

平成16-17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)
研究成果総合報告書

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. はじめに

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製医療用具のDEHP等の溶出に及ぼす滅菌処理の影響

中澤 裕之

2. 滅菌処理の違い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

3. プラスティック製医療用具の適正使用に関する研究

山本 章博

4. ポリカーボネート製三方活栓の使用時破損原因の解明

中澤 裕之

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. はじめに

I. はじめに

平成 16 年度及び 17 年度に実施した、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「プラスチック製医療用具の適正使用に関する研究」の総合研究報告書をまとめました。本研究を遂行するにあたり、山本章博理事(日本医療器材工業会)、荻野純一部長((株)東レリサーチセンター)を分担研究者として班員を組織し、多角的に研究を実施してきました。

本研究事業は、現代医療を支えるプラスチック製医療用具に関して、2つのパートから構成されております。1つ目のテーマは、ポリ塩化ビニル(PVC)製医療用具に可塑剤として使用されているフタル酸ジ-2-エチルヘキシル(DEHP)が製造工程で施される滅菌処理により可塑剤溶出にどのような影響を与えるかの動態を解明することを目的に実施致しました。2つ目のテーマは、ポリカーボネート(PC)製医療用具である、三方活栓が使用時にひび割れ(クラック・破損)を起こすことが知られており、そのひび割れ発生の原因解明を目的とし、色々な使用条件や材質の調査を実施しました。これらの目的のために、GC-MS, LC-MS/MS, NMR, FT-IR, ESCA などの機器を駆使した分析法を構築し、PVC からの可塑剤溶出量の測定、滅菌処理を施した PVC の表面解析、また PC の分子量測定等を行いました。

得られた知見は、高度医療を支える PVC 製医療用具に使用される DEHP のリスクとベネフィットを視野においた、柔軟かつ現実的な利用を考慮するうえで、科学的・客観的な判断材料を提供するものです。また、PC 製三方活栓においても、使用時の締め付け強度や接合時間等を検討し、ひび割れを起こさずに使用するための、適正な使用方法を提案しております。より安全性の高い医療用具や代替品の開発は、恒久的に努力されるべき課題ではありますが、未だ PVC 製医療用具が広く利用されているという現状を視野に入れ、DEHP や MEHP の溶出量を把握し、リスク評価に役立てることが必要であると考えました。本研究においては、滅菌処理の違いにより DEHP や MEHP の溶出挙動に顕著な違いがあることが判明しました。なお、本研究報告書内に記載されている「医療用具」は、平成 17 年 4 月 1 日の薬事法改正により、法制上の名前を「医療機器」に変更されている。

最後に、本研究が各分担研究者及び所属機関の関係各位のご協力により、ここにまとめることができましたことを記して、皆様に深く御礼申し上げます。

主任研究者 中澤 裕之

平成 18 年 3 月末日

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

平成 16-17 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)
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
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、フタル酸ジ-2-エチルヘキシル(DEHP)に代表されるフタル酸エステル類が広く使用されている。これまで塩化ビニル(PVC)製医療用具を対象とした DEHP の溶出量を測定してきた。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)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 製医療用具からの 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、医療行為や使用前の滅菌処理から DEHP の溶出モデルを想定し、各種滅菌処理と溶出挙動との関連を検討し、溶出評価法の確立やリスク評価に活用できるデータの取得を目的とした。更に、妊婦や新生児など高リスク患者には、PVC/DEHP 医療用具の使用を控えるよう警告されており、非 PVC 及び非 DEHP の代替医療用具の開発が推進されている。この代替医療用具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、まれにその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が、発生条件は十分に解明されていない。そこで本研究では、医薬品の添加成分や三方活栓と接続する医療用具との接合強度、PC 樹脂の分子量等の条件を広範囲に検討し、クラック発生の原因追求を行った。これらにより、医療用具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、齧歯類に対する精巢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 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ 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)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、医療用具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。

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用具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り、この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、医療用具使用時のリスク・ベネフィットの正確な評価に役立つものと思われる。

1. PVC 製医療用具の DEHP 等の溶出に及

ばす滅菌処理の影響

主任研究者：中澤 裕之 (星薬科大学)

2. 滅菌処理の違いによるポリ塩化ビニル製医療材料の表面状態変化

分担研究者：荻野 純一
(東レリサーチセンター)

3. プラスティック製医療用具の適正使用に関する研究

分担研究者：山本 章博
(日本医療器材工業会)

4. ポリカーボネート製三方活栓の使用時破損原因の解明

主任研究者：中澤 裕之
分担研究者：荻野 純一

B. 研究方法

1. 材料及び試薬

PVC製医療用具のモデルとして、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エチレンオキシドガス (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 材質試験には、カラムスイッチングシステムを使用した。

断面 TEM 観察には日立社製の透過型電子顕微鏡 H-7100FA, X線光電子分光分析には、VG Scientific 社製 ESCALAB220iXL を使用した。更に、3次元表面粗さの計測には、KLA-Tencor 社製の触針式3次元表面粗さ計 P-15 を、表面粗さ計測には MTS システムズ社製の Nano Indenter XP を使用した。

PVC シート切削片中の DEHP 含量は、熱脱着 GC/MS 分析で定量した。熱脱着 GC/MS 分析装置は、日本電子製 JMS-AM SUN300 型 GC/MS 分析装置およびフロンティア・ラボ社製 PY-2020D 型ダブルショットパイロライザーである。

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

3-1. PVC 製医療用具の DEHP 等の溶出に及ぼす滅菌処理の影響

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 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。

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。

試験に使用した医薬品は, 添付文書に従い調製した。また, DEHP, MEHP 及び PA の一斉分析には, 精製水, 5 %糖液, HCO-60 を溶出溶媒として使用した。

PVC シートは, 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 $^{\circ}\text{C}$, 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 高に封入し, 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。

詳細な分析条件, 溶出試験の条件等は, 分担研究報告書に記載されている。

3-2. 滅菌処理の違いによるポリ塩化ビニル製医療材料の表面状態変化

3-2-1. 電子顕微鏡(TEM)観察

加速電圧 100 kV の条件とした。観察のための試料調整法として, PMMA 包埋超薄切片法, およびエポキシ包埋 RuO_4 染色超薄切片法を用いた。

3-2-2. X線光電子分光分析(XPS)分析

励起X線は, monochromatic $\text{AlK}_{\alpha 1,2}$ 線 (1486.6 eV), X線径を 1 mm, 光電子脱

出角度 (試料表面に対する検出器の傾き) 90° の条件とした。

3-2-3. 3次元表面粗さ計測

視野サイズ: 2 mm角, スキャン速度: 100 $\mu\text{m}/\text{s}$, 探針半径: 2 μm , 荷重: 5 mg, データ数: X=1000ポイント (2 μm 間隔), Y=250ライン (8 μm 間隔) の条件とした。

3-2-4. 表面硬さ計測

ナノインデンテーション法 (連続剛性測定法) により実施した。使用圧子は, ダイヤモンド製正三角錐圧子, 測定雰囲気は $21 \pm 1^{\circ}\text{C}$, $60 \pm 5\% \text{RH}$, 最大押し込み深さは約 55 μm とした。

3-2-5. 切削サンプリングおよび熱脱着 GC/MS 分析

試料表面を, 厚みを変えて薄く切削し, DEHP の深さ方向分布の変化を分析した。定量に用いた切削試料片は 0.06~0.2 mg, 熱脱着温度は 300°C とした。

詳細な条件は, 分担研究報告書に記載されている。

3-3. プラスティック製医療用具の適正使用に関する研究

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用具のうち, 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 に変更した医療用具を対象とした。

詳細なアンケート内容は, 分担研究報告書に記載されている。

三方活栓のひび割れの発生条件として,

医薬品の添加剤の種類その他、三方活栓と他の医療用具との締め付け強度（強さ）、締め付けの回数、締め付けた状態での時間（使用時間を想定）を設定し試験を実施した。

3-3-1. 医薬品の添加剤の種類及び濃度

各種の添加剤成分を含む医薬品について試験した。対照として生理食塩液を使用し、全ての医薬品は原液のまま使用した。添加剤成分の詳細は、分担研究報告書に記載されている。

3-3-2. 締め付け強度

締め付け強度は、15, 30, 40 cN・m (cN・m；センチニュートン・メートル) で試験した。

3-3-3. 締め付け回数

一度締め付けた後に放置する方法と、観察時間ごとに締め直しを行った方法の2種類を検討した。

3-3-4. ひび割れの観察方法

市販の三方活栓のメスコネクタ部に医薬品を数滴滴下し、ロックタイプのオスコネクタを締め付けた。ひび割れの確認は、圧力 20 kPa のエアで水没試験をし、エアリークが確認されたものをひび割れとした。

初回締め付け直後、1日後、2日後、3日後、4日後及び7日後に観察した。

3-4. 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本連結したものの、検出器に東ソー製 8020 型示差屈折率検出器を使用した。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。

2点支持曲げ試験法は、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 製医療用具からの 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。

DEHP 溶出報告がある医薬品を用いたところ、PVC 製シートからは DEHP だけでなく、MEHP の溶出も確認された。これにより本来、DEHP が血中酵素により MEHP に代謝されると考えられてきたが、MEHP が既に含有されている、あるいは代謝酵素以外で MEHP が生成される経路が示唆された。また、市販医療用具が施す滅菌の種類により、DEHP 及び MEHP, PA の溶出量に顕著な差を生じた。これは適用する医薬品や溶媒を変化させても同様の差を生じていることより、滅菌操作による PVC 材質の変化が生じていることが示唆された。特に、 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。そこで、PVC の表面解析を行った。電子顕微鏡観察の PMMA 包埋超薄切

片法では、 γ 線滅菌済みシートで、やや一次粒子が不明瞭であり、 γ 線により何らかの構造影響を受けている可能性が示唆された。また、XPS分析においては、 γ 線滅菌処理品では、他と比較して、僅かにClが少ない傾向にあった。表面硬さ計測において、 γ 線滅菌品では、表面付近（表面からの深さ約10 μm 以下）で、硬さが増していた。各試験において、各滅菌済みPVC製品において表面に差は認められたものの、顕著な差ではなかった。 γ 線照射試料において、わずかに表面構造の違いが認められたことより、 γ 線がPVCに与える影響を検討することとし、 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。その結果、 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 μm 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製医療用具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医療用具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の医療用具は、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の医療用具の数も増加傾向であった。

PVC製医療用具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、医療用具の安全性を確保するために必要不可欠である。更に、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製医療用具において、クラックの発生原因を追究した。脂肪乳剤を含有する医薬品では、締め直しをしない場合、ひび割れは発生しなかったが、締め直しをすることでひび割れが発生し、締め直し回数の増加に従い、ひび割れの発生率は増加した。脂肪乳剤の濃度によるひび割れの発生率では脂肪乳剤の濃度の高い方がひび割れを発生することが確認された。

また、締め付け強度はひび割れに強い影響を与えることが明確になった。

その他の添加剤でも脂肪乳剤と概ね同じ結果を得た。プロピレングリコールとエチレンジアミンを含有する医薬品を用いた場合には、ひび割れの発生率は高い値を示した。

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。

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、 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。DEHP は、精巢毒性等を示すことが知られているが、MEHP は DEHP よりも毒性が高いと報告されている。また、PA の毒性はあまり報告されておらず、今後は、MEHP や PA の毒性評価を早急に行う必要がある。また、医療行為による DEHP、MEHP 及び PA のリスク評価は、各物質の溶出量と毒性を勘案することにより行われるべきであることより、今後は、詳細な DEHP 等の溶出量を測定することが要求される。

また、PC 製三方活栓に生じるクラックは、添加剤濃度のみならず、締め直し強度や回数、使用時間に影響を受けることが明らかとなった。これにより、破損発生リスクを低減する使用法が推奨できる。更に、PC 樹脂の分子量にも大きく影響を受けることが明らかとなったことより、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。本研究で得られる研究成果は、医療用具の安全性確保及び適正使用等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) 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; 804(2): 397-401.
- 2) Haishima Y, Seshimo F, Higuchi T, Yamazaki H, Hasegawa C, Izumi S, Makino T, Nakahashi K, Ito R, Inoue K,

- Yoshimura Y, Saito K, Yagami T, Tsuchiya T, Nakazawa H.: Development of the simple method for predicting the levels of di(2-ethylhexyl)phthalate migrated from PVC medical devices to pharmaceutical solutions. *Int. J. Pharm.*, 2005; 288: 177-183.
- 3) 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.
 - 4) 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.
 - 5) 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.
 - 6) 瀬下文恵, 伊藤里恵, 山崎晴子, 井之上浩一, 小梶哲雄, 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)
 - 7) 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製医療用具の光照射・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)
 - 8) 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製医療用具からの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)
 - 9) 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製医療用具からのDEHP溶出に対する影響. 日本薬学会第125年会(2005年3月・東京)
 - 10) 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)
 - 11) 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)
 - 12) 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)
- 13) 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)
- 14) 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)
- 15) 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)
- 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)

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.*

Ⅲ. 分担研究報告書

1. PVC 製医療用具の DEHP 等の溶出に 及ぼす滅菌処理の影響

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
	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
	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	
	中橋	敬輔	テルモ株式会社	

PVC 製医療用具の DEHP 等の溶出に及ぼす滅菌処理の影響

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
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
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
中橋 敬輔 テルモ株式会社

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、血液や輸液などの脂溶性医薬品に溶出し、医療行為に伴う DEHP 暴露が懸念されている。平成 16 年度には、DEHP 及びフタル酸モノ-2-エチルヘキシル (MEHP) の同時分析法を構築し、滅菌処理を施した PVC シートからの DEHP, MEHP の溶出量を測定した。その結果、滅菌処理方法により、それぞれの溶出量に顕著な差が確認された。また、ガンマ線照射滅菌によって、DEHP が MEHP に分解される可能性が示唆されたため、平成 17 年度においては、MEHP が更に分解されたフタル酸 (PA) を含めた分析法を構築し、滅菌処理が可塑剤溶出に及ぼす影響を精査することとした。

A. 研究目的

医療用具に用いられている塩化ビニル樹脂 (PVC) には、可塑剤として主にフタル酸ジ-2-エチルヘキシル (DEHP) が添加されている。DEHP は使用時の条件に応じて血液の他、脂溶性医薬品、経口・経腸栄養剤などを介して溶出することが知られている¹⁻³⁾。DEHP は厚生労働省において一般毒性物質として、食品や乳幼児玩具への使用が規制されている⁴⁾。また、米国 FDA⁵⁾ や Health Canada⁶⁾ は、PVC 製医療用具を用いた治療に伴う DEHP 暴露に関して、様々な知見を

もとにリスク評価を行っている。このような背景の中で、DEHP 溶出量を測定する評価する報告は比較的多く出されている¹⁻³⁾。しかし、医療用具は特性上、滅菌処理が不可欠であるにも係わらず、滅菌処理や保存状態によって DEHP の溶出に及ぼす影響を精査した報告は極めて少ない。

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⁷⁾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⁸⁾として、高圧蒸気滅菌、酸化エチレンガス(EOG)滅菌、ガンマ線照射滅菌、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、ガンマ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、ガンマ線照射滅菌や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⁹⁻¹⁰⁾、DEHP溶出挙動に影響を与えることは十分に推測される。

我々は、平成16年度の研究においてDEHP及びMEHPの同時分析法を構築し、滅菌処理の違いが可塑剤溶出に及ぼす影響を確認することとした。また、平成16年度の結果より、材質中からのDEHPの分解物である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、平成17年度には、MEHP分子中のエステル結合が切断されたフタル酸(PA)生成の可能性を検討することし、DEHP、MEHP、PAの一斉分析法を構築し、滅菌処理を施したPVCシートに適用した。

MEHPの毒性報告として、Heindelら¹¹⁾は、ラットの培養セルトリ細胞において、MEHPがFSH刺激によるcAMPの蓄積を用量依存的に抑制したことを報告している。

また、Liら¹²⁾は、インビゴ実験による結果、ラットが新生児期にMEHPに暴露されると、セルトリ細胞数の減少を招き、成熟期での精子形成減少の生じることを推定した。このような毒性報告から米国FDAはMEHPの毒性をDEHPの約10倍であると報告している¹³⁾。しかし、PAに関する毒性報告は少なく、滅菌処理によりMEHPをPAに変換することができれば、滅菌処理により、MEHP暴露のリスクを低減できると考えられた。

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。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。

試験に際しては、PVCシートは1 x 3 cmに型取り、裁断して実験に供した。PVCチューブは8 cm高となるように裁断し、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

マシン油 (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。

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. 測定装置

B-2-1 LC-MS/MS 分析装置

高速液体クロマトグラフは Agilent 社製 1100 シリーズ, 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, 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。

B-2-2 CS-LC-MS/MS

材質試験は, カラムスイッチング(CS)システムを用いて測定を行った。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 μ m)を用いた。

B-3 測定条件

B-3-1 LC 測定条件 (一斉分析)

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。移動相のタイムプログラムを Table 2 に示す。カラム温度を 40 °C とした。

B-3-2 CS-LC 測定条件 (材質試験)

試料 10 μ L 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witch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。

B-3-3 MS/MS 条件

- ・ モニタリングイオン (Mode, Precursor ion \rightarrow Product ion): DEHP (positive, m/z 391 \rightarrow 149), DEHP-d4 (positive, m/z 395 \rightarrow 153), MEHP (negative, m/z 277 \rightarrow 134), MEHP-d4 (negative, m/z 281 \rightarrow 138), PA (negative, m/z 165 \rightarrow 121), PA-d4 (negative, m/z 169 \rightarrow 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)
- ・ カーテングス流量: 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-4. 標準溶液の調製

DEHP, MEHP, PA 及びそれぞれの内標準物質を秤量し, 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-5. マトリックス試験

本研究で構築した DEHP, MEHP 及び PA の一斉分析法が, PVC シートからの溶出に使用する試験用溶液中で, マトリックスの影響を受けずに定量分析が可能か検討した. 試験用溶液として, HCO-60 及び 5 %糖液に DEHP, MEHP 及び PA を既知濃度で添加し, 分析に供した.

B-6. 溶出試験

滅菌処理を施した 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°C, 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-d4, MEHP-d4 及び PA-d4) を暫定濃度になるよう封入し, 適宜希釈した後, 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-d4 及び MEHP-d4) と共にバイアルに封入後, 直接注入し, CS-LC-MS/MS にて分析した. チューブからの溶出試験は, DEHP 及び MEHP の測定と

した.

B-7. 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-d4 及び MEHP-d4) を 50 ng 封入し, LC-MS/MS にて分析した.

B-8. 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. 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, プログラフなど 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¹⁴⁾. 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, MEHP, PA 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°C に設定した.

C-2. マトリックス試験

HCO-60 及び 5%糖液中で 100 ng/mL となるように DEHP, MEHP 及び PA を添加した。その結果, Table 3 に示すように, DEHP, MEHP 及び PA のすべてにおいて 86.6-110.2%の定量値が得られた。また, その際のクロマトグラムは DEHP, MEHP 及び PA で良好な分離が得られており, それぞれの MRM クロマトグラムにおいても, 各ピーク付近に夾雑ピークは認められなかった。このことより, 構築した方法が HCO-60 及び 5%糖液中の DEHP, MEHP, PA の一斉分析に十分適用可能であることが分かった。

C-3. PVC シートからの溶出試験

構築した分析法を用いて, 未滅菌及び各滅菌処理を施した PVC シートから精製水, 5%糖液, HCO-60 に溶出する DEHP 等を測定した(Figure 1)。HCO-60 は DEHP が溶出する医薬品添加物として, 広く知られている。本分析法が, 一斉分析法であるということ, 及び高濃度の DEHP が MS/MS 内部を汚染することを考慮し, 0.02%の HCO-60 を使用することとした。

Figure 1 に示すように, 滅菌処理法の異なる PVC シートから溶出する DEHP は, 滅菌処理により顕著な影響は観察されなかった。また, 平成 16 年度, 平成 17 年度ともに, ガンマ線照射滅菌の PVC シートからは MEHP が顕著に溶出していることが認められた。濃度範囲は 319-876 ng/ml であり, 他の滅菌方法と比較して, MEHP 溶出は, 約 30-60 倍であった。また, ガンマ線照射 PVC シートからは, DEHP 分子中の全てのエステル結合が開裂した PA まで検出されることが分かった。特に, PA の溶出はガンマ線照射以外の滅菌法においては, 確認さ

れておらず(< 10 ng/ml), ガンマ線照射 PVC シートに, 特異的な溶出であった。このことより, ガンマ線照射によって DEHP のエステル結合が開裂され MEHP になり, 更に MEHP から PA まで分解されることが示唆された。

C-4. PVC チューブからの溶出試験

実際に ガンマ線照射滅菌を施し, 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 4 に示す。DEHP 溶出量は各試料で大きな差はなかったものの, ガンマ線滅菌試料の 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-5. 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 5-6)。

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, ガンマ線照射試料からのみ検出されたことから, ガンマ線照射による 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