

Extraction solvent : acetone-chloroform Open patch (48h)
B/4 induction

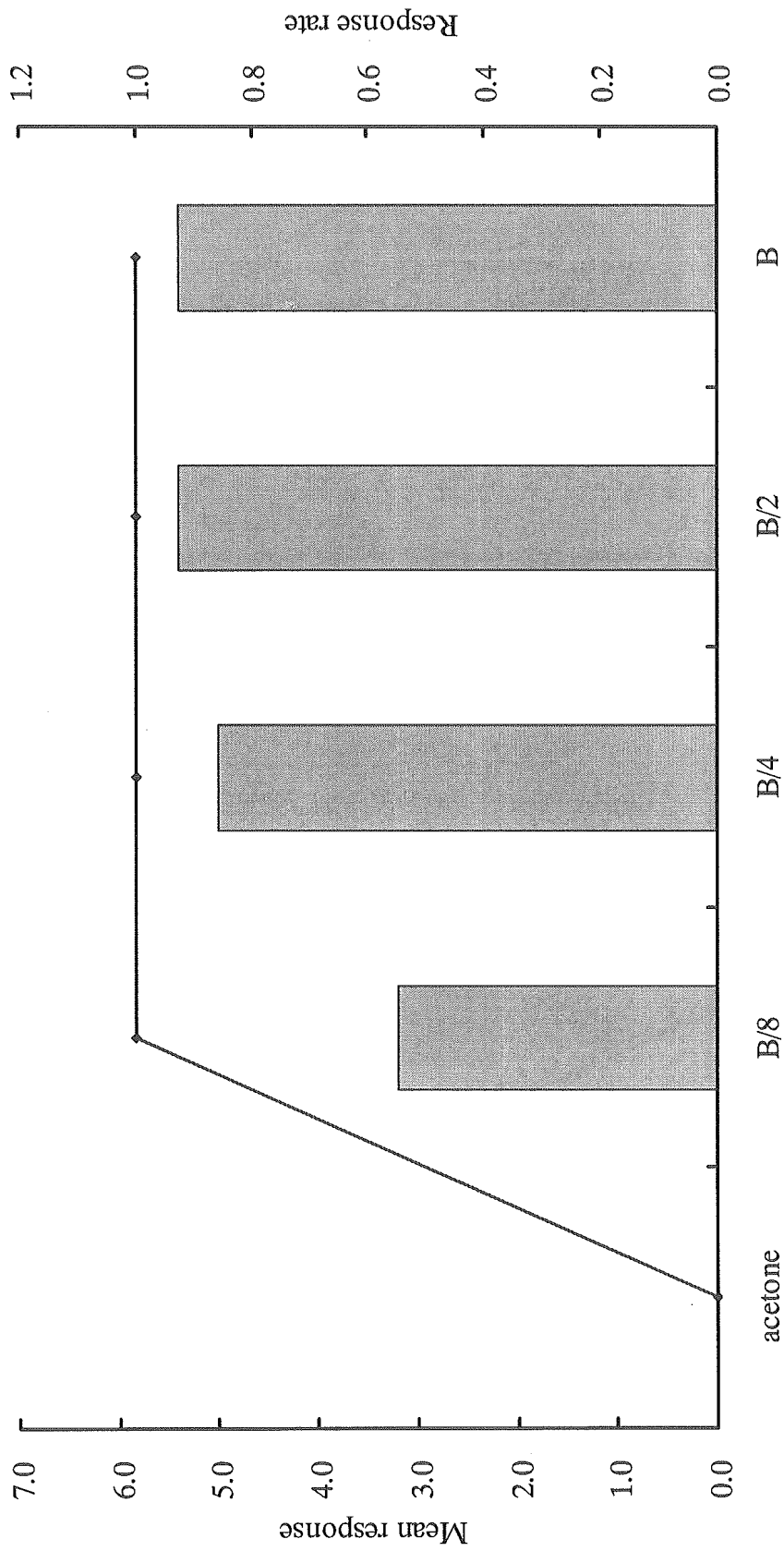


Fig 4. Comparison of the GPMT data among various challenge concentrations prepared from material-B using organic solvent- extraction method under the open patch condition.

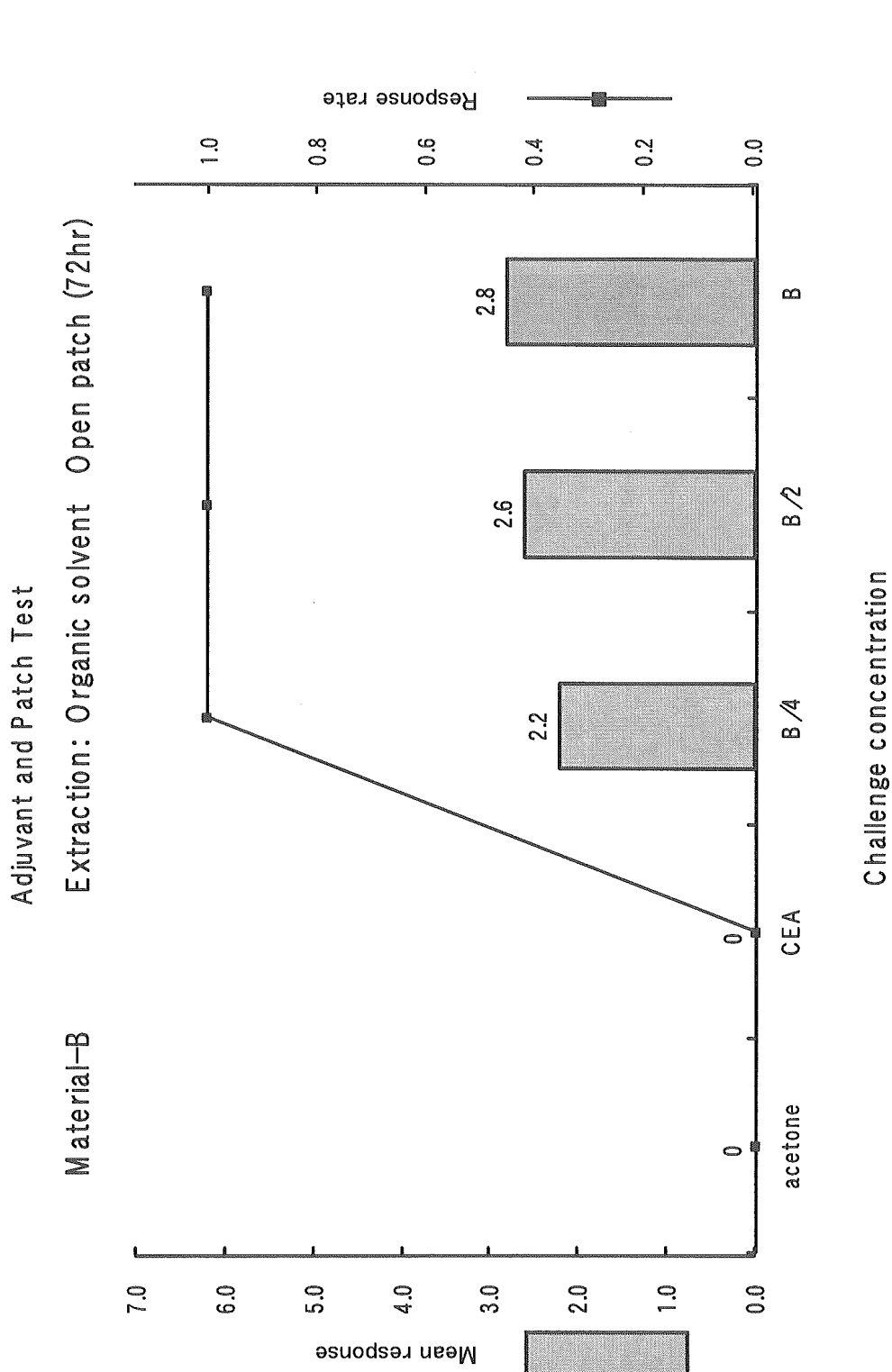


Fig 5. Comparison of the Adjuvant and Patch Test data among various challenge concentrations prepared from material -B using organic solvent- extraction method under the open patch condition.

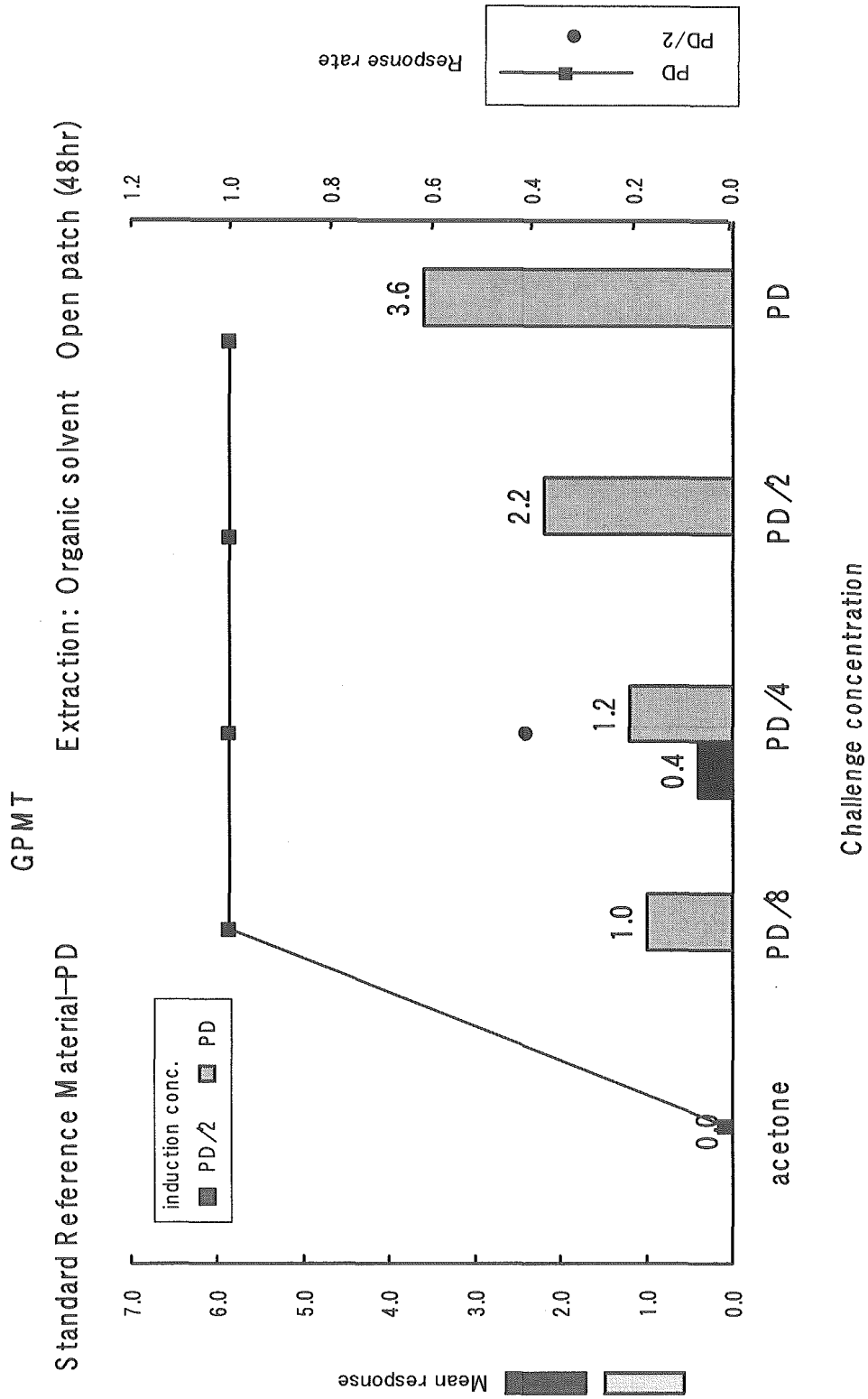


Fig 6. Comparison of the GPMT data among various challenge concentrations prepared from standard reference material- PD using organic solvent- extraction method under the open patch condition.

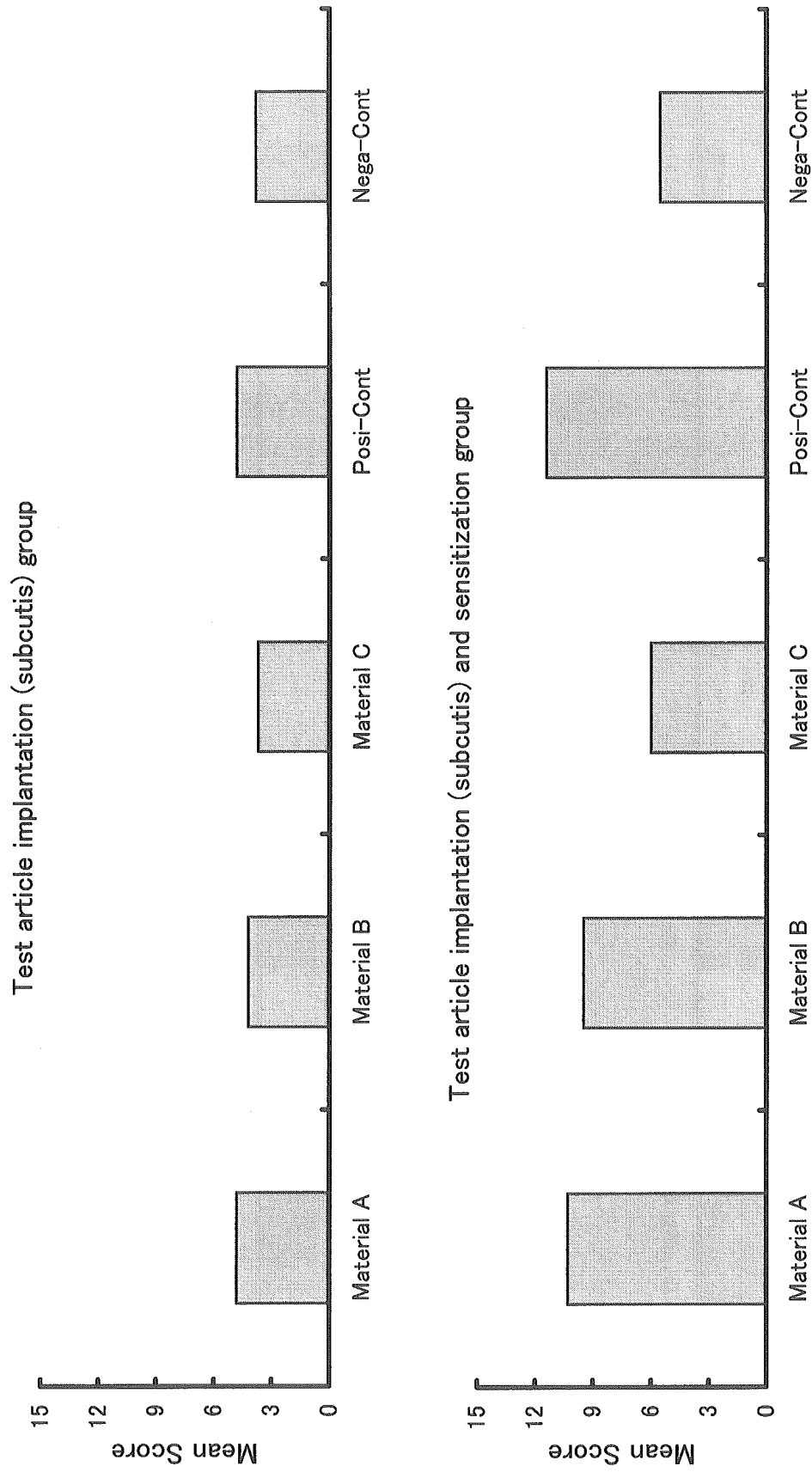


Fig 7. Comparison of mean scores of histological findings of subcutis tissues around implanted materials with and without sensitization-treatment by the material extracts.

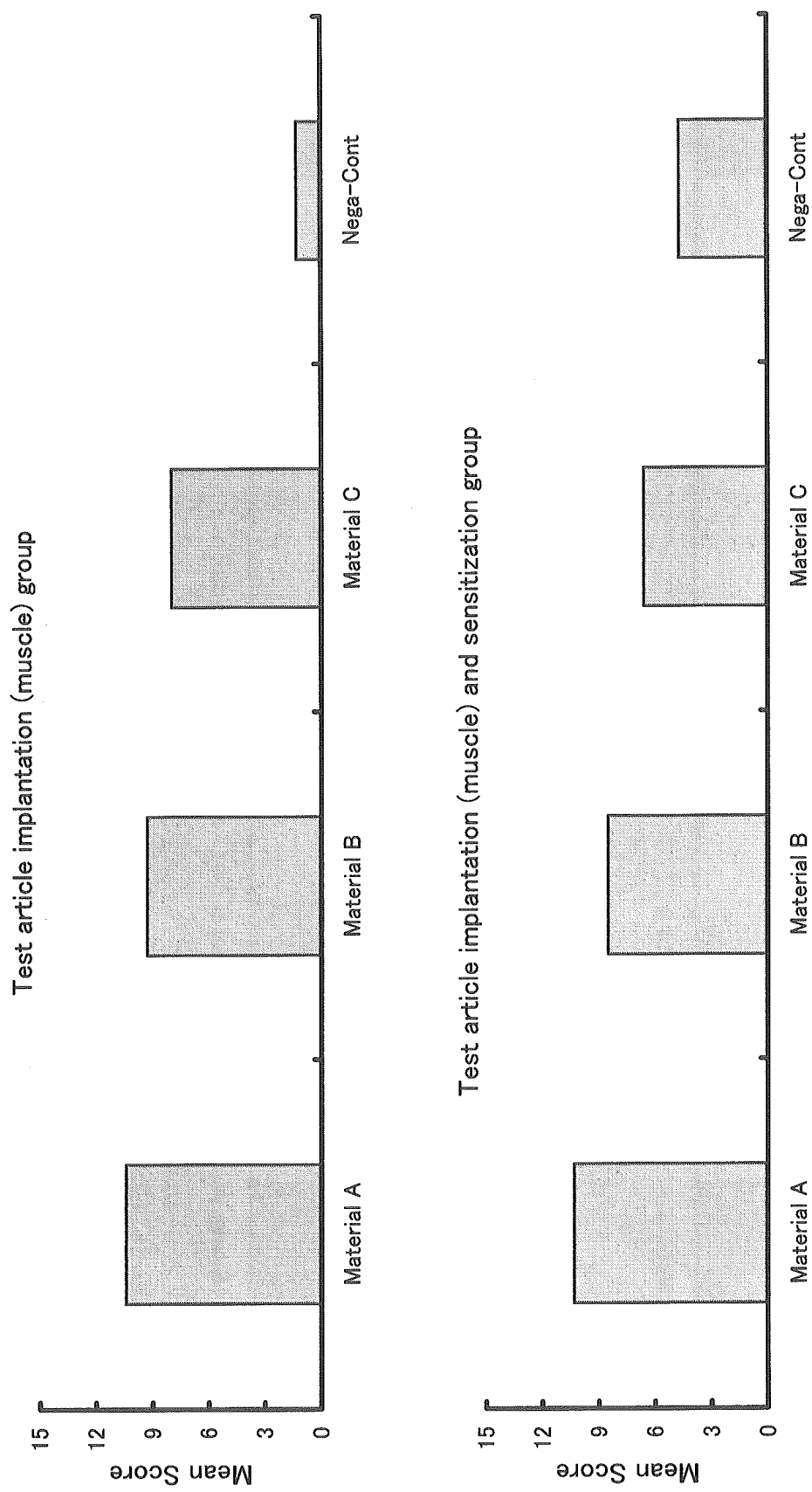
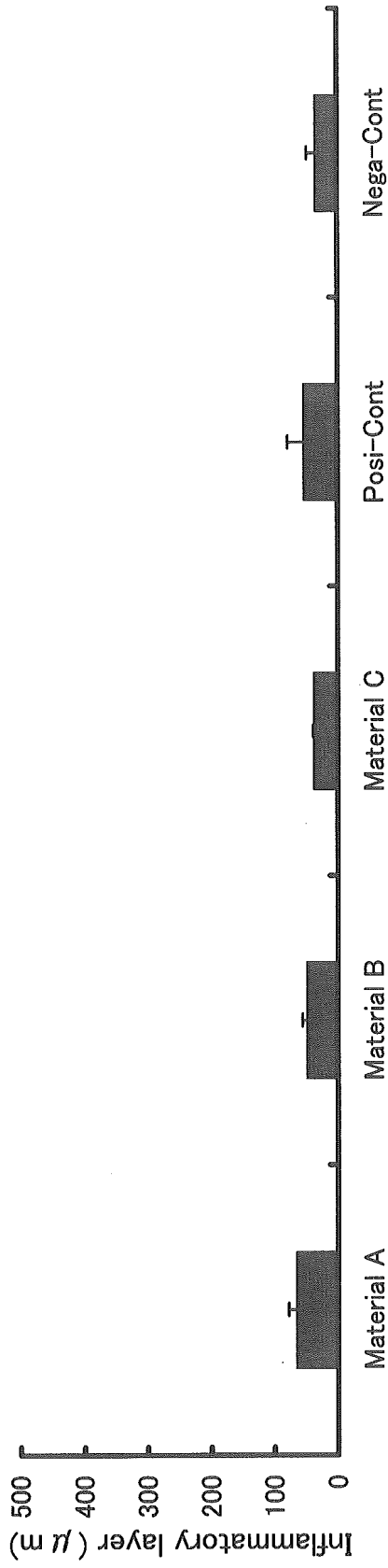


Fig 8. Comparison of mean scores of histological findings of muscle tissues around implanted materials with and without sensitization-treatment by the material extracts.

Test article implantation (subcutis) group



Test article implantation (subcutis) and sensitization group

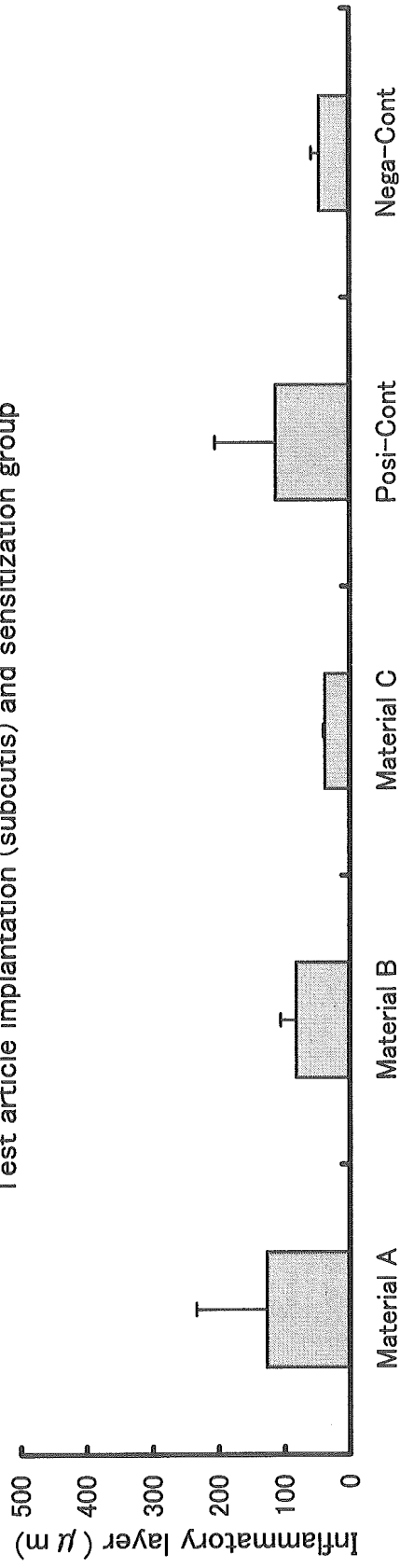
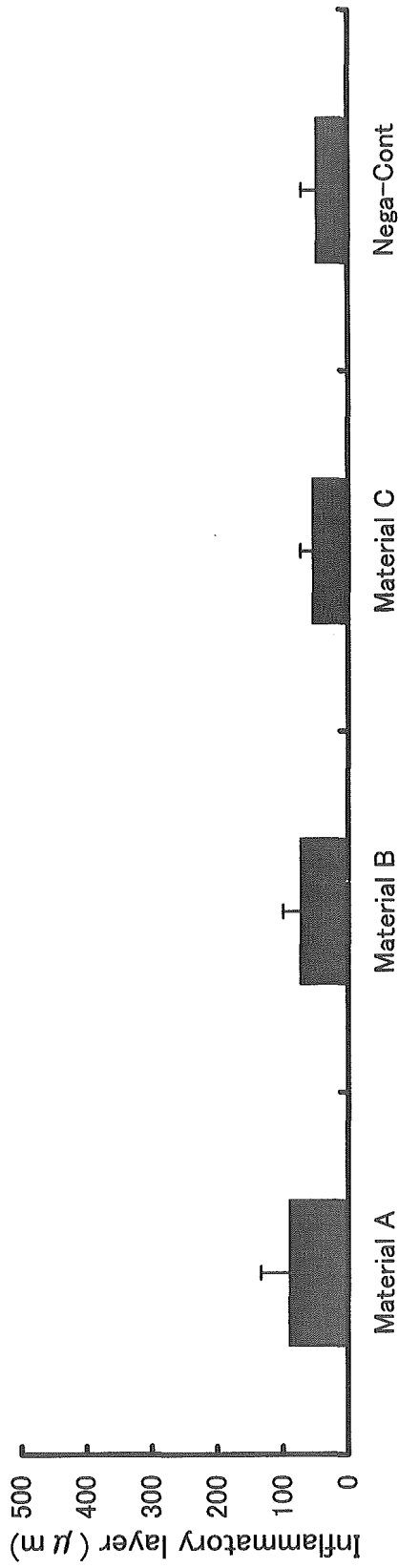


Fig 9. Comparison of the thickness of inflammatory layer of subcutis tissues around implanted materials with and without sensitization-treatment by the material extracts.

Test article implantation (muscle) group



Test article implantation (muscle) and sensitization group

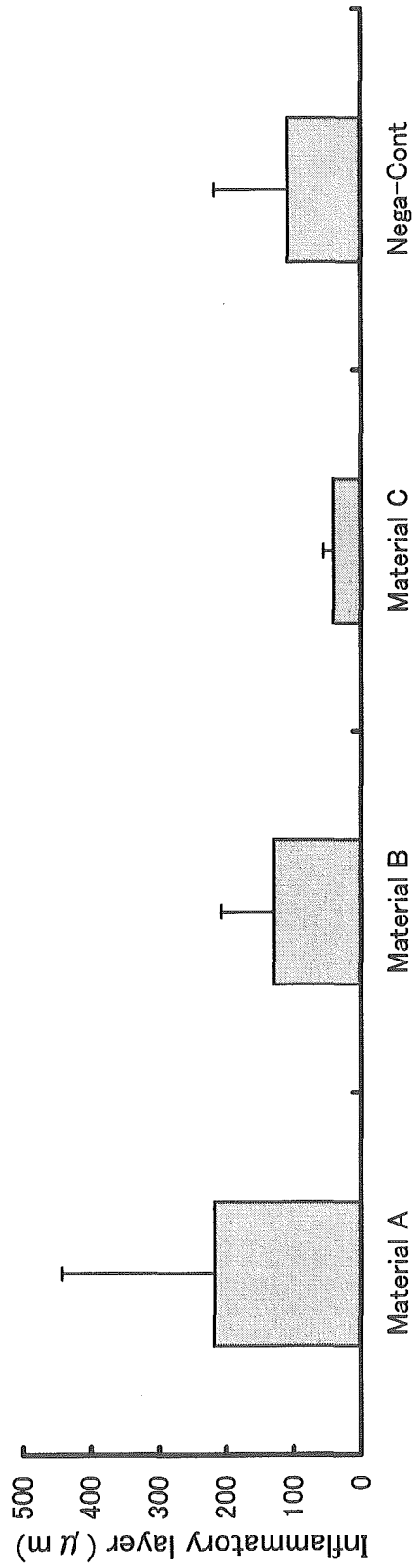


Fig 10. Comparison of the thickness of inflammatory layer of muscle tissues around implanted materials with and without sensitization-treatment by the material extracts.

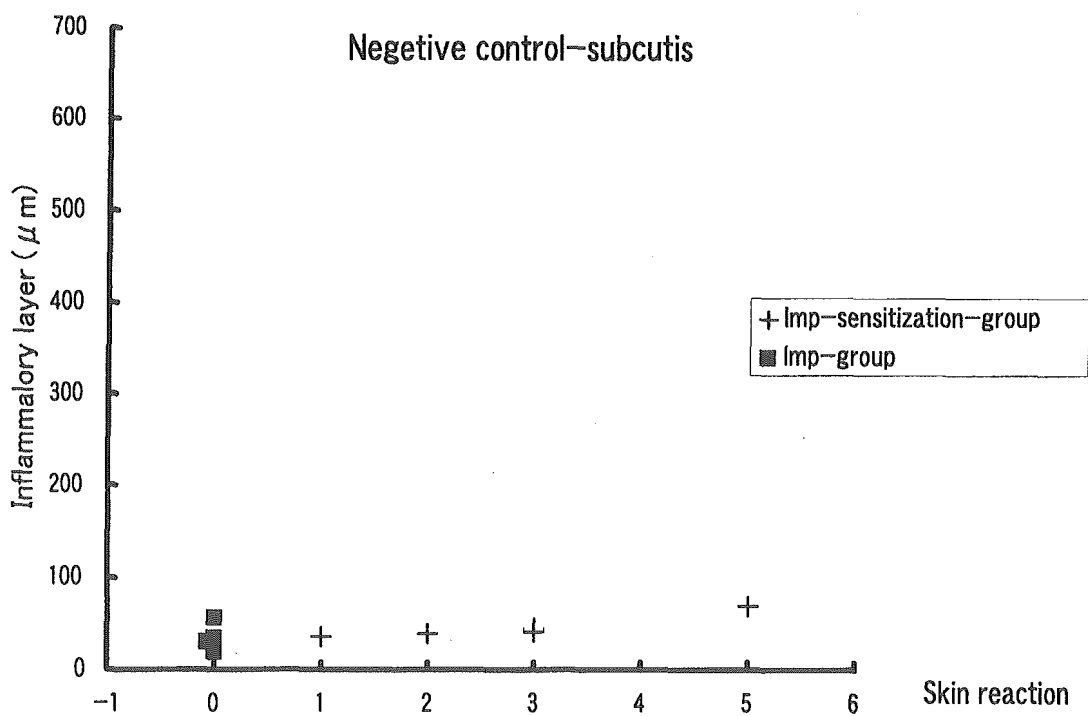
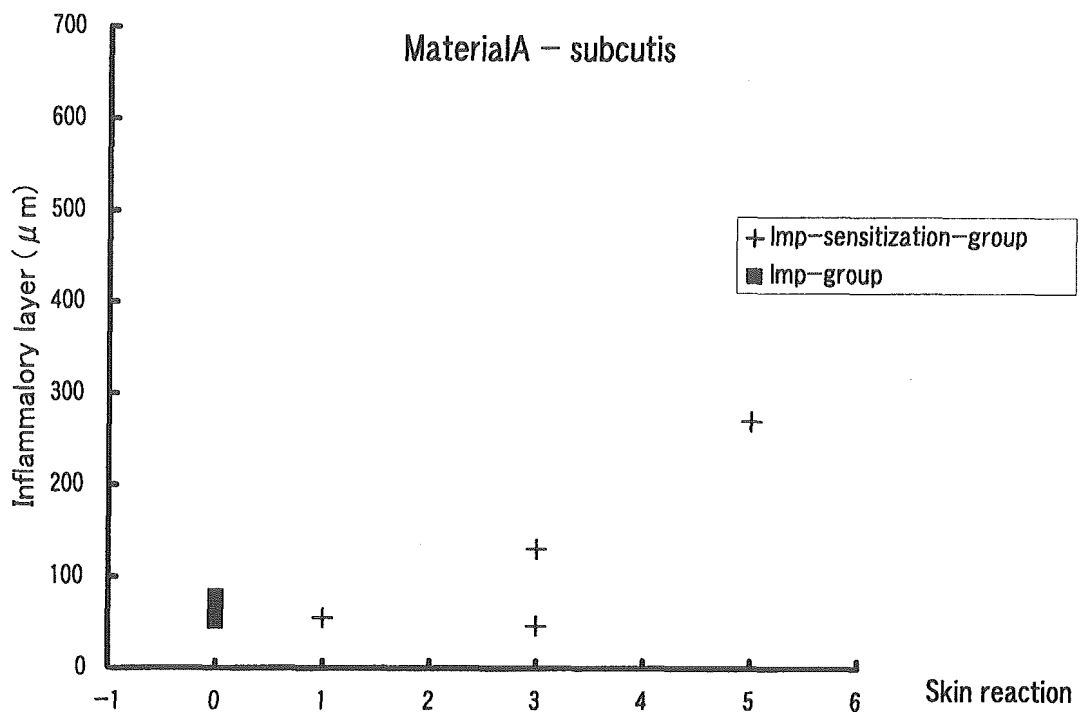


Fig 11. Relation between the thickness of inflammatory layer and challenge- induced skin reaction with or without sensitization- treatment by the material extracts.

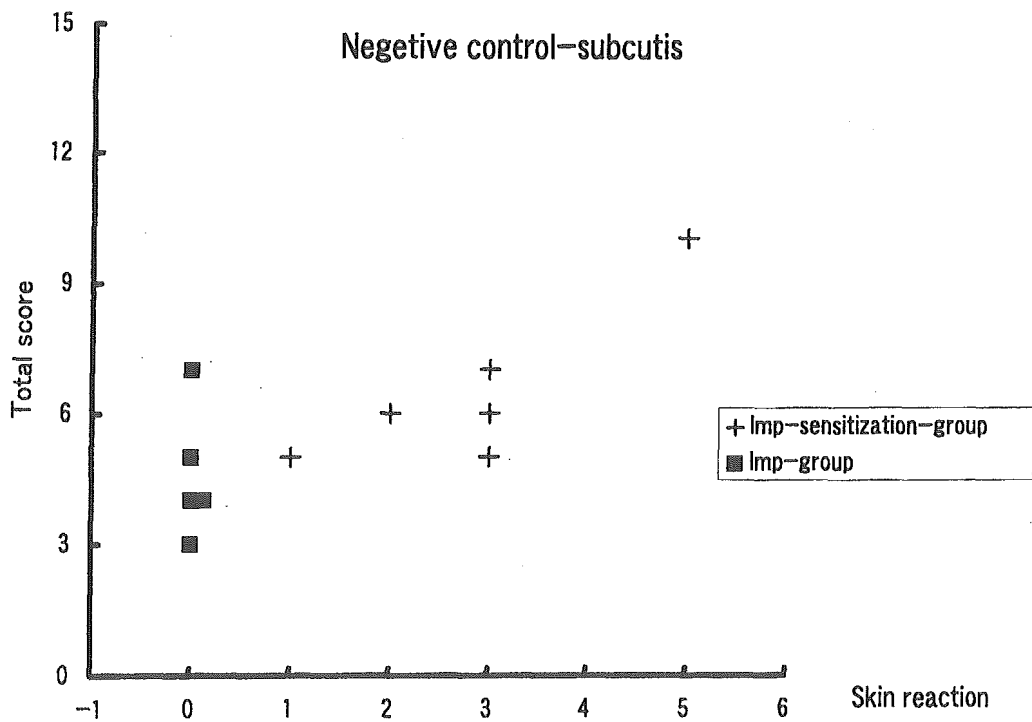
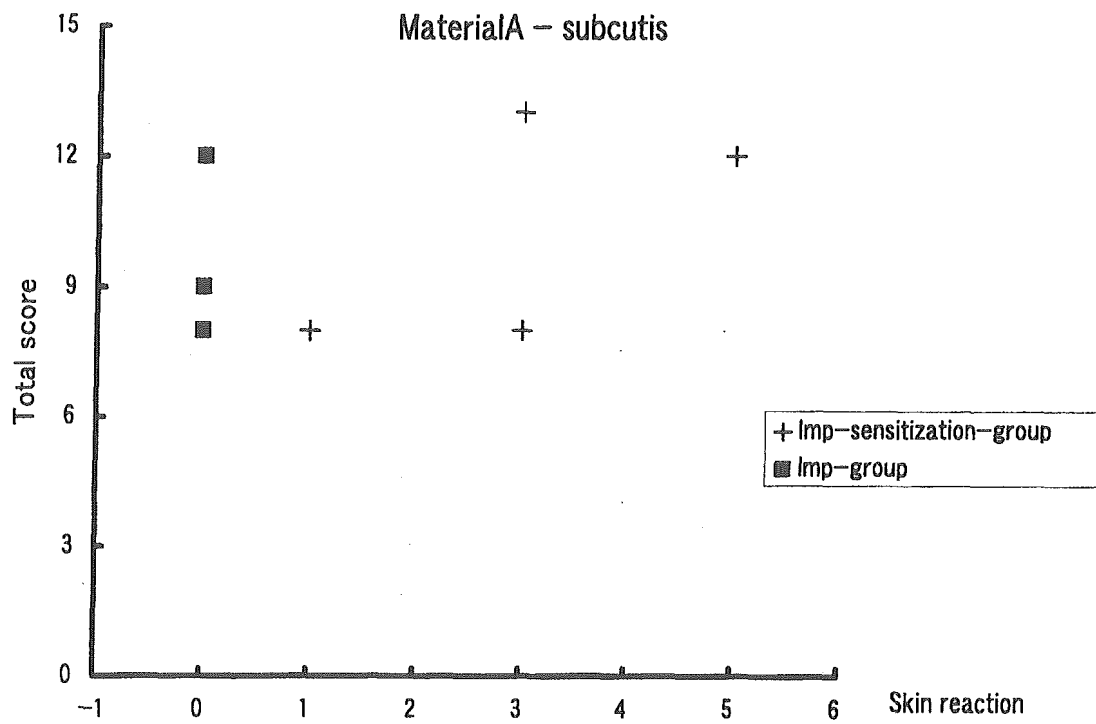


Fig 12. Relation between the mean score of histological findings of subcutis tissues and challenge- induced skin reaction with and without sensitization- treatment by material extracts.

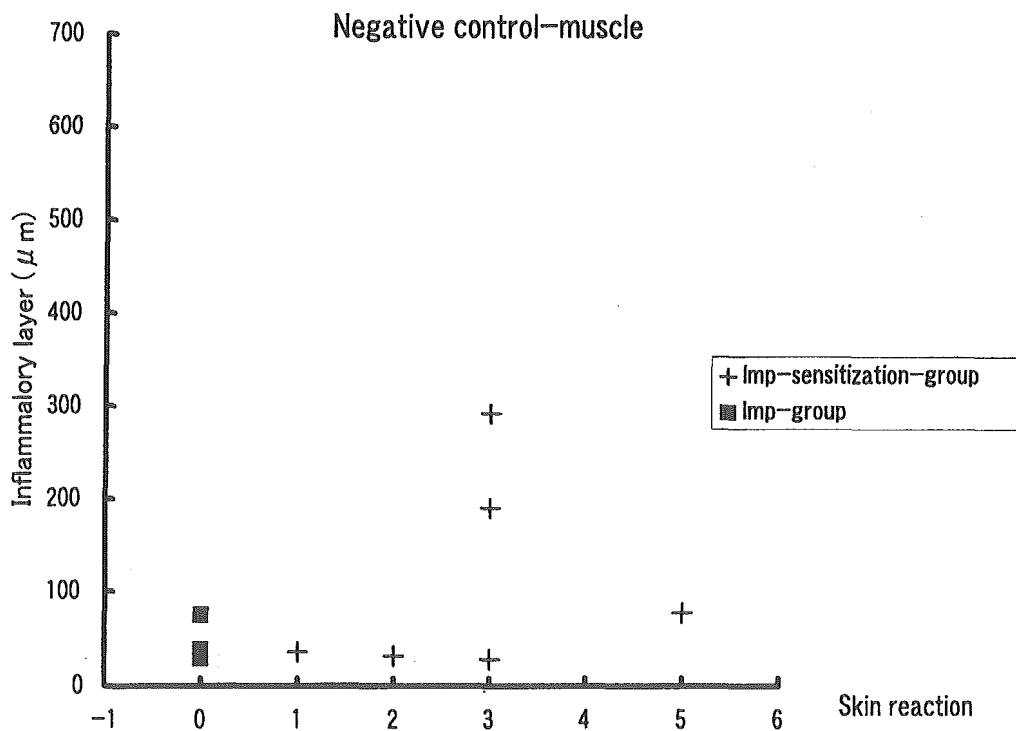
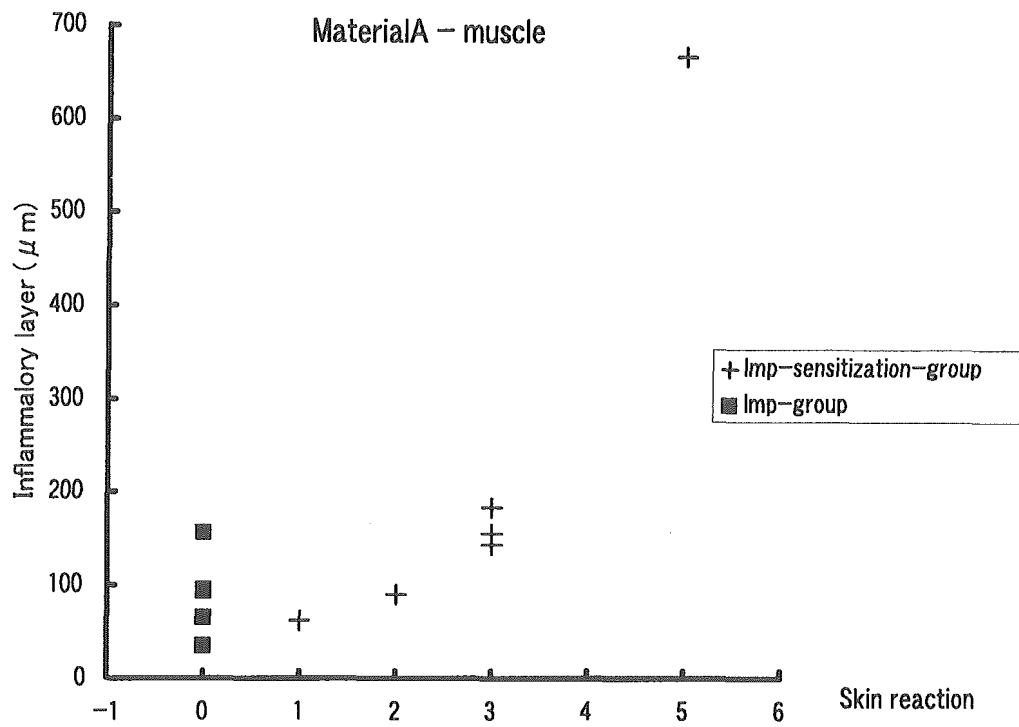


Fig 13. Relation between the thickness of inflammatory layer and challenge- induced skin reaction with or without sensitization - treatment by the material extracts.

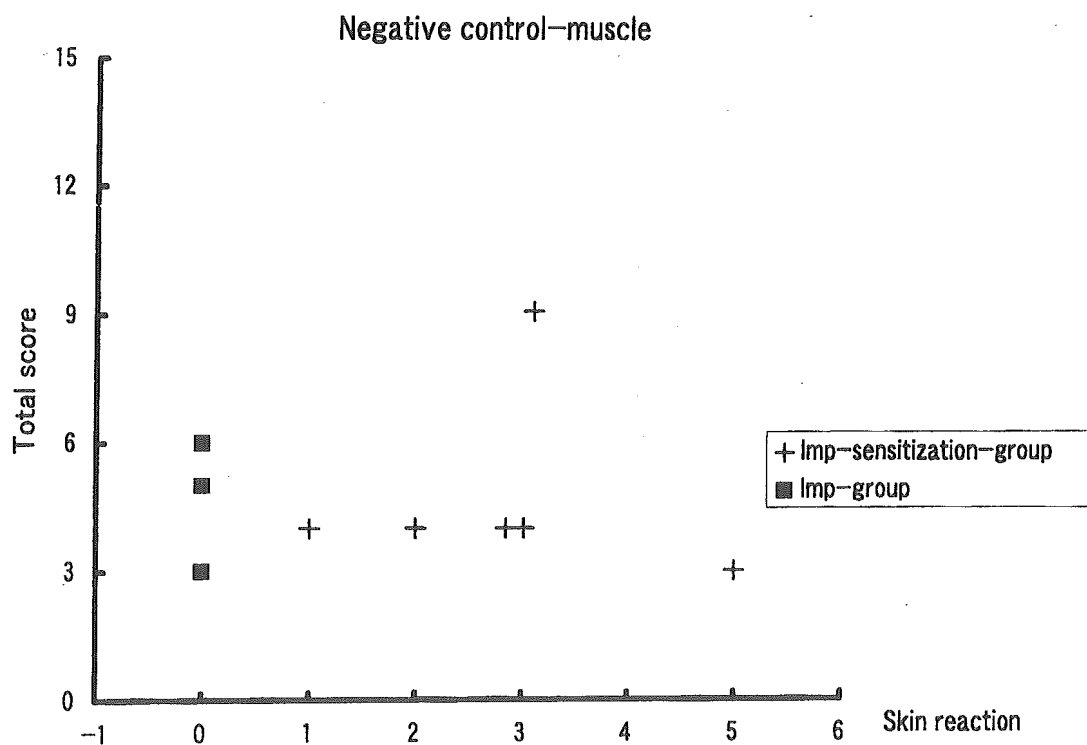
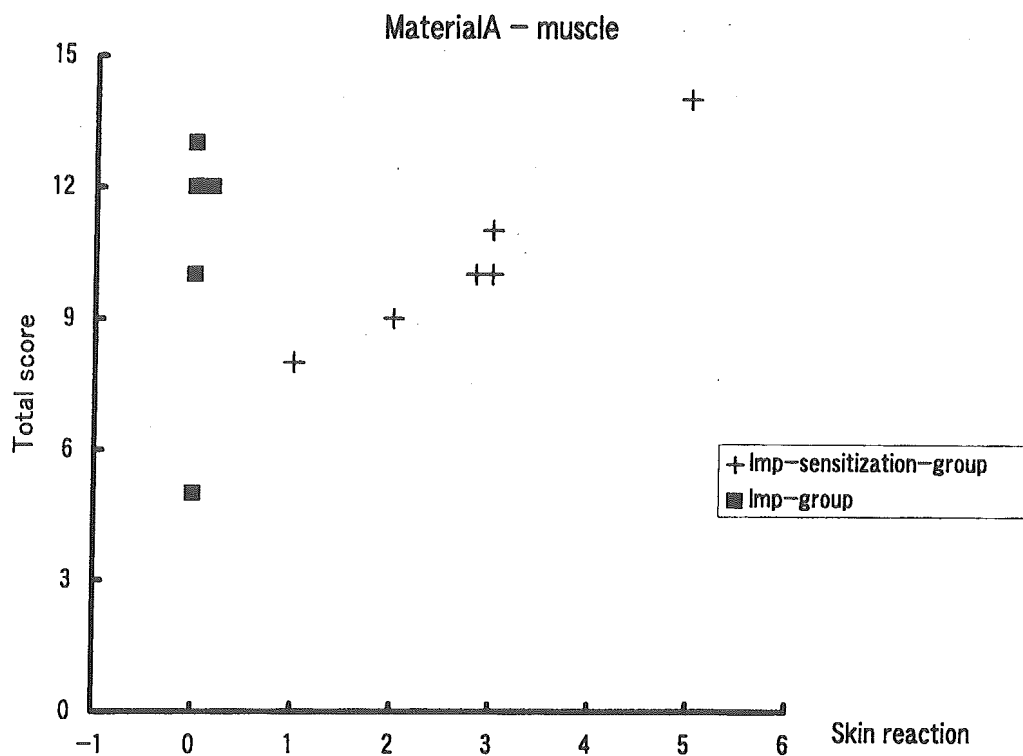


Fig 14. Relation between the mean score of muscle tissues and challenge - induced skin reaction with and without sensitization treatment by the material extracts.

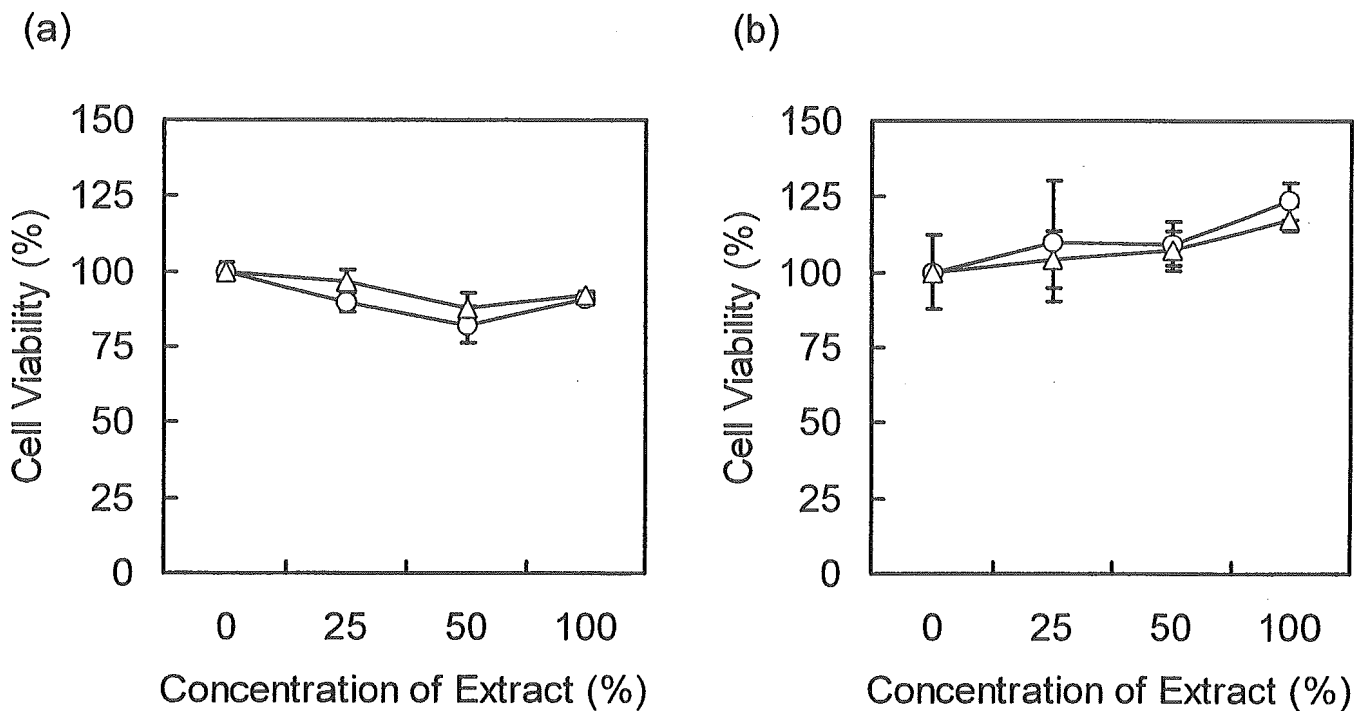


Fig. 15 The cell viabilities of L929 cells cultured with the medium extract of dental Au-Ag-Pd casting alloy. Medium extraction of 13Au-58Ag-21Pd (*circles*) and 10Au-62Ag-13Pd (*triangles*) with 5% FCS-MEM of 6 cm²/ml (sample/medium ratio) for 24 h (a) and 48 h (b). Values are expressed as means \pm SD for 3 dishes.

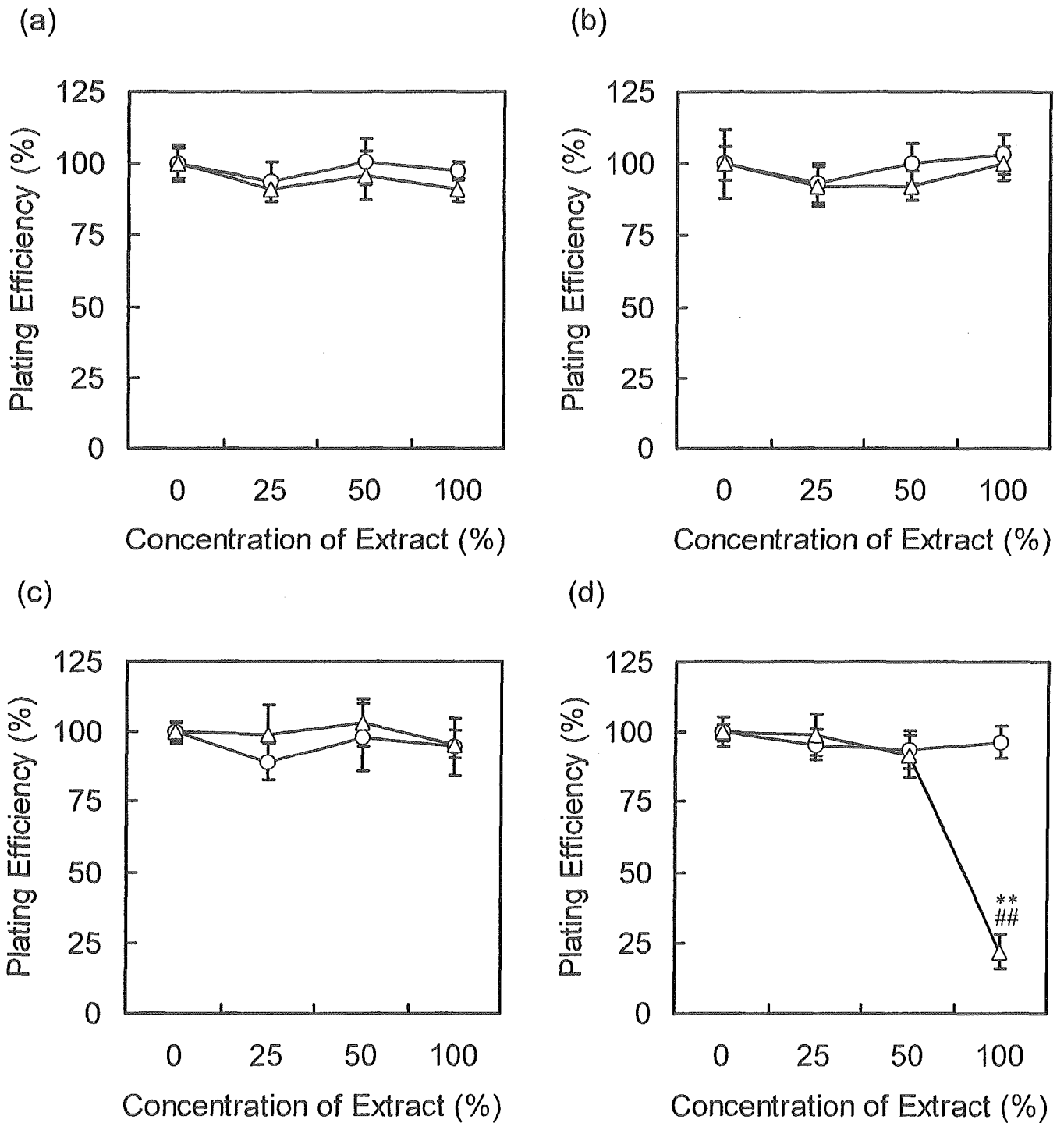


Fig. 16 The plating efficiencies of L929 cells cultured with the medium extract of dental Au-Ag-Pd casting alloy. Medium extraction of 13Au-58Ag-21Pd (circles) and 10Au-62Ag-13Pd (triangles) with 10% FCS-MEM of 3 cm²/ml (a, b) and 6 cm²/ml (c, d) for 24 h (a, c) and 72 h (b, d). Values are expressed as means \pm SD for 3 dishes. Significant difference compared with control at ** $P < 0.01$ and compared with 13Au-58Ag-21Pd at ## $P < 0.01$ by Tukey-Kramer test in two-way ANOVA.

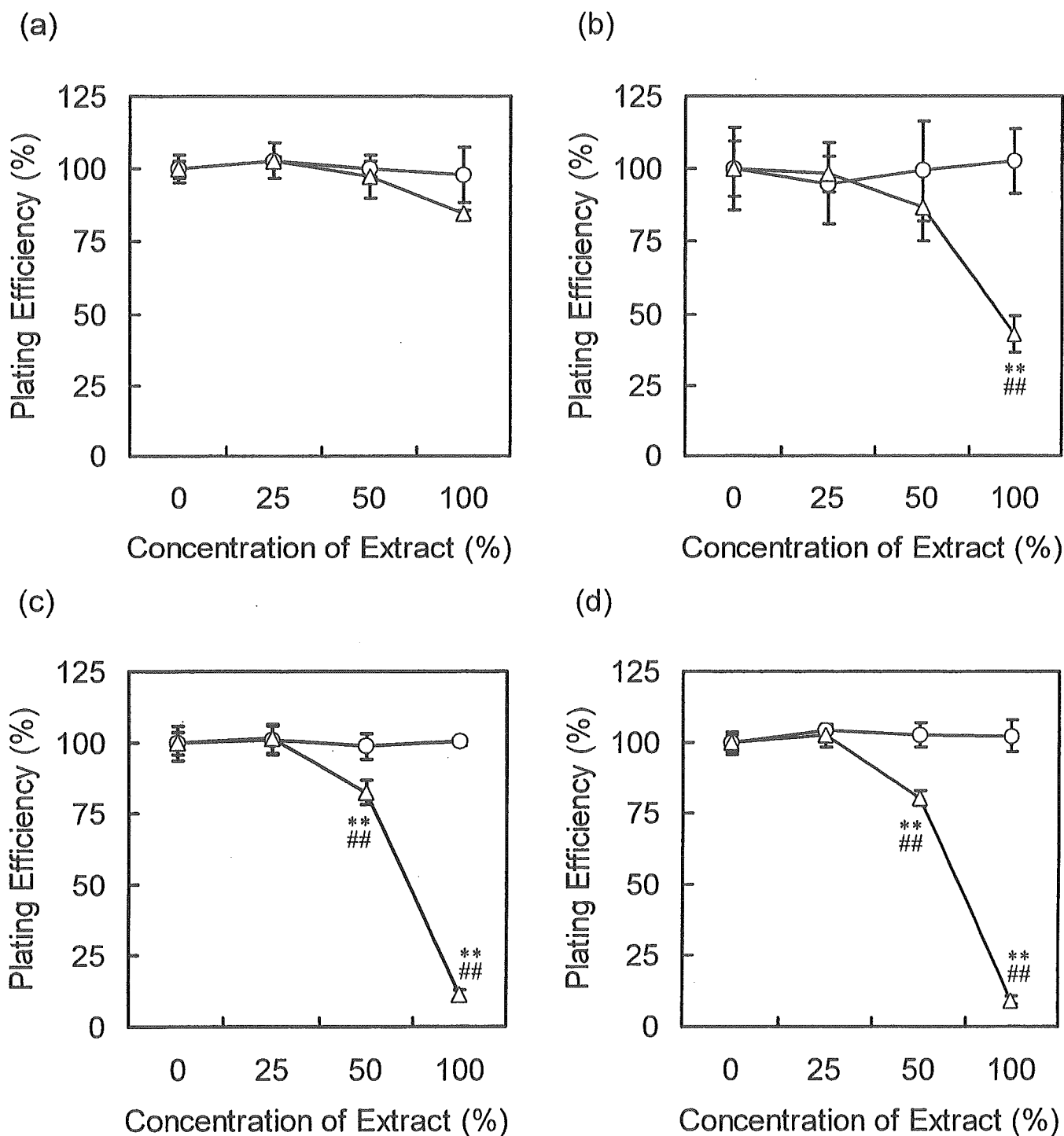


Fig. 17 The plating efficiencies of V79 cells cultured with the medium extract of dental Au-Ag-Pd casting alloy. Medium extraction of 13Au-58Ag-21Pd (circles) and 10Au-62Ag-13Pd (triangles) with 5% FCS-GMNP of 3 cm²/ml (a, b) and 6 cm²/ml (c, d) for 24 h (a, c) and 72 h (b, d). Values are expressed as means \pm SD for 3 dishes. Significant difference compared with control at ** $P < 0.01$ and compared with 13Au-58Ag-21Pd at ## $P < 0.01$ by Tukey-Kramer test in two-way ANOVA.

Table 1. Results of Standard Reference Materials for Sensitization test using various extraction method.

Materials	Test Method	Extraction Method	patch	Mean Response (primary irritation)		
				24h	48h	72h
PMMA	GPMT	Acetone	open	-	0.0 (0) *	0.0 (0) *
				0.0 (0) **	0.0 (0) **	0.0 (0) **
		Cotton seed oil	closed	-	0.0 (0)	0.0 (0)
		physiological saline	closed	-	0.0 (0)	0.0 (0)
0.01%DNCB PMMA	GPMT	Acetone	open	1.8 (0)	1.8 (0)	1.4 (0)
	GPMT	Acetone	open	3.6 (0) *	3.6 (0) *	3.2 (0) *
				4.2 **	4.8 **	5.4 **
3.7 ***	3.7 ***	2.0 ***				
0.1%DNCB Solution	GPMT	Cotton seed oil	closed	-	0.8 (0)	0.6 (0)
		physiological saline	closed	-	0.6 (0)	0.6 (0)
	GPMT	Acetone	open	-	5.4	5.6
	Adjuvant and patch	Acetone	open	5.0	5.0	4.4

-: N.D. *: Lab-M **: Lab-H ***: Lab-B

Table 2 The IC₅₀ values of the medium extract of the dental Au-Ag-Pd casting alloy at various extraction condition to L929 and V79 cells in the colony assay.

Sample	Sample/medium ratio, $r/\text{cm}^2\text{ml}^{-1}$	Extraction period, t/h	IC ₅₀ (%)	
			L929 cells	V79 cells
13Au-58Ag-21Pd	3	24	>100	>100
		72	>100	>100
	6	24	>100	>100
10Au-62Ag-13PD	3	72	>100	>100
		24	>100	>100
	6	72	>100	90.7
		24	>100	67.5
		72	77.8	65.7

Values were calculated by the probit method. The temperature of all extraction conditions was 37°C, and 10% FCS-MEM (L929 cells) and 5% FCS-GMNP (V79 cells) were used for the extraction and the cell culture in the colony assay.

表3 ISO、日本、米国での感作性試験と細胞毒性試験ガイドラインの違い

項目	ISO	日本	米国
感作性試験（高分子材料）			
	生理食塩水		生理食塩水
抽出法	植物油 有機溶媒抽出	有機溶媒抽出	植物油
感度	抽出液の並記であり、試験者の選択次第で試験感度が異なる。	ヒト臨床で陽性反応を示す材料の感作性を検出可能	ヒト臨床で陽性反応を示す材料の感作性を検出することが困難擬陰性となる。
細胞毒性試験（高分子材料、金属材料）			
抽出法	適切な溶媒 生理食塩水 血清含有培地 血清不含培地 37°C24 時間 50°C72 時間 70°C24 時間 121°C1 時間	血清含有培地 37°C24 時間,72 時間	蒸留水 生理食塩水 血清不含培地 血清含有培地 37°C24 時間 50°C72 時間 70°C24 時間 121°C1 時間
細胞	各種細胞	V79、Balb 3T3、L929	各種細胞 L929 使用例が多い
試験方法	各種試験法の並記	コロニー法 直接接触法	MEM Elution 法 寒天重層法 直接接触法
感度	選択次第で試験感度は異なる。	標準材料を使用し、常に適切な感度で試験できる。	水抽出や高温度で抽出、血清不含で抽出の場合、細胞毒性陽性材料が擬陰性となる。

改正ガイドライン検討会 土屋メモ

第2回目

日時 平成14年5月22日 午後2時—4時

場所 国立医薬品食品衛生研究所 審査センター第2会議室

(委員) 土屋利江(座長) 神崎武敏、橋本(坂口代理)、佐藤道夫、佐藤秀隆、澤田純一、田中志穂、田中憲穂、配島由二、三森国敏、森田泰信、渡辺 猛、大木 朗、新川勝己

(厚労省) 北條、磯部、古賀、東(審査センター) 俵木、中井、鈴木、門馬

第3回目

日時 平成14年7月5日 午後3時—5時

場所 国立医薬品食品衛生研究所 審査センター第2会議室

(委員) 土屋利江(座長) 神崎武敏、坂口圭介、佐藤道夫、佐藤秀隆、澤田純一、田中志穂、田中憲穂、配島由二、三森国敏、森田泰信、渡辺 猛、大木 朗、新川勝己

(厚労省) 北條、磯部、古賀、東(審査センター) 俵木、中井、鈴木、門馬

第4回目

日時 平成14年9月2日 午後3時—5時

場所 国立医薬品食品衛生研究所 審査センター第2会議室

(委員) 土屋利江(座長) 神崎武敏、坂口圭介、佐藤道夫、佐藤秀隆、澤田純一、田中志穂、田中憲穂、配島由二、三森国敏、森田泰信、渡辺 猛、大木朗、新川勝己

(厚労省) 北條、磯部、古賀、東(審査センター) 俵木、中井、鈴木、門馬

1. 平成14年度合計3回改正ガイドライン検討会を行い、生物学的安全性評価の基本的考え方(案)およびGLPガイドライン案が作成された。
2. 生物学的安全性評価の基本的考え方〔案〕に基づき、その方向性について、検討し、FDAガイドラインと同じスタンスで、ISOを準用し、基本的な考え方を記載し、詳細な試験方法は、研究班報告としてまとめることとなった。
3. 医療用具GLPガイドライン(案)の中の、特殊な実験の場合の取り扱い方や、抽出溶液の取り扱い方が論点になったが、それぞれ実際の取り扱いに困らない方向で纏められた。
4. 生物学的安全性評価の具体的実施方法を定める本研究班の報告書の案を本検討会のWGにおいて作成し、WG案を本検討会で再度検討し、最終案を作成した。

平成 14年 5月 22日

於：審査センター第2会議室

医療用具及び医用材料の基礎的な生物学的試験の

ガイドライン改訂版作成検討会

議事次第

1. 開会
2. ISO TC194 の結果について
3. FDA との打ち合わせ結果について
4. 生物安全ガイドラインについて
5. 医療用具GLPガイドラインについて
6. 閉会

資料 1 : ISO /TC194 ベルリン会議出席報告

資料 2-1 : 生物安全評価の基本的考え方について (案)

資料 2-2 : ISO194 国内委員会の改訂意見 (第 1 部 生物評価の原則と枠組み)

資料 2-3 : ISO 10993-1 Biological evaluation of medical devices

-Part 1: Evaluation and testing

資料 3-1 : JIS Q 14971 (案) 医療機器—リスクマネジメントの医療機器への適用

資料 3-2 : JIS Q 14971-1 医療用具—リスクマネジメント—第 1 部：リスク分析の適用

資料 4 : 各委員会からいただいたコメントについて

資料 5-1 : 医療用具の安全性に関する非臨床試験の実施の基準案 (GLP) の概要

資料 5-2 : 医療用具の安全性に関する非臨床試験の実施の基準について (案)

資料 5-3 : 医療用具の安全性に関する非臨床試験の実施の基準の施行について (案)

資料 6-1 : 医薬品と医療用具とのGLP対比表

資料 6-2 : 医療用具GLP施行通知 (課長通知) 対比表①

資料 6-3 : 医療用具GLP施行通知 (課長通知) 対比表②

資料 7 : 日医機協医療用具GLP-WG 検討報告書 (平成 12 年 3 月 31 日) への対応状況

資料 8 : 医療用具GLPガイドライン案の主たる検討項目

資料 9 : 医療用具GLPガイドライン検討スケジュール (案)

平成14年7月5日
於：医薬品機構分室

医療用具及び医用材料の基礎的な生物学的試験の

ガイドライン改訂版作成検討会

議事次第

1. 開会
2. 生物安全ガイドラインについて
3. 医療用具GLPガイドラインについて
4. 研究班報告書について
5. 閉会

資料1：生物安全ガイドライン案（修正版）について

資料2：各委員からいただいたコメントについて

資料3－1：医療用具の安全性に関する非臨床試験の実施の基準案

資料3－2：医療用具の安全性に関する非臨床試験の実施の基準の施行について（案）

資料4－1：医療用具GLPガイドライン案について頂いたご意見

資料4－2：医療用具GLPガイドライン案に対して頂いたご意見と対応状況

資料4－3：歯科材料における生物学的安全性試験の最近5年間における実施状況

資料5：FDAにおけるGLPの取扱いについて

資料6：感作性試験に関する論点