

に、骨芽細胞の分化レベルを促進させた。NaOH + Ca(OH)<sub>2</sub> 処理は、チタン合金に高いアパタイト形成能を付与するとともに、骨芽細胞の分化を促進させることが明らかになった。材料のアパタイト形成能は、骨芽細胞の分化に関与するため、アパタイト形成能を定量的に評価することは、骨系医用材料のリクスアセスメントに有用である。

## G. 健康危険情報

なし

## H. 研究発表

### 1. 論文発表

1) 大嶋智子、尾崎麻子、中島晴信、伊佐間和郎、土屋利江：ポリ乳酸プラスチック中の有機スズ化合物の分析、大阪市立環境科学研究所報告、71、21-26 (2009)

2) R. Nakaoka, Y. Yamakoshi, K. Isama, T. Tsuchiya: Effects of surface chemistry prepared by self-assembled monolayers on osteoblast behavior, *Journal of Biomedical Materials Research: Part A*, in press

### 2. 学会発表

1) K. Isama, T. Tsuchiya: Osteoblast compatibility of Ti-Zr-Nb alloys, *Biomaterials Asia 2009* (2009. 4, Hong Kong)

2) A. Matsuoka, Y. Matsuda, K. Isama, H. Sakoda, T. Tsuchiya:

Polyploidy induction by five size-different polystyrene particles in a chinese hamster cell line CHL, 10th International Conference on Environmental Mutagens (2009. 8, Firenze)

3) 大嶋智子、中島晴信、伊佐間和郎、土屋利江：高分子材料中に不純物として含まれる有機スズ化合物の分析、第46回全国衛生化学技術協議会年会 (2009年11月、盛岡)

4) 伊佐間和郎、河上強志、土屋利江、松岡厚子：アルカリ処理・カルシウム導入によるTi-Zr-Nb合金へのアパタイト形成能の付与、第31回日本バイオマテリアル学会大会 (2009年11月、京都)

5) 薮島由二、伊佐間和郎、長谷川千恵、松岡厚子：スルホン化材料が持つ骨芽細胞分化促進機能と材料吸着蛋白質の相関性、第31回日本バイオマテリアル学会大会 (2009年11月、京都)

6) 伊佐間和郎：金属材料の骨組織適合性評価—Ti-Zr-Nb合金の例—、日本金属学会2010年春期講演大会 (2010年3月、つくば)

## 参考文献

1) 岡崎義光：整形外科用金属材料にみる標準化のメリット、*バイオマテリアル*、22、343-349 (2004)

2) 佐藤道夫：金属材料の物理的安全性評価手法の開発、平成16年度

- 厚生労働科学研究費補助金分担研究報告書 (2005)
- 3) 松下富春、鈴木順、小林尚博：  
アルカリ加熱処理技術の実用化研究と人工股関節への適用、バイオマテリアル、27、24-31 (2009)
  - 4) T. Kokubo, S. Ito, Z.T. Huang, T. Hayashi, S. Sakka, T. Kitsugi, T. Yamamuro: Ca, P-rich layer formed on high-strength bioactive glass-ceramic A-W, J. Biomed. Mater. Res., 24, 331-343 (1990)
  - 5) T. Kokubo, H. Kushitani, S. Sakka, T. Kitsugi, T. Yamamuro: Solutions able to reproduce in vivo surface-structure changes in bioactive glass-ceramic A-W, J. Biomed. Mater. Res., 24, 721-734 (1990)
  - 6) 伊佐間和郎：骨系材料の骨結合能によるリスクアセスメント手法開発、平成 19 年度厚生労働科学研究費補助金分担研究報告書 (2008)
  - 7) 山口誠二、木付貴司、高玉博朗、松下富春、中村孝志、小久保正：  
アルカリ - カルシウム処理による Ti-15Zr-4Ta-4Nb 合金への生体活性の付与、日本バイオマテリアル学会シンポジウム 2008 予稿集、145 (2008)
  - 8) 木付貴司、高玉博朗、松下富春、中村孝志、小久保正：カルシウムを導入したアルカリ処理チタンのアパタイト形成能：オートクレーブの効果、日本バイオマテリアル学会シンポジウム 2008 予稿集、233 (2008)
  - 9) 伊佐間和郎：骨系材料の骨結合能によるリスクアセスメント手法開発、平成 20 年度厚生労働科学研究費補助金分担研究報告書 (2009)
  - 10) K. Isama, A. Matsuoka, Y. Haishima, T. Tsuchiya: Proliferation and differentiation of normal human osteoblasts on dental Au-Ag-Pd casting alloy: Comparison with cytotoxicity to fibroblast L929 and V79 cells, Mater. Trans., 43, 3155-3159 (2002)
  - 11) K. Isama, T. Tsuchiya: Effect of  $\gamma$ -ray irradiated poly(L-lactide) on the differentiation of mouse osteoblast-like MC3T3-E1 cells, J. Biomater. Sci. Polymer Edn., 13, 153-166 (2002)
  - 12) E. Kobayashi, S. Matsumoto, H. Doi, T. Yoneyama, H. Hamanaka: Mechanical properties of the binary titanium-zirconium alloys and their potential for biomedical materials, J. Biomed. Mater. Res., 29, 943-950 (1995)
  - 13) 高橋正史、小林郁夫、土井寿、米山隆之、浜中人士：ニオブを添加した生体用  $\beta$  型チタン - ジルコニウム基合金の相安定性と力学的性質、日本金属学会誌、64、1120-1126 (2000)

- 14) Y. Okazaki, E. Gotoh: Comparison of metal release from various metallic biomaterials in vitro, *Biomaterials*, **26**, 11-21 (2005)
- 15) 伊佐間和郎：金属材料の化学的及び生物学的安全性評価手法の開発に関する研究、平成17年度厚生労働科学研究費補助金分担研究報告書 (2006)
- 16) 伊佐間和郎：金属材料の化学的及び生物学的安全性評価手法の開発に関する研究、平成18年度厚生労働科学研究費補助金分担研究報告書 (2007)
- 17) 塙隆夫：医療分野におけるチタンの表面処理、*軽金属*、**55**、553-556 (2005)
- 18) S. Fujibayashi, M. Neo, H.M. Kim, T. Kokubo, T. Nakamura: A comparative study between in vivo bone ingrowth and in vitro apatite formation on Na<sub>2</sub>O-CaO-SiO<sub>2</sub> glasses, *Biomaterials*, **24**, 1349-1356 (2003)
- 19) H-M. Kim, F. Miyaji, T. Kokubo, T. Nakamura: Apatite-forming ability of alkali-treated Ti metal in body environment, *J. Ceram. Soc. Jpn.*, **105**, 111-116 (1997)
- 20) K. Isama, T. Tsuchiya: Osteoblast differentiation and apatite formation on gamma-irradiated PLLA sheets, *Key Eng. Mater.*, **288-289**, 409-412 (2005)
- 21) K. Isama, T. Tsuchiya: Gamma-ray irradiated poly(L-lactide) for bone repair, T. Tateishi ed., *Biomaterials in Asia*, World Scientific, pp.254-265 (2008)

表 1 Ti-Zr 基合金の化学組成

Alloy	Chemical composition, mol% (mass%)		
	Nb	Ti	Zr
Ti-Zr	0.0 ( 0.0)	50.0 (34.4)	balance
Ti-Zr-4Nb	4.0 ( 5.3)	48.0 (32.6)	balance
Ti-Zr-8Nb	8.0 (10.4)	46.0 (30.8)	balance
Ti-Zr-16Nb	16.0 (20.3)	42.0 (27.4)	balance
Ti-Zr-24Nb	24.0 (29.7)	38.0 (24.2)	balance

表 2 蛍光 X 線分析測定条件

Secondary target	Excitation voltage / kV	Initial tube current / mA	Measurement time / sec	Measurement element	
				K $\alpha$ line	L $\alpha$ line
Al	35	17	100	Na-Mg	
Ti	40	15	100	Al-Ca	
Ge	75	8	100	Ti-Zn	Hf-Ta
Mo	100	6	100	Ga-Y	W-Bi, Th-U
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	100	6	100	Zr-Yb	

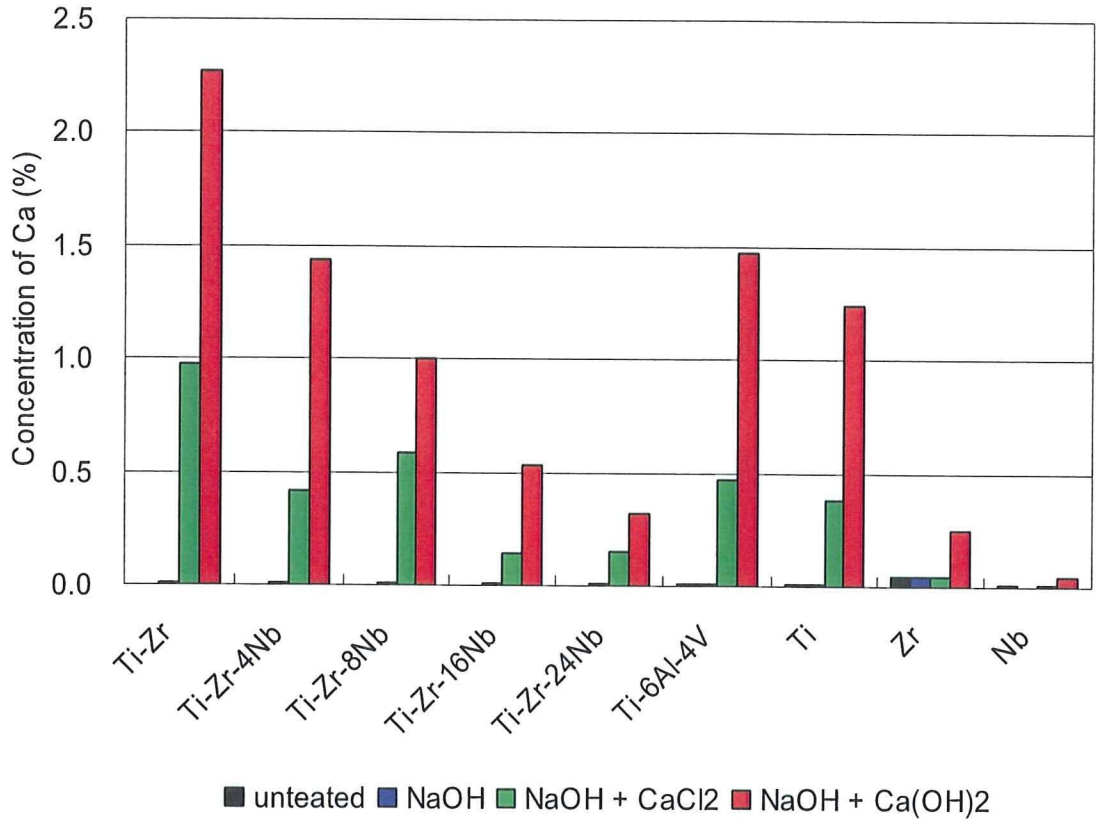


図 1 表面処理した材料表面のカルシウム濃度

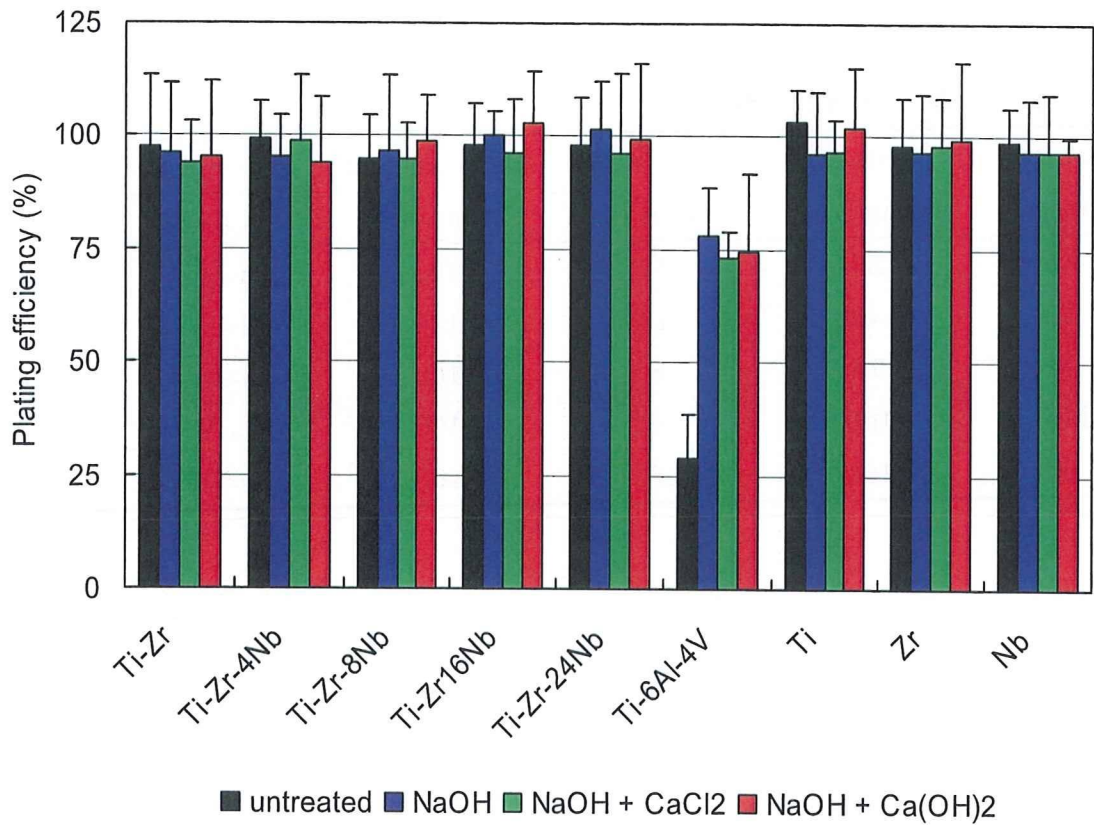


図 2 表面処理した材料の V79 細胞コロニー形成率

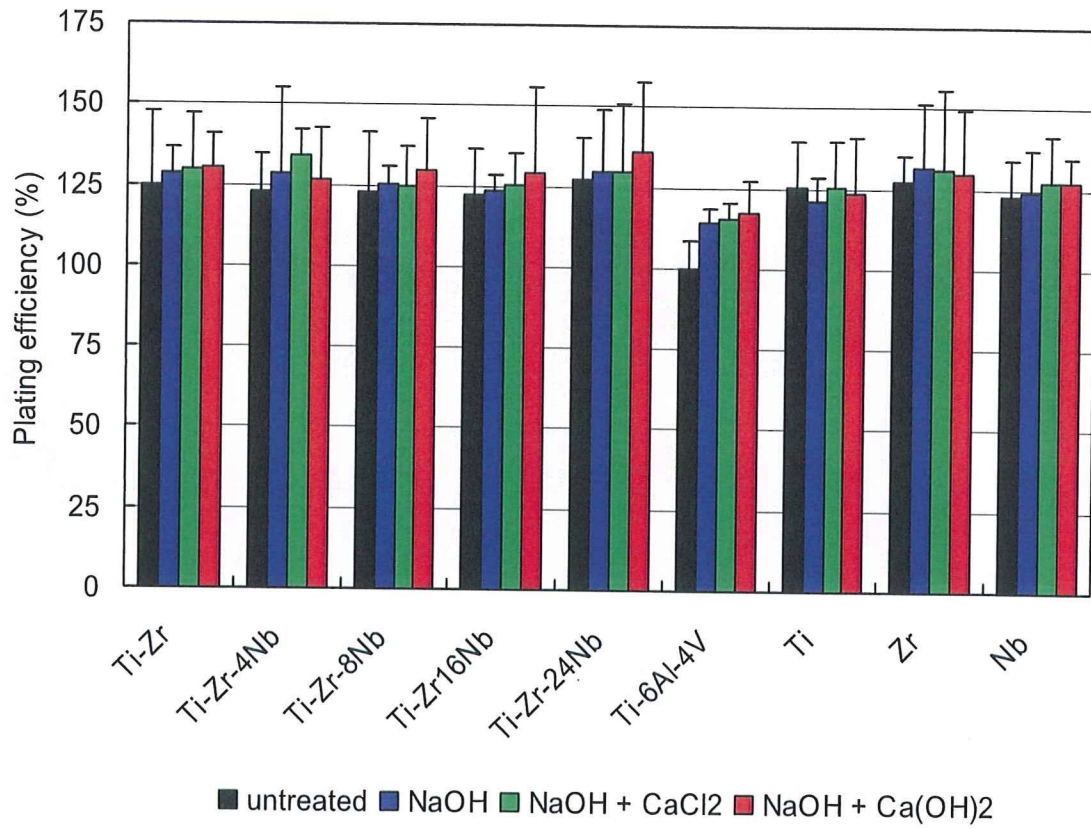


図3 表面処理した材料上における骨芽細胞の細胞数

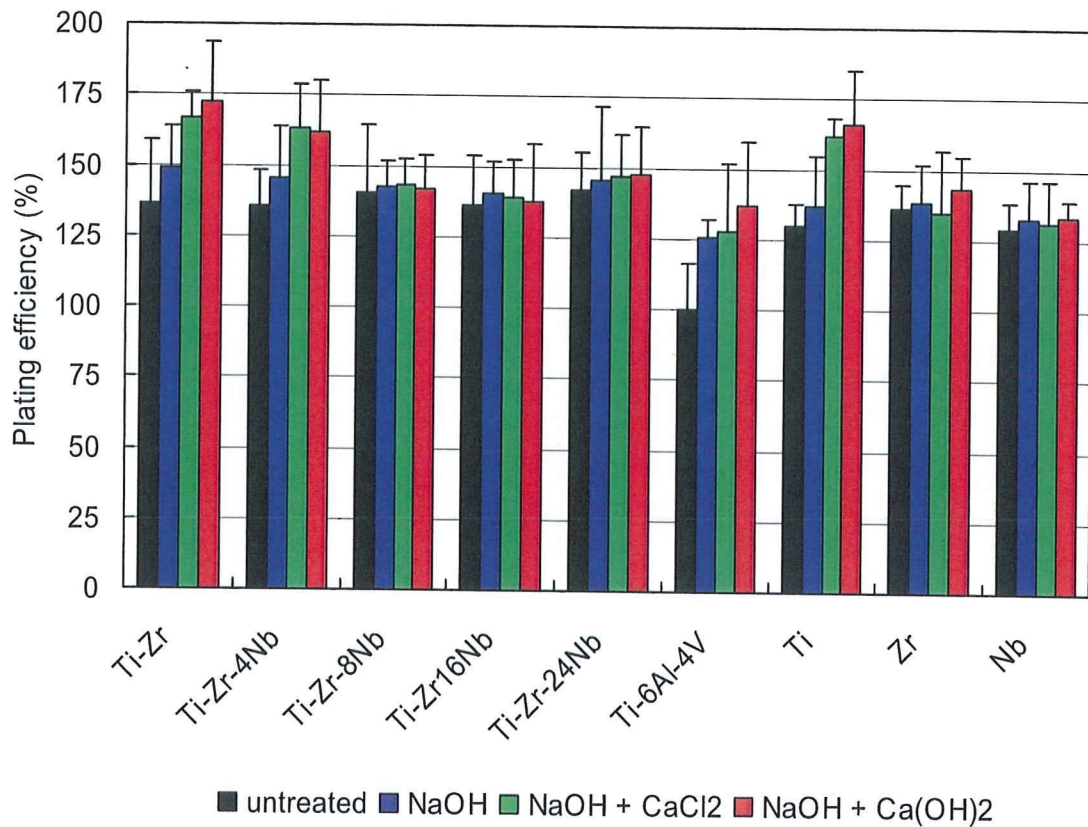


図4 表面処理した材料上における骨芽細胞のALP活性

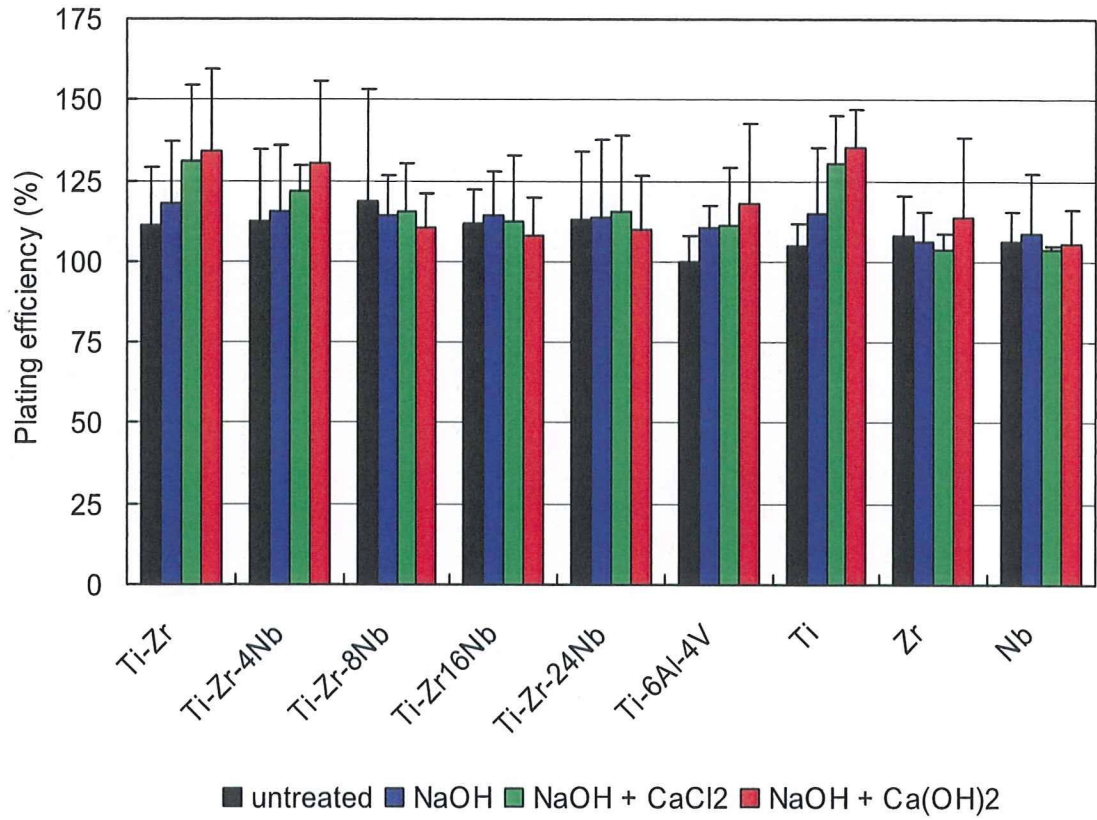


図 5 表面処理した材料上における骨芽細胞の分化レベル

4. 人工心臓弁機能不全の  
リスクアセスメント手法開発

澤田 留美



分担研究報告書  
厚生労働科学研究費補助金  
医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業  
「医療機器・医用材料のリスクアセスメント手法開発に関する研究」

分担研究課題名  
人工心臓弁機能不全のリスクアセスメント手法開発

研究分担者 澤田留美 国立医薬品食品衛生研究所療品部

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ルナス形成について、それらの原因となる日本人における遺伝子多型を探索することを目的として人工心臓弁（機械弁）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。その結果、血液凝固因子第 10 (F10) の SNP : rs3211736 で、人工心臓弁の機能不全の有無間での有意なアレル頻度の差が認められた。

#### A. 研究目的

心臓弁膜症は、心臓病の大きな原因の一つである。その主な症状として、狭窄症（血液の通り道が狭くなる）と閉鎖不全症（弁の閉じ方が不完全なため血液の逆流が起こる）の 2 つが挙げられる。心臓弁膜症の 95% 以上は、4 つある心臓弁のうち大動脈弁と僧帽弁に起こるといわれ、特に大動脈弁狭症は心臓弁膜症の中でも病状の進行が早く突然死にいたるリスクも高い難病であったが、人工心臓弁置換手術を行う事により完治することが出来るようになった。現在、臨床的に用いられている人工弁は、大きく分けて機械弁と異種生体弁がある。どちらもそれぞれの特徴に一長一短はあるが、遠隔成績からは生存率に差はない。世界でインプラントされている弁は約 60% が機械弁

であるといわれている一方で、わが国における人工弁の利用は一説では約 80% が機械弁であるとも言われ米国等に比べて多い。

今日では多くの心臓弁膜症患者が人工弁置換手術により健常人とほぼ同様な日常生活を送れるようになったが、置換術後の人工心臓弁（特に機械弁）の機能不全についての報告が存在するのも事実である。機械弁の機能不全の主な原因としては、血栓形成とパルナス（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、

薬の作用には個人差もあ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、パンヌスの形成についてはそのメカニズムは未だ明らかにされていない。一方で、人工心臓弁置換手術技能によって機能不全が起こることも考え得るが、異物に対する生体反応等に個人差がある可能性も否定できない。

そこで本研究では、人工心臓弁（機械弁）を体に埋植した際の血栓やパンヌ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た。血栓形成に対する抗血液凝固療法については、日本人は欧米人と比較すると弱い抗凝固療法でも有効である事がわかっており、わが国のガイドラインは欧米に比べるとやや緩めに設定されているようにその感受性に人種差があると考えられている。抗凝固療法の基本的薬剤であるワーファリンの使用量に関する日本人の遺伝子多型の研究はこれまでも数多くなされているが、心臓弁膜症手術における抗凝固療法に関する遺伝子多型の検討報告はほとんどなされていない。また、人工心臓弁機能不全のもう一つの原因と考えられるパンヌス形成に関してはその形成メカニズム自体が不明である。そのため、本研究において日本人の機械弁使用者における機能不全につながる血栓やパンヌスの形成の原因となり得る遺伝子多型を検討する事は有意義であろう。

本研究では、日本人の人工心臓弁（機械弁）使用者の中で弁の機能不全が認められる患者および不具合が認められない患者の血液を用いて SNP タイピングを行い、両者を比較検討した。

## B. 研究方法

### 1) 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 15 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 11 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。

### 2) 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。

### 3) SNP タイピング

血栓形成の原因となり得る遺伝子多型を探索するための SNP タイピングのターゲット遺伝子として、まず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である SERPINE1 [serpin peptidase inhibitor, clade E (nexin, plasminogen activator inhibitor type 1), member 1 ; PAI-1]、CYP2C9 (cytochrome P450, family 2, subfamily C, polypeptide 9)、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、GGCX ( $\gamma$ -グルタミルカルボキシラーゼ)の 7 遺伝子について着目し、これまでに日本人で報告されている SNP を中心に計 23SNPs を選定した。さらに炎症反応等に関わる遺伝子として VAMP8 (vesicle-associated membrane protein 8)、TGF $\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ ) 1、TGF $\beta$  レセプター I

(TGFβRI)、TGFβレセプターII (TGFβRII) の4遺伝子について計6SNPsを選択し、総計29SNPs(表1)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、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。次に、得られたPCR産物をTemplateとして用いてTyping PCRを行った。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(株)札幌イムノダイアグノスティックラボラトリーにて行われた。

#### 4) 有意差検定

Fisherの正確確率検定(Fisher's exact test)により両側検定を行った。

### 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)
- ・ TGFβ1 (1SNP)
- ・ TGFβRI (1SNP)
- ・ TGFβRII (2SNP)

人工心臓弁の機能不全が認められる患者15名(全例パナマスによる機能不全と考えられる。うち2例は血栓も併発。)お

よび人工弁の不具合が今のところ認められない患者11名由来のDNAを用いたSNPタイピングの結果から、各SNPのアレル頻度をそれぞれ算出し、表2に示した。対照データとして健常な日本人の血液由来のDNAを用いて検討した結果をすでに得ており、同様に表2中に記した。検体に用いたDNAは、PSC(ファルマスニップコンソーシアム)によって樹立されたPSC細胞株から調製されたDNAで、100検体用いて実験を行った。用いた検体の由来は、男性50名(平均年齢52.3±8.1才)女性50名(平均年齢52.4±8.1才)である。

図1,2に健常人(n=100)、人工心臓弁使用者(患者;n=26)、機能不全が認められる患者(n=15)、今のところ機能不全が認められない患者(n=11)のアレル頻度を示し、健常人v.s.患者、人工心臓弁の機能不全有v.s.無で有意差検定を行ったところ、健常人(n=100)と患者(n=26)との間に29SNPともアレル頻度の有意な差は認められなかったが、人工心臓弁の機能不全の有(n=15)無(n=11)の間では、凝固因子第10:F10(rs3211736)でアレル頻度に有意な差が認められた(p<0.05)。

### 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ナマ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事が原因の一つかもしれない。また、パンプス形成についてはその原因は未だ明らかにされておらず、血栓形成と同様な個人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、血栓形成やパンプス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 TGFβ やそのレセプターなど 11 遺伝子を対象とし、計 29SNPs を選択しタイピングを行った。人工心臓弁の機能不全が認められる患者 15 名 (全例パンプスによる機能不全と考えられる。うち 2 例は血栓も併発。) および人工弁の不具合が今のところ認められない患者 11 名と、対照として日本人の健常人 (100 名) について検討したところ、血液凝固因子第 10 (F10) の SNP : rs3211736 で、人工心臓弁の機能不全の有無間での有意なアレル頻度の差が認められた (図 1)。F10 はビタミン K 依存性凝固因子の一つであり、肝臓で生成される際にビタミン K を必要とする。抗血液凝固薬であるワーファリンの作用はビタミン K の働きを抑える事で発揮されるため、F10 はワーファリンの薬効に関連する遺伝子と考えられる。今回検討した人工心臓弁の機能不全が認められる患者は全てその原因がパンプス形成によるものであると考

えられるため、この結果から、F10 の SNP : rs3211736 ( INTRON, c.231+64C>T) がパンプス形成の有無に関与する可能性が示唆された。ただし、現段階では患者の検体数が合計 26 と少ないため、今後さらに検体数を増やしていく事でより正確な遺伝子多型の検討が出来るものと考えられる。

人工心臓弁の機能不全の有無や原因(血栓形成によるものかパンプス形成によるものか等)によってアレルの頻度に有意な差が出てくる SNP が今後さらに特定できれば、血栓形成やパンプス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。また、機械弁と生体弁の選択や抗血液凝固療法程度の決定にも利用できる事が期待される。

## E. 結論

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 SNP ジェノタイピングを行い両者を比較することで、人工心臓弁 (機械弁) を体に埋植した際の機能不全の原因となり得る血栓形成やパンプス形成に関わる遺伝子多型を探索した。その結果、血液凝固因子第 10 (F10) の SNP : rs3211736 で、人工心臓弁の機能不全の有無間での有意なアレル頻度の差が認められた。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

Ahmed S., Tsuchiya T., Nagahata-Ishiguro M., Sawada R., Banu N., and Nagira T. : Enhancing action by sulfated hyaluronan on

connexin-26, -32, and -43 gene expressions during the culture of normal human astrocytes. *J. Biomed. Mater. Res.* 90A, 713-719 (2009).

## 2. 学会発表

- 1) 澤田留美、松山晃文、大倉華雪、土屋利江、松岡厚子「細胞組織加工医療機器に用いられる幹細胞の *in vitro* 培養時における品質及び安全性評価に関する研究」 第9回日本再生医療学会 (2010.3)
- 2) 土屋利江、石川烈、澤田留美、白畑実隆、松山晃文、名井陽、澤芳樹、町田一彦、浦野浩司、川井健司「腫瘍細胞の高感度検出法開発：NOG マウスにおける各種条件下での1及び10個腫瘍細胞増殖能」 第9回日本再生医療学会 (2010.3)

## 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)  
手嶋英樹 (久留米大学医学部外科学講座)

表1. ターゲットとしたSNP

Gene	JSNP	dbSNP(rs)	Location
SERPINE 1 (PAI-1)	IMS-JST005633	rs11178	3'UTR c.1570C>T
SERPINE 1 (PAI-1)	IMS-JST058119	rs6092	CDS (Ala/Thr) c.43G>A
SERPINE 1 (PAI-1)	IMS-JST058120	rs6090	CDS (Ile/Val) c.49G>A
SERPINE 1 (PAI-1)	IMS-JST005631	rs2070682	INTRON c.700+1921C>T
SERPINE 1 (PAI-1)	IMS-JST005632	rs2070683	INTRON c.1087+859T>A
CYP2C9	IMS-JST052819	rs2298037	INTRON c.1149+147C>T
CYP2C9 *3		rs1057910	CDS (Ile/Leu) c.1075A>C
CYP2C9 *13			CDS (Leu/Pro) c.269T>C
F2 (prothrombin )	IMS-JST005890	rs2070850	INTRON c.240+83T>C
F2 (prothrombin )	IMS-JST005891	rs2070851	INTRON c.316+2125C>T
F2 (prothrombin )	IMS-JST005892	rs2070852	INTRON c.422+90G>C
F2 (prothrombin )	IMS-JST005893	rs5896	CDS (Met/Thr) c.494T>C
F2 (prothrombin )	IMS-JST031911	rs2282686	INTRON c.1472+251C>T
F2 (prothrombin )	IMS-JST031912	rs2282687	INTRON c.1654+290C>T
F7	IMS-JST017150	rs6042	CDS-synonymous c.525C>T
F9	IMS-JST178462	rs3817939	INTRON c.88+75A>G
F10	IMS-JST069694	rs5960	CDS-synonymous c.792T>C
F10	IMS-JST103451	rs3211719	INTRON c.70+270A>G
F10	IMS-JST117973	rs2026160	INTRON c.256+98A>C
F10	IMS-JST119689	rs3211736	INTRON c.231+64C>T
F10	IMS-JST152051	rs3838839	INTRON c.502+2115~2116
F10	IMS-JST190984	rs3829391	INTRON c.502+2531A>G
GGCX	IMS-JST006491	rs2028898	INTRON c.2084+408C>T
VAMP8	IMS-JST041766	rs12888	CDS-synonymous c.201A>G
VAMP8	IMS-JST085287	rs3731828	CDS-synonymous c.138C>T
TGF β1	IMS-JST096736	rs1800470	CDS-synonymous c.29C>T
TGF βRI		rs7861780	CDS-synonymous c.1125A>C
TGF βRII		rs1050833	CDS(Glu/Val) c.946A>T
TGF βRII		rs3209742	CDS(Ala/Val) c.1606T>C

表2. SNPタイピングの結果から得られたアレル頻度

Gene	JSNP	dbSNP(rs)	Location	Type	Healthy volunteers (PSC Cell) Allele (frequency) n=100		Patients			
					adverse events (frequency) n=15	no adverse events (frequency) n=11	all (frequency) n=20			
SERPINE1 (PAI-1)	IMS-JST005633	rs11178	3'UTR	SNP	C (0.545)	T (0.455)	C (0.633)	T (0.367)	C (0.635)	T (0.365)
SERPINE1 (PAI-1)	IMS-JST058119	rs6092	CDS (Ala/Thr)	SNP	G (0.925)	A (0.075)	G (0.933)	A (0.067)	G (0.923)	A (0.077)
SERPINE1 (PAI-1)	IMS-JST058120	rs6090	CDS (Ile/Val)	SNP	G (0.995)	A (0.005)	G (1.000)	A (0.000)	G (1.000)	A (0.000)
SERPINE1 (PAI-1)	IMS-JST005631	rs2070682	INTRON	SNP	C (0.545)	T (0.455)	C (0.633)	T (0.367)	C (0.635)	T (0.365)
SERPINE1 (PAI-1)	IMS-JST005632	rs2070683	INTRON	SNP	T (0.545)	A (0.455)	T (0.633)	A (0.367)	T (0.635)	A (0.365)
GYP2C9	IMS-JST052819	rs2298037	INTRON	SNP	C (0.705)	T (0.295)	C (0.667)	T (0.333)	C (0.635)	T (0.365)
GYP2C9*3		rs1057910	CDS (Ile/Leu)	SNP	A (0.990)	C (0.010)	A (1.000)	C (0.000)	A (0.981)	C (0.019)
GYP2C9*13			CDS (Leu/Pro)	SNP	T (0.990)	C (0.010)	T (1.000)	C (0.000)	T (1.000)	C (0.000)
F2(prothrombin)	IMS-JST005890	rs2070850	INTRON	SNP	T (0.560)	C (0.440)	T (0.633)	C (0.367)	T (0.545)	C (0.455)
F2(prothrombin)	IMS-JST005891	rs2070851	INTRON	SNP	C (0.580)	T (0.420)	C (0.700)	T (0.300)	C (0.591)	T (0.409)
F2(prothrombin)	IMS-JST005892	rs2070852	INTRON	SNP	G (0.635)	C (0.365)	G (0.733)	C (0.267)	G (0.636)	C (0.364)
F2(prothrombin)	IMS-JST005893	rs5896	CDS (Met/Thr)	SNP	T (0.580)	C (0.420)	T (0.700)	C (0.300)	T (0.591)	C (0.409)
F2(prothrombin)	IMS-JST031911	rs2282686	INTRON	SNP	C (0.635)	T (0.365)	C (0.733)	T (0.267)	C (0.636)	T (0.364)
F2(prothrombin)	IMS-JST031912	rs2282687	INTRON	SNP	C (0.580)	T (0.420)	C (0.700)	T (0.300)	C (0.636)	T (0.364)
F7	IMS-JST017150	rs6042	CDS-synonymous	SNP	C (0.915)	T (0.085)	C (0.900)	T (0.100)	C (0.942)	T (0.058)
F9	IMS-JST178462	rs3817939	INTRON	SNP	A (0.890)	G (0.110)	A (0.900)	G (0.100)	A (0.885)	G (0.115)
F10	IMS-JST069694	rs5960	CDS-synonymous	SNP	T (0.590)	C (0.410)	T (0.533)	C (0.467)	T (0.500)	C (0.500)
F10	IMS-JST103451	rs3211719	INTRON	SNP	A (0.675)	G (0.325)	A (0.600)	G (0.400)	A (0.615)	G (0.385)
F10	IMS-JST117973	rs2026160	INTRON	SNP	A (0.905)	C (0.095)	A (0.867)	C (0.133)	A (0.846)	C (0.154)
F10	IMS-JST119689	rs3211736	INTRON	SNP	C (0.620)	T (0.380)	C (0.467)	T (0.533)	C (0.615)	T (0.385)
F10	IMS-JST152051	rs3838839	INTRON	INDEL	-(1.000)	T (0.000)	-(1.000)	T (0.000)	-(1.000)	T (0.000)
F10	IMS-JST190984	rs3829391	INTRON	SNP	A (1.000)	G (0.000)	A (1.000)	G (0.000)	A (1.000)	G (0.000)
GGCX	IMS-JST006491	rs2028898	INTRON	SNP	C (0.685)	T (0.315)	C (0.800)	T (0.200)	C (0.727)	T (0.273)
VAMP8	IMS-JST041766	rs12888	CDS-synonymous	SNP	A (0.605)	G (0.395)	A (0.633)	G (0.367)	A (0.500)	G (0.500)
VAMP8	IMS-JST085287	rs3731828	CDS-synonymous	SNP	C (0.680)	T (0.320)	C (0.800)	T (0.200)	C (0.727)	T (0.273)
TGFβ1	IMS-JST096736	rs1800470	CDS-synonymous	SNP	T (0.535)	C (0.465)	T (0.400)	C (0.600)	T (0.455)	C (0.545)
TGFβRI		rs7861780	CDS-synonymous	SNP	A (1.000)	C (0.000)	A (1.000)	C (0.000)	A (1.000)	C (0.000)
TGFβRII		rs3209742	CDS(Glu/Val)	SNP	A (1.000)	T (0.000)	A (1.000)	T (0.000)	A (1.000)	T (0.000)
TGFβRII		rs1050833	CDS(Ala/Val)	SNP	T (1.000)	C (0.000)	T (1.000)	C (0.000)	T (1.000)	C (0.000)

図1. 健康人と人工心臓弁使用者のアレル頻度(1)

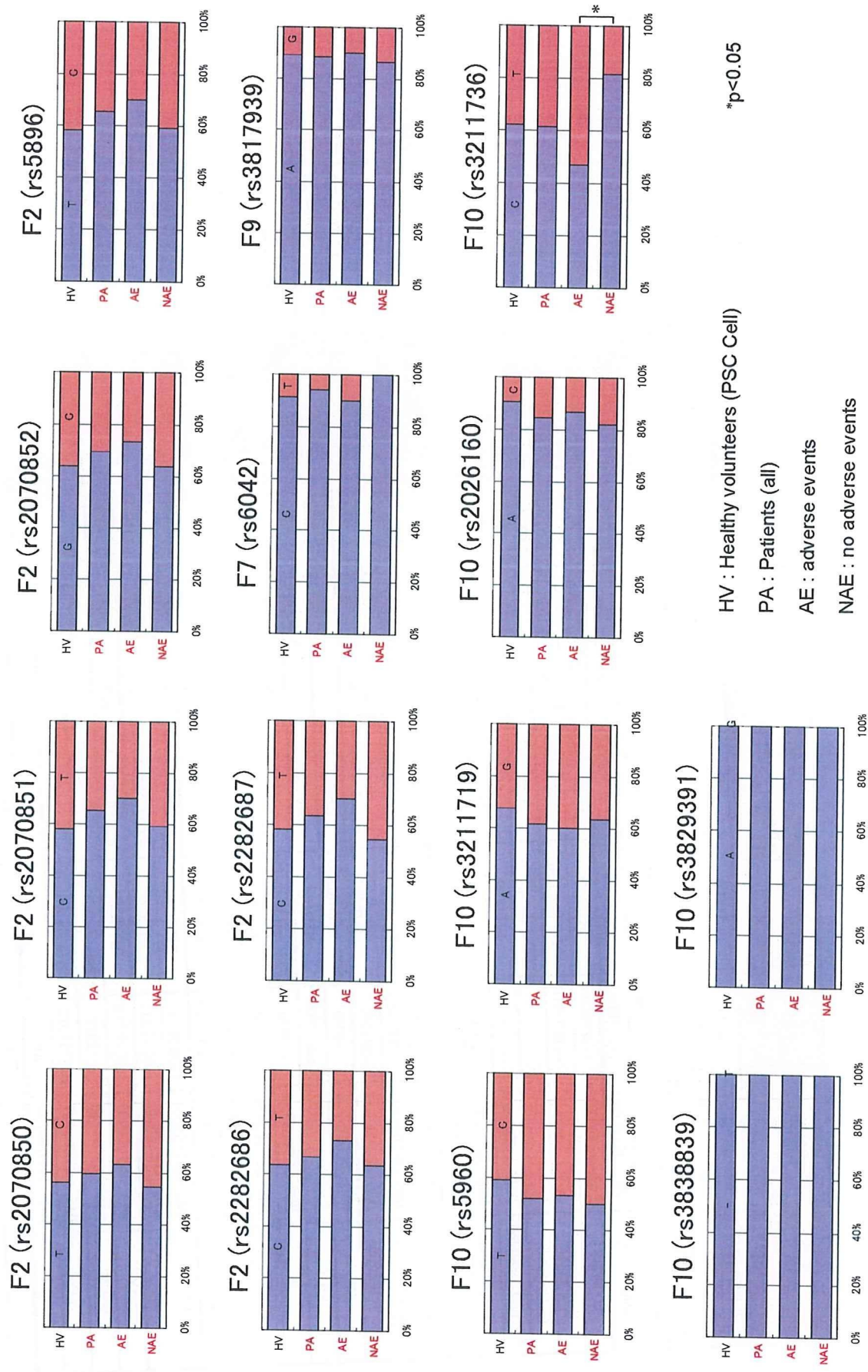
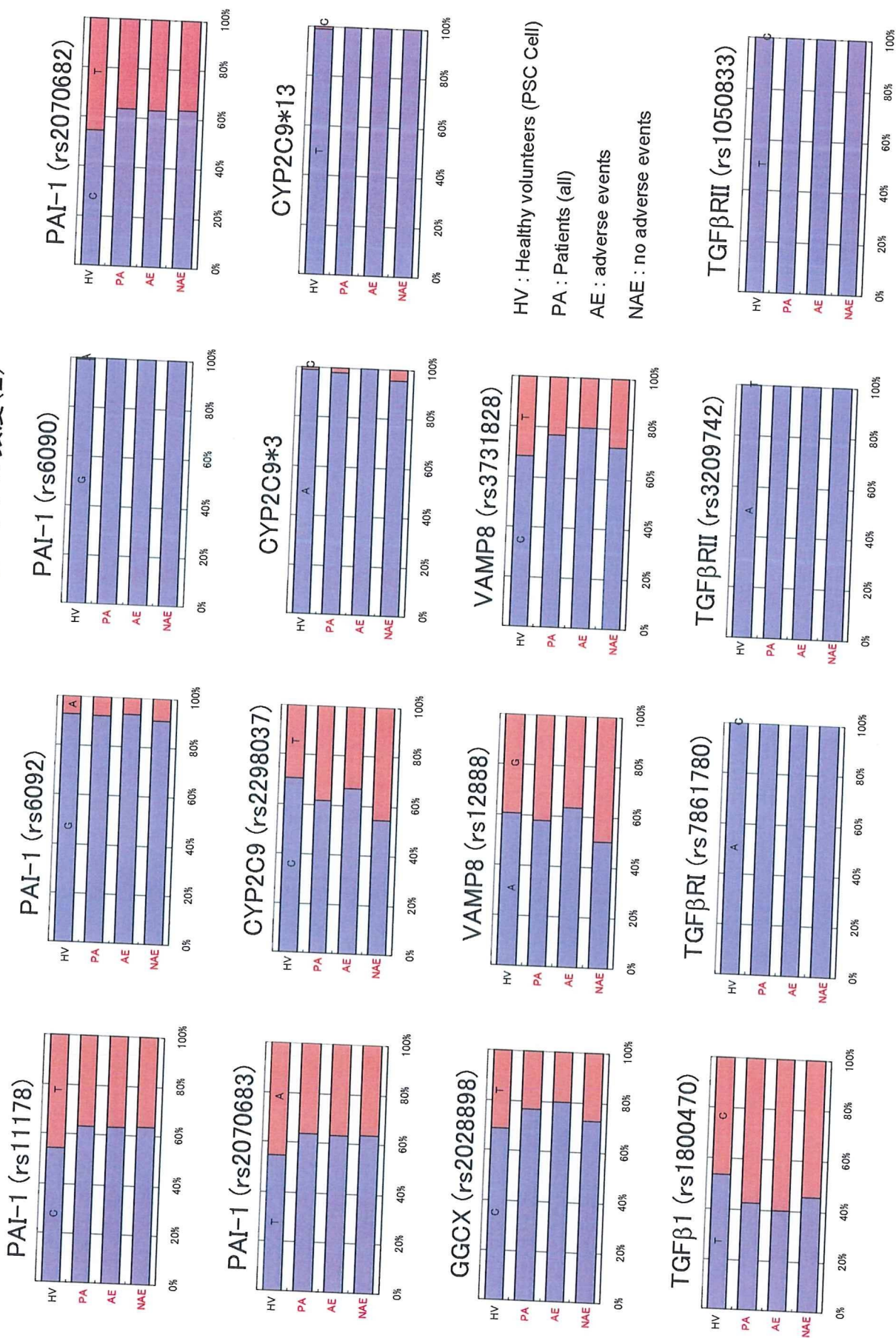




図2. 健康人と人工心臓弁使用者のアレル頻度 (2)



5. 抜去インプラントの不具合要因解析による  
リスクアセスメント手法開発

迫田 秀行

平成19年度厚生労働科学研究費補助金  
(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業)  
「医療機器・医用材料のリスクアセスメント手法開発に関する研究」  
(H19-医薬一般-015)  
分担研究報告書

分担研究課題名

抜去インプラントの不具合要因解析によるリスクアセスメント手法開発

分担研究者 迫田秀行 国立医薬品食品衛生研究所 療品部  
研究協力者 菅野伸彦 大阪大学大学院医学系研究科 運動器医工学治療学  
研究協力者 石川格 国立医薬品食品衛生研究所 療品部

研究要旨

人工関節置換術は QOL の大幅な改善が期待される有用な治療法であり、毎年症例数も増加している。しかし、不具合により再置換術が必要になることも少なくない。生体外における工学的試験や臨床試験から不具合の要因を解明することは困難であることから、不具合により摘出された抜去インプラントの解析を行い、そこから不具合の要因を推定することが最も有効であると考えられる。さらに、診療情報を含めた総合的な判断を行うことで、インプラント以外に起因する不具合を除外することが可能である。

しかし、抜去インプラント解析による不具合要因解析にも問題点が少なくない。例えば、人工関節では埋植期間が10年以上の長期にわたることも多く、古い製品について解析を行うことになる。一般的に医療機器の技術進歩は早く、毎年のように新しい技術が導入されるため、時には既に克服された要因によって生じた不具合を解析することになりかねない。このような例として、人工関節の摺動面に使用される超高分子量ポリエチレンコンポーネントの酸化、摩耗などが挙げられる。本研究では、このような既知の要因ではなく、現在使用されている製品および現在開発中で今後実用化されるであろう技術に焦点を当て、今後顕在化する可能性が考えられる要因に注目した。そのため、抜去インプラントを診療情報とともに入手し、個別に不具合の要因について解析し、得られた不具合要因の中から既知のものを除き、今後対策が必要なものの抽出を試みた。

本年度は新たに5例の抜去インプラントを入手し、これらのインプラントについて不具合要因解析を行った。その結果、バイポーラ型人工骨頭では、インピンジによるリム部の破損や骨頭保持機構が弱点として浮かび上がってきた。不具合の要因は技術の進歩に伴い変化することから、継続的な調査が必要であると考えられた。

A. 研究目的

人工関節置換術は変形性関節症や関節リウマチの患者で、疼痛などの理由により歩行や

起立といった日常生活に支障が生じた場合などに行われる。これにより、歩行が可能になるなど生活の質(QOL)が改善されることか

ら、一般的に広く普及した治療法である。本邦では年間約 15 万例<sup>1)</sup>が行われており、毎年着実に増加している。

一方で、不具合により再置換される事例も増加している。再置換術は、不具合を起こしたインプラントを抜去する必要があることや、インプラントを支える骨の量が初回の手術に比べ減少しているなどの理由で、初回の手術に比べ困難な手術となる。また、患者やその家族にとっては、手術による身体的負担や、長期の入院による経済的、社会的負担が生じ、医師にとっても困難な手術のため、負担になるといわれている。社会的にも医療費の負担などが生じるため、再置換の原因を分析し、再置換の必要のない、あるいは、再置換が容易でなおかつ成績のすぐれたインプラントの開発が急務となっている。

人工関節の不具合を考える上で重要なことは、不具合が全てインプラントに起因するわけではないということである。大きく分類すると、設置位置不良など手術手技に起因するもの、合併症や転倒事故による骨折など患者に起因するもの、そして、インプラントに起因するものに分けられる<sup>2)</sup>。さらに、不具合が主にインプラントに起因すると考えられる場合でも、使用年数や患者の体重、活動度など、不具合との関連性に影響を与えると考えられる重要な要素が少なくないため、抜去インプラントの分析と並行して診療情報の分析も行い、総合的に判断する必要がある。

また、人工関節の抜去インプラント解析では、タイムラグについて常に念頭に置いておく必要がある。人工関節は長期にわたり使用されるため、入手できるインプラントは製造されてから 10 年以上の期間が経過していることが少なくない。特に、インプラントに起因する不具合は後年になって生じることが多

く、Ulrich らの報告<sup>2)</sup>によると、5 年以内の短期に生じる不具合の半数以上が脱臼などの関節不安定性や深部感染などしばしば直接手術手技に関連するものであり、術後 5 年以上経過して発生する不具合は、非感染性ゆるみ（骨溶解によるゆるみ）が 80% 以上を占めるなど、インプラントの耐久性に起因するものの確率が高い。他方で、技術革新は速いため、古い技術で製造された製品に生じた既知の要因の不具合について解析する可能性が生じる。このような事例として、摺動面に使用される超高分子量ポリエチレン（Ultra-high molecular weight polyethylene、UHMWPE）コンポーネントの摩耗の問題が挙げられる。

人工股関節では、摩耗粉の発生に起因するゆるみが最大の問題として研究が行われてきており、人工股関節の摺動面で発生する UHMWPE 摩耗粉がマクロファージにどん食され、破骨細胞が活性化され、最終的に関節周囲の骨溶解に至ることが判明した<sup>3)</sup>。その結果、人工股関節を支える周囲の骨がなくなり、ゆるみを生じ、人工関節の機能低下や疼痛により再置換に至る。同時に、空気中でのガンマ線照射滅菌が、UHMWPE の酸化劣化を引き起こし、長期にわたる力学特性の低下を招くことから、1998 年までに真空中や不活性ガス中におけるガンマ線照射滅菌か、酸化エチレンガスやガスプラズマを用いたガス滅菌に置き換わった<sup>4)</sup>。また、耐摩耗性が向上した高度架橋ポリエチレンと呼ばれる材料も開発され、市場に投入されている<sup>4)</sup>。この材料は UHMWPE にガンマ線や電子線を照射し、UHMWPE の分子鎖に架橋を施し耐摩耗性を向上させ、その後の熱処理により酸化のもととなるフリーラジカルを除去したものである。