

合金化によって、強さと十分な延性の合金が得られることがわかった。今後、更なる合金設計によって、より良好な強さと延性のバランスを併せもつ合金設計が期待できる。

さらに、最初に述べたとおり、この合金系の合金は適当な条件での時効熱処理によって Au₃Pd 金属間化合物相の析出強化が期待できることから、今後、種々の条件で時効熱処理を行い、力学的性質に及ぼす熱処理の影響を調査することが有益である。

D.2 溶出試験による耐食性の評価

図 10 に示したように、本研究で開発した合金からはいずれも ICP の検出限界範囲内の溶出量は認められなかった。また外観上も溶解の痕跡は認められなかった。

このことから、自己拡張型ステントとして使用されている Ti-Ni 超弾性合金や生体内での使用実績の高い Ti-6Al-4V 合金に比べて、本研究で開発した Au-Pd 系の二元、三元合金の耐食性が極めて高く、ステント用合金として生体内で使用したときの安全性も高いと結論付けることができる。

D.3. アノード分極試験による耐食性の評価

12Pd 合金のアノード分極の結果を図 11 に示した。-1.0 V vs. SCE から 1.0 V vs. SCE まで掃引したが、およそ 0.8 V vs. SCE 付近までアノード電流が計測されなかった。0.8 V vs. SCE 付近から急速に電流が増加しているが、これは試料からの活性溶解ではなく O₂ の発生によるもので、本実験の範囲ではこの合金の腐食電位を評価することができなかった。Au (純金) で行った試験でも、ほぼ同じ結果が得られた。これはこの 12Pd 合金の耐食性が Au (純金) と同様極めて高いことを意味している。比較のために行った Cu のアノード分極試験ではおよそ -0.3 V vs. SCE でアノード電流が増加し

ており、この電位が Cu の腐食電位であることが認められた。

25°C の溶液中で Au に与えられた電気化学的条件 (電位と溶液の pH) に従って、理論上起こる電気化学的現象を分類して示した電位-pH 線図 (いわゆる Pourbaix 線図) を図 13 に示す。本研究で使用した 0.9% NaCl 水溶液は pH7 であるので、この Pourbaix 線図によると、図中の破線 b で示した O₂ の発生はおよそ 0.8 V で始まることになる。それに比べ Au が溶解する領域は 1.0 V 以上となっており、つまり、0.9% NaCl 水溶液中で Au に付加する電位を徐々に増加させていくと、Au の溶解に先立って O₂ が発生することになる。これが、図 11 で見られた 0.8 V vs. SCE 付近からの急速な電流増加が Au の溶解によるものではなく O₂ の発生によるものだとする根拠である。すなわち、12% Pd を含んだ Au であっても、Au (純金) と同程度の耐食性を有していると言うことができる。

比較材とした Cu の Pourbaix 線図によれば、

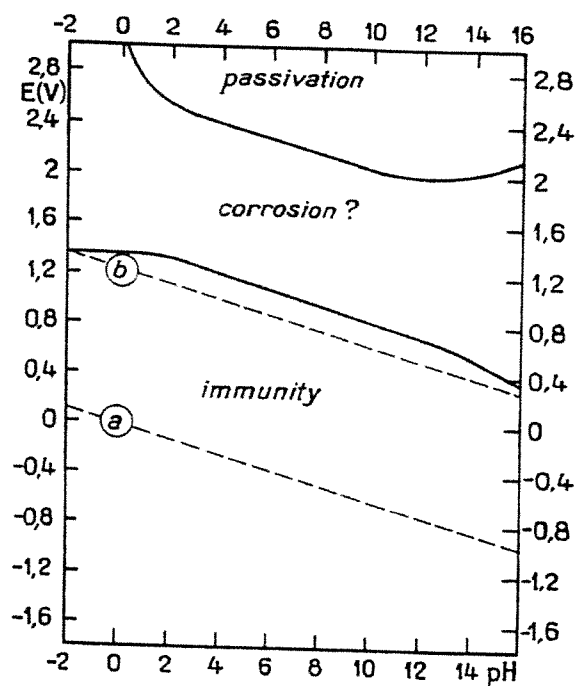


図 13 Au の電位-pH 線図
(Atlas of Electrochemical Equilibria
in Aqueous Solutions, NACE より)

O₂ の発生よりもずっと低い電位, すなわちおよそ 0 V で酸化物(Cu₂O)が生成して不働態化が始まり, さらにおよそ 0.25 V で溶解が起こるとされている. 実際にはこれよりもやや低い-0.3 V vs. SCE で Cu の腐食が認められた.

以上の結果と, 溶質試験の結果を総合して, 本研究で開発した Au-Pd 系の合金は生体内で安全に使用できると結論付けることができる.

D.4. 血小板粘着試験

図 13 に示した血小板粘着試験の SEM 観察結果では, 8Pd 合金から 12Pd 合金までは, 血小板の粘着は少なかったが, 14Pd 合金と 16Pd 合金で粘着量の増加が認められた.

比較材のステンレス鋼では, 8Pd 合金から 12Pd 合金に比べ血小板の粘着がやや多く, また一般に生体適合性が良好な純 Ti の場合, フィブリン・ネットワークの形成がとくに顕著であった.

以上の結果から, 8Pd 合金から 12Pd 合金までの各合金では, 血小板の粘着が抑制されていることが認められ, このことから 8Pd 合金, 10Pd 合金, 12Pd 合金は貴金属製ステント用の素材として有望であることが示唆された.

E. 結論

貴金属合金製ステント用の開発を目指し, Au-Pd 二元合金, ならびに Au-Pd-Ag 三元合金を開発した.

開発した合金の力学的評価の結果, Au-Pd 二元系合金では Pd の添加により, 溶質濃度のおよそ 0.3 乗に比例した固溶強化が認められ, Au-Pd-Ag 三元系合金化によって, 強さと十分な延性の合金が得られることがわかった.

開発合金の耐食性に関しては, 0.9%NaCl 水溶液中での溶出試験とアノード分極試験により, 既存の生体用合金である Ti-Ni 超弾性合金や Ti-6Al-4V 合金よりも優れた耐食性を有していることを明らかにした.

また, 血液適合性試験を行い, 開発した二元系合金が優れた, 従来材 (Ti-Ni 合金や 316L 型ステンレス鋼) と同様の優れた血液適合性を有していることを見いだした.

以上の結果から, 開発した Au-Pd 二元合金, ならびに Au-Pd-Ag 三元合金が新しい貴金属合金製ステント用の素材として有望であると結論付けた.

G. 研究発表

2.学会発表

- (1)小林郁夫, 清水めぐみ, 土居 壽, 米山隆之, 小林雅博, 埴 隆夫:ステント用 Au-Pd 系合金の力学的性質, 日本金属学会 2006 年秋期(第 139 回)大会, 2006 年 9 月 16 日~9 月 18 日, 新潟大学五十嵐キャンパス.
- (2)小林郁夫, 伊藤知佳, 土居 壽, 米山隆之, 小林雅博, 埴 隆夫:ステント用 Au-Pd 系合金の耐生体環境性と血液適合性, 同会.
- (3)小林郁夫, 清水めぐみ, 伊藤知佳, 堤 祐介, 土居 壽, 米山隆之, 小林雅博, 埴 隆夫:ステント用 Au-Pd 系合金の力学的性質と血液適合性, 第 28 回日本バイオマテリアル学会大会, 2006 年 11 月 27 日~11 月 28 日, アルカディア市ヶ谷.
- (4) 小林郁夫:Au を主成分とする新しいステント用合金の特性評価, 5th IBB BioFuture Research Encouragement Prize 研究発表会, 2007 年 1 月 30 日, 東京医科歯科大学生体材料工学研究所.

7. 医齒科材料・インプラントによる皮膚科的症例
の安全性評価手法の開発

松永 佳世子

医歯科材料・インプラントによる皮膚科的症例の安全性評価手法の開発

分担研究者 松永佳世子 藤田保健衛生大学医学部 皮膚科講座教授

研究要旨

本研究では医歯科材料・インプラントによる皮膚科的症例の安全性評価手法の開発を目的とした。平成 18 年度は、当科において 1998 年から 2005 年までの 8 年間にインプラントが原因と疑われ金属等のパッチテストを行った症例の臨床経過とパッチテスト結果を見当し、その関連性を評価した。該当する 10 例のうち、金属アレルギーが関与したと確実に考えられるのは 1 例であり、インプラントに含まれる金属にパッチテスト陽性であっても溶出しにくい状況では、皮膚に障害を発症しないことが示唆された。これまで、パッチテスト試料が標準化されていないチタンについて、海外の文献や学会報告を収集した結果、酸化チタン 10%パラフィン、純チタンプレートでも明らかなアレルギー反応を生じた確実例を把握できた。チタンのパッチテスト試料に錯体が有用と考え、本年はニッケルアレルギー症例に錯体試料が有用であることを確認したが、チタンのアレルギー症例がなくチタンの錯体試料の有用性は確認できなかった。すでに有用性が報告されている THP-1 細胞を用いた human Cell Line Activation Test (h-CLAT) によって、4 種の金属の感作性が検出できる。さらにヒト末梢血単球を用いて金属の感作性を 2 例で検討し、ニッケルで感作性を示唆する結果を得た。今後、個々の対象での易感作性を、金属の種類により検討する評価系となるか、今後検討する価値が高い。また、H18 年度は日本接触皮膚炎学会会員、そして日本全国の大学病院に皮膚科的障害例の有無を調査したところ、16 施設より経験があるとの報告を受け、さらに詳しい調査を継続している。また、インプラント挿入前後の感作状況を把握するための prospective な検討も開始した。

A. 研究目的

医歯科材料・インプラントによる皮膚科的不具合事例は、主に金属アレルギーの観点から国内・国外において報告されている。インプラント機器による皮膚科的不具合には腐食などによる皮膚刺激と、金属によるアレルギー反応が推定される。したがって、その発症機序を明らかにするために、インプラントによって皮膚に生じた病変を組織学的に検討することがなされてきた。病理組織学的に表皮での海綿状態、真皮ならびに皮下脂肪組織における好酸球、リンパ球、形質細胞などの炎症細胞の種類によって、アレルギーが関与した反応であるのか検討がなされてきた。近年、インプラント近傍の障害皮膚に金属が存在するのか、X 線マイクロアナライザーによる分析が行われ、その関連性を裏付ける検査方法となっている。インプラントの金

属材料によるアレルギー反応を証明する確実な方法は現在もパッチテストと呼ばれる皮膚テストである。パッチテストに適した金属の化合物の種類と濃度ならびに基剤を決定することは、発症機序解明に不可欠であり、より安全な材料改良に貢献することが期待される。

金属は組織のなかで溶出しイオン化することがアレルギー反応の条件になる。このことは下腿など骨接合用金属が皮膚（表皮と真皮）に近く接する部位の症例が障害例として多く報告されているからも支持される。原因金属としてはコバルト、ニッケル、クロムの症例が多い。これらの金属は装身具などによる陽性例も多く、インプラント装着前に装身具などによって感作が成立していた症例も少なくないことが推測される。コバルト、ニッケル、クロムについてはパッチテストの至適濃度も決定され試薬も入手

しやすい。しかし近年インプラントとして使用頻度が増加しているチタン合金の成分はアレルギー症例が極めて稀であるために、これを証明するパッチテストの方法がまだ確立されていない金属も存在する。また、チタンのアレルギーであったとする文献においてもパッチテストの方法を詳しく述べていないために、接触アレルギーを明らかにできたのか、判断できない報告が多い。

本研究はインプラント機器による皮膚科的不具合事例を臨床データおよび障害皮膚の病理組織学的検討を行い、パッチテストなどによる皮膚アレルギー検査によって、不具合の原因、インプラントの組織適合性評価を行うことよって、インプラントによる皮膚科的症例の安全性評価手法の開発を行うことを目的とした。

平成 18 年度は(1) 当科におけるインプラントによる皮膚科的症例の調査、(2)金属製インプラントによる皮膚科的不具合例の文献収集、(3)金属パッチテスト試料の見当、(4) human Cell Line Activation Test(h-CLAT)およびヒト末梢血そのものを用いた金属の感作性評価方法を開発することを目的とした。(5)さらに症例の集積を測るために日本接触皮膚炎学会会員、および全国の大学病院皮膚科に対して、インプラント機器による皮膚科的不具合事例があるかアンケート調査を行った。

B. 研究方法

まず、研究に先立ち、匿名化などによる個人情報保護に努め、研究内容の説明同意を得ることなど、厚生労働省医薬品食品衛生試験所における倫理委員会に試験の承認を得、また、藤田保健衛生大学病院においても倫理委員会において審査を受け、患者さんには具体的な説明を行い、同意を得るなど倫理的な配慮のもとに研究を行った。

(1) 藤田保健衛生大学病院におけるインプラントによる皮膚不具合例の検討

当科において 1998 年から 2005 年までの 8 年間にインプラントが原因と疑われ金属等のパッチテストを行った症例の臨床経過とパッチテスト結果を検討し、その関連性を評価した。

(2)医学中央雑誌、MEDLINE により、インプ

ラントによる皮膚不具合例の収集を行った。

(3)金属パッチテスト試料をドイツの Brial 社、スウェーデン Chemotechnique 社より購入し、また、日本大学松戸歯学部歯科生体材料学講座、早川 徹先生よりニッケルとチタンの錯体のパッチテスト試料の提供を受けた。これらによる皮膚反応の差異を見当した。

さて、ニッケルの錯体の濃度を見当するにあつて、

Nickel sulfate (2.5%pet)

分子量 154.75

$0.025 \div 154.75 = 0.00016155 \text{mol}$

0.16155mol

ニッケル錯体含有水溶液 0.38mmol/g を

0.16155mmol にするためには

$0.16155 \div 0.38 = 0.423$

42.3%に希釈した。

Titanium (20%pet)

分子量 47.867

$0.2 \div 47.867 = 0.0041782 \text{mol}$

4.178mmol

チタン錯体含有水溶液 0.033mmol/g を

4.178mmol にするためには

$4.178 \div 0.033 = 126.60$

に濃縮しなければならない。

もしくはチタン錯体含有水溶液のモル数にチタンのモル数を合わせるなら

$47.867 \times 0.000033 = 0.001579611 \text{g}$

チタンを 0.157%に希釈する。

(4) THP-1 細胞を用いた感作性代替法 (h-CLAT) とヒト末梢血細胞を用いた感作性代替法

現在、資生堂、花王をはじめメナードなど国内 7 社の ring study でも行っている *in vivo* 感作性試験 h-CLAT は、ヒトの単級由来細胞である THP-1 (human monocytic leukemia cell line) の細胞を用いた試験管レベルでの感作試験である。

その具体的な手順は文献 (足利太可雄、坂口 齊:ヒト細胞株 (THP-1) を用いた感作性試験代替法の開発と 2 施設間バリデーション、FRAGRANCE JOURNAL 2004-8:108-111) に準じて行った。すなわち、

1)細胞毒性試験による IC50 を基準に被験物

質曝露 4 濃度 (0.1XIC50, 0.5XIC50, IC50, 2XIC50) を決定

2) 48 時間あるいは 72 時間培養

3) THP-1 細胞を 1×10^6 /ml/well にて播種

4) THP-1 細胞に被験物質を 24 時間曝露

5) ヒトグロブリンを用いて Fc レセプターブロック

6) 抗 CD86 抗体 (BD-PharMingen 社製、クローン: FUN-1), 抗 CD54 抗体 (Dako 社製、クローン: 6.5B5) およびアイソタイプコントロール (Isotype control, Dako 社製) による細胞染色

7) フローサイトメトリーによる発現量測定

8) 相対発現量の計算

相対発現量 = (被験物質処理細胞の MFI - 被験物質処理細胞での Isotype control の MFI) / (溶媒処理細胞の MFI - 溶媒処理細胞での Isotype control の MFI) X 100

MFI: Mean fluorescence Intensity

さらにヒト末梢血から単球細胞を用いた h-CLAT を施行した。

(5) 日本国内の皮膚科的症例の集積と解析

平成 17 年度に作成した、インプラントによる皮膚障害症例に関するアンケート用紙を使用して、平成 18 年度は日本接触皮膚炎学会会員ならびに日本全国の大学病院皮膚科にインプラント機器による皮膚科的不具合事例を調査した。

C. 研究結果

(1) その結果、該当する症例は 10 例であった。男性 3 例、女性 7 例原因と疑われたインプラントは人工膝関節 3 例、ペースメーカー 2 例、人工大腿骨頭 1 例、下腿髄内ワイヤー 1 例 (同時に創外固定ワイヤー装着)、漏斗胸のプレート 1 例、中足骨骨折時のワイヤー 1 例、股関節ワイヤー 1 例であった (図 1, 2)。金属のパッチテストは 5 例が陽性であった (表 1)。

症例 1 は、18 歳女性。骨形成不全があり、これまでに髄内ワイヤーを右下腿、右大腿、左大腿に 3 回挿入された経験を持つ。これまでに金属のアクセサリーで接触皮膚炎を起こした既往歴を持つ。今回は、骨形成不全で小児期近医通院中。初診受診より 2 カ月前に創外固定器を使用したところ、1 カ月後より

患側下腿に痒みを伴う皮疹が出現し、治癒しないために精査目的で当科を受診した (図 3)。初診時右下腿に激しい痒みを伴う滲出性紅斑を認める。金属アレルギーを疑い、パッチテストを行ったところ、水銀、コバルト、ゴム硬化剤であるジチオカルバメートおよびチメロサルに、アレルギー反応を示した (図 5)。

ステンレスの下腿髄内ワイヤーを埋植した時期には皮膚障害はなく、ステンレスの創外固定ワイヤーを装着後重度の接触皮膚炎を生じた (表 1, 図 3)。症例 1 が使用していた創外固定と髄内ワイヤーともにニッケルが含まれていた。皮膚を貫通して使用される創外固定器が装着されてはじめて接触皮膚炎が発症した。さらにニッケルを含む髄内ワイヤーそのものはばつきよすることなく、創外固定が除去された後には、改善した (図 6)。

症例 2 は 46 歳の女性。眼鏡フレームやアクセサリーで接触皮膚炎の既往がある。変形性股関節症のために当院整形外科において白蓋回転骨切術が施行された 1 年後より手術部位が発赤しているのに気づき、整形外科より金属アレルギーについて精査を依頼された (図 7)。背部中央に暗赤色の線状の紅斑がある。パッチテストの結果、ニッケル、パラジウムが陽性で、プラチナは疑陽性であった。インプラントの組成はクロムとコバルトであった。その後、抜釘し症状は軽快した。大腿骨に埋植されていたのはクロムとコバルトの合金釘であるが、ニッケルが含有されている可能性は否定できない。

ニッケル陽性の他の 1 例はクロム・コバルト合金釘が大腿骨に埋植されていたが、これらには陰性であった。コバルトが陽性の 1 例はコバルト・クロム合金人工膝関節を埋植していたが、これを除去せずに症状が消失した。他の 2 例はインプラントに含まれない金属に陽性であった。表 3 にパッチテスト陰性の症例を示す。

(2) 医学中央雑誌、MEDLINE により、インプラントによる皮膚不具合例の収集を行った結果、本邦ではインプラント機器による皮膚科的な不具合事例であり、金属のアレルギーが確認できた症例は表 3 に示す。各事例は 8 例がある。いずれも、ニッケルかクロムに陽性であった。

(3) 金属パッチテスト試料の検討結果

図 14 に金属のパッチテスト試料を示す。錯体は配位結合や水素結合によって形成された分

子性化合物の総称である。狭義には、金属原子を中心として、周囲に配位子が結合した構造を持つ化合物である（図 16）。モル数を一定にした条件でパッチテストを行うとニッケル錯体は 3 症例全例が陽性であり、硫酸ニッケル 2.5% 白色ワセリンが 59 歳女性では陰性になることが多く、錯体の方が、感度が高い可能性がある。しかしチタンの金属アレルギーの症例は経験できず、今後、検討を加えたいと思う（図 17）。

ニッケル、クロム、コバルト、銅などによる皮膚不具合については、これらの金属のパッチテスト試料がすぐに決定されており、ヒトにおける安全性評価は確率されている。一方、近年汎用されるようになったチタンをはじめとするアレルギー報告が極めて稀な金属については、アレルギーを証明する確実な評価方法が確立できていない。したがって、今後もこれらの金属についてのパッチテスト試料及び貼布濃度について検討していく必要がある。

(4) THP-1 細胞を用いた感作性代替法 (h-CLAT)

とヒト末梢血細胞を用いた感作性代替法

まず、本研究は中川真美子（大学院生）、山田貴亮（藤田保健衛生大学）との共同研究で遂行されている。

TPH-1 細胞を用いたアレルギー評価方法ではニッケルとコバルトは CD54 が顕著に多く、水銀とクロムは CD86 が多いが、後者は前者にくらべて活動性が低い（図 23）。

さらに人末梢単球を用いた試験においては、被験者 A および B とともにニッケルでは CD54 と CD86 の発現量が閾値を超えて高く、SLS は両者の発現量は低い結果であった（図 25,26）。

(5) 日本国内の皮膚科的症例の集積と解析

日本全国における大学病院皮膚科および日本接触皮膚炎学会会員に宛てて、インプラント機器による皮膚科的不具合事例の有無と、症例の報告を依頼したところ、現在 16 施設から皮膚障害事例の経験があり協力を申し出いただいた。現在、さらに、詳細な問診票を送っているところである。

D. 考察

(1) 金属アレルギーを評価するパッチテスト試料

本邦においても、ニッケル、クロム、コバルト、マンガン、銅による皮膚不具合例は、臨床経過、組織学的検討、X 線マイクロアナライザーによる組織内金属の検出、パッチテスト結果、原因インプラント除去による皮膚症状の改善効果などによって、アレルギー機序による因果関係が明確な症例が報告されている。したがって、これらの金属ではパッチテスト試料が決定できており、ヒトにおける安全性評価方法の基本的評価法は確保されていると言える。しかし、近年汎用されるようになったチタンをはじめとするアレルギー症例が極めて稀な金属については、金属のアレルギーを証明する確実な評価法がまだ確立できていない。2006 年 9 月に開催された欧州皮膚科学会で純チタンプレート、また別の報告では 10%酸化チタンパラフィン基剤でチタンに対する明らかなアレルギー反応を呈した症例の報告がなされた。今回、日本大学松戸歯学部歯科生体材料学講座、早川 徹先生より提供を受けニッケルアレルギーの検出に有用であることが証明された。チタン症例でも検討する予定である。

(2) インプラントによる皮膚障害の診断基準

インプラントによる皮膚障害の診断基準を作成することが、安全性評価法開発のゴールデンスタンダードとなる。この点については、岡田らあるいは Rostoker らの提唱した診断基準がある。後者の基準の金属除去後 2 カ月で治癒とする条件は、これまでの報告例の臨床経過をみると、短い可能性が高い。本研究において、さらに多くの症例を集積して、診断基準を提案したい。

(3) インプラントによる皮膚障害頻度は低い

藤田保健衛生大学病院は病床数 1505 床の最大規模の病院である。平成 16 年度の実績では循環器では年間心臓カテーテル検査は 1600 件、ステント 257 件、ペースメーカー植え込み手術 59 件、植え込み型除細動機植え込み手術 10 件、整形外科での人工股関節置換術は 88 件、人工膝関節置換術は 42 件、人工骨頭置換術は 32 件である。今回の当科で把握しているインプラントによる皮膚科的症例は過去 8 年間に 10 例であった。そのうちで金属のアレルギー機序で発症したと考える症例は確実 1 例、可能性 2 例であり、全体に占める割合は少

ない。

その理由について、インプラントによる皮膚科的不具合例を経験するためには、金属イオンが溶出する必要がある（図 11, 12, 13）。すなわち、パッチテスト陰性の症例における皮膚科的不具合例は感染症、金属の摩耗、金属の腐食が考えられる。インプラントによる皮膚科的障害例が少ないことは、水分や酸の状態が感染などの条件に変化しイオン化傾向が変化していくと考えられる。インプラント自体に不具合がある場合とない場合では金属アレルギーの有病率に差があることを述べており、インプラントの緩みや不具合が障害例に関連していることを示唆している（図 12）。

ヒト末梢血単球を用いた感作性試験において、感作性の高いニッケルと SLS で比較したが、ニッケルで CD54, CD86 の発現が高い結果であった（25-26）。すなわち、THP-1 細胞を用いた実験において、金属アレルギーによる感作性マーカーの発現増加を認めた。同様の手法により、ヒト末梢血探求を用いて、ニッケルによる感作性マーカーの発現増加を認めていた。

しかし、インプラントは生体内に永く埋め込まれ、その安全性が患者一人一人の生命と健康に直接大きく関与するものであり、より良い製品の開発は国民の健康と QOL(Quality of life)の向上に極めて重要な課題といえる。今後はさらに残された課題に取り組む予定である。

E. 結論

- (1) 金属アレルギーのためにインプラントによる皮膚科的症例をきたす頻度は極めて低い。
- (2) 金属アレルギーによる皮膚症状を発症させるためには、金属は溶出し、イオン化している必要がある。
- (3) チタンのパッチテストは純チタンプレート、酸化チタン、錯体でも作成できる可能性が高い。
- (4) ヒト単球を用いた感作性代替法は、今後の研究の発展が期待できる、

F.健康危険情報

特になし

G.研究発表

1. 論文発表

- 1) 鶴田京子、松永佳世子：男女の金属接触皮膚炎，*Visual Dermatology* 5:704-708, 2006
- 2) 松永佳世子：歯科と皮膚科の連携には 5 つの CO, *Visual Dermatology* 5:1071, 2006

2. 学会発表

- 1) 中川真実子、矢上晶子、鷺見康子、清水善徳、松永佳世子：医用材料・インプラントによる皮膚障害が疑われた 10 症例の検討、第 36 回日本皮膚アレルギー学会・第 31 回日本接触皮膚炎学会,2006 年 7 月 15・16 日、淡路
- 2) 中川真実子、矢上晶子、鷺見康子、清水善徳、松永佳世子：医用材料・インプラントによる皮膚障害が疑われた 10 症例の検討、藤田学園医学会第 38 回総会, 2006 年 10 月 5・7 日、豊明市
- 3) 中川真実子、矢上晶子、鷺見康子、清水善徳、松永佳世子：医用材料・インプラントによる皮膚障害が疑われた 10 症例の検討、第 18 回藤田保健衛生大学アレルギー勉強会, 2006 年 10 月 2 日、豊明市

H. 知的財産権の出願。登録状況

特になし。

調査対象のインプラントの種類

人工膝関節、人工股関節、人工骨頭、
心臓ペースメーカー、 髄内釘、漏斗胸のバー
(歯科金属は除く)



■平成17年度は、金属製インプラントに的を絞り、皮膚科的症例の情報を収集した。

図1. 調査対象のインプラント機器

対象

期間

1998年1月～2005年12月

症例

男性:3 例(4歳～48歳)
女性:7 例(18歳～78歳)

疾患

骨形成不全、変形性股関節症、大腿骨頭壊死、中足骨骨折、慢性関節リウマチ、拘束性心筋症、洞不全症候群、漏斗胸

インプラントの種類

人工関節 4 例 髄内釘 2 例
ペースメーカー 2 例 創外固定器 1 例
漏斗胸に使用するバー 1 例

図2. 当科における皮膚科的症例調査対象

金属パッチ陰性症例

No.	年齢	原因疾患	インプラントの種類	インプラントに含まれる金属	皮膚部位	インプラント挿入後経過	パッチテスト結果	その他の検査結果	
6	48歳	胸型心臓ペースメーカー	Ti		両下肢に痒み	5日	陰性	陰性	ペースメーカー入れ替わりで軽快
7	32歳	中足骨骨折	不明		右足甲、両手甲の紅斑丘疹	2年3ヶ月	陰性	Thimerosal	除去せず軽快
8	78歳	洞不全症候群	ペースメーカー	Ti	ペースメーカー植込み部分に発赤	12日	陰性	陰性	ペースメーカーを左右入れ替えて軽快
9	4歳	漏斗胸	漏斗胸のバー	Cr, Ni, Fe, Mn, h, Cu	胸部の痛み	49日	陰性	陰性	バーを除去し症状は軽快
10	77歳	慢性関節リウマチ	人工膝関節	Co, Cr	体幹患側下肢の紅斑	0日	陰性	陰性	人工関節は除去せず皮膚は改善、悪化を繰り返している

表2. パッチテスト陰性5例のまとめ

症例1

患者:18歳、女性

既往歴:

骨形成不全(これまで髄内ワイヤーを右下腿、右大腿、左大腿に3回挿入されたことがある。)

アレルギー疾患歴:

アクセサリや金具で接触皮膚炎

現病歴:

骨形成不全で小児期より近医通院中。初診受診時の2カ月前に創外固定器を使用したところ、1カ月後より患側下腿に痒みを伴う皮疹が出現し、治癒しないため精査目的で当科を受診された。



右下腿前面に激しい痒みを伴う滲出性紅斑局面を認める。他に四肢に紅色丘疹を認めた。

図3. 症例1 現病歴

パッチテスト陽性例のまとめ

No.	年齢	原因疾患	インプラントの種類	インプラントに含まれる金属	皮膚部位	インプラント挿入後経過	パッチテスト結果	その他の検査結果
1) インプラントとパッチテスト結果、経過が一致した症例								
1	18歳	骨形成不全	創外固定器	Co, Ni, Hg mix	創外固定器部位	創外固定器除去後軽快	陽性	Thimerosal, Dithiocarbamate, Ni, Hg mix, 創外固定器除去後軽快
2) 金属パッチテスト陽性であったがインプラントと関係のない症例								
2	48歳	変形性股関節症	股関節	Ni, Pd, Pt	1ヶ月	陰性	陰性	抜釘し軽快
3	73歳	大腿骨頭壊死	股関節	Co, Cr 合金	患側下肢に紫斑	7日	陰性	人工関節除去せず軽快
4	35歳	大腿骨頭壊死	股関節	チタン合金	不明	大腿内側、頸部、肘関節	陰性	Ni, Au 陰性 人工関節除去せず軽快
3) インプラントとパッチテスト結果、経過が一致しない症例								
5	70歳	変形性股関節症	大腿骨頭	不明	患側股関節部位	患側股関節部位の痛み	陰性	Thiuram mix, Caine mix, Balsam of Peru, Parab. Primig. イソジン消毒(10%), ヒピテン消毒液(0.5%) 人工関節除去せず軽快

表1. パッチテスト陽性例5例のまとめ

パッチテスト結果

濃度・基剤	D2	D3	D7
Ammoniated mercuric chloride 1%pet	2+	2+	+
Cobalt chloride 1%pet	+	+	+
Nickel sulfate 2.5%pet	2+	2+	+
Dithiocarbamate mix 2%pet	+	+	+
Thimerosal 0.1%pet	+	2+	+

pet:petrolatum

陽性所見 (D3)

図4. 症例1のパッチテスト結果

インプラント施行例

・発症症例数が少ないことについて
平成16年度実績（藤田保健衛生大学病院）

循環器領域：

心臓カテーテル検査は 1600件、ステント 257件
ペースメーカー植え込み術 59件
植え込み型徐細動器植え込み術 10件

整形外科領域：

人工股関節置換術 88件、人工膝関節置換術 42件、
人工骨頭置換術32件

皮膚科的症例は 過去8年間で10例

図 10. 藤田保健衛生大学病院でのインプラント施行例

結論

インプラントによる皮膚障害例と確認できた症例について

今回の研究の結果、パッチテスト 10例でインプラントが原因と確定診断された症例は創外固定器の 1症例で、体内に埋植されたインプラントの症例で確定診断できた症例は1例もなかった。

・皮膚科的不具合の症状出現について
インプラントによる皮膚科的な不具合の症状が出現するためには 金属イオンが溶出することが必要である。

図 11. インプラントによる皮膚科的な不具合例は金属イオンが溶出することが必要

症例数が少ないことに対する考察

<インプラント挿入と金属アレルギーについて>

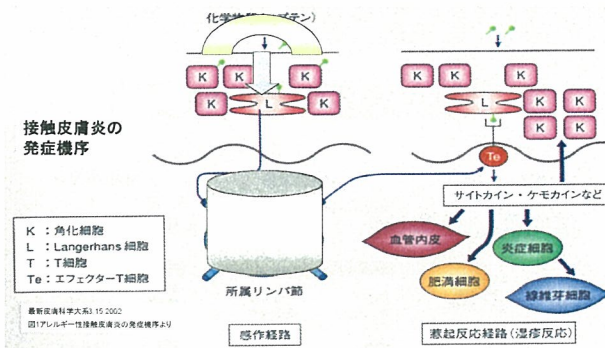
インプラント生体内挿入

金属イオン化傾向

水分や酸の状態が感染などの条件により変化し、イオン化傾向が変化していくと考えられる。

インプラント自体に不具合がある場合とない場合では金属アレルギーの有病率に差があることを述べており、インプラントの緩みや不具合が障害例に関連していることを示唆している。

図 12. 症例数が少ない理由



創外固定器: 直接金属アレルギーが表皮に接触しハプテンが表皮細胞の膜蛋白と結合し接触アレルギーになる

体内埋入インプラント: 表皮を介さない感作

図 13. インプラントに含まれる金属による感作機序

考察

<パッチテスト陰性例について>

インプラントによる金属アレルギーを疑う

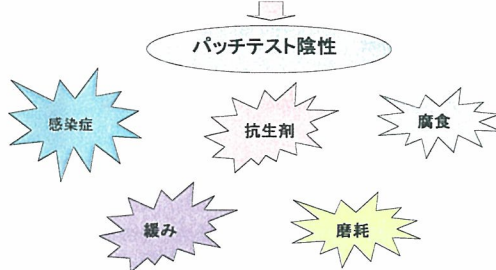


図 14. パッチテスト陰性例の皮膚障害の原因

パッチテスト用金属アレルギー

市販購入可能なパッチテスト用金属アレルギーには下記のようなものがあり、当科 では以下の試料を金属シリーズとして用いている。

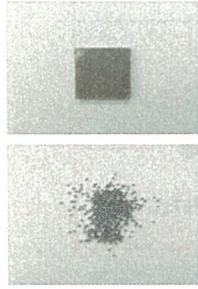
品名	濃度	品名	濃度	品名	濃度
基剤	基剤	基剤	基剤	基剤	基剤
ammonium bisulfide	1% w	chromium-trisulfate	0.5% w	copper sulfate	2% w
ferrous sulfate	5% w	sodium oxide	1% w	indium chloride	1% w
potassium chromate - trisulfate	2% w	sodium thiosulfate - urate	0.25 % w	silver sulfadiazole	0.1% w
tin-trichloride	0.5 % w	tartral	1% w	stannum IV-sulfide	0.1% w
zinc powder	1% w	Ammonium tetrachloro borate	0.25 % w	chromium trichloride	1% w
cobalt-trisulfate	2.5 % w	ferrous chloride	2.5% w	potassium chloride	1% w
ruthenium	0.1 % w	zincium-NY-oxide	0.1% w	zinc chloride	1% w
塩化第二鉄	20 % w	塩化第二ニッケル	10 % w	四塩化イリジウム	10 % w
三塩化イオンジウム	10 % w	塩化アルミニウム	20 % w	塩化バリウム	10 % w
塩化白金酸	0.5 % w	硫酸銅	10 % w	塩化第二水銀	0.05 % w
塩化亜鉛	0.5 % w	塩化マンガン	0.5 % w	金チオ硫酸ナトリウム	0.5 % w
亜クロム酸カリウム	0.5 % w	塩化コバルト	10 % w	硫酸ニッケル	2.5 % w
塩化鉛	20 % w	塩化パラジウム	10 % w	Ammonium tetrachloro borate	0.25 % w
臭化銀	20 % w	チタン粉末	20 % w		

図 15. パッチテストの試料として使用可能な金属アレルギー一覧

その他のパッチテスト材料

金属片の直接貼布

ニッケル、チタン錯体



錯体とは、配位結合や水素結合によって形成された分子性化合物の総称である。狭義には、金属原子を中心として、周囲に配位子が結合した構造を持つ化合物(金属錯体)を指す。

図 16. ニッケル、チタンの錯体とは

考察

<チタンについて>

チタンなどではアレルギーをパッチテストなどで証明された症例は極めて少ない。

だがチタン合金がインプラントに使用されており、チタンのパッチテストが陰性であった場合でも、チタンにアレルギーがないことを証明する確実な評価法は確立しておらず、今後の検討を要すると思われる。

図 17. チタンのパッチテスト試料の問題点

今後の課題

ニッケル、クロム、コバルト、マンガン、銅などによる皮膚不具合については、これらの金属のパッチテスト試料がすでに決定できており、ヒトにおける安全性評価は確立されている。一方、近年汎用されるようになったチタンをはじめとするアレルギー報告が極めて稀な金属については、アレルギーを証明する確実な評価法がまだ確立できていないため、今後もこれらの金属についてのパッチテスト試料及び貼布濃度については検討していく予定である。

図 18. 標準化がなされていない金属のパッチテスト試料の開発の必要性

Allergic contact dermatitis to titanium in a pacemaker
S. Freeman

A 40-year-old woman had a pacemaker inserted in the abdomen at age 16 years for congenital heart block. Over a period of 24 years she had had a total of five pacemakers inserted, four in her chest. She was seen by a dermatologist (SF) who noted an area of erosion and erythema on the left upper chest overlying the pacemaker. The reaction had previously been diagnosed as an infection and treated unsuccessfully with antibiotics. She was then patch tested with 10% and 50% titanium dioxide in soft white paraffin. She had positive patch tests to 10% and 50% titanium dioxide. Ten controls were patch tested with 10% and 50% titanium dioxide but were negative. A diagnosis of allergy to titanium in the pacemakers was made. The pacemaker was replaced with a gold pacemaker (supplied by Medtronic) and there was no recurrence of the dermatitis overlying the pacemaker. Allergy to titanium is rare and there are few previous well-documented reports. However the fact that this allergy is possible is important, since titanium is being increasingly used in such products as sunscreen agents, cosmetic creams, orthodontic wires and many prostheses, including artificial hips.

40歳、女性。
先天性心ブロックのためペースメーカーを挿入していた。左上胸部に紅斑、びらんをペースメーカー挿入部に認める。10%と50%酸化チタンをパラフィンで調合したものを貼布したところ、陽性反応を認めた。その後金製ペースメーカーを再挿入した。

Contact Dermatitis
Published on behalf of the European Society of Contact Dermatitis
より引用

図 19. 海外からのチタンによるアレルギー報告
酸化チタン 10%パラフィンで陽性

Ni, Ti錯体成分

ニッケル錯体含有水溶液

構成成分: ニッケル-ニトリロ三酢酸錯体 (4.8g)、アンモニア水 (2.5g)、精製水 (19.2g)
容量: 26g
pH5.8 (20 °C)
ニッケル濃度: 0.38mmol/g
Blank溶液
構成成分: ニトリロ三酢酸 (3.8g)、アンモニア水 (2.5g)、精製水 (20.0g)
容量: 26g
pH7.9 (20 °C)

チタン錯体含有水溶液

構成成分: チタン錯体 + イソプロパノール (1.1g)、炭酸アンモニウム (25.1g)、精製水 (89.0g)
容量: 115g
pH9.0 (20 °C)
チタン濃度: 0.033mmol/g
Blank溶液
構成成分: 炭酸アンモニウム (25.1g)、イソプロパノール (0.2g)、精製水 (89.0g)
容量: 114g
pH8.9 (20 °C)

図 20. ニッケルとチタンの錯体試料の組成

表 4. ニッケル錯体試料と硫酸ニッケルの反応の比較

年齢	性別	臨床経過	D2		D3		D7	
			硫酸ニッケル (2.5 %aq)	ニッケル錯体 (42.4 %aq)	硫酸ニッケル (2.5 %aq)	ニッケル錯体 (42.4 %aq)	硫酸ニッケル (2.5 %aq)	ニッケル錯体 (42.4 %aq)
46歳	女性	歯科治療した3日後に口角、目じりに丘疹が出現。歯科材料の接触皮膚炎を疑いパッチテスト施行	+	+	+	+	+	+
66歳	男性	5年前より口唇内に皮疹が出現。口腔外科で扁平苔癬で通院中であり金属アレルギー検査のため受診した。金属アレルギーを疑いパッチテスト施行する。	++	+	++	+	++	+
59歳	女性	平成14年より花見のあとに手が腫れて痒くなった。平成18年10月ごろより手関節と膝が腫くなり発疹が出現し、紹介受診。	-	+	-	+	+?	++

ヒト末梢血単球を用いた感作性試験

藤田保健衛生大学皮膚科
 中川真実子 松永 佳世子
 日本メナード化粧品(株)総合研究所
 応用細胞研究グループ
 山田 貴亮

図 21. ヒト末梢血単球を用いた感作試験共同研究者

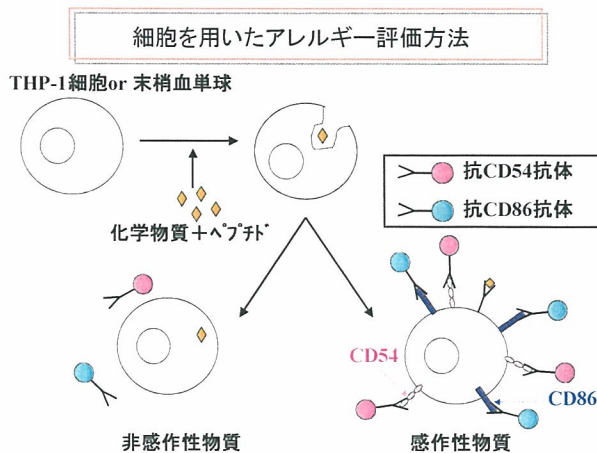


図 22. アレルギー評価方法のメカニズム

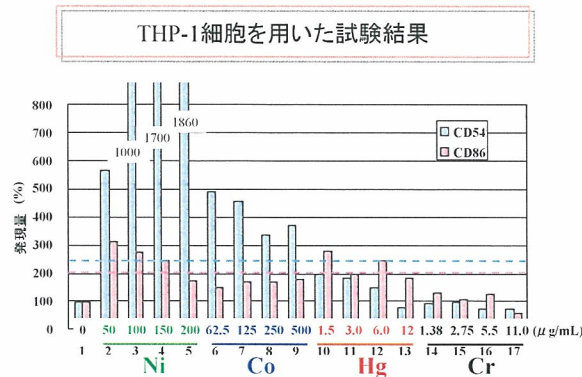


図 23. THP-1 細胞を用いた金属アレルギーの試験結果

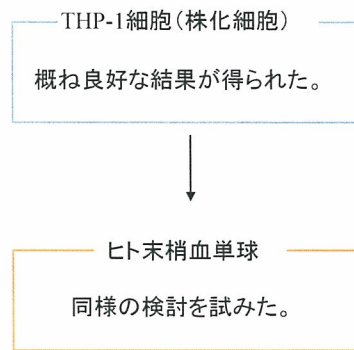


図 24. ヒト末梢血単球での試み

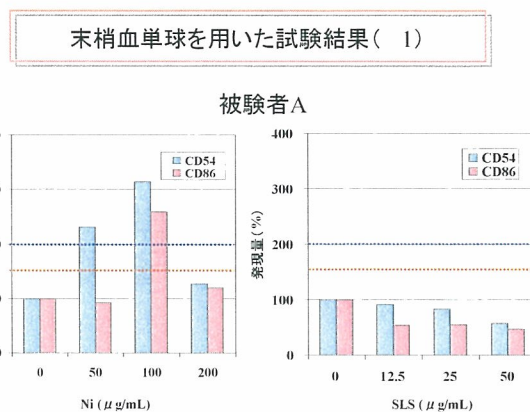


図 25. ヒト末梢血単球を用いたニッケルと Sodium lauryl sulfate(SLS)の試験結果: 被験者A

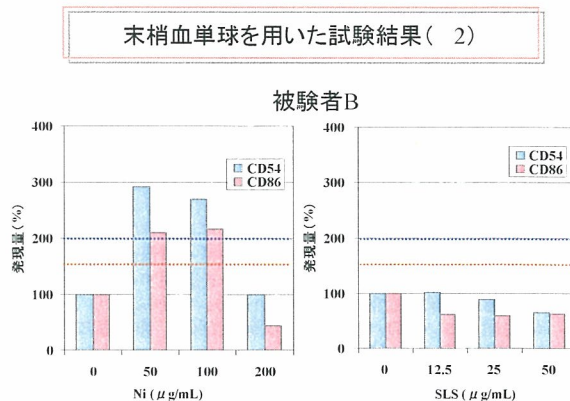


図 26. ヒト末梢血単球を用いたニッケルと Sodium lauryl sulfate(SLS)の試験結果: 被験者B

まとめと今後の方針

- ・ THP-1細胞を用いた実験において、金属アレルギーによる感作性マーカーの発現増加を認めた。
- ・同様の手法により、ヒト末梢血単球を用いて実験した結果、Niによる感作性マーカーの発現増加を認めた。



ヒト血液を用いたアレルギー試験は可能。

- ・アレルギー患者と健常人の比較
金属アレルギーに対する応答に差はあるのか？
- ・パッチテストで検出できないアレルギーの検討
インプラントによるアレルギーを検出できるのか？

図 27. ヒト末梢血単球細胞を用いた金属アレルギー検査の今後

8. 医療機器に併用される抗血栓薬の適合性評価 手法の開発

澤田 留美

医療機器(人工心臓弁)の機能不全発症に関わる遺伝子の探索

分担研究者 澤田留美 国立医薬品食品衛生研究所療品部

〔研究要旨〕

人工心臓弁を体に埋植した際の機能不全の主な原因と考えられる血栓形成やパンプス形成について、その原因となる日本人の遺伝子多型を探索することを目的として人工心臓弁の機能不全の患者および人工弁の不具合が認められない患者の血液を用いて SNP タイピングを行った。ターゲットとした遺伝子は、抗血液凝固薬として人工弁置換術後服用するワーファリンの薬効関連遺伝子や生体における炎症反応などに関連する遺伝子など 11 遺伝子で、日本人ですでに報告のあるものを中心に計 29SNP を選択した。今年度解析を行った検体数が 10 (人工心臓弁の機能不全が認められる患者 2 名および人工弁の不具合が今のところ認められない患者 8 名) であったため、今年度得られた結果のみではアレル頻度の算出や統計学的解析は不可能であった。今後も引き続き人工心臓弁使用患者からの血液検体を集め SNP タイピングを行い、最終的な解析を行っていく予定である。その上で、人工心臓弁を体に埋植した際の血栓形成やパンプス形成の原因となる遺伝子多型を探索していく。

A. 研究目的

心臓弁膜症は、心臓病の最大の原因の一つとして挙げられ、その治療として人工弁置換手術が行われている。現在、臨床的に用いられている人工弁は、機械弁、異種生体弁、凍結保存同種弁であるが、現在国内外で最も多く利用されている人工弁は機械弁である。しかしながら、人工心臓弁の機能不全についての報告もあり、その主な原因としては、血栓形成とパンプス(心臓弁の周辺に発育する線維性の自己組織)形成が挙げられている。大動脈弁の置換術後における人工弁機能不全は、患者の生命を危機に曝す重大な問題である。機械弁を用いた場合、血栓形成を抑えるために置換手術後は生涯にわたり抗血液凝固薬及び抗血小板凝集薬服用が必要となるが、薬の作用の個体差により血栓が形成された場合には急

速な人工心臓弁機能不全を招く恐れがある。また、パンプスの形成についてはそのメカニズムは明らかにされておらず、体質(個体差)による可能性も否定できない。

そこで本研究では、人工心臓弁を体に埋植した際の血栓やパンプスの形成の原因となり得る遺伝子多型を探索することを目的として、人工心臓弁使用者の中で人工心臓弁の機能不全が認められる患者および人工弁の不具合が認められない患者の血液を用いて両者を比較検討する。昨年度までに、その対照として健常人についてその血液由来の不活化細胞から得た DNA を用いて検討した。まず、血栓形成の原因を探るために抗血液凝固薬であるワーファリンの薬効に関連する遺伝子を対象として、これまでに日本人で報告されている SNP を中心に SNP タイピングを行った。さらに、パンプ

ス形成の原因を探ることを目指して、生体における免疫系や炎症反応に関わる transforming growth factor β (TGF β) に着目し、TGF β とそのレセプターの SNP について検索してタイピングを行った。今年度は、実際に人工心臓弁を使用中の患者の血液サンプルを用いて上記の SNP タイピングを行い、それぞれの結果を比較することによって人工心臓弁を体に埋植した際の血栓やパルプの形成の原因となる遺伝子多型を探索していく。

B. 研究方法

血液採取

久留米大学医学部外科学講座において、人工心臓弁置換手術を過去に施された患者のうち、人工心臓弁の機能不全が認められる患者 2 名および人工弁の不具合が今のところ認められない患者 8 名からの血液を PAXgene Blood DNA Tubes (パクスジーン社) を用いて 8.5mL 採血した。検体として採取した血液は、久留米大学医学部外科学教室において患者の自由意志に基づくインフォームド・コンセントが得られた患者より定期検診日に提供されたものである。

DNA 抽出

QIAamp Blood Mini KIT (QIAGEN) を用いて、採取した血液より DNA を抽出した。

SNP タイピング

ターゲットとした遺伝子は、抗血液凝固薬であるワーファリンの薬効に関連する遺伝子として、SERPINE1、CYP2C9、プロトロンビン、凝固因子第 7、凝固因子第 9、凝固因子第 10、 γ -グルタミルカルボキシラーゼの 7 遺伝子について、これまでに日本人で報告されている SNP を中心に計 23SNP と、さらに VAMP8、TGF β 1、TGF β

レセプター I (TGF β R1)、TGF β レセプター II (TGF β R2) の 4 遺伝子で、計 6SNP を選択し、総計 29SNP についてタイピングを行った。

SNP タイピングは、以下に記す方法で行った。まず、表 1 に示したプライマーを用いて PCR を行い、ターゲットの SNP を挟む 200~400bp 程度の増幅産物を得た。PCR 反応は、94°C で 2 分の後、94°C で 20 秒、55°C で 30 秒、72°C で 30 秒を 35 サイクル行い、最後に 72°C で 7 分間おいた。プロトロンビンの 1SNP (F2-5) のみ 55°C のアニーリングを 60°C で行った。得られた PCR 産物を Template として用いて、次の Typing PCR を行った。表 2 に示した各アレリック特異的 Primer を用いて行った。PCR のサイクルプログラムは下記の 4 プログラムのうちの一つを用いた。使用したプログラムはそれぞれ表 2 に示した。PCR の酵素は、Go Taq Flexi DNA Polymerase (Promega) を用いた。電気泳動にてバンドの有無を確認して判定した。プライマー設計及び PCR 条件設定は、札幌医科大学免疫学研究所にて行われた。

No.1

94°C	2 min	
94°C	20 sec	
55°C	30 sec	15 cycle
72°C	30 sec	

No.2

94°C	2 min	
94°C	20 sec	
58°C	30 sec	15 cycle
72°C	30 sec	

No.3

94°C	2 min	
94°C	20 sec	15 cycle
62°C	30 sec	
72°C	30 sec	

No.4

94°C	2 min	
94°C	20 sec	15 cycle
62°C	30 sec	

C. 研究結果

以下の 11 遺伝子について、これまでに日本人で報告されている SNP を中心に計 29SNP を選択し、タイピングを行った。

- SERPINE1 (5SNP)
- CYP2C9 (3SNP)
- プロトロンビン (6SNP)
- 凝固因子第 7 (1SNP)
- 凝固因子第 9 (1SNP)
- 凝固因子第 10 (6SNP)
- γ -グルタミルカルボキシラーゼ (1SNP)
- VAMP8 (2SNP)
- TGF β 1 (1SNP)
- TGF β R1 (1SNP)
- TGF β R2 (2SNP)

SNP タイピングの結果を表 3 にまとめた。血栓形成の原因を探るために抗血液凝固薬であるワーファリンの薬効に関連する遺伝子 (SERPINE1、CYP2C9、プロトロンビン、凝固因子第 7、凝固因子第 9、凝固因子第 10、 γ -グルタミルカルボキシラーゼ) を対象としてタイピングを行った結果を表 3-1 に示した。また、パンヌス形成の原因を探るための対象遺伝子 (VAMP8、TGF β 1、TGF β R1、TGF β R2) のタイピング結果を

表 3-2 に示した。どちらも、昨年度までに行った日本人の健常人 100 名分の DNA を用いて行った結果をアレル頻度で示し、対照データとした。今年度のデータは、人工心臓弁置換手術をかつて受けた患者 10 名分 (人工弁機能不全が認められる患者 2 名、不具合が今のところ認められない患者 8 名) であったため、アレル頻度ではなく全てのデータを示した。

SERPINE1 の c.49G>A、CYP2C9 の c.1075A>C と c.269T>C、凝固因子第 7 (F7) の c.525C>T の 4SNP は健常人 100 名では mutant が検出されているが、今回の患者 10 名からは検出されず、全て Wild Type であった (表 3-1)。一方、健常人 100 名において全て Wild Type であった凝固因子第 10 (F10) の c.502+2115[^]2116 と c.502+2531A>G (表 3-1)、日本人での SNP 報告がこれまでにない TGF β R1 の c.1125A>C、TGF β R2 の c.946A>T と c.1606T>C (表 3-2) の 5SNP は、患者 10 名においても全て Wild Type であった。その他の 20SNP については健常人、患者の両者から SNP が確認された。

D. 考察

心臓弁膜症の治療の一つとして、現在人工弁置換手術が行われているが、人工心臓弁の機能不全は直ちに患者の生命を危機にさらす重大な問題である。機能不全の原因としてこれまでに血栓形成とパンヌス形成などが挙げられている。機械弁を用いた場合、血栓形成を抑えるために、置換手術後は抗血液凝固薬及び抗血小板薬を服用し続けなければならないが、服用していても機能不全につながる血栓が形成されることもある。それは個人の遺伝的背景の違いによって、薬に対する感受性の違いが見ら

れるのかもしれない。また、パ Nusantara 形成についてはその原因は未だ明らかにされおらず、血栓形成と同様な個体差による可能性も否定できない。

そこで本研究は、人工心臓弁の機能不全を未然に防ぐ方法の確立を目指して、血栓形成やパ Nusantara 形成の原因となり得る遺伝子多型を探索することを目的とした。人工心臓弁を現在使用している患者の血液を用いて、抗血液凝固薬として人工弁置換術後服用するワーファリンの薬効関連遺伝子や、生体における免疫系、創傷治療や発癌など様々な環境下で重要な役割を果たしている TGF β やそのレセプターなど 11 遺伝子を対象とし、計 29 SNP を選択しタイピングを行った。昨年度までに日本人の健常人 100 名分のタイピングデータを対照として比較検討した。

今年度は、使用している人工心臓弁に機能不全の疑いがある患者 2 名と使用中の人工弁に今のところ不具合の見られていない患者 8 名の血液から抽出した DNA を用いて SNP タイピングを行った。つまり人工弁置換術を行っている患者の数としても全部で 10 名であり、現段階で各アレルの頻度を算出したり、健常人 100 名のデータとの統計学的解析を行うのは不可能である。そのため、今後も引き続き人工心臓弁使用患者からの血液検体を集め、機能不全が見られた患者と見られない患者それぞれ 100 検体以上の収集を目指し、その上で最終的な解析を行う予定である。アレルの頻度に差が出てくる SNP が特定できれば、血栓形成やパ Nusantara 形成による人工心臓弁機能不全の原因となり得る遺伝的背景を探る手がかりとなるであろう。人工心臓弁機能不全発症の分子メカニズムは未知であり、予防法も

開発されていないため、今後遺伝子の多型を同定し、人工心臓弁の不具合発症との関連を調べることによって予防法の確立を目指していく。

E. 結論

人工心臓弁を体に埋植した際の血栓形成やパ Nusantara 形成の原因となる遺伝子多型を探索することを目的として、人工心臓弁使用者 10 名の血液を用いて、抗血液凝固薬として人工弁置換術後服用するワーファリンの薬効関連遺伝子や生体における炎症反応などに関連する遺伝子など 11 遺伝子について計 29 SNP を選択し、タイピングを行った。検体数が 10 であったため、今年度得られた結果のみではアレル頻度の算出や統計学的解析は不可能であり、今後も引き続き人工心臓弁使用患者からの血液検体を集め、SNP タイピングを行い最終的な解析を行っていく予定である。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) R. Sawada, T. Ito, and T. Tsuchiya
“Changes in expression of genes related to cell proliferation in human mesenchymal stem cells during in vitro culture in comparison with cancer cells”, *J. Artif. Organs*, 9: 179-184 (2006)
- 2) N. Bauu, T. Tsuchiya, and R. Sawada
“Effects of a biodegradable polymer synthesized with inorganic tin on the chondrogenesis of human articular chondrocytes”, *J. Biomed. Mater. Res.* 77A, 84-89 (2006).

2. 学会発表

- 1) T. Ito, R. Sawada, Y. Fujiwara, T.

Tsuchiya 「 TGF- β gene expresiion analysis in the human mesenchymal stem cells (hMSCs) —Relation between TGF- β and hMSCs multidifferntiation —」 The 19th annual and international meeting of the Japanese Association for Animal Cell Technology (2006. 9)

2) 澤田留美、土屋利江「医療機器に併用される抗血栓薬の適合性評価手法の開発を目指した SNP 解析」 第 44 回日本人工臓器学会 (2006. 11)

3) 澤田留美、伊藤友実、土屋利江「幹細胞を用いた細胞組織利用医薬品・医療機

器の安全性評価に関する研究」 第 6 回日本再生医療学会 (2007. 3)

4) 伊藤友実、澤田留美、藤原葉子、土屋利江「ヒト間葉系幹細胞の増殖機構に及ぼす低酸素培養の影響について」 第 6 回日本再生医療学会 (2007. 3)

協力研究者

青柳成明 (久留米大学医学部外科学講座)

福永周司 (久留米大学医学部外科学講座)

田山栄基 (久留米大学医学部外科学講座)

高木数実 (久留米大学医学部外科学講座)

堀 英嗣 (久留米大学医学部外科学講座)