

平成17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)
研究成果報告書

プラスチック製医療用具の
適正使用に関する研究
(H16-医薬-22)

平成18年3月

主任研究者	中澤	裕之	星薬科大学
分担研究者	山本	章博	日本医療器材工業会
	荻野	純一	(株)東レリサーチセンター

目次

- I. 総括研究報告書概要
- II. 総括研究報告書
「プラスチック製医療用具の適正使用に関する研究」
中澤 裕之
- III. 分担研究報告書
 - 1. PVC 製医療機器から溶出する DEHP 及びその分解物の一斉分析法の構築
中澤 裕之
 - 2. PVC 製医療機器の DEHP 等の溶出に及ぼす滅菌処理の影響
中澤 裕之
 - 3. ガンマ線照射によるポリ塩化ビニル製医療材料の表面状態変化
荻野 純一
 - 4. PVC/DEHP 医療機器の代替品に関する市場調査
山本 章博
 - 5. ポリカーボネート製三方活栓の使用時破損原因の解明
荻野 純一
 - 6. PC 製三方活栓の破損に関する研究
中澤 裕之
 - 7. PC 製三方活栓の使用時破損と PC 分子量の関係
荻野 純一
- IV. 研究成果の刊行に関する一覧表
- V. 研究成果の刊行物・別刷り

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= 医薬品医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業

研究課題名= プラスティック製医療用具の適正使用に関する研究

国庫補助金精算所要額(円)=

研究期間(西暦)= 2004-2005

研究年度(西暦)= 2005

主任研究者名= 中澤 裕之 (星薬科大学)

分担研究者名= 山本 章博 (日本医療器材工業会)
荻野 純一 ((株)東レリサーチセンター)

研究目的= 医療機器に使用されるポリ塩化ビニル(PVC)から溶出するフタル酸ジ-2-エチルヘキシル(DEHP)及びその分解物であるフタル酸モノ-2-エチルヘキシル(MEHP)、フタル酸(PA)の一斉分析法を構築し、種々の滅菌処理がDEHP等の溶出挙動に与える影響を解明することを目的とした。また、ポリカーボネート(PC)製三方活栓の破損原因を追究することを目的に、医薬品の添加剤や樹脂の分子量が破損に与える影響及び傾向を検討し、医療機器の適正使用に資する科学的データの取得を目指した。

研究方法= 滅菌方法の異なるPVCシートから溶出するDEHP、MEHP、PA量をLC-MS/MSを用いて検討した。さらに、ガンマ線照射滅菌を施したPVCシートの弾性率・硬さを測定し、滅菌操作が材質表面に与える影響を調査した。

一方、PC製三方活栓に生じる破損は、医薬品の添加剤成分、PC樹脂の分子量等の条件を検討し、破損発生の原因を追究した。

結果と考察= 本研究では、PVCシートから医薬品を介してDEHPだけでなく、MEHP及びPAも溶出することが確認された。本来、DEHPからMEHPへの変換原因と考えられていた代謝酵素が存在しない状況で、MEHPさらにPAまで検出されたことにより、ガンマ線照射等の物理的な要因による分解経路が存在することが示唆された。また、市販の医療機器に施される滅菌の種類により、DEHP及びMEHP、PA溶出量に顕著な差を生じ、PVC材質の変化が示唆された。

PC製三方活栓のクラック発生には、三方活栓に負荷する力の強度、添加剤の種類及びPC樹脂の分子量が影響することが明らかとなった。

結論= MEHPはDEHPよりも毒性が強いことが懸念されている。滅菌処理によりDEHPだけでなく、MEHP、PAが溶出されることが明らかとなったことより、今後は溶出量と毒性を考慮した総合的なリスク評価が望まれる。一方、PC製三方活栓の破損発生の原因には、PC樹脂の分子量が大きく関与し、破損の発生リスクを低減することが示唆された。本研究により得られた研究成果は、より安全性の高い医療機器の開発及び適正使用に寄与するものと期待される。

Ⅱ. 総括研究報告書

プラスチック製医療用具の 適正使用に関する研究

主任研究者 中澤 裕之 星薬科大学 薬品分析化学教室

プラスチック製医療機器の適正使用に関する研究

主任研究者	中澤 裕之	星薬科大学
分担研究者	山本 章博	日本医療器材工業会
	荻野 純一	(株)東レリサーチセンター

研究要旨

プラスチック製医療機器には、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。塩化ビニル(PVC)製医療機器に使用される可塑剤であるフタル酸ジ-2-エチルヘキシル(DEHP)は、その利便性から広く利用されている。昨年度までにガンマ線照射した PVC 材質からの DEHP の溶出が抑制されることが分かった。ガンマ線照射において PVC 表面において、PVC の架橋反応が観察されたこと、及び表層部の DEHP 存在量が低下していたことが要因として考えられる。更に、分解物であるフタル酸モノ-2-エチルヘキシル(MEHP)が顕著に溶出してくることより、ガンマ線照射によって DEHP が MEHP に分解されたことが考えられた。本研究においては、これらの成果を踏まえ、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)、更に分解が進行したフタル酸(PA)について、液体クロマトグラフ/タンデム質量分析法等のハイブリッドな最新機器を駆使した高精度な測定法を構築し、PVC 製医療機器からの DEHP 等の溶出挙動を解明し、その安全性評価に資する科学的データの取得を目的とした。特に、滅菌処理に着目し、滅菌処理の違いによる DEHP 等の溶出挙動を測定した。また、ガンマ線照射線量を変えた際の PVC 表面の弾性率、硬さを測定し、表面状態を解析した。

更に、妊婦や新生児など高リスク患者には、PVC/DEHP 医療機器の使用を控えるよう警告されており、非 PVC 及び非 DEHP の代替医療機器の開発が推進されている。この代替医療機器の開発状況を明らかにするため、市場調査を行った。

また、複数の医薬品を輸液する際に使用されるポリカーボネート(PC)製三方活栓は、使用状況によって、メスコネクタ部にひび割れ(クラック)を発生することが知られている。昨年度までの研究により、PC 製三方活栓の接合強度や薬液との接触時間、使用する薬液の種類が破損の発生に関連していることが分かった。そこで本研究では、PC 試験片を用いた PC 樹脂の分子量の影響を検討することとした。更に、医薬品の添加成分についても検討した。これらにより、三方活栓破損の要因を追及し、医療機器の適正使用等に活用できるデータ取得を目的とした。

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¹⁻³⁾。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⁴⁾。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。

このようにPVC製医療機器において、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。これまでに、Center for Devices and Radiological Health, U.S. Food and Drug Administration (FDA)⁵⁾や Health CANADA⁶⁾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。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・医療機器等安全性情報』を通知し、医療関係者に対してリスク患者群へのPVC製医療機器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⁷⁾。

PVC製医療機器への関心が高まる中、その詳細な溶出挙動などは解明されていると

は言い難く、PVC製医療機器の様々な状態が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。

特に、製造工程で行われる滅菌処理は、高エネルギーを付与するものであり、それによるPVC材質の変化や可塑剤の溶出挙動などを詳細に検討する必要がある。

また、ポリカーボネート(PC)は、耐衝撃性、耐熱性、成形での寸法精度が高いことから医療機器において広く用いられており、市販されている三方活栓のほとんどがPC製である。その一方で、PC製三方活栓は使用中にひび割れ(クラック)を生じることが知られており、中尾ら⁸⁾は、その原因を脂肪乳剤であると報告した。しかし、脂肪乳剤以外の添加剤でもクラックが発生することが明らかとなっている。昨年度までにPC三方活栓の締め付け強度や薬液との接続時間、薬液の種類などが破損に影響を与えることが分かっており、さらに破損原因を広範囲に検討することとした。

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、医療機器使用時のリスク・ベネフィットの正確な評価に役立てるものと思われる。

1. PVC製医療機器から溶出するDEHP及びその分解物の一斉分析法の構築
2. PVC製医療機器のDEHP等の溶出に及ぼす滅菌処理の影響
3. ガンマ線照射によるポリ塩化ビニル製医療材料の表面状態変化
4. PVC/DEHP医療機器の代替品に関する市場調査
5. ポリカーボネート製三方活栓の使用時破損原因の解明

6. PC 製三方活栓の破損に関する研究
7. ポリカーボネート(PC)製三方活栓の使用時破損とPC分子量の関係

B. 研究方法

1. 材料及び試薬

PVC製医療機器のモデルとして、シート状の製品を用い、次の滅菌処理を実施したものを対象とした。

- ①未処理（滅菌処理していないもの）
- ② γ 線滅菌（ γ 線照射量20～25kGy）
- ③エチレンオキサイドガス（EOG）滅菌
- ④高圧蒸気滅菌

γ 線照射線量の異なる PVC 試料は 25 kGy 及び 50 kGy を照射した。

詳細については、各分担報告書に記載されている。

PC 製三方活栓のモデルとして、PC 樹脂の分子量が大・中・小の棒状試験片を用いた。PC 製三方活栓は、市販されているものを使用した。

2. 測定装置

LC/MS/MS として、LC 部は、アジュレント社製 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 4000 を用いた。

PVC 表層の弾性率と硬さの測定には、MTS システムズ社製超微小硬度計 Nano Indenter XP を用い、ナノインデンテーション法の一つである連続剛性測定法により実施した。

三方活栓及びPC試験片のGPC測定には、東ソー製ゲル浸透クロマトグラフ GPC(15)

を使用した。

三方活栓モデル PC 試験片の破損度合いの評価方法として、定ひずみ法のうち、二点支持の曲げ試験法を採用した。

3. 実験方法

1. PVC 製医療機器から溶出する DEHP 及びその分解物の一斉分析法の構築

ターボスプレーイオン化(TSI) 法によりイオン化を行った。分析カラムに、ジーエルサイエンス社製 Inertsil-Ph3 (2.1 x 50 mm, 5 μ m), ガードカラムには、関東化学社製 Mightysil ガードカラム及びホルダーを用いた。また、データ解析には、Analyst 1.3.2 (Applied Biosystems)を使用した。

試料 5 μ L をオートサンプラーにより注入後、アセトニトリルと 0.05 %ギ酸水溶液を移動相としてステップワイズで送液した。

2. PVC 製医療機器の DEHP 等の溶出に及ぼす滅菌処理の影響

1 と同様の分析法を利用し、滅菌処理の異なる PVC シートを、精製水、5 %糖液、HCO-60 を溶出溶媒として使用し、各溶媒に溶出する DEHP 等を測定した。

3. ガンマ線照射によるポリ塩化ビニル製医療材料の表面状態変化

ナノインデンテーション法に使用した圧子はダイヤモンド製正三角錐圧子、測定雰囲気は 23 \pm 1 $^{\circ}$ C, 55 \pm 5% RH, 最大押し込み深さは約 55 μ m とした。

4. PVC/DEHP 医療機器の代替品に関する市場調査

調査は平成 17 年 12 月に日本医療器材工

業会に加盟する 229 社を対象に行った。調査対象は、輸液関連製品、人工心肺回路、血液透析回路、経腸栄養関連製品、輸血関連製品など、脂溶性の医薬品又は血液に接する医療機器のうち、①PVC 製以外のプラスチック材へ変更した、及び②可塑剤を DEHP から非 DEHP に変更した医療機器を対象とした。

5. ポリカーボネート製三方活栓の使用時破損原因の解明

三方活栓の GPC 測定及び NMR, GC/MS, HPLC による PC 樹脂、および添加剤の内容解明を目的にした。詳細な条件は、分担研究報告書に記載されている。

6. PC 製三方活栓の破損に関する研究

Polyethylene glycol #400 (PEG 400) 及び Polyoxyethylene sorbitan monooleate (Tween 80) , Ethylenediamine Anhydrous (Ethylenediamine), 大豆油, Propylene glycol (PG) を薬剤として使用し、撓み値を 1, 2, 3, 4 mm に設定して曲げ試験法を行った。

7. ポリカーボネート(PC)製三方活栓の使用時破損と PC 分子量の関係

GPC 測定は、カラムに東ソー製 TSKgel GMHXL (2 本)×G2500HXL (1 本) の 3 本連結したもの、検出器に東ソー製 8020 型示差屈折率検出器を使用した。

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、製造工程における滅菌処理が、PVC 製医療機器からの DEHP, MEHP 及び PA の溶出量にどのような影響を与えるかの検討を中心として可塑剤に関する安全性評価を実施した。

昨年度と同様に各種滅菌処理を施した PVC 製シートからは DEHP だけでなく、MEHP の溶出も確認された。更に、 γ 線滅菌試料においては、MEHP のエステル結合が切断された PA までも検出された。これにより DEHP が γ 線などの電子線によって MEHP や PA に分解されていくことが示唆された。MEHP は DEHP よりも毒性が高いことが知られているが、PA の毒性報告はあまりされておらず、MEHP を更に分解することが出来れば、医療機器の安全な使用に寄与することが出来るのではないかと考えた。

そこで、 γ 線が PVC に与える影響を検討するため、 γ 線未照射試料と γ 線照射試料の、室温における表層の弾性率および硬さの深さ依存性を調べたところ、 γ 線照射 (γ 線照射量 25 kGy, 50 kGy) することにより、表面からの深さ 10~20 μ m 以下の領域では、PVC の架橋反応に起因すると思われる弾性率および硬さの増大が認められた。しなしながら、この反応は、 γ 線照射線量への依存は観察されなかった。

これまで PVC 製医療機器の安全性評価を目的とし、PVC からの DEHP 等の溶出モデルを検討してきたが、代替品への切り替えも第一選択肢として挙げられる。そこで、PVC/DEHP 医療機器の代替品がどの程度、開発されているかを市場調査したところ、平成 13 年度に比較し、非 PVC 及び非 DEHP

の医療機器は、輸液セット、経鼻栄養投与等のチューブ以外にも開発が進んでおり、非PVCや非DEHPの医療機器の数も増加傾向であった。

PVC製医療機器の滅菌処理における、DEHPやMEHP、PAの溶出量変化を把握すること並びにMEHP、PAの毒性等について評価することは、医療機器の安全性を確保するために必要不可欠である。また、これらの研究と並行してPVC/DEHPの代替品の開発が望まれる。

また、PC製医療機器において、クラックの発生原因を追究した。市販三方活栓で破損しやすい試料では、他の三方活栓と比較して、重量平均分子量が約10%低いことが明らかとなった。この分子量低下は、三方活栓の破損しやすさと関係している可能性が示唆された。また、樹脂の製造方法や添加剤が異なっていることも分かった。そこで、PC分子量に着目し、PC破損モデル実験を行った。PC樹脂の分子量が大・中・小の試験片を用い、2点支持曲げ試験法を実施したところ、分子量が大きいほど、破損頻度が低いことが明らかとなった。これはPC鎖の間に薬液が入り込み破損を促すのではないかと考えた。PC鎖の切断が起きるのであれば、破損部位におけるPCの分子量が低下していることが予想されたため、破損させた試験片の破損部位をGPCにより平均分子量を求めた。ブランク品と破損品の破損部位での分子量分布を比較すると、分子量の大、中、小ともに、分子量が300程度までの低分子量域の分布に微妙な違いが見られ、破損品の方がわずかに低分

子量成分が多い傾向が見られるが、その差は小さく、有意な差とは断定できなかった。しかしながら、PC分子量を大きくすることで破損の頻度を抑制できることが分かった。これらの結果は、PC製医療機器の適用使用について大きく貢献できるものと思われる。

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、医療機器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、 γ 線滅菌によりDEHPのみならずMEHP及びPAが溶出してくることが明らかとなった。MEHPはDEHPよりも毒性が強いと懸念されており、今後は、各物質の溶出量と毒性を勘案した、リスク評価が要求される。

また、PC製三方活栓に生じるクラックは、PC樹脂の分子量に大きく影響を受けることが明らかとなった。これにより、三方活栓に使用されるPC樹脂分子量を増加することが、破損の発生リスク低減に寄与できるものと考えられる。

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。本研究で得られる研究成果は、医療機器の安全性確保及び適正使

用に大きく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

- 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. Pharm.*, 303 (2005) 104-112.
- 2) R. Ito, F. Seshimo, N. Miura, M. Kawaguchi, K. Saito, H. Nakazawa, High-throughput determination of mono- and di(2-ethylhexyl)phthalate migration from PVC tubing to drugs using liquid chromatography-tandem mass spectrometry., *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 39 (2005) 1036-1041.
- 3) R. Ito, F. Seshimo, N. Miura, M. Kawaguchi, K. Saito, H. Nakazawa. Effect of sterilization process on the formation of mono(2-ethylhexyl) phthalate from di(2-ethylhexyl) phthalate., *J. Pharm. Biomed. Anal.*, in press.
- 4) 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, 斉藤貢一, 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)
- 5) 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, 斉藤貢一, 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)
- 6) 伊藤里恵, 三浦直子, 川口 研, 岩崎雄介, 斉藤貢一, 中澤裕之. PVC 製医療器具に含まれるフタル酸ジ-2-エチルヘキシル及びその分解物の一斉分析. 日本分析化学第 54 年会 (2005 年 9 月・名古屋)
- 7) Rie Ito, Fumie Seshimo, Naoko Miura, Migaku Kawaguchi, Yusuke Iwasaki, Koichi Saito, Hiroyuki Nakazawa. High-throughput determination of mono- and di(2-ethylhexyl)phthalate migration from PVC tubing to drugs using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Pittcon 2006 (2006 年 3 月・オランダ)
- 8) 三浦直子, 伊藤里恵, 瀬下文恵, 岩崎雄介, 斉藤貢一, 浦富恵輔, 中橋敬輔, 山本章博, 井口博文, 中澤裕之. ポリ塩化ビニル製医療機器からの可塑剤溶出に及ぼす滅菌処理の影響. 日本薬学会第 126 年会 (2006 年 3 月・仙台)
- 9) 山崎晴子, 伊藤里恵, 浦富恵輔, 山本章博, 中橋敬輔, 岩崎雄介, 斉藤貢一, 中澤裕之. ポリカーボネート製三方活栓の破損度合いとビスフェノール A 溶出量. 日本薬学会第 126 年会 (2006 年 3 月, 仙台)
- 10) 山崎晴子, 中村博子, 三浦直子, 伊藤里恵, 浦富恵輔, 山本章博, 岩崎雄介, 斉藤貢一, 中澤裕之. ポリカーボネート製三方活栓の破損原因に関する研究. 第 67 回分析化学討論会 (2006 年 5 月, 秋

田)

G. 知的財産権の出願・登録状況
なし

【参考文献】

- 1) Poon R., Lecavalier P., Mueller R., Valli V.E., Procter B.G., Chu I., *Food Chem. Toxicol.*, 35, 225-239 (1997)
- 2) Lamb J.C.: Reproductive effects of four phthalic acid esters in the mouse., *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 88, 255-269 (1987)
- 3) Tyl R.W., Price C.J., Marr M.C., Kimmel C.A., *Fundam. Appl. Toxicol.*, 10, 395-412 (1988)
- 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 4th (2001)
- 6) Health Canada Expert Advisory Panel on DEHP in Medical Devices, January 11 (2002)
- 7) 厚生労働省医薬局 医薬品・医療機器等安全性情報 No. 182, 平成14年10月
- 8) 中尾正和 他, *麻酔* 49, (7), 802-805 (1998)

Ⅲ. 分担研究報告書

1. PVC 製医療機器から溶出する DEHP 及びその分解物の一斉分析法の構築

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
	伊藤 里恵	星薬科大学	薬品分析化学教室
	岩崎 雄介	星薬科大学	薬品分析化学教室
	三浦 直子	星薬科大学	薬品分析化学教室

平成 17 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)研究報告書

PVC 製医療機器から溶出する DEHP 及びその分解物の一斉分析法の構築

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
	伊藤 里恵	星薬科大学 薬品分析化学教室
	岩崎 雄介	星薬科大学 薬品分析化学教室
	三浦 直子	星薬科大学 薬品分析化学教室

研究要旨

ポリ塩化ビニル(PVC)製医療機器中の可塑剤(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、そのリスク評価が求められている。前年度までの研究によって、医療機器に施す滅菌処理(特にガンマ線滅菌)により PVC 材質中でフタル酸モノ-2-エチルヘキシル(MEHP)が生成されることが明らかとなった。また、滅菌処理により DEHP 分子内の 2 つのエステル結合のうち 1 つが切断された MEHP が生成されるのであれば、すべてのエステル結合が切断されたフタル酸(PA)が生成されることが考えられた。本研究においては、PA 生成の確認を視野に DEHP、MEHP 及び PA の一斉分析法を構築した。

A. 研究目的

ポリ塩化ビニル製医療機器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 樹脂に添加される可塑剤であるフタル酸ジ-2-エチルヘキシル(DEHP)は、げっ歯類に対して、精巢毒性や発生毒性を示すことが報告¹⁻³⁾されていることから、厚生労働省では一般毒性化学物質として、食品や乳幼児玩具への DEHP 使用を規制している⁴⁾。また、食品衛生調査会毒性・器具容器包装合同部会では、DEHP の耐容一日摂取量(TDI: Tolerable Daily Intake)を 40 ~ 140 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ と設定した⁴⁾。

DEHP は、生体内で膵臓から分泌されたりパーゼや血中の各種エステラーゼによりエス

テル結合が加水分解を受け、フタル酸モノ-2-エチルヘキシル(MEHP)へ代謝されることが知られている。毒性に関しては、親化合物である DEHP よりも MEHP の毒性発現の方が強いとの報告がある^{5,6)}。また、前年度の本研究において、 γ 線照射滅菌を施した PVC シートでは、DEHP が MEHP へ分解し、MEHP 溶出量が顕著に増大することを報告した⁷⁾。 γ 線滅菌により DEHP からエステル結合が切断されるとするならば、DEHP 分子内に存在する、1 つのエステル結合が切断された MEHP と同様に、2 つのエステル結合が共に切断されたフタル酸(PA)が生成する可能性も示唆された(Fig. 1)。本研究においては、DEHP、MEHP 及び PA の一斉分析法を構築した。さらに、開発した分

析法を紫外線照射した DEHP 標準溶液に適用し、DEHP が光などの外部エネルギーによって分解する可能性を確認することを目的とした。

B. 研究方法

B-1. 材料および試薬

DEHP 及び DEHP-d₄(内標準物質)標準品は関東化学社製(環境分析用)を、MEHP 及び MEHP-d₄(内標準物質)標準品は林純薬社製試薬を、PA 標準品は、関東化学社製(鹿特級)及び PA-d₄(内標準物質)は CDN isotope 社製試薬(99.4 %)を用いた。LC/MS/MS 用移動相に用いたアセトニトリル(HPLC 用)、移動相に添加したギ酸(約 99 %)、器具洗浄に用いたアセトン(残留農薬、PCB 試験用)は、和光純薬工業社製の試薬である。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類は、残留農薬、PCB 試験用アセトンにて洗浄してから実験に供した。さらに、加熱可能な器具類は 240 °C で 2 時間以上焼成処理を行った後に使用した。

B-2. LC/MS/MS 測定条件

B-2-1 分析装置

高速液体クロマトグラムは Agilent 社製 1100 シリーズ、質量分析器には、アプライドバイオシテムズ社製 API 4000 を用い、ターボスプレーイオン化(TSI) 法によりイオン化を行った。分析カラムに、ジールサイエンス社製 Inertsil-Ph3 (2.1 x 50 mm, 5 μm)、ガードカラムには、関東化学社製 Mightysil ガードカラム及びホルダーを用いた。また、データ解析に

は、Analyst 1.3.2 (Applied Biosystems)を使用した。

B-2-2 LC 測定条件

試料 5 μL をオートサンプラーにより注入後、アセトニトリルと 0.05 %ギ酸水溶液を移動相としてステップワイズで送液した。移動相のタイムプログラムを Table 1 に示す。なお、カラム温度を 40 °C とした。

B-2-3 MS/MS 条件

- ・ モニタリングイオン (Mode, Precursor ion → Product ion): DEHP (positive, m/z 391 → 149), DEHP-d₄ (positive, m/z 395 → 153), MEHP (negative, m/z 277 → 134), MEHP-d₄ (negative, m/z 281 → 138), PA (negative, m/z 165 → 121), PA-d₄ (negative, m/z 169 → 125)
 - ・ イオン化電圧: 3500 V (DEHP, DEHP-d₄): -4500 V (MEHP, MEHP-d₄, PA, PA-d₄)
 - ・ イオン源温度: 650 °C
 - ・ ネブライザーガス圧: N₂ (DEHP, DEHP-d₄: 20 psi), (MEHP, MEHP-d₄, PA, PA-d₄: 30 psi)
 - ・ ターボガス圧: N₂ (DEHP, DEHP-d₄: 10 psi), (MEHP, MEHP-d₄, PA, PA-d₄: 80 psi)
 - ・ カーテンガス流量: N₂ (DEHP, DEHP-d₄: 10 psi), (MEHP, MEHP-d₄, PA, PA-d₄: 20 psi)
 - ・ コリジョンガス圧: N₂ (DEHP, DEHP-d₄: 5.0*), (MEHP, MEHP-d₄, PA, PA-d₄: 4.0*)
- * 装置(API4000)固有の設定数値

B-3. 標準溶液の調製

DEHP 及び DEHP-d₄, MEHP 及び MEHP-d₄, PA 及び PA-d₄ 標準試薬を秤量し、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、

この標準原液から精製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 °C で保存した。

B-4. 紫外線照射試験

四面透明石英セルに入れた DEHP 標準溶液(100 µg/mL)に紫外線ランプ(254 nm)を経時的(0-3 days)に照射した。照射は、温度の影響を考慮して 4 °C の条件で行った。照射後の試料溶液を適宜希釈し、内標準物質 (DEHP-d₄, MEHP-d₄ 及び PA-d₄)と共にバイアル瓶に封入後、LC/MS/MS の分析に供した。

B-5. 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. 測定条件の検討

DEHP, MEHP 及び PA は極性が異なるため、測定を行う際にギ酸水溶液を用いて、試料溶液の pH を調整したところ、良好に分離が達成できた。MS/MS の高い選択性を利用して、迅速な分析を行うため、ショートカラムであるジューエルサイエンス社製 Inertsil-Ph3 (2.1 x 50 mm, 5 µm)を用いたところ、良好なピーク形状が得られた。また、その際の保持時間は、DEHP 及び DEHP-d₄ は約 10.7 分、MEHP 及び MEHP-d₄ は約 9.5 分、PA 及び PA-d₄ は約 2.2 分であり、1 試料あたりの測定は 15 分以内で行えるハイスループット分析が達成できた。さらに、MS での感度向上を目的とし、移動相に加えるギ酸の濃度を検討したところ、0.05 %ギ酸溶液で 3 種化合物の全てにおいて最大レスポンスを得られた(Fig.2)。

さらに、高精度な分析法を構築するため、DEHP, MEHP 及び PA の重水素置換体である DEHP-d₄, MEHP-d₄ 及び PA-d₄ を用いる内標準法を採用した。DEHP はポジティブモードで m/z 391 [M+H]⁺ イオンが、MEHP はネガティブモードで m/z 277 [M-H]⁻ イオンが、PA はネガティブモードで m/z 165 [M-H]⁻ が観察され、これらをプリカーサーイオンとした。さらに、コリジヨンガスによりプリカーサーイオンが開裂することでプロダクトイオンが生じる。DEHP, MEHP 及び PA のプロダクトイオンを測定したところ、それぞれ m/z 149, m/z 134 及び m/z 121 が観察されたことから、本分析法では、Multiple Reaction Monitoring (MRM) で、DEHP: m/z 391→149, MEHP: m/z 277→134 及び PA: m/z 165→121 をモニタリングイオンとした。また、MS/MS のイオン化について種々検討し、測定条件の最適化を行った。

C-2. 分析バリデーション

ブランク試験において DEHP 及び MEHP のピークが検出されたことから、S/N>10 を定量限界としたところ、それぞれ 20 ng/mL 及び 5 ng/mL であった。また、標準溶液を用いて DEHP, MEHP 及び PA の検量線を作成したところ、相関係数 0.99 (DEHP 濃度範囲: 20-1000 ng/mL), 0.99 (MEHP 濃度範囲: 5-1000 ng/mL), 0.99 (PA 濃度範囲: 2-1000 ng/mL) と良好な直線性を示した(Table 2)。

C-3. 分析法の再現性

分析法の再現性を確認するため、内部精度管理を行った。DEHP, MEHP 及び PA の 3 種混合溶液を高濃度(500 ng/mL)及び低濃度(50 ng/mL)調製し、連続する 3 日間、1 日複数回、分析に供した。その結果、日内変動及び

日差変動ともに、十分な再現性が保たれていた(Table 3).

C-4. 紫外線照射試験

構築した分析法を用いて、0-3 日間紫外線照射した DEHP 標準溶液を測定した。0 日照射溶液の濃度を 100 %とした相対濃度をプロットしたところ、DEHP 濃度は減少傾向、MEHP 濃度は増加傾向が観察された(Fig. 3).

D. 考察

本研究では、LC/MS/MS を用いて、PVC 製医療機器から溶出する DEHP 及びその分解物である MEHP と PA の迅速かつ簡便な一斉分析法を構築した。MS/MS の高い選択性を利用するとともに、ショートカラムを使用することで、15 分以内の迅速分析が達成された。

さらに、構築した方法を用いて、DEHP 標準溶液を用いて、紫外線照射を行ったところ、DEHP は、紫外線の照射時間に伴い、経時的に濃度が減少した。他方、MEHP は照射時間に伴い、経時的に濃度が増加した。PA 濃度は、すべて検出限界付近であり、顕著な変化は見られなかった。

以上のことより、DEHP が紫外線照射によって MEHP に分解していくことが確認された。

E. 結論

本研究で構築した方法は、DEHP 及びその分解物である MEHP 及び PA のハイスルーブットな一斉分析法として、医療行為に伴う DEHP リスク評価への適用が可能である。従来、DEHP のリスク評価は DEHP の溶出量だけを指標としてきたが、米国 FDA では、MEHP の毒性を DEHP 毒性の 10 倍と推定し

ており⁸⁾、今後は分解物を含めたリスク評価を行う必要がある。また、昨年までの研究で、PVC 製医療機器の γ 線照射により、MEHP が生成されることが明らかとなっている。これら滅菌処理によって、MEHP が PA に分解されることも考えられる。今回、適用した標準溶液だけでなく、滅菌処理を施した PVC 製品からの DEHP、MEHP 及び PA の溶出挙動を構築した分析法を駆使して解明し、暴露量と毒性を勘案した、リスク評価を行う必要があると考える。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究成果

- 1) 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, 斉藤貢一, 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)
- 2) 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, 斉藤貢一, 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)
- 3) 伊藤里恵, 三浦直子, 川口 研, 岩崎雄介, 斉藤貢一, 中澤裕之. PVC 製医療用具に含まれるフタル酸ジ-2-エチルヘキシル及びその分解物の一斉分析. 日本分析化学第 54 年会(2005 年 9 月・名古屋)
- 4) Rie Ito, Fumie Seshimo, Naoko Miura, Migaku Kawaguchi, Yusuke Iwasaki,

- Koichi Saito, Hiroyuki Nakazawa. High-throughput determination of mono- and di(2-ethylhexyl)phthalate migration from PVC tubing to drugs using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Pittcon 2006 (2006年3月・オランダ)
- 5) 三浦直子, 伊藤里恵, 瀬下文恵, 岩崎雄介, 斉藤貢一, 浦富恵輔, 中橋敬輔, 山本章博, 井口博文, 中澤裕之. ポリ塩化ビニル製医療機器からの可塑剤溶出に及ぼす滅菌処理の影響. 日本薬学会第126年会(2006年3月・仙台)
- 6) R. Ito, F. Seshimo, N. Miura, M. Kawaguchi, K. Saito, H. Nakazawa: Effect of sterilization process on the formation of mono(2-ethylhexyl)phthalate from di(2-ethylhexyl)phthalate. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, in press
- 7) R. Ito, F. Seshimo, Y. Haishima, C. Hasegawa, K. Isama, T. Yagami, K. Nakahashi, H. Yamazaki, K. Inoue, Y. Yoshimura, K. Saito, T. Tsuchiya, H. Nakazawa: Reducing the migration of di-2-ethylhexyl phthalate from polyvinyl chloride medical devices. *Int. J. Pharm.*, 303 (2005) 104-112.
- 8) R. Ito, F. Seshimo, N. Miura, M. Kawaguchi, K. Saito, H. Nakazawa: High-throughput determination of mono- and di(2-ethylhexyl)phthalate migration from PVC tubing to drugs using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 39 (2005) 1036-1041.
- H. 知的財産権の出願・登録状況
なし
- 【参考文献】
- 1) Poon R., Lecavalier P., Mueller R., Valli V.E., Procter B.G., Chu I., *Food Chem. Toxicol.*, **35**, 225-239 (1997)
- 2) Lamb J.C.: Reproductive effects of four phthalic acid esters in the mouse., *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **88**, 255-269 (1987)
- 3) Tyl R.W., Price C.J., Marr M.C., Kimmel C.A., *Fundam. Appl. Toxicol.*, **10**, 395-412 (1988)
- 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) Albro P.W., Chapin R.E., Corbett J.T., Schroeder J., Phelps J.L., *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **100**(2), 193-200 (1989)
- 6) Ulsaker G.A., Hoem R.M., *Analyst*, **103**(1231), 1080-1083 (1978)
- 7) R. Ito, F. Seshimo, N. Miura, M. Kawaguchi, K. Saito, H. Nakazawa: Effect of sterilization process on the formation of mono(2-ethylhexyl)phthalate from di(2-ethylhexyl)phthalate. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, in press
- 8) FDA, CDRH reports, Safety assessment of di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) released from PVC medical devices. <http://www.fda.gov/cdrh/safety/dehp.html>

Table 1 LC/MS/MS におけるタイムプログラム

Time (min)	Solvent A (%)	Solvent B (%)
0	85	15
4	85	15
4.01	10	90
15	10	90
15.01	85	15
25	85	15

Solvent A: 0.05% Formic acid in water

Solvent B: Acetonitrile

Table 2 分析法のバリデーションデータ

Analyte	LOD (ng/mL)	LOQ (ng/mL)	Correlation (r)	Linear range (ng/mL)
DEHP	5	20	0.99	20-1000
MEHP	0.5	5	0.99	5-1000
PA	1	2	0.99	2-1000

LOD: limit of detection (S/N = 3)

LOQ: limit of quantification (S/N = 10)

Table 3 分析法の再現性

Analyte	Conc. (ng/mL)	Intra-day			Inter-day		
		Average detect	CV (%)	Accuracy (%)	Average detect	CV (%)	Accuracy (%)
DEHP	50	53.4	4.0	106.8	50.3	8.9	100.6
	500	508.6	0.8	101.7	503.6	1.4	100.7
MEHP	50	48.9	3.5	97.8	48.6	1.1	97.1
	500	501.0	1.6	100.2	503.0	1.3	100.6
PA	50	50.0	4.8	100.0	49.4	1.6	98.9
	500	501.5	1.7	100.1	503.0	0.3	100.6

(n=2-3)

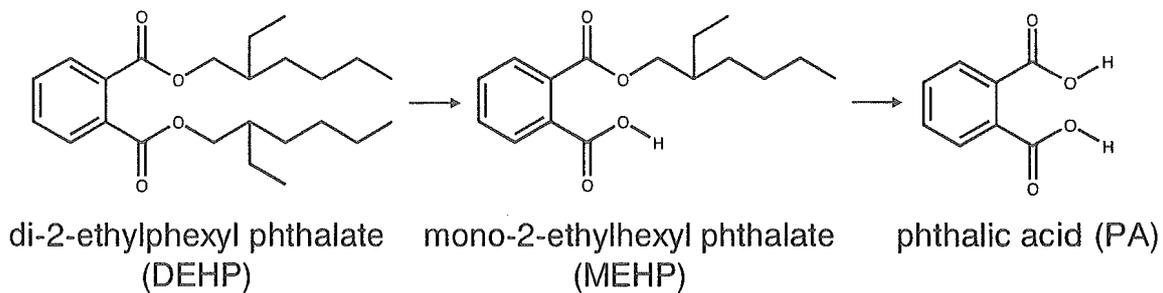


Fig. 1 予想される DEHP 分解経路

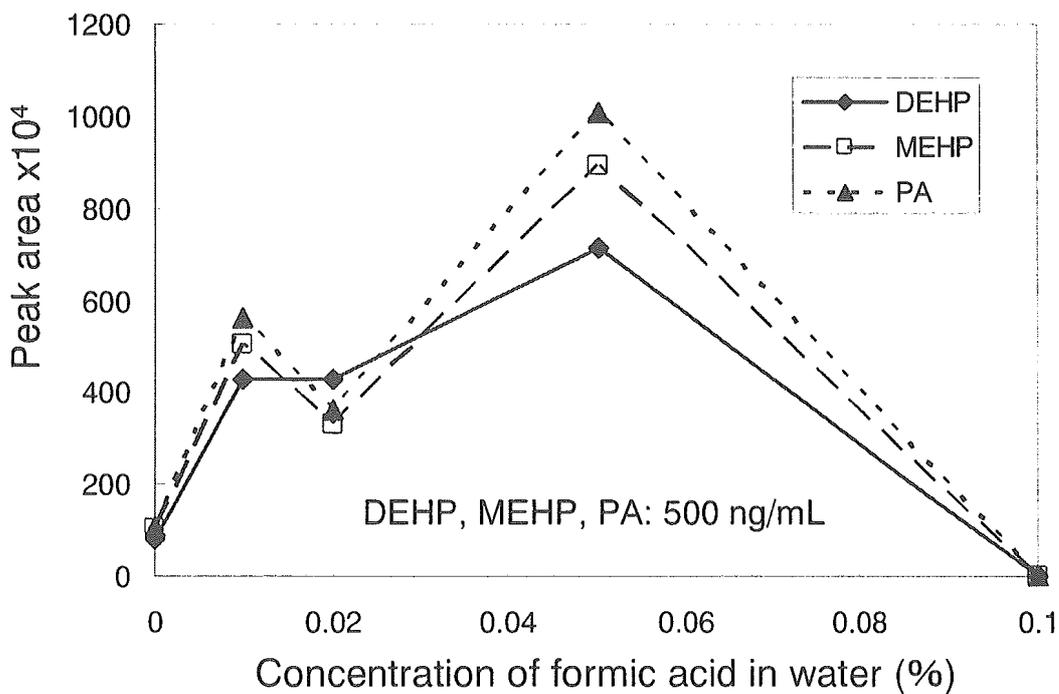


Fig. 2 移動相の検討