

2003.1244

平成15年度厚生労働科学研究費補助金
(医薬品等医療技術リスク評価研究事業)
研究成果報告書

適用する医薬品の脂溶性等とプラスチック
製医療用具に使用される可塑剤の溶出度の
相関性に関する研究
(H14 - 医薬 - 005)

主任研究者	中澤 裕之	星薬科大学
分担研究者	薮島 由二	国立医薬品食品衛生研究所
	佐藤 温重	昭和大学歯学部
	掘 伸二郎	大阪府立公衆衛生研究所
	牧野 恒久	東海大学医学部

目次

I. 総括研究報告書概要

II. 総括研究報告書

適用する医薬品の脂溶性等とプラスチック製医療器具に使用される可塑剤の溶出度の相関性に関する研究

中澤 裕之

III. 分担研究報告書

1. 高分子医療器具からの可塑剤溶出量の評価に関する研究

- DEHP 溶出リスクの予測 -

齋島 由二

2. PVC 製医療器具の光・温度処理による DEHP 溶出挙動の検討

中澤 裕之

3. 可塑剤の溶出動態に影響する要因の解析

佐藤 温重

4. LC/MS/MS を用いたプラスチック製医療器具に使用される可塑剤の動態解析

堀 伸二郎

5. 臍帯血造血幹細胞に対する DEHP の作用について

牧野 恒久

IV. 研究成果の刊行に関する一覧表

V. 研究成果の刊行物・別刷

I. 総括研究報告書概要

厚生労働科学研究費補助金総合研究報告書概要

研究費の名称= 厚生労働科学研究費補助金

研究事業名= 医薬品等医療技術リスク評価研究事業

研究課題名= 適用する医薬品の脂溶性等とプラスチック製医療用具に使用される可塑剤の溶出度の相関性に関する研究

国庫補助金精算所要額(円)= 18,000,000

研究期間(西暦)= 2003

研究年度(西暦)= 2003

主任研究者名= 中澤 裕之 (星薬科大学)

分担研究者名= 葩島 由二(国立医薬品食品衛生研究所),

佐藤 温重(昭和大学歯学部)

堀 伸二郎(大阪府立公衆衛生研究所)

牧野 恒久(東海大学医学部)

研究目的= プラスチック製医療用具には、種々の機能を付与させるために様々な添加剤が利用されている。その中でも、可塑剤はその利便性から、プラスチック添加剤として最も多く利用されている。この様な可塑剤には、フタル酸エステル類が広く使用されており、中でもフタル酸ジ-2-エチルヘキシル(DEHP)は、全可塑剤生産量の約 50%以上を占めている。現在医療機関で多く使用されているプラスチック製医療用具の代表的な可塑剤 DEHP に焦点を当て、溶出量について測定してきた。本研究においては、これらの成果を踏まえて、併用される医薬品による DEHP の溶出力を医薬品の脂溶性を機軸に一元的な評価手法を開発するために、ガスクロマトグラフ/質量分析法、液体クロマトグラフ/質量分析法等のハイブリッドな最新機器を駆使した分析法を構築し、プラスチック製医療用具からの溶出挙動や脂溶性医薬品の影響等を究明した。それに加え、品質評価の観点から、医療用 PVC 素材の保存温度や状態による DEHP 溶出挙動の評価等を実施する。また、LC/MS/MS を用いて血清(血漿)及び各種輸液(生理食塩水、経静脈栄養輸液、経静脈用脂肪乳剤、経腸輸液及び乳)中の DEHP 及び MEHP の濃度を正確に測る方法を開発することを目指す。

一方、歯科治療で汎用されている軟質裏装材、粘膜調整材(tissue conditioner)、レジン系仮

封材にはフタル酸ジブチル(DBP)等のような可塑剤が使用されている。適用対象年齢は軟質裏装材や粘膜調整材では成人であるが、レジン系仮封材は充填などの歯科治療に伴って必ず使用されたため、使用される年代層は広範に渡っている。レジン系仮封材から溶出されるフタル酸エステル及びその代謝物の溶出挙動を明らかにする必要がある。溶出挙動は食物共存により変動する可能性があるが、実態は不明である。そこで、DBPの溶出挙動に大きく影響すると考えられる食物・飲料に含まれる成分である脂溶性溶媒を添加した唾液におけるDBPの溶出量及びその代謝物のモノブチルフタル酸(MBP)を測定し、推定曝露量を求める。

研究方法= DEHPの測定方法として、カラムスイッチング-オンライン抽出LC/MS法、LC/タンデムMS法及び高分解能GC/MS法を採用する。いずれの分析法もDEHP及びその代謝物であるフタル酸モノ-2-エチルヘキシル(MEHP)の高感度・精度な一斉分析法である。また、LC/MS/MSを活用し、血清(血漿)及び各種輸液中のDEHP及びMEHPの濃度を正確に測る方法を開発した。本法を用いて経腸輸液または人工乳をDEHPを含む医療器具に適用した際のDEHP及びMEHPの溶出量を把握する。

現在は、プラスチック製医療用具に含有する可塑剤などのスクリーニング調査は終了し、その中でも可塑剤(DEHP)は特に含有量や率が最も高かった。その後、DEHP及びMEHPの各種分離分析法を用いて、開発を実施した。それを応用して、適用する医薬品の脂溶性等と各種医療用具に使用される可塑剤の溶出度の関連性を調査している。脂溶性色素溶解力の測定においては、薬剤濃度の上昇に伴う吸光度変化率は、メチルイエローが最も高く、スダンⅢが最も低いことが確認された。本結果から、3種類の色素中では、メチルイエローが薬剤の可溶化力の相違を最も顕著に反映することが明らかになった。静的接触角の測定では、Tween® 80を除く薬剤は濃度上昇に従ってPVCシートに対する親和性が向上し、濃度依存的に接触角が小さくなる傾向がみられた。電気伝導度の測定結果では、サンディミュン®注射液、HCO-60、Tween® 80およびドデシル硫酸ナトリウム(SDS)は、濃度上昇に伴い、導電率が上昇することが確認された。

歯科材料からのDBP及びMBPの溶出については、レジン系仮封材の硬化体試料をヒト唾液及びエタノール又はポリソルベート80を添加した唾液に浸漬し、浸漬液に移行したDBP及びその代謝物MBPをHPLCで定量した。

結果と考察= 本研究では、適用する医薬品の物理化学的性質とPVC製医療用具からのDEHP溶出量との相関性を中心に可塑剤に関する安全性評価等を検討した。特に、医薬品の脂溶性色素溶解力、電気伝導度およびPVCシートに対する静的接触角は医薬品のDEHP溶出力と密接な関連性を持つことが確認された。中でも、色素法は最も良好な相関性を示したことから、PVC製医療用具からのDEHP溶出量は煩雑な溶出実験を行うことなく、医薬品の色素溶解力を測定することにより容易に予測できることが示された。現在、およそ60種類の注射用医薬品の色素溶解力とPVC製輸液チューブからのDEHP溶出力の相関性を検討し、

両パラメータの相関マップを作成している。このマップは、医療現場における安全対策の一助として応用できる可能性が非常に高く、PVC 製医療用具の適用使用について大きく貢献できるものと思われる。

また、PVC 製品の保存時に熱や光などの外的因子が同製品に与える影響を DEHP 含量、DEHP 溶出挙動、表面構造及び製品強度の変化を指標として検討した結果、紫外線照射群のみに溶出量の顕著な減少(DEHP 溶出量の半減)が認められた。一方、紫外線照射 PVC チューブを用いた DEHP 溶出試験では、このような現象は認められなかった。また、PVC シート中の DEHP 全含量には、紫外線照射群を含め、いずれの試料ともに処理の前後において大きな変化が認められなかった。これらの結果から、紫外線照射による DEHP 溶出量の減少は、材料全体の変質に基づく現象ではなく、PVC シート表面の極浅い部分の構造変化に由来することが推測された。更に引張試験を実施した結果、全試料ともに破断応力及び伸び弾性に大きな変化が認められなかったことから、PVC シートの強度は本研究で適用した熱処理及び光照射により殆ど影響を受けないことが明らかとなった。紫外線照射により材料の分解や架橋化が起こる現象は従来から知られていたが、紫外線照射 PVC シートにおいて DEHP 溶出量の顕著な低下が観察された知見は、材質や可塑剤を変更しなくとも簡単な表面処理により PVC 製医療用具からの DEHP 溶出量を低減化できることを示唆している。

PVC 製医療器具から経腸栄養剤中 DEHP 及び MEHP の溶出実験の結果、製剤間で差が認められた。この差は、製剤間の脂質の含有量の差では説明できない。経腸栄養剤の投与条件は、患者の状況によってその大部分が決定される。すなわち、使用する器具、栄養剤の種類、量及び投与速度等は、DEHP の溶出を回避するためだけに変更することは、難しいと思われる。充填するエレンタール P の温度が高くなるのに従って器具から溶出する DEHP の量は増加した。充填時の経腸栄養剤の温度管理は、患者の DEHP への暴露を減らすうえで、医療現場のスタッフが留意できる数少ない容易かつ重要なポイントである。

歯科材料からの DBP の溶出については、フタル酸エステル類可塑剤を使用している歯科用材料を中心に、使用環境や条件によるフタル酸エステルおよび代謝産物の溶出挙動の検証を更に推進している。レジン系仮封材硬化体を浸漬した唾液中に DBP と MBP が検出された。MBP 量は浸漬時間に依存して増加していた。20%エタノール添加唾液中に浸漬における DBP の溶出量は、唾液中浸漬に比較して増加していた。ポリソルベート 80 含有唾液中の浸漬では、その濃度に依存して DBP の溶出量が増加していた。歯科材料の臨床使用における DBP 曝露量の評価を進めている。

結論= 医療用プラスチック製品の材質に残留する化学物質やその安全性評価等の詳細な研究は、稀少である事実は免れず、多岐にわたる情報が必要と考えられる。その情報や研究成果に基づいて、安全な医療行為を早急に設けなければならない。そのスクリーニング測定や技術の開発を研究計画の第一としなければならない。本研究では、各研究計画予定に関しては、前年度に引き続き、評価法の確立をもとに、可塑剤の溶出挙動や動態に関しての解

明を行い、溶出実態やリスクアセスメント等を検討した。得られる研究成果は、安全性の高い医療用具の開発に寄与するものと期待される。

II. 総括研究報告書

適用する医薬品の脂溶性等とプラスチック製
医療用具に使用される可塑性の溶出度の相関性
に関する研究

主任研究者 中澤 裕之 星薬科大学 薬品分析化学教室

平成 15 年度 厚生労働科学研究費補助金（医薬品等医療技術リスク評価研究事業）

総括研究報告書

適用する医薬品の脂溶性等とプラスチック製医療用具に使用される可塑剤の溶出度の
の相関性に関する研究

主任研究者	中澤 裕之	星薬科大学 薬品分析化学教室
分担研究者	藪島 由二	国立医薬品食品衛生研究所
	佐藤 温重	昭和大学（歯学部）
	堀 伸二郎	大阪府立公衆衛生研究所
	牧野 恒久	東海大学（医学部）

研究要旨

プラスチック製医療用具には、種々の機能を付与させるために様々な添加剤が利用されている。その中でも、可塑剤はその利便性から、プラスチック添加剤として最も多く利用されている。特にフタル酸ジ-2-エチルヘキシル(DEHP)は、全可塑剤生産量の約 50%以上を占めている。現在医療機関で多く使用されているプラスチック製医療用具の代表的な可塑剤 DEHP に焦点を当て、溶出量について測定してきた。本研究においては、これらの成果を踏まえて、併用される医薬品による DEHP の溶出力を医薬品の脂溶性を機軸に一元的な評価手法を開発するために、GC-MS, LC-MS/MS 等のハイブリッドな最新機器を駆使した分析法を構築し、プラスチック製医療用具からの溶出挙動や脂溶性医薬品の影響等を究明した。それに加え、品質評価の観点から、医療用 PVC 素材の保存温度や状態による DEHP 溶出挙動の評価等を実施する。また、各種輸液（生理食塩水、経静脈栄養輸液、経静脈用脂肪乳剤、経腸輸液及び乳）中の DEHP 及び MEHP 濃度を分析し、リスク評価を行う。更に PVC バッグは、さい帯血の保存にも利用される可能性もあり得るため、造血幹細胞への影響も考慮した。また、歯科領域で利用される可塑剤についても更なる検討を行った。それらの結果から、総合的且つ正確なリスク評価や溶出相関性等の検討を実施することとした。

A. 研究目的

現在、医療現場ではプラスチック製ディスプレイ製品が汎用されている。中でも、ポリ塩化ビニル (PVC) 樹脂は、加工性に優れ、滅菌への耐久性も高く、安価であるなどの理由から、輸液セット、血液バッグ及びチューブ類をはじめとした主要製品の原材料として多用されている。

一方、PVC 製品に柔軟性を付与するために添加されている可塑剤（フタル酸ジ-2-エチルヘキシル, DEHP）は、齧歯類に対する精巣毒性や発生毒性を示すことが知られている化学物質である。DEHP は、食品や血液などと接触することにより PVC 製品表面から容易に溶出するため、ヒトへの健康影響が危惧されている。日本では、厚生労働

省が組織した食品衛生調査会・器具容器包装部会合同会において、DEHPの耐用一日摂取量 (Tolerable dairy intake, TDI) が40～140 µg/kg/dayと設定され、可塑剤としてDEHPを含むPVC製品は乳児用玩具や食品用手袋などとして使用しないように一部規制されている。

また、歯科領域で利用されるレジン系仮封材の液成分の多くには可塑剤としてフタル酸エステルであるジ-n-ブチルフタル酸エステル(DBP)若しくはブチルフタリルブチルグリコレート(BPBG)が添加されている。そのため、唾液中に浸漬した粘膜調整材やレジン系仮封材硬化体溶出液に対して、DBPとモノブチルフタル酸エステル (MBP) が検出される可能性も十分に考えられる。歯科治療で使用される材料で発生・生殖毒性に着目するとレジン系仮封材でその毒性の懸念が考えられる。

このようにPVC製医療用具において、使用時の条件等に応じて、可塑剤が溶出することが報告されており、患者は医療行為を通して比較的多量の暴露を受ける可能性がある。近年、Center for Devices and Radiological Health, U.S. Food and Drug Administration (FDA)やHealth CANADAより、実際の医療行為による患者へのDEHP暴露に関する詳細な研究が発表された^{1,2}。

日本においても、我が国で使用されている代表的なPVC製品を使用して実際の医療行為に伴うDEHP曝露量を評価する研究が平成13年度に実施され、成人患者及びDEHPに対する感受性が比較的高いと危惧されている患者群 (新生児、乳児、幼児、妊婦など) を対象としたリスク・ベネフィット解析が行われている。この成績に基づいて、

厚生労働省医薬局は平成14年10月に『医薬品・医療用具等安全性情報』を通知し、医療関係者に対してリスク患者群へのPVC製医療用具の適用に関して注意喚起すると共に、医療機器メーカーに対して代替品の開発を進めるように促している³。

PVC製医療用具への関心が高まる中、その詳細な規則や溶出挙動などは解明されているとは言い難く、PVC製医療用具の様々な状態がDEHPの溶出挙動に何らかの影響を与えることは十分考えられる。そこで、本研究では、下記の項目別に検討を実施し、基礎的な情報を収集することにより、可塑剤のリスク・ベネフィットの正確な評価に役立つものと思われる。

1. 高分子医療用具からの可塑剤溶出量の評価に関する研究
2. PVC製医療用具の光・温度処理によるDEHP溶出挙動の検討
3. 歯科領域における可塑剤の溶出動態に影響する要因の解析
4. LC/MS/MSを用いたプラスチック製医療用具に使用される可塑剤の動態解析
5. さい帯血造血幹細胞に対するDEHPの作用について

B. 研究方法

1. 材料及び試薬

PVC製品としては、テルモ社製血液バッグ用シート及び輸液用延長チューブを使用した。

レジン系仮封材としては汎用されているDuraSeal (ロット 液:022502, 粉:012302, Reliance Dental MFG Co.), プラストシール (ロット 液:P6D, 粉:P6C2, 日本歯科

薬品工業 (株)), フィットシール (ロット液: 022502, 粉: 012302, (株)ジーシー) を用いた。

その他の詳細については, 各分担報告書に記載されている。

2. 可塑剤測定用装置

GC-MS として, 質量分析装置としては, 高分解能磁場型質量分析計 JEOL JMS700 を用い, 分解能 5,000 で測定した。得られたクロマトグラムはテキスト変換後, FUMI (Function of Mutual Information) 理論に基づくプログラム TOCO (Total Optimization of Chemical Operations) により解析した。

HPLC の分析条件はガードカラムとして CAPCELL C₁₈ MG120 (2x10mm, 資生堂), 分離カラムとして Inertsil C₈-3 (2.1x250mm, GL サイエンス) を用い, 紫外部の検出波長は 217nm と 254nm とし, 蛍光では励起波長 273nm, 蛍光波長 313nm とした HPLC 装置 (HEWLETT PACKARD Series 1100: Hewlett Packard) を用いた。

LC-MS/MS として, LC 部は, アジレント社製 Agilent 1100 (バイナリポンプ, G1321A; ウェルプレートオートサンプラ, G1367A; カラム恒温槽, G1316A; デガッサ, G1379A) 及び質量部はアプライドバイオシステムズ社製 API 3000 を用いた。

3. 各種可塑剤の溶出条件等の検討

3.1. DEHP 溶出の簡易評価に関する条件

脂溶性色素であるメチルイエロー 5 mg に種々の濃度の医薬品を 1 mL 添加し, 10 分間超音波処理を行った後, 遠心分離 (3,000 rpm x 10 min) した。上清をメンブランフィルター (ポアサイズ 0.2 μm) により濾過し

た後, その 0.1 mL を 96 穴プレートに分注し, μQuant (BIO-TEK INSTRUMENTS 社製) を用いて 450 nm における吸光度を測定した。

PVC チューブに各医薬品溶液を 8 cm 高 (内容量 0.285 cm³, 内表面積 5.35 cm²) 封入し, 室温下, 1 時間緩やかに振とう抽出した。抽出液をガラス製試験管に移し, 蒸留水 2 mL を加え, 50 ppb の DEHP-d₄ ジエチルエーテル溶液 5 mL を添加した後, 10 分間振とう抽出した。遠心分離後, 有機層を採取し, 無水硫酸ナトリウムで脱水した後, GC-MS 用試料とした。

3.2. PVC バッグ保存条件による DEHP 溶出検討

熱処理: 実際の保存条件を想定し, 処理温度は 4°C, 37°C 及び 60°C とした。各温度条件下において, 1 週間, 2 週間, 1 ヶ月間, 2 ヶ月間及び 3 ヶ月間処理した PVC シートを試験試料とした。また, 100°C / 25 日間処理品を熱処理陽性対照試料とした。

光照射: 可視光照射には 3 波長型蛍光灯 (光源距離 75 cm), また, 紫外線照射には紫外線殺菌灯 (光源距離 60 cm) を用いた。PVC シートへの可視光及び紫外線照射は, 血液バッグ製品の外側となるエンボス加工面から, 1 週間, 2 週間, 1 ヶ月間, 2 ヶ月間及び 3 ヶ月の期間に渡って行った。また, 遮光せずにおよそ 1 年間放置した PVC シートを可視光照射陽性対照試料, また, 254 nm (光源距離 3 cm) / 25 日間処理品を紫外線照射陽性対照試料としてそれぞれ使用した。その他, 長さ 10 cm に切断した PVC チューブに紫外線 (254 nm) を 14 日間照射 (光源距離 3 cm) し, 紫外線照射 PVC チューブ試

料を作製した。

DEHP 溶出試験: PVCシートを入れたスクリュウキャップ付きガラス製試験管に実使用濃度のサンディミュン®注射液 5 mL を添加し、室温下、1 時間振とう抽出した。抽出液 0.1 mL をガラス製試験管に移し、蒸留水 2 mL 及び 50 ng/mL の DEHP-d₄ ジエチルエーテル溶液 5 mL を添加した後、10 分間振とう抽出した。遠心分離 (3,000 rpm, 10 分間) 後、有機層を採取し、無水硫酸ナトリウムで脱水した後、GC-MS 用試料とした。

3.3. 歯科材料からの可塑剤溶出に関する検討

硬化体試料作製は粉液比を 2 として、液と粉をテフロン製ビーカー中で混合後、速やかに練和物をテフロン製の型(内径 5mm, 深さ 3mm) に填入した。填入後、テフロン板で圧接し、1 時間後に重量を秤量し、2 個の硬化体試料をヒト唾液、5%と 20%(v/v)エタノール及び牛乳各 2ml に浸漬した。浸漬条件は 37°C で 100 回転の水平振盪とした。

ヒト唾液は採取中氷冷し、その後、食物残渣や細胞などを除去するために 3000rpm で 15 分間遠心した。得られた上清を滅菌するためにボトルトップフィルター (旭テクノグラス, 0.22µm) で濾過滅菌した。得られた唾液を滅菌したガラス容器に保存し、操作は極力無菌的に行った。浸漬溶媒として用いた牛乳は濾過滅菌ができなかったため、購入した状態で使用した。使用した牛乳は成分無調整の牛乳 (コープ) で原材料は 100%生乳のものを使用した。試薬等に用いた蒸留水はフタル酸エステル含有を使用した。

3.4. LC-MS/MS による DEHP 及び MEHP の分析及びそのリスク評価

体重 3 kg の乳児に経口用イルリガートル (500 mL; JMS 製) 及び栄養チューブ (8 Fr. 80 cm; JMS 製) を用いて新生児、乳幼児用経腸栄養剤のエレンタール P で栄養供給を実施する状況を仮定して行った。エレンタール P の調製濃度は、維持期の最高濃度 20% (w/v) とした。この濃度のエレンタール P で上記の乳児の 1 日所用栄養量を賄うには 390 mL を要する。投与は、7-8 分割して行うため、1 日所用量の 7 分の 1 にあたる 56 mL を充填する 1 回量とした。温度は、新生児室の基準温度の 25±1°C とした。投与にかかる時間は、14-15 分間とした。経口用イルリガートルに栄養チューブを接続したものをを用いた。これに 20% (w/v) に調製したエレンタール P を 56 mL 充填し、25°C のインキュベーター内において 14-15 分間 (流速: 3.7-4.0 mL/min) でチューブを経てガラス製試験管内に流入するように通過させた。これを分析時まで -40°C で保存した。比較対照とした他の栄養剤についても同様の条件で行った。非塩化ビニル樹脂製品使用のモデルとしては、PVC フリー経口用イルリガートル (500 mL; JMS 製) に PVC フリー栄養チューブ (8 Fr. 80 cm; JMS 製) を接続したものをを用いた。本製品の主要部分は、ポリブタジエン製である。可塑剤の種類については不明である。

3.5. 可塑剤のさい帯血造血幹細胞への影響

CD34 陽性の臍帯血造血幹細胞を 35mm dish に 200 個 / dish 播種し、E2 (10⁻¹⁰~10⁻⁷

mol/L) 及び DEHP ($10^{-7} \sim 10^{-5}$ mol/L) を添加した培地 (Metho Cult GF H4434V) 上で、37°C、2 週間インキュベートする。2 週間のインキュベート後、培地上に形成されるコロニーの形態の違いから分化の方向性を特定し、物質が造血幹細胞の分化及び増殖に与える影響を顕微鏡下で観察し、カウントした。分化及び増殖の観察対象コロニーは、混合コロニー形成細胞 (mixed colony-forming unit in spleen:CFU-Mix)、顆粒球マクロファージ形成細胞 (colony-forming unit granulocyte/macrophage:CFU-GM)、赤芽球コロニー群形成細胞 (burst-forming unit erythroid:BFU-E)とした。

DNA-Idu Labeling and Detection Assay による造血幹細胞の増殖能評価として、CD34 陽性の臍帯血造血幹細胞を 96 穴プレートに 500 個 / well 播種し、E2 ($10^{-11} \sim 10^{-4}$ mol/L) 及び DEHP ($10^{-11} \sim 10^{-4}$ mol/L) を添加した培地 (StemSpan SFEM) 上で、37°C、2 週間インキュベートする。2 週間のインキュベート後、培地上の細胞数を DNA-Idu Labeling and Detection kit を用いてカウントすることにより増殖に与える影響について検討した。DNA-Idu Labeling and Detection kit を用いると、DNA 合成量を指標として間接的に細胞増殖を測定することができる。

4. 倫理面への配慮

各分担研究に従い、検討及び報告を実施する。

C. 研究結果及び考察

本研究では、適用する医薬品の物理化学的性質と PVC 製医療用具からの DEHP 溶出量との相関性を中心に可塑剤に関する安全

性評価等を検討した。特に、医薬品の脂溶性色素溶解力と PVC シートからの DEHP 溶出力と密接な関連性を持つことが確認された。その良好な相関性を示したことから、PVC 製医療用具からの DEHP 溶出量は煩雑な溶出実験を行うことなく、医薬品の色素溶解力を測定することにより容易に予測できることが示された。この結果は、医療現場における安全対策の一助として応用できる可能性が非常に高く、PVC 製医療用具の適用使用について大きく貢献できるものと思われる。

PVC 製品の保存時に熱や光などの外的因子が同製品に与える影響を DEHP 含量、DEHP 溶出挙動、表面構造及び製品強度の変化を指標として検討した結果、紫外線照射群のみに溶出量の顕著な減少が認められた。また、PVC シート中の DEHP 全含量には、紫外線照射群を含め、いずれの試料ともに処理の前後において大きな変化が認められなかった。更に引張試験を実施した結果、破断応力及び伸び弾性に大きな変化が認められなかったことから、PVC シートの強度は本研究で適用した熱処理及び光照射により殆ど影響を受けないことが明らかとなったことから、材質や可塑剤を変更しなくとも簡単な表面処理により PVC 製医療用具からの DEHP 溶出量を低減化できることを示唆している。

歯科材料からの DBP の溶出については、フタル酸エステル類可塑剤を使用している歯科用材料を中心に、使用環境や条件によるフタル酸エステルおよび代謝産物の溶出挙動の検証を更に推進している。レジン系仮封材硬化体を浸漬した唾液中に DBP と MBP が検出された。MBP 量は浸漬時間に依

存して増加していた。20%エタノール添加唾液中に浸漬における DBP の溶出量は、唾液中浸漬に比較して増加していた。ポリソルベート 80 含有唾液中の浸漬では、その濃度に依存して DBP の溶出量が増加していた。歯科材料の臨床使用における DBP 曝露量の評価を進めている。

PVC 製医療器具から経腸栄養剤中 DEHP 及び MEHP の溶出実験の結果、製剤間で差が認められた。この差は、製剤間の脂質の含有量の差では説明できない。経腸栄養剤の投与条件は、患者の状況によってその大部分が決定される。充填するエレンタール P の温度が高くなるのに従って器具から溶出する DEHP の量は増加した。充填時の経腸栄養剤の温度管理は、患者の DEHP への暴露を減らすうえで、医療現場のスタッフが留意できる数少ない容易かつ重要なポイントである。

近年造血幹細胞移植に応用の試みられている臍帯血造血幹細胞は、その採取から移植に使用されるまでの一部の過程において血液バッグが使用される。一方、臍帯血造血幹細胞は、一般の保存血として用いられる分化の完了した血球細胞とは異なり、その機能は未熟で未知なものである。したがって、臍帯血造血幹細胞が PVC 製血液バッグ処理時に DEHP から何らかの影響を及ぼされることは危惧される。そこで、Colony Assay による造血幹細胞の分化及び増殖を観察したところ臍帯血造血幹細胞は、DEHP、エストラジオール (E2) 存在下で増殖が有意に亢進することが示唆された。また、DEHP 及び E2 の存在下で共に CFU-GM への分化の促進、BFU-E への分化を抑制する傾向が見られた。このことより DEHP は「弱

いエストロゲン様作用を持つ」ことが考えられ、核内エストロゲンレセプター (ER) の存在を臍帯血造血幹細胞で検討した。臍帯血造血幹細胞は、RT-PCR と制限酵素切断法により、ER として2種のサブタイプ (ER α と ER β) が共に発現していることが確認された。その2種の ER のサブタイプを介して DEHP が作用することが示唆された。

D. 結論

医療現場において、PVC 製品が治療のために使用される頻度は非常に高い。また、医療用具業界はトリメリック酸系代替可塑剤 (TOTM) の利用に活路を見出しつつあるが、未だ多くの PVC 製品が可塑剤として DEHP を使用しているのが現状である。しかし、本研究で得られた知見により、PVC 製医療用具からの可塑剤溶出は用具自体の材質や可塑剤を考慮することにより、リスクの抑制または低減化できる可能性が強く示唆された。

医療用プラスチック製品の材質に残留する化学物質やその安全性評価等の詳細な研究は、稀少である事実は免れず、多岐にわたる情報が必要と考えられる。その情報や研究成果に基づいて、安全な医療行為を早急に設けなければならず、そのスクリーニング測定や技術の開発を研究計画の第一としなければならない。本研究では、各研究計画予定に関しては、前年度に引き続き、評価法の確立をもとに、可塑剤の溶出挙動や動態に関しての解明を行い、溶出実態やリスクアセスメント等を検討した。得られる研究成果は、安全性の高い医療用具の開発に寄与するものと期待される。

E. 健康危険情報

特になし

F. 研究成果

学会発表

- 1) 齋島由二, 樋口多恵, 井之上浩一, 長谷川千恵, 矢上 健, 土屋利江, 中橋敬輔, 中澤裕之, PVC 製医療用具からの可塑剤溶出量を予測する簡易評価系の開発. 日本薬学会第 124 年会 (2004 年 4 月・大阪)
- 2) 本郷敏雄, 日景 盛, 佐藤温重, レジン系仮封材からのフタル酸エステル類の溶出, 環境ホルモン学会第 6 回研究発表会, 2003 年 12 月 2-3 日, 仙台.
- 3) 高取聡, 北川陽子, 中澤裕之, 堀伸二郎, LC/MS/MS を用いたフタル酸ジエチルヘキシル及びフタル酸モノエチルヘキシルの分析, 環境ホルモン学会第 6 回研究発表会 2003 年 12 月, 仙台

学術雑誌等

- 1) 齋島由二, 中澤裕之, 本郷敏雄, 宮崎 隆, 佐藤温重. プラスチック製医療用具からのフタル酸エステル類の溶出特性とリスク評価. 医療材料・医療機器の安全性と生体適合性 (土屋利江監修), p.235-259, シーエムシー出版 (2003).
- 2) 本郷敏雄, 日景 盛, 佐藤温重: (2003), ヒト唾液に浸漬した歯科材料からのフタル酸エステル類の溶出, 歯材器, 22, 413.
- 3) 本郷敏雄, 日景 盛, 佐藤温重: (2004), レジン系仮封材からのフタル酸エステル類の溶出, 歯材器, 23, 166.
- 4) Haishima Y, Matsuda R, Hayashi Y,

Hasegawa C, Yagami T, Tsuchiya T.: Risk assessment of di(2-ethylhexyl)phthalate released from PVC blood circuits during hemodialysis and pump-oxygenation therapy. *Int J Pharm.* 2004 Apr 15;274(1-2):119-29.

- 5) Takatori S, Kitagawa Y, Kitagawa M, Nakazawa H, Hori S.: Determination of di(2-ethylhexyl)phthalate and mono(2-ethylhexyl)phthalate in human serum using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2004 May 25;804(2):397-401.

G. 知的財産権の出願・登録状況

UV 照射を利用した表面加工処理による軟質プラスチック製品からの可塑剤溶出制御 (特許出願準備中)

【参考文献】

- 1) Center for Devices and Radiological Health, U.S. Food and Drug Administration (FDA) (Web at <http://www.fda.gov/cdrh/newpgp.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) 医薬品・医療用具等安全性情報 No.182, 厚生労働省医薬局

Ⅲ. 分担研究報告書

1. 高分子医療用具からの可塑剤溶出量の 評価に関する研究

—DEHP溶出リスクの予測—

主任研究者	中澤 裕之	星薬科大学	薬品分析化学教室
分担研究者	薮島 由二	国立医薬品食品衛生研究所	
協力研究者	瀬下 文恵	星薬科大学	薬品分析化学教室
	伊藤 里恵	星薬科大学	薬品分析化学教室
	井之上浩一	星薬科大学	薬品分析化学教室
	吉村 吉博	星薬科大学	薬品分析化学教室
	長谷川千恵	国立医薬品食品衛生研究所	
	和泉俊一郎	東海大学医学部	
	牧野 恒久	東海大学医学部	
	中橋 敬輔	テルモ (株)	

分担研究報告書

「高分子医療用具からの可塑剤溶出量の評価に関する研究」

- DEHP 溶出リスクの予測 -

主任研究者	中澤 裕之	星薬科大学 薬品分析化学教室
分担研究者	齋島 由二	国立医薬品食品衛生研究所
研究協力者	瀬下 文恵	星薬科大学 薬品分析化学教室
	伊藤 里恵	星薬科大学 薬品分析化学教室
	井之上浩一	星薬科大学 薬品分析化学教室
	吉村 吉博	星薬科大学 薬品分析化学教室
	長谷川千恵	国立医薬品食品衛生研究所
	和泉俊一郎	東海大学医学部
	牧野 恒久	東海大学医学部
	中橋 敬輔	テルモ (株)

研究要旨

PVC 製医療用チューブ及び点滴セットを介して脂溶性の高い医薬品溶液を投与すると、DEHP が溶出し、患者体内に取り込まれる。通常、DEHP 曝露量は溶出実験により評価するが、そこには選択性、感度、精度および外部からの汚染などに関して細心の注意を払うことが要求される。そこで、本研究では PVC 製医療用具から溶出する DEHP 量を同用具に適用する医薬品の物理化学的性状を指標として予測する簡易評価法の開発を試みた。その結果、試験に供した医薬品（53 品目）の DEHP 溶出力と脂溶性色素溶解力との間には、僅かな例外を除き、良好な比例関係が認められた。この成績から、医薬品の脂溶性色素溶解力を指標とした簡易評価法は、PVC 製医療用具からの DEHP 溶出リスクを予測する方法として利用可能であり、医療現場における安全性確保のための一手段として応用できることが明らかとなった。

A. 研究目的

ポリ塩化ビニル (PVC) 製医療用具は耐久性や血液適合性などに優れていることから医療の場で広く用いられている。しかし、PVC 樹脂に柔軟性を与えるために添加される代表的な可塑剤であるフタル酸ジ-2-エチルヘキシル (DEHP) は齧歯類に対して精

巢毒性や発生毒性を示すことが確認されている。PVC 製医療用具に含まれる DEHP は PVC 分子と化学的に結合されていないため、血液、脂溶性医薬品、経口・経腸栄養剤などを介して容易に体内に取り込まれる。このように、医学的治療において患者は比較的多量の DEHP に曝露される可能性がある

ことが指摘されており、現在、DEHP に対する感受性が高いと考えられているリスク患者グループ（胎児，新生児，小児，妊婦）を中心としたヒトに対する健康被害が危惧されている。

PVC製医療用具からのDEHP溶出量を評価した報告は比較的多い。例えば、PVC製医療用チューブおよび点滴セットを用いて脂溶性注射剤を患者に投与する際、可塑剤として含有されているDEHPが医薬品溶液中に溶出し、患者体内に取り込まれることが知られている¹⁻³⁾。その他、米国FDA (Center for Devices and Radiological Health, U.S. Food and Drug Administration) ⁴⁾ およびHealth CANADA ⁵⁾ は、現在までに報告された様々な知見を利用して、PVC製医療用具を用いた治療におけるDEHP曝露に関するリスク評価を詳細に行っている。

このような背景の中、厚生労働省は日本において使用されている代表的なPVC製医療用具からのDEHP溶出量、同用具の必要性、緊急性、適用期間、リスク患者グループへの適用の有無や代替用具の存在の有無などを総合的に考慮してPVC製品の再リスク評価を行った。その結果、平成14年10月に厚生労働省は、より良い医療行為を患者に提供するための重要な参考情報として、リスク患者グループへのPVC製医療用具の適用に関する注意喚起や推奨事項を関係団体に通知するに至った⁶⁾。また、製薬業界に対してはPVC製医療用具を介して脂溶性医薬品や栄養剤を適用する際のDEHP溶出量を自主的に点検するよう要請している⁷⁾。

医学的治療に伴うDEHP曝露量を把握するためには溶出実験を行う必要がある。しかし、同実験には高価な装置と高い分析精度が要

求されると共に、DEHPは試薬や環境中にも存在するため、分析試料の調製にも細心の注意を要する⁸⁾。その一方、このような煩雑な溶出試験を行うことなく、医療現場において容易且つ迅速にDEHP溶出量を評価することが可能となれば、患者の安全確保に関して非常に有益である。

pHや有機溶媒含量の異なる溶液、並びに数種の界面活性剤溶液によるPVC製容器からのDEHP溶出量を測定したD. R. Jenkeの報告⁹⁾に示されているように、PVC製医療用具からのDEHP溶出は適用する医薬品の性質に大きく影響される。昨年度の本研究では、PVC製医療用具から溶出するDEHP量を同用具に適用する医薬品の物性を指標として予測する簡易評価法の開発を目指し、2種類の脂溶性医薬品および3種類の界面活性剤の脂溶性色素溶解力、電気伝導度およびPVCシートに対する静的接触角を測定し、各種薬剤が示すDEHP溶出力と比較検討した。その結果、これら3種類の物理化学的性質はDEHP溶出力と密接な相関性を持つことが確認されたことから、PVC製医療用具からのDEHP溶出リスクは煩雑な溶出実験を行うことなく、薬剤の物性を測定することにより容易に予測できることが示唆された。平成15年度は、本簡易評価法の有用性を評価し、医療現場における安全対策の一助として応用できるか否か検討するため、現在使用されている多くの医薬品を試料とし、その物理化学的性状とDEHP溶出力の相関性を確認した。

B. 研究方法

1. 材料及び試薬

PVC製輸液用延長チューブ(外径3.4mm,

内径 2.13 mm) および血液バッグ用 PVC シート (厚さ 0.4 mm) はテルモ (株) より分与された。PVC チューブは長さ 10 cm に切断し、PVC シートは縦 1 cm, 横 3 cm の大きさに型抜きして実験に供した。

DEHP および DEHP-d₄ 標準品は関東化学から購入した。ヘキサンおよびメタノールはフタル酸エステル分析用グレード (関東化学), ジエチルエーテルはダイオキシン類分析用グレード (和光純薬), また, 抽出溶液希釈用の蒸留水としては HPLC グレード (和光純薬) を使用した。塩析にはフタル酸分析用塩化ナトリウムを使用し, 脱水用試薬としては, PCB・フタル酸試験用無水硫酸ナトリウム (和光純薬) を用いた。試験用医薬品は家田化学 (株) を介して購入した。

実験に用いた全てのテフロン製, ガラス製, 金属製器具類は 250℃ で 10 時間以上焼成した後を使用した。

2. 脂溶性色素溶解力

脂溶性色素であるメチルイエロー 5 mg に種々の濃度の医薬品を 1 mL 添加し, 10 分間超音波処理を行った後, 遠心分離 (3,000 rpm x 10 min) した。上清をメンブランフィルター (ポアサイズ 0.2 μm) により濾過した後, その 0.1 mL を 96 穴プレートに分注し, μQuant (BIO-TEK INSTRUMENTS 社製) を用いて 450 nm における吸光度を測定した。

3. 静的接触角

種々の濃度の医薬品 (10 μL) を PVC シート上に滴下し, 120 秒後に同液滴の高さと幅を ERMA 接触角測定器 (G-1-1000) を用いて測定し, 以下の計算式から接触角 (δ) を求めた。

$$L^2 = (w/2)^2 + (1-h)^2$$

$$\sin \delta = (w/2)/L$$

L: 液滴の半径 (mm)

w: 液滴の幅 (mm)

h: 液滴の高さ (mm)

δ: 接触角

4. DEHP 溶出試験

PVC チューブに各医薬品溶液を 8 cm 高 (内容量 0.285 cm³, 内表面積 5.35 cm²) 封入し, 室温下, 1 時間緩やかに振とう抽出した。抽出液をガラス製試験管に移し, 蒸留水 2 mL を加え, 50 ppb の DEHP-d₄ ジエチルエーテル溶液 5 mL を添加した後, 10 分間振とう抽出した。遠心分離後, 有機層を採取し, 無水硫酸ナトリウムで脱水した後, GC-MS 用試料とした。

5. GC-MS 測定条件

Table 1 に GC-MS 分析条件を示した。質量分析装置としては磁場型高分解能質量分析計 JEOL JMS700 を使用し, 分解能 5,000 で測定した。得られた SIM クロマトグラムはテキスト変換後, FUMI (Function of Mutual Information) 理論を実践するプログラム TOCO (Total Optimization of Chemical Operations) を使用して解析した。

6. 倫理面への配慮

本研究では, ヒトおよび動物由来の組織, 臓器, 細胞および血液などを使用していないため, 特段, 倫理面に配慮していないが, 有機溶媒の取り扱いと廃棄は国立医薬品食品衛生研究所・有害物質等取扱規定に従っ

て行った。また、試験用医薬品の中には筋弛緩剤など危険性の高いものが存在するため、各医薬品の管理には細心の注意を払った。

C. 研究成果

1. 試験用医薬品の選定

東海大学医学部附属病院・産婦人科において使用されている注射薬（全 180 品目）を主薬の性状に従い、難溶性医薬品、pH 依存性医薬品および低水溶性医薬品に分類した（Table 2-4）。難溶性医薬品とは水不溶性または難溶性の医薬品類であり、pH 依存性医薬品とは主薬を溶解させるために pH を酸性またはアルカリ性に変動させている医薬品類である。また、低水溶性医薬品とは、添付文書における主薬の水溶性欄に「溶解難い」または「やや溶解難い」と記載されている医薬品類である。これらの分類に属さず、且つ添加剤成分の組成から DEHP 溶出が疑われるその他の医薬品を別途分類し（Table 5）、残りの医薬品を陰性対照品とした。試験用医薬品としては、難溶性医薬品、pH 依存性医薬品、低水溶性医薬品および DEHP 溶出が疑われるその他の医薬品の全種類および陰性対照医薬品の中から 13 品目を無作為抽出（Table 6）して選定した。また、昨年度に試験を実施したサンディミュン注射液（シクロスポリン：ノバルティスファーマ社製）およびプログラフ注射液（タクロリムス水和物：藤沢薬品工業社製）を陽性対照として使用した（Table 2）。各医薬品の試験濃度は添付文書及び実際の使用状況に基づいて決定した（Table 2-6）。

Table 2 に示したように、陽性対照医薬品を含む難溶性医薬品は、水溶性プレドニ

ンを除き、HCO-60 やポリソルベート 80 などの界面活性剤の他、濃グリセリン、ダイズ油やエタノールなどの可溶化剤やベンジルアルコールなどの無痛化剤を含んでいた。また、陽性対照の他、ディプリバン注、ソービタおよびフロリード F 注は PVC 製医療用具から DEHP を溶出することが既に報告されている医薬品であり、ケイツー N 注については添付文書に DEHP を溶出する恐れがあると記載されていた。pH 依存性医薬品に分類された注射薬については、過去に DEHP 溶出が報告された薬剤はないが、ドロレプタンがパラオキシ安息香酸類、アレビアチン注がプロピレングリコールとエタノール、ボスミン注がクロロブタノールを添加剤として含んでいた（Table 3）。低水溶性医薬品に分類された薬剤は、アドナ注射液に配合されているプロピレングリコールを除き、DEHP の溶出を起こすような添加剤成分を含んでいなかった（Table 4）。Table 5 に示したように、DEHP 溶出が疑われるその他の医薬品に分類された注射剤は、添加剤としてクロロブタノール、ベンジルアルコール、フェノールを含む薬剤の他、ヒト血液製剤やニトログリセリンなど主薬自体が PVC 製品から DEHP を溶出する可能性がある薬剤である。一方、陰性対照医薬品は DEHP 溶出を誘導する可能性のある添加剤や主薬を含んでいない。（Table 6）。

2. GC-MS を用いた DEHP 分析

2-1. 分析精度

DEHP-d₄絶対検量線およびDEHP/DEHP-d₄相対検量線をFig. 1 に示した。DEHP-d₄絶対検量線の相関係数は 0.9924 であった。同検量線を利用して機械的な検出限界（LOD）と