

し、一回の血液透析に要する4時間循環後のDEHP総溶出量は7.3 mgであることが明らかになった。この全てが100%体内に吸収された場合、この総溶出量は、患者が血液透析一回当たりに受けるDEHP曝露量に等しい。通例、血液透析治療は週3回程度行われることから、上記の値を体重60 kgの患者に対する時間平均曝露量に換算すると0.052 mg/kg/dayとなる。また、血液透析回路からのDEHP溶出に対する除水の効果についても検討したが、本実験で使用した条件下での除水処理は循環血液中のDEHP濃度に関し何ら影響を与えないことが判明した。しかし、生体内に吸収されたDEHPの60%は肝臓、腎臓および肺においてグルクロン酸抱合体に変換され、水溶性が付加されて排泄されるのに対し、本研究で採用したin vitro試験系は同代謝系の効果を期待できない。それ故、実際の血液透析において十分な除水処理を施せば、体内からのDEHP排泄が促進される可能性はある。

現在までの研究により、DEHPが示す毒性の本体は体内における加水分解物に相当するMEHPであることが明らかにされている。本研究において、血液中におけるMEHPの生成動態を検討した結果、血液循環を開始してから4時間後のMEHP総検出量は324 µgであった。すなわち、血液透析回路から溶出したDEHPの約4%程度は血中において加水分解を受け、モノエステル体に変換されることが判明した。

人工心肺回路からのDEHP溶出も血液循環時間に比例して増加し、人工心肺回路用ノンコートPVC製チューブからは6時間の血液循環により、総量として7.5 mg(C社製品)、12.1 mg(D社製品)のDEHPが溶出されるこ

とが明らかになった。これらの値から、体重11 kgの小児が6時間人工心肺装置を使用した場合の短期曝露量は0.68 mg/kg/dayおよび1.1 mg/kg/dayとなる。本研究で使用したC社製およびD社製人工心肺回路用PVC製チューブの長さは同一であるが、両製品間の内径が異なる。C社製チューブの内径は6 mmであり、その内総表面積が565.2 cm<sup>2</sup>であるのに対し、D社製品の場合、内径が9.5 mm、内総表面積が894.9 cm<sup>2</sup>である。両社のノンコートPVC製チューブからのDEHP溶出量を単位面積当たりの溶出量として換算すると、C社製品では1.33 mg/100 cm<sup>2</sup>、D社製品では1.35 mg/100 cm<sup>2</sup>となり、単位面積当たりから溶出するDEHP量は両社製品ともほぼ同一となる。また、MEHP検出量について換算した場合も同様であり、C社製品が36.0 µg/100 cm<sup>2</sup>、D社製品が39.4 µg/100 cm<sup>2</sup>となる。今回の実験では、長さが同じで内径の異なる2種類のチューブに同一流速で血液を循環させたため、送液に要するローラーポンプの回転数が両製品間でかなり異なる。血液循環時におけるPVCチューブへの物理的負荷の相違はDEHP溶出量に大きな影響を与える可能性がある。また、チューブ径が違うことにより、血液単位体積当たりに対するチューブ内面への接触面積比も異なる。PVC製チューブからのDEHP溶出量がチューブ内の総表面積に比例して増減することは確かであり、C社製およびD社製ノンコートPVCチューブからの単位面積当たりのDEHP溶出量は計算上ほぼ同一であったが、DEHP溶出については、これらの要因が複雑に関与しているため、本研究における両製品からのDEHP溶出量を単純に比較することはできないものと思われる。

過去の研究において、人工心肺回路用 PVC 製チューブからの DEHP 溶出は内面をヘパリンコーティングすることにより顕著に抑制されることが報告されている。本研究においても、PVC 製チューブからの DEHP 溶出に関するヘパリンコーティングの影響を検討した結果、チューブ内面を共有結合的にヘパリンコートすると DEHP 溶出が抑制されることが確認された。しかし、共有結合型と比較して結合力が弱いと思われるイオン結合型ヘパリンコーティングでは DEHP 溶出を抑制することができないことが明らかになった。また、血液循環抽出中における MEHP の生成動態を検討した結果、6 時間までの循環により、約 3% 前後の DEHP が血液中において加水分解され、MEHP に変換されることも明らかになった。6 時間までの血液循環により溶出する DEHP 量は、ノンコート PVC チューブの場合、直線的に増加しているのに対して、共有結合型ヘパリンコート PVC チューブでは徐々に平衡状態に達しつつあることが分かる(図 16)。人工心肺装置の使用時間は患者の症例に応じて様々であるが、図 16 に示した溶出曲線を見る限り、同装置を長期間使用した場合、ノンコート製品と共有結合型ヘパリンコート製品間における DEHP 溶出量は大きく異なることが推測される。しかし、本実験では 6 時間を越える DEHP の溶出動態を追跡していないため、長期に渡る時間平均曝露量を評価することは困難である。

各種毒性試験を行うための用量セッティング、体内代謝に関する詳細な研究の欠如および慢性的に曝露を受けている患者や新生児・幼児などの高リスクグループに対する影響など、DEHP のリスク評価を行う上で様々な問題点や未だ明らかになっていない事項はあるが、現時点までに得られて

いる試験結果を参考として、幾つかの機関が DEHP の耐容一日摂取量 (TDI) を規定している (日本: 40 – 140  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ )。また、HCWH (Health Care Without Harm)、ACSH (米国科学健康諮問委員会)、NIEHS (国立科学健康研究所)、CERHR (ヒト生殖リスク評価センター) および CBER (FDA 生物評価研究センター) などの各委員会は、独自にヒトの DEHP 曝露による健康リスクを評価し、それぞれの結論を導いている。しかし、これらの各報告では、医療行為を受けた際の DEHP 曝露量とその許容摂取量 (TI) との比較が行われていなかった。これを受けて、FDA は平成 13 年に Safety Assessment of DEHP Released from PVC Medical Device というレポートを作成し、毒性評価、曝露量評価、体内分布や代謝など、現在までに得られている試験成績を総合的に評価して、各種医療行為による DEHP 摂取量と曝露ルート (経口および非経口) 毎の TI 値を取りまとめ、両者の相対比率からヒトに対する DEHP 曝露の健康リスクを評価している。FDA のレポート中、非経口投与時における DEHP の TI 値は 0.6  $\text{mg}/\text{kg}/\text{day}$  と算出されている (経口投与時 TI = 0.04  $\text{mg}/\text{kg}/\text{day}$ )。この TI 値に関しては、今後、議論の対象になると思われるが、参考値として用いた場合、本研究において確認された血液透析回路からの DEHP 曝露レベルは 0.052  $\text{mg}/\text{kg}/\text{day}$  であり、本 TI 値以下となる。その一方、人工心肺回路からの DEHP 摂取レベルは、短期曝露量として 0.68  $\text{mg}/\text{kg}/\text{day}$  および 1.1  $\text{mg}/\text{kg}/\text{day}$  であり、いずれも FDA が算出した TI 値を上回っていることになる。

透析患者の血中 DEHP 濃度を追跡した過去の研究では、透析治療中、血液透析回路からは 100 mg を越える DEHP が溶出するという報告がある。また、血液透析回路から溶出した DEHP が全て体内に吸収される訳ではなく、体内に残存するのは 3 - 60 mg 程度であるとの報告もある。これらの報告において得られた試験結果から、FDA は体重 70 kg の患者における血液透析回路からの DEHP 時間平均摂取量を 0.02 - 0.36 mg/kg/day と算出している。前述のとおり、本研究で得られた血液透析回路からの DEHP 溶出量は血液透析一回当たりの総量として 7.3 mg (0.052 mg/kg/day, 体重 60 kg) であり、DEHP 溶出量としては比較的低値であるが、FDA が取りまとめた時間平均摂取量範囲に入っている。一方、人工心肺回路からは、相当量の DEHP が溶出することが懸念されており、特に新生児や幼児などの場合、時間平均摂取量が極めて高くなる可能性があるとして指摘されている。本研究では、体重 11 - 12 kg の小児に人工心肺回路を適用する際の装置構成を用いて試験を行ったため、使用した PVC 製チューブの長さは 3 m であったが、6 時間使用時までの短期曝露レベルは 0.68 mg/kg/day および 1.1 mg/kg/day であり、摂取量/TI 値比が 1 を越えている。この値は、過去の報告のひとつとほぼ合致しているが、他の報告では摂取量/TI 値比が 20 を越える場合もあると指摘されている。

#### E. 結 論

血液透析器および人工心肺装置は腎機能障害を抱える患者や心肺バイパス術などに

とって欠かすことができない医療機器であり、ISO 10993-17 に基づくリスク評価におけるベネフィットファクターは、かなり高い値になると考えられる。しかし、人工心肺回路に関する DEHP 摂取量/TI 値比は短期曝露として算出しても 1 を越える可能性が十分あることから、これらの医療器具を用いることにより意図せぬ有害影響が生じる可能性を予測し、未然に防ぐ手だてを考慮しておく必要があるものと思われる。リスク評価は毒性評価や化学分析から導かれる曝露の推定の両者を総合し、起こりうる有害性を科学的な基礎に基づき予測する手法である。最近の内分泌攪乱化学物質への関心と懸念の高まりを受け、医療製品の安全性を確保するためには、現在入手可能なデータを駆使し既存の知見を総合してひとつの回答を用意せねばならないと同時に、リスク評価の結果を書き換えるような新たな知見が得られた場合には速やかに再評価がなされる必要がある。

F. 健康危険情報：特記事項なし

#### G. 研究成果

○論文発表

Hayashi Y., Matsuda R., Haishima Y., Yagami T. and Nakamura A. Validation of HPLC and GC-MS systems for bisphenol-A leached from hemodialyzers on the basis of FUMI theory. J. Pharm. Biomed. Anal., in press (2002).

○学会発表

関澤 純, 齋島由二, 土屋利江. ビスフェノールA重合樹脂成型血液透析器使用のり

スク・ベネフィット分析. 第 14 回日本  
リスク研究学会 (2001 年 9 月).

H. 知的財産権の出願・登録状況  
該当なし

【参考文献】

小泉睦子, 江馬 眞, 広瀬明彦, 長谷川隆一.  
フタル酸エステル生殖および発生に対  
する毒性影響についての最近の研究: 主  
として Di(2-ethylhexyl)phthalate およ  
び Di-n-butyl phthalate について. 日  
食化誌, 7: 65-73 (2000).

小泉睦子, 江馬 眞, 広瀬明彦, 黒川雄二,  
長谷川隆一. フタル酸エステルの生  
殖・発生無毒性量、精巣毒性の週齢差、  
種差および DEHP の 1 日耐容摂取量.  
日食化誌, 8: 1-10 (2001).

FDA report. Safety assessment of di (2-  
ethylhexyl)phthalate (DEHP) released  
from PVC medical devices. 2001.

ISO/DIS 10993-17.2. Biological eval-  
uation of medical devices - Part 17:  
Method for the establishment of  
allowable limits for leachable sub-  
stances using health based risk  
assessment.

Kambia K., Dine T., Azar R., Gressier B.,  
Luyckx M. & Brunet C. Comparative  
study of the leachability of di(2-  
ethylhexyl) phthalate and tri(2-ethyl-  
hexyl) trimellitate from haemodialysis  
tubing. Int. J. Pharm., 23:139-146  
(2001).

Faouzi MA., Dine T., Gressier B., Kambia  
K., Luyckx M., Pagniez D., Brunet C.,

Cazin M., Belabed A. & Cazin JC.  
Exposure of hemodialysis patients to  
di-2-ethylhexyl phthalate. Int. J.  
Pharm., 25:113-121 (1999).

Flaminio LM., Bergia R., De Angelis L.,  
Ferazza M., Marinovich M., Galli G. &  
Galli CL. The fate of leached di-(2-  
ethylhexyl)-phthalate (DEHP) in  
patients on chronic haemodialysis. Int.  
J. Artif. Organs, 11:428-434 (1988).

Pollack GM., Buchanan JF., Slaughter  
RL., Kohli RK. & Shen DD. Circu-  
lating concentrations of di(2-ethyl-  
hexyl) phthalate and its de-esterified  
phthalic acid products following plasti-  
cizer exposure in patients receiving  
hemodialysis. Toxicol. Appl. Pharmacol.,  
79:257-67 (1985).

Lewis LM., Flechtner TW., Kerkay J.,  
Pearson KH. & Nakamoto S. Bis(2-  
ethylhexyl) phthalate concentrations in  
the serum of hemodialysis patients.  
Clin. Chem., 24:741-746 (1978).

Karle VA., Short BL., Martin GR., Bulas  
DI., Getson PR., Luban NL., O'Brien  
AM. & Rubin RJ. Extracorporeal  
membrane oxygenation exposes infants  
to the plasticizer, di(2-ethylhexyl)  
phthalate. Crit. Care Med., 25:696-  
703 (1997).

Lamba NM., Courtney JM., Gaylor JD. &  
Lowe GD. In vitro investigation of the  
blood response to medical grade PVC  
and the effect of heparin on the blood  
response. Biomaterials, 21:89-96  
(2000).

Jones C., Courtney JM., Robertson LM.,  
Biggs MS. & Lowe GD. Influence of  
plasticised poly(vinyl chloride) on  
platelet adhesion and platelet  
aggregates. Int. J. Artif. Organs,  
12:466-470 (1989).

【協力研究者】

松田りえ子（国立医薬品食品衛生研究所）

林 譲（国立医薬品食品衛生研究所）

日本医療器材工業会

厚生科学研究費補助金  
医薬安全総合研究事業

プラスチック製医療用具に係る溶出物質の曝露量の評価に関する研究

平成13年度 分担研究報告書

3-1. 採血キットに関連する化学物質の分析及び動態解明の検討-  
Di (2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) の新規分析法の構築-医療用PVC製延長チューブ  
及び輸液セットからのDEHP溶出挙動の解明

分担研究者 中澤裕之

平成14 (2002) 年4月

平成 13 年度厚生科学研究（医薬安全研究事業）  
プラスチック製医療用具に係わる溶出物質の曝露量の評価に関する研究

Di (2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) の新規分析法の構築  
医療用 PVC 製延長チューブ及び輸液セットからの DEHP 溶出挙動の解明

主任研究者	佐藤 温重	昭和大学
分担研究者	中澤 裕之	星薬科大学
研究協力者	井之上 浩一	星薬科大学
	吉村 吉博	星薬科大学

研究要旨

Di (2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) は、ポリ塩化ビニル (PVC) 製樹脂の可塑剤として、様々な日用品に利用されている。本研究においては、DEHP の汚染を低減させた分析法を構築するため、カラムスイッチング-LC/MS 法によるダイレクト分析を試みた。いずれも重水素安定同位体 DEHP を用いた内標準法による定量を行った（検量線範囲 0.1 又は 0.5~10  $\mu\text{g/ml}$ ）。又、検量線を作成した結果、いずれも相関係数 0.99 以上であった。各種医薬品について、臨床における処方と投与計画に従い、試験溶液を調製した。本試験溶液による各種 PVC チューブからの DEHP 溶出挙動を検討し、リスクアセスメントの基礎的データを取得した。

A. 研究目的

2001 年、Center for Devices and Radiological Health, U. S. Food and Drug Administration (FDA) から、「Safety Assessment of Di (2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) Released from PVC Medical Devices」が発表された<sup>1)</sup>。又、2002 年には、Health Canada からも医療行為による DEHP 曝露とその危険性に関するレポートが報告されている<sup>2)</sup>。日本においては、厚生労働省食品衛生調査会・器具容器包装部会の評価により、一部可塑剤の玩具・食品用手袋に関する使用規制等が通知されている<sup>3)</sup>。

現段階でのプラスチック可塑剤 DEHP の生体影響評価は、主に雄性生殖

器、雌性生殖器、生殖毒性、発生毒性、肝毒性等が報告されている。肝毒性に関しては、げっ歯類に特異的な影響が考えられ、人での発生は極めて低いとされている<sup>4)</sup>。動物実験から得られた最も低い無毒性量に基づき、耐容 1 日摂取量 (TDI) が算出されるが、DEHP 無毒性量は、精巣毒性 (3.7 mg/kg/day)<sup>5)</sup>、生殖毒性 (14 mg/kg/day)<sup>6)</sup>、発生毒性 (44 mg/kg/day)<sup>7)</sup>とされている。

医療用プラスチック製品による DEHP 曝露やリスクアセスメントに関する総説も報告されている。最近では、FDA 及び Health Canada からの報告が注目され、PVC 製医療用具に関する使用にあたり、胎児、乳児、小児、妊婦、

妊娠する恐れのある患者等への適用について、その安全性が危惧され、更なる調査研究が必要とされている。

本研究では、試料前処理操作過程等での汚染により、測定が困難とされている DEHP の新規分析法を構築し、PVC 製延長チューブ及び輸液セットからの DEHP 溶出挙動の解明を行った。新規分析法には、カラムスイッチング-液体クロマトグラフィー/質量分析法 (CS-LC/MS) を採用した。又、DEHP 溶出挙動には、臨床での処方に従い、実際の使用方法に則して実施した。

## B. 研究方法

### B・1 試薬・試料

DEHP 及び DEHP-d<sub>4</sub> は、関東化学社製を用いた。その他の溶媒は和光純薬社製を使用した。医薬品の希釈に用いたブドウ糖注射液は、大塚製薬社製大塚糖液 5% を用いた。

本研究で検討した医薬品は、サンディムン®注射液(シクロスポリン注射液：ノバルティス ファーマ株式会社)、プログラフ®注射液(タクロリムス水和物注射液：藤沢薬品工業株式会社)、フロリード F®注(ミコナゾール・水性注射液：持田製薬株式会社)、イントラリポス®20% (静注用脂肪乳剤：大塚製薬株式会社)、ラステット®注(エトポシド製剤：日本化薬株式会社) を用いた。すべての医薬品は各社より、研究用として提供されたものである。

DEHP 溶出挙動の解明に用いた延長チューブは、PVC 製 (Tub. A) 及びニトログリセリン用 (Tub. B) を使用した。

輸液セットは、PVC 製を用いた。

### B・2 試薬・薬剤調製

各種薬剤は、臨床の処方箋及び投与計画に則って調製した。各種条件を、Table 1 に示す。又、各投与調製薬剤中の DEHP 定量に関しては、本調製後の溶液により、希釈して各種濃度を作製した。

測定用溶液には、重水素化安定同位体 DEHP-d<sub>4</sub> を暫定量添加のみで直接分析を実施した。

### B・3 CS-LC/MS 測定条件

CS-LC/MS 装置: Agilent 1100 LC/MSD SL system (Agilent Technologies 社製) 及び送液用ポンプとして、島津社製 LC-10AS を用いた。

分析用カラム：関東化学社製 Mightysil RP-18 GP (100 x 2.0 mm, 5 μm) 及びガードカラム Mightysil RP-18 GP (5 x 2.0 mm, 5 μm)

精製・抽出用カラム：Waters Oasis HLB extraction column (20 x 2.1 mm, 25 μm)

送液条件：試料を直接注入後、ポンプ (LC-10AS: 精製水 100%, 0.2 ml/min) で送液し、抽出カラムでクリーンアップ及び抽出を 5 分間行う。その後、スイッチングバルブを切り替え (A→B)、移動相 (Water/0.1 % Acetic acid in acetonitrile = 10/90 V/V, 0.2 ml/min) で分析用カラムに送液し、分離後、MS で選択的に検出を行う (Fig. 1)。

MS 条件: エレクトロスプレーイオン



化法, ポジティブモード, モニタリングイオン  $m/z = 391$  (DEHP),  $m/z = 395$  (DEHP- $d_4$ ), フラグメント電圧 110V

#### B・4 DEHP 溶出挙動に関する条件

各種薬剤の使用条件を, Table 1 に示す. 本研究では, すべての PVC 製チューブは同じ条件で実施した.

イントラリポス\*20%に関しては, 延長チューブのみについて検討した. 又, 本薬剤の分析では, 直接分析が不可能であるため, 下記の前処理操作後, 添加回収実験を行って, 定量分析を実施した.

- ①Table 1 の条件に従い, DEHP の薬剤への移行試験を実施した.
- ②本溶液に DEHP- $d_4$  を暫定量添加した.
- ③フタル酸エステル試験用ヘキサンにより, 抽出を行った (試験溶液 1 ml/ヘキサン 1 ml で 1 回抽出).
- ④ヘキサン層 0.5 ml を取り, 窒素気流下で濃縮乾固後, アセトニトリル 0.5 ml で再溶解したものを試験溶液とした.

### C. 研究成果

#### C・1 CS-LC/MS 測定条件

DEHP による汚染を考慮して, ガラス製器具は, 200°C 以上の高温加熱処理を行った後, 実験に使用した. 試薬調製に関しては, 星薬科大学附属施設ケミカルハザード実験室において実施した. 又, 測定は, 汚染を十分に考慮し, 試料を直接ガラス製 LC サンプル瓶に入れ, CS-LC/MS で分析した. 各種薬剤のブランク試験で, DEHP のピーク

が観察されたことから, 本試験での定量限界値 (Table 1) は, S/N 50 以上で設定することとした. 分析条件には, 移動相に酢酸を添加することにより, ピーク強度が増し, それにより最適条件とした (Fig. 2).

本測定法の定量範囲における直線性は, いずれも 0.99 以上の相関性を得ることができた (Table 1).

#### C・2 イントラリポス\*20%の添加回収

上記の条件により, 添加回収実験を行った結果, 平均回収率 92.2 % (CV = 7.8 %,  $n = 5$ , 添加濃度 5.0  $\mu\text{g/ml}$ ) と良好な結果を得ることができた.

#### C・3 延長チューブからの DEHP 溶出挙動に関する試験

Table 1 の測定条件に従い, 時間毎にサンプリングを行い, 分析を実施した. DEHP 加算溶出量と時間との関係を Fig. 3 に示す. Tub. A は, PVC 製材質であり, DEHP の溶出がいずれも観察された. 又, Tub. B の内面は, PVC 製材質を使用していないため, DEHP の溶出は殆ど確認されなかった.

#### C・4 輸液セットからの DEHP 溶出挙動に関する試験

Table 1 の条件に従い, 延長チューブ同様にサンプリング, 分析を実施した. DEHP 加算溶出量と時間との関係を Fig. 4 に示す. 本試験を実施した薬剤に関しては, すべての DEHP の溶出が確認された.

#### D. 考察

本研究により、構築した分析法は、現段階まで測定が困難とされていた DEHP の高精度な方法と考えられる。前処理操作過程での汚染は、その影響を排除することが極めて困難であるため、その過程をオンライン化した。一般に、LC での移動相やチューブからの僅少な DEHP の汚染が懸念されるが、オンライン化により、バックグラウンド以下となり、クロマトグラム上でピークとしては検出されなかった。試料の調製等は、大気中からの汚染を考慮して、ケミカルハザード実験室内で実施することにより、その低減化を図った。各種薬剤を分析した際のピークをバックグラウンドノイズとし、その 50 倍以上の強度を定量限界値として設定することにした。又、前処理カラムの再現性及びインターフェイスでのイオン化効率等の補正については重水素化安定同位体を用いて実施した。

又、本研究で実施した臨床条件で一日投与されたと仮定した場合、暴露量  $0.6 \sim 91.8 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$  (体重 50 kg) となる。この摂取量は、厚生労働省【食品衛生調査会・器具容器包装部会合同会】の設定した TDI ( $40 \sim 140 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ ) と同等レベルに近い。

#### E. 結論

本研究では、試料前処理操作過程等での汚染により、測定が困難とされている DEHP の新規分析法の構築にカラムスイッチング-液体クロマトグラフ

イー/質量分析法 (CS-LC/MS) を採用した。本法により、DEHP の簡単・迅速な直接分析が可能となった。

PVC 製延長チューブ及び輸液セットからの DEHP 溶出量の解析に本法を利用して、臨床での処方に従い、実際の使用方法に則って実施した。

本実験で得られた成果は、いずれも静注投与を想定して実施したものである。今後は、輸液の疎水性等の物性と DEHP 溶出量との関連を精査し、溶出原因等を解明する必要があるものと考えられ、科学的な実証によってより安全性の高い医療用具の開発が可能になるものと期待される。

#### F. 健康危険情報

なし。

#### G. 研究発表

##### 1. 発表論文

1. "The validation of column-switching LC/MS as a high-throughput approach for direct analysis of di(2-ethylhexyl) phthalate released from PVC medical devices in intravenous solution" K. Inoue, T. Higuchi, F. Okada, H. Iguchi, Y. Yoshimura, A. Sato and H. Nakazawa, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* (投稿中)

##### 2. 学会発表

1. ポリ塩化ビニル製医療用具の安全性評価 (第 1 報) :GC/MS による点滴用チューブ中の残留添加物の分析  
井之上浩一, 奥村紘代, 吉村吉博,

中澤裕之, 伊藤裕子, 岡 尚男, 月岡 忠, 寺澤潤一, 牧野恒久, 日本薬学会第 122 年会, 千葉, 2002・3

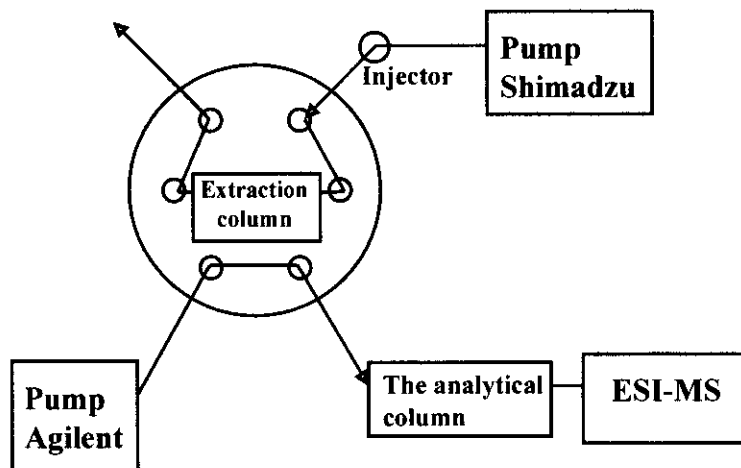
### 3. 参考文献

- 1) Center for Devices and Radiological Health, U. S. Food and Drug Administration (Web at <http://www.fda.gov/cdrh/newpg.html>.) September (2001)
- 2) Health Canada Expert Advisory Panel on DEHP in Medical Devices (Web at <http://www.hc-sc.gc.ca/hpb-dgps/therapeut/htmleng/whatsnew.html>) January (2002)
- 3) 厚生労働省 ( Web at [http://www1.mhlw.go.jp/shingi/s0006/txt/s0614-1\\_13.txt](http://www1.mhlw.go.jp/shingi/s0006/txt/s0614-1_13.txt))
- 4) J.M. Ward, J.M. Peters, C.M. Perella, F.J. Gonzalez, Toxicol. Pathol., 26, 240-246 (1998)
- 5) R. Poon, P. Lecavalier, R. Mueller, V.E. Valli, B.G. Procter, I. Chu, Food Chem. Toxicol., 35, 225-239 (1997)
- 6) J.C. Lmb, R.E. Chapin, J. Teague, A.D. Lawton, J.R. Reel, Toxicol. Appl. Pharmacol., 88, 255-269 (1987)
- 7) R.W. Tyl, C.J. Price, M.C. Marr, C.A. Kimmel, Fundam. Appl. Toxicol., 10, 395-412 (1988)

### H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得  
なし.
2. 実用新案登録  
なし.
3. その他  
なし.

Configuration A



Configuration B

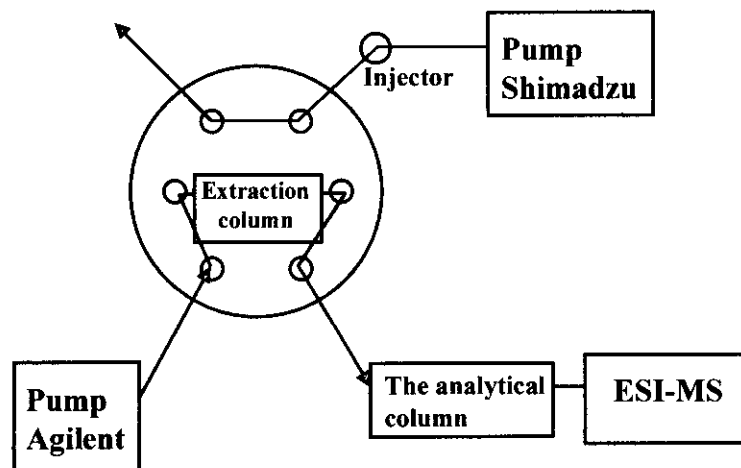
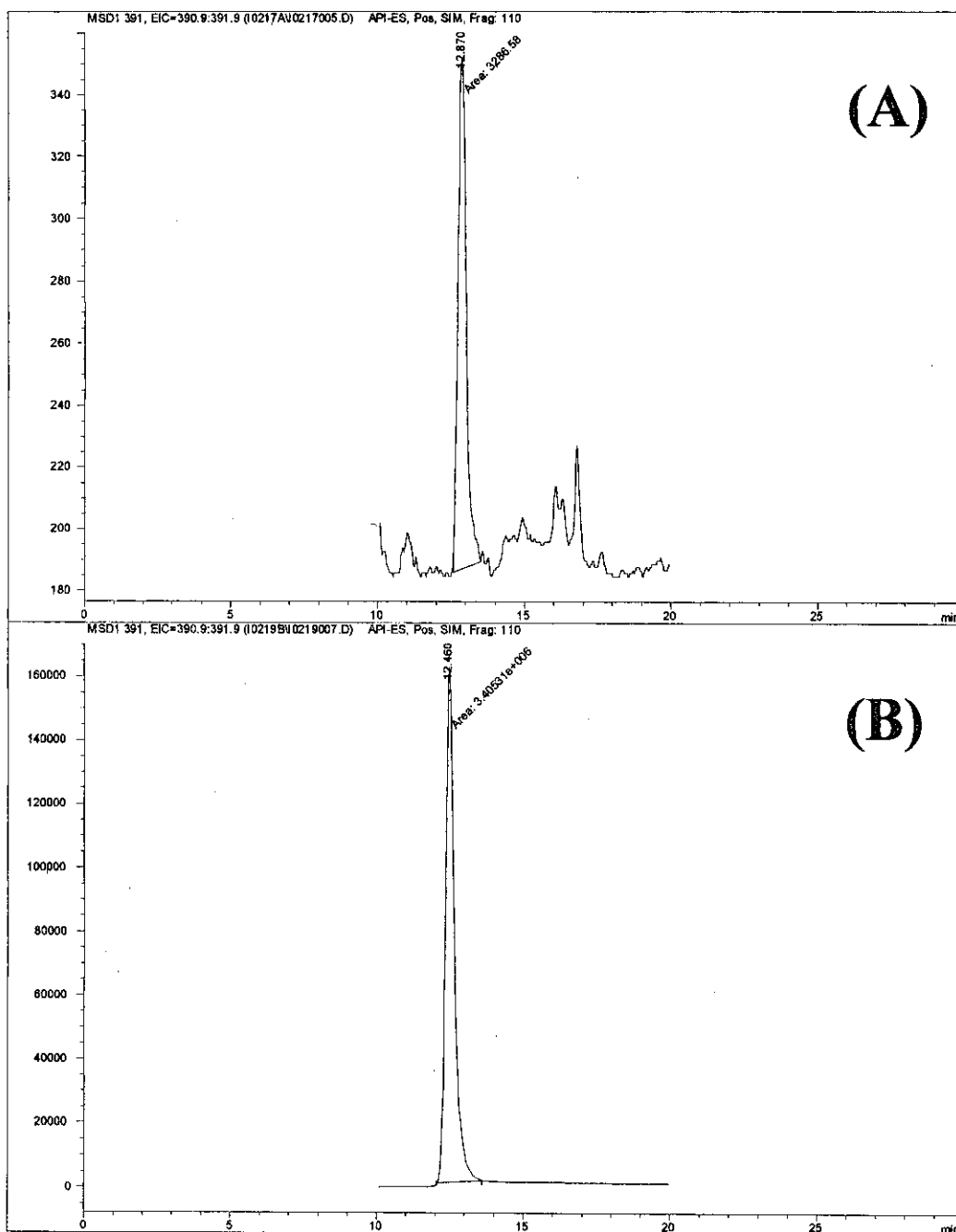


Fig. 1 Column-switching LC/MS のシステム図



**Fig. 2 DEHP ( $[M+H]^+$ )クロマトグラム (Sample B)**

**DEHP 濃度; 5.0  $\mu\text{g/ml}$ .**

**(A) 移動相: Water/Acetonitrile (10/90, V/V).**

**(B) 移動相: Water/0.1% Acetic acid in acetonitrile (10/90, V/V).**

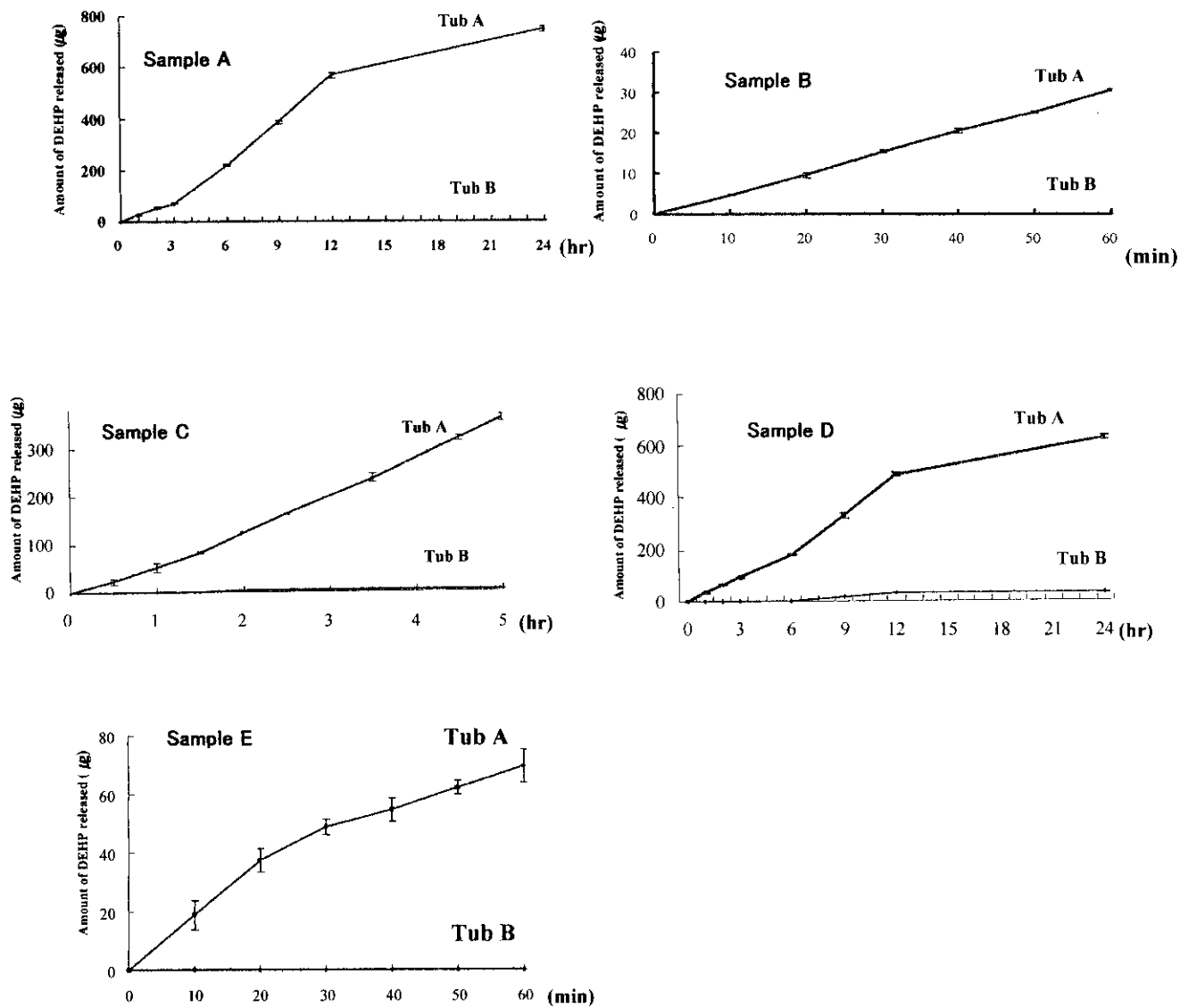


Fig. 3 PVC 延長チューブからの DEHP 溶出積算量

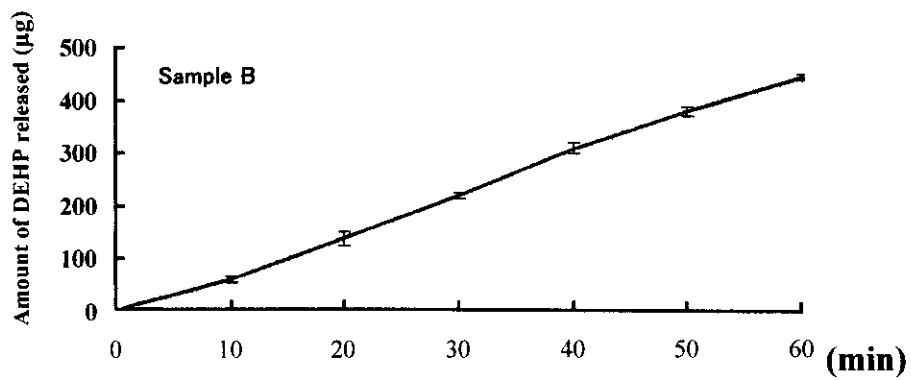
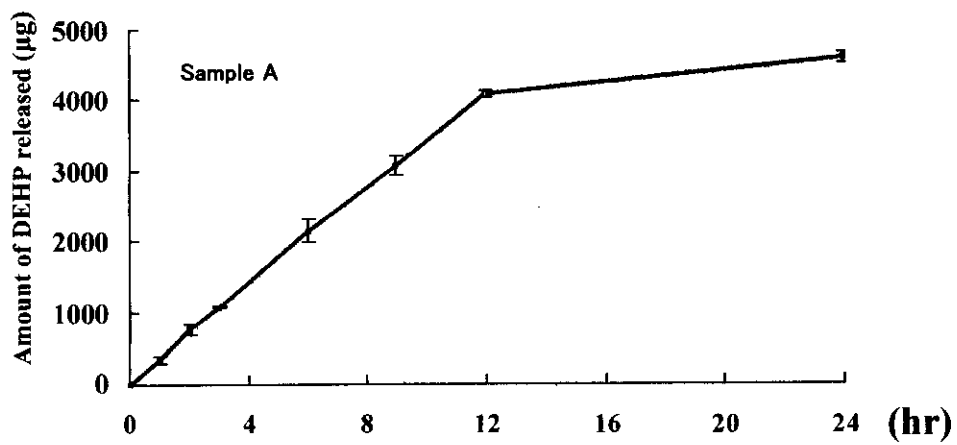


Fig. 4 PVC 製輸液セットからの DEHP 溶出積算量

**Table 1 Experimental conditions used for determination of DEHP released from PVC tubing**

<b>IV solution sample</b>	<b>The sample preparation</b>	<b>Quantitative range (<math>\mu</math> g/ml)</b>	<b>Correlation</b>
<b>Sample A</b>	<b>Sample A (250 mg/5 ml) 1A 5 % TZ 250 ml 7.5 ml/hr: 24 hr medication</b>	<b>0.5-10.0</b>	<b>0.999</b>
<b>Sample B</b>	<b>Sample B (200 mg/20 ml) 1A 5 % TZ 250 ml 270 ml/hr: 1hr medication</b>	<b>0.1-10.0</b>	<b>0.996</b>
<b>Sample C</b>	<b>Sample C 100 ml 20 ml/hr: 5hr medication</b>	<b>0.5-10.0</b>	<b>0.999</b>
<b>Sample D</b>	<b>Sample D (5 mg/ml) 5 % TZ 500 ml 1.4 ml/hr: 24 hr medication</b>	<b>0.5-10.0</b>	<b>0.999</b>
<b>Sample E</b>	<b>Sample E (100 mg/5 ml) 5 % TZ 250 ml 4.25 ml/min: 1 hr medication</b>	<b>0.1-10.0</b>	<b>0.997</b>



厚生科学研究費補助金  
医薬安全総合研究事業

プラスチック製医療用具に係る溶出物質の曝露量の評価に関する研究

平成13年度 分担研究報告書

3-2. ポリ塩化ビニル製フィーディングチューブからの  
Di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) 溶出挙動の解明

分担研究者 中澤裕之

平成14(2002)年4月

平成 13 年度厚生科学研究（医薬安全研究事業）  
プラスチック製医療用具に係わる溶出物質の曝露量の評価に関する研究  
分担研究報告書

ポリ塩化ビニル製フィーディングチューブからの  
Di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) 溶出挙動の解明

主任研究者	佐藤 温重	昭和大学
分担研究者	中澤 裕之	星薬科大学
協力研究者	井之上 浩一	星薬科大学
	樋口 多恵	星薬科大学

研究要旨

Di(2-ethylhexyl)phthalate(DEHP)は、ポリ塩化ビニル(PVC)製樹脂の可塑剤として、様々な日常品に利用されている。医療用具として、未熟児、新生児等に汎用される栄養摂取用 PVC 製フィーディングチューブは、可塑剤の溶出と曝露量が問題となる。本研究においては、DEHP の新規分析法であるカラムスイッチング-LC/MS 法により、フィーディングチューブから人工ミルクに移行する DEHP 溶出挙動を検討し、リスクアセスメントの基礎的データを取得した。

A. 研究目的

ポリ塩化ビニル製医療用具からの可塑剤フタル酸ジエチルヘキシル (DEHP) の溶出とそのリスクアセスメントに関しては、Center for Devices and Radiological Health, U. S. Food and Drug Administration(FDA)<sup>1)</sup> や Health CANADA<sup>2)</sup>から詳細な報告が発表された。しかし、現在までに報告されている内容の総括は、「特に妊娠期、未熟児、新生児、乳児期等にその使用を避ける。」との勧告に留まっている。フィーディングチューブは、主な使用として、未熟児や栄養摂取の困難な新生児等が主な対象であり、その使用頻度も比較的高いことが挙げられる。その一方で、フィーディングチューブを

利用することにより、DEHP にどの程度曝露されているかについての報告は、殆どない。

我々は、試料前処理操作過程等での汚染により、測定が困難とされている DEHP の新規分析法を構築し、PVC 製延長チューブ及び輸液セットからの DEHP 溶出挙動の解明を行った。新規分析法には、カラムスイッチング法と液体クロマトグラフィー/質量分析法 (CS-LC/MS) を併用して構築した。そこで、確立した分析法を駆使して、フィーディングチューブからの溶出が危惧される DEHP に関して、通常に使用される条件を考慮して、溶出量の測定を実施した。又、そのリスクアセスメ

ントも行うこととした。

## B. 研究方法

### B・1 試薬・試料

DEHP 及び DEHP- $d_4$  は、関東化学社製を用いた。その他の溶媒は和光純薬社製を使用した。

本研究で検討した人工ミルクには、森永乳業株式会社製森永ドライミルクはぐくみ（調製粉乳 Lot. 1 K27/C27）を用いた。又、DEHP 溶出挙動の検討に用いた延長チューブは、アトムメディカル株式会社製アトム栄養カテーテル Atom Indwelling Feeding Tube for Infant（規格：4fr, 製品コード 43004, 製造番号 0205170）を使用した。

### B・2 試薬・試料調製

DEHP 溶出実験は、一般的に投与される計画に則って実施した。即ち、粉ミルクを 0.13 g/ml になるよう調製し、試料とした。シリンジポンプ（テルモ社製：テルフュージョン シリンジポンプ TE-312）により、体重 1000 g の未熟児を想定して 1 日 12 回（30 分/1 回）2 時間ごとにチューブにて栄養を摂取するとして、流速 0.4 ml/min, サンプルングポイント：0, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 6.0 時間とした。

測定用溶液には、重水素化安定同位体 DEHP- $d_4$  を暫定量添加し、下記の前処理を実施した後、測定を行った。

- ①上記の条件に従い、DEHP の試料への移行試験を実施した。
- ②本溶液に DEHP- $d_4$  を暫定量添加した。

③フタル酸エステル試験用ヘキサンにより、抽出を行った（試験溶液 1 ml/ヘキサン 1 ml で 1 回抽出）。

④上層 0.5 ml を取り、窒素濃縮した後、HPLC 用アセトニトリル 0.5 ml に再溶解し、CS-LC/MS 用試料とした。

### B・3 CS-LC/MS 測定条件

CS-LC/MS 装置: Agilent 1100 LC/MSD SL system (Agilent Technologies 社製) 及び送液用ポンプとして、島津社製 LC-10AS を用いた。

分析用カラム: 関東化学社製 Mightysil RP-18 GP (L) (100 x 2.0 mm, 5  $\mu$ m) 及びガードカラム Mightysil RP-18 GP (5 x 2.0 mm, 5  $\mu$ m)

精製・抽出用カラム: Waters 社製 OASIS extraction column (2.1 x 20 mm, 25  $\mu$ m)

送液条件: 試料を直接注入後、ポンプ (LC-10AS: 精製水 100%, 0.5 ml/min) で送液し、抽出カラムでクリーンアップ及び抽出を 5 分間行う。その後、スイッチングバルブを切り替え (A→B), 移動相 (Water/0.1% Acetic acid in acetonitrile = 10/90 (V/V), 0.2 ml/min) で分析用カラムに送液し、分離後、MS で選択的に検出を行う。

MS 条件: エレクトロスプレーイオン化法, ポジティブモード, モニタリングイオン  $m/z = 391$  (DEHP),  $m/z = 395$  (DEHP- $d_4$ ), フラグメント電圧 110 V

## C. 研究結果

### C・1 CS-LC/MS 測定条件

ブランク試験で、DEHP のピークが観察されたことから、本試験での定量限

界値は、S/N 10 以上で設定することとした。分析条件において、ピーク強度が増加することから移動相に酢酸を添加した。本測定法の定量範囲における直線性は、いずれも 0.996 以上の相関性を得ることができた。

## C・2 粉ミルクからの DEHP 添加回収実験

上記の条件により、添加回収実験を行った結果、平均回収率 80.0% (CV = 1.62 %, n = 4, 添加濃度 5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) と良好な結果を得ることができた。

## C・3 フィーディングチューブからの DEHP 溶出挙動に関する測定

上記の測定条件に従い、時間毎にサンプリングを行い、分析を実施した。DEHP 加算溶出量と時間との関係を Fig. 1 に示す。時間経過と共に DEHP の溶出が確認され、6 時間後には、103.4  $\mu\text{g}$  の溶出が確認された。体重 1000g の未熟児を想定した場合、フィーディングチューブを用いて人工ミルクを摂取すると DEHP 暴露量は、103.4  $\mu\text{g}/\text{kg}(\text{体重})/\text{day}$  となる。

## D. 考察

フィーディングチューブの使用は、未熟児及び吸啜・嚥下運動に支障が認められる小児に対して使用される。つまり、比較的生体の生理活性等が未発達の段階で使用されることが多い。そのため、小児等の安全性を考慮し、フィーディングチューブからの可塑剤 DEHP の溶出や暴露量を正確に把握す

る必要がある。

FDA の報告<sup>1)</sup>では、このフィーディングチューブに関しては、概算値のみの評価であり、実際の測定値については、協議されていない。そこで本研究において、実際の PVC 製フィーディングチューブからの溶出量を測定した。上記の条件において人工ミルクを投与することにより DEHP を 103.4  $\mu\text{g}/\text{day}$  暴露されることが分かった。この値は、厚生労働省<sup>3)</sup>の提唱する TDI と同等である。しかし、この TDI は、体重 50kg の成人が対象であることから、新生児及び小児に対してこの指標は、妥当であるのかは定かではない。しかし、FDA 及び Health Canada<sup>2)</sup>における報告からも成人よりもむしろ小児に対してのリスクは高いとされている。

## E. 結論

上記の結果及び考察からも成人の DEHP 経口摂取を想定した TDI にほぼ同等である 103.4  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$  の未熟児 (1000 g) 曝露評価となった。新生児に対する DEHP の生体影響等の報告は、殆どないが、このような医療行為によって新生児が化学物質に暴露されることは、事実である。そこで、今後は、PVC 製品に替わる材質の開発及び DEHP の代替可塑剤を用いた PVC 製品の開発が期待される。

## F. 参考文献

- 1) Center for Devices and Radiological Health, U. S. Food and