

# 座談会

## バイオマテリアルと未来社会

司会者

東京医科歯科大学生体材料工学研究所助教授

米山隆之

企画者

日本ライフライン株式会社開発生産本部長

川端隆司

発言者

東京女子医科大学先端生命医科学研究所所長

岡野光夫

大阪大学大学院工学研究科応用化学専攻合成化学講座教授

明石満

国立医薬品食品衛生研究所療品部長

土屋利江

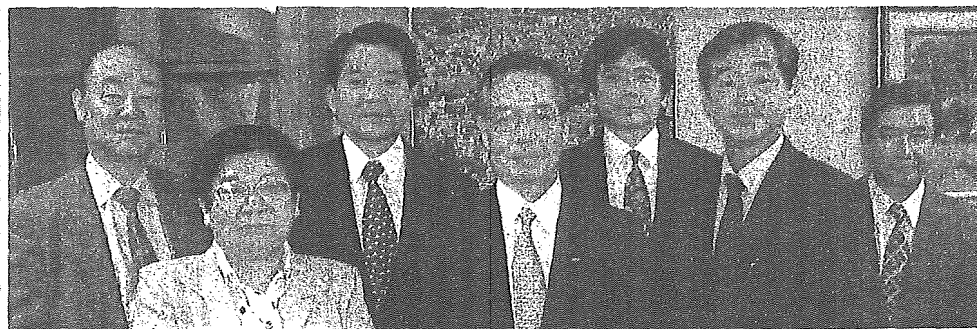
京都大学再生医科学研究所ナノ再生医工学研究センター教授

堤定美

中部大学生命健康科学研究所教授，  
前・日本メディカルマテリアル株式会社顧問

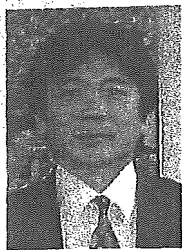
松下富春

(発言順)



この座談会は2005年10月4日(火)東京医科歯科大学生体材料工学研究所にて収録致しました。

米山 本日はお忙しいところお集まりいただきましてありがとうございます。学会誌「バイオマテリアル」の企画として、特集「バイオマテリアルがいま面白い」を編みました。特に未来に着目して、若手の研究者あるいは他分野の先生方の参考になるような忌憚のないご意見をお聞かせいただければと思います。



### 注目のバイオマテリアル技術

米山 まずは、現在この領域で研究されている、あるいは実際の応用を進めている先生方が、いま注目されているバイオマテリアルの技術あるいは研究内容、テーマというのはどのようなものでしょうか。



岡野 ウイルスも含めて、いままでである生物がわれわれの体内に入ってきたときには、古くから免疫系が関与することが知られ、その研究が非常に進みました。しかし、バイオマテリアルという新しい人工材料が体内に入ったらどんなことが起きるのかということは、まさにここ30~40年の間に一気に進んだ研究分野です。われわれの体のなかに人工物を使って治療することが多数出てきていますし、診断、治療が大変な勢いで進んでいます。そういう局面がますます増えてくるなかで、本当にバイオマテリアルの研究あるいはバイオマテリアルが重要となる時代になったと思います。ある材料を使ってなにかをやるという時代から、界面で起こる問題を予知し、それを制御して材料を設計して使っ

ていくという時代に突入してきています。そのなかでバイオマテリアルの役割の重要さがますます大きくなってきております。

この日本バイオマテリアル学会はそういったことにチャレンジする研究者の集団で、つぎの時代の新しい局面をつくっていくと私は信じています。いま注目される技術や研究でどんなことがあるかという具体的な問題について、私が注目しているタイプのものをお話します。

一つは、血管ステントです。狭窄していた血管のなかに持って行ってぱっと開くものは、やはり再狭窄の問題が起きてきます。その表面から薬を徐放させることで、圧倒的に再狭窄の少ないステントができるようになってきました。すると、マテリアルと薬と界面の問題をどこまで制御できるのかというテクノロジーの重要性をこの例が示していて、このデバイス治療はどんどん売上げも上がっています。そういう点では、薬の放出を制御するというDDSテクノロジーとバイオマテリアルというのは切っても切れません。武田薬品社のリューブリンはバイオマテリアルとDDS設計の成功例です。バイオデグラダブルな高分子の200 $\mu$ のビーズのなかに、ペプチドLH-RHのアナログ、リュープロライドを封入し、徐放させることによってがんの縮小、特に前立腺のがん治療に使われるような製剤が開発されて、1商品で1,200億円もの売上げをするヒット商品になっているのです。バイオマテリアルと薬が完全に一体化した新しいシステムとして使われているので、こういう使い方がやはりバイオマテリアルの一つの重要なポイントだと思います。

さらに、薬の点でいうと、最近、東大の片岡一則先生や、いまは神奈川科学技術アカデミーに移った横山昌

幸先生と一緒に、ポリエチレングリコールと疎水性連鎖でブロック共重合体を利用すると高分子のミセルで人工のウイルスのような小さな粒子をつくることを示しました。そのなかに抗がん剤を入れることで、がんのところへ集積できるタキソールのミセル製剤というものが、いまphase Iがようやく終わるところまで研究が進んでいまして、かなりがん治療に効果があるとのことが臨床的にわかりつつあります。

薬と材料、バイオマテリアルを合わせていって、いままでの薬でもデバイスでもないような、新しいタイプの新しいフィールドがどんどん切り拓かれてこうとしています。私は、埋め込み型のデバイスあるいはDDSのフィールドにバイオマテリアルは必須だと思っています。

明石 いま岡野先生がご指摘になった、バイオマテリアルの分野でどういうところがポイントで、なにを目指していくかということについてはまったく同感です。たんなるデバイスだけではやはり面白みもないし、展開もできないだろうし、将来性もないし、それこそ産業基盤をつくるようなことにもならない。といって、創薬の分野とは違うと思う。そのあたりにポイントを絞って開発していくと、企業がよりさまざまなことができるでしょうし、われわれ研究者もやっていける気がします。たんなる組み合わせだけのデバイスではなく、といって合成化学の粋を駆使するような創薬分野ではないようなところに、新しい、いまも進んでいると思いますが、バイオマテリアルの充分に将来展望可能な領域がはっきりみえてきたような気がしています。



それが、岡野先生がご指摘になったような高分子ミセル系の話でしょうし、私も今日CRESTのヒアリングを受けてきたところですが、実際に樹状細胞のなかに組み立てた純合成ではないですが、工夫して組み立てたような免疫賦活剤を開発して送り込むようなところは、けっして製薬メーカーからは出ないような、マテリアルをやっている人でないと絶対出てこないような発想がどうもあるようです。いま、岡野先生の話の伺っていて、同じようなことを感じながら研究をされていると思いました。

米山 材料単独ではなくさらにそれにつけ加える機能、特にドラッグデリバリーという方面で最近大きく展開している点と、岡野先生がはじめのほうでご指摘になった材料と界面のところがよくわかってきたという点、マテリアルの複合化に関して二つの話が出てまいりました。



土屋 複合化という点で、DES (ドラッグエリユエーティングステント) が医療機器として、厚生労働省では医療材料部会で審議され、承認されています。ですからこれからは医療材料の分野のなかでかなり複合化されたものが評価される時代になる。というのは、医療機器・医療材料をよく知っている人でないと、薬が組み込まれたものの評価もなかなか難しいということが、先行きみえてくるのです。

実際、骨や血管といった物理的な補強、そういうものを埋め込む従来型の人工物や人工血管といわれているものを使用される患者さんの骨や血管は、通常病的な状態となっており、薬を飲みながら治療をしているのです。薬というものは、それを治療すべき部位に持っていくまでに多く

のテクノロジーが要ります。薬の場合、一般的に効き目が速い代わりに副作用も強い。そういった場合に、直接治療すべき部位にその薬を局在させる、まさしくデバイスが必要な部位に薬を同時に存在させることは、経口あるいは静注による全身への副作用を低減化させることが可能となる。巧みなドラッグリリースのシステム設計が材料屋の技術レベルとして求められるところです。このようなタイプの医療機器は、治療器としての効率的な治療効果からも、これからはまさしく医療側の医師、それから患者も望む医療機器であると思います。大量の薬を飲まなくても治療すべき部位に薬が存在し、不具合を低減化でき、かつ有効性が高い治療法となる。再生医療の分野でも効果が早く、よく効き目のあるものがこれからはどんどんつくられていくと思います。

再生医療の場合、ただスキャフォールドがあって、細胞を組み込んで *in vitro* で培養物ができればそれでよいというものではありません。材料そのものがよくなければ、いくらよい細胞をそこにせっかく分離して、きれいにして、培養しても、結局その細胞の機能を低下させることがあるわけです。ですから、すぐれたスキャフォールドの開発は、再生医療品の効果の開発をも促進することになります。

米山 次世代の先進医療機器のなかで、材料の果たす重要性が明確になるようなお話がつつぎつつぎに出てきますね。

堤 バイオマテリアルのそういう生物医学的・科学的・薬学的性能が非常に向上して、それが患者さんに非常に貢献をして



いるのです。全体としての長期的な寿命を支える一つの大事な要因として、やはり物理的なことも忘れてはならないと思います。生体そのものが生体材料から受ける影響と生体から材料に与える影響を、物理的な側面にも若い人たちに大いに参加してもらって、総合的な性能を向上させる研究がより必要になってくると思います。

その一つとして、私たちは体のなかに入った生体材料の長期の状況を予測したり、不具合症例を再現する生体力学的シミュレーションを研究しています。動物実験も一つのシミュレーションですから、計算シミュレーションだけではなく体のなかでの現象を追究できるシミュレーターを実現したいと思います。もっともっと開発しなければならないのですが、技術がかなり発展してきましたので、これから応用が大いに期待されています。予測技術、また失敗例からの改善技術をどんどん開発していくことによって、よりよい医療器具に発展することを期待します。

米山 薬剤などと組み合わせると、局所で特に効果を発揮するお話とはまた違って、生体全体を構成している硬組織を再建するといった応用に関する、最近の注目技術エリアについてお話いただきました。

堤 硬組織だけではなくて、やわらかい組織、それから血管や血液の流れなどもシミュレーションの対象です。

岡野 こういう人工材料が空気雰囲気下1気圧で外に置かれているのと、体のなかに入れられるのとではまったく違う環境です。生体内の環境でどのようなことが起きるかという、いままでわれわれが予測しなかったようなことが起きるわけです。それは体のなかにイオンがあったり、脂質があったり、蛋白があったり、さ

まざまな細胞との関わりのなかで材料が機能を果たしていくわけですから、それをいま堤先生がおっしゃったように、かなり正確にシミュレートできるようなテクノロジーができれば、われわれはそういう材料やデバイスが体のなかでどんな寿命を持っているかとか、あるいは体がどんな影響を受けるかということがしっかり描けるわけです。そうすると、やはり長期治療や、埋め込みでなにか治療していくような局面では非常に大事なテクノロジーになります。

バイオマテリアルは材料が高分子とか金属とかセラミックスとかそういうものだけではなくて、堤先生のように機械工学的な立場からみたり、もう少し生物細胞との病理学的な側面からみたり、解剖学的な面からみたり、さまざまな総合学問として捉えなくてはいけないのではないのでしょうか。

米山 実際の製品をつくっていらっしゃる立場からはいかがでしょうか。



松下 たとえば一つの関節をシステムとして使うときは、総合工学的あるいは科学的でなければいけないというのはそのと

おりだと思います。

一方で、先ほど岡野先生がおっしゃった、界面がどこまで設計できるかとか、あるいはどこまでコントロールができるかという点については、たとえばインプラントと硬組織を考えたときに、従来はアパタイトなどの生体活性材料は骨と引つつくということで捉えられました。しかし私は金属屋ですから、たとえばチタン材料を骨と引つつけるためにはどうしたらよいか、あるいはバイオイナートセラミックスを引つつけるた

めにはどうしたらよいかと考えて取り組みました。

チタン材料については中部大の小久保 正先生のアルカリ処理技術があります。チタン表面に最終的にOH基が来ると、それをベースにしてアパタイトが生体内で出来て骨と引つつくというものです。それが公表されて以降、その発想をさまざまな材料に適用していくと、結構チタン以外の金属とも引つつくようになりました。一つの現象がわかると基本的な情報として、それが波及的にさまざまところへ広がっていきます。

また、骨は微細な空隙に対して侵入する特性を持っているという情報もあります。結果的には数年かかっていますが、バイオイナートなジルコニアセラミックスと骨は引つつかないと思われませんが、表面をマイクロ凸凹構造にすると結果的にはちゃんと引つつくんです。従来は骨セメントを使って引つつけていたものを、今度はそういうものを使わずに、表面を微細構造にするだけで骨がそのなかに入り、結合します。そうするとセメントレスのインプラントとして実際に使えるようになる。そういう意味で、界面の現象を追求すること自体が、バイオマテリアルの本質を引き出してくる重要な課題になっていると考えます。

明石 材料工学かなにかの学会で、もともと冶金、金属工学の阪大の馬越先生・中野先生のお話を聞きました。ストレスのかからないところには骨が出来ない、これはわれわれが材料を一方的な方向からみていると出てこないような発想です。実験結果をとると、ストレスがかかるようなところにテープを巻く、応力緩和みたいな感じです。そのようなことで骨は出来ていくのだという結果を出されていました。マテリアルの分野にも、物それ自体でもない、界面で

もないこのような考え方があるのだと思いました。

岡野 古くから知られた現象で、われわれの骨というのは、やはり圧力をかけていかないと、カルシウムが抜けていってしまうのです。

明石 私が疑問だったのは、たんにサイトカインを出してアパタイト系のものをつくっても、陥没したところに骨ができるのは当然ですが、上に骨を接ぐことができるかどうかという点です。その結論からすると出来ないのです。ですから歯科インプラントをしたいときには、土台の骨をしっかりつくりたい。本来はその人の必要としないところにはやはり骨は出来ません。そうするとどうなるのですか。

堤 歯が抜けてしまった跡に人工歯根を植えなければ歯槽骨はどんどん減っていきます。骨を維持するためには咬合力の刺激が必要です。

明石 骨を高く積むということですね。

堤 力学的刺激をなんらかの形で与えれば骨は維持できます。

明石 たとえば、もっといいですよ、背が高くなるのでしょうか。

堤 その治療法をイリザロフ法骨延長術といいます。骨に切れ目を入れて、そこにピンを打ち込んで、毎日少しずつ引き離していくと、1日0.1mm程度で、延べ15cmぐらいは伸ばせます。

明石 ここで先ほどの話です。力のかかっていないところに自然に骨は出来るのですか。

堤 カルシウムや生化学的な要因で再生することはできるけれども、力学的な刺激がなければやがて消えてしまいます。

土屋 それはいま再生医療で、力学的刺激を導入した培養法などさまざまなところで研究されています。軟骨も力学的刺激がないと分化や強度、

微細構造などがどうかなるとかいった研究も進められています。

**明石** 騙してつくることはできるけれども、結局、出来ないということですか。

**岡野** 吸収されて安定性がわるいということですか。

**米山** 離れたままですと骨は出来ませんが、ちょうどよい具合に離しつづけると、その間がなくなったら困ると認識されて骨が添加されていきます。

**明石** なくなったら困るという場所では出来るので、本来盛り上げることというのはきわめて難しい。

**米山** はい。盛り上げることは難しいです。

## 医療技術とサイエンス

**米山** いま、エリアの違う松下先生のお話でも、以前の研究、たとえばミクロのレベルの材料研究から一歩進んで、徐放性のものや、表面に何基が出ているかというような微細構造の話になりますと、いまはやりのナノエリアの研究に入ってきていると思います。やはり界面と、徐放性のような機能性の分子という2方面がメインでしょうが、先生方のご意見はいかがでしょうか。

**岡野** 物理的な接着の強さ・弱さというのが、表面の上で反応基があって反応するかしないといったことはもちろん起きます。一方、やはり生体の側のレスポンスというのは代謝を使って変化します。ですから細胞が表面をみて形態変化していきますから、異物として認識するのとか、表面上でどういう接着をしているかというような現象に関し、代謝が関与する世界だとかなり通常の物理化学的現象と違います。それがバイオマテリアルの非常に面白いところです。これがコントロールできる

ようになれば、表面で生体を刺激したり、細胞を刺激したりできるので、これまでは受身的に材料の安定がどうかといった面ばかりが強調されてきましたが、今度は逆に、表面を使って生体を刺激して病気を治すことに使うような話までがいま出てきているのです。そういう意味では、この表面がどのくらい強い相互作用があるのかとか、スペシフィックなシグナルが入るかとか、そういった問題が非常にホットになってきています。これに関連し、さまざまなことがわかってきて、応用が広がっていくのではないかと思います。

**土屋** そういう意味で界面の反応として、細胞側の生体適合性評価指標としてギャップジャンクションが一つの指標になるのではないかとということで数年以上研究をつづけています。アメリカの規格協会ASTMからギャップ結合細胞間連絡に関する標準化文書をつくってくださいと依頼されており、会議に出席している外資系企業の質問などを受け関心の高さがわかりました。

細胞間情報伝達はギャップジャンクション構成蛋白分子のみがキーとなり行われるわけではないのです。エキストラセルラーマトリクスなどが絡んでギャップジャンクション機能が上がるわけです。いくつもの候補因子があるなかで、やはりなにが生体適合性や安全性においてキーポイントになるかということ効率よく適切に絞らないと非常に時間と費用がかかると思います。そういう意味ではギャップジャンクションは一つのマーカーになるのではないかと思います。

岡野先生の再生医療で、心筋再生ではこのギャップジャンクション蛋白質の発現や局在性機能を心筋再生の指標としての評価においても発表されています。これからは細胞と材

料の相互作用として、細胞・組織の形態のみでなく細胞間・細胞内の情報伝達・シグナル伝達を考慮した設計に基づく医療機器開発の重要性が明らかになり、国際的な開発戦略としてさまざまなところに広がっていくと思います。

**堤** わかるという意味では、特に再生医療などで、計測技術や計測パラメーターを抽出して、体のなかに入れてしまった細胞や組織がどのように反応していくのかを追跡する技術というのが、これからは非常に望まれてくるだろうと思います。私は先ほどからシミュレーションが必要と言っていますが、シミュレーションも嘘であってはいけないので、バリデーションが非常に大切です。信頼性を上げるために、体内でなにが起こっているかを追跡できる計測技術が、もっと必要になってくるだろうし、望まれる技術だと思います。

**土屋** 堤先生のおっしゃられるシミュレーション技術ですが、すでに米国では、審査のなかでの自主基準ですけれども、ごく一部分は承認申請書に使用されはじめています。

米国の不具合の40%強は設計上の原因があるといわれています。新技術が科学的な根拠に基づいて適切に導入される必要があります。わが国もそういう意味でも、堤先生がリードしてこられたものを、より育てて、耐腐蝕性、精密化、寿命、デザインとしての適切性などが的確に数字として出せるような技術レベルになるよう大いに期待します。それをやっていただかないと安全性を担保し、コスト面で合理性を追究するメーカーも困ると思います。

**堤** そのときに必要な臨床のデータベースがまだ不十分ですので、皆の力で構築していかなければなりません。よい例は当然データベースとして客観的に洗い直し、わるい例は

もっと大事ですから、さらに慎重に調べて蓄積していくのです。そこから重要な因子を絞り出していきます。シミュレーションのよいところは因子を抽出して、純化できる点です。特定の因子だけを追及すればどうなるかとか、分類できるというのは大事な特色の一つであろうと思います。審査基準や標準化にもっていくためには、計測技術と臨床データベースの構築が必須ですから、これから学会をあげての取り組みを望みたいと思います。

明石 エリアのどういうサイエンス、どういうテクノロジーと組み合わせるかということを整理する必要が出てきているのではないのでしょうか。そうしないとマテリアル研究に焦点が当たらずに、たんなる組み合わせだけになってしまって、マテリアル研究に反映されないようなことになる可能性があるように思います。

松下 先ほどのシミュレーションのお話ですが、われわれメーカーの立場ですと、構造解析や変形解析に数値シミュレーション技術を活用し、データを蓄積していますので、申請書類にシミュレーションの結果を、これは工学的にできることですから、それなりの経験に基づいた数値を付けているのですけれども、なかなか信用してもらえないのです。それはおそらく、先ほど堤先生がおっしゃった臨床成績とその数値シミュレーションの結果が合っているかというところが充分理解されていないのではないかと思います。結果的には、実験したデータをも付けています。それを何回もやることではじめて、このシミュレーションも信用できるといえるようになるようです。

土屋 そこはまさしく、バイオマテリアル学会や医療機器フォーラムで主題に取り上げています。審査官

側の方に活用していただけるような整理、蓄積、そういったものを目にみえる形で行ったほうがよいと思います。

松下 現状ではそれでかなりの回数、書類のやり取りを行っています。

岡野 結局それはサイエンスだと思っています。たとえばシリコンみたいなものですと、脂質がじわじわ入っていくって、屈折のところが弱くなります。しかし、親水性のものだとそんなに入っていきます。ところが今度にはカルシウムが入ってきて、石灰化が起きて固くなってしまふ。それは材料にもよります。そうするとシミュレーションといいながらも、そのような影響を勝手にないようにしてしまったり、勝手にあるようにしたりということが行われないうりません。どこまでリアリティーがあるのか。そういう意味では堤先生がおっしゃるように、ある仮定のもとでおいたシミュレーションは生体のなかの現象をこれだけ反映している、というデータが必要です。

しかし、そこがないから必ずしも信用できないので、そこをみんなで集めていく必要があります。界面でどういうことが起きていて、この現象はこの材料に限っては無視できるけれど、この材料に関してはこういう成分の影響は考えなくてはいけないというのを、もっときれいに整理していくことが重要だと思います。結局は界面のサイエンスをわれわれがどこまできちんと把握できるかで、やはり企業の人たちも含めた会員のなかで、そういうデータベースを全員で構築していくという雰囲気が必要ではないでしょうか。

松下 重要だと思います。シミュレーションの前提がなにであるかを明確にしてデータを蓄積する必要があります。そこが曖昧であれば結果の信用度がぐらついてしまいますか

ら。

岡野 結局日本のバイオマテリアルのレベルを上げるためにも、バイオマテリアル学会できちんとそういうことをやっていくというのは重要です。

土屋 昨年5月のASTMで、有限要素法のWGがありました。40～50人の米国系や海外の企業の人に参加していました。非常に注目されていると思いました。しかし日本からは私以外誰も参加していなかったのです。メーカーが大変優秀で全部できるのならよいですけれども、そうでなければ、やはりトップと常に一緒になって情報を収集するというのが非常に重要だと思います。彼らは、すでに数社以上で validation study を行っており、結果について活発に議論していました。われわれ厚生労働省の国立医薬品食品衛生研究所としては、再生医療をどうやって早くするかとなると、結局はそのなかで一番トップの人をよんでやっていると、とてもではありませんが早く進みません。その分野の人がいればよい、数が集まればよい、そういったことではなくて、先端医療となるとやはりポイントとなる人を集めてつくっていくことが非常に重要だと思います。

### 新技術とこれからの医療

米山 実際に応用される医療用具の開発のところまでサイエンスは必要であるというお話で進んできましたが、ではそういう新しい技術が、実際に社会の未来にどのような貢献をするかという観点からお話いただけますか。

土屋 従来の医療機器に関するイメージが非常に変わると思います。薬以上に劇的に効く、例外はありますが、従来型の医療機器ですと、使用

しても思ったほど治療効果が出ないなど、大手の有名な外国製品も少なからず不具合が出ています。

**米山** 用具、薬というのが分かれている状況とはまったく違う応用や、治療が可能になるということでしょうか。

**土屋** 新たな夢のある治療法として、薬以上に効くデバイスができるというように変わると思います。

**米山** そうなると、これまでは材料を入れて治していたのではないところに、材料を入れて治すということもありえますか。

**土屋** どちらかというとは昔は工業製品を入れて、埋めていたという感じですね。いまは、しだいにさまざまな技術なり、材料側も通常化学物質としての作用や、薬など多くの tool となりうる化学合成品や天然由来成分の特性や活性などの作用がわかってきました。それから材料と細胞とのインターアクション、メカニズムがわかってきました。なにが異物反応を起こしてくるのか、どういうものが病気を起こしているのかということが昔にくらべ、格段とわかってきています。それにどのような化学物質なり材料を持ってくればよいのかということが、先生方、企業などのなかにもアイデアとしてあるはずですね。ですからやはり次世代には、いまの医療機器以上のものをつくっていただきたいと思います。

**米山** それは改良されるものというだけでなく、まったく新しいところに医療用具を使うということも含めてですか。

**土屋** 少なくともいまの医療機器でもよいものはありますが、従来型のものより進んだものを出していただきたいと思います。認められているものはすべてよい、というわけではありません。ほかにないから使用している場合もあるのです。

**米山** 高齢化ということで、そのようなテクノロジーがどんどん活かされてくると考えられますか。

**松下** はい。いままでだったら、疾患があるので、それを治すために入れざるをえないという話であったのが、今度はむしろそれを自分で取り入れていって治していこうという、自発的な治療という発想になるのではないのでしょうか。

**岡野** これまでは薬の研究が非常に進みました。ペプチドのようなバイオテクノロジーが出てきて、生体活性物質というのが非常に大量に合成できる時代に突入したのです。しかしあまりにも活性の切れ味がよいために、ターゲットの場所に持っていないことには副作用ばかりが大きくなってしまいます。そうすると、薬を標的部位に送達する DDS ではバイオマテリアル抜きではつぎの新しい世代が出ないのではないのでしょうか。DDS はまさにバイオマテリアル抜きには考えられない時代に来ていますし、組織工学、ティッシュエンジニアリングのように、細胞で組織をつくるというのも、やはりどのように一体化していくかで、バイオマテリアル抜きの応用は考えられません。

いま、ES細胞、ステムセルなどの新しいテクノロジーがどんどん出てきています。ではES細胞をちょっと体のなかに入れると、一瞬にして心臓ができて、体に瞬時につながってしまうかということ、そんなことはできません。それを治療に使うためには、バイオマテリアルとどうやって複合させていくかというシステムで考えていかなければいけません。

バイオマテリアルというのは、これまで医療のなかにつくられてきたベーシックなテクノロジーをブレイクスルーしていく一つの大切な手法になりつつあるのではないかと思う

のです。“材料”というものの塊のようにみえますが、そうではなくて、そこに表面、あるいは内部から薬を出して、機能を伴っていて、そういう全体の設計論がバイオマテリアルの本質であり、これからさまざまな治療や診断をブレイクスルーして、われわれが予想しなかったような新しいものをつくり出す可能性のある新材料であると考えればよいと思います。

**米山** 治療方法自体が変わってしまうということですか。

**岡野** はい。

**土屋** バイオマテリアル単独では炎症を起こすような材料でも、そのバイオマテリアルにあるものを、たとえば薬まではいなくても炎症を抑えるような普通の化学物質を添加することによって、その材料の力学的な特性を活かせる材料の創生ということがかなりあります。ですから多少わるいといわれたからといってあきらめないでいただきたい。デグラデーションというのは大変重要な組織置換型のよい性質があるわけですから、工夫すればできる可能性もあるのです。非常に領域が広がるので、ぜひチャレンジするべきだと思います。

**堤** 再生医療でのバイオマテリアルというと足場材料だけが強調されますが、いま、お二人の先生がおっしゃったように、場や環境として、生体との間で対話する大事な場だということですね。そこにはさまざまな環境因子が必要だし、物理的な力学の場、電磁の場なども入ってくるでしょうし、そういう場を提供するのです。体のなかで夢の舞台となる場をつくるのがバイオマテリアルです。夢の大きい分野だと思います。

**米山** マテリアルなしには有効なターゲティングのできる場の提供が困難ですから。

**明石** 三つポイントがあると思

研究環境を、きちんと整備していくというのが急務だと思います。

**米山** 先生方の研究所のように、医学部と工学部の融合したような場所をもっと増やすというようなことでしょうか。

**岡野** 東京女子医大はそうやって頑張っていますし、東京医科歯科大も生体材料工学研究所をつくっています。堤先生のところの京都大学再生医科学研究所はいかがですか。

**堤** 私はそういう意味ではラッキーで、いま私は医学研究科の教授であり、工学研究科の教授でもあるので、大学院生は両方から来ています。一つの研究室、実験室のなかで、2分野の学生が一生懸命討論して、面白いものをつくろうと頑張っています。交流と協力のありかたを問いかけていかなければいけないのではないのでしょうか。

**米山** 医学・工学両方の講義を受けるからといって学生が育てられるというわけではなくて、やはり普段から一緒に研究することが重要です。

**松下** 企業でもそうです。従来は、自分が機械工学を知っていて、お医者さんとおつき合いをしていけば物が生まれるという感じでしたが、しだいに創造的になってくると、ケミカルもわからないといけないうし、医師がなにをニーズに持っているかもわからないといけないう。それらが全部要るのです。そうすると、これまでの企業体系のなかではおそらく対応できませんので、新人を採用するときは、医学知識を持っていて、なおかつ工学に興味があるという学生を採用したくなるわけです。企業にいる人材で、機械系で入ってきた人を大学に留学させて医学を勉強させたり、体験させたりしていると、時間的にも費用的にもとても間に合いません。ですからそういう医学的な知識を持った、先ほど岡野先生がおっ

しゃったようなダブルメジャーな学生さんだったら、喜んで採用したいというニーズを企業も持っているという気がします。

**明石** 大阪大学も、インターフェカルティー教育という言い方で、積極的に、医学部の方は工学部のこのカリキュラムをとってくださいますとカリキュラムを提示して、いくつか取るとライセンスを発行するようなシステムにしました。さらに、工学部の先生方には、医学部の学生さんが必ず何名か来ますからそれを考えて講義を組み立ててくださいますと、医学部の先生方には、工学部の学生さんたちが聞きにくることを前提にして講義をしてくださいとして、一つずつそのような講義をつくりました。ある程度の単位をそこで修得すると、それにライセンスを出すということにしました。

**米山** どういったライセンスを出すのですか。

**明石** 臨床医工学融合研究教育センターの修了証書です。そして、そのようなものを取っている学生は見てほしいと企業の方にお願ひしました。きちんと教育を受けて、このような単位を取っているのだということになれば、そこにどんどん人が入っていきますし、できればそこを独立させて大学院をつくりたいのです。ここでドクターコース、あるいは修士を出す。教員の配置もする。そうしますと、岡野先生が実践されているようなことを、各大学でできてくると思います。古い体質の大学に新しいものをつくるのはきわめて難しいですが、一つずつでもやっていこうと思っています。

**岡野** やはり日本というのは、産業があって、産業のために大学があったわけです。さまざまな産業があって、どのくらいの人数がそこに必要かで各学部の大きさが決まって

いました。そうすると、現在ない産業を誰が作るのかという問題があります。改良はやっていけるのですが、新産業というのはなかなかできないのです。

ところがアメリカは、1970年代の後半から80年代にかけて、すでに50もの大学でバイオエンジニアリングやバイオメディカルエンジニアリングの学部や学科が出来ているのです。リソグラフィーをやっている人たちに必修で遺伝子を教えてしまいます。つまりバイオとエンジニアリングを合体させる教育をやっていたわけですが、彼らはそのときに産業があるわけでもなんでもなかったのです。このような教育を受けた人たちが未来の産業をつくるのだということに信じて、そういう人たちをつくってきたのです。それで21世紀に突入すると、遺伝子チップや新しいバイオテクノロジーの新産業をそのような人たちが作りはじめています。

そのことをそろそろ日本も本気でやらなければいけない時代に来ていて、産業があるから人をつくるのではなくて、未来のために産業をつくり出すような人をつくっていかなければいけません。そのプロセスのなかで、工夫の仕方によって企業はいくらでもメリットを出していけると思います。そういう課題をきちんと持って教育されてきた人たちは、おまけを出しながら目標に向かっていきますから、場の設定ということをそろそろみんな本気で考える時代が来たのではないかと思うのです。

**明石** 間違いなくそのようになっています。松下先生が言われましたが、若い人はそのような分野をやりたいから、大きな会社ではなくて新しい会社にどんどん来るようになってきている。間違いなく、若い人は自然にそのようなところに集まってきているのです。先ほどお話しした臨



床医工学融合研究教育センターでも予想外の人数が集まっています。受講者は、特にまだなにも習いません。ライセンスといっても卒業要件にもなにも入っていないのですが、とにかく学生は来ています。勉強しています。おそらくそのようにして学んだ人は、新しいなにかを生み出してくれるのだけは間違いありません。

米山 科学技術立国として、多額の国家予算でそのサポートが行われていますが、先ほど岡野先生がおっしゃったように、未来を見据えてやらなければいけないにもかかわらず、それが充分に行われているかという、なかなか難しい問題があるように思えます。

### 開発・臨床応用の促進

米山 教育の話、若手を育てるといふ話は少し変わりますが、未来に貢献するような次世代のバイオマテリアルを活かしたデバイスに関して、開発・臨床応用のエリアで、どのようにしてプロモートできるかということで、土屋先生、松下先生からお話しいただけますか。

松下 土屋先生が日ごろからおっしゃるような標準化が重要な手段だと思います。評価するにしても物をつくるにしても、その基準になるものがオーソライズされていて、そういう意味での標準化がなかったら、やはり速度は上がらないし、無駄が多いと思います。

私は台湾の人達とも若干おつき合いをしています。股関節をつくる場合に彼らは、“ISOのこの番号でやっているから間違いはない”と主張します。事実、標準に従っていますから間違いがないわけですし、世界中に通用します。基準や標準は非常に強い力を持っていて、特に物づくりの世界に入った途端に一つの証に

なってしまいますので、非常に大事だと思います。この点日本は整備がずっと遅れています。

明石 日本で独自で持つべきなのか、国際的なスタンダードに日本が合わせていくのか、先生方はどのようにお考えですか。

松下 すでにあるものはそれはいかに取り込むかということでもよいと思いますが、新しい領域に関する場合はやはりそれを手がけて、先駆けてやっているところがそのドラフトを出していった、それを国際的な標準にしていくということだと考えます。

明石 日本が独自のスタンダードを示してでも国際標準化を測るべきだということでしょうか。

松下 そうすべきだと思います。

土屋 ISOだからすべてよいわけではなくて、かなりいい加減なポリテカルで概念しか示していないものもあります。事実、米国の調査では、医療機器の不具合の40~43%は設計のミスであるといえます。すべて“外国は素晴らしい”ではなくて、もう少し冷静に自分たちも自信を持ってやっていただきたいと思えます。

質問も漠然としているのです。要するに、評価が食い違っているとか、なぜPLAは駄目なのかなど、非常に漠然としています。そのところだけで、自分たちで勝手に無理と決めつけて、もうそこから敬遠している。開発しない。私にはそのようにみえます。その場で聞きづらいようであれば1対1で対応したら適切にお答えします。JCII(化学技術戦略推進機構)など、さまざまなところの会に呼ばれて行ったのですが、そういう漠然とした質問しかできていないということです。ですから漠然と答えればよいのか、どこのメーカーのあれはこうではないですかと失敗例とし

てあげればよいのか。名前を言ってもよいのか迷うことは事実です。

いわゆるそういう意味で標準化を、なにを優先するのかを考えるべきだと思います。すでにあるものや、でき上がっているものを勉強するために行うのは標準化ではありません。リードしていくもの、日本の医療機器を売れるようにしていくような先導的な標準化というものがあるはずで、まずそれから行うべきだと思います。いわれたから仕方なくつくっているような状況ではいけません。大したものはいません。

堤 ISOも含めてですが、基準が必ずしも品質を保証しているわけではありません。保証するために皆で知恵を出し合って、評価する手順やシステムを示すことなので、基準をパスしたからといって実全であると保証しているわけではないのです。ただ、評価の手法がなにもなければもっと危ないわけです。

米山 少なくとも基本要件のところだけは、できるだけ同じ方法でくまられるようにしようという考え方がまずあります。

堤 そういう意味では、日本の医療用具はまだほとんど規格化がなされていません。早く国際標準と整合化していき、同時に、いま土屋先生がおっしゃったように、日本から発信するような規格案をつくり、どんどん世界をリードしていくために努力すべきであるのは間違いありません。

米山 グローバルなマーケットに対して売らないと商売としても成り立たないということになりますと、国際標準のほうが主体になってくると思うのですけれども、偶然にもISO日本代表の委員長がお二人いらっしゃると思いますので、日本の国際標準に対する姿勢や環境ということについて、ご意見をお願いします。

土屋 ISO国際会議に、日本の医

療機器メーカーはあまりにも出席していません。ISO/TC150の人工血管のWGは誰も出席していない。ステントなどはDESの標準化がスタートし、どんどん進んでいます。そのWGに日本のメーカーの方はどなたも参加されていません。中国からは5名も出席されていました。

米山 土屋先生はISO/TC194で生物安全に関して検討していらっしゃると思いますが、そちらはいかがでしょうか。

土屋 生物学的安全性についてはISO/TC194国内委員会がしっかりとやっています。30~40名の委員で構成され、中村前薬品部長のときに築かれた伝統を引き継いでいまして、医療機器の高度化に伴い、しだいにメンバーが増えてきている状況です。

米山 その国内委員会における最新の標準の状況などはどのようにして知らせているのでしょうか。

土屋 TC194国内委員会ホームページ(<http://dmd.nihs.go.jp/iso-tc194/>)に標準化に関する最新の情報を掲載しております。ホームページをみていただければ、これまで開催された国内委員会の議事録がすべて掲載されています。

米山 産・官・学連携のフォーラムなどでも公開されていますか。

土屋 前回の医療機器フォーラムまではISO/TC194の状況を紹介していましたが、2005年10月の医療機器フォーラムでは動物組織材料のBSE問題をとりあげました。医療用具の場合、コラーゲンや生体弁などがありますので、それらのBSE問題について、大阪大の黒澤 努先生に現在の状況を説明していただきます。国立医薬品食品衛生研究所でもISO/TC194 SCIで作成作業が進められている“動物組織安全性”に関する三つの文書案について専門の方々をお招きして拡大委員会をやることになっ

ています。また、実際そういったものを扱っている国内と外資系企業にも入っていただいた拡大委員会でも議論し、厚生労働省の担当官にもご意見をお聞きして進めていく予定です。

米山 堤先生のISO/TC150では医療用具のメインである外科用インプラントを対象に審議されているところですが、どういう状況でしょうか。

堤 ISO/TC150の国内検討委員会では、参加企業がしだいに増えてきたのですが、全体としてやはり、外科系インプラントそのものを製造する会社は、日本としてはまだあまり多くない。インプラント産業の底上げをしていかないといけません。その原因として、先ほどからさまざまなことが出ていますが、日本の企業体質が医療器具に対してまだまだ積極的でない。若い人がどんどん企業に入っていくって、日本独自の外科用インプラントを開発していただくというのが本当に望まれます。

米山 環境という面では、前よりもよくなっている部分もありますが、依然として十分に整っているわけではないので、これからのバイオマテリアルを活かした次世代の医療用具開発につながるような研究開発をますます推進していくためには、さらに環境も整えていかなければいけませんし、残っている問題もかなりあります。

土屋 このところ約2年間は、認証基準のためのJISや規格づくりを中心に進めていただいていたのですが、いまは承認審査ガイドラインづくりが中心になっています。現在は月1回程度、規格・基準づくりなどのための会議を開いています。医療機器・医療材料の合同部会は3カ月に1回ありますが、合同部会での審議にターゲットを絞って可及的に早くガイドラインなどの文書が公開されるように進めています。

米山 そのガイドラインに従って行えばすぐ承認にもつながるような、労力を省けるようなものでしょうか。

土屋 はい。承認審査ガイドライン(案)も厚生労働省のホームページで公開し、コメントを募集後、修正し、最終版となります。これらは月に2回発行される薬事行政の本に掲載されています。

今年度から次世代医療機器評価指標策定事業を経済産業省と一緒に行うことになり、再生医療、ナビゲーション医療、生体親和性インプラント、体内埋め込み型能動型機器、リボソームなどのデリバリーシステムの五つのWGで次世代の医療機器の評価指標作成のための事業が行われることになりました。それぞれ五つのWGにおいて、関連学会からの委員も入っていただくことになっています。そのような状況のなかで評価指標が整備されていきますと、今後は企業側の体質が問われる時代になると思います。

### 未来の研究者へのメッセージ

米山 企業側の体質も問われるという話が出たところで、将来を背負って立つ若手の研究者、あるいはこれからそうだろうと思っている学生さんたち、企業に入ってくる予備軍、あるいは入ったばかりの人たち、技術者、そういった人たちに対して、こういうところが魅力だ、こういうところは気をつけたほうがよいとか、こういうことをやりなさいというご助言などをいただきたいと思います。

明石 教育面から考えると、医学部の先生の理解がかなり進んだような気がします。医学部の先生が嫌がらずに工学部の学生にも講義をしています。松田 暉先生が、工学部の1年生の学生さんに熱心に講義されるという時代が来ているのです。感動

です。大阪大をもうリタイアされていて、でも講義をする。講義していただいた後、松田先生にお礼を申し上げますから、来年はもっと準備しますからとおっしゃられて、びっくりしました。松田先生がこういう気持ちを持っていらっしゃるということは、もうみなさん方がそういう意識にのびて変わってこられているのでしょうか。

これも岡野先生のお力が大きいと思うのですが、大阪大医学部の澤 芳樹先生、松田先生に対して、われわれ工学の研究者が、工学だけではなく、誠意を持ってこういう分野を一生懸命働きかけてきたと思うのです。いまの時代になってきて、医学部の先生方が、やはり自分たちも同じ土俵で学ばねば先の治療、医療をする者がいないという意識に変わってきたのです。それを今度は若い人が敏感に感じて、教育面ではかなりうまくいくなってきたのではないのでしょうか。工学部の方々も、医学部の先生方に対して、いい意味での畏れはあるけれど、怖いという意味の恐れはなくなってきた。そのような雰囲気はありませんか。

**米山** そういう環境としてはよい面も出ているかもしれませんが、逆に言うと、ただ興味を引かれてそういう融合領域のところへ行っただけだけれども、結局どっちもわからないというような学生も出てくるのではないのでしょうか。

**明石** どっちもわからなくなっているというよりは、新しい分野に対する興味を持っている人が増えてきていると思います。われわれ団塊の世代とくらべて、いまは外国語を非常に自然に受け入れています。それと同じように、このようなバイオサイエンスやバイオテクノロジー、バイオエンジニアリングというのを非常に普通のものとして受け入れる

時代が来ているのではないかと思います。

**岡野** お手本があれば真似はしやすいのです。ある世代、つい最近までは、先生がいて、先輩がいて、先生や先輩の真似をしていけば間違いがなかった。なにかできたわけですが、日本はみんな、自分の専門ですとって小さなフィールドで、そこから出ない方がむしろよい人生が描けたし、それが成功者になりました。ところがそういう限られたところというのは、中国・韓国の人たちがどんどん出てきて、追いつかれています。アメリカはどうしているかという、縦割りではない学際領域に出ていって、新しいフィールドをどんどん立ち上げていっているわけです。むしろ先生や先輩がやらないことをどうやってやろうかということ、アメリカの若い人たちは本気で考えています。日本は先生と先輩のやったことしかやらない、それがよいことだと思ひ込んでしまっているのです。

そこにいま大変なギャップがあります。バイオマテリアルというのは医学と工学のちょうど境界領域のようなところであって、そういう場所こそが、つぎの新しい時代をつくるということが最近ようやくいろいろな実績から注目されるようになってきました。ところが教育は変わっていないから、本気で取り組むにはなかなか勇気が要るわけです。

東京女子医大の清水達也先生は循環器のお医者さんで、しばらく臨床はやめて、細胞で心筋をつくりたいとって私の研究所に来ました。現在講師で活躍しています。泌尿器のお医者さんだった白柳慶之先生は、助手を辞めて、細胞で膀胱をつくるから大学院の学生にしてくれとって、新しい再生医療の研究をはじめたりしています。そういう人も出てくるのです。

医師にとっては、これまでのやり方とは変わったやり方というのをやるにはかなり勇気が要るわけです。それでも夢があるからやるという人が出てきたわけですが、工学サイドでも、夢があるからこういうバイオマテリアルをやるという人たちが出てきたわけですが、時代がやはりそういう人たちを必要としているし、そういう人たちが出てきて成功していく時代になってくればますます人材が集まってくる。やはり、お手本どおりの生き方でよいのかどうかです。本当に賢い人は新しいフィールドへ出てきてチャレンジしたら面白いのではないかと行ってあげたいです。

**米山** おそらく、お手本どおりのことをやっても、自分がお手本となるべき年齢になったときにその場所はないという状況が、いまの展開では充分ありえると思います。さまざまな授業や講演などもあるので、そういうところに積極的に出席して、どういうところがあるのかを自分で探せということでしょう。

**松下** ありふれたことですが、やはり最後までやり遂げる粘り強さが大切です。先ほど岡野先生がおっしゃった、自分はこれをしたいという、やりたいことに対する情熱をどれだけ燃やせるかという精神構造になったときに、最後まで粘り強くやれるかどうかでしょう。

よく言われるように、途中でやめたらそれは失敗で、粘り強く最後まで行き着いたらそれは成功だと。その成功ということへ行き着くための粘り強さというのは、なかなか普通はできないと思いますが、本人がまず情熱を持ってその努力をする。組織の場合は、それを今度は上司がサポートする。先がみえない場合でも、激励することで限りなく力が出てくると思います。そういう組み合わせが必要です。本人の情熱と努力

は最も重要だと思いますが、それだけでなく、その二つの組み合わせがないと最後まで行き着かないのではないかと思います。

**明石** 社会としての受け皿を用意するように組んでいきたいです。そういう人たちの生きる道を与えようということです。

**松下** 道を見せるような感じです。

**堤** 大学で新しい教授を迎えるときに、実績で評価します。論文が多いとか、引用数が多いとかありますが、陥りやすいのは、その人の先生が偉くて、その先生の仕事を一所懸命やってきたという候補者ばかりが目立ちやすいのです。そういう人よりも、まさに岡野先生がおっしゃったような、変わった人、自分の発想でやってきた人を発掘しようとしているのに、逆にそうした人材がまだまだ少ないというのも困ったものです。

若い人には大いに自分らしさを発揮する研究を粘り強くやっていただきたいと思います。熱意を持っている人はかなり増えてきましたが、他人と違うことを言うとか叩かれるのはやむをえません。そこで打たれ強くなるためには、情熱もそうですが、理論を持たなければいけません。こうあるべきだという、従来と違う自分の哲学をつくるような、粘り強くことん頑固でありながら、間違いとわかれば正しい方向へと豹変できる勇気もある、そういう人を待望しています。

**米山** 現実として、Ph.Dを取った後に助手のポストが充分にない場合には、どんな気持ちで頑張れと先生方は助言をなさいますか。

**岡野** 私は工学部を卒業しましたので、医学部に行くときに、周り中からどうかしているのではないかと言われました。医学部で万年助手をやるつもりかと言われて出てきたのです。現在、東工大の赤池先生と東大の

片岡先生と、3人で助手をやっていた時代があるわけです。そのように言われながらも、いま3人も教授になっています。

時代とともにそういうものは変わるし、自分が大丈夫だと思っても窓際になってしまうこともあります。それなら、ポストのために研究をするのはやめて、自分が信じられる場所でやったほうがよいと思うのです。ポストがあるからとか、教授になれるからというのは研究が好きなのはありません。本当に好きな研究をやって、そこで頑張りつづけていけば、ポストはどこかでついて回ってくるのではないのでしょうか。結局私はアメリカまで行って、働く場所をアメリカに求めて、そこまで追い詰められても好きなことをやりつづけたのです。そうするとなにかが変わります。ですからやはり研究が好きだったら、あるいはやる必要があるだと思ったら、先ほど堤先生がおっしゃった理論的なバックグラウンドをきちんと持つことが大事だと思います。こういうことをやりたいという夢に向かって努力する若者は、社会が必ず必要とするから、いつかポストは回ってくる。ポストのために自分を曲げる必要はまったくないと思います。

**明石** バイオマテリアル分野の若手研究者は自分で道を拓けと言ってしまってもいいかもしれません。先駆者たちはそうしてきたのです。先ほど申し上げた、ポストを社会で用意できたらというのは願望で、若い人に言うべきこととしては、哲学を持ってとか、自分で道を拓けというのが、この分野としてはふさわしいのかもしれない。

**米山** 若い人が、これがよいと思うのが一番正しい方向かもしれません。

**明石** そういう人でないと生き残

れないし、拓いていけない分野であることは間違いないと思います。いまの教育システムはそれなりに意味があると思います。ただ、国民の利益を考えるとしたら、もう少し受け皿を用意して、教育システムを充実させて、そういうところに人材がうまく流れるように持っていったほうが国益に適うと思いませんか。

**米山** 産業のほうまで影響するような知的なバックグラウンドを整えて、国際競争力のある新産業創出にという方向につなげるためには、重要なご指摘だと思います。

**岡野** 電機というフィールドは非常に日本は頑張っている。ところが少し自分で工夫が必要だったり、創造や新しい挑戦が必要だったりするフィールドが、日本では懸案事項になっていて、ゲリラ的な戦いになっている。バイオマテリアル研究では平均値でアメリカにやられていますが、トップレベルの研究も負けているかという点必ずしもそうではなくて、世界で通用するような、というか世界をリードするような研究がたくさんあるのです。このフィールドのかさ上げという意味では、社会整備をきちんとしていれば優秀な若者が入ってくるはずですが、ほかのフィールドにとられてしまうのは、先駆者たちがわるいのではないのでしょうか。企業でもそうです。優秀な人材をたくさん採れば自分の事業部も一気に大きくなって、会社も発展するわけです。それを電機会社や自動車会社にとられてしまうのは工夫がないからです。大学も同じではありませんか。

**米山** 生体材料を標榜する大学の研究室、学科はますます増えてきておりますので、会社のニーズを満たしたような卒業生がつぎつぎと出てきて、よりどりみどり…となればよいですね。

岡野 行政サイドでも、そういう人が必要なのです。おそらく土屋先生のような、バイオマテリアルを本当に専門でやってこられた人が行政サイドに立ってやったらもっとよくなるはずですが。しかしそういう人を出す仕組みがないのです。

土屋 はい。審査官も300人定員のところ190人しかいないのです。

明石 埋まっているのですか。

米山 無理に埋めても仕方ないからです。

土屋 そうです。募集で受けられるのですが、落とされるようです。医療機器の生物系もそうです。現在、2人ぐらいの審査官ですから、そのあたりが今後も課題だと思います。

若い人というのは上の人の一語で変わるので、エンカレッジして、この人は駄目だと決めつけしないで、その人の能力を最大限に引き上げてあげてを常に考えてあげるとかなり違います。

米山 若手に対するというよりはわれわれに対する助言ですね。

土屋 私のところには大学院生が1人いますが、学生さんはいません。さまざまなところを経由したPh.Dがいますが、前の教授が非常に明るく育てた人と、いじめられたかと思っ

て、そこで自信を持たせて、あなたならできると言ってあげるのです。一見元気がなさそうでも、本日ここにいらっしゃる先生方は成功例だからご自分の経験としてはおわかりにならないかもしれませんが、一言、元気づけてあげれば人は変わります。若手は特に変わります。そうすると日本のパワーになります。そこがまず非常に重要です。人材育成をもっともっと重要視していただきたい。優秀になれる可能性がある人がたくさんいます。全員にその資格があり、よいところはあるわけですから、よい面をみて育ててください。

明石 土屋先生は激励型ですか。先生はもしかしたら怒るタイプかと思っていました。

土屋 若いころはそうでした。室長のころは必死ですから、そうすると若い人を厳しくみてしまいます。それで反省したのです。

米山 若手をエンカレッジするので、若手自身は自分を信じて粘り強く頑張れと。

土屋 定員は少ないわけですから、最大限活躍してもらうように、いまままで一つで済んだことを三つも四つもやれるような人材を育てないとやっていけません。

米山 このエリアはチャンスが多

いということですか。

岡野 バイオマテリアル学会に来ると普段会えないような人と会えるという学会にして、そういう人が集まっている学会だから、常に未来のテクノロジーの創出に向けて、エンカレッジメントをしながら学会で若い人を育てていくというのも大切ですね。

米山 学会の懇親会にも出ましょう。

土屋 そうすると、周りの方々に理解していただけてよいかもしれません。

堤 アメリカの学会では本当に学生を大事にする部会がたくさんあります。論文の書き方の講習とか、もちろん就職相談のコーナーもあります。

明石 バイオマテリアル学会も落ち着いてきたようなので、若手の育成というのを次期は入れていただいたらどうですか。

米山 本誌24巻3号(2006年5月号)に若手の特集が組まれておりますので、是非そちらも参考にさせていただいて、バイオマテリアルの未来を背負う人材がますます育っていくように、学会をあげて取り組みましょう。

本日は貴重なお話をいただき、ありがとうございました。

# 再生医療・繊維工学・人工臓器に使用される医療用材料の 安全性・有効性に関する基本的考え方

*Standpoints and Principles for the Evaluation of Safety and Efficacy of Biomaterials  
Applied for Tissue Engineered Products*

土 屋 利 江

## 1. はじめに

国内外共に開発競争が盛んな医療材料の一つとして生分解性材料があげられる。限られた紙面の都合上、ここでは、注目されている生分解性材料において、現在、安全性・有効性において問題になっている点を中心に述べる。生分解性材料は、やがては生体内で消失し、残存しないという長所があるものの、吸収性材料であるが故に、クラスⅣに分類されるハイリスク医療材料である。最近の不具合報告や前臨床試験研究からも、解決すべきいくつかのポイントがあるので、現在考えられる基本的考え方について述べる。

## 2. 安全性

各種モノマーから合成される高分子系では、使用される触媒の選択が安全性・有効性を考える上で第1のキーポイントとなる。環境および生体ハザードとして有名な触媒を使用している例がある。生分解性材料を医療材料として使用した場合、生体内で吸収される。使用される材料のトータル量は医療材料の使用目的によって数mgから数g程度まで異なっている。量が多くなると安全性上のリスクも高くなる。安全性上問題はないのか最新の知見を十分検討して合成のスキームを描いていただきたい。また、医療材料として使用する場合、使用する部位、使用する量、分解速度によって安全性に関するリスクレベルは異なる。慎重な検討を御願いたい。

## 3. 経済性と安全性

医療材料も、エコマテリアルであることが、理想的であるが、通常、工業製品用のエコマテリアルとなると数百から数千トン単位で合成され、地球環境系へ放出される。また、使用量も多く、できるだけ低コストで生産されること

になる。工業界では、安価な触媒で効率よく重合できる製法が望まれる。安全性に対する検討事項もあるが、医療材料として使用される場合とは試験選択項目が異なる。分解性という点でエコマテリアルの候補と考えられるポリグリコール酸には、環境ハザードで有名な有機錫で合成された製品が販売されている例がある。有機錫は、ppbあるいはそれ以下のオーダーで神経毒性を示す触媒である。作用域が低濃度であるため、残留物の分析では、一般化学分析では、同定・定量することは容易ではない。製造工程が示してあれば、容易に知ることが可能であるが、カタログ掲載の製品では、使用されている触媒が、明示されていないし、たづねても回答がかえってこないケースが多い。世の中に登場しているエコマテリアルと称される材料が、安全性上、危惧される点が解決できた製造工程で合成されているか確認する必要がある。環境中に放出されれば、触媒は、土壌中に残留することになり、海にも流れ、やがては、魚貝類に蓄積し、食物連鎖によりやがてはヒトの健康への悪影響が懸念される。これらの点は、逆の発想をすれば、有効性の高い材料開発のアイデアともなりうる。すなわち、毒性のある触媒の代わりに、有効性の高い触媒を使用すれば、安全で有効性の高い材料開発の創製となるかもしれない。

海外では、すでに無触媒条件下で分子量100万のレベルまで重合した生分解製材料を高価な価格で販売しているという。この分野の国際情報の流通がわるい。

## 4. 生体適合性

第2のポイントは、生体内に埋植すると炎症反応を惹起しやすい性質を示す材料がある。炎症反応が起これば、例えば、バイオ軟骨において、動物に細胞組み込み型生分解性スキャホールドを埋植し、炎症がおきれば、スキャホールドに播種した軟骨細胞等の分化発現や機能維持の目的を達成できない。従って、このような材料に起因した炎症反応を回避あるいは消失させるための創意工夫をしていただきたい。炎症反応惹起の有無はin vivoで確認する必要がある。ある生分解性高分子からなる材料に軟骨細胞を播種してin vitro培養すると分化を非常によく促進する。次に、動物の軟骨欠損部分に移植したところ、組織再生がうまくいかない、材料や細胞組み込み型材料を埋植すると組織再生は遅延し、それらをまったく埋植しない軟骨欠損のまま



TOSHIE TSUCHIYA

国立医薬品食品衛生研究所 療品部長  
〒158-8501 東京都世田谷区上用賀1-18-1

Tel: 03-3700-9196 Fax: 03-3700-9196

E-mail: tsuchiya@nihs.go.jp

〈専門〉繊維工学、医療材料の安全性と生体適合性

の群の自然治癒率がもっとも優れていたということも実際ありうる。Tissue Engineering 関連の論文で掲載されたデータで、in vitro でどんなに成績が良くても、生体内で、同じように作用するか否かは、別の問題となる。in vitro で優れた成績を示している必要性はあるが、必ずしも in vivo で成功するとは限らない。生体内は、複数の細胞・組織のネットワークで営まれております。in vitro 系は、特定の細胞の反応をみていること、さらに、検出している指標のみを解析しているにすぎないことを、いつも考慮しておく必要がある。

#### 5. 更なる生体適合性

第3のポイント、合成高分子には、ゲッシン類で比較的高い腫瘍発生率を示す材料があることに留意して、新たな材料開発を行うべきである。たとえば、京都大学の研究成果では、ポリグリコール酸は、フィルムをラット皮下に長期間埋植しても、腫瘍の発生を認めなかったが、ポリ乳酸フィルムを、ラット皮下に埋植した結果、埋植ラットの40%に腫瘍発生を認めている。ポリカプロラクトンとの共重

合体では、50%の腫瘍発生頻度であった。一方、材料発癌では、20年以上昔の現象から、フィルム状のものをゲッシン類の皮下に埋植すると、腫瘍を発生する。との古典的な説がある。フィルムがすべて同程度腫瘍化するわけではない。シリコンフィルムでは、手術群に近く、低発生率である。フィルムで腫瘍発生する生分解性材料を、粒子状にして埋植した結果、やはり腫瘍を発生し、発生率は、埋植量に比例した。私は、埋植材料の化学組成、物理学的性質、残留性(分解速度)、血管系の有無などがサイトカイン産生、コネキシン機能変化、炎症反応による活性酸素産生、修復能などに影響を与え、腫瘍発生率に関係すると考えている。

医療材料の安全性評価においては、ガイドラインにある一通りの試験項目について受託機関等により試験し、すべて陰性結果を得ると、安全であると考えやすいが、その試験が適切な抽出やサンプル適用方法でおこなわれていない限り、意味のない試験結果となることを強調しておく。生分解性材料の場合に、そのオリゴマーの安全性についても評価することが、長期予測をおこなう上で重要である。

---

## 第10回高分子分析討論会(高分子の分析及びキャラクタリゼーション)－研究発表募集－

主催：日本分析化学会高分子分析研究懇談会 協賛：(社)繊維学会 日時：平成17年10月27日(木)・28日(金)  
会場：工学院大学新宿校舎〔東京都新宿区西新宿1-24-2、交通：JR(山手線・中央線・埼京線)、京王線、小田急線、地下鉄(丸の内線・都営新宿線)「新宿」駅下車西口より徒歩5分。大江戸線「都庁前」駅直結〕  
[http://www.kogakuin.ac.jp/mnp/shinjuku/map\\_shinjuku.pdf](http://www.kogakuin.ac.jp/mnp/shinjuku/map_shinjuku.pdf)  
発表申込締切：7月1日(金) 発表要旨締切：10月7日(金)  
研究発表申込先・問合せ：〒305-8565 茨城県つくば市東1-1-1 つくば中央5  
(独)産業技術総合研究所 計測標準研究部門 有機分析科 高分子標準研究室 松山重倫  
TEL: 029-861-4617、FAX: 029-861-4618、E-mail: polymer@m.aist.go.jp

---

## 第41回X線分析討論会－講演募集－

主催：日本分析化学会X線分析研究懇談会 協賛：(社)繊維学会ほか  
日時：平成17年10月21日(金)・22日(土)  
会場：京都大学福井謙一記念研究センター(京都市左京区高野西開町34-4)  
講演申込締切日：8月10日(水) 講演要旨締切日：9月16日(金)  
詳細については下記にお問い合わせください。  
〒141-0031 品川区西五反田1-26-2 五反田サンハイツ304号 日本分析化学会X線分析研究懇談会  
TEL: 03-3490-3351 FAX: 03-3490-3572 E-mail: ktanaka@jsac.or.jp

---

## 「高分子材料の耐久性評価」に関する講習会

主催：日本材料学会 協賛：(社)繊維学会ほか 日時：平成17年7月22日(金) 9:30~14:40  
会場：工学院大学新宿校舎28階第1会議室 〒163-8677 東京都新宿区西新宿1-24-2(TEL: 03-3342-1211)  
プログラム、参加申込の詳細については、下記にお問い合わせください。  
〒606-8301 京都市左京区吉田泉殿町1-101 日本材料学会「高分子材料の耐久性評価」講習会係  
TEL: 075-761-5321 FAX: 075-761-5325 E-mail: jimmu@jsms.jp

# Improved Biocompatibility of Titanium–Zirconium (Ti–Zr) Alloy: Tissue Reaction and Sensitization to Ti–Zr Alloy Compared with Pure Ti and Zr in Rat Implantation Study

Yoshiaki Ikarashi<sup>1</sup>, Kazuhiro Toyoda<sup>2,\*</sup>, Equo Kobayashi<sup>3</sup>, Hisashi Doi<sup>3</sup>, Takayuki Yoneyama<sup>3</sup>, Hitoshi Hamanaka<sup>3</sup> and Toshie Tsuchiya<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Division of Medical Devices, National Institute of Health Sciences, Tokyo 158-8501, Japan

<sup>2</sup>Division of Pathology, National Institute of Health Sciences, Tokyo 158-8501, Japan

<sup>3</sup>Department of Metallurgy, Division of Biomaterials, Institute of Biomaterials and Bioengineering, Tokyo Dental and Medical University, Tokyo 101-0062, Japan

Titanium–zirconium (Ti–Zr) binary alloy has better corrosion resistance and mechanical properties than commercially pure Ti. The present study was designed to determine the biocompatibility of Ti–Zr alloy by an implantation test in animal bodies in comparison with pure Ti, Zr, and chromium (Cr) implants as positive controls. Sample specimens were placed in a subcutaneous position in rats for 8 months. No significant decreases in body weight, the weight of any organ, or the weight of any organ relative to body weight were found in the implant groups compared to a no-implant control group. On hematological examination, small differences in several parameters were found in some groups, but these changes were not attributable to the materials implanted. Mitogen-induced blastogenesis was observed in similar degrees among all implant groups. These results suggest that the implantation of test samples did not cause systemic toxicity or a decrease in immune activity. The fibrous capsule membranes around the Ti and Ti–Zr alloy implants were thinner than those around Cr implants. The numbers of macrophages, inflammatory cells, and other cells involved in immune responses in and around the fibrous capsules of the Cr- and Ti-implant groups were higher than those of the Ti–Zr alloy- and Zr-implant groups. The Ti–Zr alloy had the lowest total score of tissue responses among the materials tested. None of the animals from the Ti-, Zr-, and Ti–Zr alloy-implant groups exhibited a skin reaction following exposure to Ti or Zr salt solutions. These results indicate the Ti–Zr alloy has better biocompatibility than Ti for use as an artificial surgical implant.

(Received April 28, 2005; Accepted August 31, 2005; Published October 15, 2005)

**Keywords:** titanium alloy, titanium, biocompatibility, inflammation, hypersensitivity

## 1. Introduction

Stainless steel and cobalt–chromium (Co–Cr) alloys have been widely used as materials in orthopedic and dental implants because of their biocompatibility, physical properties, and manufacturing ease.<sup>1)</sup> In general, these metallic alloys have excellent corrosion resistance and are not believed to cause any local or systemic responses. However, fretting corrosion of metallic implants is sometimes observed in contact with biological systems, causing the release of metallic ions from the implants.<sup>2,3)</sup> Elevated levels of metal ions have been found in blood, urine, and tissues of patients and animals that have received metal implants.<sup>2–6)</sup> Metallic ions, such as nickel (Ni), Co, and Cr, are known to cause adverse tissue reactions and allergy.<sup>7–13)</sup>

Titanium (Ti) and its alloys are currently considered the most attractive metallic materials for orthopedic and dental surgery. The use of Ti alloys is increasing due to their excellent mechanical strength, corrosion resistance, and good biocompatibility.<sup>14–17)</sup> These properties are attributable mainly to the formation of a stable titanium oxide (TiO<sub>2</sub>) layer on the surface.<sup>18,19)</sup> However, the mechanical/tensile strength of commercially pure Ti is insufficient for its use as an artificial hip joint, pin, or screw,<sup>20)</sup> and its wear resistance is also inferior to that of stainless steels and Co–Cr alloys.<sup>20)</sup> The appearance of increased wear debris from Ti has been associated with inflammation, bone resorption, and pain.<sup>18,19,21–24)</sup> To improve mechanical strength and wear resistance, various elements have been added to create new

Ti alloys. Ti–6Al–4V alloy is a high-strength Ti alloy, but its biocompatibility is considered lower than that of commercially pure Ti. The wear resistance and corrosion resistance of Ti–6Al–4V alloy are inferior to those of Ti, and Ti–6Al–4V alloy releases compounds and wear debris containing vanadium (V) or V ion, both of which are toxic.<sup>18)</sup> At present, it is difficult to avoid the wear and/or fretting of implanted alloys in a living body, resulting in the release of elements contained in the alloy and the formation of wear debris. Therefore, it is preferable not to use highly toxic elements in alloys.

Zirconium (Zr) belongs to the VIa group in the periodic table, as does Ti, and is known to have chemical properties similar to those of Ti.<sup>20)</sup> An insoluble oxide is formed on the surface in the air, and the surface oxide composition (zirconia) influences corrosion behavior. There is general agreement that Zr compounds have no local or systemic toxic effects.<sup>25)</sup> Based on this apparent lack of toxicity, Kobayashi *et al.* selected Zr as an alloying element to improve the properties of commercially pure Ti, and prepared a Ti–Zr binary alloy as a material for use in medical devices, such as artificial joints or bone plates.<sup>20)</sup> The hardness of Ti–50%(atom%) Zr alloy is 2.5 times as large as that of commercially pure Ti, suggesting the alloy's superior mechanical strength.<sup>20)</sup>

Besides mechanical properties, the biocompatibility of an alloy is important if it is to be used in implant devices. We previously observed that animals were sensitized to Cr by long-term implantation of corrosive Cr alloys.<sup>26)</sup> The animal model is a prevalent tool in examining tissue responses to implant material. The present study examined the biocom-

\*Present address: Japan Tobacco Inc., Tokyo 130-8603, Japan



patibility of the Ti–Zr alloy compared with those of Ti and Zr by implantation tests using rats. Pure chromium (Cr) was used as a positive control material. After 8 months' implantation to a subcutaneous position, the reaction of the tissue around the specimen was studied hematologically and histologically. Since cases of sensitization to pacemakers which are made of Ti have been reported,<sup>27,28</sup> we topically applied a metal salt solution to rats in order to detect hypersensitivity to the metal. Further, the *in vitro* proliferation of spleen lymphocytes was also measured to evaluate immune system activity.

## 2. Materials and Methods

### 2.1 Test materials

Specimens of Ti, Zr, Ti–Zr binary alloy (Ti containing 50 atom% Zr), and Cr were used. The preparation of these specimens was reported in detail by Kobayashi *et al.*<sup>20</sup> Briefly, the specimens were prepared from sponge Ti (>99.8 mass% purity), Zr (>99.5 mass% purity), and electrolytic Cr metal (>99.98 mass% purity) by arc melting with a non-consumable tungsten electrode on a water-chilled copper hearth under an ultra-high-purity argon atmosphere. To prevent the macroscopic composition gradient by insufficient mixing, ingots were turned over and re-melted at least five times. To minimize mechanical trauma during implantation, the specimens were prepared in the form of plates with a diameter of 14 mm and a thickness of 1 mm, and were cut out from these button ingots using a silicon carbide wheel cutter. The plate specimens were polished mechanically to a mirror finish using emery paper (gradually finer, up to 600 grit) followed by 0.03 mm alumina paste. Each specimen was washed with 70% ethanol and ultra-pure water, and autoclaved.

### 2.2 Animals

Female F344/DuCrj rats, 5 weeks old, were obtained from Charles River Japan Inc. (Kanagawa, Japan) and randomized into five groups of six rats each. The animals were housed in air-conditioned facilities (temperature  $23 \pm 2^\circ\text{C}$ , relative humidity  $55 \pm 5\%$ , light cycle 12 h/day). Diet (F-2, Funabashi Farm Co., Chiba, Japan) and water were available ad libitum throughout the experimental period. After a 1-week acclimation period, all animals were used in the implantation test. All animals were cared for according to the Japan animal rights act and the NIH-Japan guidelines for the care and use of laboratory animals.

### 2.3 Implantation procedure<sup>26,29</sup>

The animals were anesthetized with 50 mg/kg Nembutal (sodium pentobarbital, Dainabot Co., Ltd., Osaka, Japan) *via* intraperitoneal injection. After the induction of anesthesia, the hair on the back was shaved around the implantation site and the skin was sterilized by brushing with a 70% ethanol solution. An incision was made with scissors on the right side of the shaved back skin, and a specimen was inserted subcutaneously. Control animals were treated by a sham operation with no implantation. After the operation, the incision was sutured. During the experimental period, body weight and health conditions were monitored.

### 2.4 Hematological and histological examination

At the end of the experimental period, the animals were anesthetized with diethyl ether, and total blood (approximately 4–5 ml) was collected from the abdominal aorta. The hematological data, such as red blood cell count (RBC), hemoglobin concentration (HGB), hematocrit (HCT), mean cell volume (MCV), mean cell hemoglobin (MCH), mean cell hemoglobin concentration (MCHC), platelet count (PLT), and white blood cell count (WBC), in the blood sample were measured by a fully automated blood cell counter (M-2000, TOA Medical Electronics Co., Ltd. [Today's Sysmex Co.], Hyogo, Japan). In addition, differentiation of white blood cells was examined using an automated hematology analyzer (MICROX HEG-120A, Omron Tateisi Electronics Co., Tokyo, Japan; Sysmex Co. is presently acquiring Omron's blood image analysis business). According to the common method, spleen, liver, kidney, and the tissue surrounding the specimen were excised from each sacrificed animal. These tissues, along with the specimen, were fixed in 10% formalin and embedded in paraffin. After the specimen was removed gently, the tissue was sectioned and stained with hematoxylin and eosin for microscopic examination. The histological sections were examined microscopically, and the tissue responses—*i.e.*, the distributions of fibroblasts, neutrophils, eosinophils, macrophages, giant cells, lymphocytes, and plasma cells—in the fibrous capsule that formed around the specimen were recorded, as was the infiltration of inflammatory cells around the capsule.<sup>26,29</sup> The intensity of these histological items was ranked as – = no frequency (0), + = low frequency (1), ++ = moderate frequency (2) and +++ = high frequency (3). The total score for the eight items was derived. The thickness of the fibrous capsule that formed around the specimen was also measured by a micrometer.<sup>29</sup> The thickness was determined in the orthogonal direction of the boundary between the capsule and the hole left by the specimen, and expressed as a mean value of 10 spots.<sup>29</sup>

### 2.5 Evaluation of sensitization response

At 8 months after implantation, a 50  $\mu\text{l}$  aliquot of 2% titanium chloride ( $\text{TiCl}_4$ ) in ethanol, 10% zirconium chloride ( $\text{ZrCl}_4$ ) in 70% ethanol solution, or 0.02% potassium dichromate ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ) in 25% ethanol solution was applied to the shaved skin of the back using a closed-patch dressing (Trii Pharmaceutical Co., Ltd., Tokyo, Japan) for 24 h. Salt of each metal was used as an application chemical for the determination of skin reaction in the patch testing.<sup>26,30</sup> The challenge concentrations of metal salts were determined by a preliminary irritation test, and they were the maximum concentrations to not elicit responses in normal animals. An application vehicle for metal salts at each concentration was prepared to maximize the content of ethanol in water. The skin reactions of erythema and oedema were evaluated by visual assessment at 24 h after removing the closed-patch dressing.

After 8 months of implantation, the spleen was excised and placed on a sterile 200-mesh stainless steel gauge in a 35 mm plastic dish. After 2 ml of Hanks' balanced salt solution (pH 7.4, Sigma-Aldrich Inc., St. Louis, MO, USA) was added to the dish, the spleen was crushed mechanically using

Table 1 Body and organ weights of rats after implantation of each material for 8 months.

| Material                                   | Weight (g) (Mean $\pm$ SD, n = 6) |                   |                  |                   |                  |                 |
|--|-----------------------------------|-------------------|------------------|-------------------|------------------|-----------------|
|  | Body                              | Thymus            | Spleen           | Liver             | Kidney           |                 |
|  |                                   |                   |                  |                   | Right            | Left            |
| Absolute weight                            |                                   |                   |                  |                   |                  |                 |
| Control                                    | 213.8 $\pm$ 16.3                  | 0.085 $\pm$ 0.009 | 0.35 $\pm$ 0.03  | 5.15 $\pm$ 0.47   | 0.61 $\pm$ 0.04  | 0.62 $\pm$ 0.04 |
| Ti   | 223.7 $\pm$ 20.7                  | 0.086 $\pm$ 0.010 | 0.39 $\pm$ 0.01* | 5.63 $\pm$ 0.59   | 0.65 $\pm$ 0.05  | 0.65 $\pm$ 0.04 |
| Ti-Zr                                      | 221.0 $\pm$ 12.4                  | 0.082 $\pm$ 0.013 | 0.37 $\pm$ 0.01  | 5.78 $\pm$ 0.32*  | 0.64 $\pm$ 0.03  | 0.64 $\pm$ 0.03 |
| Zr   | 231.5 $\pm$ 8.1*                  | 0.091 $\pm$ 0.013 | 0.38 $\pm$ 0.01* | 5.30 $\pm$ 0.39   | 0.65 $\pm$ 0.05  | 0.64 $\pm$ 0.05 |
| Cr   | 227.7 $\pm$ 7.4                   | 0.087 $\pm$ 0.012 | 0.38 $\pm$ 0.02  | 5.96 $\pm$ 0.26** | 0.67 $\pm$ 0.03* | 0.65 $\pm$ 0.04 |
| Relative weight (organ/body $\times$ 1000) |                                   |                   |                  |                   |                  |                 |
| Control                                    |                                   | 0.40 $\pm$ 0.03   | 1.66 $\pm$ 0.19  | 24.2 $\pm$ 2.5    | 2.88 $\pm$ 0.16  | 2.90 $\pm$ 0.10 |
| Ti   |                                   | 0.39 $\pm$ 0.03   | 1.75 $\pm$ 0.13  | 25.2 $\pm$ 1.8    | 2.93 $\pm$ 0.08  | 2.92 $\pm$ 0.20 |
| Ti-Zr                                      |                                   | 0.37 $\pm$ 0.05   | 1.67 $\pm$ 0.10  | 26.2 $\pm$ 0.7    | 2.88 $\pm$ 0.10  | 2.92 $\pm$ 0.10 |
| Zr   |                                   | 0.39 $\pm$ 0.05   | 1.66 $\pm$ 0.10  | 22.9 $\pm$ 1.1    | 2.82 $\pm$ 0.15  | 2.77 $\pm$ 0.20 |
| Cr   |                                   | 0.38 $\pm$ 0.05   | 1.69 $\pm$ 0.12  | 26.2 $\pm$ 1.2    | 2.94 $\pm$ 0.09  | 2.87 $\pm$ 0.12 |

\*, \*\*: Significantly different from the control group ( $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ ).

Table 2 Hematological data of rats implanted with alloys.

| Item                           | Group          |                 |                 |                 |                 |
|--------------------------------|----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
|                                | Control        | Ti              | Ti-Zr           | Zr              | Cr              |
| RBC ( $\times 10^4$ /ml)       | 812 $\pm$ 27   | 729 $\pm$ 13*   | 765 $\pm$ 24*   | 779 $\pm$ 37    | 769 $\pm$ 16*   |
| HGB (g/dl)                     | 14.8 $\pm$ 0.5 | 13.6 $\pm$ 0.2* | 14.4 $\pm$ 0.4  | 14.6 $\pm$ 0.6  | 14.4 $\pm$ 0.2  |
| HCT (%)                        | 41.8 $\pm$ 1.1 | 38.2 $\pm$ 0.8* | 40.0 $\pm$ 1.7  | 40.3 $\pm$ 1.8  | 39.9 $\pm$ 0.8* |
| MCV (fl)                       | 51.5 $\pm$ 0.6 | 52.4 $\pm$ 0.4* | 52.3 $\pm$ 0.8  | 51.7 $\pm$ 0.3  | 51.9 $\pm$ 0.2  |
| MCH (pg)                       | 18.2 $\pm$ 0.2 | 18.7 $\pm$ 0.3* | 18.8 $\pm$ 0.2* | 18.8 $\pm$ 0.2* | 18.8 $\pm$ 0.3* |
| MCHC (g/dl)                    | 35.4 $\pm$ 0.5 | 35.6 $\pm$ 0.7  | 35.9 $\pm$ 0.5  | 36.4 $\pm$ 0.2* | 36.1 $\pm$ 0.5* |
| PLT ( $\times 10^4$ / $\mu$ l) | 61.1 $\pm$ 4.9 | 65.8 $\pm$ 5.7  | 66.3 $\pm$ 6.8  | 70.8 $\pm$ 3.1* | 60.0 $\pm$ 4.2  |
| WBC ( $\times 10^2$ / $\mu$ l) | 20.0 $\pm$ 7.0 | 14.0 $\pm$ 2.0  | 18.0 $\pm$ 4.0  | 19.0 $\pm$ 6.0  | 15.0 $\pm$ 3.0  |
| Differential cell counts (%)   |                |                 |                 |                 |                 |
| Neutrophil-band                | 0.5 $\pm$ 0.7  | 0.1 $\pm$ 0.3   | 0.3 $\pm$ 0.5   | 0.1 $\pm$ 0.2   | 0.1 $\pm$ 0     |
| Neutrophil-segmented           | 31.5 $\pm$ 5.8 | 34.4 $\pm$ 7.7  | 28.8 $\pm$ 6.6  | 28.9 $\pm$ 3.8  | 30.6 $\pm$ 4    |
| Basophil                       | 0.0 $\pm$ 0.0  | 0.0 $\pm$ 0.0   | 0.0 $\pm$ 0.0   | 0.0 $\pm$ 0.0   | 0.0 $\pm$ 0.0   |
| Eosinophil                     | 2.5 $\pm$ 1.3  | 2.2 $\pm$ 1.3   | 2.5 $\pm$ 1.2   | 1.3 $\pm$ 0.8   | 1.5 $\pm$ 1     |
| Lymphocyte                     | 63.1 $\pm$ 6.6 | 61.3 $\pm$ 6.7  | 65.7 $\pm$ 5.9  | 67.8 $\pm$ 3.6  | 65.7 $\pm$ 4    |
| Monocyte                       | 2.4 $\pm$ 1.0  | 2.1 $\pm$ 1.3   | 2.8 $\pm$ 1.5   | 1.9 $\pm$ 1.3   | 2.2 $\pm$ 2     |

Data represent mean values  $\pm$  SD (n = 6).

\*Significantly different from the control at  $p < 0.05$ .

a syringe, and spleen cells were released. The cell suspension was transferred into a 15 ml tube, and the tube was centrifuged at 1200 rpm for 5 min at 4°C. After the supernatant was removed, the cells were treated with 2 ml of 0.83% ammonium chloride-tris solution (pH 7.65) for 5 min at 37°C for hemolysis. The cells were washed twice by centrifuge at 1200 rpm for 5 min with Hanks' balanced salt solution and resuspended in RPMI-1640 culture medium (Nissui Pharmaceutical Co., Ltd., Tokyo, Japan) supplemented with 25 mM *N*-2-hydroxyethylpiperazine-*N'*-2-ethanesulfonic acid, 100 units/ml penicillin, 100  $\mu$ g/ml streptomycin, and 10% fetal bovine serum. The cell suspensions ( $5 \times 10^5$  cells/200  $\mu$ l) were seeded into 96-well culture plates (three wells per group) and cultured with 10  $\mu$ l of  $10^{-8}$  mol/L  $K_2Cr_2O_7$ ,  $10^{-5}$  mol/L  $TiCl_4$ ,  $10^{-5}$  mol/L  $ZrCl_4$ , or 5  $\mu$ g/mL Con A and 9.25 KBq [ $^3H$ ]methyl thymidine ( $^3HTdR$ ) for 48 h at 37°C in a humidified atmosphere of 5%  $CO_2$  in air. After incubation, the cells were collected from each well on a glass filter (Type Filter Mat 11731,

SKATRON Instruments AS, Lier, Norway) using an automatic cell harvester (Type 11025, SKATRON Instruments AS). The incorporation of  $^3HTdR$  into cells (counts per minute, cpm) was determined by liquid scintillation counting (LSC-5101, Aloka Co. Ltd., Tokyo, Japan).

### 3. Results

#### 3.1 Body and organ weights

After 8 months of implantation, no significant visual changes such as rust or cracks were found on the surface of any specimen. In all implant groups, no decreases in body and organ weights were found compared with the control group (Table 1). The body weight in the Zr-implant group was higher than that in the control group. The thymus, spleen, liver, and kidney of some animals in the implant groups weighed more than those of control animals. However, the organ weights relative to body weight were not significantly different from group to group.

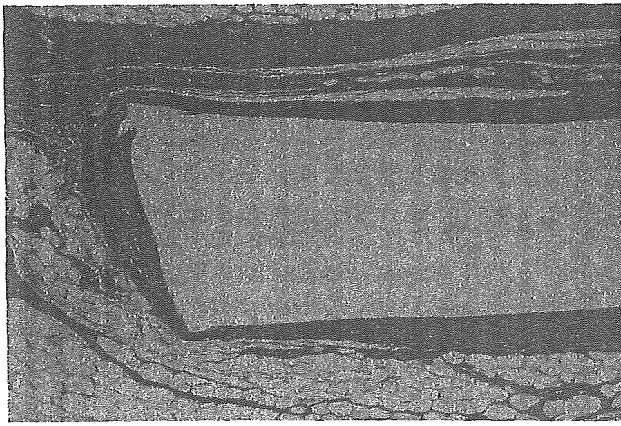


Fig. 1 Histological section of subcutaneous tissue around Ti (hematoxylin and eosin, original magnification  $\times 16$ ). The central lumen was the site of the implant, and the tissue surrounding the lumen formed a fibrous capsule. The thickness of the fibrous capsule was expressed as the mean  $\pm$  standard deviation (SD) of 10 spots.

### 3.2 Hematological examination

Table 2 shows the results of analyses of blood constituents, such as RBC, PLT, and WBC counts, and HGB concentration. In the Ti-implant group, slight decreases in WBC count as well as HCT and HGB concentrations were found compared with the control group. Although some implant groups showed small changes in several parameters, none of the specimens showed a clear increasing or decreasing trend in any of these parameters. With regard to hematograms of WBC, no significant difference was found between the control and implant groups.

### 3.3 Histological examination

Figure 1 is a photograph of a histological section of tissue surrounding a Ti specimen. The central lumen was the specimen's extraction mark. Mature fibroblasts were found to form a distinct capsule between the soft tissue and the Ti specimen. Figure 2 is a typical image of tissues surrounding some specimens at high magnification ( $\times 100$ ). The lower part is the specimen's extraction mark. Two of the six animals in the Ti-implant group showed a moderate inflammatory response, and the image of animal no. 3 is shown in (a). Various types of cells infiltrated the fibrous membrane. The photograph in Fig. 3(b) is a tissue image of animal no. 7 of the Ti–Zr alloy-implant group. All animals in this group had levels of tissue reaction similar to those shown in Table 3(b). A fibrous capsule was formed, but the frequency of cell infiltration into the membrane around the Ti–Zr alloy implant was lower than that with the other materials. In the Zr-implant group, the frequency of cell infiltration into the surrounding tissue was higher than that in the Ti–Zr alloy-implant group but lower than that in the Ti-implant group (photograph not shown). The strongest tissue response was observed in the Cr-implant group, and many inflammatory cells were present in the fibrous layer (photograph not shown).

Table 3 summarizes the histological findings of the tissue responses to each material. The distribution frequencies of inflammatory cells or fibroblasts in or around the fibrous capsule were ranked and the total score was derived for each

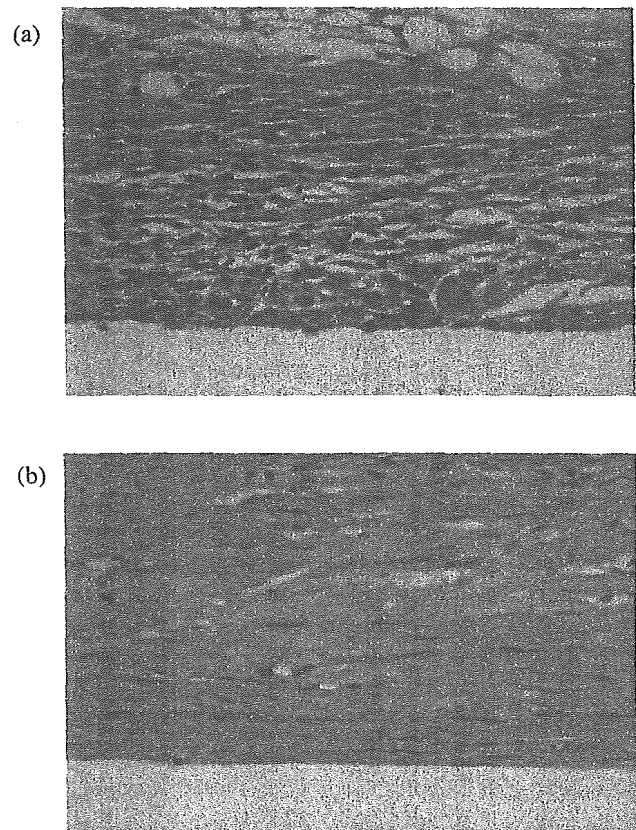


Fig. 2 Histological image of tissue around Ti (a) and Ti–Zr alloy (b) at high magnification ( $\times 100$ ).

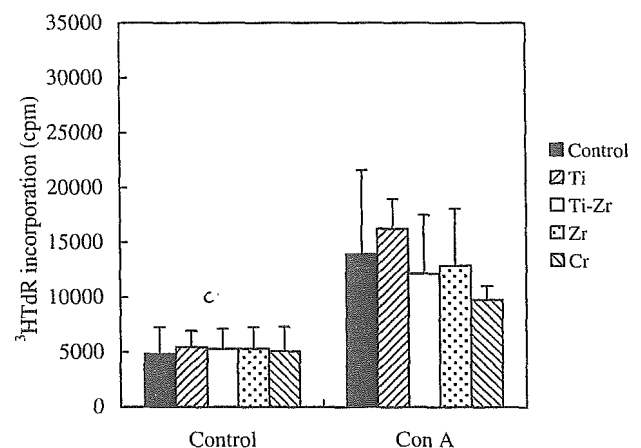


Fig. 3 Con A-induced blastogenesis of spleen lymphocytes in rats implanted with the material for 8 months. Single cell suspension of spleen cells ( $5 \times 10^5$  cells) was cultured with  $5 \mu\text{g/ml}$  Con A and [ $^3\text{H}$ ]methyl thymidine ( $^3\text{HTdR}$ ) for 48 h. The culture was terminated by automatic cell harvesting, and the  $^3\text{HTdR}$  incorporation (cpm) was determined. The data are the mean  $\pm$  SD of 6 animals.

material. The cell distributions in tissues surrounding the materials observed in this study were not as strong as those in our previous implantation study, which used a 4-month experimental period.<sup>26</sup> Large amounts of fibroblasts were observed in all animals in the Cr-implant group and in some animals in the Ti-implant group. Greater numbers of macrophages, the main inflammatory cell types, infiltrated the fibrous capsules around the Cr or Ti specimens compared

Table 3 Histological findings of the tissues around materials implanted for 8 months.

| Sample | No. | In fibrous capsule |             |             |             |             |             |              |                        |     |                    | Total score | Thickness of fibrous capsule ( $\mu\text{m}$ ) (mean $\pm$ SD) |     |              |
|--------|-----|--------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|--------------|------------------------|-----|--------------------|-------------|--|-----|--------------|
|        |     | Fibroblasts        | Neutrophils | Eosinophils | Macrophages | Giant cells | Lymphocytes | Plasma cells | Around fibrous capsule |     | Inflammatory cells |             |  |     |              |
| Ti     | 1   | +++                | +           | +           | ++          | +           | ++          | +++          | +                      | ++  | ++                 | 15          | 9 $\pm$ 6  | 83  | 119 $\pm$ 48 |
|        | 2   | +                  | +           | +           | +           | -           | +           | -            | +                      | +   | +                  | 6           |  | 71  |              |
|        | 3   | +++                | ++          | +           | +++         | ++          | +++         | ++           | ++                     | ++  | +++                | 19          |  | 80  |              |
|        | 4   | +                  | +           | -           | +           | -           | +           | -            | -                      | +   | +                  | 5           |  | 170 |              |
|        | 5   | +++                | +           | -           | +           | -           | +           | -            | -                      | +   | +                  | 6           |  | 179 |              |
|        | 6   | +                  | -           | -           | +           | -           | +           | -            | -                      | +   | +                  | 4           |  | 129 |              |
| Ti-Zr  | 7   | +                  | +           | -           | +           | -           | +           | -            | +                      | +   | +                  | 5           | 5 $\pm$ 0  | 119 | 128 $\pm$ 16 |
|        | 8   | +                  | +           | -           | +           | -           | +           | -            | +                      | +   | +                  | 5           |  | 121 |              |
|        | 9   | +                  | +           | -           | +           | -           | +           | -            | +                      | +   | +                  | 5           |  | 140 |              |
|        | 10  | +                  | +           | -           | +           | -           | +           | -            | +                      | +   | +                  | 5           |  | 108 |              |
|        | 11  | +                  | +           | -           | +           | -           | +           | -            | +                      | +   | +                  | 5           |  | 153 |              |
|        | 12  | +                  | +           | -           | +           | -           | +           | -            | +                      | +   | +                  | 5           |  | 126 |              |
| Zr     | 13  | +                  | +           | -           | +           | -           | +           | -            | +                      | +   | -                  | 4           | 5 $\pm$ 1  | 141 | 153 $\pm$ 11 |
|        | 14  | +++                | +           | +           | +           | -           | ++          | -            | ++                     | +   | +                  | 8           |  | 165 |              |
|        | 15  | +                  | +           | -           | +           | -           | +           | -            | +                      | +   | +                  | 5           |  | 143 |              |
|        | 16  | +                  | +           | -           | +           | -           | +           | -            | +                      | +   | +                  | 5           |  | 165 |              |
|        | 17  | +                  | +           | -           | +           | -           | +           | -            | +                      | +   | +                  | 5           |  | 160 |              |
|        | 18  | +                  | +           | -           | +           | -           | +           | -            | +                      | +   | -                  | 4           |  | 146 |              |
| Cr     | 19  | +++                | ++          | +++         | ++          | -           | +++         | -            | +++                    | ++  | ++                 | 15          | 12 $\pm$ 6   | 222 | 170 $\pm$ 36 |
|        | 20  | +++                | +           | ++          | ++          | -           | ++          | -            | ++                     | +   | +                  | 11          |  | 161 |              |
|        | 21  | ++                 | +           | +           | +           | -           | ++          | -            | ++                     | ++  | ++                 | 9           |  | 167 |              |
|        | 22  | +++                | +++         | ++          | +++         | +           | +++         | +++          | +++                    | +++ | +++                | 21          |  | 198 |              |
|        | 23  | ++                 | +           | -           | +           | -           | +           | -            | -                      | +   | -                  | 5           |  | 118 |              |
|        | 24  | +                  | +           | ++          | +           | -           | ++          | -            | -                      | ++  | +                  | 8           |  | 155 |              |

Each parameter was scored as - = no frequency (0), + = low frequency (1), ++ = moderate frequency (2), and +++ = high frequency (3).