

平成 22 年 6 月 20 日現在

研究種目：若手研究 (B)
 研究期間： 2007 ~ 2009
 課題番号：19790040
 研究課題名 (和文) 医療機器の適正使用に関する研究
 —可塑剤溶出の制御—
 研究課題名 (英文) A study for proper usage of medical device
 -Control a release of plasticizer-
 研究代表者：伊藤 里恵 (ITO RIE)
 星薬科大学・薬学部・助教
 研究者番号：90398892

研究成果の概要 (和文)：

ポリ塩化ビニル (PVC) 製医療機器に使用されるトリメリット酸トリス-2-エチルヘキシル (TOTM) の医療機器からの溶出挙動およびガンマ線照射などによる安定性を検討した。その結果、ガンマ線照射により TOTM 溶出量は減少することが明らかとなったが、分解物のピークは確認されなかった。さらに、患者の TOTM 暴露量を、フタル酸ジ-2-エチルヘキシル (DEHP) と比較したところ、ある条件下では、1/400 であり、可塑剤としての有用性が高いことが分かった。

研究成果の概要 (英文)：

Tris(2-ethylhexyl) trimellitate (TOTM) is used as an alternative plasticizer of polyvinyl chloride (PVC) medical devices. A method for the determination of TOTM released from PVC medical devices into intravenous preparations was developed, which uses liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). In addition, the effect of sterilization, especially gamma-ray sterilization, on the amount of TOTM release from PVC was studied. When our method was applied to the determination of TOTM released from unsterilized and gamma-ray-sterilized PVC tubes, we found that a higher concentration of TOTM was released from the unsterilized PVC tube than from the gamma-ray-sterilized one. No degradation peak was observed when the gamma-ray irradiated sample was analyzed.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,200,000	0	1,200,000
2008年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2009年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,000,000	540,000	3,540,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・物理系薬学

キーワード：代替可塑剤、医療機器、暴露量評価

1. 研究開始当初の背景

医療現場において、ポリ塩化ビニル(PVC)

製医療機器に可塑剤として添加されているフタル酸ジ-2-エチルヘキシル(DEHP)が、適

用する脂溶性医薬品や血液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的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。本研究では、DEHPの代替可塑剤として、その使用例が増加しているトリメリット酸トリス-2-エチルヘキシル(TOTM)に着目する。

DEHPに関する我々のこれまでの研究により、紫外線を照射したPVC製医療機器では、DEHP溶出が抑制されることが明らかとなっていた(R. Ito et al., Int. J. Pharm., 303 (2005) 104-112., 特願 2004-397324)。更に、その後の研究において、滅菌処理においても紫外線照射と同様にDEHP溶出抑制が観察されたが、DEHP溶出の抑制は、エステル結合の開裂によりDEHP分解物が生成され、DEHP量が減少することに起因することが明らかとなった(R. Ito et al., J. Pharm. Biomed. Anal. 41 (2006) 455-460.)。

ところでTOTMもDEHPと同様の骨格を有することから、滅菌処理によりTOTMが分解する可能性は非常に高い。

DEHPに関しては様々な研究がなされているにも係わらず、TOTMはDEHPに比べて可塑剤としての使用歴が浅いため、研究が遅れており、TOTMに関する研究は数報しかなく、分解生成物を含めた詳細な検討が早急に必要であると考えた。

2. 研究の目的

TOTMに関する研究報告が少ないにもかかわらず、DEHPの代替可塑剤としての利用が増大していたことより、TOTMのPVC製品中での安定性の検討、溶出挙動の解明、分解生成物の同定を行うこととする。また、PVC材質の表面解析も行い、可塑剤溶出挙動に対する影響を検討する。最終的には、TOTM等の可塑剤が最も溶出しにくい保存条件、滅菌条件を探索し、材質を変更せずとも、リスクの少ない医療行為を受けられる安全性の高い医療機器の開発を目標とした。

3. 研究の方法

(1) TOTM安定性の検討、分解生成物の推定

TOTM標準溶液に紫外線およびガンマ線を照射し、安定性を確認することとし、液体クロマトグラフィー紫外可視吸光度検出器(LC-UV)を用いて測定した。UVの検出波長は、254 nmとした。さらに、LC-飛行時間型質量分析計(TOF-MS)を用いて100~1000 nmの範囲をスキャン測定し、分解物の構造を推定した。TOF-MSにより、分解物の候補が確認された後、LC-タンデム質量分析計(MS/MS)を用いて、マルチプルイオンモニタリングモードで測定を行った。

次に、TOTMが可塑剤として使用されているPVCシートを用いて、同様の検討を試みた。

医療機器の滅菌方法としてガンマ線照射滅菌があることから、未滅菌のPVCシート、滅菌線量のガンマ線を照射したPVCシートおよび過剰量のガンマ線照射を行ったPVCシートの3検体を用いて、LC-UVによる測定およびLC-MS/MSによる測定を行った。

LC-TOF-MSの測定条件

Instrument; Waters 2795
Column; Inertsil® C8-3 (2.1 x 50 mm, 3 μm)
Column temp. ; 40 °C
Flow rate; 0.2 mL/min
Injection volume; 10 μL
Mobile phase; Acetonitrile / Water/ 0.2 % Formic Acid=80/15/5 (v/v/v)

TOF-MS

Instrument ; Micromass LCT Premier XE

Ionization mode ; ESI positive

Source

Capillary voltage ; 2000 V
Cone voltage ; 50 V
Source temp. ; 400 °C
Desolvation temp. ; 350 °C

N2 gas

Desolvation gas flow ; 750 L/hr
Cone gas flow ; 50 L/hr

LockSpray Configuration

External reference Leucine enkephaline ([M+H]⁺ : 556.2771)
Concentration ; 0.25 mg/mL
Syringe pump rate ; 5 mL/min
Frequency ; 5 scans
Cone voltage ; 50 V
Scan time ; 1.0 sec

(2) TOTM溶出挙動の解明—溶出量の把握

TOTMを可塑剤に用いたPVCチューブを裁断し、医薬品を封入し、室温1時間で振とうすることで、TOTMの抽出を行った。その後、医薬品を適宜希釈し、LC-MS/MS測定に供した。TOTMはDEHPと構造が類似していることから(図1)、DEHPを溶出させやすいと報告されている脂溶性医薬品を用いることで、TOTMも溶出させやすいであろうと考え、免疫抑制剤であるプログラフやサンディミュンを試験液として用いた。

LCの測定条件は以下の通りである。

カラムスイッチング用移動相:

0.02%ギ酸含有メタノール : 水=60 : 40
(1 mL/min)

分析用移動相:

アセトニトリル : 水=90 : 10 (0.2 mL/min)
分析カラム : Inertsil C8 (2.1 x 50 mm, 3 μm)
抽出カラム : Oasis HLB extraction column
カラム温度 : 40 度

注入量：20 μL
 MS/MS は、エレクトロスプレーイオン化で m/z 547→305 をポジティブイオンモードにてモニタリングした。

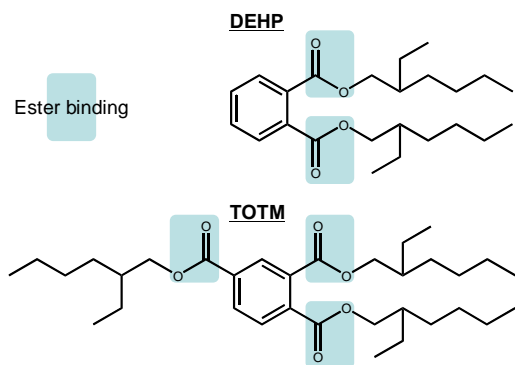


図1 DEHP と TOTM の化学構造

(3) TOTM 暴露に関するリスク評価

前項において溶出量を把握したが、より臨床に近いモデルで患者への暴露量を検討するため、シリンジポンプを用いて、実際の医薬品添付文書に従って薬液を調製し、送液した。0, 1, 2, 3, 6, 9, 12, 24 時間後に、それぞれの薬液を採取し、LC-MS/MS 分析に供した。試験液が医薬品であることから、前処理にカラムスイッチングを用いた。その溶出量から、患者への TOTM 暴露量を推量した。

(4) PVC 材質の表面の劣化解析

PVC 材質の表面を解析し、可塑剤溶出量との相関を検討する際に、TOTM 可塑剤の溶出量が極少量であることから、相関を観察するのが難しいことが危惧された。そこで、これまでの研究で溶出量は TOTM より多いものの、溶出する傾向が同じである DEHP を可塑剤とした PVC 材質を用いて、ナノインデンテーション法により表面硬さと弾性率を確認した。ナノインデント測定において、PVC 表面が粗いために、データのバラツキが非常に大きかったため、測定数を増やして平均的な挙動を観察することとした。装置には、超微小硬度計 Nano Indenter XP (MTS システムズ) を用いた。測定条件は以下の通りである。

方法： ナノインデンテーション法
 (連続剛性測定法)

使用圧子： ダイヤモンド製正三角錐圧子
 測定雰囲気： $21 \pm 1^\circ\text{C}$ 、 $60 \pm 5\% \text{RH}$
 最大押し込み深さ： 約 $50 \mu\text{m}$

また、弾性率と表面硬さは以下の式より算出した。

$$\text{弾性率 } E^* = \frac{\sqrt{\pi}}{2\beta} \frac{1}{\sqrt{kh_{\text{eff}}^2}} \frac{dP}{dh}$$

$$\text{硬さ } H = \frac{P_{\text{max}}}{kh_{\text{eff}}^2}$$

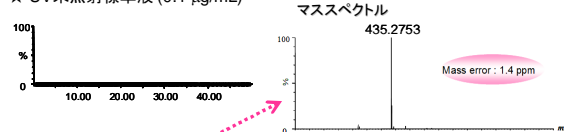
($k=24.56$, $\beta=1.034$)

4. 研究成果

(1) TOTM 安定性の検討、分解生成物の推定

TOTM 標準溶液に紫外線およびガンマ線を照射後、LC-UV にて測定した結果、未照射試料と照射試料において UV クロマトグラム上では、分解物と考えられる新たなピークの出現は確認されなかった。そこでさらに分解物を詳細に検討するため、紫外線照射した検体を LC-飛行時間型質量分析計 (TOF-MS) を用いて $100 \sim 1000 \text{ nm}$ の範囲をスキャン測定したところ、TOTM の TOTM の 1 つのエステル結合が切断されたトリメリット酸ジ-(2-エチルヘキシル) (DOTM) の質量数にピークが観察され、分解物の候補として考えられた (図 2)。DOTM は、同一質量数である三化合物が存在するため、半経験的分子軌道法 (MOPAC) による構造最適化を行い、最も生成エネルギーの低い化合物が分解物候補と考えられた。

★ UV 未照射標準液 (0.1 $\mu\text{g/mL}$)



★ 2 hr UV 照射標準液 (0.1 $\mu\text{g/mL}$)

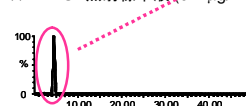


図2 TOTM 分解物のマスペクトル

TOF-MS により、分解物の候補が確認された後、LC-タンデム質量分析計 (MS/MS) を用いて、ガンマ線照射試料をマルチプルイオンモニタリングモードで測定を行った。その結果、TOF-MS で候補として考えられた分解物がイオン源で脱水したような構造が観察された。

次に、TOTM が可塑剤として使用されている PVC シートを用いて、TOTM の溶出量および分解物の溶出量をモニタリングすることを考えた。紫外線照射試料およびガンマ線照射試料ともに、TOTM の溶出量が減少していることは確認されたが、LC-UV、LC-TOF-MS、MS/MS とどの分析機器においても、分解物のピークは観察できなかった。

(2) TOTM 溶出挙動の解明—溶出量の把握

TOTM 溶出量の測定を行うに際し、分析法の構築を行った。その結果、方法に示した条件下で LOD : 0.5 ng/mL であった。添加回収試

験の結果は、5%グルコース溶液 $95.1 \pm 5.65\%$ (30 ng/mL spiked) であり、プログラフ、サンディミュン、フロリドFは、250ng/mL 添加において、それぞれ 97.7 ± 5.71 、 99.0 ± 4.34 、 $100.3 \pm 2.77\%$ であったことから、再現性のある良好な分析法が確立できたと考えられる。

実際の試験溶液を用いて、溶出試験を行った結果を図3に示す。DEHPと同様にTOTMでも脂溶性医薬品において溶出量が増大することが明らかとなった。さらに、ガンマ線照射滅菌したPVCチューブでは、未滅菌のチューブからの溶出量と比較して、減少していた。これは、DEHPの際にも観察された傾向である。DEHPは、溶出量が減少する一方で、毒性の高い分解物が溶出していたが、TOTMでは分解物のピークは観察されておらず、TOTMは暴露量という点から判断すると、より安全性が高いことが示唆された。

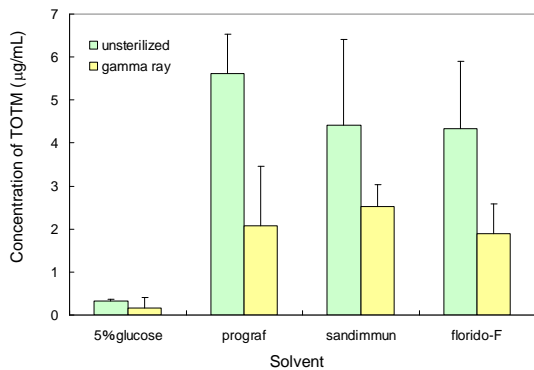


図3 ガンマ線照射によるTOTM溶出への影響

(3) TOTM 暴露に関するリスク評価

より臨床現場に近いモデルでの暴露量を算出するため、PVCチューブを50 cmに裁断し、シリンジポンプを用いて、添付文書に従い調製した薬剤を送液した。経過時間ごとに薬剤のサンプリングを行い、カラムスイッチングLC-MS/MS法での測定に供した。またその暴露量をDEHPと比較するため、DEHPを含むPVCチューブについても、同様にシリンジポンプを用いた薬剤の送液を行って、測定に供した。その結果、DEHPの総溶出量は時間の経過とともに増大し、薬剤にプログラフを用いた場合は、24時間で400 µgにも達した。他方、TOTMについては、時間の経過と共に総溶出量が増大していたが、その溶出量は非常に微量であり、24時間後にも1 µg程度であった(図4)。24時間値で比較すると、TOTMの溶出はDEHPの1/400であり、TOTMの報告されている毒性も低いことから、安全性が高いことが示唆された。体重50 kgのヒトが3 mの当該チューブを使用したと仮定すると、1日あたりの暴露量は、 $0.12 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ であった。

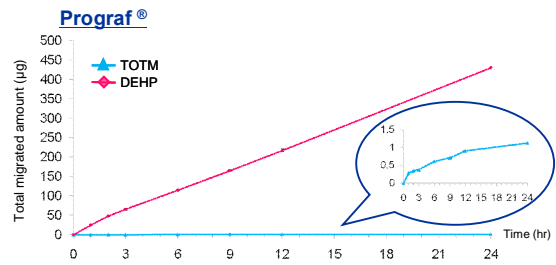


図4 可塑剤溶出量の比較

(4) PVC 材質の表面の劣化解析

測定の結果、未滅菌PVCシートと比較し、表面から深さ10 µm以下の表層近くでPVCシートの硬さが増しており(図5)、深さ20 µmの結果では、顕著な差が観察されないことから、この硬さ変化は表面に特有のものであると推察された。弾性率についても深さ1 µmでは未滅菌、25kGy、50kGyでそれぞれ、 80 ± 17 、 330 ± 120 、 240 ± 140 MPa、深さ5 µmで、それぞれ 59 ± 22 、 180 ± 50 、 130 ± 37 MPa、深さ20 µmでは、それぞれ 130 ± 32 、 100 ± 14 、 100 ± 19 MPaと表層付近での変化が顕著であった。これらは、ガンマ線照射によってPVC鎖が架橋することに起因すると考えられる。さらに、この際の可塑剤溶出量はガンマ線吸収線量に依存して減少していたが、その溶出量変化とPVC表面の硬さや弾性率との間に定量的な相関関係は見られなかった。

以上の研究をまとめると、TOTMはDEHPと比較して、溶出量も少なく分解物の溶出も確認されないこと、さらに毒性も低いことから可塑剤としての有用性が期待される。さらに、可塑剤の溶出を抑制させる実用的な方法としては、ガンマ線照射滅菌による溶出量減少が活用できると考えられる。

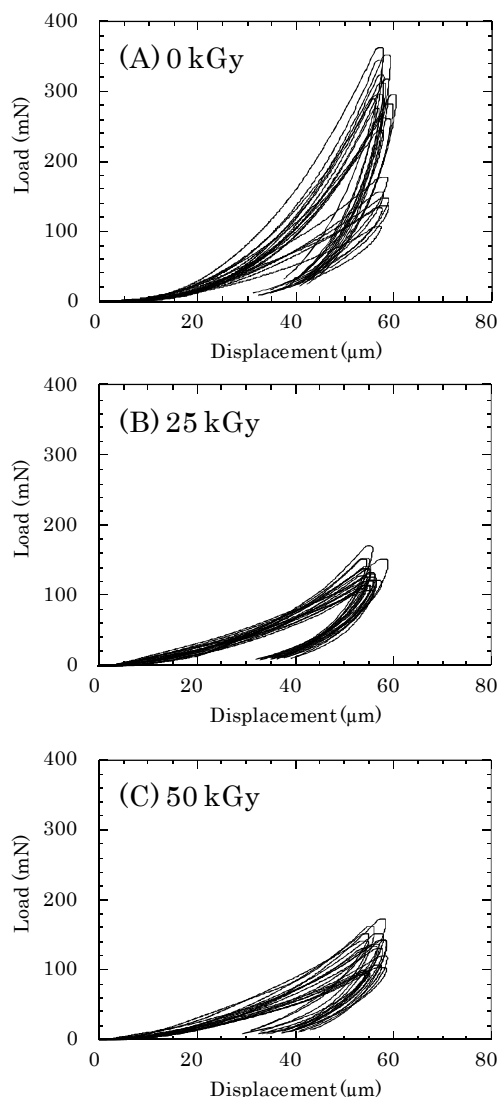


図5 ガンマ線照射 PVC シートの Load-displacement 曲線
 (A) 未滅菌試料
 (B) 25 kGy 滅菌線量試料
 (C) 50 kGy 過剰照射試料

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 3 件)

1. Ito R, Miura N, Ushiro M, Kawaguchi M, Nakamura H, Iguchi H, Ogino J, Oishi M, Wakui N, Iwasaki Y, Saito K, Nakazawa H. Effect of gamma-ray irradiation on degradation of di(2-ethylhexyl)phthalate in polyvinyl chloride sheet. Int. J. Pharm., 376(1-2) (2009) 213-218. 査読有り
2. Ito R, Miura N, Iguchi H, Nakamura H,

Ushiro M, Wakui N, Nakahashi K, Iwasaki Y, Saito K, Suzuki T, Nakazawa H. Determination of tris(2-ethylhexyl)trimellitate released from PVC tube by LC-MS/MS. Int. J. Pharm., 360(1-2) (2008) 91-95. 査読有り

3. Ito R, Miura N, Kawaguchi M, Ushiro M, Iguchi H, Iwasaki Y, Saito K, Nakazawa H. Simultaneous Determination of Di(2-ethylhexyl)phthalate, Mono(2-ethylhexyl)phthalate, and Phthalic Acid Migrating from Gamma-Ray Irradiated Polyvinyl Chloride Sheet by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. J. Liq. Chrom. Related Technol., 31 (2008) 198-209. 査読有り

[学会発表] (計 14 件)

1. 伊藤里恵、医療機器からの可塑剤溶出に関する研究. 第22回バイオメディカル分析科学シンポジウム 2009年7月 内藤記念くすり博物館
2. Rie Ito et al., Effect of gamma-ray irradiation on degradation of di-(2-ethylhexyl)phthalate in polyvinyl chloride sheet. HPLC Kyoto 2008年12月 京都大学 桂キャンパス
3. 伊藤里恵、中村博子ら、ポリ塩化ビニル製医療機器から溶出する可塑剤の分析および暴露評価. フィジカル・ファーマフォーラム2008 2008年3月 星薬科大学
4. 伊藤里恵、三浦直子ら、緩和医療における医療機器の安全性確保に関する研究(その1)—PCA から溶出する可塑剤測定—. 第1回緩和医療薬学会 2007年10月 星薬科大学
5. 三浦直子、伊藤里恵ら、ガンマ線照射によるPVC製医療機器からの可塑剤溶出への影響. 日本分析化学会第56年会 2007年9月 徳島大学
6. 中村博子、伊藤里恵ら、紫外線照射によるトリメリット酸トリス(2-エチルヘキシル)の分解挙動. 日本分析化学会第56年会 徳島大学

6. 研究組織

(1) 研究代表者

伊藤 里恵 (ITO RIE)

星薬科大学・薬学部・助教

研究者番号：90398892