

DEHP代替可塑剤を利用した新規血液バッグの開発 —ラット精巣に及ぼすDOTPの影響評価—



○ 龍島由二¹, 福井千恵¹, 山崎佳世², 野村祐介¹, 小園 知¹, 熊田秀文³, 藤澤彩乃⁴, 井上 薫¹, 森川朋美¹, 市村亮平¹, 前田 潤¹, 高橋美和¹, 河上強志¹, 伊佐間和郎¹, 柚場俊康⁵, 浜田信城³, 鄭 雄一⁴, 小川久美子¹, 新見伸吾¹, 吉田 緑¹ (¹国立衛研, ²民生科学協会, ³神奈川歯大, ⁴東大, ⁵川澄化学)

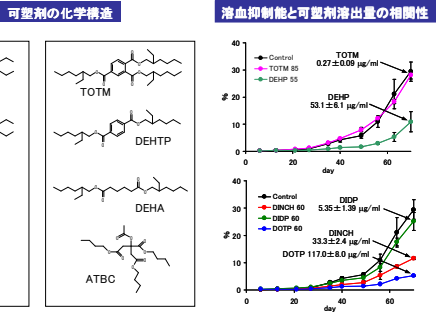
背景, 目的, 方法

【背景・目的】 PVC製医療機器の代表的可塑剤であるDEHPの使用はリスク回避の観点から各国において規制が強化されている。血液バッグについては、DEHPが赤血球保護作用を有するため、その使用が例外的に認められているが、近年我々はDOTP及びDINCHがDEHPと同等の溶血抑制作用を示すことを見出した。DOTPは耐寒性に優れた可塑剤であり、凍結保存時の耐久性の向上も期待できるが、その毒性は殆ど評価されていない。本研究では、より安全性の高い血液バッグを開発する一環として、精巣への影響評価を中心としたDOTPのラット垂慢性毒性試験を実施した。

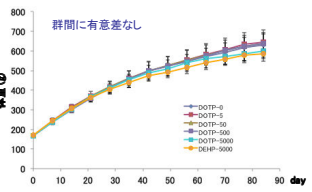
【実験方法】 飼化した5週齢のSD系雄ラット(8匹/群)にDEHP(5000 ppm)及び種々の量のDOTP(0, 5, 50, 500, 5000 ppm)を13週間混餌投与した。イソフルラン麻酔下、断頭採血し、放血殺後の動物を用いて、雄性生殖器を含む全身諸臓器の詳細な病理的検査を実施した。精子数は右精巣上体をPBS中で細切し、Hoechst染色後、画像解析により計測した。血中ホルモン量はELISAにより測定した。

＜採取臓器一覧＞ 青字: 重量測定臓器
脳、頭蓋骨(下蓋骨、三叉神経、舌を含む)、眼球(両目)、唾液腺(頸部リンパ節含む)、甲状腺・気管・食道・胸部大動脈・縦隔リンパ節・肺(一括採取)、心臓、胸腺、肝臓、脾臓、腎臓(右に割)、副腎、膀胱、胃、小腸、大腸(肛門含む)、膵臓(膵リンパ節(一括採取)、大腸筋、坐骨神経、胸骨、脊椎、精巣、精巣上体、精囊、凝固腺・膀胱・前立腺・尿道球腺(一括採取)、皮膚(乳腺含む)

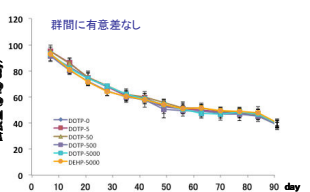
【結果の要約】 DEHP 5000 ppm投与群の肝臓及び腎臓の相対重量が増加した。病理所見として、DEHP 5000 ppm投与群の肝臓のみに肝肥大が観察された。その他の実験群においては、投与に伴う変化が認められなかった。



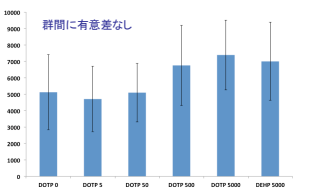
体重変動



摂餌量変動



精子数計測結果



臓器絶対重量

群間に有意差なし

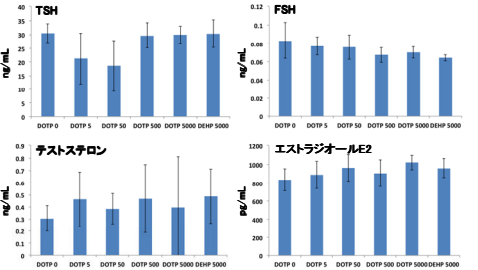
Group	Control	DOTP 5 ppm	DOTP 50 ppm	DOTP 500 ppm	DOTP 5000 ppm	DEHP 5000ppm
No. of animals examined	8	8	8	8	8	8
BW (g)	622.6 ± 63.0*	629.6 ± 51.1	617.3 ± 42.9	630.4 ± 48.9	688.0 ± 42.5	677.0 ± 35.7
Brain (g)	2.22 ± 0.11	2.15 ± 0.07	2.18 ± 0.08	2.17 ± 0.05	2.16 ± 0.09	2.20 ± 0.09
Thymus (g)	0.38 ± 0.06	0.38 ± 0.07	0.39 ± 0.08	0.34 ± 0.09	0.36 ± 0.06	0.35 ± 0.11
Heart (g)	1.79 ± 0.23	1.73 ± 0.11	1.74 ± 0.18	1.80 ± 0.14	1.76 ± 0.17	1.72 ± 0.07
Spleen (g)	0.92 ± 0.16	0.94 ± 0.09	0.89 ± 0.10	0.88 ± 0.13	0.99 ± 0.11	0.93 ± 0.09
Liver (g)	17.58 ± 2.29	17.10 ± 2.28	17.53 ± 2.08	17.72 ± 2.08	18.17 ± 2.05	19.27 ± 1.88
Adrenals (g)	0.065 ± 0.01	0.058 ± 0.01	0.059 ± 0.01	0.058 ± 0.01	0.070 ± 0.01	0.062 ± 0.01
Kidneys (g)	3.93 ± 0.42	3.82 ± 0.27	4.13 ± 0.40	4.09 ± 0.25	4.02 ± 0.23	4.12 ± 0.25
Testes (g)	2.71 ± 0.40	2.74 ± 0.29	2.88 ± 0.24	2.92 ± 0.34	2.90 ± 0.29	2.74 ± 0.21
Epididymides (g)	1.27 ± 0.20	1.29 ± 0.13	1.28 ± 0.10*	1.30 ± 0.08	1.30 ± 0.12	1.22 ± 0.06
Prostate, ventral (g)	0.69 ± 0.12	0.62 ± 0.17	0.60 ± 0.14	0.62 ± 0.16	0.60 ± 0.10	0.60 ± 0.18

臓器相対重量

DEHP 5000 ppm 投与群の肝臓及び腎臓に有意な増加が認められる

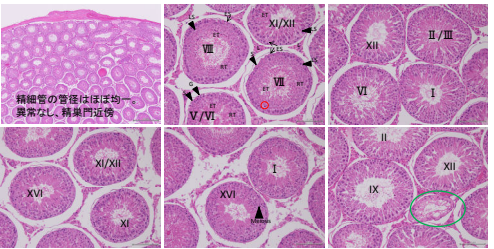
Group	Control	DOTP 5 ppm	DOTP 50 ppm	DOTP 500 ppm	DOTP 5000 ppm	DEHP 5000ppm
No. of animals examined	8	8	8	8	8	8
Brain (g/100gBW)	0.36 ± 0.02*	0.34 ± 0.03	0.36 ± 0.03	0.35 ± 0.03	0.37 ± 0.03	0.38 ± 0.02
Thymus (g/100gBW)	0.06 ± 0.01	0.06 ± 0.01	0.06 ± 0.02	0.06 ± 0.01	0.06 ± 0.01	0.06 ± 0.02
Heart (g/100gBW)	0.29 ± 0.03	0.28 ± 0.03	0.28 ± 0.02	0.29 ± 0.02	0.29 ± 0.02	0.30 ± 0.02
Spleen (g/100gBW)	0.15 ± 0.02	0.15 ± 0.01	0.14 ± 0.02	0.14 ± 0.02	0.14 ± 0.02	0.16 ± 0.02
Liver (g/100gBW)	2.83 ± 0.24	2.71 ± 0.15	2.84 ± 0.27	2.81 ± 0.19	3.04 ± 0.30	3.34 ± 0.24*
Adrenals (mg/100gBW)	10.5 ± 1.5	8.3 ± 1.2	8.6 ± 0.6	8.9 ± 1.7	11.7 ± 1.3	10.8 ± 1.5
Kidneys (g/100gBW)	0.63 ± 0.04	0.63 ± 0.05	0.67 ± 0.05	0.65 ± 0.04	0.67 ± 0.06	0.72 ± 0.04*
Testes (g/100gBW)	0.80 ± 0.06	0.80 ± 0.07	0.83 ± 0.04	0.83 ± 0.08	0.85 ± 0.05	0.80 ± 0.05
Epididymides (g/100gBW)	0.42 ± 0.04	0.41 ± 0.03	0.40 ± 0.02	0.41 ± 0.02	0.41 ± 0.02	0.41 ± 0.01
Prostate, ventral (g/100gBW)	0.11 ± 0.02	0.10 ± 0.03	0.10 ± 0.02	0.10 ± 0.02	0.10 ± 0.02	0.10 ± 0.02

血中ホルモン量測定結果

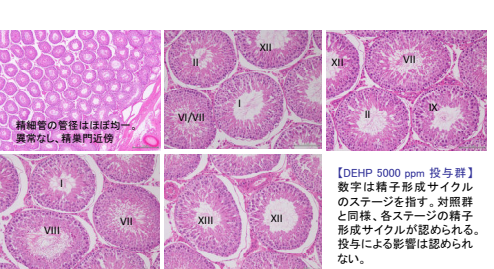
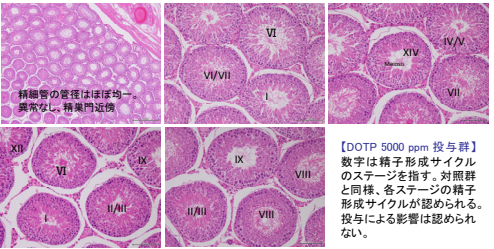


精巣病理所見

全群ともに異常なし

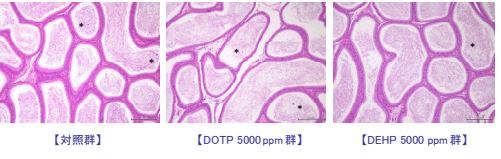


【対照群】 G: Spermatogonia; ES: Early spermatocytes; LS: Late spermatocytes (Pachytene stage); RT: Round spermatids; ET: Elongate spermatids; S: Sertoli cells; L: Leydig cells 数字は精子形成サイクルのステージを指す。赤丸はアポトーシスを起こしたLS、緑色○は萎縮/変性した精細管の程度の変性像は正常範囲内として観察される。



精巣上体病理所見

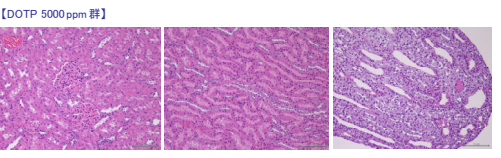
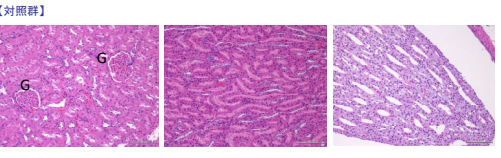
全群ともに異常なし



【対照群】 【DOTP 5000 ppm群】 【DEHP 5000 ppm群】

腎臓病理所見

全群ともに異常なし



皮質 糸球体(G) 髓質外帯 腎乳頭部

肝臓病理所見

DEHP 5000 ppm 投与群のみに肝肥大が認められる



考察, 結論

DEHP 5000 ppm 投与群のみに認められた肝肥大は、PPAR α 作用によるPeroxisomeの増加に起因することが示唆された。対照群及びDOTP投与群に認められた小葉周辺性の肝細胞脂肪化は、通常の13週間反復投与毒性試験の背景値と比較して若干進行していると考えられたが、この脂肪化は飼料に起因する現象であることが示唆された。

精巣上体管腔は、軽度な精子形成異常や精細管変性が生じた場合、変性した精上皮細胞が腔内に増加することから、精巣毒性を検出する鋭敏な部位とされているが、いずれの投与群においても精巣上体に精巢への影響を示唆する所見は認められなかった。

比較的生産頻度の高い病理組織学的変化として、小葉周辺性の肝細胞脂肪化 (Fatty change, diffuse/microvesicular)、肝臓のマクローファージやリンパ球を主とする単核球浸潤 (Infiltration, mononuclear cells)、前立腺のびまん性/限局性リンパ球浸潤 (Infiltration, mononuclear cells, diffuse/focal)、限局性心筋炎 (Infiltration, neutrophils, focal) がいずれの群にも認められた。しかし、いずれも対照群と同程度の発生であり有意差は認められなかった。

これらの結果から、今回の条件下では、DOTPは精巣を含むいずれの臓器にも影響を与えず、その無毒性量は297 ± 12 mg/kg/day以上であり、比較的安全性の高い可塑剤であることが判明した。