開心術における血中可塑剤濃度の変化

— DEHP と TOTM の血中濃度の比較 —

日比谷信 海江田章¹⁾ 石川隆志¹⁾ 山内章弘¹⁾ 豊崎正人¹⁾ 三澤健治¹⁾ 榊原未和¹⁾
杉森美幸¹⁾ 山本 賢¹⁾ 石田沙織¹⁾ 服部良信²⁾ 伊藤康宏³⁾ 井平 勝 渡邊浩次

要旨 体外循環で用いられる軟質塩化ビニルチューブは可塑剤として di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) を利用してきた。DEHP 代替可塑剤として tri(2-ethylhexyl) trimellitate (TOTM) を使用したものが開発・実用化された。開心術症例において TOTM を用いた体外循環回路を使用する機会を得たので、体外循環中の血中可塑剤濃度を経時的に測定し比較検討した。DEHP および TOTM の濃度測定には高速液体クロマトグラフィーを用いた。TOTM 群の体外循環開始 15 分後以降の DEHP 濃度は、DEHP 群が有意に高値を示した。DEHP 群のすべての採血時における血中 DEHP 濃度は、TOTM 群の同じ時点での血中 TOTM 濃度より有意に高値を示した。TOTM の血中溶出量は DEHP 溶出量と比較し極めて少なく、TOTM は可塑剤の生体被爆を軽減する一物質であると考えられる。更に、DEHP を含む医療材料を可能な限り使用しないことが、可塑剤の生体被爆を軽減するのに有効と考える。

索引用語: 可塑剤、DEHP、TOTM、血液回路、HPLC

Comparative study of DEHP and TOTM elution during cardiac surgery using extra corporeal circulation

Makoto Hibiya, Akira Kaieda¹⁾, Takashi Isikawa¹⁾, Akihiro Yamauchi¹⁾, Masahito Toyosaki¹⁾, Kenji Mizawa¹⁾, Miwa Sakakibara¹⁾, Miyuki Sugimori¹⁾, Masaru Yamamoto¹⁾, Saori Ishida¹⁾, Yoshinobu Hattori²⁾, Yasuhiro Ito³⁾, Masaru Ihira, Koji Watanabe

Key words : plasticizer, DEHP, TOTM, extracorporeal circuit, HPLC

[J Extra-Corporeal Technology 34(2) : 87-90, 2007]

I. 緒 言

人工心肺や血液浄化の血液回路に用いられるチューブは、適度な柔らかさ、優れた透明性と耐薬品性を併せ持つ軟質塩化ビニルチューブが使用されている。この柔軟性と機械的性質を向上させるため可塑剤が 10~60% の割合で配合されている。

体外循環で用いられる軟質塩化ビニルチューブには可塑剤として di(2-ethylhexyl) phthalate (以下 DEHP) が使用されてきた。近年の内分泌攪乱物質に対する社会的関心やげっ歯類に対する精巢毒性および発生毒性が確認されていることから、特に医療用具を生産する産業界においては様々な自主的取り組みが進められている。

医薬品・医療用具等安全性情報 182 号が 2002 年に出版されて以降、DEHP の代替可塑剤として tri(2-ethylhexyl) trimellitate (以下、TOTM) を使用したものが開発され実用化された。TOTM 含有製品は当初、透明性・柔軟性が DEHP 含有製品より劣っていたが、改良が進み、現在では遜色ないと考える。

今回、開心術症例において TOTM を可塑剤として用いた体外循環回路を使用する機会を得たので、体外循環中の血中 TOTM 濃度を測定し、DEHP を可塑剤として用いた体外循環回路使用症例と比較検討したので報告する。

II. 研究方法

1. 対 象

検討対象は、2005 年 2 月から 11 月までに藤田保健衛生大学病院にて施行した開心術症例で、体外循環施行症例 29 例、うち DEHP 含有チューブを使用した 18 例 (以下、DEHP 群) と、TOTM 含有チューブを使用した 11 例 (以下、TOTM 群) である。コントロールは、体外循環を用いない冠動脈バイパス術を施行した 9 例 (以下、コントロール群) である。

体外循環施行症例は全例ローラーポンプ送血、落

◎藤田保健衛生大学短期大学

日比谷信 (Makoto Hibiya)

Fujita Health University College

1-98, Dengakugakubo, Kutsukake, Toyoake, Aichi
470-1192, Japan

1) 藤田保健衛生大学病院・ME 管理室

2) 藤田保健衛生大学・医学部 呼吸器外科

3) 藤田保健衛生大学・衛生学部

表1 対象

体外循環症例	症例数	体外循環時間 (min.)	最低膀胱温 (℃)
DEHP 群			
冠動脈バイパス術	5	166±58	29.6±6.9
弁置換術	6		
人工血管置換術	4		
肺動脈血栓内臓摘除術	3		
TOTM 群			
冠動脈バイパス術	1	220±103	25.8±7.3
弁置換術	2		
人工血管置換術	5		
肺動脈血栓内臓摘除術	3		
コントロール			
off-pump CABGs (OPCABG)	9		

差脱血にて循環した。

DEHP 群と TOTM 群の体外循環時間はそれぞれ 166 ±58 分、220±103 分であった。最低膀胱温は 29.6 ±6.9℃、25.8±7.3℃であった。体外循環時間と最低膀胱温はともに DEHP 群と TOTM 群の間で有意な差はなかった(表 1)。

2. 方法

1) 検体の採取

患者血液は開心術中に血液検査を目的に採取された血液で、検査測定後に残った血液を供出した。研究目的に血液を供出することに関しては事前に患者の同意を得た。

体外循環症例では、麻酔導入終了後、体外循環開始 15 分後、復温直前、体外循環終了直前と硫酸プロタミン投与 15 分後に血液を採取した。コントロール群では、麻酔導入終了後とグラフト吻合終了直後に血液を採取した。

採取した血液は遠心分離し、上清を-20℃以下に保存した。

2) 試薬

DEHP 標準品、アセトニトリル(高速液体クロマトグラフィ(以下、HPLC)グレード)、ヘキサン(特級)と水酸化ナトリウム(特級)は和光純薬工業から調達した。TOTM 標準品は林純薬より調達した。超純水は Mili-Q システムを用いて採水した。その他の試薬は、すべて特級品を用いた。

すべてのガラス器具は、メタノールとヘキサンで洗浄した後、280℃ 3 時間加熱処理した。

3) 分析用検体の前処理

(1) DEHP 分析

凍結された血漿を室温で解凍し混和した後、その 100μL をガラス試験管に入れ、これに 1 M 水酸化ナトリウム溶液 100μL、アセトニトリル 500μL、ヘキサン 2 mL を順に加え 5 分間振とう後、3,000rpm 5 分間遠心しヘキサン層を別に用意したガラス試験管へ移した。残渣の入った試験管に再度ヘキサン 2 mL を加え同様の操作を行った。これを 40℃に加温し、窒素気流下にヘ

キサンを蒸発させ、残渣にアセトニトリル 1 mL を加え、振とう遠心し、上清を HPLC に供した。

(2) TOTM 分析

凍結された血漿を室温で解凍し混和した後、その 1 mL をガラス試験管に入れ、これに 1 M 水酸化ナトリウム溶液 500μL、アセトニトリル 1 mL、ヘキサン 3 mL を順に加え 5 分間振とう後、3,000rpm 5 分間遠心しヘキサン層を別に用意したガラス試験管へ移した。残渣の入った試験管に再度ヘキサン 2 mL を加え同様の操作を行った。これを 40℃に加温し、窒素気流下にヘキサンを蒸発させ、残渣にアセトニトリル 200μL を加え、振とう遠心し、上清を HPLC に供した。

4) 分析方法

DEHP 濃度および TOTM 濃度は、HPLC を用いて分析定量した。分析システムの構成は、デガッサー DG-980-50J (日本分光)、ポンプ PU-980 (日本分光)、オートサンプラー AS-950 (日本分光)、カラムオーブン (島津製作所)、検出器 UV-1570M (日本分光)、データ分析器 Power Chrom (AD Instrument)を用いた。分析カラムは、CAPCELL PAK C₁₈ UG120 (資生堂)を用いた。分析用溶離液は DEHP 分析では 95%アセトニトリル溶液を用い、TOTM 分析ではアセトニトリル試薬をそのまま用いた。溶離速度、カラム温度と分析時間はともに、それぞれ 1 mL/min、40℃、10 分とした。検出する吸光度は、DEHP 分析では 202nm、TOTM 分析では 215nm とした¹⁾。

図 1 は DEHP 分析の典型的なクロマトグラムである。描かれた 2 本のクロマトグラムのうち下側は 1 μg/mL の DEHP 標準液のクロマトグラムである。上側は DEHP 群の患者血清のクロマトグラムである。このクロマトグラムの DEHP ピーク面積から患者血清の DEHP 濃度は 9.42 μg/mL となった。

図 2 は TOTM 分析の典型的なクロマトグラムである。描かれた 2 本のクロマトグラムのうち下側

図1 DEHP クロマトグラム

は 1 $\mu\text{g/mL}$ の TOTM 標準液のクロマトグラムである。上側は TOTM 群の患者血清のクロマトグラムである。このクロマトグラムの TOTM ピーク面積から患者血清の TOTM 濃度は 0.24 $\mu\text{g/mL}$ となった。

5) データの統計学的評価

DEHP および TOTM の定量は外部標準法を用いて行った。統計処理には Student-t 検定を用い、両側検定で p 値が 0.01 を下回った場合を有意とした。

III. 結果

1. DEHP 群・TOTM 群・コントロール群における血液中 DEHP 濃度の経時的変化

DEHP 群の麻酔導入終了後、体外循環開始 15 分後、復温直前、体外循環終了直前と硫酸プロタミン投与 15 分後における血中 DEHP 濃度は、それぞれ $0.24 \pm 0.24 \mu\text{g/mL}$ 、 $1.26 \pm 1.01 \mu\text{g/mL}$ 、 $3.18 \pm 2.21 \mu\text{g/mL}$ 、 $3.94 \pm 2.35 \mu\text{g/mL}$ 、 $2.06 \pm 1.13 \mu\text{g/mL}$ であった。

TOTM 群では、 $0.14 \pm 0.26 \mu\text{g/mL}$ 、 $0.37 \pm 0.49 \mu\text{g/mL}$ 、 $1.00 \pm 0.86 \mu\text{g/mL}$ 、 $1.71 \pm 1.44 \mu\text{g/mL}$ 、 $1.04 \pm 0.71 \mu\text{g/mL}$ であった。

体外循環開始 15 分後以降の DEHP 濃度は、DEHP 群が TOTM 群より有意に高値を示した。

コントロール群の麻酔導入終了後とグラフト吻合終了直後では、それぞれ $0.08 \pm 0.11 \mu\text{g/mL}$ 、 $0.73 \pm$

$0.76 \mu\text{g/mL}$ であった。

グラフト吻合終了直後の DEHP 濃度は、DEHP 群がコントロール群より有意に高値を示した。

3 群の麻酔導入終了後において DEHP が検出されたが、それぞれの群の間に有意な差は認められなかった (図 3)。

2. DEHP 群・TOTM 群・コントロール群における血液中の TOTM 濃度の経時的変化

TOTM 群の麻酔導入終了後、体外循環開始 15 分後、復温直前、体外循環終了直前と硫酸プロタミン投与 15 分後における血中 TOTM 濃度は、それぞれ測定感度以下、 $0.05 \pm 0.05 \mu\text{g/mL}$ 、 $0.21 \pm 0.13 \mu\text{g/mL}$ 、 $0.28 \pm 0.13 \mu\text{g/mL}$ 、 $0.15 \pm 0.07 \mu\text{g/mL}$ であった。

DEHP 群とコントロール群のそれぞれの検体は測定感度以下であった。

3. 血中可塑剤濃度の増加率変化

DEHP 群の血中 DEHP 濃度と、TOTM 群の血中 TOTM 濃度について、体外循環開始 15 分後に対する復温直前の、復温直前に対する体外循環終了直前の、そして体外循環終了直前に対する硫酸プロタミン投与 15 分後の濃度増加倍数を示した。DEHP 群の血中 DEHP 濃度では、 5.12 ± 4.36 倍、 1.45 ± 0.74 倍、 0.63 ± 0.33 倍であった。TOTM 群の血中 TOTM 濃度では、 11.19 ± 10.29 倍、 1.57 ± 0.90 倍、 0.58 ± 0.16 倍であった。両群間には有意な差は認められなかった (図 4)。

図 2 TOTM クロマトグラム

図 3 血液中 DEHP 濃度の経時的変化

IV. 考察

DEHP 群のすべての採血時における血中 DEHP 濃度は、TOTM 群の同じ時点での血中 TOTM 濃度より有意に高値を示した。(図 5) TOTM 群の TOTM 濃度は体外循環開始 15 分後では DEHP 群の DEHP 濃度の 1/24、復温直前では 1/15、体外循環終了直前では 1/14、硫酸プロタミン投与後 15 分後では 1/13 となり、TOTM の血液への溶出は明らかに少ない。In vitro 基礎研究では、TOTM の血清への溶出が DEHP に比較し 1/100 程度に抑えられるとの報告¹⁾からも TOTM 可塑剤の

図 4 DEHP 群の血液中 DEHP 濃度と TOTM 群の血液中 TOTM 濃度の増加率変化の比較

利用は生体への可塑剤被爆を低減する有効な方法と考える。

TOTM 群の DEHP 濃度の推移は体外循環回路から溶出する DEHP 由来とは考えにくく、他に輸液チューブ、補液や血液製剤由来と考える。特に血液製剤由来の可能性は高いと考える。これは、体外循環施行下で行われる開心術では、従来から血液製剤を多用してきた。現在においても、貧血や膠質浸透圧の改善を目的に少なからず使用されることから予想できる。

また TOTM 群の DEHP 濃度と DEHP 群の DEHP 濃度の差は体外循環回路由来と考える。各採血時の各患者の DEHP 群の DEHP 濃度から TOTM 群の平均 DEHP 濃度を減じた値と TOTM 群の DEHP 濃度を比較すると有意な差はなかった。このことから、体外循環回路以外の医療用具からの DEHP 混入量と体外循環回路からの溶出量とに大きな差がないと考える。

生体適合性の向上を目的にコーティングまたは内面被覆された軟質塩化ビニルチューブからの経時的 DEHP 溶出の基礎的研究において、その溶出軽減効果があるとの報告²⁾から、改良されたチューブを利用することで体外循環回路からの DEHP 溶出は更に軽減できると考える。

DEHP 群の血中 DEHP 濃度と、TOTM 群の血中 TOTM 濃度の採血ポイント間の増加率変化では、ともに体温が低下している間は高く、正常体温では低い。DEHP の代謝は肝臓でのグルクロン酸抱合や硫酸抱合により³⁾、モノエステル化され、その大部分が尿から排泄される^{4, 5)}ことから、体温が低い状態では代謝が十分に行われず DEHP 血中濃度が上昇する。体温が正

常に復温されれば代謝も正常となり DEHP 血中濃度は減少することが考えられる。TOTM の代謝に関しては報告がなく代謝経路を確認できないが今回の検討では変化率に差がなく DEHP と同様に代謝されていると考える。

V. 結 論

TOTM の血中への溶出量は DEHP の溶出量と比較し極めて少なく、術中の総暴露量は十分に低く抑えることができると考えられる。よって TOTM は可塑剤の生体被爆を軽減する一物質であると考えられる。加えて、DEHP を含む医療材料を可能な限り使用しないことが、可塑剤の生体被爆を軽減するのに有効であると考えられる。

なお可塑剤の種類は異なっても生体内での代謝は同様に行われていると考えられる。

●参考文献

- 1) 日比谷信, 渡邊浩次, 伊藤康宏, ほか: 体外循環用血液回路からの可塑剤溶出の基礎的検討—DEHP と TOTM の溶出の比較—. 体外循環技術, 33(1);16-19, 2006.
- 2) 榊原末和, 石川隆志, 日比谷信, ほか: 体外循環用軟質ポリ塩化ビニルチューブからの可塑剤溶出の基礎的検討. 体外循環技術, 31(2);139-142, 2000.
- 3) Albrow PW, Thomas R, Fishbein L.: Metabolism of diethyl - hexyl phthalate by rat. Isolation and characterization of the urinary metabolites. J Chromatogr, 76; 321-330, 1973.
- 4) Kato K, Silva MJ, Calafat AM, et al.: Mono (2-ethyl-5-hydroxyhexyl) phthalate and mono-(2-ethyl-5-oxohexyl) phthalate as biomarkers for human exposure assessment to di-(2-ethylhexyl) phthalate. Environ Health Perspect, 112(3); 327-330, 2004.
- 5) Silva MJ, Barr DB, Brock JW, et al.: Glucuronidation patterns of common urinary and serum monoester phthalate metabolites. Arch Toxicol, 77(10);561-567, 2003.

図5 DEHP 群の血液中 DEHP 濃度と TOTM 群の血液中 TOTM 濃度の経時的変化の比較

〔 本論文は、第 32 回日本体外循環技術学会大会にて報告した。 〕