

- 4) 厚生省 生活衛生局食品化学課長通知：塩化ビニル製手袋の食品への使用について 衛化第31号 (2000.6.14)
- 5) Center for Devices and Radiological Health, U.S. Food and Drug Administration (FDA), September 4 (2001)
<http://www.fda.gov/cdrh/ost/dehp-pvc.pdf>
- 6) Health Canada Expert Advisory Panel on DEHP in Medical Devices, January 11 (2002)
<http://www.hc-sc.gc.ca/hpfb-dgpsa/tpd-dpt>
- 7) 厚生労働省医薬局 医薬品・医療用具等安全性情報 No. 182, 平成14年10月
- 8) Oishi S., Hiraga K., *Arch. Toxicol.*, 51, 149-155 (1982)
- 9) Albro P.W., Chapin R.E., Corbett J.T., Schroeder J., Phelps J.L., *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 100(2), 193-200 (1989)
- 10) Ulsaker G.A., Hoem R.M., *Analyst*, 103(1231), 1080-1083 (1978)
- 11) Arbin A., Östelius J., *J. Chromatogr.*, 193, 405-412 (1980)
- 12) Arbin A., Östelius J., Callmer K., Sroka J., Hänninen K., Axelsson S., *Acta Pharm. Suec.*, 20, Suppl: 3, 20-33 (1983)
- 13) Smistad G., Waaler T., Roksvaag P.O., Midtsem M., *Acta Pharm. Nord.*, 1(6), 321-326 (1989)

Table 1 試験対象医薬品一覧

商品名	主薬名	試験溶液濃度 (主薬)	添加剤名	薬効	備考
大塚糖液 5%	ブドウ糖				
プログラフ® 注射液 5mg	タクロリム ス水和物	0.01 mg/mL	無水エタノール HCO-60	免疫抑制剤	DEHP 溶出 報告有
フロリードF 注	ミコナゾー ル	0.74 mg/mL	HCO-60	深在性真菌症治療剤	DEHP 溶出 報告有
ラステット® 注	エトポシド	0.4 mg/mL	ポリソルベート 80 クエン酸 マクロゴール 400 エタノール	抗悪性腫瘍剤	DEHP 溶出 報告有

Table 2 CS-LC/MS/MS におけるタイムプログラム

Time (min)	Solvent A (%)	Solvent B (%)	Configuration
0.0	100	0	Loading and washing
3.0	100	0	
3.1	0	100	Eluting and separation
8.0	0	100	
8.1	100	0	Conditioning

Solvent A: Water (1 mL/min)

Solvent B: Acetonitrile / Water = 90 / 10 (v/v), (0.2 mL/min)

Table 3 各医薬品溶液のバリデーションデータ

	DEHP		MEHP	
	定量範囲 ($\mu\text{g/mL}$)	相関係数 (r)	定量範囲 ($\mu\text{g/mL}$)	相関係数 (r)
5%ブドウ糖液	2.5 - 100	0.999	0.75 - 100	0.999
プログラフ®注	2.5 - 50	0.999	0.5 - 50	0.999
フロリード®注	2.5 - 50	0.999	0.25 - 50	0.996
ラステット®注	5 - 50	0.999	0.5 - 50	0.999

Table 4 PVC チューブを用いた DEHP 及び MEHP 溶出試験結果

DEHP	A 社製	B 社製
	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)
5%糖液	0.12 ± 0.03	0.13 ± 0.06
プログラフ [®] 注	4.60 ± 0.17	4.40 ± 0.10
フロリード F 注	53.99 ± 3.63	54.64 ± 2.90
ラステット [®] 注	27.04 ± 0.62	28.88 ± 1.53

MEHP	A 社製	B 社製
	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)
5%糖液	0.56 ± 0.05	0.20 ± 0.00
プログラフ [®] 注	0.39 ± 0.04	0.12 ± 0.01
フロリード F 注	ND (1000 倍希釈)	ND (1000 倍希釈)
ラステット [®] 注	ND (1000 倍希釈)	ND (1000 倍希釈)

 $(n = 3)$

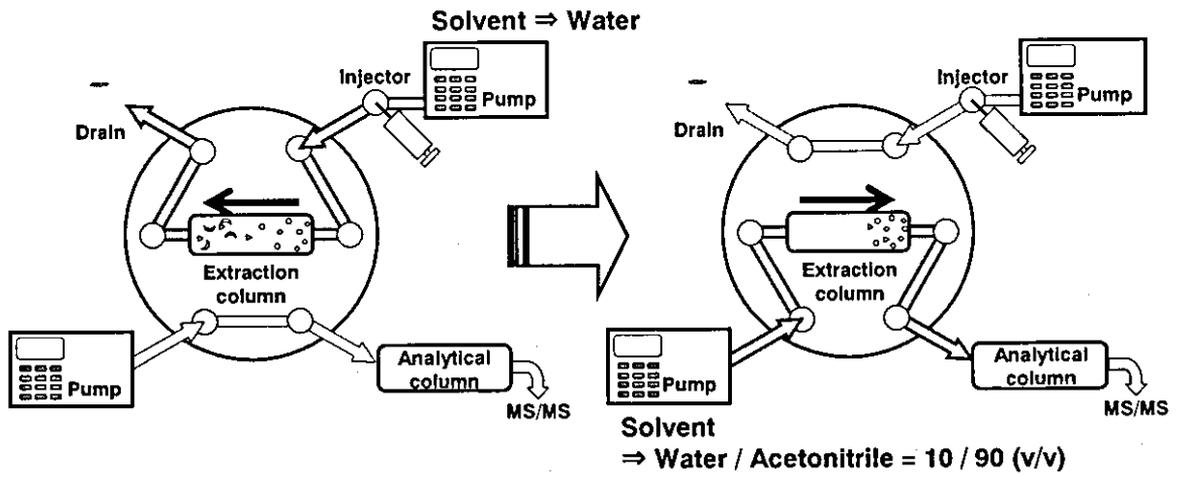


Figure 1 CS-LC/MS/MS システム図

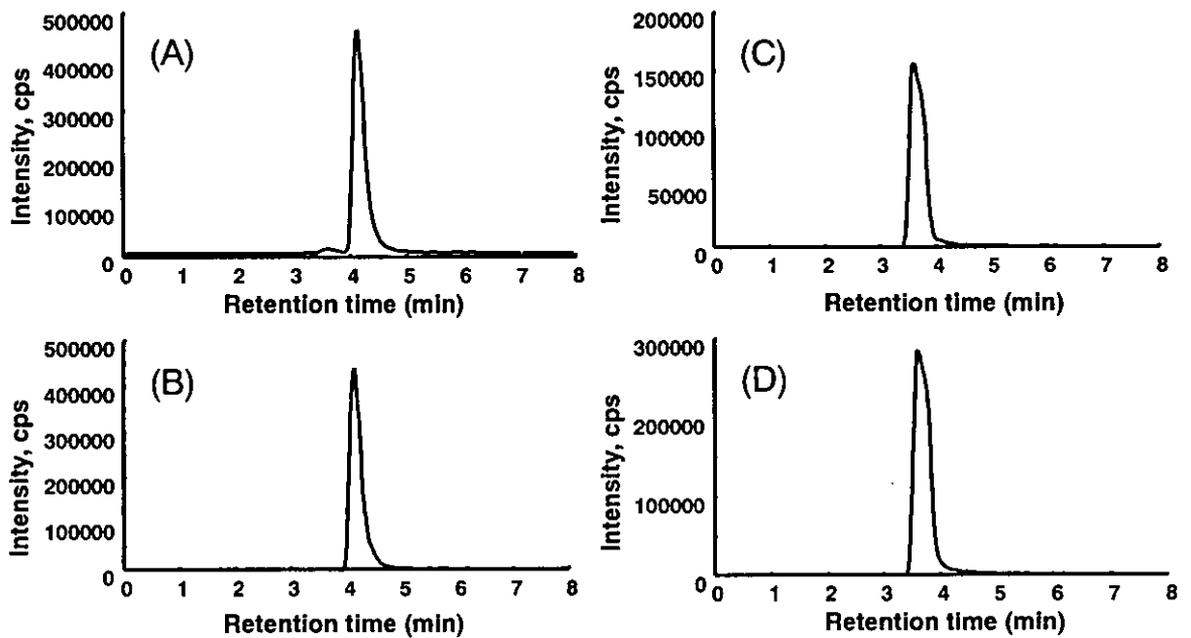


Figure 2 5%糖液を用いた添加回収試験のクロマトグラム (50 ng 添加)

付属書 C. DEHP と MEHP への共曝露に対する総安全評価

DEHP は、体内で MEHP へ変換されるだけでなく、血漿保存バッグや血液バッグのリパーゼによって、または加熱済み輸液バッグでの加水分解によっても MEHP へ変換される。結果として血漿バッグや血液バッグ、加熱済み輸液バッグに混入した DEHP の一部は患者に至る前に MEHP に変換される。以前の安全評価は、DEHP との接触について明確に説明していたに過ぎない。MEHP との接触についても明らかにすることは非常に大切である。なぜならば、MEHP は DEHP に比べて、生殖に関して副作用を及ぼす可能性が大きいからだ。

C.1 混合物のリスク評価の手順

リスク評価では、化学薬品の混合物の構成成分の複合毒性を評価するために二つの手順が発生してきた。危険指数法と相対毒性法である。

C.1.1 危険指数法

危険指数法は ISO/DIS 10993-17 の中で次のように説明されている。

もし、ある機器から浸出した複数の混合物が共通の毒物学上のメカニズムを持つか、構造的に似ている（例えば、エステルフタレート、アクリレート、メタクリレート）、かつ患者の用量が各成分について TI(Tolerable Intake、耐用摂取量)値を十分に下回っているのであれば、どんな影響も付加的な形で生じると考えられる。すなわち、二つ以上の成分の影響は、それぞれ成分の単体毒性の和と等しい。結果として、危険指数(HI)法は混合物にさらすことで起こる副作用の可能性を予測するのに使うことができる。HI は次のように計算できる。

$$HI = \sum_{i=1 \sim n} (\text{用量})_i / TI_i$$

n は混合物の構成成分の数であり、用量は、患者によって摂取されている構成物質の量である。

DEHP と MEHP の複合毒性を予測するのに HI 法は有効であると考えられる。なぜならこれらは、類似したメカニズムによって効果を及ぼすからである。し

かしながら、MEHP の TI を見出すためには毒物学的データが不足している。結果として、DEHP と MEHP への複合曝露に HI 法を用いるのは実用的ではない。

C.1.2 相対毒性法

相対毒性法は主として複雑な混合物の毒性を予測するのに用いられる。例えばダイオキシン、ダイオキシンに似た混合物、多環式芳香族炭化水素、そしてコリンエステラーゼ阻害殺虫剤などである。しかし、最近になってエステルフタレートの複雑な混合物の毒性を予測するための手段として提案されている (Gray ら 2000)。この方法を用いて構成する各化学物質から混合液の毒性を予測するためには、指標化合物に比例する成分の毒性を特定する必要がある。指標化合物は、最も多くの満足な科学的データを持っているものであるべきである。指標化合物に比例しているとされる構成物質の総合的な濃度は次のように導き出される。

$$C \text{ 混合物} = C \text{ 指標} + \sum [RPF_i \times C_i]$$

C 混合物 = 指標化合物によって表される総合的な混合物の濃度、C 指標 = 混合物中の指標化合物の濃度、 C_i = 混合物の構成物質 i の濃度、 RPF_i = 構成物質 i の指標化合物に対する比例定数。DEHP と MEHP に関して、DEHP は指標混合物としてふるまい、MEHP の濃度は DEHP 同等物として表される。

相対毒性値は毒性等価係数 (Toxic Equivalency Factors) または TEF として知られている。EPA (1999) は化学混合物の健康リスク評価の指針では、表 C-1 に説明されている基準に基づいて RPF から TEF を差別化した。

表 C-1. TEF と RPF の違い

TEF (Toxic Equivalency Factor)	RPF (Relative Potency Factor)
TEF は全ての健康エンドポイントに適用される。	RPF は特定の健康エンドポイントに制限されるかもしれない。
TEF は全ての曝露ルートに適用される。	RPF は特定の曝露ルートに制限されるかもしれない。
高品質 / 豊富なデータのため、高い精度	やや劣る品質 / 少ないデータのため、低い精度

以下で議論されているように、MEHP と DEHP の相対的毒性因子は主として特定の健康エンドポイント（精巢の毒性）に基づき、特定のルート（非経口）に制限されており、何らかの不確実性に関連している。結果として、MEHP:DEHP 相対毒性値は、EPA 基準を使って RPF としたほうが好ましいかもしれない。

C.2 DEHP 同等物としての MEHP の RPF の導出

C.2.1 MEHP と DEHP は RPF 導出の基準を満たすか

いかなる化合物のセットに対して RPF を導出する場合も、特定の評価基準を満たされなければならない。混合物の化学成分は類似した毒学的効果を生じるはずであり、これらの効果を生むメカニズムも同じであるべきである。また、化合物は曝露環境で混合物として生じるはずである。最後に、RPF 法は用量の加性があると見なしている。MEHP と DEHP は、精巢に対して酷似した影響を同じメカニズムで生じさせることはよく知られている。2.0 項で議論されたように、双方の物質は保存血液、保存血漿、そして保存輸液中で発見される。MEHP と DEHP の用量の加性があることの仮定は明白に検証されたものではない。しかしながら、MEHP は精巢内での DEHP の活性のある代謝物質であるということが証明されたため (Gray ら, 1982; Gray と Gangolli, 1986; Ooishi, 1993)、DEHP と MEHP の用量は加性があるとみなすことができる。なぜなら DEHP は MEHP への転換後にその影響を及ぼすと考えられているからである。

C.2.2 MEHP の RPF 値の選択

MEHP のほうが DEHP よりも毒性が強いということがいくつもの実験によってわかっているとしても、この毒性の差を定量的に（もしくは半定量的に）表すための RPF を選択するには困難が存在する。理想を言えば、精巢への効果の用量反応曲線は双方の化合物の輸液を経ることで導くことができるという実験から MEHP のための RPF が割り出せる。残念なことに、そのような実験は行われていない。そのかわり、MEHP のための RPF は MEHP と DEHP の相対毒性について書かれている出版物のデータを経口や腹腔内投与、そして *in vitro* での研究で導くことができる。

in vitro 内の研究における MEHP と DEHP の相対毒性

代謝物質活性化システム無しでの in vitro 内の研究による MEHP と DEHP の相対毒性は精密にこれらの化学物質の非経口投与による vivo での相対毒性を反映しないかもしれない。しかしながら、これらの研究は、これらの化合物の相対薬力学毒性を一方の生物活性と他方の解毒を考慮に入れずに比較する機会を与えている。表 C-2 に示されるとおり、これらの化学物質の in vitro の相対毒性は、エンドポイントと研究に応じて $>10 \sim >1000$ に分布している。

MEHP が DEHP に比べて in vitro で精巣細胞に影響する高い毒性を示すことをはっきりと示す他の研究は、無数にその出版物の中に記されている。しかしながら、これらの実験の結果は MEHP の RFP を定量的に決定することには役立たない。例えば、Grasso ら (1983) は $100 \mu\text{M}$ の MEHP は FSH が培養されたラットの Sertoli 細胞と結合するのを阻害するが、 $100 \mu\text{M}$ の DEHP は FSH の結合には何の影響も及ぼさなかったことを発見した。また、Gangolli (1982) は $200 \mu\text{M}$ の MEHP は培養中に胚細胞と Sertoli 細胞の解離を生じたのに対し、同じ濃度の DEHP はそのようなことは起こらなかった。最後に、Moss ら (1988) は MEHP は Sertoli 細胞培養中に乳酸の産生を活性化したが、DEHP にはそのような効果は見られなかったと報告している。

経口投与による MEHP と DEHP の相対毒性

表 C-2 で示されているように、MEHP と DEHP の精巣での影響の相対毒性は経口投与によれば 3 から 10 の間に分布する。経口投与によって導き出された相対毒性値は非経口曝露による MEHP と DEHP の相対毒性を過小評価する可能性が高い。なぜならば、DEHP は消化管において生物活性化されているため非経口曝露に比べて経口曝露のほうがより毒性が高く、MEHP は消化管において解毒されているため非経口に比べて経口投与のほうがよりその毒性が弱いからである。したがって、経口投与においては分母 (DEHP 毒性) の値は上昇し、分子 (MEHP 毒性) の値は下降する。

表 C-2 精巣における影響の MEHP と DEHP の相対毒性

相対毒性 MEHP/ DEHP	経路	コメント	研究
>10	in vitro	MEHPは0.065 μ M/mlという低い用量で精巣ミトコンドリアの三重項酸素消費を阻害したが、DEHPは0.65 μ Mの用量でもそのようなことはなかった。	Oishiら (1990)
>100	in vitro	0.1 μ MのMEHPはSertoli細胞の増加を抑制したが、10 μ MのDEHPはそのようなことはなかった。	Liら(1998)
>1000	in vitro	1 μ MのMEHPは48時間後に胚細胞の分離を生じたが、1000 μ MのDEHPはそのようなことはなかった。	Sjöbergら (1986)
3.5	経口	2.8g/kgのDEHPと0.8gのMEHPの投与による関連した精巣の重量、管の直径、垂鉛の減少と組織変化は共通であった。	Teirlynckら (1988)
10	経口	DEHPは3750mg/kgにおいて染色体の変形が起こった。MEHPにおいても375mg/kgで同様の現象が見られた。	Tomitaら (1982)
2	腹腔内	DEHPは50mg/kgにおいて前立腺前方の垂鉛の減少という結果に至った。MEHPにおいても同様の現象が25mg/kg注入したところで見られた。	Curtoと Thomasら (1982)

他のエンドポイントに対する MEHP と DEHP の相対毒性は、生殖への影響に関するこれらの化学物質の RPF の増加過程について教えてくれるかもしれない。Shiota と Mima (1985) の結論によれば、チューブによる食事投与を受けている妊娠した ICR マウスにおいて母方の毒性を生産する MEHP の効力は、DEHP の 20 倍であり、腹腔内投与においては 80 倍である。(表 C-3)

表 C-3 妊娠している ICR マウスにおける母方の毒性生産の DEHP と MEHP の相対毒性

経路	用量 (mg/kg/日)		相対毒性 MEHP/DEHP
	MEHP	DEHP	
強制経口投与			
NOAEL	50	1000	20
LOAEL	100	2000	20
腹腔内			
NOAEL	50	1000	80
LOAEL	100	2000	80

Yagi ら (1980) と Tomita ら (1982) の実験結果によると、MEHP は DEHP に比べて、妊娠 7 日にチューブによる食事投与を受けた ddY-Slc マウスに対して奇形児、胎児の死亡、胎児の体重の減少をもたらす毒性、絶対値にして約一桁大きい。(104mg/kg/日の LOAEL の MEHP に対して 984mg/kg/日の LOAEL の DEHP)

非経口投与による MEHP と DEHP の相対毒性

非経口投与による MEHP と DEHP の相対毒性、特に精巣への影響を評価することのできる研究結果は少ない。Curto と Thomas (1982) は、DEHP と MEHP の相対毒性は検査されているエンドポイントに依存すると報告している。例えば、50mg/kg の MEHP の腹腔内を投与されたマウスは前立腺前方において 37% の亜鉛の減少が見られた。この作用は、100mg/kg の DEHP を投与したときに見られる。つまり 2 倍の効果の差が見られるのである。しかしながら、精巣における亜鉛の減少度において同じ DEHP の用量が結果として得られた。50mg/kg の MEHP に関してはそのようなことは見られなかった。よって、このことから DEHP のほうがよりこの効果が強いことをあらわしている。

この他の非経口投与による MEHP と DEHP の相対的毒性を決定付ける唯一の研究結果は Shiota と Mima (1985) であり、表 C-2 に表されている。

C-3 MEHP のための RPF の選択

in vitro の研究結果によると、MEHP は DEHP の 1000 倍まで精巣細胞に有害

な影響を与える可能性がある。しかしながら、*in vitro*の相対毒性値がどれほど*in vivo*に関連があるのかわからない。なぜならば、DEHPは体内で生物活性化されることができるし、MEHPは解毒されることができるからである。それに比べ、MEHPはDEHPの3から10倍経口投与による精巣に有害な影響を及ぼす力があり、発生への影響が20倍ある(一つの研究において)。同様に、消化管におけるDEHPの生物活性化とMEHPの解毒によるこれらの値がどのように非経口投与の相対毒性を反映するのかはよくわかっていない。いくつかのMEHPとDEHPの相対的毒性の非経口研究の結果に基づくと、MEHPはわずかにDEHPよりも毒性があるかもしれないし、DEHPよりも劣っている(いくつかのエンドポイントにおいて)かもしれない。また、80倍ほど力があるかもしれない(発生学的な影響)。MEHPとDEHPの相対毒性値の広い分布はこれらの化学物質の累積的リスク評価に使うためのMEHPのRPFの選択の困難さを強調している。証拠の蓄積が、MEHPは精巣細胞に対してDEHPよりも毒性が強いという性質であると示しているため、非経口によるMEHPとDEHPの相対的毒性に関するより優れたデータが得られるまで、暫定的な10というRPF値をMEHPに割り当てるということが妥当である。したがって、1mg/kgの用量のDEHP(MEHP?)は、10mg/kgの用量のMEHP(DEHP?)と同じ影響を精巣に与えるものと予測される。MEHPのRPFを設定して、この化合物の相対的毒性がDEHPよりも「約一桁」強いということを示したこともまた、この値の精度の低さと値を選択することの不確実性を強調するためである。

C-4 DEHP相当物としてのMEHPとDEHPの総用量

各種医療行為(2.0項)によって患者が受け取ったDEHPとMEHPの用量のデータを使うと、DEHP相当物としてのDEHPとMEHPの総用量(表C-4)を算出することが可能である。

表C-4 DEHP相当物としてのDEHPとMEHPの総用量

医療行為	DEHP 用量 (mg/kg/日)	MEHP 用量 (mg/kg/日)	DEHP 同等物質用量 (mg/kg/日)
結晶状の溶液の輸液	0.005	0.013	0.135
輸血			
外傷患者	8.5		
輸血/ECMO (成人)	3.0	2.0	23
交換輸血(Exchange)	22.6	0.68	29.4

Transfusion) (新生児)			
交換輸血 (Replacement Transfusion) (新生児)	0.3	0.0043	0.34
心肺バイパス術			
CAGB	1	0.1	2
同所性心臓移植	0.3	0.03	0.6
人工心臓移植	2.4	0.26	5

DEHP が、TPN(完全静脈栄養)輸液や経腸栄養液の貯蔵中に外因的に MEHP へと変換されているのかは不明だ。

DEHP と MEHP の両方が血液透析を受けている患者たちの中で発見されたりしていても、MEHP のどのくらいが生体内で形成されたものなのか、そしてもしあるならばどのくらいが血液透析の回路の中で外因的にできたのかはわからない。

DEHP 同等物の用量の値は DEHP と MEHP への総曝露の TI/用量比を割り出すのに使われていた。

表 C-5 DEHP 同等物による DEHP と MEHP の総用量

医療行為	TI/用量比	
	DEHP のみ	DEHP+MEHP
結晶状の溶液の輸液	120	4
輸血		
輸血/ECMO (成人)	0.2	0.03
交換輸血 (Exchange Transfusion) (新生児)	0.02	0.02
交換輸血 (Replacement Transfusion) (新生児)	2	2
心肺バイパス術		
CAGB	0.6	0.3

同所性心臓移植	2	1
人工心臓移植	0.3	0.1

表 C-5 にあるように、DEHP のみの計算のとき $TI/\text{用量比} > 1$ の医療行為は DEHP と MEHP 両方計算に入れたときも $TI/\text{用量比} > 1$ を保ち続けている。

Ⅲ. 分担研究報告書

2. 滅菌処理による PVC 製医療用具中の DEHP に与える影響

主任研究者	中澤 裕之	星薬科大学	薬品分析化学教室
研究協力者	齊藤 貢一	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
	伊藤 里恵	星薬科大学	薬品分析化学教室
	瀬下 文恵	星薬科大学	薬品分析化学教室
	山本 章博	日本医療器材工業会	
	浦富 恵輔	株式会社ジェイ・エム・エス	

平成 16 年度 厚生労働科学研究費補助金
(医薬品医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業) 分担研究報告書

滅菌処理による PVC 製医療用具中の DEHP に与える影響

主任研究者	中澤 裕之	星薬科大学	薬品分析化学教室
研究協力者	斉藤 貢一	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
	伊藤 里恵	星薬科大学	薬品分析化学教室
	瀬下 文恵	星薬科大学	薬品分析化学教室
	山本 章博	日本医療器材工業会	
	浦富 恵輔	株式会社ジェイ・エム・エス	

研究要旨

ポリ塩化ビニル (PVC) 製医療用具中の可塑剤 (フタル酸ジ-2-エチルヘキシル ; DEHP) は、血液や脂溶性医薬品、経口・経腸栄養剤などに溶出することから、医療行為に伴う DEHP 暴露が懸念されており、溶出挙動や動態について更なる詳細な究明が求められている。臨床分野での使用を想定した溶出等の研究はなされているが、PVC 材質自体が物理化学的要因によって、DEHP 溶出にどのような影響を及ぼすかについては不明な部分が多い。

本研究では、PVC 製医療用具が製造過程で施される滅菌過程に着目し、滅菌処理による DEHP の溶出挙動や安定性の解明を目的に溶出試験及び材質試験を実施した。PVC 製品の滅菌として代表的な高圧蒸気滅菌、EOG 滅菌及び γ 線照射滅菌について検討したところ、 γ 線滅菌試料において、DEHP の分解物であり、より毒性が強いと考えられているフタル酸モノ-2-エチルヘキシル (MEHP) が生成され、容易に溶出するという新たな知見を得た。

A. 研究目的

近年、ポリ塩化ビニル (PVC) 製品に含まれるフタル酸ジ-2-エチルヘキシル (DEHP) に対するヒト暴露が危惧されており、さまざまな分野において対応が求められている。医療分野においても、治療行為に伴う患者の DEHP 暴露量を低減化するため、代替品への切り替えが進められている¹⁾。しかしながら、代替品の安全性は十分に解明されていないこと、DEHP の利便性が良いことから、未だ DEHP 含有 PVC 製品の

使用頻度は高い。そのため、PVC 製医療用具の安全性に関しては、さらに多面的かつ詳細な研究が要求されている。

医療現場で使われる医療用具は人体に直接接触したり、体内に挿入されるものであり、必ず滅菌処理が施されている。『滅菌とは、物質中のすべての微生物を殺滅又は除去すること』と定義²⁾されており、現在、医療用具に対して用いられている滅菌法³⁾として、高圧蒸気滅菌、酸化エチレンガス (EOG) 滅菌、 γ 線照射滅菌、電子線照射

滅菌などの方法がある。これらの方法は、医療用具の材質や滅菌後の製品の安全性や耐久性などを考慮して、使用する滅菌法が決定される。PVC 製医療用具においては、高圧蒸気滅菌、EOG 滅菌、 γ 線照射滅菌などが一般的に用いられている。

滅菌処理は強力なエネルギーを与える操作であり、 γ 線照射滅菌や EOG 滅菌などの滅菌処理を施すことにより、PVC 材質に物理的または化学的な変質が生じ^{4,5)}、DEHP 溶出挙動に影響を与えることは十分に推測される。

また、我々の他方の報告書において、材質中からの DEHP の分解物であるフタル酸モノ-2-エチルヘキシル (MEHP) 溶出が確認されたことから、生体内の酵素によらずとも、製造工程等に生じるエネルギーにより、DEHP から MEHP が生成することが示唆された。滅菌工程は高エネルギーを与える過程であり、その過程において、MEHP 等の分解物が生成することも十分考えられる。

そこで、本研究では滅菌処理による DEHP の溶出挙動や安定性に着目し、溶出試験及び材質試験を実施した。また、測定環境からのコンタミネーションを低減化するために閉鎖系での前処理が可能なカラムスイッチング (CS) によるオンライン固相抽出法を利用し、液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析法 (LC/MS/MS) を用いて、DEHP 及び MEHP を測定した。

B. 研究方法

B-1. 材料及び試薬

PVC 製シートは株式会社ジェイ・エム・エスより、輸液セットはテルモ株式会社よ

り研究用に提供されたものを用いた。試験に際しては、シートは 1 x 3 cm に型取り、チューブは 8 cm 高となるように裁断して実験に供した。各滅菌操作条件を Table 1 に示す。また、PVC 製品からの溶出試験用溶媒としては、精製水、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油 (HCO-60) (和光純薬工業社製) 及び大塚糖液 5 % (大塚製薬株式会社製、製造番号: 2G98S, 使用期限: 2005 年 7 月) を用いた。

DEHP 及び DEHP-d₄ 標準品は関東化学社製試薬 (環境分析用) を、MEHP 及び MEHP-d₄ 標準品は林純薬社製試薬を用いた。LC/MS/MS 用移動相に用いたアセトニトリル及び器具洗浄に用いたアセトンは関東化学社製 (フタル酸エステル試験用)、材質試験に用いたテトラヒドロフラン (THF) は和光純薬工業社製 (特級 (安定剤不含)) である。精製水は Millipore 社製の Milli-Q gradient-A10 EDS ポリッシャー付き精製水装置を用いて調製した。

実験に用いた全てのガラス製器具及び金属製器具類は、フタル酸エステル試験用アセトンにて洗浄してから実験に用いた。さらに、加熱可能な器具類については 240°C で 2 時間以上焼成処理を行った後に使用した。

B-2. CS-LC/MS/MS 測定条件

B-2-1 分析装置

分析用ポンプとして Agilent 社製 1100 シリーズ、送液用ポンプとして島津製作所製 LC-10AS、及び質量分析器としてアプライドバイオシステムズ社製 API 4000 を用いた。カラムは関東化学社製 Mightysil[®] RP-18 GP (5 x 2.0 mm, 5 μ m)、前処理カラムには Waters

社製 OASIS® HLB extraction column (20 x 2.1 mm, 25 μm)を用いた。データ解析には Analyst 1.3.2 を使用した。装置図を Fig.1 に示す。

B-2-2 測定条件

試料 10 μL を直接注入後、送液用ポンプから精製水 (1 mL/min) を送液し、抽出カラムで精製及び抽出を 3 分間行う。その後、スイッチングバルブを切り替え、Acetonitrile / Water = 90 / 10 (v/v) (0.2 mL/min) を送液することで抽出カラムから目的物質を溶出させ、分析カラムで分離し、質量分析部へと導入する。

また、イオン化はターボスプレーイオン化 (TSI) 法により行い、モニタリングイオンは以下の通りである。

・DEHP (positive, m/z 391 → 149 (Precursor ion → Product ion)), DEHP- d_4 (positive, m/z 395 → 153), MEHP (negative, m/z 277 → 134), MEHP- d_4 (negative, m/z 281 → 138)

B-3. 標準溶液の調製

DEHP 及び DEHP- d_4 , MEHP 及び MEHP- d_4 標準試薬を精秤し、アセトニトリルに溶解して各標準原液を調製した。その後、この標準原液から水で希釈したものを標準溶液とした。これらの標準溶液は 4℃ で保存した。

B-4. 溶出試験

PVC シートを 1 x 3 cm に型取り、各溶出試験用溶液 5 mL が入ったガラス製スピッツ管に浸し、37℃、1 時間抽出した。その後、バイアル瓶に試験溶液 1 mL 及び内標準物質 (DEHP- d_4 及び MEHP- d_4) を 50 ng 封

入し、LC/MS/MS にて分析した。

また、各溶出試験用溶液を PVC チューブに 8 cm 高封入し、室温下、1 時間緩やかに振とう抽出した。抽出液を適宜希釈し、内標準物質 (DEHP- d_4 及び MEHP- d_4) と共にバイアルに封入後、直接注入し、LC/MS/MS にて分析した。

B-5. 材質試験

細かく裁断した PVC 製品 5 mg を秤量し、THF 5 mL に完全溶解した後、アセトニトリルを用いて適宜希釈した。バイアル瓶に試験溶液 1 mL 及び内標準物質 (DEHP- d_4 及び MEHP- d_4) を 50 ng 封入し、LC/MS/MS にて分析した。

B-6. 倫理面への配慮

本研究では、ヒト及び動物由来の組織、臓器、細胞などを実験に使用していないため、倫理面への特別な配慮は行っていない。

C. 研究結果

C-1. PVC 製品を用いた溶出試験

C-1-1 溶出条件の検討

構築した分析法を用いて、各種滅菌を施した PVC シートから溶出する DEHP 及び MEHP 量を測定した。溶出溶媒には、精製水、5% 糖液、また、難水溶性医薬品の溶解補助剤であるポリオキシエチレン硬化ヒマシ油 (HCO-60) を用いた。HCO-60 は、プログラムなど DEHP 溶出報告のある医薬品において、DEHP 溶出に影響を与えることが明らかとなっている添加剤である⁶⁾。今回、一定条件下での溶出量を比較することで、各種滅菌法による DEHP 及び MEHP 溶出への影響を検討することを目的とした。

そこで、未滅菌 PVC シートを用いて、溶出試験に適用する HCO-60 の濃度を検討したところ、DEHP 溶出量が適切であった 0.02 mg/mL の HCO-60 溶液を用いることとした。また、溶出温度は 37℃ に設定した。

C-1-2 PVC シート溶出試験結果

各種滅菌を施した PVC シートからの DEHP 及び MEHP 溶出試験の結果を Table 2 に示す。精製水及び 5 % 糖液に対する DEHP 溶出量は、各滅菌試料において、ほぼ定量限界値レベルであった。一方、HCO-60 溶液 (0.02 mg/mL) に対する DEHP 溶出量は、 γ 線照射滅菌試料において他の試料の半量程度であった。また、 γ 線照射滅菌試料の MEHP 溶出量は、いずれの溶出溶媒においても、未滅菌品と比較して数十倍と多量であった。

C-1-3. PVC チューブ溶出試験結果

実際に γ 線照射滅菌を施し、市販されている輸液セットのチューブ部分、及び同製品の未滅菌品を用いた溶出試験の結果を Table 3 に示す。DEHP 溶出量は各試料で大きな差はなかったものの、 γ 線滅菌試料の MEHP 溶出量は、未滅菌品と比較して 30~40 倍と顕著に多かった。また、DEHP の溶出力の低い精製水や糖液に対しても、HCO-60 とほぼ同程度の MEHP 溶出量であった。

C-2. PVC 製品の材質試験

各滅菌処理を施した PVC シート及び PVC チューブを秤量し、THF で完全溶解し、LC/MS/MS を用いて DEHP 量及び MEHP 量を算出した (Table 4, 5)。

シート中の DEHP 量は 25.4~32.9 w/w % であり、滅菌処理の違いによる PVC シート中 DEHP 含量に差は認められなかった。一方、MEHP については、 γ 線照射試料からのみ検出されたことから、 γ 線照射による MEHP 生成を確認することができた。その他の未滅菌品、高圧蒸気滅菌試料及び EOG 滅菌試料においても、MEHP 溶出を確認していることから、材質中に MEHP が存在していることは明らかである。

D. 考察

滅菌処理による PVC 製医療用具からの DEHP 及び MEHP 溶出挙動とそれらの安定性について検討した。

PVC 製シートの溶出試験を行ったところ、DEHP 溶出力がほとんどないと考えられる精製水及び 5 % 糖液への DEHP 溶出量は、各滅菌試料において、ほぼ定量限界値レベルであった。一方、HCO-60 溶液に対する DEHP 溶出量は、 γ 線照射滅菌試料において減少しており、 γ 線照射で PVC 材料の改質が生じることによる DEHP 溶出抑制の可能性が考えられた。しかしながら、同一試料における MEHP 溶出量は、いずれの溶出溶媒に対しても顕著に多いという結果であった。 γ 線照射を施すことにより、MEHP に関しては溶出しやすい改質が起きたのではないかと考えられた。

そこで、材質試験を行い、実際の PVC シート中 DEHP 及び MEHP 存在量を算出した。滅菌処理の違いによる PVC シート中 DEHP 含量に差は認められなかったものの、

MEHP 含量においては、 γ 線滅菌試料からのみ MEHP が検出されたことから、 γ 線照射による MEHP 生成が示唆された。DEHP 量と比較して、MEHP 存在量は極少量であることから、DEHP から MEHP への分解が生じていても、DEHP 量の著しい減少という結果として現れなかったと考えられる。また、今回の測定では DEHP 量に合わせて高倍率で希釈しているにもかかわらず、 γ 線照射試料から MEHP を検出することが可能であったことから、 γ 線照射試料の MEHP 存在量は他の試料と比較して著しく多いことが確認できた。これらのことより、 γ 線照射滅菌を施すことにより、PVC 材質中での DEHP 分解が生じていることが明らかとなった。

さらに、市販されている γ 線照射滅菌 PVC 製輸液セット及び同セットの未滅菌品について、PVC シートと同様に溶出試験及び材質試験を実施した。これらについても、シートと同様の結果であり、 γ 線照射試料での MEHP 溶出量が顕著に多かった。

以上のように本研究で得られた知見として、PVC 製品からの DEHP 溶出や安定性に対して、高圧蒸気滅菌及び EOG 滅菌処理が与える影響はほとんどないことが確認された。一方、 γ 線照射滅菌においては、DEHP 溶出抑制傾向がみられたが、DEHP 分解による MEHP 生成も確認され、その溶出量は他と比較して多いものであった。MEHP の溶出は、DEHP 溶出力のほとんどない溶媒に対しても観察され、その影響は無視できないものであると考えられる。

E. 結論

γ 線滅菌は、材質の劣化を惹起させる可

能性があるものの、常温で複雑な形状の医療用具にも適用することができ、一度に大量の滅菌が可能なことから、医療用具の滅菌法として有用な方法として知られている。しかしながら、今回得られた結果では、PVC 製品を γ 線滅菌することにより、MEHP⁷⁻⁹⁾が生成し、水など DEHP 溶出力のない溶媒に対しても容易に溶出するという新たな問題点が判明した。DEHP 溶出に関しては、医薬品の物性などが影響することが知られており^{10, 11)}、代替品への切り替えなどが進められている^{1, 12)}が、MEHP 溶出に関しては未だ不明な点が多い。今後、MEHP の生成のメカニズムや定量的な研究を進め、薬剤投与によるリスク評価に資する知見を所得する必要がある。また、DEHP の溶出を抑える方法の探究や、MEHP 生成を抑制する滅菌条件を検討することが重要である。滅菌処理が及ぼす影響についてさらに研究も進めていく必要がある。さらに、MEHP の毒性等について評価する必要がある。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究成果

- 1) R. Ito, F. Seshimo, C. Hasegawa, K. Isama, T. Yagami, T. Tsuchiya, K. Nakahashi, H. Yamazaki, K. Inoue, Y. Yoshimura, K. Saito, Y. Haishima, H. Nakazawa, Reducing the migration of di-2-ethylhexyl phthalate from polyvinyl chloride medical devices., *Int. J. Phram.*, in press.
- 2) 瀬下文恵, 伊藤里恵, 山崎晴子, 井之上浩一, 小椋哲雄, 斉藤貢一, 中澤裕之. LC/MS/MS による PVC 製医療用具から

- 溶出する可塑剤の分析. 日本分析化学会第 53 年会 (2004 年 9 月・千葉)
- 3) 配島由二, 瀬下文恵, 伊佐間和郎, 長谷川千恵, 矢上 健, 土屋利江, 中橋敬輔, 井之上浩一, 伊藤里恵, 中澤裕之. PVC 製医療機器の光照射・熱処理による DEHP 溶出挙動の解析. 日本バイオマテリアル学会シンポジウム 2004 (2004 年 11 月・茨城)
 - 4) 配島由二, 樋口多恵, 瀬下文恵, 長谷川千恵, 矢上 健, 土屋利江, 中橋敬輔, 井之上浩一, 伊藤里恵, 中澤裕之. PVC 製医療機器からの DEHP 溶出リスクを予測する簡易分析法の開発. 日本バイオマテリアル学会シンポジウム 2004 (2004 年 11 月・茨城)
 - 5) 瀬下文恵, 配島由二, 伊藤里恵, 伊佐間和郎, 長谷川千恵, 矢上 健, 土屋利江, 中橋敬輔, 井之上浩一, 斎藤貢一, 中澤裕之. 光照射及び加熱処理を施した PVC 製医療機器からの DEHP 溶出に対する影響. 日本薬学会第 125 年会 (2005 年 3 月・東京)
 - 6) 配島由二, 瀬下文恵, 長谷川千恵, 矢上 健, 土屋利江, 中橋敬輔, 伊藤里恵, 井之上浩一, 斎藤貢一, 中澤裕之. PVC 製医療機器からの DEHP 溶出リスクを予測する簡易分析法の有用性評価. 日本薬学会第 125 年会 (2005 年 3 月・東京)
- H. 知的財産権の出願・登録状況
なし
- 【参考文献】
- 1) 厚生労働省医薬局 医薬品・医療用具等安全性情報 No. 182, 平成 14 年 10 月
 - 2) 廣川書店刊行 “第 14 改正 日本薬局方解説書” (2001)
 - 3) 小林寛伊 編 “[改訂]消毒と滅菌のガイドライン” ヘルス出版, pp 103-123 (2004)
 - 4) 中村宣男 監修 “医療用高分子材料の展開” シーエムシー出版 (2003)
 - 5) 斎藤 明: ダイアライザーと滅菌., 人工臓器, 18(6) 1618-1625 (1989)
 - 6) Tanaka M., Kawano K., Hanawa T., Suzuki M., Nakajima S.: Dissolution of DEHP from PVC administration tube -Estimation of DEHP dissolution based on HCO-60 concentration and drip conditions-, *Jpn. J. Pharm. Health Care Sci.*, 27(2), 132-136 (2001)
 - 7) Oishi S., Hiraga K.: Distribution and elimination of di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP) and mono-2-ethylhexyl phthalate (MEHP) after a single oral administration of DEHP in rats. *Arch Toxicol.*, 51, 149-155 (1982)
 - 8) Albro P.W., Chapin R.E., Corbett J.T., Schroeder J., Phelps J.L.: Mono-2-ethylhexyl phthalate, a metabolite of di-2-ethylhexyl phthalate, causally linked to testicular atrophy in rats., *Toxicol Appl. Pharmacol.*, 100(2), 193-200 (1989)
 - 9) Oishi S.: Effects of co-administration of di(2-ethylhexyl) phthalate and testosterone on several parameters in the testis and pharmacokinetics of its mono-de-esterified metabolite, *Arch. Toxicol.*, 63, 289-295 (1989)
 - 10) Jenke D.R.: Evaluation of model solvent