血液回路から Di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) 溶出防止対策とその効果

橋本 貴仁^{*1} 吉本 裕^{*1} 菅野 有造^{*1} 阿部 薫^{*2}
芝本 隆^{*1}

東京医科歯科大学医学部附属病院血液浄化療法部^{*1} 清湘会記念病院^{*2}

key words : 血液透析用回路, PVC, 溶出物, Di(2-ethylhexyl) phthalate, Tris(2-ethylhexyl) trimellitate

〈要旨〉

【目的】一般に塩化ビニルの可塑剤にはフタル酸エステル (DEHP) が用いられ血液回路からの DEHP 溶出が懸念される。そこで血液回路のポンプチューブ部に着目し機械的負荷と DEHP 溶出の関係を観察した。さらに、ポンプチューブ部内表面被膜処理、材質変更、DEHP に代わる可塑剤 Tris (2-ethylhexyl) trimellitate (TOTM) を用いた回路が DEHP 溶出防止に有用か否か実験的に検討した。【方法】1. ポンプチューブ使用実験 : 内径 0.8 cm, 100 cm のポンプチューブ内に 5% アルブミン溶液を充填した。1) 充填後のチューブを 8℃ で 48 時間放置し放置後の DEHP 濃度を測定した。2) チューブを血液ポンプに装着し 100 mL/min の流量にて 60 分循環し循環前後の DEHP を測定した。使用した回路は市販品とヘパリン内表面皮膜処理チューブの 2 種である。2. 全血液回路循環実験 : 1) 回路内に 5% アルブミン溶液を充填し流量 100 mL/min で 240 分再循環し循環前後の DEHP を測定した。2) 回路内容量を変化させ 60 分循環し循環前後の DEHP を測定した。実験は DEHP を可塑剤に用いた市販血液回路、その市販血液回路のポンプチューブ部のみシリコン変更回路、同じくポンプチューブ部のみ TOTM 変更回路、さらに TOTM を可塑剤とした全 TOTM 回路の 4 種を用いた。回路内容量は 118 mL, 136 mL である。【結果】1 : 2 種の回路はともに放置および機械的負荷実験で DEHP は増加した。2 : 市販回路で DEHP は循環前に比べ循環後に増加し、TOTM 回路で溶出はなかった。ポンプチューブ部のみシリコン、TOTM に変更の回路は市販回路に比し DEHP 溶出を 50% 阻止できた。【結語】血液回路全体の DEHP 溶出の 50% はポンプチューブ部であり、ポンプチューブ部のみ材料・材質変更により DEHP は 50% 溶出防止可能である。TOTM を可塑剤とする血液回路から DEHP, TOTM は検出されなかった。

Study of countermeasures to prevent Di(2-ethylhexyl) phthalate elution from blood tubing

Takahito Hashimoto^{*1}, Yutaka Yoshimoto^{*1}, Yuzo Kan-no^{*1}, Kaoru Abe^{*2}, Takashi Shibamoto^{*1}
Department of Blood Purification, Tokyo Medical and Dental University^{*1}; Foundation of Seishoukai, Seishoukai Memorial Hospital^{*2}

A relationship between mechanical load and the elution of Di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) was observed with a primary focus on the blood circuit pump tubing site. Furthermore, this study investigated whether the pump tubing internal surface coating, change in the materials, and utilization of tubing with a plasticizer Tris (2-ethylhexyl) trimellitate (TOTM) substituted for DEHP, would be effective in preventing DEHP elution.

Methods : 1. An Experiment with Pump-Tubing. Pump tubing with 0.8 cm internal diameter and 100 cm length was filled with 5% albumin solution. 1) After the tubing was filled with the test solution, under the temperature of 8℃ for 48 hours. The DEHP level was measured after the period of 48 hours. 2) The tubing was attached to a blood pump. And the test solution was circulated at a flow rate of 100 mL/minute for 60 minutes. Before and after circulation DEHP levels were measured. Two types of blood tubing were examined in this

experiment : A commercially available tubing and a tubing with conventional heparin coating on the internal surface. 2. An Experiment with an Entire Blood Tubing. 2-1) Tubing was filled test solution and the test solution was circulated at a flow rate of 100 mL/minute for 240 minutes. Before and after circulation, DEHP levels were measured. 2-2) The test solution in the tubing was circulated for 60 minutes using tubing with different internal diameters. Before and after circulation DEHP levels were measured. Four types of tubing were examined in this experiment : A commercially available tubing using DEHP, a commercially available tubing with an alternated pump tubing with a different silicon material, an alternated circuit with TOTM on the pump tubing, and an all TOTM tubing system. The internal diameters of the tubing were 118 mL and 136 mL.

Results : 1. The DEHP levels of these two types of tubing both increased after the neglect experiment and the mechanical load experiment. 2-1) With the commercially available tubing, the DEHP levels after circulation showed a greater increase than that before circulation. 2-2) There was no elution observed with TOTM tubing. The system with silicon material only on the pump tubing and the alternated TOTM tubing prevented DEHP elution fifty percent (50%) more than the commercial available tubing circuits.

Conclusion : Fifty percent (50%) of DEHP elution in the entire tubing was derived from the pump tubing site ; thus, 50% of DEHP elution can be prevented by changing the pump tubing material and its placement method. The DEHP and/or TOTM level was not detected in blood tubing with a TOTM plasticizer.

緒 言

一般に血液透析用回路を含む医療用具の多くはポリ塩化ビニル樹脂 (PVC) が素材として用いられている。PVC は安価で柔軟性および耐久性に優れ添加する可塑剤の量によりその硬度を任意に変化させることが可能である。通常、PVC の可塑剤には Di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) が用いられるが DEHP は毒性^{1,2)}、催奇形成³⁾などを起こす内分泌攪乱物質と懸念されている。しかし、現時点で DEHP は人体に影響を及ぼしたとの報告はなく、現在も DEHP を可塑剤とする PVC は医療分野で広く使用されている。

アメリカ FDA では治療別 DEHP 曝露量についてのアセスメントを発表した。医療分野における DEHP の曝露量を成人体重 70 kg 時の数値で表している⁴⁾。静脈用カテーテルおよび輸血セット、人工心肺回路など PVC を使用しているすべての医療用具から DEHP が溶出すると報告されている。血液浄化関連ではアフエレーシスで 0.03、血液透析で 0.36、腹膜透析で 0.01 mg/kg/day 以下の数値である。わが国でも医療用具からの DEHP の溶出が問題視されはじめ、平成 13 年には選定された試験製品の DEHP 曝露量が提示された。このような背景から各メーカーは DEHP に変わる可塑剤として Tris(2-ethylhexyl) trimellitate (TOTM) を用いた血液回路作成を試みているがコスト増の問題が懸念されている。

われわれは可塑剤が多く含有され、機械的負荷を受ける血液回路のポンプチューブ部分に着目し、その DEHP 溶出特性を明らかにすることを目的とした。DEHP を可塑剤とする市販回路からポンプチューブ

部のみを取り出し、DEHP 溶出を放置状態と機械的負荷を加え検討した。さらに、チューブ部内表面へパリリン皮膜処理の効果について評価を加えた。一方、全血液回路を用いたポンプチューブ部からの DEHP 溶出は、ポンプチューブのみをシリコンおよび TOTM に置換した回路を試作し DEHP の溶出特性を明らかにすることを目的とし、ポンプ変更回路の有用性について検討した。

I. 方 法

1. ポンプチューブ部のみを用いた DEHP 溶出

実験材料には内径 0.8 cm、外径 1.25 cm、長さ 100 cm、の市販ポンプチューブ部 (市販品：東レ社製) および市販品のポンプチューブ部内面にヘパリン被膜処理 (ヘパリン被膜) した 2 種のポンプチューブを用いた。

1) 放置実験

ポンプチューブ部に実験溶液を 50 mL 充填し 8°C で 48 時間放置した。放置前後のポンプチューブ部内の実験溶液を採取し DEHP を測定した。

2) 機械的負荷実験

ポンプチューブ部に実験溶液を 50 mL 充填後、血液ポンプのローラー部に装着し流量 100 mL/min (37°C) で 60 分間循環した。循環前後のポンプチューブ部内の溶液を採取し DEHP を測定した。実験溶液には 5% アルブミン (ブミネート、Baxter 社) を、DEHP 分析はガスクロマトグラフィを用いた (図 1)。

2. 全血液回路を用いたポンプチューブ部の DEHP 溶出

実験に用いた血液回路は DEHP を可塑剤に用いた

市販血液回路(市販回路：日機装社製，回路内容量 118 mL)，市販回路のポンプチューブ部のみをシリコンに置換した血液回路 (PS 回路)，同じくポンプチューブ部のみを TOTM に置換した血液回路 (PT 回路) を用い評価した。さらに，可塑剤に TOTM を用いた血液回路 (ATOTM：日機装社製，回路内容量 118 mL)，(BTOTM：ニプロ社製，回路内容量 140 mL) からの DEHP および TOTM の溶出を確認した。

回路内容量と DEHP 溶出の検討は市販回路を用いて行い，回路内容量は 118 mL，136 mL の 2 種である (図 2)。評価ポイントは DEHP を可塑剤とした市販血液回路のポンプチューブ部からの DEHP 溶出と血液

回路内容量と DEHP 溶出の関係である。

実験は再循環バッチ法で行い実験回路に実験溶液 200 mL 充填後，流量 100 mL/min (37°C) で 240 分間循環した。循環前，60，120，180，240 分後の容器内溶液を 10 mL 採取し DEHP を測定した。また，BTOTM では実験溶液 250 mL を使用し上記条件と同様に TOTM を測定した。

回路内容量を変化させた DEHP 溶出実験では流量 100 mL/min (37°C) で 60 分間循環前後の容器内溶液を 10 mL 採取し DEHP を測定した。実験溶液は 5% アルブミン，溶液量は 200 mL を使用し DEHP の分析は液体クロマトグラフィを用いた (図 3)。統計学的解析は Student's t-test を用い，危険率 5%未満を有意とした。

3. DEHP 分析方法

1) ガスクロマトグラフィ

ガスクロマトグラフィによる分析では検液 7 mL を遠沈管に採り EDTA・2K，2 mg とヘキサン 2 mL を加えて 3 分間振盪混和後，遠心分離を行い分離したヘキサン層 2 μ L をガスクロマトグラフィで測定した。あらかじめ標準品を用いて作成した検量線より検液中 DEHP として定量した。また，再現性を得るために同一検体を測定した。測定装置は日立製作所 263-50，カ

図 1 ローラーポンプチューブ評価(1)

図 2 循環実験に用いた血液回路仕様について

図 3 血液回路全体評価(2)

表 DEHP の分析（ガスクロマトグラフィと液体クロマトグラフィ）

1. ガスクロマトグラフィ条件
ガスクロマトグラフィ：263-50（日立），データ処理装置 D-2500
カラム：Uniport HP 80/100（GL サイエンス）
カラム充填剤：Uniport HP 80/100 mesh, SiliconeOV-12%
カラム温度：カラム 220°C 検出器（FID）280°C 注入口 280°C
ガス：キャリアガス N ₂ 50 mL/min H ₂ 0.098 Mpa Air 0.098 Mpa
2. 液体クロマトグラフィ条件
装置：SCL-10 vp（島津製作所）
カラム：イナートシル SIL-100A（GL サイエンス）
カラム温度：40°C 付近の一定温度
検出波長：UV 280 nm
移動相流速：1.5 mL/min

図 4 ローラーポンプ部放置および機械的負荷による DEHP 溶出量（3 回の平均値）

ラムは uniportHP 80/100（GL サイエンス社製）を使用した。カラム充填，カラム温度，ガスなどの条件については表に示した。

ガスクロマトグラフィの分析では DEHP のピーク面積と DEHP の濃度の間に $r=0.98$ ($p<0.01$) の正の相関を示しこれを検量線とした。同一検体の再現性は変動係数 24.6% ($n=4$) であった。

2) 液体クロマトグラフィ

液体クロマトグラフィ分析では測定装置に島津製作所 SCL-10vp，カラムにイナートシル SIL-100A（GL サイエンス社製）を用いた。分析条件はカラム温度を 40°C 付近の一定温度とし，検出波長 UV 280 nm，移動相流速 1.5 mL/min である⁵⁻⁷⁾。

液体クロマトグラフィの分析では DEHP のピーク面積と DEHP の濃度の間に $r=0.99$ ($p<0.01$) の正の相関を認めた。同一検体の再現性は変動係数 2.0% ($n=6$) で良好な結果であった。

II. 結 果

1-1) 放置実験では 8°C，48 時間放置によるポンプチューブ部からの DEHP は放置前に比べ放置後，市販品で検出感度以下 (0.03 mg) → 25 mg，ヘパリン被膜で検出感度以下 → 24 mg を示した。ポンプチューブ

からの DEHP 溶出量は市販品で，25 mg ヘパリン被膜で 24 mg であり，両者の DEHP 溶出量はほぼ同程度であった（図 4 左）。

1-2) 機械的負荷実験では市販品およびヘパリン被膜のポンプチューブとともに循環実験前にくらべ循環後に DEHP はそれぞれ市販品で検出感度以下 (0.03 mg) → 9.5 mg，ヘパリン被膜で検出感度以下 → 10 mg と上昇を認めた。DEHP 溶出量は市販品およびヘパリン被膜でそれぞれ 9.5 mg，10 mg とほぼ同程度であった（図 4 右）。

2. DEHP を可塑剤とする市販回路は実験経過とともに DEHP 測定値は上昇し，前，検出感度以下 (0.06 mg)，60 分後 0.21 mg，120 分後 0.24 mg，180 分後 0.28 mg，240 分後 0.32 mg であり 60 分値で最も増加を認めた。一方，ATOTM 回路の循環実験溶液からは経過時間中 DEHP 値は感度以下であった（図 5）。また，BTOTM 回路では実験溶液中の TOTM 値は検出感度以下 (0.07 mg) であった（図 6）。

血液回路ポンプチューブ部材質変更による DEHP 溶出量は PS 回路および PT 回路は時間経過とともに DEHP 測定値は上昇した。PS 回路では前，検出感度以下 (0.06 mg)，60 分後 0.14 mg，120 分後 0.15 mg，180 分後 0.17 mg，240 分後 0.16 mg/L であった。一方，PT 回路では，前，検出感度以下 (0.06 mg)，60 分

図 5 市販血液回路と ATOTM 回路による経時的な DEHP 溶出量

図 6 BTOTM 回路による経時的な TOTM 溶出量

図 7 市販血液回路とポンプチューブ部材質変更による経時的な DEHP 溶出量

図 8 ポンプチューブ部材質変更による経時的な DEHP 溶出率 (市販 DEHP 回路 100%)

図 9 60 分循環実験回路内容量と DEHP 溶出量 (3 回の平均値)

後 0.14 mg, 120 分後 0.17 mg, 180 分後 0.22 mg, 240 分後 0.19 mg であった。PS 回路および PT 回路は市販回路に比し 240 分後の DEHP 測定値は低値を示した (図 7)。

ポンプチューブ部材質変更での DEHP 溶出量を市販回路溶出量 100% として比較すると、PS 回路 51%, PT 回路 58% と減少を示した。ポンプチューブ部からの DEHP 溶出量は回路全体の 50% を占めた (図 8)。

回路内容量と DEHP 溶出量の関係を図 9 に示す。回路内容量の異なる 2 種の血液回路では、両者ともに DEHP 測定値は 60 分間循環後、上昇した。上昇の程度

は容量 118 mL 回路で前、検出感度以下 (0.06 mg), 後 0.2 mg, 136 mL 回路で前、検出感度以下, 後 0.3 mg であった。

III. 考 察

従来より血液透析用回路の材料には、PVC が使用されている。PVC は適度な耐久性、柔軟性、透明性、また安価などの理由から医療材料として用いる理想的な材料であり他に代替がないとされている。可塑剤は、主に PVC、プラスチックに柔軟性を持たせるために用

いられ、PVC を製品化するには可塑剤の添加が不可欠である⁷⁾。可塑剤のほとんどは酸とアルコールから合成された化合物であり PVC の可塑剤としては 10 種類以上のエステル化合物が存在する。その代表的な可塑剤として Di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) が用いられ PVC との相溶性、加工性、耐寒性に優え、経済面にも有効である。このことから国内で使用される可塑剤の約 80% が DEHP であることは容易に理解されるところである。一方、DEHP は催奇形成、生殖毒性を起こす内分泌攪乱物質と指摘され以前より治療中に PVC から血液中へ溶出すると報告されている。生体での DEHP の排泄経路は体内で加水分解を受けて尿中、胆汁中へ排泄される^{8,9)}。このことから血液透析患者では著しい腎機能の低下のため血液回路からの DEHP 溶出がさらに問題となる。そこで DEHP の溶出を低減するための策として、血液回路内表面を皮膜処理した回路や材料そのものを変更した回路の開発が盛んに行われてきた。しかし、生産コストなどの経済面から考えると実用的とはいえずあまり普及していないのが現状である。

最近、各メーカーは、体内毒性の少ないことや、PVC からの溶出が低いとされる代替可塑剤 Tris (2-ethylhexyl) trimellitate (TOTM) に注目し、TOTM を可塑剤に用いた血液透析用回路の開発が行われ始めた。今回われわれは DEHP の代替可塑剤 TOTM の有用性を再検討するとともに、ポンプチューブ部のみの変更による有用性について検討した。すなわちポンプチューブ部の機械的負荷が DEHP 溶出にどのような影響を及ぼすか詳細に明らかにすることを今回の研究テーマとした。さらに、ポンプチューブ部内表面皮膜処理、材質変更による DEHP 溶出防止に及ぼす影響について検討した。

まず、はじめに DEHP の特性は水などの溶液中には溶出せず蛋白および脂質を含む溶液中に溶出し、その溶出量は脂質の量に相関する^{10,11)}。このことより安定した再現性を得るために今回の溶出実験溶液に 5% アルブミンを用いた。また、放置実験では 48 時間放置するため実験溶液に用いたアルブミンの変性、失活を考え放置温度を 8°C とした。

放置および機械的負荷で PVC 回路内表面被膜処理としてヘパリンを被膜処理した回路からの DEHP 溶出量は市販品とほぼ同程度であった。ヘパリンやゼラチンを回路内表面に皮膜処理した回路は血液と PVC の直接的な接触を防止でき DEHP 溶出を低減できるといわれている¹²⁾。しかし、われわれの行った実験系では、それらを裏付ける結果が得られなかった。その理

由として考えられることは、PVC へ表面被膜したヘパリンの量、PVC とヘパリンの結合方法、PVC の経時的劣化、DEHP 分析方法などが総合的に関与し DEHP 溶出抑制効果が表れなかったと考える。したがって、ヘパリンやゼラチンを回路内に皮膜処理した回路は PVC の経時的劣化などにより血液中への DEHP 溶出を抑制できるか否かに疑問が残った。一方、PS 回路および PT 回路は市販回路に比し DEHP 測定値は低値を、回路内容量と DEHP 溶出量の関係では回路内容量の減少により DEHP 溶出量は減少した。PS や PT のようにポンプチューブ部のみ材質変更を行ったり、回路内容量を減少させることは DEHP 溶出量を大幅抑制できることが示唆された。一般に血液回路作成に用いられる PVC にはメインチューブで 25~30%、ポンプチューブで 45% の DEHP が含有されている。このことより DEHP が最も多く含まれているポンプチューブの材質変更、回路内容量の減少は DEHP 溶出抑制効果を有することは容易に考えられることである。しかし、血液回路の安全性など、総合的に考えると回路内容量を減少させることには限界があり、治療中の操作性、治療機器とのマッチングなど治療が安全に施行できることを最優先しなければならない。したがって、ある程度の容量および長さは不可欠な要因である。われわれは血液回路からの DEHP 溶出抑制対策の一つとして、ポンプチューブ部のみの材質変更を考えた。すなわち、経済性も加味した現実的な DEHP 溶出抑制効果について検討した。

DEHP 溶出量を安全面から考えるとポンプチューブ部のみを材質変更した場合、体重 70 kg の曝露量に換算すると PS 回路 0.002 mg/kg/day、PT 回路 0.003 mg/kg/day となる。この数値はアメリカ FDA のアセスメントによる成人体重 70 kg 時の血液透析 DEHP 曝露量 0.36 mg/kg/day 以下とする報告に比べ PS 回路、PT 回路ともに低値となる。今回、すべての実験系において DEHP および TOTM 溶出が感度以下を示したのは Tris(2-ethylhexyl) trimellitate (TOTM) を可塑剤に用いた回路であった。その理由として TOTM はベンゼン環の側鎖が DEHP に比し 1 本多い物質であり、これにより物質間の結合力が増し溶液中に溶出しにくいと考える。また、TOTM を可塑剤に用いた血液回路の報告によると DEHP を可塑剤に用いた回路にくらべ TOTM は血液に溶出する可塑剤および代謝産物の量は有意に低値を示したと報告されている^{13,14)}。したがって代替可塑剤 TOTM を用いた回路は DEHP 溶出問題を唯一解決できると考える。しかし、DEHP 溶出量を PS 回路で 51%、PT 回

路 58%, 低減できたことは TOTM を可塑剤に用いた透析用血液回路を作成する設備投資や経済性を考慮するとポンプチューブ部のみを材質変更することも、有効な手段の一つと考えられた。

現在も TOTM を含む医療器材の原材料としては PVC が主役であることに異論を持つ人はいない。PVC は DEHP の溶出問題ばかりではなく焼却処理時に発生するダイオキシンが社会問題になっている。ダイオキシンも人体にとって有害な物質とされている。今後、医療器材に用いられる原材料は、安全性や環境面を考慮した地球環境に優しい新たな材料でなければならない。

結 語

Di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) を可塑剤とする血液回路からの DEHP 溶出の 50% はポンプチューブ部であることが確認された。したがって、ポンプチューブ部の材質変更により DEHP は 50% 溶出防止可能である。TOTM を可塑剤とする血液回路から DEHP および TOTM は検出されなかった。

文献

- 1) 宮原智江子, 小義国太郎, 佐藤修二, 清水久世, 岸美智子, 谷 孝之, 荒井一二, 堀口佳哉, 和田 裕: フタル酸エステル系可塑剤の毒性に関する研究. 神奈川県衛生研究所報告 3: 19-34, 1973
- 2) 小高通夫: フタル酸エステル. 臨牀透析 2: 87-96, 1986
- 3) Singh AR, Lawrence WH, Autian J: Teratogenicity of phthalate esters in rats. J Pharm Sci 61: 51-54, 1972
- 4) Center for Devices and Radiological Health, U. S. Food and Drug Administration (FDA), "Safety Assessment of Di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) Released from PVC Medical Devices", September 4, 2001
- 5) 大場琢磨: PVC 樹脂製医療用具から溶出するフタル酸エステルのガスガスクロマトグラフィーによる分析, 衛生試験所報告第 91 号: 1-4, 1973
- 6) 大場琢磨, 伊東 宏, 水町彰吾: ガスクロマトグラフィーによる血液セットから血漿中に溶出するフタル酸ジ (2 エチルヘキシル) の定量分析 (その 2). 衛生試験所報告, 第 92 号: 9-12, 1974
- 7) 池亀 守: 血液回路材質から溶出する可塑剤の定量について. Clinical Engineering 7: 357-361, 1996
- 8) 小笠原宏, 松宮俊治: 無可塑塩ビの医療分野への応用. 医器学 59: 257-265, 1989
- 9) WHO Environmental Health Criteria 131: Di ethylhexyl Phthalate, 54, 1992
- 10) IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Man. World Health Organization, International Agency for Research on Cancer 29: 269-294, 1982
- 11) Kambia K, Dine T, Azar R, Gressier B, Luyckx M, Brunet C: Comparative study of the leachability of di(2-ethylhexyl) phthalate and tri(2-ethylhexyl) trimellitate from haemodialysis tubing international. Journal of Pharmaceutics 229: 139-146, 2001
- 12) 品川 茂, 平沢由平: ゼラチン架橋処理を施した人工腎臓用血液回路の試作. 人工透析研究会会誌 17: 740-741, 1984
- 13) Flaminio LM, Angelis LDe, Ferazza M, Marinovich M, Galli G, Galli CL: Leachability of a new plasticizer tri-(2-ethylhexyl)-trimellitate from haemodialysis tubing. Int J Artif Organs 11: 435-439, 1988
- 14) Arge B, Diehl V, Hagstam K-E, Lundeberg M: In vivo comparative evaluation of hemodialysis tubing plasticized with DEHP and TEHTM. Int J Artif Organs 14: 407-410, 1991