肉上皮細胞に及ぼす市販歯磨剤の影響

市販歯磨剤を培地で 5 倍希釈して、歯肉上皮細胞に作用させ、作用後 1 分, 3 分, 5 分, 15 分時の細胞

の形態を観察し、20 種類の市販歯磨剤を ① SLS, glycerine 共に含むもの、② SLS のみ含むもの、③ glycerine のみ含むもの、④ SLS, glycerine 共に含まないものに分類して検討し、その 9 種類について結果を示した。その結果、control では、15 分間細胞の形態に変化は見られなかった (data not shown)。SLS, glycerine 共に含むものとして、「ライオンこどもハミガキ」と「Colgate」について結果を示した (図 5)。「ライオンこどもハミガキ」は、作用直後から変化が現れ、経時的に変化して 15 分後には、ほとんどの細胞が溶解した (図 5 Ac)。「Colgate」は、「ライオンこどもハミガキ」より変化の現れ方が遅く、作用後 3 分で変化が現れはじめ 15 分では細胞が小さくなり、かなりの細胞が溶解した (図 5 Bc)。次に、SLS を含み、glycerine を含まないものとして、「ミクロクリン」、「BUTLER」、「ハイテクト」、「クリアクリーン」について結果を示した (図 6)。「ミクロクリン」は、作用後 3 分で細胞が小さくなり始め、15 分後ではかなりの細胞が溶解した (図 6 Ac)。「BUTLER」は、作用後 1 分で細胞が小さくなり、3 分で細胞の溶解がみられ (図 6 Bb), 15 分では、かなりの細胞が溶解した (図 6 BC)。「ハイテクト」は、作用後 3 分から細胞が小さくなり始め、15 分では細

図 2 ヒト赤血球に及ぼす SLS の影響

a : control b : 0.0011% SLS 作用後 5 分 c : 0.0016% SLS 作用後 5 分 d : 0.0022% SLS 作用後 5 分 e : 0.0028% SLS 作用後 5 分

胞が溶解し始めた (図 6 Cc)。「クリアクリーン」は、作用直後から細胞の小型化、溶解が始まり、3 分ではほとんどの細胞が溶解し (図 6 Db), 15 分では、ほぼ完全に溶解した (図 6 Dc)。

次に, glycerine のみ含むものとして, 「生活クラブ」, 「G・u・m」について結果を示した。その結果, 「生活クラブ」は, 使用後 15 分で細胞が溶解し始めた (図 7 Ac)。「G・u・m」は, 作用後 3 分で細胞が小さくなって溶解が始まり (図 7 Bb), 15 分ではその程度が著しくなった (図 7 Bc)。次に, SLS, glycerine 共に含まない「ハイムホワイト」について観察を行った結果, 作用後 15 分でも細胞に変化は認められなかった (図 7 C)。

6. ヒト歯肉上皮細胞に及ぼす市販洗口剤の影響

市販洗口剤を培地で 5 倍希釈して歯肉上皮細胞に作用させた。洗口剤にもかなりの銘柄で SLS が含まれているため, 15 種類の市販洗口剤について, 歯磨剤と同様に, SLS と glycerine を含むもの, SLS を含むもの, SLS と glycerine を含まないもの等に分類し

図 3 HAEC に及ぼす SLS の影響

a : control b : 0.0011% SLS 作用後 3 分 b' : 0.0011% SLS 作用後 60 分 c : 0.0022% SLS 作用後 3 分 c' : 0.0022% SLS 作用後 60 分

て観察し, 10 種類について結果を示した。SLS とグリセリンを含むものとして, 「Ora²」「ハビカ」「plax (soft mint)」「plax (cool mint)」について結果を示した。「Ora²」, 「ハビカ」共に, 作用直後細胞が小型化して溶解が始まり, 作用後 1 分ではかなりの細胞が溶けて薄くなり (図 8 Ab, Bb), 10 分ではほとんどの細胞が溶解した (図 8 Ac, Bc)。「plax (soft mint)」歯, 作用後 3 min で少し細胞の小型化がはじまり, 10 分で細胞の溶解が始まった (図 8 Cc)。「plax (cool mint)」は, 「plax (cool mint)」と同様に, 作用後 3 min で細胞の小型化が始まり, 10 分ではかなりの細胞の溶解が観察された (図 8 Dc)。次に, SLS を含まず glycerine を含む洗口剤として, 「キシリデント」「Mouth Wash Cool」「ニューソルトミネラル」「Aquafresh」について結果を示した。「キシリデント」は, 作用後 10 分間には変化が観察されなかった (図 9 A)。「Mouth Wash Cool」は, 作用後 3 分で細胞の小型化に続いて溶解が始まり (図 9 Bb), 10 分では, かなりの細胞が溶解した (図 9

図4 ヒト赤血球におけるSLSの作用点の検討
 a: control b: 0.0015% SLS 作用後1分 b':
 anti band 3 120 μ g/0.5 ml + 0.0015% SLS 作用後5
 分 c: 0.0028% SLS 作用後1分 c': anti band 3
 120 μ g/0.5 ml + 0.0028% SLS 作用後5分

Bc)。「ニューソルトミネラル」は、作用後3分で細胞の小型化が始まり(図9Cb), 10分では、少し、細胞の溶解が観察された(図9Cc)。「Aquafresh」は、作用後3分では大きな変化は無く、10分では少し細胞の溶解が観察された(図9Dc)。SLS, glycerine を含まない「薬用リステリン」「薬用クールミントリステリン」等は歯肉上皮細胞に作用させても細胞に変化は観察されなかった(data not shown)。

考 察

歯磨剤、洗口剤の安全性を検討する目的で、市販されている多くの歯磨剤、洗口剤中に発泡剤として含まれるSLS、湿潤剤として含まれるglycerineをヒト歯肉上皮細胞、ヒト赤血球、ヒト大動脈血管内皮細胞に作用させて細胞の形態に与える影響を観察した。各種濃度のSLSを歯肉上皮細胞に作用させると0.01%では、作用直後から細胞の溶解が始まり、作用後1分ではほとんどの細胞が溶解した。この現象は、SLSの濃度に依存して起こった。SLS濃度0.001%未満では細胞障害は観察されなかったが、0.01%のSLSを作用させると作用直後から細胞は溶け始め、作用後1分ではほとんどの細胞は溶解した。発泡剤は、通常歯磨剤中に0.5~2.0%含まれているとされているため、歯ブラシ操作中唾液で5倍に薄められていると仮定すると、SLSの濃度は、0.025~0.4%含まれていることになる。下限値の0.025% SLSを歯肉上皮細胞に

図5 歯肉上皮細胞に及ぼす市販歯磨剤の影響(I)

SLSとglycerineを含む歯磨剤による影響

Aa:「ライオンこどもハミガキ」作用前 Ab:「ライオンこどもハミガキ」作用後3分 Ac:「ライオンこどもハミガキ」作用後15分

Ba:「Colgate」作用前 Bb:「Colgate」作用後3分 Bc:「Colgate」作用後15分

図 6 歯肉上皮細胞に及ぼす市販歯磨剤の影響 (II)

SLS を含み, glycerine を含まない歯磨剤の影響

Aa:「ミクロクリン」作用前 Ab:「ミクロクリン」作用後 3 分

Ac:「ミクロクリン」作用後 15 分

Ba:「BUTLER」作用前 Bb:「BUTLER」作用後 3 分 Bc:「BUTLER」作用後 15 分

Ca:「ハイトクト」作用前 Cb:「ハイトクト」作用後 3 分 Cc:「ハイトクト」作用後 15 分

Da:「クリアクリン」作用前 Db:「クリアクリン」作用後 3 分 Dc:「クリアクリン」作用後 15 分

作用させると、作用直後細胞は溶解した。また、ヒト赤血球に SLS を作用させると 0.0011% の濃度では、赤血球は、正常の discocytes から、echinocytes, spherocytes の過程をたどり 0.004% 以上では溶血した。また、ヒト大動脈血管内皮細胞に作用させると歯肉上皮細胞や赤血球と同様に濃度依存的に細胞の溶解が観察された。SLS 濃度 0.001% でもかなりの細胞が溶解し、0.0022% 以上では作用後 3 分でほとんどの細胞が溶解した。これらの結果から、SLS による細胞障害に関する多くの報告⁹⁻¹³⁾と同様に SLS は、かなり低濃度でも細胞を障害することが推測出来る。

次に、SLS の作用点を赤血球を用いて検討した。赤血球膜の内在性蛋白質のうち膜表面に露出しているバンド 3 蛋白質に注目して、バンド 3 蛋白質のポリクローナル抗体を作製し、赤血球にあらかじめ作用させた後、SLS を作用させると、赤血球は溶血しなかった。この抗体は、ポリクローナル抗体であること、また、歯肉上皮細胞膜でのバンド 3 蛋白質の存在の確認が出来ていないため、膜のバンド 3 蛋白質に作用しているとは言えないが、膜蛋白質の関与は推測出来る。従って、本抗体が膜の蛋白質を被うため、SLS が作用出来ないものと考ええる。SLS の膜への作用の機序

図 7 歯肉上皮細胞に及ぼす市販歯磨剤の影響 (III)

1) SLS を含まず, glycerine を含む歯磨剤の影響

Aa : 「生活クラブ」作用前 Ab : 「生活クラブ」作用後 3 分 Ac : 「生活クラブ」作用後 15 分

Ba : 「G・u・m」作用前 Bb : 「G・u・m」作用後 3 分 Bc : 「G・u・m」作用後 15 分

2) SLS, glycerine 共に含まない歯磨剤の影響

Ca : 「ハイムホワイト」作用前 Cb : 「ハイムホワイト」作用後 3 分
Cc : 「ハイムホワイト」作用後 15 分

表 1 市販歯磨剤に含まれる成分

商品名	発泡剤	湿潤剤
ライオンこどもハミガキ	ラウリル硫酸ナトリウム	グリセリン プロピレングリコール
Colgate	ラウリル硫酸ナトリウム	ソルビット液 濃グリセリン ポリエチレングリコール
ミクロクリーン	ラウリル硫酸ナトリウム	ソルビット液 プロピレングリコール
ハイテクト	ラウリル硫酸ナトリウム ラウロイルサルコシン酸ナトリウム	ソルビット液 プロピレングリコール
クリアクリーン	ラウリル硫酸ナトリウム	ソルビット液
BUTLER	ラウリル硫酸ナトリウム	ソルビット液
G・u・m	ポリオキシエチレンポリオキシプロ ピレングリコール	グリセリン
生活クラブ		グリセリン ソルビット液
ハイム (ホワイト)	石鹼ベース	ソルビット液

図 8 歯肉上皮細胞に及ぼす市販洗口剤の影響 (I)

SLS と glycerine を含む洗口剤の影響

Aa : 「Ora 2」作用前 Ab : 「Ora 2」作用後 3 分 Ac : 「Ora 2」作用後 10 分

Ba : 「ハピカ」作用前 Bb : 「ハピカ」作用後 3 分 Bc : 「ハピカ」作用後 10 分

Ca : 「plax (soft mint)」作用前 : 「plax (soft mint)」作用後 3 分 : 「plax (soft mint)」作用後 10 分

Da : 「plax (cool mint)」作用前 : 「plax (cool mint)」作用後 3 分 : 「plax (cool mint)」作用後 10 分

については, Helenius and Simons¹⁷⁾ は, SLS が蛋白質に強い親和性を示すことを, Takagi et al.¹⁸⁾ は, SLS は, 蛋白質のポリペプチド鎖にミセル状に結合して膜を破壊する, など膜蛋白質との関与が報告されている。本実験の結果は, それを支持する結果と考える。

次に, 歯肉上皮細胞, 赤血球, 大動脈血管内皮細胞などに及ぼす glycerine の影響を観察したが, どの細胞においても低濃度, 短時間では, 細胞への影響は観察されなかった。作用時間を長くして観察した結果, 歯肉上皮細胞では, 10% glycerine を 15 分作用させ

ると, 細胞の小型化, 赤血球では, 20% glycerine を作用させると 15 分で echinocytes へと形態変化が起った。HAEC は, 20% glycerine を 60 分作用させると細胞が小型化した。

次に, ヒト歯肉上皮細胞に市販歯磨剤を作用させて細胞への影響を観察した。歯磨剤を SLS, glycerine 共に含むもの, SLS のみ含むもの, glycerine のみ含むもの, SLS, glycerine 共に含まないものに分類して観察した。我々の別の実験において, 安静時の唾液の分泌量が $3.1 \pm 0.85 \text{ ml}/3 \text{ min}$ を得ているため, 歯磨き操作の刺激による増加を考慮して歯磨剤を培地で

図 9 歯肉上皮細胞に及ぼす市販洗口剤の影響 (II)

SLS を含まず, glycerine を含む洗口剤の影響

Aa : 「キシリデント」作用前 Ab : 「キシリデント」作用後 3 分

Ac : 「キシリデント」作用後 10 分

Ba : 「Mouth Wash Cool」作用前 Bb : 「Mouth Wash Cool」作用後 3

分 Bc : 「Mouth Wash Cool」作用後 10 分

Ca : 「ニューソルトミネラル」作用前 Cb : 「ニューソルトミネラル」

作用後 3 分 Cc : 「ニューソルトミネラル」作用後 10 分

Da : 「Aquafresh」作用前 Db : 「Aquafresh」作用後 3 分 Dc :

「Aquafresh」作用後 10 分

5 倍希釈して作用させた。歯磨剤には, SLS は, 発泡剤として 0.5~2.0% 含まれているので 5 倍希釈した場合には, それぞれ 0.125~0.4% 程度となり, かなり高濃度である。また, 歯磨きは 3~5 分程度行うことが多い (未発表 data) ことから, 歯磨剤作用後 1 分, 3 分, 5 分時に細胞の状態を観察した。その結果, SLS と glycerine を共に含む歯磨剤, SLS のみ含む歯磨剤, glycerine のみ含む歯磨剤の順に細胞障害が大きくなり, SLS, glycerine 共に含まない「ハイムホワイト」のみ細胞障害が観察されなかった。本実験は, 生体への影響ではないが, 0.01% SLS 濃度で作用直

後に細胞は溶解するため, 高濃度の SLS を含む歯磨剤で 3~5 分間歯磨きをすることは, 歯肉の障害をもたらすことも考えられる。歯磨剤に含まれている研磨剤としての炭酸 Ca が歯肉の退縮をもたらす¹⁹⁾と言われているが炭酸 Ca による歯肉上皮細胞への影響を観察した結果, 細胞障害は観察されなかった (data not shown) ことと, SLS が歯肉の溶解をもたらすことを考えると歯磨剤による歯肉の退縮の原因の一つとして SLS の影響もあるのではないかと考える。発泡剤の作用として, 歯磨剤の口中における分散をよくして, 口中の隅々まで速やかに拡散させることのほか,

表 2 市販洗口剤に含まれる成分

商品名	湿潤剤	可溶化剤
薬用クールミントリステリン	ソルビット液	ポリオキシエチレンポリオキシプロピレングリコール
薬用リステリン		ポリオキシエチレンポリオキシプロピレングリコール
Ora 2	濃グリセリン	ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油 ラウリル硫酸塩 (洗浄剤)
ハピカ	濃グリセリン	ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油 ラウリル硫酸ナトリウム (発泡剤)
plax cool mint	濃グリセリン	ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油 ラウリル硫酸ナトリウム
plax soft mint	濃グリセリン	ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油 ラウリル硫酸ナトリウム
キシリデント	濃グリセリン	ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油
Mouth Wash cool	濃グリセリン	モノラウリン酸ポリエチレンソルピタン
ニューソルトミネラル	濃グリセリン	ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油
Aquafresh	濃グリセリン	ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油

口腔内を洗浄し、汚れの除去を助けることと言われている。洗浄効果を考えると、市販歯磨剤のうち、SLS, glycerine 共に含まない「ハイムホワイト」は、洗浄剤として、界面活性剤のうち石鹼を使用している。そこで、石鹼の歯肉上皮細胞への影響を観察した結果、細胞への障害は、観察されなかった (data not shown)。歯磨剤に洗浄効果を期待する場合は、SLS より石鹼或いは他の界面活性剤を使用することが望ましいと考える。また、歯周疾患の予防や治療にブラッシングが有効であることは良く知られていることであるが、歯周疾患の症状を緩和したり、治療の効果を高める目的として、抗炎症剤などの薬物が含まれている歯磨剤が多く市販されている。しかし、薬用成分を含む歯磨剤にも SLS を含むものが多く、薬用成分を含まない歯磨剤と同様に細胞障害が観察された。薬用成分の効果は SLS により、阻まれてしまっていると推測する。また、洗口剤についても同様に SLS や glycerine を含むものが多く、歯肉上皮細胞の障害が観察された。洗口剤においては、SLS より、glycerine による細胞障害が顕著であった。glycerine のみでこのような細胞障害が起こることは、かなり多量の glycerine が含まれているものと考ええる。本実験を使用した歯磨剤溶液、洗口剤溶液は、共に 5 倍希釈したものをを用いているが、通常、歯磨剤、洗口剤共に原液を口腔内に作用させるものであること、特に、洗口剤は、口腔粘膜に噴霧したり、嗽をした後歯磨剤のように水で漱ぐこともないことが多いため、歯磨剤以上に SLS や glycerine による細胞障害が推測できる。

本研究は、生体で行った実験ではないため、本結果がそのまま生体にあてはまるものではないが、歯磨剤や洗口剤など口腔内で使用するものは含有する成分に注意し、良く選んで使用することが望ましいと考える。また、SLS や glycerine を含んでいるものを口腔内で使用する場合は、すすぎを十分するなどその使用法に注意することが必要であると考ええる。

文 献

- 1) 長島 暉, 佐久間彰, 倉石弘一, 鍋島殉三: 歯磨剤の亜急性毒性試験成績について. 口腔衛生会誌, 27: 27-28, 1985.
- 2) 滝本 洗: Dextranase 添加歯磨剤の有効性および口腔粘膜への安全性に関する研究. 口腔衛生会誌, 25: 1-29, 1975.
- 3) 二見高弘, 岡本揮公彦, 石田篤郎, 天羽 中: 数種の歯磨成分の口腔粘膜への影響. 口腔衛生会誌, 19: 160-169, 1969.
- 4) 新田暁子, 山本 隆, 河村洋二郎: 味覚受容に対する界面活性剤の影響. 日本生理誌, 35: 576-583, 1973.
- 5) 杉原邦夫, 山本 隆, 河村洋二郎: 界面活性剤の味覚神経反応におよぼす影響. 歯科基礎医学会誌, 19: 463-468, 1977.
- 6) 堅田 進: 歯牙磨耗症におよぼす歯磨剤の影響. 歯学, 59: 425-442, 1972.
- 7) 新井 高, 浦口良治, 渡辺 隆, 木下四郎: 歯磨剤の磨耗性について. 日歯周誌, 18: 289-314, 1976.
- 8) 岩崎浩一郎, 斎藤邦男, 小沢利之, 増田光輝, 滝

- 行雄, 岩井達明, 辻田 敏, 岡崎邦宣, 杉山真次, 小野沢勝弘, 大貝晴久, 矢野優子: 歯磨剤の安全性について. 歯界展望, 65 : 639-652, 1985.
- 9) Bossard, F.J. : Where are we in the field of prophylaxis? *International Dental Journal*, 3 : 128, 1951.
- 10) Herlofson, B.B. and Barkvoll, P. : Desquamative effect of sodium lauryl sulfate on oral mucosa. *Acta Odontol. Scand.*, 51 : 39-43, 1993.
- 11) Herlofson, B.B. and Barkvoll, P. : Oral mucosal desquamation caused by two toothpaste detergents in an experimental model. *Eur. J. Oral Sci.*, 104 : 21-26, 1996.
- 12) Arenholt-Bindslev, D., Bleeg, H.S. and Richards, A. : Toxicity of sodium dodecyl sulphate and other detergents in cultures of human oral mucosa epithelium. *ATLA*, 20 : 28-38, 1992.
- 13) Babich, H. and Babich, J.P. : Sodium lauryl sulfate and triclosan : in vitro cytotoxicity studies with gingival cells. *Toxicology Letters*, 91 : 189-196, 1997.
- 14) 牛村 章, 松戸裕子, 田中ゆり子, 筒井健機 : う蝕予防薬と歯磨剤のヒト歯肉由来培養ケラチノサイトに対する細胞毒性の量的比較. 歯学, 83 : 109-123, 1995.
- 15) 井出智仁, 田中ゆり子, 松戸裕子, 筒井健機 : 含嗽・洗口剤と局所麻酔薬のヒト歯肉由来培養ケラチノサイトに対する細胞毒性の量的比較. 歯学, 83 : 613-623, 1995.
- 16) Kawano, Y., Okubo, K., Tokunaga, F., Miyata, S., Iwanaga, S. and Hamasaki, N. : Localization of the pyridoxal phosphate binding site at the COOH-terminal region of erythrocyte band 3 protein. *J. Biol. Chem.*, 263 : 8232-8238, 1988.
- 17) Helenius, A. and Simons, K. : Solubilization of membranes by detergents. *Biochim. et Biophys. Acta*, 415 : 29-79, 1975.
- 18) Takagi, T., Kubo, K. and Isemura, T. : Solubilization of Oil-soluble dyes by sodium dodecyl sulfate-protein polypeptide complexes with reference to SDS-polyacrylamide gel electrophoresis. *Biochim. et Biophys. Acta*, 623 : 271-279, 1980.
- 19) 若林勝夫 : 日常臨床における知覚過敏の予防. 歯界展望, 65 : 745-758, 1985.

連絡先 :

湘南短期大学歯科衛生学科

〒 238-0003 神奈川県横須賀市稲岡町 82