

(DBP).

(5)経済産業省 化学物質審議会 管理部会・審査部会:(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(案),フタル酸ジ-n-ブチルの有害性評価.

(6)Hoppin, J.A., Brock, J.W., Davis, B.J. and Baird, D.D.:(2002), Reproducibility of Urinary Phthalate Metabolites in First Morning Urine Samples, *Environ Health Perspect*, 110:515-518.

(7)Adibi, J.J., Perera, F.P., Jedrychowski, W., Camann, D.E., Barr, D., Jacek, R., Whyatt, R.M.:(2003), Prenatal Exposures to Phthalates among Women in New York City and Krakow, Poland, *Environ Health Perspect* 111:1719-1722.

(8)Silva, M.J., Barr, D.B., Reidy, J.A., Malek, N.A., Hodge, C.C., Caudill, S.P., Brock, J.W., Needham, L.L. and Calafat, A.M.:(2004), Urinary Levels of Seven Phthalate Metabolites in the U.S. Population from the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 1999-2000, *Environ Health Perspect* 112:331-338.

(9)Koch, H.M., Rossebach, B., Drexler, H. and Angerer, J.:(2003), Internal Exposure of the General Population to DEHP and Other Phthalates – Determination of Secondary and Primary Phthalate Monoester Metabolites in Urine, *Environ. Res.*, 93:177-185.

(10) Canadian Environmental Protection Act: (1994), Priority Substances List, Assessment

Report, Dibutyl Phthalate; Government of Canada, Environment Canada and Health Canada.

(11)WHO: (1997), International Programme on Chemical Safety, Environmental Health Criteria 189, Di-n-butyl phthalate, World Health Organization, Geneva, Switzerland.

(12)ATSDR:(2001), Toxicological Profile for Di-n-butyl Phthalate, Agency for Toxic Substances and Disease Registry, US Public Health Service, Atlanta, GA, USA.

(13)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-n-butyl phthalate, NTP-CERHR-DBP-00.

(14)ECB:(2003), European Union Risk Assessment Report, Vol 29, Dibutyl Phthalate, Risk Assessment.

(15)European Commission, Scientific Committee on Toxicity, Ecotoxicity and the Environment: (2001), Opinion on the results of the Risk Assessment Report of: Dibutylphthalate, Carried out in the framework of Council Regulation (EEC)793/93 on the Evaluation and Control of the Risks of Existing Substances Expressed at the 23rd CSTE Plenary Meeting Brussels, 24 April 2001, C2/JCD/csteeop/DBP.24042001/D.

(16)EU: (1998), Phthalate Migration from Soft PVC Toys and Child-care Articles, Opinion

Expressed at the CSTEE Third Plenary Meeting,  
Brussels, 24 April 1998.

(17)RIVM:(2001), Re-evaluation of Human-toxicological Maximum Permissible Risk Levels, National Institute of Public Health and the Environment, RIVM Report No. 711701025, March 2001, 134-142,

(18)厚生労働省：(2000), シックハウス (室内空気汚染) 問題に関する検討会, 中間報告書—第4回及び第5回のまとめ, (別添1)  
2000年9月25日, 厚生省生活衛生局企画課生活化学安全対策室, シックハウス (室内空気汚染) 問題に関する検討会事務局 (2000年12月15日改訂), 室内空気汚染に係るガイドライン案について—室内濃度に関する指針値—, 平成12年12月15日.

(19)IRIS: (2002), Dibutyl phthalate, June 28th, 2002, US Environmental Protection Agency, Washington DC, USA.

### Ⅲ. 分担研究報告書

#### 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

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	掘 伸二郎	大阪府立公衆衛生研究所
研究協力者	北川 陽子	大阪府立公衆衛生研究所
	高取 聡	大阪府立公衆衛生研究所

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)

分担研究報告書

適用する医薬品の脂溶性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

主任研究者：中澤裕之 星薬科大学薬品分析学教室教授

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

分担研究者：堀 伸二郎 大阪府立公衆衛生研究所

研究協力者：北川 陽子 大阪府立公衆衛生研究所

高取 聡 大阪府立公衆衛生研究所

#### 研究要旨

新生児・乳児が経腸栄養を通じて暴露される DEHP 及び MEHP の量を見積もるため、医療用具からの DEHP 及び MEHP の溶出モデル実験を行った。新生児が DEHP を含む塩化ビニル製樹脂からなる医療器具を用いて所用栄養を経腸栄養剤で摂取するときをモデルケースとした。このとき新生児が暴露される DEHP 及び MEHP の量は、それぞれ、153  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$  及び 4.2  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$  であった。また、DEHP を含まない非塩化ビニル製樹脂からなる医療器具を用いることによって、DEHP 及び MEHP の量は、それぞれ、6.45  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$  及び 0.65  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$  未満に抑えることが可能であった。

#### A. 研究目的

医療器具に用いられている塩化ビニル樹脂 (PVC) に含まれるフタル酸ジエチルヘキシル (DEHP) が器具から溶出することによって、医療行為を介して患者が DEHP に暴露されることが懸念されている。DEHP の代謝物であるフタル酸モノエチルヘキシル (MEHP) が精巣毒性を示すことから、

日本ではこの毒性を指標に DEHP の耐容 1 日摂取量 (TDI) は、40~140  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$  に設定されている。新生児・乳児は、DEHP の毒性に対して感受性が高く、また体重あたりの暴露量が多くなることから高リスク群とされている。我々は、新生児・乳児が経腸栄養を通じて暴露される DEHP 及び MEHP の量を見積もるため、溶出モデ

A. 研究目的  
医療器具に用いられている塩化ビニル樹脂 (PVC) に含まれるフタル酸ジエチルヘキシル (DEHP) が器具から溶出することによって、医療行為を介して患者が DEHP に暴露されることが懸念されている。DEHP による主な毒性は、フタル酸モノエチルヘキシル (MEHP) を経て発揮されるため、DEHP 及び MEHP の双方を測定することが求められている。DEHP は、実験環境中に広く存在し、試薬にも含まれることからコンタミネーションを起こして低濃度での測定値の信頼性が損なわれることがある [1]。また、MEHP をガスクロマトグラフィーで分析するためには、誘導体化が必要であり、更にコンタミネーションを引き起こす機会が増える。このコンタミネーションを低減化するためには、実験操作を簡略化して使用する器具及び試薬を最小限にすることが有効である。しかしながら、実験操作の簡略化は、分析試料中に多くの妨害成分が残存する可能性を高め、この点で測定値の信頼性が損なわれることが危惧される。また、誘導体化をすることなく MEHP を分析できるように液体クロマトグラフィーを使用することが望ましいと思われる。これら問題点を解決するため、分析対象に高い選択性を有するタンデム型質量分析計付液体クロマトグラフィー

(LC/MS/MS) を活用し、血清 (血漿) 及び経腸栄養剤中の DEHP 及び MEHP の定量方法を開発した。

DEHP の暴露によるリスクを評価するための基本的な情報として、健康なヒトの血中の DEHP 及び MEHP の濃度がある。しかしながら、低濃度の DEHP 及び MEHP の測定の困難さから、その情報量は十分とは言えないのが実情である。我々は、開発した DEHP 及び MEHP の定量方法を活用し、健康なボランティアの血清中の DEHP 及び MEHP の濃度を測定した。

PVC 製医療器具から脂溶性成分を含む経腸栄養剤に DEHP が溶出することが指摘されている。経腸栄養剤は、栄養源として長期にわたって投与されることがあるため、DEHP の暴露を慢性的に受けることが危惧される。新生児・乳児は、DEHP の毒性に対して感受性が高く、また体重あたりの暴露量が多くなることから高リスク群に含まれている。このため新生児・乳児が医療行為を通じて暴露される DEHP 及び MEHP のリスク評価を優先的に行う必要がある。我々は、開発した DEHP 及び MEHP の定量方法を活用し、新生児・乳児が経腸栄養を通じて暴露される DEHP 及び MEHP の量を見積もるための溶出モデル実験を行う。

本研究を通じて医療行為における

DEHP 暴露のリスクを評価するうえで有用な手法の提案とデータの提供をする。

## B. 方法

### B-1. 試薬及び器具

DEHP 及び MEHP は、和光純薬製を用いた。DEHP-d4 及び MEHP-d4 は、林純薬製を用いた。アセトン、ヘキサン、アセトニトリル及びエタノールは、環境分析用（和光純薬）を用いた。テトラヒドロフランは、塩ビモノマー測定用（和光純薬）を用いた。実験器具から樹脂製品を排除し、加熱可能なガラス器具及びステンレス製器具は、アセトン及びヘキサンで洗浄したうえで 200°C で 2 時間加熱、放冷後使用した。

### B-2. 機器

LC: Agilent 1100 シリーズ; 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

MS/MS: API 3000 (アプライドバイオシステムズ)

### B-3. 採血及び血清調製

血清は、健康なボランティアから提供していただいた。採血は、溶媒による洗浄と加熱によって DEHP のコンタミネーションを排除したガラス製注射筒とステンレス製の針を用いて行った。

採血した血液は、ガラス製試験管中で 20°C で 30 分間静置した。これを 3000 ×g で遠心し、血清を得た。血清は、共栓付きガラス製試験管に移して -40°C で保存した。

B-4. プール血清及び輸血用血漿  
コンセーラ N (臨床検査標準用プール血清; 以下、プール血清と表記) は、日水製薬から購入した。輸血用血漿は、使用期限が切れたものを日本赤十字社よりいただいた。

### B-5. 経腸栄養剤及び器具洗浄液

エレンタール P (新生児・乳児用成分栄養剤; 味の素ファルマ)、エレンタール (成分栄養剤; 味の素ファルマ) 及びエレメンタルフォーミュラ (アレルゲン除去調整乳; 明治乳業) は、微温湯 (約 40°C) にしたヘキサン洗浄水を用いて調製した。エンシュアリキット (半消化態経口栄養剤; アボット) は開缶後、直ちに用いた。経口用イルリガートル及び栄養チューブの洗浄には、ミルトン (哺乳瓶等殺菌洗浄剤; 杏林製薬) を 1.25% (v/v) になるように調製したものを使用した。

### B-6. 溶出実験

本実験は、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 (表 1)。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  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  とした。投与にかける時間は、14~15 分間とした。

実験に使用した経口用イルリガートル及び栄養チューブを図 1 及び 2 に示した。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、 $25^\circ\text{C}$  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 (図 3)。これを分析時まで  $-40^\circ\text{C}$  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 (Non-PVC) 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。

器具の再利用の DEHP 及び MEHP の溶出量 (以下、溶出量) への影響を調べた。エレンタール P を上記の条件で通過させた後、洗浄を施し再利用品モデルとした。洗浄は、次の通りに行った。経口用イルリガートルと栄養チューブを 100 mL のヘキササン洗浄水でフラッシュした後、経口用イルリガートルと栄養チューブに分け、前者は 2 L のミルトン液に室温で 1 時間浸漬した。後者は、アルミホイルで包み保存した。再利用前に経口用イルリガートルは、500 mL の MilliQ 水で洗浄した後、100 mL のヘキササン洗浄水でフラッシュした。この経口用イルリガートルと栄養チューブにエレンタール P を同様の条件で流し、DEHP 及び MEHP の溶出量を測定した。

#### B-7. 材質試験

経口用イルリガートル及び栄養チューブの各部位を 2 mm 角に細切したものを試料とした。試料 0.2 g を 50 mL のメスフラスコ中に精秤し、5.0 mL のテトラヒドロフランで溶解させた。エタノールを加えて 50 mL にメスアップし、ポリマーを十分に析出させた。溶解液 1.0 mL を遠心し、上清を  $\text{N}_2$  気流下で留去した後、アセトニトリルで再溶解した。DEHP の濃度が 4000 ppb 以下になるようにアセトニトリルで希釈して LC/MS/MS で分析した。

ポリマーについては、溶解液中から回収して 10 mL のテトラヒドロフランに再溶解した。減圧下で 5.0 mL 以下に濃縮し、10 mL のビーカー中でフィルム化させた。このフィルムを試料としてフーリエ変換赤外分光光度計 (FT-IR 350; 日本電子) を用いて attenuated total reflection 法でポリマーの材質を確認した。

#### B-8. 血清 (血漿) 及び栄養剤中の DEHP 及び MEHP の抽出

試料 0.5 g に DEHP-d4 及び MEHP-d4 を 20 ppb になるように添加した。これに 4 mL のアセトンを加えてソニケーションを 2 分間行い、5 分間攪拌した。遠心後、上清を回収し、沈渣に対して 1 mL のアセトンを加えて同様の抽出、遠心の操作を行った。上清を先の上清と併せて窒素気流下で乾固させた。これを 0.5 mL のヘキサン洗浄水で再溶解し、4  $\mu$ L の酢酸を加えてソニケーションを 2 分間行った。これに 1 mL のヘキサンを加えて 5 分間攪拌した。遠心後、ヘキサン層を回収し、水層に対して 1 mL のヘキサンを加えて同様の抽出、遠心の操作を 3 回行った。回収したヘキサン層を併せて窒素気流下で乾固させた。これに 0.5 mL のアセトニトリルを加えてソニケーションを 2 分間行った。残渣を遠心除去したものを LC/MS/MS の試

料とした (スキーム 1)。

#### B-9. LC/MS/MS の条件

LC 条件: カラム, Wakosil-II 3C18, 2.0 x 150 mm; 溶出液, 0.05% 酢酸水溶液 (A), アセトニトリル (B); 溶出条件, (A)/(B):2/8, イソクラティック; 流速, 0.2 mL/min; カラム温度; 50°C; インジェクト量, 5  $\mu$ L

MS/MS 条件: インターフェイス; ターボイオンスプレー™ (electrospray ionization; ESI); イオン化電圧,  $\pm$ 4000 V; 温度, 500°C; モニターイオン (Mode, Precursor ion/Daughter ion); DEHP (positive, 391/149), DEHP-d4 (positive, 395/153), MEHP (negative, 277/134), MEHP-d4 (negative, 281/138)

#### B-10. DEHP 及び MEHP の定量

血清、プール血清及び輸血用血漿については、絶対検量線を用いて定量した (図 4)。追加した血清及び経腸栄養剤については、相対検量線を用いて定量した (図 5)。各濃度について 20 ppb の DEHP-d4 及び MEHP-d4 を含む、DEHP 及び MEHP の希釈系列をアセトニトリル溶液として調製した。これを用いて DEHP (MEHP) 濃度に対してピーク面積比 DEHP/DEHP-d4 (MEHP/MEHP-d4) をプロットして検量線を作成した。試料のピーク面積比 DEHP/DEHP-d4 (MEHP/MEHP-d4) を



算出し、検量線から試料中の DEHP 及び MEHP の量を求めた。

#### B-11. 倫理面への配慮

ボランティアから採血するにあたっては、大阪府立公衆衛生研究所内の倫理規定に則って文書及び口頭で実験の主旨を説明し、文書で同意を得た。また、使用した輸血用血漿は、臨床使用に期限切れとなったものを日本赤十字社から提供いただいた。実験に用いた試薬及び有機溶媒等が環境中に排出されないよう、それらの回収を徹底した。

### C. 結果

#### C-1. 血清及び血漿中の DEHP 及び MEHP の分析

C-1-1. モニタリオン及び検出下限値  
DEHP, DEHP-d4, MEHP 及び MEHP-d4 の daughter ion スペクトラムを示した (図 6)。DEHP について m/z: 391 を親イオンとして得られた娘イオン m/z: 149 をモニタリングすることとした。DEHP-d4 について m/z: 395 を親イオンとして得られた娘イオン m/z: 153 をモニタリングすることとした。MEHP について m/z: 277 を親イオンとして得られた娘イオン m/z: 134 をモニタリングすることとした。MEHP-d4 について m/z: 281 を親イオンとして得られた娘イオン m/z: 138 をモニタリングすることとした。

DEHP 及び MEHP の検出下限値を MRM (multiple reaction monitoring) 上で S/N 比が 3 以上となる 1 ppb とした (図 7)。

C-1-2. 操作ブランク値及び定量下限値  
ヘキサン洗浄水 (DEHP, 1 ppb; MEHP, 1 ppb 未満) に対して前記の方法に従って測定試料を調製した。このとき測定試料以外に由来する、すなわち操作及び試薬から混入する DEHP 及び MEHP の測定値 (操作ブランク) は、それぞれ、 $2.2 \pm 0.5$  ppb 及び 1 ppb 未満であった。定量下限値は、以下の式「定量下限値 = (操作ブランク + 標準偏差)  $\times$  5」で規定した。DEHP 及び MEHP の定量下限値は、それぞれ、14 ppb 及び 5 ppb とした。

#### C-1-3. 添加回収試験

血清または経腸栄養剤に対して DEHP-d4 及び MEHP-d4 を添加し、回収率を求めた。DEHP-d4 及び MEHP-d4 の回収率は、それぞれ、78 ~ 103% 及び 76 ~ 102% であった (表 2 及び 3)。

#### C-1-4. 血清、プール血清及び輸血用血漿の分析

プール血清及び輸血用血漿に高濃度 DEHP が検出されたため、これら試料は、ヘキサン洗浄水で 10 倍に希釈し

て測定した。血清、プール血清及び輸血用血漿から得た試料のスキアンモードのクロマトグラムを示した (図 8)。プール血清及び輸血用血漿に DEHP のピークが検出される一方で健康なヒト血清には DEHP のピークが認められなかった。

輸血用血漿及び健康なヒト血清を分析した際の MRM を示した (図 9)。その定量結果を表 4 及び 5 に示した。健康なボランティアから得た血清中では、DEHP 及び MEHP は、定量下限値未満及び定量下限値以下であった。定量下限値以下の値を参考値として表中に付記した。この値には操作ブランクが含まれているため、実質的な血清中の濃度は、共に 5 ppb 未満になる。また、プール血清及び輸血用血漿については、10 倍に希釈した際の測定値である。従ってプール血清中の DEHP 及び MEHP の実質的な濃度は、それぞれ、21500 ppb 及び 22000 ppb となる。また、輸血用血漿の DEHP 及び MEHP の実質的な濃度は、それぞれ、7660 ppb 及び 14100 ppb となる。

## C-2. 医療器具からの DEHP の経腸栄養剤への溶出

### C-2-1. 材質試験

経口用イルリガートル及び栄養チューブの主要各部位について FT-IR を用

いて分析したところ、PVC の特性吸収波数である 1250 及び 700-600  $\text{cm}^{-1}$  に吸収が認められた。また、各部位に含まれる DEHP 量は、9-31% (w/w) であった (表 6 及び 7)。また、MEHP は、全ての部位について 1% (w/w) 未満であった。

### C-2-2. 調製時点の経腸栄養剤中の DEHP 及び MEHP の含有量

粉末のエレンタール P、エレンタール及びエレメンタルフォーミュラは、ヘキサソル洗浄水 (DEHP 1 ppb; MEHP <1ppb) を加熱して用意した微温湯に溶解して調製した。各経腸輸液の調製ないしは開缶時点において DEHP (50-160 ppb) が検出された (表 8)。また、MEHP については、7 ppb 未満であった。

### C-2-3. 経腸栄養剤中への DEHP 及び MEHP の溶出量

経腸栄養剤が経口用イルリガートル及び栄養チューブ (以下、器具) を先述の投与条件下で通過することによって、器具から経腸栄養剤中へ DEHP (200-1100 ppb) 及び MEHP (20-30 ppb) の溶出することが分かった (表 9)。エレンタール P について調製濃度を 10、15 及び 20% としたときの器具からの溶出量を表 10 に示した。各調製濃度間での DEHP 溶出量の差異は、約

100 ppb であった。また、充填する際のエレンタール P の温度が高くなることによつて溶出量は、増加した (表 11)。

C-2-4. 器具の再使用の溶出量への影響  
エレンタール P を投与方式に従つて通過させた器具をミルトン液に浸漬した洗浄した器具 (再使用器具) を用意し、新規使用器具と溶出量について比較した。再使用時には、溶出量は増加する傾向が認められた (表 12)。

#### C-2-5. Non-PVC 製品との比較

Non-PVC 製品をイルリガートル部分及び栄養チューブ部分に使用した際の溶出量を表 13 に示した。イルリガートル部分及び栄養チューブ部分の双方を Non-PVC 製品に置き換えることによつて、器具からの溶出を低減させることは可能であった。

#### C-2-6. 経腸栄養剤から受ける DEHP の 1 日暴露量の推定

エレンタール P を表に示した条件に従つて投与した際の DEHP 及び MEHP の体重あたりの 1 日暴露量を次の式で算出した。「1 日暴露量 ( $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ ) = [エレンタール P 中の濃度] ( $\text{ng}/\text{mL}$ )  $\times$  390 ( $\text{mL}$ ) / 1000 / 3 ( $\text{kg}$ )」その結果、PVC 製のイルリガートル及び栄養チューブを使用したとき、

DEHP 及び MEHP の 1 日暴露量は、153  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$  及び 4.2  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$  となった。Non-PVC 製品を使用した場合、DEHP 及び MEHP の暴露量は、6.45  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$  及び 0.65  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$  であった。

#### D. 考察

##### D-1. 血清及び血漿中の DEHP 及び MEHP の分析

本研究では、LC/MS/MS を活用することによつて分析精度を維持しながら、実験操作を簡略化し、低操作ブランク値で血清中の DEHP 及び MEHP の定量方法を確立した。本法を活用して、健康なボランティアから提供された血清中の DEHP 及び MEHP を定量し、それぞれ、14 ppb 未満及び 5 ppb 以下であることが分かった。表 4 中のボランティアから得た血清は、表 5 中の B に相当する。同一の試料であるが、DEHP の測定値に数 ppb の差異が認められる。この理由としては、表 5 の実験では溶媒採取用のガラス器具をシリンジとメスピペットが一体形成されたものに変更し、樹脂との接触機会が減ったことが考えられる。

プール血清及び輸血用血漿からは、高濃度の DEHP 及び MEHP が検出された。採血、分画及び保存の過程で DEHP を含む PVC 製品と接触していたと考えられるため、これら PVC

製品が DEHP の汚染源と推察される。今回、測定対象としたプール血清及び輸血用血漿は、それぞれ、標準試薬もしくは期限切れのものであり、輸血用血漿の汚染を示すものではない。患者に使用される血液製剤については、高濃度の汚染を最小限にする管理手法を確立して実施していくことが重要であると思われる。

今後の医療器具の材質については、1) PVC 製品の医療器具材質としての優れた性質、2) 現在に至るまでの使用実績、3) DEHP の赤血球保護機能等の事実に対して、ア) 予測される DEHP の暴露によるリスク評価、イ) 代替製品の安全性の評価の結果を照らし合わせて慎重に判断していくことが適当と思われる。この目的を遂行するためには、DEHP 及び MEHP 暴露量を正確に測定することができる本法は有用な手法になり得る。

#### D-2. 経腸栄養剤中の DEHP 及び MEHP の分析

PVC 製医療器具から経腸栄養剤中への DEHP 及び MEHP の溶出量について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結果であった。エレンタール P の調製濃度を 10、15 及び 20% で変えて比較したところ、この 3 点の濃度で汚染の程度の差が 100 ppb 程

度であった。このことから、脂質の含有量が溶出量に大きな影響を与えないことが示唆された。このことから調製範囲の濃度において、その作用が飽和している成分が溶出量を左右していることが考えられる。経腸栄養剤には使用濃度範囲で機能する量の乳化剤（界面活性剤）が添加されている。界面活性剤が PVC 製医療器具からの DEHP の溶出量に強く関与することが報告されている [3]。経腸栄養剤に使用される乳化剤の種類及び添加量と溶出量の関係について調べることによって有用な情報が得られると思われる。また、その乳化剤の成分名のみならず添加量についても添付文書等に記載されれば、医療現場で溶出のリスクを予測するうえで役立つと考えられる。

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。

医療器具の多くに再使用不可と明記

されているものが多くあるが、医療の経済的効率から洗浄後に再使用される場合もある。洗浄可能なイルリガートル部分について新品と再使用品で DEHP の溶出量を比較した。その結果、再利用品で DEHP の溶出量が増える傾向があった。再使用品の内部には洗浄した後も前回使用時の脂質が付着している状況が観察された。これが DEHP の溶出量の上昇の一因と考えられる。これを洗浄時に除去することで DEHP の溶出量の上昇を抑えることができる可能性がある。ミルトンは、殺菌を目的とした洗剤でその主成分は、次亜塩素酸ナトリウムである。よって、ミルトンに加えて脂質の除去を目的とした界面活性剤の使用が必要と思われる。また、界面活性剤の使用にあたっては、その種類の選択と十分な水洗がなされるための使用基準の検討が必要と思われる。

DEHP の暴露によるリスクを排除するため、Non-PVC 製品もしくは PVC の代替の可塑剤としてトリメリット酸エステル等を使用した代替製品が販売されている。これを用いることによって DEHP の暴露量を栄養剤に含まれる量のみ抑えることが可能であった。DEHP の暴露によるリスクを回避する観点から DEHP の精巢毒性に対して高感受性である男子乳幼児、妊婦及び授乳婦について代替品を用い

ることを推奨することは妥当で有ると思われる。現在の代替製品への切り替えに平行して、代替製品に使用される材質及び可塑剤の安全性について十分に情報を蓄積し分析することが重要と思われる。

FDA は、その報告書の中で新生児・乳児の経腸栄養から暴露される DEHP の量を  $140 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$  と見積もっている [4]。今回の DEHP を使用した PVC 製のイルリガートルと栄養チューブを使用してエレンタール P を投与するモデルケースでは、DEHP の暴露量は、 $153 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$  となり、類似した数値となった。この値は、TDI を上回っており、注意を要する。また、この TDI は精巢毒性を指標に設定されていることから、その毒性本体である MEHP の暴露量も加味すれば、実質的にさらに上回ると解釈される。使用する器具を Non-PVC 製のイルリガートルと栄養チューブに変えることによって TDI 未満に抑えることが可能であった。経管的に栄養を補給するケースの多くは、併せて他の医療行為を受けている可能性がある。経腸栄養のみならず患者が受ける医療行為全般を通じて暴露される DEHP 量を把握して効果的に Non-PVC 製に置き換えることが必要と思われる。また、経腸栄養剤の添付文書については、DEHP の溶出について記述している製剤とそう

でない製剤があることから、この点についても、今後、検討することが適当と思われる。

#### 参考文献

- [1] W. Kessler, *et al.*, *Arch. Toxicol.*, 75 (2001) 62.
- [2] 東海大学医学部牧野教授及び和泉助教授のご指導による。
- [3] T. Hanawa, *et al.*, *Int. J. Pharm.*, 267 (2003) 141.
- [4] Center for Devices and Radiological Health (2001) US Food and Drug Administration, <http://www.fda.gov/cdrh/ost/dehp-pvc.pdf>

#### E. 結論

- 1: LC/MS/MS を用いて血清及び経腸栄養剤中の DEHP 及び MEHP の濃度の測定方法を開発した。DEHP 及び MEHP の定量下限値は、14 ppb 及び 5 ppb であった。
- 2: 健康なボランティアの血清中の DEHP 及び MEHP の濃度は、定量下限値未満であった。
- 3: プール血清及び輸血用血漿(期限切れ) から高濃度の DEHP 及び MEHP が検出された。
- 4: 新生児・乳児用の成分栄養剤である

20% (w/v) エレンタール P の 1 回投与量に相当する 56 mL をイリリガートルと栄養チューブを通過させることによって、器具から 1130 ppb の DEHP 及び 28.5 ppb の MEHP の溶出することが認められた。

- 5: 同様の条件で他の経腸輸液製剤との比較したところ、約 200-800 ppb の DEHP 及び 20 ppb の MEHP の溶出が認められた。
- 6: 器具からの DEHP 及び MEHP の溶出量 (以下、溶出量と表記) は、エレンタール P の調製濃度に大きく影響されなかった。
- 7: 器具に充填する際の栄養剤の温度が高いと溶出量は増加した。
- 8: 器具を再使用することによって、溶出量は増加した。
- 9: モデルケースでは、溶出量から見込まれる暴露量は TDI を上回った。
- 10: Non-PVC 器具を併用することによって、溶出量は減少した。

#### F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

G-1. 論文発表

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 LC/MS/MS; *J. Chrom. B*, in press.

G-2. 学会発表

高取聡, 北川陽子, 中澤裕之, 堀伸二郎; 第6回環境ホルモン学会研究発表会; 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; 2003 年 12 月; 仙台

G. 知的所有権の取得状況

なし

表 1: DEHP の暴露評価モデル

対象	新生児・乳児；体重 3 kg
必要カロリー	240～350 kcal/day
栄養源	20% (w/v) エレンタール P (0.8 kcal/mL)
投与量	390 mL/day (312 kcal/day)
分割 (1 回量)	7 分割/day (56mL/回)
投与ルート	経腸・経口
投与器具	経口用イルリガートル及び栄養チューブ
投与時間 (流速)	14～15 分間 (3.7～4.0 mL/min)
温度	25±1℃

表 2: 血清中からの DEHP-d4 及び MEHP-d4 の回収率

添加濃度	DEHP-d4 (%)	MEHP-d4 (%)
100 ppb	93.3± 6.8	102.4±6.2
20 ppb	103.5±10.2	102.1±6.5

(n=6)

表 3: 経腸栄養剤からの DEHP-d4 及び MEHP-d4 の回収率

製剤名 (調製濃度)	DEHP-d4 (%)	MEHP-d4 (%)
エレンタール P (20%)	91.2±1.1	99.6±3.3
エレメンタルフォーミュラ (17%)	95.3±1.6	80.9±0.3
エレンタール (27%)	90.9±0.5	76.0±0.4
エンシュアリキッド	78.1±6.0	83.1±2.1

DEHP-d4, MEHP-d4: 20ppb 添加時; (n=3)



表 4：血清及び血漿試料中の DEHP 及び MEHP 含有量（絶対検量線法）

試料（希釈率，由来，試行数）	DEHP (ppb)	MEHP (ppb)
血清 (1/1, ボランティア, n=11)	N.D. <sup>a</sup> (7.0±2.6)	N.D. <sup>b</sup> (3.7±1.5)
血清 (1/10, 標準用プール血清, n=3)	2200±46	2150 ±64
血漿 (1/10, 輸血バッグ中保存, n=3)	1410±10	76.6± 1.5

N.D.<sup>a</sup> < 14 ppb; N.D.<sup>b</sup> < 5 ppb

表 5：血清中の DEHP 及び MEHP 含有量（相対検量線法）

試料（性別 [M/F], 年齢 [yr], 体重 [kg]	DEHP (ppb)	MEHP (ppb)
A (M, 30, 56)	N.D. <sup>a</sup> (3.8±1.3)	5.7±2.7
B (M, 28, 63)	N.D. <sup>a</sup> (3.7±0.8)	N.D. <sup>b</sup> (4.1±1.5)
C (M, 29, 62)	N.D. <sup>a</sup> (2.9±0.6)	N.D. <sup>b</sup> (3.3±0.6)
D (M, 34, 58)	N.D. <sup>a</sup> (3.9±1.0)	N.D. <sup>b</sup> (3.4±0.6)

N.D.<sup>a</sup> < 14 ppb; N.D.<sup>b</sup> < 5 ppb; (n=5)

表 6：経口用イルリガートの DEHP の含有量

部分	記号	含有量 (%; w/w)
バッグ	A-1	26.1±0.8
チューブ	A-2	22.0±1.4
点滴筒	A-3	15.2±1.6
アダプタ	A-4	9.1±1.3

MEHP の含有量は、1% 未満; (n=3)

表 7：栄養チューブの DEHP の含有量

部分	記号	含有量 (%; w/w)
チューブ	B-1	31.8±0.6
アダプタ	B-2	31.3±0.6

MEHP の含有量は、1% 未満; (n=3)

表 8 : 調製 (開缶) 時点での経腸栄養剤中の DEHP 及び MEHP 含有量

製剤名 (調製濃度)	DEHP (ppb)	MEHP (ppb)
エレンタール P (20%)	49.6±8.4	N.D. <sup>b</sup>
エレメンタルフォーミュラ (17%)	58.6±3.0	6.0±0.3
エレンタール (27%)	64.3±2.4	6.9±0.7
エンシュアリキッド	158 ±7.7	N.D. <sup>b</sup>
ヘキサン洗浄水	N.D. <sup>a</sup>	N.D. <sup>b</sup>

N.D.<sup>a</sup> < 14 ppb; N.D.<sup>b</sup> < 5 ppb; (n=6)

表 9 : 器具通過後の経腸栄養剤中の DEHP 及び MEHP 含有量

製剤名 (調製濃度)	DEHP (ppb)	MEHP (ppb)	脂質 (mg/mL)
エレンタール P (20%)	1130±190	28.5±4.8	7.2
エレメンタルフォーミュラ (17%)	203± 43	23.5±1.4	4.3
エレンタール (27%)	513± 60	26.1±0.1	1.7
エンシュアリキッド	721± 93	24.9±1.9	33.2
ヘキサン洗浄水	54± 17	24.4±0.9	0

(n=6)

表 10 : エレンタール P の調製濃度の DEHP 及び MEHP 溶出量に対する影響

調製濃度 (%; w/v)	DEHP (ppb)	MEHP (ppb)	脂質 (mg/mL)
20	1130±190	28.5±4.8	7.2
15	1080± 40	30.5±1.5	5.4
10	1000± 65	28.6±1.6	3.6

(n=6)

表 11 : エレンタール P (20%) の充填時温度の DEHP 及び MEHP 溶出量に対する影響

充填時温度 (°C)	DEHP (ppb)	MEHP (ppb)
15	821 ± 53	26.1 ± 0.8
25	1130 ± 190	28.5 ± 4.8
37	1750 ± 340	35.5 ± 1.0

(n=3)

表 12 : 器具再利用の DEHP 及び MEHP 溶出量に対する影響

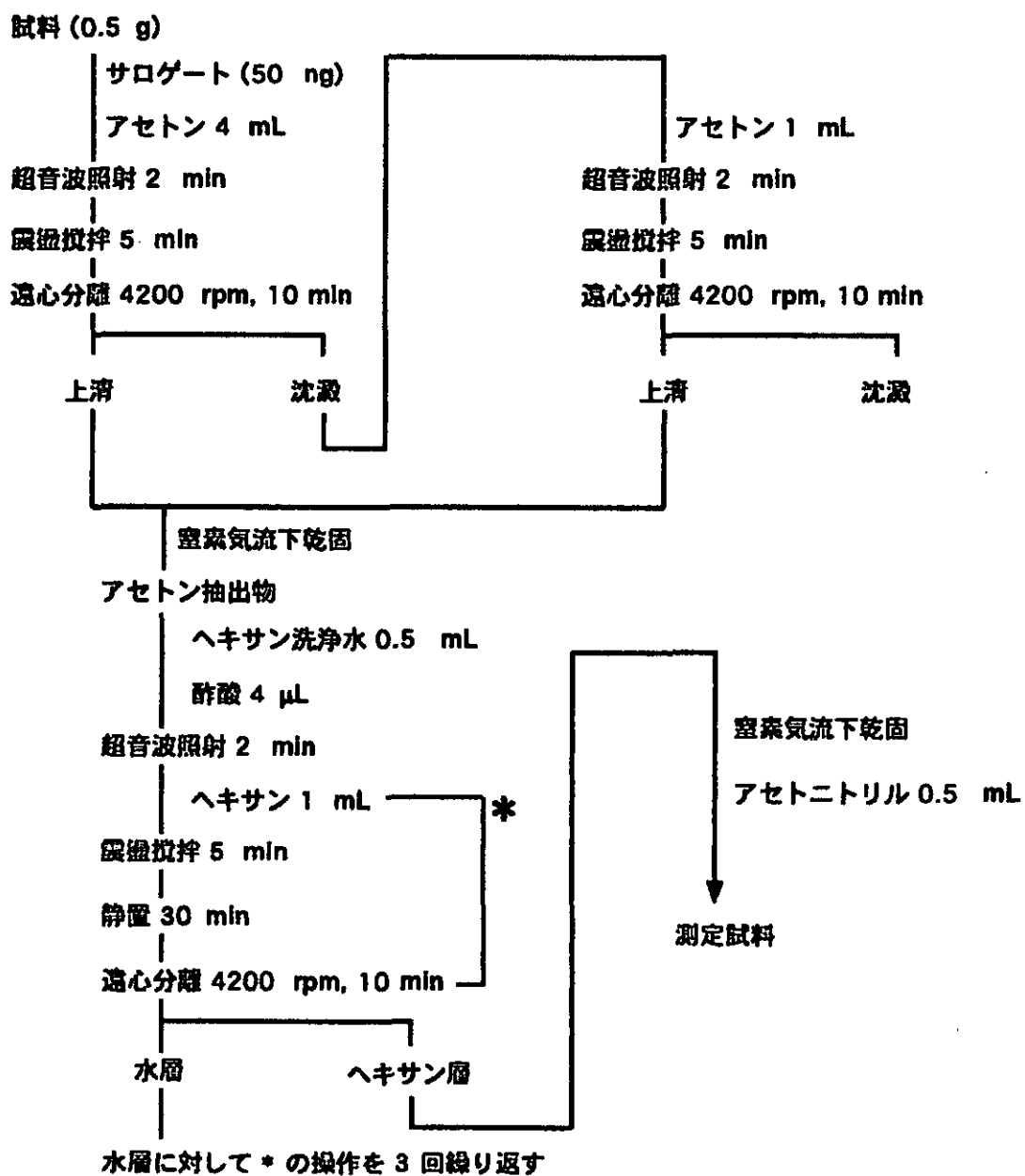
再利用回数 (回)	DEHP (ppb)	MEHP (ppb)
0	1040 ± 270	32.7 ± 4.8
1	3690 ± 660	21.6 ± 4.3
2	3140 ± 800	17.3 ± 4.2
3	4060 ± 570	15.0 ± 2.3

(n=5)

表 13 : PVC 製品及び Non-PVC 製品併用時の DEHP 及び MEHP 溶出量

PVC 製品利用	DEHP (ppb)	MEHP (ppb)
イルリガートル/チューブ		
+ / +	1130 ± 190	28.5 ± 4.8
+ / -	795 ± 44	24.0 ± 3.1
- / +	439 ± 19	17.3 ± 4.2
- / -	0	0

(n=3)



スキーム 1 DEHP 及び MEHP の抽出操作