

ポリ塩化ビニル製医療機器から溶出する DEHP および代替可塑剤

伊藤 里恵

星薬科大学 薬品分析化学教室

DEHP and alternative plasticizer migration from PVC medical device

Rie ITO

Department of Analytical Chemistry, Hoshi University

1. はじめに

ポリ塩化ビニル (Polyvinyl chloride; PVC) 樹脂は、一般的な合成樹脂の一つで塩化ビニルモノマー (単量体) を付加重合したものである¹⁾。PVC はモノマーの強固な分子間力により、そのままでは製品が硬質になることから、PVC 分子鎖の間に入り込み、モノマーの強固な分子間力を低下させ、柔らかい性質にするために、可塑剤が加えられている。PVC 樹脂は硬質にも軟質にも加工できるために日常生活用品に幅広く用いられている。医療の分野でも、可塑剤を約 40% 配合した軟質 PVC がディスプレイ医療機器として広く用いられている^{2,3)}。医療機器においては、PVC、ポリブタジエン、ポリエチレン、ポリウレタンなどの高分子材料を用いているが、PVC 製医療機器は、その物理化学的な特性や機能性と共に、原料価格の安さ、滅菌への対応性、製造工程での加工性に優れるという理由から軟質 PVC が広く利用されている。

PVC 樹脂に重合割合で約 40% 添加される可塑剤は、PVC との相溶性、可塑化効率、耐揮発性、低温柔軟性、価格などを考慮して、フタル酸ジ-2-エチルヘキシル (Di-2-ethylhexyl phthalate; DEHP) が汎用されてきた。しかしながら、可塑剤である DEHP は PVC と化学的に結合していないために、温度や時間の経過と共に分離し、PVC 樹脂が硬化すること、PVC 樹脂が脂溶性物質と接することで、DEHP が容易に溶出することが問題となっている⁴⁾。DEHP は、赤血球膜保護作用があると報告され^{5,6)}、血液バッグに汎用されてきた一方で、毒性学的研究では、生体への影響が懸念されている⁷⁾。1997 年、Poon らは、SD ラットを用いた精巢毒性 (セルトリ細胞の空胞化) の最大無毒性量 (No observed adverse effect level; NOAEL) を、3.7 mg/kg/day と報告している⁸⁾。他にも Lamb ら⁹⁾ による CD1 マウスでの生殖発生毒性 (生殖能の低下; NOAEL: 14

mg/kg/day) や、Moore¹⁰⁾ による F344 ラットでの腎重量の増加 (NOAEL: 29 mg/kg/day) などが報告されている。厚生労働省は、人に対する安全性を考慮し、耐容一日摂取量 (Tolerable daily intake; TDI) を 40~140 µg/kg 体重/day と設定している¹¹⁾。

医療機器を用いた治療は、生命、身体に切迫した危険を排除するための緊急手段であり、その治療行為をより安全に行うことが優先されるべきであるとするリスクベネフィットの考え方から、行政的な対応が遅れてきたが、厚生労働省は、医薬品・医療用具等安全性情報 No.182 において、臨床上使用される PVC 製医療機器について、溶出する DEHP が TDI を超える暴露が生じる場合もあり、暴露量を低減化する取り組みが必要であるとし、感受性が高いと考えられている新生児や妊婦などの患者群に PVC 製医療機器を用いる場合や、脂溶性医薬品を適用する場合には、優先的に代替品へ切り替えるよう推奨している¹¹⁾。本総説では、PVC 製医療機器を安全・安心に使用するためのリスク評価を目的として、医療機器から溶出する DEHP および代替可塑剤の溶出量を測定し、さらに可塑剤の安定性を精査し、分解物を含めた総合的な解析を行ったので紹介する。

2. DEHP の溶出挙動と分解

DEHP は、膵臓から分泌される代謝酵素であるリパーゼや血中エステラーゼにより、フタル酸モノ-2-エチルヘキシル (Mono-2-ethylhexyl phthalate; MEHP) に代謝されることが知られている^{12,16)}。そのため、血液バッグ等から血液製剤中に溶出する DEHP を分析する際には、血中酵素の存在を考慮して MEHP との同時分析が求められている。MEHP は親化合物の DEHP よりも毒性が強いという報告^{15,17)} もあることから、同時分析法を構築し血液製剤以外にも MEHP は溶出しているかを確認することとした。

2-1. DEHP および MEHP の同時分析法

DEHP および MEHP の構造式を Fig. 1 に示す。測定には、液体クロマトグラフィー (Liquid Chromatography; LC)-タンデム質量分析計 (Tandem mass spectrometer; MS/MS) を使い、DEHP および MEHP の安定同位体標識化合物 (DEHP-d₄ および MEHP-d₄) を用いた内標準法で測定した。イオン化は、エレクトロスプレーイオン化 (Electrospray ionization; ESI) 法を採用し、モニタリングイオンおよびイオン化モードは、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) とした。前処理操作中における環境からの DEHP 汚染を防ぐため、オンラインのカラムスイッチングを用い、分析カラムに Mightysil® RP-18 GP (5 mm × 2.0 mm, 5 μm particle size) を、前処理カラムに Oasis® HLB extraction column (20 mm × 2.1 mm, 25 μm particle size) をもちいて、切り替え時間を 3 分に設定し、医薬品中に含まれる夾雑成分を除去した。

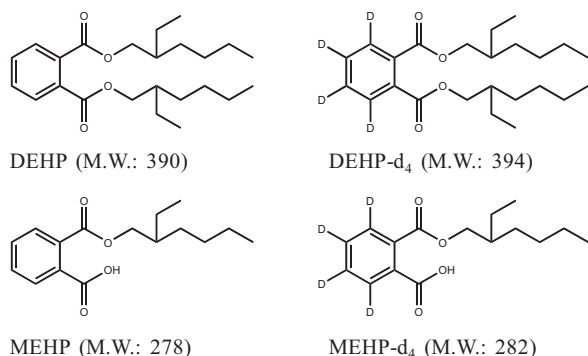


Figure 1. Chemical structures of DEHP, MEHP and their surrogate compounds

PVC チューブからの溶出実験では、企業から提供された輸液や輸血に使用される延長チューブを用いた。溶出実験には、添付文書に DEHP を溶出させやすいと記載のある医薬品を使用し、添付文書に従い希釈した。Table 1 に医薬品および希釈後の添加剤濃度を示す。2 種類の PVC チューブに各医薬品を 8 cm 高さに封入し、室温下で 1 時間緩やかに振とう抽出した。その後、抽

Drugs	Additives	Concentration
Glucose	Nothing	—
Prograf®	Polyoxyethylated hydrogenated castor oil (HCO-60)	80 fg/mL
	Dehydrated ethanol	Unknown
Flolid®-F	HCO-60	1000 μg/mL
Lastet® inj.	Polyethylene glycol 400 (PEG-400)	240 μg/mL
	Polysorbate 80 (Tween 80)	32 μg/mL
	Ethanol	Unknown
	Citric acid	Unknown

出液をガラス試験管に移して、検量線の範囲内となるよう適宜希釈し、内標準物質を添加して、カラムスイッチング-LC-MS/MS 測定に供した。

本分析法においては、DEHP および MEHP の定量下限値 (Limit of quantification; LOQ; S/N>10) は、それぞれ 2.5 および 0.75 ng/mL であった。標準溶液を用いて、DEHP/DEHP-d₄ のピーク面積比を縦軸、DEHP 濃度を横軸にプロットし、検量線を作成したところ、2.5 ~ 500 ng/mL の濃度範囲において良好な直線性 (*r* = 0.998) が得られた。また、MEHP/MEHP-d₄ のピーク面積比を縦軸に MEHP 濃度を横軸にプロットし、検量線を作成したところ、0.75 ~ 500 ng/mL の濃度範囲において良好な直線性 (*r* = 0.997) が得られた。実試料を測定するにあたり、溶出試験に適用した医薬品溶液中では、主薬や他の添加剤等によるマトリックスの影響が懸念されたため、試験溶液に標準品を添加する標準添加法を採用することとした。5 % 糖液においては各々の標準溶液により作成した検量線と同様の結果が得られた。しかしながら、プログラフ®注、フロリッド®注およびラステット®注においては若干の変動が見られたことから、医薬品ごとの検量線を作成した。その結果、DEHP、MEHP 共に良好な直線性が得られた。さらに医薬品の希釈に用いた 5 % 糖液による DEHP および MEHP の添加回収試験を行った。それぞれ 50 ng/mL となるように DEHP および MEHP を添加した際の、平均回収率は、それぞれ 99.2% (RSD = 3.2%, n = 6) および 109.0% (RSD = 3.4%, n = 6) であり、良好な回収率が得られた。添加回収試験における、クロマトグラムは夾雑成分の影響もなく、良好なピーク形状が得られた。

2-2. PVC チューブから溶出する DEHP および MEHP の測定

構築した分析法を PVC チューブから溶出する DEHP および MEHP の測定へ適用した (Table 2)。PVC チューブは、異なる 2 企業の製品を使用した。各医薬品への

Sample	DEHP concentration (mean ± SD, μg/mL)	
	Company A	Company B
Glucose	0.12 ± 0.03	0.13 ± 0.06
Prograf®	4.60 ± 0.17	4.40 ± 0.10
Flolid®-F	53.99 ± 3.63	54.64 ± 2.90
Lastet® inj.	27.04 ± 0.62	28.88 ± 1.53

Sample	MEHP concentration (mean ± SD, μg/mL)	
	Company A	Company B
Glucose	0.56 ± 0.05	0.20 ± 0.00
Prograf®	0.39 ± 0.04	0.12 ± 0.01
Flolid®-F	ND*	ND*
Lastet® inj.	ND*	ND*

(n = 3), *one-thousandth dilution

DEHP 溶出量は、2種類のチューブでほぼ同等であったことから、これらのチューブのDEHP含量は同程度であると推測された。一方、5%糖液およびプログラフ®注においては、MEHPの溶出も確認された。同一医薬品に対するDEHP溶出量は、異なるチューブにおいても、ほぼ同等であったが、MEHPではチューブごとに3倍程度の差がみられた。また、フロリッド®注およびラステット®注については、溶出したDEHP量にあわせて適宜希釈して測定に供した。

試験に供した全ての医薬品は、5%糖液を用いて希釈しているが、Table 1に示すように医薬品に含まれる添加剤成分やその濃度は異なっている。また、DEHPの溶出はポリオキシエチレン硬化ヒマシ油 (Polyoxyethylated hydrogenated castor oil; HCO-60) などの添加剤濃度に依存することが報告されており^{18, 20)}、DEHPの溶出量はHCO-60やポリエチレングリコール-400 (Polyethylene glycol-400; PEG-400) などを多く含んでいるフロリッド®注およびラステット®注において高く、添加剤濃度の低い5%糖液およびプログラフ®注において、低い溶出量であった。MEHPの溶出量がDEHP溶出量よりも低いのは、MEHPがDEHPに比べて極性が高い (ChemSilicoによるlogP値予測; DEHP: 7.19, MEHP: 3.35) ことに起因することも考えられた。一方、5%糖液においては、DEHP溶出を促進するような添加剤を含んでおらず、MEHPはDEHPよりも高濃度で溶出が確認された。

一般に、DEHPは血中酵素によってMEHPに代謝されることが知られているが^{12, 16)}、当該測定系においては、血中酵素は存在しておらず、酵素による分解はないと考えられた。さらに、MEHP溶出が確認された5%糖液およびプログラフ®注において、企業ごとのMEHP溶出量を観察したところ、A社のチューブから溶出するMEHPは、B社から溶出するMEHPの約3倍であったことから、製品自体に含まれているMEHPがPVCから直接溶出してくるのではないかと考えられた。

血液バッグ中で、血中酵素によりDEHPからMEHPが生成するとの報告はあるが、一般的な合成医薬品中ではそのような現象は考えにくい。PVCバッグ中の生理食塩液や5%糖液中へのMEHP溶出報告^{21, 23)}もあるが、バッグへの溶液封入後の加熱滅菌過程によりDEHPが加水分解したのではないかとの見解が示されている。しかしながら、今回の条件では、溶出試験時に熱エネルギー等を付加しておらず、DEHPが加水分解することによりMEHPが生成したとは考えにくい。さらに、チューブ間で差が生じたということは、これらPVCチューブ材質自体にMEHPが存在し、その含有量が異なるためであると考えられた。これらのことから、溶出したDEHPからMEHPが生成したのではなく、PVC材質

中に存在するMEHPが直接医薬品中に溶出していることが示唆された。また、5%糖液において、比較的高極性であるMEHPの溶出量がDEHPよりも多いことからこのことは推測された。従来、難水溶性医薬品からのDEHP溶出のみに着目されていたが、より生体への毒性影響が大きいと考えられるMEHPが水溶性溶液によって溶出することが示唆された。

3. 滅菌処理の違いによるDEHPの分解・溶出挙動

高分子製品は、光や温度などの外部因子による影響を受け、劣化などが生じることが知られているが²⁴⁾、高分子製の医療機器においても、紫外線照射によりPVC材質の表面改質が生じ、DEHP溶出に影響を与えることが報告されている²⁰⁾。紫外線照射は、殺菌 (滅菌) 手段としてクリーンベンチやクリーンルームの消毒殺菌灯に用いられており、滅菌処理は製造過程における外的因子として、DEHP溶出挙動に影響を与えることが推測される。

医療機器に対する滅菌操作は、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ており、PVC製医療機器には、高圧蒸気滅菌法、酸化エチレンガス (Ethylene oxide gas; EOG) 滅菌法、ガンマ線照射滅菌法などが採用されている。そこで、滅菌処理を施したPVCシートおよび市販のPVC製チューブからのDEHP等の溶出挙動を検討し、さらにPVC材質中に存在すると考えられるMEHPを確認するため、材質中の含量試験も実施することとした。

3-1. 実験方法

PVC製シートおよび輸液セットは企業より提供されたものを用いた。提供されたPVCシートの各滅菌条件は、ガンマ線照射滅菌; 24.2 kGy (線源: ⁶⁰Co)、高圧蒸気滅菌; 115 x 40分、EOG滅菌; 50 x 8時間であり、市販PVC製医療機器に施される滅菌条件に合わせて設定した。提供された輸液セットは、市販品 (ガンマ線照射滅菌済み) および該当製品の未滅菌品である。分析条件は2-1と同様であるが、注入量は10 μLに設定し、標準溶液を用いた検量線を作成し定量を行った。溶出溶媒は、精製水、5%糖液、難水溶性医薬品の溶解補助剤であるHCO-60 (0.02 mg/mL) を用いた。

試験に際しては、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 °Cで1時間抽出した後、内標準物質を加えて、LC-MS/MS測定に供した。PVCチューブは10 cm高となるように裁断し、溶出試験用の各溶媒を8 cm高さに封入し、室温下1時間緩やかに振とう抽出した後、適宜希釈して内標準物質を加え、LC-MS/MS測定に供した。

PVC 材質中の DEHP および MEHP の含量試験では、細断した PVC 製品 5 mg を精秤し、テトラヒドロフラン (Tetrahydrofuran; THF) 5 mL に完全溶解した後、適宜希釈して内標準物質を加え、LC-MS/MS 測定に供した。

3-2. DEHP および MEHP 溶出挙動と材質中の含量 - 滅菌処理による違い

各種滅菌を施した PVC シートからの DEHP および MEHP 溶出試験の結果を Fig. 2 に、含量試験の結果を Table 3 に示す。Fig. 2 に示す通り、精製水および 5 % 糖液に対する DEHP 溶出量は、各滅菌試料において、ほぼ LOQ 値レベルであった (ND ~ 17.9 ng/mL)。その一方、HCO-60 に溶出する DEHP 量は、ガンマ線照射試料において、他の滅菌試料の半量程度であった。また MEHP 溶出量は、ガンマ線照射試料において、他の滅菌試料の数十倍であり、すべての溶出溶媒において同様の傾向が見られた。これは、ガンマ線照射滅菌を施した市販輸液セットと未滅菌の同セットを用いた溶出試験の結果でも、同様の傾向であった。Table 3 に示した含量試験の結果、PVC シート中の DEHP 量は滅菌処理による含量の顕著な変化は観察されなかった。他方、MEHP については、ガンマ線照射試料からのみ検出された。

溶出試験および含量試験の結果を合わせて考えると、ガンマ線照射試料においては、DEHP 溶出が減少した一方で、MEHP の溶出は顕著に増加し、DEHP から MEHP に分解したのではないかと推測された。含量試験においても、未滅菌試料では含有されていなかった MEHP が、ガンマ線照射試料において検出され、ガンマ線照射により PVC 材質中で DEHP から MEHP への分解が進行していると考えられた。以上のことより、ガンマ線照射滅菌において、DEHP 溶出は抑制されるが、DEHP 分解によると考えられる MEHP 生成が確認され、MEHP 溶出は他の滅菌試料と比較して、非常に高濃度であることが明らかとなった。

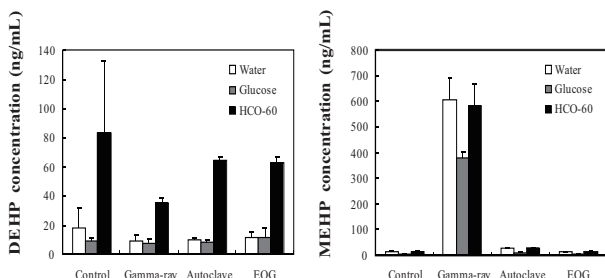


Figure 2. Levels of DEHP and MEHP migrated from PVC sheet samples

(Mean ± SD (ng/mL); n=3; ND < 10 ng/mL (DEHP))

Table 3 Content of DEHP and MEHP in PVC sheet and tube samples

		Control	Gamma-ray	Autoclave	EOG
Sheet	DEHP (w/w %)	32.1 ± 5.7	27.8 ± 0.8	26.8 ± 1.6	26.8 ± 0.8
	MEHP* (mg/g)	ND	0.38 ± 0.05	ND	ND
Tube	DEHP (w/w %)	44.7 ± 2.9	53.9 ± 2.5	—	—
	MEHP* (mg/g)	ND	ND (0.23)	—	—

(Mean ± SD; n=3; *one-hundredth dilution, ND < 0.25 mg/g (MEHP))

4. 滅菌処理による PVC 表面状態の解析

ガンマ線滅菌によって MEHP の溶出が顕著になることが明らかとなったが²⁵⁾、PVC 材質中では、DEHP 含量に大きな影響は及ぼさなかった。X 線光電子分光法を用い、紫外線照射を施した PVC シート表面を観察した報告では、紫外線照射時間に依存して、PVC 表面において、酸素元素の増加傾向および塩素元素の減少傾向が観察されており、酸化および脱塩化水素反応が進行していることが明らかとなっている²⁰⁾。また、PVC のプラズマ処理によって、表面が改質し DEHP の溶出が抑制されるという報告もある^{26, 27)}。そこで、DEHP 溶出の抑制が PVC 表面の材質変化によることも考えられ、表面状態の解析を行うこととした。

4-1. PVC 表面の元素検出法

X 線光電子分光法 (X-ray photoelectron spectroscopy; XPS) を用いて、各滅菌処理を施した PVC シートの表面を構成する元素に関する情報を得た。測定条件として、励起 X 線は monochromatic AlK_{1,2} 線 (1486.6 eV)、X 線径は 1 mm、光電子脱出角度 90° (atom %) とした。その結果、Table 4 に示す通り、ガンマ線照射滅菌 PVC シートにおいて、僅かながら、酸素元素の増加による酸化反応、塩素元素の減少による脱塩化水素反応が観察された。これは紫外線照射やプラズマ処理した際に、塩素や酸素が減少するという結果^{26, 27)}と傾向が一致していた。

Table 4 Surface constitution of sterilized PVC sheet (atom %)

	C	Cl	O	Si	Zn
Control	71.9 ± 1.22	2.0 ± 0.29	14.7 ± 0.40	11.4 ± 0.56	<0.1
Gamma-ray	71.5 ± 0.20	1.7 ± 0.26	15.0 ± 0.12	11.8 ± 0.12	—
Autoclave	71.3 ± 0.17	2.2 ± 0.06	14.6 ± 0.17	11.9 ± 0.25	—
EOG	72.0 ± 0.25	2.0 ± 0.25	14.6 ± 0.30	11.2 ± 0.29	<0.1

The data are means and standard deviations obtained from triplicate measurement.

4-2. 透過電子顕微鏡による断面観察

表面付近の PVC 粒子の形状変化、DEHP の存在状態の観察を目的に、2 種類の試料調製法 (ポリメチルメタクリレート包埋超薄切片法、RuO₄ 染色凍結超薄切片法) を用いて、透過電子顕微鏡 (Transmission electron microscope; TEM) 観察を実施した。

PVC シートをポリメチルメタクリレート (Poly methyl methacrylate; PMMA) モノマーに含浸後硬化

して包埋し、超薄切片を作成した。加圧電圧を 100kV と設定し、TEM 観察を行った結果、明瞭な PVC 粒子は観察されなかった。また、いずれの試料も表面付近と、内部での構造差は認められず、DEHP の分布状態にも顕著な差は確認できなかった。

4-3. 3次元表面粗さ計による表面凹凸の観察

触針式 3次元表面粗さ計を用いて、滅菌処理による表面の凹凸の変化を観察した。測定条件として、視野サイズ：2 mm 角、スキャン速度：100 $\mu\text{m/s}$ 、探針半径：2 μm 、荷重：5 mg とし、データ数は、X=1000 ポイント (2 μm 間隔)、Y=250 ライン (8 μm 間隔) とした。測定の結果、いずれの滅菌済み PVC シートにおいても、算術平均粗さ (Ra: 定量面で中心面から表面までの偏差の絶対値の平均値) は、3.9~4.6 μm 、二乗平均粗さ (Rq: 定量面で中心面から表面までの偏差の二乗の平均値の平方根) は、5.4~6.0 μm であり、試料間に有意な差は観察されなかった (Fig. 3)。

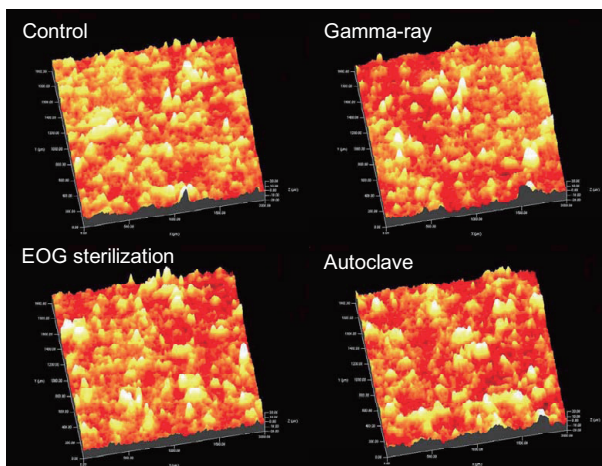


Figure 3. 3-D surface roughness measurement

KLA-Tencor P-15 contact stylus profiler was used to measure the surface roughness of a sample PVC sheet.

4-4. 表面粗さ計によるシート表面の硬さの比較

超微小硬度計 Nano Indenter XP を用いて、ナノインデンテーション法 (連続剛性測定法) により、弾性率および表面硬さを測定した。測定原理を Fig. 4 に示す。静置された滅菌済み PVC シートに対し、ダイヤモンド製正三角錐圧子 (Berkovich 圧子) を用い、最大押し込み深さ約 50 μm として、押し込み負荷/除荷試験を行い、荷重-押し込み深さ線図を得た (測定雰囲気：21 \pm 1、60 \pm 5 %RH)。

PVC シートの表面粗さが非常に顕著であったため、圧子と試料の接触状態のバラつきが大きく、各試料で得られた荷重-押し込み深さ線図もバラつきが大きくなったため、n 数を増やして特異的な挙動を示したデータを

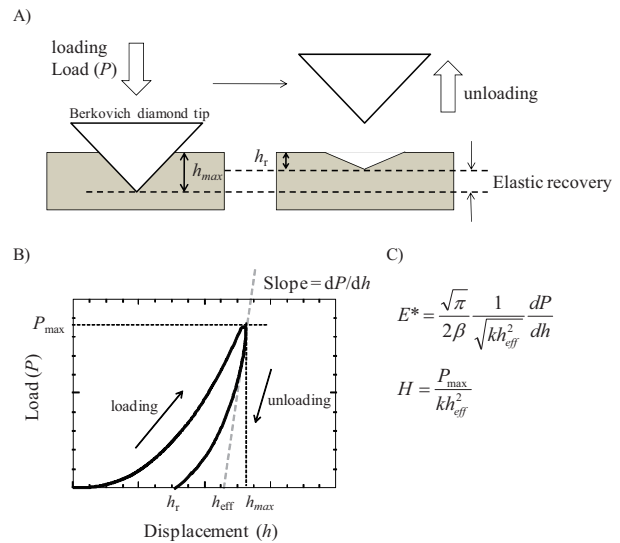


Figure 4. Measurement of hardness and elastic modulus

A) Schematic diagram of measurement principle

B) Typical load versus displacement curve

C) Formula of elastic modulus (E) and hardness (H)

*where β and k are both constants. In the case of using the berkovich tip, $k=24.56$ and $\beta=1.034$.

Table 5 Elastic modulus (E) and hardness (H) of sterilized PVC sheet

	Depth 1 μm		Depth 5 μm		Depth 20 μm	
	E (MPa)	H (MPa)	E (MPa)	H (MPa)	E (MPa)	H (MPa)
Control	110 \pm 24	0.8 \pm 0.3	61 \pm 14	0.78 \pm 0.37	58 \pm 8	1.1 \pm 0.2
Gamma-ray	290 \pm 77	4.9 \pm 1.4	83 \pm 26	2.1 \pm 0.53	42 \pm 22	0.96 \pm 0.4
Autoclave	85 \pm 18	0.39 \pm 0.31	40 \pm 5	0.19 \pm 0.03	39 \pm 6	0.52 \pm 0.09
EOG	100 \pm 32	0.74 \pm 0.31	47 \pm 11	0.47 \pm 0.34	40 \pm 11	0.66 \pm 0.1

除き、平均的なデータを求めることとした。

Table 5 に示すように、各滅菌済み PVC シートから得られた弾性率および硬さは、深さ依存性がみられ、押し込み深さ約 10 μm 以下の領域では、高圧蒸気滅菌 \leq 未滅菌 \approx EOG 滅菌 \ll ガンマ線滅菌の順で弾性率・硬さが大きくなった。未滅菌と EOG 滅菌では、ほぼ同程度の硬さであり、高圧蒸気滅菌も有意な差とは断言できなかった。一方、押し込み深さ約 10 μm 以上の領域では、顕著な試料間差は見られなかった。

以上の表面解析の結果、PVC 粒子径状や DEHP 粒子分布、PVC 表面の凹凸などは、各滅菌試料間で顕著な変化はないものの、ガンマ線滅菌試料において、PVC 表面の酸化および脱塩化水素が観察され、表面硬さも増加しており、可塑剤の溶出挙動に影響を与えた可能性があると考えられた。

5. ガンマ線照射における DEHP の分解

3章においては、ガンマ線照射滅菌によって DEHP の化学構造中のエステル結合が開裂し、MEHP になることで、MEHP の溶出が増加することが明らかとなっ

た。ところで、DEHP の経口摂取では、ヒト尿中に代謝物である MEHP、5OH-MEHP、5oxo-MEHP が主要代謝物として検出され²⁸⁾、血液製剤中に残留する主要な化学物質は、DEHP および MEHP であると報告されている²⁹⁾。これは、血中酵素の働きにより代謝されるものであり、ガンマ線照射による DEHP の分解とは異なる。DEHP は、その化学構造中にエステル結合を 2 つ有しており、1 つのエステル結合が開裂されれば MEHP が生成されるが、2 つのエステル結合が開裂するとフタル酸 (Phthalic acid; PA) が生成される。ガンマ線照射による分解では、付与するエネルギーの強弱によって MEHP から PA まで分解することも考えられたため、ガンマ線照射線量の違いによる分解挙動を確認することとした。

測定には LC-MS/MS を使い、各安定同位体標識化合物を用いた内標準法で測定した³⁰⁾。イオン化は、ESI 法を採用し、モニタリングイオンおよびイオン化モードは、DEHP (positive; m/z 391 149)、MEHP (negative; m/z 277 134)、PA (negative; m/z 165 121) とした。構築した分析法は、Table 6 に示す通り良好なバリデーションが得られた。

ガンマ線照射 PVC シートは、未照射 (0kGy) および 1、5、10、25、50 kGy の 6 種類を調製した (一般的な滅菌線量 : 25 kGy)。

Table 6 Validation of the proposed method

Analyte	LOQ*	Range (r)	Spiked conc.	Intra-day (n=3)		Inter-day (n=3)	
				CV (%)	Accuracy (%)	CV (%)	Accuracy (%)
DEHP	20	20-1000	50	4.00	106.8	8.68	100.6
			500	0.77	101.7	1.40	100.7
MEHP	2	2-1000	50	3.54	97.78	1.12	97.14
			500	1.62	100.2	1.30	100.6
PA	5	5-1000	50	4.37	99.97	1.58	98.87
			500	1.72	100.3	0.28	100.6

*LOQ: limit of quantification (S/N > 10; ng/mL)

構築した分析法を用いて、0~50 kGy のガンマ線照射 PVC シート (1 x 3 cm に裁断) から溶出する DEHP、MEHP および PA の測定を行った。溶出には、精製水、5%糖液、HCO-60 を用いた。Fig. 5 に溶出試験の結果を示す。DEHP は、HCO-60 に顕著に溶出し、ガンマ線照射線量に依存して、緩やかな溶出抑制が観察された。他方、MEHP および PA では、線量依存的に溶出が増加していく傾向が見られた。また、HCO-60 だけでなく、精製水や 5%糖液にも溶出していた。滅菌線量である 25 kGy 以上では、PA にまで分解していることが明らかとなった。未照射、25 kGy、50 kGy 照射の PVC シートについては、弾性率および硬さも測定を行っており、25 kGy および 50 kGy 照射 PVC シートでは、表面付近での硬さの増加が観察された (Table 7)。

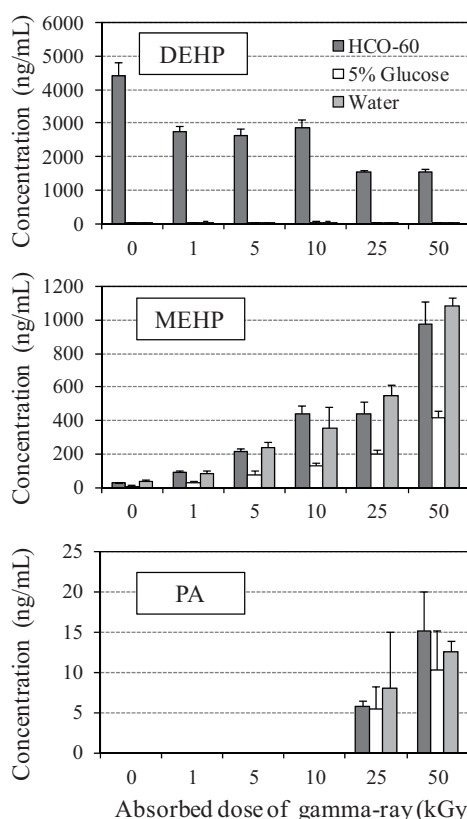


Figure 5. Concentrations of DEHP, MEHP, and PA that migrated from gamma-ray irradiated PVC sheet. Extraction solvents HCO-60, 5% glucose solution, and water are represented by dark columns, white columns, and gray columns, respectively.

Table 7 Elastic modulus and hardness

Depth (μm)	Control		25 kGy		50 kGy	
	Elastic modulus (MPa)	Hardness (MPa)	Elastic modulus (MPa)	Hardness (MPa)	Elastic modulus (MPa)	Hardness (MPa)
1	80 ± 17	0.42 ± 0.11	330 ± 120	2.9 ± 1.9	240 ± 140	2.0 ± 2.3
5	59 ± 22	0.37 ± 0.22	180 ± 50	4.3 ± 2.3	130 ± 37	2.3 ± 2.3
10	93 ± 35	1.1 ± 0.45	130 ± 21	3.6 ± 1.5	120 ± 19	2.2 ± 1.2
20	130 ± 32	2.0 ± 0.56	100 ± 14	2.5 ± 0.7	100 ± 19	2.1 ± 0.6

Poisson ratio of sample was assumed to be 0.3 when elastic modulus was calculated.

6. 代替可塑剤 TOTM の溶出

医療機器に含有される可塑剤の DEHP は、適用する脂溶性医薬品や血液製剤中に溶出してくることが知られており、厚生労働省は妊婦などの高リスク患者に対して、代替品を用いるよう推奨している¹¹⁾。代替品としては、PVC 材質をポリブタジエンやポリウレタン等に変更する方法と、DEHP を代替可塑剤に変更する方法が挙げられるが、日本国内においては、DEHP の代替可塑剤として、トリメリット酸トリス-2-エチルヘキシル (Trioctyltrimellitate; TOTM; Fig. 6) の使用例が増加しており³¹⁾、医療現場でも DEHP を溶出させやすい医薬品を用いる場合は、TOTM 含有 PVC の医療機器を用

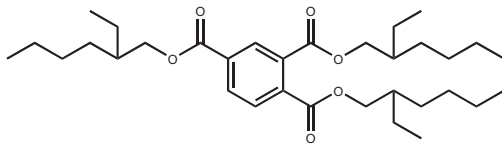


Figure 6. Chemical structure of TOTM

いている。

TOTMの毒性はDEHPの毒性に比較して低いと言われており、はじめに代替可塑剤であるTOTMの医療機器からの溶出量をDEHPの溶出量と比較することとした。

分析法は、既報²⁵⁾とほぼ同様の条件であるが、TOTMの安定同位体標識化合物が得られなかったため、内標準物質にはDEHP-d₄を用いた。TOTMは、ポジティブイオンモードで測定を行い、モニタリングイオンは、*m/z* 547 305とした³²⁾。

溶出試験は、臨床での溶出状況をより反映させるため、シリンジポンプを用いて行うこととした。医療用のDEHP含有PVC (PVC/DEHP) チューブおよびTOTM含有PVC (PVC/TOTM) チューブに、添付文書に従い希釈したプログラフ[®]およびラステット[®]注を代表的な医薬品として送液し、経過時間ごとに溶出量の測定を行い、24時間の送液後に総溶出量を算出した。PVCチューブは50 cm長とした。また、PVC中でのDEHPおよびTOTMの含量を確認するため、チューブを細かく裁断後にTHFに溶解し、含量試験を行った。

Fig. 7 にプログラフ[®]への溶出試験の結果を示す。送液時間の延長に伴い、DEHPおよびTOTMともに、その総溶出量は増加していた。しかしながら、TOTM溶出量はDEHPに比較して、はるかに少量であり、24時間後でも総溶出量が1 mg程度であった。この結果は5%糖液およびラステット注においても、ほぼ同様で、TOTM溶出量はDEHP溶出量に比較して少量であった。含量試験の結果、PVCチューブ中に含まれる可塑剤量は、TOTMが9.02 g (27.3 w/w%)、DEHPが14.52 g

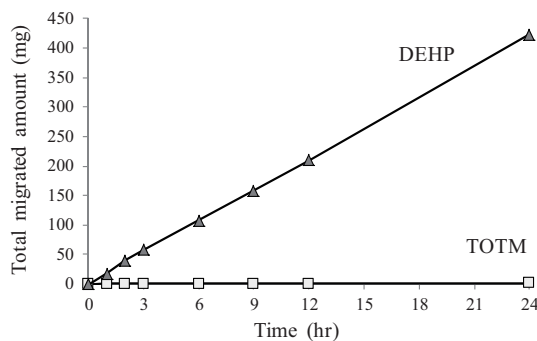


Figure 7. The amount of migrated plasticizers into Prograf[®]

(44.7 w/w%) とTOTMの方が少量で、同程度の可塑性を示すということが分かった。24時間送液後の溶出率を算出したところ、TOTMが0.0125%、DEHPが2.916%であり、材質中の可塑剤量を勘案してもTOTMは溶出しにくいことが明らかとなった。

7. 紫外線照射によるTOTMの溶出挙動

DEHPを含有するPVCシートに紫外線を照射すると、DEHPの溶出が抑制されることが明らかとなっており^{19,20)}、TOTMでも同様の溶出抑制が観察されるか検討を行った。PVC/TOTMシートに紫外線を照射し、経時的に溶出挙動を測定した。DEHPと同様にTOTMも分解することで溶出抑制が起こることも考えられたため、測定には紫外可視吸光度検出LC (LC-UV)を用い、分解物のピークも確認することとした。TOTM検出は235 nmとし、分析法の検出下限値は50 ng/mL、濃度範囲100~1000 ng/mLでの検量線の直線性は0.999以上であり、添加回収試験も良好な結果が得られた。構築した分析法を用いて、PVCシートから溶出するTOTMを測定したところ、TOTM溶出量はわずかに減少したものの、分解物のピークは観察されなかった。DEHPに比べTOTM溶出量はごく僅かであり、溶出量レベルでの分解挙動をモニタリングするのは難しいと考え、TOTM標準溶液(1 μg/mL)を紫外線照射することとした。石英セルにTOTM溶液を封入し、紫外線ランプによる溶液の蒸発を防ぐため4条件下でセルに蓋をして紫外線照射を行った。紫外線の照射条件は、波長: 254 nm、紫外線出力: 1.7 W、紫外線放射強度: 19 μW/cm²、試料までの距離: 18 cmとした。その結果、24時間照射後には、TOTMは検出限界以下となった (Fig. 8)。

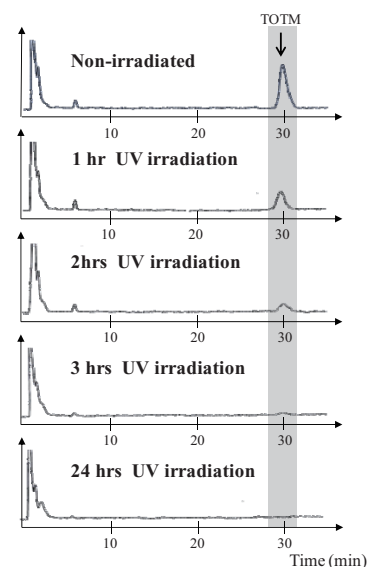


Figure 8. Chromatograms of ultraviolet-irradiated TOTM solution

UV 検出における分解物のピークは、溶媒由来のピークと重なっているためか観察することができなかった。また、6分付近には DEHP のピークが観察された。

LC-UV では、分解物のピークが観察できなかったため、LC-飛行時間型 (Time of flight; TOF)-MS を用いて、分解物の組成式を推定することとした。その結果、5分弱に精密質量 m/z 435.2753 (mass error: 1.4 ppm) で分解物らしきピークが観察された。この質量は TOTM のエステル結合が 1 つ開裂したトリメリット酸ジオクチル (Dioctyltrimellitate; DOTM) の質量と一致しており、分解物の 1 つである可能性が示唆された。

8. ガンマ線照射による TOTM の溶出挙動の変化と分解

紫外線照射により TOTM 分解が明らかとなったので、ガンマ線照射滅菌した医療機器からの TOTM 溶出を未滅菌のものと比較することとした。PVC チューブに医薬品を封入し、LC-MS/MS を用いて分析した結果 (Fig. 9)、ガンマ線照射滅菌した PVC チューブからの TOTM 溶出量は、未滅菌のものに比較し、どの医薬品においても抑制されていた。しかしながら、MS のポジティブイオンモードおよびネガティブイオンモードのどちらのイオン化モードにおいても、分解物のピークは観察されなかった。

次に、TOTM 標準溶液に過剰線量のガンマ線を照射し、TOTM 溶出挙動および分解物をモニタリングすることとした。調製した TOTM の標準溶液 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ を 3 つの瓶に分け、未照射、25 kGy (滅菌線量) および過剰線量のガンマ線を照射させた。それぞれを LC-MS/MS の Q1 Scan (positive) で測定したところ、ガ

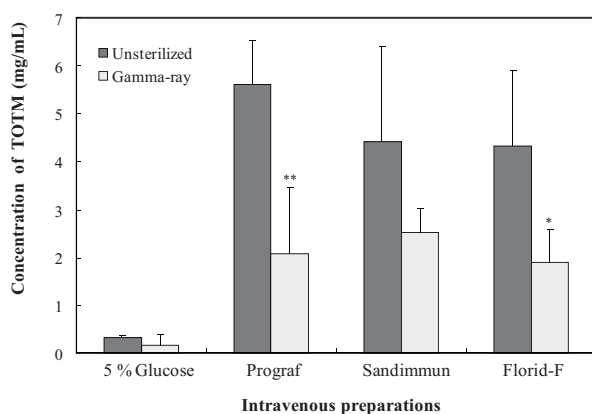


Figure 9. Amount of TOTM migrating from PVC tube into intravenous preparations

Each column represents the amount of TOTM obtained from triplicate analysis ($n=3$). Error bar represents standard deviation (S.D.). *Significantly different from unsterilized control ($p < 0.01$); t-test. **Significantly different from unsterilized control ($p < 0.05$); t-test.

ンマ線を過剰に照射した TOTM 標準液において、TOTM 溶出量の減少が観察されるとともに、20分付近に分解物らしきピークが観察された。分解物と推定されたピークのイオンは、 m/z 327 であり、紫外線照射によって分解された DOTM が脱水縮合した構造が推察された。

9. まとめ

医療機器に可塑剤として用いられる DEHP は、紫外線やガンマ線滅菌によって、PVC 材質中で、その一部が MEHP に分解することが明らかとなった。DEHP は、照射するガンマ線の線量に依存して分解が進行し、25 kGy 以上では、MEHP を経て PA にまで分解されていた。MEHP は DEHP よりも 10 倍程度の毒性であると報告されており、より高毒性の MEHP が溶出されることは大きな問題であると考えた。

DEHP の代替可塑剤である TOTM の溶出挙動をシリンジポンプを用いて医薬品を送液し、確認したところ、DEHP と比較して 1/400 倍程度と、その溶出は大幅に抑制されていた。TOTM においても、ガンマ線照射滅菌した医療機器からは未滅菌よりも溶出が抑制され、DEHP と同様に分解している可能性が示唆された。しかしながら、溶出量レベルでは分解物のピークは観察されず、TOTM 標準溶液を用いた実験では、DOTM に分解されることが示唆された。TOTM は DEHP よりも低毒性であり、溶出率も低いことから、より安全に医療機器を使用するために、重要な可塑剤となることが期待される。

謝辞

本研究を遂行するにあたり、平成 24 年度星薬科大学大谷記念研究助成金を賜りました。大谷卓男理事長、田中隆治学長に深く感謝申し上げます。また、本研究にご指導・ご協力を賜りました星薬科大学薬品分析化学教室の中澤裕之名誉教授、斉藤貢一教授をはじめ同教室の皆様感謝いたします。

参考文献

- 1) 日本医療器材工業会 編：やさしいプラスチック製医療器材 三光出版社 (2002)
- 2) 中林宣男 監修：医療用高分子材料の展開 シーエムシー出版 (2003)
- 3) 片瀬隆雄 著：フタル酸エステルの昨今 ベトナム戦争輸血バッグから環境ホルモンまで 合同出版 (2004)
- 4) 細貝祐太郎、松本昌雄 監修、河村洋子、馬場二夫 著：食品安全性セミナー7 器具・容器包装 中央法規 (2002)
- 5) Estep T.N., Pederson R.A., Stupar K.R.: Blood, 64, (1984) 1270-1276
- 6) Aubuchon J.P., Estep T.N., Davey R.J.: Blood, 71, (1988) 448-452
- 7) 佐藤温重、石川達也、桜井靖久、中村晃忠著：バイオマテリアルと生体 副作用と安全性 中山書店 (1998)
- 8) Poon R., Lecavalier P. Mueller R., Valli V.E., Procter B.G., Chu I.: Food Chem. Toxicol., 35, (1997) 225-239
- 9) Lamb I.V., J.C., Chapin R.E., Teague J., Davis Lawton A., Reel J.R.: Toxicol. Appl. Pharmacol., 88 (1987) 255-269
- 10) Moore M.R.: CorningHazelton Inc Study CHV 663-134, (Cited in KEMI, 2000)
- 11) 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
- 12) Albro P.W., Thomas R.O.: Biochim. Biophys. Acta, 306, (1973) 380-390
- 13) Lake B.G., Phillips J.C., Linnell J.C., Gangolli S.D.: Toxicol. Appl. Pharmacol., 39, (1977) 239-248
- 14) Oishi S., Hiraga K.: Arch. Toxicol., 51, (1982) 149-155
- 15) Albro P.W., Lavenhar S.R.: Drug Metab. Rev., 21, (1989) 13-34
- 16) Albro P.W., Chapin R.E., Corbett J.T., Schroeder J., Phelps J.L.: Toxicol. Appl. Pharmacol., 100, (1989) 193-200
- 17) Oishi S.: Arch. Toxicol., 63, (1989) 289-295
- 18) Jenke D.R.: Int. J. Pharm., 224, (2001) 51-60
- 19) 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., Tuchiya T., Nakazawa H.: Int. J. Pharm., 298, (2005) 126-142
- 20) Ito R., Seshimo F., Haishima Y., Hasegawa C., Isama K., Yagami T., Nakahashi K., Yamazaki H., Inoue K., Yoshimura Y., Saito K., Tsuchiya T., Nakazawa H.: Int. J. Pharm., 303, (2005) 104-112
- 21) Ulsaker G.A., Hoem R.M.: Analyst, 103, (1978) 1080-1083
- 22) Arbin A., Östelius J.: J. Chromatogr., 193, (1980) 405-412
- 23) Arbin A., Östelius J., Callmer K., Sroka J., Hänninen K., Axelsson S.: Acta Pharm. Suec., 20, Suppl: 3, (1983) 20-33
- 24) 大澤善次郎 著：ケミルミネッセンス 化学発光の基礎・応用事例 丸善 (2003) pp 78-124
- 25) Ito R., Seshimo F., Miura N., Kawaguchi M., Saito K., Nakazawa H.: J. Pharm. Biomed. Anal., 41, (2006) 455-460
- 26) Asai M.: Jpn. J. Artif. Organs, 8, (1979) 389-390
- 27) Terada, R., Suzuki, J., Mori, Y., Nagaoka, S., Kikuchi T., Nishiumi S., Hatada K., Kobayashi H.: Jpn. J. Artif. Organs, 11, (1982) 1187-1190
- 28) Kato K., Silva M.J., Reidy J.A., Hertz III D., Malek N.A., Needham L.L.: Environ. Health Perspect., 112, (2004) 327-330
- 29) Koch H.M., Bolt H.M., Angerer J.: Arch. Toxicol., 78, (2004) 123-130
- 30) Ito R., Miura N., Kawaguchi M., Ushiro M., Iguchi H., Iwasaki Y., Saito K., Nakazawa H.: J. Liq. Chrom. & Rel. Technol., 31, (2008) 198-209
- 31) Senshu K.: Jpn. J. Pharm. Health Care Sci., 30, (2004) 136-142
- 32) Ito R., Miura N., Iguchi H., Nakamura H., Ushiro M., Wakui N., Nakahashi K., Iwasaki Y., Saito K., Suzuki T., Nakazawa H.: Int. J. Pharm., 360, (2008) 91-95

DEHP and alternative plasticizer migration from PVC medical device

Rie ITO

Department of Analytical Chemistry, Hoshi University

The risk assessment of di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) and alternative plasticizer that migrate from polyvinyl chloride (PVC) medical devices is an important issue for patient. In order to study the migration of DEHP and its breakdown product, a method for the simultaneous determination of DEHP, MEHP, and phthalic acid (PA) was developed. In the result, the levels of migration of DEHP from gamma-ray sterilized PVC or UV irradiated PVC were low compared with those of the unsterilized/non-irradiated control. By contrast, the levels of MEHP migration were high. In the case of gamma-ray irradiated PVC, not only MEHP but also PA was found to be the breakdown product of DEHP. The Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan has recommended that alternatives be used to reduce DEHP exposure, especially for high-risk patients. Tris(2-ethylhexyl)trimellitate (TOTM), a trimellitate ester, is commonly used as an alternative plasticizer for medical devices in Japan. Therefore, TOTM migration was studied. Similarly to the DEHP migration, the levels of migration of TOTM from gamma-ray sterilized PVC or UV irradiated PVC were low compared with those of the unsterilized/non-irradiated control. In addition, the breakdown product of TOTM migrated from PVC medical device was not almost observed in the chromatogram. The results demonstrate that TOTM is a superior alternative to DEHP for use in medical devices because of its lower leachability.